

## Effect of the extraction method on the content of phenolic compounds and the antioxidant and antibacterial potential of *Mentha spicata* L.

## Effet de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes et antibactérienne de *Mentha spicata* L.

S. OUESLATI<sup>1\*</sup>, R. BEN MANSOUR<sup>2</sup>, F. MEDINI<sup>2</sup>, R. KSOURI<sup>2</sup>, W.MEGDICHE<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire des plantes Extrêmophiles, Centre de Biotechnologie de Borj-Cédria, BP 901, 2050 Hammam-Lif, Tunisie

<sup>2</sup>Laboratoire des Plantes Aromatiques et Médicinales, Centre de Biotechnologie de Borj-Cédria, BP 901, 2050 Hammam-Lif, Tunisie

\*Corresponding author: oueslatisamia01@gmail.com

**Abstract** - This work aimed to determine effect of extraction technique on phenolic compounds and biological activities of *Mentha spicata* leaves extract and essential oil. Results showed that sonication is most suitable for the extraction of phenolic compounds which exhibit 17.59 mg EAG g<sup>-1</sup> MS. Besides, sonication method depicted strong antioxidant capabilities, particularly DPPH scavenging and total antioxidant capacities. HPLC analysis revealed several phenolic compounds in *M. spicata* leaves with ferulic acid, myricetin and luteolin -7-O-glucoside as major phenolics. Essential oil presents the best antioxidant and antibacterial activities. Besides, EO was characterized by carvone as a major compound. The overall results suggest that *M.spicata* as a valuable source of bioactive compounds.

**Keywords:** Biological activities, essential oil, extraction method, *Mentha spicata*, phenolic compounds.

**Resumé** - Ce travail vise à déterminer l'effet de la méthode d'extraction sur les teneurs en composés phénoliques ainsi que les activités biologiques des extraits et des huiles essentielles des feuilles de *M. spicata*. Les résultats ont montré une variabilité au niveau des teneurs en polyphénols totaux qui dépend de la méthode d'extraction utilisée. En effet, la sonication semble la méthode la plus appropriée pour l'extraction des composés phénoliques. Ainsi, les teneurs sont de l'ordre de 17.59 mg EAG g<sup>-1</sup> MS en comparaison avec la macération (8.12 mg EAG g<sup>-1</sup> MS).

De plus, l'extrait obtenu par sonication est doté d'une activité antioxydante plus intéressante que celui issu de la macération. L'acide férulique, la myricitrine et la lutéoline-7-O-glucoside qui ont été détecté comme composés majoritaires au niveau de l'extrait issu d'une sonication contribuent aux activités biologiques intéressantes. En ce qui concerne l'huile essentielle, il est caractérisé par la dominance du carvone comme composé majeur qui est probablement en relation directe avec les performances antioxydante et antibactérienne très élevées de l'huile essentielle.

**Mots clés :** activités biologiques, composés phénoliques, huile essentielle, *Mentha spicata*, méthode d'extraction.

### 1. Introduction

La flore tunisienne est connue par sa richesse des plantes médicinales utilisées couramment comme alternative et remède pour soigner diverses maladies. Ces plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ces métabolites secondaires qui sont accumulées dans différents organes sont dotés de diverses potentialités biologiques (antioxydante, antimicrobienne, antitumorale, antivirale...). Ainsi le choix de la méthode d'extraction semble une étape indispensable. Les techniques les plus couramment utilisées sont les techniques classiques à savoir la macération, sonication, décoction, percolation... (Dhanani et al., 2017). Récemment, d'autres alternatives telles que l'extraction assistée par ultrason, par microonde, extraction fluide supercritique



ont suscité un intérêt croissant au cours des dernières années (Co et al., 2012). Parmi ces plantes, la menthe verte utilisée en médecine traditionnelle pour ses vertus thérapeutiques. *Mentha spicata* appartient à la famille des Lamiacées, est une herbacée pérenne native de l'Afrique, l'Asie et l'Europe. Des études pharmacologiques récentes se rapportant à *Mentha spicata* ont révélé un large spectre d'activités biologiques principalement les propriétés antibactérienne et antifongique (Singh et al., 2015), antioxydante (Snoussi et al., 2015) et anti-inflammatoire (Patwary et al., 2013). *M. spicata* appelée «Naana» est largement utilisée comme épice (Brahmi et al., 2015) et comme additif alimentaire (boisson, chocolat, confiserie, sirop, glace) (Singh et al., 2015). En outre, cette espèce est largement utilisée en infusion particulièrement pour soulager les désordres biliaires, les crampes lors du cycle menstruel, les douleurs de l'estomac (Brahmi et al., 2012).

