

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de biologie appliquée

كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم البيولوجيا التطبيقية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnel

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Bio-industrie, Analyse et Contrôle (BAC)

N° d'ordre :  
N° de série :

Intitulé :

---

**Extraction des métabolites bioactifs à partir de *Mentha pulegium* et  
*Lavandula angustifolia* Mill et mise en évidence de leurs activités  
biologiques; anti-oxydante et antibactérienne**

---

Présenté par : RAMOUL Loua  
AZZIZI Sara

Le 22/06/2022

Jury d'évaluation :

**Président:** Dr. NEMOUCHI Sara MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1.  
**Encadreur :** Dr. CHERFIA Radia MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1.  
**Examineur :** Dr. HALMI Sihem MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1.

Année universitaire  
2021 – 2022

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de biologie appliquée

كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم البيولوجيا التطبيقية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnel

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Bio-industrie, Analyse et Contrôle (BAC)

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

**Extraction des métabolites bioactifs à partir de *Mentha pulegium* et  
*Lavandula angustifolia* Mill et mise en évidence de leurs activités  
biologiques; anti-oxydante et antibactérienne**

---

Présenté par : RAMOUL Loua  
AZZIZI Sara

Le 22/06/2022

Jury d'évaluation :

**Président:** Dr. NEMOUCHI Sara MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1.  
**Encadreur :** Dr. CHERFIA Radia MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1.  
**Examineur :** Dr. HALMI Sihem MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1.

Année universitaire  
2021 - 2022

## **Remerciements**

*Tout d'abord, nous remercions **Allah** le tout puissant, de nous avoir accordé la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements et notre grande gratitude à notre encadrant **Dr. CHERFIA RADIA (MCB, Département de Biologie Appliquée - UFM Constantine 1)** pour sa confiance, sa qualité d'encadrement professionnelle et sa patience ainsi que pour les précieuses informations qu'elle nous a prodiguées avec intérêt et compréhension malgré sa charge professionnelle.*

*Merci aux membres de jury d'avoir accepté d'évaluer notre travail ; **Dr. Nemouchi Sara et Dr. Halmi Sihem (MCB, Département de Biologie Appliquée - UFM Constantine 1).***

*Un grand merci à **Dr. BOUDERSA Nabil**, chef de laboratoire de biochimie, pour son aide précieuse et sa disponibilité.*

*À tous nos enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie, et surtout du département de biologie appliquée, de l'université frères Mentouri Constantine 1.*

*Un grand merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, d'une façon ou d'une autre, à l'aboutissement de ce travail.*

## ***Dédicaces***

*Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce travail de recherche à ceux qui, autant de phrases et d'expressions, aussi éloquents quelles soient ne sauraient exprimer ma reconnaissance en vers eux.*

*À ma mère **SIHEM**, qu'aucun hommage ne saurait transmettre sa valeur. Tu es, et tu restera ma référence, j'implore dieu, tout puissant, de t'accorder une bonne santé, une longue vie afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois.*

*À mon père **BADREDDINE**, j'ai de la chance de t'avoir comme père, Merci d'avoir été toujours là pour moi, papa, je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir que dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, et te protège de tout mal.*

*À ma chère sœur **RODEINA** ma confidente, mon bras droit, quoi que je vous dise, je ne saurais exprimer l'amour et la tendresse que j'ai pour vous, puisse dieu, le tout puissant, vous préserve du mal, vous comble de santé et de bonheur.*

*À mon frère **OUSSAMA** je prie dieu le très haut qu'il t'accorde santé, bonheur et longue vie.*

*À ma tante **Soraya***

*À toute ma famille*

*À mon binôme **SARA** je te remercie pour les moments qui vont sûrement rester gravés dans nos mémoires.*

*Sans oublier **MERIEM** et **ABDELATIF** pour leur encouragement et leur soutien moral.*

*À ceux qui ont quitté cette vie mais qui auraient certainement été si fiers de ma réussite.*

## ***LOUA***

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce travail de recherche*

*À Ma mère Sana, ma source d'inspiration et mon exemple de courage et d'ambition qui m'a toujours donné la force d'aller de l'avant grâce à sa patience.*

*À Mon père Hocine, pour son amour, sa confiance et son respect de mes choix.*

*Mes chers parents, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien-être. Je vous remercie pour le soutien, la confiance et l'amour que vous me portez chaque jour et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.*

*À Mon rayon de soleil, ma petite sœur MALEK et à mes meilleures sœurs AMANI et BESMA mes source de bonheur et de soutien.*

*À Mon mari DHIA ELHAK pour son amour, son assistance morale, ses conseils et encouragements pendant mes études et toute la durée de ce travail*

*À mon binôme LOUA, je te remercie pour les moments qui vont sûrement rester gravés dans nos mémoires*

*À toute ma famille que j'aime de tout mon cœur.*

*À mes vrais amis et à tout ce que j'aime et qui m'aiment.*

*À la mémoire de ceux qui ont quitté cette vie mais qui resterons dans mon cœur à jamais.*

*À tout ce qui veulent toujours le meilleur pour l'Algérie.*

**SARA**

## Table des matières

Remerciements	
Table des matières	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
<b>Introduction</b> .....	1
<b>I- Revue bibliographique</b> .....	3
I.1- Plantes médicinales.....	3
I.2- Famille <i>Lamiaceae</i> .....	3
I.2.1- <i>Mentha pulegium</i> .....	4
I.2.1.1- Description botanique.....	4
I.2.1.2- Taxonomie.....	5
I.2.1.3- Noms et synonymes.....	5
I.2.1.4- Phytochimie .....	6
I.2.1.5- Utilisation traditionnelle.....	6
I.2.1.6- Effets thérapeutiques.....	7
I.2.2- <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.....	7
I.2.2.1- Description botanique.....	7
I.2.2.2- Taxonomie.....	8
I.2.2.3- Noms et synonymes.....	8
I.2.2.4- Phytochimie.....	9
I.2.2.5- Utilisation traditionnelle.....	9
I.2.2.6- Effets thérapeutiques.....	10
I.3- Extraction des substances phytochimiques.....	10
I.3.1- Historique.....	10
I.3.2- Méthodes d'extraction.....	11
I.3.2.1- Extraction liquide-liquide.....	11
I.3.2.2- Extraction solide-liquide.....	12
I.3.2.3- Autres méthodes d'extraction.....	16
I.3.3- Choix de la méthode d'extraction.....	19
I.3.4- Paramètres influençant l'extraction.....	19
<b>II- Matériel et méthodes</b> .....	21
II.1- Matériel végétal.....	21

II.2- Préparation des plantes.....	21
II.3- Préparation des extraits.....	21
II.3.1- Macération à froid.....	22
II.3.1.1- Criblage phytochimique.....	22
II.3.2- Hydro-distillation.....	24
II.3.3- Extraction par soxhlet.....	25
II.4- Evaluation du rendement d'extraction.....	26
II.5- Dosage colorimétrique des composés phénoliques.....	26
II.5.1- Dosages des poly-phénols totaux.....	26
II.5.2- Dosage des flavonoïdes.....	27
II.6- Activités biologiques.....	27
II.6.1- Activité anti-oxydantes.....	27
II.6.1.1- Piégeage du radical libre (DPPH).....	27
II.6.1.2- Pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	28
II.6.2- Activité antibactérienne.....	29
II.7- Analyse statistique.....	31
<b>III- Résultats et discussion.....</b>	<b>32</b>
III.1- Criblage phytochimique.....	32
III.2- Rendement d'extraction.....	34
III.3- Dosage des composés phénoliques «poly-phénols et flavonoïdes totaux».....	36
III.4- Activités biologiques.....	37
III.4.1- Activité anti-oxydante.....	37
III.4.1.1- Piégeage du radical libre (DPPH).....	37
III.4.1.2- Pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	40
III.4.2- Activité antibactérienne.....	43
<b>IV- Conclusion et perspectives.....</b>	<b>53</b>
<b>V- Références bibliographiques.....</b>	<b>54</b>
ملخص	
Résumé	
Abstract	
Annexe	

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau 01	Classification botanique de <i>M. pulegium</i> .	05
Tableau 02	Noms et synonymes de <i>M. pulegium</i> .	05
Tableau 03	Composition chimique d'huiles essentielles de différentes Origines.	06
Tableau 04	Classification botanique de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	08
Tableau 05	Noms et synonymes de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	09
Tableau 06	Criblage phytochimique de deux plantes <i>M. pulegium</i> et <i>L. angustifolia</i> Mill.	32
Tableau 07	Rendements d'extraction des trois extraits de <i>M. pulegium</i> et de <i>L. angustifolia</i> Mill.	34
Tableau 08	Dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux des extraits de <i>M. pulegium</i> et de <i>L. angustifolia</i> Mill.	36
Tableau 09	Zones d'inhibition de l'activité antibactérienne d'extraits des plantes, d'ATB et du DMSO.	44
Tableau 10	Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits végétaux obtenus sur les souches bactériennes testées.	51



## Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 01	Morphologie de quelques plantes de la famille <i>Lamiaceae</i> .	04
Figure 02	Morphologie de <i>Mentha pulegium</i> .	04
Figure 03	Morphologie de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	08
Figure 04	Extraction liquide-liquide discontinue par décantation.	11
Figure 05	Schéma de la macération.	12
Figure 06	Système d'hydro diffusion.	13
Figure 07	Schéma du montage d'hydrodistillation.	14
Figure 08	Schéma du montage de soxhelet.	16
Figure 09	Schéma du montage d'extraction au CO <sub>2</sub> .	16
Figure 10	Schéma de l'extraction assistée par Micro-ondes.	17
Figure 11	Schéma d'extraction aux ultra-sons.	18
Figure 12	Plantes étudiées ; <i>M. pulegium</i> (A) et <i>L. angustifolia</i> Mill (B).	21
Figure 13	Extraction des huiles essentielles ; Hydro-distillateur (A), Clevenger (B).	25
Figure 14	Extraction par soxhelet.	25
Figure 15	Pourcentages d'inhibition des extraits de <i>M. pulegium</i> (A) et de <i>L. angustifolia</i> Mill (B).	38
Figure 16	Valeurs des CI <sub>50</sub> d'acide ascorbique et des trois extraits de deux plantes ; <i>M. pulegium</i> et <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	39
Figure 17	Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique et des trois extraits de <i>M. pulegium</i> (A) et de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill (B).	41
Figure 18	Valeurs des CE <sub>50</sub> d'acide ascorbique et des trois extraits de deux plantes <i>M. pulegium</i> et <i>L. angustifolia</i> Mill.	42
Figure 19	Zones d'inhibition d'extraits des plantes, d'ATB et du DMSO sur la bactérie <i>B. cereus</i> .	45
Figure 20	Zones d'inhibition d'extraits des plantes, d'ATB et du DMSO sur la bactérie <i>S. aureus</i> .	46
Figure 21	Zones d'inhibition d'extraits des plantes, d'ATB et du DMSO sur la bactérie <i>E. coli</i> .	47
Figure 22	Zones d'inhibition d'extraits des plantes, d'ATB et du DMSO sur la bactérie <i>P. aeruginosa</i> .	48

### Liste des abréviations

<b>Abréviation</b>	<b>Terme</b>
<b>AA</b>	Acide ascorbique
<b>ABS</b>	Absorbance
<b>BN</b>	Bouillon nutritif
<b>CAT</b>	Capacité anti-oxydante totale
<b>CE<sub>50</sub></b>	Concentration efficace médiane
<b>Chap</b>	Chapman
<b>CI<sub>50</sub></b>	Concentration inhibitrice à 50%
<b>CMB</b>	Concentration minimal bactéricide
<b>CMI</b>	Concentration minimal inhibitrice
<b>DMSO</b>	Dimethyl Sulfoxyde
<b>DO</b>	Densité optique
<b>DPPH</b>	2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl
<b>EAA</b>	Equivalent acide ascorbique
<b>EAG</b>	Equivalent acide gallique
<b>EQ</b>	Equivalent quercétine
<b>FRAP</b>	Pouvoir réducteur du fer
<b>GN</b>	Gélose nutritive
<b>HE</b>	Huile essentielle
<b>MCK</b>	Mac Conkey
<b>MH</b>	Mueller Hinton
<b>MS</b>	Matière sèche
<b>pH</b>	Potentiel d'hydrogène
<b>PI%</b>	Pourcentage d'inhibition
<b>Rd%</b>	Rendement
<b>Sab</b>	Sabouraud
<b>T</b>	Témoin
<b>UV</b>	Ultra-violet
<b>V</b>	Volume
<b>µL</b>	Microlitre

# **Introduction**

## Introduction

L'intérêt pour les produits naturels connaît depuis quelques années une importance grandissante. Cet intérêt se manifeste par une demande croissante de produits naturels bio actifs dénués de tout effet nocif, par le souci de protéger l'environnement. La région méditerranéenne, d'une manière générale, avec son climat doux et ensoleillé est particulièrement favorable à la culture de plantes aromatiques et médicinales (Ministère de l'Agriculture, 1996).

Les plantes médicinales ont été utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire de milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante (Boudjouref, 2011).

Spécifiquement, les plantes de la famille *lamiaceae* sont très utilisées en thérapeutique, les extraits de ces plantes sont largement exploités dans la médecine traditionnelle, depuis des siècles contre une multitude de maux. Ce qui a conduit les chercheurs dans le monde des plantes médicinales en quête de molécules naturels d'origine végétale efficace sans aucun effet indésirable (Boudjouref, 2011).

Dans notre travail, nous nous sommes intéressés aux plantes de la famille *Lamiaceae* en raison de résoudre nombreux problèmes tels que la résistance des bactéries aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques. Dans cette optique nous avons choisi deux plantes ; *Mentha pulegium* et *Lavandula angustifolia* Mill pour réaliser notre étude qui vise ces objectifs :

- Criblage et propriétés phytochimiques de deux plantes ; *Mentha pulegium* et *Lavandula angustifolia* Mill ;
- Extraction des différents métabolites en utilisant différentes méthodes et solvants ; hydrométhanol par macération, hexane par soxhlet et huile essentielle par hydro-distillation ;
- Evaluation des activités anti-oxydante et antibactérienne des extraits ainsi que leurs combinaisons.

Pour ce faire, le présent travail comporte quatre parties principales. La première partie est une revue bibliographique qui se focalise tout d'abord sur les plantes médicinales ; en particulier les deux plantes de notre étude *Mentha pulegium* et *Lavandula angustifolia* Mill avec la détermination de quelques méthodes d'extraction des substances phytochimiques. La deuxième partie se repose sur la description du matériel biologique ainsi que les techniques utilisées pour la réalisation de nos objectifs. La troisième partie est consacrée aux différents résultats obtenus, leurs interprétations et discussion. En fin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats issus de cette étude et ouvre des perspectives de recherche sur le thème étudié.

# **Revue bibliographique**

## I- Revue bibliographique

### I.1- Plantes médicinales

Les plantes médicinales avec ses différentes parties (feuilles, racines, grains, fleurs, fruits,...) sont utilisées depuis longtemps par l'homme pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour prévenir, soigner et soulager diverses maladies (Sanago, 2006). Selon les données de l'organisation mondiale de la santé (OMS), 14 à 28 % des plantes dans le monde sont répertoriées comme ayant un usage médicinal (Fransworth et *al.*, 1986 ; Padulosi et *al.*, 2002).

Des enquêtes réalisées au début du XXI<sup>e</sup> siècle révèlent que 3 à 5 % des patients des pays occidentaux, 80 % des populations rurales des pays en développement et 85 % des populations au sud du Sahara utilisent les plantes médicinales comme principal traitement (Najjaa et *al.*, 2011). A chaque mal son remède naturel (Chahine, 2007), par exemple pour la digestion intestinale ; la menthe poivrée, le thym, la camomille, le séné, la sauge... sont les plantes les plus efficaces, l'infection urinaire (verge d'or, bouleau...) ; l'immunité (tilleul, échinacée pallida...) ; le cœur (aubépine...) ; la dépression légère (millepertuis...) ; le sommeil (houblon, valériane) ; les maladies respiratoires (thym, eucalyptus, fenouil, tilleul...) ; la nervosité (valériane, passiflore, mélisse).

Ces plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et la synthèse des médicaments, non seulement lorsque leurs constituants sont utilisés directement comme agents thérapeutiques mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou modèle pour les composés pharmaco-logiquement actifs (Amenah, 2006).

### I.2- Famille *Lamiaceae*

La famille *Lamiacées* connue également sous le nom des Labiées, qui dérive du nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles (Chemat et *al.*, 2012 ; Bouhaddouda, 2016). Cette famille est l'une des premières familles à être distinguées par les botanistes, composée de 258 genres principalement *Lavandula*, *Mentha*, *Origan*, *Romarinus*, *Thymus*, *Salvia*... et 6900 espèces ; se sont des angiospermes dicotylédones à fleurs herbacées ou arborescentes très parfumées (Guignard, 2001 ; Spichiger et *al.*, 2004 ; Silvant, 2014). Beaucoup de Lamiacées sont utilisées comme des légumes, ou en pharmacie et en parfumerie pour leurs essences : Romarin, Basilic, Thym, Lavande, Menthe (Guignard et Dupont, 2004). Les figures ci-dessous représentent quelques plantes de la famille *Lamiaceae* (Figure 1).



**Figure 1.** Morphologie de quelques plantes de la famille *Lamiaceae* (Anonyme 1, 2022).

### **I.2.1- *Mentha pulegium***

*Mentha* est un genre de la famille des labiées incluant 20 espèces répandues dans le monde entier. Ces plantes portent le nom d'une nymphe grecque métamorphosée en végétal.

La *Mentha pulegium* est une herbacée vivace très odorante à inflorescence formée de nombreux verticilles très denses, feuillés, distants.

#### **I.2.1.1- Description botanique**

Le nom de « pouliot » vient du latin *pulegium*, qui dérive de *pulex* : la puce. La plante ayant la propriété d'éloigner les puces (Gamisans et Jeanmonod, 1993). Cette plante est une herbacée vivace se développant dans les lieux humides et inondés a odeur aromatique forte et qui peut atteindre 15 à 40 cm d' hauteur (Figure 2).



**Figure 2.** Morphologie de *Mentha pulegium* (Anonyme 2).



Selon Dellille (2007) et Bencheikh (2012), *Mentha pulegium* possède des tiges à portion carrée qui sont dressées ou plus petites, vertes ou grises, avec des branches. Elle contient aussi des feuilles opposées et petites qui sont presque toutes ovales ou oblongues (légèrement dentelées) avec un court pétiole. Les fleurs de cette espèce émergent en été ; de mai à fin septembre, elles sont rose lilas, parfois blanches et se rassemblent sous forme de feuilles de glomérules largement attachées à la tige.

### **I.2.1.2- Taxonomie**

La classification botanique de *M. pulegium* est représentée dans le tableau 1 (Santa et Quezel, 1968 ; Guignard et Dupont, 2004).

**Tableau 01.** La classification botanique de *M. pulegium* (Santa et Quezel, 1968 ; Guignard et Dupont, 2004).

<b>Règne</b>	Végétale
<b>Embranchement</b>	Phanérogames ou Spermaphytes
<b>Sous-embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous-classe</b>	Gamopétales
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	<i>Lamiacées</i>
<b>Genre</b>	<i>Mentha</i>
<b>Espèce</b>	<i>Mentha pulegium</i>
<b>Sous espèce</b>	<i>Mentha pulegium ssp. Pulegium</i>

### **I.2.1.3- Noms et synonymes**

Les noms et les synonymes de *M. pulegium* selon (Dellille, 2007 ; Sutour, 2010) sont illustrés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 02.** Noms et synonymes de *M. pulegium* (Dellille, 2007 ; Sutour, 2010).

<b>Nom botanique</b>	<b>Nom commun</b>	<b>Nom vernaculaire</b>
<i>Mentha pulegium.</i>	En français : Herbe aux puces, Herbe de saint Laurent, Bléchon, Pouliot. En anglais: Penny royal.	En arabe : Feliou En targui ou berbère : Afligou, Félgou, Moursal, Temarsa.

#### I.2.1.4- Phytochimie de *M. pulegium*

Les polyphénols, les terpènes et l'huile essentielle sont considérés comme les principaux composés chimiques responsables de l'activité pharmacologique des espèces appartenant au genre *Mentha*. Cependant, la plupart des études ont porté sur les huiles essentielles, alors qu'il y a beaucoup moins de rapports concernant les activités biologiques des extraits polyphénoliques de ces espèces (Stagos et al., 2012).

#### A- Huiles essentielles

La menthe pouliot contient des huiles essentielles qui se présentent comme étant un liquide rouge jaunâtre, d'odeur très forte, soluble dans l'alcool et composé de 75 à 80% de pulégone (liquide incolore d'odeur aromatique à propriétés antiseptiques), de menthol, de limonène lévogyre et de dipentène (Beloued, 2009).

Le rendement moyen en huiles essentielles a été exprimé en millilitre par rapport à 100 g de matière végétale sèche. Ce taux est de 3,30 % pour la menthe pouliot (Hmiri et al., 2011).

**Tableau 03.** Composition chimique d'huiles essentielles de différentes origines (Sutour, 2010).

Constituants	Maroc	Inde Hymalaya	Egypte	Uruguay	Autriche	Grèce
Menthone	0,3	8,3-8,7	-	3,6	8,0	-
Isomenthone	-	3,8-4,0	-	12,9	-	-
<i>cis</i> -isopulégone	-	-	-	1,4	-	-
Menthol	0,7	-	-	0,1	-	-
Néomenthol	-	-	-	-	-	-
Pulégone	80,3	65,9-83,1	43,5	73,4	-	-
Pipéritone	0,9	1,3-3,2	12,2	0,1	70,0	-
Pipériténone	-	-	-	0,9	-	83,7-97,2

La menthe pouliot contient également des sucres, des tanins, des matières résineuses, des matières pectiques et cellulosiques, de l'oxydase, de la peroxydase et de la catalase (Fournier, 1999).

