

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahlab de Blida -1-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département De Biotechnologie
Mémoire de Fin d'études
Pour l'obtention du Diplôme de Master en Biotechnologie
Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des plantes

THEME

Evaluation des activites biologiques
de l'huile essentielle de *Mentha pulegium L.*

Présenté par :

Soutenu le : 22 Juin 2023.

Messaoudi amel

Allal Sabrina

Devant le jury composé de :

Présidente : Mme Tadjine. U.S.D.B

Encadrante : Mme Ayachi N. U.S.D.B

Examinatrice: Mme granai. U.S.D.B

Promotion : 2022-2023

Dédicace

♥♥ *Je dédie Ce modeste travail à mes très chers parents que Dieu me les garde* ♥♥

♥♥ *A ma sœur* ♥♥

♥♥ *A toute ma famille* ♥♥

♥♥ *A mes Amis et mes collègues* ♥♥

♥♥ *A toute personne qui me connaît* ♥♥

Amel

Dédicace

♥ Tout d'abord ; je tiens à remercier DIEU De m'avoir donné la force et le courage de mener A bien ce modeste travail.

Je tiens à dédier cet humble travailA:

♥ *Ma tendre mère ZEHOUR et mon très cher père MOHAMED pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

♥ *Mes sœurs: AMIRA, IBTISSEM, INES.*

♥ *Mon frère WALID, mon Beau-frère MOHAMED et ma chère nièce MARIA.*

♥ *A mes meilleurs amis :HAYATt ,GROZLAN ,IMAD , LIZA , LYAS , FOFo ,ANIS ,DANIA , FATIMA, ,KAMAR , HALLA ,LOUBNA ,ABLA , INSAF.*

♥ *A mon binôme AMEL et sa famille*

♥ *Ma tante Wardia*

♥ *Tous ceux qui m'aiment et que j'aime.*

SABRINA

Résumé

Notre travail porte sur l'étude des activités biologiques de l'huile essentielle de la menthe pouliot (*Menthapulegium*L.) de la région de ouedalleug (Blida). *Menthapulegium*L. Provenant de la région de de ouedalleuga fait l'objet d'un décryptage biologique de cette huile essentielle. Cette plante appartient à la famille des lamiacée ; la famille la plus importante dans la flore algérienne et la plus utilisée par les thérapeutes traditionnels. L'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation a donné un rendement de 0.003%. L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH, en comparant avec l'antioxydant de référence Vit C (IC₅₀= 0.001) les résultats montrent que l'huile essentielle de *Menthapulegium*L. a une activité antioxydante modéré dont IC₅₀ égale à 0.045mg/ml. L'étude du pouvoir antibactérien *in vitro* par la méthode de diffusion des disques a démontré une bonne activité antibactérienne contre les souches testés soit bactériennes (*E.coli*, *S. aureus*, *B.subtilis*) soit fongique (*Aspergillus brasiliensis*, *candida albicans*). Ces résultats peuvent être considérés comme point de départ pour des applications de cette plante en santé ou dans le secteur agroalimentaire.

Mots clés : *Menthapulegium*L., les huiles essentielles, activité antioxydante, activité Antibactérienne, activité antifongique.

Sommaire

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction **Erreur ! Signet non défini.**

Chapitre I :Généralités sur les plantes médicinales et les huiles essentielles..... 3

I.1. Définition d'une plante médicinale 3

I.2. Utilisation des plantes médicinales 3

I.3. Les métabolites secondaires des plantes 3

I.4. Définition générale d'une huile essentielle 4

I.5. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles 5

I.6. Fonctions biologiques des huiles essentielles 5

I.7. Activités biologiques des huiles essentielles 5

Chapitre II :Monographie de *Mentha pulegium L.* 8

II.1. Description morphologique de *MenthaPulegium L.* 8

II.2. Position Systématique 9

II.3. Origine et distribution..... 9

II.4. Aspects botaniques 10

II.5. Composition chimique..... 10

II.6. Propriétés et emplois 11

II.7. Toxicologie..... 12

Chapitre III :Matériels et méthodes 12

III.1. Matériel	13
III.1.1. Matériel végétale	13
III.1.2. Matériel microbiologique	Erreur ! Signet non défini.
III.1.3. Matériel animal.....	14
III.2. Méthodes expérimentales.....	15
III.2.1. Récolte de la plante	Erreur ! Signet non défini.
III.2.2. Extraction de l'huile essentielle	15
III.2.3. Calcul du rendement en huiles essentielles	17
III.2.4. Caractères organoleptiques	18
III.3.Activités biologiques.....	18
III.3.1. Activité antioxydante	18
III.3.2. Activité anti-inflammatoire	19
III.3.3. Activité antimicrobienne	22
III.4. Formulation d'une émulsion	25
III.4.1.Définition	25
III.4.2. Matières premières	25
III.4.4. Mode opératoires	26
ChapitreIV :Résultats et Discussions	26
IV.1. Traitement de la plante.....	27
IV.1.1. Résultats d'extraction de l'HE	27
IV.2. Activités biologiques.....	28
Conclusion.....	38
Références	40

Liste des figures

Figure 1 : Morphologie de MenthaPulegium (Bencheikh, 2011;Gerenutti, 2014).	8
Figure 2: Aire de répartitions de la Menthe par le monde (Tucker et al., 2007).....	9
Figure 3 : L'appareil de l'hydro distillation (originale, 2023).....	15
Figure 4: procédés de la technique d'extraction de l'huile essentielle (Originale, 2023).....	17
Figure 5 : Forme libre et réduite du DPPH (Molyneux P., 2004).	18
Figure 6 : Photos des matières premières utilisé (Originale, 2023).	25
Figure 7 : Tubes d'essai contenant la mixture de la DPPH et d'extrait de différentes dilutions après 30 minutes dans l'obscurité.	29
Figure 8 : Les courbes de la variation de concentration d'inhibition de la Vit C et de l'huile essentielle de Menthe pouliot.	30
Figure 9 : Pourcentage de l'œdème de l'huile essentielle de Menthe pouliot, de diclofenac et d'eau physiologique.	32
Figure 10 : Pourcentage de réduction de l'œdème de l'huile essentielle de Menthe pouliot, de Diclofenac et d'eau physiologique.	32
Figure 11 : l'effet antimicrobien de l'huile essentielle de M. pulegiumL. (Originale, 2023). 36	
Figure 12: L'histogramme des diamètres des zones d'inhibition des souches microbiens (100% Pure).....	36
Figure 13: L'histogramme des diamètres des zones d'inhibition des souches microbiens (Dilution75%).....	35
Figure 14: L'histogramme des diamètres des zones d'inhibition des souches microbiens (Dilution50%).....	35

Liste des tableaux

Tableau 1: Plantes à activité anti-inflammatoire.	7
Tableau 2 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Menthe pouliot</i> de nord-est de l'Algérie.....	11
Tableau 3: Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Menthe pouliot</i> de Santarém au Portugal.....	11
Tableau 4 : Renseignement sur les souches microbienne testés (Régistre du Laboratoire de Microbiologie Sidal, 2023).....	14
Tableau 5 : L'antibiogramme des souches bactériennes clinique testées (Registre du laboratoire microbiologique de Sidal -Gué de canstantine, 2023)	14
Tableau 6 : Rôle des excipients utilisés.	25
Tableau 7 : Caractères organoleptiques de l'huile essentielle de <i>Menthe pouliot</i>	27
Tableau 8: Caractères organoleptiques de l'HE de <i>Menthe pouliot</i>	28
Tableau 9: Résultat d'absorbance de l'activité antioxydante.....	30
Tableau 10 : Les diamètres des zones d'inhibition des souches microbiennes testés	33

Liste des abréviations

A (%) : activité antioxydante

E : Extrait

HE : huile essentielle

IC50 : concentration inhibitrice de 50% des radicaux

DPPH : 2,2 –diphenyl-1-picrylhydrazyl

PAM : plante aromatique et médicinale



Introduction

Introduction

L'histoire des Plantes à Parfum, Aromatiques et Médicinales (PPAM) est intimement liée à l'évolution des civilisations. Les peuples de toutes les régions du monde ont depuis longtemps utilisé les plantes pour traiter divers maux et les incorporer dans la composition de parfums et de préparations culinaires. Le monde végétal est à l'origine d'un grand nombre de médicaments, comme l'a souligné (*Lahrech, 2010*). Selon l'OMS, la médecine traditionnelle est utilisée pour des soins de santé primaires par près de 80% des populations.

La sécurité des produits chimiques utilisés en médecine et en industrie alimentaire est une question préoccupante (*Ames, 1983; Wang et al., 2008*). En effet, la peroxydation des lipides au cours des processus de fabrication et de stockage des aliments sous l'action des radicaux libres conduit à la perte de qualité et de sécurité des aliments. Les antioxydants synthétiques utilisés en industrie alimentaire pour retarder l'oxydation des lipides sont suspectés d'avoir des effets néfastes sur la santé des consommateurs (*Ames, 1983; Wang et al., 2008*). De plus, l'utilisation excessive d'agents antibactériens et antifongiques chimiques dans la médecine humaine, l'élevage et la conservation des aliments conduit au développement de microorganismes résistants à la plupart des antibiotiques (*Essawi et Srour., 2000*).

Face à ces préoccupations, le développement de nouveaux agents thérapeutiques est nécessaire pour lutter contre la résistance bactérienne et l'oxydation des aliments (*Bruneton, 1999*). Dans ce contexte, l'utilisation des plantes représente un potentiel inestimable pour la recherche de nouvelles substances antimicrobiennes et/ou antioxydantes. Les plantes aromatiques, en particulier, ont la capacité de synthétiser de nombreux métabolites secondaires, tels que les huiles essentielles ou essences, qui contiennent divers composés bioactifs allant des hydrocarbures terpénoïdes aux composés de soufre. Ces composés sont naturellement présents dans différentes concentrations et possèdent diverses propriétés biologiques (*Haddouchi et al., 2009; Silva et al., 2015*).

La Menthe pouliot (*Menthapulegium L.*) est une plante aromatique largement répandue dans la nature, notamment en Algérie où elle témoigne d'une richesse floristique incontestable. Cette plante pousse à l'état spontané dans la région de Bordj Bou Arreridj et suscite un intérêt croissant dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires. En effet, elle possède des propriétés aromatiques, antioxydantes, antimicrobiennes, expectorantes, carminatives et antispasmodiques. Elle est ainsi utilisée dans le traitement de divers maux tels que le rhume, la bronchite, la tuberculose, la sinusite, le choléra, les intoxications alimentaires, les flatulences et les coliques intestinales (*Zargari, 1990 ; Delille., 2007*).

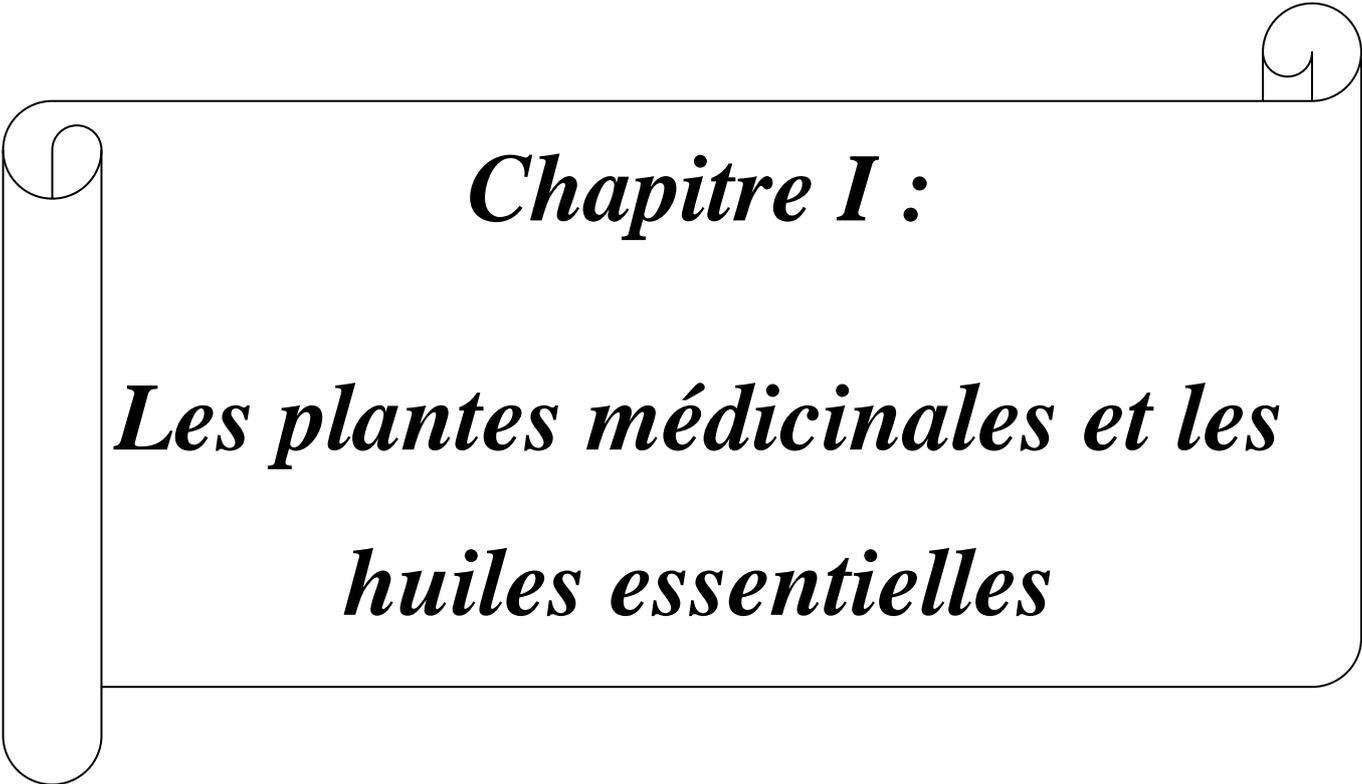
Introduction

L'objectif de cette étude est de réaliser une extraction de l'Huile essentielle de l'espèce *MenthapulegiumL*, l'étude de quelques activités biologique comme l'activité antimicrobienne, antioxydante et anti-inflammatoire. Nous allons également discuter des résultats obtenus lors de cette étude et en tirer des conclusions ainsi que des perspectives pour la recherche future.

La première partie de cette étude consiste en une revue bibliographique de la plante Menthe pouliot, qui comprendra des informations sur ses propriétés thérapeutiques, ses métabolites secondaires et ses activités biologiques. Cette revue bibliographique permettra de mieux comprendre les avantages et les limites de l'utilisation de cette plante médicinale pour traiter diverses maladies.

