

Faculté des Sciences Exactes et d'Informatique

Département de Chimie

Filière : Chimie appliquée

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Pour l'Obtention du Diplôme de Master en Chimie

Option : **Chimie appliquée**

Présenté par :

BENOTSMANE Maroua

THEME :

**Les propriétés inhibitrices de l'huile
essentielle *RUTA MONTANA L***

Soutenu le : 30/06/2024

Devant le jury composé de :

Président : ABDEDDAIM Fatiha MAA Université de Mostaganem

Examineur : HAMOUDI Naima MAB Université de Mostaganem

Encadrant : HAMIANI Abdelkader MCB Université de Mostaganem

Co-encadrante : KHALDI Hafsa MAB Université de Mostaganem

Année Universitaire 2023-2024

Remerciements

Au début de mon discours, je dois d'abord remercier Dieu Tout-Puissant de m'avoir permis d'atteindre ce haut niveau scientifique, et de m'avoir ouvert la voie pour faire ce travail.

*J'adresse également mes plus grands remerciements et ma gratitude à Mr. **HAMIANI Abdelkader**, qui a eu la gentillesse d'accepter la direction de mon mémoire de maîtrise, et qui m'a donné son temps précieux, sa mer d'informations et son ampleur. L'expérience, qui a été un excellent ajout au travail de recherche, car ses conseils et ses conseils ont été le phare que j'ai utilisé dans tous mes travaux de recherche. Je demande à Dieu Tout-Puissant de le récompenser avec la meilleure récompense.*

*Je tiens à remercier Mme **KHALDI Hafsa** pour ses conseils et son accompagnement tout au long de cette étude*

*Nous tenons à remercier Mme **ABDEDDAIM Fatiha**, d'avoir accepté de présider le jury ainsi que Mme **HAMOUDI Naima**, d'avoir bien voulu examiner et commenter ce modeste ouvrage.*

J'adresse mes remerciements et ma gratitude aux ingénieurs du laboratoire et à tous les enseignants de la Faculté des Sciences Exactes et des Sciences Informatiques de l'Université de Mostaganem, qui ont fait de nous ce que nous sommes aujourd'hui.

Enfin, nous remercions tous les étudiants de promotion en Chimie Appliquée (2023-2024).

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mes très chers parents qui ont toujours été la pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

A tous ceux qui me sont chers frères

_BENOTSMANE Younes

_BENOTSMANE Ilyes

_BENOTSMANE Abdelhalime

Mes amis et toute mes chères copines et toute ma famille

**Je dédie ce travail, à coté de la miséricorde de dieu, BOUKHRIS Sarah et
CHAIB Fatima.**

Table des matières

INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
CHAPITRE 1	2
1 INTRODUCTION	3
2 Le nom commun.....	4
3 Description botanique	4
4 Caractéristiques	7
6 Composition chimique de <i>ruta montana l</i>	7
7 La Toxicité de <i>ruta montana l</i>	8
8 Utilisations	9
8.1 Effet pesticide de <i>ruta montana l</i>	9
CHAPITRE 2	11
1 Introduction	12
2 Classification.....	12
2.1 Les composés phénoliques.....	12
2.2 Les flavonoïdes	13
2.3 Tanin	13
2.4 Les Coumarines.....	14
2.5 Les alcaloïdes.....	15
2.6 Les Terpénoides	16
2.7 Les mucilages	16
2.8 Les saponines.....	16
2.9 Huiles essentielles	17
2.9.1 Intérêt biologique d'huiles essentielles.....	18
3 Méthodes d'extraction des métabolites secondaires.....	18
3.1 Extraction par solvant solide-liquide.....	18
3.2 Extraction par distillation.....	19
3.2.1 Hydrodistillation	19
3.2.2 La distillation par entrainement à la vapeur	19
3.2.3 Extraction au CO ₂ supercritique	20
3.2.4 Extraction par Soxhlet	21
CHAPITRE 3	22
1 Introduction	23

2 Etude phytochimique	23
3 Matériel et méthodes	24
3.1 Matériel végétale	24
3.2 Méthodes d'extraction	24
3.3 Préparation du macérât	25
3.4 Préparation de l'infusion	25
3.5 Recherche des alcaloïdes	25
4 Recherche des substances polyphénoliques	26
4.1 Les tanins	26
4.2 Les flavonoïdes	27
4.3 Recherche des saponines	28
4.4 Mucilages	28
Les résultats	29
5 Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation.....	30
5.1 Extraction.....	30
6 Calcul de rendement	30
7 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)	31
8 Le radical stable DPPH.....	32
9 Principe de la méthode :	33
9.1 Réaction entre le radical libre DPPH et l'antioxydant.....	33
10 Test du piégeage du radical libre DPPH	33
11 Calcul de l'IC50	34
Chapitre 4	36
L'effet inhibiteur de l'huile essentielle	36
I. Étude de l'inhibition de la corrosion	37
1 Introduction	37
Principe de l'évaluation gravimétrique	37
2 Exposition au milieu corrosif	38
3 Retrait et nettoyage des échantillons	38
4 Mesure de la perte de masse	38
5 Avantages	38
6 Composition chimique du matériau	39
7 Conclusion.....	41
II étude de l'activité antimicrobienne	42
1 Introduction	42

2 Méthode de détermination de l'activité antimicrobienne	42
3. 1 méthode de diffusion sur disque	42
4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	43
Etude expérimentale	44
1 Réactivation de souches pathogènes	45
2 LA méthode d'aromatogramme (méthode de Vincent)	45
3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	47
Remarque	48
LES RÉSULTATS	49
Pouvoir de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle RM	49
Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)	50
Conclusion générale	55
Référence	56

La liste de tableau

Tableau 1. Classification botanique	4
Tableau 2: Résultats des test phytochimiques.....	29
Tableau 3: la composition du l'huile essentielle de ruta montana l par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)	31
Tableau 4: Pourcentage d'inhibition de l'extrait méthanolique de <i>RUTA MONTANA L</i>	34
Tableau 5: les valeurs moyennes du taux de corrosion.....	40
Tableau 6: présentation les valeurs des zones d'inhibition.....	49

La liste de figure

Figure 1 : <i>Ruta montana L</i>	5
Figure 2: Les feuilles.....	5
Figure 3: Les fleurs	6
Figure 4: La hauteur de la plante	6
Figure 5: Structure de flavonoïde.....	13
Figure 6: Structure des tanins	14
Figure 7: Structure de coumarine	15
Figure 8: Structure des alcaloïdes	15
Figure 9: Unité isoprène	16
Figure 10: Tomatidine	17
Figure 11: Extraction par solvant solide-liquide.....	18
Figure 12: Montage d'extraction par hydrodistillation	19
Figure 13: La distillation par entrainement à la vapeur.....	20
Figure 14: Montage d'extraction au CO ₂ supercritique.....	21
Figure 15: Montage d'extraction par soxhlet.....	21
Figure 16: la matière végétale.....	24
Figure 17: Test des alcaloïdes	26
Figure 18: Présence des tanins.....	27
Figure 19: la présence des flavones	28
Figure 20: la présence de mucilages	29
Figure 21 : structure chimique du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1,1-picrylhydrazyle)	33
Figure 22: (Réduction du radical DPPH) Piégeage de DPPH par les flavonoïdes (ph: noyau phénolique).....	33
Figure 23: Courbe de corrélation entre l'extrait méthanolique du <i>Ruta montana L</i> et le pourcentage d'inhibition.....	35
Figure 24 : vitesse de corrosion (mgh .cm ²) en fonction de log (concentration)(mg/ml)	41
Figure 25: illustration de la méthode d'aromatogramme sur boîte de pétri	43
Figure 26: l'étapes de méthode de diffusion sur disque	46
Figure 27: l'étapes pour détermine la concentration minimal d'inhibitrice.....	48
Figure 28: les zone d'inhibition de <i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876 et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	50
Figure 29: photographie d'un microplaque illustrant les concentrations mimimales inhibitrices de la solution mer vis à vis <i>C. albicans</i> ATCC 10231, <i>S. aureus</i> ATCC 33862, <i>B. cereus</i> ATCC 10876, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27 853, <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	51
Figure 30: la concentration minimale d'inhibitrice en fontion des souches pathogenes	52

Liste d'abréviations

RM: *ruta montana l*

% : Pourcentage

C°: Degré Celsius

m : masse

NaCl : Chlorure de sodium

CH₂Cl₂ : Dichlorométhane

MgSO₄ : Sulfate de magnésium

DMSO : diméthylsulfoxyde

NH₄OH : Ammoniaque

CO₂ :Dioxyde de carbone

R : rendement

H₂SO₄ :l'acide sulfurique

pH : potentiel hydrogène

V_{cor} : vitesse de corrosion

K:kalvin

MeOH : Methanol

FeCl₃ : Chlorure férique

HCl : Acide chloridrique.

KI : Iodure de potassium.

DPPH : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle

CPG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse.

HE: huiles essentielle

IC₅₀% : concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres

min : minute

ΔM : la perte de masse due à la corrosion

UV : Ultra-violet

E_w : l'efficacité inhibitrice

CMI : concentration minimale d'inhibitrice

BHIB : bouillon nutritif

ATCC: American Type Culture Collection.

RÉSUMÉ

Ce mémoire propose une exploration approfondie de *Ruta montana L.*, une plante aux propriétés médicinales prometteuses. Il comprend une étude bibliographique détaillée des aspects botaniques et de la composition phytochimique de cette espèce, ainsi que de ses applications traditionnelles. L'analyse quantitative de l'huile essentielle, réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM), révèle que les principaux composés chimiques de l'huile essentielle de *Ruta montana* sont des monoterpènes oxygénés, principalement deux cétones : l'undécan-2-one (32,81 %) et le nonan-2-one (29,54 %), ainsi que le nonanol-2-acétate (18,20 %). Les tests phytochimiques indiquent une forte présence d'alcaloïdes, de tanins, de saponines, de mucilages et de flavonoïdes. De plus, des études ont démontré une activité antioxydante par la méthode du

DPPH, un effet inhibiteur de l'huile essentielle contre la corrosion, ainsi qu'une activité biologique notable, notamment une activité antibactérienne élevée contre *Bacillus cereus* et une activité antifongique comparable à celle des références standards.