#### I.2.1.5- Utilisation traditionnelle

La menthe pouliot a surtout des vertus thérapeutiques, insecticides, que culinaire à cause de son goût plus amer. Utilisée dans ses différents états, nous procure une multitude de modes d'emploi et recettes. Il semble que dans le temps des anciens, elle était méconnue, utilisée uniquement pour former des couronnes qu'ils portaient lors des cérémonies religieuses. Par contre, les chinois connaissaient ses propriétés calmantes et antispasmodiques, Hippocrate la considérait comme excitante alors que Pline à constater son effet antalgique (Kebissi, 2004).

Les HEs de *Mentha pulegium* sont aussi très utilisées dans l'industrie des cosmétiques, de la parfumerie et l'industrie alimentaire (les arômes) pour aromatiser les sauces, les desserts et les boissons. Ses HE sont aussi adoptées dans l'aromathérapie (une technique thérapeutique par le massage) pour stimuler les personnes fatiguées, elle soulage les douleurs névralgiques (Sutour, 2010).

#### **I.2.1.6- Effets thérapeutiques**

La plante entière s'utilise en inhalation, en infusion ou en décoction dans du lait ou du thé, elle est conseillée en cas de refroidissements, de rhume, de grippe, de bronchite, de toux et de douleurs abdominales (Gardès et al., 2003).

Les parties aériennes fleuries de *Mentha pulegium* ont été utilisées depuis longtemps comme antiseptique, pour le traitement de grippe, de sinusite, de cholera, d'intoxications alimentaires et de tuberculose (Mahboubi et Haghi, 2008).

La menthe pouliot combat l'ingestion (troubles digestif) et l'insuffisance biliaire. Elle rétablit les troubles gastriques comme les crampes et les gaz intestinaux, et considérée comme excellent carminative contre les ballonnements, elle est également cholagogue en plus efficace contre les brûlures d'estomac (stomachique) (Baba, 2000).

#### **I.2.2- *Lavandula angustifolia* Mill**

La lavande officinale, ou lavande à feuilles étroites est une espèce des sous-arbrisseaux de la famille *Lamiaceae*. C'est une plante qui est appréciée pour son odeur et pour la qualité olfactive de son huile essentielle.

##### **I.2.2.1- Description botanique**

*Lavandula officinalis* ou *lavandula angustifolia* a été découverte par Linné, l'étymologie de lavande vient du latin «lavare» qui signifie laver, et l'adjectif « Angustifolia » vient du latin « angustus » qui signifie « étroite » et de « folia » ou « folium » qui désigne la feuille (Chenikher et al., 2020). C'est un arbrisseau buissonnant pouvant atteindre 1 m de hauteur, originaire des basses montagnes du bassin méditerranéen, elle pousse en altitude au-dessus de 1000 m sur des coteaux arides, calcaires et ensoleillés (figure 4) (Aimene et Bellil, 2019).



**Figure 3.** Morphologie de *Lavandula angustifolia* Mill (Anonyme 1, 2022).

Selon Laib et Barkat (2011), *Lavandula angustifolia* Mill possède des tiges ligneuses, des feuilles étroites, linéaires et de couleur gris vert et ont une longueur variant entre 3 et 5 cm. Les fleurs de cette espèce sont bleu violet, apparaissant en épis associés à deux petites bractées ovales et pointues.

#### I.2.2.2- Taxonomie

La classification botanique de *Lavandula angustifolia* Mill est la suivante :

**Tableau 04.** Classification botanique de *Lavandula angustifolia* Mill (Quezel et Santa,1963).

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous-embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous-classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	<i>Lavandula</i>
<b>Espèce</b>	<i>Lavandula officinalis</i> / <i>Lavandula Angustifolia</i>

#### I.2.2.3- Noms et synonymes

Les noms et les synonymes de *Lavandula angustifolia* Mill selon Domergue (2009) sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 05.** Noms et synonymes de *L. angustifolia* Mill (Domergue, 2009).

Nom botanique	Nom commun	Nom vernaculaire
<i>Lavandula officinalis</i> / <i>Lavandula angustifolia</i>	En français : Lavendula vera, lavande des Alpes, lavande fine. En anglais : Lavande Anglaise	En arabe: khozama

#### I.2.2.4- Phytochimie

La vraie lavande renferme 0,5 à 3% d'huile essentielle, dans laquelle on trouve : l'acétate de linalyle (40 à 50%), linalol (30 à 40%), en partie libre et en partie combiné avec l'acide acétique, butyrique et valérianique. Géraniol, pinène, acides-phénols, bornéol, cinéol, ethylamylcétone (elle donne l'odeur de la lavande). On trouve également dans les sommités fleuries les substances telles que : coumarines, flavonoïdes, tanins (Jean et Zahalaka, 2009).

#### A- Huiles essentielles

En général, l'huile essentielle de lavande s'agit d'un liquide limpide, incolore à jaune pâle et d'odeur caractéristique (Chenikher et *al.*, 2014).

*Lavandula officinalis* est constituée principalement de linalyl acétate (32,98 %), linalool (28,92 %),  $\beta$ -caryophyllène (4,62 %), acétate de lavandulyle (4,52%), Z- $\beta$ -ocimène (4.44%), terpinène-4-ol (4,32 %), E- $\beta$ -ocimène (3,09 %) et  $\beta$ -farnésène (2,73 %) totalisant environ 85,62% (Jean, 2009 ; Florine, 2013 ; Audrey, 2016 ; Boughendjioua, 2017).

Il y a d'autres composants en faibles quantités tels que : limonène, 1,8 cinéole, camphre octanone et  $\beta$ - caryophyllène.

#### I.2.2.5- Utilisation traditionnelle

Elle est utilisée en aromathérapie et surtout en parfumerie. L'huile essentielle de *lavandulla angustifolia* Mill est la première huile essentielle qui devrait se trouver dans la trousse de soins familiaux ; apaisante, antiseptique, antalgique, cicatrisante, généralement très bien tolérée (Bouamer et *al.*, 2004).

L'huile essentielle de lavande est le remède des bobos, des petites plaies et brûlures, des piqûres d'insecte, des crampes, des maux de tête et des petits stress (Bouanane et Boussehel, 2005).

On l'applique pure sur la peau (après un petit test cutané préalable sur le poignet), ce qui est très rare pour les huiles essentielles, une à deux gouttes. On peut aussi mettre une goutte d'huile essentielle de lavande sur l'oreiller, un coussin pour éloigner les insectes qui détestent son odeur

(Chenikher et *al.*, 2020).

### **I.2.2.6- Effets thérapeutiques**

Cette plante a des usages variables dans la médecine traditionnelle pour traiter ou soulager plusieurs maladies (Aichaoui, 2019).

Fleur et sommité fleurie traditionnellement utilisées, par voie orale, dans le traitement symptomatique des états neurotoniques des adultes et des enfants (troubles mineurs du sommeil). Elle combat l'insomnie, l'irritabilité, les maux de tête et la dépression ; en usage local, pour le traitement des petites plaies après lavage et élimination des souillures, en cas d'érythème solaire ou de brûlures superficielles peu étendues, en cas de nez bouché (rhume) et en bain de bouche pour l'hygiène buccale (Hadji et *al.*, 2021).

### **I.3- Extraction des substances phytochimiques**

La technique d'extraction est utilisée pour extraire sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange initial et qui consiste à séparer certains composés, on se basant sur leurs propriétés chimiques ou physiques (Benabdallah, 2016).

#### **I.3.1- Historique**

Depuis longtemps, les hommes avaient cherché le moyen de séparer les éléments huileux des produits aromatiques et les composés actifs des plantes. Ils réussirent en soumettant la matière à l'action de la chaleur. Les substances aromatiques étaient transformées en vapeur ; il suffisait de les recueillir et de les refroidir pour les obtenir sous forme liquide. Ce procédé qui se faisait à feu nu, prit le nom de distillation. Il était certainement connu par les Chinois et les Indiens depuis 20 siècles. Les Egyptiens et les Arabes ont prévalu des caractéristiques médicinales et aromatiques des plantes : la conservation des momies, l'aromatisation des bains, la désinfection, les parfums et la fabrication des boissons (Möller, 2008). A l'apogée de leurs conquêtes en Afrique du Nord et en Espagne, les arabes le firent connaître aux Espagnols, lesquels à leur tour le propagèrent en Europe, à travers les possessions du Royaume d'Aragon, échelonnées tout le long des Côtes du Nord de la Méditerranée (Berthier, 1980).

Aujourd'hui, tout procédé de fabrication de principes actifs dans les diverses industries ou de valorisation de la biomasse implique directement ou indirectement l'extraction de végétaux. Depuis quelques années, le domaine de l'extraction passe à "l'éco-extraction" pour développer et fournir aux industriels une chimie plus "durable" qui utilise moins de solvant, moins d'énergie et moins de déchets, tout en garantissant la qualité du produit fini. Parallèlement, il faut s'assurer que l'industrie demeure compétitive tout en respectant les normes environnementales strictes. La

recherche dans ce domaine ne cesse de se développer, dans le but de découvrir de nouveaux procédés ou des procédures plus efficaces et apporter ainsi une contribution significative en termes de développement durable (Sylvie et *al.*, 2013).

### I.3.2- Méthodes d'extraction

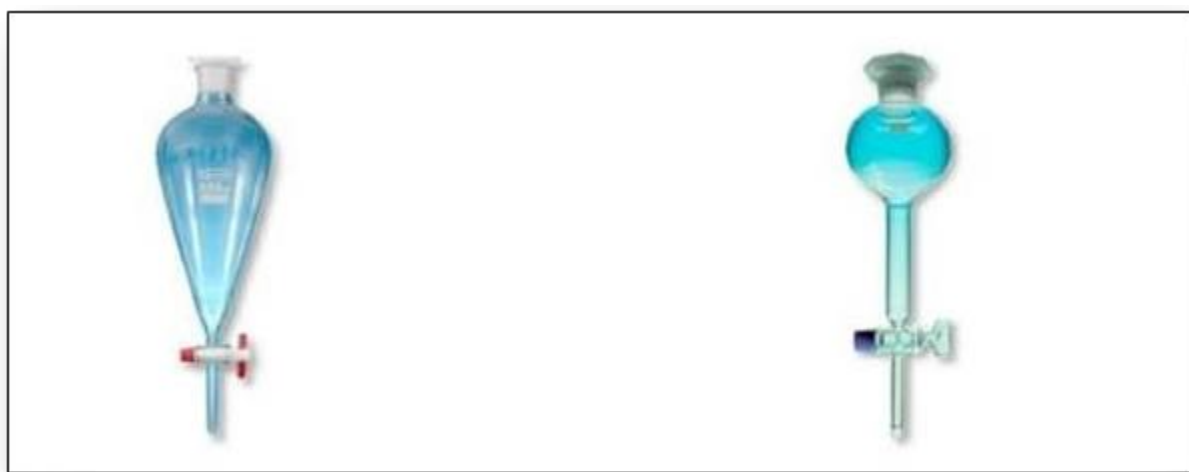
L'extraction consiste à transférer un composé d'une phase à une autre. D'une phase liquide à une autre phase liquide, d'une phase solide à une phase liquide (Benabdallah, 2016).

#### I.3.2.1- Extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide est la plus simple des méthodes de séparation. Elle consiste à faire passer des métabolites (solutés) dissous dans une phase liquide, à une autre phase liquide non miscible avec la première. Les métabolites secondaires des végétaux peuvent également être obtenus par l'extraction liquide-liquide avec des solvants organiques (éthanol, pentane, hexane, acétate d'éthyle, dichlorométhane, oxyde de diéthyle, etc...) (Bouzid et *al.*, 2011).

#### A - Extraction liquide-liquide discontinue

Elle est réalisée grâce à des ampoules à décanter (Figure 4). Il existe plusieurs modèles d'ampoules à décanter, celles ayant la tubulure au-dessus du robinet sont les plus utilisées, car elles permettent de mieux visualiser l'interface et donc de mieux séparer les deux phases (Benabdallah, 2016).



**Figure 4.** Extraction liquide-liquide discontinue par décanter (Benabdallah, 2016).

#### B- Extraction liquide-liquide continue

On peut alors utiliser une méthode d'extraction en continu. Le solvant est recyclé et passe continuellement à travers la solution à extraire (Benabdallah, 2016).

### I.3.2.2- Extraction solide-liquide

L'extraction solide-liquide est une opération de transfert de matière entre une phase qui contient la matière à extraire «solide», et un solvant d'extraction «liquide». Le but de cette opération est d'extraire et de séparer un ou plusieurs composants mélangés à un solide dans un solvant (Bonnaillie et *al.*, 2012).

#### A- Macération

L'extraction par macération (Figure 5) est utilisée depuis longtemps pour extraire les tanins condensés et les polyphénols à partir des écorces d'arbres, ou à partir des fruits. Les solvants utilisés sont l'eau, l'acétone 70% ou le méthanol 80%.

Elle présente l'intérêt d'être facile à mettre en œuvre, et non coûteuse, mais d'autre part, elle nécessite beaucoup de temps (24h-72h) et elle est très peu sélective (Makino et *al.*, 2009).

Leur avantage est limité la libération (et la perte) d'espèces chimiques volatiles dans l'air et elle permet aussi d'éviter l'altération d'espèces chimiques organiques fragiles qui peuvent à température plus élevée réagir et se dégrader. Pour les inconvénients, elle est souvent longue et en raison du temps qu'elle prend, il y a risque de prolifération bactérienne.

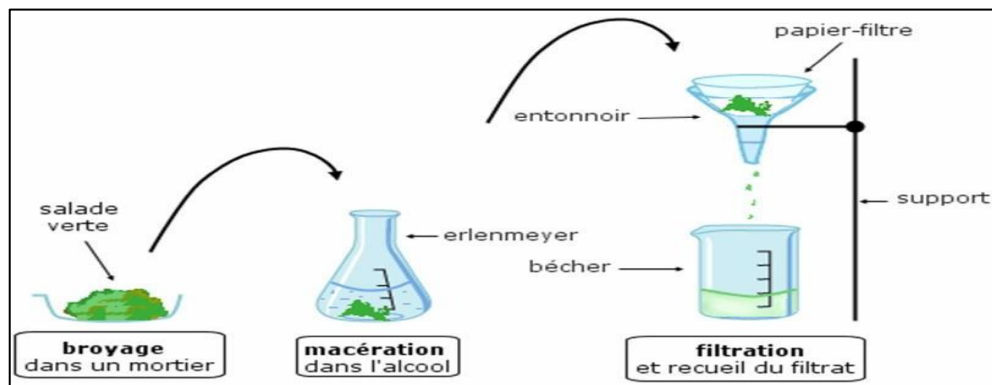


Figure 5. Schéma de la macération (Sekpa, 2016).

#### B- Infusion

L'extraction par infusion consiste à utiliser l'eau chaude pour extraire les polyphénols dans les plantes pour leurs propriétés anti-oxydantes ou anti-inflammatoires (Diouf et *al.*, 2009). Cette méthode est simple, n'utilise pas de solvant, limite le développement bactérien mais elle permet d'extraire une quantité importante de sucres et nécessite un temps d'extraction long (3h) (Makino et *al.*, 2009).

#### C- Enfleurage et extraction

L'enfleurage est une ancienne méthode utilisée pour l'extraction des plantes aromatiques



destinées surtout à la parfumerie. Le principe consiste à placer les fleurs odorantes dans la graisse, afin de laisser les arômes y pénétrer. Une fois saturée, celle-ci est ensuite lavée à l'alcool pour extraire les composés odorants. L'alcool obtenu est ensuite évaporé pour donner l'absolue. Cette méthode est peu utilisée de nos jours à cause de l'utilisation de la graisse animale et du coût de production élevé. Elle a été remplacée par l'extraction aux solvants (Mnayer, 2014).

#### D- Hydro-diffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. Cette technique (Figure 6) permet l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie du temps, de vapeur et d'énergie (Boukhris, 2009).



Figure 6. Système d'hydro diffusion (Zakiah, 2013).

#### E- Distillation – Evaporation

La différence entre distillation et évaporation, est l'intérêt porté aux produits séparés. Dans la distillation, c'est la phase vapeur qui a de la valeur car elle contient le ou les constituants à séparer, alors que dans l'évaporation, c'est le résidu solide ou liquide obtenu par vaporisation du solvant, qui est le produit intéressant (Peyron, 1992).

Il existe deux méthodes de base de distillation pour l'obtention des huiles essentielles qui reposent sur le même principe : entraînement des constituants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau. La différence entre eux réside dans le degré de contact entre l'eau liquide et le matériel végétal (Anes et *al.*, 1968 ; Benjilali, 2004).

## F- Hydro-distillation

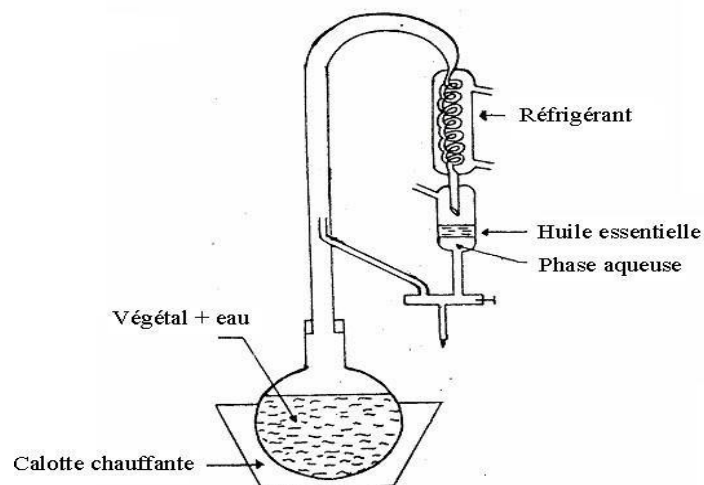
Distillation à l'eau ou « hydro-distillation » ; selon Bruneton (1999), l'hydro-distillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. Les inconvénients de cette méthode sont la calcination du matériel végétal, ce qui entraîne une modification de la composition et des caractéristiques chimiques de l'huile essentielle.

La non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de l'odeur, de la couleur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation (Chalchat et *al.*, 1997).

Cette méthode est généralement utilisée en cas des huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Elle est aussi utilisée dans l'extraction des huiles à partir des feuilles et des fleurs fraîches ou séchées. Parmi les huiles extraites par cette méthode, on cite l'huile de menthe, de myrte et de l'herbe à citron.

Parmi ses avantages est la simplicité du dispositif ; rendement plus grand

Cependant, ses inconvénients sont : le temps d'extraction plus long ; plus grande quantité d'eau ; Hydrolyse des composés non saturés ; pertes de quelques composés volatils (Bettahar, 2015).



**Figure 7.** Schéma du montage d'hydrodistillation (Assami, 2014).

### **G- Distillation à la vapeur saturée : « vapo-hydro-distillation »**

C'est le procédé le mieux adapté à l'extraction des essences, surtout si elles sont destinées à des fins thérapeutiques (Bego, 2001). Le matériel végétal, dans ce cas, n'est pas en contact avec l'eau, se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat (Anes *et al.*, 1968 ; Belaiche, 1979 ; Benjilali, 2004).

Cette méthode est utilisée dans la distillation à partir de plantes fraîches telles que la menthe et le myrte et les plantes qui portent leurs huiles essentielles dans les feuilles qui sont cueillies puis partiellement coupées ensuite portées au dispositif de distillation.

Les avantages de cette technique sont le rendement acceptable et l'absence de réactions d'hydrolyse, tandis que son inconvénient est le risque de décomposition des constituants de l'HE (Fauconnier, 2019).

### **H- Extraction par Soxhlet**

Un extracteur soxhlet est une pièce de verrerie utilisée pour extraire les molécules aromatiques de la plante. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs des solvants passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'adducteur, faisant ainsi macérer les résidus dans le solvant.

Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites, le ballon s'enrichit progressivement en composés solubles.

La taille du corps en verre étant limitée, il peut être nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives pour récupérer une quantité suffisante d'extrait (Herodez *et al.*, 2003).

Son utilisation permet d'utiliser des petites quantités de solvants ce qui est avantageux. Par ailleurs, le solvant qui se condense est toujours pur. En utilisant comme solvant l'éther d'éthyle, la solubilisation de la substance est donc favorisée grâce à des meilleurs coefficients de partage. Il présente cependant quelques inconvénients : les extractions sont assez longues (d'où l'existence de matériel multipostes) et il n'y pas de possibilité de travailler à froid, ce qui peut être gênant avec des substances sensibles à la chaleur (Bettahar, 2015).

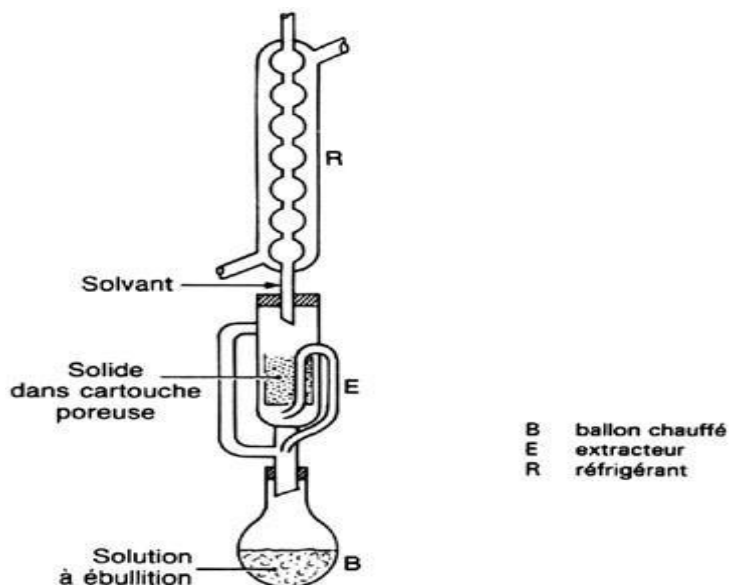


Figure 8. Schéma du montage de Soxhlet (Assami, 2014).

