

PROJET DE FIN D'ÉTUDES
PRESENTE EN VUE D'OBTENTION DU DIPLOME DE
MASTER SCIENCES ET TECHNIQUES
GESTION ET CONSERVATION DE LA BIODIVERSITE

**Etude comparative des activités biologiques des huiles
essentielles extraites à partir de trois espèces de genre
*Mentha***

Présenté par : LAHLOU Aya

**Encadré par : Pr. ERRACHIDI Faouzi
Pr. CHADLI Nour-eddine**

Soutenu le : 19/07/2022

Devant le jury composé de :

- Pr. MIKOU Karima
- Pr. BENJELLOUN Meryem
- Pr. CHADLI Nour-eddine
- Pr. ERRACHIDI Faouzi

Année Universitaire : 2021/2022

Dédicace :

Je dédie ce modeste travail en premier lieu à mes chers parents qui m'ont prouvé le grand amour et l'infini respect dont je serai fidèle durant toute ma vie, rien ne pourrait compenser leurs sacrifices sauf les sentiments d'auto satisfaction et le bonheur de voir leurs efforts compensés par ma réussite.

Je le dédie aussi à

- Mes grands-parents
- Mes chères sœurs Rabab et Amal
- Ma nièce Radya

*Avant tout, je remercie **ALLAH** le tout puissant de m'avoir accordé la force et le courage pour réaliser ce modeste travail, atteindre mon but et réaliser ainsi un rêve.*

Remerciements :

Mes remerciements les plus sincères accompagnés de mon profond respect vont à **Mr Mustapha IJJAALI** le Doyen de la faculté des Sciences et Techniques de Fès.

Je tiens également à remercier **Mr Abderrahim LAZRAQ**, professeur de biotechnologie végétale à la FST Fès, et le coordonnateur de la filière **Gestion et Conservation de la Biodiversité** pour ses efforts durant toute les années de formation et pour ses précieux conseils.

Ma profonde reconnaissance et mes sincères remerciements vont aussi à **Mr Lahsen EL GHADRAOUI** professeur de Biodiversité, et directeur de laboratoire d'écologie fonctionnelle et génie de l'environnement à la FST Fès, pour ses conseils et pour ses compétences qui ont largement contribué à la réussite de ma formation tout au long de ce master.

J'adresse mes sincères remerciements à tous mes enseignants qui m'ont préparé théoriquement et pratiquement durant les années de formation, ainsi que tout le corps administratif de la FST Fès.

Ma profonde gratitude va spécialement à l'égard de mon encadrant externe **Mr Nour-eddine CHADLI** professeur de microbiologie à la Faculté des sciences Ain Chock (FSAC), Je tiens à le remercier vivement pour son accueil, sa sympathie et pour le partage de son expertise.

Je tiens aussi à exprimer ma profonde et vive reconnaissance à mon encadrant interne **Mr Faouzi ERRACHIDI**, professeur de microbiologie à la FST Fès, qui m'a suivi tout au long de cette période, il m'a conseillé sur l'orientation que je devais prendre pour une bonne rédaction, merci pour sa patience, sa disponibilité et sa gentillesse.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude et mes remerciements à **Mme Fatimazahra MOUKHFI**, doctorante finissante en Microbiologie pour l'aide précieuse, l'orientation, la grande compréhension, la disponibilité et le soutien durant la période du stage.

Sans oublier la direction de la faculté des sciences et techniques de Fès, et à son corps professoral qui au cours de ces années m'ont offert un cursus à la hauteur.

Mes remerciements s'adressent aussi à **Mme MIKOU Karima**, **Mme BENJELLOUN Meryem**, **Mr CHADLI Nour-eddine** et **Mr ERRACHIDI Faouzi** les membres de jury de la soutenance, auxquels je confie mon projet de fin d'étude.

Enfin, mon dernier remerciement et ce ne sont pas les moindres, vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.

RÉSUMÉ

Ce travail est consacré à renforcer l'étude du patrimoine botanique national, surtout les plantes médicinales, dont une grande partie reste encore vierge et nécessite des études approfondies.

L'objectif du présent travail vise l'étude de la composition chimique par GC-SM et d'évaluer les propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles de trois espèces de la menthe (*M. piperita* ; *M. pulegium* ; *M. spicata*) sur quatre souches bactériennes d'origine aviaire à savoir *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* et *Pasteurella multocida*, par la méthode d'aromatogramme sur milieu gélosé et la microdilution sur microplaque, le pouvoir antioxydant a été testé.

Les résultats de la composition chimique ont montré que le composé majoritaire chez les trois huiles essentielles est le Carvone avec un pourcentage qui varie d'une variété à une autre.

Les résultats de l'activité antibactérienne montrent que toutes les souches testées ont présenté une sensibilité vis-à-vis des huiles essentielles utilisées avec des diamètres variables entre 7 et 16 mm et des valeurs de CMI allant de 7.51 jusqu'à 125.27 mg/ml et d'une CMB qui varie entre 15.02 et 125.27 mg/ml.

L'activité antioxydante du test de DPPH des huiles essentielles du genre *Mentha* représente des IC_{50} entre 199.59 ± 0.25 et 135.75 ± 0.52 mg/ml, tandis que la capacité antioxydante totale montre des EC_{50} comprises entre 50 ± 0.16 mg/ml et 28.57 ± 0.07 mg/ml. Cependant le test de blanchissement de la β -carotène présente des IC_{50} entre 7.60 ± 0.39 mg/ml et 4.14 ± 0.64 mg/ml. Nos résultats montrent que les huiles essentielles de *M. piperita*, *M. pulegium* et *M. spicata* peuvent être utilisées pour pallier le problème de l'antibiorésistance et peuvent être aussi une source de molécules bioactives vu leurs propriétés antioxydantes.

Mots clés : Activité antibactérienne, Activité antioxydante, CG-SM, Huile essentielle, *M. piperita*, *M. pulegium*, *M. spicata*, Souches d'origine de volaille.

Abstract

The objective of the present work is to study the chemical composition by GC-MS and to evaluate the antimicrobial and antioxidant properties of essential oils of three varieties of mint (*M. piperita*; *M. pulegium*; *M. spicata*) on four bacterial strains of avian origin namely *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* and *Pasteurella multocida*, by the aromatogram method on agar medium and microdilution on microplate, the antioxidant power was tested.

The results of the chemical composition showed that the majority compound in the three essential oils is Carvone with a percentage that varies from one variety to another.

The results of the antibacterial activity show that all the tested strains presented a sensitivity towards the essential oils used with diameters varying between 7 and 16 mm and MIC values ranging from 7.51 to 125.27 mg/ml and a BMC varying between 15.02 and 125.27 mg/ml.

The antioxidant activity of the DPPH test of *Mentha* genus essential oils represents IC50s between 199.59 ± 0.25 and 135.75 ± 0.52 mg/ml, while the total antioxidant capacity shows EC50s between 50 ± 0.16 mg/ml and 28.57 ± 0.07 mg/ml. However, the β -carotene bleaching test shows IC50s between 7.60 ± 0.39 mg/ml and 4.14 ± 0.64 mg/ml. Our results show that essential oils of *M. piperita*, *M. pulegium* and *M. spicata* can be used to alleviate the problem of antibiotic resistance and can also be a source of bioactive molecules given their antioxidant properties.

Key words: Antibacterial activity, Antioxidant activity, GC-MS, Essential oil, *M. piperita*, *M. pulegium*, *M. spicata*, Poultry strains.

Liste des figures

Figure 1 : Mécanismes de défense des bactéries contre les antibiotiques.....	6
Figure 2: Mécanisme d'action des Antibiotiques.....	6
Figure 3: Familles chimiques des composés secondaires végétales	9
Figure 4: Répartition de la menthe dans le monde	10
Figure 5: Représentation schématique et image de <i>Mentha spicata</i> (Menthe verte).....	13
Figure 6: Représentation schématique et image de <i>Mentha pulegium</i> (Menthe pouliot).....	14
Figure 7: Représentation schématique et image de <i>Mentha piperita</i> (menthe poivrée)	15
Figure 8: Montage d'extraction par hydro distillation	18
Figure 9: Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau	19
Figure 10: Montage d'extraction par distillation à la vapeur directe	19
Figure 11: Structures chimiques de certains composants des huiles essentielles	22
Figure 12: Mécanisme d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne.....	23
Figure 13: Mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant	25
Figure 14: Mécanisme d'action du test de FRAP	26
Figure 15: Montage de distillation type Clevenger	31
Figure 16: Principe de la technique de l'aromatogramme	33
Figure 17: AntibioGramme et aromatoGramme	34
Figure 18: Illustration de diffusion en milieu liquide sur microplaque.....	35
Figure 19: Méthode de détermination de CMB	35
Figure 20: Profil chromatographique GC-MS de <i>Mentha piperita</i>	40
Figure 21: Profil chromatographique GC-MS de <i>Mentha spicata</i>	41
Figure 22: Profil chromatographique GC-MS de <i>Mentha pulegium</i>	42
Figure 23: Représentation graphique de résultats de l'aromatogramme	44
Figure 24: Activité antioxydante des huiles essentielles évaluée par le test de DPPH.....	49
Figure 25: Activité antioxydante des huiles essentielles mesurée par le teste de Phosphomolybdate	50
Figure 26: Activité antioxydante des huiles essentielles évaluée par le test de blanchissement de la β -carotène	51
Figure 27: Activité antioxydante des huiles essentielles évaluée par le test de blanchissement de la β -carotène après 2h	51

Liste des tableaux

Tableau 1: Métabolites secondaires (Polyphénols).....	8
Tableau 2: Rendement en pourcentage de l'extraction de chaque variété de la menthe.....	39
Tableau 3: Composition chimique de l'HE de <i>Mentha piperita</i>	40
Tableau 4: Composition chimique de l'HE de <i>Mentha spicata</i>	41
Tableau 5: Composition chimique de l'HE de <i>Mentha pulegium</i>	42
Tableau 6: Aromatogramme reflétant les diamètres d'inhibitions de 10µl des HEs	44
Tableau 7: Antibiogramme.....	45
Tableau 8: CMI et CMB évaluées par la technique de microdilution	47
Tableau 9: Concentration inhibitrice médiane IC ₅₀ pour le test de DPPH.....	49
Tableau 10: Concentration efficace médiane EC ₅₀ pour le test de phosphomolybdate	50
Tableau 11: Concentration inhibitrice médiane IC ₅₀ pour le test de la β-corotène	51

Liste des abréviations

BHT : Butylhydroxytoluène

CAT : Capacité antioxydante totale

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CG-SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse

DCM : Dichloromethane

DO : Densité optique

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

FRAP : Ferric reducing ability of plasma

HE : Huile essentielle

OMS : Organisation mondiale de la santé

PAM : Plante aromatique et médicinale

UFC : Unité formant colonie

Liste des annexes

Annexe 1 : Classification et description des souches étudiées.....	ii
Annexe 2 : Compositions et préparations des milieux de culture.....	iii
Annexe 3 : Aromatogramme.....	iv
Annexe 4 : Microdillution sur microplaque.....	v
Annexe 5 : Gamme d'étalonnage des contrôles.....	vi
Annexe 6 : Test de phosphomolybdate.....	vii
Annexe 7 : Test de DPPH.....	vii
Annexe 8 : Test de blanchissement de la β -carotène.....	vii

Sommaire

Introduction générale	1
Partie I : Etude bibliographique	3
Chapitre 1 : Résistance des bactéries aux antibiotiques	4
1. Définition des antibiotiques	4
2. Un aperçu historique des antibiotiques	4
3. Causes de résistance aux antibiotiques.....	4
4. Origine de la résistance aux antibiotiques	5
5. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	5
6. Mécanismes d'action des antibiotiques	6
Chapitre 2 : Généralités sur les plantes aromatique et médicinale	7
1- Définition de plantes aromatique et médicinale.....	7
2- Historique	7
3- Utilisations des plantes médicinales	7
4- Les métabolites primaires et secondaires	8
Chapitre 3 : Généralités sur la menthe.....	10
1- Présentation botanique de la menthe	10
2- Utilisations de la menthe.....	11
3- La culture de menthe au Maroc	11
4- Conditions de culture de la menthe	12
5- Généralités sur la menthe verte (<i>Mentha spicata</i>)	12
6- Généralités sur la Menthe Pouliot (<i>Mentha pulegium</i>)	14
7- Généralités sur la menthe poivrée (<i>Mentha piperita</i>)	15
Chapitre 4 : Généralités sur les huiles essentielles	17
1- Définition d'huile essentielle	17
2- Historique des huiles essentielles	17
3- Propriétés physico-chimiques	18
4- Méthodes d'extractions	18
5- Composition chimique des huiles essentielles.....	21
6- Mode d'action des huiles essentielles vis-à-vis les bactéries.....	22
7- Toxicité des huiles essentielles.....	24
Chapitre 5 : Activités biologiques	25
1- Activité antioxydante.....	25
2- Technique d'évaluation de l'activité antioxydante	25
3- Activité antimicrobienne	27

Sommaire

Partie II : Matériel et méthodes.....	30
1- Extraction de l'huile essentielle.....	31
2- Analyse chromatographique des huiles essentielles.....	32
3- Activité antibactérienne	32
4- Détermination de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle	33
5- Détermination de l'activité antioxydante de l'huile essentielle.....	36
Partie III : Résultats et discussion	38
1- Description des huiles essentielles obtenues.....	39
2- Composition chimique des huiles essentielles extraites.....	39
3- Activité antibactérienne des huiles essentielles extraites	43
4- Evaluation des activités antioxydante des huiles essentielles extraites	49
5- Discussion de l'activité antioxydante	52
Conclusion général et perspectives	54
Références bibliographiques	56
Annexes	i

Introduction générale

Les molécules utilisées pour le traitement des infections microbiennes ont progressé depuis la découverte de la pénicilline par Alexander Fleming en 1928. Au fil des ans, de nouvelles classes de traitements ont été découvertes et rendues possibles pour traiter d'avantage de maladies associées aux infections microbiennes. Cependant, la surutilisation de ces molécules compromet l'efficacité des antibiotiques contre les bactéries. Par une pression de sélection excessive, les bactéries ont développé de nouveaux mécanismes pour masquer les effets des agents antimicrobiens. Les changements de cibles, les difficultés d'acquisition d'antibiotiques au sein des bactéries, les mécanismes sont multiples et rendent de plus en plus inefficaces les thérapeutiques actuelles. Ces nouvelles bactéries résistantes sont devenues une menace majeure pour la santé.

L'arsenal thérapeutique n'aura jamais été autant limité qu'aujourd'hui, là où par le passé, celui-ci était vaste et proposait un large éventail de molécules. Il ne s'agit aujourd'hui plus de traiter seulement une bactérie, mais de considérer tous les facteurs occasionnant cette résistance. Ces résistances ont poussé les différentes institutions de santé à revoir entièrement le système actuel, c'est pour cette raison que les chercheurs ont recouru aux molécules naturelles issues de plantes aromatiques et médicinales pour remédier et palier à cette menace. Cependant le nombre de plantes médicinales dans le monde entier est estimé à environ 250 000 espèces, dont seulement quelques centaines ont fait l'objet d'une étude approfondie impliquant, la composition chimique et l'utilisation thérapeutique. Toutefois, il reste toujours une grande diversité de plantes aromatiques et médicinales inconnues (El Arch et *al.*, 2003).

Le Maroc possède une richesse et diversité naturelle non négligeable en terme de plantes aromatiques et médicinales, vue son bioclimat méditerranéen et sa situation géographique particulière, permettant une flore riche et variée, dont plus de 4000 espèces et sous espèces ont été répertoriées (Aafi et *al.*, 2009). Ces plantes sont susceptibles d'être utilisées dans les différents domaines (Pharmacopée traditionnelle, industrie pharmaceutique, parfumerie, cosmétique et agro-alimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes (Jamaleddine et *al.*, 2019). Ces plantes aromatiques sont l'origine des produits à forte valeur ajoutée (huiles essentielles, extraits) qui se présentent presque souvent comme des mélanges complexes avec plusieurs avantages. C'est pour cela la recherche d'aujourd'hui s'intéresse à l'étude des huiles essentielles, principe actifs issus du métabolisme secondaire des plantes médicinales. Elles sont largement employées, parce qu'elles sont douées de nombreuses propriétés biologiques notamment antimicrobienne (Weihui Deng et *al.*, 2020).

Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles sont connues depuis l'antiquité, et ont fait l'objet d'un nombre de publication qui ont confirmé par des études *in vitro*, leur action inhibitrice contre de nombreux germes pathogènes. De plus ces métabolites secondaires sont dotés d'une forte

Introduction générale

activité antioxydante qui agissent comme inhibiteurs des radicaux libres ceux-ci endommagent de nombreux composants cellulaires, comme les protéines, les lipides ou l'ADN en entraînant un stress oxydant. Les capteurs de radicaux libres ont pour rôle de stopper ce processus en neutralisant ces composés très réactifs et pour réduire leur nocivité (Belmekki., 2009).

De plus les huiles essentielles avec leurs larges spectres d'action vis-à-vis d'un grand nombre de microorganismes constituent une alternative très prometteuse, sans être une source de danger pour la santé humaine, animale ou de pollution pour l'environnement.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à étudier trois variétés de menthe à savoir *M. spicata*, *M. piperita*, *M. pulegium*, appartenant à la famille des *Lamiaceae*. Les herbes aromatiques, en particulier celles qui appartiennent à la famille des *Lamiaceae* sont des plantes aromatiques populaires, qui sont largement utilisées pour renforcer la saveur et l'arôme des aliments et pour améliorer la qualité globale du produit (Velasco., 2011). Elles sont également la source principale de composés phytochimiques qui ont un effet bénéfique sur la santé que ça soit animale ou humaine. De nombreuses études ont montré que les herbes de la famille des *Lamiaceae* et les produits extraites à partir de ces herbes ont une puissante activité antioxydante et antibactérienne, principalement dues à la quantité et à la qualité des composés phénoliques qu'elles contiennent. Parmi ceux-ci, l'eugénol, le carvacrol et le thymol qui sont les principaux composants des huiles essentielles des plantes appartenant aux *Lamiaceae* (Hossain., 2008 ; Alinezhad., 2012).

Pour cette raison, l'objectif principal de notre travail est d'identifier la composition chimique et d'étudier les activités biologiques de trois huiles essentielles extraites à partir des trois variétés de la plante « Menthe », à savoir l'activité antibactérienne et l'activité antioxydante afin de pouvoir utiliser ces huiles essentielles comme alternatives des antibiotiques.

Notre manuscrit est scindé en trois parties :

- La première est consacrée à une étude bibliographique dans laquelle sont exposées les généralités sur l'antibio-résistance, les plantes aromatiques et médicinales, puis on abordera des généralités sur la menthe et les différentes variétés qui ont fait l'objet de notre étude. ensuite un chapitre sur les huiles essentielles et un dernier chapitre qui sera dédié aux activités biologiques.
- La deuxième partie illustre respectivement le matériel végétal étudié (trois espèces de la menthe à savoir *M. piperita*, *M. spicata* et *M. pulegium*) et les méthodes adoptées pour la réalisation de cette étude sont l'aromatogramme, la technique de microdillution sur microplaque pour l'activité antibactérienne, et le test de piégeage des radicaux libres DPPH, test de phosphomolybdate et finalement le test de blanchissement de la β -carotène pour l'activité antioxydante.
- La dernière partie expose les résultats obtenus et des discussions apportées et enfin, une conclusion résumant l'essentiel du travail suivie par des perspectives.

Partie I :
Etude bibliographique

Chapitre 1 : Résistance des bactéries aux antibiotiques

1. Définition des antibiotiques

Un antibiotique est toute substance naturelle ou synthétique capable d'inhiber *in vivo* le développement des bactéries. Les molécules d'antibiotiques doivent être idéalement les plus toxiques pour les bactéries et les moins toxiques pour les cellules de l'organisme qui les hébergent. On les divise en antibiotique à large spectre ou à spectre étroit selon leur activité contre beaucoup ou peu de germes (Gaudy et *al.*, 2005).

2. Un aperçu historique des antibiotiques

Le domaine des antibiotiques a été initié lorsque Paul Ehrlich a inventé le terme "balle magique", ou chimiothérapie, pour désigner l'utilisation de composés antimicrobiens pour traiter les infections microbiennes. En 1910, Ehrlich a découvert le premier médicament antibiotique, le Salvarsan, qui était utilisé contre la syphilis.

Ehrlich est suivi par Alexander Fleming, qui découvre la pénicilline par accident en 1928. Puis, en 1935, Gerhard Domagk a découvert les sulfamides, ouvrant ainsi la voie à la découverte de l'isoniazide, un antituberculeux. Puis, en 1939, René Dubos est devenu le premier scientifique à découvrir un antibiotique après l'avoir délibérément cherché dans les microbes du sol. Dubos a découvert la gramicidine, qui est encore utilisée aujourd'hui pour traiter les infections cutanées. Enfin, en 1943, le premier médicament contre la tuberculose, la streptomycine, a été découverte par Selman Waksman et Albert Schatz. C'est également Waksman qui a donné le terme "antibiotique". Depuis, les antibiotiques sont utilisés pour traiter les infections bactériennes depuis les années 1940 (Zhang., 2007).

3. Causes de résistance aux antibiotiques

Depuis longtemps la découverte des antibiotiques a résolu beaucoup de problèmes en ce qui concerne la santé humaine et animal. Ils diminuent d'une façon importante le taux de mortalité et de morbidité et ils ont joué un rôle très important dans le traitement des infections microbiennes. Mais les bactéries ont évolués vers une résistance de plus en plus importante face aux antibiotiques, et l'une des principales causes de la résistance aux antibiotiques est la surconsommation d'antibiotiques, dans certains cas, la mauvaise utilisation, due à un diagnostic incorrect. Une deuxième cause est la contrefaçon de médicaments.

Utilisation des antibiotiques dans l'élevage des animaux crée également certaines bactéries résistantes aux médicaments, qui peuvent être transmises à l'homme.

Partie I : Etude bibliographique

La mondialisation croissante pourrait également entraîner la propagation de la résistance aux médicaments. Enfin, le milieu hospitalier est souvent à l'origine de bactéries résistantes aux antibiotiques (Zhang., 2007).

4. Origine de la résistance aux antibiotiques

Les gènes de résistance bactérienne à un antibiotique se trouvent soit dans le chromosome, soit dans un élément mobile (plasmides, intégrons...). La résistance est alors soit naturelle, soit acquise (Carle., 2009).

4.1 Résistance naturelle

C'est une résistance naturelle chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Donc c'est une insensibilité qui fait partie du patrimoine génétique normal des bactéries, mais elle n'est pas transférée d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale). Elle est aussi permanente, stable et chromosomique (Yamashita et *al.*, 2000).

4.2 Résistance acquise

Lorsque la résistance est acquise c'est soit par mutation ou l'acquisition du matériel génétique exogène capable de rendre la bactérie insensible aux antibiotiques. Ces éléments peuvent passer d'entre les bactéries de même espèce (transfert vertical) ou entre les espèces différentes (transfert horizontal) (Zhang., 2007).

5. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens parmi eux on peut citer : Inhibition enzymatique, Modification de la cible, Pompe à efflux, réduction de la perméabilité cellulaire.

5.1 Inhibition enzymatique

Dans ce cas les bactéries produisent les enzymes qui inhibent l'action de l'antibiotique en modifiant le noyau actif de ce dernier par clivage ou par addition d'un groupement chimique (Dzidic et *al.*, 2008).

5.2 Modification de la cible

Le composé antibactérien ne peut se lier ni exercer son activité au niveau de la bactérie à cause de la modification structurelle ou le remplacement de la cible d'antibiotique (Muylaert et *al.*, 2012).

5.3 Réduction de la perméabilité membranaire

La bactérie empêche la pénétration de l'antibiotique dans la cellule dans laquelle celui-ci doit entrer pour atteindre sa cible. Les bactéries résistantes réduisent leur nombre de porines et déstabilisent ainsi ces canaux (Veysierie., 2019).