## **2. Matériel et méthodes**

### **2.1. Matériel végétal**

La collecte des plantes (parties aériennes) a été effectuée en Avril 2017 dans la région de Mornag située au Sud-est de Tunis et qui appartient à l'étage bioclimatique semi-aride supérieur. Une fois ramenée au laboratoire, les feuilles de *M. spicata* ont été séchées à température ambiante. Ensuite, elles ont été mises à l'étuve à une température de 35°C jusqu'à l'obtention d'une masse de matière sèche stable. Une partie a été broyée en poudre fine grâce à un broyeur à billes puis conservée dans des piluliers à l'obscurité pour les analyses ultérieures et une autre partie a été conservée pour l'extraction des huiles essentielles.

### **2.2. Extraction par macération**

Cette extraction a été faite selon la méthode de Mau et al. (2001), en mélangeant 2,5 g de matière végétale sèche avec 25 ml d'éthanol à 30%. Le mélange est agité pendant 30 min et gardé au repos pendant 24 heures à 4°C en obscurité. Enfin, ce mélange est filtré sur du papier Wattman N°4 sans cendre. Les extraits ainsi obtenus sont conservés à 4°C pour les différentes analyses.

### **2.3. Extraction par sonication**

La deuxième technique d'extraction utilisée est l'ultrason en utilisant un sonicateur du type Sonorex Digital 10P, Bandelin. Avec les mêmes proportions (poudre/solvant), la température a été fixée à 35°C pour éviter la dégradation des composés phénoliques au cours de l'extraction. Ce processus a duré 30 min en utilisant une puissance de 100% (180 W). Par la suite, les extraits de menthe ont été conservés à 4°C et à l'abri de la lumière (24h). Finalement, ces extraits sont filtrés en utilisant du papier Wattman N°4 sans cendre.

### **2.4. Extraction des huiles essentielles**

Les feuilles de menthe ont été séchées à l'ombre à température ambiante, puis amenées à l'étuve pendant 2 à 3 heures. Dans le montage Clevenger utilisé, une quantité de 100 g du matériel végétal est déposée dans un ballon contenant 1 litre d'eau, relié à un réfrigérant. Le mélange eau distillée/plante est porté à ébullition par un chauffe-ballon pour générer une vapeur d'eau saturée en composés volatils. Le réfrigérant sert à condenser la vapeur en distillat (hydrolat) et l'extraction débute lorsque les premières gouttes tombent dans le collecteur et se poursuit pendant 3 heures. Enfin, on récupère l'huile essentielle à l'aide d'une pipette pasteur.

## **2.5. Dosage des composés phénoliques**

### **2.5.1. Polyphénols totaux**

La quantification des polyphénols totaux est faite selon la méthode décrite par Singleton's et légèrement modifiée par Dewanto et al. (2002). 125 µl d'extrait est mélangé avec 500 µl d'eau distillée et 125 µl du réactif de Folin-Ciocalteu. Ensuite, une agitation vigoureuse et un repos du mélange pendant 3 min ont été effectués. Après, 1250 µl de  $\text{CO}_3(\text{Na})_2$  à 7% sont ajoutés et le mélange est ajusté à 3 ml avec de l'eau distillée. L'absorbance est mesurée à 760 nm, suite à un repos de 90 min à température ambiante et à obscurité. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG g<sup>-1</sup> MS).

### **2.5.2. Flavonoïdes totaux**

Selon la méthode colorimétrique décrite par Dewanto et al. (2002), les teneurs en flavonoïdes ont été déterminées. Une prise de 250 µl d'extrait diluée est additionnée à 75 µl de la solution de  $\text{NaNO}_2$  à 5%. Après, 150 µl d'une solution fraîchement préparée de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ , 10%) sont additionnées au mélange, suite à une incubation de 6 min à température ambiante. Ensuite, 500 µl de

soude (NaOH, 1M) sont apportés au mélange après 5 min de repos, et le volume final est porté à 2500 µl avec de l'eau distillée. L'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 510 nm. Les teneurs en flavonoïdes des extraits sont alors exprimées en mg d'équivalents catéchine par gramme de matière sèche (mg EC.g<sup>-1</sup> MS).