### I.3.2.3- Autres méthodes d'extraction

- **CO<sub>2</sub> supercritique**

L'originalité de cette technique repose sur le solvant utilisé, il s'agit du CO<sub>2</sub> en phase supercritique, à l'état supercritique. Le CO<sub>2</sub> n'est ni liquide ni gazeux et cela lui confère un excellent pouvoir d'extraction modulable à volonté en jouant sur la température et la pression de mise en œuvre. Les avantages de ce procédé c'est qu'à la fin de l'extraction l'abaissement de la pression provoque le passage du gaz carbonique à l'état gazeux et le CO<sub>2</sub> s'élimine tout seul de l'extrait (Hurtel, 2006).

Pour leurs avantages, il n'y pas de résidus de solvant, très doux pour molécules fragiles, haute capacités d'extraction, très sélectif. Par ailleurs, cette technique présente des inconvénients : très coûteux, et leur installation est complexe (Fauconnier, 2019).



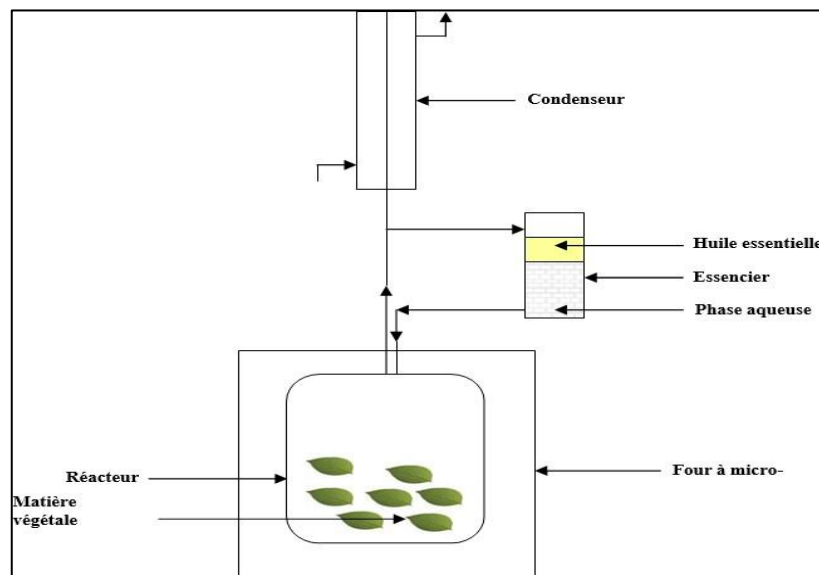
Figure 9. Schéma du montage d'extraction au CO<sub>2</sub> (Beneteaud, 2011).

- **Micro-onde**

C'est un procédé utilisant les micro-ondes et les solvants transparents aux micro-ondes pour extraire de façon rapide et sélective des produits chimiques de diverses substances (Paré, 1997). Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé.

Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant (non chauffé). On filtre et on récupère ensuite l'extrait. L'extraction par micro-ondes a le grand avantage de réduire le temps d'extraction à quelques secondes (France, 1996).

Ce procédé, très rapide et peu consommateur d'énergie, livre un produit qui, est le plus souvent, de qualité supérieure à celle du produit d'hydro-distillation traditionnelle (Bruneton, 1999). Par ailleurs, l'analyse des huiles essentielles obtenues par cette méthode a montré selon Scheffer (1996) que la composition qualitative des huiles essentielles était la même que celle des huiles obtenues par distillation mais le pourcentage des constituants variait de manière significative pour leur avantages est moins d'énergie ; plus effectives que les composés oxygénés ; le temps d'extraction est très court (Fauconnier, 2019).



**Figure 10.** Schéma de l'Extraction Assistée par Micro-Ondes (Farhat, 2010).

- **Ultrasons**

Les ultrasons sont des ondes mécaniques capables de se déplacer dans un milieu élastique à une fréquence supérieure à la limite maximale d'audibilité de l'oreille humaine (16 kHz). Les ultrasons de puissance fonctionnant à une intensité entre 20 et 100 kHz sont utilisés pour l'extraction des arômes et bien d'autres molécules des plantes.

Le bac ou la sonde à ultrasons sont les deux types d'équipements couramment utilisés dans les laboratoires. Lorsque les ultrasons se propagent à travers un liquide, les oscillations des molécules provoquent la formation des zones de compression et de dépression.

Quand les cycles de raréfaction augmentent, les forces maintenant la cohésion du liquide sont vaincues et des bulles de cavitation apparaissent. Ce phénomène est appelé cavitation. Les bulles vont imploser à côté de la surface solide (le matériel végétal) et provoquent la rupture des membranes des cellules qui libèrent leurs contenus à l'extérieur (Dolatowski et *al.*, 2007). Puisque les glandes des huiles essentielles sont généralement présentes à la surface des plantes aromatiques, l'implosion des bulles de cavitation détruit les glandes qui libèrent l'HE dans le milieu environnant (Chemat et *al.*, 2010).

La technologie aux ultrasons prend beaucoup d'ampleur dans le domaine agroalimentaire (Chemat et *al.*, 2011). Elle permet de pallier à certains problèmes rencontrés par la distillation conventionnelle telle que la dégradation thermique due aux températures élevées, la grande consommation d'eau, les longues durées d'extraction et les rendements faibles (Porto, 2009).

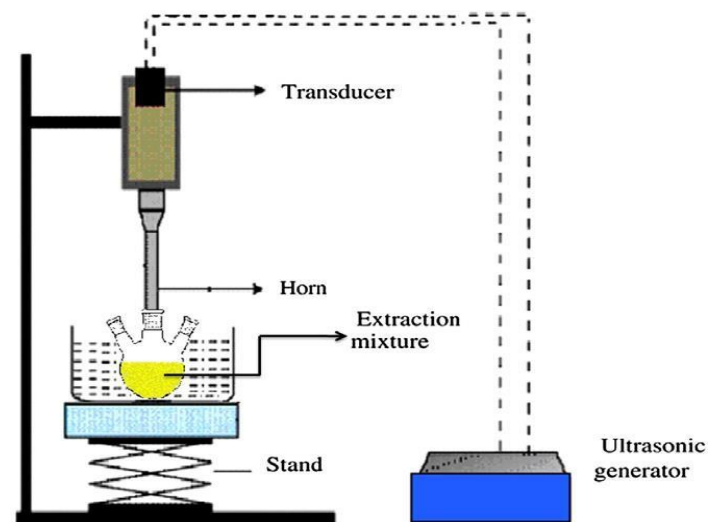


Figure 11. Schéma d'extraction aux ultrasons (Porto, 2009).

### **I.3.3- Choix de la méthode d'extraction**

La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire des réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte (Bousbia, 2011).

### **I.3.4- Paramètres influençant l'extraction**

#### **I.3.4.1- Matière végétale**

Interférer avec le choix des plantes, seules les plantes saines de l'espèce recherchée doivent être récoltées. Aussi, la région d'origine ou le sol dans lequel pousse la plante et le climat qui règne dans une région donnée, déterminent et différencient en grande partie la qualité de l'essence que produit cette région par rapport à l'essence de la même plante provenant d'une autre région. Ainsi, la qualité d'une plante varie en fonction de la période de la journée où elle est récoltée. Enfin, les parties de la plante distillée jouent un rôle important ; les diverses parties d'une même plante (fleur, feuille, tige, écorce, racine, etc.) peuvent produire des essences et des extraits différentes (Sallé, 2004 ; Möller, 2008).

#### **I.3.4.2- Nature et état du solide et du soluté**

La nature et l'état physique du soluté ont une importance primordiale et déterminent le mécanisme de transfert de matière. Le soluté contenu dans ces corps est soit un solide, soit un liquide, stable ou non à la chaleur ou à l'atmosphère. Il est réparti uniformément en des teneurs variables dans le solide (Bousbia, 2011).

#### **I.3.4.3- Nature, concentration et volume du solvant**

Le choix du ou des solvants est très important. Il doit être d'une grande pureté et avoir un faible point d'ébullition pour pouvoir être éliminé facilement en limitant la perte de composés volatils. Il ne doit pas interférer avec la méthode d'analyse utilisée et il doit pouvoir extraire les composés polaires et apolaires ou bien être sélectif. Le choix est fonction de la matrice et des composés à étudier. Il faut tenir compte de la polarité des composés, de leurs températures d'ébullition et de la miscibilité avec les autres solvants (Cicile, 2002).

#### **I.3.4.4- Méthode, durée, température et pression**

La réduction de la pression de marche provoque un abaissement des températures d'ébullition et de condensation. Inversement, toute augmentation de pression entraîne une élévation de température (Cicile, 2002). L'élévation de la température permet l'accroissement de la solubilité et de la diffusivité du soluté accompagnée d'une diminution de la viscosité. Elle doit être limitée

pour éviter les risques d'extraction des composés nuisibles et la dégradation thermique du soluté (Leybros et Fremeaux, 1990).

La durée de l'extraction (longue ou prolongée) permet de recueillir l'ensemble des fractions «de tête» et «de queue» dans le cas de la distillation. Elle dépend du procédé d'extraction utilisé et de l'objectif de l'extraction.



# **Matériel et méthodes**

## II- Matériel et méthodes

Le présent travail a été réalisé au niveau des laboratoires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (FSNV), Université Frères Mentouri, Constantine 1, en particulier les deux laboratoires de Biochimie RDC et Zoologie.

### II.1- Matériel végétal

Le matériel végétal étudié est constitué de la partie aérienne de deux plantes médicinales ; *Mentha pulegium* et *Lavandula angustifolia* Mill (Figure 12).

La partie aérienne de chaque plante a été récoltée dans la région de Constantine située à l'Est Algérien en Juin 2021, sous des conditions naturelles. Les plantes ont été ramenées de la part de l'enseignante CHERFIA Radia (Département de Biologie Appliquée, Faculté des SNV, Université Frères Mentouri, Constantine 1) et ont été identifiées par le Dr. NOUIOUA Wafa (Laboratoire de phytothérapie appliquée aux maladies chroniques, Faculté des Sciences de la Vie et des Sciences Naturelles, Université de Sétif 1).



**Figure 12.** Plantes étudiées ; *Mentha pulegium* (A) et *Lavandula angustifolia* Mill (B).

### II.2- Préparation des plantes

Le matériel végétal a été séché, conservé à l'ombre à température ambiante pendant 5-7 jours et il est stocké tel qu'il est à l'abri de la lumière et de la chaleur. Puis, les deux plantes ont été découpées et broyées à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine.

### II.3- Préparation des extraits

Le but d'extraction est de ressortir le maximum de molécules bioactives contenues dans les deux plantes en utilisant différentes méthodes et solvants. Dans le présent travail, trois méthodes et trois

solvants différents ont été utilisés pour préparer les extraits végétaux. La macération à froid par une solution hydro alcoolique (méthanol/eau), le soxhlet en utilisant l'hexane et l'hydro-distillation.

### **II.3.1- Macération à froid**

La préparation de l'extrait hydroMeOH a été effectuée par la macération à froid. Où 40 g de la poudre de chaque plante ont été ajoutés à 400 mL d'un mélange hydro alcoolique (méthanol : eau distillée) (80 :20/ V:V). Après une agitation vigoureuse à l'aide d'un agitateur pendant deux heures de temps, les macéras ont été laissés pendant 24 h puis filtrés à travers un papier Wattman N°1. Cette opération a été répétée 2-3 fois pour ressortir le maximum des molécules bioactives de chaque plante (Bett *et al.*, 2000 ; Author, 2021).

#### **II.3.1.1- Criblage phytochimique**

Afin de mettre en évidence les différentes classes chimiques de métabolites primaires et, en particulier, secondaires présentes dans les extraits hydroMeOH des espèces végétales étudiées, certains tests de caractérisation ont été établis.

Le criblage phytochimique qualitatif réalisé est basé sur des réactions de précipitation et/ou de coloration à l'aide de réactifs spécifiques. En effet, il permet la mise en évidence la présence de quelques substances chimiques présentes dans nos extraits.

#### **A- Métabolites primaires**

##### ***Test de Fehling (sucres réducteurs)***

Dans des tubes à essai, 1mL du réactif de Fehling préalablement préparé (5 mL de la solution A + 5 ml de la solution B), est ajouté à 1 mL de chaque extrait. Les tubes préparés sont incubés dans un bain marie pendant 3 min à 100 C°. La formation d'un précipité rouge brique indique la présence de sucres réducteurs (El Yahyaoui *et al.*, 2017).

##### ***Test de Biuret (protéines)***

Les protéines ont été détectées selon le protocole suivant ; 5-6 gouttes de NaOH (5%) ont été additionnées à 2 mL d'extrait. Après agitation, 5-7 gouttes de CuSO<sub>4</sub> (2%) ont été rajoutées. L'apparition de couleur rose ou violette indique la présence des protéines (Cherfia *et al.*, 2017).

## **B- Métabolites secondaires**

### ***Test au chlorure ferrique (composés phénoliques)***

La détection des composés phénoliques a été effectuée suivant le protocole de N'guessan *et al.* (2009). Où quelques gouttes de FeCl<sub>3</sub> (2%) ont été mélangées avec 2 mL de chaque extrait. L'apparition de la couleur verte bleue foncée indique la présence des polyphénols.

### ***Tannins***

1 mL d'extrait a été placé dans un tube et à l'aide d'une micropipette quelques gouttes de FeCl<sub>3</sub> ont été ajoutées. Puis, le mélange est agité vigoureusement. La couleur vire au bleu noir en présence de tannins galliques et au brun verdâtre en présence de tannins catéchiques (Qnais *et al.*, 2007).

### ***Coumarines***

2 mL d'extrait ont été versés dans un tube avec 3 mL de NaOH (10%). La formation de couleur jaune indique la présence des coumarines (Békro *et al.*, 2007).

### ***Anthocyanines***

1 mL d'extrait a été ajouté dans un tube avec 3 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (10%) et 1 mL de NH<sub>2</sub>OH (10%). La présence d'anthocyanines est confirmée par une coloration bleue violacée en milieu basique (Aprodu *et al.*, 2019).

### ***Flavonoïdes***

1 mL d'extrait de chaque solution a été mélangé avec 1 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH) à l'aide d'un vortex. L'apparition d'une couleur jaune indique la présence des flavonoïdes (Cherfia *et al.*, 2017).

### ***Anthraquinones***

2 mL d'extrait ont été placés dans un tube avec 1 mL de NH<sub>2</sub>OH. L'apparition d'un anneau rouge indique la présence d'anthraquinones (Harbone, 1998).

### ***Glycides de flavonoïdes***

1 mL d'hydroxyde de potassium (KOH) a été mélangé avec 2 mL de l'extrait dilué dans le méthanol. L'apparition d'une coloration jaune indique la présence des flavonoïdes glycosides (Cherfia *et al.*, 2017).

### ***Terpenoïdes***

1 mL d'extrait a été dissous dans le chloroforme avec quelques gouttes d'acide sulfurique. L'apparition d'une coloration jaune doré indique la présence des terpenoïdes (Edeoga *et al.*, 2005).

### ***Test de mousse (saponosides)***

10 mL d'extrait aqueux ont été placés dans un tube à essai et agités pendant 15 secondes puis déposés durant 15 min. Une hauteur de mousse persistante ; supérieur à 1 cm indique la présence des saponosides (Bentabetlasгаа, 2015).

### ***Huile essentielle***

La détection des huiles essentielles dans les deux plantes a été réalisée par l'hydro-distillation. Où 7,5 g de chaque plante ; *M. pulegium* et *L. angustifolia* Mill, ont été mis dans un ballon en verre de 250 mL contenant 100 mL d'eau distillée liée avec un réfrigérant. L'apparition d'une couche huileuse ou des gouttes d'huile à la surface de l'hydrolat indique la présence d'huile essentielle.

Après la détection des huiles essentielles dans les deux espèces végétales, l'extraction des HEs en utilisant le cleverger a ensuite été effectuée.

### **II.3.2- Hydro-distillation**

L'hydro-distillation est une technique économique d'extraction dans laquelle le solvant est l'eau. Le principe consiste à porter l'ensemble (matière végétale + eau) à ébullition pendant 2-3 heures. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes (huiles essentielles), lesquelles sont alors entraînées par la vapeur d'eau créée. Elles passent à travers un réfrigérant à eau où elles sont condensées, puis sont récupérées dans un récipient.

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par le cleverger. Où 100 g de chaque plante ; *M. pulegium* et *L. angustifolia* Mill, ont été mis dans un ballon en verre de 2 L contenant 1 L d'eau distillée.



**Figure 13.** Extraction des huiles essentielles ; hydro-distillateur (A) et clevenger (B).

### II.3.3- Extraction par soxhelet

Un extracteur soxhelet est une pièce de verrerie utilisée pour extraire les molécules des plantes. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvants passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'adducteur, faisant ainsi macérer les résidus dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites. Le ballon s'enrichit progressivement en composés solubles. La taille du corps en verre étant limitée, il peut être nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives pour récupérer une quantité suffisante d'extrait (Luque de Castro et Priego-Capote, 2009).

Dans notre expérience, l'extraction des métabolites a été effectuée par soxhelet ; où 15 g de *M. pulegium* et 10 g de *L. angustifolia* Mill, ont été utilisés.



**Figure 14.** Extraction par soxhelet.

#### II.4- Evaluation du rendement d'extraction

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse des extraits obtenue et la masse sèche du matériel végétal à traiter (Muanda, 2010; Mayouf, 2019).

Le pourcentage du rendement pour chaque extrait a été calculé selon la formule suivante :

$Rd (\%) = m / M \times 100$  (Muanda, 2010).

Rd% : Rendement exprimé en %.

m : Masse en gramme de l'extrait sec (g).

M : Masse sèche initiale en gramme du matériel végétal testé (g).

#### II.5- Dosage colorimétrique des composés phénoliques

Pour déterminer la teneur de nos extraits en polyphénols et en flavonoïdes totaux, les protocoles suivants ont été appliqués ;

##### II.5.1- Dosage des poly-phénols totaux

La teneur totale en poly-phénols des extraits a été estimée par la méthode colorimétrique de Cherfia *et al.* (2017) par l'utilisation du réactif de Folin-Ciocalteu.

##### A- Principe de dosage

Le réactif est composé par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 760 nm et proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

##### B- Mode opératoire

Le dosage des polyphénols avec le réactif de Folin-Ciocalteu a été effectué selon la méthode de Slinkard *et coll.* (1977). En milieu alcalin, les polyphénols réduisent ce réactif en oxyde de tungstène et de molybdène de couleur bleu. Une prise de 800  $\mu$ L de réactif de Folin-Ciocalteu a été mise en contact avec 250  $\mu$ L d'échantillon pendant 5 min et une prise de 1 mL de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) a été additionnée. Après l'incubation à l'obscurité pendant 30 min, la lecture de l'absorbance a été effectuée à une longueur d'onde de 765 nm. La gamme d'étalon a été préparée avec l'acide gallique à différentes concentrations (6,25 ; 12,5 ; 25 ; 50 ; 100 et 200  $\mu$ g/mL). Les teneurs en polyphénols ont été exprimées en milligrammes équivalents acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g MS) (Ghazghazi *et al.*, 2013).

## II.5.2- Dosage des flavonoïdes

Le chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) forme des complexes très stables avec les groupes hydroxydes (OH) de phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible a une longueur d'onde égale à 415 nm (Chia-chi *et al.*, 2002).

### A- Principe du dosage

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5' susceptible de donner un complexe coloré avec le groupement carbonyle (CO) et le chlorure d'aluminium. Ils forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (Fer et Aluminium), ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir avec deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982).

### B- Protocole du dosage

Les flavonoïdes ont été déterminés selon le protocole suivant :

1mL de chaque extrait a été ajouté à un volume égal d' $\text{AlCl}_3$  (2% ; 1mL), après une agitation vigoureuse suivi par une incubation pendant 10 min ; l'absorbance a été mesurée à 430 nm.

La courbe d'étalonnage du standard a été obtenue en mesurant l'absorbance de la quercétine utilisée à différentes concentrations (0,02 ; 0,04 ; 0,06 ; 0,08 et 0,1 mg/mL). Le blanc a été préparé en mélangeant 1 mL de méthanol avec 1 mL d' $\text{AlCl}_3$ . Ce protocole a été répété deux fois. La concentration des flavonoïdes totaux a été déterminée à partir de l'équation de régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage de la quercétine. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents quercétine par gramme de la matière sèche (mg EQ/g MS) (Ghazghazi *et al.*, 2013).

## II.6- Activités biologiques

Le but de ce travail est d'évaluer la capacité antioxydante et antibactérienne des extraits de deux plantes à savoir *M. pulegium* et *L. angustifolia* Mill.

### II.6.1- Activité anti-oxydante

Dans cette partie nous nous intéressons à l'étude de l'activité anti-oxydante *in vitro* par deux méthodes : piégeage du radical libre 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH) et le pouvoir réducteur du fer (FRAP). Chacun de ces tests a été répété deux fois.

#### II.6.1.1- Piégeage du radical libre DPPH

L'activité anti-radicalaire a été déterminée par la méthode du DPPH décrite par Lebeau *et al.* (2000) et Molyneux (2004).



### A- Principe

L'effet anti-radicalaire des différents extraits vis-à-vis du radical DPPH est basé sur la méthode décrite par Huang *et al.* (2002), avec quelques modifications. Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil). Ce dernier de couleur violette se réduit en 2.2-diphényl -1- picryl hydrazine avec une couleur jaune en captant un atome d'hydrogène.

