

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Réf :.....

Centre Universitaire Abd Elhafid Boussouf- Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de
Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Biologie Appliquée et Environnement

Option: Biotechnologie Végétale et amélioration des plantes

Thème

**Effet de quelques substances actives de
Mentha spicata L. sur l'activité biologique**

Préparé par :

- Belaidi djihad
- Gaassis amina

Soutenue devant le jury:

- Présidente: M ^{elle} Bouassaba K.	Maitre-assistant A	Centre Universitaire de Mila
- Examinatrice: M ^{me} Himour S.	Maitre-assistant A	Centre Universitaire de Mila
- Promoteur: Mr Yahia A.	Professeur	Centre Universitaire de Mila

Universitaire: 2016/2017

كَلِمَاتٌ

اللهم لا تجعلنا نُصاب بالفروور إذا نجحنا، ولا باليأس إذا فشلنا

وذكرنا دائما أن الفشل هو التجربة التي تسبق النجاح.

اللهم إذا أعطيتنا نجاحا فلا تأخذ تواضعنا، وإذا أعطيتنا تواضعا فلا

تأخذ اعتزازنا بكرامتنا.

اللهم اجعل ما علمتنا شفيعا لنا يوم لا ينفع مال ولا بنون، واجعلنا من

الذين إذا أعطوا شكروا وإذا أذنبوا استغفروا.

آمين

Remerciement

Avant tous nous remercions le bon Dieu de tout puissant de nous avoir donné le courage et de nous avoir guidés pour pouvoir mener à bien ce modeste travail.



Nous tenons à présenter notre gratitude et nos vifs remerciements à notre encadreur et la professeure **Yahia Abdelouahab** pour leur orientation et précieux conseils tout au long de cette année.

Nous remercions aussi les membres du jury pour leur obligeance en examinant ce travail:

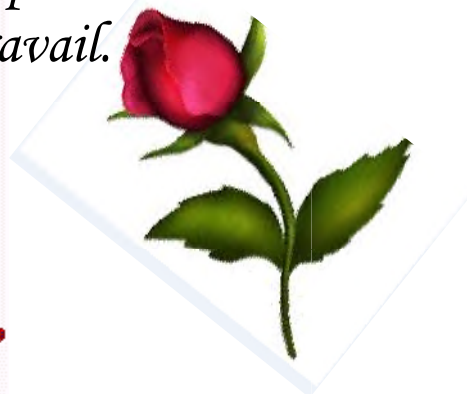
M^{me} Himour Sara : L'examinatrice du jury

M^{lle} Bouassaba Karima : Présidente

Nous remercions également tous nos enseignants, nos collègues et les administrateurs du département des Sciences de la Nature et de la Vie.

Nous ajoutons des remerciements à tous les techniciens des laboratoires de centre universitaire de Mila.

Nos remerciements vont également à tous ceux qui ont Contribué de loin ou de près réalisation De ce travail.



Amina et Djihad



Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*À mes Parents Pour leur amour et leur soutien
Affectif tout le long de mes études*

À mes chers sœurs...

À mes chers frères...

À mon fiancé

À toute ma famille...

À tous mes amis...

À tous mes Enseignants...

À tous mes collègues...



Djihad



Dédicace

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail :

À l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de Ma vie

J'ai pu réaliser ce travail que je dédie

À ceux qui mon donné la vie

"Papa et Mama "

Qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout a

Long de mes études.

À Ma cher grande mère « khadija »

À mes chers sœurs : Wahiba, Romaiissa

À mes chers frères : Hicham, Salim, Mohamed

À Tous mes proches

À Tous Mes chers amis et collègues

À tous mes enseignants depuis le primaire Jusqu' l'université

À tous ceux qui m'aime



Amina

Liste des figures

Figure 01: Aire de répartitions de la menthe par le monde.....	04
Figure 02: Aspect morphologique de <i>M. pulegium</i> L.....	05
Figure 03: Aspect morphologique de <i>M. aquatica</i> L.....	05
Figure 04: Aspect morphologique de <i>M. spicata</i> L.....	06
Figure 05: Aspect morphologique de <i>M. piperita</i> L.....	07
Figure 06 : Différents organes de <i>M. spicata</i> L.....	08
Figure 07 : Structure de quelques alcaloïdes.....	12
Figure 08: Structure chimique de certains monoterpènes.....	13
Figure 09: Structure chimique de certains composés aromatiques.....	13
Figure 10: Structure de la molécule d'isoprène.....	14
Figure 11: Structure de noyau stéroïde.....	15
Figure 12: Acide benzoïque.....	16
Figure 13: Acide cinamique.....	16
Figure 14: Structure de base des flavonoïdes.....	17
Figure 15: Structure de tanins condensée.....	17
Figure 16: Structure des tanins hydrolysables.....	18
Figure 17: Structure d'une molécule de coumarine.....	18
Figure 18: Structures chimiques de lignine.....	19
Figure 19: Structure des saponines.....	20
Figure 20: Différentes formes des bactéries.....	22
Figure 21: Protocole d'extraction des poly-phénols.....	29
Figure 22: Préparation des dilutions.....	32

Liste des photos

Photo 01 : Milieu de culture Muller-Hinton (MH).....	30
Photo 02 : (A) poudre de BN; (B) solution de BN.....	31
Photo 03 : Incubation des bactéries dans le milieu BN.....	33
Photo 04 : Etape de repiquage des bactéries dans les boîte de pétrie.....	33
Photo 05 : Coulage de gélose.....	34
Photo 06 : Ensemencement des bactéries.....	34
Photo 07 : Technique de disposition des disques.....	35
Photo 08 : Résultat de test des saponines.....	37
Photo 09 : Résultat de test des flavonoïdes.....	38
Photo 10 : Résultat de test des flavonoïdes libre.....	39
Photo 11 : Résultat de test des flavonoïdes glucosidique.....	39
Photo 12 : Résultats de test des cardinolides.....	40
Photo 13 : Résultats de test des tanins.....	40
Photo 14 : Résultat de test de sucre réducteur.....	41
Photo 15 : Résultat de test de kitose.....	41
Photo 16 : Résultat de test des alcaloïdes.....	42
Photo 17 : Résultat de test des huiles essentielles.....	43
Photo 18 : Résultats de test des Stéroïdes et triterpènes.....	43
Photo 19 : Résultats de test des dérivés Stéroïdes et triterpènes.....	44
Photo 20 : Exemple sur l'action inhibitrice des extraits éthanoliques (1) des feuilles et des tiges de <i>M. spicata</i> sur les souches de <i>S .aureus</i> et <i>E. coli</i>	47
Photo 21 : Exemple sur l'action inhibitrice des extraits éthanoliques (2) des feuilles et des tiges de <i>M. spicata</i> sur les souches de <i>S .aureus</i> et <i>E. coli</i>	49
Photo 22 : Exemple sur l'action inhibitrice des extraits aqueux (01+02) des feuilles et des tiges de <i>M. spicata</i> sur les souches de <i>S .aureus</i> et <i>E. coli</i>	50

Liste des tableaux

Tableau I: Classification de <i>Mentha spicata</i> L.....	07
Tableau II: Différents classes de terpenoïdes avec quelques exemples.....	14
Tableau III: Screening phytochimique des métabolites secondaires de <i>M. spicata</i> L.....	36
Tableau IV: Activité antibactérienne des extraits éthanoliques (01) de <i>M. spicata</i> L.....	45
Tableau V: Activité antibactérienne des extraits éthanoliques (02) de <i>M. spicata</i> L.....	47
Tableau VI: Activité antibactérienne des extraits aqueux (01+02) de <i>M. spicata</i> L.....	49

Liste des abréviations

BN: Bouillon nutritif

°C: Degré Celsius.

CE : Commission Européenne

cm : Centimètre

D: Dalton

E. coli: *Escherichia coli*

F: Feuilles

FeCl₃: Chlorure de fer

g: Gramme.

h: Heure

HCl: Acide hydrochlorique.

H₂SO₄ : Acide sulfurique

I: Iode

KI: Iodure de potassium

KOH: Hydroxyde de potassium

M: *Mentha*

mg: Milligramme.

Mg: Magnésiums

MH: Mueller Hinton

min: Minutes

ml: Millilitre

mm: Millimètre

NH₄OH: Hydroxyde d'ammonium.

pH: Potentiel d'hydrogène

R: Racines

S.aureus: *Staphylococcus aureus*

S. typhi : *Salmonella typhi*.

T: Tiges

TEP: The Egyptian pharmacopeia

1/8 : Dilution de 12,5%

1/4 : Dilution de 25%

1/2: Dilution de 50%

% : Pourcentage.

SOMMAIRE

Remerciement

Dédicace

Liste des figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale

Premier partie : Etude bibliographique

Chapitre I: Etude botanique

I.1. Plantes médicinales et aromatiques.....	02
I.1.1. Généralité.....	02
I.1.2. Définition des plantes médicinales.....	02
I.1.3. Définition des plantes aromatiques.....	02
I.2. Famille de lamiacée.....	03
I.2.1. Généralités sur la famille.....	03
I.2.2. Principes caractères de la famille.....	03
I.3. Genre de <i>Mentha</i>	03
I.3.1. <i>Mentha pulegium</i> L.....	04
I.3.2. <i>Mentha aquatica</i> L.....	05
I.3.3. <i>Mentha spicata</i> L.....	06
I.3.4. <i>Mentha piperita</i> L.....	06
I.4. Espèce <i>Mentha spicata</i> L. (<i>Mentha viridis</i> L.).....	07
I.4.1. Classification.....	07
I.4.2. Description botanique.....	08
I.4.3. Parties utilisables.....	08
I.4.4. Composition chimique.....	09

I.4.5. Importance médicinal et économique.....	09
--	----

Chapitre II : Métabolismes secondaires chez les plantes

II.1. Définition des Métabolites secondaires.....	10
II.2. Rappel sur quelque Métabolites secondaires.....	10
II.2.1. Glucosides	10
II.2.2. Alcaloïdes.....	11
II.2.3. Huiles essentielles.....	12
II.2.4. Terpènes et stéroïdes.....	13
II.2.5. Composés phénoliques.....	15
II.2.5.1. Acides phénoliques.....	15
II.2.5.2. Flavonoïdes.....	16
II.2.5.3. Tanins	17
II.2.5.4. Coumarines.....	18
II.2.5.5. Lignines.....	19
II.2.5.6. Saponosides.....	19

Chapitre III: Activité biologique

III.1. Activité antimicrobienne.....	21
III.1.1. Généralité sur les bactéries.....	21
III.1.2. Classification des bactéries.....	22
III.1.3. Agents antimicrobiens.....	22
III.1.4. Mécanismes d'action des agents antimicrobiens.....	22
III.1.5. Activités antimicrobiennes des poly-phénols	23
III.1.6. Donnée sur les Souches bactériennes utilisé	23
III.1.6.1. <i>Escherichia coli</i>	23
III.1.6.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	24

Deuxième partie : Etude expérimental

Chapitre I: Matériels et méthodes

I. Matériels et méthodes.....	25
I.1. Matériel végétal.....	25
I.1.1. Collecte des échantillons.....	25
I.1.2. Séchage.....	25
I.1.3. Broyage.....	25
I.2. Screening phytochimique.....	25
I.2.1. Test des saponosides.....	25
I.2.2. Test des flavonoïdes.....	26
I.2.3. Test des cardinolides.....	26
I.2.4. Test des tanins.....	27
I.2.5. Test des glucosides.....	27
I.2.6. Test des alcaloïdes.....	27
I.2.7. Test des huiles essentielles.....	28
I.2.8. Test des stéroïdes et triterpènes.....	28
I.3. Activité antibactérienne.....	28
I.3.1. Extraction des composés phénoliques.....	28
I.3.2. Matériels du test de l'activité antibactérienne.....	30
I.3.2.1. Origine et choix Les souches bactériennes.....	30
I.3.2.2. Préparation de milieu de culture.....	30
I.3.2.3. Préparation des disques.....	31
I.3.2.4. Stérilisation du matériel.....	31
I.3.2.5. Préparation des dilutions des extraits.....	31
I.3.3. Principe et mode d'opération.....	32

Chapitre II: Résultats et discussion

II. Résultats et discussion.....	36
II.1. Résultats de screening phytochimique de <i>Mentha spicata</i> L.....	36

II.1.1. Saponines.....	37
II.1.2. Flavonoïdes.....	38
II.1.3. Cardinolides.....	39
II.1.4. Tanins.....	40
II.1.5. Glucosides.....	41
II.1.6. Alcaloïdes.....	42
II.1.7. Huiles essentielles.....	42
II.1.8. Stéroïdes et triterpènes.....	43
II.2. Résultats de l'activité antibactérienne de <i>M. spicata</i>	44

Conclusion

Références

Annexe

Résumé



Introduction

Général

Introduction générale

Les plantes médicinales sont utilisées depuis longtemps comme remède contre plusieurs maladies, elles constituent une source naturelle de molécules chimiques telles que les métabolites secondaires. Ces molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie.

Environ 35 000 espèces des plantes sont employées dans le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains (Elqaj *et al.*, 2007). L'Afrique dispose d'une diversité importante des plantes médicinales, qui constituent des ressources précieuses pour la grande majorité des populations rurales, où plus de 80% de cette population s'en sert pour leurs besoins de santé (Dibong *et al.*, 2011).

L'Algérie, pays connu par ces ressources naturelles, on compte environ 3000 espèces des plantes dont 5% endémique, appartenant à plusieurs familles botaniques (Ozenda, 1977). Elle possède une richesse floristique considérable, ce potentiel des plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêt et constituent un axe de recherche scientifique et plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles (Delille, 2007). Parmi cette végétation, on trouve les plantes aromatiques utilisées pour l'aromatisation des aliments, les arts culinaires et les vertus médicinales.

La menthe vert (*Mentha spicata* L.) est une plante médicinale et aromatiques, appartenant à la famille de lamiacée, est largement répandue dans le monde, elle utilise en médecine traditionnelle parce qu'elle très riche en poly-phénols surtout les huiles essentielles, qui avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle des molécules naturelles bioactives.

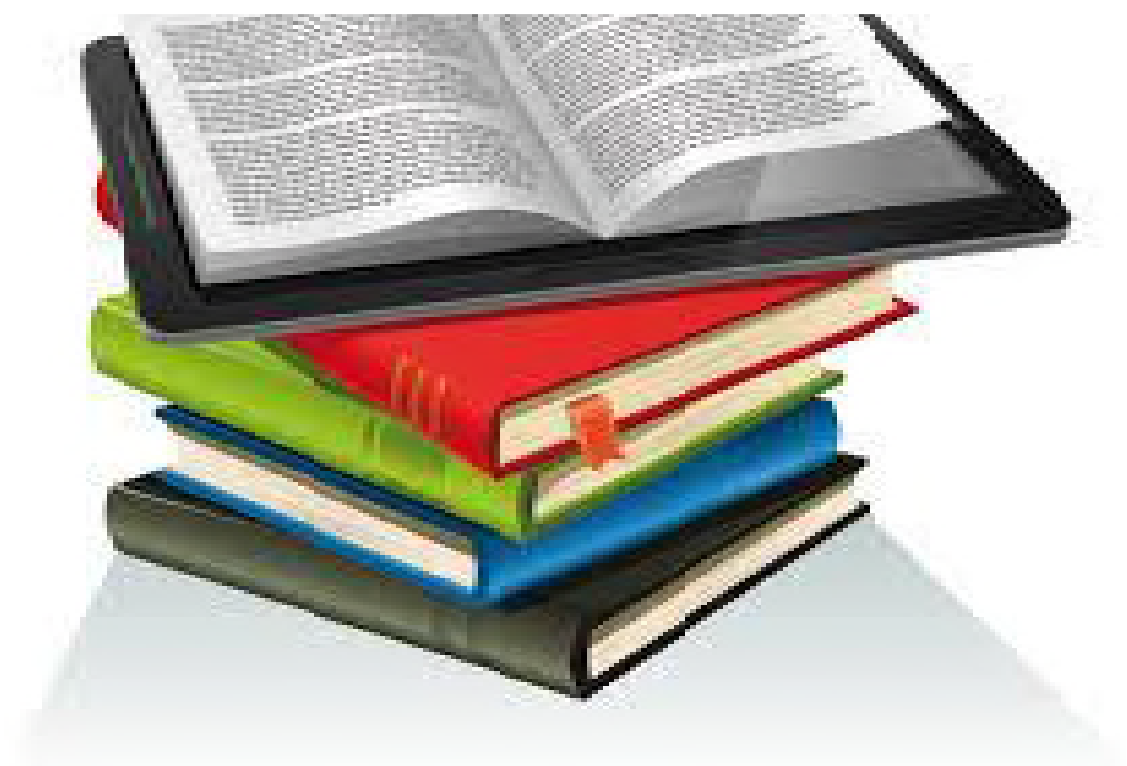
L'objectif de ce travail est de déterminer les métabolites secondaires les plus répandues d'espèce *Mentha spicata* L. et l'évaluation de l'activité antimicrobienne, des composés phénoliques des extraits (éthanol et aqueux) de cette plante, sur les souches *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Notre travail est subdivisé en deux parties:

- ❖ La première partie comporte la synthèse bibliographique, elle contient trois Chapitre:
 - Etude botanique.
 - Métabolismes secondaires chez les plantes.
 - Activité biologique.
- ❖ La deuxième partie comporte l'étude expérimentale, contient deux chapitres:
 - Matériels et méthodes: on a réalisé l'étude phytochimique et l'activité antibactérienne de *Mentha spicata* L.
 - Résultats et discussion: qui contient les résultats obtenus et les discussions.

On à terminer par une conclusion qui à résumé notre travaille.

Premier partie

Etude bibliographique





Chapitre I

Etude botanique

I.1. Plantes médicinales et aromatiques

I.1.1. Généralité

Les plantes médicinales et aromatiques constituent une source inépuisable de substances biologiquement actives. Dans la majorité des pays du sud, ces plantes constituent une composante fondamentale dans les secteurs de santé et d'agro-alimentaire. L'obtention de phyto-médicaments a été orientée vers le développement de la recherche sur les plantes médicinales (**Chikhouné, 2007**).

Ces derniers utilisés par l'homme depuis près de 7 000 ans dans un but thérapeutique. Environ 35 000 espèces de plantes sont employées à l'échelle mondiale à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains (**Hordé, 2014**). Malgré l'influence du développement de la médecine moderne, les plantes médicinales continuent de jouer un rôle important dans les remèdes (**Elqaj et al., 2007**), par exemple: l'ail, le gingembre, la menthe, le thym, la sauge, le fenugrec, et l'origan sont utilisés comme antiseptiques, anti-inflammatoires, antiparasitaires et pour la stimulation de la digestion et le traitement de plusieurs maladies gastro-intestinales (**Tipu et al., 2006; Viegi et al., 2003**).

Grâce à la richesse en molécules actives, les plantes médicinales jouent un rôle multiple mis à profit dans l'industrie, l'alimentation, la cosmétologie et en dermatopharmacie. Parmi ces molécules, on retrouve, coumarines, alcaloïdes, acides phénoliques, tanins, lignanes, terpènes et flavonoïdes etc... (**Bahorun, 1997**).

I.1.2. Définition des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des plantes qui renferment des propriétés particulières bénéfiques, utilisées pour conserver la santé humaine (**Dutertre, 2011**), et possèdent au moins une partie constituée de substances médicamenteuses (**Omar et Hikal, 1993**).

I.1.3. Définition des plantes aromatiques

Les plantes aromatiques sont des plantes qui contiennent des huiles essentielles à forte odeur, et utilisées dans les domaines thérapeutiques comme le jasmin, la menthe, l'origan et le thym...etc. (**Latrach, 2011**).

I.2. Famille de lamiacée

I.2.1. Généralités sur la famille

La famille de Lamiacée (labiées) signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres (Naghibi *et al.*, 2005; Couplan, 2000), Cette famille comprend environ 6970 espèces, réparties en 240 genres (Meyer *et al.*, 2004), plus ou moins cosmopolites, mais dont la plupart se concentrent dans le bassin méditerranéen, tel que le thym, la lavande et le romarin (Botineau, 2010). Elle est plus utilisée comme source mondiale d'épices et d'extrait à fort pouvoir antimicrobien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant (Gherman *et al.*, 2000, Hilan *et al.*, 2006). Cette famille est divisée à deux principales sous-familles: les Stachyoideae et les Ocimoideae.

I.2.2. Principes caractères de la famille

Selon Quezel et Santa (1963) Cette famille est caractérisée par:

- ❖ Les labiées sont des arbustes, sous arbrisseaux, ou plante herbacées en générale odorantes, à tige quadrangulaires, feuilles en général opposées sans stipules.
- ❖ Fleurs pentamères en générale hermaphrodites.
- ❖ Calice à cinq divisions.
- ❖ Corolle en générale bilabiée longuement tubuleuse parfois à 4-5 lobes subégaux ou à une seule lèvre, lèvre inférieure trilobée, la supérieure bilobée.
- ❖ quatre étamines dont deux plus longues.
- ❖ Ovaire super à carpelles originellement bi-ovulés, ensuite uniovulés par la constitution d'une fausse cloison.

I.3. Genre de *Mentha*

La Menthe, du nom latin *Mentha*, dépendant à la famille de Lamiaceae ou Labiaceae, formée de près de 3500 espèces réparties sur 8 sous-familles (Bruneton, 1993). Près de la moitié (47 %) des Lamiaceae sont regroupées dans la sous-famille des Nepetoideae. Au sein de la sous-famille des Nepetoideae, le genre *Mentha* est représenté par 18 espèces et environ 11 hybrides (Tucker et Naczi, 2007).

La menthe est une plante herbacée vivace, dicotylédone et gamétopétale, susceptible de se reproduire par des rhizomes, par marcottage ou par bouturage. Elle apprécie les

situations fraîches, moyennement éclairées, des sols riches en éléments nutritifs, affectionnant un pH plutôt neutre (**Bruneton, 1993**).