### 2.5.3. Tanins condensés

Une aliquote de 0,05 ml d'extrait est ajoutée à 3 ml de vanilline à 4% et 1,5 ml d'acide sulfurique concentré. Après homogénéisation, le mélange est mis en incubation à température ambiante pendant 15 minutes. L'absorbance est mesurée à 500 nm. Les teneurs en tanins condensés sont exprimées en mg d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg EC g<sup>-1</sup> MS) (Sun et al., 1998).

## 2.6. Mesure de l'activité antioxydante

### 2.6.1. Mesure du pouvoir de piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1 picrylhydrazole (DPPH)

Selon la méthode de Hanato et al. (1988), une prise de 1 ml d'extrait ou d'huile essentielle à différentes concentrations sont mise en présence de 250 µl d'une solution de DPPH (0.2 mM). Le mélange est conservé pendant 30 min à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre-UV visible, contre un témoin (sans extrait). L'activité antiradicalaire est estimée en pourcentage d'inhibition grâce à la formule suivante :

$$PI = (DO \text{ témoin} - DO \text{ extrait ou HE} / DO \text{ témoin}) * 100$$

**PI** : pourcentage d'inhibition.

**DO témoin** : absorbance du témoin négatif.

**DO extrait ou HE** : absorbance de la solution d'extrait ou HE.

La réalisation de la cinétique de cette activité permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (CI<sub>50</sub>), la valeur de CI<sub>50</sub> la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée.

## 2.7. Capacité antibactérienne

Le milieu de Mueller Hinton est composé de 15 g d'agar, 17,5 g de caséine hydrolysée, 4 g d'infusion de viande de bétail et de 1,5 g d'amidon. Ensuite, une dissolution de 35g de ce milieu à chaud dans un litre d'eau distillée a été effectuée. Le pH final est égal à 7,4. Une stérilisation par autoclavage, durant 15 min à 120°C, suivie d'une répartition du milieu dans des boîtes de Pétri à raison de 15 ml par boîte. Ensuite, les souches pures et bien isolées sont prélevées et dissoutes dans des tubes contenant chacun 10 ml d'eau distillée stérile dans le but de préparer une suspension bactérienne. L'ajustement de l'absorbance de cette suspension est effectué à 0.5 unité à 570 nm. Après, ce mélange est étalé dans des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture. La fixation des souches de bactéries sur le milieu gélosé se fait suite à une incubation de 15 min à 37°C. Une autre incubation de ces boîtes dans l'étuve à 37°C pendant 15 min permet leur séchage et l'obtention d'un tapis bactérien. Finalement, des disques stériles de papier wattman ayant un diamètre de 6 mm ont été placés sur les tapis de bactéries. 10 µl d'extrait ou d'huile essentielle préparés à une concentration de 30 mg ml<sup>-1</sup> sont ensuite déposés sur les disques (Janssen et al., 1987). L'inhibition de la croissance des bactéries s'est traduite par l'apparition d'un halo autour de chaque disque et ceci après 24h d'incubation à 37°C (Baran et al., 1994).

## 2.8. Identification de composés phénoliques par RP-HPLC

On procède avant l'analyse par CLHP-PR à une filtration à l'aide d'une membrane filtrante de 0,45µm. L'analyse et la séparation des composés phénoliques a été faite par chromatographie liquide à haute performance et en phase inverse à l'aide d'un appareil (CLHP-RP) du type Agilent Technologies 1100, muni d'un détecteur UV visible à longueur d'onde variable et équipé d'une colonne du type C18 Hypersil ODS (250 x 4,6 mm, 4 µm), à la température ambiante.

La phase mobile est composée comme suit : solvant A: acetonitrile et solvant B: H<sub>2</sub>O à 0,2% acide sulfurique. Le gradient d'élution choisi est comme suit :

15% A/ 85% B 0-12 min, 40% A/ 60% B 12-14min, 60% A/ 40% B 14-18min, 80% A/ 20% B 18-20min, 90% A/ 10% B 20-24min, 100% A 24-28 min.

Le débit est maintenu à 0,5 ml/min et le volume d'injection est de 20 µl.

L'identification des pics a été réalisée par Co-injection de témoins purs d'acides phénoliques et de flavonoïdes dans les mêmes conditions analytiques. La quantification des composés phénoliques a été faite en utilisant la rutine comme étalon interne.