### B- Mode opératoire

750 µl de la solution méthanolique du DPPH ont été ajoutés à 250 µl de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations (0,02 ; 0,04 ; 0,06 ; 0,08 et 0,1 mg/mL). Parallèlement, un contrôle négatif ; blanc, a été préparé en mélangeant 250 µl de méthanol avec 750 µl de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance a été faite contre le blanc préparé pour chaque concentration à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration. Le test a été répété 2 fois. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (PI%) (Sanchez *et al.*, 1998).

$$I\% = (\text{Abs}_{\text{contrôle négatif}} - \text{Abs}_{\text{Échantillon}} / \text{Abs}_{\text{contrôle négatif}}) \times 100$$

I% : pourcentage de l'activité anti-radicalaire

Abs : Absorbance

#### II.6.1.2- Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur d'ion ferrique des échantillons a été déterminé selon la méthode décrite par Ferriera *et al.* (2007).

##### A- Principe

La méthode déterminant le pouvoir réducteur du fer est basée sur le changement de coloration lors de la réduction du fer de forme ions ferriques ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en ions ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) par le transfert d'électrons en présence d'un antioxydant (Elkhamlichi, 2017 ; Benzie et Devaki, 2018). La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait. L'absorbance est mesurée à 700 nm. Ce test est peu coûteux, simple, reproductible et rapide. Il est utilisé pour indiquer la présence de composés phénoliques (Benzie et Devaki, 2018 ; Cherfia *et al.*, 2020).

## B- Mode opératoire

0,5 mL de l'extrait à différentes concentrations (0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 et 0,5 mg/mL) a été mélangé avec 1,25 mL d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 1,25 mL d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1%. L'ensemble a été incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min. 2,5 mL d'acide trichloroacétique à 10% ont été ajoutés pour stopper la réaction et les tubes ont ensuite été centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. Un aliquote (700  $\mu$ L) de surnageant a été combiné avec 700  $\mu$ L de l'eau distillée et 140  $\mu$ L d'une solution aqueuse de  $FeCl_3$  à 0,1%.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif a été représenté par une solution d'un antioxydant standard ; acide ascorbique, dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Singleton et Rossi, 1965).

### II.6.2- Activité antibactérienne

Pour mettre en évidence l'activité antibactérienne *in vitro* des extraits de plantes, nous avons réalisé la méthode de diffusion en puits pour tester la sensibilité des souches et aussi pour déterminer les valeurs de CMI et de CMB.

#### II.6.2.1- Souches microbiennes testées

Les quatre souches bactériennes utilisées dans notre étude font partie de groupes des microorganismes pathogènes dont deux à Gram positif ; *Bacillus cereuse*, *Staphylococcus aureus* et deux à Gram négatif ; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. Toutes les souches sont des bactéries isolées d'un milieu clinique au laboratoire privé de IBN ENNAFIS qui se situe au centre ville de la wilaya de Khenchla obtenues à partir de prélèvements urinaires.

#### II.6.2.2- Préparation des milieux de culture

Selon les méthodes employées, les milieux de cultures suivants ont été utilisés ; Gélose Mueller Hinton (MH), Mac Conkey (MCK), Chapman (Chap), Gélose au cetrimide, Gélose nutritif (GN), Bouillon nutritif (BN) (Annexe).

#### II.6.2.3- Réactivation des souches bactériennes

A partir des souches conservées, les bactéries à tester ont étéensemencées sur des boîtes de Pétri contenant des milieux sélectifs appropriés aux souches bactériennes utilisées puis incubés à 37°C pendant 24 heures afin d'obtenir des colonies jeunes et bien isolées (Lakhdar, 2015).

#### **II.6.2.4- Préparation de l'inoculum**

Des suspensions troubles de ces souches ont été réalisées en prélevant des colonies bien isolées et identiques. L'inoculum a été préparé dans 9 mL d'eau physiologique stérile (0.9%) puis agité au vortex, La densité de l'inoculum a été ajustée à 0,5 Mc Farland.

#### **II.6.2.5- Ensemencement des boîtes de Pétri**

Le milieu de culture gélosé Mueller-Hinton en surfusion a été coulé aseptiquement. Après solidification, un écouvillon stérile imbibé par la suspension bactérienne fraîchement préparée a été étalé à la surface de la gélose à quatre reprises, en tournant la boîte après chaque application sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose dans le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum. Les boîtes ont été laissées sécher pendant quelques minutes (Abou Nabila, 2017).

Après 5-10 min, des puits de 6 mm ont été creusés à l'aide d'une pipette Pasteur. Les extraits ont ensuite été versés dans chaque puits.

20 µl de chaque extrait des différentes concentrations (25 ; 50 ; 100 ; 150 et 200 mg/ml) et (25 ; 50 et 100 mg/mL) des huiles essentielles ; qui ont été diluées dans le DMSO ont été versés dans chaque puits. En outre, un autre puits au centre de la boîte a été réalisé pour mettre le DMSO comme témoin négatif pour confirmer son non activité sur les germes. Dans une autre boîte, l'ATB a été déposé tout seul comme témoin positif.

Nous l'avons laissé s'étaler pendant 20 min.

#### **II.6.2.6- Test antibactérien**

Ce test est réalisé par dépôt des extraits dans les puits creusés précédemment dans la gélose. Cette technique assure une diffusion totale des extraits. Les boîtes de Pétri ensemencées ont été incubées à 37°C pendant 24 h.

À partir d'un puits, l'apparition d'une zone d'inhibition claire et de diamètre facilement mesurable sur gélose ensemencée par la suspension bactérienne, est considérée comme réaction positive (Dorman et Deans, 2000).

#### **II.6.2.7- Lecture**

La mesure des diamètres d'inhibition des souches étudiées ont été réalisées après 24 h d'incubation.

#### **II.6.2.8- Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI et bactéricide CMB**

La CMI de l'extrait de la plante sur la bactérie test étudiée est définie comme sa plus faible concentration inhibant l'activité microbienne après 18 à 24 h de contact à 37°C, c'est à dire on

observe aucune croissance bactérienne visible à l'œil nu (Skandamis et Nycha, 2001; Nsemimuanda, 2010).

La CMB est définie comme la plus faible concentration de l'agent antibactérien pouvant détruire 99,9% de l'inoculum bactérien (Lassal, 2020).

Le jour suivant, après lecture de la CMI, nous avons refait un ensemencement en stries de 5 cm chacun à partir des cupules où il n'y a pas de croissance visible à l'œil nu. Pour chaque extrait, les boîtes de Pétri ensemencées ont été incubées à 37°C pendant 18 à 24 h. Ensuite, nous avons compté le nombre de bactéries vivantes pour chaque cupule. La concentration de la cupule qui aura moins de 0,01% de bactéries viables par rapport à l'inoculum initial, sera considérée comme la CMB (Daouda, 2015).

### **II.7- Analyse statistique**

Les données expérimentales obtenues dans le présent travail ont été exprimées par la moyenne de 2 à 3 répétitions  $\pm$  écartype. En outre, les équations des courbes ainsi que les coefficients de corrélation ont été déterminés en utilisant l'Excel 2010.

# **Résultats et discussion**

### III- Résultats et discussion

#### III.1- Criblage phytochimique

L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique des deux plantes ; *M. pulegium* et *L. angustifolia* Mill a été effectuée. Où, la détection des métabolites primaires et secondaires a été achevée en utilisant des tests spécifiques pour chaque groupe chimique.

Les résultats ont parfois été confirmés en employant des standards et achevés soit par la présence d'une précipitation et/ou par un changement de couleur.

L'ensemble des résultats obtenus des tests phytochimiques est représenté dans le tableau 6.

**Tableau 6.** Criblage phytochimique de deux plantes ; *M. pulegium* et *L. angustifolia* Mill.

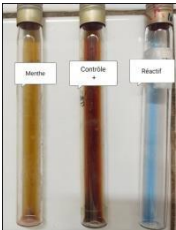
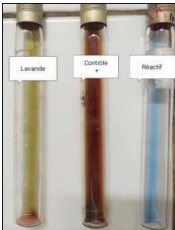

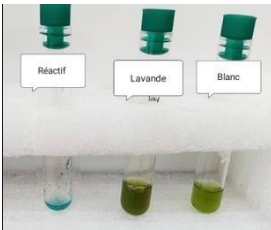
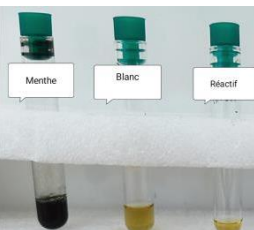

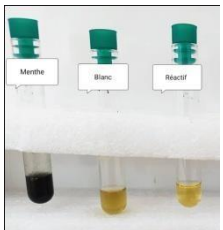
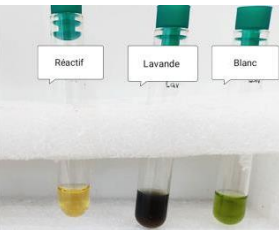
Test et groupe phytochimique	<i>M. pulegium</i>	<i>L. angustifolia</i> Mill
Fehling (sucres)	 +	 +
Protéines	 -	 -
Test au chlorure ferrique (polyphénols)	 +++	 +++
Tannins	 +++	 +++

Tableau 6. Criblage phytochimique de deux plantes ; *M. pulegium* et *L. angustifolia* Mill (Continue...).

Test et groupe Phytochimique	<i>M. pulegium</i>	<i>L. angustifolia</i> Mill
Coumarines	<p style="text-align: center;">+</p>	<p style="text-align: center;">+</p>
Anthocyanines	<p style="text-align: center;">-</p>	<p style="text-align: center;">-</p>
Flavonoïdes	<p style="text-align: center;">+</p>	<p style="text-align: center;">+</p>
Anthraquinones	<p style="text-align: center;">+</p>	<p style="text-align: center;">-</p>
Glycides de flavonoïdes	<p style="text-align: center;">+</p>	<p style="text-align: center;">+</p>
Terpènes	<p style="text-align: center;">-</p>	<p style="text-align: center;">-</p>
Saponines	+	+
Huiles essentielles	+++	+++

+++ : Présence forte, + : Présence moyenne, - : Absence.

Les résultats du criblage phytochimique présentés dans le tableau 6 montrent la présence de différents groupes de métabolites secondaires dans les deux plantes tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tannins, les saponines, les coumarines et les glucides flavonoïdes ; ainsi que la présence des glucides comme des métabolites primaires. En effet, les polyphénols et les tannins sont les composés les plus abondants dans les deux plantes ; ils sont présents en grandes quantités. En revanche ; les protéines, les anthocyanines et les terpènes étaient absents dans les deux plantes. Par ailleurs, les anthraquinones sont présentes dans *M. pulegium* et absentes dans *L. angustifolia* Mill.

Nos résultats peuvent être comparables avec ceux obtenus par Jebali et al. (2021) sur *M. pulegium* et par Slimani et al. (2022) sur *L. angustifolia* Mill qu'ont également révélé la présence des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tannins. En plus des composés précédents, Dobros et al. (2022) ont montrés la présence des caumarines dans *L. angustifolia* Mill. En revanche, une autre récente étude de Braguini et al. (2019) sur la même plante a indiqué la présence des saponines. En outre, nos résultats sont corroborés avec ceux de Harouak et al. (2022) qui ont pareillement enregistré la détection des coumarines et l'absence des anthocyanines dans *M. pulegium*.

Cette variation des résultats du criblage phytochimique dans les travaux précédents est due à plusieurs facteurs en l'occurrence ; la période de récolte, la région, la partie de la plante utilisée et même le solvant d'extraction (Whitehead et al., 2022).

### III.2- Rendement d'extraction

Les résultats obtenus des rendements d'extraction de deux plantes ; *M. pulegium* et *L. angustifolia* Mill, des trois extraits HydroMeOH, Hexane et HEs sont indiqués dans le tableau 7.

**Tableau 7.** Rendements d'extraction des trois extraits de *M. pulegium* et de *L. angustifolia* Mill.

Rd (%)					
<i>M. pulegium</i>			<i>L. angustifolia</i> Mill		
Hydro MeOH	Hexane	HE	Hydro MeOH	Hexane	HE
4,42±0,32	5,37±0,64	0,82±0,01	6,8±0,21	9,9±0,2	1,3±0,01

Les résultats illustrés dans le tableau 7 montrent une variation plus ou moins importante du rendement d'un extrait à un autre et d'une plante à une autre.



Les trois extraits ; hydroMeOH, hexane et huile essentielle de *L. angustifolia* Mill ont révélés des Rd% plus élevés ( $6,8\pm 0,21$  ;  $9,9\pm 0,2$  et  $1,3\pm 0,01\%$ , consécutivement) à ceux de *M. pulegium* ( $4,42\pm 0,32$  ;  $5,37\pm 0,64$  et  $0,82\pm 0,01\%$  ; respectivement).

D'une autre part, l'hexane de *L. angustifolia* Mill a possédé le Rd% le plus élevé avec une valeur de  $9,9\pm 0,2\%$  ; en revanche l'huile essentielle de *M. pulegium* a montré le Rd% le plus faible ;  $0,82\pm 0,01\%$ .

Contrairement à nos résultats, le travail de Jebali et al. (2021) sur *M. pulegium* a révélé un Rd% très élevé (22%) de l'extrait hydroMeOH. Cet écart est dû à la différence de la région et/ou la partie de la plante utilisée (Radusiene et al ; 2012).

A titre de comparaison ; et selon Cheriaf et al. (2020), le Rd% de l'HE de la même plante ; *M. pulegium*, (0,91%) n'était pas loin de celui obtenu dans la présente recherche en utilisant la même méthode d'extraction ; hydrodistillation.

D'autre part, deux travaux plus récents (Baali et al., 2019 ; Hariri et al., 2020) sur l'HE de *M. pulegium* ont donné des Rd% de l'ordre de 3,96% et de 5,1% ; respectivement par l'hydrodistillation ; leurs valeurs sont plus élevées par rapport à notre rendement ( $0,82\pm 0,01\%$ ) à cause de la région, le moment de récolte, la partie de la plante utilisée et les conditions de stockage (Caillet et Lacroix, 2007).

En outre, le rendement d'huile essentielle de *L. angustifolia* Mill dans la présente étude est presque égal à celui trouvé par Kharoubi et al. (2021) avec un pourcentage de 1,45%.

Selon le travail qu'était réalisé par Slimani et al. (2022), le Rd% de l'extrait aqueux et de l'HE de *L. angustifolia* Mill était plus important ( $21,68$  et  $2,13\%$  ; respectivement) par rapport à celui obtenu dans cette recherche ( $6,8$  et  $1,3\%$ ). Cette distinction peut être expliquée par la différence des solvants utilisés, l'espèce végétale et l'origine géographique de la plante (Smallsield, 2001).

Contrairement à nos résultats, le travail de Charik et Kadri (2020) sur l'HE de *L. angustifolia* Mill a montré un faible Rd% (0,50%), par contre le Rd% par macération (13,30%) était plus élevé à nos résultats. La différence constatée dans ces résultats peut être due à la méthode d'extraction qui dépend de nombreux paramètres ; la température d'extraction, le temps, le type de solvants et le volume utilisé (Chewet al., 2011 ; Costa et al., 2012).

### III.3- Dosage des composés phénoliques « poly-phénols et flavonoïdes totaux »

Les estimations quantitatives des polyphénols et des flavonoïdes totaux dans les extraits de deux plantes ont été réalisées selon les méthodes de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>), respectivement. L'acide gallique et la quercétine ont été utilisés comme standards.

L'ensemble des résultats des teneurs en composés phénoliques « polyphénols et flavonoïdes totaux » de deux plantes sont représentés dans le tableau 8.

**Tableau 8.** Dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux des extraits de *M. pulegium* et de *L. angustifolia* Mill.

Poly phénols totaux (mg EAG/g MS)				Flavonoïdes totaux (mg EQ/g MS)			
<i>M. pulegium</i>		<i>L. angustifolia</i> Mill		<i>M. pulegium</i>		<i>L. angustifolia</i> Mill	
Hydro MeOH	Hexane	Hydro MeOH	Hexane	Hydro MeOH	Hexane	Hydro MeOH	Hexane
83,95±0.01	38,505±0.04	41,975±0.01	28,334±0.06	37,13±0.00	27,477±0.01	19,24±0.01	16,962±0.01

L'estimation quantitative des composés phénoliques dans les deux extraits ; hydroMeOH et hexane ; de deux plantes *M. pulegium* et *L. angustifolia* Mill indique que les valeurs des polyphénols totaux (PT) sont plus élevées que celles des flavonoïdes totaux (FT).

Concernant les polyphénols totaux, l'extrait hydroMeOH de *M. pulegium* possédait la plus grande teneur (83,95±0.01 mg EAG/g MS), alors que la teneur la plus faible a été enregistrée par l'extrait hexane de *L. angustifolia* Mill avec une valeur égale à 28,334±0.06 mg EAG/g MS.

Relativement aux flavonoïdes totaux, le même extrait hydroMeOH de *M. pulegium* a révélé la valeur la plus éminente (37,13±0.01 mg EQ/g MS). En revanche, l'extrait hexane de *L. angustifolia* Mill a également démontré la teneur la plus faible en FT (16,962±0.01 mg EQ/g MS).

Contrairement à nos résultats, le travail de Yakoubi et *al.* (2021) a exhibé que *M. pulegium* possédait des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux relativement basses (0,205 mg EAG/mg extrait et 0,155 mg EQ/mg extrait ; respectivement).

Dans la présente étude, les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux de *L. angustifolia* Mill étaient significativement élevées à celles trouvées par Chenih et Houache (2021) (PT=0,078 mg EAG/mg extrait ; FT=0,001 mg EQ/mg extrait).

Un autre récent travail réalisé par Slimani et *al.* (2022) sur l'extrait aqueux de *L. angustifolia* Mill a trouvé que les quantités des polyphénols et des flavonoïdes totaux (PT= 67,967 mg EAG/g PS ; FT= 53,578 mgEQ/g PS) sont approximatives à nos résultats.

Cette variation des résultats des teneurs en PT et en FT dans les travaux précédents est probablement due aux plusieurs facteurs ; solvant utilisé, méthode d'extraction et origine géographique de la plante (Bakhouche et *al.*, 2021).

### **III.4- Activités biologiques**

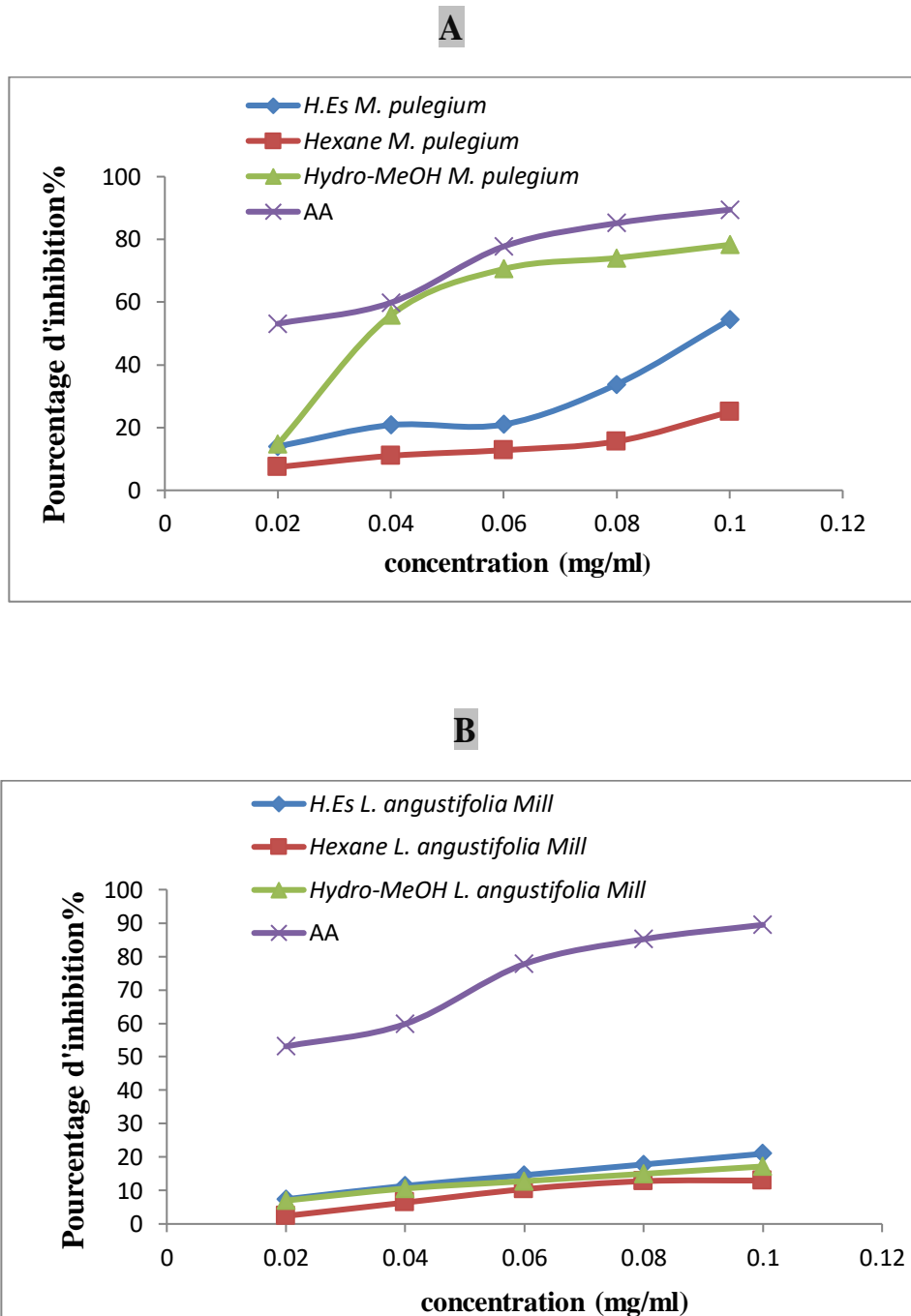
Deux activités biologiques différentes de deux plantes, en particulier de leurs extraits, ont été faites; le pouvoir antioxydant ainsi que l'effet antibactérien sur des souches pathogènes.