Mot clé : *Ruta montana L.*, DPPH, *Bacillus cereus*, phytochimiques, alcaloïdes, tanins, saponines, mucilages, flavonoïdes, antibactérienne, huile essentielle.

Abstract

This thesis offers an in-depth exploration of *Ruta montana L.*, a plant with promising medicinal properties. It includes a detailed bibliographic study of the botanical aspects and phytochemical composition of this species, as well as its traditional applications. The quantitative analysis of the essential oil, performed by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS), reveals that the main chemical compounds of *Ruta montana* essential oil are oxygenated monoterpenes, primarily two ketones: undecane-2-one (32.81%) and nonane-2-one (29.54%), as well as nonanol-2-acetate (18.20%). Phytochemical tests indicate a strong presence of alkaloids, tannins, saponins, mucilages, and flavonoids. Additionally, studies have demonstrated antioxidant activity using the DPPH method, an inhibitory effect of the essential oil against corrosion, and notable biological activity, including high antibacterial activity against *Bacillus cereus* and antifungal activity comparable to standard references.

Keywords: *Ruta montana L.*, DPPH, *Bacillus cereus*, phytochemicals, alkaloids, tannins, saponins, mucilages, flavonoids, antibacterial, essential oil.

ملخص

في هذا العمل نهدف لدراسة نبات الفيجل , و هو نبات يتمتع بخصائص طبية متنوعة , وجرى تقسيم هذا العمل على 4 فص
ول , في المقدمة نبدا بشرح شامل مفصل حول فوائد و مكونات النبتة

يظهر التحليل الكمي لزيت الاساسي لنبتة بواسطة كروماتوغرافي الغاز\الكتلة مركبات الكيمائية الرئيسي في الزيت الفيجل
, و التي تتالف اساسا من الاحاديات الاكسجينية , و التي تتميز بانتشار كبير لاثنين من الكيتونات -اندكان -2-وان (32.81
□) و نونان-2-وان و ايضا نونانول -2-اسيتات (18.20□) و اسيتات -2-انديكانول (4.02□) و بسورالين (3.52□) ...
.....

لمعرفت فعالية هذا الزيت قمنا باجراء اختبارات فيتوكيميائية , حيث اظهرت هذه الدراسة وجودا قويا للالكالويدات , لتانين ,
لصابونين , لموسيلاج , للافلافيويد. بالاضافة الى اختبار النشاط المضاد للاكسدة , و اقد اظهر فعالية جيدة . وتشير الدرا
سات البيولوجية ايضا الى ان الزيت الاساسي للفيجل له نشاط عالي ضد البكتيريا منها باسيلوس سيريروس و بسيدوم اريغنو
س و الفطريات منها كونديدا

كلمة الرئيسية: فيجل , نشاط المضادة للاكسدة , بسيليس سيريس , كيمياء النباتية , الكلويد , تانا , فلافونويد , ميسلاج ,

الزيت الأساسي

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Depuis l'antiquité, l'homme a utilisé des plantes médicinales et aromatiques. De nos jours, leurs utilisation augmente considérablement dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques, parfumeries et alimentaire. Au moins 35 000 espèces sont utilisées dans le monde car les plantes sont la principale source de substances actives.[1]

Ces plantes représentent une richesse inestimable pour l'humanité. Elles fonctionnent comme des laboratoires naturels, générant une variété de composés actifs tels que des alcaloïdes, des huiles essentielles, des flavonoïdes, des tanins, et bien plus encore. Ces ressources sont mises à la disposition de l'homme, qui peut les utiliser pour préserver sa santé et répondre à ses besoins essentiels.[2]

En outre, le stress oxydatif est responsable de nombreuses maladies chez l'homme, allant de L'inflammation au cancer, en passant par les maladies cardiovasculaires et l'arthrite rhumatoïde. Ainsi, la quête de substances d'origine végétale dotées de propriétés antioxydantes se révèle extrêmement bénéfique pour améliorer la santé humaine, tout en contournant les effets indésirables des molécules synthétiques[3]

Dans le cadre de notre travail relatif aux plantes médicinales, nous avons réalisé une étude sur la *RUTA MONTANA L*, extraction, identification, analyse qualitative de certains groupes chimiques bioactif, et son activité antioxydante.

Ce manuscrit est structuré en quatre chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique sur la *RUTA MONTANA L* et présente sa description botaniques et son domaines d'utilisation.
- Le deuxième chapitre se focalise sur l'étude des métabolites secondaires de cette espèce.
- Le troisième chapitre est basé sur l'étude phytochimique de la plante et de l'activité antioxydante de son l'huile essentielle.

_ Le quatrième chapitre est une étude de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'huile essentielle et de son activité antimicrobienne

CHAPITRE 1

LA PRÉSENTATION DE LA PLANTE

1 INTRODUCTION

Les Rutacées tirent leur nom de la route et comprennent plus de 700 espèces, pour la plupart arborescentes, que l'on trouve dans les pays tropicaux et tempérés du monde entier.

Il s'agit d'une famille séquentielle qui ne fournit qu'un petit nombre de caractères constants.

Cependant, Rue est clairement identifiable par son appareil sécrétoire, constitué d'une poche sécrétoire chez certaines espèces et absent chez d'autres familles dites schizolysigènes.[4]

Ces poches sont toujours très superficielles et proviennent de l'épiderme, ce qui explique que même un léger écrasement des parties molles des Rutacées produit une forte odeur d'essence.

Ils apparaissent très souvent sur les feuilles et se présentent sous forme de points transparents.

Les fleurs ont un disque nectar intrastaménal, situé à l'intérieur des étamines, ce qui place les *Rutaceae* dans l'ordre de la famille des Térébenthine.

Leur formation résulte à la fois du détachement (du clivage de la schiseine verte) et de la prolifération des cellules délimitant la cavité à l'origine de la poche et de la lyse des cellules les plus internes de la poche. [5]

Les principaux problèmes causés par les *Rutacées* sont en réalité de nature dermatologique.

Le contient de grandes quantités de furano coumarines photo sensibilisantes (par exemple bergaptène), qui peuvent provoquer des phénomènes phototoxiques . Il existe plusieurs centaines d'espèces de *Ruta* :

Ruta montana, *Ruta graveolens* et *Ruta chalepensis* sont les plus connues et les plus couramment utilisées.

Les bâtonnets sont en fait une plante médicinale traditionnelle.

Il s'agit notamment de plantes quelque peu ignorées en phytothérapie moderne, car considérées à juste titre comme potentiellement trop toxiques.

La *Ruta graveolent*, quant à elle, est toujours une plante utilisée en homéopathie.

Nous limitons notre étude sur la *Ruta montana*, une plante herbacée vivace originaire des montagnes calcaires du Midi, Il n'a pas d'odeur désagréable, rend difficile la croissance des insectes à proximité et a un effet insecticide élevé. [6]

Tableau 1. Classification botanique

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Série	Disciflores
Sous série	Diplostémones
Ordre	Sapindales (<i>RUTALES</i>)
Famille	<i>Rutacées</i>
Sous famille	<i>RUTOIDÉES</i>
Genre	<i>RUTA</i>
Espèce	<i>RUTA MONTANA L</i> [7]

2 Le nom commun

- Arabe :Fidjel, Fidjela el djebeli.
- Français : Rue des montagne.
- Anglais : Mountain Rue.
- Espagnole : Ruda de muntanya, Rudamontesina.
- Italien : Ruta montana.
- Allemand : Bergraute [8]

3 Description botanique

La rue est une plante herbacée vivace glabre qui ressemble à un arbuste. [9]

Le dessous de la tige est ligneux. figure1



Figure 1 : *Ruta montana L*

Les feuilles : bleu-vert sont alternes et profondément divisées en trois parties en forme de spatule ou oblongues, chacune mesurant 15 mm de long. figure 2 [10]



Figure 2: Les feuilles

Les fleurs : vert-jaune sont disposées en panicules ou encorymbes apicaux.[11]

Les feuilles et les fleurs sont très plates figure 3



Figure 3: Les fleurs

Les plantes matures mesurent environ 60 cm de largeur et 40 à 100 cm de hauteur figure 4[12]



Figure 4: La hauteur de la plante

La rue dégage un arôme très fort, plutôt désagréable, et le goût de ses feuilles est très amer et piquant. En Europe, la floraison a lieu en mai-juin et la fructification a lieu à la fin de l'été. Il existe deux cultivars : *Divaricata*, qui a des feuilles jaune-vert brillantes, et *Variegata*, qui a des feuilles panachées.[13].

4 Caractéristiques

4.1 Organes reproducteurs

Type d'inflorescence : racème de racèmes

Répartition des sexes : hermaphrodite

Type de pollinisation : entomogame

Période de floraison : Mai à Août [14]

4.2 Graine

Type de fruit : capsule

Mode de dissémination : barochore [15]

4.1 Habitat et répartition

Habitat type : garrigues méditerranéennes occidentales

Aire de répartition : européen méridional [16]

5 Culture

5.1 Conditions propices

Dans son aire de répartition naturelle, cette avenue se trouve dans des zones protégées de sols secs, caillouteux et calcaires.

Cependant, la rue poussera dans les sols humides et secs à condition qu'ils soient bien drainés.