## 2.9. Identification des composés volatils par CPG-FID

L'identification des composés volatils est faite par couplage CPG/FID. Pour cela, un spectromètre de masse du type quadripolaire (Hewlett-Packard 5972 A) a été utilisé. Les conditions d'analyses bien précises. Colonne HP-5 SM (30m×0,25 mm ×0,25µm) ; Gaz vecteur : Hélium ; Débit : 1,2 ml/min ; Température d'injection : 250 °C.

### 2.10. Analyses statistiques

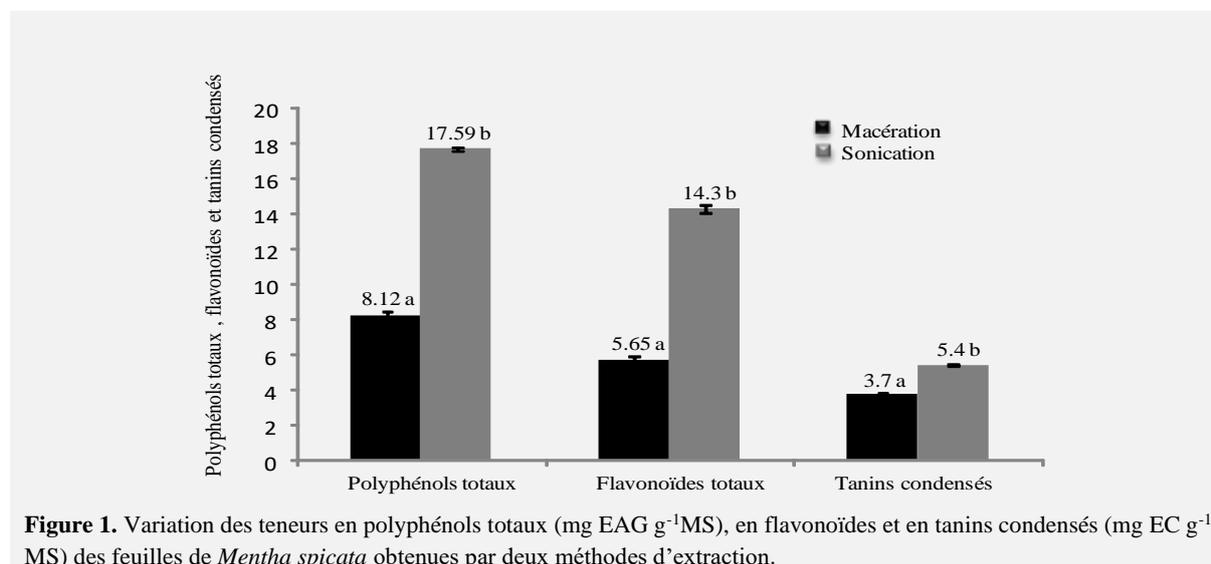
Les analyses statistiques ont été réalisées en exploitant un logiciel STATISTICA où le test de DUNCAN est utilisé au seuil de significativité de  $p < 0.05$ .

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Effet de la méthode d'extraction sur les teneurs en composés phénoliques

La variabilité des teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins condensés dans les feuilles de *Mentha spicata* en fonction de la méthode d'extraction est indiquée sur la figure 1. En effet, la sonication est la méthode la plus recommandée à extraire les composés phénoliques. Cette supériorité suggère que la température (extraction à chaud par sonication) et la puissance d'agitation joueraient un effet positif améliorant l'extraction (Bourgou et al., 2016). Les résultats obtenus concernant les teneurs en composés phénoliques ont montré que les extraits obtenus par sonication sont significativement plus riches en polyphénols totaux que ceux obtenus par la macération. Ainsi, l'extrait de sonication renferme des teneurs en polyphénols atteignant pratiquement le double de celles obtenues dans l'extrait de macération, respectivement avec des teneurs de l'ordre de 17,59 et 8,12 mg EAG g<sup>-1</sup> MS.

Concernant les flavonoïdes, la sonication s'avère la méthode la plus puissante à extraire ces métabolites. Les teneurs de ces molécules bioactives sont de l'ordre de 14,3 mg EC g<sup>-1</sup> MS pour les extraits obtenus par sonication et 5,65 mg EC g<sup>-1</sup> MS en utilisant la macération. La même tendance a été observée pour les teneurs en tanins condensés qui ont bien montré l'efficacité de la sonication. Dans ce même contexte, nos résultats sont plus intéressants que ceux trouvés par Brahmi et al. (2015) qui ont montré que l'espèce algérienne *M. spicata* renferme des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de l'ordre de 12 mg EAG g<sup>-1</sup> MS et de 2,45 mg EQ g<sup>-1</sup> MS, respectivement. De plus, des travaux récents ont dévoilé que les teneurs en polyphénols totaux de 5 espèces de menthe s'étendent de 14.7 à 43.2 mg EAG g<sup>-1</sup> MS, selon l'ordre décroissant suivant : *M. aquatica* > *M. arvensis* > *M. piperita* > *M. pulegium* > *M. rotundifolia* > *M. villosa* (Abootalebian et al., 2016).



