



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abbes Laghrou - Khenchela
Faculté des Sciences de La Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire.

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique**

Filière : **Sciences biologiques**

Option : **Biochimie Appliquée**

Thème

Caractérisation des activités biologiques du mélange des huiles essentielles des clous de girofle et de la menthe verte

Présenté par :

BAKHOUCHE Zeyneb
BENSIZERARA Chaima & TOUATI Rania

Devant les membres de jury :

- **Présidente** : M^{me} KRIM Meriem (MCB) Univ. Abbès Laghrou - Khenchela
- **Promoteur** : M. MAAMAR Hichem (MCB) Univ. Abbès Laghrou - Khenchela
- **Examinatrice** : M^{me} DJEMIL Randa (MCA) Univ. Abbès Laghrou - Khenchela

Année Universitaire :

2021/2022



Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier, le bon Dieu de nous avoir procuré la patience et la force d'accomplir Ce modeste travail,

*Nous voulons exprimer nos profonds respects et remerciements à notre promoteur **Dr. MAAMAR Hichem**, d'avoir accepté de nous encadrer, et pour son aide précieuse et surtout pour tous ses conseils et ses remarques qui nous ont permis de réaliser ce travail,*

*Un grand remerciement à **Dr. KRIM Meriem** d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire.*

*Un grand remerciement également à **Dr. DJEMIL Randa** d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

Nous profitons aussi de cette occasion pour adresser nos remerciements à toute nos familles qui nous ont toujours encouragés et soutenu tout au long des années de notre étude.

A la fin nos remerciements s'adressent aussi à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.



Dédicace

D'un sentiment plein d'amour, de sincérité et de fidélité, je dédie ce modeste travail

*A mes chères parents **RACHID** et **NOURA** A qui je dois ce qui je suis, Pour leur amour, leur compréhension ; leur patience et leur tendresse ils sont toujours présents pour moi sans limite, ils m'ont soutenu le long de mes études et ont tout sacrifié pour ma réussite, que Dieu les garde en bonne santé.*

*A mon cher frère **Farouk**, sa femme **Nadjwa** et leur fils **Wael** (Koto)
et A mes sœurs **IKHLAS** et **FATMA ZAHRA***

A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.

A tous les étudiants de notre promotion

Master « Biochimie appliquée »

A tous ceux que j'aime.

Merci

Leyneb



Dédicace

Je tiens à exprimer d'abord mes profonds remerciements à mon DIEU, tout Puissant et le Miséricordieux, de m'avoir donné la santé, la volonté, la patience et le courage.

Je dédie ce travail à mes chers Parents

A mon père RACHID,

Pour son soutien, son affection et la confiance qu'il m'a accordé.

Ma mère ABLA,

Pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices.

A mon seul frère BouBa

A mes sœurs Asma et Zina

A ma grand-mère Hafsseia allah yarhamha

A mes cousins Halima, Marwa, Saida, Bazi, Bilal et Housseem.

A mes amis Dalal, Meryem, Sana, Amira, Djihane, Souha, Manel, Amel,

Rima, Racha, Soumia...

A tous les membres de ma famille

Et enfin à toutes les personnes qui j'aime et qui m'aiment.



Chaima



Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Toute les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance ...

Aussi, c'est tout simplement que Je dédie cette mémoire à ...

A Mes très chers parents, jamais je ne saurais m'exprimer quant aux sacrifices et dévouement que vous avez consacrés à mon éducation et à mes études. Les mots aussi expressifs soient-ils, restent faibles pour vous énoncer ma gratitude hautement profond. Puisse Dieu vous exaucer de santé, de prospérité et de bien-être et vous octroyer une longue vie.

A MES CHER Grand-pere Et Grand-mere,

MES TANTES ET MES ONCLES

A MES CHERS FRÈRES

Antar, Amine, Mouhamed

A MES CHERS SŒURS

Assia, Nor El Yakine

A MES CHERS COUSINES: Sana, Hanane, Kaltoum, Ahlam, Fatima, Bouthayna, Chaima, Hadil

A MES CHERS COUSINS

A MES CHERS AMIES :

Sara, razika,

Imene, randa, rayene, dounia,

Salihha, Fatima

A MON CHER BINOME :

Chaima Et Zeyneb

Rania

Liste des tableaux

Tableau 01 : Liste des bactéries testées.	24
Tableau 02 : Préparation de la concentration (les dilutions d'HE).	29
Tableau 03 : Le rendement des huiles essentielles.	31
Tableau 04 : Résultats de l'activité antibactérienne.	32
Tableau 05 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH dans le mélange des HEs.	35

Liste des figures

Figure 01 : Montage d'hydro distillation.	07
Figure 02 : Entraînement à la vapeur d'eau.	07
Figure 03 : Technique d'extraction à froid.	08
Figure 04 : Technique d'extraction par solvant.	08
Figure 05 : Extraction au CO2 supercritique.	09
Figure 06 : La Menthe verte.	12
Figure 07 : Clous de girofle.	16
Figure 08 : le Clevenger utilisé dans l'extraction des HEs.	22
Figure 09 : Schéma d'un montage d'hydrodistillation.	23
Figure 10 : Conservation de l'extrait.	24
Figure 11 : Milieu de culture.	25
Figure 12 : La stérilisation de la spatule et le repiquage des souches bactériennes.	26
Figure 13 : Ensemencement à l'aide d'un écouvillon stérile.	26
Figure 14 : Placer les disques sur la surface de gélose.	27
Figure 15 : Méthode de l'aromatogramme.	28
Figure 16 : Mesure des halos d'inhibition.	28
Figure 17 : Les dilutions de l'HE.	30
Figure 18 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations du mélange de l'HE.	35

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation

DMSO : Diméthyl sulfoxyde

DPPH : Diphényl picrylhydrazyle

EC : Escherichia coli

HE : Huile essentielle

IC 50 : Concentration Inhibitrice médiane

Kp : Klebsiella sp

MH : Milieu de Mueller Hinton

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PA : Pseudomonas aeruginosa

PI : Pourcentage d'inhibition

RHE : Rendement d'huile essentielle

SA : Staphylococcus aureus

SM : Solution mère

Résumés



Résumé

Les HEs sont de plus en plus utilisées de nos jours. Elles peuvent être dans une certaine mesure une alternative à la médecine allopathique et aux problèmes et aux maladies iatrogènes ou les résistances aux antibiotiques. Ces HEs sont une source inépuisable et diversifiée de métabolites secondaires qui sont à l'origine de nombreuses activités biologiques telles que l'activité antibactérienne, antioxydante, anti-inflammatoires...etc.

Notre travail porte sur l'étude des différentes activités biologiques d'un mélange des HEs de deux plantes médicinales, la menthe verte et les clous de girofle.

L'extraction des HEs des deux plantes a été faite pour chaque plante séparément par l'hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. Le mélange a été obtenu par l'association des deux HEs.

L'étude de l'activité antimicrobienne contre quatre souches de bactéries : une souche Gram + (*Staphylococcus aureus*) et 03 souches Gram - (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*), montre une activité importante uniquement dans la solution mère des différentes souches. Les résultats de l'activité antioxydante réalisée en utilisant la méthode de réduction des radicaux libres DPPH ont montré que ce mélange des HEs a une activité antioxydante très importante avec un pourcentage d'inhibition égale à 118,6%.

Mots-clés : Menthe verte, clous de girofle, mélange d'HE, activité antibactérienne, activité antioxydante.

Abstract

EO are used more and more nowadays. They can be to some extent an alternative to allopathic medicine and to iatrogenic problems and diseases or resistance to antibiotics. These EOs are an inexhaustible and diversified source of secondary metabolites which are at the origin of many biological activities such as antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory activity, etc.

Our work focuses on the study of the different biological activities of a mixture of EOs of two medicinal plants, spearmint and cloves.

The extraction of EOs from the two plants was done for each plant separately by hydrodistillation using a Clevenger-type device. The mixture was obtained by the association of the two EOs.

The study of antimicrobial activity against four strains of bacteria: one Gram+ strains (*Staphylococcus aureus*) and 03 Gram- strains (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*), shows significant activity only in the stock solution of the different strains. The results of the antioxidant activity carried out using the DPPH free radical reduction method showed that this mixture of essential oils has a very significant antioxidant activity with an inhibition percentage equal to 118.6%.

Keywords: Spearmint, cloves, EO blend, antibacterial activity, antioxidant activity.

المخلص

يتم استخدام الزيوت الأساسية أكثر فأكثر في الوقت الحاضر. يمكن أن تكون إلى حد ما بديلاً للطب الوبائي والمشاكل والأمراض علاجي المنشأ أو مقاومة المضادات الحيوية. هذه الزيوت الأساسية هي مصدر غير محدود ومتنوع من المستقلبات الثانوية التي هي أصل العديد من الأنشطة البيولوجية مثل النشاط المضاد للبكتيريا ومضادات الأكسدة والمضادة للالتهابات، الخ.

يركز عملنا على دراسة الأنشطة البيولوجية المختلفة لخليط من الزيوت الأساسية لنباتين طبيين ، النعناع والقرنفل.

تم استخلاص الزيوت العطرية من النباتين لكل نبات على حدة عن طريق التقطير المائي باستخدام جهاز من نوع Clevenger تم الحصول على الخليط من خلال مزج الزيوت العطرية.

أظهرت دراسة النشاط المضاد للميكروبات ضد أربع سلالات من البكتيريا: سلالة من الجرام + *Staphylococcus aureus* و 03 سلالات من سلالات الجرام - (*Escherichia coli*) و (*Klebsiella pneumoniae* و *Pseudomonas aeruginosa*) نشاطاً معنوياً فقط في المحاليل الأم لسلاسلات المختلفة. ظهرت نتائج النشاط المضاد للأكسدة الذي تم إجراؤها باستخدام طريقة تقليل الجذور الحر DPPH أن هذا المزيج من الزيوت الأساسية له نشاط مضاد للأكسدة مهم جداً مع نسبة تثبيط تساوي 118.6%.

الكلمات المفتاحية : النعناع ، القرنفل ، مزيج الزيوت العطرية، النشاط المضاد للبكتيريا ، النشاط المضاد للأكسدة.

Table de matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Résumés	
Introduction	01
Partie bibliographique	
Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles	
I. Les Huiles essentielles	03
I.1. Définition	03
I.3. Répartition et localisation	04
I.4. Propriétés physiques	04
I.5. Composition chimique	04
I.5.1. Les composés terpéniques	05
I.5.2. Les composés aromatiques	05
I.6. Domaines d'utilisation	05
I.7. Méthodes d'extractions	06
I.7.1. Extraction par hydro distillation	06
I.7.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	07
I.7.3. Extractions à froid	07
I.7.4. Extraction par solvants organiques	08
I.7.5. Extraction au CO ₂ supercritique	09
I.8. Toxicités des huiles essentielles	09
I.9. Action des huiles essentielles	09
I.10. Falsification des huiles essentielles	10
Chapitre II : Le Girofle et la Menthe	
II.1. Introduction	11
II.2. La menthe verte	11
II.2.1. Définition	11
II.2.2. Histoire	11
II.2.3. Origine	12
II.2.4. Classification botanique	12
II.2.5. Utilisation	13
II.2.6. Propriétés physiques et composition chimiques	13
II.2.6.1. Propriétés physiques	13
II.2.6.2. Compositions chimique	14
II.2.7. Toxicité	14
II.3. Clou de girofle	14
II.3.1. Définition	14
II.3.2. Histoire et origine	14
II.3.3. Classification botanique	16
II.3.4. Principales utilisations	16

II.3.5. Composition chimique	17
II.3.6. Toxicité	17
II.4. Le mélange des huiles essentielles	17

Chapitre III : Les activités biologiques

III.1. Généralités	19
III.2. Activités des huiles essentielles	19
III.2.1. Activités antibactérienne	19
III.2.2. Activités antioxydante	19
III.2.3. Autres activités	20
III.2.3.1. Activités antifongique	20
III.2.3.2. Activités anti-inflammatoire	20
III.2.3.3. Activités anticancéreuse	20

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Objectif	21
I.2. Présentation du lieu de l'étude expérimentale	21
I.3. Matériel et méthode expérimentale	21
I.3.1. Matériel végétal	21
I.3.2. Les souches bactériennes	21
I.3.3. Réactifs chimiques et instrumentations	21
I.4. Méthode expérimentale	22
I.4.1. L'extraction des huiles essentielle	22
I.4.1.1. Chauffage	23
I.4.1.2. Conservation des extraits	23
I.5. Calcul du rendement en huile	24
I.6. Evaluation de l'activité antimicrobienne du mélange des huiles essentielle	24
I.7. Choix des souches	24
I.8. Milieu de culture	25
I.9. Stérilisation des matériels	25
I.10. Les étapes de l'activité antibactérienne	25
I.10.1. Le ré-isolément des souches bactériennes	25
I.10.2. Préparation de l'inoculum	26
I.10.3. Ensemencement	26
I.10.4. Méthode de l'aromatogramme	26
I.10.5. Préparation des disques d'aromatogramme	27
I.10.6. Incubation et lecture	28
I.11. Evaluation de l'activité antioxydante	28
I.11.1. Calcul des pourcentages d'inhibition	29
I.11.2. Préparation des différentes dilutions de l'huile essentielle	29
I.11.3. Préparation de la solution de DPPH	30

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Le rendement	31
II.2. Lecture de l'activité antimicrobienne	31

II.3. Expressions et résultats	32
II.3.1. Activité antibactérienne	32
II.4. Evaluation de l'activité antioxydante	34
Conclusion et perspectives	37
Références bibliographiques	38

Introduction



Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études (**Franchomme *et al.*, 2001**).

