

**REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID DE TLEMCCEN**

**FACULTÉ DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE, ET  
SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS**

**Département de biologie**

**Mémoire de fin d'étude**

Présenté par

**BENMOSTEFA MANEL**

**BOUANANI BENAOUA**

En vue d'obtention du

**Diplôme de Master**

**Option : Sécurité Alimentaire et Assurance Qualité**

**Thème**

**L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier  
sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen**

**Soutenu le 13/07/2021, devant le jury composé de :**

<b>Président</b>	<b>Mr. TEFIANI Chokri</b>	<b>MCA</b>	<b>Université de Tlemcen</b>
<b>Examineur</b>	<b>Mr. BENYOUB Boumediene</b>	<b>MAA</b>	<b>Université de Tlemcen</b>
<b>Encadreur</b>	<b>Dr. YOUCEFI Fatma</b>	<b>MCA</b>	<b>Université de Tlemcen</b>
<b>Co-Encadreur</b>	<b>Mlle KHERBACHE Atika</b>	<b>Doctorante</b>	<b>Université de Tlemcen</b>

**Année Universitaire 2020/2021**

## Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Allah le tout puissant, d'avoir donné à l'homme le pouvoir de raisonner et d'exploiter les vérités de l'univers.

Nous exprimons nos profonds remerciements, nos vives reconnaissances et nos sincères gratitudes à Mme YOUCEFI Fatma (MCA) pour avoir accepté de nous encadrer et pour ses conseils et ses précieuses orientations pour nous avoir accordée sa confiance, ainsi que le temps qu'elle nous à consacré pour notre travail.

Nos remerciements vont également à Msr TEFIANI Chokri (MCA) enseignant au département de Biologie de l'université de Tlemcen, de nos avoir honoré de présider le jury de notre soutenance.

Nous adressons aussi nos sincères remerciements à Msr BENYOUB Boumedienne (MAA), d'avoir accepté d'être membre de jury de notre mémoire et pour avoir accepté d'en être examinateur.

Je tiens à remercier pour les personnes ayant de près ou de loin contribué à la réussite de ce travail, ma famille mes collègues pour leur soutien et encouragement.

## Dédicace

C'est avec profonde gratitude et sincères remerciements que je dédie ce modeste travail, à tous ceux qui me sont chers, qui ont contribué à ma réussite de près ou de loin :

### À mon très cher père

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut, tous les mots ne sauraient exprimer ma gratitude, mon amour, ma reconnaissance. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Qu'Allah, le tout miséricordieux, te préserve, t'accorde santé, bonheur et te protège de tout mal.

### À ma très chère mère

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

### A ma chère sœur et mon adorable frère

Merci de m'avoir accompagné pendant toute ma vie, d'être toujours là pour moi et de m'avoir supporté. Je vous aime tous. Qu'Allah le tout puissant, vous protège et vous exauce tous vos vœux.

À mes très chers amis, Amel, Manel, Imade, Atika, Linda, Yasmine, Téma, Ikram,  
Pour toute l'aventure qu'on a vécue ensemble durant les dernières années, je  
vous félicite pour votre patience, soutien et fidélité, Merci d'être à mes côtés  
dans mes pires et bons moments.

À tous les gens que j'aime sans exception, Recevez mes plus belles  
reconnaisances, témoignages de mon amour et de mon estime.

**MANEL**

## **Dédicace**

Aux êtres les plus chers à mon cœur, mon père Mhammed et ma mère Fouzia, qui ont consacré leur noble existence à bâtir la mienne. De ma vie je ne saurai assez leur exprimer mon affection, ma reconnaissance et mon amour.

A mes adorables frères Maffouk, Kaddour et Abdelfatah qui ont été toujours là à mes côtés,

A mes chères sœurs Sarah et Fatima Elzohra, qui font une partie de mon bonheur.

A toute ma famille, oncles et tantes, cousins et cousines, petit et grand sans exception.

A tous mes amis, et toute personne qui je connais, à toute la promotion Master II Sécurité Agroalimentaire et Assurance Qualité 2019.

Tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail.

**BENAOUDA.**

## Liste des figures

- Figure 1 :** La répartition géographique des zones importantes pour les plantes (ZIP).
- Figure 2 :** Appareillage utilisé pour extraction assisté par entrainement à la vapeur d'eau.
- Figure 3 :** Appareillage utilisé pour extraction assisté par les micro-ondes.
- Figure 4 :** Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation.
- Figure 5 :** Le *Rubus fruticosus*.
- Figure 6 :** Aire de la répartition mondiale de *Rubus fruticosus*.
- Figure 7 :** Localisation de Nedrouma à willaya de Tlemcen.
- Figure 8 :** Localisation de Fellaoucen à willaya de Tlemcen.
- Figure 9 :** Préparation des échantillons pour l'extraction.
- Figure 10 :** Les macéras hydroalcooliques.
- Figure 11 :** L'appareille de retarvapor.
- Figure 12 :** Pourcentage d'inhibition en fonction de concentration.
- Figure 13 :** Effet de l'extrait de *Rubus fruticosus* sur les différentes souches bactériennes (*Candida albicans* et *Listeria monocytogenes*).

## **Liste des tableaux :**

**Tableau 1 :** Listes des réactifs utilisés et leurs références.

**Tableau 2 :** Rendement de l'extrait de *Rubus fruticosus*.

**Tableau 3 :** Diamètres et zones d'inhibition des souches bactériennes.

## Liste des abréviations

**BHIB** : Boillon cœur-cervelle

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**DPPH** : 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazole

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**FAO** : Food et Agriculture Organisation

**HE** : Les huiles essentielles

**MH** : Muller-Hinton

**M** : Masse en gramme de l'extrait sec

**M0** : Masse en gramme de matière végétale utilisée

**MeOH** : Méthanol

**mg** : Milligramme

**ml** : Millilitre

**min** : Minutes

**UFC** : Unité Formant Colonie

**ul** : Microlitre

**°C** : Degré Celsius

**Rmt** : Rendement de l'extrait exprimé en pourcentage



## Sommaire

<b>Introduction générale .....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre 1 : Les plantes médicinales .....</b>	<b>4</b>
<b>1. Histoire des plantes aromatiques et médicinales .....</b>	<b>5</b>
<b>2. Définition des plantes médicinales .....</b>	<b>5</b>
<b>3. Le principe actif des plantes médicinales .....</b>	<b>5</b>
<b>4. Les plantes médicinales en Algérie .....</b>	<b>6</b>
<b>Chapitre 2 : Les huiles essentielles .....</b>	<b>7</b>
<b>1. Définition des huiles essentielles .....</b>	<b>8</b>
<b>2. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles .....</b>	<b>8</b>
<b>3. Propriétés physiologiques .....</b>	<b>8</b>
<b>4. Domaines d'utilisation des huiles essentielles .....</b>	<b>9</b>
<b>4.1. Aromathérapie .....</b>	<b>9</b>
<b>4.2. Industrie agroalimentaire .....</b>	<b>9</b>
<b>4.3. Parfumerie et cosmétologie .....</b>	<b>10</b>
<b>5. Procédés d'extraction .....</b>	<b>10</b>
<b>5.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau .....</b>	<b>10</b>
<b>5.2. Hydrodistillation assistée par micro-ondes .....</b>	<b>11</b>
<b>5.3. Extraction par solvant organique .....</b>	<b>12</b>
<b>5.4. Extraction par hydrodistillation .....</b>	<b>12</b>
<b>5.5. Macération .....</b>	<b>13</b>
<b>6. Conservation des huiles essentielles .....</b>	<b>13</b>

<b>7. Toxicité des huiles essentielles .....</b>	<b>13</b>
<b>8. Activités biologiques des huiles essentielles... ..</b>	<b>14</b>
<b>8.1. L'activité antioxydant .....</b>	<b>14</b>
<b>8.2. L'activité antimicrobienne .....</b>	<b>14</b>
<b>9. La plante médicinale utilisé .....</b>	<b>15</b>
<b>9.1. Description .....</b>	<b>15</b>
<b>9.2. Distribution mondiale .....</b>	<b>16</b>
<b>9.3. Habitat .....</b>	<b>17</b>
<b>Chapitre 3 : Matériel et méthode .....</b>	<b>18</b>
<b>1. Matériel .....</b>	<b>19</b>
<b>1.1. Situation géographique .....</b>	<b>19</b>
<b>1.1.1. Nedroma .....</b>	<b>19</b>
<b>1.1.2. Fellaoucen.....</b>	<b>19</b>
<b>1.2 Matériel végétal .....</b>	<b>19</b>
<b>1.3 Matériel biologique .....</b>	<b>20</b>
<b>1.3.1. Matériel destinés à l'extraction des huiles essentielles .....</b>	<b>20</b>
<b>1.3.2. Matériel destinés à l'étude microbiologique .....</b>	<b>20</b>
<b>1.3.3. Milieux de culture utilisés .....</b>	<b>21</b>
<b>1.3.4. Les réactifs .....</b>	<b>21</b>
<b>1.3.5. Les souches bactériennes .....</b>	<b>21</b>
<b>2. Méthode .....</b>	<b>21</b>
<b>2.1. Préparation des échantillons pour l'extraction .....</b>	<b>21</b>
<b>2.2. Procédés d'extraction utilisée .....</b>	<b>22</b>

