



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences
de la terre et de l'univers
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

Référence / 2025

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté et soutenu par :
HAMAMI Hadjer, CHIKH Kenza

Le: 02 juin 2025

Activités antioxydante et activités antibactériennes de l'huile essentielle de (*Mentha spicata* L.) extraits par deux méthodes

Jury:

Mme. BENABDALLAH Fatima	MCA	Mohamed Khider Biskra	rapporteuse
Mlle. HAMLAOUI Bochra	MAB	Mohamed Khider Biskra	examinatrice
Mlle. SIMOZRAG Ahmed	MAB	Mohamed Khider Biskra	présidente

Année universitaire: 2024/2025

Remerciements

L'accomplissement du présent travail n'a été possible qu'avec le soutien d'ALLAH le plus puissant ainsi que certaines personnes. En premier lieu, nous tenons à exprimer nos profondes reconnaissances à notre promotrice Dr. BENABDELLAH Fatima Zohra, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils.

Nous tenons également à remercier les membres du jury ayant laissé leurs multiples occupations pour examiner ce travail. Nous leur sommes infiniment reconnaissants pour leurs critiques et suggestions qui contribueront certainement à rehausser la valeur scientifique de notre travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à toutes les personnes qui nous ont soutenus tout au long des démarches et à chaque étape ayant conduit à l'aboutissement de ce travail, ainsi qu'à tout l'ensemble du personnel du laboratoire pour leurs aides, leurs conseils ainsi que leurs complicités.

Enfin, nous remercions énormément tous les professeurs du département des sciences de la nature et de la vie

Dédicaces

من كَلَّ العرقُ جبينه، ومن علّمني أن النجاح لا يأتي إلا بالصبر والإصرار،
إلى النور الذي أضاء دربي، والسراج الذي لا ينطفئ نوره في قلبي أبدًا،
من بذل الغالي والنفيس، واستمددتُ منه قوتي واعتزازي بذاتي: والدي العزيز
وإلى من جعل الله الجنة تحت قدميها،
وسهّلت لي الشدائد بدعائها،
إلى الإنسانية العظيمة التي لطالما تمننت أن تقرّ عينها برؤيتي في مثل هذا اليوم: أُمي العزيزة
إلى ضلعي الثابت، وأمان أيامي،
إلى من شددتُ عضدي بهم، فكانوا لي ينباع أرتوي منها: أختي وأخي الغاليين
إلى خيرة أيامي وصفوتها، إلى قرّة عيني،
إلى كل من كان عونًا وسندًا في هذا الطريق،
إلى الأصدقاء الأوفياء، ورفقاء السنين،
إلى أصحاب الشدائد والأزمات،
إلى من أفاض عليّ بمشاعره، ونصائحه المخلصة
إليكم جميعًا، عدّتي وسندي، أهدي هذا الإنجاز،
وثمرّة نجاحي التي لطالما تمنّيتها
فها أنا اليوم أكمل وأتمم أولى ثمراته بفضل الله سبحانه وتعالى
الحمد لله على ما وهبني، وأسأله أن يجعلني مباركًا حيثما كنت

Dédicaces

ينبغي لجلال وجهك وعظيم سلطانك، لك الحمد على ما علمتني، وعلى ما يسّرت لي، وعلى ما منحنتني من صبر وقوة حتى وصلت إلى هذه المرحلة.

أتقدم بجزيل الشكر والامتنان للاستاذة المشرفة بن عبد الله فاطمة ، التي كانت خير موجّه وداعم طوال مراحل إعداد هذه المذكرة، فكل كلمات الثناء لا توفيقها حقها. كما أخص بالشكر أساتذتي الأفاضل في قسم البيولوجيا ، الذين كانوا مصدر علم وإلهام، ومنارة أضاءت لي الطريق، فلكم جميعاً كل التقدير والعرفان.

وبعد شكر أهل العلم، أتوجه بخالص الامتنان لوالدي العزيزين ، أمي وأبي، سندي الحقيقي، ونبع الحب والدعاء، اللذين كانا سبباً في كل إنجاز حققته. دعاؤكما ورضاكما كانا لي زاداً في كل لحظة تعب ويأس، فلكما مني أسمى آيات الشكر والتقدير. كما لا أنسى إخوتي الأحبة، الذين كانوا دائماً إلى جانبي، بقلوبهم وكلماتهم ودعمهم المستمر.

وأخيراً، شكراً لكل من ساندني ورفع من عزيمتي ولو بكلمة وعلى راسهم صديقتي امال ، ولكل من كان له أثر مهما كان بسيطاً في هذا العمل .

Sommaire

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1
Chapitre01 : Synthèse bibliographique.....	
I. Présentation de l'espèce <i>Mentha spicata</i> L.	3
I.1. Généralités sur La menthe	3
I.2. Classification botanique de la plante	3
I .3. Origine et répartition géographique	4
I .4. Description botanique et taxonomique	4
I.5. Utilisation et bienfaits	4
I.6. Toxicologie:	5
II. Huiles essentielles et extraits des plantes	5
II.1.Huilesessentielles.....	6
II .1.1. Généralités	5
II .1.2. Emplois des huiles essentielles	5
II .1.3. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	5
II.1.4. Composition chimique des huiles essentielles	6
II.1.5. Les facteurs influençant la composition des huiles essentielles	6
II.1.6. La toxicité des huiles essentielles	7
II.1.7 Procédés d'extraction des huiles essentielles	7
II.2. Extraits de plantes	9

II.2.1. Généralité.....	9
II.2.2. Procédés d'extraction des extraits des plantes.....	10
III. Activités biologiques des huiles essentielles et des extraits	11
III.1. L'activité antimicrobienne	11
III.1.1. activité antifongique.....	11
III.1.2. Activité antivirale	11
III.1.3. Activité antibactérienne	11
III.2. Activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits de plantes	12
Chapitre02: Matériel et Méthodes	
1. Matériel biologique	13
1.1. Matériel végétal	13
1.1.1. Récolte	13
1.1.2. Séchage du matériel végétal.....	13
1.1.3. Stockage du matériel végétal	13
1.2. Matériel microbiologique	13
2. Matériel de laboratoire	14
3. Méthode d'extraction.....	14
3.1. Pour l'huile essentielle.....	14
3.1.1. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation	14
3.1.2. Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur	15
3.2. Extraction aqueuse	15
3.2.1. Préparation de la poudre	15
3.2.2. Préparation d'extrait aqueux	16
4. Détermination du rendement d'extraction	17
4.1. Pour l'huile essentielle.....	17

4.2. Pour l'extrait aqueux.....	17
5. Evaluation de l'activité antioxydant par un test de piégeage du radical libre DPPH	17
5.1. Principe.....	17
5.2. Mode opératoire	18
6. Evaluation de l'activité antibactérienne	19
6.1. Étude de la sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les extraitsde <i>Mentha spicata</i> L.....	19
6.2. Diffusion sur milieu solide (aromatogramme)	20
6.2.1. Principe	20
6.2.2. Mode opératoire.....	21
7. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	24
Chapitre03: Résultats et Discussion	
IV-1- Résultats.....	27
IV-1-1- Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles et de l'extrait aqueux	27
IV-1-2- Rendements des différents extraits	27
IV-1-3- Résultats de l'activité antioxydant	28
IV.1.4. Résultats de l'activité antibactérienne	32
IV.1.5. Résultats de la CMI des huiles essentielles de <i>Mentha spicata</i> L.....	36
IV.1.6. Détermination de la CMI de l'extrait aqueux de <i>Mentha spicata</i> L.....	38
IV.2.Discussion	
IV.2.1.Discussion des caractéristiques organoleptiques.....	40
IV.2.2.Discussion du rendement.....	41
IV.2.3. Discussion des résultats de l'activité antioxydante des extraitsde <i>Mentha spicata</i> L.	42
IV.2.4. Discussion de résultats du test de diffusion sur disque	44
IV.2.5.Discussion de résultat de CMI	46

Conclusion.....	49
Références Bibliographique	51
Annexes	
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 1. Dénomination d'espèce étudiée	3
Tableau 2. La classification botanique de <i>Mentha spicata</i> L.....	3
Tableau 3. Souches utilisées	13
Tableau 4. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles et de l'extrait aqueux.	27
Tableau 5. Le rendement en huile essentielle et en extrait aqueux de <i>Mentha Spicata</i> L..	27
Tableau 6. Valeurs des IC ₅₀ des extraits de <i>Mentha spicata</i> et des standards.	32
Tableau 7. Diamètres d'inhibition (mm) de chaque concentration de l'huile extraite par hydrodistillation.	33
Tableau 8. Diamètres d'inhibition (mm) de chaque concentration de l'huile extraite par entraînement à la vapeur.	34
Tableau 9 . Diamètres d'inhibition (mm) fournis par l'extrait aqueux de <i>Mentha spicata</i> L.	36
Tableau 10. Détermination de la CMI de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i> L. extraite par entraînement à la vapeur sur les souches testées.....	37
Tableau 11. Détermination de la CMI de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i> L. extraite par hydrodistillation sur les souches testées.	38
Tableau 12. Détermination de la CMI de l'extrait aqueux.	38

Liste des figures

Figure 1. <i>Mentha spicata</i> L.	4
Figure 2. Extraction par hydro distillation d'huile essentielle.	8
Figure 3. Extraction par entraînement à la vapeur.	9
Figure 4. Montage de l'extraction par hydrodistillation.	14
Figure 5. Montage de l'extraction de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur.	15
Figure 6. Etapes de préparation de la poudre.	16
Figure 7. Etapes de préparation de l'extrait aqueux.	17
Figure 8. Réduction du radical DPPH par un antioxydant.	18
Figure 9. Diffusion sur milieu solide (aromatogramme)	21
Figure 10. Ensemencement.	22
Figure 11. Zone d'inhibition.	23
Figure 12. Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de BHT.	28
Figure 13. Pourcentages d'inhibitions du DPPH en fonction de la concentration de quercétine. ...	29
Figure 14. Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'HE.	30
Figure 15. Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'HE.	30
Figure 16. Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'extrait.	31
Figure 17. Résultats de l'activité antimicrobienne des HE extraites par deux méthodes	35

Liste des abréviations

AFNOR: Association française de normalisation

ATCC: American Type Culture Collection

BHT: Hydroxytoluène butylé

CMI : Concentration minimale inhibitrice

DMSO : Diméthylsulfoxyde

E. coli : *Escherichia coli*

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

GN: Gélose nutritive

g : gramme

HE: Huile essentielle

IC₅₀ : concentration d'inhibition à 50%

MH : Milieu Muller Hinton

ml: Millimètre

mm : Millimètre

P. aeruginosa : *Pseudomonase aeruginosa*

UV : Ultra-violet

µl : Microlitre

µm : Micromètre

ZI : Zone inhibition

% : Pourcent et Pourcentage

± : Plus ou moins

° C : Degré Celsius

Introduction

L'Algérie possède une flore riche en plantes médicinales, dont la majorité pousse à l'état spontané (**Baba Aïssa, 1991**). On estime à plus de 300 000 le nombre d'espèces végétales recensées dans le monde, parmi lesquelles seulement 15 % ont été étudiées d'un point de vue phytochimique, et à peine 6 % pour leurs activités biologiques (**Oyedemi et Afolayan, 2011**). Ces données soulignent le potentiel encore largement inexploité des plantes en tant que réservoirs de molécules bioactives, notamment les composés phénoliques tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les flavonols et les tanins condensés. Ces substances sont reconnues pour leurs propriétés antioxydantes, capables de neutraliser les radicaux libres et de limiter les dommages oxydatifs dans l'organisme (**Gu et al. , 2014**).

Les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées pour prévenir et traiter les maladies infectieuses, un savoir transmis à travers les cultures depuis des siècles. Face à l'augmentation des résistances aux antibiotiques synthétiques, la phytothérapie constitue une alternative intéressante. De nombreuses plantes possèdent des propriétés antimicrobiennes naturelles exploitables en médecine moderne, notamment sous forme d'extraits hydro-distillés comme les huiles essentielles ou sous forme d'extraits aqueux **Ramanoelina et al. (1987) et Duraffourd et al. (1998)**.

La menthe (*Mentha spicata*), communément appelée « naâna », se développe principalement dans les zones humides ainsi qu'à proximité des cours d'eau, notamment en basse et moyenne montagne. Depuis l'Antiquité, cette plante se distingue par la grande diversité de ses usages et occupe une place importante dans la médecine traditionnelle. Dans plusieurs régions d'Algérie, la menthe est traditionnellement utilisée pour ses propriétés digestives, antiseptiques, expectorantes, antispasmodiques et tonifiantes (**Taneja et al. ,2012**). Riche en vitamine C, en fer et en manganèse, elle possède également des vertus antioxydantes (**McKay et Blumberg, 2006**).

C'est dans ce contexte que nous avons mené cette étude afin d'évaluer l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne de *Mentha spicata*. Pour cela nous avons effectué :

- Des extractions des HE par : la méthode d'hydrodistillation et entraînement à la vapeur.
- Extraction d'extraits aqueux par macération froide.
- Détermination des rendements.

- Evaluation de l'activité anti oxydante (test de DPPH).
- Evaluation de l'effet antibactérien des HE et de l'extrait aqueux de la plante contre quatre souches ATCC, avec la méthode de diffusion de disque sur gélose.
- Détermination de la CMI.

Cette étude contient des :

Chapitre 01:

Ce chapitre présente la plante *Mentha spicata* L., ses usages, et les propriétés des huiles essentielles et de l'extrait aqueux. Il décrit les méthodes d'extraction utilisées et résume les activités biologiques connues (antimicrobienne et antioxydante) de ces extraits.

Chapitre 02: matériel et méthode

Ce chapitre détaille le matériel biologique et de laboratoire utilisé, ainsi que les protocoles appliqués pour tester les activités antioxydante (méthode DPPH) et antimicrobienne (méthode de l'aromatogramme) des huiles essentielles et de l'extrait aqueux de *Mentha spicata* L.

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

Ce chapitre présente les résultats obtenus accompagnés de commentaires, d'interprétations, ainsi que d'une comparaison avec les travaux d'autres études antérieures.

Chapitre 04: Conclusion

Présente un résumé global des résultats les plus significatifs obtenus au cours de ce travail.

Partie bibliographique

Chapitre01 : Synthèse bibliographique

I. Présentation de l'espèce *Mentha spicata* L.

I.1. Généralités sur La menthe

Elle fait partie de Genre « *Mentha* » qui appartient à la famille des labiées ou la miacées, c'est l'une des plus importantes familles dans le monde végétal, elle comporte plus de 200 genres et 3500 espèces (**Talahagcha, 2008**).

Autant les Menthes sont faciles à reconnaître à leur odeur tout à fait caractéristique, autant elles sont difficiles à distinguer les unes des autres, en raison des formes intermédiaires d'origine hybride, qui les relie (**Benayad, 2008**). Elles sont représentées par 18 espèces et environ 11 hybrides, qui se subdivisent en sous-espèces, formes, variétés, sous variétés, cultivars et sélections (**Sutour, 2010**).

Tableau 1. Dénomination d'espèce étudiée

Nom français	Menthe vert
Nom scientifique	<i>Mentha Spicata</i> L.
Nom Arabe	Naâna
Synonymes	Menthe douce Menthe romaine Menthe baume Menthe crépue Menthe vraie

I.2. Classification botanique de la plante

Tableau 2. La classification botanique de *Mentha spicata* L.

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous -embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous –classe	Dialypétaes
Famille	Labiées, lamiacées
Genre	<i>Mentha</i>

Espèce	<i>Mentha spicata</i> L.
--------	--------------------------

I.3. Origine et répartition géographique

L'origine de la menthe verte est inconnu (**Anton, 2005**). Elle est cultivée exclusivement aux USA, en Angleterre, en Hollande ainsi qu'en Afrique du nord (Algérie, Maroc...), dans beaucoup de jardins et en culture industrielle. La menthe verte supporte les endroits ombragés, elle n'est pas très exigeante pour la qualité du sol (**Anton, 2005**).

I.4. Description botanique et taxonomique

Cette espèce est une plante herbacée vivace de 25 à 75 cm de long, à tige rameuses quadrangulaires droites, munies de feuilles lancéolées de 3 à 5 cm de long et de 1 à 2 cm de large presque sessiles, vert sombre.

Les fleurs en verticilles sont rosées ou lilas ; groupées en étroits ; allongés aigus. Ses stolons sont souterrains (**Ait-Ouahioune, 2005**).



Figure 1. *Mentha spicata* L. (Photo originale, 2025).

I.5. Utilisation et bienfaits

Les effets bénéfiques de la menthe verte sont très nombreux ; elle agit comme stomachique, tonique, stimulant digestif, analgésique, diurétique, carminative, antispasmodique ... Les feuilles fraîches s'utilisent en cuisine: sauce, salades, thé, infusion. L'huile essentielle est utilisée à grande échelle dans l'industrie alimentaire pour la préparation de sucreries, boissons: sirops. Elle sert également pour parfumer les produits d'hygiène buccale, les dentifrices (**Anton, 2005**).

Les espèces du genre *Mentha* possèdent une activité antioxydante, principalement due aux acides phénoliques, aux flavones et aux flavanones, tandis que les terpènes oxygénés participent également à cette fonction protectrice **Merouane et al. (2014)** et **Brahmi et al. (2017)**.

I.6. Toxicologie

Aux doses usuelles, la consommation de la menthe douce à des fins culinaires ou comme boisson aromatique ne présente aucun risque de toxicité aiguë ni chronique. Son potentiel de sensibilisation est très faible (**Anton, 2005**).

II. Huiles essentielles et extraits des plantes

II.1. Huiles essentielles

II .1.1. Généralités

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de substances odorantes et volatiles contenues dans les végétaux (**AFNOR, 1998**), ce sont des produits obtenus d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécanique à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premières modes d'obtention ; elle peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. (**Brueton, 1999**).

II .1.2. Emplois des huiles essentielles

Dans plusieurs secteurs industriels en raison de leurs propriétés uniques. Dans l'industrie alimentaire, elles servent non seulement à améliorer le goût et l'arôme des aliments, mais aussi à agir comme conservateurs naturels grâce à leurs effets antioxydants.