Il existe de très nombreuses variétés dont la « menthe verte », la « menthe poivrée » et la « menthe aquatique » sont les plus connues. La plupart des menthes sont originaires de l'Europe et de l'Asie. Cependant, en suivant les flux de migration, les menthes sont présentes sur la quasi-totalité des continents (**Fig. 01**) (**Tucker et Naczi, 2007**).

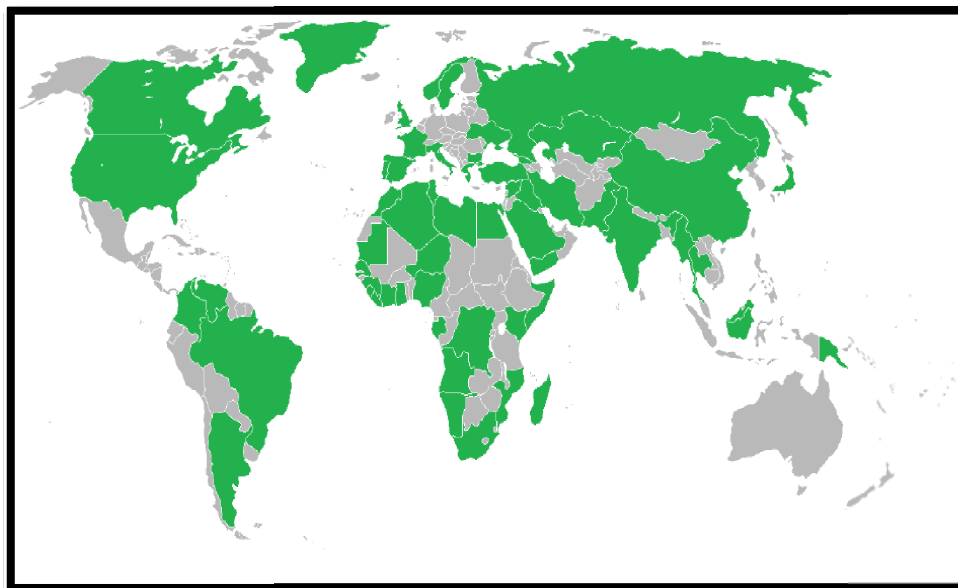


Figure 01: ■ Aire de répartitions de la menthe dans le monde (**Tucker et Naczi, 2007**).

I.3.1. *Mentha pulegium* L.

Mentha pulegium L., très répandue dans l'aire méditerranéenne, est connue sous le nom de « menthe pouliot », est une plante herbacée vivace à odeur aromatique forte; tiges quadrangulaires, rameuses, haute de 13cm jusqu'à 40cm velue, grisâtre ou glabrescente; feuilles petites courtement pétiolées, oblongues, longues de 15 à 25mm, crénelées sur les bords. Fleurs pédonculées, rosées ou lilacées, en verticilles nombreux tous axillaires écartés, multiflores, très compacts; calice velu, tubuleux à gorge fermée par des poils connivents, su bilabié à 5 dents inégales, ciliées, les deux inférieures plus étroites, corolle non gibbeuse à la gorge; carpelles ovoïdes, lisses, elle vive dans lieux humides, pousse un peu partout. Floraison: juin-août (**Fig.02**) (**Beloued, 2009**).

Comme toutes les autres espèces de menthe, employées en médecine traditionnelle ; la menthe pouliot a des propriétés identiques. Elle est digestive, carminative, cholagogue expectorante et béchique (**Beloued, 2009**).



Figure 02: Aspect morphologique de *M. pulegium* L. (Anonyme, 2017).

I.3.2. *Mentha aquatica* L.

Mantha aquatica L. plus connue sous le nom menthe aquatique est une Plante vivace de 30-80cm, verte ou rougeâtre, velue-hérissée ou presque glabre, à odeur forte ; tiges dressées ou ascendantes ; feuilles toutes assez longuement pétiolées, largement ovales ou ovales-lancéolées, dentées en scie ; fleurs roses ou blanches, en verticilles peu nombreux, tous ou les supérieurs rapprochés en têtes terminales globuleuses ou ovoïdes très obtuses ; calice tubuleux, velu, à nombreuses nervures saillantes, à gorge nue, à 5 dents lancéolées-acuminées ; corolle velue en dedans ; carpelles ovoïdes, verruqueux (**Fig.03**) (Alfred, 2012). Comme les autres menthes, l'hybridation est assez fréquente et peut conduire à une variation de certaines caractéristiques botaniques (Gamisans et Jeanmonod, 1993).



Figure 03: Aspect morphologique de *M. aquatica* L. (Anonyme, 2017).

I.3.3. *Mentha spicata* L.

Menthe vert ou menthe crépue, *Mentha spicata* L. ou *Mentha viridis* L. (Khanuja et al., 2000) est une plante vivace stolonifère de la famille des Labiées ou Lamiacées (Chadefaud et Emberger, 1960). La croissance végétative de la menthe est fortement ralentie à une température minimale inférieure à 10 °C et maximale supérieure à 25 °C. La période de floraison de la menthe qui coïncide avec la saison de l'été est une période optimale pour la production des huiles essentielles (Vaverková et al., 2009).

A cause de leurs propriétés aromatiques et médicinales, la menthe vert a fait l'objet de plusieurs études de recherches (Akdoan et al., 2007). La culture de cette dernière remonte à plus de 2000 ans avant l'ère chrétienne en chine et en Egypte (Anton R et al., 2005). Cette espèce est très commune en Afrique du nord (Fig. 04) (Paris et Moyse, 1965).

Elle est connue par plusieurs nomes:

- Le nom scientifiques: *Mentha spicata* L., *Mentha viridis* L. (Mahmoudi, 1990).
- Le nom en francier: Menthe romaine, Menthe douce, Menthe crépue, Menthe à épis, baume vert, Menthe vert (Mahmoudi, 1990).
- Le nom en english: common Mint, Hairy Horse-Mint, spearmint (Anonyms, 2017).



Figure 04: Aspect morphologique de *M. spicata* L. (Anonyme, 2017).

I.3.4. *Mentha piperita* L.

Mentha piperita L. ou menthe poivrée est une plante originaire cultivée de la famille des labiées, herbacée a végétation vigoureuse, son odeur pénétrante spéciale et un goût aromatique, brûlante mais laisse une sensation de fraîcheur (Hammami et Abdesselem, 2005). Elle est issue d'un croisement entre la *Mentha aquatica* et la *Mentha spicata*, rare en Algérie, seulement cultivée (Bruneton, 1993). C'est une herbe annuelle, semblant pérenne en

se reproduisant à partir de nombreux stolons, traçants, rampant, chevelu, aériens ou souterrains, à racine adventives (**Baba aissa, 1999**). La menthe poivrée est caractérisée par des tiges quadrangulaires le plus souvent violacées, et les inflorescences des fleurs faiblement bilabiées de couleur pourpre sont groupées en épis très serrés (**Bruneton, 1999**). Un peu poilue de 50 à 80cm de haut, dressée ramifiée, se divise en rameaux opposées, les feuilles mesurent de 4 à 10cm de long, elles sont ovales, vert foncé (**Fig. 05**) (**Hammami et Abdesselem, 2005**).

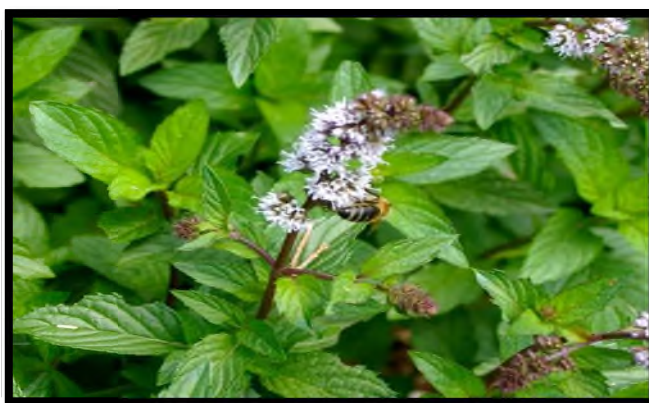


Figure 05: Aspect morphologique de *M. piperita* L. (**Anonyme, 2017**).

I.4. Espèce *Mentha spicata* L. (*Mentha viridis* L.)

I.4.1. Classification

Selon **conquist (1981)** la classification de *Mentha spicata* L. est indiquée dans le tableau I.

Tableau I: Classification de *Mentha spicata* L. (**cronquist, 1981**).

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>spicata</i>

I.4.2. Description botanique

Selon **Quezel et Santa (1963)**, **Mahmoudi (1990)** *mentha spicata* L. est caractérisée:

A / Feuilles: feuilles dentées, opposées persistants lancéolées, sans poils, sessiles ou presque 4 à 6 fois plus longues que large, vert foncée sur les deux face, l'implantation des feuilles sont paripennées et décussées.

B / Tiges: la tige est quadrangulaire (carée) ascendant elle est de couleur pourpre elle peu prés dépourvus de poil, dressée et généralement ramifiée, de 16 à 60cm de hauteur.

C / Fleurs: les fleurs mauves rose ou blanc, en épis terminaux peu denses longue gréles dents du calice linéaires glabre ou ciliées, corolle dépourvus des poiles chez pitiole, carpelles ovoïde, les étamines sont plus longue que la corolle et écartée entre elle. Fleurit de juillet à septembre (**Fig.06**).

D / Racines: les racines sont pivotants, les rhizomes servent à la propagation de la plante.



Figure 06 : Différents organes de *M. spicata* L. (**Anonyme, 2017**).

I.4.3. Parties utilisables

Les parties utilisables sont les parties aériennes (tiges, feuilles et les sommets efflorescents) (**Mohammed, 2009**).

I.4.4. Composition chimique

Selon **Arumugam et al., (2008)**, *Mentha spicata* L. riche en huiles essentielles sous forme monoterpène (limonène, menthone, menthol, dihydrocarveol et carvon...).


I.4.5. Importance médicinale et économique

La menthe a été utilisée depuis longtemps pour son huile essentielle. Elle est réputée pour ses propriétés aromatiques (toniques, fortifiantes) et digestives (les ballonnements, les gaz). La menthe doit leur odeur et leur activité à leurs huiles essentielles qui ont une place particulière dans l'ensemble des produits aromatiques d'origine végétale, grâce à certaines propriétés spécifiques, les besoins en produits de la menthe sont multiples, tant pour leurs odeurs (parfumerie), ou leurs propriétés médicinales. Elle stimule la sécrétion des sucs digestifs, limite les diarrhées et stimule la sécrétion biliaire, elle est aussi efficace en cas d'inappétence et recommandée en cas de troubles gastriques et de crampes (**Elfadl et Chtain, 2010**).

La menthe verte sert généralement à la préparation du thé, mais on retrouve son utilisation en phytothérapie, aromathérapie, parfumerie et cosmétologie (**Baba Aissa, 1999**). Elle présente un effet expectorant en cas de bronchite ou de grippe, elle est à la fois rafraîchissant et analgésique (**Leung, 1996**).

La menthe entre dans l'aromatisation de certains produits, dont les dentifrices, les confiseries en générale et boissons rafraîchissantes ...etc., néanmoins, la menthe présente dans certains cas des effets indésirables : abortive, elle est généralement déconseillée aux femmes enceintes, elle est par contre recommandée en cas de retard menstruel (**Cretti, 1981**).

L'huile essentielle de menthe et le menthol peuvent provoquer des troubles graves chez le jeune enfant lorsqu'ils sont appliqués sur les narines et le visage (risque de détresse respiratoire) (**Bowen et Cubbin, 1992 ; Briggs, 1993**).



Chapitre II

Métabolismes

Secondaires

Chez les plantes

II.1. Définition des métabolites secondaires

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse des principes actifs les plus divers. Ce processus métabolique est lié aux conditions mêmes de vie de la plante, donc la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser des diverses substances pour se défendre. Ces substances prennent la nomenclature des métabolites secondaires (**Kansole, 2009**).

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (**Boudjouref, 2011**), à partir des métabolites primaires, ils jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème (**Peeking et al., 1987**). Elle caractérisés par une faible concentration dans les tissus végétaux sauf les lignines (**Newman et Cragg, 2012**), et n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante (**Guignard, 1996**).

En 1987 Plus de 8500 métabolites secondaires sont déjà connus. Les plus grands groupes sont les alcaloïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes et les composés phénoliques (**Peeking et al., 1987**).

II.2. Rappel sur quelque Métabolites secondaires

D'après leur biosynthèse, les métabolites secondaires peuvent être divisés en :

II.2.1. Glucosides

Les glucosides sont des produits des métabolismes secondaires des plantes qui constitués de deux parties, la premier contient un sucre, par exemple le glucose ; presque toujours inactive, elle est exerce un influence favorable sur la solubilité et l'absorption du glucoside, et le transport vers un organe. La deuxième partie elle est la plus active détermine l'effet thérapeutique qui appelé aglycone (**Nicolas, 2012**).

Selon **Guignard et al., (1985)** La nature des glycosides est très diverse en raison du mode de liaison entre la génine et les oses:

- ❖ O-glycoside: la liaison entre la fonction réductrice de l'ose et un groupement hydroxyle (alcoolique ou phénolique) de l'aglycone.
- ❖ S- glycoside: la liaison entre la fonction réductrice de l'ose et un thiol de l'aglycone.

- ❖ N-glycoside: la liaison entre la fonction réductrice de l'ose et un groupement aminé de l'aglycone.
- ❖ C-glycoside: la liaison entre la génine et l'ose se fait de carbone à carbone.

Les glucosides utilisés dans le traitement des plusieurs maladies (des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension, des thromboses, des allergies, des affections bactériennes) (**Anderson et al., 1996**). Pour les plantes ils jouent un rôle de défense contre l'invasion des tissus par des micro-organismes suivants à la blessure, puisque de nombreux aglycones sont antiseptiques (**Balbaa et al., 1981**).

II.2.2. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés complexes, de nature basique, qui provoquent de puissants effets physiologiques. Il s'agit pour la plupart des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique (**Nicolas, 2012**). Ils peuvent être présents dans tous les organes (**Ziegler et Facchini, 2008**). Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus au cours de croissance: jeunes feuilles, jeunes racine. Chez de nombreuses plantes, elles se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles (**Krief, 2003**). Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits des différentes voies biosynthétiques (**Omulokoli et al., 1997; Wilhem, 1998; Judd et Kellogg 2002; Mauro, 2006; Kansole, 2009**).

La plupart des alcaloïdes sont dérivés des acides aminés tels que le tryptophane, L'ornithine, la lysine, l'aspartate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplés à d'autres squelettes carbonés (**Cyril, 2001**). Elles sont utilisées dans les pharmacologiques telles que l'effet analgésique (cocaïne), anti-cholinergique (atropine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (résérpine), antitussive (codéine), stimulant centrale (caféine), dépérisant cardiaque et diurétique narcotique (morphine), anti-tumeur et sympathomimétique (éphédrine) (**Fig.07**) (**Badiaga, 2011**).

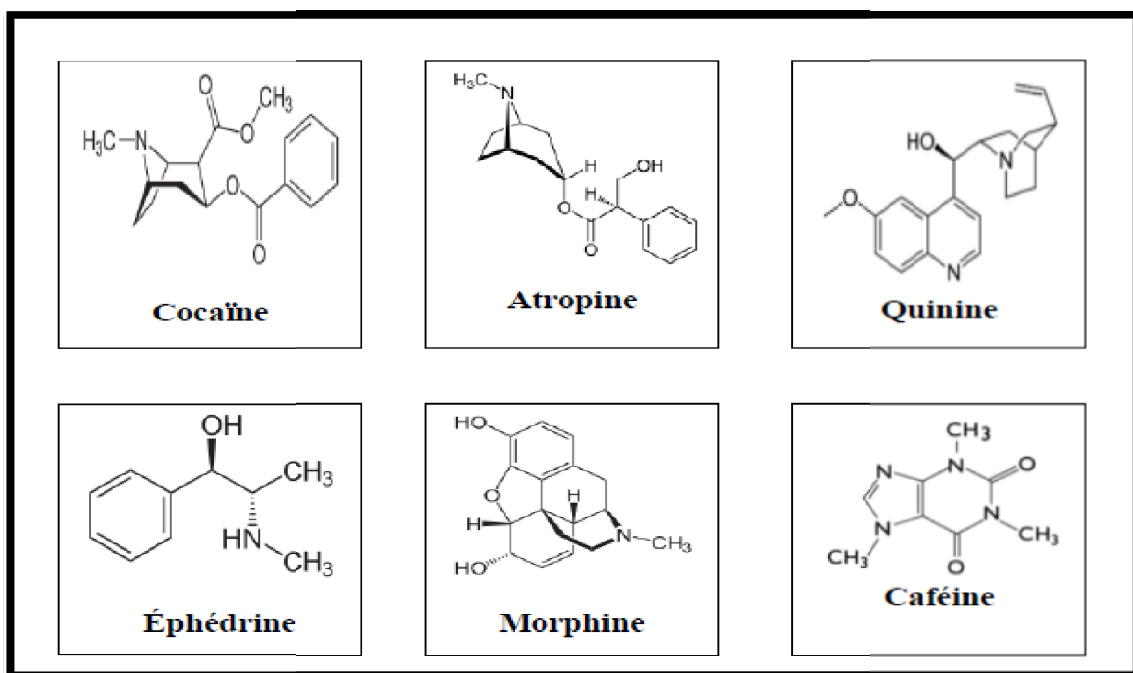


Figure 07: Structure des quelques alcaloïdes (Badiaga, 2011).

II.2.3. Huiles essentielles

Ce sont des substances huileuses, volatiles, d'odeur et de saveurs généralement fortes, extraites à partir des différentes parties de certaines plantes aromatiques (Belaiche, 1979; Valnet, 1984; Wichtel et Anthon, 1999). Elles peuvent être stockées dans diverses structures de la plante telles que les poils sécréteurs ou les trichomes, les cellules épidermiques, les cellules sécrétrices internes, les poches sécrétrices et les canaux sécréteurs. On les retrouve dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable (Martini et Seiller, 1999). Ils jouent un rôle de protection des plantes contre un excès de lumière, attirer les insectes pollinisateurs (Dunstan et al., 2013), soigner des maladies inflammatoires telles que les allergies, eczéma et favorise l'expulsion des gaz intestinales comme les fleurs de plante "camomille" (Iserin et al., 2001).

Les huiles essentielles, constituées des mélanges complexes des composés organiques, possèdent des structures et des fonctions chimiques très diverses (Lahlou, 2004). Les majeures parties des composés des huiles essentielles sont: le groupe des terpénoïdes d'une part, et le groupe des composés aromatiques dérivés du phényle propane d'autre part:

A/ Terpénoïdes

Les terpènes constituent une famille des composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) (Lamarti *et al.*, 1994). Tel que les monoterpènes (Fig.08).

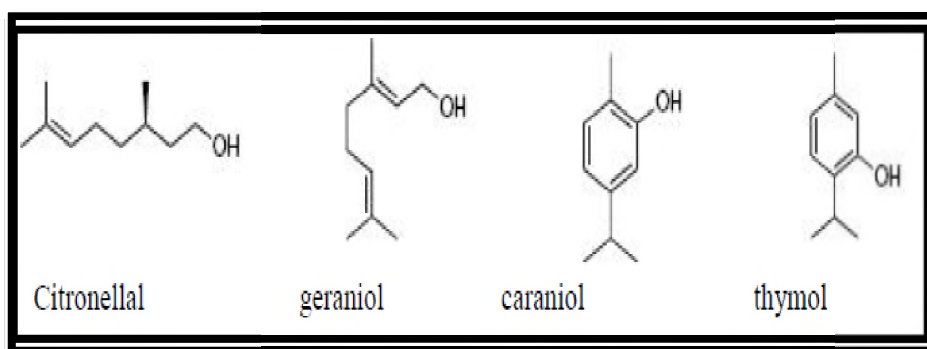


Figure 08: Structure chimique de quelques monoterpènes (Bruneton, 1999).

B/ Composés aromatiques

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C_6-C_3), ce dernier est moins fréquent que les terpènes (Fig.09) (Paris et Hurabielle, 1981).

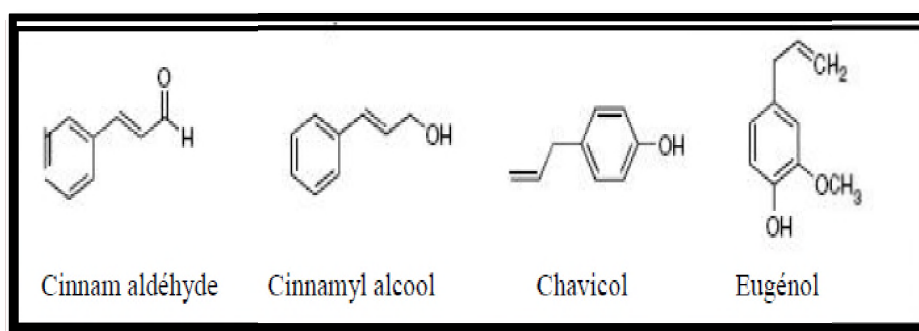


Figure 09: Structure chimique de certains composés aromatiques (Bruneton, 1999).

II.2.4. Terpènes et stéroïdes

A/ Terpènes

Les terpénoïdes sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes, les organismes marins, les champignons et même les animaux, ils résultent de l'enchaînement des plusieurs unités isopréniques (Bhats *et al.*, 2005). Les terpénoïdes sont une vaste famille des

composés naturels près de 15000 des molécules différentes et de caractère généralement lipophiles (Wichtl et Anton, 2009).

Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale $(C_5H_8)_n$ (Fig.10) (Seenivasan, 2006), Ces molécules présentent en forme des huiles essentielles, pigments (carotène), hormones (acide abscissique) et des stérols (Cholestérol) (Hopkins, 2003).

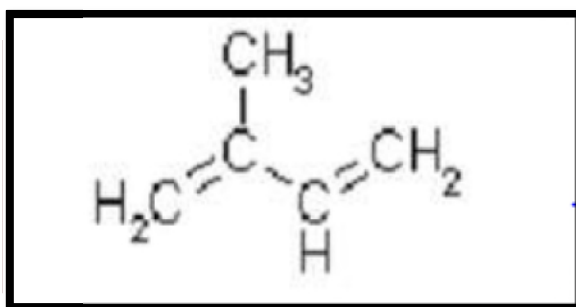


Figure 10: Structure de la molécule d'isoprène (Calsamiglia et al., 2007).