Partie I : Etude bibliographique

5.4 Pompe à efflux

Dans ce mode de résistance, certaines souches de bactéries empêchent la rentrée des antibiotiques dans leurs cellules, et cela grâce au mécanisme de transport dit pompe à efflux qui leur permet de rejeter les antibiotiques à l'extérieur (Muylaert *et al.*, 2012).

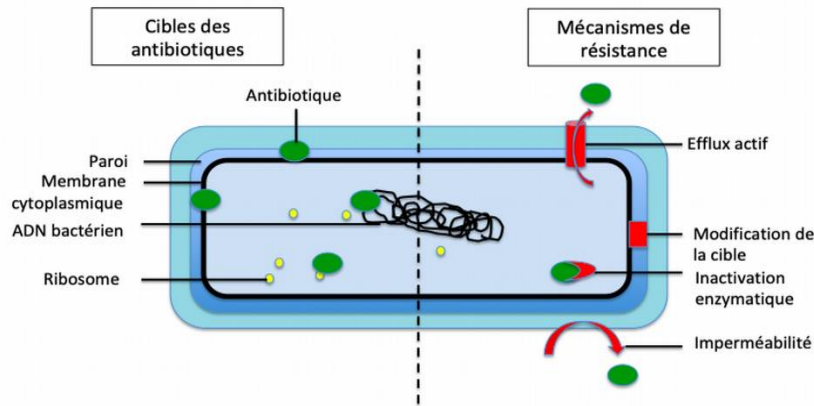


Figure 1 : Mécanismes de défense des bactéries contre les antibiotiques (Martin *et al.*, 2019)

6. Mécanismes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques bloquent de manière spécifique les processus métaboliques vitaux des bactéries sensibles et arrêtent ainsi leur développement, le plus souvent seulement temporairement (effet bactériostatique) mais parfois définitivement (effet bactéricide).

Il existe différents types d'antibiotiques capables d'agir sur les bactéries selon différents mécanismes (Gaudy., 2005) :

- Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne ;
- Altération de la perméabilité de la membrane plasmique ;
- Inhibition de la synthèse protéique ;
- Action sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs précurseurs (quinolones).

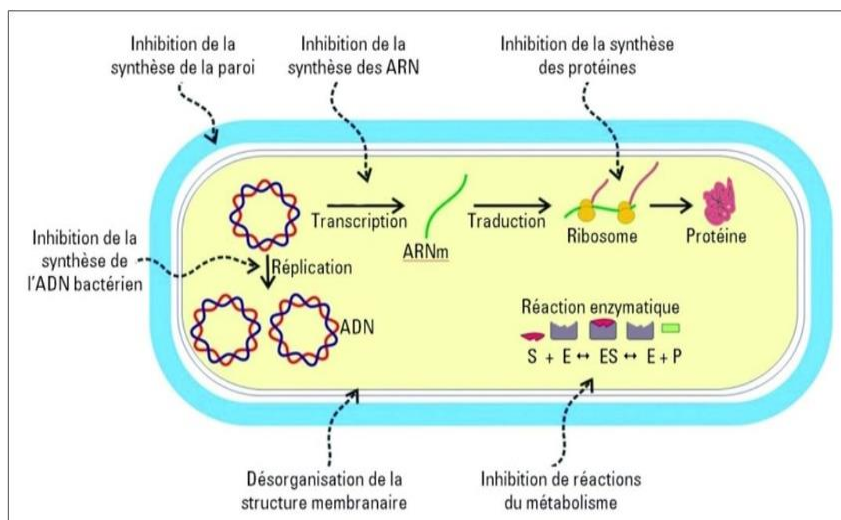


Figure 2: Mécanisme d'action des Antibiotiques

Chapitre 2 : Généralités sur les plantes aromatique et médicinale

1- Définition de plantes aromatique et médicinale

Selon l'OMS, « **une plante médicinale** » est une plante qui contient dans un ou plusieurs de ses organes des substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs de la chimio-pharmaceutique hémi-synthèse (OMS., 2002).

Les plantes aromatiques sont des végétaux qui contiennent suffisamment de molécules aromatiques dans un ou plusieurs organes producteurs : feuilles, fleurs, tiges, fruits, écorces, racines etc (OMS., 2002).

2- Historique

Les gens utilisent les plantes pour se soigner et se nourrir depuis l'Antiquité, l'histoire des plantes aromatiques et médicinales est donc étroitement liée à l'évolution des civilisations. Depuis longtemps, les plantes aromatiques et médicinales ont été utilisées pour préparer des remèdes thérapeutiques (Meftah., 2003). Selon l'OMS, 40 % environ de l'ensemble des soins de la santé en chine révèlent de la médecine traditionnelle et par conséquence des plantes aromatiques et médicinales.

Au 5^{ème} siècle, le père de la médecine occidentale « Hippocrate » était connu par l'utilisation des plantes aromatiques et médicinales pour les soins. L'explicitation de leurs multiples bienfaits, et ces données sont publiées dans le corpus Hippocratique en 280 avant J.-C (Meftah., 2003 ; Fouche et *al.*, 2000).

Les premières huiles essentielles pures ont été produites par des spécialistes arabes en médecine et pharmacie en 8^{ème} et 9^{ème} siècle, comme « Ibn sina (Avicenne) ». Avicenne a consacré une large partie dans ses ouvrages sur la médecine pour les huiles essentielles.

Les plantes, au 18^{ème} siècle, ont acquis ce que nous appelons aujourd'hui leur identité, le double nom latin de genre et d'espèce. Et en 19^{ème} et 20^{ème} siècle, les plantes sont analysées chimiquement et leurs activités biologiques ont été démontrés (Mohammedi., 2006).

3- Utilisations des plantes médicinales

Les plantes médicinales et aromatiques renferment plusieurs composés utiles qui jouent un rôle essentiel dans plusieurs domaines comme la thérapie, la cosmétologie, et l'industrie alimentaire. Ces plantes sont utilisées fréquemment comme épices, pour aromatiser, et pour augmenter la durée de vie des aliments grâce à l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de ces espèces (Mohammadi., 2006), très souvent dans la création des produits de beauté. Par exemple les huiles essentielles de la lavande sont utilisées dans les préparations pour bains calmants ou relaxants (Bruneton., 1993), aussi pour l'extraction

Partie I : Etude bibliographique

industrielle de substances naturelles pures, destinées le plus souvent à des indications thérapeutiques majeurs : le traitement des troubles nerveux et des troubles liés au stress (Messkgue., 1975 ; Iserin., 1997 ; Legrand., 1994). D'autres, telles que l'*Aunée officinale*, Origan et l'Eucalyptus ont prouvé leur efficacité dans le traitement des problèmes respiratoires et les bronchites, (Iserin., 1997 ; Legrand., 1994).

Les plantes aromatiques et médicinales peuvent être utilisées aussi sous la forme de médicaments familiales simples ou plus innovantes, généralement utilisées dans les pathologies mineures ou thérapeutiques d'appoint.

4- Les métabolites primaires et secondaires

Les métabolites primaires sont des composées indispensables à la vie, à la croissance et au développement de la plante. Donc ces métabolites ont un rôle clé et bien établi chez tous les végétaux et parmi ces métabolites on peut citer les acides aminés les protéines, les acides gras et sucres. Inversement aux métabolites primaires les métabolites secondaires qui sont à leurs tours des composées qui ne sont pas directement impliquées dans la croissance de la plante, ces derniers interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement. Certains de ces composés participent à la défense contre les bioagresseurs (Herms et Mattson., 1992). Ils sont souvent classés en trois catégories principales : Composées phénoliques, terpènes, stéroïdes et alcaloïdes.

Tableau 1: Les Polyphénols

Composé	Activité	Référence
Acides phénoliques	-Possèdent un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (OH-) -Liées à des sucres sous forme d'hétérosides	-(Macheix et al.,2005 ; Benhamou., 2009) -(Wichtl et Anton., 2009)
Favones	-Responsables de la couleur des fleurs et des fruits -Antioxydant important dans l'alimentation humaine	-(Bruneton.,1999) -(Babenko et Shakhovo., 2006)
Tanins	- Substances polyphénoliques, ayant la propriété de tanner la peau, grâce à leurs propriété de se combiner aux protéines	-(Paris et Hurabielle., 1981).
Coumarines	- Ont des propriétés antibiotiques, spasmolytiques, antifongiques et anticancéreuses.	-(Mirunalini et krishnaveni ., 2011).

Partie I : Etude bibliographique

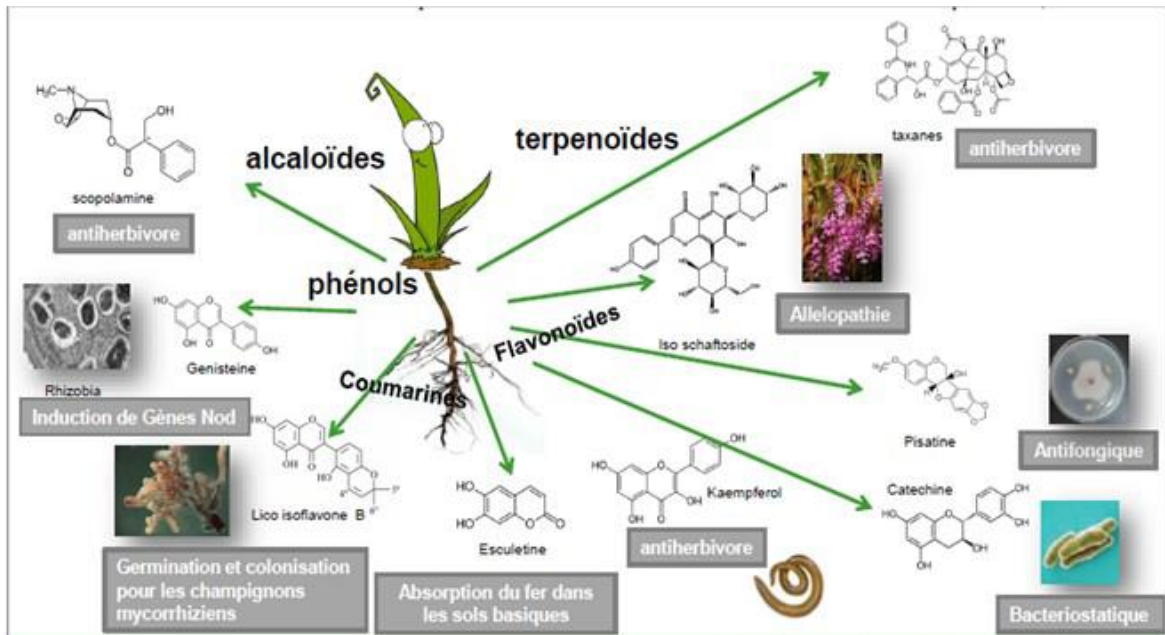


Figure 3: Familles chimiques des composés secondaires végétales (Hassaine., 2020)

Chapitre 3 : Généralités sur la menthe

1- Présentation botanique de la menthe

Les Menthes, du nom latin *Mentha* font partie de ce grand cortège de substances, ce sont des plantes vivaces, herbacées et d'une forte odeur, font partie de la famille des *Lamiacées*, sous-famille de *Nepetoideae* et au genre *Mentha* qui comprend 25 à 30 espèces poussant dans les régions tempérées d'Eurasie, d'Australie et d'Afrique du Sud (Bruneton., 1993). Les espèces de la menthe ont une grande importance tant sur le plan médicinale que commercial, ils présentent une grande diversité et bienfaits au niveau thérapeutique (par exemple elles fortifient le système des nerfs, stimulant diffusible et aussi un sédatif diffusible), cosmétique et autres.

Comme tous types de plantes, à partir de la menthe, on peut extraire de l'huile essentielle, cette essence a une infinie importance dans l'industrie, elle est souvent extraite des plantes d'une race cultivée avec des meilleurs rendements.

Les menthes sont facilement reconnaissables grâce à leur odeur, par contre c'est très difficile de distinguer entre les différentes variétés car ce sont des formes intermédiaires d'origine hybride. Parmi les caractéristiques des menthes on trouve : les petites fleurs à corolle régulière, quatre lobes égaux et quatre étamines, sans oublier l'odeur particulière. Les espèces les plus communes sont la menthe aquatique « *Mentha aquatica* », menthe poivrée « *Mentha piperita* », la menthe verte « *Mentha spicata* ». Ces différentes espèces sont caractérisées par une tige carrée et des feuilles opposées et dentées, une odeur très distinctive grâce à l'huile essentielle qu'elles contiennent (Benayad., 2008).

La plupart des menthes sont originaires de l'Europe et l'Asie, mais à cause du flux de migration les menthes sont présentes aujourd'hui dans tout le monde.

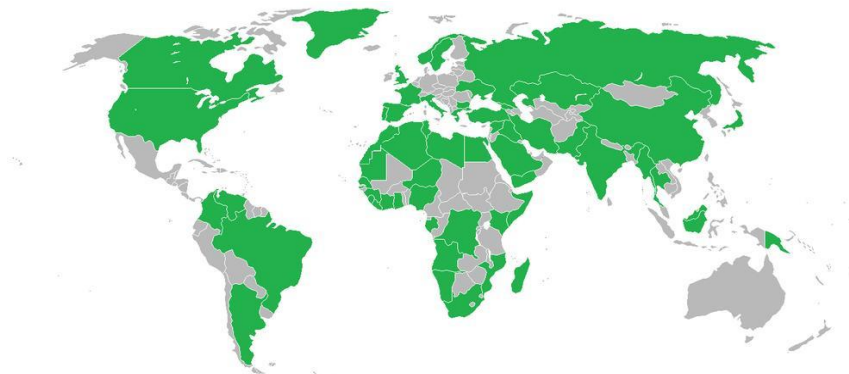


Figure 4: Répartition de la menthe dans le monde (Benomar., 2014)

2- Utilisations de la menthe

Les menthes sont parmi les herbes les plus populaires qui ont été utilisées depuis l'antiquité et qui présentent plusieurs caractères thérapeutiques. Ils ont des bienfaits grâce à leurs huiles essentielles qui à leurs tours se caractérisent par leurs propriétés biologiques à savoir le pouvoir antioxydant et antimicrobien, anti-cancéreux (Khaldi., 2012). Ces plantes occupent une place particulière dans plusieurs industries telles que pharmaceutique et cosmétique. Parmi leurs utilisations, on peut citer :

2.1 Utilisations thérapeutique :

Les menthes sont connues par leurs effets à soulager les maux de tête et les céphalées, prévenir la migraine, stimuler le système nerveux, ainsi ils exercent une action hautement positive au niveau de l'estomac, au niveau de la foi et des intestins en cas de digestion lente, elles traitent les inflammations des voies respiratoires (toux, rhume) ou en cas de fièvre. En cas de problème cardiologique, l'huile est traditionnellement connue pour ses effets de dilatation des vaisseaux sanguins par application externe. Ils ont aussi une action apaisante et antiseptique sur la peau (Beloued., 2001 ; Kothe., 2007).

2.2 Utilisation cosmétique :

L'huile essentielle de la menthe est largement employée dans l'industrie cosmétique pour la composition de produits de beauté (savons, eaux de Cologne, lotions pour la peau, démaquillants, shampoing), et très souvent utilisé en bain de bouche ou sous forme de gargarisme, car elle désinfecte la cavité buccale, soigne les inflammations des gencives (gingivite) et soulage les maux des dents (Beloued., 2001).

2.3 Utilisation en agroalimentaire :

La menthe c'est une plante utilisé dans la cuisine comme arôme grâce à son goût et son parfum frais, son huile essentielle est utilisée dans l'agroalimentaire afin de parfumer les bonbons, chocolats, chewing-gums et les boissons.

3- La culture de menthe au Maroc

Le Maroc est un pays connu par sa diversité géographique et climatique ce qui lui confère un important potentiel de développement d'une flore riche (plus de 4200 espèces ont été identifiées dont 800 endémiques et 600 classées comme produits à usage médicinal et/ou aromatique). Parmi ces plantes, on trouve la Menthe. Il est utilisé presque tous les jours pour aromatiser le thé, ce qui est lié aux usages et coutumes marocains. La menthe est également connue pour ses utilisations dans les aliments, les médicaments et le secteur aromatique.

Partie I : Etude bibliographique

La menthe est principalement cultivée dans les régions de Settât, Meknès, Benslimane, Skhirat, Marrakech, Larache et Agadir. D'après les statistiques officielles, la production nationale de menthe en 2012 a fluctué autour de 99 005 tonnes sur 4 005 hectares de terres, avec 4 515 tonnes ont été principalement exportées vers l'Europe, dont 98 % de menthe fraîche d'une valeur de 93 millions de dirhams. L'exportation moyenne au cours des 10 dernières années 5 066 tonnes (Jawad., 2013). La province de Settât est la province qui connaît la plus grande production de menthe fraîche du pays, avec une superficie d'environ 1 763 hectares, représentant 54% de la superficie de menthe du pays. Et une valeur (exploitée et commercialisée) de 28,8 Millions de dirham. C'est une province connue par l'écotype El Brouj qui est très apprécié en Chaouia, au niveau national et même à l'étranger (DRA Chaouia-Ouardigha., 2011).

4- Conditions de culture de la menthe

La menthe est une plante rustique qui pousse facilement. Elle résiste très bien au froid. Donc la plantation de cette plante doit se réaliser dans un sol bien travaillé, en espaçant chaque plant d'au moins 40 cm. Dans les régions sèches et pauvres il est préférables de la cultiver en Septembre-Octobre, plutôt qu'au printemps ; les plantes pourront ainsi profiter de l'automne, puis de l'hiver pour développer leur système racinaire et seront plus résistantes à la sécheresse quand arrivera la saison estivale. Dans les régions froides et plus arrosées, la plantation peut s'effectuer au printemps ou en automne. En sols peu pauvres, il est préférable d'apporter à la plantation un amendement organique, des engrais naturels ou du compost.

L'arrosage reste bien sûr indispensable au bon développement des menthes, surtout si elles sont plantées en plein soleil. Il faut arroser régulièrement et de préférence le soir ou matin tôt. Un dispositif goutte à goutte convient bien (Bourgeois., 2014).

5- Généralités sur la menthe verte (*Mentha spicata*)

5.1 Position systématique

La situation botanique de l'espèce *M. spicata* est donnée ci-dessous (Quézel et Santa., 1963).

Règne : Plantae

Embranchement : Spermaphytes

Ordre : Lamiales

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Mentha*

Espèce : *Mentha spicata* L.

5.2 Description botanique

Mentha spicata, menthe verte ou encore la menthe douce, est une plante herbacée vivace, pérenne avec une forte odeur aromatique. L'huile de *M. spicata* est riche en Carvone et présente une odeur caractéristique de menthe verte (Jirovetz et *al.*, 2002). Elle est de moins d'un mètre de hauteur, à tige rameuse quadrangulaire droite, glabre, de couleur pourpre, munie de feuilles opposées persistantes (Ait-Ouahioune., 2005), fortement dentées en scie, ne comportent pas de poils et généralement de couleur vert sombre sur les deux côtés. Les lancéolées de 3 à 5 cm de long et de 1 à 2 cm de large presque sessiles, de couleur vert sombre (Grosjean., 1990). Les fleurs, situées à l'aisselle des feuilles supérieures, sont habituellement petites, opposées, rosées ou lilas, groupées en épis terminaux étroits, allongés et aigus, fleurissant dans le mois juillet à octobre. Ses stolons sont souterrains (Ait Ouahioune., 2005 ; Dupont., 2012).



Figure 5: Représentation schématique et image de *Mentha spicata* (Menthe verte) (Douay., 2009)

5.3 Origine et distribution de la plante

La menthe verte (*Mentha spicata*) est une espèce de menthe originaire d'Afrique du Nord, d'Egypte et du Maroc. C'est une espèce envahissante dans la région des Grands Lacs où elle a été observée pour la première fois en 1843 (Balla et *al.*, 2017). Elle s'agit d'un hybride issu de *Mentha longifolia* et *Mentha Suaveolens*, elle est cultivée aujourd'hui dans les pays de nord d'Afrique, ainsi qu'en Angleterre, USA, et en Hollande (Anton., 2005).

5.4 Composition chimique

Les huiles essentielles extraites de *Mentha spicata*, distribuées dans le monde entier, ont été caractérisées par le chémotype couple carvone/limonène, le 1,8-cinéole, menthone, oxyde de pipérénone, cis-carvéol, pipéritone, pulégone, trans- β -caryophyllène, et l' α -Humulène ses composés ont été signalés comme étant les principaux composants des huiles essentielles de *Mentha spicata* avec des pourcentages qui varie en fonction de plusieurs facteurs (Chauhan et *al.*, 2011).

6- Généralités sur la Menthe Pouliot (*Mentha pulegium*)

6.1 Position systématique

La situation botanique de l'espèce *M. pulegium* est donnée ci-dessous (Boukef., 1986).

Règne : *Plantae*

Embranchement : Spermaphytes

Ordre : Lamiales

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Mentha*

Espèce : *Mentha pulegium* L.

6.2 Origine et distribution

Mentha pulegium est connue sous le nom menthe pouliot, pouliot vient du nom latin *Pulegium*, dérivé de *pulex* : la puce. Cette plante ayant la propriété d'éloigner les puces, on la trouve fréquemment dans les milieux humides, elle pousse sur des sols sablonneux, et acides, mais elle est très sensible au gel. Au début elle était d'origine méditerranéenne mais aujourd'hui elle est présente aussi en Europe de l'ouest, centrale et du sud, aux canaries et à l'ouest de l'Asie, ainsi qu'en Amérique (Anton., 2005).

6.3 Description botanique

La menthe pouliot c'est une plante herbacée à tiges grêles, quadrangulaires, rampantes ou dressés, rougeâtres velues ou glabres, généralement basse de 10 à 30 cm de hauteur, se caractérise par une forte odeur aromatique. Ces feuilles sont opposées courtement pétiolées, elliptiques ou ovales, de 3 cm de long, poilues. Pour les fleurs, elles sont pédonculées d'une couleur rose, blanche ou bleue, réunies en inflorescences compactes et d'aspect globuleux, au calice tubuleux, bilabié, recourbé et barbu au niveau de la gorge. Le fruit est un tétrakène, chaque akène renfermant une graine d'environ 0.5 mm de long et un brun brillant (Teuscher et al., 2005).



Figure 6: Représentation schématique et image de *Mentha pulegium* (Menthe pouliot) (Sotti., 1989)

6.4 Composition chimique

La Menthe pouliot a été soumise à certain nombre d'étude qui ont mis en évidence trois principaux composants huileux de la menthe pouliot qui sont : La pulégone, la pipéritone, et l'isomenthone avec des pourcentages qui diffèrent d'une région à une autre (Habiba., 2011).

7- Généralités sur la menthe poivrée (*Mentha piperita*)

7.1 Position systématique

La situation botanique de l'espèce *M. piperita* est donnée ci-dessous (Kennedy D et al., 2018).

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Tracheophytes*

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Mentha*

Espèce : *Mentha piperita* L.

7.2 Description botanique

Menthe poivrée (*Mentha piperita*) est un hybride naturel de menthe aquatique et de menthe verte a été découverte en 1696 (Baudoux., 2017). A la senteur et au goût fort et piquant. C'est une plante vivace herbacée et sauvage. Les tiges sont quadrangulaires, ascendantes, peuvent atteindre jusqu'à 1.20 m, ces feuilles sont ovales, opposées, dentées, pointues et généralement d'un beau vert, elles sont souvent ridées et parfois duveteuses, se caractérise par une forte odeur qui permet de les identifier facilement. Les fleurs poussent en grappes à l'aisselle des feuilles et sont roses et les tiges sont violettes (Morigane., 2007).



Figure 7: Représentation schématique et image de *Mentha piperita* (menthe poivrée) (Gayda., 2013).

7.3 Origine et distribution de la Plante

La menthe poivrée a été trouvée dans les pyramides égyptiennes comme des feuilles séchées revenant au premier millénaire av.J.-C (Iserin., 2001). Elle est originaire de l'Inde et cultivée en Europe centrale et du sud, Amérique du nord et du sud, l'Afrique, l'Asie et presque dans tout le globe. Elle se trouve à l'état sauvage dans toute l'Australie, l'Amérique du Nord et en Europe (Charles., 2013).