Possèdent également des propriétés antimicrobiennes grâce à leurs composés bioactifs, tels que les phénols et les terpènes. Ces substances peuvent inhiber la croissance des bactéries et des champignons, ce qui les rend intéressantes pour des applications en médecine, en agroalimentaire et en conservation des produits (**Bassolé et Juliani, 2012**).

II .1.3. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

- Liquides à température ambiante. Volatiles, odorantes.

- Généralement incolores ou jaune pâle (sauf exceptions comme l'huile à azulène, bleue).
- Densité souvent inférieure à 1 (sauf cannelle, giroflier, sassafras).
- Indice de réfraction élevé et pouvoir rotatoire.
- Peu solubles dans l'eau mais y parfument ; solubles dans l'alcool, les huiles fixes et solvants organiques.
- Très sensibles à l'oxydation, ne rancissent pas.
- Tendance à la polymérisation (forment des résines), conservation limitée (Hurabielle, 1986).

II.1.4. Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique est assez complexe on y trouve généralement de nombreux constituants. Ceux-ci appartiennent principalement à deux types chimiques grands :

- Les composés terpéniques.
- les composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

Les composés d'origines diverses

Selon le mode de récupération utilisé, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînable lors de l'hydrodistillation tels que: les carbures (linéaires et ramifiés, saturés ou non), acides (C3 à C10), alcools, aldéhydes, esters acycliques, lactones (Brueton, 1999).

II.1.5. Les facteurs influençant la composition des huiles essentielles

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique et le rendement de l'huile essentielle.

La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol sont autant des facteurs d'ordre environnemental susceptibles d'exercer des modifications chimiques (Piochon, 2008) et aussi, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le séchage, le lieu de séchage, la durée de séchage, les parasites, les virus et les mauvaises herbes. Ainsi, l'action des huiles est le résultat de l'effet combiné de composés actifs et inactifs, les composés

inactifs pourraient influencer la disponibilité biologique des composés actifs et plusieurs composants actifs pourraient avoir un effet synergique (**Mohammedi, 2006**).

II.1.6. La toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels: "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme". Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important que leur utilisation de plus en plus populaire tend à se généraliser avec l'émergence de nouvelles pratiques thérapeutiques telle que l'aromathérapie (**Piochon, 2008**).

II.1.7 Procédés d'extraction des huiles essentielles

L'extraction d'une huile essentielle est une opération physico-chimique complexe visant à isoler et récupérer les composés volatils de la plante. Ce processus repose sur des mécanismes précis permettant de préserver l'intégrité et la pureté des molécules actives, garantissant ainsi leur stabilité et leur efficacité dans des applications thérapeutiques ou industrielles (**Boukhatem et al., 2019**).

A. Hydrodistillation

La distillation est un procédé thermodynamique impliquant l'immersion de la matière première dans l'eau, suivie d'une élévation contrôlée de la température jusqu'à ébullition, généralement à pression atmosphérique. Ce processus permet l'évaporation sélective des constituants volatils, facilitant la séparation des eaux aromatiques par décantation et garantissant l'extraction optimale des composés ciblés (**Ferhat, 2010**). Montre dans la figure suivante:

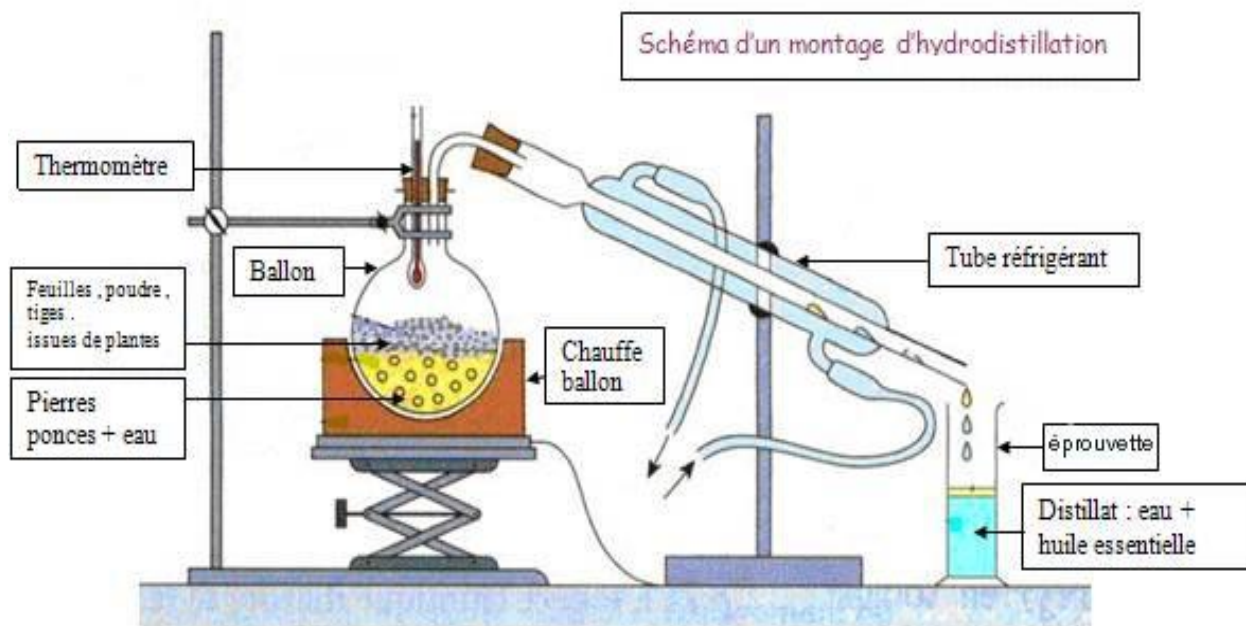


Figure 2. Extraction par hydro distillation d'huile essentielle.

B. L'entraînement à la vapeur

Dans ce procédé, l'extraction des composés volatils du matériel végétal repose sur l'utilisation de vapeur d'eau. Celle-ci est soit introduite, soit générée directement dans l'extracteur, assurant ainsi un contact optimal avec la matière végétale. Sous l'effet de la chaleur et du flux de vapeur, les constituants volatils sont libérés et entraînés dans le courant gazeux. Les vapeurs, enrichies en ces composés, sont ensuite refroidies et liquéfiées par condensation, avant d'être séparées par décantation. Le processus d'extraction est optimisé par l'injection de la vapeur à la base de l'alambic, garantissant une extraction efficace et homogène des molécules aromatiques. (Martuccia *et al.*, 2015).

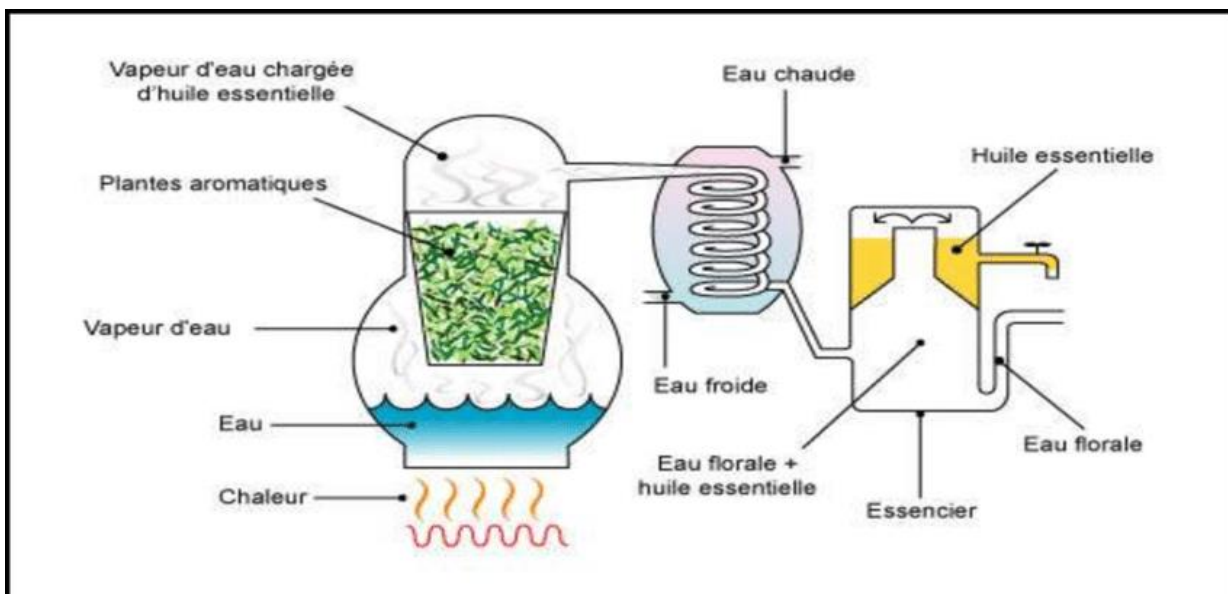


Figure 3. Extraction par entraînement à la vapeur (Mohamed Bilal Goudjil, juin 2016).

C. L'extraction par micro-ondes

Notamment la Vacuum Micro-wave Hydrodistillation (VMHD), est une méthode innovante qui utilise un rayonnement micro-ondes et une mise sous vide pour extraire l'huile essentielle. Ce procédé permet une ébullition rapide de l'eau contenue dans la matière végétale, facilitant le transfert des composés actifs hors des cellules. L'huile essentielle est ensuite récupérée par condensation et décantation des vapeurs. Cette technique est particulièrement avantageuse, car elle est rapide, économique en eau et en énergie, et produit un extrait sans solvant résiduel, garantissant une meilleure pureté. (Momponb, 1994).

II.2. Extraits de plantes

II.2.1. Généralité

La transmission intergénérationnelle du savoir concernant la préparation et l'usage des extraits préparés à base de plantes médicinales a longtemps reposé sur des pratiques empiriques, sans une compréhension précise de leurs mécanismes d'action sur l'organisme humain. Ce n'est qu'au cours du siècle dernier XXe siècle, avec la révolution scientifique et les avancées majeures en médecine, pharmacie, biologie, botanique, pharmacologie, toxicologie et pharmacognosie, que ces connaissances ont été rationalisées et validées par des études systématiques (Eddouks *et al.*, 2002).

Les extraits bruts de plantes suscitent un intérêt croissant en tant que source prometteuse de molécules bioactives. Leur richesse en composés naturels leur confère un potentiel thérapeutique significatif, notamment comme alternatives aux agents bactéricides et fongicides conventionnels. De nombreuses études explorent leur efficacité dans divers traitements, ouvrant ainsi des perspectives pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. **(Yakhlef, 2010)**.

II.2.2. Procédés d'extraction des extraits des plantes

L'extraction par solvants organiques (polaire, apolaire) est une méthode efficace pour isoler les composés bioactifs des plantes aromatiques et médicinales. Elle repose sur la solubilité différentielle des molécules dans des solvants adaptés, permettant l'extraction sélective des polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes et huiles essentielles. Selon **(Handa et al., 2008)**, les techniques d'extraction conventionnelles et avancées influencent directement le rendement et la pureté des extraits obtenus.

Les extraits sont obtenus aqueux par des procédés tels que macération, l'infusion et la décoction, qui permettent d'extraire les substances actives des plantes médicinales grâce à l'eau. Ce processus entraîne la libération des composés bioactifs par la rupture des cellules végétales, transformant ainsi la plante en une forme exploitable à des fins médicinales.

Cependant, ces préparations doivent être utilisées immédiatement ou dans un délai très court, car elles sont sujettes à la dégradation biochimique et à la contamination microbienne, entraînant la perte de leurs propriétés curatives et rendant leur consommation non viable **(Darr, 1981)**.

A. L'infusion

Elle consiste à verser l'eau bouillante sur les plantes fraîches ou sèches en laissant reposer la mixture pendant 10 à 15 minutes **(Sofowora, 2010)**.

B. La décoction

Les plantes sont versées dans l'eau froide et portées à ébullition un temps plus ou moins long, 2 ou 3 minutes pour les tiges, les feuilles et les fruits, 5 minutes ou plus pour les écorces et les racines **(Pierre et Lis, 2007)**.

C. La macération

La macération consiste à extraire les principes actifs des plantes en les immergeant dans l'eau ou l'alcool. Dans l'eau, elle dure environ 10 à 12 heures, au-delà desquelles l'oxydation et la fermentation peuvent compromettre la stabilité de l'extrait (**Pierre et Lis, 2007**).

➤ **La macération à chaud**

est une méthode efficace pour extraire les composés phénoliques et aromatiques des plantes, notamment *Mentha spicata* L.. Selon (**Van Schalkwyk et al., 2018**), la température joue un rôle clé dans l'optimisation du rendement des polyphénols et de la qualité sensorielle des extraits. En maintenant une température entre 60°C et 75°C, l'extraction des antioxydants est maximisée tout en limitant la dégradation thermique des molécules actives.

➤ **La macération à froid**

est une méthode d'extraction douce qui préserve les composés thermosensibles des plantes grâce à une immersion prolongée dans un solvant à température modérée. Selon (**Tourabi et al., 2025**), l'optimisation du processus d'extraction et le choix de la polarité du solvant permettent une récupération plus efficace des phytoconstitués bioactifs, améliorant ainsi leurs propriétés fonctionnelles et nutritionnelles.

III. Activités biologiques des huiles essentielles et des extraits

III.1. L'activité antimicrobienne

III.1.1. activité antifongique

présente une activité antifongique, Elle inhibe la croissance de divers champignons pathogènes (**Mostefa et al., 2020**).

III.1.2. Activité antivirale

Possède une activité antivirale grâce à sa richesse en composés comme la carvone et le limonène. Des études ont montré que ses huiles essentielles peuvent inhiber certains virus tels que l'herpès simplex type 1 (HSV-1) et, dans une moindre mesure, le virus de la grippe A. (**Sharifi-Rad et al., 2012**).

III.1.3. Activité antibactérienne

Les huiles essentielles exercent une activité antibactérienne étendue, agissant contre une grande diversité de bactéries, y compris celles qui présentent une résistance aux antibiotiques. Cette

efficacité est toutefois spécifique à chaque huile essentielle et dépend également de la souche bactérienne ciblée. **(Guinoiseau, 2010).**

III.1.3.1. Le mode d'action

Le mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries reste peu étudié, mais plusieurs observations ont été rapportées :

- Elles interfèrent avec la bicouche lipidique de la membrane cellulaire, augmentant ainsi sa perméabilité et entraînant une perte des constituants cellulaires.
- altèrent les systèmes enzymatiques, notamment ceux impliqués dans la production d'énergie et la synthèse des composants structuraux.

Elles peuvent induire la destruction ou l'inactivation du matériel génétique bactérien. **(Daferera et al., 2003).**

III.2. Activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits de plantes

Les huiles essentielles et les extraits de plantes suscitent un intérêt croissant en raison de leur richesse en composés bioactifs leur conférant une activité antioxydante notable. Cette activité est principalement attribuée à la présence de phénols, de flavonoïdes et d'autres métabolites secondaires capables de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ERO), limitant ainsi les dommages cellulaires causés par le stress oxydatif. De nombreuses études ont démontré leur rôle dans la prévention des maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète et l'hypertension. Par conséquent, ces substances naturelles représentent une alternative prometteuse dans le développement de stratégies thérapeutiques préventives ou complémentaires **(Cole et al., 2005)**. Des études ont montré que les antioxydants pourraient ralentir la progression de la maladie d'Alzheimer en limitant le stress oxydatif et les dommages neuronaux **(Howes et al., 2003)**.

Partie expérimentale

Chapitre02:

Matériel et Méthodes

1. Matériel biologique

1.1. Matériel végétal

1.1.1. Récolte

Le matériel végétal est représenté par la partie aérienne (les feuilles et les tiges) de *Mentha spicata* L. qui a été récolté dans la période du mois de février jusqu'au mois de mars au niveau de la région de Chetma, qui est une commune située dans la wilaya de Biskra, en Algérie. Ses coordonnées géographiques sont 34° 50' 41 nord, 5° 47' 38 est. Elle se trouve dans la région des Ziban, à l'est-nord-est de Biskra, dans la basse vallée de l'Oued Abiod.

1.1.2. Séchage du matériel végétal

Après la récolte et le nettoyage, la partie aérienne de cette espèce est mise à sécher, étalée en couche mince sur du papier, à une température ambiante, pendant 7 jour, dans un endroit aéré et à l'ombre, pour mieux conserver les molécules sensibles à la lumière et à la chaleur. Les échantillons sont retournés de temps en temps afin d'éviter tout risque de contamination qui pourrait altérer la qualité des essences (Khiari, 2018).

1.1.3. Stockage du matériel végétal

Après séchage, les échantillons sont découpés en petits morceaux et mis dans des sacs en papier et conservés, à l'abri de la chaleur et de la lumière. Ces échantillons vont servir pour l'extraction des huiles essentielles et à la préparation d'extraits aqueux. (Ouafi et al., 2015).

1.2. Matériel microbiologique

Ce sont des souches référenciées qui ont été fournies par établissement public hospitalier Ahmed Ben Bella de wilaya de kenchla.

Tableau 3. Souches utilisées .

Souche	Références	Gram
<i>Escherichia coli</i>	25422	-
<i>Pseudomonase aeruginosa</i>	27953	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	700603	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	29213	+

2. Matériel de laboratoire

Voire l'annexe 1

3. Méthode d'extraction

3.1. Pour l'huile essentielle

3.1.1. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

Une quantité de 100 g de matière végétale, composée des parties aériennes (feuilles et tiges), est placée dans un ballon de 2 L contenant de l'eau distillée jusqu'aux deux tiers de son volume montre dans la figure 05. Le mélange est ensuite porté à ébullition pendant 3 heures (**Zaki *et al.*, 2024**). La chaleur provoque l'éclatement des cellules sécrétrices, libérant ainsi les composés organiques volatils. Ces derniers sont entraînés par la vapeur d'eau vers un réfrigérant, où ils se condensent sous forme de gouttelettes dans le tube gradué du dispositif de Clevenger. En raison de leur différence de densité et de leur non-miscibilité, l'huile essentielle et l'hydrolat (l'eau) se séparent en deux phases distinctes. À la fin de l'extraction, l'huile essentielle est récupérée par décantation, puis stockée à 4 °C dans un flacon stérile, hermétiquement fermé et protégé de la lumière afin de préserver sa stabilité pendant a 1 ans.