La deuxième partie de cette étude portera sur le matériel et les méthodes utilisés pour réaliser cette étude. Nous examinerons une technique utilisée pour l'extraction de l'huile essentielle de la plante et les tests biologiques utilisés pour évaluer leurs activités. Cette partie de l'étude permettra de mieux comprendre les méthodes de recherche utilisées pour étudier les plantes médicinales et leurs propriétés thérapeutiques.

Dans la dernière partie de notre étude, nous avons discuté les résultats obtenus lors de cette étude, en mettant en évidence les propriétés pharmacologiques de la plante étudiée.

A decorative border resembling a scroll, with rounded corners and a vertical strip on the left side that looks like a scroll's edge. The text is centered within this border.

Chapitre I :

***Les plantes médicinales et les
huiles essentielles***

I.1. Définition d'une plante médicinale

Selon la Xème édition de la **pharmacopée française**, les plantes médicinales sont des drogues végétales, dont une partie possède des propriétés médicamenteuses.

Elles sont issues de deux sources : les plantes spontanées dites "sauvages" ou "de cueillette" et les plantes cultivées (*Bézanger-Beauquesne, 1986*).

Les plantes spontanées ont été les seules utilisées par le passé et représentent encore un part importante du marché algérien, leur répartition dépendant du sol et du climat. Les plantes cultivées, quant à elles, fournissent une matière première en quantité suffisante et présentent l'avantage de garantir une homogénéité de l'aspect et de la composition chimique des drogues recueillies. De plus, la cueillette étant exclue, toute confusion possible est évitée, ce qui permet une récolte plus opportune.

I.2. Utilisation des plantes médicinales

Au fil du temps, l'utilisation des plantes médicinales a évolué. Autrefois, elles étaient consommées telles quelles, sous forme de tisanes ou de poudres. Aujourd'hui, elles sont présentées sous différentes formes, notamment en gélules. Leur utilisation est de plus en plus Populaire, encouragée par la publicité et les ouvrages de vulgarisation. Les plantes sont souvent combinées pour obtenir des effets synergiques.

Cependant, il est important de respecter les bonnes pratiques de préparation, notamment en ce qui concerne le nombre de plantes, les associations possibles, la saveur et le goût adapté au patient. L'âge et l'état de santé du patient doivent également être pris en compte pour une utilisation efficace et sûre (*Chabrier, 2010*).

I.3. Les métabolites secondaires des plantes

Les plantes possèdent des métabolites appelés "secondaires" en contraste avec les métabolites primaires tels que les protéines, les glucides et les lipides (*Guignard, 2000*). Ces métabolites sont produits par un ensemble de voies métaboliques qui génèrent des composés de faible poids moléculaire et qui ne semblent pas avoir de fonction apparente et vitale pour l'organisme (*Marouf et al., 2007*).

Ces composés varient en fonction des espèces et, bien que leurs rôles restent encore malconnus, il est évident qu'ils interviennent dans les interactions entre la plante et les organismes vivants qui l'entourent (*Guignard, 2000*). Ils jouent également un rôle écologique, par exemple en tant que mécanismes de défense des plantes contre les prédateurs animaux, les pathogènes, les champignons, les bactéries et les virus. Ils sont également impliqués dans la compétition avec d'autres plantes pour la lumière, l'eau et les nutriments, ainsi que dans la signalisation pour attirer la pollinisation (*Marouf et al., 2007*).

I.4. Définition générale d'une huile essentielle

La norme française **ANFNOR (2000)** a défini les huiles essentielles comme suite : L'huile essentielle est une substance volatile et odoriférante sécrétée par les plantes aromatiques. Elle est obtenue par entraînement à la vapeur d'eau, par distillation sèche ou par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des agrumes. Les huiles essentielles ont des compositions complexes et variées, en fonction de l'espèce de plante à partir de laquelle elles sont extraites.

Les huiles essentielles ont été utilisées à des fins médicinales, aromatiques et cosmétiques depuis l'Antiquité. Aujourd'hui, elles sont couramment utilisées dans de nombreux produits, notamment les parfums, les savons, les lotions, les bougies parfumées et les produits de nettoyage. (*Bruneton, J., 1999*).

Les huiles essentielles sont bénéfiques pour la santé et peuvent être utilisées pour traiter une variété de problèmes de santé, tels que l'anxiété, la dépression, les douleurs musculaires et articulaires, les problèmes de sommeil, les maux de tête et les problèmes de digestion. Cependant, il est important de les utiliser avec précaution, car certaines huiles essentielles peuvent être irritantes pour la peau ou potentiellement toxiques si elles sont ingérées en grandes quantités. (*Pibiri, A., 2005*).

Les huiles essentielles sont également utilisées en aromathérapie pour améliorer le bien-être et la santé. En plus de leurs propriétés médicinales, elles sont également utilisées en cosmétique pour améliorer la santé et l'apparence de la peau et des cheveux.

I.5. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont composées de substances odorantes qui donnent à chaque plante son arôme caractéristique. Elles sont généralement liquides, légèrement colorées et ont une densité inférieure à celle de l'eau (0,759 à 1,096), sauf pour certaines essences telles que la cannelle, le clou de girofle et le sassafras (*Valisolalao, 1989 ; Valne, 1990*).

Les propriétés physiques des HE, telles que la densité, le pouvoir rotatoire, l'indice de réfraction et la miscibilité dans l'alcool, ainsi que leurs propriétés chimiques, telles que l'indice d'acide, d'ester, d'iode et de carbonyle, permettent d'évaluer la nature des composés organiques présents dans l'essence (*Ouis, 2015*).

Les HE sont peu polaires, ce qui les rend peu solubles dans l'eau, mais elles sont solubles dans la plupart des solvants organiques. Elles sont également très sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser pour former des produits résineux (*Foudil Cherif, 2005*).

I.6. Fonctions biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont reconnues pour leur volatilité et leur odeur caractéristique, qui leur permettent de jouer un rôle dans la communication entre les végétaux. Elles ont été identifiées comme des moyens de défense contre les pathogènes, tels que les microorganismes, les champignons, les insectes et les herbivores, ainsi que dans la pollinisation et la dispersion des spores. Les éléments sécréteurs des huiles essentielles sont souvent localisés périphériquement, ce qui facilite leurs actions complexes et sélectives (*Bruneton., 1987 ; Randriantsoa., 2004*).

II.7. Activités biologiques des huiles essentielles

Les H.E.S. possèdent de nombreuses activités biologiques. Selon les travaux de (*Vagi, et al., 2005*) ces activités sont liées essentiellement à la composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires de ces extraits et à leurs effets synergiques.

I.7.1. Activité antimicrobienne

Grâce aux avancées de la chimie, de nouvelles substances antimicrobiennes ont émergé. Ces substances sont définies comme des composés utilisés pour détruire les microorganismes ou inhiber leur croissance, incluant les antibiotiques ainsi que d'autres agents antibactériens et antifongiques. Ces substances synthétiques ont été largement utilisées (*Rozman et Jersek., 2009*).

Cependant, le mécanisme d'action des huiles essentielles (HE) sur les cellules bactériennes et fongiques reste complexe à déterminer, en raison de la composition complexe des huiles volatiles (*Burt, 2004*). La variabilité des composants des huiles suggère qu'elles agissent sur différents sites d'action au sein des micro-organismes, car chaque composé possède son propre mode d'action (*Guinoiseau, 2010*).

En effet, les huiles essentielles sont connues pour leur activité antimicrobienne, et certaines d'entre elles sont considérées comme des substances sûres, pouvant être utilisées pour inhiber la croissance des microorganismes pathogènes et contaminants (*Gachkar et al., 2007*).

II.7.2. Activité antioxydante

L'activité antioxydante d'un composé se réfère à sa capacité à protéger contre l'oxydation. Parmi les antioxydants les plus connus, on retrouve le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol, la quercétine, la rutine et le picnogénol.

La plupart des antioxydants, qu'ils soient d'origine naturelle ou synthétique, possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leur structure. Les propriétés antioxydantes de ces composés sont en partie attribuées à leur capacité à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) et les superoxydes ($\text{O}_2\cdot$) (*Burda et Oleszek., 2001; Antolovich et al., 2002; Bartosz., 2003*).

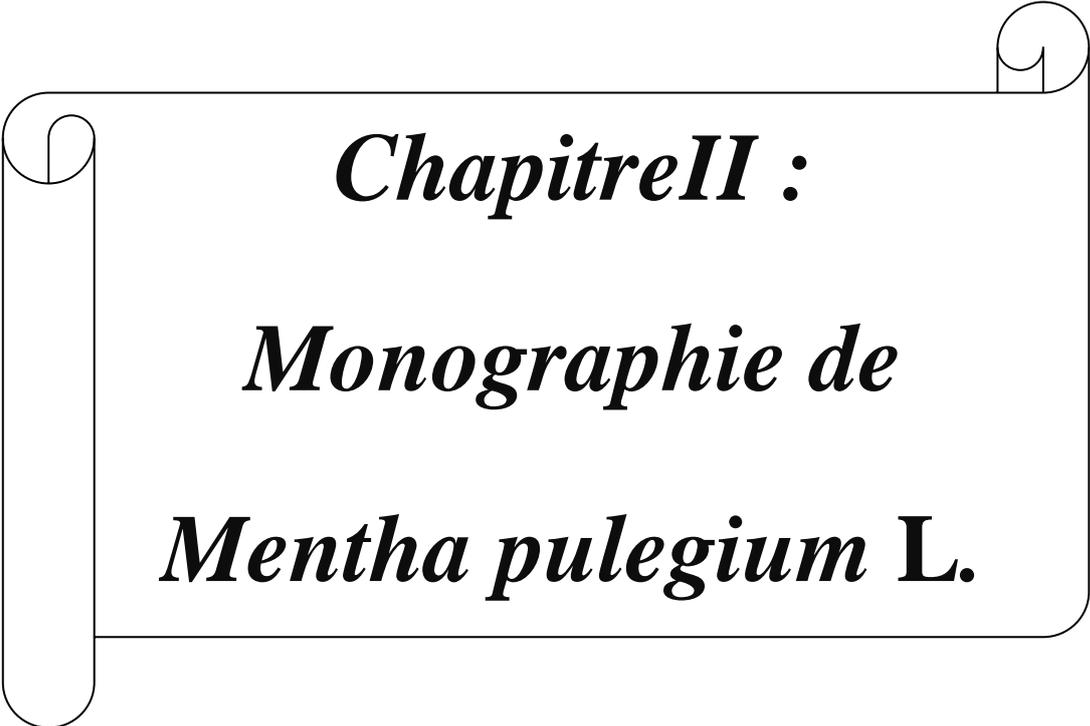
La capacité antioxydante des huiles essentielles est étroitement liée à leur contenu phénolique (*Yanishlieva et al., 1999*). Cela signifie que la présence de composés phénoliques dans les huiles essentielles contribue à leur activité antioxydante en aidant à neutraliser les radicaux libres et à prévenir les dommages oxydatifs.

I.7.3. Activité anti-inflammatoire

La réponse inflammatoire est une réaction adaptative qui se produit en réponse à des stimuli nocifs, tels qu'une infection ou une lésion tissulaire, et qui nécessite une régulation précise pour être bénéfique. Elle permet l'élimination des agents pathogènes et le rétablissement de l'homéostasie tissulaire. Toutefois, une régulation défectueuse peut causer des dommages irréversibles. Une réponse insuffisante peut entraîner une immunodéficience, augmentant ainsi le risque d'infection secondaire ou de cancer. À l'inverse, une réponse excessive peut augmenter la morbidité et la mortalité dans des pathologies telles que l'arthrite rhumatoïde, la maladie de Crohn ou le diabète. Une inflammation mal contrôlée peut se propager dans l'organisme par la circulation sanguine et causer des dommages tissulaires locaux ou généralisés, parfois mortels en cas de choc septique. (*Nathan, 2002; Barton, 2008*)

Tableau 1: Plantes à activité anti-inflammatoire.

Plantes	Parties utilisées	Activités	Références
<i>Green tea</i>	Catéchine, acide Gallique	Stabilisation de la membrane d'érythrocytes en inhibant la peroxydation lipidique	<i>Ma et al., 2000.</i>
<i>Tripterygium wilfordii</i> Hook F	Racines	Anti-inflammatoire et antirhumatisme	<i>Chou, 1997.</i>
<i>Oxalis corniculata</i> Linn. (Oxalidaceae)	Plante entière	Antioxydant et anti-inflammatoire	<i>Sakatet al., 2010.</i>
<i>Cuminumcyminum</i> L. (Apiacées)	Graines	Antioxydant	<i>Athamenaet al., 2010.</i>
<i>Cedrusdeodara</i> (Pinacea)	Huile essentielle	Anti-inflammatoire et antirhumatisme	<i>Shinde et al., 1999</i>
<i>Plumbago zeylanica</i> (Plumbaginaeaceae)	Racines	Ulcères, fièvre, antioxydant et antiinflammatoire	<i>Raimi et Oyedapo.,2009.</i>



ChapitreII :
Monographie de
Mentha pulegium L.

Monographie de Mentha pulegium L.

II.1. Description morphologique de *MenthaPulegium* :

La *Menthapulegium*, membre de la famille des Lamiacées, est une plante parfumée largement répandue dans le nord de l'Europe, la région méditerranéenne et l'Asie, comme indiqué dans les travaux de (*BouchikhiTani, 2010 ; Marotti et al., 1994*).

Cette plante fertile présente une descendance plutôt homogène et se distingue des autres types de menthe par son port étiré, ses tiges partiellement couchées sur le sol, ses fleurs rosées disposées le long de la tige et des rameaux, et son calice obturé, selon les recherches menées par (*Benayad, 2008*).

La plante atteint une hauteur de 10-30 cm et son inflorescence est composée de nombreux verticilles denses, feuillés et distants, comme l'ont noté (*BouchikhiTani, 2010 ;Quezel et al., 1963*). Elle possède une saveur fortement aromatique et une odeur intense, fraîche et pénétrante. Le nom *pulegium* provient du latin *pulex*, signifiant puce, car la plante a la propriété d'éloigner ces parasites. La menthe est utilisée dans les produits cosmétiques et dans les préparations culinaires pour aromatiser les sauces, les desserts et les boissons, d'après les observations de (*Bekhechi, 2008*).

Enfin, la menthe est reconnue pour ses bienfaits pour la santé, comme l'indique (*Bouchikhi, 2010*) (**Figure1**).



Figure 1 :Morphologie de *Mentha Pulegium*(*Bencheikh, 2011;Gerenutti, 2014*).