7.4 Composition chimique

La composition chimique de l'huile essentielle de *M. piperata* de diverses origines géographiques a été déterminée, et les composés majeurs ont été identifiés. Menthol, Menthone, Acétate de menthyle, menthofurane, 1,8 cinéole, Néomenthol, Isomenthone (Zoran et al., 2009 ; Derwich et al., 2010 ; Mohammad et al., 2012). Le pourcentage de chaque composant varie d'une région à une autre en fonction de la période de récolte la région de récolte et les conditions climatiques et géographiques.

Chapitre 4 : Généralités sur les huiles essentielles

1- Définition d'huile essentielle

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés naturels de structures organiques diverses obtenues à partir d'une matière végétale par des procédés d'extraction comme par distillation à la vapeur, par hydro distillation et plus fréquemment maintenant dans des gaz supercritiques (dioxyde de carbone) (Santoyo et *al.*, 2005). Il faut bien noter que les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des presses. Il s'agit de la sécrétion naturelle élaborée par le végétal et contenue dans les cellules de la plante, ils sont synthétisés par les cellules sécrétrices des plantes aromatiques. Celles-ci sont stockées dans des poches au niveau de divers organes fleurs, feuilles, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits ou graines (Brunechon., 1987).

Le mot « huile » revient au caractère hydrophobe et à ses propriétés hydrophobes et à ses propriétés de solubilisation dans les graisses, alors que le mot « essentielle » reflète l'odeur caractéristique dégagé par la plante (Albaoui et *al.*, 2012).

2- Historique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont connues depuis les premières genèses, et certains prétendent que certaines huiles essentielles (fenouil, gingembre) étaient utilisées en Chine vers 2800 av. J.-C dans le cadre de la médecine naturelle (Bencheqroun., 2012). D'autres soutiennent que les traces de l'utilisation de l'aromathérapie remontent à plus de 7000 av. J.-C, avec des témoignages de guerriers en terre cuite encore retrouvés au Pakistan de cette époque. Il existe également des inscriptions datant de l'époque égyptienne expliquant l'utilisation des arômes à usage personnel, à des fins médicinales et pour les préparations religieuses. Les Égyptiens croyaient que pour atteindre des niveaux spirituels plus élevés, ils devaient disperser des huiles essentielles pour se protéger des mauvais esprits. Dans le cas des Romains, ils ont élaboré une liste de plus de 500 plantes aromatiques et médicinales, ces derniers diffusent des huiles essentielles dans leurs temples et édifices politiques, et parfument leurs baignoires, suivis de massages aux huiles.

L'invention de la distillation par les Arabes au V^{ème} siècle a révolutionné l'art d'extraire ces produits. De plus, Avicenne a eu l'honneur d'être le premier à pouvoir distiller de l'alcool, qui est devenu plus tard un excellent solvant pour extraire les produits naturels des plantes. Les Arabes riches troquaient, achetaient des terres, de l'or ou des esclaves en échange d'huiles essentielles plus précieuses que l'or (Djeddi., 2012).

3- Propriétés physico-chimiques

Les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques, elles sont volatiles à la température ambiante, très odorante et inflammable, généralement incolore, et peuvent peu à peu prendre une coloration jaune plus au moins foncée, avec quelques exceptions tel que celle de la Cannelle d'une couleur rougeâtre.

Elles sont liquides dans la plupart des cas sauf pour quelques-unes qui sont solide à la température ambiante comme l'huile essentielle de Menthe du japon, solubles dans les alcools, l'éther et les huiles fixes, et insolubles dans l'eau.

Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau et ont un indice de réfraction élevé. Elles sont pour la plupart, altérables et sensibles à l'oxydation. Par conséquent leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité (Lakhdar., 2015).

4- Méthodes d'extractions

Il existe différentes méthodes pour l'extraction des huiles essentielles, ces procédés dépendent essentiellement de la matière première, et la sensibilité des constituants des huiles essentielles.

4.1 Distillation- évaporation

Probablement la distillation avec l'eau est la principale technique de production des huiles essentielles.

Trois techniques sont utilisées :

- **L'hydrodistillation** : Ce mode d'extraction a été proposé par Garnier en 1891, le principe consiste à mettre le végétal en contact directe avec l'eau dans un ballon et le porter à l'ébullition, la chaleur permet d'éclater les cellules végétales et la libération des composantes odorantes contenues dans la plante. (Bruneton., 1993).

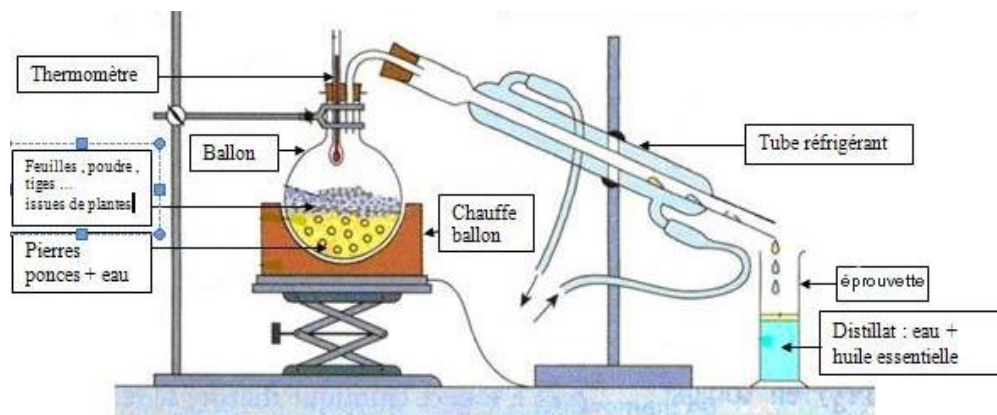


Figure 8: Montage d'extraction par hydro distillation (Dallel., 2010)

Partie I : Etude bibliographique

- **Extraction par entraînement à la vapeur d'eau** : L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. Différemment à l'hydro distillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale. Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable (figure 4). Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées. L'injection de vapeur se fait à la base de l'alambic (Richard et Peyron., 1992).

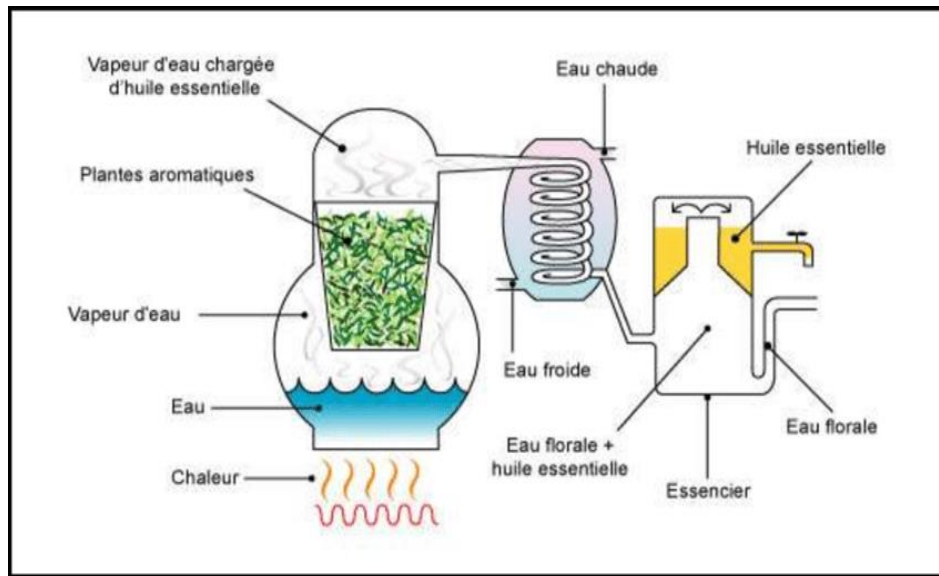


Figure 9: Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (Goudjil., 2016)

- **La distillation à la vapeur directe** : identique à la technique précédente, sans eau dans le fond de l'alambic, la vapeur étant introduite au-dessous de la charge végétale (Djeddi., 2012).

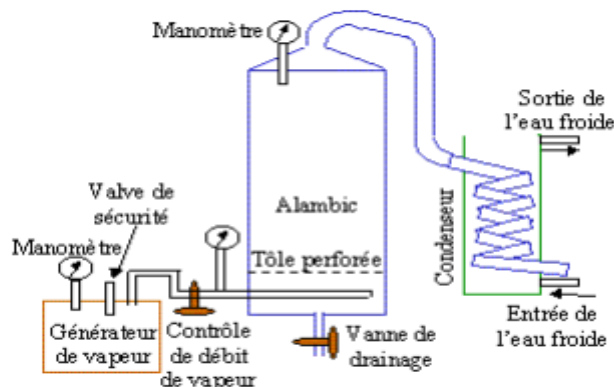


Figure 10: Montage d'extraction par distillation à la vapeur directe (Benjilal., 2004)

Partie I : Etude bibliographique

- **Distillation avec un autre fluide que l'eau** : L'emploi de liquides entraîneurs tels que les alcools à point d'ébullition élevé. On obtient ainsi d'excellents produits commerciaux, peu colorés (Djeddi., 2012).

4.2 Extraction par enfleurage

L'enfleurage est une autre méthode d'extraction conventionnelle qui remonte à l'antiquité. Elle a été utilisée principalement pour l'extraction des huiles essentielles de fleurs (par exemple, le jasmin). Au cours de cette méthode, une graisse froide inodore, purifiée et étalée sur le matériel végétal, les odeurs sont dégagées par les fleurs et sont donc dissoutes dans la graisse. Le processus est répété pendant de très longues périodes jusqu'à ce que la graisse soit saturée. Ensuite, la graisse est recueillie et extraite avec de l'alcool.

Selon les normes actuelles, il s'agit d'une méthode longue, laborieuse et coûteuse, elle ne semble pas avoir d'applications pour les huiles essentielles utilisées dans l'industrie alimentaire et elle est pratiquement obsolète de nos jours (Stratakos et Koidis., 2016).

4.3 Extraction par micro-ondes sous vide

Elle consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur au sein d'un four micro-onde sans ajout d'eau ou de solvant. Le chauffage interne de l'eau contenue dans la plante permet d'en dilater ses cellules et conduit à la rupture des glandes et des réceptacles oléifères. L'huile essentielle ainsi libérée est évaporée avec l'eau de la plante (Wang et *al.*, 2006). Cette technique est très rapide, peu consommatrice d'énergie, ce procédé fournit un produit de qualité et de quantité supérieure à celle obtenue par l'hydro distillation.

4.4 Extraction au CO₂ supercritique

L'originalité de la technique d'extraction par fluide supercritique, dite « SFE », provient de l'utilisation de solvants dans leur état supercritique, c'est-à-dire dans des conditions de températures et de pressions où le solvant se trouve dans un état intermédiaire entre la phase liquide et gazeuse et présente des propriétés physico-chimiques différentes, notamment un pouvoir de solvation accru. Si, en pratique, de nombreux solvants peuvent être employés, 90% des SFE sont réalisées avec le dioxyde de carbone (CO₂), principalement pour des raisons pratiques. En plus de sa facilité d'obtention due à ses pressions et températures critiques relativement basses, le CO₂ est relativement non toxique, disponible à haute pureté et à faible prix, et il possède l'avantage d'être éliminé aisément de l'extrait (Leszczynska., 2007).

5- Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles est assez complexe. On y trouve généralement de nombreux constituants appartenant principalement à deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée.

Il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Kurkin., 2003).

5.1 Monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%) (Padua et *al.*, 1999). Ils comportent deux unités isoprènes (C_5H_8), selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales.

5.2 Les sesquiterpènes

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{22}$ (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurales, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (El haib., 2011).

5.3 Les composés aromatiques

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Kurkin., 2003). Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont d'avantage fréquent dans les huiles essentielles d'*Apiaceae* (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle, du basilic, de l'estragon, etc (Bruneton., 1993).

5.4 Composés d'origines divers

Lors de la préparation des huiles essentielles, certains composés aliphatique, de faible masse moléculaire, sont entraînés lors de l'hydro distillation tel que les carbures, acides, alcools aldéhydes, et les esters (Djeddi., 2012).

Partie I : Etude bibliographique

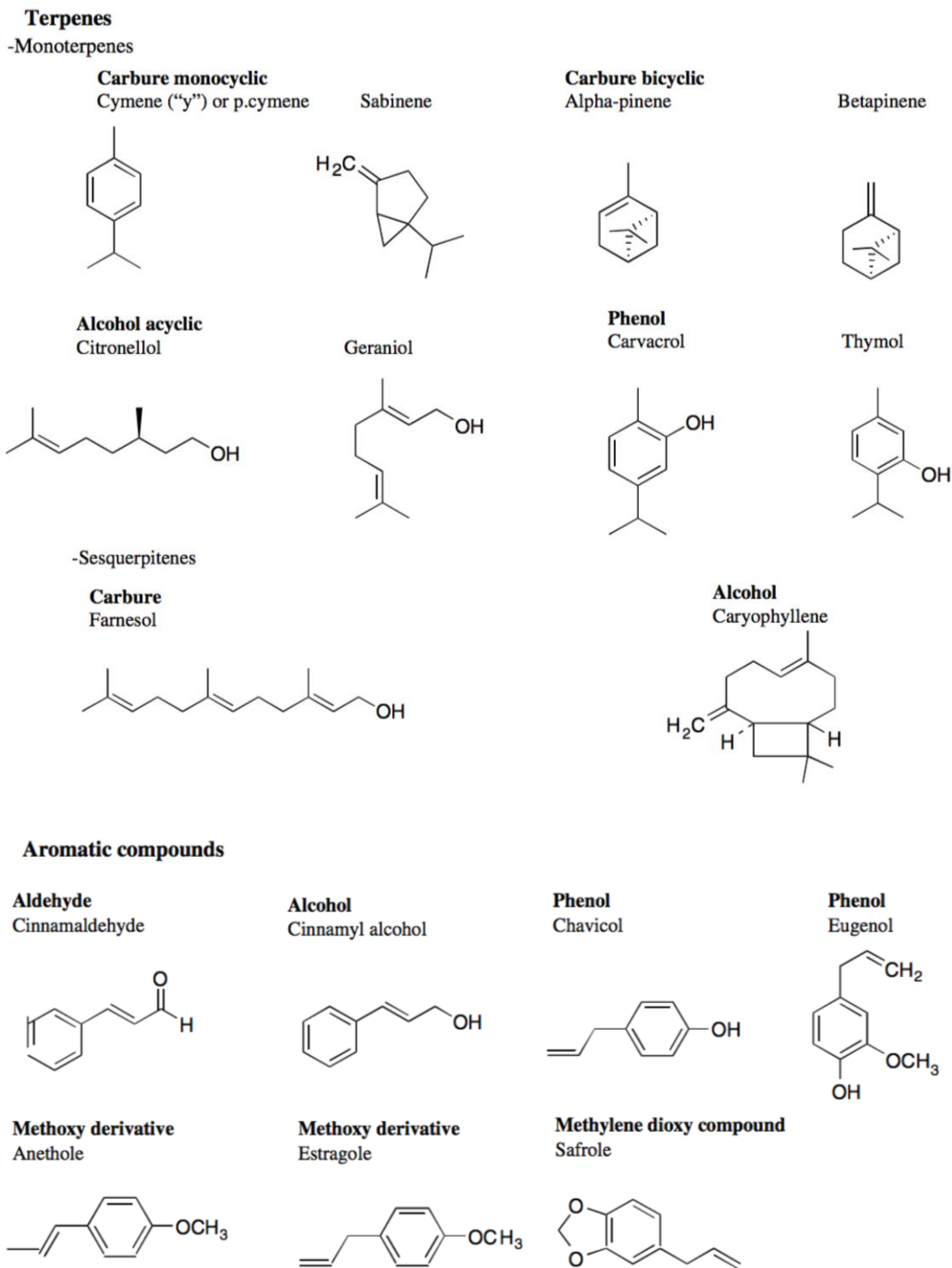


Figure 11: Structures chimiques de certains composants des huiles essentielles (Lakhdar., 2015)

6- Mode d'action des huiles essentielles vis-à-vis les bactéries

La première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (Bates., 1995). Depuis, de nombreuses huiles essentielles ont été définies comme agents antibactériens (Burt., 2004).

Partie I : Etude bibliographique

Les huiles essentielles généralement exercent deux actions vis-à-vis les bactéries :

- Effet bactéricide : Exerçant une activité létale ;
- Effet bactériostatique : Entraînant une inhibition de la croissance.

L'effet bactériostatique est souvent plus assimilable aux huiles essentielles que l'activité bactéricide. De plus, l'activité des huiles essentielles est souvent réduite à l'activité de ses composés majoritaires ou ceux susceptibles d'être actifs (Ducrot., 2017).

Le mode d'action des huiles essentielles consiste à attaquer la paroi bactérienne ce qui déstabilise principalement l'architecture cellulaire, conduisant à la dégradation de l'intégrité de la membrane et une perméabilité accrue, qui perturbe de nombreuses activités cellulaires y compris la production d'énergie, le transport membranaire et d'autres fonctions de régulation métabolique.

Ensuite, la perturbation de la membrane cellulaire par les huiles essentielles entraîne une acidité ce qui peut affecter divers processus vitaux tels que les processus de conversion d'énergie, le traitement des nutriments, la synthèse des macromolécules et la sécrétion des régulateurs de croissance. Les huiles essentielles peuvent altérer à la fois l'enveloppe externe de la cellule et le cytoplasme en raison de leur lipophile. Les huiles essentielles sont facilement pénétrables à travers les membranes cellulaires bactériennes ce qui réduit les potentiels membranaires et la perturbation des pompes à protons et à la déplétion de l'ATP. Ces événements sont responsables de la coagulation des composantes cellulaires dans le cytoplasme et la rupture des liaisons entre les couches lipidiques et protéiques puis destruction du matériel génétique et finalement la mort de la bactérie (Lakhdar., 2015 ; Gabriel *et al.*, 2013) .

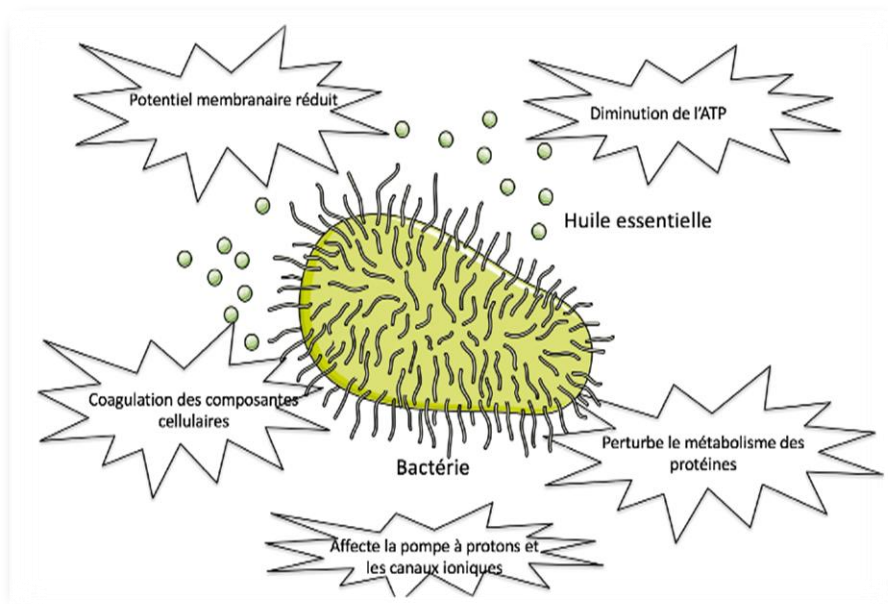


Figure 12: Mécanisme d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne (Mallappa *et al.*, 2016)

7- Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont présentées généralement comme « sans danger » mais ces substances naturelles sont aussi des composés puissants (Abdelli., 2018).

Malgré les activités bénéfiques des huiles essentielles, elles peuvent s'avérer plus au moins toxique, soit in situ (irritation, réaction allergique et photo toxique), soit au niveau d'un organe (Neurotoxicité, hépatotoxicité, néphrotoxicité, etc.), il est nécessaire d'évaluer le danger potentiel, qu'elles sont susceptibles de représenter à un certain niveau d'exposition afin d'éviter tout type de risques (Lakhdari et *al.*, 2019). Il est cependant capital d'intégrer la notion de la dualité « Efficacité- Toxicité ». En effet, toute substance thérapeutiquement active est potentiellement toxique. Tout dépendra de la dose unitaire, journalière (Lakhdari et *al.*, 2019). Il ne faut donc jamais dépasser les doses prescrites, quel que soit la voie d'absorption. Ainsi les huiles essentielles ne seront toxiques par ingestion ou par contact que si des concentrations importantes sont utilisées, car toute substance est potentiellement toxique à dose élevée ou répétée (Badaoui et *al.*, Cherouat et *al.*, Deif et *al.*,2020).

Chapitre 5 : Activités biologiques

Les extraits naturels de plantes et leurs huiles essentielles contiennent une variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées diverses activités biologiques.

1- Activité antioxydante

Un antioxydant est toute substance qui peut retarder ou éviter l'oxydation des substrats biologiques, ils minimisent les rancissements, et retarde la peroxydation lipidique sans affecter les propriétés sensorielles et nutritionnelles des produits. Ils maintiennent la qualité et augmente la durée de conservation des produits (Boyd et *al.*, 2003). Ils jouent également un rôle de protecteur contre les radicaux libre qui peuvent être source de nombreux problèmes de santé s'ils prolifèrent dans l'organisme (Boulechafar., 2014).

2- Technique d'évaluation de l'activité antioxydante

2.1 Test de piégeage du DPPH

Le test de piégeage du DPPH est basé principalement sur la capacité d'un antioxydant à réduire le radical libre stable du DPPH ayant une couleur violette en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune. Ce changement de couleur est représentatif de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. La réduction du radical DPPH provoquée par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm (Molyneux., 2004).

La mesure de la décroissance de la coloration violette au cours du temps permet de déterminer l'IC₅₀, temps au bout duquel 50 % de coloration est perdue, généralement interprétée sur la base de la quantité d'un antioxydant nécessaire pour faire diminuer 50% des radicaux libres présents (IC₅₀) (Bouhaddouda., 2016).

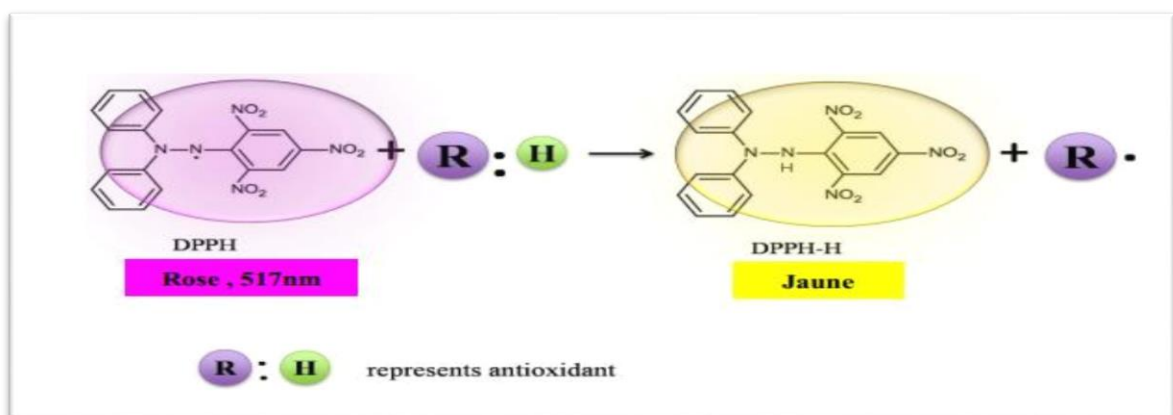


Figure 13: Mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant (Liang., 2014)

Partie I : Etude bibliographique

2.2 Test de blanchissement de la β -carotène

L'activité antioxydante est déterminée par la mesure de l'inhibition de la dégradation oxydative de la β -carotène par les produits d'oxydation de l'acide linoléique.