**Figure 1.** Variation des teneurs en polyphénols totaux (mg EAG g<sup>-1</sup>MS), en flavonoïdes et en tanins condensés (mg EC g<sup>-1</sup> MS) des feuilles de *Mentha spicata* obtenues par deux méthodes d'extraction.

### 3.2. Activité antioxydante

Le choix de la méthode d'extraction est une étape primordiale qui peut agir efficacement sur la capacité de neutraliser et/ou piéger les espèces réactives de l'oxygène. Une variabilité significative de l'activité antioxydante totale (AAT) en fonction de la méthode d'extraction utilisée a été démontrée au niveau du Tableau 1. L'extrait obtenu par sonication présente les potentialités antioxydantes les plus puissantes montrant une activité de l'ordre de 38,5 mg EAG g<sup>-1</sup> MS.

En ce qui concerne l'activité antiradicalaire, ce test est le plus utilisé pour évaluer la capacité antioxydante vue sa rapidité et sa fiabilité. Les résultats mettent en évidence une variabilité en fonction de la méthode d'extraction et entre les extraits et l'huile essentielle. Ainsi, les extraits obtenus par

sonication sont beaucoup plus efficaces que ceux obtenus par macération présentant une  $CI_{50}$  de l'ordre de  $600 \mu\text{g ml}^{-1}$  (tableau 1). Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Annegowda et al. (2011) qui ont révélé que les extraits obtenus par sonication sont plus efficaces à piéger le radical DPPH comparés à ceux obtenus par macération. Ceci peut être expliqué par l'effet direct des ultrasons sur les molécules bioactives et donc leurs actions en tant que molécules antioxydantes. En outre, la cinétique de dégradation du radical synthétique en fonction des concentrations croissantes de l'huile (tableau 1) a permis de préciser une  $CI_{50}$  de l'ordre de  $140 \mu\text{g ml}^{-1}$  correspondant à la réduction de 50% du radical DPPH initialement additionné à la solution. De ce fait, l'huile essentielle de menthe se spécifie par la meilleure potentialité à neutraliser le radical DPPH par rapport aux deux extraits étudiés.

D'autres travaux, ont permis de dévoiler que l'extrait méthanolique de menthe est plus performant que le BHT, connu comme un antioxydant synthétique, ainsi, le pourcentage de piéger le radical DPPH de l'extrait de menthe est de l'ordre de 58%, alors que celui du BHT n'est que de 18% (Abootalebian et al., 2016). Ainsi, l'efficacité de l'huile essentielle de *M. spicata* par rapport aux extraits est due à la capacité des composés de l'huile essentielle tels que les monoterpènes, les sesquiterpènes oxygénés à inhiber l'oxydation (Snoussi et al., 2015).

**Tableau 1.** Variation des activités antioxydantes (AAT et test DPPH) des extraits et de l'huile essentielle des feuilles de *Mentha spicata* en fonction de la méthode d'extraction

Méthode d'extraction	DPPH ( $CI_{50}$ en $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	AAT (mg EAG.g <sup>-1</sup> MS)
Macération	700 <sup>c</sup>	32.1 <sup>a</sup>
Sonication	600 <sup>b</sup>	38.5 <sup>b</sup>
HE	140 <sup>a</sup>	-

Les valeurs (moyennes de trois répétitions) suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à  $P < 0,05$ .