<b>2.2.1. Extraction par macération dans le méthanol aqueux .....</b>	<b>22</b>
<b>2.2.2.1. Evaporation .....</b>	<b>22</b>
<b>2.3. Conservation des huiles essentielles .....</b>	<b>23</b>
<b>2.4. Détermination du rendement des huiles essentielles .....</b>	<b>23</b>
<b>2.5. Evaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne .....</b>	<b>23</b>
<b>2.5.1. Evaluation de l'activité antioxydant .....</b>	<b>23</b>
<b>2.5.1. Le test DPPH .....</b>	<b>23</b>
<b>2.5.2. Evaluation de l'activité antibactérienne .....</b>	<b>24</b>
<b>2.5.2.1. Méthode des puits .....</b>	<b>25</b>
<b>Chapitre 4 : Résultats et discussion .....</b>	<b>27</b>
<b>4.1. Extraction des huiles essentielles .....</b>	<b>28</b>
<b>4.2. Evaluation de l'activité antioxydant .....</b>	<b>28</b>
<b>4.2.1. La méthode de DPPH .....</b>	<b>28</b>
<b>4.3. Evaluation de l'activité antibactérienne .....</b>	<b>29</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>33</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>35</b>

# *Introduction générale*

Depuis des milliers d'années, l'humanité utilise diverses plantes rencontrées dans son environnement pour soigner et guérir toutes sortes de maladies (**Boumediou et Addoun, 2017**). Aujourd'hui encore, les plantes jouent un rôle essentiel dans l'art de soigner et de guérir à travers le monde. Selon **Quyoun (2003)**, il existe plus de 80 000 espèces de plantes médicinales sur notre planète, ces plantes représentent un énorme réservoir de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structures chimiques et ils possèdent une très large gamme d'activité biologique. Cependant, l'évolution de ces activités reste une tâche très intéressante qui peut faire l'objet de nombreuses études (**Mazari et al., 2010**).

Chaque espèce végétale élabore des métabolites secondaires, qui sont impliqués dans différents processus propres à la plante, à la tête de ces métabolites secondaires nous avons les huiles essentielles (**Iserine, 2001**).

Actuellement, environ 3 000 huiles essentielles sont décrites, dont environ 300 sont commercialement importantes dans des applications pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires, agronomiques et de parfumerie (**Lardry et Haberkorn, 2007**). Cette utilisation est liée à leur large spectre d'activités biologiques reconnues (**Cimanga, 2002**).

L'effet biologique, antibactérien sans développement de phénomène de résistance, antioxydant, activateur du système immunitaire, stimulateur des processus de digestion (**Guilliert et al., 2007**).

Les huiles essentielles : elles sont riches en composés phénoliques. Ces composés sont responsables du pouvoir antioxydant (**Richard, 1992**), et ils ont une forte activité antimicrobienne (**Pichon, 2008**).

Dans l'industrie alimentaire, jusqu'à présent, de nombreux microorganismes pathogènes tels que *Escherchia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebseilla pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Bacilus cureus*, *Bacilus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, ont été rapportés comme agents (**Walker, 1988 ; Betts et al., 1999**). Les aliments frais et/ou transformés sont susceptibles d'être contaminés pendant leur production, leur vente et leur distribution. Ainsi, à l'heure actuelle, il est nécessaire d'utiliser des conservateurs chimiques pour empêcher la multiplication des microbes dans les aliments (**Sagdic et Ozcan, 2003**).

En raison de l'impact des aliments avariés sur l'économie et des préoccupations des consommateurs quant à la sécurité des aliments contenant des produits chimiques, une grande

attention a été accordée aux composés naturels (**Hsieh et al., 2001 ; Alzoreky et Nakahara, 2003**).

Les propriétés naturelles des huiles essentielles en font des conservateurs très prometteurs pour l'industrie alimentaire. L'utilisation des huiles essentielles est un choix pertinent face à un risque spécifique de contamination ou à la nécessité de réduire ou de remplacer les conservateurs chimiques ou synthétiques (**Caillet et Lacroix, 2007**).

En Algérie, il existe un intérêt croissant pour l'étude des essences de plantes aromatiques et médicinales. Ainsi, l'intérêt de notre travail s'est porté sur l'extraction des huiles essentielles par macération de *Rubus fruticosus* et de tester leur activité antibactérienne par la méthode des puits, et leur activité antioxydante par la méthode du DPPH.

La revue bibliographique de cette étude s'articule en trois parties. La première partie est articulée en deux chapitres, le premier chapitre traite des généralités sur les plantes médicinales. Le deuxième chapitre traite des généralités sur les huiles essentielles et les activités biologiques des huiles essentielles, et des généralités sur *Rubus fruticosus*.

La deuxième partie illustre le matériel et les méthodes utilisés pour l'extraction et l'évaluation des activités biologiques (antioxydant, antibactérien) de l'huile essentielle extraite de *Rubus fruticosus*.

La troisième partie présente les résultats obtenus suivis des interprétations.

Le document est couronné par une conclusion générale et des références bibliographiques.

# ***CHAPITRE 01 :***

## *Les plantes médicinales*

## **Chapitre 01 : Les plantes médicinales**

### **1.1. Histoire des plantes aromatiques et médicinales**

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine (**Bounihi, 2016**). Les Egyptiens ont constitué la première législation des plantes médicinales en « pharmacopée » dont le nom dérive du mot égyptien « Farmake » (qui guérit).

En Asie, et plus particulièrement en Chine, l'empereur « Chen-Noung », fut le premier à étudier la phytothérapie et à dégager de l'expérimentation certains effets thérapeutiques ou, au contraire nocifs des plantes. Les plantes aromatiques comme la cannelle, le poivre noir et le gingembre avaient leur place dans la médecine chinoise vieille de 3000 ans (**Valent et al., 1978**).

Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs aux certains sont issus de métabolisme secondaire. Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, déjà environ 170000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes (**CHAABI, 2008**).

### **2. Définition des plantes médicinales**

Il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Khiredine, 2013**).

A l'échelle internationale, plus de 35000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Boumediou et Addoun, 2017**).

### **3. Le principe actif des plantes médicinales**

Le principe actif est une molécule contenue dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisée pour la fabrication de médicaments. Cette molécule a un intérêt thérapeutique curatif ou préventif, elle est issue de plantes fraîches ou séchées, on peut citer comme parties utilisées : les racines, les écorces, les sommités fleuries, les feuilles, les fleurs, les fruits, ou les graines. Les plantes contiennent des métabolites secondaires qui



## L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen

peuvent être considérés comme des substances indirectement indispensables à la vie des plantes par rapport aux métabolites primaires dont ils sont les principaux dans le développement et la croissance de la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi qu'à la tolérance contre les chocs (UV, insectes nuisibles, variation de température...etc.). Ces composés sont des composés phénoliques, des terpènes et des stéroïdes et des composés azotés dont les alcaloïdes (Zerari, 2016).

### 4. Les plantes médicinales en Algérie

En Algérie il existe 289 espèces assez rares, 647 espèces rares, 640 espèces très rares, 35 espèces rarissimes et 168 espèces endémiques, 1779 plantes intéressantes à faire valoriser (FAO, 2012).



**Figure 1 :** la répartition géographique des zones importantes pour les plantes (ZIP).

## ***CHAPITRE 02 :***

### *Les huiles essentielles*

# **L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen**

---

## **Chapitre 02 : Les huiles essentielles**

### **1. Définition des huiles essentielles**

Les huiles essentielles (HE) ou essences végétales sont des substances odorantes volatiles contenues dans les plantes supérieures. Ce sont des produits huileux, donc de nature hydrophobe, extraits du matériel végétal, soit par distillation, soit par entraînement à la vapeur ..... **(Valent J., 1984)**

Les huiles essentielles appelées essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse de la plante : elles sont odorantes et très volatiles, et s'évaporent rapidement dans l'air **(Padrini F. et Leucheroni M.T., 1996)**.

### **2. Propriétés physico-chimiques**

La composition chimique des essences est complexe et peut varier en fonction de l'organe, des facteurs climatiques, de la nature du sol, des pratiques culturales et de la méthode d'extraction **(Guignard J.L., 2000)**.

Les huiles essentielles ont une composition assez complexe. Il existe de nombreux constituants qui appartiennent à trois catégories de composés : les composés terpéniques, les composés aromatiques et divers **(Azevido N.R.)**.

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante, volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques courants et l'alcool, entraînaibles à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau **(AFSSAPS, 2008)**.

Il est donc indispensable d'utiliser un tensioactif pour permettre leur mise en suspension dans l'eau. Ils ont une densité généralement inférieure à celle de l'eau et un indice de réfraction élevé. Elles sont le plus souvent colorées : ex : rougeâtre pour les huiles de cannelle et l'une des plus altérables et sensibles à l'oxydation. Par conséquent, leur conservation nécessite l'obscurité et l'humidité. C'est pourquoi, l'utilisation de bouteilles en verre opaque est recommandée **(Couic-Marinier F. et Lobstein A., 2013)**.