L'oxydation de l'acide linoléique produit des radicaux peroxydes suite à l'abstraction des atomes d'hydrogènes à partir du groupement méthylène. Ensuite ces radicaux libres vont oxyder la β -carotène ce qui entraîne la disparition de la couleur rouge (Shon *et al.*, 2003).

Cependant, l'existence d'un antioxydant peut neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et par conséquent prévenir l'oxydation et la décoloration de la β -carotène, la réaction est suivie par spectrophotomètre à 470nm (Deba., 2008).

2.3 Test Capacité Antioxydante Totale

La Capacité Antioxydante Totale (CAT) des extraits des plantes est évaluée par la technique de phosphomolybdène. Cette méthode se base sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO_4^{2+} en présence de l'huile essentielle pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en antioxydant. L'absorbance est mesurée à 695 nm (Prieto *et al.*, 1999).

2.4 Test capacité réductrice du fer (FRAP)

Le principe de cette méthode repose sur la réduction de fer ferrique en sel de fer par les antioxydants. En présence d'antioxydants le complexe ferrique-tripyridyltriazine (Fe^{3+} -TPTZ) est réduit en la forme ferreux-tripyridyltriazine (Fe^{2+} -TPTZ), et ce dernier perd la couleur jaune pour un bleu foncé, cette coloration est proportionnelle à la concentration de l'antioxydant présent dans les échantillons (Ou *et al.*, 2001). La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 595 nm. (Singleton *et Rossi.*, 1965).

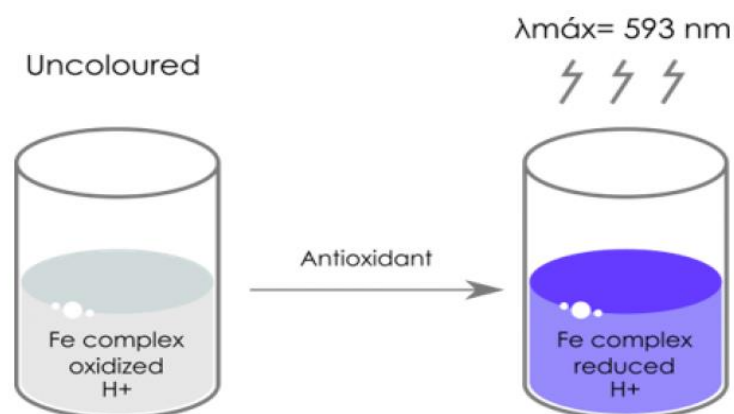


Figure 14: Mécanisme d'action du test de FRAP

3- Activité antimicrobienne

3.1 Pouvoir antibactérien et antifongique des plantes

Les constituants et les composants des plantes aromatiques et médicinales ont un champ d'activité très large, inhibant la croissance bactérienne et fongique (Koba et *al.*, 2004), sans oublier que c'est une résolution efficace au problème de la résistance des microorganismes aux antibiotiques (Bellerbeck et *al.*, 2002).

3.2 Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne

Premièrement il faut faire une sélection des extraits ou huiles essentielles ayant un effet antimicrobien que l'on nomme un screening. Il s'agit d'une étude introductive qualitative. En deuxième, lieu il faut calculer quantitativement le degré d'activité antimicrobienne des produits sélectionnés, pour déterminer la CMI et la CMB.

CMI : la concentration la plus faible d'un agent antimicrobien qui inhibe la croissance visible d'un microorganisme après incubation

CMB : la plus faible concentration d'antimicrobien qui tue 99,9% des microorganismes après sous-culture sur milieu sans antibiotique (Bellerbeck et *al.*, 2002).

3.2.1 Techniques de screening

a- Méthode de diffusion sur disques (aromatogramme)

En plus de l'appellation méthode de l'aromatogramme, méthode de Vincent ou méthode de diffusion dans la gélose. Elle est particulièrement adaptée à l'étude de l'action antibactérienne. Elle permet de déterminer la sensibilité des différentes espèces bactériennes vis-à-vis de l'huile essentielle ou l'extrait étudié. Elle peut être aussi adaptée pour tester d'autres agents antimicrobiens (antibiotique).

Cette méthode consiste à utiliser des boîtes de pétri contenant un milieu gélosé convenable, déjà solidifié et inoculé par la souche microbienne testée. Des disques en papier filtre ou papier buvard ou wattman sont préalablement imprégnés d'huile essentielle, puis placés en surface de la gélose. Généralement, les microorganismes seront classés susceptibles, intermédiaires ou résistants selon le diamètre de la zone d'inhibition selon la technique de Dorman et Deans (Dorman et *al.*, 2000).

b- Méthode de diffusion sur gélose (méthode des puits)

La méthode des puits mesure une diffusion radiale des huiles essentielles à partir d'un puit. Elle consiste à découper un tronc circulaire vertical de la gélose avec la partie supérieure ronde de la pipette pasteur ou d'un petit cône stérile, et de verser dans le cercle une concentration connue de la solution d'extrait ou huile essentielle à tester.

Partie I : Etude bibliographique

Ensuite la solution diffuse radialement et crée une zone dite zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose, qui se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits, à la surface de la gélose déjàensemencée par la suspension bactérienne. L'activité antimicrobienne est évaluée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition induite par une règle graduée (Bousbia., 2004).

3.2.2 Techniques de détermination de la CMI et la CMB

a- Techniques de diffusion en milieu solide

Dans cette technique, avant que la gélose soit coulée dans les boîtes de pétri, la substance à tester est incorporée dans cette dernière et agitée manuellement. Elle ne peut être coulée qu'après avoir été maintenue en surfusion entre 50 et 60°C. Ensuite et après refroidissement de la gélose il ne reste qu'à ensemencer les germes, puis incubés. La CMI ainsi obtenue s'observe à l'œil nu par l'absence de croissance bactérienne à la surface de la boîte de Pétri NB : Cette technique reste fastidieuse et présente plusieurs inconvénients. En effet, les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques volatiles même à température ambiante. Il devient alors difficile de connaître la concentration des molécules effectives des huiles essentielles dans la gélose en surfusion. De plus, cette méthode « à chaud » est délicate à mettre en œuvre donc il est nécessaire de maîtriser la température, car une diminution de celle-ci pourrait entraîner une solidification de la gélose et par conséquent un manque d'homogénéité, ainsi qu'une erreur potentielle d'interprétation (Fontanay et *al.*, 2015).

b- Techniques de diffusion en milieu liquide

C'est une méthode qui se divise en deux techniques distinctes soit la microméthode ou la macrométhode, dans ces deux cas de figure on réalise une gamme de concentration de la substance à tester.

Microméthode : L'incorporation de l'huile essentielle dans le milieu de culture liquide se fait en utilisant un émulsifiant (DMSO, Tween) pour préparer les solutions de l'huile essentielle à la concentration désirée. A l'aide de microplaque à 96 puits (fond en U), la détermination de la CMI est réalisée en faisant appel à un indicateur de croissance en solution (Resazurin PA) (7-hydroxy-3Hphénoxazin-3-one). La croissance bactérienne est indiquée par l'apparition d'une couleur rose fortement fluorescente dans le rouge de la solution témoignant de la réduction ou la précipitation du Resazurin. La CMI est ainsi déterminée par le dernier puits de la microplaque, par ordre décroissant de concentration, qui ne montre aucun changement de couleur c'est-à-dire les puits restent de couleur violette.

Partie I : Etude bibliographique

La CMB est calculée en transportant 10 μ l des puits ne montrant pas de croissance bactérienne sur un milieu solide. La plus faible concentration tuant 99,9% des micro-organismes en culture sur ce milieu correspond à la CMB (Charboun et *al.*, 2015).

Macrométhode : Le même principe que la microdilution, sauf qu'il est effectué dans des tubes qui contiennent l'huile essentielle à différentes concentrations incorporées dans un bouillon de culture liquide. A l'aide du premier tube qui ne montre aucune trace de croissance microbienne visible on peut déterminer la CMI (Perruci et *al.*, 1994).

Partie II : Matériel et méthodes

Partie II : Matériel et méthodes

1- Extraction de l'huile essentielle

L'extraction des trois variétés du genre « *Mentha* » a été réalisée par la méthode d'hydro distillation en utilisant le montage « Clevenger » au sein du laboratoire de Synthèse, extraction et valorisation, département de chimie, Faculté des Sciences Ain Chock. Université Hassan II, Casablanca, Maroc. L'extracteur Clevenger se compose d'une chauffe ballon, un ballon en verre où on met le matériel végétal et de l'eau distillée, lié à un réfrigérant où il se trouve une sortie d'eau et une entrée, et une burette graduée qui reçoit le distillat.

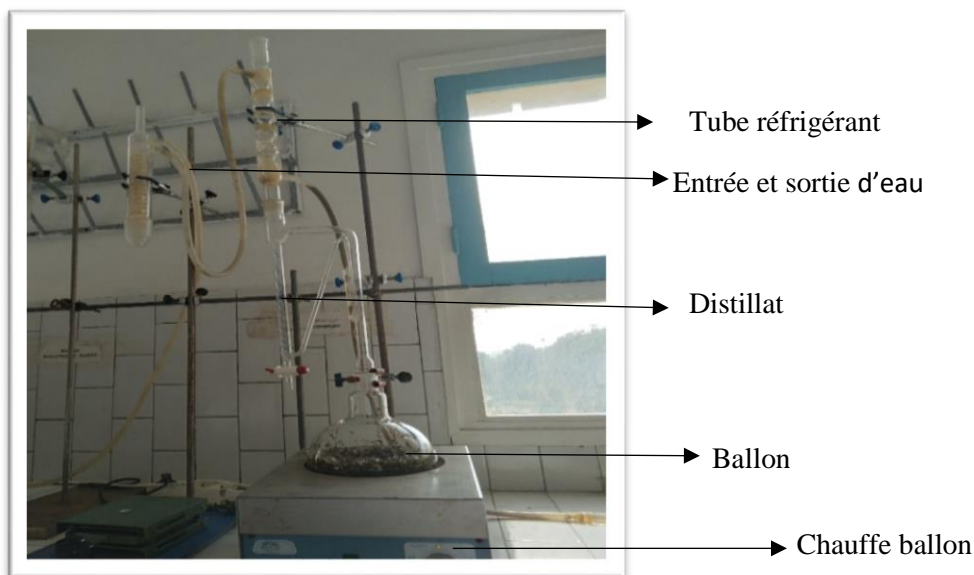


Figure 15: Montage de distillation type Clevenger

1.1 Procédé d'extraction

Dans un ballon en verre de 2000 mL on met 100 g de poudre de la plante additionnée de 1 L de l'eau distillée. On monte le Clevenger et on met le ballon dans le chauffe ballon à ébullition, et on ajuste la température au début à 100°C jusqu'à ébullition du mélange et après on la diminue à 50°C pendant 3 heures, la vapeur chargée de l'huile essentielle traverse le réfrigérant, se condense et retombe dans l'ampoule à décanter.

L'extraction a donné deux phases non miscibles, une phase organique qui contient l'huile essentielle, et autre aqueuse contenant l'eau florale qui contient une quantité négligeable d'huile essentielle soit sous forme solubilisée soit sous forme de fines gouttelettes dispersées (Forde et *al.*, 2011). Donc pour les séparer on va procéder à une séparation liquide-liquide en utilisant le solvant dichlorométhane (DCM) qui est soluble dans l'eau, ensuite et après récupération de l'huile, pour éliminer toutes gouttelettes d'eau qui sont encore piégées dans l'huile essentielle, on utilise un desséchant ($MgSO_4$), finalement et après filtration de la solution pour enlever les reste du $MgSO_4$, on effectue une rotation à chaud à l'aide d'un évaporateur rotatif (rotavapor) pour évaporer le solvant et récupérer l'huile essentielle pure. L'huile essentielle obtenue est finalement conservé à 4°C et à l'obscurité (Satyajit et *al.*, 2007).

Partie II : Matériel et méthodes

1.2 Calcul et détermination du rendement des huiles essentielles

Le rendement en huiles essentielles pour chaque échantillon correspond à la quantité d'huile obtenue par rapport à la masse de matière sèche servie à l'extraction, selon la norme AFNOR (2000), Il est donné par la formule suivante :

$$R\% = \frac{m_{HE}}{m_{MS}} \times 100$$

Avec :

R : Rendement en huile essentielle en pourcentage % ;

m_{HE} : Masse de l'HE obtenue après extraction ;

m_{MS} : Masse de la matière sèche servie pour l'extraction.

2- Analyse chromatographique des huiles essentielles

La séparation et l'identification des différents composés chimiques des huiles essentielles extraites ont été réalisées par chromatographie en phase gazeuse, couplée à un spectromètre de masse de type Shimadzu GC-2010 couplée à Shimadzu QP-2010 à la Faculté des Sciences Ain chock Casablanca.

3- Activité antibactérienne

L'objectif de cette étude est de déterminer la sensibilité bactérienne de trois variétés des huiles essentielles de la menthe vis-à-vis des souches extraites de la flore colique de la volaille et résistantes à certains antibiotiques.

2.1 Souches utilisées

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles a été évaluée vis-a-vis quatre souches bactériennes qui sont : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, *Pasteurella multocida*, ont été fournies gracieusement par le laboratoire d'immunologie et de biodiversité, département de biologie, Université Hassan II. Ces souches bactériennes sont d'origine volaille résistantes à de nombreux antibiotiques utilisés comme additifs alimentaires pour ces derniers.

2.2 Rajeunissement des souches bactériennes

Dans des conditions aseptiques, les souches sont repiquées sur une gélose nutritif par la méthode de stries par épaissements, les boîtes sont ensuite mises dans l'incubateur pendant 18h à 37°C afin d'obtenir une culture fraîche et des colonies bien isolées.

2.3 Préparation de la suspension bactérienne

A partir d'une culture jeune de 10-12h, une colonie ou deux sont prélevées aseptiquement et émulsionné dans 10 mL d'eau physiologique. La suspension bactérienne est ensuite homogénéisée et sa turbidité est ajustée à 0.5 Mc Farland correspondant à 10⁸ UFC/mL, est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 600 nm. Selon Mc Farland, on admet qu'une densité optique (DO) comprise entre 0,08 et 0,1 à 600nm correspond à une concentration de 10⁷ à 10⁸ UFC/mL (Murray et al., 1995).

Partie II : Matériel et méthodes

4- Détermination de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

4.1 Technique de dilutions

A partir d'une culture de 10h, une colonie est prélevée stérilement à l'aide d'une anse et remise en suspension dans 10mL d'eau physiologique 10% déjà préparé et faire à partir de ce premier tube des dilutions jusqu'à 10^5 ce dernier va servir à la manipulation. Ensuite dans des tubes Eppendorfs on ajoute 1mL de milieu Muller-Hinton, puis on ajoute différentes concentrations de l'huile essentielle diluées dans le DMSO 10% allant de 30 μ l jusqu'à 5 μ l, aussi que 20 μ l de la suspension bactérienne de la concentration 10^{-5} dans chaque tube.

Un témoin positif est nécessaire contenant que le milieu de culture la suspension bactérienne et 30 μ l de DMSO 10% afin de montrer que le DMSO n'a pas d'effet sur la bactérie.

Un témoin négatif et aussi important contenant que le milieu de culture et la bactérie pour montrer la viabilité de cette dernière.

Finalement et après agitation des tubes dans un bain marie agitateur pendant 6h à 37°C on prélève un volume de 20 μ l de chaque tube et on les dépose sur une boîte de pétri contenant de la gélose Mueller-Hinton puis on incube 24h à 37°C.

4.2 Technique de l'aromatogramme

Appelé aussi la méthode des disques, elle permet de mesurer qualitativement la sensibilité des souches aux effets antimicrobiens, donc plus le diamètre d'inhibition est important, plus l'échantillon testé présente une activité antibactérienne importante. Ces diamètres permettent de classer une souche bactérienne dans les catégories : "sensible" ; "résistante" ; "intermédiaire"(Genne et Siegrist Hans., 2003).

Le mode opératoire consiste à ensemencer 100 μ L de suspension bactérienne sur des boîte de pétri contenant la gélose Mueller-Hinton à l'aide d'un écouvillon stérile, afin d'obtenir un tapis bactérien. Ensuite, des disques stérile papier wattman N°2 de 6mm de diamètre sont imbibés de 10 μ L de l'huile essentielle puis imprégné au centre de la boîte. Après on incube les boîtes à 37°C pendant 24 heures, des zones d'inhibitions apparaissent autour de ces disques. Le test est effectué trois fois dans les même conditions afin d'avoir des résultats significatifs.

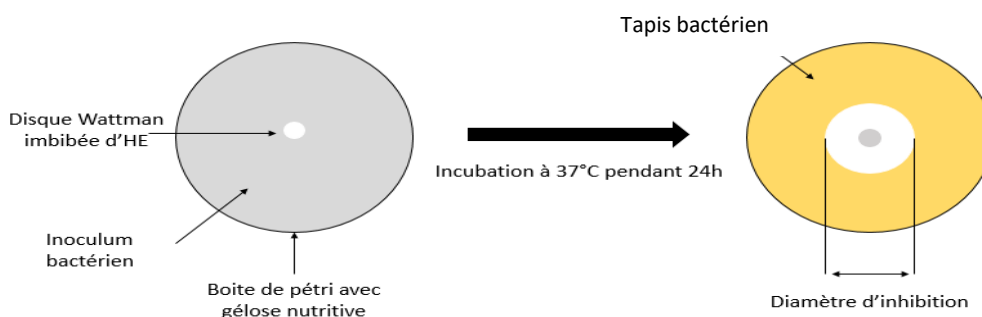


Figure 16: Principe de la technique de l'aromatogramme

Partie II : Matériel et méthodes

Lecture des diamètres : Après incubation, on mesure le diamètre en mm de l'auréole d'inhibition à l'aide d'une règle graduée.

L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par (Ponce *et al.*, 2003), ils ont classé les zones d'inhibition de la croissance en :

- $D < 8$ mm : Souches résistantes (-) ;
- $9 \text{ mm} \leq D \leq 14$ mm : Souches sensibles (+) ;
- $15 \text{ mm} \leq D \leq 19$ mm : Souches très sensibles (++) ;
- $D \geq 20$ mm : Souches extrêmement sensibles (+++).

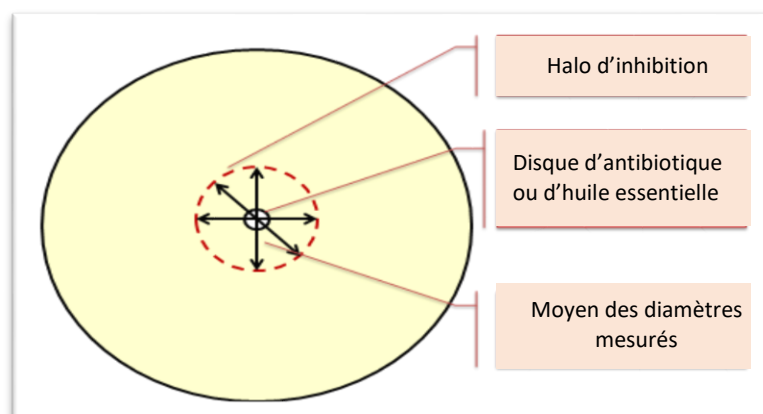


Figure 17: Antibiogramme et aromatoigramme

4.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La CMI c'est la plus petite concentration à laquelle agent antibactérien inhibera la croissance des bactéries après une incubation de 18 à 24h (Andrews., 2001).

La détermination de la CMI des huiles essentielles est réalisée selon le protocole décrit par (Nait Irahah et *al.*, 2021 ; Moukhfi et *al.*, 2021). La CMI de chaque huile essentielle a été déterminée par la méthode de micro dilution sur des plaques à 96 puits. 50µL de bouillon Mueller-Hinton ont été ajoutés à chaque puits de la microplaque ensuite 50µL de différentes concentrations de l'huile essentielle dissous dans du DMSO à 10 % ont été ajoutées à tous les puits. Ensuite, 50µL de suspension bactérienne correspondant à 10^8 UFC/mL, puis les microplaques ont été incubées pendant 24h à 37°C. La croissance microbienne dans chaque puits a été déterminée en utilisant la technique Resazurin. La solution de travail de Resazurin a été préparée à une concentration de 0,01 % (w/v) dans de l'eau distillée et stérilisée par filtration à travers une membrane de 0,22 µm. 30µL de la solution de Resazurin ont été ajoutés à chaque puits et les microplaques ont été incubées pendant 2h à 37°C. La croissance a été indiquée en passant du violet au rose.

Pour chaque microplaque, une série de contrôle a été réalisée :

- Une colonne contenant du milieu Muller Hinton + une solution bactérienne ;
- Une colonne contenant du milieu Muller Hinton + solution bactérienne + DMSO10% ;
- Une colonne contenant uniquement le milieu Muller Hinton.

Partie II : Matériel et méthodes

4.6 Antibiogramme

Le même principe de l'aromatogramme. À la place des disques imbibés d'huile essentielle, on utilise des disques d'antibiotiques. Ensuite après incubation à 37°C pendant 24 heures nous procédons à la lecture des résultats. Les antibiotiques utilisés sont *tétracycline* (TE 30 µg), *polymyxine B* (PB 30 µg), *vancomycine* (VA 30 µg), *amoxicilline* (AX 25 µg).

5- Détermination de l'activité antioxydante des huiles essentielles

5.1 Test de piégeage des radicaux libres (DPPH)

La détermination de l'activité antiradicalaire par le test de DPPH a été effectuée en utilisant la méthode décrite par (Molyneux et *al.*, 2004) légèrement modifiée : 2.3 mg de DPPH ont été dissoutes dans 100 mL d'éthanol. Ensuite, 50 µL d'huile essentielle, de chaque concentration allant de 10 mg/mL jusqu'à 100 mg/mL sont ajoutés à 1950 µL de la solution DPPH. Un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µL d'Éthanol avec 1950 µL de DPPH. La lecture de l'absorbance pour chaque concentration a été réalisée à 517nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité à température ambiante.

La même procédure a été répétée avec de l'acide ascorbique comme témoin positif.

L'activité antioxydante liée à l'effet de piégeage du radical DPPH est exprimée en pourcentage d'inhibition (% I) à l'aide de la formule suivante :

$$\% I = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

- A0 : absorbance DPPH
- A1 : absorbance échantillon

5.2 Test Phosphomolybdate

L'activité antioxydante de l'huile essentielle est évaluée par la méthode utilisant le phosphomolybdate telle qu'elle est décrite par (Brahmi et *al.*, 2014). 100µL de l'huile essentielle à différentes dilutions est mélangée avec 1 mL d'une solution contenant : acide sulfurique (0,6 mM) phosphate de sodium (28 mM) et molybdate d'ammonium (4 mM). Les tubes à essais ont été incubés dans un bain marie à 95°C pendant 90 minutes.

Après refroidissement des échantillons à température ambiante pendant 30 min, l'absorbance de mélange a été mesuré à 695 nm. La même procédure a été répétée avec de l'acide ascorbique comme témoin positif.

Un contrôle négatif est préparé en mélangeant 100 µL d'Éthanol avec 1 mL de la solution de phosphomolybdate.

L'activité antioxydante liée au pouvoir réducteur des huiles essentielles a été exprimée en concentration efficace CE₅₀.

Partie II : Matériel et méthodes

5.3 Test de blanchissement de la β -carotène

Le test de blanchissement de la β -carotène a été réalisé suivant la méthode décrite par (Nait Irahah et *al.*, 2021).

La détermination de l'activité antioxydante a été déterminée par la capacité des huiles essentielles à inhiber le blanchissement de la β -carotène par la génération de peroxyde tout au long de l'oxydation de l'acide linoléique.