II.2. Position Systématique

- **Règne** : Végétale
- **Sous-règne** : Cormophyte
- **Embranchement** : Phanérogames ou Spermaphytes
- **Sous-embranchement** : Angiospermes
- **Classe** : Eudicots
- **Sous-classe** : Astéridées
- **Ordre** : Lamiales
- **Famille** : Lamiacées
- **Sous-famille**:Satureinees
- **Genre** : Mentha
- **Espèce** : *Mentha pulegium*. (*Lahrech, 2010*).
- **Noms vernaculaires** : *Menthapulegium* est connue dans le monde sous les noms

Vernaculaires suivants :

- **En français** : Menthe pouliot. (*Lahrech, 2010 ; Lemordant et al., 1977*).
- **En arabe** : Fliou. (*BouchikhiTani, 2010;Bellakhdar, 1978*).

II.3.Origine et distribution

La *Menthapulegium*, est une plante vivace aromatique qui peut pousser à l'état sauvage ou en jardin. Selon (*Bencheikh, 2011*), cette espèce est spontanée dans toute l'Europe et se trouve dans des sols humides autour de la Méditerranée ainsi qu'à l'ouest de l'Asie, de Chypre au Turkménistan, et au nord de l'Afrique, du Maroc à l'Egypte. En France, cette plante est largement répandue jusqu'à une altitude de 1800m (**Figure 2**).

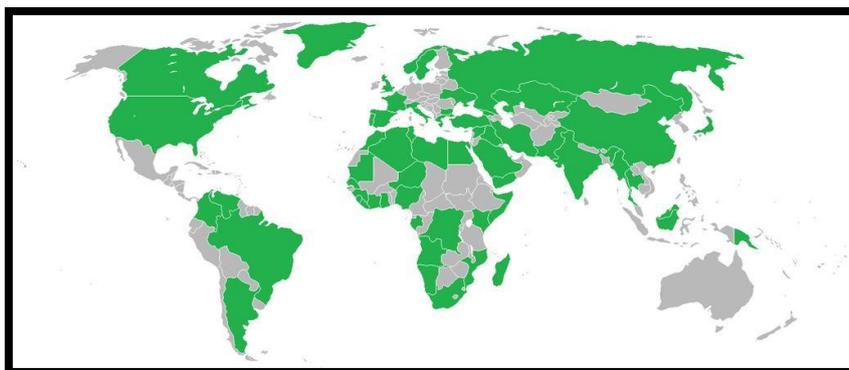


Figure 2: Aire de répartitions de la Menthe dans le monde (*Tucker et al., 2007*).

II.4.Aspects botaniques

Mentha pulegium, également connue sous le nom de « menthe pouliot », est une plante très répandue dans la région méditerranéenne. Elle est souvent présente dans les milieux humides et est parfois cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles très aromatiques.

Les feuilles de *Mentha pulegium* sont petites, opposées, ovales et presque entières, avec un court pétiole. Les fleurs, qui apparaissent de juillet à fin septembre, sont rose lilas, parfois blanches, échelonnées le long de la tige (*Sutour, 2010*). Au Moyen Âge, *Menthapulegium L* était l'un des légumes recommandés dans le capitulaire de Villis (*Bencheikh, 2011*).

II.5.Composition chimique

L'huile essentielle de *Mentha pulegium* est obtenue par distillation à la vapeur d'eau des parties aériennes de la plante. Elle présente trois chémotypes distincts :

Chémotype 1 : caractérisé par des huiles riches en pulégone, menthone et isomenthone.

Chémotype 2 : caractérisé par des huiles riches en pipériténone, ou pipéritone, en plus de la pulégone, de la menthone et de l'isomenthone.

Chémotype 3 : caractérisé par des huiles riches en isomenthones, néoisomenthone, avec la présence de pulégone et de menthone.

Monographie de *Mentha pulegium* L.

Il est important de noter que la pulégone et le menthofurane sont des composés hépatotoxiques, et ils peuvent être présents à des concentrations élevées dans certaines huiles essentielles de *Mentha pulegium*.

Une étude réalisée par (Kokkini et al., 2002) a analysé dix populations de menthe pouliot réparties dans toute la Grèce, révélant d'importantes variations dans la teneur en pulégone. Les taux de pulégone observés allaient de traces (<0,1 %) jusqu'à 90,70 %. Seules deux populations présentaient des taux élevés de pulégone (42,9 % et 90,7 %), tandis que les autres populations en contenaient des quantités beaucoup plus faibles (allant jusqu'à 35 %). Ces populations présentaient plutôt une richesse en menthone/isomenthone ou en pipéritone/pipériténone.

L'analyse de menthes pouliots prélevées dans le nord-est de l'Algérie, révèle une huile riche en pulégone (39 %) et menthone (Boukhebti et als, 2011) :

Tableau 2 :Composition chimique de l'huile essentielle de *Menthe pouliot* de nord-est de l'Algérie

Huile essentielle de <i>M. pulegium</i> (d'après Boukhebti al., 2011)					
pulégone	menthone	isomenthone	pipériténone	pipéritone	limonène
38.81 %	19.24 %	6.09 %	16.53 %	6.35 %	4.29 %

Pour les menthes pouliot prélevées à Santarém au Portugal, Teixeira et als ont trouvé les composés suivants :

Tableau 3 :Composition chimique de l'huile essentielle de *Menthe pouliot* de Santarém au Portugal

Huile essentielle de <i>M. pulegium</i> (d'après Teixeira al., 1971)			
menthone	Neomenthone	Pulégone	8-hydroxy-4(5)-p-menthen-3-one
35.9 %	9.2 %	23.2 %	2.1 %

II.6. Propriétés et emplois

Cette espèce est une plante réputée pour ses propriétés antispasmodiques et toniques. À faible dose, elle stimule le système nerveux, mais à forte dose, elle peut avoir des effets convulsivants. La menthe pouliot est largement utilisée en médecine traditionnelle en raison de ses nombreuses vertus. Elle favorise les sécrétions gastriques, réduit les flatulences et les

Monographie de Mentha pulegium L.

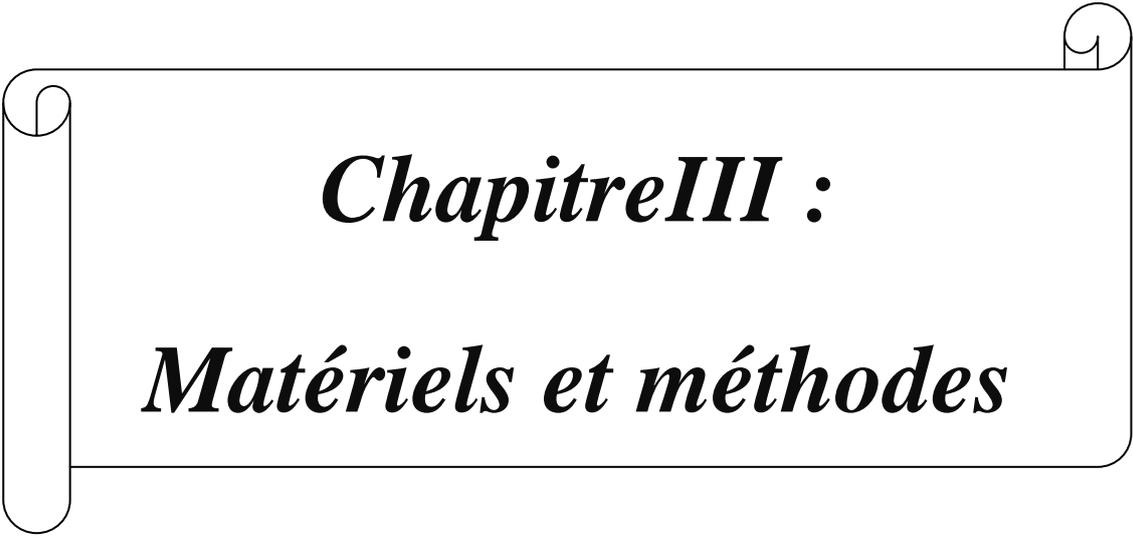
coliques, et combat les fermentations intestinales. Elle est considérée comme l'une des meilleures plantes pour favoriser la digestion, notamment chez les personnes souffrant d'insuffisance hépatique, et elle possède des propriétés vermifuges. De plus, elle est efficace pour faire baisser la fièvre, stimuler la sécrétion des muqueuses, soulager les maux de tête et traiter les infections respiratoires bénignes. En infusion, la menthe pouliot apaise les démangeaisons, les inflammations cutanées telles que l'eczéma, ainsi que les problèmes rhumatismaux et de goutte. Elle est également utilisée pour améliorer la vision et traiter les taches de rousseur (*Talahagcha et Kassa., 2008*).

La menthe pouliot possède également des propriétés insecticides et est efficace contre les poux, les moustiques et les puces. Elle est utilisée pour protéger, rafraîchir et nettoyer la peau lorsqu'elle est ajoutée à l'eau du bain (*Guy, 2005*).

Les feuilles de menthe pouliot, confites ou séchées, sont largement utilisées pour parfumer et décorer les plats, les sauces et les soupes. Elles sont également utilisées pour préparer des tisanes. En outre, le pouliot est couramment utilisé pour parfumer les savons, les détergents et les dentifrices (*Boukenna et Bouzidi., 2007*).

II.7. Toxicologie

Il convient de noter que l'utilisation des parties aériennes de la menthe pouliot comme condiment, aux doses habituelles, ne présente aucun risque de toxicité, que ce soit à court terme ou à long terme. Cependant, il est important de souligner que l'huile essentielle de menthe pouliot peut être hépatotoxique en raison de sa teneur en pulégone. Des cas d'intoxications ont été signalés après l'ingestion de 5 g d'huile essentielle, et des cas mortels ont été rapportés après l'absorption de 30 ml. Par conséquent, l'utilisation de la menthe pouliot pour préparer une tisane d'agrément n'est pas recommandée (*Anton, 2005*).



Chapitre III :
Matériels et méthodes

Introduction

Notre stage pratique s'est étalé sur une période de 3mois, de février à avril 2023. Les différentes expérimentations ont été effectuées au niveau de:

- Extraction de l'huile essentielle : la société de Monsieur Chikhi Hamid Bio.extrapamal, cité Latraoui Ali N°01OuedAlleug Blida selon le procédé d'extraction, par hydro-distillation.
- Etude des activités biologiques : au niveau du site Gué de Constantine Saidal dans le laboratoire de microbiologie pour l'activité antimicrobienne et le laboratoire de toxicologie pour l'activité antioxydante et l'activité anti inflammatoire.

III.1. Matériel

III.1.1. Matériel végétal

Notre matériel vegetal est constitué de feuilles de la menthe pouliot, *Mentha pulegium* récolté à Oued aleug (Boufarik) de la wilaya de Blida d'Algerie, en stade floraison (Aout 2022)

- La plante a été récoltée le matin vers 10 heures, le ciel était dégagé. Les plantes étaient au stade de floraison.
- Après la récolte, nettoyage des mauvaises herbes et de la boue, et les échantillons sont placés dans des sacs en papier en attente l'extraction d'huile essentielle.
- La quantité des tiges feuillées récoltée : 100kg de matières fraîches la plante a été séchée à l'ombre et conservée jusqu'à l'extraction.

III.1.2. Souches microbiennes

Les souches microbiennes utilisées proviennent de la collection ATCC (American Type Culture Collection) du laboratoire de microbiologie du CRDSaidal, le nombre retenu est de 05 souches dont 03 souches bactériennes (02 Gram+ et 01 Gram-), et 02 souches fongiques (**Tableau 4**).

Matériels et méthodes

Tableau 4: Renseignement sur les souches microbienne testés (**Régistre du Laboratoire de Microbiologie Saidal, 2023**).

Nom de la souche	N° ATTC	Gram	Famille
<i>Escherichia coli</i>	8739	-	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	6633	+	<i>Bacillaceae</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	6538	+	<i>micrococcaceae</i>
<i>Aspergillus niger</i>	16404		<i>moniliacées</i>
<i>Candida albicans</i>	10231		<i>Cryptococcaceae</i>

Tableau 5 :L'antibiogramme des souches bactérienne clinique testées (**Régistre du laboratoire microbiologique de Saidal -Gué de canstantine, 2023**).

Souches bactériennes	Antibiogramme (rouge- résistante, noir- sensible)
<i>Escherichia coli</i>	AM,AMC,Tic,CZ, Fox,OFX,GM,GN,AN, Cip,Sxt,CRO, Net.
<i>Escherichia coli (BLSE)</i>	AMC,Tic,GM,Cip, FOX, AM, CRO, CZ, AN, GN.
<i>Staphylococcus aureus</i>	FOX, OX, E, K, P, CM, Sxt, FA.
<i>Bacillus spp (souche non clinique)</i>	AM, Mer, Tob,AMC, Net,OX,MA,

III.1.3.Matériel animal

Nous avons testé l'activité anti-inflammatoire, Sur des souris issues de l'élevage de l'animalerie du laboratoire de pharmacotoxicologie de Gué Constantine de SAIDAL.

Ces souris présentent les caractères suivants :

- Souris Albinos de race NMRI (Naval Médical Research Institute).
- Sexe : male, femelle.
- Nombre : 12.
- Poids : 19g.

Matériels et méthodes

- Alimentation : Granulés « O.N.A.B ».
- Boisson : Eau de robinet.

III.2.Méthodes

III.2.2. Extraction de l'huile essentielle

La méthode choisie est entrainement à la vapeur, c'est une technique qui permet d'extraire les huiles essentielles des tissus végétaux en les transportant par la vapeur d'eau.

Cette technique d'extraction repose sur la propriété physique des huiles essentielles d'être volatiles, c'est-à-dire facilement vaporisables et entraînées par la vapeur d'eau(**Figure 5**).



Figure 3 : L'appareil de l'hydro distillation (originale, 2023).

- **Protocole de l'extraction de l'huile essentielle**
 - Le matériel végétal à distiller peut être utilisé aussi bien frais que sec.
 - La plante fraîche est privilégiée, récoltée au bon moment de la journée et dans son temps balsamique, c'est-à-dire lorsque la concentration en principes actifs au sein de la plante est maximale.
 - Le temps entre la récolte de la plante et sa distillation doit être le plus court possible, pour éviter l'altération et la dispersion de l'huile essentielle pendant le temps de stockage.

Matériels et méthodes

- la plante, avant d'être placée à l'intérieur de l'alambic, doit être préalablement nettoyée des insectes, du matériel non adapté à la distillation et des mauvaises herbes.
- Le passage de la vapeur, générée par l'ébullition de l'eau ajoutée en raison de 02 litres pour 01 kg de la plante, à travers la matière végétale, rend les parois cellulaires plus perméables, jusqu'à ce qu'elle se décompose et que l'essence s'échappe, qui, étant volatile, se vaporise.
- Le mélange vapeur d'eau/essence est condensé dans un serpentin refroidi par une recirculation d'eau et ramené à l'état liquide, se séparant en huile essentielle et eau distillée (Hydrolat).l'huile essentielle se dépose en surface car elle a une densité inférieure à celle de l'eau.
- L'eau recueillie est une eau aromatique puisqu'elle contient un faible pourcentage d'huile essentielle dissoute dans celle-ci et qui lui donne le parfum de la plante mise à distillé, Elle peut être utilisée en cosmétique, en cuisine, comme eau de repassage pour parfumer le linge.
- Les huiles essentielles obtenues par distillation sont largement utilisées en parfumerie, dans la préparation de phytocosmétiques, dans l'industrie agro-alimentaire comme aromatisant et pour leur action thérapeutique en aromathérapie.
- La matière végétale (100 Kg) est immergée dans 200 litres d'eau distillée.