# **L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen**

---

## **2. Propriétés physiologiques**

-Effet irritant sur la peau et les muqueuses ;

-Propriétés désinfectantes et actions bactéricides ;

-Un effet exportateur car elles désinfectent les voies respiratoires, tout en libérant le mucus, elles sont également ajoutées aux gargarismes, aux inhalations et aux gouttes nasales.

Selon **Paris M.** et **Hurabielle M.**, (1981), les huiles essentielles ont d'autres propriétés physiologiques :

-Certaines ont des propriétés antiseptiques au niveau des voies urinaires (huile essentielle de Buchu) ;

-Certaines ont des propriétés stimulantes du système nerveux central (ex : plantes à anéthole) ;

-D'autres sont actives, en usage externe, comme anti-inflammatoires, cicatrisantes ? (Lavande, Romarin, Sauge...).

## **4. Domaines d'utilisation des huiles essentielles**

En raison de leurs propriétés antiseptiques, les huiles essentielles peuvent être utilisées de plusieurs manières, elles ne sont pas des produits finis dans la mesure où, une fois produites, elles peuvent être utilisées comme intrants dans la fabrication de plusieurs produits : elles sont en fait destinées à quatre grands secteurs industriels (**Grysole J., 2004**).

### **4.1. Aromathérapie**

L'aromathérapie, qui signifie littéralement " soin par les odeurs " est le terme utilisé pour désigner la thérapie basée sur l'utilisation des huiles essentielles. C'est la capacité et l'art de guérir avec des huiles essentielles (**Buronzo, 2008**).

Les huiles essentielles constituent une défense naturelle contre les bactéries qui sont de plus en plus résistantes aux médicaments et aux produits chimiques de synthèse (**Bakkali F., 2008**).

## **L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen**

---

### **4.2 Dans l'agroalimentaire**

Des études réalisées dans le monde entier, montrent que les huiles essentielles peuvent être ajoutées à presque tous les aliments (**Caillet et Lacroix, 2007**).

Dans l'industrie alimentaire, la conservation des aliments sans affecter leurs qualités organoleptiques est un objectif clé. Les huiles essentielles sont actuellement appréciées dans l'industrie alimentaire en raison de leur activité antimicrobienne contre les micro-organismes d'altération et les principes pathogènes, notamment *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Echerichia coli*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* (**Burt, 2004**).

Les huiles essentielles jouent un rôle essentiel dans l'aromatisation des aliments. En effet, elles donnent du goût aux condiments (poivre, gingembre) et aux arômes (menthe, anis, orange, thym, laurier). A faible dose, certaines substances ont un effet favorable sur la digestion, ce qui explique leur utilisation dans les liqueurs (essence d'anis ou anis étoilé). Les huiles essentielles entrent donc, pour leurs diverses propriétés, dans la composition des arômes utilisés fréquemment aujourd'hui dans tous les produits alimentaires tels que les plats cuisinés ou prêts à consommer (**Porter, 2001**).

D'autre part, les huiles essentielles sont également utilisées dans les aliments comme exhausteurs de goût (**Brud, 2010**).

### **4.3 Dans les cosmétiques**

Les propriétés odoriférantes des huiles essentielles leur confèrent une consommation importante en parfumerie et en cosmétique. Dans les produits de cosmétologie et d'hygiène, on note la présence des huiles essentielles dans les préparations dermo-pharmacologiques, comme " calmantes " ou " relaxantes ", et leur utilisation dans les rouges à lèvres, les shampooings, les dentifrices, notamment les huiles essentielles de lavande, de citron, de citronnelle, qui sont utilisées. Il convient de noter qu'il existe une possibilité d'adsorption percutanée des constituants terpéniques. (**Bouamer et al, 2004 ; Bouanane et Boussehel, 2005**).

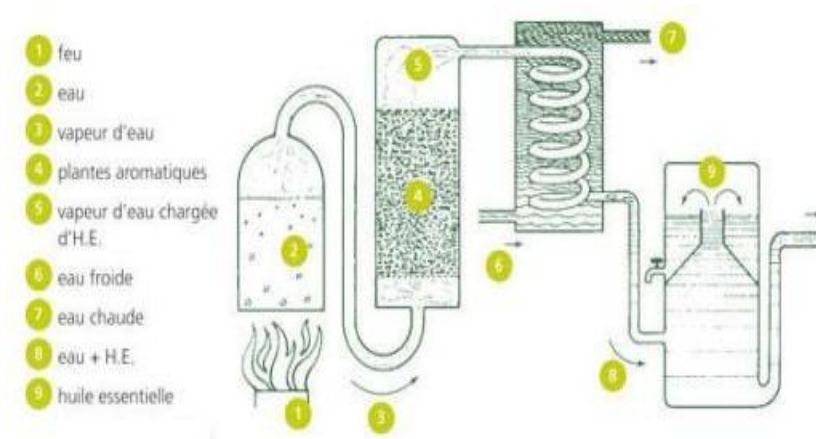
L'utilisation des huiles essentielles dans les produits cosmétiques, tels que les crèmes et les gels permet de les parfumer et de les conserver grâce à leur activité antiseptique et antioxydant, tout en leur assurant une odeur agréable (**Vargas I. et al., 1999**).

# L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen

## 5. Procédés d'extraction des huiles essentielles

### 5.1 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

La distillation par entraînement à la vapeur, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et le matériel végétal à traiter. Le principe de la distillation à la vapeur est de faire passer de la vapeur à travers la plante à une température adéquate pour détruire les cellules végétales, libérer les molécules aromatiques et les attirer dans un serpentin de refroidissement. Là, les vapeurs refroidies retournent à l'état liquide en formant un mélange "eau + huile essentielle". Recueillies dans un essencier, l'huile essentielle et l'eau florale sont séparées par une simple différence de densité. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques permet d'éviter certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation qui peuvent affecter la qualité de l'huile (Neffati., 2010).



**Figure 2 :** appareillage utilisé pour l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau.

### 5.2 Extraction assistée par micro-ondes

L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation (ramenée à quelques minutes) et d'incrémenter le rendement d'extrait. Toutefois, aucun développement industriel n'a été réalisé à ce jour. Il semble que les problèmes technologiques concernent la mise en œuvre d'un générateur de rayonnement haute fréquence susceptible d'irradier un volume important. L'extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, le matériel végétal est chauffé par des micro-ondes dans une chambre fermée dans

## L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen

---

laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont emportés par la vapeur formée par l'eau de la plante. Ils sont ensuite récupérés par des procédés classiques de condensation, de refroidissement et de décantation (Wang et al., 2006).

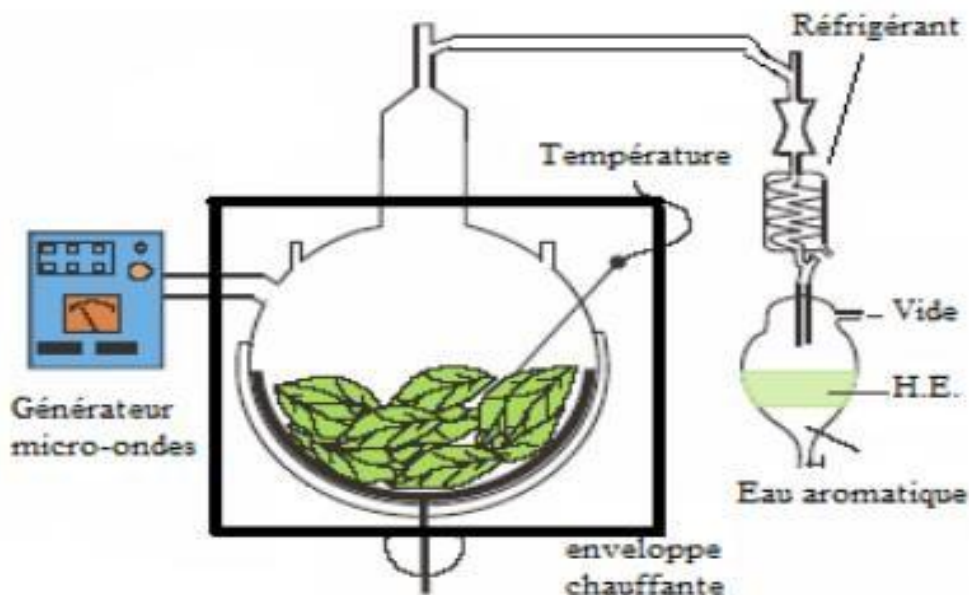


Figure 3 : appareil utilisé pour l'extraction assistée par micro-ondes.

### 5.3 Extraction par solvant organique

L'extraction par solvant organique volatile reste la méthode la plus courante. Les solvants les plus utilisés actuellement sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol. L'utilisation restrictive de l'extraction par solvants organiques volatils est justifiée par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que les réglementations liées à la protection de l'environnement (Lagunez Rivera, 2006).