La solution du β -Carotène/acide linoléique a été préparée en dissolvant 0,8 mg de β -carotène, 25 μ L d'acide linoléique et 200 mg de Tween 80 dans 1 mL de chloroforme. Le chloroforme a été éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C ; 100 mL d'eau oxygénée ont été ajoutés en agitant vigoureusement. 2,5 mL de cette solution ont été ajoutés à 350 μ L de différentes concentrations d'huile essentielle, après agitation, le mélange a été incubé à 50°C pendant 2 heures, et l'absorbance a été enregistrée à des intervalles de 30 minutes pendant 2 h à 470 nm. Un contrôle négatif est préparé en mélangeant 350 μ L d'Éthanol avec 2.5 mL de la solution du β -carotène.

La même procédure a été répétée avec de le BHT comme témoin positif.

La capacité de protection (%) a été calculée selon l'équation suivante l'équation suivante :

$$AA\% = \frac{A \text{ témoin}(120)}{A \text{ antioxydant } (0)} \times 100$$

Partie III : Résultats et discussion

Résultats et discussion

1- Description des huiles essentielles obtenues

Le tableau en dessous nous montre les rendements des huiles essentielles extraites par montage Clevenger :

Tableau 2: Rendement en pourcentage de l'extraction de chaque variété de la menthe

Espèce de menthe	<i>M. spicata</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>M. piperita</i>
Rendement	0.8 %	0.53 %	0.52 %

Le rendement d'extraction des huiles essentielles à partir de trois variétés de la menthe (*M. piperita*, *M. spicata* et *M. pulegium*) par hydro distillation de type Clevenger a présenté des pourcentages similaires pour la menthe poivrée et la menthe pouliot avec 0.52% et 0.53% respectivement. Tandis que le pourcentage le plus important a été noté chez la *M. spicata* avec 0.8%.

Le rendement de l'huile essentielle de la menthe poivrée (*M. piperita*) est inférieure à celui rapporté par l'étude de (Benayad., 2008), qui a montré un pourcentage de 1.72%, aussi l'huile essentielle de la menthe pouliot (*M. pulegium*) a donné un rendement loin de celui de (Kokkini et al., 2004) qui ont obtenus 0.95% pour la *M. pulegium* récolté en Grèce, mais le rendement de *M. spicata* est significativement supérieure à celui de (Bensabah et al., 2013) qui ont trouvé 0.58%.

Les huiles essentielles obtenues sont liquides, mobiles, limpides, de couleur jaune pâle avec une odeur aromatique forte ressemblant à celle de la plante, fraîche et mentholé. Les mêmes caractéristiques sont trouvées par (Bardeau., 2009) et d'autres études de (Sylvain., 2010).

Ces variations de teneurs pourraient être dues à plusieurs facteurs à savoir l'espèce, la géographie, la période de récolte, les pratiques culturales, l'interaction avec l'environnement (climat, sol, etc.) et la technique d'extraction (Silano et Delbo., 2008 ; Marzoukia et al., 2009).

2- Composition chimique des huiles essentielles extraites

L'analyse des huiles essentielles de *M. pulegium*, *M. piperita* et *M. spicata* a montré des profils chromatographiques qualitativement similaires mais avec une différence quantitative dans l'abondance de leurs principaux composants.

2.1 *Mentha piperita*

L'huile essentielle *M. piperita* se caractérise par une forte abondance de Linalol (38.13%), Carvone (26.13%) et Pulégone (8.54%) comme composés majoritaires. Le tableau et la figure suivantes illustrent la composition chimique de notre huile essentielle :

Résultats et discussion

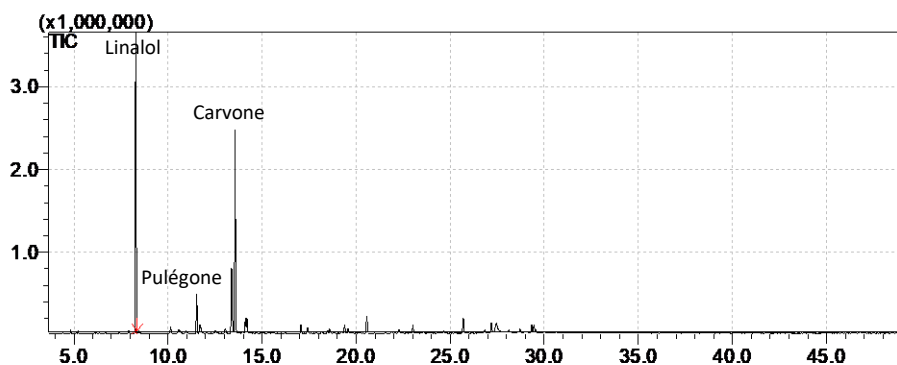


Figure 20: Profil chromatographique GC-MS de *Mentha piperita*

Tableau 3: Composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha piperita*

Tr	%	Nom de produit
5.126	0.20	.beta.-Myrcene
6.107	0.13	Limonene
6.187	0.09	Eucalyptol
6.368	0.11	beta.-trans-Ocimene
6.668	0.16	3-Carene
7.407	0.15	Linalool oxide (fr.1)
7.909	0.28	cis-Linalool Oxide
8.292	38.13	Linalol
10.140	0.72	Menthone
10.568	0.25	(-)-Borneol
11.526	4.64	alpha.-Terpineol
11.693	1.06	Neodihydrocarveol
11.760	0.64	Dihydrocarvone
12.528	0.23	cis-Pulegone Oxide
13.045	0.62	cis-Geraniol
13.384	8.54	Pulegone
13.567	26.13	(-)-Carvone
14.117	1.85	trans-Geraniol
14.196	1.91	Linalool acetate
17.069	1.12	beta.-Terpinyl acetate
17.421	0.78	Eucarvone
18.594	0.50	Nerol acetate
19.381	1.07	Geranyl acetate
19.573	0.56	beta.-Elemene
20.568	2.50	Caryophyllene
22.283	0.41	beta.-Cedrene
23.013	1.12	Germacrene D
25.695	2.18	Elemol
26.841	0.38	Caryophyllene oxide
27.188	1.35	Epiglobulol
28.707	0.35	gamma.-Eudesmol
29.329	0.93	beta.-Eudesmol
29.458	0.91	alpha.-Eudesmol

Résultats et discussion

2.2 *Mentha spicata*

L'huile essentielle de la variété *M. spicata* se caractérise par une forte abondance de Carvone (55.66 %), Linalol (6.76%) et Dihydrocarveol (3.58 %) comme composés majoritaires. Le tableau et la figure suivantes illustrent la composition chimique de notre huile essentielle :

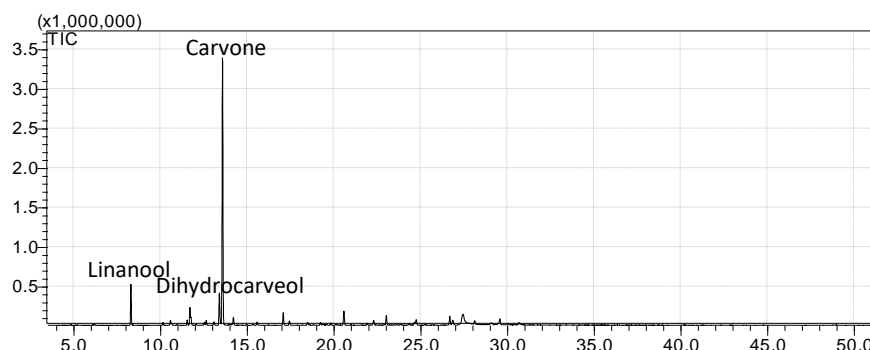


Figure 21: Profil chromatographique GC-MS de *Mentha spicata*

Tableau 4: Composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha spicata*

Tr	%	Nom
5.119	0.07	beta.-Myrcene
6.099	0.12	Limonene
6.182	0.26	Eucalyptol
8.282	6.76	Linalol
10.134	0.52	Menthone
10.565	0.64	(-)-Borneol
11.527	0.99	alpha.-Terpineol
11.686	3.68	Dihydrocarveol
11.745	1.21	Dihydrocarvone
12.520	0.56	cis-Pulegone Oxide
12.622	0.95	trans-Carveol
13.074	0.59	cis-Carveol
13.382	6.83	Pulegone
13.566	55.66	(-)-Carvone
14.193	1.39	Linalyl acetate
17.066	2.61	Dihydrocarveol acetate
17.418	0.93	Eucarvone
18.468	0.64	(-)-cis-Carvyl Acetate
19.213	0.55	.alpha.-Bourbonene
19.375	0.23	Geranyl acetate
19.815	0.41	beta.-Elemene
20.563	3.29	Caryophyllene
21.902	0.43	.alpha.-Caryophyllene
22.278	1.12	beta.-Cedrene
23.006	2.15	Germacrene D
24.326	0.31	gamma.-Muurolene
24.631	0.67	(-)-Calamenene
24.733	1.32	delta.-Cadinene
26.669	2.01	Spathulenol
26.841	1.28	Caryophyllene oxide
28.107	0.65	Cubenol
29.549	1.17	.alpha.-Cadinol

Résultats et discussion

2.3 *Mentha pulegium*

L'huile essentielle de la variété *M. pulegium* se caractérise par une forte abondance de Carvone (33.14 %), Pulegone (22.26%) et Eucarvone (7.29%) comme composés majoritaires. Le tableau et la figure suivantes illustrent la composition chimique de notre huile essentielle :

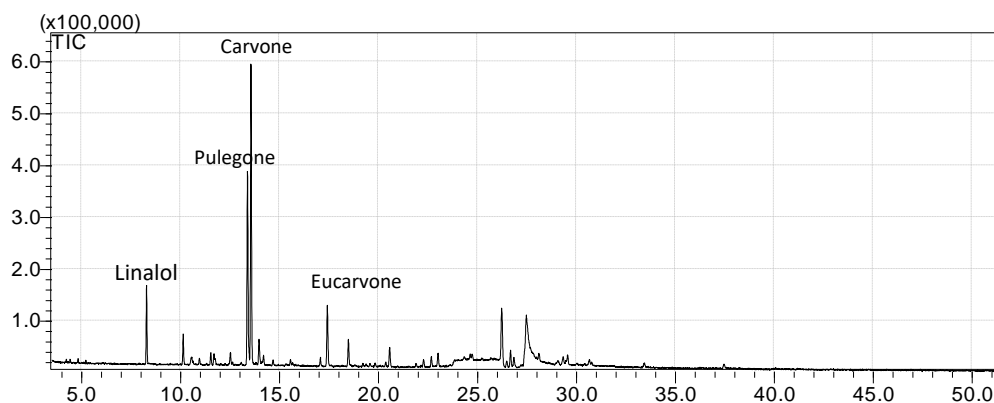


Figure 22: Profil chromatographique GC-MS de *Mentha pulegium*

Tableau 5: Composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*

Tr	%	Nom
8.276	7.07	Linalool
10.126	3.09	p-Menthanone
10.563	0.84	Borneol
11.523	1.31	alpha.-Terpineol
11.685	1.18	Dihydrocarveol
11.755	0.55	Dihydrocarvone
12.511	1.23	cis-Pulegone Oxide
13.375	22.26	Pulegone
13.552	33.14	(-)-Carvone
13.957	3.19	Piperitone
14.187	1.01	Linalyl acetate
15.552	0.62	NI
17.063	0.90	Dihydrocarveol acetate
17.408	7.29	Eucarvone
18.474	2.99	Cyclohexanone, 2-isopropylidene
20.560	2.16	Caryophyllene
22.272	1.06	.beta.-Cedrene
22.668	1.17	NI
23.004	1.53	Germacrene D
24.628	0.64	Calamenene
24.725	0.36	delta.-Cadinene
26.479	0.66	NI
26.666	2.05	Spathulenol
26.840	1.11	Caryophyllene oxide
28.100	0.74	Cubenol
29.324	0.72	beta.-Eudesmol
29.546	1.13	.alpha.-Cadinol

Résultats et discussion

Les résultats analytiques qualitatifs et quantitatifs par GC/MS pour les trois huiles essentielles sont présentés dans les tableaux (3, 4,5), les composés sont énumérés dans l'ordre de leur élution sur la colonne BP-5. Les analyses ont montré que la composition chimique des huiles essentielles est constituée de composés monoterpéniques et sesquiterpéniques.

L'huile essentielle de *M. piperita* était riche en alcools terpéniques et monotérpénoides, un total de 33 composants actifs a été identifié pour *M. piperita*. Linalol (38.13%) a été identifié comme le principal composé, suivi du Carvone (26.13%) et Pulégone (8.54%), accompagnés d'autres constituants à des teneurs relativement faibles tel que alpha-Terpineol (4.64%), Caryophyllene (2.5%), Elemol (2.18%). De nombreux composés de 1% ou moins sont aussi identifiés. Ces résultats sont totalement différents de ceux trouvés par (Tyagi., 2011) avec des pourcentages différentes dont les principaux composants étaient le menthol (19,1%), l'isomenthone (14,8%), le limonène (10,6%), l'iso-menthanol (8,8%), acétate de menthyle (6,6 %), b-pinène (5,6 %).

Pour *M. spicata* le composant majoritaire est le Carvone (55.66%) appartient aux monotérpénoides, suivi de Pulegone et Linalol avec (6.83%) et (6.76%) respectivement, les autres composants étaient présents en quantités inférieures à 4 %. Les mêmes composants ont été obtenus par (Chauhan et al., 2009), dont *M. spicata* de la région nord-ouest de l'Himalaya, a présenté le Carvone comme son composant principal avec une teneur qui varie entre 49,62% et 76,65%.

Deux constituants chimiques dominent *M. pulegium* le Carvone (33.14%) et Pulegone (22.26%), suivi de l'Eucervone (7.29%), Linalol (7.07%), Piperitone (3.19%), p-Menthanone (3.09%), les autres composants sont minoritaires avec des pourcentages inférieurs à 3%. Les résultats de (Mahboubi et Haghi., 2008) ont révélé des résultats similaires au niveau des composés majoritaires mais avec des pourcentages différents.

Finalement on peut dire que le Carvone, Linalol et Pulegone sont les composés majoritaires pour toutes les variétés mais avec des pourcentages variables d'une variété à une autre.

La composition chimique des huiles essentielles peut différer selon les parties d'une plante servie pour l'extraction, le stade de développement de la plante, les conditions de croissance (par exemple, la température, la lumière, le sol, les engrais), le système de séchage, la période de la récolte et la procédure d'extraction (Becerril., 2012).

1- Activité antibactérienne des huiles essentielles extraites

3.1 Technique de dilutions

La technique de dilutions développée au laboratoire d'écologie fonctionnelle et génie d'environnement, qui repose sur le comptage du nombre de colonies et obtention d'une concentration minimale bactéricide nous a donné un tapis bactérien sur les différentes concentrations testées allant de 5µL d'huile essentielle jusqu'à 30µL d'huile essentielle. Ce résultat a été obtenu vis -à-vis toutes les souches testées pour nos huiles essentielles. Ce résultat montre un faible pouvoir antibactérien des trois huiles essentielles vis à vis nos souches bactériennes.

Résultats et discussion

3.2 Aromatogramme

En milieu solide l'action antibactérienne des huiles essentielles se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques. Le diamètre des zones d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'une huile essentielle à une autre. Les résultats des expériences portant sur l'effet antimicrobien des huiles essentielles sont présentés dans le tableau 6 et la figure 23.

Tableau 6: Aromatogramme reflétant les diamètres d'inhibitions de 10µL des huiles essentielles en (mm)

Souches testées	<i>Mentha spicata</i>	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Mentha piperita</i>
<i>E. coli</i>	12 ± 0.91	12 ± 1.90	10.5 ± 0.28
<i>P. aeruginosa</i>	9 ± 1.20	8 ± 0.7	8 ± 0.49
<i>P. multocida</i>	16.3 ± 1.83	14.1 ± 1.83	13 ± 2.82
<i>S.aureus</i>	12.8 ± 0.28	12.6 ± 0	12.5 ± 0

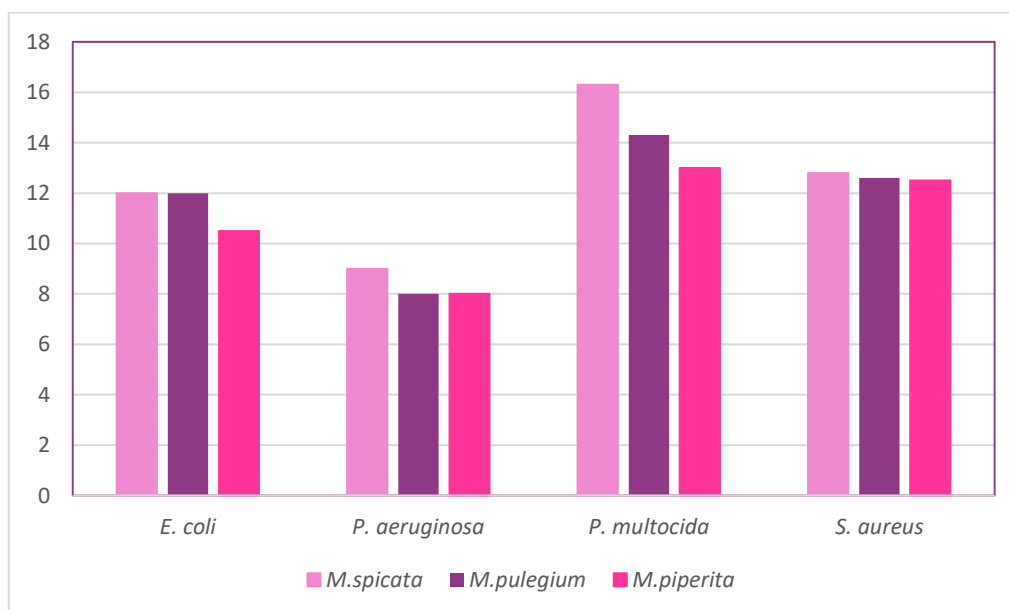


Figure 23: Représentation graphique de résultats de l'aromatogramme

3.3 Antibiogramme des souches testées

Afin de bien estimer l'effet des huiles essentielles testées nous avons effectué un test d'antibiogramme par la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques sur gélose. Chaque souche a été soumise à quatre antibiotiques afin de déterminer sa sensibilité envers différents antibiotiques synthétiques utilisés à savoir tétracycline (TE 30 µg), polymyxine B (PB 30 µg), vancomycine (VA 30 µg), amoxicilline (AX 25 µg), L'évaluation de la sensibilité des souches bactériennes testées, nous a permis d'obtenir les résultats dans le tableau suivant (Tableau 7) :

Résultats et discussion

Tableau 7: Antibiogramme en mm

Souches testées	Vancomycine (VA 30 µg)	Amoxicilline (AX 25 µg)	Polymyxine B (PB 30 µg)	Tétracycline (TE 30 µg)
<i>E. coli</i>	20	15	11	21.6
<i>P.aeruginosa</i>	R	R	13.6	11
<i>P. multocida</i>	23	24	10.6	27
<i>S. aureus</i>	15	14	10.3	20

De manière générale l'action des huiles essentielles sur les souches bactériennes testées a permis d'avoir des diamètres différents, allant de 7.8 jusqu'à 16.3 mm pour 10µL d'huile essentielle imbibé dans le disque. Les résultats obtenus ont été presque les mêmes obtenus dans d'autres travaux comme ceux de (Boukhebt et al., 2011) qui ont trouvé des diamètres entre 7 et 16 mm. Les huiles essentielles de certaines plantes appartenant à la famille des *Lamiaceae* exercent une activité antibactérienne modérée à adéquate pour une appréciation agroalimentaire.

D'après les résultats de l'aromatogramme, l'huile essentielle de la menthe verte (*M. spicata*) a révélé une activité antibactérienne plus ou moins importante par rapport aux autres variétés testées. Cela revient à sa teneur élevée en Carvone (55.66%) (Composé monoterpénique). Plusieurs travaux ont montrés que les activités biologiques sont attribuables aux composés terpènes et terpenoïdes (Kunta et al., 1997., Peana et al.,2002).

Pour la souche *Pasteurella multocida*, on remarque que c'est la souche la plus sensible étant donné que les diamètres est de 13 mm vis-à-vis les trois huiles essentielles utilisées, bien qu'elle soit une bactérie à gram négatif. Contrairement à la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* s'est manifestée la plus résistante, ces diamètres sont compris entre 8 et 9 mm, cela revient à la structure de sa paroi bactérienne et son grand pouvoir de développer la résistance vis-à-vis les agents antibactériens notamment les huiles essentielles. Il est reporté que les différents composants des huiles essentielles montrent différents degrés d'activité contre des bactéries à gram négatif et à gram positif d'après (Dorman et Deans., 2000) et que la composition chimique des huiles essentielles peut varier selon plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques (Lahlou., 2004). Il est connu aussi que les espèces bactériennes n'ont pas la même sensibilité vis-à-vis d'un agent antibactérien. D'autres études menées par (Guesmi et Boudabous., 2006) ne révèlent aucune activité antimicrobienne sélective vis-à-vis les bactéries à gram positif ou à gram négatif.

Résultats et discussion

Nos résultats sont concordés avec ceux obtenus par de nombreux chercheurs comme (Boukhebti et *al.*, 2011) qui rapportent la faible sensibilité des souches de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis des huiles essentielles. On constate bien que *Pseudomonas aeruginosa* présente une résistance non seulement contre les huiles essentielles mais aussi contre les antibiotiques notamment Vancomycine (VA30 µg) et Amoxicilline (AX 25 µg).

Les autres souches *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* sont des souches dont les diamètres d'inhibition sont généralement compris entre 10.5 et 12.9 mm, elles se sont manifestées d'une sensibilité intermédiaire. Les diamètres produits par les antibiotiques testés, sont nettement supérieure à ceux générés par les huiles essentielles utilisées dans ce test. Ces antibiotiques ont une activité fortement inhibitrice envers les bactéries testés avec des diamètres d'inhibition allant jusqu'au 27mm pour *Pasterella multocida* dans le cas de TE 30µg. Nos résultats montrent que *Pasteurella multocida* à Gram négatif est la souche la plus sensible vis-à-vis les huiles et antibiotiques testés. Plusieurs études ont montré que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries à Gram négatif (Karaman et *al.*, 2003 ; Sahin et *al.*, 2002). Cependant, les résultats de notre étude ont montrés que les huiles essentielles des trois variétés de menthe, n'ont pas d'activité antibactérienne sélective sur la base des différences de la paroi cellulaire des bactéries. Ceci est en accord avec les résultats de (Hajlaoui et *al.*, 2009) qui ont montré que la variété *Mentha longifolia* a un effet antibactérien non sélectif vis-à-vis des bactéries.

Résultats et discussion

3.4 Concentration minimale inhibitrice et concentration minimale bactéricide des huiles essentielles extraite

La détermination des concentrations minimales inhibitrices des huiles essentielles de la menthe a été effectuée grâce à la méthode de dilution en série en milieu liquide. Les résultats consignés dans le tableau suivant (Tableau 8).

Tableau 8: CMI et CMB évaluées par la technique de microdilution

Variétés	Souche testées	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMB/CMI	Caractère
<i>Mentha piperita</i>	<i>E. coli</i>	125.27	125.27	1	Bactéricide
	<i>P. aeruginosa</i>	125.27	ND	ND	Bactériostatique
	<i>S. aureus</i>	62.63	125.27	2	Bactéricide
	<i>P. multocida</i>	31.31	125.27	4	Bactéricide
<i>Mentha Spicata</i>	<i>E. coli</i>	15.02	15.02	1	Bactéricide
	<i>P. aeruginosa</i>	ND	ND	ND	Bactériostatique
	<i>S. aureus</i>	30.03	120.13	4	Bactéricide
	<i>P. multocida</i>	7.51	30.03	4	Bactéricide
<i>Mentha Pulegium</i>	<i>E. coli</i>	61.66	61.66	1	Bactéricide
	<i>P. aeruginosa</i>	61.66	ND	ND	Bactériostatique
	<i>S. aureus</i>	61.66	61.66	1	Bactéricide
	<i>P. multocida</i>	30.83	123.33	4	Bactéricide

ND : Non déterminé

La détermination de la concentration minimale inhibitrice des différentes huiles essentielles du genre *Mentha* par la méthode de microdilution n'a confirmé que ce qui a été obtenu par la méthode d'aromatogramme. Autrement dit plus le diamètre autour du disque est important plus la CMI est intéressante. Dans les trois cas nous avons remarqué que *Pasteurella multocida* est la souche la plus sensible, tandis que la plus résistante c'est *Pseudomonas aeruginosa*, ce qui concorde avec les résultats déjà trouvés par notre équipe pour la technique de l'aromatogramme.