Le Roux se conserve mieux dans les sols pauvres et secs et ne craint pas le froid que dans les sols très fertiles.[17]

6 Composition chimique de *ruta montana l*

Le *ruta montana l* est une plante médicinale qui contient plus de 120 composés répartis dans différentes parties de la plante (racines, feuilles, fleurs), dont des alcaloïdes, des coumarines, des huiles essentielles, des flavonoïdes, des floquinolées, des glucides et certains tanins.

Beaucoup de ces composés sont biologiquement actifs.

Les exemples incluent les huiles essentielles qui repoussent les insectes et la coumarine, un alcaloïde qui possède des propriétés antiseptiques. [18]

7 La Toxicité de *ruta montana l*

Les furanocoumarines et l'huile essentielle de *Ruta montana* peuvent causer de graves problèmes.

Les furanocoumarines (psoralènes) sont phototoxiques.

Le contact avec des feuilles endommagées et l'exposition ultérieure au soleil provoquent une dermatite aiguë, qui ressemble à une brûlure du premier ou du deuxième degré.

Deuxièmement, la peau restera hyperpigmentée, ce qui peut durer un certain temps.

Cette réponse phototoxique est renforcée par l'humidité [19]

Pire encore, une fois digérées, ces coumarines peuvent altérer les acides nucléiques et endommager le génome, les rendant toxiques pour les reins et le foie, voire cancérigènes.

Les huiles essentielles provoquent des contractions des muscles utérins et des saignements utérins.

Les signes d'intoxication routière commencent par des troubles gastro-intestinaux (douleurs, vomissements, salivation excessive), qui s'accompagnent bientôt de symptômes de choc (hypotension artérielle, maladie cardiaque) voire de convulsions.

Des saignements des organes génitaux sont également observés en même temps.

Selon la gravité de l'intoxication, une insuffisance rénale et hépatique peut survenir plus tard, entraînant la mort.[19]

Il n'existe pas d'antidote aux intoxications routières (*Ruta montana, Ruta graveolens, Ruta chalepensis*).

L'empoisonnement de rue vise généralement à provoquer un avortement.

Il convient de rappeler qu'en Amérique du Sud, l'avortement est presque toujours interdit.

Les femmes enceintes devraient éviter de consommer même de petites quantités d'extrait de *ruta montana l*, car des études animales ont montré que l'extrait de rue peut provoquer des malformations fœtales [19]

8 Utilisations

8.1 Effet pesticide de *Ruta montana l*

La *Ruta montana l* est utilisée pour lutter contre les parasites en raison de son arôme fort et de ses composés puissants.

Repoussez les scarabées japonais (un ravageur introuvable au Québec).

Efficace contre les insectes tels que le doryphore de la pomme de terre, la mouche tanaïs, la mouche des étables, la mouche domestique et les puces.

Les extraits étherés des graines sont également efficaces contre le puceron de la fève (*Aphis craccivora*) [20]

L'extrait aqueux-acéto-éthanolique de roux a des propriétés antibactériennes mais ne réagit pas avec les levures antifongiques.

Cependant, il est particulièrement efficace contre les maladies des plantes telles que la tumeur du collet (*Agrobacterium tumefaciens*), la pourriture molle (*Erwiniacarotovora*), la pustule bactérienne (*Xanthomonas phaseoli*) et la tache bactérienne (*Pseudomonas syringae*)[20]

La *Ruta montana l* est un attractif très puissant pour l'aleurode des serres (*Trialeurodes vaporariorum*), selon Doug Walker, chercheur à l'Université de Californie à Davis.

Il peut être mis à profit en plaçant une ou plusieurs plantes de rue dans une serre pour détecter les aleurodes.

S'ils se trouvent dans la serre, vous les trouverez d'abord dans la rue.

Si nécessaire, relâchez les guêpes parasites (*Encarsia formosa*).[20]

8.2 Culinaires

Au Moyen-Orient, le roux est utilisé pour fabriquer des produits à base de beurre de chèvre et de mouton et a une durée de conservation de quatre mois. [21]

Les Italiens utilisent le roux pour aromatiser un vin appelé grappa con ruta.

En Afrique du Nord, les graines sont également utilisées pour fabriquer un vin de palme appelé laqmi.

En Angleterre, les feuilles étaient parfois bouillies avec de la mélasse pour une conservation à long terme.

La Ruta montana l est l'un des ingrédients du célèbre remède à base de plantes Four Thieves Vinegar. Il est également utilisé pour se gargariser.

Même en petites quantités, les feuilles fraîches ou séchées sont utilisées pour aromatiser le fromage, la viande, la volaille, les jus de légumes, les ragoûts et le vin .[22]

8.3 Effet thérapeutique

On sait depuis longtemps que la sève ou sève des feuilles de rue agit comme un antidote contre les morsures de serpents, les piqûres d'insectes et les allergies aux plantes, et possède des propriétés antispasmodiques.

Les Arabes disent que mâcher les feuilles peut soulager les troubles nerveux.

Les feuilles fraîchement écrasées peuvent être appliquées en externe pour soulager les symptômes de la sciatique.

Traditionnellement, la rue était utilisée pour l'épilepsie.

Roux a des propriétés anthelminthiques et anti-amibes, et convient également au renforcement des os et des dents.[23]

CHAPITRE 2
ETUDES DES METABOLITES SECONDAIRES

1 Introduction

Les métabolites secondaires sont des composés phytochimiques qui ne sont pas directement, impliqués parmi les procédures fondamentales (croissance, partage cellulaire, respiration, photosynthèse, reproduction) [24], le contenu de ces composés ne se rencontre pas comme toutes les autres parties de la cellule, ils ne participent pas au métabolisme général (primaire), ce sont des métabolites secondaires, qui n'exercent aucune influence sur le déroulement des activités fondamentales de la cellule végétale. Ils peuvent servir à diverses fonctions telles que la rémanence du végétal lui-même, action de défense, action de résistance [25] sont aisément synthétisés dans une partie de la plante et stockés dans une autre, ils ont de temps en temps des structures chimiques complexes extrêmement variables suivant les espèces et s'accumulent aisément en petites quantités. Ces molécules bioactives sont produites dans différentes parties de la cellule [26].

2 Classification

2.1 Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires, d'un poids moléculaire élevé. Ils sont largement distribués dans le règne végétal [27]. Ce sont des composés dont l'élément structural principal est la présence caractéristique d'au moins un noyau benzénique, directement lié à au moins un groupement hydroxyle libre ou participant à une autre fonction (éther, ester, hétéroside) [28]. Ils peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C₆ à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modifications de squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, ...). Toutes les classes de composés phénoliques comportent un grand nombre de structures différentes en fonction du nombre et de la position des groupements hydroxyles sur le squelette de base [29].

Ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences). Les polyphénols contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) [30]. Ils contribuent aux couleurs des plantes. Ils sont présents dans tous les organes de la plante et constituent donc une partie intégrante de l'alimentation humaine. Les composés phénoliques sont des constituants répandus des aliments végétaux (fruits, légumes, céréales, olive, légumineuses, chocolat, etc.) Et boissons (thé, café,

bière, vin, etc.), et partiellement responsable des propriétés organoleptiques globales des aliments végétaux. Par exemple, les composés phénoliques contribuent à l'amertume et l'astringence des fruits et jus de fruits, du fait de l'interaction entre les composés phénoliques, [31]

2.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les molécules les plus représentatives des composés phénoliques, parce qu'ils sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phenyl chromone portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. Le noyau flavone est lui-même un dérivé du noyau flavane de base, sont donc des polyphénols complexes, leur structure chimique comprend 15 atomes de carbone de type c6-c3-c6 constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux a et b) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle c) [32],[33] sont des pigments végétaux qui sont synthétisés à partir de la phénylalanine et affichent généralement les couleurs brillantes connues des pétales de fleurs. [34]. Cette classe de molécules est retrouvée dans les fruits, les légumes, les graines, le thé ou encore le vin rouge [35]. Figure 5.

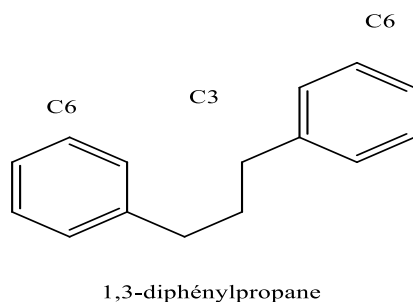


Figure 5: Structure de flavonoïde

Certaines classes de flavonoïdes sont présentes exclusivement chez certains végétaux, on trouvera par exemple, les flavanones dans les agrumes, les isoflavones dans le soja, les anthocyanes et les flavonols ont eu une large distribution dans les fruits et les légumes, tandis que les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs.

2.3 Tanin

Les tanins sont des substances naturelles polyphénoliques, hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000, à saveur astringente, ayant en commun la propriété de précipiter

les protéines, en s'y liant [36] les tanins sont utilisés dans l'industrie des colorants commun la propriété de précipiter les caustiques pour colorants cationiques(colorants ,tannins),et aussi dans la production de encres(encre de gallate de fer).dans l'industrie alimentaire ,des tanins sont utilisés pour clarifier le vin, la bière et les jus de fruits.

Autres utilisations industrielles des tanins comprennent des colorants textiles, comme antioxydants dans le fruit les industries du jus, de la bière et du vin, et comme coagulants dans le caoutchouc production [37].

Le terme tanin vient de la source de tanins utilisée pour le tannage des peaux d'animaux en cuir. Dans ce processus, les molécules de tanins se lient aux protéines par des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes. figure6

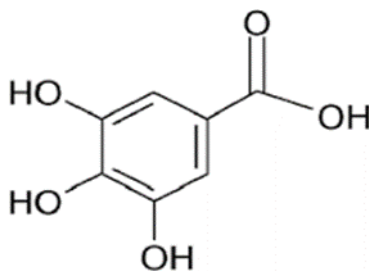


Figure 6: Structure des tanins

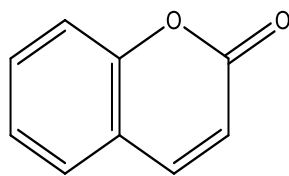
2. 4 Les Coumarines

La coumarine est un composé chimique organique appartenant à la famille des benzopyrones, dont le nom selon l'IUPAC est 2H-1-benzopyrones -2-one.