La classification des terpenoïdes est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène en donnant des hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes (Cn) (Tableau II) (Loomis et Croteau, 1980).

Tableau II: Différents classes de terpenoïdes avec quelques exemples (Loomis et Croteau, 1980).

Nom	Nombre d'unité 5×C	Exemple de molécule
hémiterpènes	1	Isoprène
monoterpènes	2	Aromes volatiles, Parfumes
sesquiterpènes	3	Phytoalexines
diterpènes	4	Phytol, giberellines, phytoalexines
sesterpènes	6	stérols de membrane
tetraterpènes	8	Caroténiodes
polyterpènes	>8	Plastoquinones, ubiquinones, latex

B/ Stéroïdes

Les stéroïdes ne sont pas des terpènes mais des composés de biodégradation des triterpènes. Ils constituent une classe de composé abondamment présents dans la nature (règne animal et végétal) (**Bruneton, 1993**). Se sont des triterpènes tétracycliques, possèdent moins de 30 atomes de carbone, synthétisés à partir d'un triterpène acyclique (**Fig.11**) (**Hopkins, 2003**).

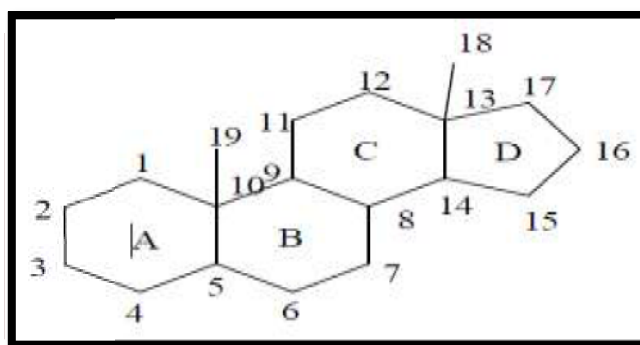


Figure 11: Structure de noyau stéroïde (**Ling et Jones, 1995**).

II.2.5. Composés phénoliques

Les poly-phénols sont des issues du métabolisme secondaire chez les végétaux, elle constitue ou moins d'un noyau benzénique qui liée par un groupement hydroxyle libre (**Bruneton, 1999**). Elles jouent un rôle principale dans la vie de plante, à la défense contre les pathogènes et la protection contre les rayonnements UV. (**Sarni-manchado et Veronique, 2006**).

Les poly-phénols divisent en sous classe principales: les acides phénoliques, les flavonoïdes, les lignines, les tanins, les coumarines etc... (**Sarni-manchado et Veronique, 2006**).

II.2.5.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques, ou acides phénols sont des petites molécules formées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, leur catabolisme dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique, elles peuvent être estérifiées, étherifiées et reliées à des sucres sous forme d'hétérosides, ces phénols sont dissolubles dans les solvants polaires (**Wichtl et Anton, 2009**), incolores et rares dans la nature (**Haslam, 1994**).

Les phénols ont des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (**Iserin et al., 2007**). Ils se divisent en deux classes: les dérivés de l'acide benzoïque (les acides hydroxybenzoïques) et les dérivés de l'acide cinnamique (les acides hydroxycinnamiques) (**Fig.12-13**) (**Pandey et Rizvi, 2009**).

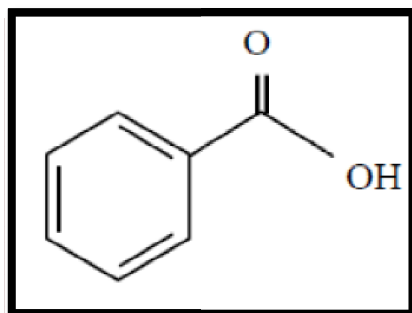


Figure 12: Acide benzoïque
(**Gorham, 1977**).

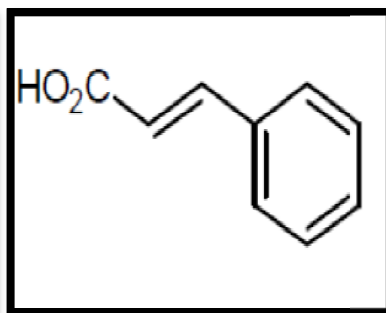


Figure 13: Acide cinamique
(**Pawlowska et al., 2006**).

II.2.5.2. Flavonoïdes

Le terme flavonoïde signifie jaune en latin (**Ribereau-Gayon, 1968**). Les composés flavoniques sont des pigments végétaux très communs, possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbone constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) (**figure 14**). Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6 (**Emerenciano et al., 2007**). Elle présente en quantités importantes dans une grande variété des fruits et des légumes consommés par l'homme.

Les flavonoïdes sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils peuvent être localisés dans divers organes des plantes: racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits, qui jouent un rôle important dans le soutien des plantes (**Bruneton, 1999**).

Les flavonoïdes constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (**Havasteen, 2002; Medié et al., 2004 ; Fiorucci, 2008**). Ces composés se trouvent également dans plusieurs plantes médicinales, qui sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier (**Delporte et al., 1999**).

Selon (**Harborne et Williams, 2000**) les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes des molécules dont les plus importants sont représentés dans (**annexe 01**).

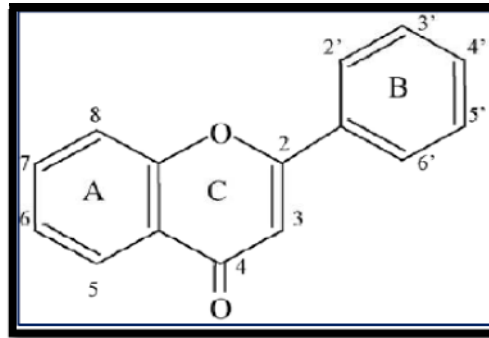


Figure 14: Structure de base des flavonoïdes (Di Carlo *et al.*, 1999).

II.2.5.3. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques compliqués, hydrosolubles, produits naturellement par les plantes (Kamra *et al.*, 2006). Elle se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines (Makkar, 2003; Mangan, 1988; Mcsweeney *et al.*, 2001), Grâce à la présence polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques etc... (Haslam, 1998). Ils trouvent dans différent organes végétale: l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les grains (Khanbabae et Ree, 2001). On distingue deux catégories:

A/ Tanins condensés

Les tanins condensés (procyanidines), sont des poly-phénols de masse molaire moléculaire élevée (Wollgast et Anklam, 2000). Ce sont des tanins non hydrolysables mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines (Hopkins, 2003). Le mélange de polymérisation oxydative de flavan-3-ol et de flavan-3,4- diol peuvent être constitués ces tanins qui lié par les liaisons (C4-C8) (Fig.15) (Richter, 1993).

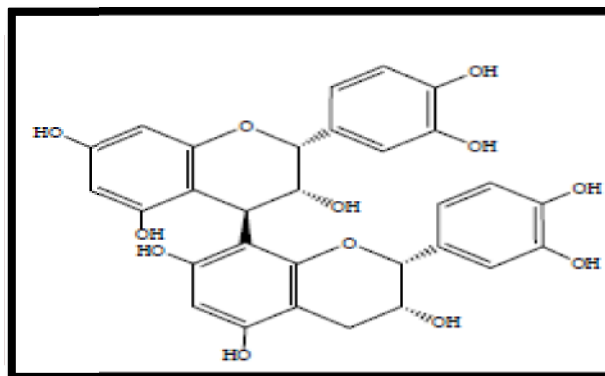


Figure 15: Structure de tanins condensés (Vermerris et Nicholson, 2006)

B/ Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables (tanins pyrogalliques), sont des hétéro polymères qui contiennent un noyau central formé d'un polyol, ces substances sont influencées sous l'action d'enzymes telle que la tannase. Ces enzymes hydrolysent facilement dans les milieux acides et alcalins, l'eau chaude, pour donner des glucides et des acides phénoliques (**Leinmuller et al., 1991**). Ce sont des esters d'oses et d'acides phénols (**Fig. 16**) (**Harborne, 1982**).

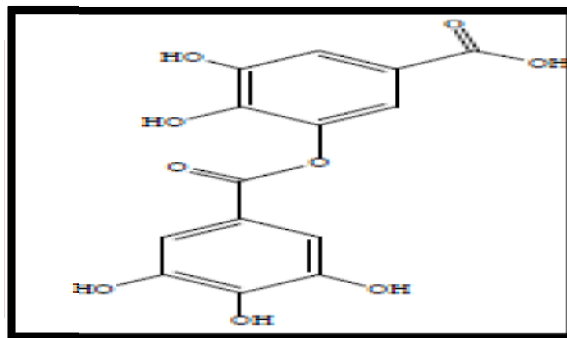


Figure 16: Structure des tanins hydrolysables (**Vermerris et Nicholson, 2006**).

II.2.5.4. Coumarines

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés, elles sont largement répandues dans les végétaux (**Casley et al., 1993**). Ces composées existent sous forme libre où dissolubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés, et aussi liées à des sucres qui peuvent être plus ou moins hydrolysables (**Bruneton, 1999**).

Les coumarines jouent un rôle dans le traitement des maladies et la résistance des parasites (**Vermerris et Nicholson, 2006**). Elle présente un intérêt physiologique, inhibant de la croissance des graines en germination. Les coumarines en présence d'UV, se lient aux bases pyrimidiques de l'ADN (**Guilhou et al., 1997**).

Selon **Benayache (2005)**, le nom chimique de coumarine est 2H-1-benzopyran-2-ones (**Fig. 17**).

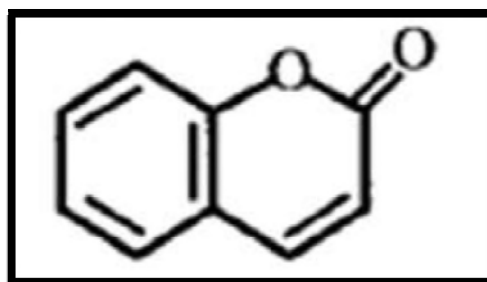


Figure 17: Structure d'une molécule de coumarine (**Cowan, 1999**).

II.2.5.5. Lignines

Les lignines sont des composés importants des produits naturels dans le règne végétale et plus abondants sur terre. Elle constitue de 15 à 40% de la matière sèche des arbres et de 5 à 20% des tiges des plantes annuelles (**Privas, 2013**). Elles sont résultent d'association des trois unités phénoliques de base dénommées monolignols de caractère hydrophobe (**Fig.18**) (**Sarni-machado et Veronique, 2006**).

Cette dernière jouent un rôle important dans l'évolution des végétaux, ils forment une barrière mécanique, de goût désagréable, réduisant la digestibilité des sucres de la paroi, la rigidité des fibres et participent à la résistance des plantes aux microorganismes et herbivores (**Murry et al., 1982**).

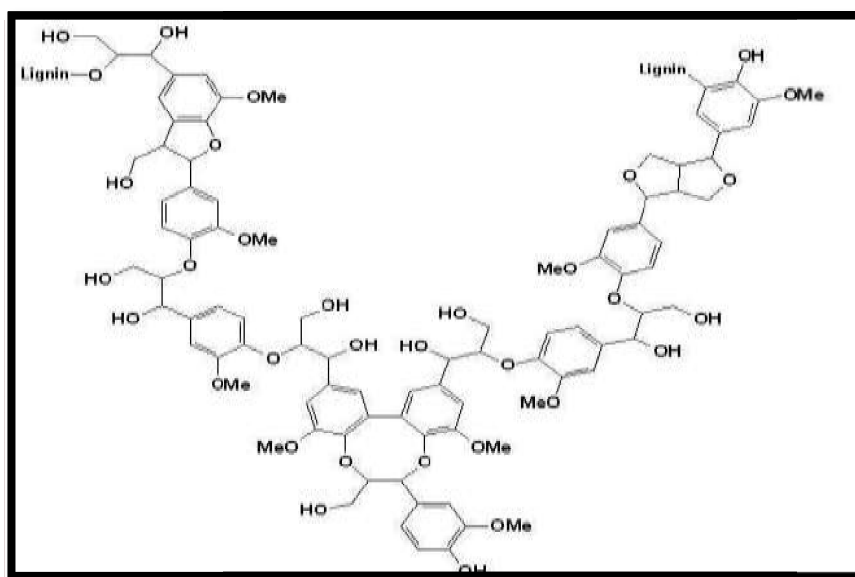


Figure 18: Structure chimique de lignine (**Scalbert et Williamson, 2000**).

II.2.5.6. Saponosides

Le terme saponosides est dérivé de mot savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau, qui se trouve sous forme aglycones polaires liés à un ou à plusieurs sucres, Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires en leurs particules explique leur comportement moussant en solution aqueuse (**Vincken et al., 2007**). Ces dernières ont un goût amer et acre (**Hopkins, 2003**). Ainsi on existent sous deux formes fondamentalement, les saponines stéroïdes et les saponines terpénoïdes (**Fig.19**) (**Iserin et al., 2001**).

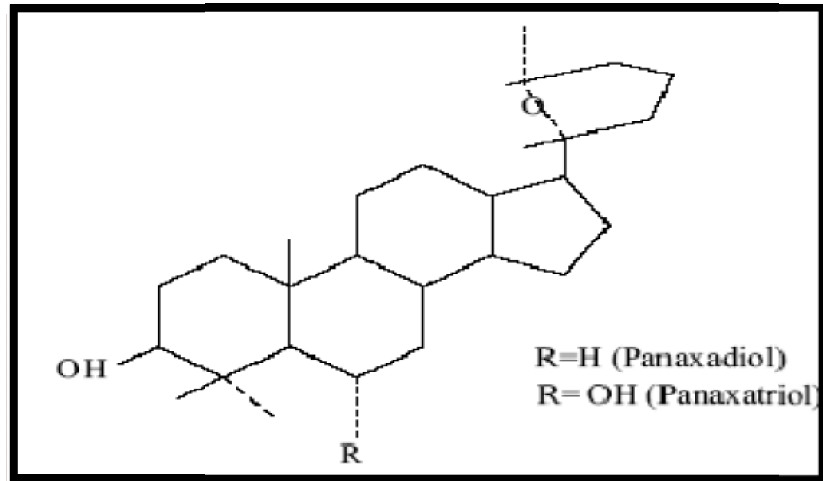


Figure 19: Structure des saponines (Packer, 2001).



Chapitre III

Activité Biologique

III.1. Activité antimicrobienne

Les plantes ont un système de protection naturel très efficace, basé sur la biodiversité de leurs métabolites secondaires. Cette diversité des groupes structuraux et fonctionnels, permet de se protéger efficacement contre des nombreux pathogènes tels que les bactéries, les champignons et les virus. Les plantes synthétisent, de manière constitutive ou induite, à titre d'exemples de molécules antimicrobiennes contenus dans les plantes. Les poly-phénols et les huiles essentielles constituent des extraits les plus largement exploités qui sont utilisées depuis longtemps pour traiter des différent pathogènes (**Jones et Dangl, 2006 ; Gibbons, 2008**).

Les antibiotiques ont montré des inconvénients et des limites d'utilisation: les effets secondaires, toxicité des molécules antimicrobiennes pour l'organisme traité et les difficultés rencontrées dans le traitement des maladies exigeant la destruction des germes pathogènes indépendamment des facultés de défense du malade (**Siegenthaler et Luthy, 1978**).

III.1.1. Généralités sur les bactéries

Les bactéries sont des organismes unicellulaire relativement simple dont le matériel génétiques représenté par un seul chromosome circulaire, n'est pas contenu dans une enveloppe nucléaire, mais forme néanmoins un nucléoïde, soit la région de la cellule. C'est pourquoi ces microorganismes sont dits procaryotes. Les bactéries sont des cellules entourées d'une paroi rigide qui est composée principalement d'une substance complexe appelée peptidoglycane. Elles se reproduisent de façon asexuée en se divisant en deux cellules filles de taille égale; ce processus s'appelle division par scissiparité. Elles se nourrissent pour la plupart de composés organiques qui dans la nature et peuvent être dérivés d'organismes vivants ou morts. Les bactéries vivant sur et dans le corps humain en sont un bel exemple. D'autres bactéries peuvent produire leur propre nourriture par photosynthèse et certaines peuvent se servir de substances inorganiques pour se nourrir. Beaucoup de bactéries, particulièrement les bacilles et les spirilles, peuvent se déplacer au moyen d'appendices mobiles appelés flagelles (**Gerard et al., 2011**).

III.1.2. Classification des bactéries

Les bactéries ont une très grande diversité de tailles, de structure et de formes. La plupart d'entre elles ont de 0.2 à 2.0µm de diamètre et de 2 à 8µm de longueur. Les cellules bactériennes les plus courantes sont les *bacilles* (bâtonnets), les *coccus* (sphériques ou ovoïde) et les formes *spiralées* (bouchon ou courbées) (**Fig. 20**), mais certaines bactéries sont carrées et d'autres ressemblent à des étoiles. Elles peuvent former des paires, des chaînes, des amas, ou d'autres regroupements ; ces associations sont habituellement caractéristiques d'espèces ou de genres particuliers de bactéries (**Gerard et al., 2011**).



Figure 20: Différentes formes des bactéries (**anonyme, 2017**).

III.1.3. Agents antimicrobiens

Les substances antimicrobiens sont des substances capables de tuer les microbes et empêcher leur croissance (**CE, 2001**). Cette action dépend de la nature du microorganisme, de l'agent antimicrobien et de l'environnement. On parle d'un effet bactériostatique lorsque la substance antibactérienne empêche la multiplication des bactéries et d'un effet bactéricide lorsqu'elle détruit totalement la bactérie (**Meyer et Deiana, 1988**).

III.1.4. Mécanismes d'action des agents antimicrobiens

Les agents antibactériens sont classés selon les cibles bactériennes, il y a cinq mécanismes. Ces différents mécanismes sont: blocage de la synthèse de paroi bactérienne, l'inhibition de la synthèse des protéines, l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques, l'altération du fonctionnement de la membrane cytoplasmique, une inhibition de la synthèse de divers métabolites (**Bergogne-Bérézin et Dellamonica, 1999**). Par exemple les huiles

essentielles qui considérée comme des substances connues pour avoir l'activité antibactérienne et certaines sont arrangée comme des substances sûres et auraient qui employées pour empêcher la croissance des microorganismes pathogènes et contaminants (Gachkar *et al.*, 2007; Rasooli *et al.*, 2008).

III.1.5. Activités antimicrobiennes des poly-phénols

Les poly-phénols sont connus pour leurs activités biologiques qui sont en relation directe avec la santé de l'être humain. Des études plus récentes ont montré que les poly-phénols présentent une activité antibactérienne importante (Ferrazzano *et al.*, 2011). Ces composés agissent par deux mécanismes d'actions: un premier consiste à l'inhibition de la synthèse d'acide nucléique dans les bactéries (Wu *et al.*, 2013) et un seconde provoquant l'endommagement des membranes cellulaires des bactéries (Tsuchiya et Linuma, 2000).

D'autres groupes de chercheurs isolé et identifié des extraits des plantes qui sont des agents de l'activité antimicrobienne, constitue une base pour plusieurs domaines comme l'industries pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle (Huang *et al.*, 2008).

III.1.6. Donnée sur les Souches bactériennes utilisé

III.1.6.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli correspond à des bacilles à coloration de Gram négatif, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, et au genre *Escherichia* (Eric, 2012). De type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5µm (Steven *et al.*, 2004).

La plupart de Cette bactérie réside dans l'intestin des être humains, et c'est probablement l'organisme le mieux connu en microbiologie. La présence d'*E. Coli* dans l'eau ou les aliments est un indice de contamination fécale. Bien que ce microorganisme ne soit habituellement pas un agent pathogène, il cause parfois des infections des vois urinaires; certaines souches produisent des entérotoxines responsables de la turista (diarrhée des voyageurs), et provoquent occasionnellement de très graves maladies d'origine alimentaire telles que les maladies du hamburger (Gerard *et al.*, 2011).