Figure 4. Montage de l'extraction par hydrodistillation. (Photo originale, 2025).

3.1.2. Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur

L'extraction par entraînement à la vapeur est une méthode reconnue pour obtenir les huiles essentielles. Elle consiste à faire passer de la vapeur à travers les plantes, sans macération préalable. Cette vapeur capte les composés volatils, qui sont ensuite condensés et séparés dans un essencier en deux phases : une phase aqueuse (hydrolat) et une phase huileuse (huile essentielle). L'eau (1 L) ne rentre pas directement en contact avec les petits morceaux de la partie aérienne (feuilles et tiges) de plante (100 g). De même, l'eau ne touche pas directement les molécules aromatiques.

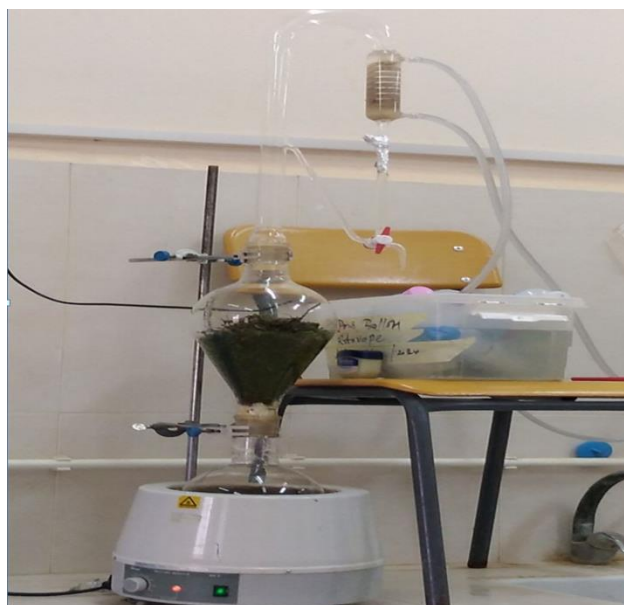


Figure 5. Montage de l'extraction de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur. (Photo originale, 2025).

3.2. Extraction aqueuse

3.2.1. Préparation de la poudre

Après le séchage, la partie aérienne de la plante a été broyée à l'aide d'un mixeur. La poudre obtenue a ensuite été tamisée, puis conservée dans des bocaux opaques, à l'abri de la lumière et de l'humidité, afin de prévenir toute contamination ou dégradation des substances actives.

Broyage a l'aide d'un mixeurTamisage.



Figure 6. Etapes de préparation de la poudre.

3.2.2. Préparation d'extract aqueux

On pèse une quantité de 40 g de poudre de la partie aérienne, puis l'homogénéisée avec 100 mL d'eau distillée. Le mélange est ensuite placé dans un erlenmeyer et soumis à une agitation magnétique continue pendant 24 heures afin de permettre la macération (**Ouattara *et al.*, 2003**).

L'extract va être filtré par filtration à vide, ensuite après filtration de l'extract aqueux, le filtrat a été soigneusement collecté et placé dans une boîte de Pétri en verre, puis soumis à un pesage de précision. Il a ensuite été transféré dans une étuve à 40 °C pour une évaporation progressive de l'eau sur une période de 3 jours.

À l'issue de cette durée, une nouvelle pesée a révélé une diminution de la masse, attestant de la perte en eau. Un cycle de séchage supplémentaire, appliqué sous les mêmes conditions, a permis d'atteindre un poids constant, confirmant ainsi la dessiccation complète de l'échantillon.

Le résidu sec obtenu a été délicatement raclé et récupéré (gratté) à l'aide d'une lame, puis stocké dans un flacon en verre propre et stérile, dans réfrigérateur à 4°C garantissant son intégrité en vue d'une utilisation ou d'une analyse ultérieure.

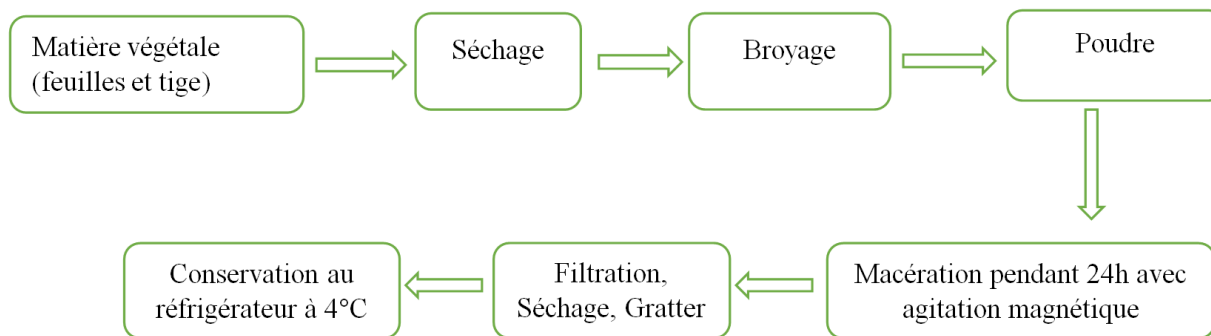


Figure 7. Etapes de préparation de l'extrait aqueux.

4. Détermination du rendement d'extraction

4.1. Pour l'huile essentielle

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait ou huile obtenu et la masse sèche de la matière végétale utilisée, ce rapport permet d'estimer la production en huiles essentielles de plante (**Bruneton, 1999**) le rendement est exprimé en pourcentage (%), il est calculé selon la formule suivante : $R(\%) = (P1 / P2) * 100$.

R : rendement en huile essentielle ou extrait en pourcentage (%).

P1 : poids de l'huile essentielle (g).

P2 : poids du matériel sec (g).

4.2. Pour l'extrait aqueux

Le rendement est exprimé en pourcentage est calculé comme suit : $R(\%) = (M / M_0) * 100$

R(%) : Rendement exprimé en pourcentage.

M : Masse en gramme de l'extrait résultat.

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal traité.

5. Evaluation de l'activité antioxydant par un test de piégeage du radical libre DPPH

5.1. Principe

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) est un radical libre stable, le mécanisme de ce test repose sur la capacité des antioxydants à neutraliser les radicaux libres via des transferts d'électrons ou de protons, fournissant une méthode fiable pour caractériser leur pouvoir antioxydant (**Takao et al., 1994 ; Brand-Williams et al., 1995 ; Yen et Chien-Ya, 2000**).

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être quantifiée par spectrophotométrie visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm. Le radical DPPH, caractérisé par une coloration violette intense, subit une décoloration progressive lorsqu'il accepte un électron ou un atome d'hydrogène de l'antioxydant, traduisant la neutralisation de son état radicalaire. Cette méthode spectrophotométrique constitue ainsi un outil fiable pour l'évaluation du pouvoir antioxydant direct des substances phénoliques présentes dans les extraits biologiques (Molyneux, 2004).

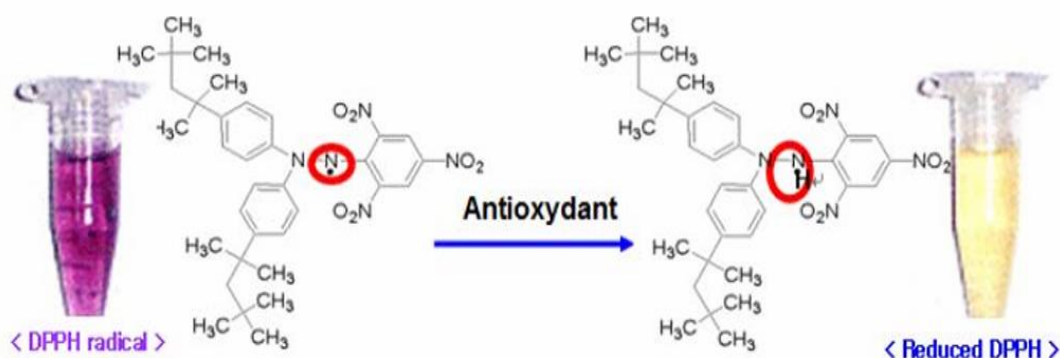


Figure 8. Réduction du radical DPPH par un antioxydant.

5.2. Mode opératoire

A) Préparation de solution DPPH

2.5mg de DPPH dissout dans 100ml de méthanol ont été mélange à l'aide de vortex, la préparation a été conservée à l'abri de lumière jusqu'à utilisation.

B) Préparation des concentrations des huiles essentielles et d'extrait aqueux

L'extrait, et les huiles essentielles, sont préparés sous forme de solution mères dans du méthanol, ces solutions ont subi ensuite des dilutions permettant d'obtenir des concentrations allant de 980 jusqu'à 30.625 mg/ml pour les huiles essentielles extraites par entraînement à la vapeur et de 960 jusqu'à 30 mg/ml pour HE extraites par hydrodistillation. Ainsi que des concentrations allant de 50 jusqu'à 1.56 mg/ml ont été préparées pour l'extrait aqueux.

C) Essai DPPH

Dans des tubes secs stériles, on a introduit à partir des solutions mères (HE et extrait) respectivement.

2 ml de solution DPPH sont ajoutées dans chaque tube.

On a incubé pendant 30 minutes à température ambiante et l'abri de la lumière.

Pour chaque concentration, le test est réalisé trois fois.

Pour chaque série on a préparé un blanc constitué de méthanol et la solution DPPH.

Les solutions standards : quercétine et Butylated Hydroxytoluene (BHT) sont préparées en suivant les mêmes étapes et les mêmes conditions expérimentales avec des concentrations de 10 jusqu'à 0.312 mg/ml.

La lecture est effectuée par la mesure de l'Abs à la longueur d'onde de 517nm par spectrophotomètre (**Diop et al., 2021**).

Les résultats sont exprimés en activité antioxydante, définissant la capacité à piéger les radicaux libres, elle est estimée en pourcentage (%) de décoloration du DPPH et se calcule selon la formule suivante (**wang et al., 2008**):

$$\% = [(Abs\ c - Abs\ e) / Abs\ c]. 100$$

Avec:

Abs c: Absorbance du contrôle.

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

Les résultats ont été exprimés par la moyenne des trois mesures $\pm$ écart type.

La détermination d'IC₅₀, a été effectuée pour chaque HE ainsi que pour l'extrait aqueux. Elle est définie comme étant la concentration de substrat qui cause l'inhibition de 50% de DPPH. Les valeurs d'IC₅₀ ont été calculées graphiquement.

6. Evaluation de l'activité antibactérienne

6.1. Étude de la sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les extraits de *Mentha spicata* L.

La technique utilisée est celle de la diffusion sur disque en milieu gélosé ou encore méthode des disques (**Dayalet Purohit, 1971**), inspirée de celle des antibiogrammes (**Tharib et al., 1983**).

L'aromatogramme est devenu une méthode qualitative *in vitro* permettant d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles et autres extraits naturels. Il offre un aperçu précieux de leur potentiel antimicrobien en déterminant leur capacité à inhiber la croissance des bactéries. **(Gulluce et al. ,2007).**

L'huile essentielle est évaluée sur des souches bactériennes préalablement sélectionnées, à la fois sous sa forme brute (méthode des disques) et sous forme diluée (détermination de la CMI). Afin de garantir des résultats fiables, il est essentiel de travailler dans des conditions standardisées, car plusieurs paramètres peuvent influencer sur l'analyse, notamment la densité de l'inoculum, la température et la durée d'incubation, la concentration du produit testé, la composition du milieu de culture ainsi que l'épaisseur de la gélose **(Guerin-Fauble et Carret, 1999).**

6.2. Diffusion sur milieu solide (aromatogramme)

L'aromatogramme est une technique microbiologique permettant d'évaluer, à l'image d'un antibiogramme, la sensibilité des micro-organismes à diverses substances. Il vise à déterminer leur pouvoir antibactérien et antifongique en analysant les zones d'inhibition formées autour des agents testés **(Salle, 1991).**

6.2.1. Principe

Cette méthode repose sur la diffusion d'un composé antimicrobien à travers un milieu solide dans une boîte de Pétri. Après une période de Le diamètre de cette zone permet de classer la souche comme sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante contact entre le produit et le microorganisme cible, son efficacité est évaluée par la mesure de la zone d'inhibition **(Benjilali et al. , 1986).**

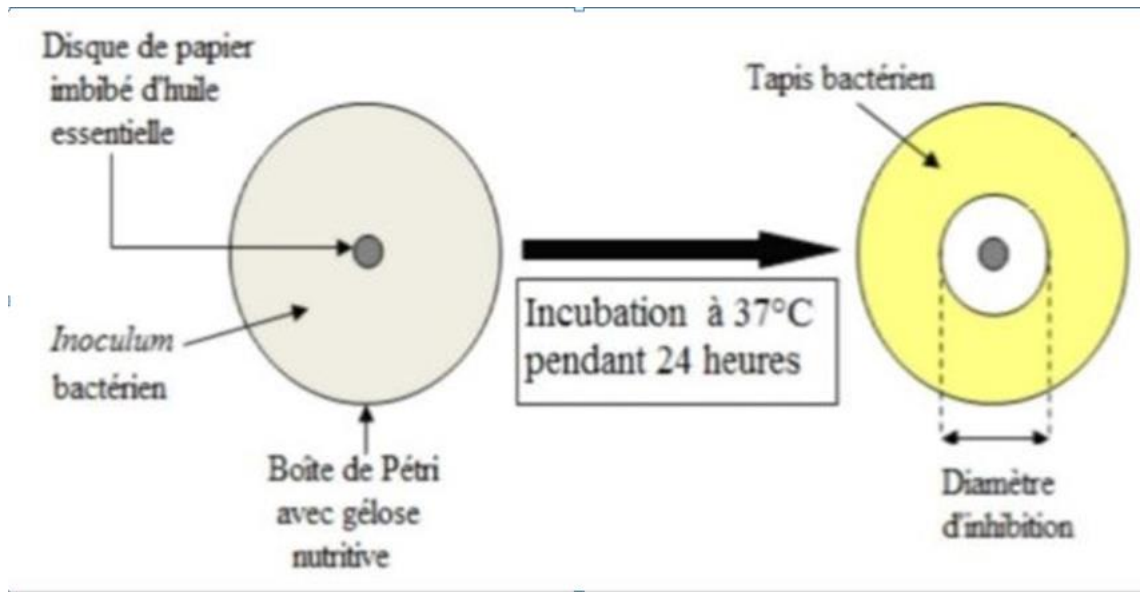


Figure 9. Diffusion sur milieu solide (aromatogramme) (Tharib *et al.*, 1983)

6.2.2. Mode opératoire

A) Préparation des milieux de culture

On a utilisé 4 milieux : Gélose nutritive (GN) pour subculture (repiquage).

- Bouillon nutritif (BN) pour la croissance rapide, préparation d'inoculum.
- Mueller-Hinton Agar (MHA) pour le test de sensibilité aux agents antimicrobiens.
- Mueller-Hinton Broth (MHB) pour le test de la CMI.

Pour tous les milieux, on a dissous la quantité préconisée dans 1 L d'eau distille, chauffé doucement pour dissoudre et mesuré le pH à 7, ensuite auto clavé à 120°C pendant 20 min.

Coulage des milieux dans les boites pétri stériles, et rondes de 85 mm de diamètre, puis laissé se refroidir et solidifier sur la paillasse, à température ambiante.

B) Conservation et revivification des souches

Les souches bactériennes sont entretenues par repiquage sur la gélose nutritive (GN). Incubées pendant 24 h à 37 °C, elles sont conservées à 5 °C boites pétri contenant de la gélose nutritive. (Cette opération répété chaque 3jours).

C) Préparation de l'inoculum

La suspension bactérienne est obtenue à partir de cultures pures. À l'aide d'une anse de platine, 3 à 5 colonies bien isolées et homogènes sont prélevées, puis déposées dans 5 ml d'eau

physiologique stérile à 0,9 % de NaCl. La suspension est ensuite homogénéisée manuellement, jusqu'à dissolution totale des colonies dans l'eau physiologique et avoir une solution de 0.5 Mac Farland, à une densité optique entre 0.08 -0.1, à 620nm (**Guzm *et al.* ,2018**).

Quatre tubes correspondant aux quatre souches utilisées, ont été préparés.

D) Ensemencement

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes Pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis essoré en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée MH, de haut en bas en stries serrées.

L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche.



Figure 10. Ensemencement (Photo originale, 2025).

E) Dépôt des disques

Des disques de papier Whatman n°5 stérilisés de 6 mm de diamètre ont été préparés, puis remplis par 10 µl d'huile essentiel (pure et dilué dans le DMSO : 1/2, 1/4, 1/8) ou extrait aqueux dilué dans le DMSO (1/2, 1/4, 1/8), et un témoin positif (disque d'antibiotique gentamicine) et un témoin négatif 10 µl (disque remplis par DMSO), sont déposés à la surface de la gélose MH à l'aide d'une pince bactériologique stérile.

F) Incubation

Toutes les boîtes pétries sont incubées inversés à l'obscurité dans une étuve à une température de 37 °C pendant 24 heures.

G) Lecture de l'aromatogramme

Après la période d'incubation, l'effet de l'agent antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure du diamètre de la zone claire autour du disque en millimètres (zone d'inhibition où les microorganismes testés n'ont pas poussés), à l'aide d'une règle simple.

En fonction du diamètre d'inhibition on peut classer les souches étudiées en souches sensibles ou résistantes.

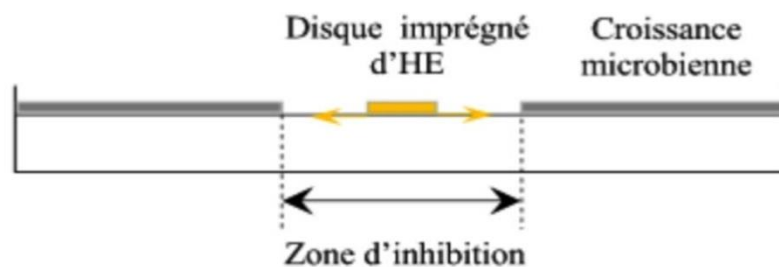


Figure 11. Zone d'inhibition.