- **Les étapes d'extraction de l'huile essentielle de Menthe pouliot**

1^{ème} étape : Chargement de la plante a l'intérieur de l'appareille.

2^{ème} étape : immersion de la matière végétale dans l'hydro distillateur.

3^{ème} étape : Fermeture de l'appareil et chauffage et début de processus d'extraction des huiles essentielle après ébullition de l'eau.

4^{ème} étape : Séparation de l'huile essentielle de l'hydrolat par décantation (**Figure 6**).

Matériels et méthodes



Figure 4: Procédés de la technique d'extraction de l'huile essentielle (Originale, 2023).

III.2.3. Calcul du rendement

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre le poids de l'huile récupérée (PHE) à Le poids de la plante aromatique et médicinale (PPAM), exprimées dans la même unité de poids multiplié par 100, comme suit :

$$R\% = (P_{HE} / P_{PAM}) \times 100$$

P_{HE} : Poids d'huile essentiel.

P_{PAM} : Poids de la plante aromatique et médicinale.

III.2.4. Caractères organoleptiques

Les différentes caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) des huiles essentielles de *Menthapuleguim L.*, ont été notées.

III.3. Activités biologiques

III.3.1. Activité antioxydante

- Principe de l'activité antioxydante

Matériels et méthodes

La méthode de piégeage du radical de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) a été décrite pour la première fois par Blois (1958). Dans ce travail, on fait l'évaluation qualitative qui fait intervenir en général, la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique (DPPH) en présence d'agent antioxydant (l'huile essentielle).

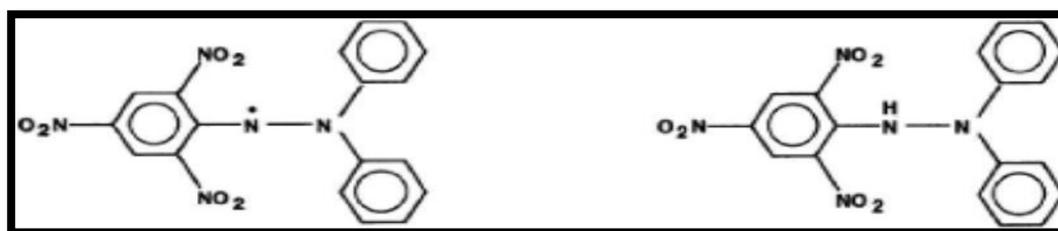
L'effet antioxydant de l'huile est dû à la mobilité d'atome hydrogène (H) du groupement hydroxyle des composés phénoliques (flavonoïdes). En présence du radical libre DPPH, l'atome H est transférée sur ce dernière alors transformé en molécule stable DPPH, ce qui provoque une diminution de la concentration du radical libre et également l'absorbance au cour du temps de la réaction jusqu'à l'épuisement de la capacité d'antioxydant donneur d'hydrogène dû à une molécule d'hydrogène (Moon et Shibamoto, 2009).

Le radical DPPH est un radical stable et libre et peut accepter un électron ou un radical d'hydrogène pour devenir diamagnétique stable (Hazzit et al. 2009).

L'utilisation de l'huile essentielle de cette plante sur le radical DPPH a le même mécanisme que celui des antioxydants synthétique. (Bouvatirou et al., 2007). Cette méthode utilise le spectrophotomètre pour mesurer la densité optique de l'absorbance lors de la réaction avec le changement de couleur de radical DPPH violette, qui vire au jaune, ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm.

Dans ce test, les composants chimiques antioxydant retrouvés dans l'huile essentielle réduisent le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu (extrait) à donner des protons (Molyneux P., 2004). Cette activité a été évaluée, *in vitro*.

- Détermination de l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'*Menthe pouliot* par la méthode de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) (effet scavenger).



Diphénylpierylhydrazyl **Diphénylpicrylhydrazine**
(Forme du radical libre) (Forme non radicalaire)

Figure 5: Forme libre et réduite du DPPH(*Molyneux P., 2004*).

- **protocole expérimental**

Une solution de DPPH méthanolique (couleur violette) : composant de la poudre de DPPH et solution du méthanol.

Pour la préparation de la solution de DPPH méthanolique : 2mg de DPPH et 50ml de méthanol et on prépare 5 dilutions a partir d'une solution mère (1ml de notre huile essentielle et 1ml de méthanol).

Dans des 5 tubes à essais, nous avons introduit 0.5ml de chaque dilution et 2 ml de la solution méthanoïque de DPPH. En parallèle, deux témoins sont préparés, un témoin négatif composé de 100µl de méthanol+ 2 ml da la solution de DPPH et un témoin positif, composé de l'acideascorbique. Les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 min. La lecture a été effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm.

La concentration d'inhibition des radicaux libre(I) exprimé en pourcentage est calculée selon la formule suivante :

$$I\% = (Abs\ c - Abs\ éch) / Abs\ c \times 100$$

Avec :

Abs c : Absorbance du contrôle (solution méthanolique de DPPH).

Abs_{éch}:Absorbance des essais.

- **Calcul des IC50**

IC50 ou concentration inhibitrice de 50 %, est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Les IC50 sont déterminés graphiquement ou bien sont calculées par l'équation de régression linéaire des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

III.3.2. Activité anti-inflammatoire

La methode utilisée est celle décrite par Par Levy :(*Culot, 1972*)

- **Principe**

Matériels et méthodes

Les anti-inflammatoires sont susceptibles de diminuer ou inhiber la libération d’histamine des basophiles et des mastocytes et les prostaglandines libérés par des cellules de l’inflammation. Dans ce test, l’injection de la carragénine sous l’aponévrose plantaire (intra plantaire) de la patte gauche de la souris provoque une réaction inflammatoire donc un œdème : ce qui engendre une différence de poids entre les pattes gauches et droites ainsi qui peut être réduit par un produit anti-inflammatoire (l’huile essentielle de *Menthe pouliot*).

- **Protocole expérimentale**

Il contient les étapes à suivre pour contrôler l’activité anti-inflammatoire par voie orale du produit à tester (l’huile essentielle de *Menthe pouliot*) à fin de garantir la fiabilité des résultats. Il permet de comparer la réduction de l’œdème plantaire après administration de doses égales du produit anti-inflammatoire à tester et du produit de référence correspondant – Biofenac (Diclofénac de sodium 50mg).

Afin de déterminer la dilution convenable à administrer aux souris, nous avons administré de l’huile essentielle pure aux souris, puis la dilution de 50%, pour ces deux expérimentations nous avons eu la mort immédiate des souris. Cette mort subite peut être expliquée par le caractère hépatotoxique de cette huile essentielle (*Antone, 2005*).

Nous avons après essayé la dilution de 10% pour laquelle aucun signe de toxicité n’a été observé et donc cette dilution a été retenue.

- **Mode opératoire**

Pour réaliser ce test il faut suivre les étapes suivantes :

- La veille du test, les souris sont mises à jeun.

On constitue 3 lots de 4 souris chacun :

- ❖ Lot témoin négative / essai du contrôle : qui reçoit l’eau distillée.
- ❖ Lot essai d’huile essentielle testé: qui reçoit l’huile de menthe pouliot (dilution 10%).
- ❖ Lot essai du référence / témoin positive : qui reçoit Diclofénac.

- Le jour du test :

Au temps T₀

On administre aux trois lots les suspensions suivantes par sonde gavage (orale) :

- ❖ Lot témoin négative : chaque souris reçoit 0.1 ml d’eau physiologique.

Matériels et méthodes

- ❖ Lot d'essai d'huile essentielle : chaque souris reçoit 0.1 ml du produit à tester l'huile de Menthe pouliot à la dose active bibliographique.
- ❖ Lot témoin positive : chaque souris reçoit 0.1 ml du produit de référence (Diclofénac de sodium 50mg) à la même dose active.

Au temps T₀+ 30 mn

On injecte la solution de la carragénine sous l'aponévrose plantaire (intra-plantaire) de la patte arrière gauche sous un volume de 0.01ml à tous les animaux mis en expérience.

Au temps T₀+ 4heures

- On scarifie les animaux par rupture de la nuque.

Immédiatement, on coupe les pattes postérieures à hauteur de l'articulation et on les pèse sur une balance analytique (**Figure 12**).

- **Méthode de calcul du pourcentage de réduction des œdèmes**

- Les poids moyens de l'œdème (poids pattes gauche – poids pattes droite) sont calculés pour chaque lot.
- Le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% œdème) est calculé par la formule suivante :

$$\%d'œdème = \frac{\text{Moyenne des poids de la patte gauche} - \text{moyenne des poids de la patte droite}}{\text{Moyenne des poids de la patte droite}} \times 100$$

Le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai}}{\% \text{ de l'œdème témoin}} \times 100$$

III.3. Activité antimicrobienne

Cette étude est réalisée selon une évaluation qualitative de l'effet antimicrobien d'HE par la méthode de diffusion sur milieu gélose en utilisant les disques en papier buvard stériles imprégnés d'une HE à tester (Aromatogramme). Elle a pour l'objet de mettre en évidence la sensibilité des microbiens (bactéries et levures) vis-à-vis d'une HE (dans ce cas c'est une HE d'*Menthe pouliot*).

Mode opératoire

On prépare 6 dilutions à partir de notre huile essentielle de menthe pouliot :

1ère dilution (75%) : 750 μ l de l'huile essentielle + 250 μ l de tween80.

2ème dilution (50%) : 1ml de l'Huile essentielle + 1ml de tween80.

3ème dilution (25%) : 1ml de la deuxième dilution + 1ml de tween80.

4ème dilution (12.5%) : 1ml de la troisième dilution + 1ml de tween80.

5ème dilution (6.25%) : 1ml de la quatrième dilution + 1ml de tween80.

6ème dilution (3.12%) : 1ml de la sixième dilution + 1ml de tween80.

Principe

Le principe a été tiré de la méthode des antibiogrammes selon **la pharmacopée européenne (2008)**.

Les disques en papier buvard stériles de 9mm bien imprégnés d'huile à tester, sont déposés à la surface du milieu préalablementensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, l'huile essentielle diffuse de manière uniforme dans la gélose qui va permettre l'inhibition de la croissance des germes tout en tour des disques. Après incubation, les disques s'entourent d'auréole claire et distincte appelé Halo ou bien zone d'inhibition circulaire, correspondant à une absence de croissance des germes. La lecture des résultats se fait par la mesure des diamètres de la zone d'inhibition circulaire pour chaque souche.

Protocole expérimentale

a-Préparation de première couche du milieu

Matériels et méthodes

Liquéfier le milieu Mueller Hinton (pour les bactéries) et milieu Sabouraud (pour les levures) dans un bain marie à 95°C.

Verser aseptiquement une première couche de ces milieux dans des boîtes de Pétri bien identifiées à raison de 15ml par boîte.

Laisser le milieu se refroidir et se solidifier sur la paillasse.

b-Préparation des suspensions/ inoculum microbien

A partir de culture jeunes de 18h à 24h pour les bactéries et 48h pour les levures, réaliser les suspensions trouble microbien pour chaque des germes à tester en prélevant plusieurs colonies bien isolés et identique dans 5ml d'eau physiologique stérile, puis agiter au vortex pendant quelques secondes jusqu'à l'homogénéisation.

c-Préparation de la deuxième couche

- Liquéfier les deux milieux MH et SAB dans un bain marie à 95°C et laisser refroidir jusqu'à 45°C.
- Transférer ces milieux dans les flacons stériles de 50ml.
- Ensemencer chaque milieu avec 100µl de suspension microbien donné, prélever à l'aide d'une micropipette stérile après une bonne homogénéisation de la suspension dans le tube.
- Agiter le flacon du milieu ensemencé.
- Déposer rapidement 5ml de chaque milieu inoculé par l'une des suspensions microbien à la surface de première couche de gélose solidifié dans la boîte de Petrie correspondant.
- Etaler immédiatement cette couche en faisant pivoter la boîte elle-même pour avoir une surface uniforme.
- Laisser solidifier sur la paillasse

d-Dépôt des disques

- Prélever aseptiquement un disque absorbant stérile à l'aide d'une pince stérile.
- Imbiber ce disque avec l'HE à tester en mettant seulement en contact le bout du disque, celui ici absorbe progressivement l'HE jusqu'à imprégnation totale du disque.
- Déposer le disque à la surface de la gélose préalablement préparé

Matériels et méthodes

- Laisser ces boîtes de Pétri sur la pailleasse pour 30min pour la diffusion de l'HE au sein du milieu de gélose.

e-Incubation Incuber les boîtes de Pétri ainsiensemencés à 37°C pendant 24h pour les bactéries et 25°C pendant 48h pour les levures.

f-Lecture des résultats La lecture se fait par mesure des diamètres d'inhibition en utilisant un pied à coulisse

III.4. Formulation d'une émulsion

III.4.1. Définition

Une émulsion se définit comme la dispersion de deux phases liquides non miscibles. C'est un mélange de solutions lipophile et hydrophile se caractérisant par la présence de deux phases distinctes dont l'une est dispersée dans l'autre. On appelle phase dispersée ou phase discontinue, le liquide formant des gouttelettes, alors que l'on désigne le second fluide comme étant la phase dispersante ou la phase continue. Les émulsions faisant partie des colloïdes, la dimension des gouttelettes est située entre le micromètre et le nanomètre

III.4.2. Matières premières

- Les matières premières posent dans le (**tableau 5**) et (**Figure 15**).

Tableau 6: Rôle des excipients utilisés.

Excipients	Rôle
Huile essentielle de Menthe pouliot.	Principe actif
Huile de vaseline	Véhicule huileux
Alcool cétoestéarylique.	Agent épaississant
Emulgine.	Emulsifiants
Eau purifiée	Véhicule huileux

Matériels et méthodes



Alcool cétylique. Emulgine. Eau purifiée. Huile de vaseline. HE de Menthe pouliot.

Figure 6 : Photos des matières premières utilisées (Originale, 2025).

III.4.4. Mode opératoire

IV.4.4.1. Préparation des deux phases (huileuse et aqueuse)

- On pèse à l'aide d'une balance les ingrédients de la phase huileuse, pour obtenir 100g de crème on met 30g de huile de vaseline, 8g de l'Alcool cétylique et 4g Emulgine ; pour la phase aqueuse on mesure 58g de l'eau distillé.