Résultats et discussion

L'activité antibactérienne la plus importante s'est manifesté par *M. spicata* vis-à-vis des souches *Pasteurella multocida*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* avec une concentration minimale inhibitrice qui correspond à 7.51 ; 15.02 ; 30.03 mg/mL respectivement. Mais aucun effet ne s'est manifesté pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* même en augmentant la concentration.

L'huile essentielle de *M. pulegium* présente des résultats inférieures à ceux obtenus par *M. spicata* et qui révèle une CMI de (61.66 mg/ml) pour *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. *Pasteurella multocida* s'est manifesté la souche la plus sensible avec une CMI de (31.83 mg/ml).

L'huile essentielle de *M. piperita* n'a pas présenté un bon effet antibactérien. Les souches *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* possèdent une CMI très élevés (125.27 mg/ml), suivi de *Staphylococcus aureus* avec (62.36 mg/ml) et enfin *Pasteurella multocida* (31.31 mg/ml).

Quant aux concentrations minimales bactéricides, elles sont rapportées dans le tableau 8. D'après nos résultats on constate que la CMB la plus importante s'est manifestée encore une fois par *M. spicata* vis-à-vis *Escherichia coli* avec une CMB de (15.02 mg/ml). Les autres variétés ont données un intervalle de CMB allant de (30.03 mg/ml) jusqu'à (125,27 mg/ml) pour les différentes bactéries testées. Par contre pour la souche *Pseudomonas aeruginosa*, s'est manifestée résistance chez les trois variétés testées même à de très forte concentrations. Selon (Hermal., 1993) la sensibilité des microorganismes vis-à-vis ces huiles varie selon le germe testé. Cela a été expliqué par le fait qu'une huile essentielle peut être bactéricide face à certaines souches, bactériostatique face à autres ou n'avoir aucun effet.

Le rapport CMB/CMI permet de définir le caractère bactériostatique ou bactéricide d'une huile essentielle. Lorsque ce rapport est inférieur à 4, l'huile est considérée comme bactéricide (Mahboubi et Haghi., 2008). Dans notre étude, les rapports CMB/CMI des différentes huiles essentielles testées sont compris entre 1 et 4 pour toutes les souches étudiées. Donc ces huiles essentielles semblent exercer une action bactéricide contre toutes les souches bactériennes sauf le cas de la souche *Pseudomonas aeruginosa*. Cette sensibilité réduite serait attribuée à la structure particulière de la membrane externe de ce genre, particulièrement imperméable aux molécules hydrophobes, combinée aux mécanismes d'efflux de protons réduisant ainsi le gradient de pH à travers la membrane cytoplasmique, finalement la mort cellulaire. De plus il a été rapporté que les huiles essentielles riches en composants phénoliques possèdent des niveaux élevés d'activité antimicrobienne. Cependant, les composés présents dans les plus grandes proportions ne sont pas nécessairement responsables de l'activité totale. L'implication de constituants moins abondants devrait également être envisagée, et par conséquent l'activité revient à la présence des composants tels que et Linalol, Bornéol et Alpha terpinéol.

Résultats et discussion

Nos résultats sont en désaccord avec ceux de (Hajlaoui et al., 2009) qui ont trouvé des CMI des huiles essentielles d'autres espèces de genre *Mentha* qui varie entre 0.31 mg/mL et 2.5 mg/mL. Les résultats d'une autre étude effectuée sur *M. piperita* par (Goudjil et al., 2015) en utilisant la méthode de diffusion par disque ont révélé une bonne activité avec des CMI entre 0.16 mg/mL et 0.66 mg/mL ce qui est strictement inférieurs aux résultats trouvés par notre étude. Selon (Bussmann et al., 2010), les CMI inférieures à 5 mg/mL indiquent une forte activité antimicrobienne, ce qui est en désaccord avec notre étude.

La diversité des résultats obtenus pour les huiles essentielles des trois plantes médicinales utilisées dans cette étude par rapport à ceux trouvés dans la littérature peuvent être due à des facteurs intrinsèques (génétiques) ou extrinsèques, la méthode d'extraction des huiles essentielles, la nature des solvants utilisés, la période de récolte, la maturité, les conditions de stockage et le chémotype de l'huile essentielle et aussi à la technique d'évaluation de l'activité antibactérienne utilisée (Nait Irahah et al., 2021).

2- Evaluation des activités antioxydante des huiles essentielles extraites

En raison de la complexité chimique des huiles essentielles, différentes méthodes sont nécessaires pour évaluer leur activité antioxydante. Pour répondre à notre objectif, trois dosages différents ont été effectués : la capacité de piégeage des radicaux libres en utilisant le radical DPPH, phosphomolybdate, et le test de blanchissement de la β -carotène.

4.1 Activité antioxydante évalué par la méthode de DPPH

L'activité anti radicalaire des huiles essentielles a été évaluée par la capacité de balayage du radical libre DPPH. Également, le même test a été réalisé mais cette fois ci avec un antioxydant de référence (Acide ascorbique). Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles étudiées par le test de DPPH sont exprimés par le pourcentage d'inhibition et la concentration inhibitrice 50 du radical DPPH et sont représentés dans les illustrations suivantes (Figure 24 ; tableau 9).

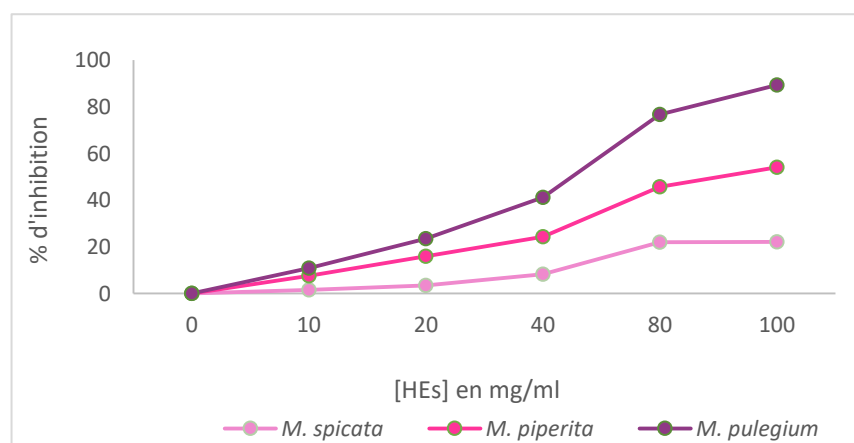


Figure 24: Activité antioxydante des huiles essentielles évaluée par le test de DPPH

Résultats et discussion

Tableau 9: Concentration inhibitrice médiane (IC₅₀) pour le test de DPPH en mg/ml

Variété	<i>Mentha spicata</i>	<i>Mentha piperita</i>	<i>Mentha pulegium</i>	A. ascorbique
IC ₅₀	199,59 ± 0.25	165,01 ± 0.20	135,75 ± 0.52	0,17 ± 0.75

4.2 Activité antioxydante évaluée par la méthode de phosphomolybdate

Afin d'évaluer l'activité antioxydante des huiles essentielles, nous avons utilisés le test de phosphomolybdate qui est basé sur la réduction de Mo (VI) en Mo (V) par l'huile essentielle et la formation d'un complexe phosphate de Mo (V) vert à pH acide. Le témoin utilisé concernant cette méthode est l'acide ascorbique ou les résultats sont regroupés dans le tableau et la figure suivante (Figure 25 ; Tableau 10).

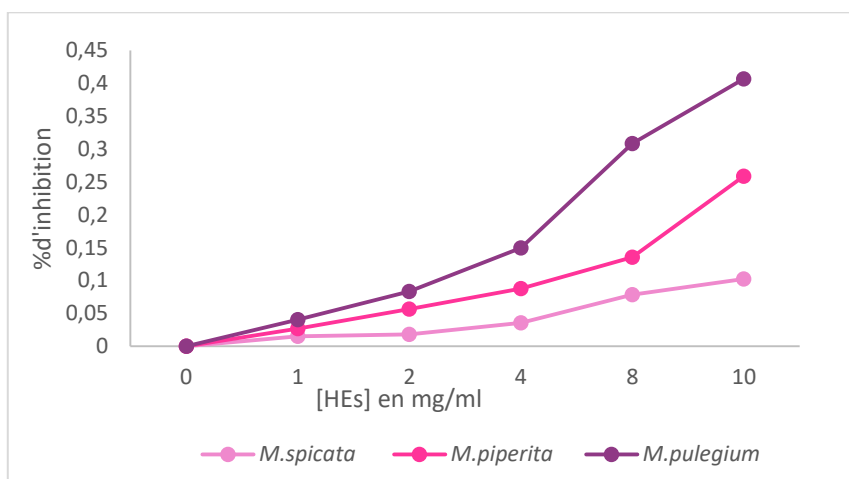


Figure 25: Activité antioxydante des huiles essentielles mesurée par le teste de Phosphomolybdate

Tableau 10: Concentration efficace médiane (EC₅₀) pour le test de phosphomolybdate en mg/ml

Variété	<i>Mentha spicata</i>	<i>Mentha piperita</i>	<i>Mentha pulegium</i>	A. Ascorbique
EC ₅₀	50 ± 0.16	40.32 ± 1.17	28.57 ± 0.07	0.217 ± 0.17

4.3 Activité antioxydante évaluée par la méthode de blanchissement de la β-carotène :

Afin d'évaluer l'activité antioxydante des huiles essentielles, nous avons utilisé la méthode de blanchissement du β-carotène, Un suivie de la réaction de l'oxydation du β-carotène en présence des huiles essentielles et d'un control positif (BHT), a été effectué en mesurant l'intensité de la couleur de β-carotène à une longueur d'onde de 470 nm, permet de tracer la courbe dans la figure 26. Les résultats de test de blanchiment de la β-carotène, ils sont illustrés ci-dessous (Figure 26 ; Tableau 11).

Résultats et discussion

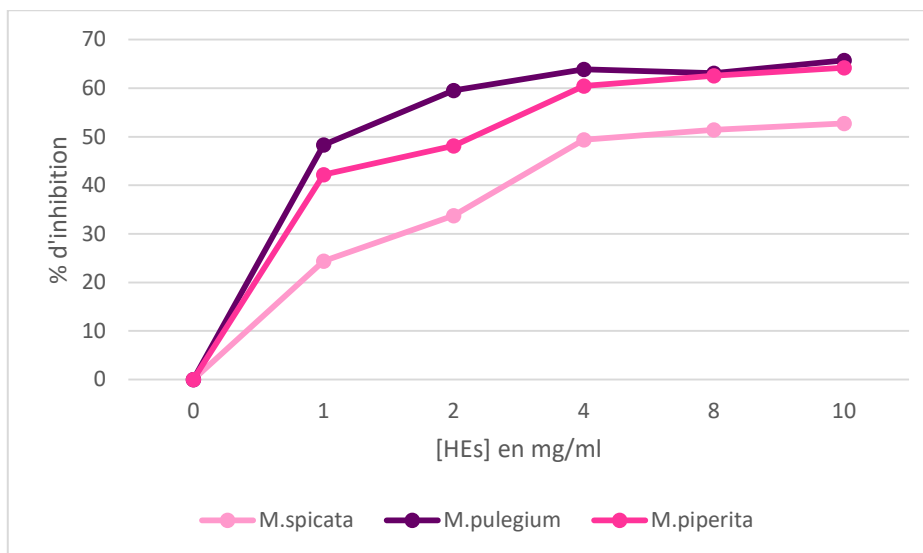


Figure 26: Activité antioxydante des huiles essentielles évaluée par le test de blanchissement β -carotène

Tableau 11: Concentration inhibitrice médiane (IC_{50}) pour le test de blanchissement de la β -carotène en mg/ml

Variété	<i>Mentha spicata</i>	<i>Mentha piperita</i>	<i>Mentha pulegium</i>	BHT
IC_{50}	7.60 ± 0.39	4.99 ± 1.52	4.14 ± 0.64	1.29 ± 0.029

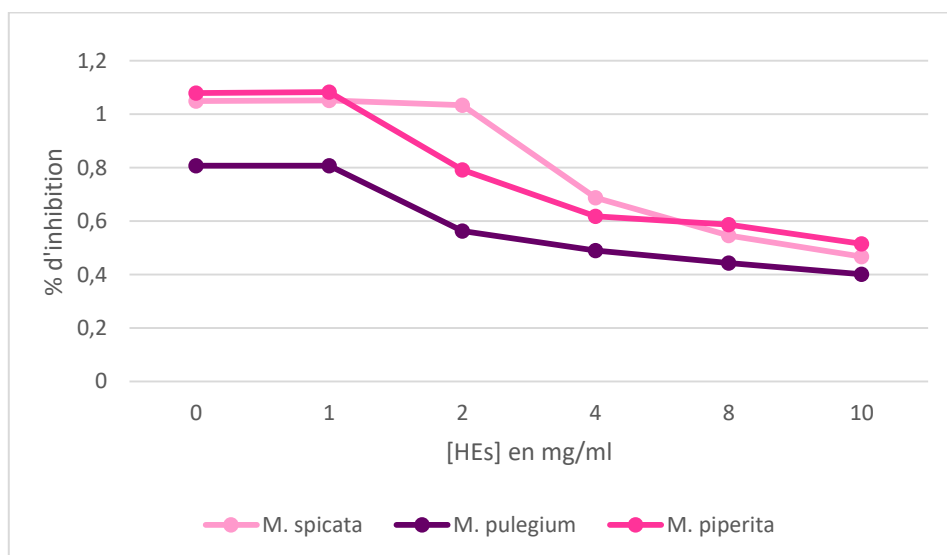


Figure 27: Activité antioxydante des huiles essentielles évaluée par le test de blanchissement β -carotène après 2h

Résultats et discussion

3- Discussion de l'activité antioxydante

D'après les résultats du pouvoir antioxydant à l'aide du test de piégeage des radicaux libre par DPPH, phosphomolybdate, et la β -carotène il est possible de conclure que les différentes huiles essentielles de genre *Mentha* ont présenté des activités différentes d'un test à un autre. Donc pour le test de piégeage des radicaux libres DPPH les différentes huiles essentielles utilisées ont montré une tendance de piégeage des radicaux libres très faible. Les valeur d'IC₅₀ sont 199.59±0.25 mg/ml ; 165.01±0.20mg/ml ; 135,75±0.75mg/ml pour *M. spicata*, *M. piperita* et *M. pulegium* respectivement sont non significative par rapport a l'IC₅₀ du contrôle présenté par l'acide ascorbique (0.17mg/ml). Il a été rapporté par plusieurs auteurs que les antioxydants de synthèse possèdent plus d'aptitude à piéger le radical DPPH que les huiles essentielles (Kizil et al., 2010 ; Nanasombat et al., 2011 ; Tepe., 2005). Les résultats de ce test sont très proche de ceux publiés par (Ismaili et al., 2017) où ils ont trouvé une IC₅₀=201.34 mg/ml sur *M. spicata*. D'autres études effectuées dans différents pays ont montré des concentrations inhibitrices IC₅₀ beaucoup plus inférieure que celles obtenues dans notre travail.

La variété *M. spicata* récolté en Pakistan a donné une IC₅₀ = 13.3µg/ml (Hussain et al., 2010), *M. rotundifolia* provenant de la Tunisie (IC₅₀ = 26.11 µg/ml) (Riahi et al.,2013) , et aussi les variétés *M. piperita*, *M. longifolia* et *M. spicata* de l'Iran ont donné des valeurs d'IC₅₀ de 3.9 µg/ml, 24.07 µg/ml, 1.14 µg/ml respectivement (Souri et al.,2008 ; Sharafi et al., 2010).

La capacité antioxydante totale par le test de phosphomolybdate a donné une EC₅₀ égale à 50±0.16 ; 40.32±1.17 ; 28.57±0.07 mg/ml respectivement pour *M. spicata*, *M. piperita* et *M. pulegium*. Ses valeurs dépassent légèrement celles obtenues par le contrôle (Acide ascorbique = 0.217 mg/ml). Donc la capacité antioxydante totale de nos huiles reste donc modéré.

En ce qui concerne le test de blanchissement de la β -carotène, on a obtenue des valeurs équivalentes par rapport les trois variétés, l'IC₅₀ est égale à 4.14±0.64 mg/ml ; 7.60± 0.39 mg/ml ; 4.99±1.52 mg/ml pour *M. pulegium* ; *M. spicata* ; *M. piperita* respectivement. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par (Hajlaoui et al., 2015) sur *M. longifolia*, *M. pulegium* et *M. spicata* avec des IC₅₀ plus faible que ceux trouver par notre équipe (86.96 µg/ml, 105.26 µg/ml, 122.66 µg/ml respectivement). IC₅₀ des trois variétés reste très comparable à celle de contrôle BHT (1.29 mg/ml). L'inhibition au cours du temps a montré une forte diminution c'est-à-dire que la capacité à inhiber la formation des radicaux par l'acide linoléique diminue avec le temps.

L'activité antioxydante par le test de blanchissement de la β -carotène est expliqué par le fait que les radicaux libres découlent de l'oxydation de l'acide linoléique qui attaque les molécules insaturées de la β -carotène, ce qui se traduit par une diminution importante de l'absorbance à 470

Résultats et discussion

nm. En outre, la présence de molécules antioxydantes qui neutralisent les radicaux formés peut réduire le blanchissement de la β -carotène.

La variété *M. pulegium* s'est manifesté la meilleure dotée d'un pouvoir antioxydant supérieur aux deux autres variétés, cela revient à sa forte teneur surtout en Pulégone (22.26%) qui est un fort antioxydant (Ruberto et Baratta., 2000).

D'après les résultats obtenus, il est possible de conclure que les différentes huiles essentielles du genre *Mentha* ont présenté une bonne activité dans le test de blanchissement de la β -carotène, cela montre l'efficacité des huiles essentielles pour inhiber la peroxydation lipidique fort probable en raison de la haute spécificité du test pour les composés lipophiles (Nait Irahah et al., 2021). Par contre le test de piégeage des radicaux libres DPPH a révélé une faible activité antioxydante.

Compte tenu de la complexité de ces mélanges et des différents principes de ces tests, il n'est pas surprenant que les activités relatives avec ces tests antioxydants varient en fonction de nombreux facteurs, tels que la concentration, la température, la composition chimique, les composants mineurs ou la synergie entre eux, peut être à l'origine de l'augmentation ou la diminution du potentiel antioxydant d'un mélange de composant (Lopez-Alaron et Denicola., 2013).

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives

Le travail que nous avons entrepris a pour objectif principal la valorisation de la menthe en étudiant la composition chimique et en évaluant leurs activités biologiques (activité antioxydante et antibactérienne) de trois huiles essentielles des espèces qui appartiennent au genre *Mentha* (*M. spicata*, *M. piperita* et *M. pulegium*).

Les tests d'évaluation de l'activité antibactérienne, réalisés in vitro, ont permis d'évaluer l'activité de ces huiles essentielles sur les souches isolées à partir de la flore colique de la volaille, par les méthodes de diffusion en milieu solide et de la micro dilution sur microplaque. Les résultats démontrent que les trois huiles essentielles ont une activité antibactérienne vis-à-vis les souches testées, avec des différences qualitatives (souches-cibles) et quantitatives (diamètres d'inhibition), tandis que la souche la plus résistante c'est *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats de la micro dilutions sur microplaques ont permis de déterminer les valeurs de la CMI et CMB ce qui a été traduit par un effet bactéricide chez les huiles essentielles.

Par ailleurs, l'évaluation du pouvoir antioxydant montre que les huiles essentielles présentent une forte activité dans le test de blanchissement de la β -carotène par rapport aux tests de DPPH et de CAT qui n'étaient pas significatives. On a constaté aussi d'après les résultats que *M. spicata* est la variété qui a l'activité la plus médiocre en ce qui concerne l'activité antioxydante.

Enfin, nos résultats indiquent que les huiles essentielles étudiées peuvent être utilisée avec prudence comme stratégies efficaces de substitution aux antibiotiques.

D'autres recherches peuvent être menées pour l'évaluation d'autres activités biologiques intéressantes telles que l'activité anticancéreuse, anti-inflammatoire et antidiabétique. Il serait intéressant aussi d'étudier la synergie d'action probable entre les trois huiles essentielles et d'autres huiles essentielles ainsi que la synergie entre les trois huiles et certains antibiotiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Aafi A., Ghanmi M., Satrani B., Aberchane M., Ismaili My R et al-Abid A., (2009).** Diversité et valorisation des principales plantes aromatiques et médicinales (PAM) de l'écosystème cédraie au Maroc. Centre de Recherche Forestière pp.190-207, 18p.
- Abdelli W., Bahri F., Drynda A et Szumny A., (2018).** Chemical composition, antimicrobial and cytotoxic activity of essential oils of Algerian *Thymus vulgaris* L. *Acta Poloniae Pharmaceutica* 76(6):1051-1059.
- AFNOR (Association Française de Normalisation), (2000).** Recueil des normes françaises : huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles. AFNOR, Paris.
- Ait-Ouahoune Ch., (2005).** Contribution à l'étude de l'effet du substrat sur la composition quantitative et qualitative de l'huile essentielle de *Mentha viridis* L (menthe verte). Thèse d'ingénieur en Agronomie UMMTO.
- Albaoui A., Jamaly N et Aneb M., (2012).** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from six Moroccan plants. *J Med Plants Res* 6:4593–600.
- Alinezhad H., Baharfar R., Zare M., Azimi R., Nabavi S F et Nabavi S M., (2012).** *Acta Pol. Pharm. Drug Res.* 69, 617.
- Andrews J M., (2001).** The Development of the BSAC standardized method of disc diffusion testing. *J.of Antimic.Chemo., Vol.48,Suppl.S1,pp:29-42 p.*
- Anton R et Annelise L., (2005).** plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. lavoisier, édition Tec &Doc.
- Babenko N A et Shakhova E G., (2006).** Effects of *Chamomilla recutita* flavonoids on age related liver sphingolipid turnover in rats. *Experimental Gerontology.* 41(1): 32- 39 p.
- Bardeau F., (2009).** Les huiles essentielles : découvrir les bienfaits et les vertus. Ed. Lanore, Paris, 32-198-201p.
- Bates D W., Boyle D L., Vander Vliet M B., Schneider J et Leape L., (1995).** Relation entre les erreurs de médication et les événements indésirables liés aux médicaments. *Journal de médecine interne générale.* 10 (4), 199-205.
- Becerril R., Nerin C et Gomez-Lus R., (2012).** Evaluation of bacterial resistance to essential oils and antibiotics after exposure to oregano and cinnamon essential oils. *Foodborne Pathog Dis.* 9(8):699-705.
- Bellerbeck K V G., Roques C., Vanière P et Marquier P., (2002).** Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Hygiène,* 10(3), 248-251.
- Belmekki N., (2009).** Etude photochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de *Saccocalyx satureioïdes*, *Salvia verbenaca* et *Teucrium polium* de la région ouest d'Algérie. Thèse

Références bibliographiques

pour l'obtention du Magister en Sciences Biologiques, spécialité : substances naturelles, activités biologiques et synthèse. Tlemcen, Université Abou Bakr Belkaid, 103p.

Beloued A., (2001). Plantes médicinales d'Algérie. Ed. OPU. Ben Aknoun. Alger, 277p

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

Bencheqroun H K., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A et Chaouch A., (2012). Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Artemisia atlantica, plante endémique du Maroc. Bulletin de la société Royale des sciences de Liège, 81, 4-21.

Benjilali B., (2004). Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. Département des sciences alimentaires et nutritionnelles, Institut agronomique et vétérinaire (I.A.V.) Hassan II, Rabat, Maroc. 17-59p.