La sensibilité des bactéries vis-à-vis l'huile essentielle est organisée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit. (**Ponce *et al.*, 2003**)

- Fortement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 20mm.
- Modérément inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est entre 15 et 19mm.
- Légèrement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est entre 9 et 14 mm.
- Non inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est 6 mm.

N.B : Afin d'assurer les conditions d'asepsie locale indispensable, le travail s'est effectué près d'un bec bunsen (pour stériliser les instruments en passant dans la flamme).

7. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Cette technique a été effectuée par **(Baron et Bruckner, 1984)** définit comme la plus faible concentration d'agent antimicrobien qui inhibe complètement la croissance dans des conditions d'incubation appropriées **(Wilkinson, 2006)**.

Le protocole utilisé pour la détermination des CMI est celui décrit par **(Balouiri et al. ,2016)** avec quelques modifications.

A) Pour les huiles essentielles

- ✚ dilutions de demi en demi ($\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{16}$) ont été effectuées et qui correspondent à une gamme de concentration allant de 11.95 mg/ml à 1.49 mg/ml (l'huile issue d'entraînement à la vapeur) et de 11.70 mg/ml à 1.46mg/ml (l'huile issue de l'hydrodistillation).
- ✚ Les mêmes dilutions ont été réalisées pour la détermination de la CMI pour chaque HE.
- ✚ 50 µl de chacune des dilutions est ajoutées dans des tubes à essais contenant 4ml de MH liquide.
- ✚ L'ensemble des tubes à essais stérile est inoculé de 50 µl des suspensions bactériennes.
- ✚ Un témoin positif qui ne contient pas l'huile essentielle est réalisé (4ml de MH liquide + 50µl de suspension bactérienne).
- ✚ Un témoin négatif qui contient 50 µl de l'huile essentielle + 4ml de MH liquide (on a préparé un témoin négatif pour chaque dilution).
- ✚ Lecture visuelle (trouble) après 24 h d'incubation à 37°C.

La concentration minimale inhibitrice est indiquée par le tube de la dilution à partir de laquelle aucune croissance microbienne n'est constatée. C'est-à-dire qu'aucune turbidité ou trouble n'est observé dans le milieu.

B) Pour l'extrait

- + Dans un tube à essai stérile, l'extrait a été dissous dans 4 mL de milieu liquide MH afin d'obtenir quatre concentrations dans un intervalle de [50-6.25mg/ml].
- + Dans chaque tube sont ajoutés 50 µl de suspensions bactériennes.
- + Contrôle positif ; 4ml de MH liquide + 50 µl suspensions bactériennes (sans extrait).
- + Contrôle négatif: extrait+ 4ml MH liquide.
- + Tous les tubes incubés pendant 24h à 37°C.
- + Lecture spectrophotométrique à 600nm.
- + Pour chaque concentration testée, l'absorbance du contrôle négatif (extrait + milieu sans bactéries) a été systématiquement soustraite de l'absorbance mesurée dans les tubes contenant l'extrait dissous dans le milieu de culture en présence des bactéries. Cette correction permet d'éliminer l'interférence optique induite par la coloration intrinsèque de l'extrait, garantissant ainsi une mesure plus précise de la densité bactérienne réelle et de l'effet antimicrobien du composé testé (**Li et al.,2020**).

Chapitre03:

Résultats et Discussion

IV-1- Résultats

IV-1-1- Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles et de l'extrait aqueux

Les propriétés organoleptiques sont un critère clé pour vérifier et contrôler la qualité des huiles essentielles. Après le processus d'extraction, les caractéristiques sensorielles de nos huiles essentielles et de l'extrait aqueux :

Tableau 4. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles et de l'extrait aqueux.

	Aspect	Couleur	Odeur
l'HE par hydrodistillation	Liquide mobile	Jaune claire	une forte odeur caractéristique
l'HE par entraînement à la vapeur	Liquide mobile	Vert jaunâtre	odeur caractéristique très forte
Extrait aqueux	poudre fine (après séchage et grattage)	vert brune	odeur herbacée moins intense que l'HE

IV-1-2- Rendements des différents extraits

Le rendement en huile essentielle et en extrait aqueux de *Mentha Spicata* L. sont exprimés en pourcentage par rapport à la matière végétale sèche, les résultats obtenus sont présents dans le tableau 05.

Tableau 5. Le rendement en huile essentielle et en extrait aqueux de *Mentha Spicata* L.

Extraits	Rendement (%)
Huile essentielle par hydrodistillation.	0.76 (%)
Huile essentielle par entraînement à la vapeur.	1.77 (%)
Extrait aqueux.	5.325 (%)

Le tableau 05 met en évidence les rendements obtenus selon différentes méthodes d'extraction appliquées à la partie aérienne de *Mentha spicata* L. L'extrait aqueux affiche le rendement le plus élevé (5,325 %).

Par ailleurs, l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur a présenté un rendement supérieur (1,77 %) à celui obtenu par hydrodistillation (0,76 %).

IV-1-3- Résultats de l'activité antioxydant

L'activité anti radicalaire a été estimée en utilisant la technique spectrophotométrique, en surveillant la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH, ce qui indique une transition de couleur du violet (DPPH) vers le jaune (DPPH-H), mesurée à une longueur d'onde de 517nm. À des fins comparatives, deux antioxydants standards ont été utilisée : le BHT et la quercétine. Les résultats obtenus ont permis de tracer des courbes à caractère exponentiel.

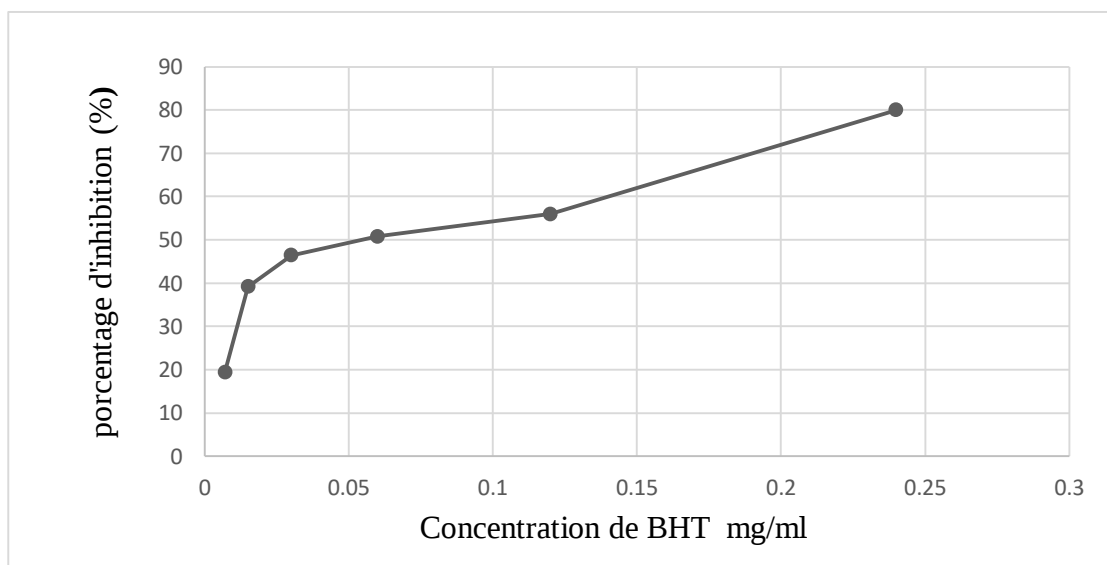


Figure 12. Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de BHT.

Le graphe présenté dans la figure 12 illustre l'effet de la concentration de BHT (Butylhydroxytoluène) sur le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH. On observe une relation croissante entre la concentration de BHT et l'activité antioxydante, indiquée par l'augmentation progressive du pourcentage d'inhibition. À mesure que la concentration en BHT augmente de 0,01 mg/mL à 0,25 mg/mL, le taux d'inhibition passe d'environ 20 % à plus de 80

%. Ce comportement traduit une efficacité croissante du BHT dans le piégeage des radicaux libres, confirmant ainsi son rôle puissant en tant qu'antioxydant de référence. Ce résultat permet d'établir une base comparative pertinente pour évaluer l'activité antioxydante des extraits naturels testés.

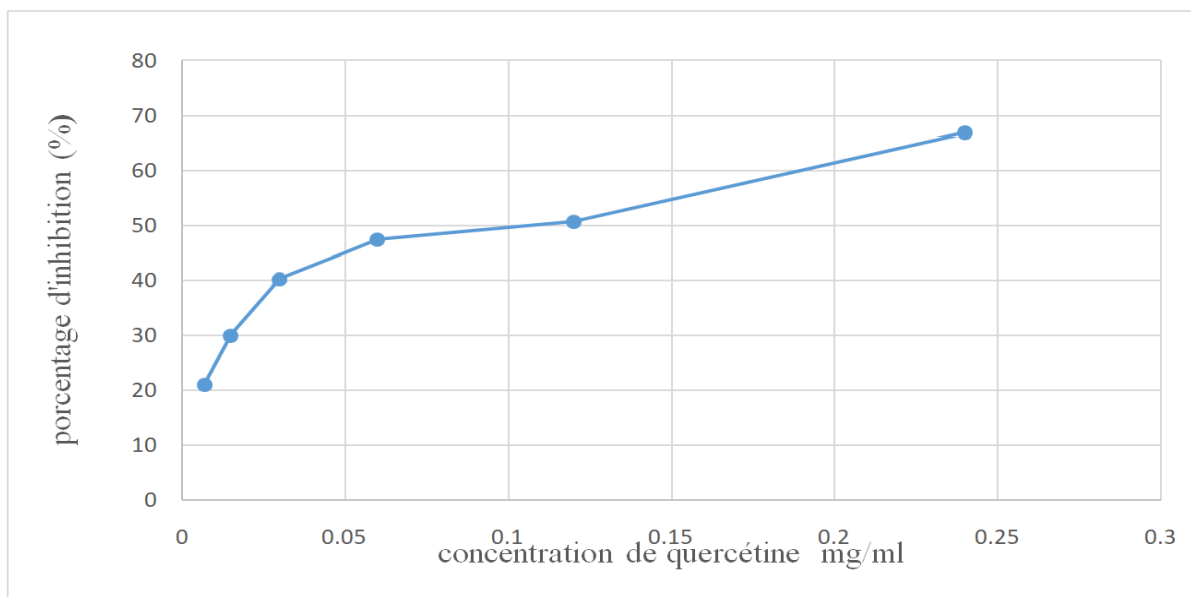


Figure 13. Pourcentages d'inhibitions du DPPH en fonction de la concentration de quercétine.

Le graphique 13 montre l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration de quercétine (en mg/ml). On observe une relation croissante entre la concentration de quercétine et le pourcentage d'inhibition, ce qui traduit une activité antioxydant dépendante de la dose.

L'augmentation du pourcentage d'inhibition est modérée, indiquant que la quercétine est efficace.

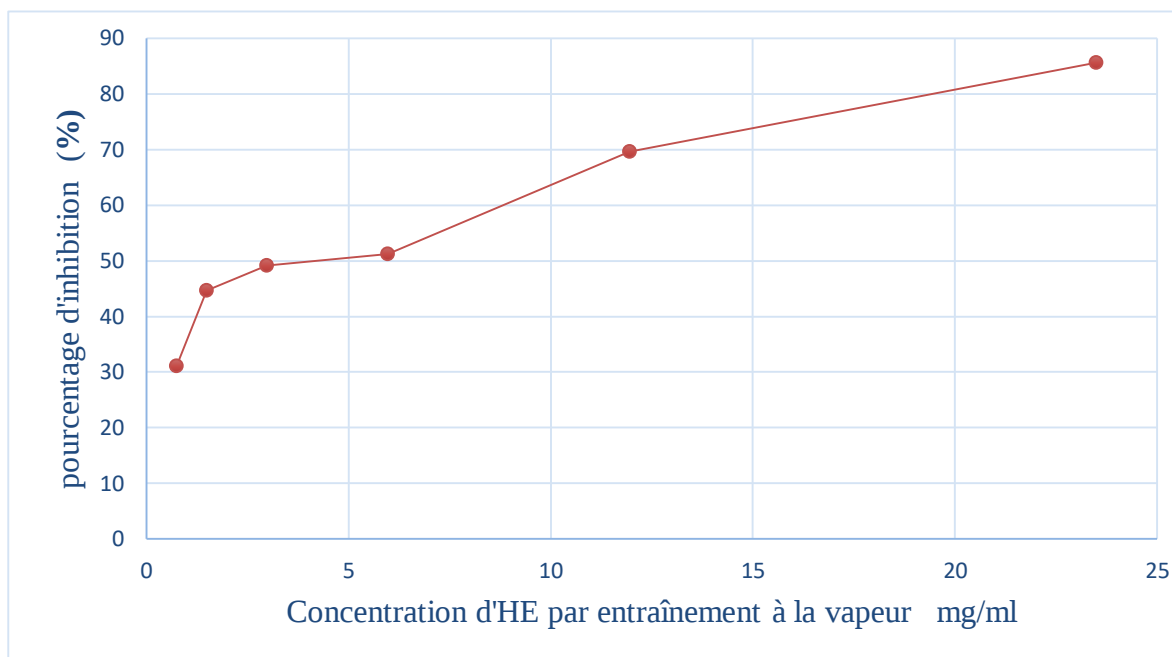


Figure 14. Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'HE.

La courbe de figure 14 présente une augmentation progressive du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'huile essentielle (HE). À faible dose (1 mg/ml), l'inhibition avoisine 30 %, tandis qu'elle dépasse 80 % à la concentration maximale testée (24 mg/ml). Ces résultats révèlent une activité antioxydante significative et clairement dose-dépendante de l'HE obtenue par entraînement à la vapeur.

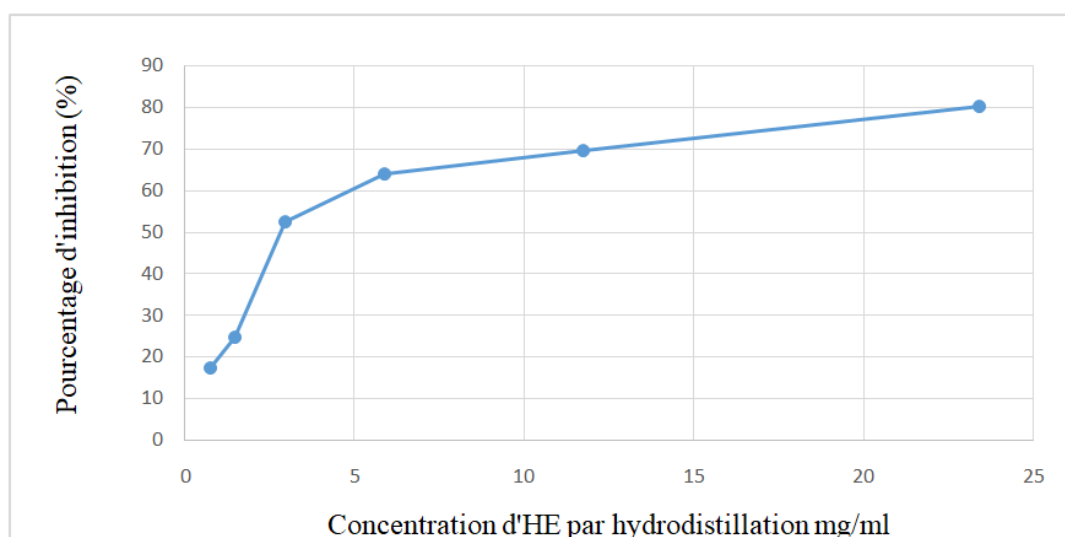


Figure 15. Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'HE.

Le graphique (figure 15) représente la variation du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration de l'huile essentielle (HE) extraite par hydrodistillation (en mg/ml). On observe une augmentation significative de l'activité antioxydante avec l'augmentation de la concentration de l'HE.

Le pourcentage d'inhibition augmente rapidement, passant d'environ 18 % à plus de 50 %, ce qui indique une efficacité notable de l'HE. Entre 5 et 25 mg/ml, l'augmentation se poursuit, mais de manière lente, atteignant environ 80 %.

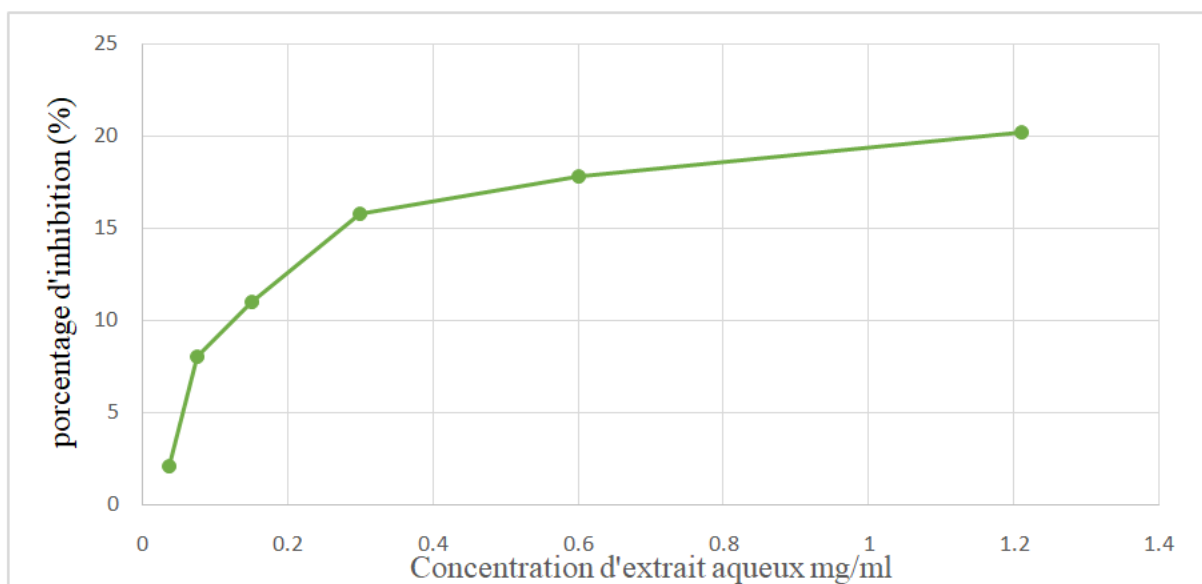


Figure 16. Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'extrait.