### 5.4. Extraction par hydrodistillation

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau.

Le tout est porté à ébullition. Elle est généralement réalisée à la pression atmosphérique. La distillation peut se faire avec ou sans cohobage des eaux aromatiques obtenues lors de la décantation (Lagunez Rivera L., 2006).

## L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen

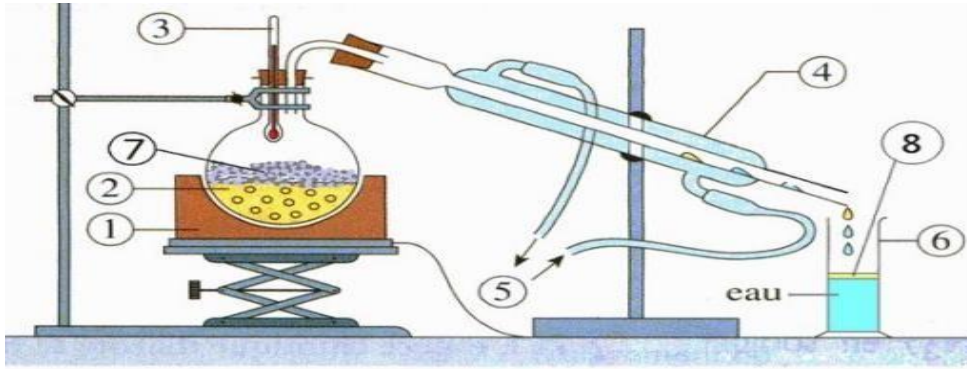


Figure 4 : appareillage par hydrodistillation .

### 5.5. Macération

Le liquide de macération peut être de l'eau, de l'alcool ou du vinaigre. Dans le cas d'une macération à l'eau, les plantes doivent être versées dans le liquide froid ou chaud pendant quelques heures (10 ou 12 heures) (Pierre et Lis, 2007). Les macérations dans l'eau ne doivent pas dépasser une douzaine d'heures par risque d'oxydation et de fermentation du liquide (Pierre et Lis, 2007).

### 6. Conservation et stockage des huiles essentielles

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent être conservées pendant plusieurs années dans certaines conditions, jusqu'à 5 ans. Les huiles essentielles sont volatiles, elles doivent donc être stockées et conservées dans des flacons opaques et fermés afin de les protéger hermétiquement en raison de leur évaporation rapide, de leur sensibilité à l'air et à la lumière (Valent J., 1984).

### 7. Toxicité des huiles essentielles

Pour les plantes, les huiles essentielles sont très concentrées en éléments chimiques actifs et peuvent présenter certains dangers. De nombreux chémotypes sont agressifs ou allergènes pour la peau, d'autres peuvent être toxiques à forte dose ou sur une longue période, il faut noter que certains chémotypes comme les cétones, sont des poisons et ne doivent jamais être absorbés (Valent, 1984).

La toxicité immédiate par les huiles essentielles est mieux connue. Parmi ces intoxications, selon (Bruneton, 1999), nous avons :

° L'essence de sobine provoque des hémorragies utérines chez la femme.



## **L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen**

---

L'essence de genévrier donne une hématurie chez l'homme.

Une dose de 2 g de menthol peut induire un spasme de la glotte qui entraîne une asphyxie.

L'anéthol cis provoque des convulsions.

Le carva col comme le thymol est irritant, astringent et caustique, ingéré à la dose de 2 g, il provoque un peu de gastralgie avec nausées, à plus forte dose, il détermine des diarrhées.

### **8. Les activités biologiques des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont connues pour leurs propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, antioxydantes et antiparasitaires. Plus récemment, on leur a également reconnu des propriétés anticancéreuses (**Valnet, 2005**).

L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique et aux éventuels effets synergiques entre ses composants. Sa valeur réside dans sa " totalité ", c'est-à-dire l'ensemble de ses constituants et pas seulement ses composés majeurs (**Lahlou, 2004**).

#### **8.1 Activité antioxydante**

Les antioxydants sont des molécules qui ont la capacité de neutraliser les radicaux libres qui sont responsables de nombreuses maladies. Les antioxydants sont des composés qui retardent ou inhibent le processus d'oxydation en bloquant l'initiation ou la propagation des chaînes de réactions oxydatives (**Behera et al, 2006**).

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation des aliments. Ce sont principalement les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (**Richard, 1992**).

Les études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation Appliquées aux Aliments (**RESALA**) de l'INRS-IAF, ont montré que l'incorporation d'huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purée de fruits, yaourts...) ou l'application par pulvérisation à la surface de l'aliment (morceau de viande, saucisse, poulet, fruits et légumes...) contribuent à préserver l'aliment de l'oxydation (**Caillet et Lacroix, 2007**).

# L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen

---

## 8.2. Activité antimicrobienne

Depuis l'Antiquité, les extraits de plantes aromatiques sont utilisés dans diverses formulations, comme les médicaments et la parfumerie (Heath, 1981). Les huiles essentielles ont été considérées comme les agents antimicrobiens les plus efficaces de ces plantes.

Les qualités microbiologiques des plantes aromatiques et médicinales sont connues. Cependant, la première preuve de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été faite en 1881 par Delacroix (Boyle, 1995).

Depuis lors, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (Burt, 2004).

La valeur des plantes médicinales réside dans certaines substances chimiques qui produisent une action physiologique sur le corps humain. Ces substances ont la capacité d'inhiber diverses bactéries pathogènes (Rajasekaran et al., 2018).

## 9. La plante utilisée

### 9.1. Description de la plante

Les ronces sont des sous-arbrisseaux vivaces, plus ou moins épineux, dont la souche ligneuse produit de longs rejets d'une longueur moyenne de 3 m, appelés turions ou sarments, à section anguleuse. Ces rejets sont bisannuels et sont munis d'aiguillons droits ou crochus plus ou moins nombreux. A la fin de la première année, les turions se recourbent, touchent terre à leur extrémité et s'enracinent (Becker et al., 1982).



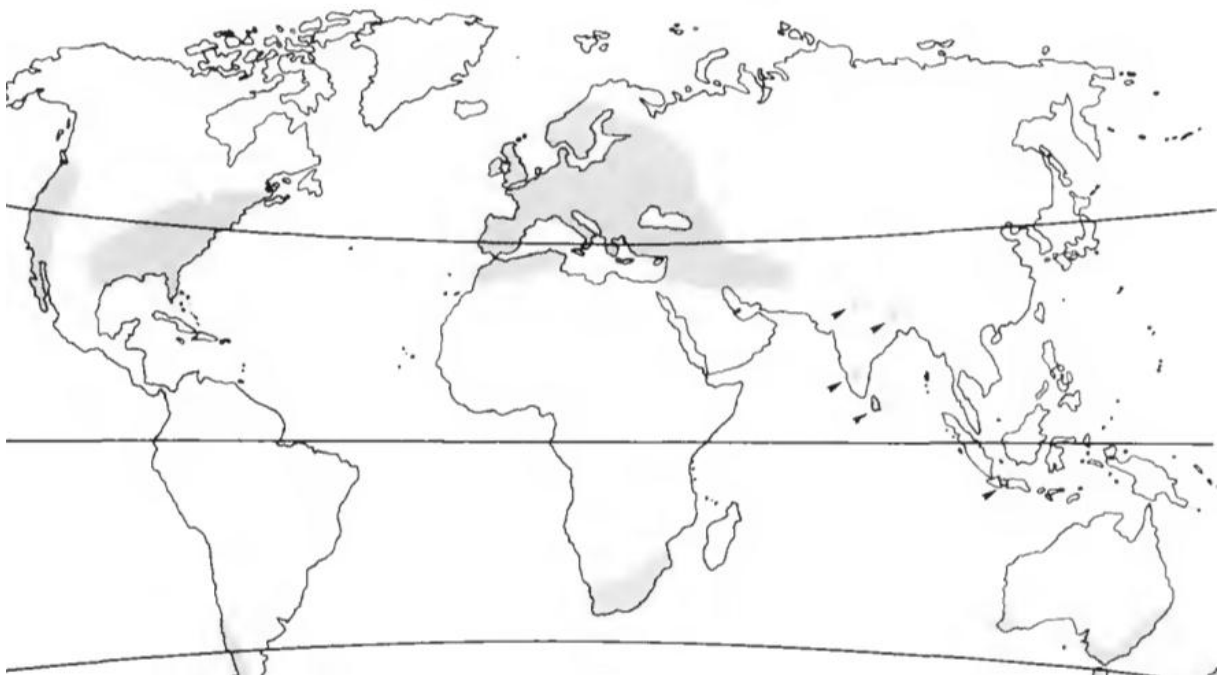
Figure 5 : le *Rubus fruticosus*.