La popularité dont jouissent depuis longtemps les HEs et les plantes aromatiques en général reste liée à leurs propriétés médicinales en l'occurrence les propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, antivirales, antifongiques, bactéricides, antitoxiques, insecticides et insectifuges, tonifiantes, stimulantes, calmantes, etc. (**Nicolas, 1991 ; Mishara et Dubey, 1994**).

Le clou de girofle est une épice très appréciée pour ses qualités alimentaires. Il en est extrait une huile essentielle (HE) connue surtout en médecine dentaire. Il s'agit d'une HE renfermant en grande majorité de l'eugénol, un phénol considéré comme doux mais anti infectieux puissant et à large spectre (**Lobstein *et al.*, 2017**).

L'HE de menthe verte, extraite d'une plante largement répandue, est, par exemple, utilisée depuis longtemps pour ses propriétés aromatiques et thérapeutiques, et elle est désormais retrouvée dans un plusieurs domaines (**Carlier, 2015**).

Le mélange des HEs de menthe verte et du clou de girofle crée une véritable synergie bénéfique pour la santé. Bien sûr, il faut que le mélange n'ait pas une action inverse. Pour mélanger les HEs il faut tout d'abord connaître leur composition chimique et leurs propriétés.

Notre présente étude s'inscrit dans l'objectif de réaliser une étude sur l'activité antioxydante, l'antibactérienne *in vitro* d'un mélange des HEs du Girofle et de la Menthe.

Dans le cadre de cette étude, ce mémoire est composé de deux parties :

➤ La première partie représente une mise au point d'une synthèse bibliographique. Elle est divisée en trois chapitres :

Le premier chapitre est consacré à l'étude des HEs ; qui introduit les connaissances nécessaires à la compréhension de ce travail, Le deuxième chapitre est consacré à

l'étude des plantes utilisées dans ce travail ; le clou de girofle et la menthe verte, et le troisième chapitre est consacré à l'étude des activités biologique.

➤ La seconde partie (expérimentale), au niveau du laboratoire de l'université, renferme deux chapitres :

Dans le premier chapitre nous allons décrire en détail le matériel utilisé (végétal, appareil...etc.) et les techniques et procédés (extraction et dosage) et le deuxième chapitre expose les résultats obtenus ainsi que leur discussion.

Enfin, ce manuscrit est achevé par une conclusion générale et des perspectives pour l'ensemble du travail.



**Etude
bibliographique**

Chapitre 1

Généralités sur les huiles essentielles



I.1. Historique

L'huile essentielle (HE) est connue pour ses effets bénéfiques sur les humains depuis des milliers d'années. Les égyptiens utilisaient déjà les huiles comme parfum dans les momifications des corps. Il faudra attendre le XVI^{ème} siècle pour voir apparaître la généralisation de la production et de l'utilisation des HEs, grâce aux travaux sur les HEs de romarin, de bois de genièvre, de lavande (**Chouitah, 2012**). Selon **Ntezurubanza (2000)**, l'histoire de l'aromathérapie, qui est celle des HEs, peut se résumer en quatre époques : l'époque au cours de laquelle étaient utilisées des plantes aromatiques telles que les fleurs ou sous forme d'infusion ou de décoctions. Celle dans laquelle les plantes aromatiques étaient brûlées ou mises à infuser ou à macérer dans une huile végétale. A cette époque, intervient la notion d'activité liée à la substance odorante. La troisième correspond à la recherche de l'extraction de cette substance odorante. Apparaît alors le concept d'huile essentielle qui aboutit à la création et au développement de la distillation. Enfin, la dernière qui est la période moderne dans laquelle la connaissance des composants des HEs intervient et explique les effets physiques, chimiques, biochimiques, physiologiques, voire électroniques des arômes végétaux. Enfin, la valeur médicinale des plantes est de plus en plus prouvée scientifiquement, c'est ce qui constitue d'ailleurs un argument de taille pour leur usage en médecine.

I.2. Définition

Selon la pharmacopée, les HEs sont le produit de compositions complexes contenant des composants volatils contenus dans les plantes (**Florence, 2012**). Selon **AFNOR (1998)** : « Produits obtenus à partir de matières premières végétales par distillation à la vapeur ou distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par un procédé physique qui n'entraîne pas de modification significative de sa composition...» (**Duval, 2012**). Les HEs sont des liquides huileux volatils, aromatiques, concentrés et hydrophobes dérivés de diverses parties de plantes telles que les fleurs, les bourgeons, les graines, les feuilles, les branches, l'écorce, le bois, les fruits et les racines. Les HEs sont généralement des terpénoïdes responsables de l'arôme et de la saveur associés aux herbes, aux épices et aux parfums, également connus sous le nom d'huiles volatiles, car ils sont facilement en suspension dans l'air (**Sumonrat et al., 2008**).

I.3. Emplacement et stockage dans les plantes

Les HEs n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Il y aurait, selon Lawrence 17500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les HEs sont repartis dans un nombre limité de familles : Myrtacées, lauracées, rutacées, lamiacées, astéracées, opiacée, cupressacées, zingibéracées, pipéracées ...etc. Les HEs peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : des fleurs, des feuilles, des écorces, des bois, des racines, et des rhizomes. Dans le cas le plus simple, les HEs se forment dans le cytosol des cellules où, soit elles se rassemblent en gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles, soit elles s'accumulent dans les vacuoles des cellules épidermiques ou des cellules du mésophile de nombreux pétales (**Gerhard *et al.*, 1993**). D'autres structures histologiques spécialisées souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante sont impliquées dans l'accumulation des huiles volatiles. Ces structures regroupent les poils et canaux secteurs et les poches sécrétrices (**Bruneton, 1999**).

I.4. Propriétés physiques

- A température ambiante, les HEs sont liquides.
- Volatiles, odorant.
- Sont lipophiles et donc très peu solubles dans l'eau en général, solubles dans l'alcool et solvant organique.
- La plupart des HEs ont une couleur jaune presque imperceptible.
- La densité est le plus souvent inférieure à 1.
- L'indice de réfraction est généralement élevé (**Deschepper, 2017**).

I.5. Composition chimique

Les HE sont des mélanges complexes et variés de composants qui se répartissent entièrement en deux groupes aux caractéristiques distinctes d'origine biologique : terpènes volatils et composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Bruneton, 1999**).

La composition chimique des essences est complexe et peut varier selon l'organe, les facteurs climatiques, la nature du sol, les pratiques culturales et le mode d'extraction (Ouis, 2015).

I.5.1. Les composés terpéniques

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal, sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques. Ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute $(C_5H_8)_n$.

Ces unités peuvent se lier entre elles par des liaisons dites irrégulières de type artémésyl, santolinyl, lavandulyl et chrysanthémyle (Zaibet, 2018).

I.5.2. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents dans les HEs que les monoterpènes et sesquiterpènes. Citons l'acide cinnamique et l'aldéhyde cinnamique (HE de cannelle), l'eugénol (HE de girofle), l'anéthol et l'aldéhyde ainsi que (HE de badiane, d'anis, de fenouil), ainsi que le safrole (HE de sassafras). Les lactones dérivées des acides cinnamiques, comme les coumarines, sont pour la plupart, entraînaient par la vapeur d'eau et ainsi présentes dans certaines HEs (HE de céleri) (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).

I.6. Domaines d'utilisation des HEs

✚ Dans les industries agro-alimentation

Aux propriétés antiseptiques et aromatisants, les HEs sont utilisées quotidiennement dans les préparations culinaires (ail, laurier, thym...etc.). Ils sont également appréciés dans les liqueurs (boissons anisées, kummel) et les confiseries (bonbons, chocolats...etc.). Leur pouvoir antioxydant leur permet de conserver les aliments en évitant les moisissures, conservation du smen par exemple par le thym et le romarin (Ouis, 2015).

✚ Utilisation pharmacologique

L'homme utilise les HEs et plus généralement les plantes aromatiques pour se soigner depuis des milliers d'années. Aujourd'hui, les médecines dites naturelles rencontrent de plus en plus de succès auprès du public. L'industrie pharmaceutique utilise également

les HEs sous de nombreuses formes (complexes en spray, pastilles, gélules, dentifrices...etc.) (Garneau, 2005).

Les HEs peuvent également être de simples excipients dans d'autres médicaments et servir par exemple d'arôme pour masquer le goût d'un principe actif. Plus de 40% de médicaments sont à base de composants actifs de plantes (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012).

✚ En cosmétologie et parfumerie

Les utilisations des substances odorantes des plantes sont connues depuis l'antiquité. Des textes akkadiens datant de plus de quatre mille ans nous apprennent qu'à Babylone, on brûlait du cyprès pour enrayer les épidémies. Les premiers textes relatant l'utilisation d'huiles fines et de parfums sont des papyrus hiéroglyphes égyptiens datant de plus de 2800 ans. Les civilisations chinoises et indiennes employaient également les huiles essentielles pour les soins thérapeutiques et cosmétiques (Duraffourd et Lapraz, 2002).

I.7. Méthodes d'extractions

L'énorme diversité des propriétés physico-chimiques de ces composés permet d'utiliser une variété de techniques d'extraction. Ils seront sélectionnés en fonction de la composition chimique de l'huile essentielle ou de l'organe végétal à extraire (Koudou, 2009). Les principales méthodes d'extraction couramment utilisées sont :

I.7.1. Extraction par hydro distillation

Le moyen le plus simple d'extraire les HEs est l'hydrodistillation. Le principe est de plonger le matériel végétal dans un bain-marie puis de porter le tout à ébullition (Mnayer, 2014). Les vapeurs des composants libèrent de la vapeur d'eau et de l'essence égale à la pression de vapeur de la substance pure (Figure 01). Cette méthode est simple dans son principe et peu coûteuse en matériel (Lucchesi, 2005).

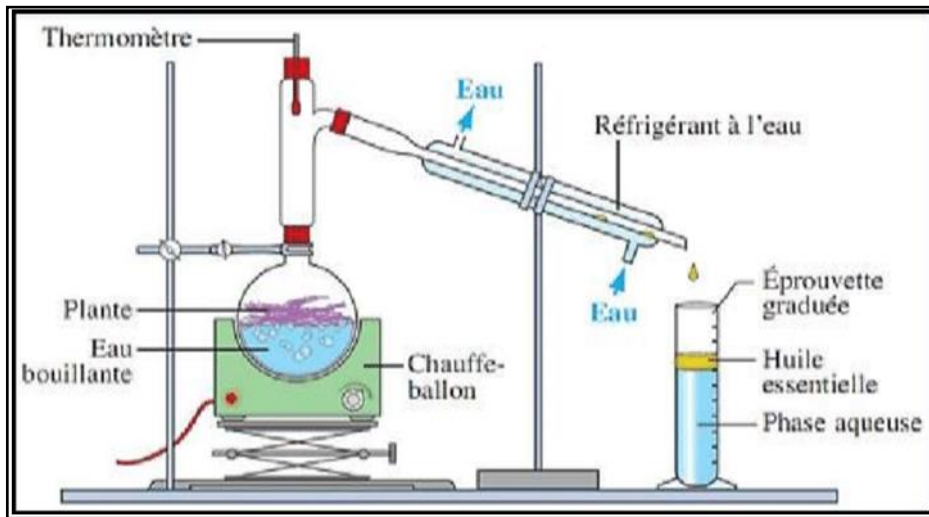


Figure 01 : Montage d'hydro distillation (Bilal, 2016).

I.7.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce type de distillation, les plantes sont traversées par un courant de vapeur d'eau (Figure 02), qui entraîne les volatils hydrophobes. Après condensation, la séparation a été réalisée par décantation. Cette méthode améliore la qualité d'HE en minimisant les changements d'hydrolyse (Ouis, 2015).