Le graphique (figure 16) montre l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration de l'extrait aqueux (en mg/ml). On observe une augmentation modérée de l'activité antioxydante avec l'augmentation de la concentration de l'extrait.

À faibles concentrations (inférieures à 0,2 mg/ml), le pourcentage d'inhibition augmente rapidement, passant d'environ 3 % à plus de 10 %. Cependant, au-delà de cette concentration, la courbe tend à se stabiliser, atteignant un maximum d'environ 19 % à 1,2 mg/ml. Cette faible activité antioxydante, comparée à celle de la quercétine ou des huiles essentielles, suggère que l'extrait aqueux possède une activité antioxydante limitée.

Tableau 6. Valeurs des IC₅₀ des extraits de *Mentha spicata* et des standards.

Extrait	IC ₅₀ (mg/ml)
HE par hydrodistillation	2.45 ± 0.2
HE par entraînement à la vapeur	1.76 ± 0.02
Extraits aqueux	3.44 ± 0.19
BHT	0.08 ± 0.001
Quercétine	0.12 ± 1.69

Les résultats obtenus indiquent que l'huile essentielle de *Mentha spicata* extraite par entraînement à la vapeur présente l'activité antioxydante la plus élevée parmi les extraits testés, avec une valeur IC₅₀ de 1,76 ± 0,02 mg/mL. Cette activité diminue légèrement avec l'huile obtenue par hydrodistillation (IC₅₀ : 2,45 ± 0,20 mg/mL), puis de manière plus marquée avec l'extrait aqueux (IC₅₀ : 3,44 ± 0,19 mg/mL). En revanche, les antioxydants de référence, à savoir le BHT (IC₅₀ : 0,08 mg/mL) et la quercétine (IC₅₀ : 0,12 ± 1,69 mg/mL), se sont révélés nettement plus puissants, traduisant une efficacité antioxydante supérieure à celle des extraits végétaux étudiés, plus la valeur d'IC₅₀ est petite plus l'activité antioxydante est puissante.

IV.1.4. Résultats de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des huiles essentielles et de l'extrait aqueux de *Mentha spicata* L. a été évaluée à l'aide de deux approches complémentaires : la méthode de diffusion sur disque, connue sous le nom d'aromatogramme, et le test de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Cette évaluation repose principalement sur la mesure du diamètre des zones d'inhibition formées autour des disques imprégnés soit d'huile essentielle, soit d'extrait aqueux de *Mentha spicata* L. L'huile essentielle a été testée contre des souches bactériennes de référence appartenant à la collection ATCC (American Type Culture Collection), ce qui permet de garantir la validité et la reproductibilité des résultats obtenus.

La méthode de l'aromatogramme est largement utilisée pour déterminer le potentiel antimicrobien des huiles essentielles. Elle consiste à déposer 10 µL d'essence végétale sur un

disque placé sur un milieu gélosé ensemencé. L'efficacité de l'huile est alors déterminée par le diamètre de la zone d'inhibition qui entoure chaque disque. Selon la classification proposée par (Ponce et al. ,2003), la sensibilité des microorganismes testés est interprétée en fonction de la taille de ces zones.

- Non sensible 6 mm.
- Sensible 9 – 14 mm.
- Très sensible 15 – 19 mm.
- Extrêmement sensible Plus de 20 mm.

Tableau 7. Diamètres d'inhibition (mm) de chaque concentration de l'huile extraite par hydrodistillation.

Souche	Code ATCC	Gentamicine	Huile Pure	Degré d'inhibition	Dilutions		
					1/2	1/4	1/8
<i>Escherichia Coli</i>	25422	21	10.5±0.7	+ (sensible)	9±0	8.25±0.3	7.75±1.06
<i>Staphylococcus aureus</i>	29213	26	15±0	++ (très sensible)	11 ± 0	9 ± 0	8 ± 0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27953	25	11.5±0.7	+ (sensible)	8.5 ±0.7	8±0	7±0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	700603	19	11±0	+ (sensible)	9.5±0.7	8.25±1.7	7.5±0.7

Le disque contenant le DMSO n'a présenté aucune zone d'inhibition, ce qui confirme que le solvant utilisé n'a pas d'effet antimicrobien.

Cette huile a montré une inhibition remarquable sur la souche de Gram + : *Staphylococcus aureus* (15mm), et une inhibition légèrement efficace sur les souches de Gram- : *Pseudomonas aeruginosa* (11.5mm) et *Klebsiella pneumoniae* (11mm) et *Escherichia coli* (10.5mm).

En se basant sur les valeurs présentées dans le tableau 07, on observe que l'activité inhibitrice de l'huile varie selon la souche bactérienne et la concentration utilisée. Pour *Escherichia coli* (ATCC 25422), l'inhibition persiste jusqu'à la dilution 1/8 avec un diamètre moyen de 7,75 ± 1,06 mm, ce qui reflète une sensibilité modérée de cette souche. *Staphylococcus*

aureus (ATCC 29213) a montré la plus grande sensibilité, avec une activité inhibitrice maintenue jusqu'à la dilution 1/8 (8 ± 0 mm), indiquant un effet notable même à faible concentration. Dans le cas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27953), l'inhibition persiste également jusqu'à 1/8, mais avec un diamètre limité à 7 ± 0 mm, ce qui révèle une résistance relative malgré la présence d'un effet. Enfin, *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) présente également une inhibition jusqu'à la dilution 1/8 avec un diamètre de $7,5 \pm 0,7$ mm. Ainsi, l'huile essentielle présente une activité antimicrobienne effective même à des concentrations diluées (1/8) contre toutes les souches étudiées, avec des variations d'intensité, l'effet le plus faible étant observé chez *E. coli*.

Tableau 8. Diamètres d'inhibition (mm) de chaque concentration de l'huile extraite par entraînement à la vapeur.

Souche	Code ATCC	Gentamicine	Huile Pure	Degré d'inhibition	Dilutions		
					1/2	1/4	1/8
<i>Escherichia coli</i>	25422	21	10.5 ± 0.7	+(sensible)	10 ± 0	9 ± 0	8 ± 0
<i>Staphylococcus aureus</i>	29213	26	18 ± 0	++(très sensible)	12 ± 0	9.5 ± 0.7	9 ± 0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27953	25	13.5 ± 0.7	+(sensible)	9.5 ± 0.7	8.5 ± 0.7	7.75 ± 0.3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	700603	19	10 ± 0	+(sensible)	9.5 ± 0.7	8.25 ± 1.7	7.5 ± 0.7

Le disque contenant le DMSO n'a présenté aucune zone d'inhibition, ce qui confirme que le solvant utilisé n'a pas d'effet antimicrobien.

Cette huile a montré une inhibition très efficace sur la souche *Staphylococcus aureus* (18mm), par rapport aux souches *Pseudomonas aeruginosa* (13.5mm), *Escherichia Coli* (10.5mm) et *Klebsiella pneumoniae* (10mm) ou l'inhibition était moins efficace.

Le tableau 08 présente les diamètres d'inhibition de différentes concentrations de l'huile extraite par entraînement à la vapeur, testée contre quatre souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*. Les essais ont été réalisés selon la méthode de diffusion en milieu gélosé, avec quatre concentrations de l'huile : pure, diluée à 1/2, à 1/4 et à 1/8.

Les résultats montrent que l'huile essentielle exerce une activité antibactérienne variable selon la souche testée et la concentration utilisée. La plus grande zone d'inhibition a été observée pour *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de 18 mm à l'état pur, indiquant une forte sensibilité de cette souche. À l'inverse, *Escherichia coli* présente une inhibition plus faible ($10,5 \pm 0,7$ mm pour l'huile pure).

On observe également une diminution progressive du diamètre d'inhibition avec la dilution de l'huile, ce qui met en évidence une relation dose-dépendante entre la concentration de l'huile et son efficacité antimicrobienne.

Ces résultats suggèrent que l'huile essentielle étudiée possède un potentiel antimicrobien intéressant, en particulier contre les bactéries à Gram positif, et pourrait constituer une alternative naturelle aux antibiotiques dans certaines applications.

Nous remarquons que les deux huiles essentielles ont présenté une activité antimicrobienne plus forte sur la bactérie à Gram +.

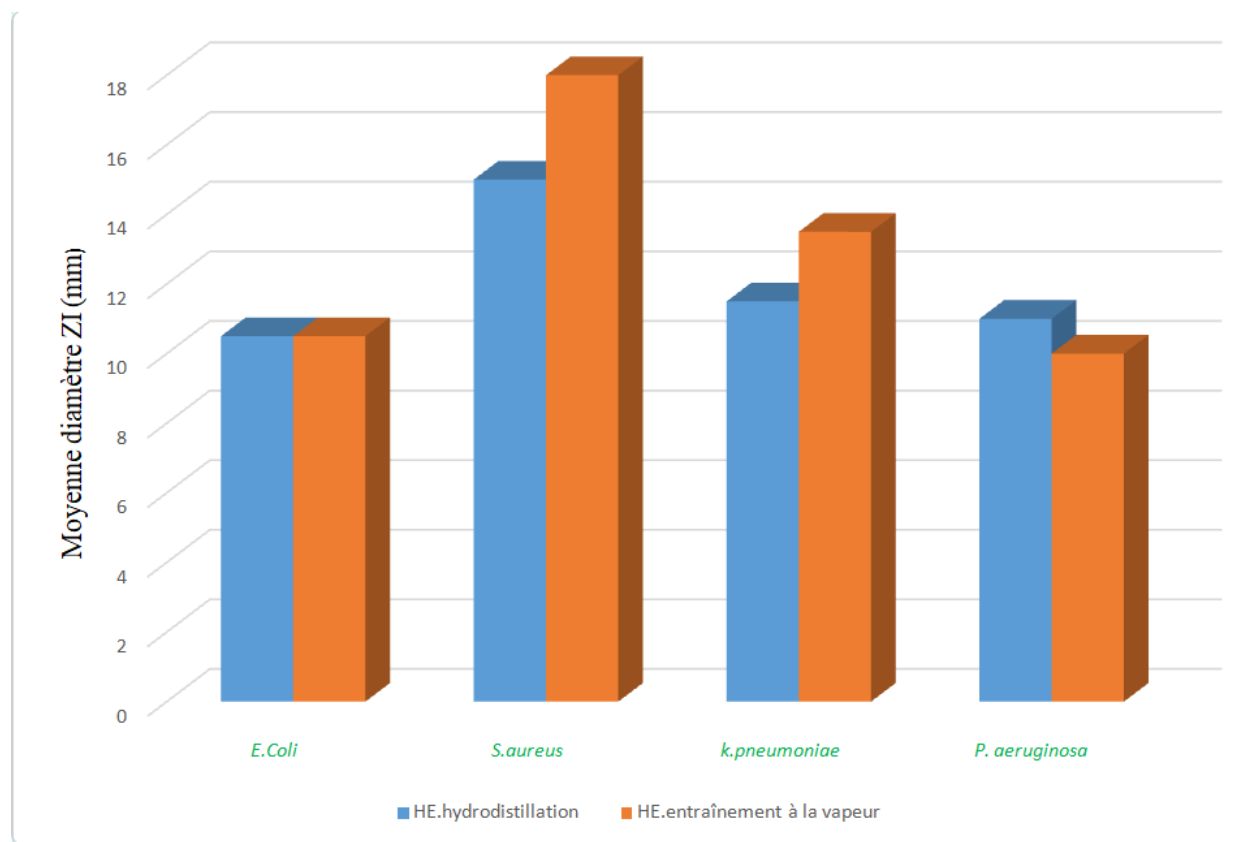


Figure 17. Résultats de l'activité antimicrobienne des HE extraites par deux méthodes .

Le graphique 17 montre une comparaison entre les résultats du test d'inhibition des deux huiles essentielles extraites de *Mentha spicata* L.

S. aureus est la bactérie la plus sensible aux huiles essentielles, avec un diamètre d'inhibition atteignant 18 mm pour l'huile obtenue par entraînement à la vapeur, par contre une valeur de 15,5 mm a été enregistrée avec l'HE extraite par hydrodistillation. Cela indique une forte efficacité antimicrobienne contre les bactéries Gram positives.

E. coli et *Klebsiella pneumoniae* ont présenté les zones d'inhibition les plus faibles, autour de 10 à 11 mm.

Tableau 9 . Diamètres d'inhibition (mm) fournit par l'extrait aqueux de *Mentha spicata* L.

Souche	Code ATCC	Gentamicine	Extrait Pure	Degré d'inhibition	Dilutions		
					1/2	1/4	1/8
<i>Escherichia coli</i>	25422	21	9±0	+	8±0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	29213	26	Abs	—	Abs	Abs	Abs
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27953	25	Abs	—	Abs	Abs	Abs
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	700603	19	Abs	—	Abs	Abs	Abs

(-) : résistance.

(+) : sensible.

Dans tous les résultats (tableau 07,08 et 09), le disque contenant le DMSO n'a présenté aucune zone d'inhibition, ce qui confirme que le solvant utilisé n'a pas d'effet antimicrobien.

Le tableau 09 montre que l'extrait aqueux de *Mentha spicata* L. Possède une activité antibactérienne limitée qui a été observée uniquement contre *E.coli*, avec un diamètre de ZI (9mm ± 0), ce qui indique une sensibilité faible. Par contre, aucune activité a été observée contre les autres souches.

IV.1.5. Résultats de la CMI des huiles essentielles de *Mentha spicata* L.

La détermination des CMI a été effectuée sur toutes les souches testées pour les huiles essentielles de *Mentha spicata* L. extraites par hydrodistillation et entraînement à la vapeur. Par

contre, pour l'extrait aqueux la CMI a été étudié sur *E. coli* seulement. Les résultats de cette étude sont regroupés dans les tableaux 07, 08 et 09.

Tableau 10. Détermination de la CMI de l'huile essentielle de *Mentha spicata* L. extraite par entraînement à la vapeur sur les souches testées.

Souche	Code ATCC	Valeur de CMI	Dilutions			
			1/2	1/4	1/8	1/16
<i>Escherichia coli</i>	25422	5.97mg/ml	–	–	+	++
<i>Staphylococcus aureus</i>	29213	2.98 mg/ml	–	–	–	+
<i>Pseudomonase aeruginosa</i>	27953	5.97 mg/ml	–	–	+	++
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	700603	5.97 mg/ml	–	–	+	++

(-) : Absence de croissance.

(+) : Croissance faible.

(++) : Croissance modérée.

(+++): Croissance élevé.

D'après le tableau 10 en remarque que les bactéries *Staphylococcus aureus* n'ont pas montré une croissance aux dilutions (1/2, 1/4,1/8) par ailleurs une croissance visible a été observée à la dilution (1/16) Les autres souches sont développées à la dilution (1/8).

Les valeurs de CMI de cette huile essentielle vis-à-vis *Staphylococcus aureus* peut être déterminé à une valeur de 2.98 mg/ml, tandis que pour *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonase aeruginosa* et *Escherichia coli*, la valeur de CMI égale à 5.97 mg/ml.

Tableau 11. Détermination de la CMI de l'huile essentielle de *Mentha spicata* L. extraite par hydrodistillation sur les souches testées.

Souche	Code ATCC	Valeur de CMI	Dilutions			
			1/2	1/4	1/8	1/16
<i>Escherichia coli</i>	25422	5.85mg/ml	–	–	++	+++
<i>Staphylococcus aureus</i>	29213	2.92 mg/ml	–	–	–	+
<i>Pseudomonase aeruginosa</i>	27953	5.85 mg/ml	–	–	++	+++
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	700603	5.85 mg/ml	–	–	++	+++

(-) : Absence de croissance.

(+) : Croissance faible.

(++) : Croissance modérée.

(+++): Croissance élevé.

D'après le tableau 11 on remarque que les bactéries *Staphylococcus aureus* n'ont pas montré une croissance aux dilutions (1/2, 1/4,1/8) par ailleurs une croissance visible a été observée à la dilution (1/16) Les autres souches sont développées à la dilution (1/8).

Les valeurs de CMI de cette huile essentielle vis-à-vis, *Staphylococcus aureus* peut être déterminé à une valeur de 2.92 mg/ml, tandis que pour *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonase aeruginosa* et *Escherichia coli*, la valeur de CMI égale à 5.85 mg/ml.

IV.1.6. Détermination de la CMI de l'extrait aqueux de *Mentha spicata* L.

Les résultats du test CMI sont présentés dans le tableau 12 et ce sont juste pour *E. coli* puisque c'était la seule souche sensible dans le test de diffusion sur gélose.

Tableau 12. Détermination de la CMI de l'extrait aqueux.

Souche	50mg/ml	25 mg/ml	12.5 mg/ml	6.25 mg/ml
Concentration				
<i>Escherichia coli</i>	–	+	++	+++

(-) : Absence de croissance.

(+) : Croissance faible.

(++) : Croissance modérée.

(+++): Croissance élevé.

D'après le tableau 12 en remarque que *E. coli* n'a montré aucune croissance à la concentration 50mg/ml alors qu'une croissance bien visible a été remarquée à la concentration 25 mg/ml.

La valeur de CMI pour *E. coli* a été déterminée à la valeur 50 mg/ml.

IV.2.Discussion

IV.2.1.Discussion des caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *Mentha spicata* L. obtenue par hydrodistillation dans notre étude ont révélé un liquide mobile, de couleur jaune clair, avec une odeur forte et caractéristique. Ces observations sont en accord avec plusieurs travaux antérieurs. En effet, **(Bensabah et al.,2014)** ont rapporté une huile essentielle fluide, jaune pâle et à l'odeur mentholée intense. De même, **Kizil et al. (2010)** et **Moghaddam et al. (2013)** confirment ces propriétés en décrivant une huile essentielle jaune clair, très aromatique, riche en carvone. Cependant, d'autres études présentent des résultats divergents. **(AidiWannes et al.,2009)**, par exemple, ont observé une huile essentielle incolore à l'odeur plus douce, tandis que **(Said-Al Ahl et al.,2010)** mentionnent une teinte légèrement verdâtre avec une odeur moins prononcée. Ces différences peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs tels que l'origine géographique des plantes, les conditions de culture, le stade de récolte ou encore les paramètres techniques de l'hydrodistillation **(Mahboubi et al., 2013)**.