## L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen

---

### 3.2. Distribution mondiale

On trouve *Rubus fruticosus* entre le 30<sup>e</sup> et le 65<sup>e</sup> parallèle de l'hémisphère Nord et entre le 28<sup>e</sup> et le 40<sup>e</sup> parallèle de l'hémisphère Sud. Son aire de répartition s'étend sur toute l'Europe, l'Afrique du Nord (Atlas), l'Afrique australe, le Sud-Est de l'Australie, la Nouvelle-Zélande, les Etats-Unis et le Chili. La Ronce est également présente plus près de l'Equateur, mais à des altitudes plus élevées (on en trouve jusqu'à plus de 2 000 m d'altitude).



**Figure 6 :** aire de la répartition mondiale de *Rubus fruticosus*.

### 9.3. Habitat

La Ronce est très commune dans tous les types d'habitats, mais elle ne développe régulièrement et abondamment que dans les barrières, les clairières et les coupes forestières récentes (Becker et al., 1982). En montagne, on peut la trouver jusqu'à l'étage alpin.

## ***CHAPITRE 03 :***

*Matériel et méthode.*

## 1. Matériel

### 1.1. Situation géographique

#### 1.1.1. Nedrouma

Est une commune de la wilaya de Tlemcen dans l'ouest algérien, située à proximité de la frontière marocaine, à environ 58 km au nord-ouest de Tlemcen.



**Figure 7** : localisation de Nedrouma à wilaya de Tlemcen (Benkada S., 2019).

#### 1.1.2. Fellaoucen

Est une commune de la wilaya de Tlemcen, le territoire de la commune de Fellaoucene est situé au nord de la wilaya de Tlemcen. Son chef-lieu, Mehrez, est situé à environ 31 km à vol d'oiseau au nord-ouest de Tlemcen.



**Figure 8** : localisation de Fellaoucen à wilaya de Tlemcen (Benkada S., 2019).

## **1.2. Matériel végétal**

Pour la réalisation de ce travail, nous nous sommes intéressés à la famille des Rosacées, plus précisément le *Rubus fruticosus*.

Le murier sauvage est récolté au niveau de Nedrouma et Fellaoucen en Avril 2021, puis il est débarrassé des impuretés, ensuite séché à l'ombre à une température ambiante pendant 15 jours.

## **1.3. Matériel biologique**

### **1.3.1. Matériels destinés à l'extraction des huiles essentielles**

A niveau de laboratoire on a utilisé les matériaux suivants :

- \*Béchers ;
- \*Entonnoir Erlenmayer ;
- \*Plaque chauffante ;
- \*Ampoule à décanter (fiolle) ;
- \*Thermomètre ;
- \*Balance Analytique.

### **1.3.2. Matériels destinés à l'étude microbiologique**

Afin de réaliser l'étude microbiologique, nous avons utilisé le matériel suivant :

#### **\*Appareillage :**

- \*Autoclave ;
- \*Etuve ;
- \*Vortex ;
- \*Réfrigérateur ;

## L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen

---

### \*Verrerie et petits matériels :

\*Pipette pasteur ;

\*Pipettes graduées stériles ;

\*Micropipette ;

\*Boîtes de pétri stérile ;

\*Pince stérile ;

\*Bec bunsen ;

\*Tubes à essais ;

\*Tubes secs ;

\*Anse de platines.

### 1.3.3. Milieux de culture utilisés :

Pour les cultures bactériennes, nous avons choisi Muller-Hinton en gélose, la revivification des souches s'est faite sur bouillon nutritif BHIB.

Tous les milieux de culture préparés sont autoclavés à 121°C pendant 15 min.

### 1.3.4. Les réactifs :

**Tableau 1** : listes des réactifs utilisés et leurs références.

Les réactifs	Les références
Le sulfate de sodium	SODIUM SULFATE / NUMERO DE LOT 8334/107
BHIB	CONDA pronadisa CAT / 1400.00 / BATCH NUMBER / 804251 ;
Muller-Hinton	TM MEDIA / REF TM 1577
Ethanol	EMSURE 100983.2511
Méthanol	LiChrosolv 1.06007
DMSO	SIGMA-ALDRICH 472301
DPPH	

### **1.3.5. Les souches bactériennes :**

Dans le cadre de notre expérimentation nous avons utilisé deux souches bactériennes.

#### **1.3.5.1. Les souches bactériennes :**

\* *Listeria monocytogenes* EU2162 ;

\* *Condida albicans* ATCC 10231.

## **2. Méthodes**

### **2.1. Préparation des échantillons pour l'extraction**

Nous avons coupé les plantes en parties très fines (2-5 mm) pour faciliter l'extraction et pour avoir un meilleur rendement (**figure 9**).



**Figure 9** : préparation des échantillons pour l'extraction (originale).

### **2.2. Procédés d'extraction utilisée**

#### **2.2.1. Extraction par macération dans le méthanol aqueux (extraction solide/liquide)**

La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans le méthanol aqueux pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes). Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **Hamia et al. (2014)**, avec quelques modifications. Le protocole de la macération de cette plante est le suivant :



## L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen

Après le pesage de 10 g de la matière végétale, nous avons effectué le chauffage de méthanol aqueux (140:60) dans un bécher de 500 ml jusqu'à ébullition, puis nous avons mis la matière végétale (10 g) sur le méthanol aqueux bouillant (140:60), nous avons agité de temps en temps jusqu'à parfaite refroidissement, après nous avons lissé macérer pendant 24 h, ensuite filtrer sur un papier filtre Wathman (n°:1), on a récupéré le filtrat dans un flacon et on a répété la procédure trois fois (fraction retenue par le filtre dans 200 ml méthanol aqueux bouillant);

- Les macéras hydroalcoolique de 3 jours sont placés dans un seul récipient.



**Figure 10 :** les macéras hydroalcooliques (Originale).

### 2.2.2. Evaporation

Les trois solutions obtenues ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif, ou rotavap qui permet a éliminé le solvant sous vide. Le protocole d'évaporation est le suivant :

- Placer la solution dans le ballon d'évaporation ;
- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant (Solution 1 (To = 45 °C et vitesse de rotation = 3), Solution 2 et 3 ((To = 65 °C et vitesse de rotation = 27);
- Retirer le ballon du rotavap et attendre qu'il soit froid ;
- Peser le ballon afin de calculer le rendement d'extraction ;
- Recueillir l'extrait dans de l'eau chaude (100 ml) (l'intérêt de l'utilisation de l'eau distillée bouillante c'est pour assurer la récupération des composés restés accolés à la paroi du ballon d'évaporation) ;

## L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen

---

- Ajouter 100 ml d'eau distillée en plusieurs quantités ;
- Laisser le tout à décanter pendant 24 h à température ambiante.
- Sur un papier filtre Wathman N°1, filtrer l'extrait aqueux (résidu + eau) pour éliminer les boues (graisse et résine).



**Figure 11** : l'appareille de retarvapor (Originale).

### 2.3. Conservation de l'extrait obtenu

La conservation de l'huile essentielle exige certaines précautions indispensables (**Burt, 2004**). Nos échantillons ont été conservés dans des flacons opaques bien scellés à température basse (4-5 °C) pour le but d'éviter toute dégradation due à l'action de l'air et la lumière.

### 2.4. Détermination du rendement des huiles essentielles

Selon la norme **AFNOR (1996)**, le rendement en huiles essentielles ( $R_{mt}$ ), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après l'extraction ( $m$ ) et la matière végétale utilisée ( $m_0$ ). Il est donné par la formule suivante :

$$R_{mt} = (M/M_0) * 100$$

**R<sub>mt</sub>** : Rendement de l'extrait exprimé en pourcentage.

**M** : Masse en gramme de l'extrait sec.

**M<sub>0</sub>**: Masse en gramme de matière végétale utilisée.

## **2.5. Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne**

### **2.5.1. Evaluation de l'activité antioxydante**

Les méthodes les plus couramment utilisées pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante des extraits et des huiles essentielles sont : DPPH• ou ABTS+. Certains se basent sur la capacité réductrice d'un composé radicalaire, d'autres tests, reposent sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger les composés radicalaires.

#### **2.5.1.1. Le test DPPH**

Pour évaluer l'activité antioxydant de l'huile essentielle nous avons utilisé la méthode du DPPH (1,1-diphényl-di-picrylhydrazyl) avec des modifications.

##### **° Principe**

Pour évaluer l'activité anti-radicalaire des extraits, on a utilisé le test du DPPH selon la méthode de Blois 1958. Le DPPH, 2,2'- Diphényl-1 -picrylhydrazyl, a une formule : C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> et un poids moléculaire, PM=394.33, est un radical libre stable soluble dans le méthanol ou l'éthanol, de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, ce radical est réduit et la couleur violette disparaît rapidement pour donner une couleur jaune pâle, selon la réaction suivante (**Roginsky et al, 2005**)

##### **° Protocole**

La solution de DPPH est obtenue en dissolvant 4 mg de la poudre dans 100 ml de l'éthanol. L'huile essentielle a été préparée par dissolution dans l'éthanol absolu. Le test s'effectue en mélangeant 1 ml de l'éthanol avec 1ml de l'extrait à tester à différentes concentrations (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64), puis en ajoutant la solution DPPH, après une période d'incubation de 30 minutes à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm.