#### **III.4.1- Activité anti oxydante**

Des études récentes ont montré qu'il peut y avoir des différences dans les résultats de la détermination de l'activité anti-oxydante d'un produit selon la méthode anti-oxydante utilisée. Ainsi pour mieux évaluer le potentiel antioxydant d'un extrait de plante, il est nécessaire d'utiliser au moins deux méthodes (Bangou, 2012). Pour cela notre choix s'est basé sur l'utilisation de deux techniques différentes ; DPPH, FRAP, où leur principe basé sur le changement de couleur.

##### **III.4.1.1- Piégeage du radical libre DPPH**

L'activité anti-radicalaire des deux plantes *M. pulegium* et *L. angustifolia* Mill a été évaluée, *in vitro*, par le test de DPPH. Les résultats ont été confirmés par le virage de couleur violette à une couleur jaune. Les pourcentages d'inhibition (PI%) du DPPH par l'acide ascorbique et les trois extraits végétaux de deux plantes sont montrés dans la figure 16.



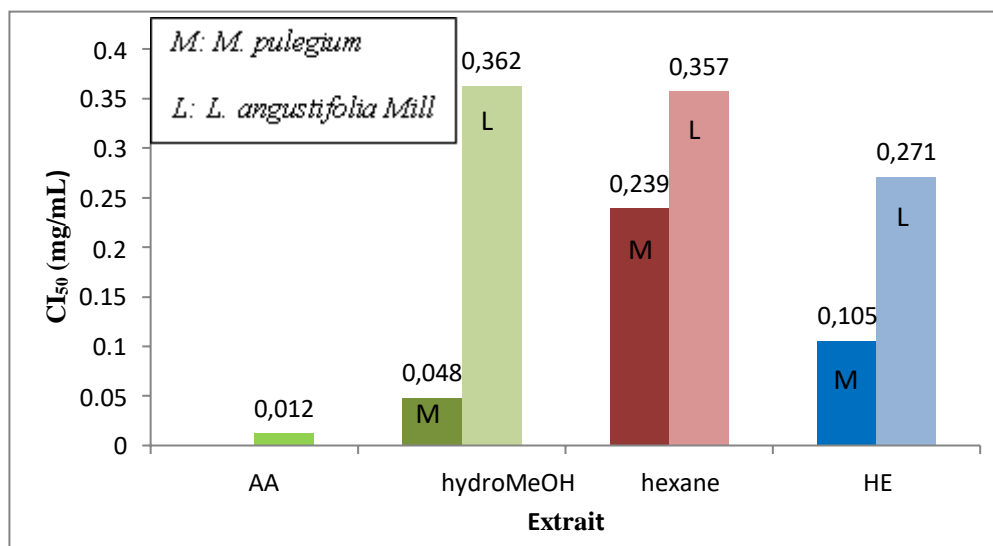
**Figure 15.** Pourcentages d'inhibition des extraits de *M. pulegium* (A) et de *L. angustifolia* Mill (B).

D'après la figure 16, tous les extraits végétaux ainsi que l'antioxydant de référence ; acide ascorbique, ont montré une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibition (PI%) avec la concentration.

L'ensemble des résultats obtenus ont révélé que les PI% à la [C]=0,1 mg/mL des trois extraits de *M. pulegium* varient de 25 à 78,29%. Ces valeurs sont supérieures à celles des trois extraits

de *L. angustifolia* Mill (13 - 21%), mais toujours inférieures à celle de l'acide ascorbique (89,47%) ; utilisé comme standard.

Les valeurs de la  $CI_{50}$  ont été déterminées graphiquement à partir des courbes des pourcentages d'inhibition d'acide ascorbique et des différents extraits testés de deux plantes. Elles sont illustrées dans la figure 17.



**Figure 16.** Valeurs des  $CI_{50}$  d'acide ascorbique et des trois extraits de deux plantes ; *M. pulegium* et *L.angustifolia* Mill.

Selon les résultats illustrés dans la figure 17, les  $CI_{50}$  des différents extraits de la plante *M. pulegium* varient entre  $0,048 \pm 0,01$  et  $0,239 \pm 0,01$  mg/mL. Ces valeurs sont inférieures à celles des trois extraits de *L. angustifolia* Mill qui varient entre  $0,271 \pm 0,01$  et  $0,362 \pm 0,01$  mg/mL. Ces dernières valeurs sont toujours supérieures à celle de l'acide ascorbique ( $0,012 \pm 0,01$  mg/mL).

En effet, l'extrait hydroMeOH de *M. pulegium* représente la valeur la plus basse ( $0,048 \pm 0,01$  mg/mL) contrairement à l'extrait hexane de *L. angustifolia* Mill qui a révélé la valeur la plus grande ( $0,362 \pm 0,01$  mg/mL). La  $CI_{50}$  la plus faible indique l'activité anti-oxydante la plus forte.

Le travail de Cheraif et al. (2020) sur les HEs de *M. pulegium* et de *L. angustifolia* Mill a trouvé que les valeurs de la  $CI_{50}$  de *M. pulegium* et de *L. angustifolia* Mill (3,07 et 27,36 mg/mL ; respectivement) sont plus élevées à celles de nos résultats.

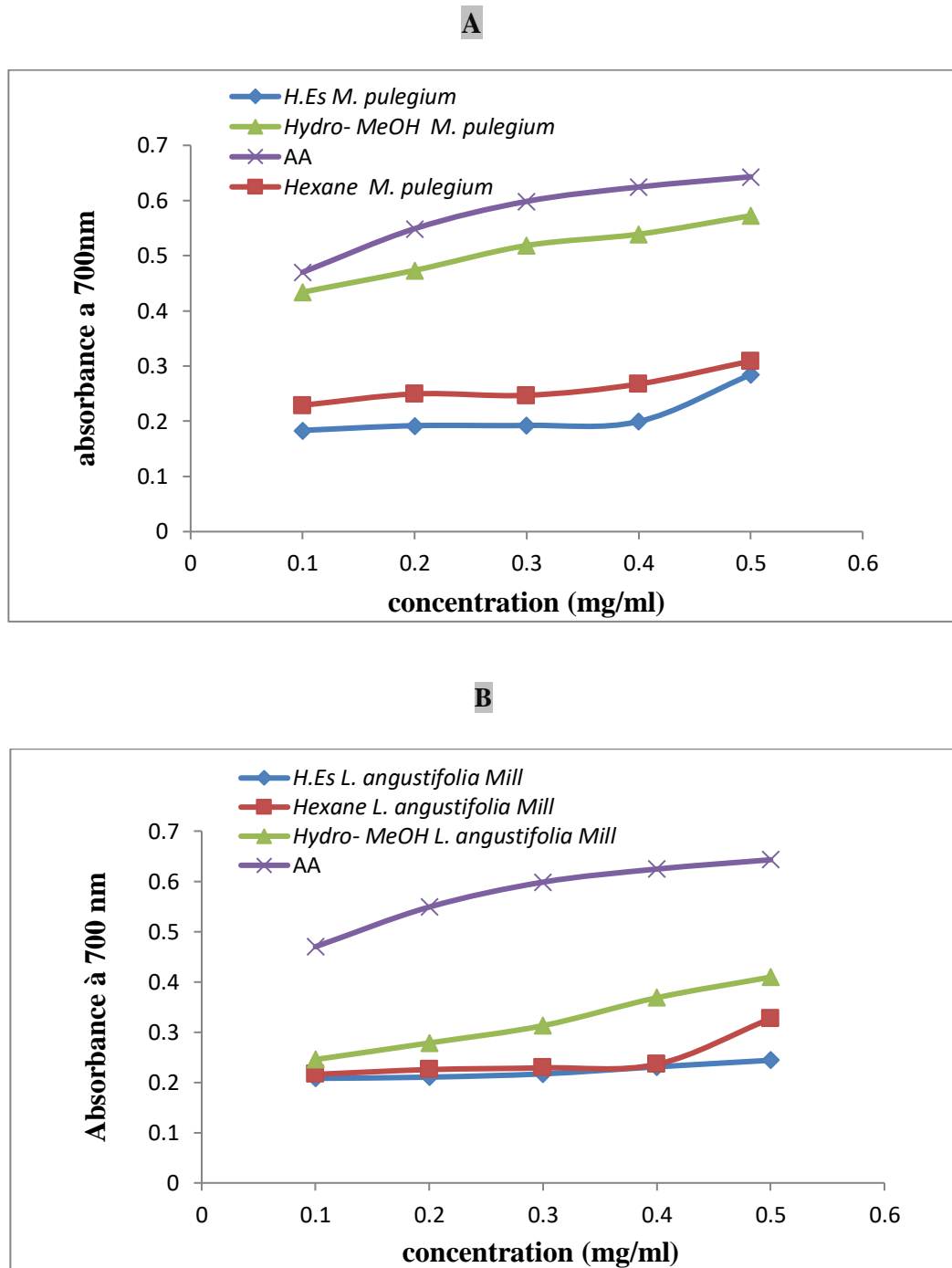
Les résultats de la recherche de Jebali et *al.* (2021) sur l'extrait méthanolique de *M. pulegium* de la région de Bizert Tunisie peuvent être comparables à ceux de notre travail. Où, ils ont trouvé une  $CI_{50}$  (0,016 mg/mL) approximative à celle de l'extrait hydroMeOH de la même plante (0,048 mg/mL). En revanche, dans une autre étude réalisée par Slimani et *al.* (2022) sur *L. angustifolia* Mill, ils ont trouvés une  $CI_{50}$  (1,86 mg/mL) supérieure à celle du même extrait dans la présente étude (0,362 mg/mL).

Le léger potentiel antioxydant exposé par les deux plantes peut s'explique par les composés présents dans les extraits, principalement les acides phénoliques porteurs des groupes d'hydroxyle attachés directement au cycle aromatique qui leur permette d'agir en tant qu'antioxydants puissants par transfert d'électrons ou d'atomes d'hydrogène, avec plus d'un groupe hydroxyle. Néanmoins, le test de réduction du DPPH a un effet significatif avec une valeur liée à la méthode d'extraction et le solvant utilisé (Haddadi et *al.*, 2005 ; Caillet et Lacroix, 2007).

### III.4.1.2- Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur des extraits de deux plantes ; *M. pulegium* et *L. angustifolia* Mill, a été évalué en utilisant la technique de FRAP selon la méthode décrite par Ferriera et *al.* (2007).

Les résultats de l'activité réductrice de deux plantes et de l'acide ascorbique sont représentés dans la figure 18.

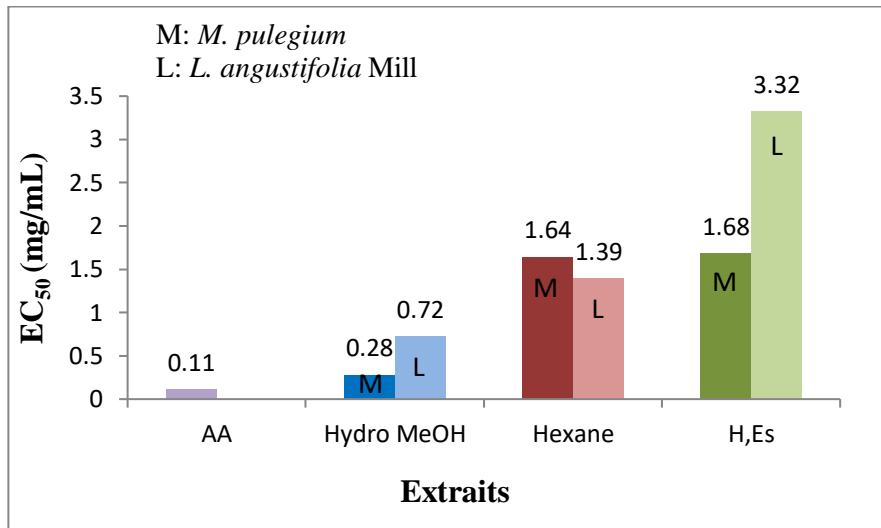


**Figure 17.** Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique et des trois extraits de *M. pulegium* (A) et de *L. angustifolia* Mill (B).

D'après les résultats illustrés dans la figure 18, les absorbances de l'ensemble des extraits de *M. pulegium* et de *L. angustifolia* Mill sont proportionnelles à l'augmentation de la concentration. Cela indique que le pouvoir réducteur de ces derniers est dose-dépendante : c'est-à-dire que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits.

L'équation de régression linéaire de la courbe du standard (AA) ainsi les différentes courbes des extraits peuvent être utilisées pour déterminer les CE<sub>50</sub>. La valeur la plus basse de ces dernières indique le pouvoir réducteur le plus élevé (Fidrianny et al., 2015; Kusmardiyani et al., 2016).

Les CE<sub>50</sub> des trois extraits de deux plantes ainsi que de l'acide ascorbique sont portés dans la figure 19.



**Figure 18.** Valeurs des CE<sub>50</sub> d'acide ascorbique et des trois extraits de deux plantes ; *M. pulegium* et *L.angustifolia* Mill.

Les résultats illustrés dans la figure 19 montrent une variation considérable des valeurs de la CE<sub>50</sub> des extraits de deux plantes et de l'acide ascorbique, allant de 0,11 ± 0,01 jusqu'à 1,68 ± 0,01 mg/mL pour *M. pulegium* et de 0,11 ± 0,01 jusqu'à 3,32 ± 0,00 mg/mL pour *L. angustifolia* Mill. La capacité de tous les extraits à réduire le fer est largement inférieure à celle de l'acide ascorbique. L'huile essentielle de *L. angustifolia* Mill a possédé la CE<sub>50</sub> la plus élevée (3,32 ± 0,00 mg/mL) ; en revanche l'extrait hydroMeOH de *M. pulegium* a enregistré la CE<sub>50</sub> la plus basse (0,28 ± 0,00 mg/mL).

Le travail de Kharoubi et al. (2021) contribué sur l'étude de *L. angustifolia* Mill a trouvé que les CE<sub>50</sub> d'huile essentielle et de l'acide ascorbique (0,25± 0,00 et 4,11 ± 0,01 mg/mL; respectivement) sont plus loin de celles obtenues dans le présent travail.

Les deux travaux réalisés par Baali et al. (2019) et Hariri et al. (2020) sur *M. pulegium* ont trouvé que la CE<sub>50</sub> d'huile essentielle est de 7,38 ± 0,2 et 0,071 ± 0,3 mg/mL; respectivement. Leurs valeurs sont incomparables à notre CE<sub>50</sub> (1,68 ± 0,00 mg/mL).

De ce fait, Shimada et al. (1992) ont rapporté que la déférence dans des résultats obtenus peut être



liée à la présence de composés phénoliques, tels que l'isothymol et le carvacrol, en raison des substitutions hydroxyle dans le cycle aromatique, qui possède une puissante liaison hydrogène.

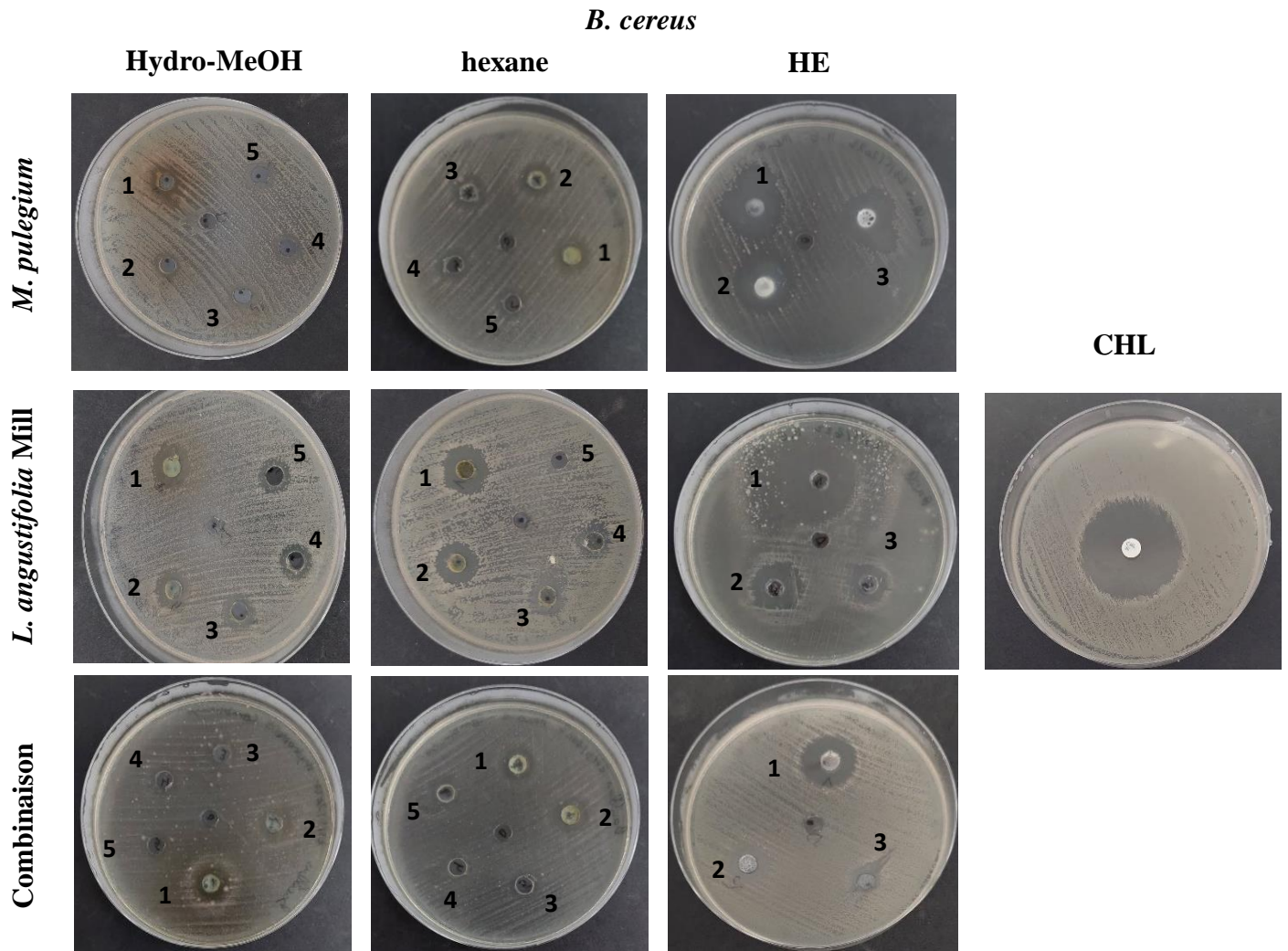
#### **III.4.2- Activité antibactérienne**

L'activité antibactérienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition (ZI) autour des puits qui contiennent les extraits obtenus ; hydroMeOH, hexane et huile essentielle de deux plantes étudiées à différentes concentrations. Le diamètre de la ZI diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. Le tableau 9 en globe les résultats obtenus.

Tableau 9. Zones d'inhibition de l'activité antibactérienne d'extraits des plantes, d'ATB et du DMSO.