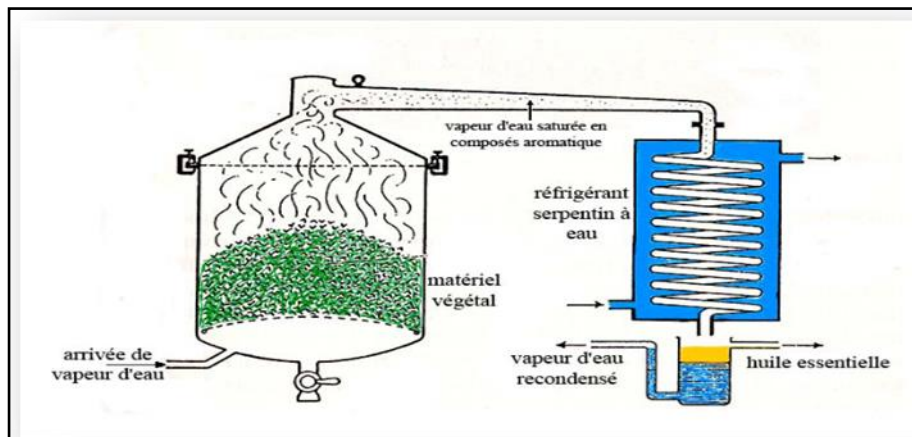


Figure 02 : Entraînement à la vapeur d'eau (El Haib, 2011).

I.7.3. Extraction à froid

Le pressage à froid est couramment utilisé pour extraire les HEs des agrumes tels que les citrons, les oranges et les mandarines (Figure 03). Son principe est de détruire mécaniquement le sac d'essence. Les HEs sont séparées par décantation ou centrifugation. D'autres machines cassent les poches par dépression et recueillent

directement les HES, évitant ainsi la dégradation liée à l'action de l'eau (**Chouitah, 2012**).



Figure 03 : Technique d'extraction à froid (**Farhat, 2010**).

I.7.4. Extraction par solvants organiques

La technique d'extraction par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Le produit ainsi obtenu est appelé « concrète ». Cette dernière pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales (**Figure04**). Après une dernière concentration, on obtient une « Absolue ». Les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation. L'intervention de solvants organiques qui peut entraîner des risques d'artéfacts et des possibilités de contamination de l'échantillon par des impuretés parfois difficiles à éliminer. L'extraction par solvant organique volatil reste très pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone (**Boukhatem et al., 2019**).

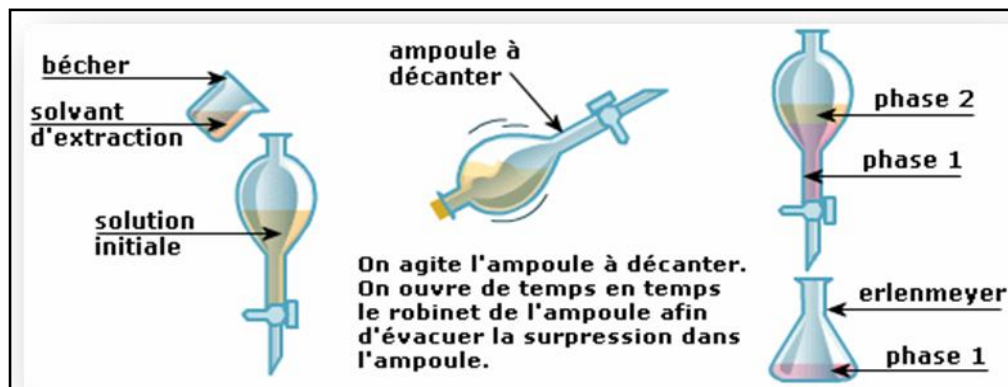


Figure 04 : Technique d'extraction par solvant (**Site 01**).

I.7.5. Extraction au CO₂ supercritique

L'originalité de cette technique d'extraction réside dans le type de solvant employé : le CO₂ supercritique (**Figure 05**). Au-delà du point critique ($P = 73,8$ bars et $T = 31,1$ °C), le CO₂ possède des propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz. Ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction qui est plus facilement modulable en jouant sur les conditions de température et de pression. Le CO₂ supercritique est un solvant idéal puisqu'il est naturel, inerte chimiquement, ininflammable, non toxique, sélectif, aisément disponible, peu coûteux et s'élimine facilement de l'extrait. Cette technique présente, ainsi, énormément d'avantages (**Piochon, 2008**).

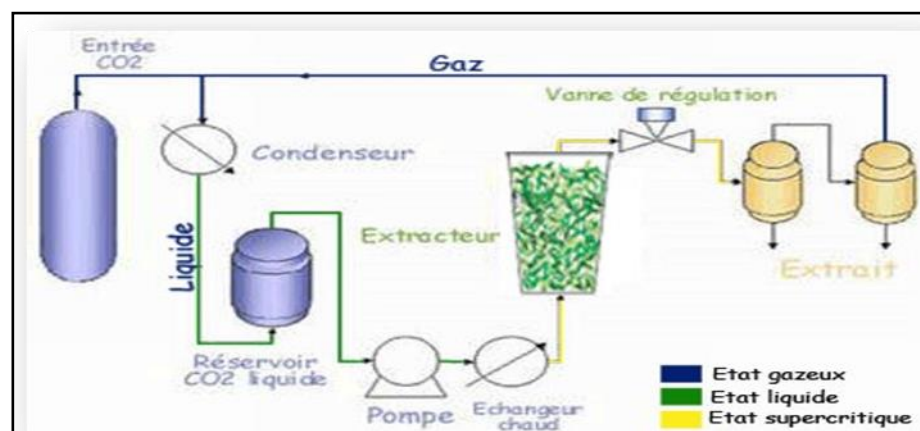


Figure 05 : Extraction au CO₂ supercritique (**Site 02**).

I.8. Toxicité des HEs

Bien que d'origine naturelle, les HEs peuvent être nocives pour la santé. Par conséquent, il est important de comprendre le produit, de le sélectionner selon des critères d'éligibilité stricts (les produits de bonne qualité ne sont pas falsifiés, non contaminés par des pesticides), de respecter scrupuleusement la posologie et de choisir le mode d'administration approprié pour éviter les effets secondaires, voire les interactions avec d'autres médicaments (**Lakhdar, 2015**). L'apport répété amène à l'accumulation d'essence dans le corps, qui peut provoquer des nausées et des maux de tête. L'ingestion de plus de 10mL d'HEs peut inhiber l'apport d'oxygène aux tissus cérébraux, entraînant une neurotoxicité et l'épilepsie (**Ouidir, 2018**).

I.9. Action des HEs

Selon **Roulier (2005)**, les arômes végétaux agissent sur notre organisme de plusieurs manières:

- Directement sur notre épiderme en favorisant, par activation de la microcirculation, la nutrition des tissus, la régénérescence cellulaire et l'élimination des déchets et toxines du métabolisme.
- Sur notre équilibre acido-basique.
- Sur notre équilibre nerveux, plusieurs familles de molécules aromatiques exercent un effet relaxant qui permet de diminuer les effets du stress.
- Sur notre énergie générale, action relaxante, action acidifiante.
- Au plus profond de notre inconscient, sur notre équilibre émotionnel, par l'odorat et par le cerveau limbique, la perception varie selon notre terrain biologique et culturel.
- Cet effet sur les parties les plus intimes de notre cerveau constitue la clé de l'étonnant pouvoir qu'exercent sur nous les molécules odoriférantes des HEs.

I.10. Falsification des HEs

La falsification consiste à altérer, dénaturer, modifier volontairement en vue de tromper. Les HEs sont souvent falsifiées par de l'alcool, des huiles fixes, des HEs de moindre valeur, par certains esters de synthèse et de la gélatine (**Valnet, 1984**). Cependant, leur efficacité laisse beaucoup à désirer et malheureusement l'on fait porter la responsabilité de cet échec à l'essence par elle-même et l'on dévalorise de la sorte l'aromathérapie (**Padrini et Lucheron, 1996**).

Chapitre 2

Le Girofle et la Menthe verte



II.1. Introduction

Les plantes ont de tout temps été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutiques. Le pouvoir de guérison des plantes provient des effets de leurs métabolites secondaires (Cowan, 1999).

Les plantes médicinales sont des plantes qui contiennent une ou plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs pour la synthèse de médicaments utiles. Le groupe consultatif de l'OMS qui a élaboré la définition a également confirmé qu'une telle description distingue les plantes médicinales dont les propriétés thérapeutiques et les composants ont été scientifiquement établis de ceux considérés comme médicinaux. Les plantes médicinales sont associées ou agrégées sur des plantes spontanées dites « sauvages » ainsi que sur des plantes cultivées (Bezanger *et al.*, 1975).

II.2. La menthe verte

II.2.1. Définition

Mentha spicata L. est une plante vivace, herbacée et aromatique, robuste, de moins d'un mètre de hauteur. D'une odeur agréable, forte et très caractéristique et d'un goût plus sucré que les autres menthes sauvages (Teusher, 2005). C'est une herbe à rhizomes traçants servant à la propagation de la plante, ses tiges sont quadrangulaires droites, rameuses, glabres, de couleur pourpre (Bensabah *et al.*, 2013), portant des feuilles opposées persistantes, sub-sessiles, ovales lancéolées ou oblongues-lancéolées de 3 à 5 cm de long et de 1 à 2 cm de large. Elles sont fortement dentées en scie, sans poils et habituellement de couleur verte sombre sur les deux faces (Grosjean, 1990 ; Ait-Ouahioune, 2005).

II.2.2. Histoire

Il y a tellement d'espèces dans le genre menthe que les hybridations successives conduisent à une certaine confusion dans leur identification. Par conséquent, il est impossible de nommer les espèces de menthe mentionnées dans les temps anciens. Cette plante est connue depuis longtemps des égyptiens. Des fragments de plantes séchées ont été retrouvés dans des sépultures des XIII^{ème} et XVII^{ème} siècles av. J.C. Elle est utilisée pour traiter les rhumes ou certains troubles digestifs. Le mot menthe apparaît dans la littérature française en 1275. Au XVI^{ème} siècle, les menthes étaient encore

utilisées à des fins diverses, ce qui en faisait un véritable agent de guérison, alors qu'elles ont ensuite progressivement atteint un rôle secondaire, ce qu'elles sont aujourd'hui. Actuellement, la menthe verte est principalement utilisée comme épice, en particulier comme condiment dans les plats salés, au Royaume-Uni, aux États-Unis, au Moyen et au Proche-Orient, dans les Balkans, en France et en Inde (**Carlier, 2015**).

II.2.3. Origine

Les origines de la menthe sont encore bien imprécises, la zone géographique de départ étant un des rares faits où les auteurs se retrouvent : elle viendrait d'une vaste région englobant le Nord de l'Afrique, le bassin méditerranéen, l'Europe et le Proche-Orient. Elle fut introduite en Grande-Bretagne par les Romains. Elle s'est ensuite diffusée sur l'ensemble du globe, jusqu'en Amérique du Nord, au Japon et en Australie. Elle pousse naturellement au Maroc (**Carlier, 2015**).



Figure 06 : La Menthe verte (**Site 3**).

II.2.4. Classification botanique

Plusieurs propositions de positions systématique existent dans le monde, nous en présentons à titre d'exemple celle de (**Buchmann, 2007**) ci-dessous :

- Domaine : Eukaryota.
- Sous-domaine : Bikonta
- Règne : Plantae
- Sous règne : Viridaeplantae
- Embranchement : Spermatophyta
- Sous embranchement : Anthophytina
- Classe : Magnoliopsida

- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae
- Genre : *Mentha*
- Espèce : *Mentha spicata* L.

II.2.5. Utilisations

La menthe occupe une place privilégiée dans la phytothérapie. Elle est cultivée et utilisée depuis l'antiquité pour ses propriétés médicinales (**Laghouiter et al., 2015**). Elle est réputée pour être hépato stimulante, vasoconstrictrice, tonique, analgésique, calmante, cholagogue, cholérétique, cicatrisante, expectorante, anti-inflammatoire, stomachique, antispasmodique et fébrifuge (**Fortin et al., 1996 ; Douay, 2008 ; Dhifi et al., 2013 ; Aye kee et al., 2017**). La menthe verte est utilisée pour soigner de nombreux troubles dont voici quelques-uns des plus courants : affection dermatologues, colites, troubles fonctionnels digestifs d'origine hépatique, nez bouché, affections de la bouche et de l'oropharynx (**Douay, 2008**), affections similaires aux bronchites, troubles urinaires, toux, rhume, maux de tête et d'estomac ainsi que, douleurs biliaires et douleurs liées aux piqûres d'insectes et d'animaux (**Beloued, 2001 ; Kothe, 2007**).