### 3.3. Estimation de l'activité antibactérienne

Le test d'évaluation de l'activité antibactérienne sur milieu solide, consiste à déterminer la présence ou l'absence d'inhibition de la croissance bactérienne en présence des différents extraits et de l'huile essentielle de menthe. L'évaluation de cette activité a été estimée par la mesure du diamètre des halos d'inhibition des 4 souches de bactéries pathogènes : *Escherichia coli* ATCC 8739, *Bacillus licheniformis* ATCC 8480, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. L'analyse des résultats présentés dans le tableau 2, a montré que les deux extraits obtenus par macération et par sonication semblent inactifs, puisque les diamètres d'inhibition des différentes bactéries utilisées ne dépassent pas 7 mm. L'huile essentielle présente la meilleure potentialité antibactérienne. En effet, elle a totalement inhibé la croissance des souches testées *Staphylococcus aureus*, *Bacillus licheniformis*, *Enterococcus faecalis* et *Escherichia coli*. Ainsi, l'huile essentielle de l'espèce étudiée est plus puissante que celle de *Mentha piperita* dont les diamètres d'inhibitions sont de l'ordre de 17,2 et 5,1 mm contre *S. aureus* et *E. coli*, respectivement (Singh et al., 2015).

L'efficacité de l'huile essentielle est probablement due à sa richesse en carvone qui est très connu par son large spectre d'activité biologique entre autre l'activité antibactérienne (Snoussi et al., 2015).

**Tableau 2.** Activité antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle de *M.spicata* (moyenne de trois répétitions)

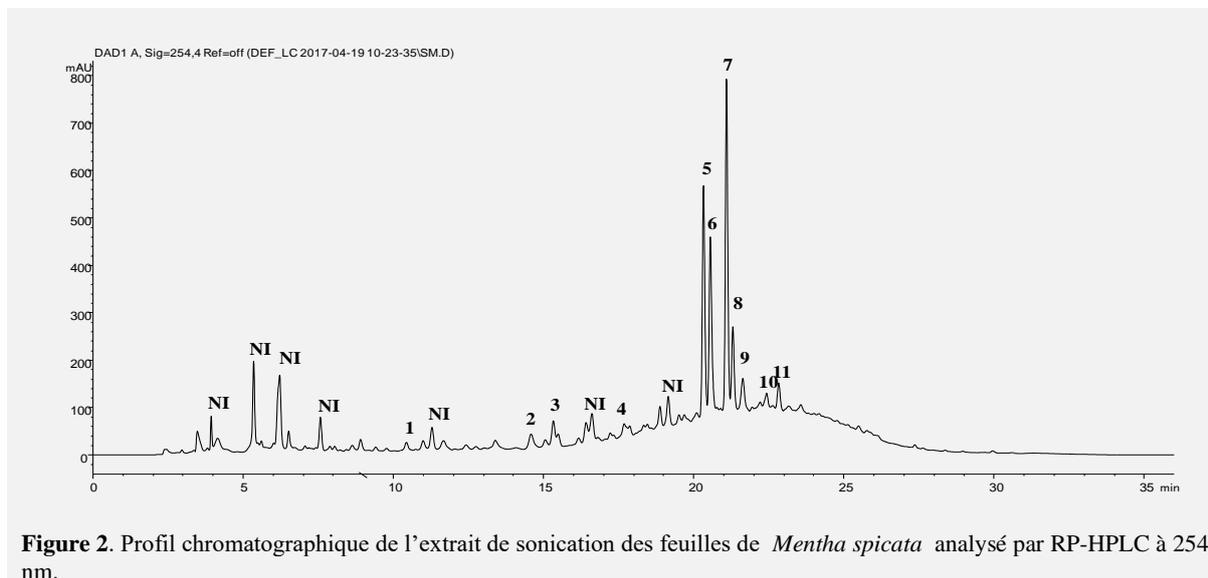
Bactéries	Diamètre de la zone d'inhibition (mm $\pm$ SD)		
	Macération	Sonication	HE
<i>Enterococcus faecalis</i>	7 $\pm$ 0	7 $\pm$ 0	85 $\pm$ 0
<i>Bacillus licheniformis</i>	7 $\pm$ 0	7 $\pm$ 0	85 $\pm$ 0
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	85 $\pm$ 0
<i>Escherichia coli</i>	-	-	85 $\pm$ 0

SD : standard de déviation, le diamètre des disques utilisé est de 6 mm. L'activité est absente (-) si la zone d'inhibition (zi) est  $< 1\text{mm}$ ; l'activité est faible si (zi) est de 1 mm; activité moyenne si (zi) entre 2 et 3 mm ; l'activité est assez élevée si (zi) entre 4 et 5 mm ; l'activité est élevée si (zi) est entre 6-9mm ; l'activité est très élevée si (zi)  $> 9\text{mm}$  (Rodriguez Vaquero et al., 2007).