- On met les ingrédients dans la plaque chauffante à température 70°C, Le mélange ne doit pas bouillir.

- On Retire les deux phases de la source de chaleur.

- On Mélange la phase huileuse : elle doit être homogène.

IV.4.4.2. Mélange des deux phases

- Les deux phases doivent être à la même température (70°C).

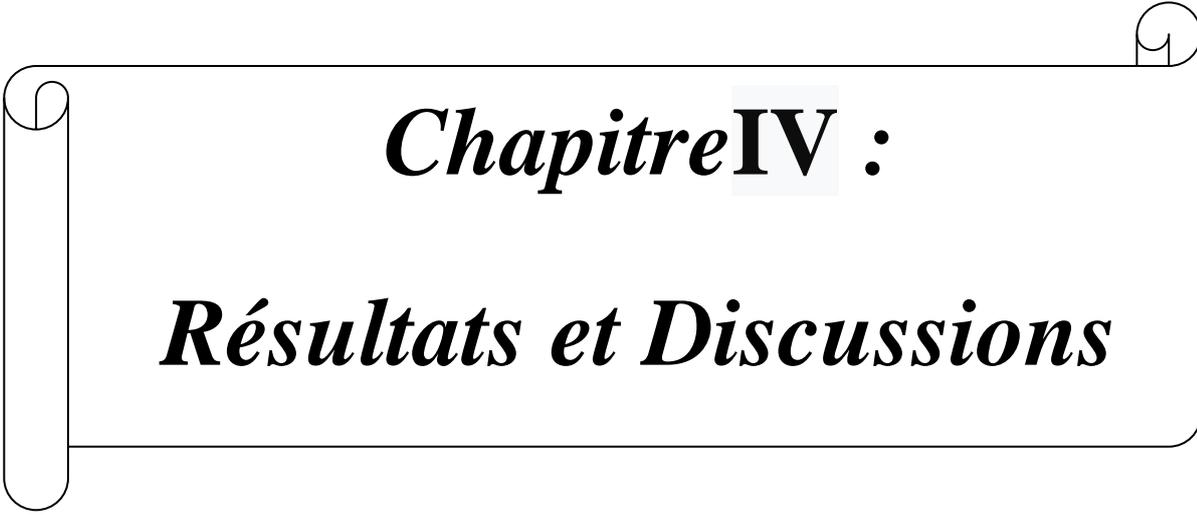
- On Verse progressivement la phase aqueuse dans la phase huileuse.

- Emulsionner avec un Agitateur à turbine.

- On laisse refroidir.

III.4.4.3. Ajout de l'huile essentielle de Menthe pouliot

Lorsque le mélange passe en dessous des 40°C, on ajoute 1ml d'huile essentielle de menthe pouliot, et on obtient une émulsion crémeuse très douce de couleur blanche avec une odeur agréable.

A decorative border resembling a scroll, with a vertical line on the left and a horizontal line at the top and bottom. The corners are rounded and feature small scroll-like motifs.

ChapitreIV :
Résultats et Discussions

IV .1. Rendement en huile essentielle

Le rendement en HE de Menthe pouliot, extrait par hydrodistillation est déterminé par rapport à 100 kg de matériel végétal sec , est exprimé en pourcentage . Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau suivant

Tableau 7 : Caractères organoleptiques de l'HE de Menthe pouliot.

H.E	Poids végétale (g)	Poids d'HE (g)	Rendement d'HE (%)
<i>M. pulegium L</i>	100kg = 100000g	240 ml = 240 g	0.003 %

- **Discussion**

L'extraction de l'huile essentielle de *Menthapulegium L.* a donné un rendement de **0.003 %** Ce résultat n'est pas loin à celui reporté par (*Zwaving et Smith., 1971*) qui ont obtenus un rendement de **0.95%** en Grèce. (*Kokkini et al., 2004*) ont étudié la menthe pouliot de plusieurs régions de Grèce dont les rendements en huiles essentielles varient entre **1.0%** et **3.8%**. (*AitOuazzou et al., 2012*) ont obtenus un rendement de **2.33%**, **1.66%** et **2.7%**, *Menthapulegium L.* du maroc étudiée par (*Benayad, 2008*), (*Derwich et al. 2010*) et (*AitOuazzou et al., 2012*) a révélée des teneurs en huile essentielle nettement supérieurs au résultats obtenu dans notre étude évalué à **2.33%**, **1.66%** et **2.7%** respectivement. Cependant (*Zekri et al., 2013*) ont déterminé des rendements obtenus jusqu'à **5.29%** à **6.2%** pour la menthe pouliot du Maroc. En Algerie, (*Beghidja et al., 2007*) et (*Benabdallah, 2008*) ont déterminé les rendements en huile essentielle de la Menthe pouliot récoltée dans plusieurs régions de Jijel ainsi que la région d'El Kala. Les valeurs obtenues étaient de **1.16** à **2.19%** et **1.45%**, respectivement.

Ces variations de teneurs en huiles essentielles *M. pulegium L.* peuvent être attribuées à différents facteurs environnementaux prenant en compte que l'huile essentielle est un produit métabolique de cellules végétales et sa composition quantitative et qualitative peut être influencée par les conditions climatiques (notamment le type de climat, l'altitude, le taux

Résultats et Discussions

d'exposition au soleil) le type de sol, le stade de croissance de la plante en question, le moment de la récolte et la méthode d'extraction (*Besombes, 2008 ; Béjaoui et al., 2013*).

- **Propriétés organoleptiques**

L'examen organoleptique de cette huile consiste en un essai olfactif, toutefois, il est nécessaire de décrire l'aspect de cette huile essentielle et de leurs saveurs. (tableau 8)

Tableau 8 : Caractères organoleptiques de l'huile essentielle de Menthe pouliot.

Plante	Aspect	Couleur	Odeur	Photo macroscopique	Densité
<i>M. pulegium</i> <i>L.</i>	Liquide Limpide	Jaune pale	Dégage une forte odeur de menthe pouliot caractéristique		0.9g/ml

IV.2. Activités biologiques

IV.2.1. Activité antioxydante

- Le teste de DPPH

Le DPPH est un radical libre permettre de déterminer le potentiel de piégeage des huiles essentielles grâce à sa sensibilité à détecter les composants actifs à des basses concentrations (*Yi et al., 2008*).

L'activité antioxydante des huiles essentielles de *M. pulegium L.* est évaluée par le test de piégeage du radical DPPH. Il est bien connu que quand une solution de DPPH est mélangée avec celle d'une substance contenant des antioxydants, le radical libre stable DPPH (couleur violet foncé) est converti en 1,1-diphényl-2-picryle hydrazine ce qui entraîne une décoloration facilement mesurable à 517 nm (*Molyneux, 2004*).

L'inhibition de la décoloration du radical DPPH est en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de *Menthapulegium L.* et du témoin Vit C (antioxydant de référence).

Résultats et Discussions

L'activité antioxydante des HES est exprimée en IC50, ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats (*Abdulmajed et al., 2005; Ahmad et al., 2012; Ranga et al., 2009*), il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH. Plus la valeur d'IC50 est petite, plus l'activité de l'échantillon testé est grande.

- Après 30min dans l'obscurité, la lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517nm dans le spectrophotomètre. Les I% de chaque essai (d'huile essentielle d'Menthe pouliot et de la Vitamine C – produit de référence) sont calculés selon la formule dans le protocole au-dessous.



Figure 3 : Tubes d'essai contenant la mixture de la DPPH et d'extrait de différentes dilutions après 30 minutes dans l'obscurité.

Dans les tubes d'essai, on remarque le changement de la couleur de violet vers jaunâtre du DPPH dans la première dilution. Pour les quartes dernières dilutions, la couleur du DPPH reste violette. Là, confirmant le principe de cette méthode.

L'absorbance du contrôle (solution méthanolique) = **0.948 nm**.

Résultats et Discussions

Tableau 9: Résultat d'absorbance de l'activité antioxydante.

Substance d'essais Concentration/ dilution (mg/ml)	Huile essentielle de <i>Menthe</i> <i>pouliot</i>	Solution de vitamine C
	(I%)	(I%)
1ere dilution 0.1 (mg/ml)	99.57	94.77
2eme dilution 0.01 (mg/ml)	72.46	78.78
3eme dilution 0.001 (mg/ml)	62.02	61.75
4eme dilution 0.0001 (mg/ml)	53.48	15.04
5eme dilution 0.00001 (mg/ml)	40.82	5.85

Les résultats sont transformés en courbe pour bien interpréter et comparer l'activité antioxydante de L'huile essentielle de Menthe pouliot.

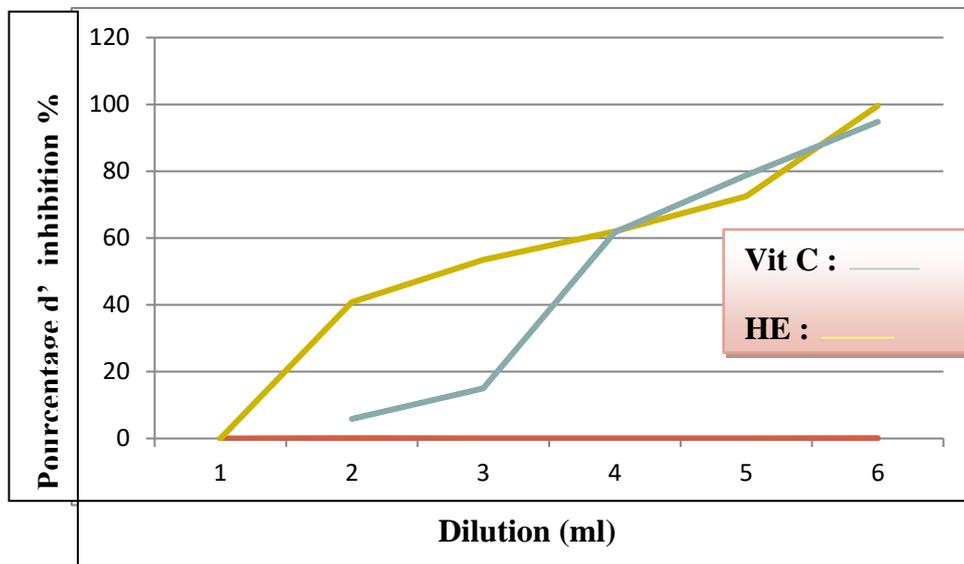


Figure 4 : Les courbes de la variation de concentration d'inhibition de la Vit C et de l'huile essentielle de Menthe pouliot.

- Détermination de l'IC50

A partir du graphe on déduit le IC50 de l'huile essentielle et de la vitamine c.

IC50 de radical DPPH par Vit C = 0.001mg/ml.

Résultats et Discussions

IC50 de radical DPPH pour l'huile essentielle de *Menthe pouliot* = 0.045 mg HE/ml = 45µg. A partir du graphe on déduit la dilution qui correspond à l'inhibition de 50% du DPPH, pour notre cas nous l'avons obtenu à la troisième dilution comme suit : 0.0005ml d'HE /ml, on convertit en gramme avec la formule de densité ; on obtient 0.000045g Cad 45µg d'HE.

- **Discussion**

L'huile essentielle de *M. pulegium L.* a montré une activité antioxydante sur le radical DPPH avec une (IC50 =0.045 mg/ml), par contre *M. pulegium L.* d'Iran qui s'est avéré posséder une faible capacité antioxydante (IC50 = 14736 µg/ml et AAI = 0.003) (*Kamkar et al., 2010*). Cependant, L'IC50 de radical DPPH par Vit C est de 0.001mg/ml.

L'activité antioxydante des huiles essentielles de *M. pulegium* étudiée, peut être attribuée à sa composition chimique (*Ruberto et Baratta., 2000*).

Le composé majoritaire de cette huile, le pulégone (61.11%), s'est révélé être un bon antioxydant (*Ruberto et Baratta., 2000*), ceci peut donc expliquer le fort pouvoir antioxydant de cette huile essentielle.

Les résultats obtenues sont comparées avec des études antérieures qui rapportés une grande variation dans l'activité antioxydante des HES de *M. pulegium* de Mar(*Hajlaoui et al., 2009*) ont rapporté une forte capacité antioxydante de l'huile essentielle (IC50 = 10 µg/ml).

Ces divergences dans la propriété antioxydante de la menthe pouliot peuvent être dues à sa composition. À cet égard, (*Duh, 1999*) a pu déterminer que la présence et la synergie des différents antioxydants, présents dans une huile essentielle spécifique, détermineront leurs propriétés antioxydantes. L'inévitable l'activité antioxydante modéré des huiles essentielles de *M. pulegium L.* étudiée, peut être attribuée à sa composition chimique et en particulier à l'absence de pulégone (un fort antioxydant) et à l'abondance de pipéritone qui ne possède pas un bon pouvoir antioxydant (*Ruberto et Baratta., 2000*).

IV.2.2. Activité anti –inflammatoire

Après les 4 heures, on scarifie les animaux par rupture de la nuque ; ensuite leurs pattes postérieures sont coupées à hauteur de l'articulation et on les pèse sur une balance analytique. Leurs pourcentages d'œdème par suite calculés.

Résultats et Discussions

Tableau 9: Les % de l'œdème et % de leur réduction de l'huile essentielle de Menthe pouliot, de Diclofenac et d'eau physiologique.

Substance testé	% de l'œdème	% de la réduction de l'œdème
L'eau physiologique (témoin négatif)	21.33%	0.00%
Huile essentielle de Menthe pouliot	07.80%	63.43%
Dicolfenac(témoin positif)	07.09%	66.76%

- **Interprétation et discussion**

Les maladies inflammatoires, causées par l'inflammation, sont l'un des principaux problèmes de santé dans le monde. L'inflammation est une réponse biologique complexe des tissus vasculaires aux agents pathogènes et aux irritants et se caractérise par un gonflement, une rougeur et une douleur des composants actifs sur le plan médical (*Anwar et al., 2019*).

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire topique de l'extrait de *M. pulegium*, sont présentés dans le **tableau 11**, il a induit une inhibition de l'œdème de **63.43%**.

D'après l'étude de (*Rocha et al., 2019*), l'induction d'un œdème par injection de carraghénine a vraisemblablement entraîné une augmentation significative du volume de la patte arrière à 6 heures après l'injection de carraghénine par rapport au groupe témoin. L'administration d'un extrait phénolique de *M. pulegium* a permis de réduire la formation de l'œdème de manière significative.