En industrie, la plante est utilisée dans la production des pâtes de dentifrice (**Aye kee et al., 2017**), des sirops, des confiseries et pour parfumer les produits d'hygiène buccale (**Teuscher et al., 2005**), elle est aussi présente dans plusieurs produits cosmétiques, comme les crèmes, les shampoings, les lotions et les savons (**Beloued, 2001**). En cuisine, elle est employée comme épice, en effet, ses feuilles fraîches accompagnent les viandes, les poissons, les salades, et rentrent aussi dans la préparation des sauces (**Teuscher et al., 2005**), et elle sert généralement à la préparation du thé (**Aye kee et al., 2017**). L'HE extraite à partir des feuilles de menthe a une grande valeur économique, elle est très utilisée grâce à ses propriétés antimicrobiennes dans l'industrie alimentaire, la cosmétique et même à dans l'industrie pharmaceutique. Sa saveur aromatique est à l'origine des propriétés apéritives et digestives (**Teuscher et al., 2005 ; Lawrence, 2006**).

II.2.6. Propriétés physiques et composition chimique

II.2.6.1. Propriétés physiques

- Densité : 0,917 à 0,937.
- Indice de réfraction : 1,484 à 1,491.
- Angle de rotation optique : -60° à -47°.

- Solubilité : elle est soluble à 20°C dans une partie d'alcool à 80°C. La solution devient opalescente par dilution avec de l'alcool à 80°C (**Carlier, 2015**).

II.2.6.2. Composition chimique

Les principaux composants de l'HE de *Mentha spicata L* sont :

- Les cétones à base de carvone, suivies de la menthone et de la dihydrocarvone,
- Des hydrocarbures à base de limonène, suivis du bêta-myrcène et de l'alpha et du bêta-pinène.
- On retrouve plus de minorités dans la plupart des HEs :
 - les éthers contenant du 1,8-cinéole
 - les alcools et leurs esters contenant du menthol et de l'acétate de menthyle (**Carlier, 2015**).

II.2.7. Toxicité

Les principales molécules retrouvées comme responsables de phénomènes allergiques ne sont pas retrouvées dans *Mentha spicata L*. On a remarqué que les HEs qui ont une action sur les réactions prurigineuses allergiques sont susceptibles, après un usage prolongé, de déclencher des réactions allergiques chez un sujet hypersensible, dû au menthol que l'on trouve également dans *Mentha spicata L*. Le menthol est considéré comme allergène. Les cétones sont les molécules les plus difficiles à manipuler, en raison de leur neurotoxicité comme on l'a vu précédemment (**Franchomme, 2001**).

II.3. Clou de girofle

II.3.1. Définition

Le clou de girofle est une épice très appréciée pour ses qualités alimentaires. Il en est extrait une HE connue surtout en médecine dentaire. Il s'agit d'une HE renfermant en grande majorité de l'eugénol, un phénol considéré comme doux mais anti-infectieux puissant et à large spectre (**Lobstein, 2017**).

II.3.2. Histoire et Origine

Le clou girofle était très bien connu des Chinois, et cela bien avant l'ère chrétienne, mais le giroflier n'était pas indigène à la Chine pour autant (**Botnieau, 2010**). Il apparut en Europe vers le IV^{ème} siècle, lorsque l'empereur Constantin, alors nouveau chrétien, offrit au pape Sylvestre des richesses d'or, d'argent, d'encens et d'épices parmi lesquelles plus de 50 kg de clous de girofle (**Vermeulen et Johnston, 2011**). Il a également été rapporté qu'une petite boîte d'or contenant deux clous de girofle a été

retrouvée dans une sépulture alsacienne datant du VI^{ème} siècle. Ce qui donne une idée de la valeur accordée à cette plante (**Jeanguyot et Segurier, 2004**). Il était d'usage de penser que les clous de girofle provenaient de Java, jusqu'à ce que les portugais découvrent l'arbre producteur dans son pays d'origine : les îles Moluques. En effet, autrefois, les Arabes fournissaient l'Europe en épices, par l'intermédiaire de grands ports comme Venise. Au cours du XII^{ème} siècle, les clous de girofle étaient d'usage à Rome et en France, mais toujours considérés comme un produit de luxe (**Bois, 1999**). C'est à partir du XIII^{ème} siècle que commença une véritable course aux épices. En effet, Marco Polo éleva Venise au rang du plus important port commercial. Les prix étaient tellement élevés que les autres pays européens ont contourné Venise et trouvé de nouveaux itinéraires pour ramener les épices. Au Portugal, Vasco de Gama passa par le cap de Bonne Espérance et réussit à atteindre l'océan Indien. Tout au long du XVI^{ème} siècle, les Portugais détenaient le monopole du clou de girofle (**Jeanguyot et Segurier, 2004**). Celui-ci passa aux mains des hollandais en 1605. Suite à une chute des prix, les Hollandais brûlèrent les girofliers en vue de concentrer les plantations dans un petit groupe d'îles et notamment à Amboine, pour empêcher leurs rivaux d'acheter les graines et de cultiver leurs propres arbres. Il était alors interdit d'en exporter les graines ou les plantules sous peine de mort. Les indigènes se révoltèrent dans une bataille sanglante car, dans les îles Moluques, un giroflier était planté à chaque naissance (**Gurib; 2008**). Les indigènes pensaient que le destin de l'arbre était lié au destin de l'enfant. Quelques années plus tard, Pierre Poivre fit entrer clandestinement le giroflier aux Moluques en 1769. Sur les cinq girofliers introduits à Bourbon, quatre moururent, et le survivant est l'ancêtre de tous les girofliers de l'île aujourd'hui (**Botnieau., 2010**). C'est ainsi que le giroflier fut introduit par la suite, Zanzibar deviendra l'un des centres de production les plus importants (fin 18^{ème} siècle), puis viendront Madagascar et l'Indonésie (**Bois, 1999 ; Jeanguyot et Segurier, 2004 ; Gurib, 2008**). Si les épices étaient très onéreuses, les cultivateurs locaux étaient exploités. Mais ces prix élevés étaient perçus comme un dédommagement en contre partie des capitaux engagés, des vies sacrifiées, des longs et périlleux voyages en mer, et de l'insécurité des pays d'outre-mer (**Ranoarisoa, 2012**). De nos jours, les clous de girofle sont disponibles dans toutes les grandes surfaces, à des prix accessibles, après avoir bouleversé des civilisations entières et coûté la vie à de nombreux hommes (**Barbelet, 2015**).



Figure 07: Clous de girofle (Site 4).

II.3.3. Classification botanique

- Classe : Angiosperme.
- Sous- classe : Tiporées.
- Clade : Rosidées.
- Ordre : Myrtales.
- Famille : Myrtaceae.
- Sous famille : Myrtoideae.
- Genre : Syzygium.
- Espèce : Syzygium aromaticum.

Comme beaucoup d'espèces, le giroflier a porté plusieurs noms scientifiques avant d'être nommé *Syzygium aromaticum* (Barbelet, 2015):

- *Caryophyllus aromaticus* L. (1753)
- *Eugenia caryophyllata* Thunb. (1788)
- *Eugenia caryophyllus* Spreng. (1825)
- *Eugenia aromatica* (L.) Baill. (1876)
- *Jambosa caryophyllus* (Thunb.) Nied. (1893)
- *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry, (1939).

II.3.4. Principales utilisations

Dans le domaine dentisterie : Aphtes très douloureux, abcès dentaires, rage de dents, utilisé comme pansements et ciments dentaires temporaires, utilisé comme ingrédient dans les dentifrices, les solutions d'hygiène bucco-dentaire et les cosmétiques (Hmiri, 2011).

Dans le domaine de l'alimentation : conservation des aliments et assaisonnement (**Valent, 1984**).

Dans le domaine médical : Troubles digestifs, aérophagie, crampes d'estomac, antiseptique puissant, onychomycose, asthénie physique, aide à l'accouchement, antispasmodique, le traitement de nombreux cancers et utilisées dans le traitement des maladies dermatologiques (**Nesrine et al., 2021**), en parfumerie et en aromathérapie (**Barbelet, 2015**).

II.3.5. Composition chimique

L'HE de clou de girofle de qualité pharmaceutique doit contenir en moyenne : 75 à 88 % d'eugénol ; 4 à 15 % d'acéteugénol ; 5 à 14 % de bêta-caryophyllène sous le nom "Clove Essence", les différentes qualités d'HEs dépendent de son extraction:

- La fleur ouverte du lilas correspond à l'essence médicinale du lilas, et contient moins d'eugénol ;
- La patte ou pédicelle du lilas, qui produit une HE contenant seulement 4 à 8 % d'eugénol ;
- Les feuilles de girofle, donnant de l'HE avec des rendements de distillation très faibles (2 à 3%).

Ces différentes qualités peuvent convenir à un usage culinaire ou en parfumerie, mais pas à un usage médical thérapeutique (**Lobstein, 2017**).

II.3.6. Toxicité

Les HEs issues du giroflier peuvent contenir du méthyleugénol ou l'un de ces métabolites. Il s'agit d'une substance classée comme génotoxique. En effet, l'eugénol est métabolisé en quinone méthide qui est lui toxique pour l'organisme. Bien que l'eugénol ne soit pas le plus toxique des phénols, les HEs de girofliers sont des HEs potentiellement hépatotoxiques (**Brown et al., 1992**).

II.4. Le mélange des HEs

Le mélange des HEs doit respecter le principe de « synergie ». Il n'est pas possible, en effet, pour respecter l'indication thérapeutique, de mélanger n'importe quelles HE. Ces mélanges d'HE peuvent représenter deux types de « synergie » :

- Simple, associant seulement deux HEs, par exemple : pour les maladies respiratoires, pour un effet relaxant, contre les rhumatismes, contre l'anxiété.

- Complexe, associant plusieurs HEs, par exemple: effet circulatoire, effet tonique sur le système nerveux (**Lardry, 2007**).

Chapitre 3

Les activités biologiques



III.1. Généralités

Autrefois, les gens soignaient leurs maux au moyen des plantes, grâce à leurs HEs, sur des bases empiriques, et traditionnelles. Actuellement, l'utilisation de ces HEs se fait sur des bases rationnelles, scientifiquement. Une HE peut renfermer différents composés biochimiques, ce qui leur confère plusieurs activités biologiques (Mayer, 2012), avec des effets synergiques des composants (Lahlou, 2004 ; Pibiri, 2006). Les HEs sont utilisées en phytothérapie, contre les maladies infectieuses grâce à leurs propriétés antiseptiques et antibactériennes (Pellecuer *et al.*, 1980). Certaines HEs possèdent, par ailleurs, des propriétés anti tumorales, utilisées, par conséquent contre les cancers (1996). D'autres utilisations des HEs sont envisagées dans d'autres domaines, tels que les phytosanitaires, activité insecticide, fongicide et bactéricides et agroalimentaire; dans ce cas les HEs ont des propriétés antioxydantes des aliments (Deferara *et al.*, 2003 ; Kalamoni, 2010).

III.2. Activités des HEs

III.2.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des HEs a été découverte en 1889 par Delacroix (Bayle, 1995), par la suite de nombreux HEs ont mis en évidence leurs pouvoirs antibactériens y compris celles résistantes aux antibiotiques, réalisées par d'autres chercheurs (Burt, 2004). Nous devons noter que les activités antibactériennes des HEs varient selon les espèces, et des caractéristiques des composants actifs de ces derniers (phénols, alcools, terpènes, etc.) et leur effets synergiques (Bouhdid, 2006) ; cela dépend également de leurs propriétés hydrophobes, leur permettant de pénétrer dans la membrane des bactéries (Cox *et al.*, 2000).

III.2.2. Activité antioxydante

Les HEs sont composés par un grand nombre des composants présentent une activité antioxydant très important. On cite: l'eugénol, carvacol, thymol, ... etc. (Bruts et Bucar, 2000 ; Canda *et al.*, 2003 ; Tepe *et al.*, 2005). En effet, pour juger l'effet antioxydant global d'un extrait soit d'une source végétale ou alimentaire nous avons utilisé des tests différents et complémentaires pour évaluer plus ou moins précisément sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester (Cao et Prior, 1998).

Les résultats déjà publiés montrent que l'activité antioxydante réalisée par des tests présenter par excellence par la méthode de radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), cette méthode a été décrite pour la première fois par (Blois, 1958).

III.2.3. Autres activités

III.2.3.1. Activité antifongique

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les HEs jouent un rôle très important comme un agent de protection contre les champignons phytopathogènes et les micro-organismes envahissant la denrée alimentaire (Lis-Balchin, 2002). La menthe est l'un des espèces appartient à la famille des Labiatae qui porte les propriétés antifongiques existent dans leurs compositions des HEs avec autre espèces comme: Lavande, Thym, Origan, ...etc. Etant donnée la grande complexibilité de la contenue chémotypique des HEs, ainsi, l'activité fongistatique des leurs composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (Voukou *et al.*, 1988), ils concluent les phénols (eugénol, chavicol 4-allyle-2-6diméthoxyphénol), et d'autre fonction, aldéhyde, et des groupements méthoxy. Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique.