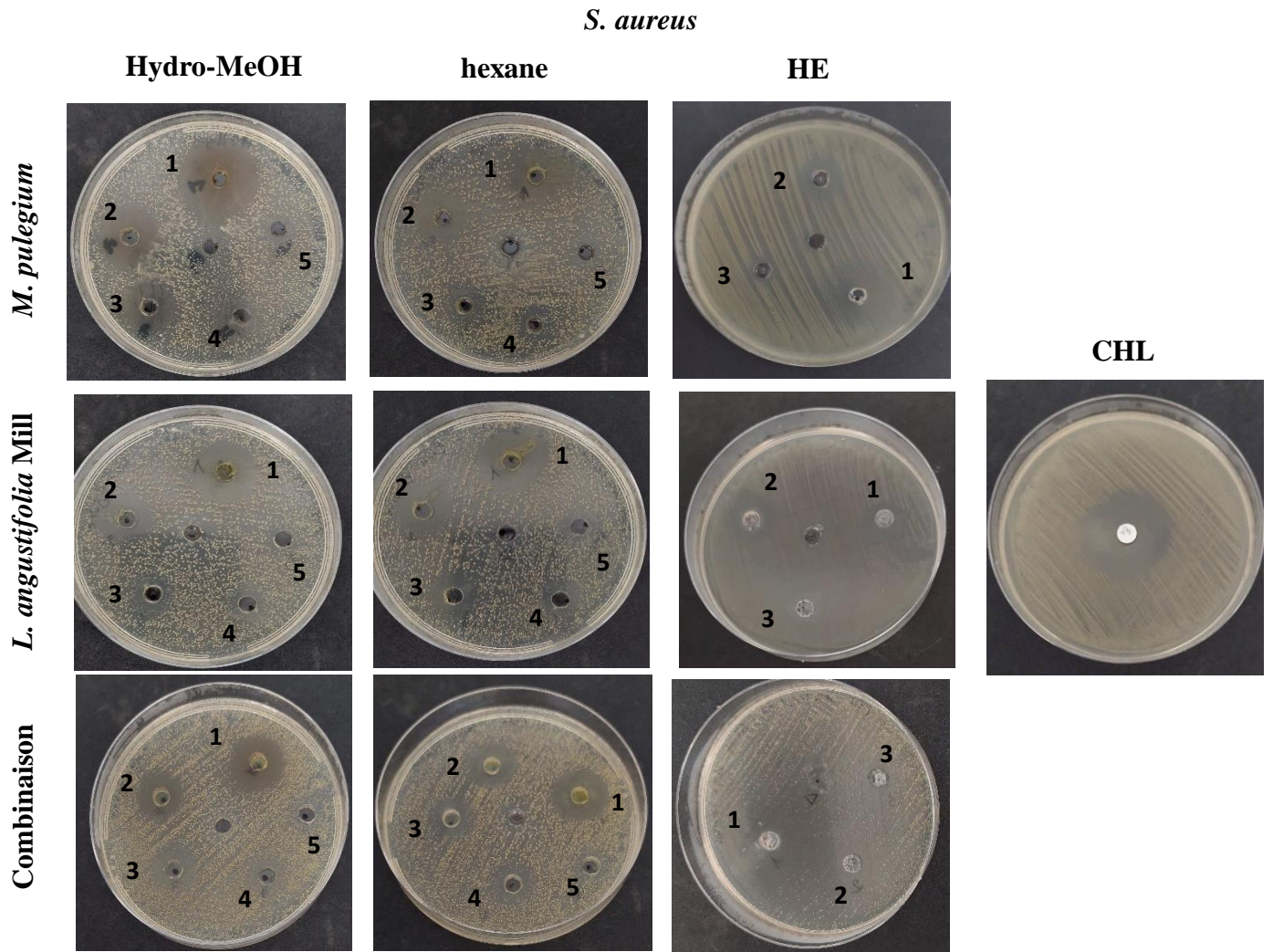
Plantes	Extraits	[C] mg/mL	Bactéries			
			Gram +		Gram -	
			<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>M. pulegium</i>	Hydro-MeOH	12,5	7±0,49	-	-	9±0,64
		25	8±0,57	11,5±0,07	-	13±0,92
		50	8±0,57	19±0,14	-	11±0,42
		100	11±0,14	20±0,00	-	12,5±0,35
		200	17,5±0,21	24,5±0,35	-	16±0,57
	Hexane	12,5	10±0,71	-	-	-
		25	10±0,42	15±1,06	-	10±0,71
		50	10,5±0,35	18±1,27	-	12±0,85
		100	12±0,42	15±0,71	-	12,5±0,35
200		13±0,42	20±0,00	-	15,5±0,07	
HE (%)	25	11±0	13±	-	-	
	50	12±0	15±	-	10±0,00	
	100	15±0	18±	-	12±0,00	
<i>L. angustifolia</i> Mill	Hydro-MeOH	12,5	8±0,57	-	-	10±0,71
		25	8±0,00	-	-	11±0,78
		50	10±0,00	-	-	10±0,28
		100	12±0,00	16,5±0,21	-	12,5±0,35
		200	17,5±0,07	20±0,00	-	16±0,57
	Hexane	12,5	7±0,49	-	-	-
		25	9±0,49	-	-	10±0,00
		50	11,5±0,28	14±0,14	-	12±0,00
		100	14,5±0,21	18±0,28	-	15±0,00
200		19±0,07	21±0,14	-	16±0,00	
HE (%)	25	14± 0,00	14±0,00	15±0,00	IT (24h)	
	50	23±0,00	20±0,00	20±0,00		
	100	62±0 ,00	24±0,00	24±0,00		
Combinaison	Hydro-MeOH	12,5	-	-	-	-
		25	-	-	-	8±0,00
		50	-	12±0,00	-	11±0,00
		100	12±0,00	15±0,00	-	15±0,00
		200	20±0,00	20±0,00	11±0,00	20±0,00
	Hexane	12,5	-	-	-	-
		25	-	10±0,00	-	7±0,00
		50	14±0,00	14±0,00	-	12±0,00
		100	15±0,00	17±0,00	-	13±0,00
200		17±0,00	20±0,00	10±0,00	15±0,00	
HE (%)	25	9±0,00	20±0,00	-	IT (24h)	
	50	10±0,00	25±0,00	-		
	100	20±0,00	36±0,00	-		
ATB	CHL	30 µg/disque	35	32	36	30
DMSO		20 µl	-	-	-	-

(-) pas d'inhibition, IT (24h) inhibition totale durant les premières 24 h seulement.



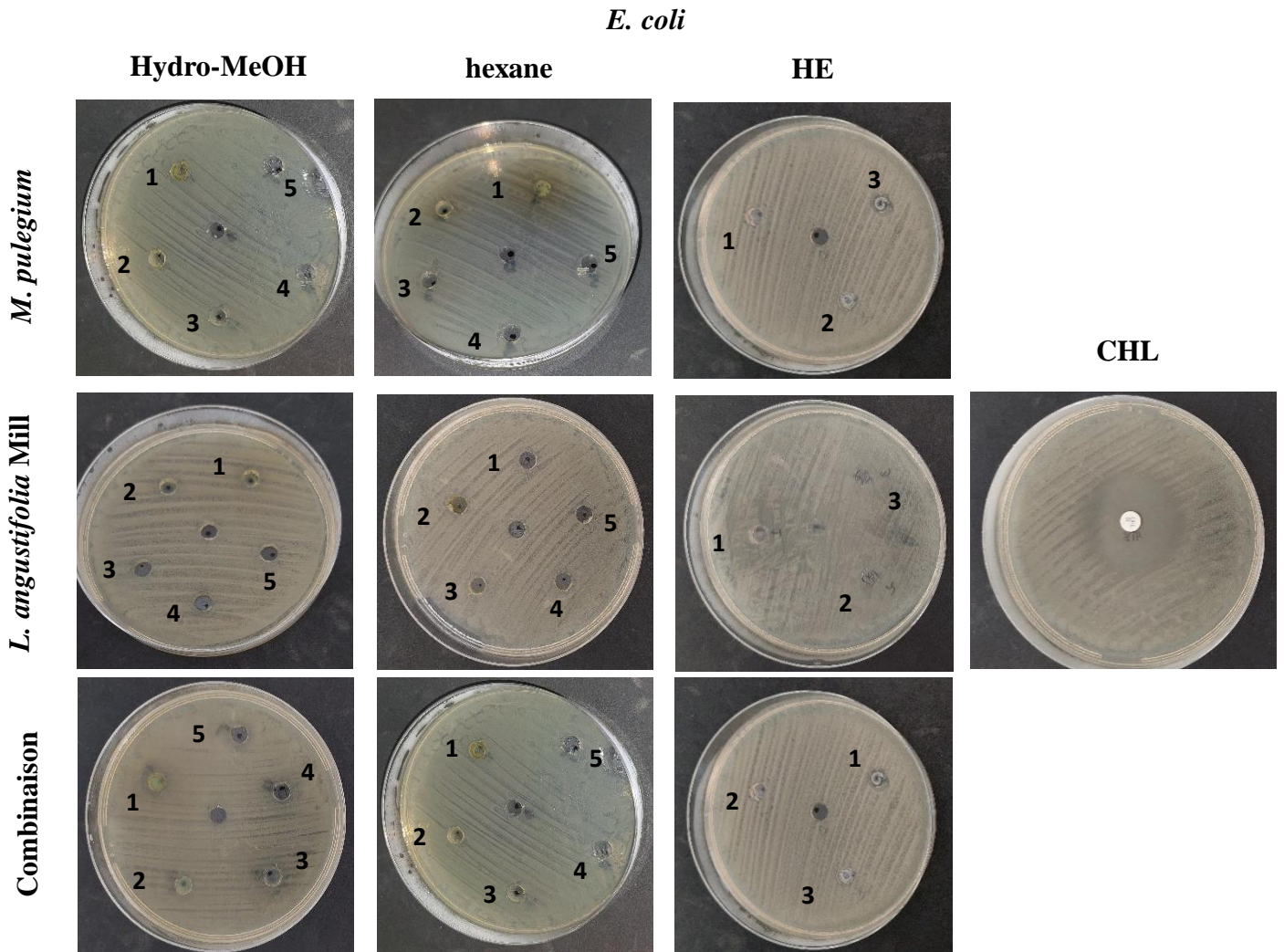
**Figure 19.** Zones d'inhibition d'extraits des plantes, d'ATB et du DMSO sur la bactérie *B.cereus*.

1: [C] =200mg/mL / 100%, 2: [C] =100mg/mL / 50%, 3: [C] =50mg/mL / 25%, 4: [C] =25mg/mL,  
5 : [C]=12,5mg/mL



**Figure 20.** Zones d'inhibition d'extraits des plantes, d'ATB et du DMSO sur la bactérie *S. aureus*.

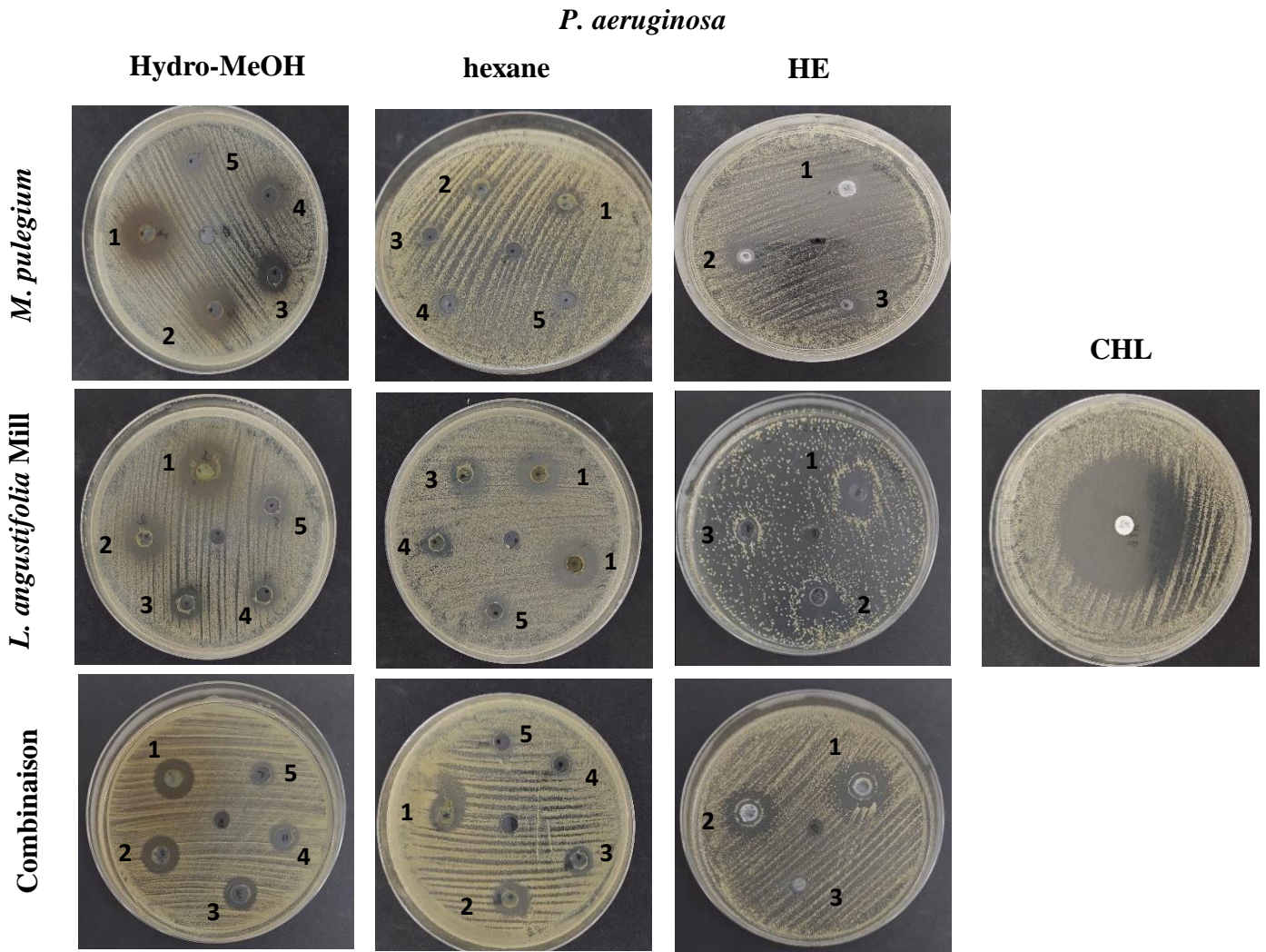
1: [C] =200mg/mL / 100%, 2: [C] =100mg/mL / 50%, 3: [C] =50mg/mL / 25%, 4: [C] =25mg/mL,  
5: [C] =12,5mg/mL.



**Figure 21.** Zones d'inhibition d'extraits des plantes, d'ATB et du DMSO sur la bactérie *E.coli*.

1 : [C]=200mg/mL / 100%, 2 : [C]=100mg/mL / 50%, 3 : [C]=50mg/mL / 25%,

4: [C]=25mg/mL, 5 : [C]=12,5mg/mL .



**Figure 22.** Zones d'inhibition d'extraits des plantes, d'ATB et du DMSO sur la bactérie *P.aeruginosa*.

1 : [C]=200mg/mL / 100%, 2 : [C]=100mg/mL / 50%, 3 : [C]=50mg/mL / 25%, 4: [C]=25mg/mL, 5 : [C]=12,5mg/mL

Les valeurs obtenues des ZIs indiquent que les extraits hydroMeOH, hexane et huile essentielle de chaque plante, ainsi leurs combinaisons restent efficaces dans l'inhibition de développement bactérien des quatre souches testées ; *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*, avec des ZIs différentes.

En effet, toutes les souches bactériennes étudiées sont assez sensibles à l'ATB ; chloramphénicol (CHL) avec des ZIs de  $35 \pm 0,00$  mm,  $32 \pm 0,00$  mm,  $36 \pm 0,00$  mm et  $30 \pm 0,00$  mm respectivement. En revanche, le DMSO n'a aucune activité antibactérienne contre les quatre bactéries ; absence totale des ZIs.

Par ailleurs, plus la concentration de l'extrait augmente plus les diamètres d'inhibitions sont importants. Nous avons remarqué que les bactéries à Gram (+) sont les plus sensibles aux extraits testés que les bactéries à Gram (-). Où la valeur de la ZI la plus élevée est de l'HE de *L. angustifolia* Mill ( $62 \pm 0,00$  mm) sur la bactérie *B. cereus*. Cette valeur est significativement supérieure à celle de l'ATB (35 mm).

Les diamètres des ZIs de l'extrait hydroMeOH de *M. pulegium* ( $17,5 \pm 0,21$  ;  $24,5 \pm 0,35$  ;  $16 \pm 0,57$  mm) sont plus élevés que ceux de *L. angustifolia* Mill; contrairement à l'hexane, les valeurs de *L. angustifolia* Mill sont les plus élevées ( $19 \pm 0,07$  ;  $21 \pm 0,14$  ;  $16 \pm 0,00$  mm) contre les mêmes bactéries ; *B. cereus*, *S. aureus* et *P. aeruginosa* ; respectivement.

En outre, la bactérie *E. coli* est résistante à tous les extraits de *M. pulegium*, à l'hydro MeOH et l'hexane de *L. angustifolia* Mill et aussi à la combinaison des HEs. En revanche, elle est très sensible à l'HE de *L. angustifolia* Mill ( $24 \pm 0,00$  mm) et moyennement sensible aux deux combinaisons ; hydroMeOH et Hexane ( $11 \pm 0,00$  et  $10 \pm 0,00$  mm, successivement) de deux plantes.

D'un autre côté, et d'après nos résultats, l'HE de *L. angustifolia* Mill est plus efficace que l'HE de *M. pulegium*. De plus, la combinaison des HEs a enregistré un effet plus important que les autres combinaisons ; hydroMeOH et l'hexane, sur les quatre souches testées.

Plusieurs études récentes (Mansour et *al.*, 2021 ; Jebali et *al.*, 2022) ont révélé que les bactéries à Gram + sont plus sensibles aux huiles essentielles et extraits végétaux que les bactéries à Gram -. Ceci est dû aux différences structurales de leurs couches externes ; ces composants chimiques exercent leur activité antimicrobienne sur les micro-organismes par la perturbation de l'intégrité membranaire (Knobloch et *al.*, 1989).

Chez les bactéries à Gram -, la membrane externe constitue une barrière de perméabilité efficace, riche en lipopolysaccharide dont les charges négatives de surface empêchent la diffusion des molécules hydrophobes (Nikaido et *al.*, 2003). Toutefois, quelques composés phénoliques de faible poids moléculaire peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides membranaires à l'aide de leurs groupes fonctionnels (Dorman et *al.*, 2000). A l'opposé, les bactéries à Gram + composées d'une paroi exclusivement de peptidoglycane épais semblent être plus favorables à la pénétration des phytomolécules qui atteindraient facilement leurs cibles intracellulaires.

Nos résultats correspondent aussi à ceux d'une étude récente de Jebali et *al.* (2022) ; indiquant que les extraits des feuilles de l'espèce *M. pulegium* a révélé un effet plus intéressant sur quatre souches à Gram + et à Gram -. Les diamètres des ZIs les plus performants ont été obtenus contre les bactéries à Gram+, allant de 22 mm (*Clostridium tetani*) ( $p < 0,05$ ) à 33 mm (*S. aureus*) ( $p < 0,05$ ). Alors que la valeur la plus faible a été observée contre les bactéries à Gram - telle que *Klebsiella pneumoniae* (IZ = 19 mm) ( $p < 0,05$ ). Cette variation des résultats peut être liée à la variation des teneurs en phénols et en flavonoïdes. Ces composés sont connus pour leurs activités antimicrobiennes, antivirales, anti-oxydante et anti tumorale (El Arch, 2003).

Pour les HES, et contrairement à nos résultats, l'étude de Boulahia et *al.* (2020) sur l'huile essentielle des fleurs de *L. angustifolia* Mill n'a pas montré une activité antibactérienne intéressante. Le travail de Hemaïdi (2020) a également indiqué que l'HE de *M. pulegium* a presque développé une faible activité antimicrobienne. Cette faible efficacité est due à la composition chimique différente des huiles essentielles et probablement aux pertes des composés volatils de l'huile essentielle durant le stockage et/ou l'extraction, ou au cours de la période d'incubation où quelques composants volatils de l'huile peuvent s'évaporer, ce qui diminuerait sa concentration, et par la suite son activité antibactérienne.



Nos résultats sont en accord avec ceux du travail de Boulahia et al. (2020) qui ont révélé que *E. coli* (Gram -) s'est avérée sensible surtout aux HEs de *L. angustifolia* Mill. Il est postulé que les différents composants des huiles essentielles montrent différents degrés d'activité contre des bactéries G- et G+ (Dorman et Deans, 2000) et que la composition chimique des huiles essentielles peut varier selon plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques. En outre, les résultats obtenus par Badache et Bakiri (2019) ont montré que l'huile essentielle de *M. pulegium* a développé un effet sur *E. coli* avec un diamètre plus important (22,83 mm) ce qui est différent de notre résultat. Ceci est peut-être dû à la composition chimique de l'huile essentielle (piperitone, sabinene, limonène, etc.) qui est différente de la nôtre.

**Tableau 10.** Concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits végétaux obtenus sur les souches bactériennes testées.

CMI					
Plante	Extrait	Concentration (mg/mL)			
		Gram +		Gram -	
		<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>M. pulegium</i>	Hydro-MeOH	12,5	25	-	12,5
	Hexane	12,5	25	-	25
	HE	25%	25%	-	50%
<i>L. angustifolia</i> Mill	Hydro-MeOH	12,5	100	-	12,5
	Hexane	12,5	50	-	25
	HE	25%	< 25%	50%	IT (24h)
Combinaison	Hydro-MeOH	100	50	25	25
	Hexane	50	25	25	25
	HE	25%	25%	-	< 25%

D'après le tableau ci-dessus, nos extraits hydroMeOH de deux plantes exercent une inhibition modérée sur *B. cereus* et *P. aeruginosa* ; et une faible activité sur *E. coli* (souche moins sensible à la majorité des extraits) (Tableau 10).

Les valeurs de la CMI sont variées de 12,5 à 100 mg/ml pour les extraits hydro-MeOH et Hexane, et de < 25 à 50 % pour les huiles essentielles.

La CMI la plus faible (12,5 mg/mL) a été enregistrée par les extraits hydroMeOH et hexane de *M. pulegium* et de *L. angustifolia* Mill sur la bactérie *B. cereus*. En outre, l'extrait hexane de

deux plantes a aussi montré la CMI la plus faible sur *P. aeruginosa*. Tandis que, la CMI la plus élevée (100 mg/mL) a été développée par l'extrait hydroMeOH de *L. angustifolia* Mill et la combinaison hydroMeOH sur *S. aureus* et *B. cereus* ; consécutivement.

A partir de nos résultats, l'efficacité des extraits étudiés sur l'inhibition bactérienne selon les valeurs de la CMI peut aussi être classée en deux catégories ; forte (12 ,5 mg/mL et < 25%) et faible (100 mg/mL et 50%) pour les deux extraits et l'HE, respectivement.

Les extraits de *L. angustifolia* Mill et de *M. pulegium* ont exercé une activité bactériostatique sur les quatre souches testes.

Nos résultats sont différents à ceux obtenus par l'étude de Barchan et *al.* (2015) qui ont montré qu'il y a une nette différence en terme d'activité antibactérienne entre les extraits hexane et aqueux par le test de diffusion en puits. Où la détermination des CMI a mis le point d'avantage sur cette différence et a permis de démontrer que les extraits apolaires (hexaniques et dichlorométhaniques) sont bactériostatiques avec des CMI bien déterminées alors qu'aucun effet bactériostatique n'était enregistré par les extraits apolaires (aqueux et méthanoliques) dont les CMI sont toutes supérieures à 12 mg/mL. Ceci est peut être en relation avec la concentration et la richesse des extraits apolaires en composés antibactériens par rapport à ceux polaires.

Notre résultat est aussi similaire à ceux de Baali (2019) qui a révélé que les deux HEs de *M. pulegium* et de *L. stoechas* ont montré des propriétés antibactériennes remarquables montrant les valeurs de CMI les plus faibles contre les bactéries Gram+ ; *B. subtilis* et *S. aureus*.

L'étude d'Ersilia en 2018, ayant aussi rapporté une activité bactériostatique limitée d'extraits de plantes, dont le *Mentha*, contre *Staphylococcus aureus*. Leur activité bactériostatique variait de 15,93 à 19,46% pour les extraits alcooliques à des concentrations comprises entre 10 et 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Par rapport aux extraits aqueux, les extraits alcooliques, notamment éthanoliques sont susceptibles de réduire le développement des bactéries Gram+ ou Gram - (Bayoub, 2010).