III.1.6.2. *Staphylococcus aureus*

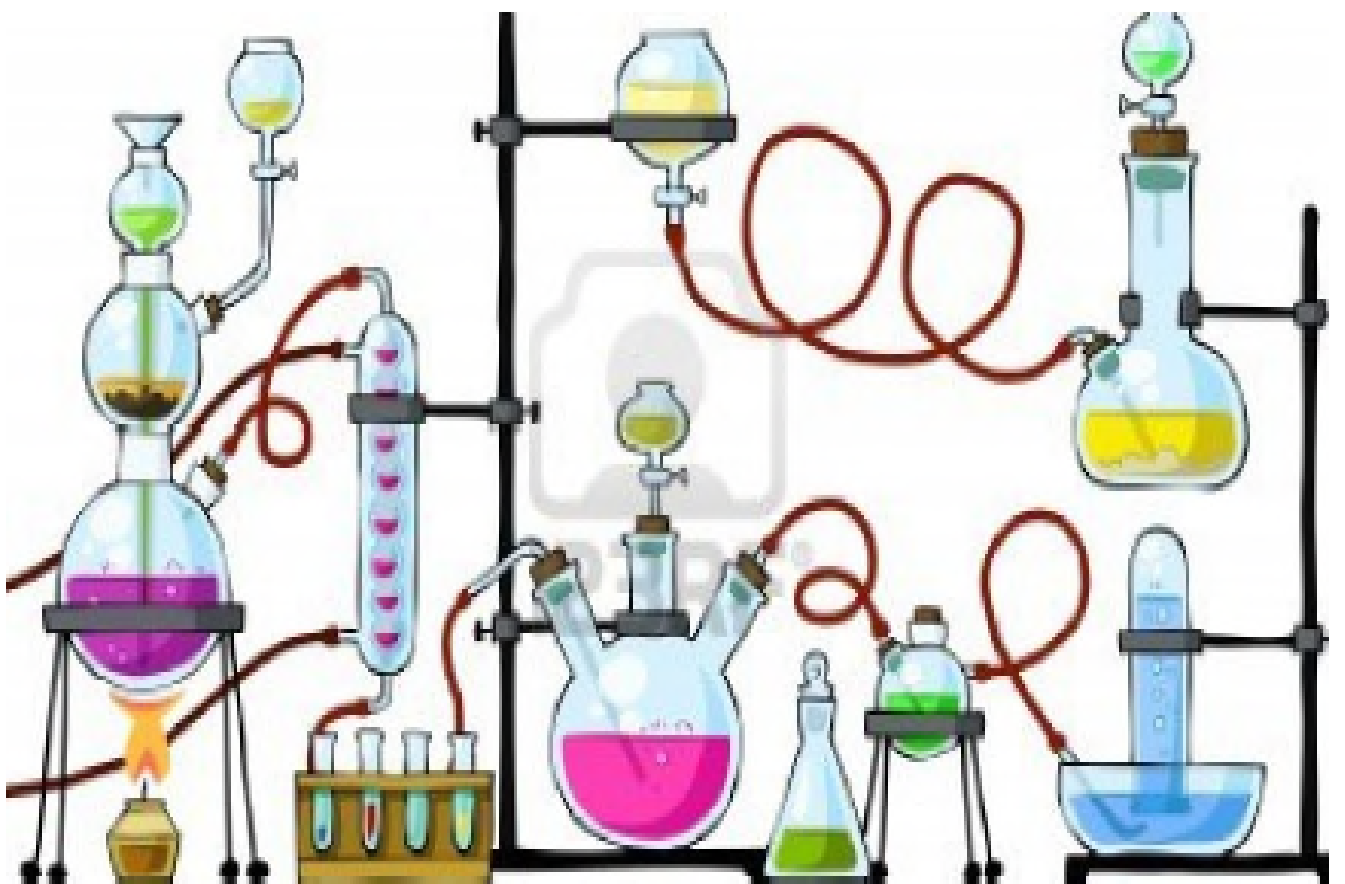
Les staphylocoques sont des cocci qui s'assemblent en grappes caractéristiques. L'espèce la plus importante *Staphylococcus aureus*, est ainsi nommée à cause de la pigmentation jaune des colonies (*aureus* = doré). Elle est constituée d'anaérobies facultatifs à Gram positif (Gerard et al., 2011).

Certaines caractéristiques des staphylocoques sont responsables de leur pathogénicité, qui revêt plusieurs formes. Les staphylocoques se développent à des taux élevés et de faible taux d'humidité ce qui explique en partie qu'ils croissent dans les sécrétions nasales, dans le nombril de plusieurs d'entre nous et sur la peau, et y survivent. Ces mêmes caractéristiques expliquent que *S. aureus* se développe dans certains aliments dans lesquels la pression osmotique est élevée ou bien la teneur en eau faible, facteurs qui inhibent la croissance d'autres microorganismes. La pigmentation jaune des staphylocoques les protège probablement dans une certaine mesure contre l'action antimicrobienne de la lumière solaire (Gerard et al., 2011).

Les *S. aureus* produisent de nombreuses toxines qui contribuent à sa pathogénicité en accroissant sa capacité à pénétrer dans l'organisme et les tissus. L'infection de plaies chirurgicales par cette bactérie est un problème courant dans les hôpitaux (Gerard et al., 2011).

Deuxième partie

Etude expérimental





Chapitre I

Matériels et

Méthodes

I. Matériels et méthodes

I.1. Matériel végétal

I.1.1. Collecte des échantillons

La récolte de matériel végétal (*Mentha spicata* L.) a été réalisée au mois où début de mars 2017, dans la commune de Minar Zaraza wilaya de Mila. On a utilisée les parties suivant (tiges, feuilles, racines).

I.1.2. Séchage

Les parties récoltées sont séchées durant une semaine à l'abri du soleil, et déposées dans un endroit sec, ventilé et ombragé.

I.1.3. Broyage

Les parties de plante ont été broyées à l'aide d'un broyeur pour obtenir une poudre. Cette dernière a été conservée dans un flacon en verre, fermés hermétiquement et stokés jusqu'a l'utilisation.

On a utilisé 200g de poudre pour chaque partie de la plantes (tige, feuille, racine), pour réaliser les différents tests phytochimiques et l'activité biologiques. Les matériels et les produits utilisés sont reportés en (**Annexe 02, 03, 04, 05**).

I.2. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un ensemble des méthodes et techniques d'analyse des substances organiques naturelles de la plante. L'examen phytochimique est utilisé essentiellement afin de détecter les différentes classes de composés chimiques existantes dans la plante.

I.2.1. Test des saponosides

Les saponosides sont caractérisés par un indice de mousse. Leur détection est réalisée par prendre 2g de chaque partie d'organe du plante étudier séparément (tige, feuille, racine) et bouillir avec 80ml d'eaux distillé jusqu'à 100°C dans l'agitateur électrique durant 15min, puis laisser la solution jusqu'au refroidissement pour la filtration. Elle dépose dans 3 type à essai et comparé avec un témoin qui contient l'eau distillée. Agiter chaque type pendant

1min et reposer (30min). La formation d'une mousse plus ou moins importante indique la présence des saponosides (**Benzahi, 2001; Chaouch, 2001**).

I.2.2. Test des flavonoïdes

Macérer 5g de poudre de chaque partie d'organe de la plante étudié séparément (tige, feuille, racine), dans 150ml de solution d'acide hydrochlorique (HCl) 1%, puis filtré. Le filtra résulte a été réalisée par les tests suivant:

A/ Teste d'hydroxyde de potassium (KOH)

Prendre 5ml du filtrat primaire et rend alcalin par l'ajoute de quelque goutte de solution d'hydroxyde de potassium (KOH). L'apparition de couleur jaune claire indique la présence des flavonoïdes (**Tadros, 1979**).

B/ Teste d'alcool amylique

Mélanger 5ml de filtrat primaire avec 5ml d'alcool amylique. L'absence de couleur jaune dans la couche alcoolique indique l'absence des flavonoïdes libre (**Tadros, 1979**).

C/ Teste de Acide Hydrochlorique

La couche d'eaux de teste précédant séparé et bouillé avec 3ml d'acide Hydrochlorique a maximum de 2min. La solution mélangée avec 0.5g de magnésium (Mg), l'apparition de couleur rouge indique la présence des flavonoïdes Glucidique dans les organes étudiés (**Tadros, 1979**).

I.2.3. Test des cardinolides

Leur détection est réalisée par Prendre 1g de poudre végétale de chaque organe étudié séparément, et macérer dans 20ml d'eau distillé.

Prélever 10ml de filtrat et mixe avec 10ml d'un mélange de chloroforme et l'éthanol (5ml /5ml), la couche organique évaporé jusque à la sécheresse et le sédiment se dissout dans 3ml d'acide acétique glacié, puis ajouter quelque gouttes de chlorure de fer et suivre directement par 1ml d'acide sulfurique concentré (H₂SO₄) sur la paroi du tube. L'apparition de couleur vert bleuâtre dans la couche acide indique la présence de cardinolide dans les différent organes (**Tadros, 1979**).

I.2.4. Test des tanins

Peser 5g de poudre de chaque partie du plante, et extractibles par l'éthanol 50% pendant 24h, le filtrat a été réalisé par le test suivant:

❖ Teste de chlorure de fer

Prendre 3ml de l'extrait éthanolique et ajouté quelque goutte de solution aqueuse $FeCl_3$. La présence de couleur vert foncé ou bleu-vert indique la présence des tanins catéchiques dans les organes étudiés (**Benzahi, 2001; Chaouch, 2001**).

I.2.5. Test des glucosides

Peser 5g de poudre de chaque organe étudier séparément et mélanger avec 50ml de 2% l'acide tartrique dans l'éthanol, puis cette mélange est chauffé sous le condensateur red pendant 3h à 4h.

L'extrait est filtré et vaporiser dans un rotavapeur à température 60°C. Le sédiment dissoudre dans 15ml d'eau distillé chauffée pour réaliser les tests suivant :

A/ Les sucres réducteurs

Dans un tube à essai en ajoute 2ml de l'extrait de chaque partie étudiée de la plante et bouillir avec liqueur de Fehling dans un bain marin. La réduction de la solution Fehling indique la présence des sucres réducteurs dans les différents organes étudiés (**Chaouch, 2001**).

B/ Test de kitose

Ajouter 2ml d'extrait primaire de chaque partie étudiée de plante dans trois types à essai et mélanger avec 2ml de solution NH_4OH et suivre par 1ml d'acide acétique glacial puis bouillir dans le bain marie. La présence de couleur bleu indique l'existence des kitoses (**Chaouch, 2001**).

I.2.6. Test des alcaloïdes (Balbaa et al., 1981)

La détection consiste à Peser 5g de poudre de chaque organe étudier séparément et extrait par 50 % d'acide hydrochlorique, chaque extrait filtrait et rend alcalin par quelques gouttes d'une solution de Hydroxyde de potassium (KOH), puis extraire par 20ml de chloroforme trois fois. Collecter l'extrait chloroformique et évaporé à desséché, puis

dissoudre le résidu dans 2 ml d'acide hydrochlorique dilué (HCl), et détecter les alcaloïdes par le réactif de Wagner. L'apparition de la couleur brune indique leurs présences.

I.2.7. Test des huiles essentielles

Peser environ 5g de poudre de chaque parties de la plante séparément et met dans un flacon, puis ajouter 1000ml d'eau distillée, bouiller lentement dans l'appareille de distillation durant quatre à cinq heures. L'observation des huiles essentielles dans l'extrait distillée indique leur présence (**TEP, 1963**).

I.2.8. Test des stéroïdes et triterpènes

Prendre 5g de poudre de chaque organe étudier et extractible par éthanol 70%. Après une nuit entière l'extrait est filtrer et évaporer dans rotavapeur, le résidu obtenu soluble avec 20ml de chloroforme anhydre, et divise en deux solution:

- ❖ La première solution est mélangée avec 1ml d'acide acétique anhydride, et suivie par 1ml d'acide sulfurique concentré sur la paroi de type. La formation d'un anneau rouge violet à la zone de contact des deux couches indique la présence des stérols et triterpènes (**Harborne, 1973**)
- ❖ La seconde solution est mélangée avec 1ml d'acide sulfurique concentré lentement à paroi de type, la présence de couleur de couleur jaune qui devenue à couleur rouge indique l'existence les dérivés stéroïdiques et triterpéniques (**Harborne, 1973**).

I.3. Activité antibactérienne

I.3.1. Extraction des composés phénoliques

❖ Principe

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation, l'opération bien que généralement longue et a rendement souvent médiocre, est utilisée dans le cas d'extraction de molécules thermosensibles (**Leybros et Fremeaux, 1990**).

Selon **Oomah et al. (2006)**, la méthode de l'extraction des composés phénoliques se fait par macération par l'eau distillée et l'éthanol à une concentration de 70%.

❖ Mode opération

Macérer 50g de poudre de chaque parties de plante (tiges, feuille) dans 200ml d'éthanol 70 % ou d'eau distillée, durant 24h. Les mélanges sont filtrés sur un papier filtre, puis évaporé dans un rotavapeur à 60°C jusqu'à l'obtention un 10ml.

Le résidu de filtrat d'éthanol est macéré dans l'eau distillée et le résidu de filtrat d'eau distillée est macéré dans l'éthanol avec les mêmes étapes précédant (fig. 21).

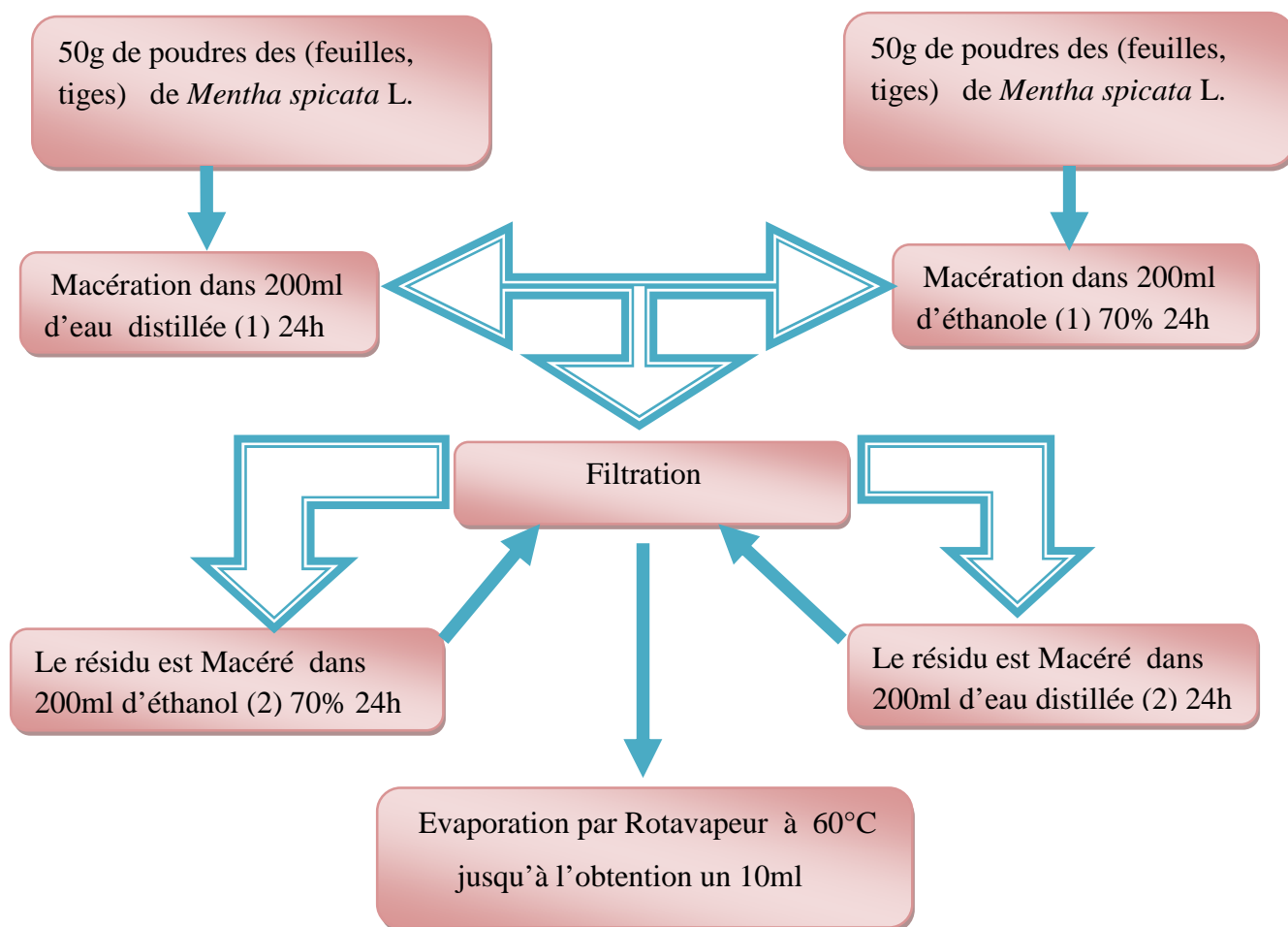


Figure 21 : Protocole d'extraction des poly-phénols.

I.3.2. Matériels du test de l'activité antibactérienne

I.3.2.1. Origine des souches bactériennes

Les deux souches bactériennes choisies pour cette étude sont des bactéries pathogènes. Une souche bactérienne à Gram-positif (*Staphylococcus aureus*) et l'autre à Gram-négatif (*Escherichia coli*). Ces souches ont été fournies par le laboratoire du Centre universitaire Abdelhafid boussouf Mila.

I.3.2.2. Préparation de milieu de culture

La culture des bactéries a nécessité l'utilisation des milieux suivants:

- La gélose Mueller Hinton (MH): pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits.
- Le bouillon nutritif (BN): pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes.

❖ **Gélose Muller-Hinton (MH)**

Dissoudre 38g de poudre de gélose de MH (**photo 01, annexe 05**) dans un 1000ml d'eau distillée. Puis bouillir jusqu'à résolution complète et stériliser dans un autoclave pendant 20 min à 120°C.

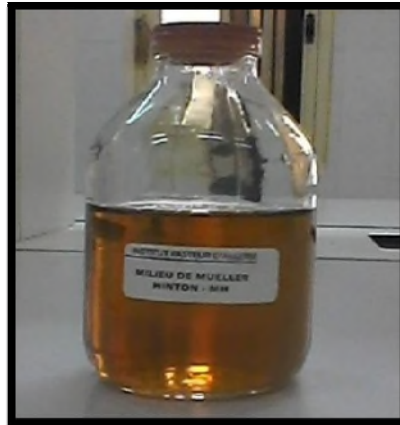


Photo 01 : Milieu de culture Muller-Hinton (MH).

❖ **Bouillon nutritif (BN)**

Dissoudre 2.8g de poudre de BN (**photo 02, annexe 05**) dans un 100ml d'eau distillée. Puis bouillir jusqu'à dissolution complète et stériliser dans un autoclave pendant 20min à 120°C.

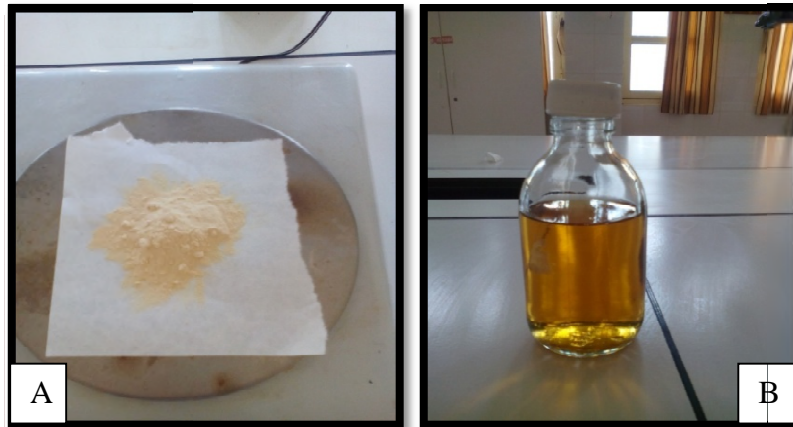


Photo 02 : (A) poudre de BN; (B) solution de BN.

I.3.2.3. Préparation des disques

On a coupé le papier de whatman N°03 en disque de diamètre 6mm, ces disques doivent posséder un contour régulier pour donner une zone d'inhibition que l'on peut mesurer facilement. Ces disques sont met dans des tubes à essai et stérilisés dans un autoclave pendant 20min à 120°C.

I.3.2.4. Stérilisation du matériel

L'eau physiologique, le milieu de culture (MH), les pinces, les disques en papier Wattman, bouillon nutritif (BN), l'eau distillée, les tubes à essai, les emboles sont enrobés dans un papier aluminium, qui ont été stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 20 min.

I.3.2.5. Préparation des dilutions des extraits

Les extraits bruts de menthe ont été dilués par les mêmes solvants utilisés (les extraits aqueux par eau distillée / les extraits éthanolique par éthanol).

On prépare 3 tubes en verre stériles (1/2, 1/4, 1/8) le premier contient 2ml de l'extrait brute et 2ml d'eau distillée où éthanol. On ajoute dans le deuxième tube (1/4) 2ml du premier tube (1/2) et 2ml d'eau distillée où éthanol. On répète le procédé jusqu'on terminé (**fig. 22**).

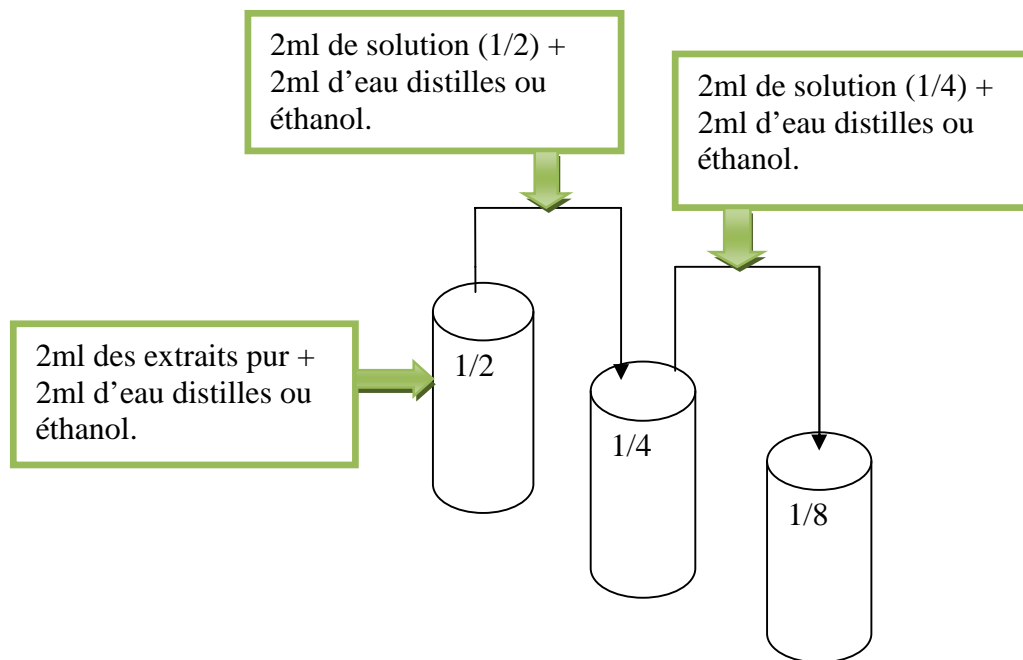


Figure 22: Préparation des dilutions

I.3.3. Principe et mode d'opération

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de menthe est réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé des disques. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des extraits sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri, et permet de mettre en évidence l'effet antibactérien des extraits sur les bactéries, ainsi que la détermination de la résistance ou la sensibilité de ces bactéries vis-à-vis de extraits. La méthode de diffusion des disques appliquée est celle décrite par **Mayachiew et Devahastin (2008)**.

❖ La réactivation des bactéries

Après la stérilisation de zone de travaille les souches bactérienne sont réactivées dans le milieu BN stérile et incubé dans l'étuve durant 24h à 37°C (**photo 03**).