Dans son état normal (standard), elle est caractérisée par une structure cristalline et incolore. Différents résidus peuvent être ajoutés à ce squelette formant la famille des coumarines. Les coumarines sont considérées comme un groupe de métabolites secondaires des plantes [38].

Ce sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2- pyrone.[39], possèdent une ou plusieurs fonctions phénoliques

possèdent, étherifiées ou non (à l'exception de la coumarine proprement dite) ; c'est pourquoi on les rattache souvent aux polyphénols [40]. figure7



coumarine

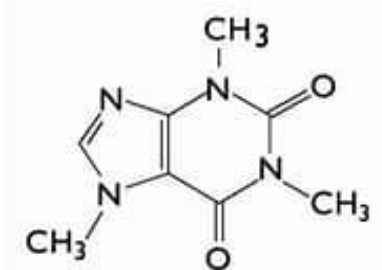
Figure 7: Structure de coumarine

2. 5 Les alcaloïdes

Est un composé organique d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique [41]. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique [42] de structure complexe, qui se trouvent dans nombreuses plantes comme produits de déchets du métabolisme. les alcaloïdes apparaissent liés aux acides organiques dans le cytoplasme des tissus extérieurs. Ils sont toxiques, leur utilisation ne peut avoir lieu que sous contrôle médicale. Ils ont une action plus ou moins énergique sur le système nerveux centrale et végétatif. [43], ils sont solubles dans l'eau et les solvants organiques polaires comme les alcools, tant qu'ils sont placés en milieu acide (sels d'alcaloïdes) ils sont solubles aussi dans les solvants organiques peu polaire comme le dichlorométhane, le chloroforme, etc....) en milieu alcalin (alcaloïdes sous forme de base)[44].

Alcaloïdes sont souvent toxiques pour l'homme et beaucoup ont des activités physiologiques dramatiques ;

Par conséquent en médecine. ils sont généralement incolores, souvent optiquement substances actives ; la plupart sont cristallines, mais quelque sont liquides à température ambiante .pour les alcaloïdes dans les feuilles ou les fruits est le gout amer qu'ils donnent souvent à la langue [45]. figure8

**Figure 8: Structure des alcaloïdes**

2. 6 Les Terpénoïdes

Les terpènes sont des hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte, leur formule brute est $(C_5 H_x)_n$ dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de molécule et n peut prendre des valeurs (1-8), [46].

Le terme de Terpénoïdes est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène (2-méthylbuta-1,3-diène) ces composés sont majoritairement d'origine végétale [47] ils sont d'arôme et des parfums, des antibiotiques, des hormones végétales et animales, des lipides membranaires, des attracteurs d'insectes, des anti-alimentaires et des médiateurs des processus essentiels de transport d'électrons [48].
Figure9

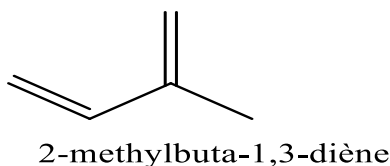


Figure 9: Unité isoprène

2. 7 Les mucilages

Les mucilages sont des substances végétales composées d'un composé gélatineux composé de polysaccharides qui gonflent à l'eau en prenant une consistance visqueuse, parfois collante, similaire à la gélatine, d'où leur surnom de morve de mer. Le terme peut également être utilisé pour décrire une préparation complexe composée de mucilage ou d'un liquide visqueux créé en dissolvant une gomme végétale dans de l'eau [49].

2. 8 Les saponines

Les saponines ou saponosides sont d'hétérosides composé de deux parties : une soluble dans l'eau chaîne glucidique et généralement triterpénique ou structure liposoluble stéroïdique Les saponines sont classées par majorité des auteurs en deux groupes selon la nature de leur aglycone saponosides avec stéroïdiques aglycone, saponosides triterpéniques aglycone. Les aglycones stéroïdesreprésenté dans ont un ensemble squelette avec 27 atomes de carbone.

Ces molécules proviennent d'une intramoléculaire cetalisation qui intervient après oxydation en C16, C22 et C26 précurseur cholestanique en tenant comptes piro-nature de C22 ; cet hexacyclique,[50].

La saponine appartient à un groupe de glucosides huileux naturels qui moussent abondamment lorsqu'on les agite dans une solution.

Les saponines sont des glycosides stéroïdes ou triterpénoïdes, nommées pour leurs propriétés savonneuses [51]. Figure 10

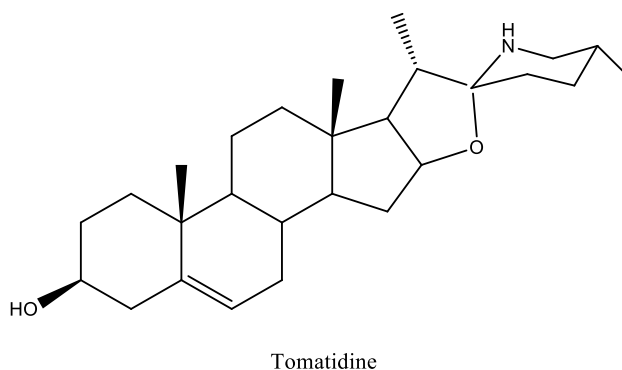


Figure 10: Tomatidine

2. 9 Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges des composés lipophiles, souvent volatiles et liquides, fabriqués et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés. C'est un extraites des plantes par distillation comptent parmi les principes actifs des plantes le plus utilisées en parfumerie elles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante [52],[53]. Ce sont des complexes naturels de molécules volatiles, synthétisées par les cellules sécrétrices des plantes aromatiques. Celles-ci les conservent dans des poches au niveau de certains organes [54]. Il a des propriétés telles qu'il est volatil à température normale, qui dégagent une odeur aromatique agréable [55].Soluble dans tous les solvants organiques, elle sont très peu solubles dans l'eau, leur densité est inférieure à celle de l'eau et sont constituées environ de 300 molécules différentes terpéniques (monoterpènes, sesquiterpènes , diterpènes [56].

2.9.1 Intérêt biologique d'huiles essentielles

Les huiles essentielles ont beaucoup d'actions biologiques. Dans les préparations pharmaceutiques, sont souvent employés comme antiseptiques, antibactériens, et antifongique

- ❖ Dans le domaine phytosanitaires et agro-alimentaires : les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employé comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les d'entrées alimentaires.
- ❖ Egalement utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires elles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite [57].

3 Méthodes d'extraction des métabolites secondaires

3.1 Extraction par solvant solide-liquide

- ❖ **Extraction par Macération** : C'est une méthode d'extraction solide-liquide. Elle consiste en mise en contact du matériel végétal avec le solvant, pour extraire certains principes actifs [58].
- ❖ **Extraction par Infusion** : Opération consistant à laisser infuser plus ou moins longtemps des substances dans un liquide afin d'en extraire les principes solubles [59].
- ❖ **Extraction par Décoction** : Procédé consistant à faire bouillir dans un liquide une substance médicamenteuse, généralement végétale, afin d'en extraire le principe actif [60]. Figure 11

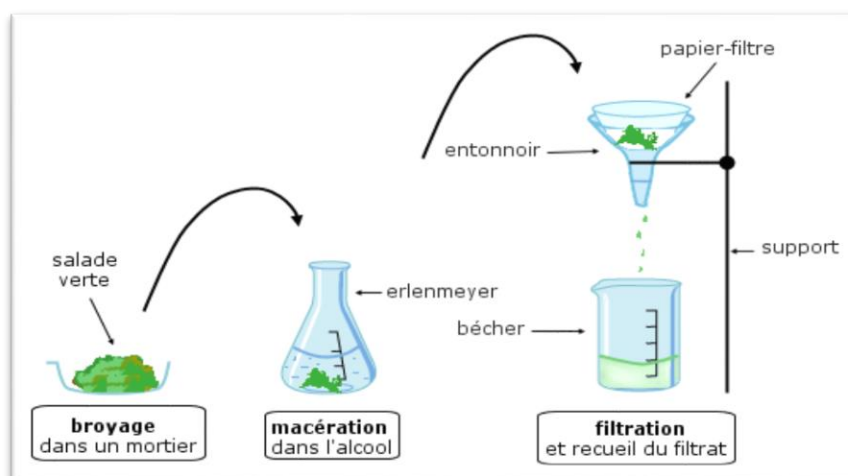


Figure 11: Extraction par solvant solide-liquide

3.2 Extraction par distillation

C'est la méthode la plus simple, elle consiste à vaporiser l'eau ou un solvant organique qui entrainera avec lui les substances volatiles, qui vont être par suite condensées puis récupérées.

3.2.1 Hydrodistillation

L'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau porté à l'ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité [61].

