



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université Dr. MOULAY TAHAR-Saida-
Faculté des sciences
Département de Biologie

Laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie et Valorisation Biologiques des
Plantes (LBPVBP)

Mémoire présenté en vue l'obtention du diplôme:

Master en Biologie

Spécialité : Biotechnologie Végétale

Thème

Contribution à l'étude des activités
biologiques des huiles essentielles du
***Mentha piperita* (menthe poivrée)**

Présenté par : M^{elle}. HASSANI Rachida

M^{elle}. BENATALLAH Saada

Soutenue publiquement le /06/2016

Devant le jury :

HACHEM Kadda	Maitre de conférences A	Président
HACHEM Yasmine	Maitre assistant A	Examineur
HALLA Nouredine	Maitre assistant A	Encadreur

Année Universitaire : 2015-2016

Remerciements

*Nous remercions avant tous **Allah** le tout puissant, de nous avoir guidé pendant toutes nos années d'études et nous avoir données la volonté, la patience et le courage pour terminer notre travail.*

Nous remercions chaleureusement Mr. HALLA Noureddine pour nous avoir encadré et dirigé ce travail et pour sa disponibilité, ses conseils et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer.

Nous remercions les membres du jury pour les remarques, suggestions et critiques que vous allez apporter, qui vont, sans doute, nous permettre d'enrichir le contenu de ce travail.

Mr. HACHEM Kadda (MCA)

et Mme HACHEM Yasmine (MAA)

C'est un grand merci que nous adressons à tous les membres du Laboratoire de l'Université de Saida pour leur gentillesse, leur écoute et leurs conseils: Professeurs, techniciens et étudiants.

Nous remercions nos collègues et nos amies pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble. Enfin, nous tenons à remercier l'ensemble des enseignants qui ont assuré notre formation tout au long de nos années d'études.

Résumé :

Ce travail a pour but une meilleure connaissance des plantes médicinales poussant en Algérie et de leurs extraits. Parmi ces plantes et qui sont très répandues dans notre pays la menthe (*Mentha piperita*). Elle est une plante médicinale appartenant à la famille des Lamiacées, cette espèce connue sous le nom de « Nanaa ». Ces huiles essentielles (HE) possèdent des importantes activités antimicrobiennes et antioxydante.

La plante de menthe est cultivée dans la région de Tifrit à Saida. Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation. Après, les HE ont été utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne et antioxydante, déterminer le taux des polyphénols totaux, et la cytotoxicité sur les érythrocytes. Nous avons utilisé la méthode de microdilution sur milieu liquide pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricide (CMB) ou fongicide (CMF). La méthode de DPPH et la réduction du fer sont deux méthodes utilisées pour évaluer l'activité antioxydante.

L'HE de la *Mentha piperita* est un liquide limpide à odeur fraîchissant avec un rendement de 1,1%. Le taux de polyphénols totaux est de 0.104 mg EAG/g MS. Les CMI obtenues vis-à-vis des bactéries sont comprises entre 6.25 et 50 mg/ml. Les résultats obtenus indiquent que *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* sont les souches les plus sensibles. Par contre *Salmonella enterica* et *Enterococcus faecalis* sont les plus résistantes. Les CMI obtenues vis-à-vis des levures sont comprises entre 6.25 et 50 mg/ml et des résultats obtenus indiquent que l'huile essentielle de menthe poivrée a une capacité inhibitrice de la croissance mycélienne des souches testées. L'EC₅₀ par la méthode de DPPH est de 7.88 mg/ml qui a montré l'existence d'une activité antioxydante de l'huile essentielle de *Mentha piperita*. L'essai de la cytotoxicité de nos HE vis-à-vis les globules rouges révèle des taux d'hémolyse de 40 % jusqu'à 65 % pour les concentrations les plus élevées.

Les mots clé : huile essentielle, *Mentha piperita*, activités biologiques, activité antioxydante, antibactérienne, antifongique, polyphénol, cytotoxicité.