III.2.3.2. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est un processus physiologique de défense et d'adaptation de l'organisme contre toute agression qui entraîne une altération tissulaire. Elle peut être déclenchée par un traumatisme, une irradiation ou par la pénétration d'agent pathogènes extérieures (virus, bactérie, antigènes, ...etc.). Dans certains cas d'inflammation, il faut utiliser pour l'alimentation des aliments qui possèdent une grande activité biologique favorise la production des cytokines anti-inflammatoire telles que Il-4, Il-10, ... etc. ; existant dans la composition chimique des HEs attirent car ils sont riches en composés à activité anti-inflammatoire (Gunavardena *et al.*, 2014 ; Muszynska *et al.*, 2018).

III.2.3.3. Activité anticancéreuse

Les HEs des plantes médicinales qui possèdent des propriétés bénéfiques sur la santé humaine dont entre autre l'activité anti tumorales (Pedneault, 2007 ; Diallo *et al.*, 2018). Ces HEs contiennent des composés qui inhibent la prolifération et induisent l'apoptose des cellules cancéreuses du colon chez les humains (Ballan *et al.*, 2007).

Etude expérimentale

Chapitre 1

Matériel et méthodes



I.1. Objectifs

- Réaliser l'extraction des HEs par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger pendant une durée de trois heures, après la séparation de la phase aqueuse, Elles sont conservées dans des flacons en verre à l'abri de la lumière.
- Calculer le rendement de l'HE du mélange de *Syzygium aromaticum* et *Mentha Spicata L.*
- Evaluer des activités antibactérienne et antioxydante du mélange des HEs.

I.2. Présentation du lieu de l'étude expérimentale

L'étude expérimentale a été effectuée au sein des laboratoires pédagogiques de l'Université Abbés Laghrour - Khenchela. Pendant le mois d'Avril 2022.

I.3. Matériel et méthodes expérimentales

I.3.1. Matériel végétal

Les échantillons végétaux extraits correspondent aux parties aériennes de *Mentha spicata L.* et de *Syzygium aromaticum L.*

I.3.2. Les souches bactériennes

Les souches microbiennes utilisées dans la présente étude étaient quatre bactériens; on a choisi trois de gram négatif: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et une de gram positif *Staphylococcus aureus*.

I.3.3. Réactifs chimiques et instrumentations

L'ensemble du matériel et d'appareillage et les réactifs chimiques utilisés au cours de ce travail :

➤ Les réactifs chimiques

- Le réactif chimique DPPH.
- Méthanol.
- L'eau physiologie.
- Gélose de Mueller-Hinton.
- Le réactif chimique DMSO.

➤ Matériel et appareillage

- Clevenger.
- Spectrophotométrie.
- Micropipette.
- Balance analytique.
- Agitateur.
- Vortex.

- Les flacons.
- Les tubes à essai.
- Portoirs.
- Une pipette de 10ml.
- Les boîtes de Pétri.
- Bain marie.
- Ecouvillons.
- Erlenmeyer.

I.4. Méthodes expérimentales

I.4.1. L'extraction des HEs

L'HE a été extraite des parties aériennes séchées de *Mentha spicata L.* et *Syzygium aromaticum L.* par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger (**Figure08**). L'extraction a été réalisée pendant 3 h pour un mélange de 200 g de plantes dans 2000mL d'eau distillée (**Bardaweel et al., 2018**).

Sur un ballon contenant de l'eau mis en chauffe, on monte un ballon dans lequel on place la biomasse pesée. La biomasse végétale immergée dans l'eau, l'ensemble est porté ensuite à l'ébullition, ce qui entraîne la formation d'une vapeur qui va entraîner les constituants volatils vers le condenseur. La vapeur condensée est le mélange d'eau et de l'HE. L'huile est séparée de l'eau par décantation (**Taleb, 2015**).



Figure 08 : Le Clevenger utilisé dans l'extraction des HEs.

I.4.1.1. Chauffage

L'opération a consisté à introduire 300g de masse végétale dans un ballon Bicol de 5000 ml en verre, à laquelle on a ajouté une quantité suffisante d'eau distillée environ 3000 ml sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements lors de l'ébullition (**Figure 09**).

Après la fermeture du montage et mise en marche de chauffe ballon, nous réglons la température à 100°C. Cette opération d'extraction dure trois heures à partir du début d'ébullition.

Il est en général formé de 2 liquides non miscibles encore appelés phase, la phase aqueuse, la plus abondante, est constituée d'eau dans laquelle sont dissoute très peu d'espèces odorantes, la phase organique représentée essentiellement par l'HE qui est constituée des espèces odorantes.

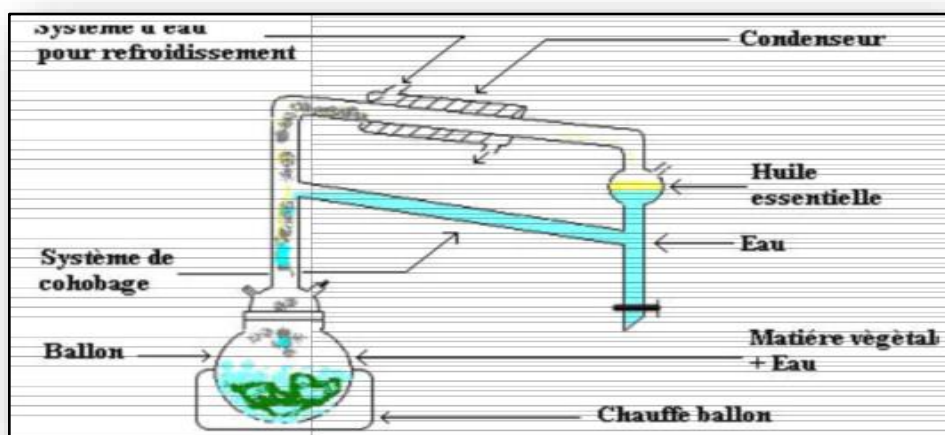


Figure 09 : Schéma d'un montage d'hydrodistillation.

La phase aqueuse est recueillie en premier dans un bêcher, pour pouvoir ensuite récupérer l'huile dans un autre bêcher.

I.4.1.2. Conservation des extraits

Après leurs séparations, les HEs sont conservées à 4°C dans des flacons en verre emballés avec du papier aluminium jusqu'au moment de l'utilisation (**Figure 10**).



Figure 10 : Conservation de l'extrait.

I.5. Calcul du rendement en HE

Le rendement de l'HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue et la masse du matériel végétal traité (AFNOR, 1986). Le rendement est exprimé en pourcentage:

$$R (\%) = M_{HE} / M_S \times 100$$

R: Rendement de l'HE en %.

M_{HE}: Quantité d'extraits récupérée en g.

M_s: Quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

I.6. Evaluation de l'activité antimicrobienne du mélange des HEs

Les tests de l'activité antibactérienne sont réalisés au niveau du laboratoire de la biologie d'Abbes Laghrour – Khenchela.

I.7. Choix des souches

Tableau 1: Liste des bactéries testées.

Souches testés	Gram
<i>Escherichia coli</i>	G-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	G-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	G-
<i>Staphylococcus aureus</i>	G+

I.8. Milieu de culture

Une gélose Muller – Hinton a été utilisée pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens (**Figure 11**).



Figure 11 : Milieu de culture.

I.9. Stérilisation des matériels

L'eau physiologie, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 30 minutes.

I.10. Les étapes de l'activité antibactérienne

I.10.1. Le ré-isolement des souches bactériennes

A l'aide d'une pipette pasteur ou anse de platine on prend une colonie, et on le met dans les boîtes de pétri (Flamber, avant et après manipulations, les anses utilisées pour les prélèvements) (**Figure 12**).

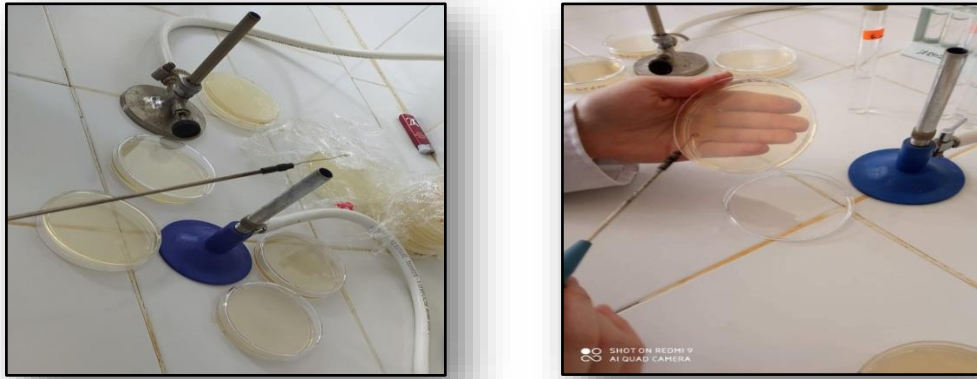


Figure 12 : La stérilisation de la spatule et le repiquage des souches bactériennes.

I.10.2. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture jeune, en prélevant 3 à 5 colonies pures bien isolées de chaque espèce étudiée qui sont diluées dans 5ml d'eau physiologique stérile. L'enrichissement dure pendant 2 à 3 heures.

I.10.3. Ensemencement

Les bactéries sont collectées à l'aide d'un écouvillon stérile (**Figure13**) prélevé sur le tube et on le met dans les boîtes de pétri contenant de l'agar Mueller-Hinton.

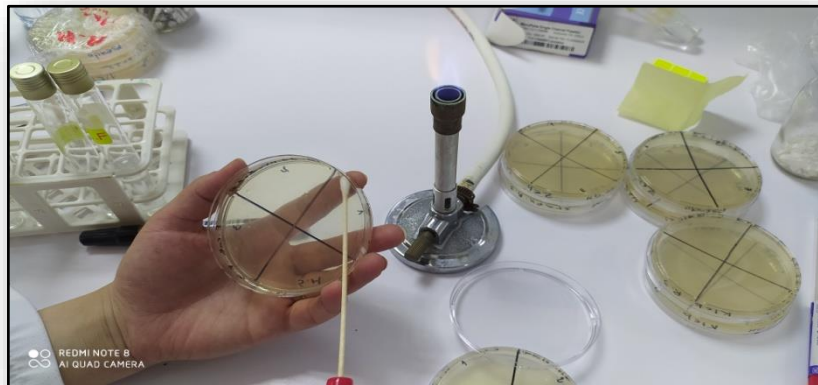


Figure 13 : Ensemencement à l'aide d'un écouvillon stérile.

I.10.4. Méthode de l'aromatogramme

L'activité antibactérienne est évaluée par la méthode d'aromatogramme qui permet de déterminer la sensibilité des différentes espèces bactériennes vis à vis de l'HE donnée. La méthode de l'aromatogramme consiste à utiliser des boîtes de Pétri contenant un

milieu gélosé convenable, déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée. Des disques en papier Wattman de 6mm de diamètre, préalablement imprégnés de quantités connues d'HE (10 μ l), sont alors placés en surface de la gélose (**Figure 14**). Généralement, les micro-organismes seront classés susceptibles, intermédiaires ou résistants, selon le diamètre de la zone d'inhibition (**Bouguetof *et al.*, 2016**).



Figure 14 : Placer les disques sur la surface de gélose.

I.10.5. Préparation des disques d'aromatogramme

Les disques sont fabriqués à partir de papier filtre avec un diamètre de 6mm, l'HE est diluée dans DMSO, on a préparé trois dilution de notre l'HE.

- **Solution mère** : (HE de mélange).
- **Dilution 1**:450 μ L de DMSO et ajouter 50 μ L de l'HE.
- **Dilution 2** :450 μ L de DMSO et ajouter 50 μ L de dilution 1.
- **Dilution3**:450 μ L de DMSO et ajouter 50 μ L de dilution 2.

Une fois les géloses Muller – Hinton sontensemencées, les disques sont disposés sur la surface de la gélose, puis on ajoute 10 μ L de l'extrait et 10 μ L de chaque dilution sur les disques (**Figure 15**).

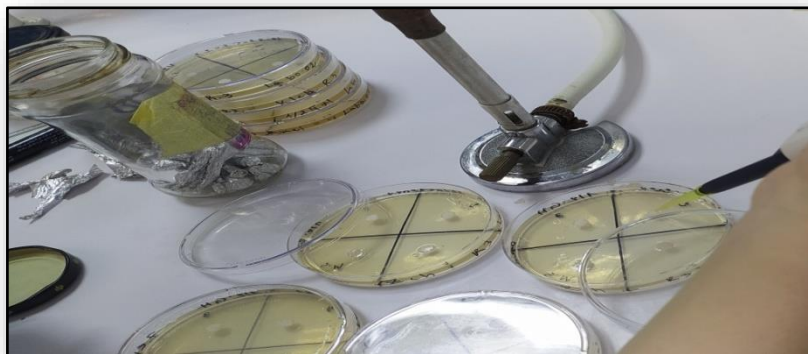


Figure 15 : Méthode de l'aromatogramme.