Benomar FZ., (2014). caractérisation chimique et activités biologiques des volatils de mentha aquatica. (domrane) de l'ouest algérien. tlemcen faculté des sciences -département de chimie laboratoire des substances naturelles, et molécules bioactives (LASNABIO). 66p

Bensabah F., Houbairi S., Essahli M., Lamiri A et Naja J., (2013). Chemical composition and inhibitory effect of the essential oil from Mentha spicata irrigated by wastewater on the corrosion of aluminum in molar hydrochloric acid. Portugaliae Electrochimica Acta, 31(4),195-206p

Bouhaddouda N., (2016). Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local Origanum vulgare et Mentha pulegium.

Boukef M K., (1986). Médecine traditionnelle et pharmacopée. Agence de Coopération Culturelle et Technique 350p.

Boukhebti H., Chaker A N., Belhadj H., Sahli F., Ramdhani M., Laouer H et 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.

Boulechafar S., (2014). Valorisation des Substances Bioactives à Activités Pharmacologiques à partir de deux Asteraceae : Aster squamatus (Spreng.) Hieron. et Hertia cheirifolia (L.) O.K. Mémoire de Magister. Université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi.

Bourgeois L., (2014). Remèdes et recettes à la menthe. Collection Les bons remèdes de nos grands-mère. Illustrations de Nouchca rustica éditions.

Références bibliographiques

- Bousbia N., (2004).** Extraction et identification de quelques huiles essentielles (Nigelle, Coriandre, Origan, Thym, Romarin) : Etude de leurs activités antimicrobiennes. Th.magister. INA. Alger. 130 p.
- Bouyahya A., Bakri Y., Et-Touys A., Talbaoui A., Khouchlaa A., Charfi S., Abrini J et Dakka N., (2017).** Resistance to Antibiotics and Mechanisms of Action of Essential Oils against Bacteria. Lavoisier SAS P 3.
- Boyd B., Ford C., Koepke Michael K., Gary E., Horn S., McAnelley et McAnelley C., (2003).** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. GlycoScience et Nutrition,4(6): p. 7
- Braüchler C., Meimberg H., Heubl G., (2010).** Molecular phylogeny of Menthinae (Lamiaceae, Nepetoideae, Mentheae) -Taxonomy, biogeography and conflicts. Molecular Phylogenetics and Evolution. 55, 501-523.
- Bruneton J., (1993).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Paris : éditions médicales internationales. Editions Tec et Doc Lavoisier.409-417p.
- Bruneton J., (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. .3é Ed. Tec & Doc/Lavoisier, Paris. Pp : 521-4 p.
- Bruneton J., (1993).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales, Tec & Doc, Lavoisier, Paris, p: 915.
- Brunechon J., (1987) :** Pharmacognosie, Ecole technique de documentation, Ed. Ravoilie.
- Burt., (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review". International Journal of Food and Microbiologie. 94:223-253.
- Bussmann R W., Malca-García G., Glenn A., Sharon D., Chait D., Díaz K., Pourmand B., Jonat S., Somogy G., Guardado C., Aguirre R., Chan K., Meyer A., Kuhlman A., Townesmith J., Effio Carbajal F., Frías-Fernandez et Benito M., (2010).** Minimum inhibitory concentrations of medicinal plants used in Northern Peru as antibacterial remedies. Journal Ethnopharmacology, 132, 101–108.
- Cantino P D et Sanders R W., (1986).** Subfamilial classification of Labiatae. Syst. Bot. 1, 163-185.
- Cardot Martin E., Martinucci P., Limousin L., Cahen P., Farfour E., Vasse M et Mathonnet D., (2019).** Apports et perspectives d'évolution des indicateurs qualité de l'hémoculture. Annales de Biologie Clinique.;77(3):331-338.
- Chadefaud M et Emberger L., (1960).** Traité de Botanique systématique, tome II : les végétaux vasculaires, fasc. I et II. Masson, Paris, 1539 pp. 7.

Références bibliographiques

- Charboun N., Esmail A., Abed H., Barrahi M., Amiyare R., Berrabeh M., Oudda et ouhssine M., (2015).** Evaluation de l'activité bactériostatique d'huile essentielle officinalis vis-à-vis des souches d'origine chimique résistances aux antibiotiques . JMES.
- Charles D., 2013.** Peppermint in Antioxidant Properties of Spices. Herbs and Other Sources. Springer New York. p. 469-475.
- Chauhan R S., Prakash O., Padalia R C., Vivekanand., Pant A K et Mathela C S., (2011).** Nat. Prod. Commun. 6(9) 1373.
- Chauhan R S., Kaul M K., Shahi A K., Kumar A., Ram G., et Tawa A., (2009).** Chemical composition of essential oils in *Mentha spicata* L. accession from North-West Himalayan region, India. Industrial Crops and Products, 29(2-3), 654–656.
- Ciccarelli D., Garbari F et Pagni A M., (2008).** The flower of *Myrtus communis* (Myrtaceae): secretory structures. unicellular papillae and their ecological role. Flora morphology. distribution. *Funct Ecol Plants*:85–93.
- Dallel M., (2010).** Isolement et élucidation structurale d'une flavanone, d'un acide phénolique et d'un hétéroside stéroïdique des fleurs de la plante *Anacyclus cyrtolepidioides* (Pomel). University of Tunis El Manar. 56p.
- Deba F., Dang Xuan T., Yasuda M., et Tawata S., (2008).** Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn var. *Radiata*. Food Control. 19 : 346-352. *Phytother. Res.* 16 :727-73.
- Derwich E., Benziane Z., Taouil R., Senhaji O et Touziani M., (2010).** Aromatic plants of Morocco: GC/MS analysis of essential oils of leaves of *Mentha piperata*. *Advances in Environmental Biology*, 4(1) : 80-85.
- De F., De Simone., Senatore F., (2002).** Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. *Phytochemistry* 61:573–8145.
- Djeddi S., (2012). Les huiles essentielles « Des mystérieux métabolites secondaires ».
- Dominique B., (2017).** Dernière publication diffusée sur Cairn.info ou sur un portail partenaire Préface Dans Aromathérapie Dunod.
- Dorman H J D et Deams S G., (2000).** Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Applied Microbiol.* 88: 308-316.
- Douay S., (2009).** Monographie de la menthe verte, *Systématique des Angiospermes*
- Dra chaouia ourdigha., (2011).** Phyto Consulting, identification et développement des produits de terroir dans la région de Chaouia Ouardigha.

Références bibliographiques

- Ducrot C., fric D., lalmanach A C., monnet V., sanders P et schouler C., (2017).** Perspectives d'alternatives thérapeutiques antimicrobiennes aux antibiotiques en élevage INRA Prod. Anim., 30 (1), 77-88.
- Dzidic S., Suskovic J et Kos B., (2008).** Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects. Food Technol Biotechnol 46:11–21.
- El Arch M., Satrani B., Farah A., Bennani L., Boriky D., Fechtal M., Blaghen M., et Talbi M., (2003).** Composition chimique et activités antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc," Acta Bot. Gallica Bot. Lett., vol. 150, no. 3, pp. 267–274.
- El Haib A., (2011).** Valorisation de terpenes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques, cadi ayyad university.
- Fatma A.G. et Jaime A T., (2012).** Composition, total phenolic content and antioxidant activity of essential oil of four Lamiaceae Herbs. Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology, 7(1): 19-27.
- Fauchere L L et Avril J L., (2002).** Bactériologie Générale et Médicale. Editions Ellipses : Paris.
- Fontanay S., Mougenot M E et E Duval R., (2015).** Evaluation of antibacterial properties of essential oils and/or of their major components, Hegel Vol. 5 N° 2 P : 112-113.
- Forde N., Carter F., Spencer TE., Bazer FW., Sandra O., Mansouri-Attia N et O'gaora P. (2011).** Changements induits par le conceptus dans le transcriptome de l'endomètre: quand la vache sait qu'elle est enceinte? Biologie de la reproduction, 85(1), 144-156.
- Fouché GP., Marquet A et Hambuckers A., (2000).** Les plantes medicinale : de la plante au médicament.
- Gabriel I., Alleman F., Dufourq V., Perrin F et Gabarrou G-F (2013).** Utilisation des huiles essentielles en alimentation des volailles : 2.Hypothèses sur les modes d'action impliqués des effets observés. INRA. 26(1),13-14
- Gaudy C et Buxeraud J., (2005).** Antibiotiques:pharmacologie et thérapeutique. Elsevier. 269 p.
- Gayda A., (2013).** Etude des principales huiles essentielles utilisées en rhumatologie. Thèse de Doctorat en pharmacie
- Goudjil M B., Ladjel S., Bencheikh S E., Zighmi S et Hamada D (2015).** Chemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Activities of the Essential oil Extracted from the *Mentha piperita* of Southern Algeria , Research Journal of Phytochemistry 9 (2) : 79-87.
- Goudjil M B., (2016).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. Thèse de doctorat en génie des procédés et environnement. 201p.
- Govindarajan M., Sivakumar R., Rajeswari M., Yogalakshmi K et Parasitol ., (2012).**Res. 110(5)

Références bibliographiques

- Grosjean F., (1990).** Etude botanique, physicochimique et pharmacologique de *Mentha pulegium* L. et *Mentha viridis* L. var *Nannah* ; comparaison de l'activité antifongique des huiles essentielles. Thèse de doctorat, Université de Besançon, France, 165p
- Guenther E., (1984).** The essential oil. Oil of peppermint, vol. III, Robert E. Krieger Publishing Co. Int., New York.
- Guesmi, A., Boudabous A., (2006).** Activité antimicrobienne de cinq huiles essentielles associées dans les produits de thalassothérapie. *Revue des Régions Arides*, numéro spécial, p. 224-230.
- Habiba B., Adel N C., Hani B., Farida S., Messaoud R., Hocine L et Daoud H (2011).** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Mentha pulegium* L et *Mentha spicata* L , Scholar Research library. p 269.
- Hajlaoui H., Trabelsi N., Noumi E., Snoussi M., Fallah H., Ksouri R et Bakhrouf A., (2009)** Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine , *World J Microbiol Biotechnol* 25:2227–2238.
- Hassaine. A., (2020).** Biomolécules d'intérêts pharmaceutiques et cosmétiques, Université Badji Mokhtar Annaba Faculté des Sciences.
- Herms D A et Mattson W J., 1992.** "The dilemma of plants: to grow or defend". *The quarterly Review of Biology.* 67(3): 283-335.
- Hermal.,(1993).** "Activité bactériostatique de sept émulsions d'huiles essentielles et de deux associations d'émulsions d'huile essentielles". Thèse Pharmacie, Université Montpellier 87p.
- Hossain M B., Brunton N P., Barry-Ryan C., Martin-Diana A B et Wilkinson M., (2008).** *Rasayan J. Chem.* 1, 751.
- Hussain A I., Anwar F., Shahid M., Ashraf M et Przybylski R., (2010).** Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of spearmint (*Mentha spicata* L.) from Pakistan. *J. Essent. Oil Res.*, 22 : 78-84.
- Iserin P ., (1997).** *Encyclopédies des plantes médicinales : Identification, préparation, soins*, Larousse-Bordas, pp 1-130.
- Iserin P .,(2001) .** *Encyclopédie des plantes médicinales*, in *Encyclopédie des plantes médicinales*, L. Londres, Editor. p. 116, 225-226.
- Ismaili R., Houbairi S., Lanouari S., Moustaid K et Lamiri A., (2017).** Etude De L'Activité Antioxydante Des Huiles Essentielles De Plantes Aromatiques Et Médicinales Marocaines, *European Scientific Journal* April 2017 edition Vol.13, No.12 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431

Références bibliographiques

- Jamaleddine M., El Oualidi J., Taleb MS., Thévenin T et El Alaoui-Faris F E (2017).** Inventaire et état de conservation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) au Maroc. *Phytothérapie*.15 (3):114-22 p.
- Jawad L., (2013).** EACCE. Communication orale, Forum sur la menthe et les plantes aromatiques et médicinales. CRRA-Settat.
- Jirovetz L., Buchbauer G., Shabi M., Ngassoum M B., (2002).** Comparative investigation of essential oil and volatiles of spearmint. *Perfum. Flav.* 27, 16–22.
- Joshi R K., Nati. Acad. (2013)** Sci. Lett. 36(3) 349.
- Karaman I., Sahin F., Gulluce M., et al., (2003).** Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *J Ethnopharmacol* 85:231–235
- Khalidi A., Meddah B., Moussaoui A et Benmehdi H., (2012).** Screening phytochimique et effet antifongique de certains extraits de plantes sur le développement in vitro des moisissures. *European Journal of Scientific Research* 80(3): 311-321.
- Kennedy D., Okello E., Chazot P., Howes M J., Ohiomokhare S., Jackson P., et al., (2018).** Volatile Terpenes and Brain Function: Investigation of the Cognitive and Mood Effects of *Mentha × Piperita* L. Essential Oil with In Vitro Properties Relevant to Central Nervous System Function. *Nutrients*.;10: 1029.
- Kizil S., Hasimi N V., Tolan, E., Kilinc et Yuksel U., (2010).** Mineral content, essential oil components and biological activity of two mentha species (*M. piperita* L., *M. Spicata* L.). *Turkish Journal of Field Crops*,. 15(2): p. 148-153.
- Koba K., Sanda K., Raynaud C., Nenonene Y.A., Millet J. et Chaumont J.P., (2004).** Activités antimicrobienne d'huile essentielle de trios *Cymbopogon* sp. Africains vis-à-vis de germe pathogène d'animaux de compagnie. *Ann. Méd. Vét.* 148 : 202-206.
- Kohen R et A Nyska., (2002).** Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods of their quantification. *Toxicol Pathol.* 30 (6): 620-50.
- Kokkini S., Hanlidou E., Karousou R et Lanaras T., (2004).** Clinal variation of *Mentha pulegium* essential oils along the climatic gradient of Greece. *J. Essent. Oil Res.* 16: 588-593.
- Koliopoulos G., Pitarokili D., Kioulos E., Michaelakis A et Tzakou O.,(2010).** *Parasitol. Res.* 107(2) 327.
- Kothe H., (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales : plantes aromatiques et médicinales de A à Z propriétés et usages. Terre édition, 335p
- Kulišić T., Dragovic-Uzelac Vet Miloš M. (2006).** Antioxidant activity of aqueous tea infusions prepared from oregano, thyme and wild thyme. *Food Technology and. Biotechnology.* 44, 485-492.

Références bibliographiques

- Kunta JR., Goskonda VR., Brotherton HO., Khan MA et Reddy IK., (1997).** Effects of menthol and related terpenes on the percutaneous absorption of propranolol across excised hairless mouse skin. *J Pharm Sci* 86: 1369–1373
- Kurkin V A., (2003).** *Chem. Nat. Compd.*, 39,123.
- Lahlou M., 2004.** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of the essential oils. *phytotherapy research*, 18(6), 435-448.
- Lakhdar L., (2015).** "Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* étude in vitro", Formation Doctorale: Sciences odontologiques "professeur Oumkeltom Emibi", Rabat, Université Mohammed V de Rabat,164
- Legrand G., (1994).** Manuel du Préparateur en pharmacie l'usage des élèves préparateurs et étudiants stagiaires en pharmacie, Edition : Masson, pp 1-20.
- Leszczynska D., (2007).** Management de l'innovation dans l'industrie aromatique: Cas des PME de la région de Grasse. Editions l'Harmattan, Paris, France.
- Liang N et Kitts D D., (2014).** Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*, 19(11): p. 19180- 19208.
- Macheix, J J., Fleuriet A et Jay-Allemand C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne. 192 p.
- Madhavi D., Deshpande S et Salunkhe D K., (1995).** Food antioxidants: Technological:Toxicological and health perspectives : CRC Press.
- Mahboubi M et Haghi G., (2008).** Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(2), 325–327.
- Mallappa K S., Akhtar M S et Sunnial U R ., (2016).** Antimicrobial Properties of plant essential oils against Humain Pathogènes and Their Mode of Action : An Updated Review, Hindawi Publishing Corporation, 2016, 21 pages.
- Marzoukia H., Elaissib A., Khaldic A., Bouzidd S., Falconerie D., Marongiu B., Pirasa A et Porcedda S., (2009).** Seasonal and geographical variation of *Laurus nobilis* L. essential oil from Tunisia. *The Open Natural Products Journal*, Vol. 2, p. 86-91.
- Meftah T et A N N., (2003).** Programme UICN - Cosmétologie au naturel : cosmétologie au naturel; Alger.
- Messkgue M., (1975).** Mon herbier de sante, Edition Robert Laffont S.A., Paris, pp 1-50.
- Mirunalini S et krishnaveni M., (2011).** Coumarin: A Plant derived Polyphenol with wide

Références bibliographiques

Biomedical Applications. International Journal of Pharm Tech Research. 3(3): 1693-1696 p.

Mohammedi Z., (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de doctorat, Faculté des sciences Tlemcen.

Mohammad J S., Marjan M., Kamiar Z., Keyvan P., Ramin M. et Kimia H., (2012). Chemical composition, antifungal and antibiofilm activity of the essential oil of *Mentha piperata* L. International Scholarly Research Network Pharmaceutics. P.1-6.

Molyneux P., (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Sciences Technology .Vol 26 (2) : 211-219.

Morigane., (2007). Grimoire des Plantes. polytechnique de toulouse, 22-38.

Moukhfi F., Dakir M., Nait Irahah I., Bouchama C., Outlioua A., Errachidi F., Chadli N., (2021). Antibacterial Activity of *Rosmarinus officinalis* and *Lavandula angustifolia* Essential Oils Against Selected Poultry Pathogenic Bacteria.

Murray P R., Baron E J., Ptaller M A., Tenover F C et Yolke R H., (1995). Manual of Clinical microbiology 6th Edit ASM Washington.

Muylaert A., Mainil J G., (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité » . Ann. Méd. Vét., 2012, 156, 109- 123.

Nait Irahah I., Lahlou F Z., Hmimid F., Errami A., Guenaou I., Diawara I., Kettani-Halabi M., Fahde S., Ouafik H et Bourhim N., (2021). Identification of the chemical composition of six essential oils with mass spectroscopy and evaluation of their antibacterial and antioxidant potential, Flavour Fragr J.

Nanasombat S et Wimuttigol P., (2011). Antimicrobial and antioxidant activity of spice essential oils. Food Science and Biotechnology, . 20(1): p. 45-53.

OMS (2002). Stratégie de l'OMS pour la Médecine Traditionnelle pour 2002-2005. 65 p.

Osman Y B., Mahmoud M A., Mohamed I G., Ahmed S K., (2017). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Mentha viridis*. Biochemistry and Molecular Biology. Vol. 2, No. 5, pp. 60-66.

Ou B., Hampsch-Woodill M et Prior R L., (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. Journal of Agricultural and Food Chemistry. (49): 4619-4626.

Padua L S et Bunyapraphatsara N., (1999). R.H.M.J. Lemmens, Plant Resources of South-East Asia, 12.

Références bibliographiques

- Pankey G A et Sabat L D., (2004).** Pertinence clinique des mécanismes d'action bactériostatiques versus bactéricides dans le traitement des infections bactériennes à Gram positif. *Maladies infectieuses cliniques*, 38, 864-870.
- Paris M et Hurabielle., (1981).** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris. 102 p.
- Peanaa AT., D'Aquila P S., Chessaa L., Morettia M D L., Serraa G et Pippia P (2002).** Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. , 9(8), 721–726.
- Perruci S., Mancianti F., Cioni P L., Famini G., Morelli I et Macchioni G., (1994).** In vitro antifungal activity of essential oils against some isolates of *Microsporum canis* and *Microsporum gypseum* . *Planta Med* ; 60: 184-187.
- Ponce A G., Fritz R., del Valle C E et Roura S I., (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 36: 679–684.
- Popovici C., Saykova I et Tylkowsk B., (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, 4, 25-39.
- Prieto P., Pineda M et Aguilar M., (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem.* (269): 337-341.
- Rauha J P., Remes S et Heinonen M., (2000).** Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *Int J Food Microbiol* 56:3–1244.
- Riahi L., Elferchichi M., Ghazghazi H., Jebali J et Ziadi S., (2013).** Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia. *Ind. Crops Prod.*, 49 : 883-889.
- Richard H et Peyron F., 1(1992).** Epices et aromates, Ed .Tec & Doc-Lavoisier, Paris, p. 339.
- Ruberto G et Baratta M., (2000).** Antioxydant activity of selected oil component in two lipid model system, *Food chemistry*, (69), 167-174p.
- Süleyman K., Hasini N, Tolan V. Kiliç E et Yüksel U., (2010).** Mineral content, essential oil components and biological activity of two *Mentha* species (*M. piperata* L., *M. spicata* L.). *Turkish Journal of Field Crops*, 15(2)/148-153.
- Snoussi M., Noumi E., Trabelsi N., Flamini G., Papetti A et De Feo V., (2015).** *Molecules* 20(8) 14402.
- Soković M D., Vukojević J., Marin P D., Brkić D D., Vajs V., Van Griensven L J., (2009).** *Molecules* 14(1) 238.

Références bibliographiques

- Sotti M L et Beffa M T D., (1989).** Le piante aromatiche. Tutte le specie più diffuse in Italia, Milano, Editoriale Giorgio Mondadori. ISBN 88-374-1057-3.
- Shon M Y., Kim T H et Sung N J (2003).** Antioxydants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (Phellinus of Hymenochaetaceae) extracts. Food Chemistry. 82 : 593-597.
- Singleton L et Rossi A., (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Technology and Viticulture. (16) : 144-153.
- Santoyo S., Cavero S et Jaime L.,(2005).** Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. J Food Prot 68:790–5.
- Satyajit D., Sarker., LutfunNahar et Yashodharam Kumarasamy (2007).** Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth. and its application in the in vitro antibacteriel screening of phytochemicals. ELSEVIER.
- Sharafi S M., Rasooli I., Owlia P., Taghizadeh M et Astaneh S A., (2010).** Protective effects of bioactive phytochemicals from *Mentha piperita* with multiple health potentials. Pharmacogn. Mag., 6 : 147-153.
- Silano V et Delbò M., (2008).** Assessment report on *Foeniculum vulgare* Miller, EMEA, European Medicines Agency, London, p. 23.
- Souri E., Amin G., Rarsam H., Jalalizadeh H et Barezi S., (2008).** Screening of thirteen medicinal plant extracts for antioxidant activity. Iran. J. Pharm. Res., 7 : 149-154.
- Stratakos A C et Koidis A., (2016).** Methods for Extracting Essential Oils. In Essential oils in Food Preservation. Flavor and Safety (31-38). UK: Elsevier.
- Sylvain S., (2010).** Étude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de corse et de kumquats. Thèse de doctorat, université de Corse Pascal Paoli.
- Sylvie C., (2009).** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. Figure Sélection de souches . Pharmactuel 42:6-21.
- Taskova R., Mitova M., Evstatieva L., Ancev M., Peev D., Handjieva N., Bankova V et Popov S., (1997).** Iridoids, flavonoids and terpenoids as taxonomic markers in Lamiaceae, Scrophulariaceae and Rubiaceae. Bocconea. 5, 631-636.
- Tepe B., Sokmen M., Akpulat H A., Daferera D., Polissiou M et Sokmen A., (2005).** Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*. Journal of Food Engineering, 66(4): p. 447-454.
- Telci I., Demirtas I., Bayram E., Arabaci O et Kacar O., (2010).** Ind. Crops Prod. 32(3) 588.
- Teuscher Anton R et Lobstein A., (2005).** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Technique et documentation, Edition Lavoisier, Paris.

Références bibliographiques

Tyagi A K et Malik A., (2011). Antimicrobial potential and chemical composition of Mentha piperita oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. Food Control, 22(11), 1707–1714.

Velasco V et Williams P., (2011). Chil. J. Agric. Res. 71, 313.

Veyssiere A., (2019). La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaire. Thèse de doctorat. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bordeaux. 105p.

Wang Z., Ding L., Li T., Zhou X., Wang L., Zhang H., et He H., (2006). Improved solvent-free microwave extraction of essential oil from dried Cuminum cyminum L. And Zanthoxylum bungeanum Maxim. Journal of Chromatography A, 1102(1), 11-17.