# **Conclusion et perspectives**

#### IV- Conclusion et perspectives

Dans le présent travail, différents aspects de deux plantes ; *M. pulegium* et *L. angustifolia* Mill, de la famille *Lamiaceae* ont été étudiés ; propriétés phytochimiques, activités anti-oxydantes et antibactériennes des trois extraits hydroMeOH ; Hexane et HE.

Les résultats de criblage phytochimique confirment la richesse de ces deux plantes en polyphénols et en tannins, avec une présence modérée de coumarines et de sucres.

L'extraction des métabolites bioactifs à partir de la partie aérienne des deux plantes a permis d'obtenir un rendement assez intéressant, alors que les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux étaient conséquentes.

Par ailleurs, les trois extraits de deux plantes ont révélé des pouvoirs antioxydants intéressants par les deux méthodes adoptées ; DPPH et FRAP. Où l'extrait hydroMeOH de *M. pulegium* est considéré comme le plus efficace possédant les valeurs les plus approximatives à celles du standard ; acide ascorbique.

En outre, une activité antibactérienne très importante des extraits obtenus sur les quatre souches bactériennes testées a été remarquée, en utilisant la méthode de diffusion en puits. En effet, les bactéries à Gram + se sont avérées plus sensibles que les bactéries à Gram - à la majorité des extraits obtenus. Ainsi, la combinaison des extraits a donné un effet antibactérien remarquable sur toutes les souches testées. De plus, les extraits de *L. angustifolia* Mill, plus précisément l'extrait hexane et l'HE ont développé une activité inhibitrice plus élevée que celle de *M. pulegium*, à l'exception de l'extrait hydroMeOH.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense, dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des propriétés thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui nécessitent d'être exploitées. De ce fait, il serait intéressant de se fixer comme perspectives de:

- Développer des médicaments et des produits à base de plantes, dotées d'une activité anti-oxydante.
- Développer les agents antioxydants qui peuvent constituer une alternative aux certains additifs synthétiques pour les utilisés dans le secteur agroalimentaire ainsi que dans des applications thérapeutiques et cosmétiques ;
- Exploiter ces plantes comme nouvelle source d'antibiotiques dans le domaine pharmacologique et médicale ;
- Combiner certaines huiles essentielles pour plus d'efficacité.

# **Références bibliographiques**

## V- Références bibliographiques

### A

Abdelli M. ; Moghrani H. ; Aboun A. et Maachi, R. (2016). Algerian Mentha pulegium L. leaves essential oil: Chemical composition, antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, 94 : 197-205.

Abou, F. K. N. (2017). Activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de Mentha pulegium L.

Amenah G-F. (2006). *Medecinal plants: tradition of yesterday and drugs of Tomorrow Molecular Aspects of medicine*. 27:1-93.

Anne-Sylvie, F.; Gérald, C. (2013) *Chimie des substances naturelles et chimie de l'environnement*. reaserch gate <https://www.researchgate.net/publication/341775250>

Anonyme 1 : <https://www.gettyimages.com>, consulté le 01 juin 2022.

Anonyme 2 : <https://www.genialvegetal.net/-Menthe-pouliot>, consulté le 01 juin 2022.

Aprodu, I., Milea, Ș.A., Anghel, R.M., Enachi, E., Barbu, V., Crăciunescu, O., Râpeanu, G., Bahrim, G.E., Oancea, A., et Stănciuc, N. (2019). New Functional Ingredients Based on Microencapsulation of Aqueous Anthocyanin-Rich Extracts Derived from Black Rice (*Oryza sativa* L.). *Molecules*. 24. 3389. DOI: 10.3390/molecules24183389

Assami, K. (2014). Extraction assistée par ultrasons des huiles essentielles et arômes du *Carum carvi* L. d'Algérie : p 28-52.

### B

Baali F., Boumerfeg S., Napoli E., Boudjelal A., Righi N., Deghima A., Baghiani A., Ruberto G. (2019). Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils from Two Wild Algerian Medicinal Plants : Mentha pulegium L and Lavandula stoechas L. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 22:3. 821-837. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2019.1642800>.

Baba Aissa F. (2000). *Encyclopédie des plantes utiles, librairie moderne, Rouïba*. 368.

Badache, R.; Bakiri, R. (2019). Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentielles de *Satureja hispidula* (Boiss. et Reut.) et *Mentha pulegium* (L.).

Bakhouché I., Aliat, T., Boubellouta T., Gali, L., S, en, A., Bellik, Y.(2021). Phenolic contents and in vitro antioxidant, anti-tyrosinase, and anti-inflammatory effects of leaves and roots extracts of the halophyte *Limonium delicatulum*. *South Afr. Journal Bot.*139. 42–49. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.01.030>.

Bangou, MJ. (2012). Etude phytochimique et activités biologiques des tiges feuillées de *Lantana camara* L. et de *Lippiache-valieri* Moldenke : deux verbenaceae du BURKINA FASO ((Thèse de Doctorat, Université de Ougadougou).

- Beghidja N., Bouslimani N., Benayache F., Benayache S. & Chalchat J.C., (2007). Composition of the oils from *Mentha pulegium* grown in different areas of the east of Algeria. *Chem. Nat. Comp.* 43: 481-483.
- Bego Ph. (2001). Connaître l'essentiel sur les huiles essentielles. Collection aromathérapie pratique et familiale, Ed. MDB Paris: p 2-3.
- Bekro Y-A, Mamyrbekova J, Boua BB, Bi F T, Ehile EE. (2007). Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpiniaceae). *Sciences & Nature.* 4(2): 217-225.
- Belili, R. (2019). Etude de l'activité antibactérienne de deux huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* Mill et *Pinus sylvestris* L et leur potentiel Synergique vis à vis des souches pathogènes : p19.20.
- Benabdallah, H. (2016). Cour Techniques d'extraction, de purification et de conservation; Master I : Analyses biochimiques.
- Bencheikh, D. (2012). Polyphenols and antioxidant properties of extracts from *Mentha pulegium*L. And *Matricariacamomilla*L., magister en biochimie., universite ferhat abbes setif. 89 p.
- Beneteaud, E. (2011). Les techniques d'extraction ; Comité Français du Parfum.
- Benjilali B. (2004).Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation p : 17-59.
- Bentabetlasгаа N. (2015) Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes *Fredoliaaretioides* et *echiumvulgare* de l'ouest algérien.Thèse de doctorat p : 20-21.
- Benzie IF, Devaki M. (2018). The ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay for non-enzymatic antioxidant capacity: Concepts, procedures, limitations and applications. Measurement of antioxidant activity and capacity. *Recent Trends Appl.* 77-106.
- Berka-Zougali, B., Ferhat, M.A., Hassani, A., Chemat, F., & Allaf K.S. (2012). Comparative Study of Essential Oils Extracted from Algerian *Myrtus communis* L. Leaves Using Microwaves and Hydro distillation. *International Journal of Molecular Sciences*, 13: 4673-4695.
- Bettahar R. (2015). Extraction des huiles essentielles Analyse par FT-IR et UV-Visible :p 15.
- Bouchra C., Achouri M., Idrissi Hassani LM.et Hmamouchi M. (2003). Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Peers: *Fr. Phytochem.* 89: 165-69.
- Boudjouref, M. (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*artémise campes tris* L. Thèse de magister. Université Ferhat Abbes-Sétif : p 99.
- Boughendjioua, H. (2017). Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* cultivées dans la région de Skikda-Algérie. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Lavandula officinalis* grown in the region of Skikda-Algeria. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège.*

Bouhaddouda, N. (2016). Activités antioxydants et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse doctorat, univ Annaba : p.24.

Boukhris, MA. (2009) Activités larvicides des extraits de plantes sur les larves de moustiques vecteurs de maladies parasitaires. Faculté des sciences et techniques :p 80.

Boulahia S.; Kahleras M.; Chenikher F. (2020). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne des deux plantes *Lavandula stoechas* et *lavandula officinalis*. p : 68.

Bousbiaa, N. (2011) Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires : p 5.

Bremness L., 2001 : plantes aromatiques et médicinales. BORDAS.303.

Bruneton J (1999). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3ème Ed. Tec&Doc Paris.

### C

Caillet ,S and Lacroix ,M .(2007) Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobienne et leur applications potentielle en alimentaire, INRS-Institut Armand Frappier (RESALA) Université de LAVAL (Québec) :1-8.

Chahine N. (2007). <https://www.notretemps.com/sante-bien-etre/medecines-douces/les-plantes-qui-soignent-vraiment-8558>.

Chalchat J.K., Carry L. P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R. and Chopineau J. (1997). Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. *J. Essent. Oil Res.* 9: 67-75.

Charik, S et Kadri, y. (2020) Criblage phytochimique et extraction des huiles essentielles de l'espèce *lavandula officinalis*. Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master Académique en chimie pharmaceutique. Algérie : université Mohamed Boudia Msila, p 35 et 36.

Chemat, F., Zill-e-Huma, & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4) :813–835.

Chenih, H.; Haouache, L. (2021) Etude phytochimique d'une plante médicinale et quelques formes galéniques d'utilisation en phytothérapie Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master Académique en Chimie pharmaceutique. Algérie : université Mohamed Boudiaf Msila : p 52-61.

Cheraif, K.; Bakchiche B.; Gherib A.; Bardaweel SK.; çol Ayvaz, M.; Flamini G.; Aserizzi R.; Gharreeb MA. (2020) Chemical Composition, Antioxidant, Anti-Tyrosinase, Anti-Cholinesterase and Cytotoxic Activities of Essential Oils of Six Algerian Plants. 25, 1710. Doi:10.3390/molecules25071710.

Cherfia R, Kara Ali M, Talhi I, Benaissa A, Kacem Chaouche N (2017). Phytochemical analysis, antioxidant and anti-microbial activities of leaves and flowers ethyl acetate and nbutanol fractions from an Algerian endemic plant *Calycotome spinose* (L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*.9 (12):185-196. DOI: 10.5897/JPP2017.0471.



Cherfia R, Zaiter A, Akkal S, Chaimbault P, Abdelwahab A B, Kirsch G, Kacem Chaouche N (2020). New approach in the characterization of bioactive compounds isolated from *Calycotome spinose* (L.) Link leaves by the use of negative electrospray ionization LITMSn, LC-ESI-MS/MS, as well as NMR analysis. *Bioorganic Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103535>

Chew, K. K., Khoo, M. Z., Ng, S. Y., Thoo, Y. Y., Aida, W. W., & Ho, C. W. (2011). Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphon stamineus* extracts. *International Food Research Journal*. 18(4). 1427.

CICILE J.-C.(2002). Distillation. Absorption Etude pratique. *Journal Techniques de l'ingénieur* .2610 .p :1-20.

Costa P., Gonçalves S., Valentão P., Andrade P. B., Coelho N., et Romano, A. (2012). *Thymus lotocephalus* wild plants and in vitro cultures produce different profiles of phenolic compounds with antioxidant activity. *Food chemistry*, 135(3): 1253-1260. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.072>

Costa P.; Gonçalves S.; Valentão P.; Andrade P.B.; Almeida C.; Nogueira, J.M.; Romano, A.(2010) Metabolic profile and biological activities of *Lavandula pedunculata* subsp. *lusitanica* (Chaytor) Franco: Studies on the essential oil and polar extracts. *Food Chem*.141 : 2501-2506.

## D

Dellille, L. (2007). *les plantes médicinales d'algérie*. Berti editions : 240.

Diouf P. N. ; Stevanovic T. ; Cloutier A. (2009) Study on chemical composition, antioxidant and antiinflammatory activities of hot wate.

Djerroumi,A., Nacef,M. (2004) .100 plantes médicinales d'Algérie edition HOUMA :169.

Dobros, N.; Zawada, K.; Paradowska, K.(2022). Phytochemical Profile and Antioxidant Activity of *Lavandula angustifolia* and *Lavandula x intermedia* Cultivars Extracted with Different Methods *Antioxidants* 11, 711. <https://doi.org/10.3390/antiox1104071>.

Dorman H. J. D.; Deans S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils.p : 308-316.

## E

Ebrahimi NS, Hadian J, Mirjalili MH, Sonboli A, Yousefzadi M (2008). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phonological stages. *Food Chemistry* 110:927-931.<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.083>.

Edeoga, H. O.; Okwu, D. E.; Mbaebie, B. O. (2005) Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African journal of biotechnology*. 4(7) :685-688.

El Yahyaoui O, Ait Ouaziz N, Guinda I, Sammama A, Kerrouri S, Bouabid B, El Bakkall M, Qyou A, Lrhorfi A, Bengueddour R. (2017). Phytochemical screening and thin layer chromatography of two medicinal plants: *Adansoniadig-itata* (Bombacaceae) and *Acacia raddiana* (Fabaceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* .6(1): 10-15.

Elkhamlichi A, El Hajaji H, Faraj H, Alami A, El Bali B, Lachkar M (2017). Phytochemical screening and evaluation of antioxidant and antibacterial activities of seeds and pods extracts of *Calycotome villosa* subsp. *intermedia*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 7 (04): 192-198. DOI:10.7324/JAPS.2017.70428.

Elmastas M, Telci I, Akşit H, Erenler R (2015). Comparison of total phenolic contents and antioxidant capacities in mint genotypes used as spices. *J. Biochem.* 40(6): 456 - 462. DOI: <https://doi.org/10.1515/tjb-2015-0034>

Ersilia A ;Corina D ; Isidora R , Diana O, Renata M, Adriana M, and Cristina Adriana Dehelean.(2018). Phytochemical Screening and Biological Activity of *Mentha×piperita* L. and *Lavandula angustifolia* Mill. Extracts. *Analytical Cellular Pathology* Article ID (2678924) :p7 .<https://doi.org/10.1155/2018/2678924>

### F

Farhat, A. (2010). « Vapo-Diffusion assistée par Micro-ondes : Conception, Optimisation et Application ». Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse France et l'Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès, Tunisie.

Ferreira, I C F R.; Baptista, P.; Vilas-Baos, M.; Barros, L. (2007) Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity, *Food Chem.* 100 (4): 1511-1516. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.043>.

### G

GAINRD, A. (2016).lavandes et lavandin, utilisation en aromathérapie. enquete aupres des pharmaciens d'officine. à Bordeaux :P 22.

Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z. et Jore D. (2003) : Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ; Mécanismes biochimiques. p 91-96.

GARNERO J. (1996). Huiles essentielles. *Techniques de l'ingénieur* K345 : 1-45.

Ghazghazi, H., Chedia, A., Maarouf, A. (2013). Comparaison des contenus en polyphénol et de l'activité antioxydante des extraits méthanolique de quatre plantes collecté du nord de tunisie *microbiol.Hgg.Alim.* 25 (73).

Gilly G. (1997). Les plantes à parfum et huiles essentielles de Grasse. Botanique, culture, chimie, production et marché. Ed. L'Harmattan : 428 .

Guignard J-L. (2001) : Botanique systématique moléculaire. Paris. 290.

Guignard, J.-L., Dupont, F. (2004). Botanique systématique moléculaire, 13ed MASSON, Belgique :p234-237.

Guignard, J.L., et Dupont, F. (2004). Botanique : Systématique moléculaire, 13 ème éd. Ed. Masson, Paris. 237 p.

Guy G. (2005). Les plantes aromatiques et huile essentielle a graisse, édition l'Harmattan.

**H**

Habiba B., Adel N.C., Hani B., Farida S., Messaoud R., Hocine L., Daoud, H. (2011). Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. and *Mentha spicata* L. essential oils. *Der Pharmacia Lettre* 3 (4), 267-275.

Haddadi, H. (2005). Détermination de l'activité antioxydante de quelques fruits (Thèse de doctorat, Béjaia, Université Abderrahmane Mira. Faculté des Sciences de la nature et de la vie), p 76.

Hanen N., Zouari S., Ingrid A., Auger J., Ammar E., Neffati M. (2011). « Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L. », *Acta Botanica Gallica*, vol. 158, no 1, 112. DOI 10.1080/12538078.2011.10516259.

Harbone J.B. (1998). *Phytochemical Methods : A guide to moderne techniques of plant analysis* 3e ed. :chapman and hill. 303p.

Hariri, A.; Ouis N.; Bouhadi., D.; Benatouche., Z. (2020). In vitro antioxidant activity of essential oil of aerial parts of *Mentha pulegium* L. *Acta Agriculturae Serbica*, 25 (50): 193–19. doi: 10.5937/AASer2050193H.

Harouak, H.; Najem, M.; Ibjibjen, J.; Nassiri, L. (2022). Dental use of some lamiaceae species from morocco and principal component analysis between total polyphenolic content obtained by different aqueous extraction. *Journal of microbiologie, Biotechnologie and food science*. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.5885>.

Herodez S., Hadolinb M., Skergeta M., et Zeljko Knez. (2003). Solvent extraction.

Hurtel J-M. (2004). *L'AIL: Allium sativum*, Liliaceae. *Plantes et Médecine*.

**J**

Jebali, J., Ghazghazi, H., Aouadhi, C., El Bini-Dhouib I., Ben Salem R.; Srairi-Abid, N.; Marrakchi, N., Rigane, G.(2022). Tunisian Native *Mentha pulegium* L. Extracts : Phytochemical Composition and Biological Activities. *Molécules*. 27- 314. <https://doi.org/10.3390/molecules27010314>.

**K**

Kebissi, H. *Encyclopédie des herbes et plantes médicinales*. 2004, Dar Al-Kotob Al-Iliyah, Beyrouth-Liban, 566.

Kharoubi, O., Mansour I., Rahmani S., Kanoun. K., Harir N. (2021). *Egypt. Acad.J. Biolog. Sci. (C.Physiology and Molecular biology)* Vol. 13(1) pp71-82 (2021). DOI: 10.21608/EAJBSC.2021.157949.

Knobloch, KA.; Pauli, B.; Iberl, H.; Weigand, N. (1989) : Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *J. of Ess. Oil Res.* 1 : 119-123.

**L**

Lakhdar, L. (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne d'huile essentielle marocaine sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans*. these de doctorat.

Lassal, F. (2020) étude de pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de l'ail : p 27.

Lebeau J, Furman C, Bernier JL, Duriez P, Teissier E and Cotelle, N (2000). Antioxidant properties of di-tert-butylhydrox-ylated flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*. 29(9) : 900-912. DOI :[https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00390-7](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00390-7).

Leybros J. et Fremeaux P. (1990). Extraction solide-liquide, aspect théorique. *Techniques de l'ingénieur J 2780* : 7-8.

Liao Z, Huang Q, Cheng Q, Khan S, Yu X (2021). Seasonal variation in chemical compositions of essential oils extracted from lavender flowers in the Yun-Gui plateau of China. *Molecules* 26:5639. <https://doi.org/10.3390/molecules26185639>

Luque de Castro, M.D.; Priego-Capote, F. (2009) Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 2383–2389. doi:10.1016/j.chroma.2009.11.027

### M

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

Makino R. ; Ohara S. ; Hashida K. (2009) Efficient extraction of polyphenolics from the bark of tropical tree species. *Journal of Tropical Forest Science* 21(1): 45–49.

Mansour I. (2021). Chemical Composition; Antioxidant and Antibacterial Activity of *Lavandula officinalis* Flowers Essential Oil.

Marie-Laure Fauconnier.(2019) .les HEs enjeux et perspectives.

Marzouk, B., Fredj, M.B.H., Chraif, I., Mastouri, M., Boukef, K., Marzoul, Z. (2008). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Tunisian *Mentha pulegium* L. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 6, 78-82.

Mayouf N. (2019). Propriétés antioxydante, anti-inflammatoire et immunomodulatrice des extraits d'*Asphodelus micro-carpus* (Thèse de Doctorat, Université de Farhat Abbas, Sétif).

Mnayer D.(2014) Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens :12.

Molyneux, P (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakar J. Sci. Technol.* 26 (2):211 219.

Moulin J.-P., Pareau D., Rakib M. et Stambouli M., 2002 : Transfert de matière. Extraction liquide – liquide. *Techniques de l'ingénieur J1073* : 1 – 13.

Muanda FN. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques (Thèse de doctorat, Université de Lorraine).

**N**

N'guessan K., Kadja B., Zirihi G., Traoré D., Aké-Assi.L. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*. 6 (1) : 1 – 15. <http://dx.doi.org/10.4314/scinat.v6i1.48575>.

Nikaido H., Vaara M. (1985): Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67 : p 593-656.

**O**

Oliveira, M., Salatino A., Negri, G., Braga M. (2010) Detection of anthraquinones and identification of 1,4-naphthohydroquinone in cell suspension cultures of *Rudgea jasminoides* (Cham.) Müll. Arg. (Rubiaceae). Article in *Brazilian Journal of Botany* · March 2007 V.30, n.1, p.167-172. DOI: 10.1590/S0100-84042007000100017

**P**

Paré J. (1997). Procédé assisté par micro-ondes. *Info-essences, Bulletin sur les huiles essentielles*, 4 : 4.

Pedrosa, V.; Oliviera, H.; Magini, M. (2010) Spectrofluorimetric Determination of Coumarin in Commercial Tablets. Article in *Journal of Fluorescence* · November 2010 *J Fluoresc* (2011) 21:733-738 DOI: 10.1007/s10895-010-0763-5 · Source: PubMed

**Q**

Qnais E A, Elokda A S, Abu Ghalyun Y Y & Abdulla F A.(2008).Antidiarrheal Activity of the Aqueous Extract of *Punica granatum*. (Pomegranate) Peels.*Pharmaceutical Biology* .45 (9). DOI:<https://doi.org/10.1080/13880200701575304>.

Quézel, P., & Santa S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Tome 1. CNRS. Ed. Paul Le chevalier, Paris.