I.10.6. Incubation et lecture

On place les boîtes dans une étuve pendant 24 heures à 37°C. Les résultats ont été observés le lendemain des expériences, en mesurant les diamètres des halos autour des disques en mm, ou zones d'inhibition avec un pied à coulisse digital (**Figure 16**).

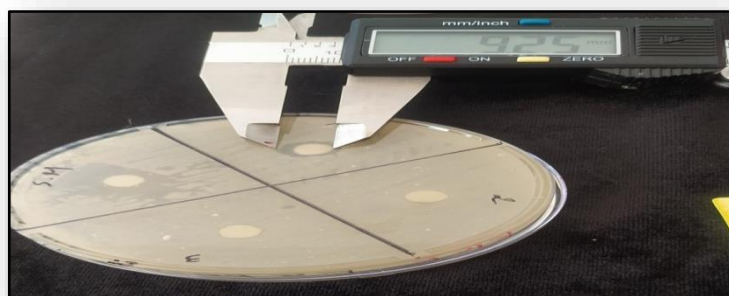


Figure 16 : Mesure des halos d'inhibition.

I.11. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante in vitro a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyle) Selon le protocole décrit par (**Mansouri *et al.*, 2005**), Des légères modifications qu'on apportées, la solution de DPPH est préparée par solubilisation de 4mg de DPPH dans 100mL de méthanol. Des solutions à différentes concentrations de l'HE et de l'extrait d'hydrolat ou standard sont ajoutées à un volume complémentaire de DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant la solution de DPPH et du méthanol est mesurée à 517 nm.

I.11.1. Calcul des pourcentages d'inhibition

Les pourcentages d'inhibition sont calculés par la formule suivante :

$$I\% = [(AC-AT)/AC]*100$$

- **I %**: Pourcentage d'inhibition.

- **AC** : Absorbance du contrôle (contenant tous les réactifs sauf l'huile).

- **AT** : Absorbance du test effectué.

Tableau 2 : Préparation de la concentration (les dilutions d'HE).

Les concentrations (mg/ml)	Volume de mélange de l'HE (µL)	Volume du méthanol (µL)
1,2	150	0
0,9	120	30
0,5	90	60
0,3	75	75
0,1	30	120

I.11.2. Préparation des différentes dilutions de l'HE:

On prend 5 flacons vide et remplit comme suit pour obtenir un volume total de 150uL dans chaque tube (**Figure 17**):

- **Tube 1:** 150uL HE
- **Tube 2:** 120uL HE + 30uL méthanol.
- **Tube 3:** 90uL HE + 60uL méthanol.
- **Tube 4:** 75uL HE + 75uL méthanol.
- **Tube 5:** 30uL HE + 120uL méthanol.



Figure 17 : Les dilutions de l'HE.

I.11.3. Préparation de la solution de DPPH

Le DPPH est solubilisé dans du méthanol (0.0012g de DPPH + 30 ml de méthanol).

- Les échantillons : 50 μ L du mélange de HE + 650 μ L de DPPH.
- Le Blanc : 50 μ L du mélange de HE + 650 μ L de méthanol.
- Agitation des tubes dans un vortex + incubation 30 min.
- Le contrôle : coloration jaune.

Chapitre 2

Résultats et discussion



II.1. Le rendement

Nous rappelons que l'HE a été extraite du mélange des deux plantes la Menthe verte et le Girofle par hydrodistillation de type Clevenger (1928). Nous avons obtenu une huile de couleur jaune pâle avec une odeur aromatique (**Tableau 03**).

Tableau 03 : Le rendement des HEs.

Le poids du matériel végétal en (g)	Le poids des extraits en (g)	Le rendement en (%)
400 g de clou de girofle	1.8 g	0.40%
600 g de menthe verte		

II.2. Lecture de l'activité antibactérienne

Les résultats du tableau indiquent que le mélange des HEs exerce un effet inhibiteur sur une grande variété de souches Gram positifs et Gram négatifs, néanmoins, la sensibilité de ces dernières varie envers l'HE. De ce fait, les bactéries sont classées en différentes catégories selon le diamètre de la zone d'inhibition de croissance obtenu (**Ponce et al., 2003**) :

$D < 8$ mm : Souches résistantes (-).

$9 \text{ mm} \leq D \leq 14 \text{ mm}$: Souches sensibles (+).

$15 \text{ mm} \leq D \leq 19 \text{ mm}$: Souches très sensibles (++).

$D \geq 20$ mm : Souches extrêmement sensibles (+++).

Le zéro (0) n'indique pas d'activité.

D'après le tableau 04 : on remarque que Pour les souches Gram positives, nous remarquons que les diamètres des zones d'inhibition de croissance sont supérieurs à 20 mm, ce qui veut dire que les bactéries mentionnées, sont extrêmement sensibles (+++) vis-à-vis de l'HE. La plus grande valeur a été enregistrée à 29.19 mm contre *Escherichia Coli*, tandis que la plus petite, à 15.34mm contre *Klebsiella pneumoniae* (**Shahbazi, 2015**). Par ailleurs, les diamètres obtenus contenus contre *Staphylococcus aureus* 21,79 mm et *Pseudomonas aeruginosa* 16.30 mm (**Saba et Anwar, 2018**).

II.3. Expressions des résultats

II.3.1. Activité antibactérienne

A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque, identique à la gélose stérile, dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (y compris le diamètre de disque de 6mm). Dans la littérature relative aux HES, les résultats de l'aromatogramme sont exprimés exclusivement à partir de la mesure du diamètre des halos d'inhibitions en mm (**Baser & Buchbauer, 2010**). Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau (**tableau 04**). On constate les résultats de l'activité en calculant la moyenne des diamètres des zones d'inhibitions du test de sensibilité à l'HE.

Tableau 04 : Résultats de l'activité antibactérienne.

<i>Les souches</i>	<i>Diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne</i>			
	<i>SM</i>	<i>D1</i>	<i>D2</i>	<i>D3</i>
<i>Escherichia coli</i>	29.19 (+++)	12.14 (+)	8.48 (-)	2.34 (-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	21.79 (+++)	8.67 (-)	6.38 (-)	2.04 (-)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15.34 (++)	8.76 (-)	4.20 (-)	4.41 (-)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16.30 (++)	9.21 (+)	5.38 (-)	2.15 (-)

Les résultats obtenus illustrés dans le tableau3, indiquent que l'effet antibactérien du mélange des HES du Girofle et de la Menthe verte est varié d'une souche à une autre.

Dans les solutions mères, nous avons remarqué que le diamètre de la zone d'inhibition est important pour chacune des quatre souches bactériennes, et elles sont à des niveaux différents d'extrêmement sensible à très sensibles (EC>SA>Kp>PA).

Dans les solutions de la première dilution (D1), les résultats enregistrés ont indiqué une diminution des diamètres des zones d'inhibitions par rapport aux ceux des solutions mères, ils varient de sensibles à très sensibles (EC >PA>Kp >SA).

Concernant les solutions de la deuxième dilution (D2), les résultats observés une diminution dans les diamètres des zones d'inhibitions pour chaque type de bactéries. Nous avons noté dans les deux souches bactériennes EC et PA sont sensibles et les deux souches bactériennes SA et Kp sont résistances.

Concernant les solutions de la troisième dilution (D3), les résultats observés démontrent une diminution très importante des diamètres des zones d'inhibitions pour chaque type de bactéries. Nous avons noté dans les quatre souches bactériennes résistances.

Les résultats enregistrés ont montré que la concentration en HEs est liée à la zone d'inhibition, plus la concentration est élevée, plus la zone d'inhibition est grande. En fait, l'utilisation de DMSO non dilué peut affecter négativement l'activité de l'HE (**Guinoiseau et al., 2013**). La capacité antibactérienne des HEs est puissante sur de nombreuses bactéries gram négatives et intermédiaire sur les bactéries gram positives, causée par la différence de composition chimique de la membrane des deux groupes bactériens. Les bactéries gram négatives ont une membrane qui permet la pénétration de molécules lipophiles grâce à la présence de LPS (lipopolysaccharides), tandis que les bactéries gram positives ont une membrane constituée essentiellement de peptidoglycane qui permet le passage de molécules hydrophiles (**Gilly, 2005**). Les activités antimicrobiennes du clou de girofle ont été prouvées contre plusieurs bactéries. Ont testé l'activité antimicrobienne de différentes plantes épicées indiennes comme la menthe et le clou de girofle (**Sofia et al., 2007**). Le seul échantillon qui a montré un effet bactéricide complet contre tous les agents pathogènes d'origine alimentaire testés *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, l'extrait de clou de girofle a également montré une bonne action inhibitrice. Dans un autre ouvrage publié par Dorman et Deans (**Dorman et Deans, 2000**). L'activité antibactérienne du clou de girofle a été testée contre 25 souches de bactéries Gram positives et Gram négatives. Les huiles ayant le spectre d'activité le plus large étaient respectivement le thym, l'origan et le clou de girofle. Les activités antimicrobiennes du clou de girofle ont été prouvées contre plusieurs bactéries ont testé l'activité antimicrobienne de différentes plantes épicées indiennes comme la menthe et le clou de girofle (**Sofia et al., 2007**). Le seul échantillon

qui a montré un effet bactéricide complet contre tous les agents pathogènes d'origine alimentaire testés *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus*, l'extrait de clou de girofle a également montré une bonne action inhibitrice. Dans un autre ouvrage publié par Dorman et Deans (**Dorman et Deans, 2000**) l'activité antibactérienne du clou de girofle a été testée contre 25 souches de bactéries Gram positives et Gram négatives. De nombreux auteurs ont prouvé que le pouvoir antibactérien de l'HE de *Mentha spicata* L est dû à sa richesse en terpènes (**Soković et al., 2009**). Les HEs riches en composés phénoliques possèdent un haut niveau d'activité antimicrobienne (**Sivropoulou et al., 1995**). La bio activité de toute HE est contrôlée par sa composition chimique, qui peut également varier en fonction des conditions écologiques et géographiques (**Isman et al., 2007**). On pense que les composants phénoliques des HEs présentent la plus forte activité antimicrobienne, suivis des aldéhydes, des cétones et des alcools (**Tepe et al., 2005**).

II.3.2. Evaluation de l'activité antioxydante

Elle a été réalisée par la méthode du piégeage du radical DPPH, ceci pour connaître les concentrations d'inhibition, laquelle a été développée par **Blois, (1958)**, mesuré selon le protocole décrit par **Lopes-Lutz et al., (2008)**.

Le choix des méthodes utilisées pour cette évaluation se justifie par leurs simplicités et leurs rapidités. Elles sont également moins coûteuses.

Une évaluation de la stabilité et l'intervalle de linéarité des solutions DPPH ont été évalués et les résultats sont présentés sur le graphique ci-dessous. Cinq solutions De DPPH De différentes concentrations à base du Méthanol ont été testées.

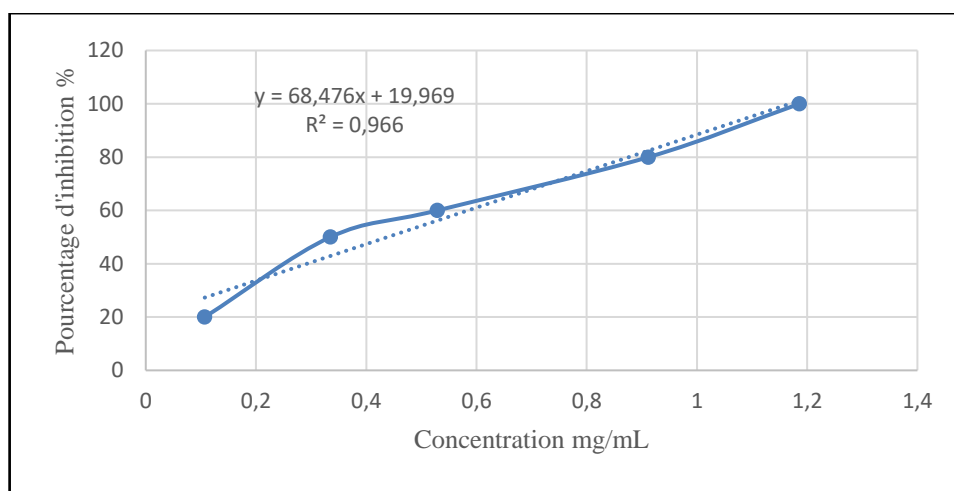


Figure 18 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations du mélange de l'HE.