L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) est calculé de la manière suivante :

$$I \% = ([A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}] / A \text{ blanc})$$

Avec :

**A blanc** : l'absorbance du témoin (contenant tous les réactifs sans le produit à tester).

**A échantillon** : l'absorbance du test.

## **L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen**

---

Le graphique de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'huile essentielle permet de déterminer l'IC 50 correspondant à 50 % d'inhibition et qui constitue l'activité antioxydant de l'huile essentielle. Cette valeur est comparée à celle trouvée pour le composé de référence.

### **2.5.2. Evaluation de l'activité antibactérienne**

La majorité de chercheurs ont employé une des trois analyses suivantes : diffusion sur disque, dilution d'agar et dilution de bouillon (Burt, 2004). Ces méthodes sont relativement rapides, peu coûteuses et n'exigent pas l'équipement de laboratoire sophistiqué ; cependant, elles ne sont pas sans inconvénients.

#### **2.5.2.1. Méthode des puits ADT (Agar well Diffusion Test)**

Le protocole suivi est celui dicté par Adwan et al., 2009. Dans chaque boîte ensemencée, quatre puits (environ 6mm) ont été creusés dans la gélose à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur dans lequel sera coulée une petite quantité de gélose au fond du puits. Chaque puits recevra un volume de 50ul de l'extrait brut, et un puits recevra 50ul de DMSO (témoin négatif).

L'incubation est effectuée à 37°C pendant 18 à 24h après une période de diffusion de 2h à 4°C., la sensibilité du germe testé a été évaluée selon le diamètre de la zone d'inhibition obtenue.

#### **2.5.2.2. Mode opératoire**

##### **° Isolement des souches bactériennes**

Le prélèvement des souches bactériennes sont testés par anse et ensemencés selon la méthode de stries sur une boîte de Pétri coulée par gélose nutritive puis incubé 18 à 24 heures à 37 °C, pour l'obtention des souches pures et jeunes.

##### **° Préparation de milieu de culture MH**

Faire fondre le milieu de culture Mueller –Hinton dans un bain marie à 95°C, puis couler aseptiquement dans les boîtes de Pétri à raison de 15 ml (la moitié de la boîte) par boîte, on laisse refroidir et solidifier sur la paille.

## **L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen**

---

### **° Préparation de l'inoculum**

A partir d'une culture jeune de 18h ,on réalise des suspensions en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées , qu'on dépose dans 9 ml d'eau physiologique stérile , puis on agite au vortex pendant quelque seconde. Pour le calcul de la transmittance, on utilise un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 600 nm. La transmittance doit être entre 0.08 et 0.1, ce qui correspond à une concentration de  $10^7$  à  $10^8$  germes /ml.

### **° Ensemencement**

Cette opération se fait après la préparation de l'inoculum, avec un écouvillon on prend des colonies bactériennes, puis on flotte l'écouvillon sur la totalité de la surface de MH, en haut et bas, en strie serrées, un étalement uniforme en nappe et laisser sécher les boîtes pendant 15 à 20 min.

### **° Dépôt des puits**

Creuser quatre puits de 6 mm de diamètre à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Dans le but d'éviter la surfusion des extraits sous la gélose.

- Pour assurer la répétabilité des essais trois puits ont été remplis de 50ul de l'extrait brut.

-1er puits : 50 µl de l'extrait brut de *Rubus fruticosus*.

-2ème puits : 50 µl de l'extrait brut de *Rubus fruticosus*.

-3ème puits : 50 µl de l'extrait brut de *Rubus fruticosus*.

-4ème puits : 50 µl de DMSO comme témoin négatif.

Les boites de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à la température ambiante pendant 30 minutes, ensuite mises à l'étuve à la température de 37 °C pendant 24h.

## ***CHAPITRE 04 :***

### *Résultats et discussions*

## **Chapitre 04 : Résultat et discussions**

### **4.1. Extraction des huiles essentielles**

Dans cette étude, l'extrait de *Rubus fruticosus* obtenue par macération est un liquide visqueux, limpide, d'une coloration marron et une odeur forte.

Le rendement d'extrait de la plante (*Rubus fruticosus*) est exprimé en pourcentage massique (g/100g) par rapport à la matière sèche (**Tableau 1**).

**Tableau 2** : rendement de l'extrait de *Rubus fruticosus*.

<b>Méthode d'extraction</b>	<b>Poids d'extrait sec</b>	<b>Rendement</b>
Macération	6,87g	68,7 %

### **4.2. Evaluation de l'activité antioxydant**

L'activité antioxydant exprime la capacité de réduction des radicaux libres. Dans notre étude nous avons choisi le test DPPH pour leur facilité de mise en œuvre afin d'évaluer l'activité antioxydante de notre extrait.

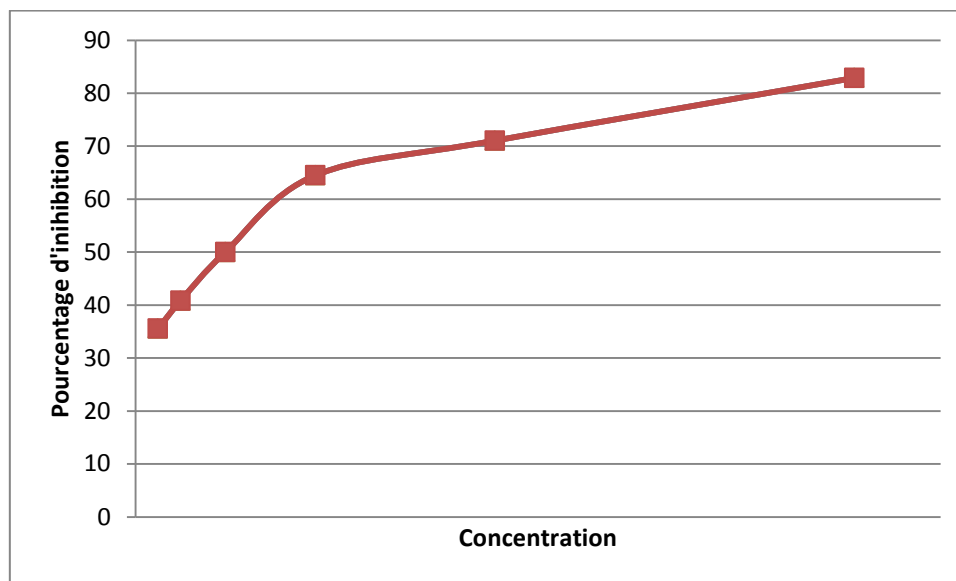
#### **4.2.1. La méthode de DPPH**

Le DPPH présente une coloration violette sombre mais lorsqu'il est piégé par des substances antioxydantes sa couleur vire vers le jaune pâle, le virage vers cette coloration et l'intensité de cette coloration dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance anti-radicalaire (**Rolland, 2004**).

L'utilisation du radical par le DPPH a le même mécanisme que celui des antioxydantes des aliments (**Bounatirou et al., 2007**).

Les résultats de pourcentages d'inhibition du radical libre calculés selon la formule citée dans la partie matériels et méthodes sont représentés dans le graphe (**Figure 12**). Pour chaque concentration on calcule le pourcentage d'inhibition de radical libre % par au temps (min).

## L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen



**Figure 12** : pourcentage d'inhibition en fonction de concentrations.

Pour la concentration 1/2 nous avons observé un pourcentage d'inhibition de 82,89%, pour la concentration 1/4 nous avons observé un pourcentage d'inhibition de 71,05%, pour la concentration 1/8 nous avons observé pourcentage d'inhibition de 64,47%, pour la concentration 1/16 nous avons observé pourcentage d'inhibition de 50,08%, pour la concentration 1/32 nous avons observé pourcentage d'inhibition de 40,78%, pour la concentration 1/64 nous avons observé pourcentage d'inhibition de 35,52%.

**La figure 12** nous donne une idée sur la forte activité antioxydant de l'extrait de *Rubus fruticosus* par la méthode de DPPH, et ont enregistré un  $IC_{50} = 0,002$  g/ml.

L'étude réalisé par **Salehi et al., (2013)**, montre une activité antioxydante importante avec une  $IC_{50}$  très faible de l'ordre de  $14 \mu\text{g} / \text{ml}$ . Cependant, l'étude réalisée par **Meziti (2018)** a révélé une faible capacité à piéger le radical DPPH avec  $IC_{50} = 65,043 \mu\text{l} / \text{mg}$ .

L'activité importante de *Rubus fruticosus* est probablement attribuée à sa haute teneur en composés phénolique et en flavonoïdes. En effet, les composés phéno-liqués et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnues comme des substances potentiellement anti-oxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires (**Zhang et Tsao, 2016**).



## L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen

### 4.3. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibitions de la croissance microbienne autour des puits contenant l'extrait à tester. Le résultat de cette activité est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibitions et peut être symbolisés par des croix. La souche ayant un diamètre :

-Non sensible (-) pour  $\varnothing < 8$  mm.