Résultats et Discussions

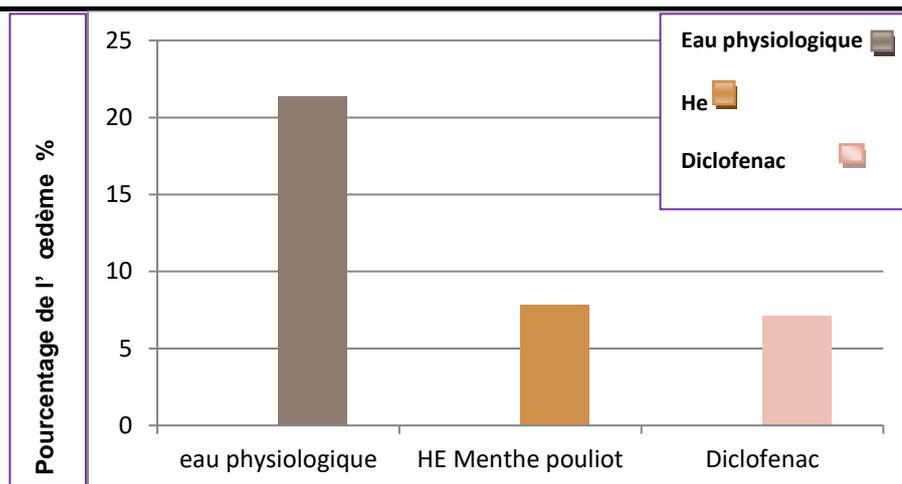


Figure 5 : Pourcentage de l'œdème et de réduction de l' de l'huile essentielle de Menthe pouliot, de diclofenac et d'eau physiologique.

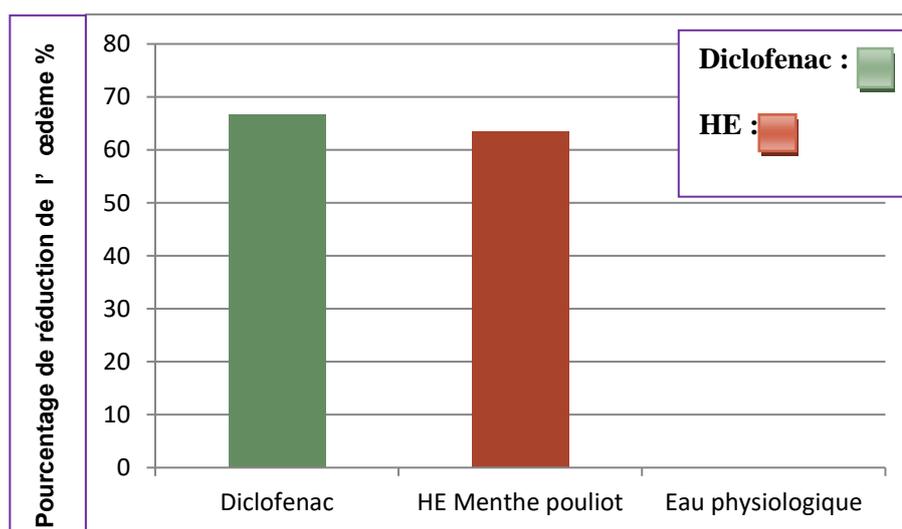


Figure 6: Pourcentage de réduction de l'œdème de l'huile essentielle de Menthe pouliot, de Diclofenac et d'eau physiologique.

Résultats et Discussions

IV.2.3. Activité antimicrobienne

- **Lecture des résultats**

Après incubation, la sensibilité des germes aux HE se traduit par la zone d'inhibition claire autour des disques, qui est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse en mm.

L'échelle d'estimation de l'activité anti microbien est donné par (*Mena et Sethi., 1994 et Ela et al., 1996*), ils ont classé le pouvoir antimicrobien en 4 classes;

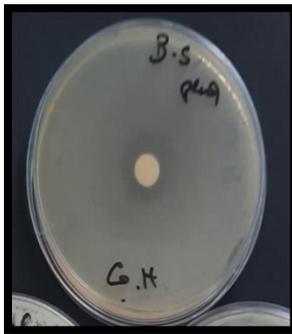
- Fortement inhibitrice: diamètre de le zone d'inhibition ≥ 28 mm.
- Modérément inhibitrice: $16\text{mm} \leq$ diamètre de la zone d'inhibition < 28 mm.
- Légèrement inhibitrice: $10\text{mm} \leq$ diamètre de la zone d'inhibition < 16 mm.
- Non inhibitrice: diamètre de la zone d'inhibition < 10 mm.

Tableau 10: Les diamètres des zones d'inhibition des souches microbiennes testés

Souches microbiennes	Diamètre de la zone d'inhibition (mm) 100% Pure
<i>Candida albicans</i>	23 mm
<i>Escherichia coli</i>	13 mm
<i>Bacillus spp</i>	17 mm
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	43 mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	20 mm

Résultats et Discussions

- A l'état pure :



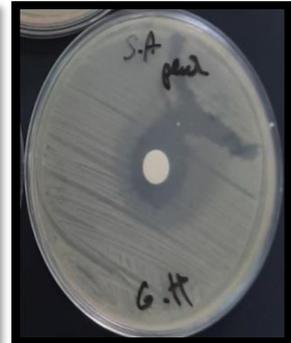
Bacillus spp



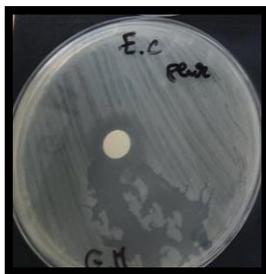
Candida albicans



Aspergillus
Brasiliensis



Staphylococcus
aureus

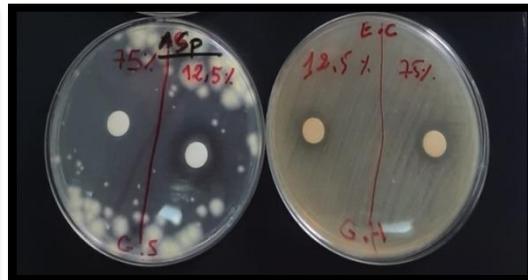


Escherichia coli

- Dilution 12.5% et 75%



Candidaalbicans , Staphylococcus aureus



aspergillus brasiliensis, Escherichia coli



Bacillus spp

Résultats et Discussions

- Dilution 3.12% et 6.25% :



Aspergillus brasiliensis,
Escherivhia coli

candida albicans,
Bacillus spp

Staphylococcus aureus

Figure 7 : l'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *M. pulegium*L. (Originale, 2023).

- Les tableaux ci-dessus ont été transférés en histogramme pour nous bien interpréter les diamètres des zones d'inhibition de ces souches microbiens testées.

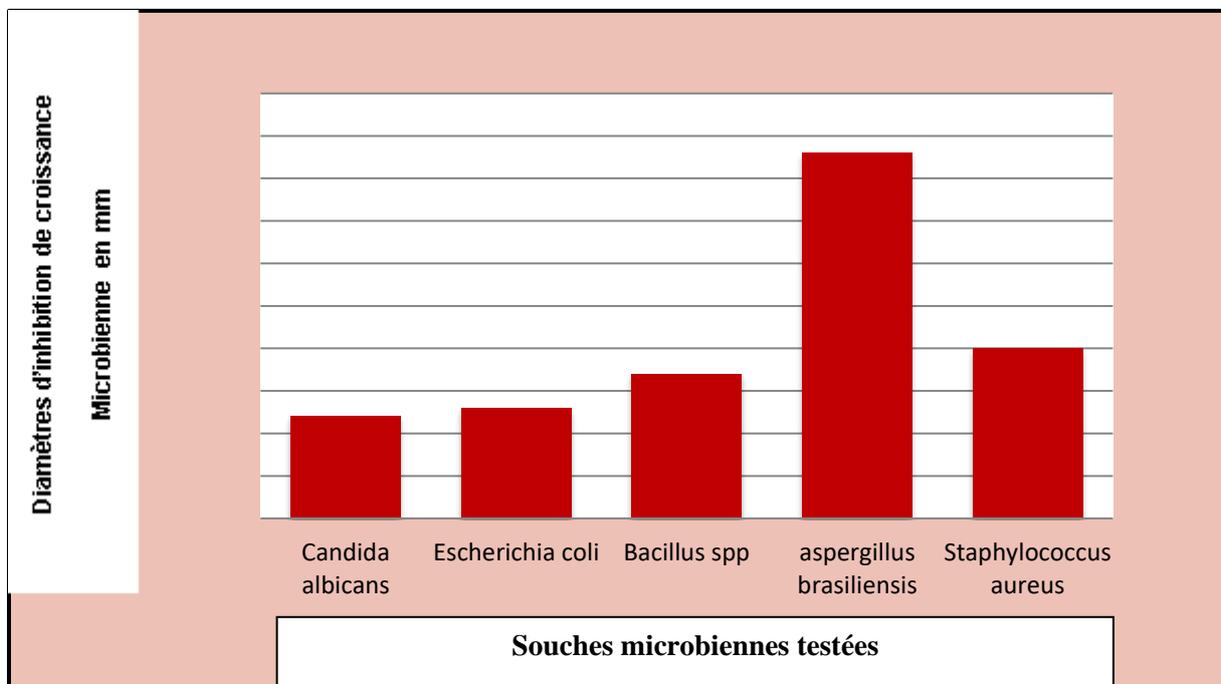


Figure 8 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des souches microbiens (100% Pure).

Résultats et Discussions

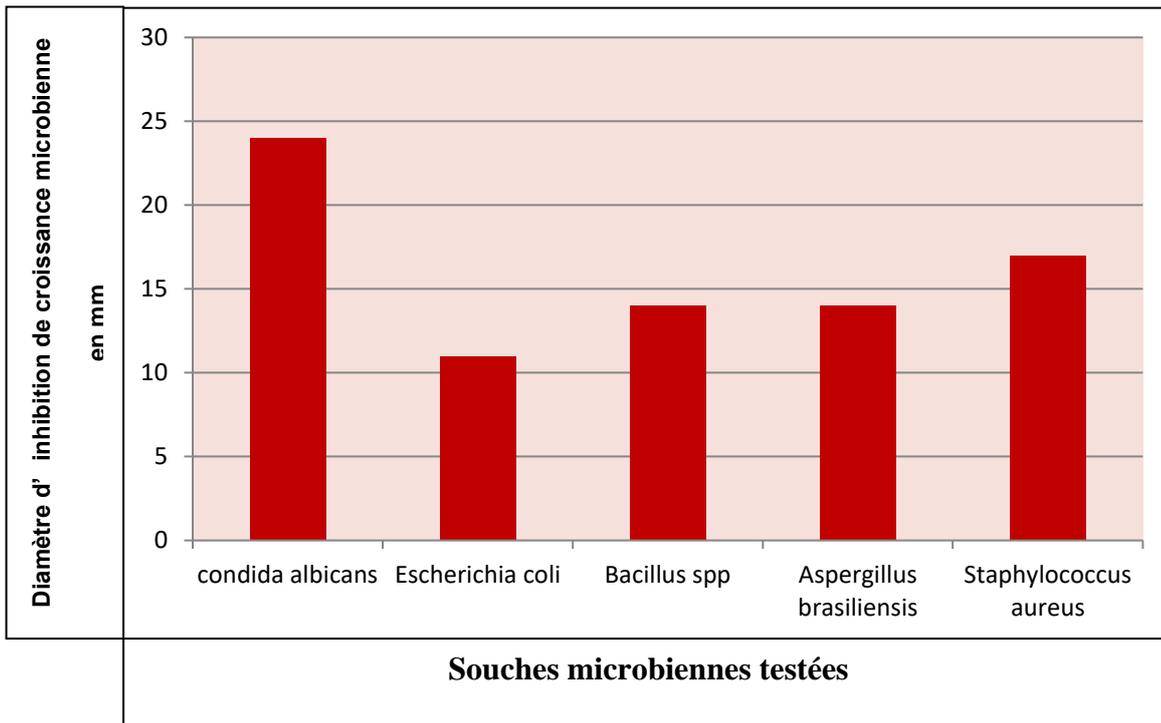


Figure 13: Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des souches microbiens (Dilution 75%).

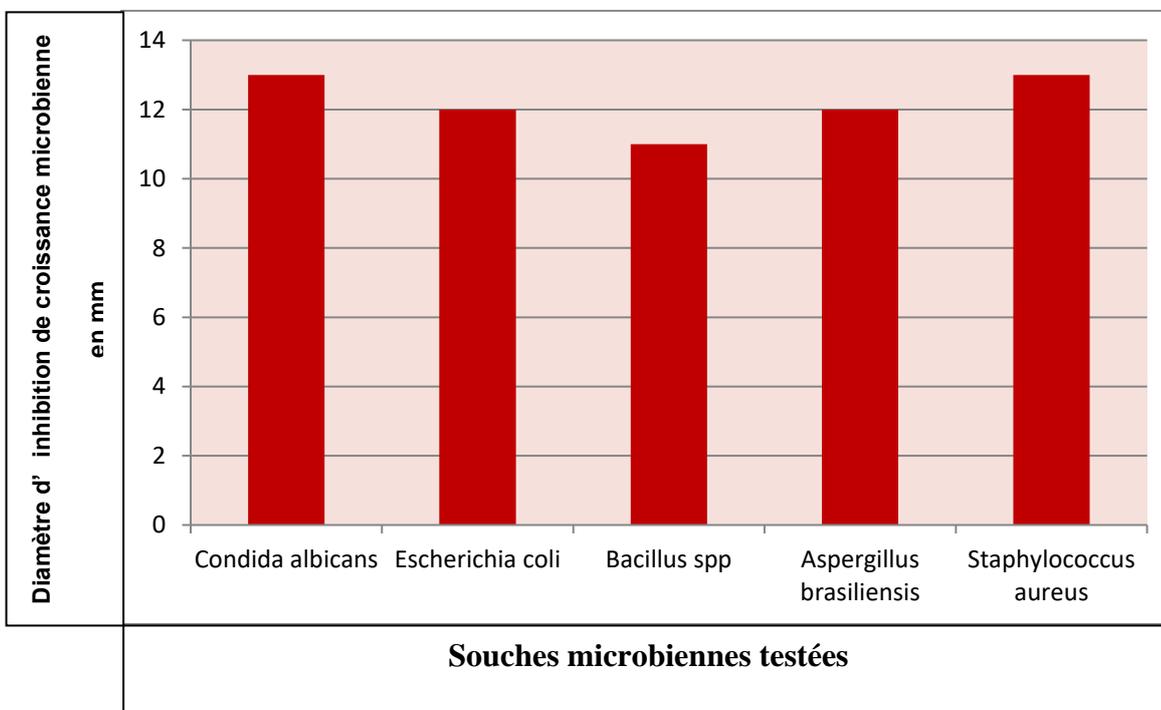


Figure 14 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des souches microbiens (Dilution 50%).