Tableau 05 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH dans le mélange des HEs.

Concentration	% d'inhibition
20	10,7
50	33,5
60	52,9
80	91,2
100	118,6

D'après la courbe, nous remarquons que la plus concentration du mélange des HEs est élevée, plus le pourcentage d'inhibition du radical libre est élevé; donc le mélange des HEs des plantes étudiées a une forte activité lorsque les concentrations sont élevés, les propriétés oxydoréductases leur permettent d'agir comme agent réducteurs. Il a été rapporté par plusieurs auteurs que les antioxydants de synthèse possèdent plus d'aptitude à piéger le radical DPPH que les huiles essentielles.

Le radical DPPH est habituellement utilisé comme indicateur pour tester la capacité de l'HE pour donner un atome d'hydrogène ou un électron, donc à l'activité antioxydante (Oyaizu, 1986 ; Soares, *et al.*, 1997). Le pourcentage d'inhibition I (%) du radical DPPH par les extraits a été calculé comme suit :

$$I \% = (AC-AT/AC) \times 100$$

AC: absorbance en absence de l'échantillon (control négatif).

AT: absorbance en présence de l'échantillon.

La courbe des pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations des extraits de HE nous ont permis de déterminer les concentration d'inhibition à 50 (IC50) qui a été suivant :

$$\text{IC } 50 = 0,438.$$

La concentration inhibitrice (IC50) : Concentration équivalente à 50% de DPPH perdu.

Les résultats peuvent être aussi exprimés en puissance anti radicalaire (**Brand-Williams et al., 1995**).

D'après les résultats, l'activité anti radicalaire à augmenter par l'augmentation des concentrations de mélange des HEs, nous avons trouvé une bonne valeur pour notre extrait, nos résultats est accord avec (référence) qui est montré dans leur étude que l'acide ascorbique été l'antioxydant le plus efficace avec une valeur $6,42 \pm 0,36$ qui est très proche à notre résultat (0,438) par rapport IC 50 des HEs de l'espèce *Mentha piperita* qui présenté un IC 50 de valeur $32,94 \pm 1,54$.

L'activité anti radicalaire se classe donc dans l'ordre décroissant suivant : Acide Ascorbique, mélange des HEs de la menthe et de girofle *Mentha piperita* L. (**Bilal, 2016**).

Les résultats obtenus montrent que l'inhibition par l'huile de clou de girofle (95.92%), proche avec l'activité antioxydante de vitamine c (99.53%) ces derniers et plus grand que l'activité d'huile de gingembre (67.02%).

L'activité antioxydante de l'HE est due essentiellement à la présence des composants bioactifs dans l'HE testée (**Nicholson et Vermerris, 2006**). Il semble aussi que cette activité est liée à la présence des composés phénoliques dans l'huile essentielle. Le rôle principal des composés comme réducteurs des radicaux libres est souligné dans plusieurs rapports (**Villaño et al., 2007**), L'eugénol qui est un composé majoritaire de notre huile essentielle avec une concentration de 80,83 % possède une forte activité antioxydant (**Ogata et al., 2000**). Cependant, d'autres études montrent que l'activité anti-radicalaire est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes médicinales (**Mariod et al., 2009**). Le mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le radical DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant (**Sierra et al., 2007**).

Conclusion et perspectives



Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales étaient et restent toujours une source inépuisable de principes actifs. Ils jouent un rôle important dans de nombreuses applications à savoir l'industrie pharmaceutique, l'industrie agroalimentaire, l'industrie cosmétique, la parfumerie, etc.

Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les HEs extraites de ces produits naturels. Les différents résultats publiés indiquent quelles sont douées de plusieurs propriétés biologiques et l'évaluation de celles-ci demeure une tâche intéressante et utile, en particulier pour trouver de nouvelles sources d'agents antioxydants et antibactériens naturels.

Dans ce travail, nous avons essayé d'étude de certaines activités antioxydante et antibactérienne du mélange de menthe verte et d'huile de girofle.

L'extraction des HEs, par la technique d'hydrodistillation, à partir des parties aériennes de mélange de *Mentha spicata* L. et *Syzygium aromaticum*, a révélé de rendement 0.40%.

L'étude de l'activité antibactérienne par la méthode de la diffusion de disque, le mélange de l'HE a une activité importante pour toutes les souches étudiées essentiellement avec les plus fortes doses utilisées. En ce qui concerne l'étude *in vitro* du pouvoir antioxydant via l'effet Scavenger du radical DPPH, les résultats obtenus ont révélé un fort pouvoir antioxydant des deux fractions dont l'oxydation du DPPH est efficacement inhibée par ce mélange d'HE. Du même, les résultats ont montré une activité antimicrobienne très intéressante contre les deux souches testées.

L'HE de *Mentha spicata* et des clous de girofle évaluée par de nombreuses études pour son activité antimicrobienne, par la technique de diffusion par disques, s'est montrée très efficace contre la bactérie Gram positive comme *Staphylococcus aureus*, le diamètre de zone d'inhibition est 21,79 mm. L'huile est aussi très active contre les bactéries Gram négatives comme *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*, les diamètres des zones d'inhibition vont de 15,34 à 21,79 mm.

Enfin, nous espérons apporter notre modeste contribution à la valorisation des HEs à travers ce travail. Il serait donc intéressant d'enrichir ce travail en séparant et caractérisant les composés actifs de nos fractions par HPLC et RMN afin d'identifier les composants actifs responsables des différentes activités biologiques de cette HE. Tous ces résultats obtenus *in vitro* ne sont que la première étape dans la recherche de

substances bioactives d'origine naturelle, et des études in vivo sont nécessaires pour mieux comprendre l'activité recherchée.



**Références
bibliographiques**

-A-

- **AFNOR., (1986).** Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », Paris (P: 57).

-B-

- **Barbelet, S., (2015).** Le giroflier: historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle (Doctoral dissertation, Université de Lorraine), (P: 22).

- **Bardaweel, S. K., Bakchiche, B., ALSalamat, H. A., Rezzoug, M., Gherib, A., & Flamini, G., (2018).** Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and Antiproliferative activities of essential oil of *Mentha spicata* L. (Lamiaceae) from Algerian Saharan atlas. *BMC complementary and alternative medicine*, 18(1), (P: 1-7).

- **Baser K.H.C., & Buchbauer G., (2010).** Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America, (P: 994).

- **Bastien, F., (2008).** Effet larvicide des huiles essentielles sur *Stomoxys calcitrans* à la Réunion (Doctoral dissertation), (P: 26).

- **Bayle, J. Y., Nesme, P., Bejui-Thivolet, F., Loire, R., Guerin, J. C., & Cordier, J., F., (1995).** Migratory organizing pneumonitis" primed" by radiation therapy. *European Respiratory Journal*, 8(2), (P: 322-326).

- **Beloued, A., (2001).** Les plantes médicinales d'Algérie. (Ed) OPU. *Ben Aknoun, Algérie*, (P: 100-227).

- **Bézanger-Beauquesne, L., Pinkas, M., & Torck, M., (1975).** *Les plantes dans la thérapeutique moderne*. Maloine.

- **Bilal, G. M., (2016).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. *Universite KASDI MERBAH–OUARGLA FACULTE*.

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

- **Bois D., (1999).** Les plantes alimentaires chez tous les peuples et à travers les âges : histoire utilisation, culture. Volume 3 : plantes à épices, à aromates, à condiments. Paris : Ed. CME. (P : 1-11).

- **Botnieau M., (2010)** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs Paris : éd Tec&Doc. P : 483-486.

- **Bouhdid, S., Idaomar, M., Zhiri, A., Baudoux, D., Skali, N. S., & Abrini, J.,**

(2006). Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Congrès international de biochimie*, (P: 324, 327).

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

Boutabia, L., Telailia, S., Bouguetof, I., Guenadil, F., & Chefrou, A., (2016). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85, (P: 174-189).

- **Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T., (1995)**. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), (P: 25-30).

- **Brown, S. A., Biggerstaff, J., & Savidge, G. F., (1992)**. Disseminated intravascular coagulation and hepatocellular necrosis due to clove oil. *Blood Coagulation & Fibrinolysis: an International Journal in Haemostasis and Thrombosis*, 3(5), (P: 665-668).

- **Bruneton J., (1999)**. Huiles essentielles, In *Pharmacognosie - Phytochimie plantes médicinales*. 3ème éd. Doc. Et Tec. Lavoisier.

- **Burits, M., & Bucar, F., (2000)**. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy research*, 14(5), (P: 323-328).

- **Burt, S., (2004)**. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), (P: 223-253).

-C-

- **Canda, M. Ş., Güray, M., & Canda, T. Ü. L. A. Y., (2003)**. The Pathology of Echinococcosis and the Current Echinococcosis Problem in Western Turkey (A Report of Pathologic Features in 80 Cases. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 33(6), (P: 369-374).

- **Cao, G., & Prior, R. L., (1998)**. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clinical chemistry*, 44(6), (P: 1309-1315).

- **Carlier-Loy, P., (2015)**. *Mentha spicata*: description et utilisations en thérapeutique et en agriculture comme antigerminatif sur la pomme de terre (Doctoral dissertation, université de picardie jules verne), (P: 11-13).

- **Chouitah, O., (2012).** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra* (Doctoral dissertation, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella), (P: 16).
- **Couderc, V., (2001).** Toxicité des huiles essentielles (Doctoral dissertation), (P: 9-12).
- **Couic-Marinier, F., & Lobstein, A., (2013).** Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités pharmaceutiques*, 52(525), (P : 22-25).
- **Cowan, M., (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), (P: 564-582).
- **Cox, R., Hyde, M., Gatehouse, S., Noble, W., Dillon, H., Bentler, R., ... & Hallberg, L., (2000).** Optimal outcome measures, research priorities, and international cooperation. *Ear Hear*, 21(4 Suppl), (P: 106-115).

-D-

- **Deschepper, R., (2017).** Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie.
- **Dhifi W., Jelali N., Mnif W., Litaïem M., Hamdi N., (2013).** Chemical composition of the essential oil of *Mentha spicata* L. from Tunisia and its biological activities. *Journal of Food Biochemistry*, 37(3), (P: 362-368).
- **Diallo, I., Sylvie, M., Rapior, S., & Poucheret, P., (2019).** Potentiel antioxydant de *Lentinula edodes* (Shiitake) issu de différents modes de culture.
- **Dorman HJ, Deans SG., (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol*; 88(2), (P: 308-316).
- **Douay S., (2008).** Monographie de la menthe verte. Université de Lille, France, (P:06).
- **Duraffourd, C., & Lapraz, J. C., (2002).** Traité de phytothérapie clinique: endobiogénie et médecine. Elsevier Masson.
- **Duval, L., (2012).** Les huiles essentielles à l'officine, (P: 21-22).

-E-

- **El Haïb, A., (2011).** Valorisation De Terpènes Naturels Issus De Plantes Marocaines Par Transformations Catalytiques [thèse]. *Toulouse: Université de Toulouse.*

-F-

- **Farhat, A., (2010).** *Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application* (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).
- **Florence, M., (2012).** *Utilisations Thérapeutiques Des Huiles Essentielles: Etude De Cas En Maison De Retraite*, Université Lorraine. Faculté de Pharmacie (Doctoral dissertation, thèse présentée et soutenue publiquement le 30 Mars), (P: 10).
- **Fortin R., fortin O.R., D'Amico S., (1996).** *The visual food encyclopedia: the definitive practical guide to food and cooking.* Edition : Québec/Amérique, (P: 685).
- **Franchomme, P., Jollois, R., & Péroël, D., (2001).** *L'aromathérapie exactem encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques.* Édition Roger Jollois.

-G-

- **Garneau, F. X., (2005).** *Le matériel végétal et les huiles essentielles. Huiles essentielles: de la plante à la commercialisation. Manuel pratique:* Ed. Corporation la seve. Université de Chicoutimi, Québec.
- **Gerhard K. H. Przemeck, Jim Mattsson, Christian S. Hardtke, Z. Renee Sung and Thomas Berleth., (1993).** *Studies on the role of the Arabidopsis gene monopteros in vascular development and plant cell axialization .journal of physiological plant.vol 11, (P : 165-170).*
- **Gilly G., (2005).** *Aromatic plants and fatty essential oils. Botanical-Culture-Chemistry-Production and Market,* Éditions Harmattan, (P: 142).
- **Guinoiseau, Lorenzi, Luciani, eue., (2013).** *Biological properties and résistance reversal effect of Helichrysum italicum (Roth) G. Dom A. Microbial pathogens and Strategies for combating them: science, technology and education (Méndez-Vilas.Ed.), (P: 1072-1080).*
- **Gunawardena, D., Shanmugam, K., Low, M., Bennett, L., Govindaraghavan, S., Head, R., ... & Münch, G., (2014).** *Determination of anti-inflammatory activities of standardised preparations of plant-and mushroom-based foods. European journal of nutrition, 53(1), 335-343.*
- **Gurib-Fakim A; (2008).** *Toutes les plantes qui soignent, plantes d'hier, médicaments d'aujourd'hui.* Neuilly-sur-Seine : Ed. Michel Lafon. (P : 112-114).