### 3.4. Identification des composés phénoliques

L'identification des composés phénoliques n'a été procédé que pour l'extrait obtenu par sonication qui a été distingué par sa richesse en biomolécules et son haut potentiel antioxydant par rapport au macérât. Le profil chromatographique de l'extrait de menthe a permis d'identifier 11 composés dont 3 sont

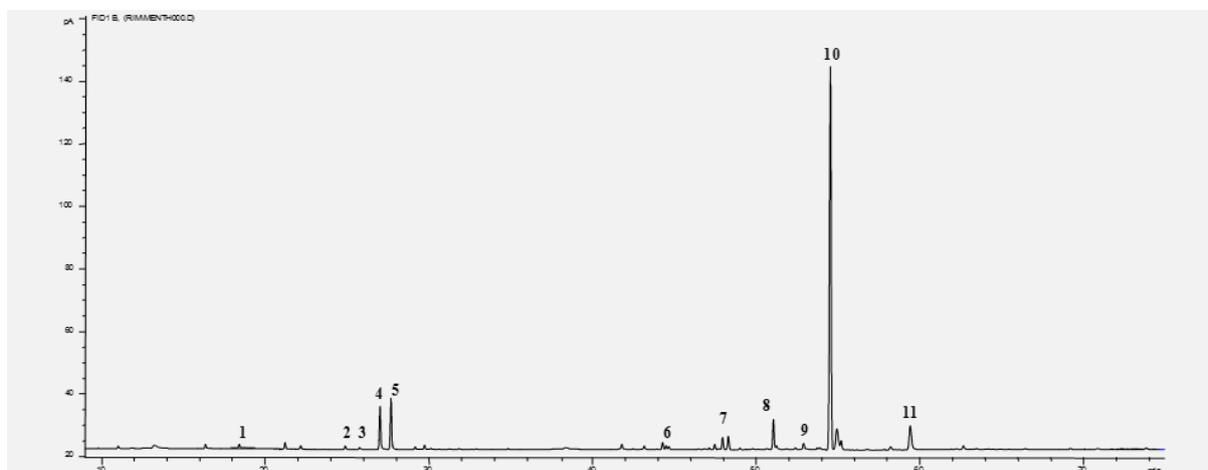
majoritaires (figure 2). La comparaison des temps de rétention et des caractéristiques spectrales avec les standards de référence a permis d'identifier les composés suivants : le résorcinol, l'épigallocatechine; l'acide chlorogénique ; l'acide syringique ; la rutine ; l'acide rosmarinique ; le kamepférol 3-O-rutinoside ; l'isorhamnetine 3-O- rutinoside ; ainsi que l'acide férulique, la myricitrine et la lutéoline-7-O-glucoside comme composés majoritaires. Dans ce même contexte, une analyse par HPLC des extraits de cette même espèce effectuée par Brahmi et al. (2015) a montré la présence de 9 composés : la rutine, l'acide rosmarinique, l'acide caféique, l'acide chlorogénique, la lutéoline, le kampférol, l'acide *p*-Coumarique, la naringine et la diosmine.



Les pics du profil correspondent à : 1, résorcinol ; 2, Epigallocatechine ; 3 : Acide chlorogénique ; 4 : Acide syringique ; 5 : acide férulique ; 6 : myricitrine ; 7 : lutéoline 7- O- glucoside ; 8 : rutine ; 9 : acide rosmarinique ; 10 : kamepférol 3-O-rutinoside ; 11 : isorhamnetine 3-O- rutinoside ; NI : non identifiés.

### 3.5. Identification des composés volatils de l'huile essentielle

Le profil chromatographique de la figure 3 montre la présence de 11 composés volatils représentant des pics d'ampleurs distinctes dont 4 ne sont pas identifiés. Cette huile essentielle se caractérise par la présence des composés majoritaires à savoir le carvone, le 1,8 cinéole et le limonène. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Chrysargyris et al. (2017) qui ont montré que la composition chimique de *M. spicata* est constituée essentiellement par des monoterpènes oxygénés tel que le carvone avec des concentrations élevées. Ainsi, le pourcentage de ce composé varie selon l'origine de l'espèce, par exemple en Egypte les proportions du carvone varient de 46.4% à 68.55%, à Canada (59%–74%), en Colombia (61.53%) et finalement en Turquie (78.35%–82.2%) (Snoussi et al., 2015).