Abstract:

This work aims at a better knowledge of medicinal plants growing in Algeria and their extracts. Among these plants and which are very answered in our country mint (*Mentha piperita*). It is a medicinal plant belonging to the Lamiaceae family, the species known as the "Nanaa". Their essential oils (EO) have significant antimicrobial and antioxidant activities.

The mint plant is grown in the region of Tifrit in Saida. The essential oils were obtained by steam distillation. Afterwards, The EO were used to evaluate the antimicrobial and antioxidant activity, determine the rate of total polyphenols, and cytotoxicity on erythrocytes. We used the method of microdilution on liquid medium to determine the minimum inhibitory concentrations (MIC) and bactericidal (MBC) and fungicidal (MFC). The method of DPPH and iron reduction are two methods used to evaluate the antioxidant activity.

The EO of *Mentha piperita* is a clear liquid odor freshening with a yield of 1.1%. The rate of total polyphenols is from 0.104 mg EAG / g DW. The MICs obtained against bacteria are between 6.25 and 50 mg / ml. The results obtained indicate that *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* are the most sensitive strains. By against *Salmonella enterica* and *Enterococcus faecalis* are the most resistant. The MIC obtained against yeasts are between 6.25 and 50 mg / ml and the results indicate that the essential oil of peppermint has an inhibitory capacity of the mycelial growth of the tested strains. The EC₅₀ by the method of DPPH is 7.88 mg / ml, which showed the existence of an antioxidant activity of essential oil of *Mentha piperita*. The test of cytotoxicity of our HE on the red cells reveals hemolysis rate of 40% to 65% for the highest concentrations.

Key words: essential oils, *Mentha piperita*, biological activity, antioxidant, antibacterial, antifungal, polyphenol, cytotoxicity.

الملخص

ويهدف هذا العمل إلى معرفة أفضل بالنباتات الطبية المتنامية في الجزائر ومستخلصاتها . من بين هذه النباتات، والتي تعتبر شائعة جدا في بلادنا ما يسمى بالنعناع *Mentha pepirita* . يعتبر هذا النوع من أهم النباتات الطبية تعود لعائلة العائلة الشفوية، والمعروف عندنا باسم النعناع . الزيوت الأساسية للنعناع لديها أنشطة مضادة للميكروبات ومضادة للأكسدة كبيرة.

يزرع نبات النعناع في منطقة تيفريت بولاية سعيدة . تم استخراج الزيوت الأساسية عن طريق التقطير البخار . بعد ذلك، تم استخدام هذه الزيوت لتقييم نشاط مضادات الميكروبات ومضادات الأكسدة، وتحديد نسبة إجمالي البوليفينول، وكذا السمية الخلوية عند كريات الدم الحمراء . استخدمنا طريقة التخفيفات صغيرة الحجم على الوسط السائل لتحديد الحد الأدنى للتركيز المثبطة (MIC) ومبيد للجراثيم (MBC) وفطريات (MFC) . كما أنه تم استعمال طريقة DPPH وإرجاع الحديد كنوعان من الأساليب المستخدمة لتقييم النشاط المضاد للأكسدة.

إن الزيوت الأساسية لـ *Mentha pepirita* سائل له رائحة واضحة بمرود قدر بعائد 1.1% . أما معدل إجمالي البوليفينول هو من 0.104 ملغ EAG / غرام مادة جافة. الحد الأدنى للتركيز المثبطة تجاه البكتيريا كان بين 6.25 و 50 ملغ / مل . وتشير النتائج المتحصل عليها أن *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* هي السلالات الأكثر حساسية، أما *Salmonella enterica* و *Enterococcus faecalis* هي الأكثر مقاومة . أما الخمائر فكانت التراكيز الأدنى بين 6.25 و 50 ملغ / مل وكذا بالنسبة لنمو فطر من السلالات التي تم اختبارها . أظهر EC50 من خلال طريقة DPPH عن تركيز يقدر بـ 7.88 ملغ / مل، والذي أظهر وجود نوع من النشاط المضاد للأكسدة . وأخيرا فإن اختبار الفعل السام اتجاه خلايا الدم الحمراء لدينا كشف عن معدل انحلال الدم من 40% إلى 65% عن أعلى تركيزات.