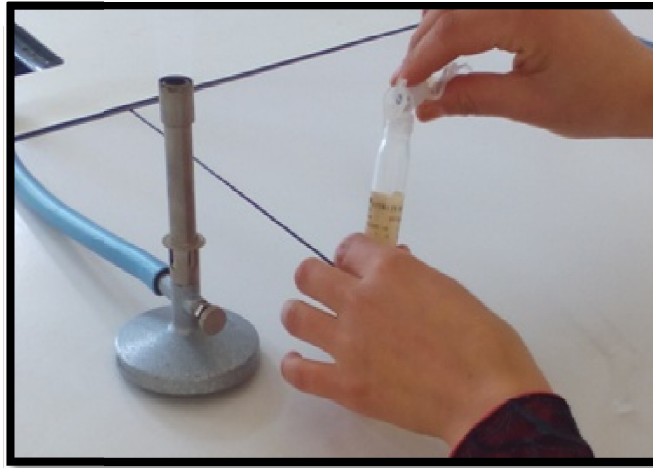


Photo 03 : Incubation des bactéries dans le milieu BN.

❖ Le repiquage des bactéries

Cette étape consiste à culture de la suspension bactérie par la méthode de la strie sur milieu Muller Hinton (MH), et conservé dans l'étuve 24h à 37 °C (**photo 04**).

Après 24h prélever les colonies bien isolées (1 à 3 colonies) à l'aide d'une anse de Platine et pose dans 9 ml d'eau physiologique stérile. Cette suspension bactérienne est ajustée (ajout de la culture bactérienne ou ajout de l'eau physiologique) jusqu'à l'obtention d'une densité optique de 0.08 à 0.10 à une longueur d'onde de 625nm (**Bendahou et al., 2007**).

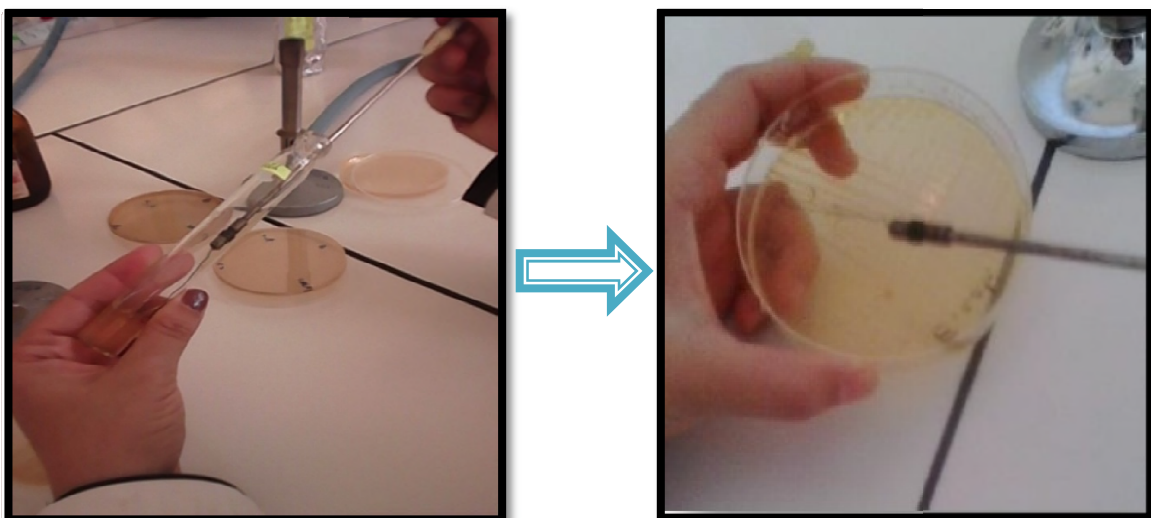
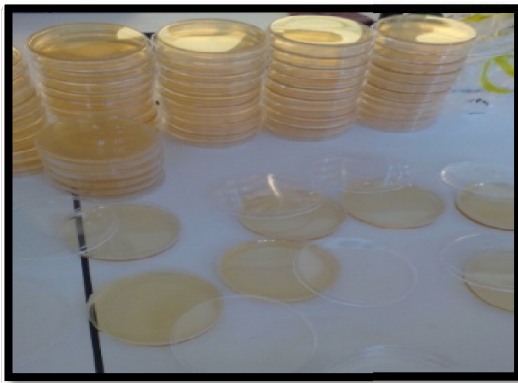


Photo 04 : Etape de repiquage des bactéries dans les boite de pétrie.

❖ L'ensemencement des bactéries

Cette opération se fait après le coulage de gélose (Mueller-Hinton) stérile dans des boîtes de pétri avec une épaisseur de 4 mm (**photo 05**), l'ensemencement est effectuée par écouvillonnage, à partir de l'inoculum préparé. Il consiste à imbiber un écouvillon de coton stérile dans la suspension à trois répétitions sur la totalité et autour du bord de la surface gélosée de façon à former des stries serrées, un étalement uniforme en nappe, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum (**photo 06**).

**Photo 05:** Coulage de gélose.**Photo 06:** Ensemencement des bactéries**❖ Disposition des disques**

Les disques ont été trempés à l'aide de micropipette par différentes concentrations des extraits et déposés délicatement sur la surface de gélose (MH) par une pince stérile. Un disque imprégné par les extraits bruts (2ml) et trois disques imprégnés par les extraits dilués (1/2, 1/4, 1/8), tandis que les témoins imbibés seulement par l'eau distillée stérile. Enfin les boîtes sont été incubées à 37 °C durant 24 h (**photo 07**).

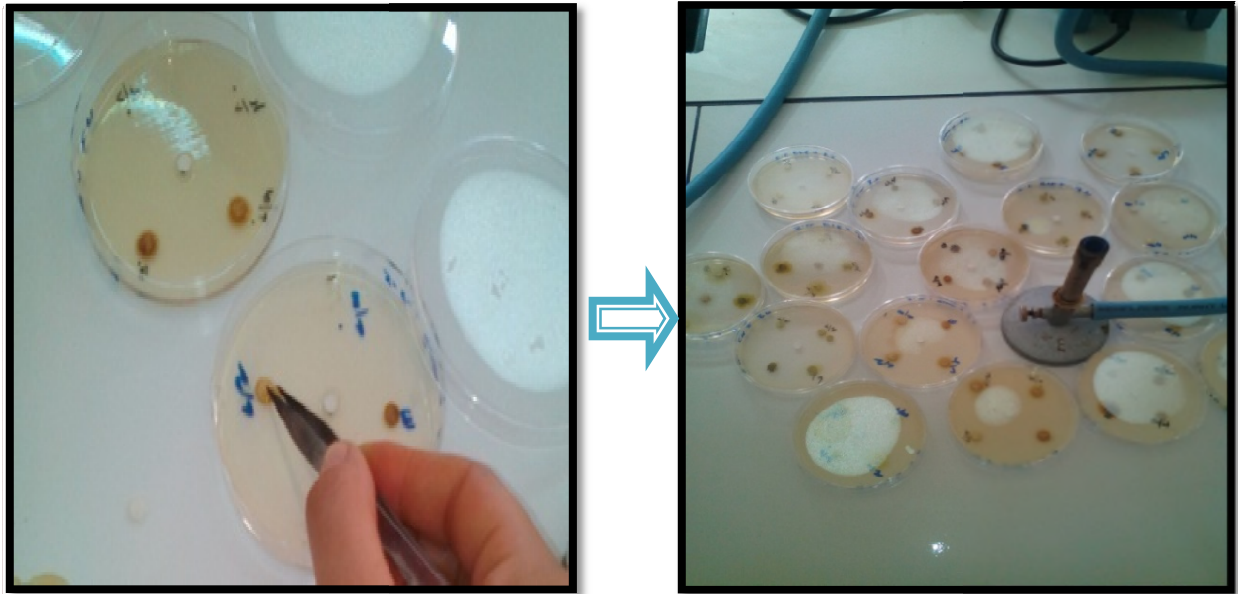


Photo 07 : Technique de disposition des disques.

❖ **Lecture**

La lecture de résultat se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque. Ce disque déterminé par les différentes concentrations des deux extraits (éthanolique et aqueux).

Chapitre II

Résultats et discussion

II. Résultats et discussion

II.1. Résultats de screening phytochimique de *M. spicata* L.

L'étude phytochimique des différentes classes des métabolites secondaires constituant les plantes, nous permet d'avoir une bonne idée sur ses activités pharmacologiques. Nous avons réalisé des tests phytochimiques des différentes parties des plantes (feuilles, tiges, racines). Ces tests sont en relation avec la précipitation, et la coloration par des réactifs spécifiques.

Tableau III: Résultats expérimentaux des tests phytochimiques effectués sur les différentes parties de *M. spicata*.

Les substances testées	Les réactifs utilisés	L'observation	Résultats		
			Feuilles	Tiges	Racines
Saponines	L'eau distillée	Mousse stable	+	+	-
Flavonoïdes	KOH	Couleur jaune claire	++	++	+
	Alcool amylique	Couleur jaune claire	-	-	-
	Magnésiums	Couleur rouge	-	-	-
Cardinolides	Chlorure de fer + Acide sulfurique	Couleur vert Bleuâtre	+	-	-
Tanins	Chlorure de fer	Couleur vert foncé	++	++	++
Glucosides (sucres réducteur)	Réactif de Fehling	Réduction de solution Fehling	++	++	++
Glucosides (kitose)	Molybdate Ammonium + acide Acétique glacial	Couleur bleu	+	+	+
Alcaloïdes	Réactif de Wagner	Couleur brune	+	+	+
Huiles essentielles	L'eau distillée	L'apparition des huiles	+++	+++	++
Stéroïdes et triterpènes	Acide acétiques anhydride + Acide sulfurique	Couleur rouge violet	+	+	-
	Acide sulfurique	Couleur rouge	+	+	-

-: absence, +: présence en faible quantité,

++: Présence à une quantité moyenne, +++: Présence à une quantité importante

A partir de (**tableau III**), les résultats de la composition phytochimique de *M. spicata* L. montre que Cette espèce contient un teneur importante et prédominant des huiles essentielles dans les tiges et les feuilles, et une quantité moyenne dans les racines.

On a noté la présence des sucres réducteurs, des tanins, des flavonoïdes en teneur moyenne dans les différentes parties étudiées mais ce dernier se trouve en faibles quantités dans les racines. Les alcaloïdes, les kitoses, les saponines, les stéroïdes et les triterpènes ont marqué leurs présences en faibles quantités dans les parties étudiées, sauf les trois substances dernière n'existe pas dans les racines.

Les cardinolides sont présents uniquement dans les feuilles mais en faible intensité, les flavonoïdes libres et glucosidiques sont inexistantes dans les trois parties de cette espèce.

II.1.1. Saponines

Après agitation des types a essai on a observé la présence de mousse en faible teneur dans les parties aérien (tiges, feuilles) et l'absence totale dans les racines, Les résultats sont présentés dans le (**tableau III, photo 08**).

Saladji et al., (2014) ont noté la présence des saponines à degré moindre dans les extraits des feuilles et des tiges de *M. rotundifolia*.

Les résultats de **Kasmi (2016)** sur l'analyse phytochimique des extraits bruts de *M. pulegium* montre que les saponines sont fortement présentes dans les extraits eau/acétone.

Selon les chercheurs précédant, l'appariation de mousse stable signifie la présence des saponines, ceci a confirmé de notre résultat, où la mousse rester stable plus 1h dans les feuilles et les tiges.

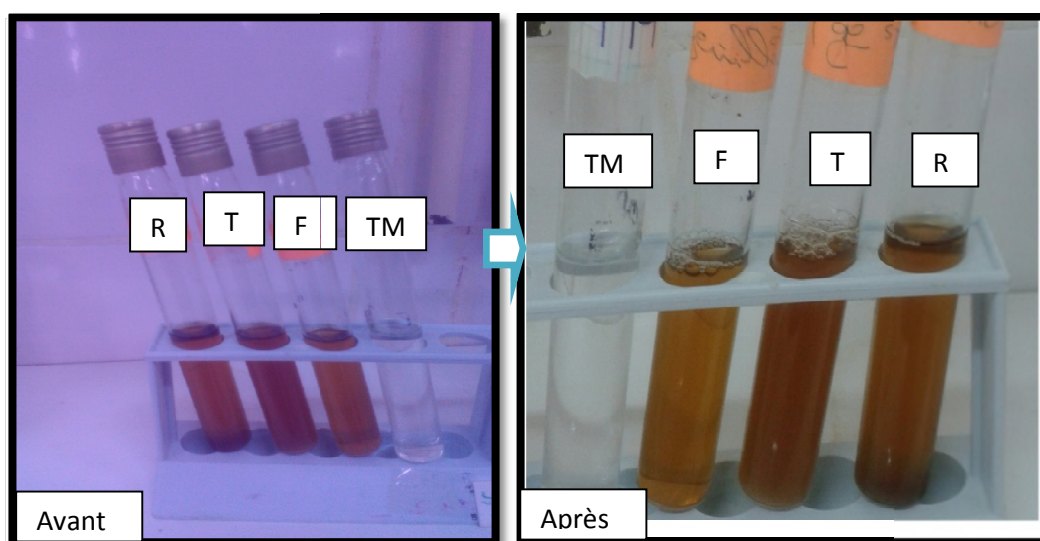


Photo 08: Résultat de test des saponines (formation un mousse stables).

II.1.2. Flavonoïdes

Le test de recherche des flavonoïdes dans les différentes parties de *M. spicata* a donné des réactions positives. On a montré l'apparition de la couleur jaune clair dans les trois parties d'organe (tige, feuille, racine) qui indique la présence de flavonoïdes, en quantité moyenne dans les tiges et les feuilles, et faibles dans les racines, selon l'apparition de couleur (**tableau III, photo 09**).

Par ailleurs **Andrew (2001)** dit que Les flavonoïdes sont des pigments jaunes, et ce sont des composés phénoliques fréquemment présents sous forme hétérosidique, hydrosoluble.

Une étude réalisée par **Saladji et al., (2014)**, sur *Mentha rotundifolia*, montrent que les extraits des feuilles et des tiges sont riches en flavonoïdes. Par ailleurs **Rajinder et al., (2015)**, ont noté la présence des flavonoïdes dans les feuilles de *Mentha piperita* récoltées en Libye.

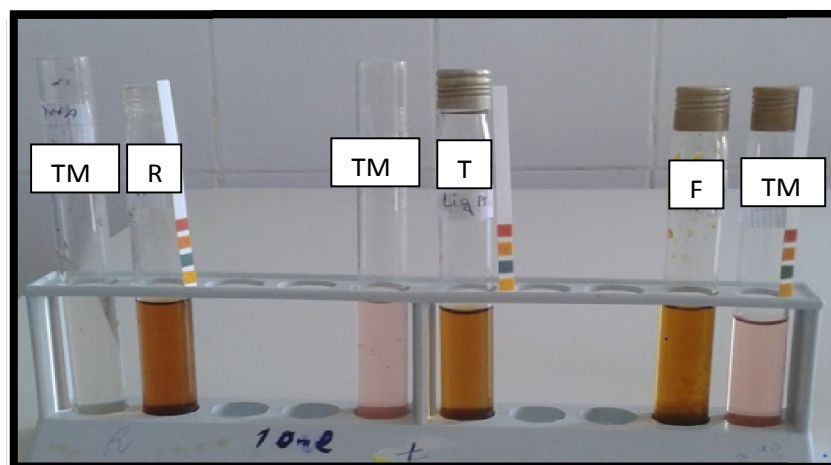


Photo 09: Résultat de test des flavonoïdes (couleur jaune clair).

❖ Flavonoïdes libres

Après l'agitation de filtrat avec alcool amylique, on a observé l'absence de couleur jaune indiquant l'absence des flavonoïdes libres dans toutes les parties, les résultats sont présentés dans le (**tableau III, photo 10**).

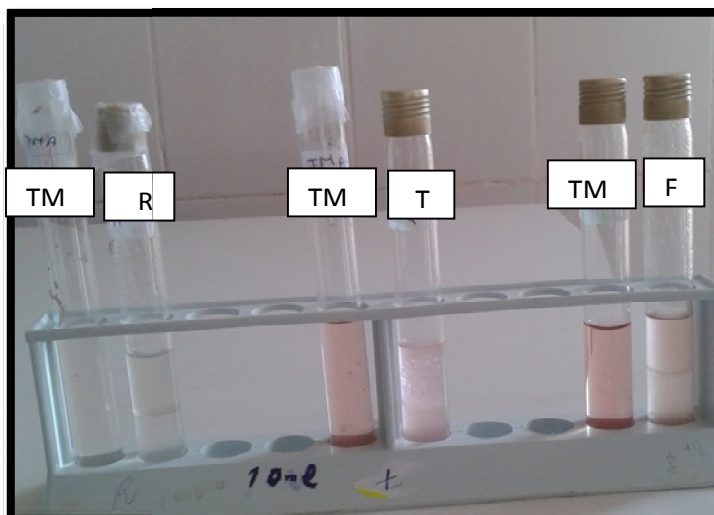


Photo10: Résultat de test des flavonoïdes libre (absences de couleur jaune)

❖ Flavonoïde glucosidiques

Après l'ajoute de Mg dans la solution acidiques, on observe l'absence de couleur rouge qui prouve l'absence des flavonoïdes glucosidiques dans les différent parties des plantes étudié (**tableau III, photo 12**).

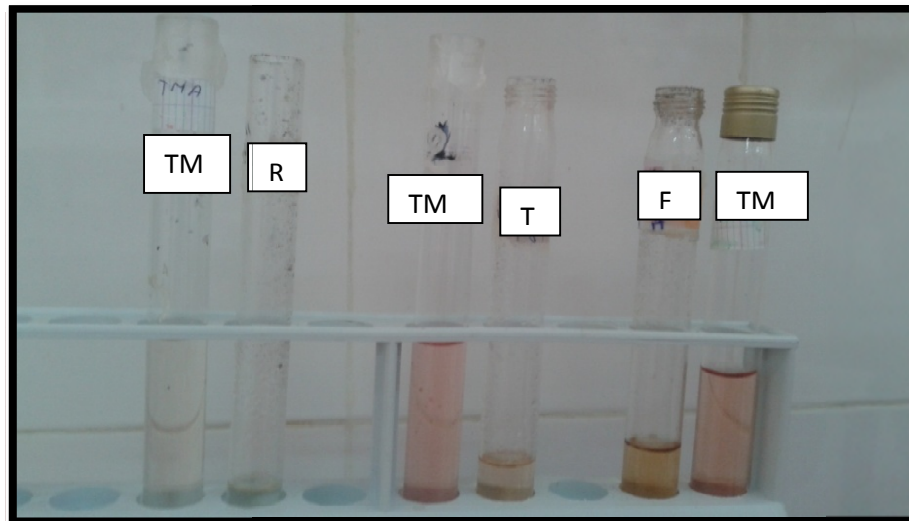


Photo 11: Résultat de test des flavonoïdes glucosidique (absences de couleur rouge).

II.1.3. Cardinolides

Les résultats de la composition physicochimique ont montré que l'apparition de couleur vert bleuâtre à teneur faibles dans les feuilles, indique la présence des cardinolides. Et

l'absence de cette couleur dans les tiges et les racines, qui prouve la pauvreté de cette plante en cardinolides (**tableau III, photo 12**).

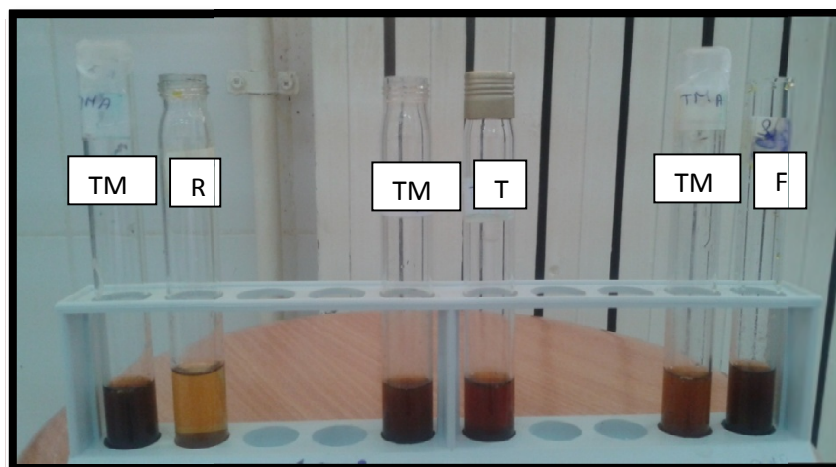


Photo 12: Résultat de test des cardinolides (couleur vert bleuâtre).

II.1.4. Tanins

Après le traitement des extraits par la solution aqueuse du FeCl_3 , l'apparition d'une intensité de la couleur verte foncée montre que les différentes parties des plantes sont présentes des tanins. Le résultat est présent dans le (**tableau III, photo 13**).

Ces résultats comparés avec les études de **Saladji (2015)** sur la *M. rotundifolia* qui montre que les extraits des feuilles et des tiges sont riches en tanins. **Rajinder et al., (2015)** ils ont révélé que l'extrait aqueux, chloroformique, éthanolique et acétate d'éthyle des feuilles de *Mentha piperita* contient des tanins.

Nos résultats sont confirmés par **Makhloufi (2010)** et **Mehalaine (2014)** qui ont étudiés réalisés sur des plantes appartenant de la famille lamiacée (*Thymus vulgare*, *rosmarinus officinalis*).

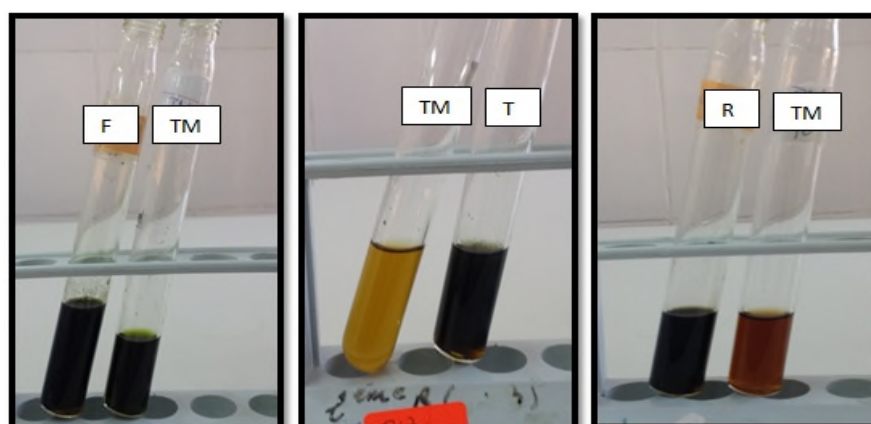


Photo 13: Résultat de test des tanins (couleur vert foncé).