Weihui D., Ke L., Shan C., Jingyu., Balian Z et Jiong C.,(2020). Chemical Composition, Antimicrobial, Antioxidant, and Antiproliferative Properties of Grapefruit Essential Oil Prepared by Molecular Distillation. National Navel Orange Engineering Research Center. College of Life Sciences. Gannan Normal University. Ganzhou 341000. China.

Wichtl M et Anton R., (2003). Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2^é Ed, EMInter/Tec & Doc, Paris 369-73 p.

Yvan T., (1997). Pharmacologie 8^{ème} Edit. Masson. Paris-Milan-Barcelone ; 388 p.

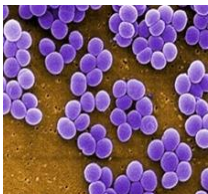

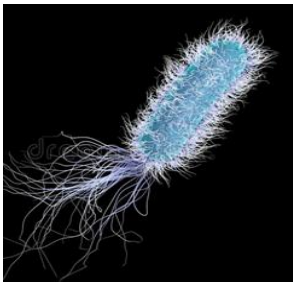

Zhang Y., (2007). Mechanisms of Antibiotic Resistance in the Microbial World . Baltimore, USA

Zoran Z., Zika L., Slavica M., Dusan A., et Hibrihim M., (2009). Supercritical CO₂ extraction of (Mentha piperata L.) at different solvent densities. J. Serb. Chem. Soc., 74(4):417-425.

Zybak O., (2000). FICHE TECHNIQUE Huile Essentielle menthe poivree Mentha Piperita.

Annexes

Annexe 1 : Classification et description des souches étudiées

Espèce microbienne	Classification	Caractère biologique
<p>Staphylococcus aureus</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • D : Bacteria • E : Firmicutes • C : Bacilli • : Bacillales • F : Staphylococcaceae • G : <i>Staphylococcus</i> • Espèce : <i>Staphylococcus aureus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • A Gram positif • Coque en amas, immobile • Aérobie facultatif • Catalase+, oxydase- • ne sporule pas • Colonisé les Muqueuses et peau
<p>Escherichia coli</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • D : Bacteria • E : Proteobacteria • C : Gammaproteobacteria • O : Enterobacteriales • F : Enterobacteriaceae • G : <i>Escherichia</i> • Espèce : <i>Escherichia coli</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • A Gram négatif • Bacille mobile • Aérobie facultatif • Lactase+, oxydase- • non sporulé • Colonisée tube digestif
<p>Pseudomonas aeruginosa</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • D : Bacteria • E : Proteobacteria • C : Gammaproteobacteria • O : Pseudomonadales • F : Pseudomonadaceae • G : <i>Pseudomonas</i> • Espèce : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • A Gram négatif • Bacille mobile • Aérobie • Non sporulé • Morphotypes
<p>Pasteurella multocida</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • D : Bacteria • E : Proteobacteria • C : Gammaproteobacteria • O : Pasteurellales • F : Pasteurellaceae • G : <i>Pasteurella</i> • Espèce : <i>Pasteurella multocida</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • A Gram négatif • bacilles immobile • Aéro-anaérobie facultatif • catalase et oxydase positives. • commensales ou pathogènes opportunistes

Annexe 2 : Compositions et préparations des milieux de culture

Compositions :

- **Bouillon nutritif :**

Composition	Quantité
Peptone	5g
Extrait de viande	20g
Chlorure de sodium	12g

- **Bouillon Muller- Hinton :**

Composition	Quantité
Extrait de viande	2g
Hydrolysat acide	17,5g
Amidon	1,5g
Gélose	10g

Préparations :

Bouillon nutritif :

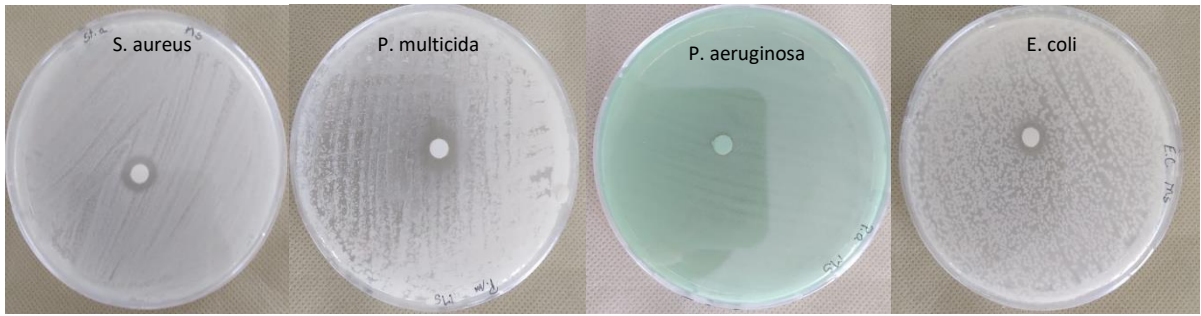
- Dissoudre 20g de la poudre de milieu de culture dans un litre d'eau distillé jusqu'à dissolution complète.
- Stérilisation à 120°C pendant 30min.

Bouillon Muller Hinton :

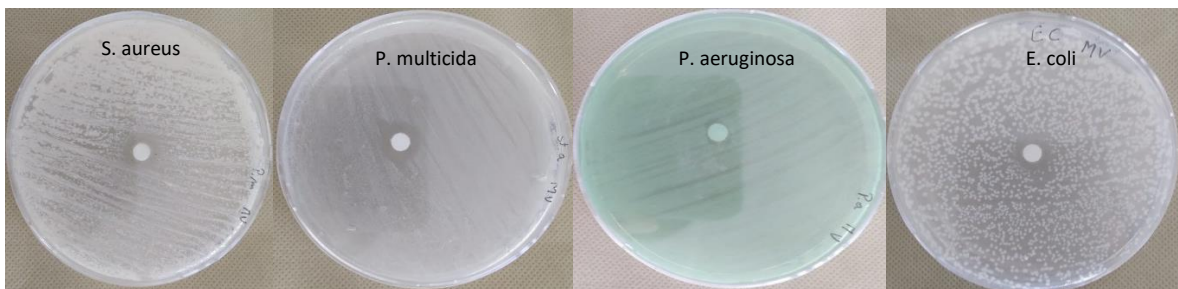
- Dissoudre 20g de la poudre du milieu de culture dans un litre d'eau distillée jusqu'à dissolution complète.
- Stérilisation à 120°C pendant 30min.

Annexe 3 : Aromatogramme

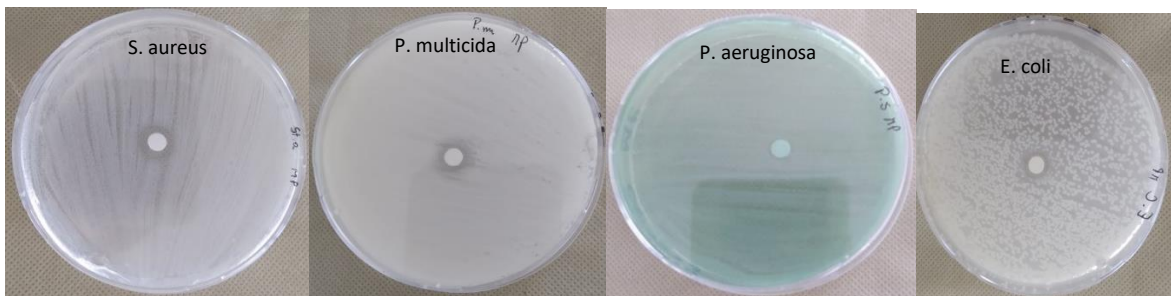
Antibiogramme de *Mentha pulegium*



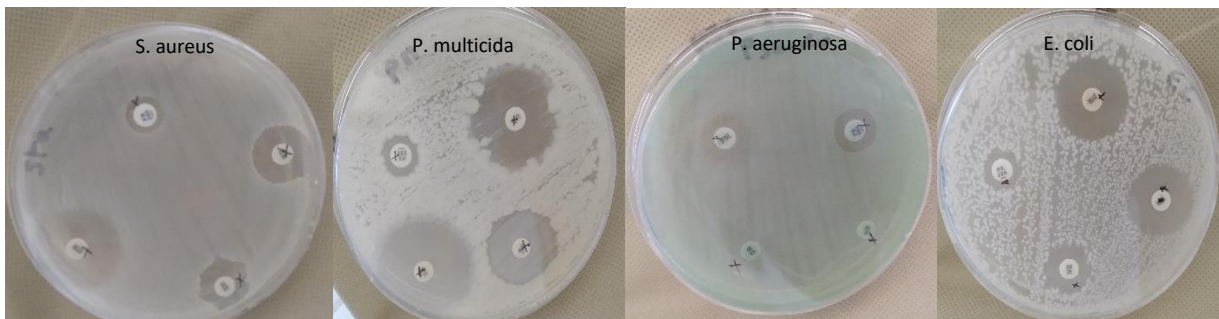
Antibiogramme de *Mentha spicata* :



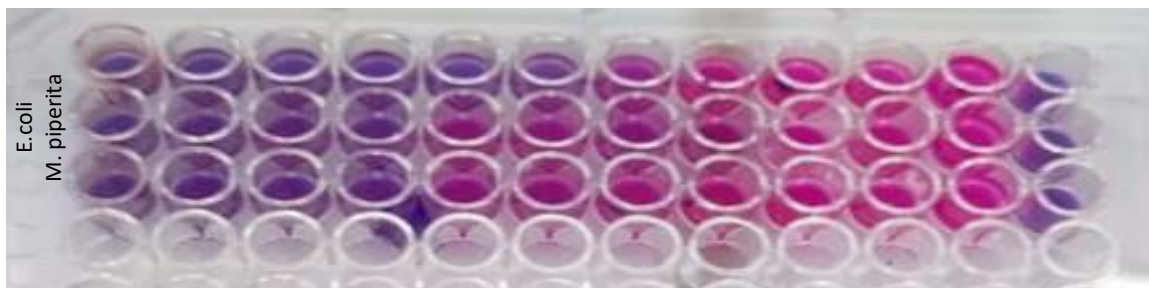
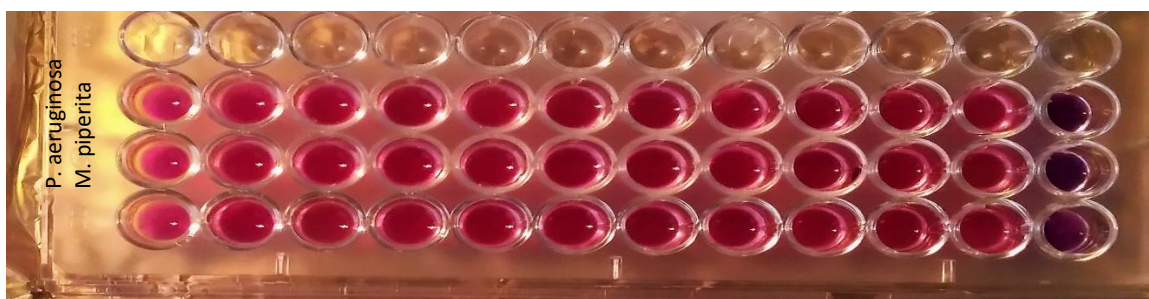
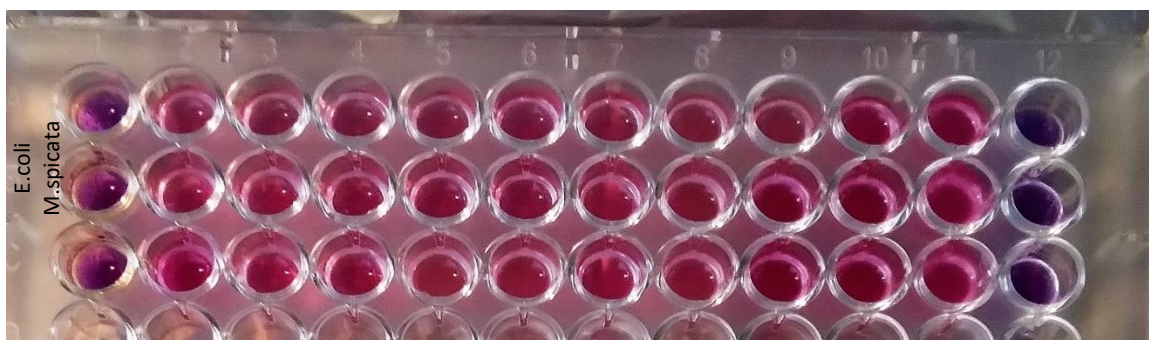
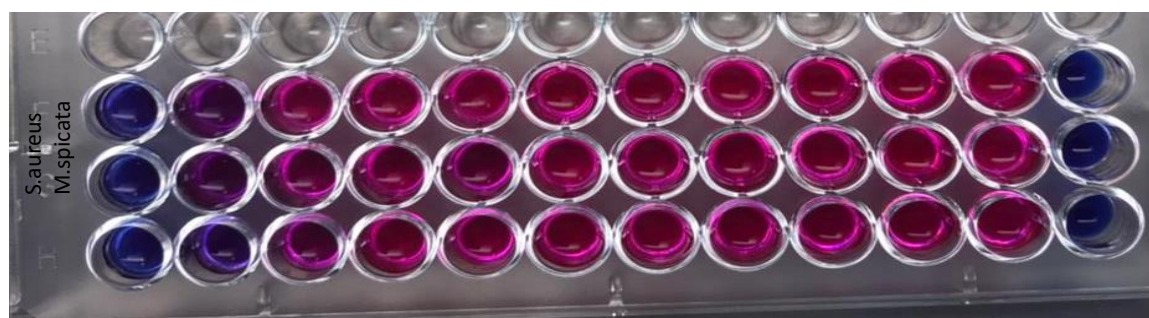
Antibiogramme de *Mentha piperita* :



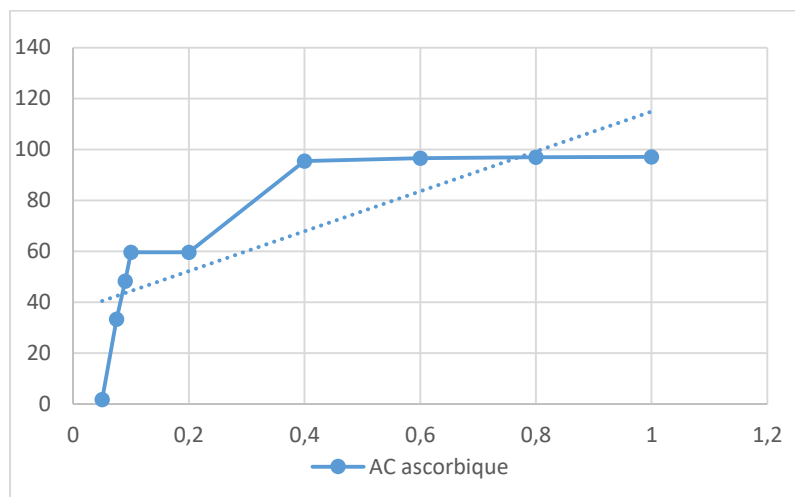
Aromatogramme de quatre antibiotiques sur quatre souches bactériennes :



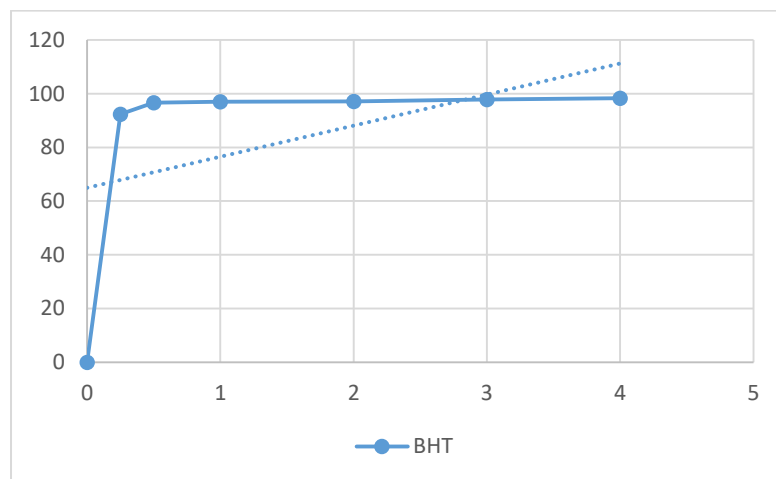
Annexe 4 : Microdillution sur microplaques



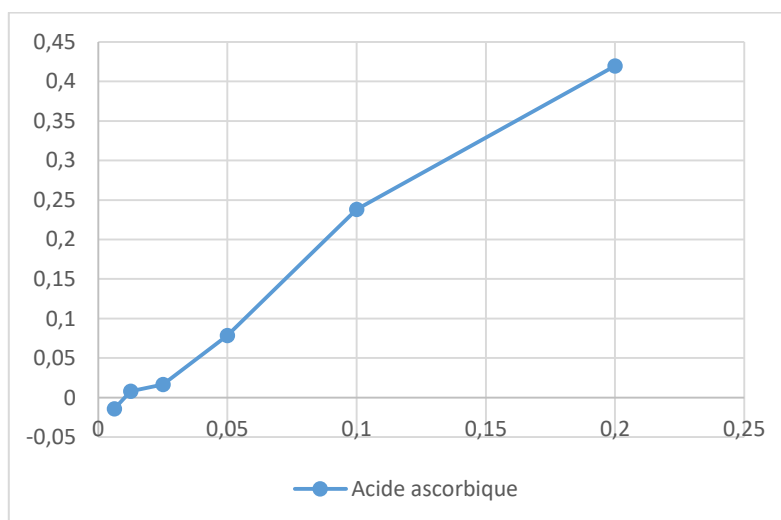
Annexe 5 : Courbe d'étalonnage des contrôles



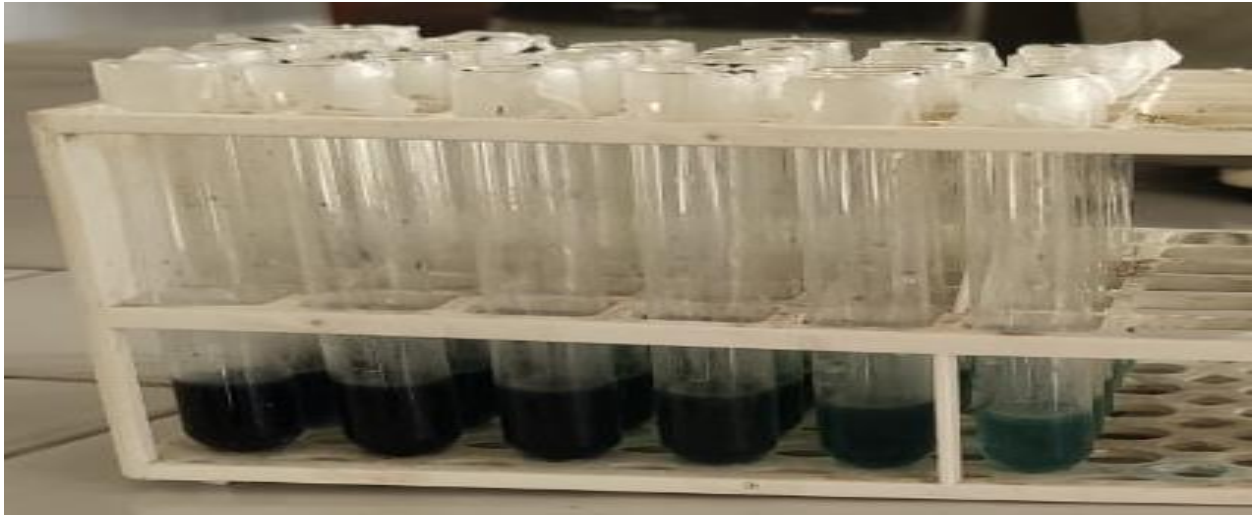
Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Test de DPPH)



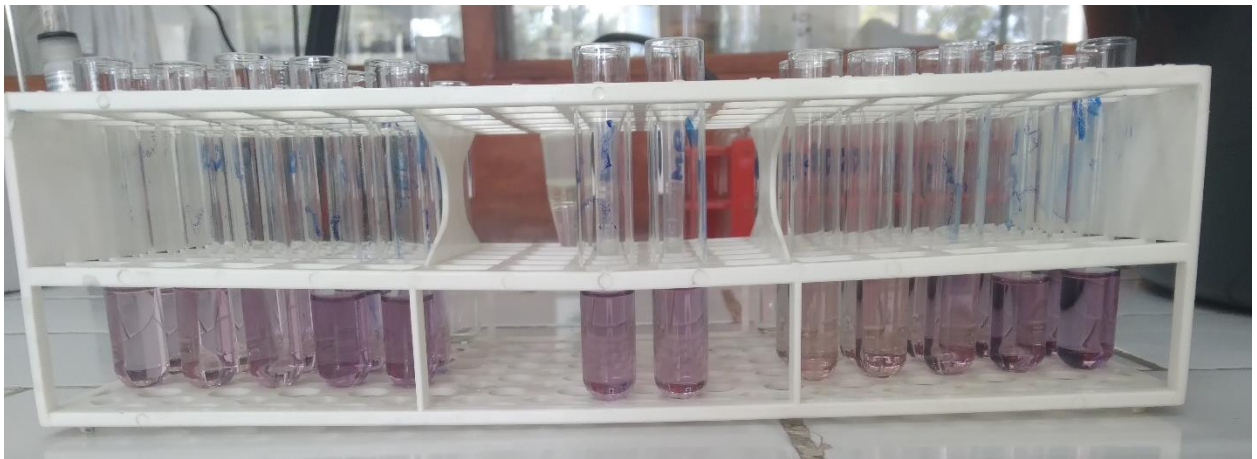
Courbe d'étalonnage de BHT (test de la β -carotène)



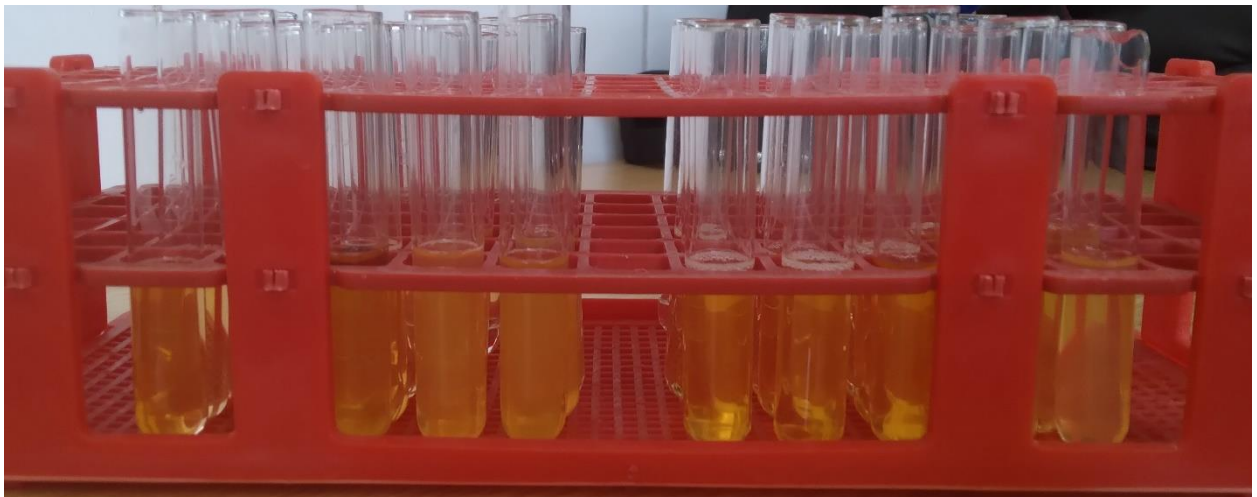
Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (test de phosphomolybdate)



Annexe 6 : Test de phosphomolybdate



Annexe 7 : Test de PDDH



Annexe 8 : Test de blanchissement de la β -carotène