الكمات المفتاحية : الزيوت الأساسية ، النعناع ، الفاعلية البيولوجية، ضد الفطريات، ضد الخمائر، ضد البكتيريا، مضادات الأكسدة، السمية الخلوية. معيار الفوليفينول.

Introduction
générale

Pendant longtemps, l'homme essaye de trouver des solutions des maladies les plus gênées (infection microbienne, cancer, diabète...). Les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales ont été le principal, voir l'unique recours de la médecine chez quelques populations. Selon les découvertes archéologiques, l'homme de Néanderthal, (plus de 30 000 ans), utilisait déjà quelques plantes médicinales comme l'Achillée, la Centaurée ou la Rose trémière. Dès l'Antiquité, les pharmacopées sont développées dans le monde entier. 2900 avant J.C., le plus vieux traité de médecine chinois, mentionne quelques 365 remèdes à base de plantes. (**Annales Pharmaceutiques Françaises ; 2015**)

En Afrique, la médecine traditionnelle est une partie de la culture populaire, malgré le fait que cette forme de médecine, ne soit pas aussi bien organisée qu'en Inde ou Chine. Donc la pratique de médecine traditionnelle en Afrique nécessite des améliorations considérables. (**Karthala ; 2010**)

En Algérie, les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans les traitements traditionnels de plusieurs maladies, ils n'ont pas mis en place au niveau des hôpitaux mais restent limitées aux patients, tradithérapeutes et herboristes ce qui fait toujours chercher à comprendre les phénomènes naturels et à élucider leurs secrets pour mieux les maîtriser et les expliciter.

Les huiles essentielles sont des molécules naturelles existant dans les plantes. Elles montrent plusieurs activités biologiques par leur principe actif. Les huiles sont récoltées par distillation à la vapeur de la plante fraîche. Elle a donc l'odeur de la plante, mais en beaucoup plus puissant. Elles sont des produits à forte valeur ajoutée, utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires (**Kalt ; 2011**).

L'Algérie bénéficie d'un climat très diversifié, pour sa position biogéographique comme les régions montagneuses et sahariennes. Parmi nombreuses plantes utilisées en Algérie, nous avons utilisé une plante de notre région TIFRITE à Saida, il s'agit de: *Mantha pepirita*.

La *Mantha pepirita*., généralement, connu sous le nom de menthe sauvage, il a appelé poivrée, il est une plante à croissance rapide et éternelle qui a long, d'un rhizome souterrain, ce qui peut atteindre 1-2 m de haut.

Diverses activités biologiques ont été rapportées pour l'espèce de Menthe de la famille Lamiaceae. Cette plante est aromatique, avec plusieurs activités révélées (antibactérienne,

antifongique, et propriétés insecticides). Elle est principalement employée pour, crampes d'estomac, asthme, flatulence, indigestion ... (**Didier ; 2004**).

L'objectif de notre travail est d'étudier les activités biologiques de l'huile essentielle obtenue de la partie aérienne de la plante *Mantha pepirita*. Dans la région de Tifrite à Saida. Notre travail consiste :

- Extraction d'huile essentielle.
- Dosage des polyphénols totaux.
- Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la méthode des micro-dilutions sur milieu liquide et les concentrations minimales bactéricide (CMB) ou fongicide (CMF) des souches références.
- Etude de l'effet antibactérien et antifongique des huiles pour 14 souches bactériennes, trois souches levure et quatre souches de moisissure.
- Evaluation de l'activité antioxydante de nos huiles essentielles par deux méthodes : piégeage du radical DPPH[•] et pouvoir réducteur du fer.
- Etude de la cytotoxicité d'huile essentielle vis-à-vis des érythrocytes.

Synthèse
bibliographique