II.1.5. Glucosides

❖ Les sucres réducteurs

La réduction de la couleur par la réaction de Fehling montre que l'extrait de *M. spicata* contient des sucres réducteurs, les résultats se présentent dans le (tableau III, photo 14).

Une étude phytochimique réalisée par **Saladji et al., (2014)**, sur *Mentha rotundifolia* a noté la présence de composés réducteurs dans les extraits des feuilles et des tiges. Une recherche des sucres réducteurs dans les extraits acétones de *M. pulegium* a été réalisée par **Kasmi (2016)** montrant la présence de ces composés.

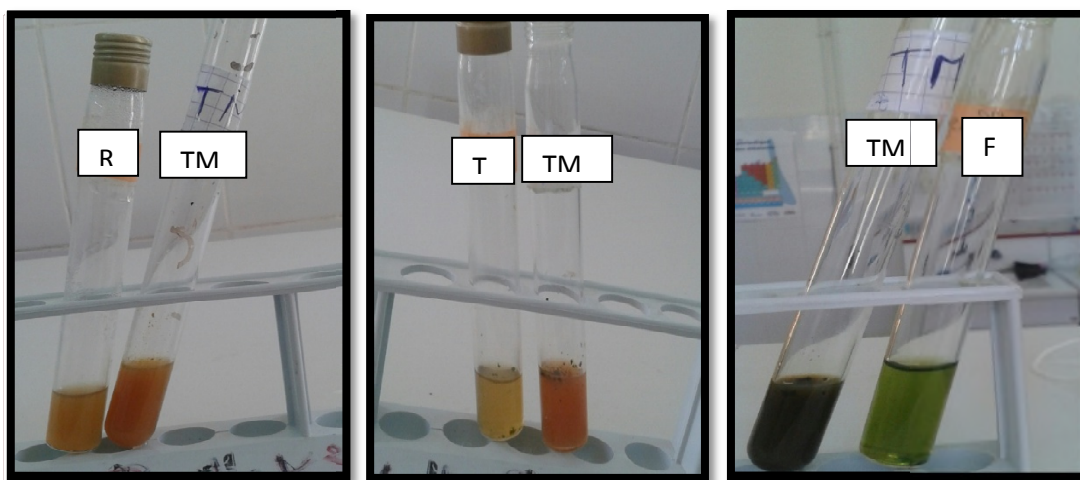


Photo 14: Résultat de test de sucre réducteur (réduction de solution Fehling).

❖ kitose

Les résultats de test conviennent à l'apparition d'une faible couleur bleue dans les parties étudiées, prouvant la présence d'une faible quantité de kitoses (tableau III, photo 15).

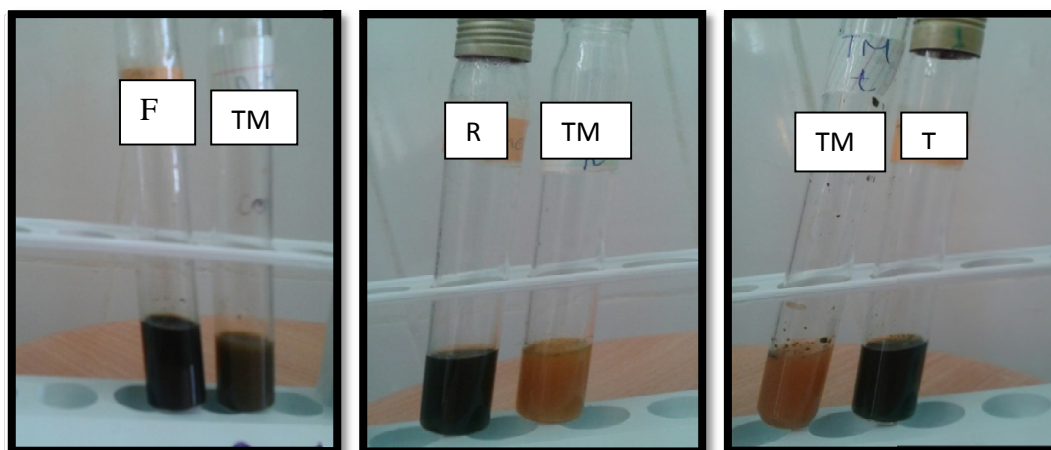


Photo 15: Résultat de test de kitose (couleur bleue).

II.1.6. Alcaloïdes

Dans les résultats de test des alcaloïdes nous remarquons l'apparition d'un faible couleur brune dans les trois parties, qui confirme la présence de ces composées en faibles quantité (**tableau III, photo16**).

Les testes phytochimiques effectués sur les deux extraits eau/ acétone de *M.pulégium* montre que la présence des alcaloïdes (**Kasmi, 2016**).

Par contre, les travaux de **Benomari (2014)** sur la *M. aquatica* ont révélé que les alcaloïdes sels inexistants dans l'extrait aqueux de cette espèce.

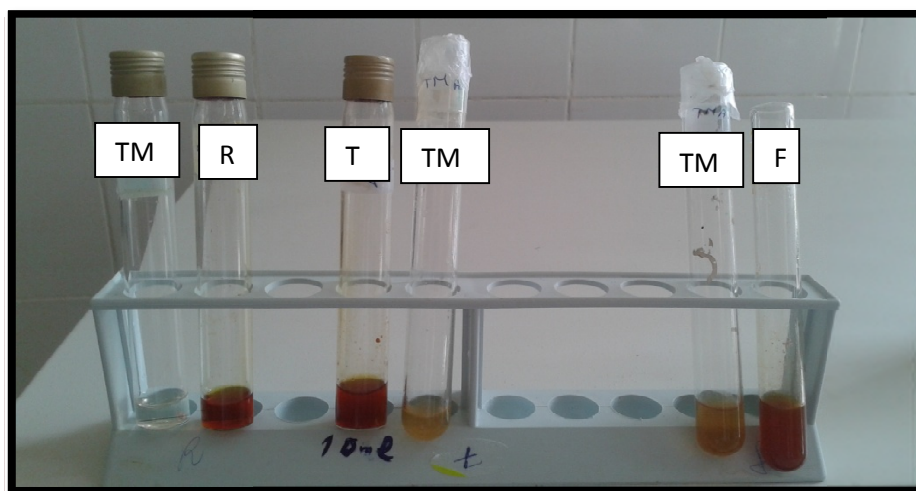


Photo 16: Résultat de test des alcaloïdes (couleur brune).

II.1.7. Huiles essentielles

Le test de recherche des huiles essentielles dans les extraits de plante ont donné des réactions positives. On remarque que les parties aériennes (tiges, feuilles) sont très abondant par cette substances, mais en moins quantité dans les racines (**tableau III**).

Selon **Hikal et omar (1993)** la menthe sont riches en huiles essentielles, **Mahmoudi, (1990)** montre que les composé majoritaire de la *M. spicata* sont des limonènes et des carvons.

Les analyses des huiles essentielles de *M. spicata* indiquent que les composés primordiaux sont des carvones 45%, des cis-carveole 16.9%, des limonènes 10.6% (**Vian et al., 2008**). **Elhassani et al., (2009)** dans leurs études des analyses sur les huiles essentielles de même espèce retrouvée des carvone 76.65%, des limonènes 9.57%, des cineole 1.8-1.93%.

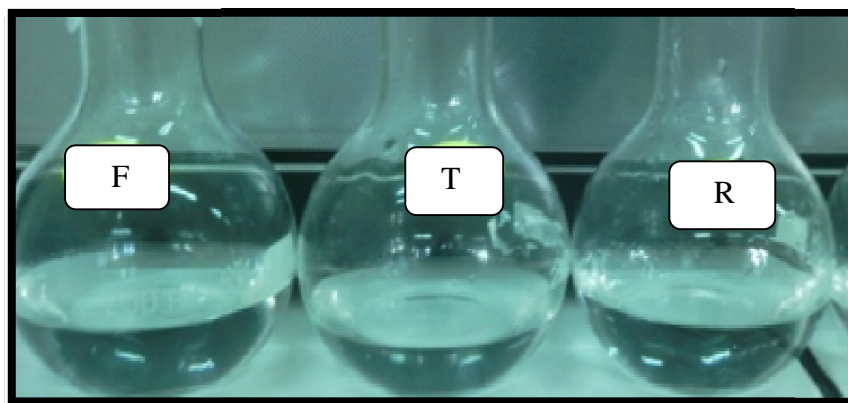


Photo 17: Résultat de test des huiles essentielles.

II.1.8. Stéroïdes et triterpènes

Dans le résultat de ce teste, on remarqué l'apparition un anneau rouge violet à la zone de contact les deux couches en intensité faible dans les tiges et les feuilles, indique la présence de stérols et triterpènes en quantité faible, par contre enregistré l'absence totale dans la partie racinaire (**tableau III, photo18**).

L'analyse phytochimique effectuée sur les feuilles de *M. piperita* à noté la présence terpénoïdes dans l'extrait aqueux, chloroformique, éthanolique et acétate d'éthyle (**Rajinder et al., 2015**).

Une étude réalisée par **Saladji (2015)**, montre que les extraits des feuilles et des tiges de *M. rotundifolia* sont riches en stérols et stéroïdes.

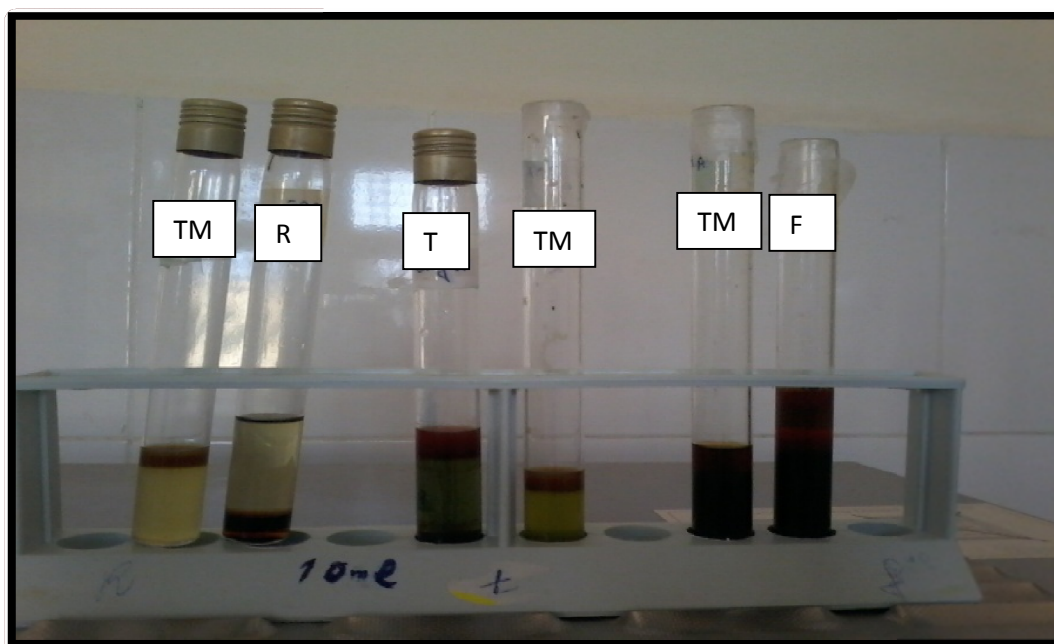


Photo 18: Résultats de test des Stéroïdes et triterpènes (anneau rouge violet).

❖ Dérives des stéroïdes et triterpènes

Après l'ajoutant de acides sulfurique dans la solution chloroformique on remarque la présence d'une faible couleur rouge dans les extraits des feuilles et des tiges, par contre l'absence total de la couleur dans les racines. Ce résultat expliqué l'existence des dérive stériodiques et triterpènes en mois quantité dans les parties aériennes et l'absence dans le partie souterraines (**tableau III, photo19**). Les résultats obtenue confirmer et en accord avec les résultats de teste précédant.

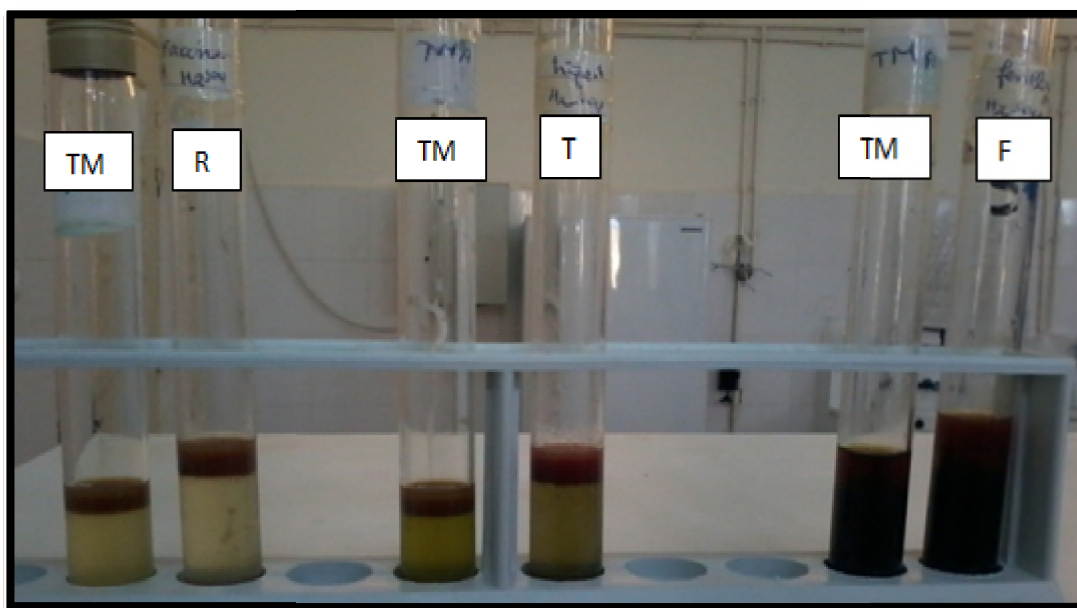


Photo 19: Résultats de test des dérivés Stéroïdes et triterpènes (couleur rouge).

II.2. Résultats de l'activité antibactérienne de *M. spicata*

Nous avons évalué l'activité antibactérienne des extraits (éthanol et aqueux) des parties aérienne (feuilles/ tiges) sur les souches de Gram(-) et Gram(+) par la méthode de diffusion des disques, Cette méthode est intensivement employée pour étudier l'activité antibactérienne des substances naturelles et des extraits des plantes (**Gülçin et al., 2004**).

La méthode de disque a permis de déterminer l'action des différents extraits, vis-à-vis des différentes souches microbiennes, celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné de l'extrait. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'un microorganisme à un autre et d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des extraits s'explique par les variations de leurs compositions chimiques, il a été rapporté, qu'un extrait est considéré comme actif lorsqu'il

induit une zone d'inhibition supérieure à 10 mm (Tekwu et al., 2012). Les valeurs obtenues sont données dans les tableaux (IV, V, VI).

❖ Résultats de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques (01)

Tableau IV: Activité antibactérienne des extraits éthanoliques (01) de *M. spicata* L.

Concentration (mg/ml) Eth (01)	Φ (mm)								
	C ₁		C _{1/2}		C _{1/4}		C _{1/8}		TM (eau)
	F	T	F	T	F	T	F	T	F+T
<i>E. coli</i>	10	06	11	12	12	12	14	14	--
<i>S. aureus</i>	15	03	17	15	19	15	22	15	--

Φ: zone d'inhibition, (--): pas d'inhibition, (T): tiges, (F): feuilles, (TM): témoin

Le pouvoir antibactérien est plus ou moins important selon la nature de la souche et la différente concentration. A partir de résultat de diamètre des zones d'inhibition dans le (tableau IV) on remarque que l'extrait éthanolique (1) possède une activité antibactérienne différente contre *E. coli* et *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition varie entre (03-22). Le TM n'a aucune activité antibactérienne, donc une zone d'inhibition autour de disque imbibé par eau distillée, est totalement absente.

Nous avons remarqué un bon pouvoir antibactérien dans la dilution C_{1/8} de l'extrait contre *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition de (22, 15mm), dans les feuilles et les tiges respectivement, suivie par *E. Coli* avec une zone d'inhibition de (14mm) dans les tiges et les feuilles, on remarque aussi un pouvoir faible dans l'extrait brut (C₁) contre *S. aureus* avec de zone d'inhibition (03mm) dans les tiges.

La sensibilité d'*E. Coli* et de *S.aureus* sur les extraits des feuilles possèdent une activité antibactérienne moyennement important par rapport à des extraits des tiges.

Dans les testes phytochimiques précédant sur la *M. spicata* on a trouvé les huiles essentielles en quantité importants et prédominant (+++). Ces résultats constatent que les extraits sont très riches par ces substances, qui réalisée par plusieurs études sur le genre *Mentha* qui prouve la richesse en huiles essentielles. Il est reconnu que les huiles essentielles

de *M. spicata*, *M. piperita* et *M. pulegium* possèdent des propriétés antimicrobiennes (Daferera et al., 2003; Kaur et Kapoor, 2002).

Brute (2004) explique l'effet des huiles essentielles sur quelque souches bactériennes, ces huiles capables a solubilité dans les glucides qui présente sur la surface des membranes des bactéries, et provoque d'une perturbation sur la perméabilité de membrane bactérienne.

Riahi et al., (2013) ont déterminé le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles des parties aériennes de *M. rotundifolia* (contenant de la pulégone à 32,1% suivi par l'oxyde de pipériténone 17,3%), sur plusieurs souches microbiennes, notamment *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *E. coli*, *Aspergillus niger* et *Candida albicans*.

Les testes phytochimiques précédant révélé la présence des tanins (++) et les flavonoïdes (++) avec une quantité moyennes, qui réaffirmé par l'appariation des couleurs, ces substances possèdent des caractères antibactérienne. Bennis et Chami, (2004) confirmé que les poly-phénols notamment les tanins et les flavonoïdes, sont des substances antibactériennes importantes, les poly-phénols sont capables d'engendrer des dégâts irréversibles au niveau de la membrane bactérienne. D'autre études réalisé par Mori et al., (1987) trouve que les flavonoïdes trihydroxylés 3',4',5' sur le cycle B et substitués 3-OH sont nécessaires pour l'activité antimicrobienne.

Les résultats de diamètre des zones d'inhibition révèlent que le *S. aureus* apparait sensible vis-à-vis des extraits éthanolique (01), avec un diamètre varie entre (15-22) mm des feuilles et (03-15) mm des tiges. Par apport *E. coli* qui apparait moyennement sensibles et augmenter des zones d'inhibition moyennement, avec un diamètre varie entre (10-14) mm des tiges et des feuilles. En fait une autre étude par Barchan et al., (2015) sur l'effet antibactérien des espèces de menthe montré que la plupart des souches Gram (+) sont plus sensibles vis-à-vis des différents extraits avec un diamètre supérieures à 10 mm dans la plupart des cas.

Par ailleurs, d'après ce qu'est rapporté par Basli et Chibane (2012) la paroi des bactéries Gram (+) est riche en protéines tandis que les souches Gram (-), elle est surtout composée en lipopolysaccharides (LPS), la membrane extérieure de ces dernières constitue une barrière efficace à la diffusion des molécules antibactériennes. Le LPS, grâce à ses charges négatives de surface, empêche la diffusion des molécules hydrophobes, et les protéines excluent le passage des molécules hydrophiles de poids moléculaire élevé. Alors que les bactéries Gram (+) sont moins protégées contre les agents antibactériens, le peptidoglycane n'entrave que la diffusion des molécules supérieures à plus de 50 000 D (Hogan et Kolter, 2003).

L'extrait brut C₁ donné des zones d'inhibitions inférieure que les extraits dilués (C_{1/2}, C_{1/4}, C_{1/8}), ce qui explique la dilution augmente l'effet des extraits éthanoliques (1), dont l'activité antibactérienne est proportionnelle à la concentration des extraits.

Les travaux de Sarker *et al.*, (2005), montrent que l'effet d'un extrait est probablement dû à la synergie entre le nombre de composants, qui lorsqu'ils sont séparés deviennent inactifs individuellement.

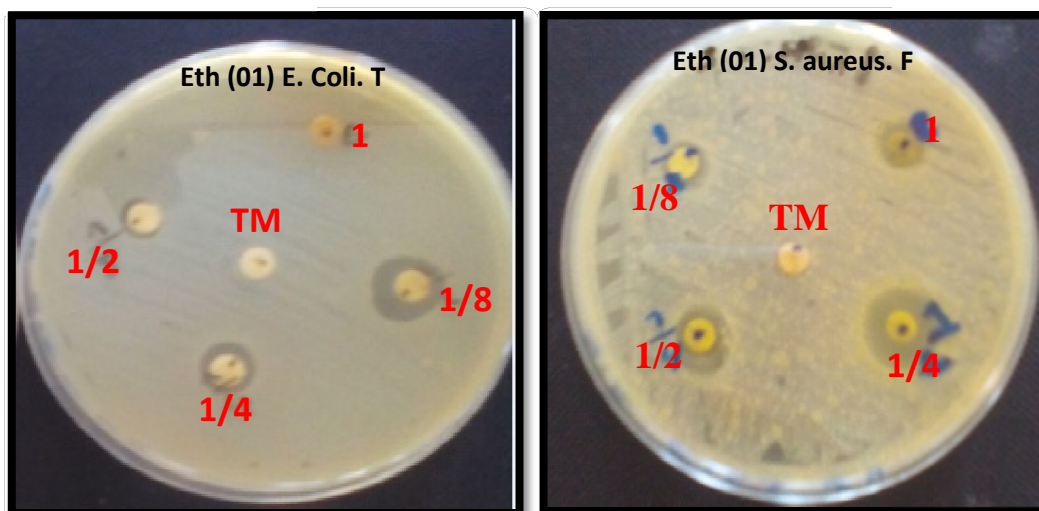


Photo 20: Exemple de l'action inhibitrice des extraits éthanoliques (1) des feuilles et des tiges de *M. spicata* sur les souches de *S. aureus* et *E. coli*.