-H-

- **Hmiri, S., Amrani, N., & Rahouti, M., (2011).** Détermination in vitro de l'activité antifongique des vapeurs d'eugénol et d'huiles essentielles de *Mentha pulegium* L. et de *Tanacetum annuum* L. vis-à-vis de trois champignons responsables de la pourriture des pommes en post-récolte. *Acta botanica gallica*, 158(4), (P : 609-616).

-I-

- **Isman MB, Machial C, Miresmailli S., (2007).** Essential oilbased pesticides: new insights from old chemistry. In: Ohkawa H, Miyagawa H, Lee P (Eds) *Pesticide chemistry: Crop protection, public health, environmental safety*. Pr.Hideo Ohkawa Kobe University, Japan. Wiley online library, (P: 201–9).

-J-

- **Jeanguyot M, Segulier-Guis M; (2004).** L'herbier du voyageur, histoire des fruits, légumes et épices du monde Toulouse : Ed. Plume de carotte. (P : 163).

-K-

- **Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F., (2012).** La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie; Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Springer.

- **Kee, L. A., Shori, A. B., & Baba, A. S., (2017).** Bioactivity and health effects of *Mentha spicata*. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*, 5(1), (P : 1-2).

- **Kothe H., (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales : plantes aromatiques et médicinales de A à Z propriétés et usages. Terre édition, (P: 335).

- **Koudou, P. J., (2009).** Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de quelques plantes aromatiques et médicinales africaines. Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de quelques plantes aromatiques et médicinales africaines.

-L-

- **Laghouiter O.K., Gherib A., Laghouiter H., (2015).** Etude de l'activité antioxydant des huiles essentielles de certaines menthes cultivées dans la région de Ghardaïa. *El Wahat pour les Recherches et les Etudes*, 8(1), (P : 84-93).

- **Lahlou, M., (2004).** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(6), (P: 435-448).
- **Laib I. et Barkat M., (2011).** Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*. *Agriculture*, 6(2), (P: 89-101).
- **Lakhdar, L., (2015).** Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans*: Etude in vitro (Doctoral dissertation). (P: 39).
- **Lardry, J. M., (2007).** Les autres indications des huiles essentielles. *Kinésithérapie, la revue*, 7(61), (P: 35-42).
- **Lawrence B.M., (2006).** Mint the genus *Mentha*. Medicinal and aromatic plants-Industrial profiles. CRC Press Taylor and Francis group, (P: 598).
- **Lis-Balchin, M., & Deans, S. G., (1997).** Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. *Journal of applied microbiology*, 82(6), (P: 759-762).
- **Lobstein, A., Couic-Marinier, F., & Barbelet, S., (2017).** Huile essentielle de Clou de girofle. *Actualités Pharmaceutiques*, 56(569), (P: 59-61).
- **Lopes-Lutz, D., Alviano, D. S., Alviano, C. S., & Kolodziejczyk, P. P., (2008).** Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*, 69(8), (P: 1732-1738).
- **Lucchesi, M. E., (2005).** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).

-M-

- **Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., & Kefalas, P., (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food chemistry*, 89(3), (P: 411-420).
- **Mishara A.K., Dubey N.K., (1994).** Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Appl. Environ. Microbiol.* 60 (4), (P: 1101-1105).
- **Mnayer, D., (2014).** Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires

en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).

- **Mariod, A. A., Ibrahim, R. M., Ismail, M., & Ismail, N., (2009).** Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chemistry*, 116(1), (P: 306-312).

- **Mayer, J. R., & Mitchell, J. C. (2012).** Third-party web tracking: Policy and technology. In 2012 IEEE symposium on security and privacy, (P: 413-427).

-N-

- **Nesrine, B., Rajaa, R., & Sakina, N., (2021).** Enquête ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies dermatologiques dans la ville d'Ain Temouchent. *Journal of Applied Biosciences*, 170, (P: 17704-17719).

- **Nicholson, R., & Vermerris, W., (2006).** Phenolic compound biochemistry. (P: 151-153).

- **Nicolas V., (1991).** Huiles essentielles: Production mondiale, échanges internationaux et évaluation des prix. 10ième journée internationale des huiles essentielles. Actes, *Ravista italiana Eppos ; numéro spécial 02/1992*, (P: 534-539).

- **Ntezurubanza, L., (2000).** Huiles essentielles du Rwanda. Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi, QC, CA, (P: 88).

-O-

- **Ogata, M., Hoshi, M., Urano, S., & Endo, T., (2000).** Antioxidant activity of eugenol and related monomeric and dimeric compound. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 48(10), (P: 1467-1469).

- **Ouidir, S., (2018).** Evaluation de l'activité antibactérienne d'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* vis-à-vis des bactéries responsables d'infections urinaires (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

- **Ouis, N., (2015).** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, des fenouils et de persil. Diss. Thèse de doctorat, Université Ahmed Ben Bella-Oran, Alger.

- **Oyaizu, M., (1986).** Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of*

nutrition and dietetics, 44(6), (P: 307-315).

-P-

- **Padrini, F., & Lucheron, M. T., (1996).** Le grand livre des huiles essentielles Guide pratique pour retrouver vitalité bien être et beauté avec les essences et l'aramassage énergétique avec plus de 100 photographies. DeVecchi, (P: 15).

- **Paris, R. R., & Moyse, H., (1976).** Précis de matière médicale: Schizophytes (Bactéries)-Actinomycétales-Thallophytes (Champignons, Algues, Lichens)-Ptéridophytes (Fougères)-Spermaphytes (Gymnospermes). Pharmacognosie générale; Pharmacognosie Spéciale. Masson.

- **Pedneault, K., (2007).** Étude de composés extractibles chez les champignons indigènes du Québec, (P: 219).

- **Pellecuer, J., & DE BUOCHBERG, M. S., (1980).** Essais d'utilisation d'huiles essentielles de plantes aromatiques méditerranéennes en odontologie conservatrice.

- **Pibiri, M. C., (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles (Thèse de Doctorat, Lausanne, Canada), (P: 177).

- **Ponce A.G., Fritz R., del Valle C. & Roura S.I., (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensm.-Wiss.u. Technol.36, (P: 679-684).

- **Piochon, M., (2008).** Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Université du Québec à Chicoutimi.

-R-

- **Ranoarisoa KM; (2012).** Evolution historique et état des lieux de la filière girofle à Madagascar [Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur Agronome]. Antananarivo : Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques. (P : 89)

- **Roulier, G., (2005).** Fabuleuse Amazonie: ses plantes et huiles essentielles. Dangles.

-S-

- **Saba, I., & Anwar, F., (2018).** Effect of harvesting regions on physico-chemical and biological attributes of supercritical fluid-extracted spearmint (*Mentha spicata* L.)

- leaves essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(2), (P: 400-419).
- **Sierra, B. D. L. C., Kouri, G., & Guzmán, M. G., (2007)**. Race: a risk factor for dengue hemorrhagic fever. *Archives of virology*, 152(3), (P: 533-542).
- **Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., & Arsenakis, M., (1995)**. Antimicrobial activity of mint essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(9), (P: 2384-2388).
- **Soares, A. F., Cunha, L., & Marques, J. F., (1997)**. Les tufs calcaires dans la région du Baixo Mondego (Portugal): Les tufs de Condeixa. *Présentation générale. Etudes de géographie physique*, (26), (P: 55-58).
- **Sofia PK, Prasad R, Vijay VK, Srivastava AK., (2007)**. Evaluation of antibacterial activity of Indian spices against common foodborne pathogens. *Int J Food Sci Technol*; 42(8), (P: 910-915).
- **Sofowora, A., (2010)**. *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*. KARTHALA Editions, (P: 22).
- **Soković MD, Vukojević J, Marin PD., (2009)**. Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. *Molecules* 14, (P: 238–49).
- **Sumonrat C., Suphitchaya C. and Tipparat H., (2008)**. Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical *Citrus* spp. Against food-related microorganisms. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. (30), (P: 125-131).
- **Shahbazi, Y., (2015)**. Chemical composition and in vitro antibacterial activity of *Mentha spicata* essential oil against common foodborne pathogenic bacteria. *Journal of pathogens*, 2015.

-T-

- **Taleb-Toudert, K., (2015)**. *Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien): évaluation de leurs effets sur La bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae)* (Doctoral dissertation, Université Mouloud MAMMERY). (P: 25).
- **Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., & Polissiou, M., (2005)**. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of

Salvia tomentosa Miller (Lamiaceae). Food chemistry, 90(3), (P: 333-340).

- **Testud, F., (2016).** Sensibilisation respiratoire avec de l'eugénol et des terpènes. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*, 77, (P: 62-65).

- **Teuscher E., Anton R., Lobstein A., (2005).** Plantes aromatique : épices, aromates, condiments et huiles essentiels. Edition Tec et Doc, Lavoisier, Paris, (P: 544).

-V-

- **Valnet, J., (1984).** Aromathérapie : traitement des maladies par les essences de plantes. 10e éd. Paris : Maloine, (P: 544).

- **Vermeulen F, johnston MD L., (2011).** Plants, homeopathic and medicinal uses from a botanic family perspective. Volume 3. Glasgow : Saltire Books. (P : 729-745).

- **Villaño, D., Fernández-Pachón, M. S., Moyá, M. L., Troncoso, A. M., & García-Parrilla, M. C., (2007).** Radical scavenging ability of polyphenolic compound towards DPPH free radical. *Talanta*, 71(1), (P: 230-235).

-Z-

- **Zaibet, W., (2018).** Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de *Daucus aureus* (Desf) et de *Reutera lutea* (Desf.) Maire, et leur application comme agents antimicrobiens dans le polyéthylène basse densité (PEBD) (Doctoral dissertation), (P: 9-10-12).

Site web

Site 01: les différentes techniques d'extraction à travers les âges (<https://www.maxicours.com/se/cours/les-differentes-techniques-d-extraction/>). Consulté le 28 avril. 2022.

Site 02: Les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles (<http://tpehuilesessentiellesetsante.e-monsite.com/pages/i-les-huiles-essentielles-une-utilisation-millenaire/definition/b-les-differentes-techniques-d-extraction-des-huiles-essentielles.html>). Consulté le 28 avril. 2022.

Site 03:<https://www.toutvert.fr/la-menthe/>

Site04:<https://www.passeportsante.net/fr/Actualites/Dossiers/DossierComp/lexe.aspx?doc=focus-sur-les-bienfaits-des-clous-de-girofle>

Présenté par :
BAKHOUCHE Zeyneb,
BENSIZERARA Chaima, TOUATI Rania

Encadré par :
M. MAAMAR Hichem

Thème : Caractérisation des activités biologiques du mélange des huiles essentielles des clous de girofle et de la menthe verte

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

Les HEs sont de plus en plus utilisées de nos jours. Elles peuvent être dans une certaine mesure une alternative à la médecine allopathique et aux problèmes et aux maladies iatrogènes ou les résistances aux antibiotiques. Ces HEs sont une source inépuisable et diversifiée de métabolites secondaires qui sont à l'origine de nombreuses activités biologiques telles que l'activité antibactérienne, antioxydante, anti-inflammatoires...etc.

Notre travail porte sur l'étude des différentes activités biologiques d'un mélange des HEs de deux plantes médicinales, la menthe verte et les clous de girofle.

L'extraction des HEs des deux plantes a été faite pour chaque plante séparément par l'hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. Le mélange a été obtenu par l'association des deux HEs.

L'étude de l'activité antimicrobienne contre quatre souches de bactéries : une souche Gram + (*Staphylococcus aureus*) et 03 souches Gram - (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*), montre une activité importante uniquement dans la solution mère des différentes souches. Les résultats de l'activité antioxydante réalisée en utilisant la méthode de réduction des radicaux libres DPPH ont montré que ce mélange des HEs a une activité antioxydante très importante avec un pourcentage d'inhibition égale à 118,6%.

Mots-clés: Menthe verte, clous de girofle, mélange d'huiles essentielles, activité antibactérienne, activité antioxydante.

Jury de soutenance :

Présidente : M^{me} KRIM Meriem (M.C.B) U. Abbes Laghrour – Khenchela

Promoteur : M. MAAMAR Hichem (M.C.B) U. Abbes Laghrour – Khenchela

Examinatrice: M^{me} DJEMIL Randa (M.C.A) U. Abbes Laghrour – Khenchela