Cette méthode est généralement utilisée en cas des huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Figure 12

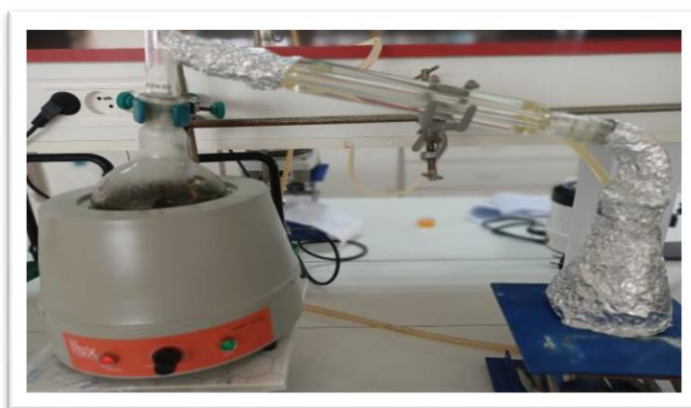


Figure 12: Montage d'extraction par hydrodistillation

3.2.2 La distillation par entraînement à la vapeur

Consiste à distiller un composé par entraînement à la vapeur d'eau est un procédé très ancien permettant de séparer des substances d'une mixture liquide [62]. qui consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau l'ensemble est porté à ébullition et l'opération est généralement conduite à pression atmosphérique, la chaleur permet l'éclatement et libération des molécules volatiles contenues dans les cellules végétales. Les constituants se vaporisent selon leur température d'ébullition respective. Un condenseur permet de refroidir ces vapeurs de mélange afin de récupérer ces substances dans des récipients appropriés, puis séparé en une phase aqueuse et une phase organique qui constitue l'huile essentielle [63].

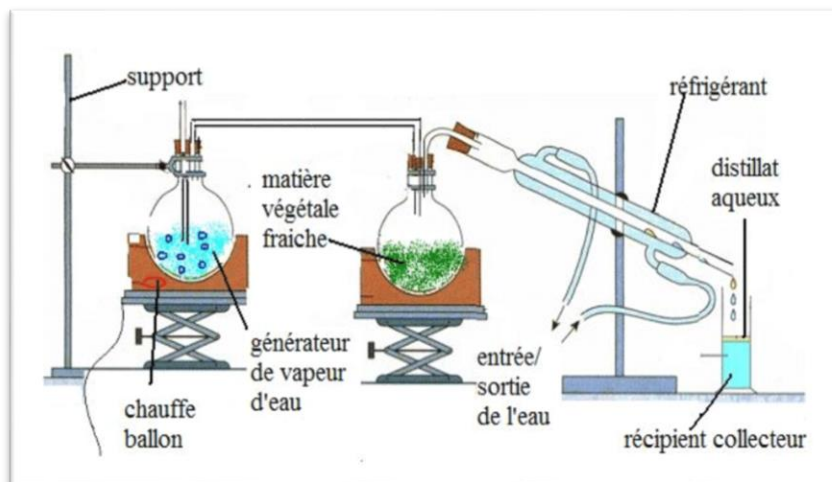


Figure 13: La distillation par entraînement à la vapeur

3.2.3 Extraction au CO₂ supercritique

L'extraction au CO₂ supercritique consiste à traiter une matière première aromatique végétale et naturelle avec du CO₂ supercritique. Dans cet état le CO₂ a la viscosité d'un gaz et la densité d'un liquide, ce qui fait de lui un bon solvant.

Le CO₂ supercritique entraîne les molécules odorantes dans un séparateur. La pression est ensuite abaissée afin de séparer le CO₂ de l'extrait. Le CO₂ devient alors gazeux et réticule jusqu'à l'extraction totale de la matière première aromatique. Les molécules odorantes, elles précipitent au fond du séparateur avant être recueillies [64]. Le CO₂ possède des propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz ce qui en fait une bonne capacité d'extraction. Qui plus est, facilement modulable en jouant sur les conditions de température et de pression. Cette technique présente d'avantages. Tout d'abord, le dioxyde de carbone le fluide le plus utilisé. Il est peu coûteux, non toxique, accessibles sont compatibles avec les composés thermiquement instables, De plus, il s'élimine facilement de l'extrait sans laisser de résidus [65].

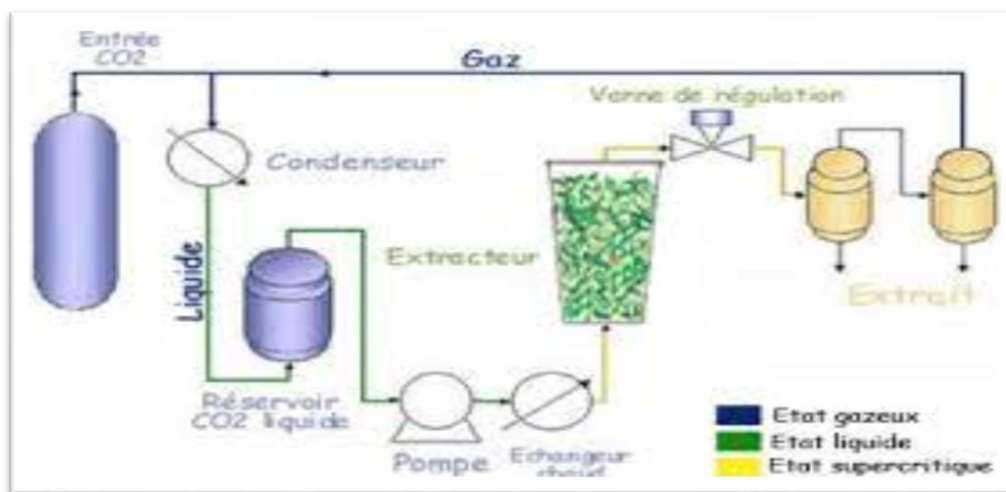


Figure 14: Montage d'extraction au CO₂ supercritique

3.2.4 Extraction par Soxhlet

Un extracteur Soxhlet est une méthode d'extraction utilisée en chimie analytique et en chimie organique qui permet de faire l'extraction continue d'un solide par un solvant (figure15), il se compose d'un corps en verre dans lequel est placé une cartouche en papier filtre épais, d'un tube siphon et d'un tube d'adduction. Le corps de l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction, Les résidus à extraire sont placés dans l'extracteur surmonté d'un réfrigérant [66]

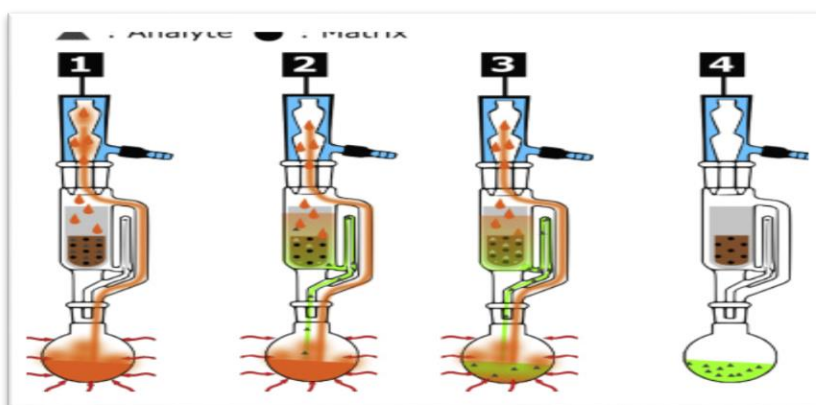


Figure 15: Montage d'extraction par soxhlet

CHAPITRE 3
ETUDE PHYTO CHIMIQUE

1 Introduction

De nos jours, les produits naturels sont une source importante pour la recherche de nouveaux composés actifs contre de nombreuses maladies. La plupart des espèces végétales dans le monde possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui réagissent directement sur l'organisme. L'évaluation médicinale de ces pratiques passe par l'isolement et l'identification de nouvelles substances. [67] Dans le but de ce recherche de différentes classes des métabolites secondaires dans l'extraits de *ruta montana*, nous avons effectué un screening phytochimique en établissant une série de réactions de caractérisation de divers composés chimiques à savoir (les flavonoïdes, les saponines, les tanins, les alcaloïdes...).

2 Etude phytochimique

Le test de caractérisation chimique permet une analyse qualitative fondée sur les réactions. de coloration et/ou de précipitation au moyen de réactifs spécifiques ; Ce screening a été réalisé sur la poudre de *RUTA MONTANA* , par les méthodes d'extraction de l'infusion, décoction et macération nous avons utilisé des techniques analytiques.[68]

Ces tests fournissent des informations sur la composition phytochimique. Les résultats sont classés selon :

❖ Réaction franchement positive :	++++
❖ Réaction positive :	+++
❖ Réaction moyennement positive :	++
❖ Réaction non déterminée :	+
❖ Réaction négatif :	0
❖ Réaction non effectué :	-

Macération : Opération qui consiste à laisser séjourner un corps solide dans un liquide ou dans un milieu humide, pour extraire certains principes actifs ou nutritifs de ce corps ou pour obtenir une modification de celui-ci ; état d'un corps soumis à cette action. Il est certain que la macération et la coction

Détachent nettement les muscles des parties dures, ce qui ne peut avoir lieu que par la dissolution de leur moyen d'un ion.

Infusion : Opération consistant à laisser infuser plus ou moins longtemps des substances dans un liquide afin d'en extraire les principes solubles.

Décoction : Procédé consistant à faire bouillir dans un liquide une substance médicamenteuse, généralement végétale, afin d'en extraire le principe actif.

3 Matériel et méthodes

3.1 Matériel végétale

La plante choisie dans cette étude est le *RUTA MONTANA* récolté dans la région de sonacter , Mostaganem (Algérie) en février 2024



Figure 16: la matière végétale

3.2 Méthodes d'extraction

Le matériel végétal est constitué de feuilles et tige de plante *RUTA MONTANA* sont lavées puis laisser sécher à l'ombre et à température ambiante dans un endroit aéré. Les feuilles sèches ont

été broyées et conserver à température ambiante, dans un endroit sec et à l'abri de l'humidité et de la lumière.

L'extraction des plantes médicinales est très importante pour avoir un extrait de bonne qualité et de grande quantité.

3.3 Préparation du macérât

Un extrait sulfurique est préparé à partir de 10 g de poudre médicinale et de 50 ml d'acide sulfurique concentré dilué 10 % dans un erlenmeyer de 250 ml après une macération de 24 H. la macéré ainsi obtenu est ensuite complété à 50 ml avec de l'eau distillée.