❖ Résultats de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques (02)

Tableau V: Activité antibactérienne des extraits éthanoliques (02) de *M. spicata* L.

Concentration (mg/ml) Eth (02)		Φ (mm)								
		C ₁		C _{1/2}		C _{1/4}		C _{1/8}		TM (eau)
		F	T	F	T	F	T	F	T	F+T
E. coli	05	--	07	14	08	10	09	09	--	
S. aureus	01	10	06	13	08	12	08	09	--	

Φ: zone d'inhibition, (--): pas d'inhibition, (T): tiges, (F): feuilles, (TM): témoin

D'après les résultats montrés dans le tableau (V) les souches bactériennes utilisées ont réagi plus ou moins bien selon la nature et la concentration du produit végétal, les diamètres des zones d'inhibition sont compris entre 01 et 14 mm. Le TM possède une zone d'inhibition nulle qui prouve l'absence totalement des activités antibactériennes.

Nous avons remarqué un bon pouvoir antibactérien de la dilution $C_{1/2}$ de l'extrait contre *E. Coli* avec une zone d'inhibition de (14mm) suivie par *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition de (13mm), dans les tiges. On remarque aussi un pouvoir faible dans l'extrait brut (C_1) contre *S. aureus* avec de zone d'inhibition (1mm) dans les feuilles, par contre *E. Coli* avec une zone d'inhibition nulle dans les tiges et 5 mm dans les feuilles. On remarque que les extraits éthanoliques (1) est efficace contre les souches bactériennes testé par rapport à des extraits éthanoliques (2).

L'activité antibactérienne des substances naturelles s'explique par la lyse de la membrane. Les huiles essentielles, les flavonoïdes, les alcaloïdes voire même les tanins pourraient induire une fuite d'ions potassium au niveau de la membrane et par voie des conséquences des lésions irréversibles au niveau de cette membrane. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur mort (**Rhayour, 2002**), ces substances actives sont présentent dans notre résultat des testes phytochimiques précédant, dont l'apparition des couleurs explique que les extraits de *M. spicata est* contient en poly-phénols.

Le menthol possède un effet antibactérien contre plusieurs souches pathogènes compris *Clostridium sporogenes*, *Salmonella pullorum* et *Staphylococcus aureus* (**Deans et Svoboda, 1988**).

L'huile essentielle de *M. pulegium* est riche en pulegone (30-70%) (**Aghel et Yamini, 2004 ; Lorenzo et Paz, 2002**). La pulegone est reconnu pour ses effets antibactériens divers. Il a montré un important effet antibactérien contre *S. aureus* (**Duru et Öztürk, 2004**).

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition révèlent qu'*E. Coli* apparait moyennement sensible vis-à-vis d'extrait testé, ces mêmes résultats développent des zones d'inhibition moyennement importantes vis-à-vis de *S. aureus*, dont les diamètres des zones d'inhibition varient (05-14) mm pour *E. coli*, (01-13) mm pour *S. aureus*.

Une autre étude réalisée par **Derwich et al., (2010)**, montre que l'activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *M. rotundifolia* était très importante vis-à-vis de toutes souches testées et particulièrement contre *E. coli* et *S. aureus*, avec des diamètres de l'ordre de 45 et 34 mm, respectivement.

Ladjel *et al.*, (2011) ont démontré que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des parties aériennes de *M. rotundifolia* est importante contre *E. coli*.

L'extrait brut C₁ donné des zones d'inhibitions inférieure que les extraits dilués (C_{1/2}, C_{1/4}, C_{1/8}), ce qui explique la dilution augmente l'effet des extraits éthanoliques (2).

L'efficacité optimale d'un extrait ne peut pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) des différents composés à l'origine de cet extrait (Essawi *et Srour*, 2000).

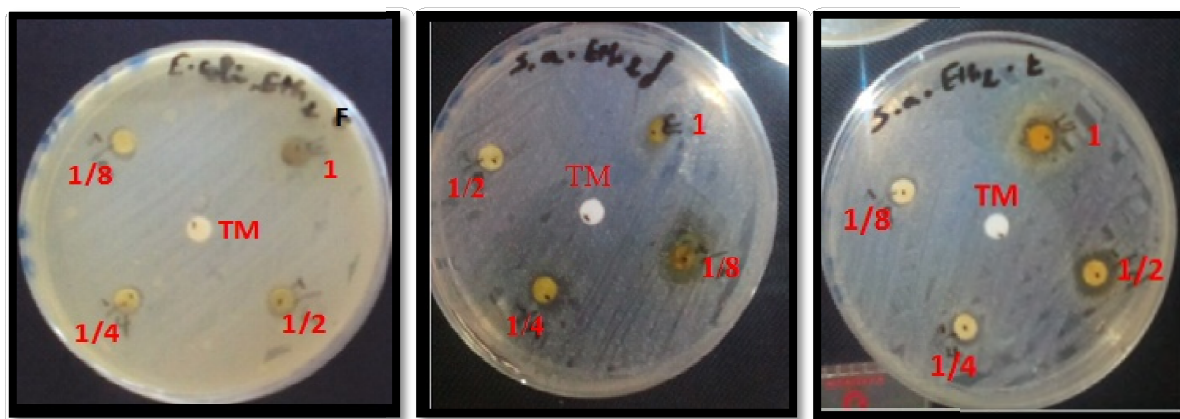


Photo 21: Exemple de l'action inhibitrice des extraits éthanoliques (2) des feuilles et des tiges de *M. spicata* sur les souches de *S. aureus* et *E. coli*.

❖ Résultats de l'activité antibactérienne des extraits (aqueux 01+02)

Tableau VI: Activité antibactérienne des extraits aqueux (01+02) de *M. spicata* L.

Concentration (mg/ml)	Φ (mm)									
	C ₁		C _{1/2}		C _{1/4}		C _{1/8}		TM (eau)	
	F	T	F	T	F	T	F	T	F+T	
E. coli	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
S. aureus	--	--	--	--	--	--	--	--	--	

Φ: zone d'inhibition, (--) : pas d'inhibition, (T): tiges, (F): feuilles, (TM): témoin

D'après le tableau VI, on note que les extraits aqueux (01+02) de *M. spicata* sont inactifs, avec une zone d'inhibition nulle par les deux souches bactériennes, aux différentes concentrations testées.

Notre résultats a été différenciée que les études de **Preeti dixit (2013)** sur la *M. piperita* prouve que les extraits aqueux des feuilles présentent une activité antibactérienne très important pour le *S. aureus* et *E. coli*, avec des diamètres des zones d'inhibition presque similaires.

D'autres études ont été constatées par **Sachinkumar et al. (2016)** sur les études de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *M. piperita* qui a exercé un effet inhibiteur contre *S. aureus* mais aucun effet contre *S. typhi*.

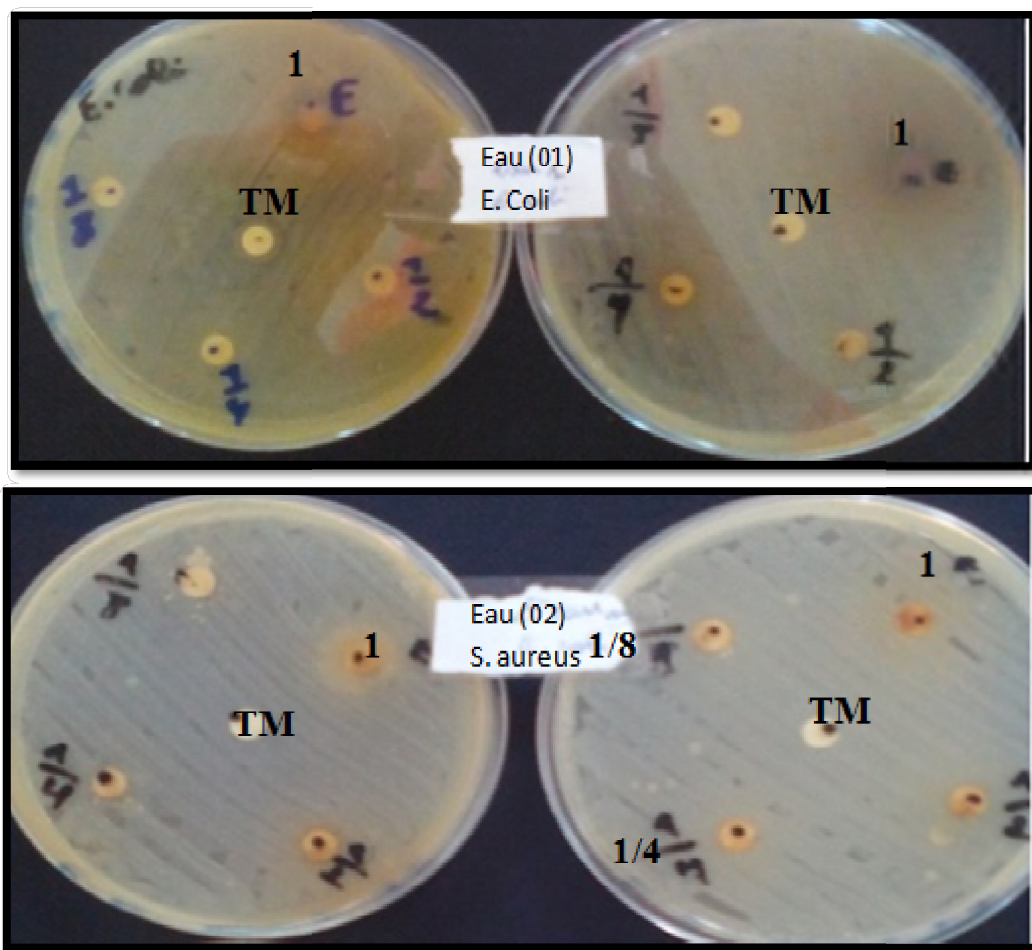


Photo 22: Exemple de l'action inhibitrice des extraits aqueux (01+02) des feuilles et des tiges de *M. spicata* sur les souches de *S. aureus* et *E. coli*.



Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

Les résultats de nos recherches bibliographiques et de nos études expérimentales nous ont permis de mieux connaître *Mentha spicata* L. Ce dernier est une plante médicinale aromatique appartient à la famille de lamiaceae qui utilisées par les thérapeutes traditionnels pour leurs différentes propriétés.

Le présent travail avait pour but, Pour connaître la présence des substances bioactives et évaluation de l'activité antibactérienne.

A la lumière des résultats obtenus des tests phytochimique nous avons révélé la présence des substances bioactives dans les parties étudiée (feuilles, tiges, racines) tel que les huiles essentielles, les flavonoïdes, les tanins et les sucre réducteur en intensité important, et les alcaloïdes, les saponines, les cardinolides, les triterpènes et les stéroïdes se présente en quantité faibles, ces deux dernière ne se trouvent pas au niveau des racines.

L'évaluation du pouvoir antibactérien des extraits a été réalisée sur deux souches bactériennes: *S. aureus* et *E. coli*. Les résultats de l'activité antibactérienne enregistrés de cette étude révèlent la sensibilité variable des agents pathogènes aux extraits testés.

L'effet le plus prononcé est observé avec l'extrait éthanolique (01) vis-à-vis de souche *S. aureus* avec un diamètre de zone d'inhibition varie entre (03-22) mm, suivie par *E. coli* avec un diamètre varie entre (10-14) mm, où l'activité antibactériennes est proportionnelles à la concentration des extrait. Par contre les extraits aqueux (01, 02) qui présente une zone d'inhibition nulle.

Les résultats obtenus sont encourageants pour l'utilisation de menthe comme une source potentielle des molécules bioactives en thérapeutique.



Références

bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Aghel N., Yamini Y., (2004). Supercritical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Talanta* 62: P 407–11.
- Akdoan M., Tamer M.N., Cure E., Cure M.C., Koroglu B.K., Delibat N. (2007). *Phytother. Res.* P 21.
- Alfred Hérault., (2012). *Les 1544 plantes sauvages de la Vendée*. 1er éd – France. P 224.
- Anderson C.M., Hallberg A., Hogberg T., (1996). Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res.* 28: P 65-180.
- Andrews J.M., (2001). BSAC standardized disc susceptibility testing method .J. *Antimicrob Chemother* 4: p 43-57.
- Anton R., Lobstein A., Tec et Doc., (2005). *Lavoisier*. P 7.
- Arumugam P., Gayatri Priya N., Subathra M., Ramesh A., (2008). Anti-inflammatory activity of four solvent fractions of ethanolextract of *Mentha spicata* L. investigated on acute and chronic inflammation induced rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26. P 92–95.

B

- Baba Aissa F., (1999). *Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb)*. Ed. Librairie moderne. ROUIBA. P 172-173.
- Bahorun T., (1997). *Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle*. Food and agricultural resarchcouncil, Réduit, Mauritius. P 83-94.
- Balbaa S.I., Hilal S.H., Zaki A.Y., (1981). *Médicinales utilisation de 400 plantes*. Poulshau en burg. Ferdinande. Paris. P 254-255.
- Barchan A., Bakkali M., Arakrak A., Laglaoui A., (2015). Effet antibactérien et anti-biofilm de trois espèces de *Mentha* : *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* et *Mentha piperita*. p 6-7.
- Basli A., Chibane M., (2012). *Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : Origanum glandulosum Desf.* *Phytothérapie* 10: P2–9

- Bediaga M., (2011).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nuclea Latifoliasmith* une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat. Université de Bamako. P 10.
- Belaïche P., (1979).** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 l'aromatogramme. Ed. Maloine. Paris.
- Beloued A., (2009).** Plantes médicinales d'Algérie. Edition: O.P.U. ELHARRACH. Alger. P 136.
- Benayache F., (2005).** Recherche et Détermination Structurale des métabolites Secondaires d'espèces du Genre *Genista* (Fabaceae) : *G. saharae*, *G. ferox*. Thèse de Doctorat en chimie organiques. Université Mentouri-Constantine. Algérie. P 199.
- Bendahau M., Nenyouchef M., benkhada D., Elissacosta J., (2007).** Influence of the processes extraction on essential oil of *origanum gl and ulosum* .*J. of applied sciences*. 8: P 1152-1157.
- Bennis S.S., Chami F.S., (2004).** Surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae* induced by thymol and eugenol. *Letters in Applied Microbiology*, 38: p 454 – 458
- Benzahi. K., (2001).** Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la Plante cynodn *Dactyloctenium aegyptium*. L. chindent., mémoires de Magister. Université d'Ouargla. P 15-17.
- Benomari F.Z., (2014).** Caractérisation chimique et activités biologiques de volatils de *Mentha aquatica* L. (dormance) de l'ouest Algérien thèse de master d'état en biologie. Université de Tlemcen. P 21.
- Bergogne Bérézin E., Dellamonica P., (1999).** Antibiothérapie en pratique clinique. 2^{ème} Ed. Masson. Paris. France.
- Bhats S.V., Nagasampigib B.A., Sivakumar S.M., (2005).** Chemistry of natural products. Ed. Narosa, Springer, Verlag Berlin Heidelberg. USA. P 840.
- Botineau M., (2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed TEC&DOC, Lavoisier, Paris. P 1021-1043.
- Boudjouref M., (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. P99.
- Bowen I.H., Cubbin I.J., (1992).** *Mentha piperita* and *Mentha spicata*. In: Adverse Effects of Herbal Drugs, De Smet, P.A.G.M., Keller, K., Hänsel, R., and Chandler, R.F., Eds., Adverse effects of herbaldrugs 1. Springer-Verlag, Berlin. P 171–178.

- Briggs C.J., (1993).** Peppermint: Medicinal herb and flavoring agent. *Canad. Pharm. J*, 126: P 89–92.
- Bruneton J., (1993).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Paris, Lavoisier. P 623- 915.
- Bruneton J., (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Ed. Paris. P 101-120-533-536-1120.
- Burt S., (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. *International journal of food microbiology*, 94: p 223-253.

C

- Calsalmiglia S., Busquet M., Cardozop W., Castillejos L., Ferret A. (2007).** Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of dairy science*. Vol. (90): P 2580–2595.
- Casley Smith J.R., Piller N.B., (1993).** Treatment of Lymphedema of the Arms and Legs with 5, 6-Benzo-pyrone, *New Engl. J. Med.*, 329: P 1158-1163.
- CE., (2001).** Commission Européenne : proposition de la commission en matière de lutte contre la résistance microbienne.
- Chadefaud M., Emberger L., (1960).** Traité de botanique (systématique), Masson et Cie.
- Chaouch N., (2001).** Etude des alcaloïdes dans le coloquinte *Colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (Wilaya de ourgla). Mémoire de magister. Université d'Ouargla. P 44.
- Chikhoune., (2007).** les huiles essentielles d'espèces de thym et d'origan. Memoir de magister, INA. Alger. P 118.
- Couplan F., (2000).** Dictionnaire étymologie de botanique .Nestlé (Ed). Luisane. Paris.
- Cowan N. M., (1999).** Plants products as anti microbial agents. *Clinicalmicro biology Reviews*. Vol. 12(4): P 564-582.
- Crietti I., (1981).** Les plantes aromatiques et médicinales, comment les reconnaître et les utilisées, Ed. Atlas. P 128.
- Cronquist A., (1981).** An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ. Press. New York. P 1262.
- Cyril T., (2001).** Etude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de *Catharanthus Roseusen*, vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal. P 28.

D

- Daferera D.J., Ziogas B.N., Polissiou M.G., (2003).** The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. *Crop Protection* 22: P 39–44.
- Deans S.G., Svoboda K.P., (1988).** Antibacterial activity of French Tarragon (*Artemisia dracunculus* Linn.) essential oil and its constituents during ontogeny. *J Hortic Sci* 63: P 503–8.
- Delille L., (2007).** Plantes médicinales d'Algérie. Ed, Bertie, Alger. P 240.
- Delporte G., Mascolo N., Izzo A. A., Etal., (1999).** *Life. Scien.*, 65(4). P 337-53.
- Derwich E., Benziane Z., Boukir A., (2010).** Antibacterial activity and chemical composition of the Leaf essential oil of *Mentha Rotundifolia* from Morocco. *Electronic Journal of Environomental, Agricultyral and Food Chemistry*, 9 (1): p 19-28.
- Dibong S.D., Mpondo Mpondo E., Ngoye A., Kwin M. F., Betti J.L. (2011).** *Journal of Applied Biosciences* 37: P 2496 - 2507
- Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., Capasso F. (1999).** Flavonoids: old and new aspects of a class of natura ltherapeutic drugs. *Life. Sci.* 65 (4): P 337-53.
- Dunstan H., Florentine S.K., Calvino-Cancela M., Westbrooke M.E., Palmer G.C., (2013).** Dietary characteristics of Emus (*Dromaius novaehollandiae*) in semi-arid New South Wales, Australia, and dispersal and germination of ingested seeds. *CSIRO PUBLISHING*, 113: P 168-176.
- Duru M.E., Öztürk M., (2004).** The constituents of essential oil and in vitro antimicrobial activity of *Micromeria cilicica* from Turkey. *J Ethnopharmacol* 94: P 43–8
- Dutertre J.M., (2011).** Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse doctorat d'état, Univ. Bordeaux 2-Victor Segalen U.F.R des sciences médicales, France. P 33.

E

- Elfadl Abdellatif., Chtain Nouredin., (2010).** Etude De Base Sur La Culture De La Menthe Au Maroc.

- El Hassani F.Z., Zinedine A., BendrissAmraoui M., Errachidi F., Mdaghri Alaoui S., Aissam H., Merzouki M., Benlemlih M., (2009).** Characterization of the harmful effect of olive millwastewater on spearmint. *Journal of Hazardous Materials*, 170: P 779–785
- Elqaj M., Ahami A., Belghyti D., (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.
- Emerenciano V.P., Barbosa K.O., Scotti M.T., Ferriro M.J.P., (2007).** *Journal of Brazilian Chemical Society*. 18 (5): P 891-899.
- Eric Dromigny., (2012).** Les critères microbiologique des denrées alimentaires: Réglementation- Agents microbiens- Autocontrôle. 1.éd. France : Lavoisier 75008 Paris. p153.
- Essawi T., Srour M., (2000).** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J Ethnopharm* 70: P 343–9

F

- Ferrazzano G.F., Amato I., Ingenito A., Zarrelli A., Pinto G et Pollio A., (2011).** Plant polyphenols and their anti-carcinogenic properties: a review. *Molecules*, 16: p 1486-507.
- Fioruccis., (2008).** Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes: approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Nice. P 211.

G

- Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A., Rasooli I., (2007).** Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem.*, 102: P 898-904.
- Gamisans J., Jeanmonod D., (1993).** Catalogue des plantes vasculaires de la Corse (seconde édition). Edition des conservatoires et jardin botaniques de la ville de Genève, Chambésy. P 258.
- Gerard J. Tortora., Berdell R. Funke., Christine L. Case., (2011).** Introduction de la microbiologie. 2^{ème} éd- France: Erpi, 5: P 143-149.
- Gherman C., Culea M., Cozar O., (2000).** Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS. 53: P 62-253.

- Gibbons S., (2008).** Phytochemicals for Bacterial Resistance-Strengths, Weaknesses And Opportunities. *Planta Medica*, 74 (6): P 594-602.
- Gorham J., (1977).** Lunularic acid and related compounds in liverworts, algae and hydrangea. *Phytochemistry*. Vol. (16): P 249-253.
- Guignard J.L., Cosson L., Henry M., (1985).** Abrégé de phytochimie. Ed Masson. p175-203.
- Guignard J.L., (1996).** Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. France. P 274.
- Guilhou J.J., Dereure O., Marzin L., (1997).** Efficacy of dafflon 500 mg in venous leg ulcer healing: adouble-blind randomized, controlled versus placebo trial inpatients. *Angiology*. V. 48: P 77-85.
- Gülçin I., Kufreviöglu O.I., Oktay M., Buyukokuroglu M.E., (2004).** Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urticadioica L.*). *J. Ethnopharmacology*. 90: P 205–215.