L'huile essentielle de *Mentha spicata* L. obtenu par entraînement à la vapeur dans le cadre de cette étude s'est présentée sous forme d'un liquide mobile, de couleur vert jaunâtre, avec une odeur très forte, fraîche et caractéristique. Ces résultats concordent avec plusieurs travaux, notamment ceux de **(Bounatirou et al.,2007)** en Algérie, qui décrivent une huile à l'odeur mentholée intense, ainsi que ceux de **(Benjilali et al.,1980)** au Maroc, qui observe une huile vert jaunâtre à forte odeur de carvone. De plus, **(Sellami et al.,2009)** rapportent que l'entraînement à la vapeur permet d'obtenir des huiles à teinte plus soutenue que celles extraites par hydrodistillation, ce qui renforce nos observations. Toutefois, certaines études montrent des différences notables. Par exemple, **(Mahboubi et Kazempour ,2013)** ont obtenu une huile incolore à jaune pâle, à l'odeur modérée, tandis qu'**AidiWannes et al. (2009)** et **Kizil et al. (2010)** ont rapporté des huiles plus claires et moins aromatiques. Ces divergences peuvent s'expliquer par la :

- La variabilité génétique (chénotypes) influence directement la couleur et l'odeur de l'huile.
- Les conditions agro-climatiques (lumière, sol, température, altitude) modulent la production des métabolites secondaires.

- les paramètres de distillation (température, pression, durée) jouent également un rôle essentiel.
- Le stade de récolte, la partie de la plante utilisée.

L'extrait aqueux obtenu par macération à froid, s'est présentée sous forme d'un liquide poudre fine après séchage et grattage, de couleur verte brune a odeur moindre intense par rapport l'HE. Ces résultats ont été confirmés par **(Hajlaoui et al.,2016)** pour les couleurs et les odeurs.

Certaines études montrent des différences notables comme **(Brahimi et al.,2020)**, qui ont obtenu un extrait avec une couleur jaune clair, et **(Zhang et al.,2022)** leur extrait avait une odeur très forte. Cette différence peut être expliquer par plusieurs causes telle que la composition d'eau utilise **(chemat et al.,2019)**, âge de plante (jeunes ou matures)**(Moghaddam et al.,2015)**, la méthode de séchage **(Kaveh et al.,2024)**, ainsi quela contamination microbienne **(Olvera-aguirre et al.,2023)**.

IV.2.2.Discussion du rendement

Les résultats de rendement de l'extraction de l'huile essentielle de menthe verte dans notre étude (0,76 %) montrent une certaine similitude avec ceux rapportés dans des études précédentes, notamment celle réalisée dans la wilaya de Saïda (0,83 %)**(Brahmi et al. ,2020)** et celle de Sétif (0,87 %)**(Boukhebt et al. ,2011)**, avec de légères différences qui pourraient être dues à des facteurs climatiques, aux conditions agricoles ou au stade de développement de la plante. En revanche, des rendements beaucoup plus élevés ont été enregistrés dans d'autres études, comme celle menée en Turquie (3,24 %)**(Şarer et al. ,2011)** et en Tunisie (1,1 %)**(Snoussi et al. ,2015)**. Un rendement plus faible a également été observé dans une autre étude de l'université de Saïda (0,3 %), ce qui confirme que le rendement d'extraction est influencé par plusieurs facteurs, tels que l'origine de plante.

Le rendement en huile essentielle de *Mentha spicata* L. varie selon la méthode d'extraction utilisée. Dans notre étude, l'entraînement à la vapeur a produit un rendement de 1,77 %comparé à 0,76%obtenu par hydrodistillation. Ce constat rejoint les travaux de **(Mahboubi et Kazempour, 2013)**, qui expliquent que l'entraînement à la vapeur favorise une meilleure extraction des composés volatils grâce à une température de distillation mieux contrôlée, limitant ainsi la dégradation thermique. De plus, **(Kizil et al.,2010)** ont également rapporté un rendement

plus élevé pour l'huile essentielle extraite par cette méthode en Turquie. Cependant, des paramètres comme le stade de récolte et les conditions environnementales peuvent aussi influencer la quantité d'huile obtenue, comme le soulignent **Sellami et al. (2009)** et **Wannes et al. (2009)**.

L'extrait aqueux de notre étude qui a été obtenu par une macération à froid a donné un rendement de 3.44% présentant une ressemblance avec les résultats mentionnés dans des recherches antérieures de **(Kaddour et al., 2023)**, mais d'autres études ont rapporté un rendement supérieur tel que **khadhri et al. (2021)** et **trablsi et al. (2022)**, le taux de rendement comme l'état de plant et les conditions opératoire **(Kaddour et al., 2023)**.

IV.2.3. Discussion des résultats de l'activité antioxydante des extraits de *Mentha spicata* L.

Les résultats obtenus dans cette étude indiquent que l'huile essentielle de menthe verte (*Mentha spicata*), extraite par hydrodistillation, présente une activité antioxydante appréciable, avec une valeur d'IC₅₀ d'environ 2,45 mg/mL selon le test DPPH. Cette valeur suggère qu'une concentration relativement faible d'huile est suffisante pour inhiber 50 % des radicaux libres DPPH, ce qui témoigne d'un bon pouvoir antioxydant.

En comparaison, l'étude de **(Bardaweel et al., 2018)** a rapporté une valeur IC₅₀ de 3,45 mg/mL pour la même espèce végétale, ce qui indique que l'huile testée dans notre étude présente une activité antioxydante plus marquée.

Par ailleurs, une autre étude **(Abdullateef et al., 2023)** a révélé une activité antioxydante nettement supérieure, avec une valeur IC₅₀ de 24,16 µg/mL, soit 0,02416 mg/mL, en plus **(Abdel-Hady et al., 2018)**. Cette différence importante pourrait être attribuée à divers facteurs, notamment l'origine botanique de la plante **(Khadhri et al., 2021)**, les conditions de culture, la méthode exacte d'extraction **(OMS, 1998)**, la préparation des échantillons, ou encore les paramètres expérimentaux spécifiques appliqués lors du test DPPH **(Blois, 1958)**.

Ces variations soulignent l'influence significative des conditions d'extraction et des paramètres analytiques sur l'évaluation de l'activité antioxydante. Même en utilisant la même méthode générale d'extraction (l'hydrodistillation), de légères différences méthodologiques peuvent entraîner des écarts notables dans les résultats **(Prior, 2005)**.

En conclusion, l'huile essentielle de *Mentha spicata* testée dans cette étude se distingue par une activité antioxydante significative, ce qui renforce son potentiel comme source naturelle d'antioxydants à usage pharmaceutique, cosmétique ou alimentaire (**Brahmi et al.,2021**).

Dans cette étude, l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Mentha spicata* extraite par entraînement à la vapeur a été évaluée par le test DPPH, montrant une valeur d'IC₅₀ de 1,76 mg/ml, indiquant une activité antioxydante modérée. Cette valeur est légèrement meilleure que celle obtenue par hydrodistillation (IC₅₀ = 2,45 mg/ml), mais reste largement inférieure à celle des antioxydants de référence tels que le BHT (0,08 mg/ml) et la quercétine (0,12 mg/ml).

En comparant ces résultats avec d'autres études utilisant la même méthode d'extraction (entraînement à la vapeur), comme celle de (**Meloni et al.,2019**) qui rapportait des IC₅₀ très faibles entre 7,5 et 12,06 µg/mL, il apparaît que notre échantillon présente une activité antioxydante significativement plus faible. Cette différence peut s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment la composition chimique de l'huile, l'origine botanique, les conditions climatiques, les paramètres d'extraction (température, pression, durée) (**Trabelsi et al.,2022**), ainsi que les conditions de stockage pouvant affecter la stabilité des composés actifs (**Farahbakhsh et al., 2021**).

Bien que la méthode d'entraînement à la vapeur permette un rendement en huile élevé, la qualité de l'huile, en termes d'activité antioxydante, est meilleure comparée à d'autres méthodes d'extraction comme l'hydrodistillation (**Řebíčková et al.,2020**).

Nos résultats ont montré que l'extrait aqueux de menthe verte (*Mentha spicata*) possède une capacité antioxydante considérable, avec une valeur d'IC₅₀ estimée à 3,44 mg/ml. Cette valeur reflète une bonne efficacité dans la neutralisation des radicaux libres, ce qui indique la présence de composés actifs capables de donner des électrons la méthode DPPH repose justement sur ce mécanisme, comme l'explique (**Blois, 1958**).

En comparant ce résultat à ceux d'études antérieures ayant utilisé la même technique d'extraction (macération aqueuse), le même solvant (eau distillée) et la même méthode d'évaluation de l'activité antioxydante (test DPPH), nous constatons une variation notable des valeurs obtenues. Une étude (**Menyiy et al.,2022**) a rapporté une valeur d'IC₅₀ de 102,5 ± 0,15 µg/ml, tandis qu'une autre étude, dans(**Hadj Ali, 2023**) a trouvé une valeur similaire ; Ces deux valeurs sont inférieures à celle obtenue dans notre étude.

Le résultat obtenu dans notre étude met clairement en évidence que l'extrait aqueux de menthe verte présente des propriétés antioxydants intéressantes.

IV.2.4. Discussion de résultats du test de diffusion sur disque

IV.2.4.1. HE extraite par hydrodistillation

Les résultats obtenus dans cette étude indiquent que l'huile essentielle de *Mentha spicata*, extraite par hydrodistillation, exerce une activité antibactérienne significative vis-à-vis des souches testées. L'inhibition la plus marquée a été observée contre *Staphylococcus aureus* (15 mm), suivie de *Pseudomonas aeruginosa* (11,5 mm), *Klebsiella pneumoniae* (11 mm) et *Escherichia coli* (10,5 mm).

Ces résultats surpassent ceux rapportés par **(Menyiy et al.,2022)**, utilisant la même méthode d'extraction. Dans leur étude, les diamètres de zones d'inhibition étaient de 11 mm pour *S. aureus*, 9 mm pour *E. coli*, 8 mm pour *K. pneumoniae*, et aucune inhibition n'a été notée contre *P. aeruginosa*. Bien que leurs auteurs n'aient pas explicitement discuté la différence entre bactéries à Gram positif et Gram négatif, leurs résultats laissent entrevoir une meilleure efficacité de l'huile essentielle contre les souches à Gram positif observation qui concorde avec nos propres données.

Cette tendance a également été confirmée par une autre étude **(Snoussi, 2021)**, soulignant une activité antibactérienne plus prononcée de l'huile essentielle de *Mentha spicata* à l'encontre des bactéries à Gram positif.

Les variations observées entre les différentes études pourraient être attribuées à plusieurs facteurs, tels que l'origine botanique des plantes (zone géographique, conditions climatiques, pratiques culturales) ainsi qu'aux paramètres d'extraction (durée, température, rendement), qui influencent directement la composition biochimique des huiles essentielles et, par conséquent, leur efficacité biologique **(Mahboubi et Haghi ,2008)**.

En somme, l'huile essentielle de *Mentha spicata* issue de l'hydrodistillation semble constituer une option prometteuse en tant qu'agent antimicrobien, particulièrement contre les bactéries à Gram positif. Ces résultats ouvrent la voie à son intégration potentielle dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire, notamment comme conservateur naturel.

IV.2.4.2. l'HE extraite par entraînement à la vapeur

Les résultats montrent que l'huile essentielle de *Mentha spicata* extraite par entraînement à la vapeur a une bonne activité antimicrobienne. Elle inhibe particulièrement bien *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition de 18 mm, suivi de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Cela confirme que les bactéries Gram-positives sont plus sensibles à cette huile que les bactéries Gram-négatives, ce qui est également rapporté par **Bardaweel et al. (2018)** et **Snoussi et al. (2015)**.

L'efficacité contre *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie souvent résistante aux traitements, est un point important. Cette efficacité peut être liée au fait que l'entraînement à la vapeur conserve mieux certains composés actifs (**Khadhri et al., 2021**).

On remarque aussi que l'activité antimicrobienne diminue quand on dilue l'huile, ce qui est logique et confirmé par d'autres recherches sur les huiles essentielles (**Laggoune et al., 2016**).

Les différences observées entre cette étude et d'autres peuvent venir de plusieurs facteurs : la région où la plante a été cultivée, le climat, les méthodes de culture, ainsi que la technique et les conditions d'extraction et de conservation de l'huile (**Brahmi et al., 2021 ; Khadhri et al., 2021**).

IV.2.4.3. l'extrait aqueux

Les résultats de cette étude ont montré que l'extrait aqueux de *Mentha spicata* présente une activité antimicrobienne limitée uniquement contre *Escherichia coli*, avec un diamètre de zone d'inhibition de 9 mm à une concentration de 50 mg/ml. Bien que cette valeur indique une certaine activité antibactérienne, son efficacité est considérée comme faible à modérée par rapport aux données par (**Menyiy et al., 2022**), en effet, cette étude a montré une zone d'inhibition de 14 mm pour le même type d'extrait, tandis que (**Hadj Ali ,2023**), a observé une efficacité de 13 mm à une concentration plus faible de 10 mg/ml, en plus d'un effet sur d'autres souches bactériennes, ce qui témoigne d'une activité plus large et plus marquée dans ces cas.

Les résultats obtenus après l'évaluation de l'activité de l'extrait aqueux de *Mentha spicata* montrent que cet extrait n'a eu un effet que sur *Escherichia coli*, avec une zone d'inhibition estimée à 9 mm. Contrairement à ce qui a été rapporté dans (**Kaddour et al., 2023**), où leur étude

c'était sur la même plante provenant de trois régions d'Algérie : Tébessa, El Tarf et El Oued, et ont observé que tous les extraits avaient un effet sur l'ensemble des souches bactériennes étudiées, y compris *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, avec des zones d'inhibition variant entre 17 et 23 mm. Cette différence d'activité entre les extraits pourrait s'expliquer, comme mentionné dans **Shanjani et al. (2010)** et **Butkienet Mockute. (2011)** par le fait que les propriétés biologiques des extraits de *Mentha spicata* sont influencées par les conditions climatiques et la nature du sol, qui peuvent fortement affecter les composés bioactifs de plante.

Cette variation des résultats peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment la qualité de la matière végétale, influencée par le lieu de culture et les conditions de croissance (comme le sol, le climat et le stade de récolte), et le type de papier watman utilise comme disque, tous ces paramètres peuvent affecter directement la taille de la zone d'inhibition et, par conséquent, l'évaluation de l'activité biologique de l'extrait (**Kaddour et al. ,2023**).

IV.2.5.Discussion de résultat de CMI

IV.2.5.1. HE extraite par hydrodistillation

Dans notre étude, l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de menthe verte extraite par hydrodistillation a été évaluée contre quatre souches bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats ont montré que *Staphylococcus aureus* était la plus sensible, avec une CMI de 2,92 mg/mL, tandis que les autres bactéries (*E. coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*) ont présenté une CMI plus élevée et identique, soit 5,85 mg/mL.

En comparant ces résultats à ceux d'une étude publiée dans (**Mrabti et al.,2021**), qui a utilisé la même méthode d'extraction et les mêmes souches bactériennes, on constate que l'huile de menthe y a montré une activité beaucoup plus marquée : la CMI contre *Staphylococcus aureus* était de seulement 0,07 ug/mL, tandis que *E. coli* et *Klebsiella* étaient moins sensibles, avec des valeurs de CMI plus élevées. Quant à *Pseudomonas aeruginosa*, elle s'est révélée totalement résistante à l'huile.

Malgré l'utilisation de la même méthode d'extraction et des mêmes souches bactériennes, cette différence dans les valeurs de la CMI pourrait s'expliquer par :

Une différence dans la concentration des composés actifs dans l'huile obtenue, influencée par des facteurs comme les conditions de culture de la plante (sol, climat), la durée de stockage. Des variations expérimentales mineures, telles que la durée d'incubation ou la concentration de l'inoculum bactérien (**Diop et al., 2021**).

De manière générale, les deux études s'accordent sur l'effet d'HE Plus élevée contre *Staphylococcus aureus* par rapport à *E. coli*, *Klebsiella*, qui avaient les même digéré de sensibilité à cette huile ce qui confirme son potentiel comme agent antimicrobien contre les bactéries à Gram positif. En revanche, son efficacité reste limitée contre les bactéries à Gram négatif, en particulier **Brahmi et al. (2021)** et **Elansary et al. (2020)**.

IV.2.5.2. HE extraite par entraînement à la vapeur

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de *Mentha spicata* L. extraite par entraînement à la vapeur a révélé une activité antibactérienne variable selon les souches testées. Les résultats montrent que *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) est la souche la plus sensible, avec une CMI estimée à 1.49 mg/mL, suivie de *Escherichia coli* (ATCC 25422), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27953), toutes trois présentant une CMI autour de 2.98 mg/mL. Ces données confirment que les bactéries à Gram positif, comme *S. aureus*, sont généralement plus sensibles aux huiles essentielles, probablement en raison de la structure plus simple de leur paroi cellulaire **Bounatirou et al. (2007)** et **Soković et al.(2010)**. En revanche, la moindre sensibilité des bactéries à Gram négatif pourrait être liée à la présence de la membrane externe riche en lipopolysaccharides, qui limite la pénétration des composés actifs (**Hajlaoui et al., 2009**). Ces résultats sont cohérents avec ceux de (**Tounsi et al., 2019**), qui ont rapporté des CMI variant de 1.25 à 5 mg/mL pour *Mentha spicata* contre des souches similaires. L'efficacité antimicrobienne observée peut être attribuée à la richesse en composés volatils bioactifs tels que la carvone et le limonène, fréquemment identifiés dans cette espèce (**Bounatirou et al., 2007**). Ainsi, l'huile essentielle de *M. spicata* pourrait représenter une alternative naturelle prometteuse aux agents antimicrobiens classiques, notamment dans un contexte de résistance croissante aux antibiotiques.

IV.2.5.3. l'extrait aqueux

Les résultats de notre étude ont montré que l'extrait aqueux de *Mentha spicata* possède une activité antibactérienne contre *Escherichia coli*, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 50 mg/ml, une valeur relativement élevée indiquant une activité limitée.