-Sensible (+) pour 9-14 mm.

-Très sensible (++) pour  $\varnothing$  15-19 mm.

-Extrêmement sensible (+++) pour  $\varnothing > 20$  mm. (Ponce et al., 2003).

Au cours de notre travail, Cette activité est évaluée par la méthode de diffusion des puits, le pouvoir antibactérienne de cette huile essentielle est obtenu par la mesure du diamètre de zone d'inhibition en (mm) à l'aide d'une règle.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Rubus fruticosus* est évaluée sur deux germes pathogènes (*Candida albicans*, *Listeria monocytogenes*) après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C.

Le diamètre d'inhibition diffère d'un microorganisme à l'autre. Nous avons rassemblé les tests antimicrobiens de l'HE dans (le tableau 3) et (la figure 13).

**Tableau 3 :** diamètres et zones d'inhibition des souches bactériennes.

Bactéries	Références	Diamètres d'inhibition	Sensibilité
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10536	21 mm	+++
<i>Listeria monocytogenes</i>	EU2162	24 mm	+++



**Figure 13** : effet de l'extrait de *Rubus Fruticosus* sur les différentes souches bactériennes (*Candida albicans* et *Listeria monocytogenes*) (Originale).

A partir des résultats des diamètres des zones d'inhibition comme le montre le (**Tableau 3**) et la (**Figure 13**), ont permis de révéler :

- une très forte activité sur la croissance de *Listeria monocytogenes* avec un diamètre d'inhibition 24 mm qui est largement supérieur à
- une très forte activité sur la croissance de *Candida albicans* avec un diamètre d'inhibition 21 mm qui est largement supérieur à

Selon les études antécédentes (**Ponce et al., 2003**) :

- *Listeria monocytogenes* : Extrêmement sensible (+++).
- *Candida albicans* : Extrêmement sensible (+++).

L'activité inhibitrice de ces huiles est aussi plus accentuée sur les bactéries Gram positif que sur les bactéries Gram négatif avec *Enterococcus faecalis* comme bactérie la plus sensible aux deux huiles (**Bélilia Belkheir et al., 2012**).

Des études antécédentes ont montré que la majorité des huiles essentielles testées pour leurs propriétés antibactériennes ont un effet plus prononcé contre les Gram + (**Wan, Wilcock, & Coventry, 1998**).

## **L'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de Murier sauvage (*Rubus fruticosus*) de la région de Tlemcen**

---

Cette activité antibactérienne des huiles essentielles pourrait être expliquée par l'interaction moléculaire des groupements fonctionnels des composants des huiles essentielles avec la paroi des bactéries ce qui provoque de profondes lésions. On peut conclure donc que cette activité peut être le résultat d'un effet synergique entre plusieurs composés de cette huile essentielle (**Senatore et al., 2005**).

Selon **Plésiat, (1999)** l'effet des extraits de la plantes, on remarque qu'E. coli est sensible aux flavonoïdes avec des zones d'inhibition atteignant les 21,5 mm. Les souches d'Acinetobacter baumannii sont toutes sensibles aux flavonoïdes, avec des zones d'inhibition de 21,6 mm.

Selon (**Afif Chaouche, 2015**), la seule levure isolée *Candida albicans*, s'est révélée largement sensible et a montré sa plus grande sensibilité face à l'extrait flavonoïdique de la *Rubus fruticosus* (22,6 mm) (**Afif Chaouche, 2015**).

## ***CONCLUSION***

Le marché mondial des huiles essentielles observe une expansion significative de sa taille, grâce à l'utilisation croissante de ces huiles dans plusieurs domaines tel que les boissons aromatisées et les produits alimentaires dans le secteur agroalimentaire et les médicaments dans le secteur pharmaceutique ...ect.

Pour faire face à cette situation, nous sommes dans l'obligation de chercher de nouveaux procédés pour améliorer le rendement.

Le présent travail portant sur l'étude de l'extrait méthanolique de *Rubus fruticosus*, nous a permis de tirer un certain nombre de conclusions :

Tout d'abord, l'obtention de l'extrait par macération a donné un rendement de 68.7 %.

D'après les résultats obtenus, l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait de *Rubus fruticosus* a été évaluée par la méthode de DPPH, elle a confirmé un pouvoir antioxydant important.

Donc l'extrait de *Rubus fruticosus* possède une forte activité antioxydante.

En plus l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait de *Rubus fruticosus* a été réalisée sur deux souches bactériennes par la méthode des puits, l'extrait a montré une activité importante avec un diamètre d'inhibition varie entre 21 mm et 22 mm pour *Candida albicans* et 22 mm et 24 mm pour *Listeria monocytogenes*.

Donc l'extrait de *Rubus fruticosus* possède une forte activité antibactérienne.

Cette étude permet la mise en valeur pour l'exploitation de l'extrait *Rubus fruticosus* comme conservateur dans le domaine de l'industrie agroalimentaire, ceci que la flore algérienne peut constituer une réserve importante d'espèces végétales intéressantes.

Malgré la complexité de l'application des huiles essentielles dans l'industrie alimentaire, il serait utile de cibler un des produits alimentaires pour lequel on utilise cette huile comme alternative au conservateur synthétique déjà employé et voir son comportement sur plusieurs plans.

Enfin, on peut dire que l'Algérie par son climat et ses terrains fertiles, possède une flore riche, et offre des conditions optimales de développement de nouvelle exploitation agricole des plantes aromatiques et médicinales. Sur le plan économique, le développement de ce secteur permettra de diminuer ou de supprimer les importations et viser l'autosuffisance.

## **Références bibliographiques**

### Références bibliographiques

Adwan, G.M., Abu-Shanab, B.A., Adwan, K.M., 2009- In vitro activity of certain drugs in combination with plant extracts against *Staphylococcus aureus* infections. *African Journal of Biotechnology* 8:4239–4241.

Afif CHaouche T., 2015-Etude ethno-pharmacologique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de quelques plantes médicinales de la région de Tizi Ouzou-Algérie, Doctorat en Microbiologie Appliquée, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen

Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS), 2008.

Alzoreky N. S. et Nakahara K., 2003-Antimicrobial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *Inter. J., Food Microbiol.*, 80, P.p.223-230.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., 2008-Review MI-Biological effects of essential oils- A review *Food and chemical toxicology*, vol.46, N°2, P.p446-475.

Beckr M., Picard J.F. et Timbal J., 1982-Larousse des arbres, des arbustes et des arbrisseaux de l'Europe Occidentale, Paris, :Librairie Larousse, P.p. 272-275.

Behera, B. C., Verma, N., Sonone, A., et Makhija, U., 2006- Determination of antioxidative potential of lichen *Usnea ghattensis* in vitro. *LWT-Food Science and Technology*, 39(1), P.p. 80-85.

Bélilia Belkheir, M., Bertouche, S., Sahraoui, N., Hellal, A., & Boutekedjiret, C. (2012). Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* extraite par un procédé assisté par micro-ondes.

Benkada Saddek, 2019- Oran 1732-1912 : essai d'analyse de la transition historique d'une ville algérienne vers la modernité urbaine, 632p.

Betts G.D., Linton P., et Betteridge R. J., 1999-Food spoilage yeasts : effects of pH, NaCl and temperature on growth., *Food Control*, 10, P.p. 27-33.

Bouamer A., Bellaghit M. et Moulay A., 2004-Mém.Master, Etude comparative entre l'huile essentielle de la menthe verte et la menthe poivrée de la région de Ouargla., *Dép.Agr., Fac.S.N.V., Univ.Kasdi Merbah, Ouargla*, P.p.2-5, 10-19, 21-22.

Bounatirou S., Smiti S., Miguel M.g., Faleiro L., Rajeb M.N., Neffati M., Costa M.M.,

- Figueiredo A.C., Barroso J.G., et Pedro L.G., 2007-Chemical composition, antioxydant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link Food Chemisty, (105), P.p.146-155.
- Bounihi A., 2016-These de Doctorat national Criblage photochimique, Etude Toxicologique et valorisation Pharmacologique de *Melisa officinalis* et *Menthratundifolia* (Lamiacées)., Science de Médicament, 121p.
- Boumediou, A., et Addoun, S., 2017- Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie, Etude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen (Algérie). Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen, 67p.
- Boyle W., 1995-Spices and essential oils as perspectives. American Perfurmer Essential oil, Review.66, P.p.25-28.
- Brud W. S., 2010-Industrial uses of essential oils. Handbook of Essential Oils : Science, Technology, and applications. Can Basee K.H. et Buchbauer G. Florida : USA, CRC Press, P.p. 843-853.
- Bruneton J., 1999-Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales, 2<sup>ème</sup> Editition Tec et Doc, Lavoisier, Paris.
- Buronzo A. M., 2008-Grand guide des huiles essentielles santé beauté Marocaine : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires.
- Burt S., 2004-Essential oil : their antibacterial properties and potential application application in food- a review. International Journal of Food Microbiology, Vol 94, P.p.223-253.
- Caillet S. et Lacroix M., 2007-Les huiles essentielles : leur propriétés antimicrobienne et leurs application potentielles en alimentaire., Laboratoire de Recherche en science appliqué à l'alimentation (RESALA), INRS-institut Armand-Frappier, p.8.
- Cimanga K., 2002-Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo J.Ethnopharmacology, 79,p.213-220.
- Couic-Marinier F., et Lobstein A., 2013- Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. Actualité pharmaceutique, Vol.52, N°525, P.p. 13-21.