**Figure 3.** Profil chromatographique de l'huile essentielle des feuilles de *Mentha spicata* analysée par CPG-FID  
1: camphène, 2 :  $\beta$ -pinène, 3:  $\alpha$ -phallandrène ; 4 : 1,8 cinéole ; 5 : limonène ; 6 : bornéol ; 10 : carvone ; 7,8,9 : et 11 composés non identifiés.

#### 4. Conclusion

A l'issue de ce travail, on a montré que l'espèce tunisienne *Mentha spicata* est dotée d'une richesse incontournable de molécules bioactives notamment en polyphénols. Cette originalité est due principalement à plusieurs facteurs tels que la nature du solvant utilisé, la méthode et le temps d'extraction, Cette étude a permis de dévoiler que la sonication est le procédé le plus adéquat à extraire ces métabolites secondaires qui sont responsables des différentes activités biologiques étudiées principalement le potentiel antioxydant. Une excellente performance a été notée pour les huiles essentielles qui sont dotées des meilleures potentialités biologiques essentiellement antioxydante et antibactérienne. Ces HE peuvent être utilisés comme sources d'antioxydants naturels qui substituent les antioxydants synthétiques.

#### 5. References

- Abootalebian M, Keramat J, Kadivar M, Ahmadi F, Abdinian M (2016)** Comparison of total phenolic and antioxidant activity of different *Mentha spicata* and *M. longifolia* accessions. *Ann Agric Sci* 61: 175-179.
- Annegowda HV, Bhat R, Tze LM, Karim AA, Mansor SM (2011)** The free radical scavenging and antioxidant activities of pod and seed extract of *Clitoria fairchildiana* (Howard) - an underutilized legume. *J Food Sci Technol* 50: 535-41.
- Baran EJ, Peterson LR, Finegold SM (1994)** Methods for testing antimicrobial effectiveness in bailey and scott's diagnostic microbiology, ninth ed, St. Louis, Missouri, 168p.
- Bourgou S, Serairi Beji R, Medini F, Ksouri R (2016)** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *JNS* 28 : 1649-1655.
- Brahmi F, Hauchard D, Guendouze N, Madani K, Kiendrebeogo M, Kamagaju L, Stévigny C, Chibane M, Duez P (2015)** Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian *Mentha* species: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. rotundifolia* (L.) Huds (Lamiaceae). *Ind Crops Prod* 74: 722-730.
- Brahmi F, Madani K, Dahmoune F, Rahmani T, Bousbaa K, Oukmanou S, Chibane M (2012)** Optimization of solvent extraction of antioxidants (phenolic compounds) from Algerian mint (*Mentha spicata* L.). *Phcog Commn* 2: 72-86.
- Chrysargyris A, Xylia P, Botsaris G, Tzortzaki N (2017)** Antioxidant and antibacterial activities, mineral and essential oil composition of spearmint (*Mentha spicata* L.) affected by the potassium levels. *Ind Crops Prod* 103: 202-212.
- Co M, Fagerlund A, Engman L, Sunnerheim K, Sjöberg PJR, Turner C (2012)** Extraction of antioxidants from Spruce (*Picea abies*) bark using ecofriendly solvents. *Phytochem Anal* 23:1-11.
- Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH (2002)** Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 3010-3014.
- Dhanani T, Shah S, Gajbhiye NA, Kumar S (2017)** Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Ar J Chem* 10: S1193-S1199.
- Hanato T, Kagawa HT, Okuda T (1988)** Two new flavonoids and other constituent in licore root: their relative astringency and radical scavenging affects. *Chem Pharm Bull* 36: 1090-2097.
- Mau JL, Chao GR, Wu KT (2001)** Antioxidant properties of methanolic extracts from several ear mushrooms. *J Agric Food Chem* 49 : 5461-5467.
- Patwary MHY, Nusrat YN, Mohammad S, Rajib B, Biplab KD (2013)** Analgesic, Anti-Inflammatory and Antipyretic Effect of *Mentha spicata* (Spearmint). *Bri J Pharmaceu Res* 3: 854-864.
- Singh R, Shushni MAM, Belkheir A (2015)** Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arab J Chem* 8: 322-328.
- Snoussi M, Noumi E, Trabelsi N, Flamini G, Papetti A, De Feo V (2015)** *Mentha spicata* essential oil: chemical composition, antioxidant and antibacterial activities against planktonic and biofilm cultures of *Vibrio spp.* *Strains. Molec* 20 : 14402-14424.
- Sun B, Richardo-da-Silvia JMI (1998)** Springer, Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J Agric Food Chem* 46: 4267-4274.