Résultats et Discussions

Après les tests qualitative de l'effet antimicrobienne d'HE d'Menthe pouliot l'Aromatogramme obtenu montre que tous les agents microbiens testés sont sensibles à cette huile essentielle de fait que leurs diamètres inhibitrice sont supérieur au diamètre minimum d'inhibition (10mm).

Pour les souches bactérienne clinique, elles sont tous fortement sensibles car le diamètre de leurs zone d'inhibition est supérieur à 28mm, un diamètre maximum d'inhibition « le diamètre fortement inhibiteur ».

Dans l'ordre de la sensibilité des bactéries testées avec cette huile, nous avons *Staphylococcus aureus* la plus sensible avec un diamètre d'inhibition de 27mm, *Bacillus spp* et *Escherichia coli* sont moins sensible avec un diamètre de 17mm et 13mm.

Pour les souches fongiques de référence, l'aromatogramme montre une très forte activité antifongique plus que celle sur les bactéries testées. On constate que les diamètres d'inhibition sont très intéressant avec un diamètre de 43mm et 24mm pour *aspergillus brasiliensis* et *Candida albicans* respectivement.

- **Discussion**

Ces résultats sont en accord avec les précédents rapports sur l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la menthe pouliot ; (**Benabdallah, 2008**) décrit des diamètres d'inhibition de l'huile essentielle de la menthe pouliot algérienne entre 10 et 22 mm, dont le diamètre le plus important concernait *E. coli*. Cependant, l'activité antibactérienne des huiles essentielles riche en pulégone a été rapportée. Nos résultats sont plus élevés que celle de (**Hajlaoui et al. 2009**) qui ont montré que l'huile essentielle de *M. pulegium* de Tunisie présentait des diamètres d'inhibition de 10 à 31 mm.

D'après (**Ait-Ouazzou et al., 2012**), l'huile essentielle générant des diamètres d'inhibition de 12.6 ± 0.5 mm contre une gamme de bactéries, alors que *Pseudomonas aeruginosa* était résistante.

A propos de (**Mahboubi et Haghi., 2008**) ont noté une bonne activité antibactérienne avec des diamètres d'inhibition et des valeurs de l'ordre de 8-21 mm pour les HES de *M.pulegium* L.d'Iran à chémotype pipéritone/pipéritenone, cependant cette huile n'a présenté aucune activité sur *Escherichia coli*.

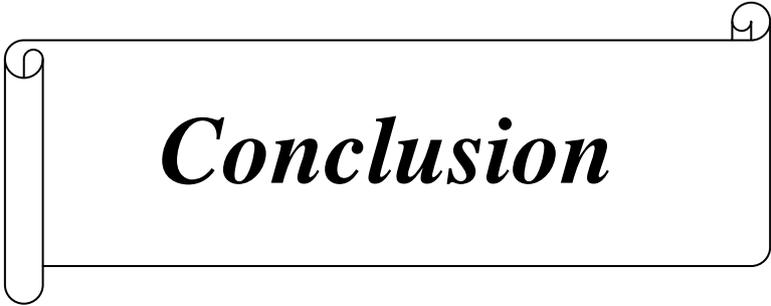
En ce qui concerne l'activité antibactérienne, elle peut être attribuée à la teneur élevée de l'huile essentielle en un composé oxygéné : le pipéritone. En effet, cette activité concerne

Résultats et Discussions

toujours les composés majoritaires de l'huile essentielle, impliquant soit une concentration élevée de pipéritone et les effets synergiques des autres constituants (*Mahboubi et Haggi, 2008*), soit une teneur élevée en pulégone (*Hajlaoui et al., 2009*). Quel que soit le cas, en général, les monoterpènes oxygénés, qui sont nettement plus actifs que les monoterpènes hydrocarbonés (*Carson et Riley, 1995*) sont généralement présents à des concentrations significatives dans les huiles essentielles de *M. pulegium* L.

Selon les résultats obtenus, il est possible de conclure que l'huile essentielle de *M. pulegium* a un grand spectre d'activité antibactérienne.

Il est connu dans la littérature que les bactéries Gram-positif sont plus sensibles aux huiles essentielles et extraits végétaux que les bactéries Gram-négatif (*Karaman et al., 2003 ; Sahin et al., 2002*). Ceci est dû aux différences structurales de leurs membranes externes (*Inouye et al., 2001 ; Lopez et al., 2005 ; Bozin et al., 2006*). Ces composants chimiques exercent leur activité antimicrobienne sur les micro-organismes par la perturbation de l'intégrité membranaire. (*Knobloch et al., 1989*). La pénétration des composés actifs présents dans les HES est donc différente (*Kheyer et al., 2014*). Chez les bactéries 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 et se faufiler jusqu'à la membrane intérieure plus vulnérable (*Dorman et al., 2000*). Autrement dit, les composés hydrophobes sont capables de perturber la membrane plasmique et la membrane externe des bactéries Gram- en induisant sa perméabilité et la mort cellulaire (*Wang et al., 2012*). Les bactéries Gram positif sont moins protégées contre les agents antibactériens, vu que le peptidoglycane n'entrave que la diffusion des molécules supérieures à plus de 50 kDa (*Nikaido et Vaara, 1985; Hogan et Kolter, 2002*).



Conclusion

Conclusion

L'intérêt accordé à l'étude scientifique du pouvoir thérapeutique des plantes médicinales n'a cessé d'augmenter durant ces dernières années dans le but de rechercher des alternatives aux substances chimiques, qui présentent des risques pour la santé humaine et l'environnement. Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer *in-vitro* l'activité antimicrobienne, antifongique et antioxydante de l'HE extraite de la plante *MenthapulegiumL.* Utilisée en médecine traditionnelle en Algérie.

L'huile est extraite par la méthode d'hydrodistillation, les analyses quantitatives de cette huile ont montré un rendement de 0.003 %.

L'étude du pouvoir antioxydant de notre huile par la méthode de piégeage du radical libre DPPH., démontre que l'Huile essentielle de la plante étudiée a une capacité anti radicalaire intéressante ($IC_{50}=0.045\text{mg/ml}$) par rapport avec celle de l'antioxydant standard, Vit C ($IC_{50} =0.001\text{mg/ml}$).

En ce qui concerne le pouvoir antimicrobien par la méthode de diffusion de disque de l'HE de *MenthapulegiumL.*, nos résultats montrent que les cinq souches bactériennes testées sont sensibles aux HE de *Mentha pulegiumL.* avec des diamètres d'inhibition entre 43 et 09 mm. On peut déduire que notre extrait a un bon pouvoir antibactérien sur les souches bactériennes testées.

L'étude de l'activité anti inflammatoire de l'huile essentielle réalisée sur des souris albinos a montré un pourcentage de réduction de l'œdème de l'ordre de 63.76% comparé au groupe référence qui a révélée 66.43%.

Ces résultats restent préliminaires et nécessitent en perspective, des études complémentaires approfondies à différents niveaux, a travers :

- Une caractérisation fine et poussée de ces huiles essentielles par d'autres techniques telles que la CPG/SM ou l'HPLC/SM afin d'établir une relation structure-activité.

Conclusion

- Les activités antimicrobienne et antioxydante doivent être évaluées dans d'autres systèmes *in vitro* (cellulaires et enzymatiques) comme *in vitro* afin de mieux cerner les interactions moléculaires de ces huiles vis-à-vis de leurs cibles.
- Réaliser d'autre activités biologiques pour élucider les propriétés médicinales de la plante.



Référence

Référence

Abdulmajed K., McGuigan C. and Heard C. M., 2005: Topical delivery of retinyl ascorbate: 4.

Comparative anti-oxidant activity towards DPPH. Free Radic. Res. 39: 491-498.

Ait-Ouazzou A., Lorán S., Arakrak A., Laglaoui A., Rota C., Herrera A., Pagán R. & Conchello P., 2012: Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. Food Res. Int. 45: 313–319.

Ames B.M., (1983): Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radical and degenerative diseases. Science. 221: 1256–1263.

Anton R et Annelise L (2005) : plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles, Lavoisier, édition Tec & Doc.

Bakkali, F., S., Averbeck, D. et Idaomar, M., 2008: Biological effects of essential oils. Food and Chemical Toxicology. 46: 446-475.

Bekhechi, C. (2008) : Analyse des huiles essentielles de quelques espèces aromatiques de la région de Tlemcen par (PG, CP), (S / I et RMN) et étude de leur pouvoir antibactérien .

Benayad, N (2008) : Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : Moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées, laboratoire des substances naturelles et thermolyse éclair, faculté des sciences de rabat, Tenebrionidae.

Bruneton, J. (1987) : Eléments de Phytochimie et Pharmacognosie. Lavoisier Paris Technique et Documentation, p 585.

Bruneton, J. (1999) : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (3e éd.). Paris: Tec & Doc Lavoisier.

Bruneton, J. (1999) : Pharmaciognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2eme édition,

Bruneton J. , (1999) : « pharmacognosie », Plantes médicinales, Ed. Lavoisier, Techniques et

Burda S. et Oleszek W., 2001: Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. J. Agric. Food Chem, 49 (6), 2774-2779.

Burt S., 2004: Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods

– areview. *International Journal of Food and Microbiology*. 94: 223-253.

Charles, N. S., Peter, A. W. & Derek, W. G. (2010): *Fundamentals of Inflammation*. Cambridge University Press, 2-3.

Cowan M.M., 1999: Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12(4): 564- 582.

Delille L., (2007): *Les plantes médicinales d'Algérie*. Berti Editions, Alger. 240 p.

Derwich E., Benziane Z. & Taouil R., 2010. GC/MS analysis of volatile compounds of the

essential oil of the leaves of *Mentha pulegium* growing in Morocco. *Chem. Bull.*

"POLITEHNICA" Univ. (Timisoara). 55(69): 103- 106.

Dorman HJD. et Deans SG., 2000 : Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88(3): 308-316

Duh P.D., 1999. Antioxidant activity of water extract of four Harnng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) varieties in soybean oil emulsion. *Food Chem.* 66: 471–476.

Essawi T. & Srour M., 2000: Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial

activity. *J. Ethnopharmacol.* 70: 343–349.

Foudil-Cherif, Y. (2005) : Etude chimio taxonomique des huiles essentielles de neuf espèces d'Eucalyptus poussant en Algérie distribution en abtioni mérique de cinq monoterpènes par chromatographie multidimensionnelle. Thèse Doctorat en chimie .Université des Sciences et 68 la Technologie Houari Boumediene.

Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh SA ., Rasooli I., 2007 :

Food chem. 102 : 898-904 .

Guignard J. L., Dupont F., 2004 : *Botanique: Systématique moléculaire*. 13^{ème} éd. Masson, pp237.

Guinois weau E., 2010 : Molécules, antibactérienne issues d'huiles essentielles :

séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat de l'Université de Corse, option : Biochimie-Biologie moléculaire, France, 50p.

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

Haddouchi F., Lazouni HA., Meziane A.et Benmansour A., (2009) : Etude
physicochimique etmicrobiologique de l'huile essentielle de Thymus
fontanesiiBoiss&Reut. Afrique SCIENCE. 05(2): 246– 259.

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

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

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

Inouye S., Takazawa T. et Yamaguchi H., 2001: Antimicrobial activity of the essential oils
and
their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. Journal of
Antibacterial Chemotherapy. 47: 565-573

Kamkar A., Javan A.J., Asadi F. & Kamalinejad M., 2010: The antioxidative effect of
Iranian
Mentha pulegium extracts and essential oil in sunflower oil. Food Chem. Toxicol. 48:
1796–1800.

Karaman I., Şahin F., Gulluce M., Öğütçü H., Şengül M. & Adıgüzel A., 2003:
Antimicrobial

activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. J. Ethnopharmacol. 85: 231–235.

Kheyer N., Meridja D. et Belhamel K., 2014 : Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. Algerian

Journal of Natural Products. 2(1): 18-26.

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

Kokkini S., Hanlidou, Karousou, Lanaras (2002): « Variations of pulegone content in pennyroyal (*Menthapulegium*) plants growing wild in Greece », J. Essential Oil Res., vol. 14, n o 3.

Kurkin, A. (2003) : Chem. Nat. Compd., p 39,123.

Lahrech K., (2010) : “Extraction et analyses des huiles essentielles de *Menthapulegium* l. et de *Saccocalyxatureioide*. Tests d'activités antibactériennes et antifongiques,” Theses, Université d'Oran Es-Senia, Oran.

Mahboubi M. & Haghi G., 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. J. Ethnopharmacol. 119: 325–327.

Marouf, A., Reynaud, J. (2007) : La botanique de A à Z .DUNOD, paris, p : 9-20-176-177.

Marouf, A., Reynaud, J. (2007). La botanique de A à Z .DUNOD, paris, p : 9-20-176-177.

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

Nathan C (2002): Points of control in inflammation. Nature, 420, 846-852.

Nikaido H. & Vaara M., 1985: Molecular basis of bacterial outer membrane permeability.

Microbiol. Rev. 49: 1–32

Nikaido H., 2003: Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited.

Microbiology and Molecular Biology Reviews. 67(4): 593-656

Ouis, N. (2015) : étude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil, mémoire de docteur, chimie organique, Université d'Oran 1, p 19,37.

Paris : Editions médicales internationales, Tec. Et Doc Lavoisier, p 1120.

Pibiri, A. (2005) : L'aromathérapie en médecine générale. Éditions Albin Michel.

Randriantsoa, D.R. (2004) : Etude comparative de deux huiles essentielles antibactériennes extraites des plantes *Cinnamomum fragrans* et *Citrus sinensis* dans l'élevage de la crevette :

Panaeus monodon. [Mémoire de DEA : Biochimie]. Antananarivo : Université d'Antananarivo, p78.

Rozman T. et Jersek B., 2009: *Acta agriculturae slovenica*, 93 (1) :51-580.

Ruberto G. & Baratta M.T., 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in

two lipid model systems. *Food Chem.* 69: 167–174.

Ruberto G. & Baratta M.T., 2000: Antioxidant activity of selected essential oil components in

two lipid model systems. *Food Chem.* 69: 167–174.

Silva L F., Cardoso M. das G., Batista L. R., Gomes M. de S., Rodrigues L. M. A.,

Rezende D. A. de C. S., Teixeira M. L., Carvalho M. S. S., Santiago J. de A. et Nelson D.

L., (2015): "Chemical characterization, antibacterial and antioxidant activities of essential oils of *Mentha viridis* L. and *Mentha pulegium* L.," *Am. J. Plant Sci.*, vol. 6, pp. 666–675.

Talahagcha Kh et KASSA S (2008) : Extraction et caractéristiques organoleptiques et chimiques de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*. (menthe pouliot). D.E. Senbiologie.

Tucker, A., Rfcnac, I. (2007) : *Mentha*: Un Aperçu De La Classification Et Les Relations.