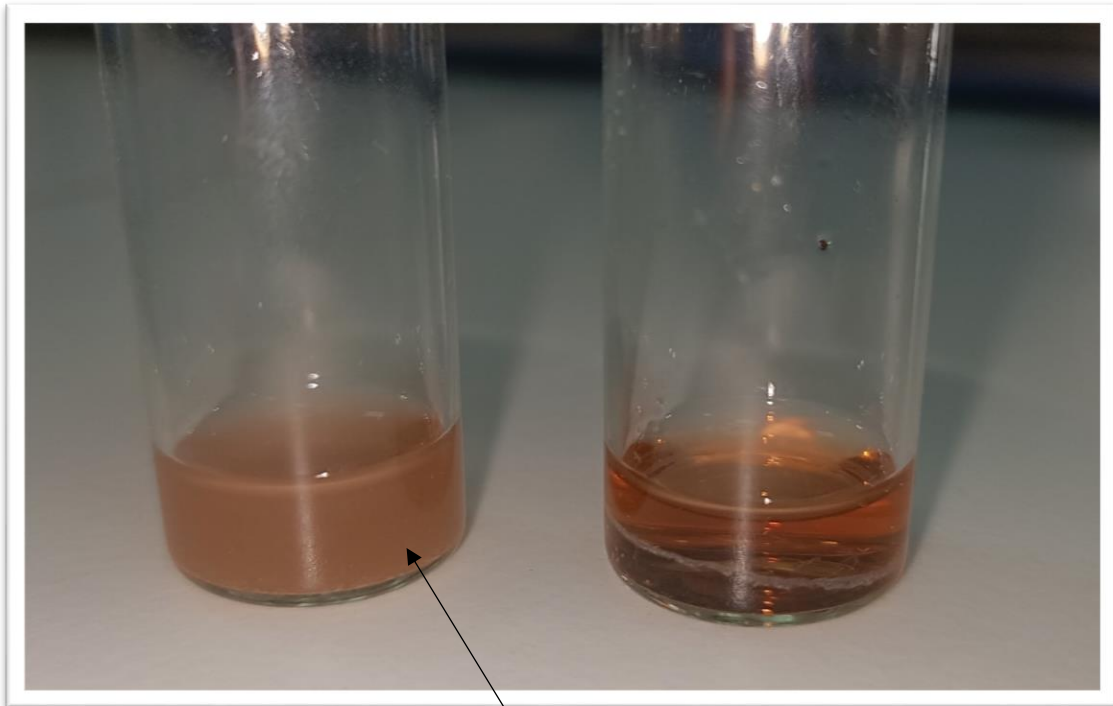
3.4 Préparation de l'infusion

5g de poudre végétale est versé dans 100 ml de l'eau bouillante après 15 min nous avons filtré la solution pour obtenir l'infusé à 5 %.

3.5 Recherche des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont été caractérisés à partir de test : le test de Mayer

Introduire 1ml de la macéré dans un tube à essai., ajouter 5 gouttes de réactif de Mayer, l'apparition de précipités indique la présence d'alcaoides



Le précipité indique la présence
D'alcaloïdes

Figure 17: Test des alcaloïdes

4 Recherche des substances polyphénoliques

La solution à analyser est un infusé aqueux à 5% obtenu en versant 5 g de poudre médicinale dans 100ml d'eau distillée bouillante. Filtrer après 15min et rincer avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 100ml de filtrat

4.1 Les tanins

A 5ml d'infusé à 5%, ajouter 1ml de perchlorure ferrique à 1%. En présence de tanins il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre

La différenciation entre les tanins galliques et les tanins catéchiques se fait par la réaction de

Stiasny :

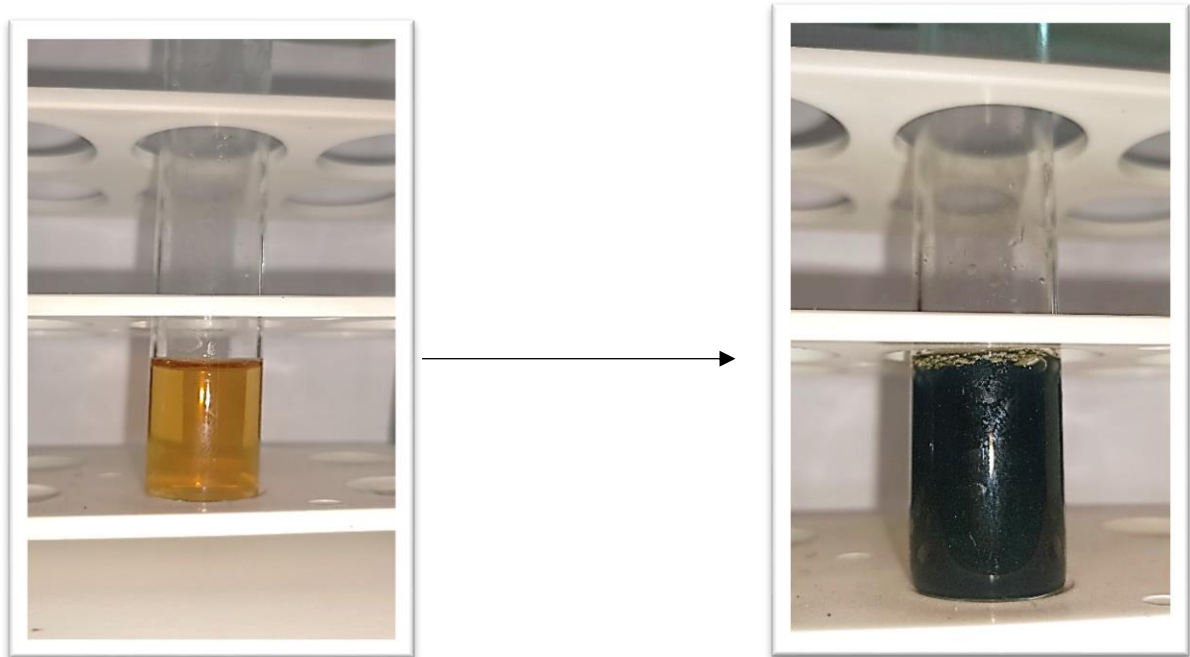


Figure 18: Présence des tanins

4.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été recherchés par la réaction de cyanidine. À 5 ml de l'infusé on ajoute 5 ml d'alcool chlorhydrique (éthanol, eau distillée et l'acide chlorhydrique concentré en parties égales en volume). ensuite 1ml d'alcool iso-amylque puis ajouter quelques copeaux de magnésium, L'apparition d'une coloration :

- Rose orangée indique la présence des flavones.
- Rose violacée indique la présence de flavanones.
- Rouge indique la présence des flavonols, flavanonols.

Cette coloration a confirmé la présence de flavonoïdes.



Figure 19:la présence des flavones

4.3 Recherche des saponines

Pour rechercher les saponosides, nous avons porté 0.5 g drogue pulvérisée à ébullition pendant 5 min dans 10 ml d'eau distillée nous laissons jusqu'à ce qu'il refroidisse puis versé dans un tube à essais a bouchon de l'extrait et agiter pendant 1 min puis laissé au repos durant quelque min, la formation d'une mousse d'une hauteur supérieure à 1cm indique la présence des saponines.

4.4 Mucilages

À 1 ml de la solution à analyser ajouter 5 ml d'éthanol absolu. L'apparition d'un précipité floconneux indique la présence de mucilages.



Figure 20:la présence de mucilages

Les résultats

Les tests utilisent des réactions qualitatives de caractérisation pour identifier les différents composés chimiques présents dans *RUTA MONTANA L.* Ces réactions dépendent des phénomènes de précipitation ou de coloration de réactifs particuliers. Ces derniers permettent de déterminer s'il y a ou non des métabolismes secondaires.

Les recherches phytochimiques effectuée ont donné les résultats regroupés dans le tableau 02.

Tableau 2: Résultats des test phytochimiques

Les composés	Résultats
Alcaloïdes	+++
Flavonoïdes	+++

Tanins	++++
Saponines	++
Mucilages	+++

Les analyses montrent une forte présence des tanins d'alcaloïdes, des flavonoïdes, des mucilages des Saponines est une faible présence des Coumarines

5 Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

5.1 Extraction

L'essence a été obtenue en utilisant le montage d'hydrodistillation. Une quantité de 300 g de matériel végétal est introduite dans un ballon contenant 2000 ml de l'eau distillée. Le mélange est porté à l'ébullition durant 3 heures. Les vapeurs d'eau chargées d'huile essentielle sont condensées dans le réfrigérant et récupérées.

On ajoute du dichlorométhane et du sel au distillat. On sépare entre les deux phases à l'aide

D'une ampoule à décanter. Après cela, la phase organique huileuse est traitée avec $MgSO_4$ pour éliminer toutes traces d'eau, puis filtrée.

Ensuite, le filtrat obtenu doit être évaporé à sec pour éliminer le dichlorométhane et récupérer notre l'huile essentielle.

Pour éviter toute dégradation de l'essence, l'huile est conservée dans des flacons hermétiquement fermés à l'obscurité et à basse température.

6 Calcul de rendement

$$R = \frac{1.7}{100} * 100$$

$$R = 1.7 \%$$

7 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)

La combinaison entre ces deux techniques d'analyses CPG/SM permet de séparer les composants de l'échantillon et d'identifier chaque composant, donc de faire une analyse complète aussi bien qualitative que quantitative du produit à analyser.

La chromatographie en phase gazeuse sépare des fractions moléculaires composant l'échantillon en se basant sur la vitesse de déplacement et le temps de rétention mis pour parcourir une colonne remplie d'une phase stationnaire.