- FAO, 2012-La situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture, p.91.
- Grysol J., 2005-Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation- Manuel pratique P.p. 140-162.
- Guignard, J.L., 2000- Biochimie végétale, Ed. Dound, Paris, 166p.
- Guilliert L., Nazer A.L. et Dubois-Brissonnet F., 2007- Growthresponse of Salmonella typhimurium in the presence of natural and synthetic antimicrobials : estimation of MICs From three different models. J Food Prote70(10) :2243-2250.
- Hamia C., Guergab A., Rennane N., Birache M., Haddad M., Saidi M et yousfi M., 2014- Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du rhanterium adpressium. Annales des sciences et technologie. Vol 6. N° 1.
- Heath H.B., 1981-Source Book of Flavours., Westport : Avi, p.890.
- Hsieh P. C., Mau J. L., et Huang S. H., 2001-Antimicrobial effect of varios combinations of plant extracts. Food Microbiaol., 18, 35-43.
- Iserine P., 2001-Encyclopédie des plantes médicinales. Ed.Larousse, Paris, 335p.
- Laguznez Rivera L., 2006-Etude de l'extraction de métabolites secondaires de fifférentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe. Thèse Doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse, P.p.15-35.
- Lahlou M., 2004-Methods of studeyphytochemistry and bioactivity of essential oils phytotherapy research, 18, P.p.453-462.
- Laib Imène., 2011-Mém.Magister, Etude des activités antioxydant et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de Lavandulla officinalis sur les moisissures des légumes secs ., Département, Technologies alimentaires, Institut la nutrition des alimentations et des technologies agro-alimentaires, Université, Mentouri, Constantine, 82p.
- Mazari K., Bendimred N., Bekhechi C., et Fernandez X., 2010-Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian Juniperusphoenicea L. and Cupressus sempervirens L., Journal of medicinal plant research, volume, 4, N°10, P.p.959-964.

Meziti A., 2018-Régulation de l'inflammation par des extraits de *Rubus fruticosus* et *Zizyphus vulgaris*, Doctorat en Biochimie, Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Neffati M., 2010-Antimicrobial and antioxydant activities of *Artemisia Herba-alba* essential oil cultivated in Tunizian arid zone, *Comptes Rendues Chimie*, Volume, 13, P.p.380-386.

Padrini F. et Lucheroni M.T., 1996- *Le grand livre des huiles essentielles*, Ed. Vechi, Paris, 212p.

Paris M. et Hurabielle M., 1981-Abrégé de matière médicale, pharmacognosie., Tome I., Ed.Masson, Paris., P.p.9-13, 17-24, 182-184.

Pierre M., Lis .M ., 2007-Secrets des plantes., Editions Artemis, Paris, 463p.

Plésiat P., 1999—Résistance aux Antibiotiques des Espèces de Complexe *Burkholderiacepacia* UFRSMP Besancon.

Ponce, A., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-food science and technology*, 36(7), P.p.679-684.

Porter N., 2001-Essential oils and their production., *Crop and food res.*, P.p.32-38.

Quyoun, A., 2003- Mise au point d'une base de données sur les plantes médicinales. Exemple d'utilisation pratique de cette base. Thèse de Doctorat. Université Ibn Tofail Kénitra- Maroc, 110p.

Rajasekaran R., Gebrekidan Y., 2018- A Review on Antibacterial Phytochemical Constitutions Present in *Aerva lanata* and their Mode of Action Against Bacterial Biofilm. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, Vol. 9(1), P.p.16-30.

Recommandation relatives aux critères de qualité des huiles essentielles contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles.

Richard H. et Peryon F., 1992-Epices et aromates, Ed. Tec. et Doc-Lavoisier., Paris, 340p.

Roginsky, V., & Lissi, E. A., 2005- Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food chemistry*, 92(2), P.p.235-254.

Sagdico O., et Ozcan M., 2003-Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. Food Control, 14,P.p.141-143.

Senatore, F., Napolitano, F., Apostolides Arnold, N., Bruno, M., & Herz, W. (2005). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea falcata* L.(Asteraceae). Flavour and fragrance journal, 20(3),P.p. 291-294.

Stodola J. et Volak J., 1983-Plante médicinales., Ed. Grund, Paris, P.p.29-53.

Valent J., 1984- Aromathérapie, traitement des maladies par les essences des plantes, Ed., Maloine, Paris.

Vargas I., Sanz I., et Prima Yufera E., 1999-Antimicrobial and Antioxydant compounds in the nonvolatile fraction of expressed range essential oil., Journal of food production, vol.62, N°08, P.p.929-932.

Walker D.J., 1988- Major spoilage micro-organismes in milk and dairy products.J.Soc.dairy Tec., 41,91-92.

Wan, J., Wilcock, A., & Coventry, M. (1998). The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. Journal of Applied Microbiology, 84(2), P.p.152-158.

Wang Z., Ding L., LI. T., Zhou X., Wang L., Zhang H., Liu L., Li Y., Liu Z., Wang H., Zeng H., HE H., 2006-Improved Solvent-Free Microwave Extraction Of Essential Oil From Dried *Cuminum Cyminum* L. And *Zanthoxylum Bungeannum* Maxim. Journal Of Chromatography A,1102 : P.p.11-17.76-Vinatoru M. 2001.

Zerari M., 2016-Mémoire Master, Etude ethnobotanique de quelques plantes médicinales utilisées dans le nord d'Algérie., Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, 44p.

Zhang H., Tsao R., 2016-Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects.Curr Opin Food Sci.8 : P.p.33-42.

## Résumé

*Rubus fruticosus*, appartenant à la famille Rosacées, est une plante médicinale qui se rencontre dans toute l'Europe, l'Afrique du Nord (Atlas), l'Afrique australe, le Sud-Est de l'Australie, la Nouvelle-Zélande, les Etats-Unis et le Chili. La macération a donné un rendement de 68.7%. L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Rubus fruticosus* a été évaluée par la méthode de DPPH, l'extrait méthanolique a donné de bons résultats d'inhibition des radicaux libres avec un  $IC_{50} = 0,002$  g/ml. L'activité antibactérienne testée sur deux souches bactériennes par la méthode des puits, les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence l'effet antimicrobien de l'extrait brut avec des diamètres d'inhibition de : 21 mm et 22 mm pour *Candida albicans* et *Listeria monocytogenes* avec un diamètre varie entre 22 mm et 24 mm.

**Mots clés :** *Rubus fruticosus*-L'activité antioxydante-L'activité antibactérienne-DPPH-*Candida albicans*- *Listeria monocytogenes*.

## summary

*Rubus fruticosus*, belonging to the Rosaceae family, is a medicinal plant that is found throughout Europe, North Africa (Atlas), southern Africa, South-East Australia, New Zealand, the United States and Chile. Maceration gave a yield of 68.7%. The antioxidant activity of the methanolic extract of *Rubus fruticosus* was evaluated by the method of DPPH, the methanolic extract gave good results by exceeding the inhibition of free radicals with  $IC_{50} = 0,002$  g/ml. Antibacterial activity tested on two bacterial strains by the well method. The results show that the crude extract showed good activity against bacterial strains: *Candida albicans* with a diameter of 21mm and *Listeria monocytogenes* with a diameter of 24mm.

**Keywords:** *Rubus fruticosus*- Antioxidant activity- methanolic extract -Antibacterial activity-DPPH- *Candida albicans*- *Listeria monocytogenes*.

## ملخص

*Rubus fruticosus*، الذي ينتمي إلى عائلة *Rosaceae*، هو نبات طبي موجود في جميع أنحاء أوروبا وشمال إفريقيا (أطلس) وجنوب إفريقيا وجنوب شرق أستراليا ونيوزيلندا والولايات المتحدة وتشيلي. أعطت النقع عائد 68.7%. تم تقييم النشاط المضاد للأوكسدة للمستخلص الميثانولي لـ *Rubus fruticosus* بواسطة طريقة DPPH، وأعطى المستخلص الميثانولي نتائج جيدة تتجاوز نسبة تثبيط الجذور الحرة مع  $IC_{50} = 0,002$  g/ml. تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا على سلالتين من البكتيريا بطريقة البئر. أظهرت النتائج أن المستخلص الخام أظهر فاعلية جيدة ضد السلالات البكتيرية: *Candida albicans* بقطر 21 ملم و *Listeria monocytogenes* بقطر 24 ملم.

الكلمات المفتاحية : - *Rubus fruticosus* نشاط مضاد للأوكسدة - خلاصة ميثانولية - نشاط مضاد للجراثيم -

DPPH - *Candida albicans* - *Listeria monocytogenes*