Cependant, en comparant ce résultat à des études antérieures, on observe une grande variabilité d'efficacité. En effet (**Hadj Ali, 2023**), a étudié le même extrait de la même plante a rapporté une CMI de 1,25 mg/ml, indiquant une activité beaucoup plus marquée. Cette tendance est également confirmée par (**Menyiy et al. ,2022**), où la CMI a été estimée à 0,78 mg/ml contre la même souche bactérienne.

Cette variation des résultats peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment :

La différence dans la provenance de la plante et sa composition chimique, car les conditions environnementales, le sol, la saison et l'âge de la plante influencent fortement la concentration en composés bioactifs tels que les phénols et les flavonoïdes(**Elansary et al.,2020**).

Conclusion

Depuis l'Antiquité, les plantes ont été utilisées par l'homme pour traiter diverses affections. Elles présentent l'avantage d'être riches en composés bioactifs de structures chimiques variées, dotés de multiples propriétés biologiques. Face à l'émergence de la résistance bactérienne aux antibiotiques et à la toxicité de certains antioxydants synthétiques, l'intérêt scientifique pour les plantes médicinales et aromatiques s'est accru, en raison de leur richesse en antioxydants naturels.

Dans ce contexte, notre étude s'est portée sur *Mentha spicata* L. (menthe verte), dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales. L'objectif principal était d'évaluer ses propriétés biologiques, notamment antioxydant et antimicrobiennes.

L'huile essentielle de menthe, extraite de plantes récoltées dans la région de Chetma (Biskra), a été obtenue par deux méthodes : l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur, avec des rendements respectifs de 0,76 % et 1,77 %. L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode DPPH, révélant une activité modérée comparée à celle du BHT et de la quercétine, utilisés comme antioxydants de référence. L'HE obtenu par entraînement à la vapeur montre meilleur efficacité pour la neutralisation du radical libre du DPPH.

Par ailleurs, l'activité antimicrobienne a été testée sur quatre souches bactériennes de référence (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*). L'huile essentielle a démontré une activité antimicrobienne contre ces micro-organismes.

L'extrait aqueux, obtenu par macération avec un rendement de 5,325%, a présenté une activité antioxydante modérée ($IC_{50} = 3,44$ mg/mL) mais une faible activité antimicrobienne, avec une CMI élevée de 50 mg/mL. En revanche, l'extrait huileux (HE) produit par entraînement à la vapeur a démontré une efficacité antimicrobienne bien supérieure, avec une zone d'inhibition de 18 mm contre *Staphylococcus aureus* et une CMI bien plus faible (2,98 mg/mL), confirmant son potentiel comme agent antibactérien. Ces résultats suggèrent que la méthode d'extraction influence significativement l'activité biologique : l'entraînement à la vapeur, produisant des composés plus actifs est optimal pour l'effet antimicrobien. Cette étude constitue une première étape dans l'exploration du potentiel biologique et médical des huiles essentielles de menthe verte extraites par différentes méthodes (hydrodistillation, entraînement à la vapeur) ainsi que son extrait aqueux. Les résultats préliminaires indiquent que

ces huiles possèdent des propriétés prometteuses en tant qu'agents antimicrobiens et antioxydants naturels, ouvrant ainsi la voie à un large éventail d'applications futures.

Sur le plan sanitaire et pharmaceutique, ces résultats pourraient favoriser le développement de préparations médicinales naturelles pouvant être utilisées comme alternatives ou compléments aux antibiotiques classiques, notamment dans un contexte de résistance croissante des bactéries aux médicaments chimiques. Par ailleurs, les propriétés antioxydante pourraient être exploitées dans la prévention des maladies chroniques liées au stress oxydatif, telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer ou encore le vieillissement prématuré.

Dans le domaine industriel, ces huiles représentent un ingrédient naturel pouvant être intégré dans l'industrie agroalimentaire comme agent de conservation, ainsi que dans les cosmétiques comme actif antibactérien et anti-âge. En outre, ces résultats peuvent servir de base à la fabrication d'extraits végétaux et de compléments alimentaires d'origine naturelle.

Sur le plan scientifique et de la recherche, cette étude ouvre la voie à des recherches futures visant à :

- Identifier les composés chimiques actifs responsables de l'activité biologique.
- Étudier l'effet des facteurs agricoles et climatiques sur la qualité de l'huile.
- Comparer de nouvelles méthodes d'extraction (comme l'extraction par solvants ou par ultrasons) en termes d'efficacité et de rentabilité.
- Réaliser des essais physiologiques et cliniques pour évaluer la sécurité et l'efficacité dans des conditions réelles.

Enfin, ces résultats ouvrent également des perspectives économiques et agricoles, en contribuant à la valorisation des plantes médicinales et aromatiques locales, et en encourageant les agriculteurs et les investisseurs à développer la culture de la menthe verte et son exploitation dans des industries durables basées sur des ressources naturelles renouvelables.

References

Bibliographique

A :

Abdel-Hady, H., El-Wakil, E. A., & Abdel-Gawad, M. (2018). GC-MS analysis, antioxidant and cytotoxic activities of *Mentha spicata*. *European Journal of Medicinal Plants*, 26(1), 1–12.

Afssaps. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles, Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles. (2008);1–18

AidiWannes, W., Mhamdi, B., Sriti, J., Ben Jemia, M., Ouchikh, O., Hamdaoui, G., ... & Marzouk, B. (2009). Essential oil composition of *Mentha spicata* L. and antimicrobial activity against bacteria and fungi. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7(2), 141–145.

Al-Bakri, A. G., & Afifi, F. U. (2007). Evaluation of antimicrobial activity of selected plant extracts by rapid XTT colorimetry and bacterial enumeration. *Journal of Microbiological Methods*, 68(1), 19-25.

André, R. (1998) .la maladie de parkinson .Ed . Masson .16-19

Avril J-L, Dabernat H, Denis F, Monteil H., (1992): Bactériologie clinique. 2ème édition. Ellipses, ISBN: 2-7298-9218-4, 511p.

B :

Baba Aïssa F. Les plantes médicinales en Algérie. Bouchène et Ad. Diwan éd. Alger. (1991) : 181 p

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.

Baron EJ., Bruckner DA. Comparison of susceptibilities of anaerobic bacteria determined by agar dilution and by a microbroth method. *Reviews of Infectious Diseases*. (1984) ; 6 (1) : 249-53.

Bassolé, I. H. N., & Juliani, H. R. (2012). Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, 17(4), 3989–4006

Benckman K. B. and Ames, B. N. (1998). the free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.* (78): 541-581.

Benjlali, B., Richard, H., & Collin, G. (1980). *Essai de caractérisation de l'huile essentielle de Mentha spicata du Maroc*. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, 14(3), 168–173.

Benjlali, B., & Ayadi, A. (1986). Methode d'etude des proprietes antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gelose [*Thymus capitatus*, *Rosmarinus officinalis*, *Eucalyptus globulus*, *Artemisia herba alba*]. *Plantes médicinales et phytothérapie*, 20.

Bensabab, F., Chaqroune, A., & Amhamdi, H. (2014). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Mentha spicata* L. du Maroc. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(S1), 2341–2346.

Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199–1200.

Bloomer RJ and Fisher-Wellman KH. (2008). Blood Oxidative Stress Biomarkers: Influence of Sex, Training Status, and Dietary Intake. *Gender Medicine*. 5(3) pp 218-28. (Thèse de doctorat; Université Abou bakrbelkaid -2014.

Boukhadem, M. N., Ferhat, A., & Kameli, A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : Revue de littérature. *Revue Agrobiologia*, 9(2), 1653–1659.

BOUKHATEM, M. N., FERHAT, A., & KAMELI, A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. *Une*, 3(4), 1653-1659.

Boukhebti, H., Chaker, A. N., Belhadj, H., Sahli, F., Ramdhani, M., Laouer, H., & Harzallah, D. (2011). Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. and *Mentha spicata* L. essential oils. *Der Pharmacia Lettre*, 3(4), 267–275.

Bounatirou, S., Smiti, S., Miguel, M. G., Faleiro, M. L., Rejeb, M. N., Neffati, M., ... & Pedro, L. G. (2007). *Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian Thymus capitatus Hoff. et Link*. *Food Chemistry*, 105(1), 146–155.

Boyle W. Spices and essential oils as preservatives. *Am. Perfum. Essent. Oil Rev.* (1955) ; 66: 25-28.

Brahmi F., Khodir M., Chibane M., Pierre D. (2017). Chemical composition and biological activities of mentha species. *Aromatic and Medicinal Plants - Back to Nature*. 47-79.

Brahmi, F., Khodir, M., Mohamed, C., & Pierre, D. (2020). Optimization of phenolic extraction from *Mentha spicata* L. leaves: Antioxidant and antimicrobial effects. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10 (5), 001–010.

Brahmi, F., Khodir, M., Mohamed, C., & Pierre, D. (2021). *Mentha spicata* L. essential oil: Chemical composition, antioxidant properties and antimicrobial effects against foodborne pathogens. *Industrial Crops and Products*, 164, 113360.

Brahmi, M., Adli, D. E. H., Ziani, K., Houari, H., Slimani, M., & Kahloul, K. (2020). Beneficial effect of *Mentha spicata* essential oil on lead and manganese induced nephrotoxicity and oxidative damage in rat kidney. *Notulae Scientiae Biologicae*, 12(3), 578–591.

Brand-Williams W., Cuvelier ME., Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology* (1995); 28: 25-30.

Browne RW., Bloom MS., Schisterman EF., Hovey K., Trevisan M., Wu C., Liu A, Wactawski-Wende J. (2008). Analytical and biological variation of biomarkers oxidative stress during the menstrual cycle. *Biomarkers*. 13(2): pp 160-83. I

Bruneton, J., "Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales.", P483-560,(1999)

Buronzo AM. Le grand guide des huiles essentielles. HACHETTE P. (2008).

Burt S. Essential oils : Their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal Food Microbiology* (2004) ; 94: 223–253.

Butkiene, R.; Mockute, D. The variability of the essential oil composition of wild *Ledum palustre* L. shoots during vegetation period. *J. Essent. Oil. Res.* (2011), 23(1), 9-13

C:

Chemat, F., et al. (2019). Impact of water composition on phenolic extraction efficiency from medicinal plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(12), 3305-3313

Chuo, S. C., Nasir, H. M., Mohd-Setapar, S. H., Mohamed, S. F., Ahmad, A., Wani, W. A., Muddassir, M., & Alarifi, A. (2022). A glimpse into the extraction methods of active compounds from plants. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 52(4), 667–696.

CLEVENGER JF. « Apparatus for volatile oil determination, Description of New Type ». American Perfumer & Essential Oil Review, (1928), 467-503.

Cole G.M., Lim G.P., Yang F., Teter B., Begum A., Ma Q., Harris-White M.C. Frautschy A. (2005). Prevention of Alzheimer's disease: omega-3 fatty acid and phenolic antioxidant interventions. *Neurobiol. Aging*. 26, 133-136.

D :

Daferera D .J, Ziogas B.N, Polissiou, M.G.,(2003) : Crop Protection, 22, p 39-44

Darr. A,(1981) :Technologie Pharmaceutique. Ed ACRIBIA,2^e édition

Dayal B., Purohit RM. Screening of some Indian essential oils for their antifungal activity. *flavour of india*. (1971) ; 2: 484-485

Diop, S. M., Gueye, M. T., Thiam, A., Cissokho, P. S., Sanghare, C. H., & Fauconnier, M. L. (2021). Activités antioxydante et insecticide d'huiles essentielles de *Mentha arvensis* L. du Sénégal. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(3), 966-975.

Diop, S. M., Gueye, M. T., Thiam, A., Cissokho, P. S., Sanghare, C. H., & Fauconnier, M. L. (2021). Activités antioxydante et insecticide d'huiles essentielles de *Mentha arvensis* L. du Sénégal. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(3), 966-975.

Dorman HJD., Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology* (2000) ; 88: 308-316

Dorman J.A, et Deans S.G., (2000): Antimicrobial agents from plant, antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. Ed: Elsevier Masson, p1162

Dromigny E, (2012) : Les critères microbiologiques des denrées alimentaires, Ed: Lavoisier. Paris. p153, 530

Duraffourd, C., Lapraz, J.-C., & Valnet, J. (1998). *ABC de la phytothérapie dans les maladies infectieuses*. Paris : Éditions Jacques Grancher.

E :

E.-T. Piperaki, G.A. Syrogiannopoulos, L.S. Tzouveleakis, G.L. Daikos. (2017). *Klebsiella pneumoniae*: virulence, biofilm and antimicrobial resistance. *The Pediatric infectious disease journal*. 36(10): 1002-1005.

Eddouks, M., Maghrani, M., Lemhadri, A., Ouahidi, M. L., & Jouad, H. (2002). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet). *Journal of Ethnopharmacology*, 82(2–3), 97–103.

El Menyiy, N., Mrabti, H. N., El Omari, N., El Bakili, A., Bakrim, S., Mekkaoui, M., Balahbib, A., Amiri-Ardekani, E., Ullah, R., & autres co-auteurs. (2022). Medicinal uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of *Mentha spicata*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022, Article 7990508

Elansary, H. O., Szopa, A., Kubica, P., Ekiert, H., & Ali, H. M. (2016). Polyphenol content and biological activities of *Mentha spicata* L. under different extraction solvents. *Molecules*, 21(4), 463.

F:

Farahbakhsh, J., Najafian, S., Hosseini Farahi, M., & Gholipour, S. (2021). Essential oil storage conditions affect the chemical composition in cultivated *Mentha spicata*. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 11(2), 3617–3624.

Farhat, A. (2010). Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Sciences des Procédés, Sciences des Aliments), Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France) & Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès (Tunisie).

Ferreira, M. I., & Sousa, M. L. R. (2010). Evaluation of the antimicrobial activity of essential oils using DMSO as solvent. *Journal of Essential Oil Research*, 22(3), 255–261.

G:

Gu R., Wang Y., Long B., Kennelly E., Wu S., Liu B. Prospecting for bioactive constituents from traditional medicinal plants through ethnobotanical approaches. *Biological and pharmaceutical bulletin* (2014) ; 37(6) : 903-915.

Guerin-Faubleee V., Carret G. L'antibiogramme, principes, méthodologies, intérêts et limites. Journées nationales GTV-INRA, Nantes, France (1999), 5-12p.

Guinoiseau E., (2010): Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. Thèse de docteur de mention: biochimie - biologie moléculaire, Université de Corse pp: 50-51

Gulluce M., Şahin F., Sokmen M., Ozer H., Daferera D., Sokmen A., Polissiou M., Adiguzel A., Ozkan H. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food Chemistry* (2007) ; 103: 1449-1456.

Guzmán, L., Ramirez, B. S., Maribel, C. F., Pescador, M. G. N., & Cruz, F. J. M. (2018). Low accuracy of the McFarland method for estimation of bacterial populations. *African Journal of Microbiology Research*, 12(31), 736-740.

H:

Hadj Ali, H. (2023). Étude ethnobotanique et caractérisation phytochimique des plantes médicinales et aromatiques de quelques forêts du Tell occidental [Thèse de doctorat, Université Mustapha Stambouli de Mascara]. Université Mustapha Stambouli de Mascara.

Hajlaoui, H., Mighri, H., Aouni, M., Gharsallah, N., & Kadri, A. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha spicata* L. essential oil and aqueous extract. *Journal of Food Biochemistry*, 40(3), 335–343

Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., & Rakesh, D. D. (2008). *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*. International Centre for Science and High Technology

Hart T, Shears P., (1997): Atlas de poche de microbiologie. Ed Médecine science, Flammarion. pp: 14,46, 68,87-123

Hemalatha S., Lalitha P. et Arulpriya P. (2010). Antioxidant activities of the extracts The aerial roots of *Pothosaurea* (Linden ex Andre). *Der Pharma Chemica*, 2 (6):84-89.

Howes M.J.R. Perry N.S.L., Houghton P.J. (2003). Plants with traditional uses and activities relevant to the management of Alzheimer's disease and other cognitive disorders, *Phytother. Res.*, 17, 1-18.

K :

Kaddour, A., Chems, A. E., Laouedj, H., Amara, D. G., Moussaoui, Y., Cherrada, N., & Zaater, A. (2023). Biological activities of *Mentha spicata* L. extracts growing in different geographical regions of Algeria. *Acta Periodica Technologica*, 54, 177–186.

Kalemba D., Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry* (2003) ; 10 : 813-829.

Kaveh, M., Zomorodi, S., Mariusz, S., & Dziwulska-Hunek, A. (2024). Determination of drying characteristics and physicochemical properties of mint (*Mentha spicata* L.) leaves dried in refractance window. *Foods*, 13(18), 2867.

Khadhri, A., El Mokni, R., Almeida, J. R. G. S., Nunes, R., & Romano, A. (2021). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of *Mentha spicata* L. essential oil and extracts from Tunisian origin. *Industrial Crops and Products*, 160, 113137

KHIARI, M. (2018). Étude de l'effet de *Mentha* et *Pistacia* sur la toxicité du Nickel (Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba, Faculté des Sciences, Département de Biochimie, Option : Biochimie appliquée).

Kirschvink N., de Moffarts B., Lekeux P. (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal*. Vol.177; pp 178-191.

Kizil, S., Hasimi, N., Tolan, V., Kilinc, E., & Yuksel, U. (2010). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils from *Mentha spicata* L. and *Mentha longifolia* L. grown in Turkey. *Scientia Horticulturae*, 126(4), 362–366.

Kunwar G., Pande C., and Tewari G., Essential oil composition of the aerial parts of mentha spicata L., *Journal of essential oil-bearing plants JEOP*. (2017) 13, no. 3, 353–356.

L:

Li, M., Zhang, C., Chen, G., Nahar, L., Sarker, S. D., & Guo, M. (2020). Headspace gas chromatographic method for antimicrobial screening: Minimum inhibitory concentration determination. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 181, 113122.

Lucchesi, M. E. (2005). Extraction sans solvant assistée par micro-ondes : conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Chimie), Faculté des Sciences et Technologies, Université de la Réunion, France

M :

Mahboubi, M., & Haghi, G. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(2), 325–327.

Mahboubi, M., & Kazempour, N. (2013). Chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha spicata* essential oil. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(1), 79–84.

Mahmoudi, S., Khali, M., Benkhaled, A., Benamirouche, K., & Boudjelal, A. (2016).

Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Henriques, M., Silva, S., & Ferreira, I. C. F. R. (2012). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of three essential oils from Portuguese flora. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 3(1), 39–44.

Mahmoudi, S., Khali, M., Benkhaled, A., Benamirouche, K., & Baiti, I. (2016). Phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activities of leaf extracts from ten Algerian *Ficus carica* L. varieties. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(3), 239–245.

Martuccia, J. F., Gendeb, L. B., Neiraa, L. M., & Ruseckaite, R. A. (2015). Oregano and lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films. *Indian Crops Production*, 71, 205-213

McKay DL, Blumberg JB, A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytiatrics*(2006) ; 20(8): 619-33.

Merouane A., Noui A., Medjahed H., Nedjaribenhadjali K., Saadi A. (2014). Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 8 (4): 1865-1870.

Meyer, A., Deiana, J., & Bernard, A. (2004). Cours de microbiologie générale: avec problèmes et exercices corrigés. Wolters Kluwer France.

Moghaddam, M., Mehdizadeh, L., & Mirza, M. (2013). Chemical constituents of essential oils. In *Bioactive compounds in medicinal plants* (pp. 41–68). Springer.

Moghaddam, M., Miran, S. N. K., Pirbalouti, A. G., Mehdizadeh, L., & Ghaderi, Y. (2015). Variation in essential oil composition and antioxidant activity of cumin (*Cuminum cyminum* L.) fruits during stages of maturity. *Industrial Crops and Products*, 70, 163-169.

Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* (2004) ; 26(2) : 211- 219.

Momponb A. Quel avenir commercial pour les produits obtenus par les nouvelles technologies d'extraction : CO₂, Micro-ondes, ultrasons, nouveaux solvants. 4^{ème} rencontre internationale de Nyons (1994) p. 149–66.

MOSTEFA, M., OULARBI, S., & TAOUCH, F. Z. (2020). Evaluation de l'effet antifongique par liquides ioniques et l'huile essentielle comme nouveaux milieux (Doctoral dissertation, université ibn khaldoun-tiaret).

El Menyiy, N., Mrabti, H. N., El Omari, N., Bakili, A. E., Bakrim, S., Mekkaoui, M., Bouyahya, A. (2022). Medicinal uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of *Mentha spicata*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022(1), 7990508.

N:

Nauciel C., (2001): Abrégé Bactériologie Médicinale, Édition: Masson, France,, ISBN: 2-294-00428-0. p 127,128, 133,134

Nauciel et Vildé J., (2005): Bactériologie médicale 2ème édition, Masson, Paris, ISBN, p5, 8, 9,12

Nout R., Hounhouigan J., Van Boekel T., (2003): Les aliments << Transformation, Conservation et Qualité », ISBN: 90-5782-124-9, 268 p.

O :

Olvera-Aguirre, G., Piñeiro-Vázquez, Á. T., Sanginés-García, J. R., Zárate, A. S., Ochoa-Flores, A. A., Segura-Campos, M. R., ... & Chay-Canul, A. J. (2023). Using plant-based compounds as preservatives for meat products: A review. *Heliyon*, 9(6).

Organisation mondiale de la Santé. (1998). Méthodes de contrôle de la qualité des matières végétales médicinales.

OUAFI, N., MOGHRANI, H., & MAACHI, R. (2015). Influence du procédé de séchage des plantes aromatiques et médicinales sur le rendement en huile essentielle (cas de trois menthes). In *International Symposium on Materials chemistry* (pp. 1-8).

Ouattara Y; Sakandé B; Simporé J; Pr Issiaka Z, Kaboré: Pr Innocent P. Guissou et Pr Laya Sawadogo (2003): Evaluation de l'activité hepatoprotectrice des extraits aqueux de plantes médicinales face a une hepatotoxicite letale induite chez la souris. *Annales de l'Université de Ouagadougou, UFRSVT*. Vol: 001 p 21 pp-40

Oyedemi SO., Afolayan AJ. Antibacterial and antioxidant activities of hydroalcoholic stem bark extract of *Schotialatifolia* Jacq. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* (2011) ;4: 952 958.

P:

Percival. SL, (2004) : Microbiology of waterborne diseases Ed: Elsevier Academic Press. Amsterdam; Boston. p 480.

Pierre. M et Lis. M, (2007): *Secrets des plantes*, Ed :Artemis, France. P 36

Ponce A., Fritz R., Del Valle C., Roura S. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology* (2003) ; 36 : 679-684.

Powers SK., Smuder A.J, Kavazis AN., Hudson MB. (2010). Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. Vol. 20; pp 2-14.

Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302.

R :

R. Bonnet. (2004). Growing group of extended spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 48(1): 1 14.

Řebíčková, K., Bajer, T., Šilha, D., Ventura, K., & Bajerová, P. (2020). Comparison of chemical composition and biological properties of essential oils obtained by hydrodistillation and steam distillation of *Laurus nobilis* L. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75(4), 495–504

S:

Sagdic O., Kuscü A., Özcan M. and Özcelik S. (2002). Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiology*. 19, 473-480.

Said-Al Ahl, H. A. H., & Mahmoud, A. A. (2010). Effect of water stress and phosphorus fertilizer on the productivity and essential oil of spearmint (*Mentha spicata* L.). *Journal of Agricultural and Biological Science*, 5(6), 43–48.

Salido M. and Rosado J.A. (2009). Apoptosis: involvement of oxidative stress and intracellular Ca^{2+} homeostasis genes. *Springer Science and Business Media*. pp: 1-17.

Salle J-L., (1991). les huiles essentielles synthèse d'aromathérapie et introduction la sympathicothérapie, Ed : Frison-Roche, p16 -23

Şarer, E., Toprak, S. Y., Otlu, B., & Durmaz, R. (2011). Composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Mentha spicata* L. subsp. *spicata*. *Journal of Essential Oil Research*, 23(1), 105–108.

Sayre LM., Moreira PI., Smith MA., Perry G. (2008). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità*. Vol. 41 (2). pp 143-164.

Sellami, I. H., Maamouri, E., Chahed, T., Wannes, W. A., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2009). *Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (Origanum majorana L.) grown in Tunisia*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(9), 3823–3829

Selles, S. M., Dib, M. E. A., Djabou, N., Tabti, B., Costa, J., & Muselli, A. (2018). Chemical characterization and antioxidative activity of *Mentha spicata* L. (Lamiaceae) essential oil depending on harvesting time. *Journal of Essential Oil Research*, 30(5).

Shanjani, P.S.; Mirza, M.; Calagari, M.; Adams, R.P. Effects drying and harvest season on the essential oil composition from foliage and berries of *Juniperus excelsa*. *Ind. Crops Prod.* (2010), 32(2), 83-87.

Sharifi-Rad, J., Hoseini-Alfatemi, S. M., Sharifi-Rad, M., & Setzer, W. N. (2012). Chemical composition and biological activity of essential oils of *Mentha* species. *Phytotherapy Research*, 26(12), 1874–1880.

Siddiqui, A. H., & Koirala, J. (2023). *Staphylococcus aureus*. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

Snoussi, M., Noumi, E., Trabelsi, N., Flamini, G., Papetti, A., & De Feo, V. (2015). *Mentha spicata* Essential Oil: Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities against Planktonic and Biofilm Cultures of *Vibrio* spp. Strains. *Molecules*, 20(8), 14402–14424.

Sokmen A., Gulluce M., Askin Akpulat H., Daferera D., Tepe B., Polissiou M., Skomen M. and Sahin F., (2004): The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*; 40:p627

T :

Takao T., Kitatani F., Watanabe N., Yagi A., Sakata K. A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* (1994) ; 58(10): 1780-1783

Taneja SC., Chandra S. *Mint, handbook of herbs and spices* 2nd edition. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition (2012), Pages 366-387.

Tharib, S.M., Gnan, S.O., Veitch, G.B.A,(1983) :Antimicrobialactivity of compounds from *Artempestriscompestris*. *J.Food .Prot.*46,p681, 685

Tourabi, M., Faiz, K., Ezzougari, R., Louasté, B., Merzouki, M., Daelbait, M., ...& Derwich, E. (2025). Optimization of extraction process and solvent polarities to enhance the recovery of phytochemical compounds, nutritional content, and biofunctional properties of *Mentha longifolia* L. extracts. *Bioresources and Bioprocessing*, 12(1), 24.

Toussaint B. (2008). *Oxygene et stress oxydants*, Faculte de Medcine de Grenoble (UJF). Universite Jose Ph. Furier. 19 p.

V:

Van Schalkwyk, D. J., Jooste, M., & Lambrechts, M. G. (2018). *Effect of temperature and duration of maceration on colour and sensory properties of red wine*. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 39(2), 171-180

W:

Wannes, W. A., et al. (2009). Effect of different drying methods on the essential oil yield and composition of Tunisian thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Industrial Crops and Products*, 29(3), 554–561.

Wilkinson JM. Methods for testing the antimicrobial activity of extracts. *Modern phytomedicine: turning medicinal plants into drugs* (2006) ; 157-171.

Y:

Yen GC. Chen HY. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal Agricultural and Food Chemistry* (2000); 43: 27-32.

Z:

Zaki, F. S. A., Khalid, K. A., & Ahmed, A. M. A. (2024). Mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha spicata* L.) growth, essential oil generation and chemical components are impacted by turmeric curcumin applications. *Discover Applied Sciences*, 6, 160

Zhang, L. L., Chen, Y., Li, Z. J., Li, X., & Fan, G. (2022). Bioactive properties of the aromatic molecules of spearmint (*Mentha spicata* L.) essential oil: A review. *Food & Function*, 13(6), 3110-3132.

Ziech D., Franco R., Georgakilas A.G., Georgakila S., Malamou-Mitsi V., Schoneveld O., Pappa A. and Panayiotidis M.I. (2010). The role of reactive oxygen species and oxidative stress in environmental and carcinogenesis and biomarker development. *Chemico-Biological Interactions*. 188; 334-339.

Annexes

Annexe1: Matériels de laboratoire

- Anse de platine
- Ballon de 2000 ml
- Bec bunsen
- Boîte de pétri
- Becher
- Barreau magnétique
- Crayon marqueur
- Ecouvillon
- Etiquette
- Erlenmeyer
- Papier filtre
- Plaque chauffante
- Règle
- Pince
- Pipette pasteur
- Portoir
- Seringue
- Tube à essai
- Micropipette
- Les eppendorfs
- Les cuves

❖ Les réactifs :

- Eau distillé
- Eau physiologique a 0.9 %
- DMSO
- Méthanol

❖ Appareillage :

- Spectrophotomètre UV-visible
- Bain marie
- Etuve

- Balance de précision
- Agitateur magnétique
- Congélateur
- Autoclave

Clevenger

Résumé

Résumé

En vue de l'évaluation de l'espèce *Mentha spicata* L., les huiles essentielles de cette dernière ont été extraites par deux méthodes (hydrodistillation et par entraînement à la vapeur). En plus, l'extrait aqueux a été obtenu par macération à froid. L'activité antioxydante de ces extraits a été estimée par le test de piégeage de radical DPPH, par la suite leur activité antimicrobienne sur des bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et des bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose et en parallèle, les CMI ont été déterminées.

Le rendement de l'huile extraite par hydrodistillation était de 0,76 %, tandis que celui de l'huile obtenue par entraînement à la vapeur était de 1,77 %. L'extrait aqueux a donné un rendement de 5,325 %.

L'évaluation de l'activité antioxydante des trois extraits a montré que l'huile obtenue par entraînement à la vapeur avait l'activité antioxydante la plus élevée ($IC_{50} = 1.76$ mg/ml), suivie de celle obtenue par hydrodistillation ($IC_{50} = 2.45$ mg/ml). L'extrait aqueux a présenté l'activité la plus faible ($IC_{50} = 3.44$ mg/ml).

Les bactéries à Gram positif se sont révélées plus sensibles à l'huile essentielle de menthe verte que les bactéries à Gram négatif. L'extrait aqueux n'a été actif que contre *Escherichia coli*.

Les mots clés : *Mentha spicata* L. huiles essentielles, hydrodistillation, entraînement à la vapeur, extrait aqueux, macération à froid, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Abstract

For the evaluation of the species *Mentha spicata* L., essential oils were extracted using two methods: hydrodistillation and steam distillation. Additionally, the aqueous extract was obtained through cold maceration. The antioxidant activity of these extracts was assessed using the DPPH radical scavenging assay. Subsequently, their antimicrobial activity against Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*) and Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) was evaluated using the agar diffusion method, and minimum inhibitory concentrations (MICs) were determined in parallel.

The yield of the oil extracted by hydrodistillation was 0.76%, while that of the oil obtained by steam distillation was 1.77%. The aqueous extract yielded 5.325%.

The evaluation of the antioxidant activity of the three extracts showed that the oil obtained by steam distillation had the highest antioxidant activity ($IC_{50} = 1.76$ mg/mL), followed by the oil obtained by hydrodistillation ($IC_{50} = 2.45$ mg/mL). The aqueous extract exhibited the lowest activity ($IC_{50} = 3.44$ mg/mL).

Gram-positive bacteria were found to be more sensitive to spearmint essential oil than Gram-negative bacteria. The aqueous extract was only active against *Escherichia coli*.

Keywords: *Mentha spicata* L., essential oils, hydrodistillation, steam distillation, aqueous extract, cold maceration, antioxidant activity, antimicrobial activity.

ملخص

من أجل تقييم نوع *Mentha spicata* L. (النعناع الأخضر)، تم استخراج زيوتها الأساسية باستخدام طريقتين: التقطير المائي والتقطير بالبخار. بالإضافة إلى ذلك، تم الحصول على المستخلص المائي عن طريق النقع البارد. تم تقدير النشاط المضاد للأكسدة لهذه المستخلصات باستخدام اختبار النقاط الجذور الحرة DPPH، ثم تم تقييم نشاطها المضاد للميكروبات على بكتيريا موجبة الغرام (*Staphylococcus aureus*) وبكتيريا سالبة الغرام (*Escherichia coli*)، *Klebsiella pneumoniae*، *Pseudomonas aeruginosa* باستخدام طريقة النشر على الأغار، وتم تحديد التراكيز المثبطة الدنيا (CMI) بالتوازي.

كان مردود الزيت المستخلص بالتقطير المائي 0.76 %، في حين بلغ مردود الزيت المستخلص بالتقطير بالبخار 1.77 %. أما المستخلص المائي فقد أعطى مردوداً بنسبة 5.325 %.

أظهرت نتائج تقييم النشاط المضاد للأكسدة أن الزيت المستخلص بالتقطير بالبخار أظهر أعلى نشاط مضاد للأكسدة ($IC_{50} = 1.76$ ملغ/مل)، يليه الزيت المستخلص بالتقطير المائي ($IC_{50} = 2.45$ ملغ/مل). (أما المستخلص المائي فقد أظهر أضعف نشاط ($IC_{50} = 3.44$ ملغ/مل).

أظهرت البكتيريا موجبة الغرام حساسية أكبر تجاه زيت النعناع الأخضر الأساسي مقارنة بالبكتيريا سالبة الغرام. بينما أظهر المستخلص المائي نشاطاً فقط ضد *Escherichia coli*.

الكلمات المفتاحية: *Mentha spicata* L.، الزيوت الأساسية، التقطير المائي، التقطير بالبخار، المستخلص المائي، النقع البارد، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للميكروبات..



Déclaration de correction de mémoire de master 2025

Référence du mémoire N°: / 2025 PV de soutenance N°: / 2025

Nom et prénom(en majuscule) de l'étudiant (e) : **HAHAMI Hadja...CHIKH KENZA** : لقب و اسم الطالب (ة) : **حاجي هاجر...الشيخ كنزة**

La mention التقدير	Note (20) العلامة	L'intitulé de mémoire عنوان المذكرة
très bien...	17	A. Activités anticorrosive et antimicrobienne des huiles essentielles de (Mentha spicata L.) extraites par deux méthodes.....

Déclaration et décision de l'enseignant promoteur : تصريح وقرار الأستاذ المشرف :

Déclaration : Je soussigné (e), Bemlael Fatima Zohra (grade) M.C.A à l'université de Biskra, avoir examiné intégralement ce mémoire après les modifications apportées par l'étudiant. J'atteste que : * le document a été corrigé et il est conforme au model de la forme du département SNV * toutes les corrections ont été faites strictement aux recommandations du jury. * d'autres anomalies ont été corrigées	تصريح : أنا الممضى (ة) أسفله بنملايل فاطمة الزهراء (الرتبة) M.C.A بجامعة بسكرة، أصرح بأنني راجعت محتوى هذه المذكرة كليا مراجعة دقيقة وهذا بعد التصحيحات التي أجراها الطالب بعد المناقشة، وعليه أشهد بان : * المذكرة تتوافق بشكلها الحالي مع النموذج المعتمد لقسم علوم الطبيعة والحياة. * المذكرة صححت وفقا لكل توصيات لجنة المناقشة * تم تدارك الكثير من الاختلالات المكتشفة بعد المناقشة
--	---

Décision : Sur la base du contenu scientifique, de degré de conformité et de pourcentage des fautes linguistiques, Je décide que ce mémoire doit être classé sous la catégorie	قرار : تمادا على درجة مطابقتها للنموذج ، على نسبة الأخطاء اللغوية على المحتوى العلمي أقرر أن تصنف هذه المذكرة في الدرجة												
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td>acceptable مقبول</td> <td>ordinaire عادي</td> <td>bien حسن</td> <td>très bien جيد جدا</td> <td>excellent ممتاز</td> <td>exceptionnel مميز</td> </tr> <tr> <td>E</td> <td>D</td> <td>C</td> <td>B</td> <td>A</td> <td>A</td> </tr> </table>	acceptable مقبول	ordinaire عادي	bien حسن	très bien جيد جدا	excellent ممتاز	exceptionnel مميز	E	D	C	B	A	A	
acceptable مقبول	ordinaire عادي	bien حسن	très bien جيد جدا	excellent ممتاز	exceptionnel مميز								
E	D	C	B	A	A								



الأستاذ المشرف

(Signature)

تاريخ
2025 / /

NB : Cette fiche doit être collée d'une façon permanente derrière la page de garde sur les copies de mémoire déposées au niveau de la bibliothèque universitaire