La spectroscopie de masse utilise des sources énergétiques pour ioniser, fragmenter et enfin séparer les groupements moléculaires selon le rapport masse sur / charge électrique (m/q)

Tableau 3: la composition de l'huile essentielle de *ruta montana l* par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)

Peak Nombre	Kovats index	Compound	(%)
1	936	α -Pinene	0.05
2	983	3-Octanone	0.10
3	987	β -Myrcene	0.18
4	1.017	δ - Carene	1.23
5	1.026	p-Cymene	0.76
6	1.030	Limonene	0.94
7	1.089	Nonan-2-one	29.54
8	1.098	Nonanal	0.92
9	1.135	Octanol- acetate	0.41
10	1.139	β -Tujone	0.18
11	1.146	4-Terpineol	0.84

12	1.189	Decan-2-one	1.41
13	1.230	2-Nonanol acetate	18.20
14	1.291	Ketone s-undecan-2-one	32.81
15	1.330	Decyl-2-acetate	0.19
16	1.363	Dodecan-2-one	0.64
17	1.426	2-Undecanol acetate	4.02
18	1.493	Tridecan-2-one	0.50
19	1.819	Diisooctylester	3.56
20	2.099	Psoralen	3.52

8 Résultats et discussions

L'identification des produits a été faite en comparant leurs indices de rétention et spectre de masse avec ceux des composés de référence de la littérature emmagasinée dans le logiciel de l'appareil.

L'analyse chromatographique de l'huile essentielle par CG/MS a permis d'identifier la composition chimique de *Ruta montana L.* L'analyse quantitative montre la présence de vingt produits : sont regroupés dans le tableau. 1.

Les principaux composés sont constitués de monoterpènes oxygénés, caractérisés par la forte prévalence de deux cétones-undécan-2-one (32,81 %), Nonan-2-one (29,54 %). Nonanol-2-acétate (18,20 %), acétate de 2-Undécanol. (4,02 %) et Psoralène (3,52 %) ...

9 Le radical stable DPPH

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre de couleur violacée qui absorbe dans l'UV-visible à la longueur d'onde de 517nm. Il fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères. Le radical

DPPH reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire.

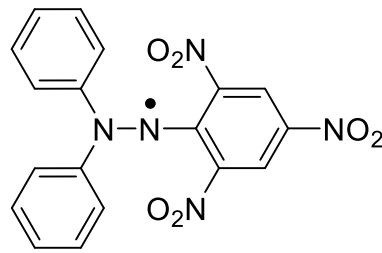


Figure 21 :structure chimique du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1,1-picrylhydrazyle)

10 Principe de la méthode

10.1 Réaction entre le radical libre DPPH et l'antioxydant

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des extraits. Le DPPH est initialement violé, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques.

Dans ce test, le substrat est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule antioxydante, se transforme en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) jaune, avec perte de son absorbance caractéristique à 517 nm. Les réactions ont lieu à température ambiante dans le méthanol ou éthanol (cas des huiles essentielles), qui permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants. Ce test est très utilisé, car il est rapide, facile et non couteux.

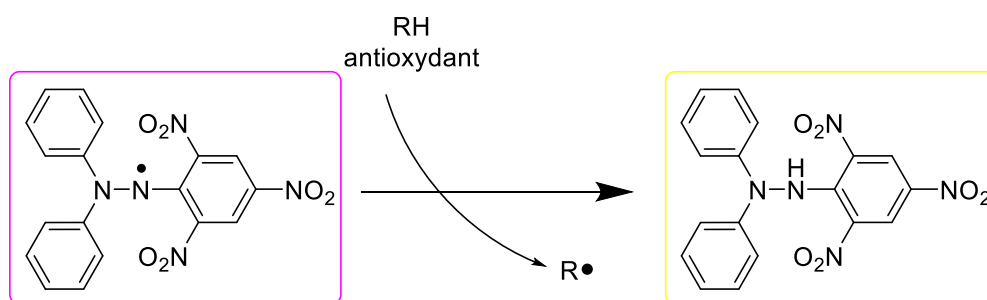


Figure 22: (Réduction du radical DPPH) Piégeage de DPPH par les flavonoïdes (ph: noyau phénolique)

11 Test du piégeage du radical libre DPPH

Dans des tubes à essai, on introduit 1 ml de chaque extrait avec 1 ml de la solution

méthanolique de DPPH (2,4 mg/ 100 ml). Après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture a été effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm.

Comme antioxydant des références, nous avons utilisé l'acide ascorbique et la quercétine.

Le pourcentage de piégeage du radical DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(A_0 - A) / A_0] \times 100$$

A_0 : absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A : absorbance en présence d'extrait.

Pour chaque extrait quatre tests.

12 Calcul de l'IC50

Le paramètre IC50 (Efficient concentration 50 de DPPH perdu) aussi appelée IC50 (Concentration inhibitrice équivalente à 50%), est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. Le pouvoir antioxydant est déterminé de façon à ce qu'une quantité de l'extrait d'une concentration bien déterminée neutralise 50% du radical. Les résultats exprimés en IC50 qui sont calculés à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de chaque extrait. Il faut rappeler que plus la valeur de IC50 est petite, plus l'activité antioxydante de l'extrait est grande.

Tableau 4: Pourcentage d'inhibition de l'extrait méthanolique de *RUTA MONTANA L*

Concentration (mg/ml)	2.5	5.5	10	13	20
(%) D'inhibition	5.5	14.1	25.33	33.45	59.2

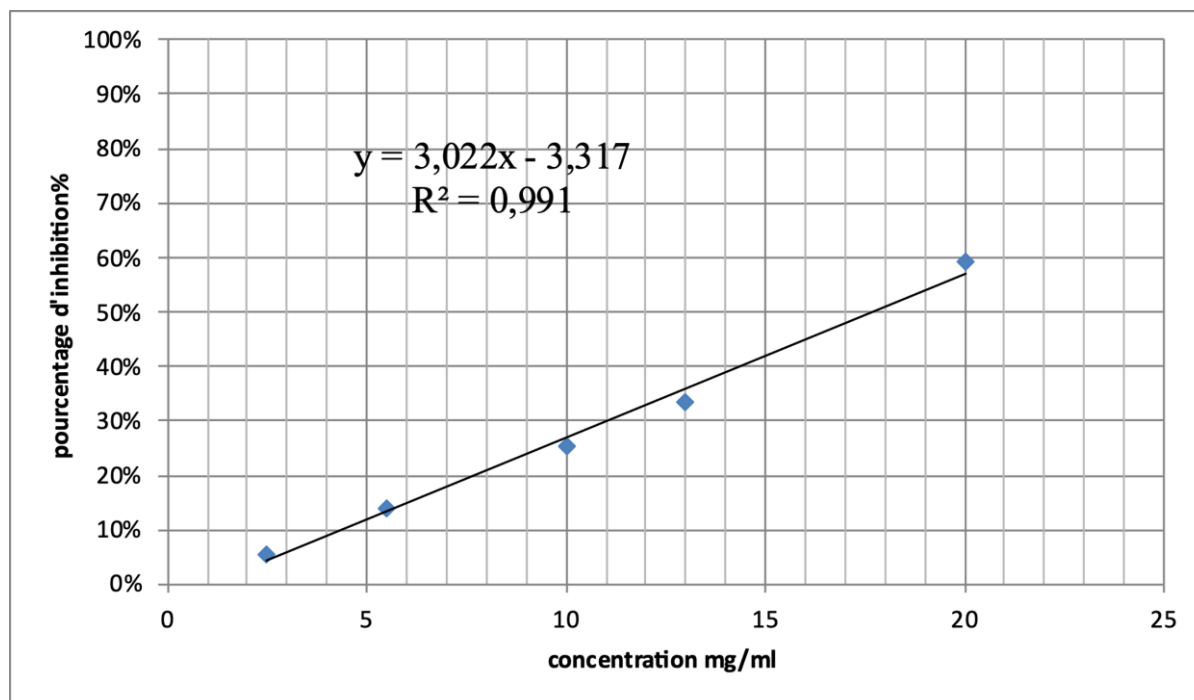


Figure 23: Courbe de corrélation entre l'extrait méthanolique du *Ruta montana L* et le pourcentage d'inhibition

Nous remarquons que l'extrait méthanolique du *Ruta montana L* réduit la concentration de ce radical et le rapport entre l'activité anti radicalaire et la concentration en extrait méthanolique du *Ruta montana L* est positive et significative ($R^2 = 0.991$) figure 21

Le IC50 calculé à partir du graphe

IC50 = 17.65 mg/ml

Chapitre 4

L'effet inhibiteur de l'huile essentielle

I. Étude de l'inhibition de la corrosion

1 Introduction

La corrosion du fer par un acide est un phénomène chimique commun qui a des implications importantes dans de nombreux domaines, allant de l'ingénierie à la conservation du patrimoine. Ce processus se produit lorsque le métal réagit avec un acide, entraînant une détérioration progressive du matériau. La corrosion est une oxydation du métal, souvent catalysée par la présence d'acides, qui accélèrent la formation de produits de corrosion comme la rouille.[69]

La vitesse de corrosion dépend de plusieurs facteurs, dont la concentration de l'acide, la température, la présence d'oxygène et d'autres contaminants. La corrosion par acides peut être particulièrement rapide et sévère, entraînant une perte de masse importante du métal et une diminution de ses propriétés mécaniques.[70]

Comprendre les mécanismes de la corrosion est crucial pour développer des stratégies de protection du métal, comme l'utilisation de revêtements protecteurs, d'inhibiteurs de corrosion ou la conception de structures résistantes à la corrosion. Par ailleurs, la corrosion a des implications économiques considérables, car elle peut entraîner des coûts élevés de maintenance et de remplacement des infrastructures métalliques.[71]

Ainsi, l'étude de la corrosion du métal par les acides n'est pas seulement une question théorique, mais une nécessité pratique pour assurer la durabilité et la sécurité des structures métalliques dans divers environnements.[72]

L'évaluation gravimétrique est une méthode couramment utilisée pour étudier l'efficacité des inhibiteurs de corrosion. Cette technique repose sur la mesure de la perte de masse d'un échantillon métallique après exposition à un milieu corrosif, avec ou sans inhibiteur. Voici un aperçu détaillé de cette méthode et de son application dans l'étude des inhibiteurs de corrosion [73]

2 Principe de l'évaluation gravimétrique

Préparation des Échantillons : Des échantillons de métal, souvent des coupons de fer ou d'acier, sont soigneusement nettoyés pour éliminer toute impureté ou couche oxydée préexistante. Leur masse initiale est mesurée avec précision à l'aide d'une balance analytique.