Vagi E., Simandi B. et Suhajda ., 2005: Hethelyi. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum marjorana* L. Extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. *J.*, 38, 51-57.

Vagi E., Simandi B. et Suhajda ., 2005: Hethelyi. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum marjorana* L. Extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. *J.*, 38, 51-57.

Valisolala, J. (1989) : Huile essentielle, inventaire et études des plantes aromatiques et

médicinales des Etats de l'Océan Indien. Projet FED/COI/AIRDOI.

Wang W., Li N., Luo M., Zu Y. et Efferth T., 2012: Antibacterial activity and anticancer activity

of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil Compared to that of its main component. *Molecules*. 17: 2704-271.

Wang W., Wu N., Zu Y.G. & Fu Y.J., 2008: Antioxydative activity of *Rosmarinus officinalis* L.

essential oil compared to its main components. *Food chem.* 108: 1019-1022.

Yi Z., Yu Y., Liang Y. and Zeng B., 2008: In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri reticulatae* of a new Citrus cultivar and its main flavonoids. *LWT*. 41, 597-603.

Zargari A., (1990): *Herbal Medicines*. Publication of Tehran University, Iran. pp: 14-18

Delille L., (2007): *Les plantes médicinales d'Algérie*. Berti Editions, Alger. 240 p.

Zekri N., Amalich S., Boughdad A., El Belghiti M.A. & Zair T., 2013: Phytochemical study and

insecticidal activity of *Mentha pulegium* L. oils from Morocco against *Sitophilus oryzae*.

Mediterr. J. Chem. 2(4): 607-619.

Zwaving J.H. & Smith, D., 1971: Composition of the essential oil of Austrian *Mentha pulegium*. *Phytochemistry*. 10: 1951-1953.



Annexes

➤ **Activité antimicrobienne :**

➤ **Les milieux de cultures :**

Les milieux de cultures utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens à fin d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de menthe pouliot sont les suivants:

- Pour les souches bactériennes nous utilisons le milieu Muller Hinton (MH).
- Pour les souches fongiques le milieu Sabourau.

➤ **Activité anti inflammatoire :**

• **Conditions d'hébergement :**

- Les souris sont placées dans un local contrôlé. La température est comprise entre 20°C à 24°C, la photopériode est de 10 heures par jour, le taux d'humidité est de l'ordre de 50% (**Figure 3**).



Figure 1: Photos des souris testées (originale, 2023).

➤ **Matériel non biologique :**

Le matériel utilisé durant notre expérimentation : Verrerie, Réactifs et les appareils sont rassemblés dans la liste et après dans le tableau (**Figure 4**).

List des réactifs utilisés :

- Méthanol
- DPPH
- Solution de Carragénine
- Tween 80
- Solvants : Eau distillée , Eau physiologique.



Figure 2: Photos des réactifs utilisés (Solution de Carragénine,Tween 80,Méthanol,DPPH) (originale, 2023).

Tableau 1:L'équipement verreries et l'appareillage.

Verreries et petite matériels	Equipement et appareille
<ul style="list-style-type: none">- Boite de Pétri- Bécher gradué- Entonnoirs- Papier filtre (Papier wattman)- Fiole conique stérile- Pipettes gradués- Bec bunsen- Discs bactérienne- Gant- Papier aluminium	<ul style="list-style-type: none">- Balance analytique ; Balance- pour les animaux- Plaque chauffante- Etuve et Auto-clave- Incubateur- Agitateur magnétique- Haute- Pied à coulisse manuel- Bain marie- Réfrigérateur

Activité antioxydante

- **Les dilutions :**

1ère dilution 1/10^{ème} : 1ml de la solution mère + 9ml de méthanol.

2ème dilution 1/100^{ème} : 1ml de la première dilution + 9ml de méthanol.

3ème dilution 1/1000^{ème} : 1ml de la deuxième dilution+ 9ml de méthanol.

4ème dilution 1/10000^{ème} : 1ml de la troisième dilution + 9ml de méthanol.

5ème dilution 1/100000^{ème} : 1ml de la quatrième dilution + 9ml de méthanol (**Figure 8**).



Figure 3: Photos des tubes des dilutions préparées (originale, 2023).

➤ **Protocole expérimentale de l'activité anti inflammatoire :**

Pour la préparation de la Dilution 10%, on prend 200µl de notre huile et 1.8 ml de twine 80.
Pour la préparation de la solution diclofenac : un comprimé 50mg broyé avec 10ml de l'eau distillé.



Figure 4 : Photo de la solution diclofenac (**originale, 2023**).

➤ **Mode opératoire :**



Figure 5 : Sonde gavage des suspensions d'essai (**originale, 2023**).



Figure 6:Injection de la solution de carragénine sous l'aponévrose plantaire (intra-plantaire) de la patte arrière gauche d'une souris (**Originale, 2023**).

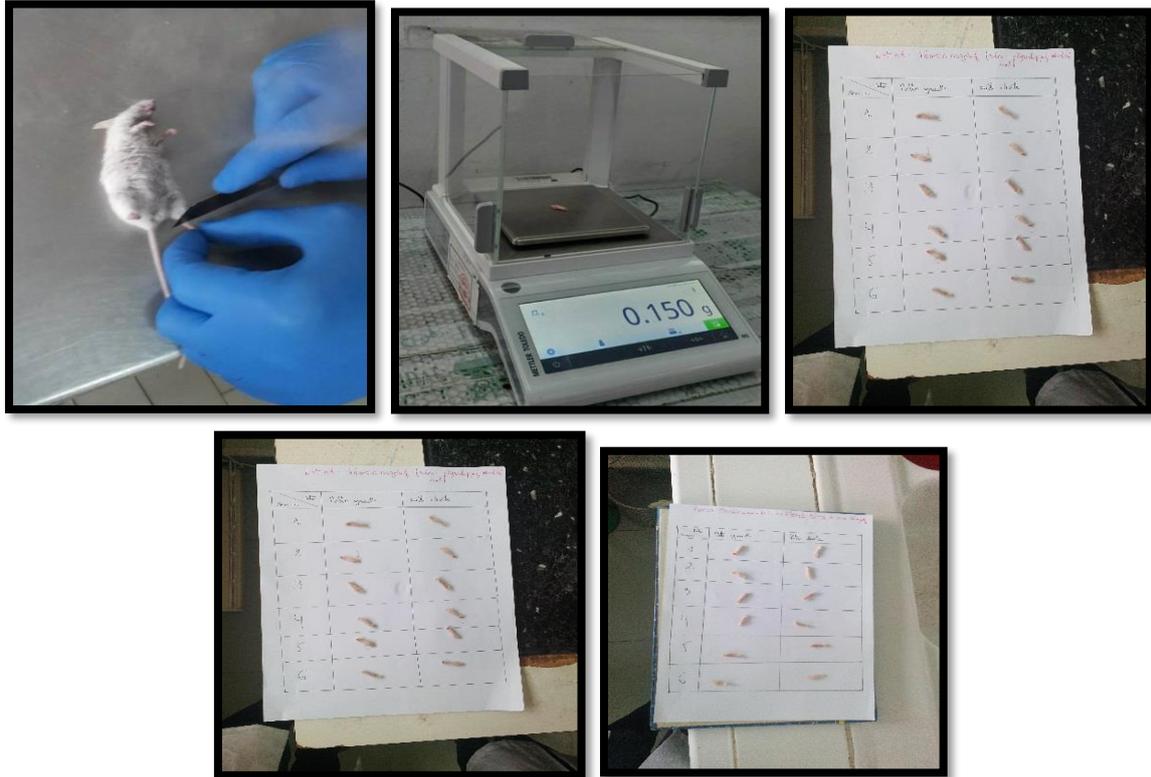


Figure 7 : Les pattes gauches des souris de lot témoin négative (l'eau physiologique), d'essai d'huile d'Menthe pouliot et d'essai témoin positive (diclofénac) respectivement (**Originale, 2023**).

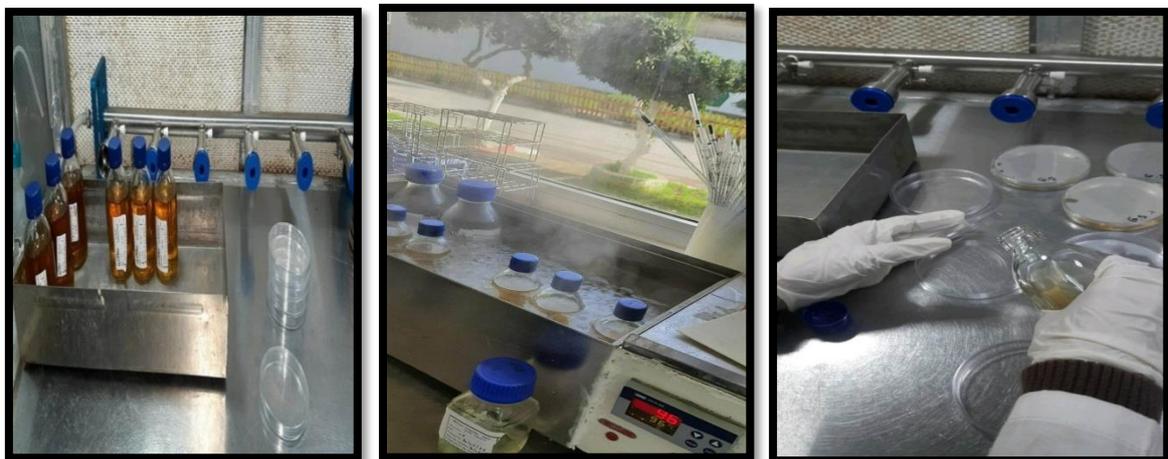


Figure 8 : Préparation des milieux de culture (**Originale, 2023**).

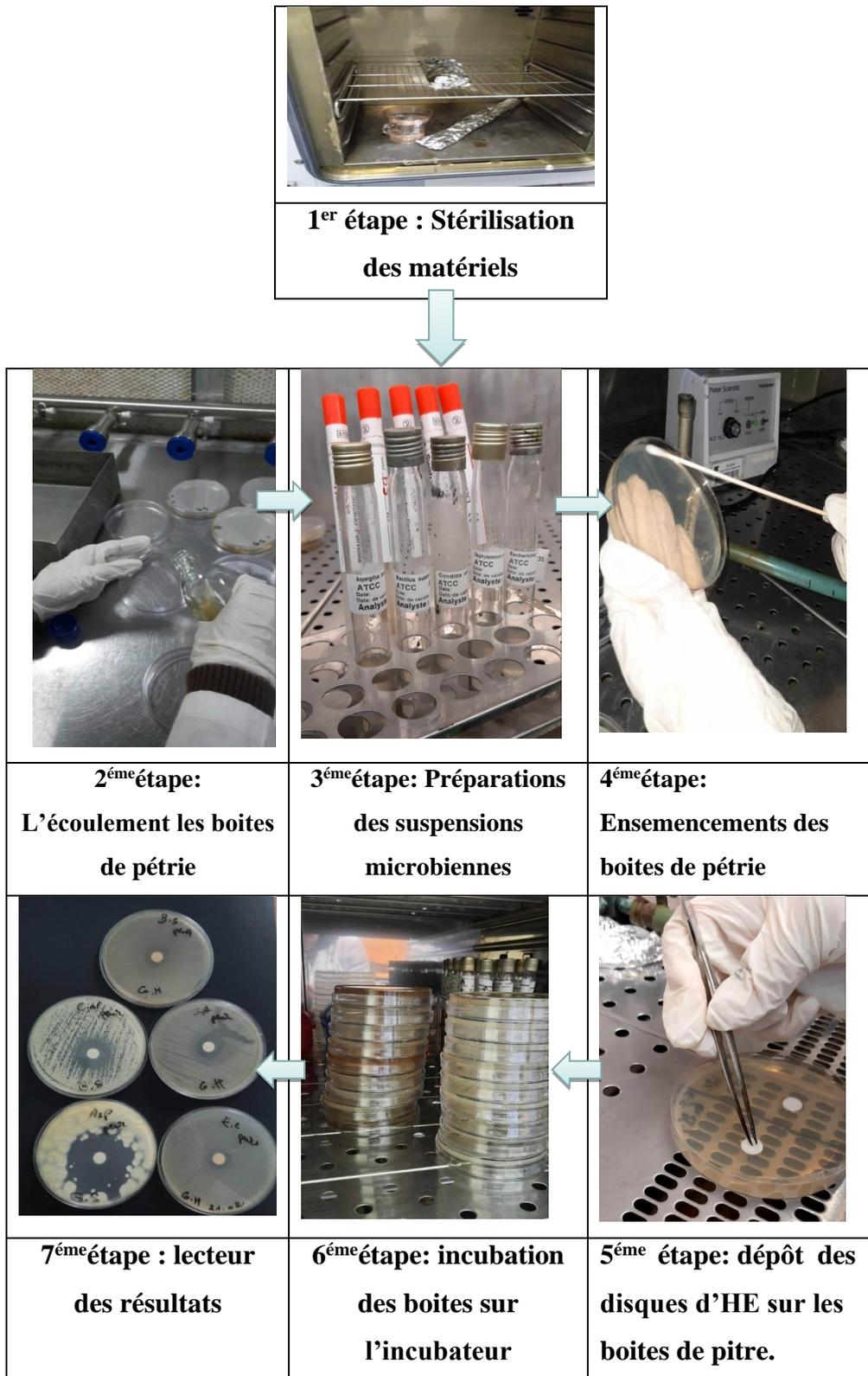


Figure 9 : Technique qualitative de l'effet antimicrobien (Originale, 2023).

➤ **Equipements :**

Les équipements qu'on a utilisés :

- Plaque chauffante ;
- Agitateur à turbine ;
- Microscope optique ;
- Balance électronique.
- Verrerie et autres petits matériels : béchers, spatules, lames et lamelles.



Figure 10 : Photos des procédés de formulation de l'émulsion (Originale, 2023).

ملخص

الهدف من هذا البحث هو الدراسة النشاطية البيولوجية للزيوت الاساسية لنبات الفليو *Mentha pulegium* بمنطقة وادي العلايق .

الفليو هو نبات عطري ينتمي الى عائلة الشفويات يدعى محليا بالفليو. ينمو بسورة تلقائية و هو منتشر بكثرة في الجزائر و بالطب التقليدي .

تم استخلاص الزيوت الاساسية عن طريق عملية التقطير البخار *Hydhydrodistillation*

Summary

The aim of this research is to study the biological activity of the essential oils of *Mentha pulegium*.

In Wadi Al-Alaiq area.

Phyllo is an aromatic plant that belongs to the Lamiaceae family ; locally called Phyllo . It grows spontaneously and is widely spread in Algeria and in traditional medicine.

The essential oils were extracted by steam distillation (*Hydhydrodistillation*).