**R**

Radušienė, J., Karpavičienė, B., & Stanius, Ž. (2012). Effect of external and internal factors on secondary metabolites accumulation in *St. John's wort*. *Botanica Lithuanica*, 18(2), 101-108. <https://10.2478/v10279-012-0012-8>

Ribéreau-Gayon J, Peynaud E, Sudraud P, Ribéreau-GayonP (1982). Composés phénolique. In « traité d'oenologie, science et technique du vin ». Ed. Dunod : 477-499.

Ribéreau-Gayon, P. (1968) *Les composés phénoliques des végétaux*. Editions Dunod, Paris p 254.

**S**

Salle J-L.(2004) : *Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie*. Editions Frison-Roche, 2ème édition :220 p.

Sanago R..(2006). *Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle*. Université Bamako (Mali): 53.

Sanchez-Moreno C., Larrauri J.A., et Saura-calixto F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal Science Technology International*. 8, 121-137.

Shimada K., Fujikawa K., Yahara K., Nakamura T. (1992). Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(6), 945-948.

Silvant, C. (2014). *L'aromathérapie la nature au service de l'humanité*, Ed. Publibook, Paris.

Singleton V.L. et Rossi J.A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology and Viticulture*. 16, 144-153.

Slimani, C., Sqalli, H., Rais C., Farah A., Lazrq, A., El ghadraoui, L., Belmalha, S., Echchgadda, G. (2022) Chemical composition and evaluation of biological effects of essential oil and aqueous extract of *Lavandula angustifolia* L. *Notulae Scientia Biologicae*, vol 13, n°11172. DOI:10.15835/nsb14111172.

Smallfield B (2001). Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop and Food Research* 45:1-4.

Stefano Padulosi , Danna Leaman & P. Quek, « Challenges and Opportunities in Enhancing the Conservation and Use of Medicinal and Aromatic Plants », *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, vol. 9, no 4, 2002, p. 243-267 (DOI 10.1300/J044v09n04\_01).

Sutour, S. (2010). Étude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthe de corse et de kumquats. Thèse de doctorat, spécialité : Chimie Organique et Analytique.

### T

Tahou, SF. (2016) Thèse de doctorat Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments à base de plantes. p : 40 – 43.

Toure, D. (2015). Etudes chimique et biologique des huiles.

### V

Veillet, S., Tomao, V., & Chemat, F. (2010). Ultrasound assisted maceration: An original procedure for direct aromatisation of olive oil with basil. *Food Chemistry*.123(3) :905–911.

### W

Whitehead, S. R., Schneider, G. F., Dybzinski, R., Nelson, A. S., Gelambi, M., Jos, E., & Beckman, N. G. (2022). Fruits, frugivores, and the evolution of phytochemical diversity. *Oikos*, 2022(2). <https://doi.org/10.1111/oik.08332>

Wong, C.C., Li, H.B., Cheng, K.W., Chen, F.A., (2006). Systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem*, 97: 705-711.

Woronuk G., Demissie Z., Rheault M. & Mahmoud S. (2011) Biosynthesis and therapeutic properties of *Lavandula* essential oil constituents. *Planta Medica*. 77: 7-15.

**Y**

Yakhoubi R., Megateli, S.; Hadj Sadok, T.; Gali, L. (2021). Photoprotective, antioxidant, anticholinesterase activities and phenolic contents of different Algerian Mentha pulegium extracts *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 34 (2021) 102038. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102038>

**Z**

Zakiah, MY., Zuraida M., Kasuan N., Hezri Fazalul Rahiman, M.; Taib, MN. (2013). Effect of temperature on Kaffir lime oil by using hydrodiffusion steam distillation system. Article in *Malaysian Journal of Analytical Sciences* .17 (2) :326 - 339.

ملخص



## ملخص

يركز عملنا على الفحص الكيميائي النباتي، والفحص اللوني للمركبات الفينولية والأنشطة البيولوجية المضادة للأكسدة والبكتيريا لثلاثة مستخلصات، هيدروميثانول والهكسان والزيوت الأساسية لنباتين عطريين الخزامى و (*Lavandula angustifolia* Mill) و الفليو (*Mentha pelegium*) ينتميان إلى عائلة الشفوية (*lamiaceae*)؛ من منطقة قسنطينة. كشف الفحص الكيميائي النباتي بعدة طرق نوعية تعتمد على الترسيب و / أو تقنيات التلوين باستخدام كواشف محددة عن وجود مجموعات كيميائية نباتية مختلفة ، ولا سيما المواد الكيميائية الثانوية ، في نباتين مثل البوليفينول والفلافونويد والعفص والتي كانت الأكثر انتشارًا. بالإضافة إلى ذلك، سجلت حصيدا مستخلصي الهكسان من *M. Pulegium* و *L. angustifolia* Mill أعلى قيم تساوي 5.37 و 9.9% على التوالي. بالإضافة إلى ذلك، تم أيضًا تنفيذ محتويات البوليفينول (PT) وإجمالي مركبات الفلافونويد (TF) التي تم قياسها بواسطة Folin-Ciocalteu و  $AlCl_3$  على التوالي. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن قيم البوليفينول الكلي كانت أعلى من مركبات الفلافونويد. حيث تم تسجيل أفضل القيم أداءً لـ PT و FT بواسطة مستخلص هيدروميثانول من *M. Pulegium* 83.95 (مجم / مجم) EAG و 37.13 MS و 37.13 مجم / مجم EQ (MS)؛ على التوالي. وفيما يتعلق بالنشاط المضاد للأكسدة فإن النتائج المتحصل عليها بطريقتين؛ DPPH و FRAP، يسجلان أدنى  $IC_{50} = 0.048$  و  $EC_{50} = 0.28$  مجم / مل ، على التوالي. أظهر النشاط المضاد للبكتيريا في المختبر للمستخلصات التي تم الحصول عليها والمزج بينهما التي تم تقييمها بواسطة طريقة الثغرات، حيث أظهروا نشاطًا قويًا ضد بكتيريا؛ *B. cereus* و *S. aureus* و *E. coli* و *P. aeruginosa*. لذلك، تعد بكتيريا جرام + أكثر حساسية من بكتيريا الجرام-. تم تسجيل أعلى قيم تثبيط لمستخلص الزيت الأساسي والهكسان من طرف *L. angustifolia* Mill والهيدروميثانول من طرف *M. pulegium*.  $62 \pm 0,00$  ؛  $19 \pm 0.07$  و  $0.21 \pm 17.5$  مم بتركيز 100% و 200 مجم / مل  $MIC = 25$  و 12.5 مجم / مل على التوالي ؛ على *B. cereus*. بالإضافة إلى ذلك، فإن المزج بين الزيوت الأساسية للنباتين والزيت الأساسي لـ *L. angustifolia* Mill ومستخلص الهيدروميثانول لـ *M. pulegium* لهم تأثير مهم مضاد لبكتيريا *S. aureus* مع  $ZIs$  يساوي  $0 \pm 36$  ،  $00 \pm 24$  و  $24.5 \pm 0.35$  مم بتركيزات 100% و 200 مجم / مل حيث  $(MIC = 25)$  و  $(= 12.5$  مجم / مل)؛ على التوالي. سمحت لنا نتائج هذا العمل بتسليط الضوء على الاهتمام بالنباتات الطبية، ولا سيما الأنواع من عائلة *Lamiaceae* حيث يمكن اعتبار هذه النتائج كنقطة انطلاق لاستخدام هذه النباتات ومستخلصاتها في الصحة وفي مجالات أخرى؛ كالمواد الغذائية ومستحضرات التجميل والأدوية.

**الكلمات المفتاحية:** *Lavandula angustifolia* Mill ، *Mentha pulegium* ، الفحص الكيميائي

النباتي ، المركبات الفينولية ، الزيوت الأساسية ، مضادات الأكسدة والقوة المضادة للبكتيريا.

# Résumé

## Résumé

Notre travail porte sur le criblage phytochimique, le dosage colorimétrique des composés phénoliques et les activités biologiques anti-oxydante et antibactérienne de trois extraits, hydro MeOH, hexane et huiles essentielles de deux plantes aromatiques appartenant à la famille lamiacées; *Mentha pulegium* et *Lavandula angustifolia* Mill de la région de Constantine. En effet, le criblage phytochimique par plusieurs méthodes qualitatives basées sur les techniques de précipitation et/ou de coloration à l'aide des réactifs spécifiques, a révélé la présence de différents groupes phytochimiques en particulier les métabolites secondaires, dans les deux plantes tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tannins qui étaient les plus dominants. En outre, les rendements des deux extraits hexane de *M. pulegium* et *L. angustifolia* Mill ont enregistré les valeurs les plus élevées égales à  $5,37 \pm 0,64$  et  $9,9 \pm 0,2$  % respectivement. Par ailleurs, les teneurs en polyphénols (PT) et en flavonoïdes totaux (FT) quantifiés par le Folin-Ciocalteu et l' $\text{AlCl}_3$  respectivement, ont également été effectuées. Les résultats obtenus ont révélé que les valeurs des polyphénols totaux ont été significativement plus importantes de celles des flavonoïdes. Où les valeurs les plus performantes des PT et des FT ont été enregistrées par l'extrait hydro MeOH du *M. pulegium* ( $83,95 \pm 0,01$  mg EAG/g MS et  $37,13 \pm 0,00$  mg EQ/g MS ; respectivement). Le même extrait précédent a développé le pouvoir antioxydant le plus pertinent en utilisant les deux techniques; DPPH et FRAP, enregistrant l' $\text{IC}_{50}$  et l' $\text{EC}_{50}$  les plus faibles ( $\text{IC}_{50} = 0,048 \pm 0,01$  et  $\text{EC}_{50} = 0,28 \pm 0,01$  mg/mL, respectivement). L'activité antibactérienne *in vitro* des extraits obtenus et leurs combinaisons, évaluée par la méthode de diffusion en puits, a aussi démontré des diamètres d'inhibition très intéressants contre les bactéries test ; *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*. De ce fait, les bactéries à Gram + sont les plus sensibles que les bactéries à Gram-. Les valeurs d'inhibition les plus élevées ont été enregistrées pour l'HE et l'extrait d'hexane de *L. angustifolia* Mill et l'hydro MeOH de *M. pulegium* ;  $62 \pm 0,00$ ;  $19 \pm 0,07$  et  $17,5 \pm 0,21$  mm à une concentration de 100% et 200 mg/mL (CMI= 25% et 12,5mg/mL ; respectivement) sur *B.cereus*. En outre, la combinaison des HEs de deux plantes étudiées, l'HE de *L. angustifolia* Mill et l'extrait hydro MeOH de *M. pulegium* ont développé un effet antibactérien très intéressant sur *S. aureus* avec des ZIs égales à  $36 \pm 0,00$  ;  $24 \pm 0,00$  et  $24,5 \pm 0,35$  mm à des concentrations de 100% et 200mg/mL (CMI =25% et 12,5mg/mL); consécutivement. L'ensemble des résultats de ce travail nous a permis de mettre en évidence l'intérêt des plantes médicinales, en particulier les espèces de la famille Lamiaceae. Ces résultats peuvent être considérés comme point de départ pour l'usage de ces plantes et leurs extraits en santé et en d'autres domaines ; agroalimentaires, cosmétique et pharmaceutique.

**Mots clés :** *Mentha pulegium*, *Lavandula angustifolia* Mill, criblage phytochimique, composés phénoliques, huiles essentielles, pouvoir anti-oxydant et antibactérien.

# **Abstract**

## Abstract

The present study focuses on the phytochemical screening, the colorimetric assay of phenolic compounds and the biological activities; antioxidant and antibacterial of three extracts, hydroMeOH, hexane and essential oils of two aromatic plants belonging to the Lamiaceae family; *Mentha pulegium* and *Lavandula angustifolia* Mill from the Constantine region. Indeed, the phytochemical screening by several qualitative methods based on precipitation and/or staining techniques using specific reagents revealed the presence of different phytochemical groups, in particular secondary metabolites, in the two plants such as polyphenols, flavonoids and tannins which were the most dominant. In addition, the yields of the two hexane extracts of *M. pulegium* and *L. angustifolia* Mill recorded the highest values equal to 5.37 and 9.9% respectively. In addition, the contents of polyphenols (PT) and total flavonoids (TF) quantified by Folin-Ciocalteu and AlCl<sub>3</sub> respectively, were also carried out. The obtained results revealed that the values of total polyphenols were significantly higher than those of flavonoids. Where, the best performing values of PT and FT were recorded by hydroMeOH extract of *M. pulegium* (83.95 mg EAG/g MS and 37.13 mg EQ/g MS; respectively). The same previous extract developed the most relevant antioxidant power using both techniques; DPPH and FRAP, recording the lowest IC<sub>50</sub> and EC<sub>50</sub> (IC<sub>50</sub>=0.048 and EC<sub>50</sub>=0.28 mg/mL, consecutively). The *in vitro* antibacterial activity of the obtained extracts and their combinations, evaluated by the well diffusion method, also demonstrated very interesting inhibition diameters against the test bacteria; *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosa*. Therefore, Gram + bacteria are more sensitive than Gram – bacteria. The highest inhibition values were recorded for EO and hexane extract from *L. angustifolia* Mill and hydroMeOH from *M. pulegium*; 62±0.00, 19±0.07 and 17.5±0.21 mm at a concentration of 100% and 200 mg/mL (MIC= 25% and 12.5 mg/mL; respectively) on *B. cereus*. In addition, the combination of HEs from two plants studied, the HE of *L. angustifolia* Mill and the hydroMeOH extract of *M. pulegium* developed a very interesting antibacterial effect on *S. aureus* with ZIs equal to 36±0, 00; 24±0.00 and 24.5±0.35 mm at concentrations of 100% and 200 mg/mL (MIC =25% and 12.5 mg/mL); consecutively. All the results of this work allowed us to highlight the interest of medicinal plants, in particular species of the Lamiaceae family. These results can also be considered as a starting point for the use of these plants and their extracts in health and in other fields; food, cosmetics and pharmaceuticals.

**Key words:** *Mentha pulegium*, *Lavandula angustifolia* Mill, phytochemical screening, phenolic compounds, essential oils, antioxidant and antibacterial ability.

# **Annexe**

**Annexe : Composition et préparation des milieux de cultures****Bouillon nutritif pH= 7,2**

Tryptone .....	10,0 g
Extrait de viande .....	5,0 g
Chlorure de sodium .....	5,0 g

**Gélose nutritive (GN) pH=7.2**

Peptone.....	10 g
Extrait de viande .....	5 g
Chlorure de sodium .....	5 g
Gélose .....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

Stériliser par autoclavage à 121° C pendant 15 min. (Guiraud, 1998).

**Mueller Hinton (MH) pH=7.4**

Infusion de viande .....	300 g
Hydrolysate de caseïne .....	17,5 g
Amidon de maïs .....	1,5 g
Agar .....	17 g
Eau distillée .....	1000 ml

Stériliser par autoclavage à 121° C pendant 15 min.

**Gélose Sabouraud Chloramphénicol (SAB+) pH= 6,4**

Peptone de viande (bovin ou porcin) .....	3 g
Peptone de caséine (bovin) .....	3 g
Peptone de soja .....	3 g
Extrait de levure .....	2 g
Extrait de malt .....	1 g
Glucose .....	19g
Phosphate monopotassique.....	0.5g
Phosphate disodique.....	0.5g
Agar .....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

Stériliser par autoclavage à 121° C pendant 15 min. (Delarras, 2007).

**Mc Farland**

Bariumchloride( $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 1%.....	0.5ml
Sulfuric Acid( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 1%.....	99.5ml

**Milieu Chapman pH= 7.4**

Peptone.....	10,0 g/l
Extrait de viande de bœuf.....	1 g/l
Chlorure de sodium.....	75,0 g/l
Mannitol.....	10,0 g/l
Rouge de phénol.....	0,025 g/l
Agar.....	15,0 g

Stériliser par autoclavage à 121° C pendant 15 min.

**Milieu MacConkey pH= 7.4**

Pancréatique Digest de Gelatine.....	17 g/l
Peptones (viande et caséine).....	3 g/l
Lactose.....	10 g/l
Sels biliaires No. 3.....	1.5 g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
Rouge neutre.....	0.03 g/l
Crystal violet.....	0.001 g/l
Agar.....	13.5g/l

Stériliser par autoclavage à 121° C pendant 15 min

**Gélose au cétrimide pH = 7,1**

Peptone de gélatine.....	16,0 g
Peptone de caséine .....	10,0 g
Bromure de tétradonium (cétrimide).....	0,2 g
Acidenalidixique .....	15,0 mg
Sulfate de potassium .....	10,0 g
Chlorure de magnésium.....	1,4 g
Agar .....	10,0 g



Université <b>Frères Mentouri Constantine 1</b> Département de <b>Biologie Appliquée</b>	Présenté par : <b>RAMOUL Loua et AZZIZI Sara</b> Date de soutenance : <b>22/ 06/ 2022</b>									
<p align="center"><b>Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master professionnel en Bio-industrie, Analyse et Contrôle (BAC)</b></p>										
<p align="center"><b>Extraction des métabolites bioactifs à partir de <i>Mentha pulegium</i> et <i>Lavandula angustifolia</i> Mill et mise en évidence leurs activités biologiques; anti-oxydante et antibactérienne.</b></p>										
<p><b>Résumé</b></p>										
<p>Notre travail porte sur le criblage phytochimique, le dosage colorimétrique des composés phénoliques et les activités biologiques anti-oxydante et antibactérienne de trois extraits, hydro MeOH, hexane et huiles essentielles de deux plantes aromatiques appartenant à la famille lamiacées; <i>Mentha pulegium</i> et <i>Lavandula angustifolia</i> Mill de la région de Constantine. En effet, le criblage phytochimique par plusieurs méthodes qualitatives basées sur les techniques de précipitation et/ou de coloration à l'aide des réactifs spécifiques, a révélé la présence de différents groupes phytochimiques en particulier les métabolites secondaires, dans les deux plantes tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tannins qui étaient les plus dominants. En outre, les rendements des deux extraits hexane de <i>M. pulegium</i> et <i>L. angustifolia</i> Mill ont enregistré les valeurs les plus élevées égales à 5,37±0,64 et 9,9±0,2 % respectivement. Par ailleurs, les teneurs en polyphénols (PT) et en flavonoïdes totaux (FT) quantifiés par le Folin-Ciocalteu et l'AlCl<sub>3</sub> respectivement, ont également été effectuées. Les résultats obtenus ont révélé que les valeurs des polyphénols totaux ont été significativement plus importantes de celles des flavonoïdes. Où les valeurs les plus performantes des PT et des FT ont été enregistrées par l'extrait hydro MeOH du <i>M. pulegium</i> (83,95±0.01 mg EAG/g MS et 37,13±0.00 mg EQ/g MS ; respectivement). Le même extrait précédent a développé le pouvoir antioxydant le plus pertinent en utilisant les deux techniques; DPPH et FRAP, enregistrant l'IC<sub>50</sub> et l'EC<sub>50</sub> les plus faibles (IC<sub>50</sub>=0,048±0,01 et EC<sub>50</sub>=0,28±0,01mg/mL, respectivement). L'activité antibactérienne <i>in vitro</i> des extraits obtenus et leurs combinaisons, évaluée par la méthode de diffusion en puits, a aussi démontré des diamètres d'inhibition très intéressants contre les bactéries test ; <i>B. cereus</i>, <i>S. aureus</i>, <i>E. coli</i> et <i>P. aeruginosa</i>. De ce fait, les bactéries à Gram + sont les plus sensibles que les bactéries à Gram-. Les valeurs d'inhibition les plus élevées ont été enregistrées pour l'HE et l'extrait d'hexane de <i>L. angustifolia</i> Mill et l'hydro MeOH de <i>M. pulegium</i> ; 62±0,00; 19±0,07 et 17,5±0,21 mm à une concentration de 100% et 200 mg/mL (CMI= 25% et 12,5mg/mL ; respectivement) sur <i>B.cereus</i>. En outre, la combinaison des HEs de deux plantes étudiées, l'HE de <i>L. angustifolia</i> Mill et l'extrait hydro MeOH de <i>M. pulegium</i> ont développé un effet antibactérien très intéressant sur <i>S. aureus</i> avec des ZIs égales à 36±0,00 ; 24±0,00 et 24,5±0,35 mm à des concentrations de 100% et 200mg/mL (CMI =25% et 12,5mg/mL); consécutivement. L'ensemble des résultats de ce travail nous a permis de mettre en évidence l'intérêt des plantes médicinales, en particulier les espèces de la famille Lamiaceae. Ces résultats peuvent être considérés comme point de départ pour l'usage de ces plantes et leurs extraits en santé et en d'autres domaines ; agroalimentaires, cosmétique et pharmaceutique.</p>										
<p><b>Mots clés :</b> <i>Mentha pulegium</i>, <i>Lavandula angustifolia</i> Mill, criblage phytochimique, composés phénoliques, huiles essentielles, pouvoir anti-oxydant et antibactérien.</p>										
<p><b>Laboratoires d'accueil:</b> Laboratoire de biochimie et de zoologie, FSNV- Université Frère Mentouri Constantine 1-</p>										
<p><b>Jury d'évaluation :</b></p> <table border="0"> <tr> <td><b>Président :</b></td> <td>Dr. NEMOUCHI Sara</td> <td>M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.</td> </tr> <tr> <td><b>Rapporteur :</b></td> <td>Dr. CHERFIA Radia</td> <td>M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.</td> </tr> <tr> <td><b>Examineur :</b></td> <td>Dr. HALMI Sihem</td> <td>M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.</td> </tr> </table>		<b>Président :</b>	Dr. NEMOUCHI Sara	M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.	<b>Rapporteur :</b>	Dr. CHERFIA Radia	M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.	<b>Examineur :</b>	Dr. HALMI Sihem	M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.
<b>Président :</b>	Dr. NEMOUCHI Sara	M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.								
<b>Rapporteur :</b>	Dr. CHERFIA Radia	M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.								
<b>Examineur :</b>	Dr. HALMI Sihem	M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.								
<p align="center"><b>Année universitaire : 2021- 2022</b></p>										