H

- Hammami S., Abdesselem M., (2005).** Extraction et analyse des huiles essentielles de la menthe poivrée de la région de Ouargla. Thèse IngUniv Blida. P 69.
- Harborne J.B., (1982).** Introduction to Ecologic albiochemistry. AcademicPress, London.
- Harborne J.B., (1973).** Phytochemical methods, London. Chapman and Hall, LTD. P 49-188.
- Harborne J.B., Williams C.A., (2000).** Advances in flavonoid sresearchsince 1992. *Phytochemistry*, 55: P 481–504.
- Haslam E., (1998).** Practical Polyphenolics: From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action. Ed. Cambridge University Press, Cambridge. UK. P 422.
- Haslame E., (1994).** Natural polyphenols (vegatable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod.* Vol. (11): P 41-66.
- Havsteen B.H., (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut.* P 96 -67-202.
- Hilan C., Sfeir R., Jawich D., Aitour S., (2006).** *Journal Scientifique Libanais*, 7: P 13-22.
- Hogan D., Kolter R., (2002).** Why are bacteria referactory to antimicrobials. *Curr Op Microbiol* 5: P 272–4

-Hopkins W. G., (2003). Physiologie végétale. 2^{ème} édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris. P 514.

-Hordé P., (2014). Plantes médicinales-Définition. Consulté le 8 juillet 2015. <http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/faq/32986-plante-medicinale-definition-#simili-main>.

-Huang Guangrong., Jiang Jiabin., DaiDehui., (2008). Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala* S. Moore. African Journal of Biotechnol.7 (9): P 1335-1338.

I

-Iserin P., Masson M., Restellin J.P., (2007). Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins .Ed. Larousse, Paris. France. P 335.

-Iserin P., Masson M., Restellini J.P., Yberte E., De Laage De Meux A., Moulard F., Zha E., De La Roque R., De La Roque O., Vica P., Deesalle-Feat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J., Botrel A., (2001). Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2^{ème} édition de VUEF, Hong Kong. P 335.

J

-Jones J. D., Dangl J. L., (2006). The plant immune system, Nature, 444: P 3

-Judd C., Kellogg S., (2002). Boutanique systématique une perspective phylogénétique. 1^{ère} Ed, Boeck, Paris. P168.

K

-Kamra D.N., Agrwal N., Chaudhary C., (2006). Inhibition of ruminal methane production by tropical plants containing secondary compounds. International Congress Series. Vol. (1293). P 156–163.

-Kansole M., (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* vahl et *Orthosiphon pallidus* royle ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.

- Kasmi H., (2016).** Extraction et dosage de polyphénols et de flavonoïde des extraits des plantes: *Marrubium vulgare*, *Satureja calamintha*, *Mentha pulegium* et *Salvia officinalis*. Thèse de Master d'état en Biologie. Université de Tlemcen .p 31.
- Kaur C., Kapoor H.C., (2002).** Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Internat J Food Sci Technol* 37(2): P 153–61.
- Khanbabaie K., Ree T.R., (2001).** Tannins: Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry*. Vol. (18): P 641-649.
- Khanuja S P S., Shasany A K., Srivastava A., Kumar S., (2000).** *Euphytica*. P 111.
- Krief S., (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. P 32.

ℒ

- Lachance Y., (2001).** Info Essence, Bulletin sur les huiles essentielles et autres extraits végétaux. N°17: p 1-9
- Ladjet S., Gherraf N., and Hamada D., (2011).** Antimicrobial effect of essential oils from the Algerian Medicinal plant *Mentha rotundifolia* L. *Journal of Applied Sciences Research*, 7(11): P 1665-1667.
- Lahlou M., (2004).** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytother. Res.*, 18: P 435- 448.
- Lamarti A., Badoc A., Deffieux G., et Carde J .P., (1994).** Biogénèse des monoterpènes I- localisation et sécrétion. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 133: P 69-78.
- Leinmuller E., Steingass H., Menke K.H., (1991).** Tannins in feeds for ruminants. II Effects on rumen metabolism in vitro. *Übersichtenzur Tierernährung*. Vol. (19): P 45–70.
- Leung A.Y., Fosrer S., (1996).** -Encyclopedia of common naturel ingredients used in food, drugs and cosmetics, a Wiley-Interscience Publication. P 649.
- Leybros J., Fremeayx P., (1990).** Extraction solide-liquide aspects théoriques. *Techniques de l'ingénieur, Génie des procédés*. Vol. (2J2780): J2780.1-J2780. P 22.
- Ling W.H., Jones P.J.H., (1995).** Dietary phytosterols of metabolism benefits and side effects. *Review life science*, 57: P 195-206.
- Loomis D., Croteau R., (1980).** Biochemistry of Terpenoids: A Comprehensive Treatise. In: P. K. Stumpf and E. E. Conn (eds.) *the Biochemistry of Plants. Lipids: Structure and Function* No. 4: p 364-410.

-**Lorenzo D., Paz D., (2002)**. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. *Brazilian Arch Biol Technol* 45(4): P 519–24

M

-**Mahmoudi Y., (1990)**. La thérapeutique par les plantes communes en Algérie. Ed. Palais du livre, Blida. P 71.

-**Makhloufi A., (2010)**. Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre. Thèse de Doctorat d'état en Biologie. Université de Tlemcen. P 77.

-**Makkar H.P.S., (2003)**. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*. Vol. (49). P 241-256.

-**Mangan J. L., (1988)**. Nutritional effects of tannins in animal feeds. *Nutr. Res. Rev.* Vol. (1). P 209-231.

-**Martini M.C., Seiller M., (1999)**. Actifs et additifs en cosmétologie, Editions Tec & Doc Paris. P 214-219.

-**Mauro N. M., (2006)**. Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs: la (\pm) anatoxine-a et la (\pm) camptothécine, thèse doctorat, l'université Joseph Fourier Grenoble. P 13-16-28.

-**Mayachiew P., Devahastin S., (2008)**. Antimicrobial and antioxidant activities of Indiangooseberry and galangal extracts. *Food Science and Technology* 41: p 1153-1159.

-**Mcsweeney C.S., Palmer B., McNeill D.M., Krause D.O., (2001)**. Microbial interaction with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. Vol. (91): P 83-93.

-**Medic Sanic M., Jasprica I., SmolicBubalo A., Mornara A., (2004)**. Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenolic acids, *Croatica Chemica Acta*. P 361-366.

-**Mehalaine S., (2014)**. Evaluation de la teneur en huiles essentielles en polyphénols et de l'activité antibactérienne de l'Algérie. Poster de séminaire national de Centre Universitaire de Mila.

-**Meyer S., Reeb C., Bosdeveix R., (2004)**. Botanique Biologie et Physiologie Végétales. Editions Maloine, Paris.

-**Meyer A., Deiana J., (1988)**. Cours de microbiologie générale. Doin éditeurs, paris. p 201.

-Mori A., Nishino C., Enoki N., Tawata S., (1987). Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*. 26: P 2231-2234.

-Murry R. D. H., Mendez J., Brown S. A., (1982). *The Natural Coumarins Occurrence Chemistry and Biochemistry*. Ed Chichester John Wiley and Sons, UK. New York. England. P 702.

N

-Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S.M., Ghorbani A., (2005). *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 4(2): P 63-79.

-Newman D.J., Cragg G.M., (2012). Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* Vol. (75): P 311-335.

- Nicolas Blot., (2012). *Atlas illustré des plantes médicinales et curatives*. 1ère Ed, Asie, de Borée. P18.

O

-Omar Abdul Razzaq., Mohamed et Sayed haykle., (1993). *Plantes médicinales et aromatiques* deuxième édition, installations connaissances d'Alexandrie. p13-134.

-Omulokolie E., Khan B., Chhabra S.C., (1997). Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 56: P 133-137.

-Oomah B.D., Tiger N., Olson M., Balasubramanian P., (2006). Phenolic and oxidative activities in Narrow-Leafed Lupins (*Lupinus angustifolius* L). *Plant foods for Human Nutrition* 61: P 91-97.

-Ozenda P., (1977). *Flore du Sahara*. 2ème Ed. CNRS. Paris.

P

-Packer L., (2001). *Flavonoids and other polyphenols*. Ed Academic Press, California. P 483.

-Pandey KB., Rizvi SI., (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Vol. 2 (5). P 270-278.

-Paris R., Moyse H., (1965). *Précis de matière médicale*. Ed. masson et curie. Tome 1. p 416.

- Paris M., Hurabielle M., (1981).** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome. Ed. Masson. P 339.
- Pawlowska AM., Deleo M., Braca A., (2006).** Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits: Identification of anthocyanins and gallic acid derivatives. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 54 (26): P 10234-10238.
- Peeking A., Picand B., Hacene K., Lokiec F., Guerin P., (1987).** Oligimère procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique. Artères et Veines. Publications médicales AGCF. Vol. (6): P 51-178-512.
- Preeti Dixit., (2013).** Comparative screening of antibacterial activity of *andica* with *Mentha piperita* against human pathogenic micro-organisms. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences.* 3(1): P 85-88.
- Privas E., (2013).** Matériaux ligno-cellulosiques «Élaboration et Caractérisation laboration ». Thèse de Doctorat en Science et génie des matériaux, L'École Nationale Supérieure des Mines, Paris. France. P 166.

Q

- Quezel P., Santa S., (1963).** Nouvelle Flore d'Algérie et des régions Désertiques Méridionales. Tome I et II. CNRS.

R

- Rajinder S., Muftah A.M., Shuchni., Asma B., (2015).** Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* (L). *Arabian Journal of Chemistry*, 8: P 322-328.
- Rasooli I., Fakoor M.H., Yadegarinia D., Gachkar L., Allameh A., Rezaei M.B., (2008).** Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *Food Chemistry*: p 135-140.
- Rhayour K., (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*, Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès. Maroc. P 158.
- Riahi L., Elferchichi M., Ghazghazi H., Jebali J., Ziadi S., Aouadhi C., Chograni H., Zaouali Y., Zoghlami N., Mliki A., (2013).** Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia. *Industrial Crops and Products*, 49: P 883– 889

- Ribereau-Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux.
- Richter G. (1993).** Métabolisme des végétaux. Physiologie et Biochimie. Ed. Presses Polytechniques et Universitaire, Romandes. Suisse. P 526.

S

- Sachinkumar C.R., Rahul S., Godghate A.G., (2016).** Mentha piperita linn: phytochemical, antibacterial and dipterian adulticidal approach. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 8: P 975-149.
- Sarker S.D., Latif Z., Gray A.I., (2005).** Natural products isolation. Humana Press (Totowa). P 1-23.
- Sarni-Manchado P., Veronique C., (2006).** Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC, Paris (France). P 398.
- Seenivasan P., (2006).** In vitro antibacterial activity of som plant essential oils. Journal of complementary and alternative medicine. Vol. (9): P 6-39.
- Seladji M., Belmekki N., Bekhechi C., Bendimerad N., (2014).** Antioxidant and Antimicrobial Activity of Aqueous and Methanolic Extracts of *Mentha rotundifolia* L. from Algeria. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., 40: P 228-234.
- Seladji M., (2015).** Etude de phytochimique, activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de cinq plantes médicinales et analyse de leurs huiles essentielles. Thèse de doctorat d'état en biologie. Université de Tlemcen. P 60.
- Scalbert A., Williamson G., (2000).** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. Journal of Nutrition. Vol. (130). P 2073-2085.
- Siegenthaler W., Luthy R., (1978).** Current chemotherapy. Proceeding 10th international congress of chemotherapy. II. Washington DC. Am. Soc. Microbial.
- Steven P., Rachel C., Martha E., Paul H., Jane S., Peter W.J., (2004).** Microbiology of Waterborne Diseases. Ed Elsevier Academic Press. P 71-132.

T

- Tadros S. H., (1979).** Pharmacognostical study of entrolobium cyclocarpum griseb growing in egypt. Ph. D. thesis. Faculty of pharmacy. Cairo university. Florida state horticultural society. P 426.

- Tekwu EM, Pieme AC, Beng VP., (2012).** Investigations Of Antimicrobial Activity Of Some Cameroonian Medicinal Plant Extracts Against Bacteria And Yeast With Gastrointestinal Relevance. *Journal Of Ethnopharmacology*, 142: P 265-273.
- **TEP. The Egyptian pharmacopeia, (1963).**
- Tipu M. A., Akhtar M. S., Anjum M. I., Raja M. L., (2006).** New dimension of medicinal plants as animal feed. *Pakistan Veterinary Journal*. 26 (3): p 144–148.
- Tsuchiya H., Linuma M. (2000).** Reduction of membrane fluidity by antibacterial Sophora flavanone G isolated from *Sophora exigua*, *Phytomedicine*, 7: P 161-165.
- Tucker AO., RFC Naczi. (2007).** *Mentha: Un Aperçu De La Classification et Les Relations.* En 16-17: Laurent, BM, Ed, Monnaie. Du Genre *Mentha*. P 16-17.

V

- Valnet J., (1984).** *Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes.* Maloine S.A. éditeur. Paris. P 544.
- Vaverková Š., Mistrìková I., Hollá M., (2009).** *Plant soil environ.* 55 (10): P 6.
- Vemerris W., Nicholson R., (2006).** *Phenolic compound biochemistry.* Ed Springer. P 6-15.
- Vian M.A., Fernandez X., Visinoni F., Chemat F., (2008).** Microwave hydro diffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. *Journal of Chromatography A*, 1190, P 14–17.
- Viegi L., Pieroni A., Guarrera P.M., Vangelisti R., (2003).** A review of plants used in folk veterinary medicine in Italy as basis for a databank. *Journal of Ethnopharmacology*. 89: P 221–244.
- Vincken J.P., Heng L., De Groot A., Gruppen H., (2007).** Review Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry* 68: P275-297.

W

- Wichtel M. et Anton R., (1999).** *Plantes thérapeutiques: tradition, pratiques officinales, science et thérapeutiques.* Ed. Tec et Doc.
- Wichtel M., Anton R., (2009).** *Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique.* Édition LAVOISIR, Paris. P 38-41.
- Wilhem N., (1998).** *Botanique générale, 10ème. Ed, Boek Paris.*

Références bibliographiques

-Wollgast, J., Anklam, E., (2000). Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. Food Research International 33: P 423 - 447.

-Wu T., Zang X., He M., Pan S., Xu X., (2013). Structure–activity relationship of flavonoids on their anti-Escherichia coli activity and inhibition of DNA gyrase, J. Agric. Food Chem., 6: P 8185-8190.

Z

-Ziegler J., Facchini P.J., (2008). Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. Annu Rev Plant Biol. Vol (59): P 735-769.

Références bibliographiques

قائمة المراجع باللغة العربية:

- لطرش أمينة. (2011). الأعشاب الطبية ممارسات و تصورات مقارنة أنثربولوجية، جامعة منتوري قسنطينة.
- محمد السيد هيكل، عبد الله عبد الرزاق عمر. (1993). النباتات الطبية و العطرية، كيمياؤها، إنتاجها، فوائدها منشأة المعارف بالإسكندرية.
- عبد الباسط محمد السيد. (2009). قاموس الطب البديل أكثر من 2000 عشبة. شركة ماس للنشر والتوزيع، ص 766.

Sites d'internet:

- **Anonyms. (2017).** www.phytomania.com/menthe.htm

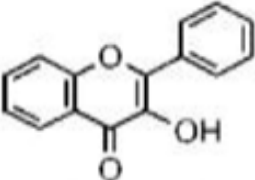
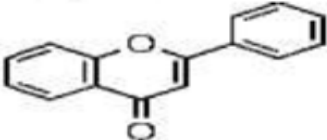
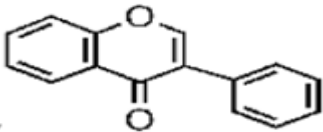
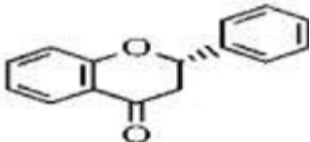
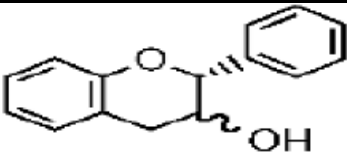
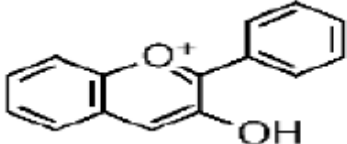
- **Anonyms. (2017).** <https://www.rhs.org.uk/Plants/11055/i-Mentha-spicata-i/Details>

-**Anonyms. (2017).** <https://www.antibio-responsable.fr/bacteries/classification>



Annexe

Annexe 01: Les différentes classes des flavonoïdes

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

Annexe 02: Les produits chimiques

- Acide Acétique Anhydride
- Acide acétique glacière
- Acide Hydrochlorique
- Acide sulfurique
- Acide sulfurique concentré
- Acide tartrique
- Alcool Amylique
- Chlorure de fer (FeCl_3)
- Chloroforme-Eau distillée
- Chlorure de fer
- Chlorure de sodium Na Cl
- Ethanol
- Hydroxyde Ammonium
- Hydroxyde de sodium
- Molybdate Ammonium

Annexe 03 : Préparation des solutions pour l'analyse biochimique

❖ Réactif de Wagner

Iodure de potassium KI	2g
Iode I_2	1.3g
Eau distillé	75ml puis ajusté 100 ml d'eau distillée.

❖ **Solution de Fehling**

Fehling A..... 5ml
Fehling B..... 5ml
Eau distillée..... 90 ml

❖ **Ethanol 70%**

Ethanol70ml
Eau distillée.....30ml

❖ **Chlorure ferrique**

Chlorure ferrique.....0.1g
Eau distillée.....100ml

❖ **Eau physiologique**

Chlorure de sodium (Na Cl)..... 9g
Eau distillée..... 1000 ml
Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

Annexe 04: Appareillage et verreries

❖ **Appareillage**



Rota vapeur



Bain-marie



Etuve



Agitateur magnétique



Bac benzène



Appareil de distillation



Condensateur red



balance

❖ **Verrerie**

- Les flacons
- Erlenmeyers
- Tubes à essai
- La fiole jaugée
- Les pipettes
- Anse de platine
- La pince
- La Poire
- Béchers
- Papier filtre
- Entonnoirs
- Ampoule à décanter

- Papier Aluminium
- Spatule
- Boite de pétrie
- Papier Wattman
- Papier de PH

Annexe 05 : Composition de certains milieux de culture

❖ Le bouillon nutritif :

- Extrait de viande sec..... 5g
- Bacot peptone10g
- Chlorure de sodium..... 5g
- Eau distillé..... 1000ml
- pH7, 2 - 7,4
- Stérilisation par autoclavage pendant 20 min à 120°C.

❖ Mueller-Hinton:

- Infusion de viande de bœuf..... 300.0
- Hydrolysate de caséine.....17, 5 g
- Amidon..... 1,5 g
- Agar..... 15,0 g
- pH finale..... 7-4 (environ)
- Stérilisation à 120°C pendant 20 min

الملخص:

يتضمن هذا العمل دراسة بعض المواد الفعالة لنبات النعناع الأخضر *M. spicata* L. ، الذي ينتمي للعائلة الشفوية، حيث أظهرت نتائج الحصر الكيميائي الأولي أن هذا النبات يحتوي على الزيوت الطيارة، التربينات، الفلافونويدات والغلوكوسيدات بنسبة كبيرة. أما القلويدات، الصابونيات، التربينات الثلاثية و المركبات الاسترولية فتوجد بنسبة قليلة في الأوراق و الساق ، و لم تظهر في الجذور. أما بالنسبة للكاردينوليدات فقد ظهرت في الأوراق فقط. النشاطية المضادة للبكتيريا للمستخلصات ، تمت عن طريق الانتشار ضد سلالتين بكتيريتين (*S. aureus*, *E. coli*)، أظهرت النتائج أن المستخلصات الاثانولية كان لها تأثير أو تأثير قوي على (*S. aureus*, *E. coli*). في حين كانت منعدمة بالنسبة للمستخلصات المائية لنفس السلالتين.

الكلمات المفتاحية: النعناع الأخضر (*M. spicata* L.)، المسح الكيميائي، المواد الفعالة، النشاط ضد البكتيريا.

Résumé:

Ce travail inclut l'étude de quelques substances actives de menthe vert (*M. spicata* L.) qui appartient à la famille de lamiaceae, les résultats de screening photochimiques ont montré que cette plante contient des huiles essentielles, des flavonoïdes, des tanins et glucosides en quantité important, tandis que les alcaloïdes, les saponines, les stéroïdes et tritérpenes, se présentent en quantité faible dans les feuilles et les tiges , et absences dans les racines, cependant les cardinolides se trouvent uniquement dans les feuilles.

Le pouvoir antibactérien des extraits a été réalisés par la méthode de diffusion des disques à deux souches bactériennes (*S. aureus*, *E. coli*), les extraits ethanologiques ont révélés actifs ou ont un effet fort sur (*E. coli*, *S. aureus*). Par contre les extraits aqueux sont inactif et nulle sur les même souches.

Mots clés: menthe vert (*M. spicata* L.), screening photochimiques, substances bioactive, activité antibactérienne.

Abstract:

This work included the study of some active substances the mint green (*Mentha spicata* L.) is a pertaining to lamiaceae family. The result Phytochemical screening showed that these plants contain essential oils, falvonoide, Tannins, glycoside, a significant amount, while the alkaloid, saponines, triterpenes and steroids the little amount, but these two are not found in the roots. Whereas cardinolids are founds only in for leafs.

The antibacterial potency of the extracts was evaluated by the disque diffusion method on two bacterial strains (*E. coli*, *S. aureus*). The ethanolic extracts were active or a high effect against (*E. coli*, *S. aureus*). The aqueous extracts were inactive a two strains.

Keywords: mint green (*Mentha spicata* L.), Phytochemical screening, Bioactive substances, Antibacterial activity.