3 Exposition au milieu corrosif

Les échantillons sont immergés dans une solution corrosive (par exemple, une solution d'acide) avec et sans la présence d'un inhibiteur de corrosion. Les conditions d'exposition (concentration de l'acide, température, durée) sont contrôlées et maintenues constantes pour assurer des résultats comparables.

4 Retrait et nettoyage des échantillons

Après une période d'exposition déterminée, les échantillons sont retirés de la solution, rincés pour enlever les résidus de la solution corrosive, puis nettoyés pour enlever les produits de corrosion. Ceci est souvent effectué en utilisant des solutions de nettoyage spécifiques pour assurer que seule la corrosion est enlevée, sans altérer le métal de base.

5 Mesure de la perte de masse

Les échantillons sont séchés et leur masse finale est mesurée. La différence entre la masse initiale et la masse finale donne la perte de masse due à la corrosion.

Avantages et Limitations

6 Avantages

Simplicité et Fiabilité : La méthode gravimétrique est simple à mettre en œuvre et fournit des résultats fiables.

Directe : Elle donne une mesure directe de la perte de métal due à la corrosion.

Économique : Cette méthode ne nécessite pas d'équipements sophistiqués, rendant les coûts d'analyse relativement bas.

Limitations

Temps : La méthode peut être chronophage, nécessitant plusieurs jours d'exposition pour obtenir des résultats significatifs.

Sensibilité : Les pertes de masse très faibles peuvent être difficiles à mesurer avec précision, limitant la sensibilité de la méthode pour des inhibiteurs très efficaces.

État de Surface : Les résultats peuvent être influencés par les conditions de surface initiales des échantillons.

Calcul de l'Inhibition de la Corrosion

La vitesse de corrosion est évaluée en comparant la perte de masse des échantillons avant et après le test à l'aide de la formule suivante :

$$V = (M_0 - M_1) / S.t \text{ (mg.h}^{-1}\text{.cm}^{-2}\text{)}$$

$$V = \Delta M / S.t \text{ (mg.h}^{-1}\text{.cm}^{-2}\text{)}$$

$$\Delta M = M_0 - M_1 \text{ (mg)}$$

ΔM : la perte de masse due à la corrosion. La différence entre la masse initiale et la masse finale.

M_0 : la masse de l'échantillon initiale avant le test (mg).

M_1 : la masse de l'échantillon finale après le test (mg).

S : la surface de l'échantillon (cm²).

t : le temps (24h).

7 Composition chimique du matériau

- La composition chimique du matériau analysé avec FRX et les concentrations en éléments sont exprimées comme suit :

Fe 88,1 % , Na 6,39 % , Si 1,27 % , Al 1,27 % , Zn 0,845 % , Pb 0,564 % , Cl 0,510 % , Ca 0,423 % , S 0,196 % , K 0,183 % , Mg 0,181 % , Cu 510 PPM , As 282 PPM , Cr 217 PPM , Ni 84,6 PPM

Quant à l'efficacité inhibitrice ($E_w \%$), elle a été calculée à l'aide de l'équation ci-dessous :

$$E_w \% = \frac{V_{cor} - V_{cor(inh)}}{V_{cor}} \times 100$$

où V_{cor} et $V_{cor(inh)}$ sont respectivement les vitesses de corrosion sans inhibiteur et en présence d'inhibiteur.

Le milieu acide H₂SO₄ 0.5 M utilisé dans cette étude a été préparé en diluant la qualité analytique initiale de H₂SO₄ avec une eau bidistillée. Des échantillons d'acier cylindriques d'une surface de 2 cm² ont d'abord été polis à l'aide de différents papiers émeri (abrasif), puis soigneusement lavé avec de l'eau bidistillé , dégraissée à l'acétone puis séchée à température ambiante 25⁰C. Chaque échantillon utilisé pour les mesures gravimétriques a été immergé dans une solution d'un mélange de 100ml d'acide sulfurique 0.5M et une concentration de l'huile

essentielle de notre plante. Le temps d'immersion pour la perte de poids était de 24 h, à 298 K. Après le test de corrosion, les échantillons ont été lavés dans une eau bidistillée, séchées puis pesées. Des expériences en triple ont été réalisées dans chaque cas. Les valeurs moyennes des pertes de poids permettant de calculer les valeurs moyennes du taux de corrosion sont regroupées dans le tableau

Tableau 5: les valeurs moyennes du taux de corrosion

Concentration Inhib (mg/ml)	ΔM (mg)	pH t = 0	pH t = 24h	Vcor (moy) (Mg/h.cm ²)	E _w (%)	Log(conc)
0	0.67	0.75	0.79	13.95	/	/
10 ⁻⁴	0.15	0.70	0.95	3.15	77.5	-4
10 ⁻³	0.14	0.68	0.89	2.94	79.3	-3
5.10 ⁻³	0.13	0.67	0.81	2.75	80.5	-2.1
10 ⁻²	0.03	0.66	0.80	0.65	95.5	-2
5.10 ⁻²	0.1	0.65	0.79	2.1	86	-1.4

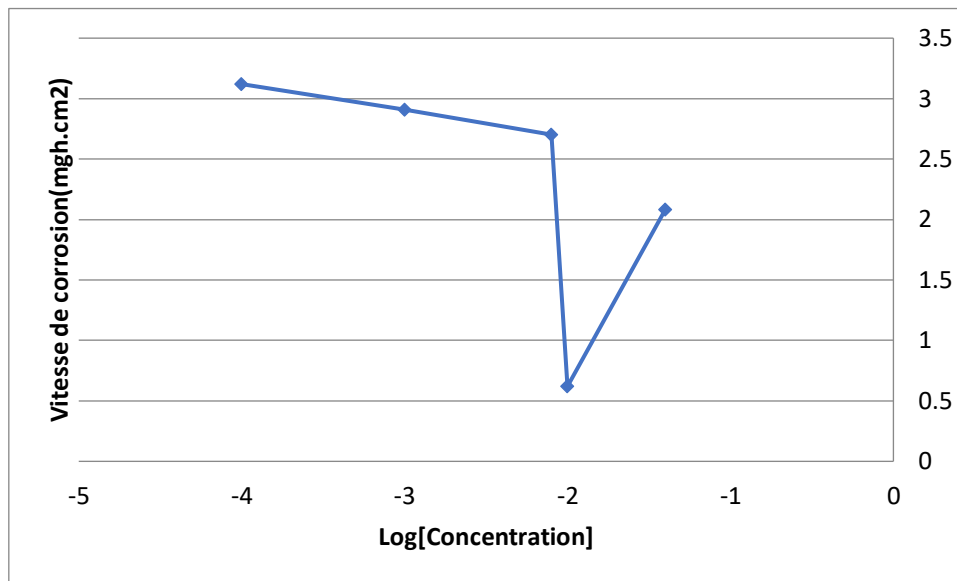


Figure 24 : vitesse de corrosion (mgh .cm²) en fonction de log (concentration)(mg/ml)

8 Conclusion

L'efficacité d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration en inhibiteur pour atteindre une valeur égale à 95,5 %, à 0.01 mg/ml à température constante 295k.

L'évaluation gravimétrique est une méthode éprouvée pour étudier l'efficacité des inhibiteurs de corrosion. En mesurant la perte de masse des échantillons métalliques avant et après exposition à un milieu corrosif, cette technique permet de quantifier l'effet protecteur des inhibiteurs. Bien que simple, cette méthode nécessite un contrôle rigoureux des conditions expérimentales pour garantir des résultats précis et reproductibles.

II étude de l'activité antimicrobienne

1 Introduction

L'étude des propriétés antibactériennes de l'huile essentielle de *Ruta montana L* est un domaine de recherche prometteur, surtout en raison de l'intérêt croissant pour les alternatives naturelles aux antibiotiques synthétiques.

2 Méthode de détermination de l'activité antimicrobienne

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antimicrobien des HE a une grande influence sur les résultats. A l'heure actuelle, l'activité antimicrobienne in vitro d'une substance peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide [74]

2. 1 méthode de diffusion sur disque

La méthode de diffusion sur disque, appelée aussi méthode de Vincent ou technique de l'aromatogramme ou technique de l'antibioaromatogramme [75] est mise au point par Schroeder et Messing en 1949. Cet examen se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques, préalablement sélectionnées et reconnues [76].

Cette technique inspirée de celle des antibiogrammes, a été généralisée aux huiles essentielles [77]

Elle consiste à utiliser des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé convenable, déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée. Un disque stérile de papier filtre de 6 mm de diamètre imprégné d'une quantité connue d'huile essentielle est déposé sur le milieu gélosé préalablementensemencé avec une culture microbienne. La dilution des HE se fait toujours dans un solvant tel que l'éthylène glycol [78], l'acétone [79], l'éthanol à 95% [80]. Le principe de cette méthode est toujours la migration de l'HE par diffusion dans la gélose. Après incubation, la lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres [81]. La sensibilité aux différentes huiles essentielles est mesurée en fonction des diamètres des zones d'inhibition comme suit : non sensible (-) pour le diamètre moins sensible de 6 mm ; sensible (+) pour un diamètre entre 9-14 mm ; très sensible (+ +) pour un diamètre entre 15-19 mm et extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus que 20 mm [82]

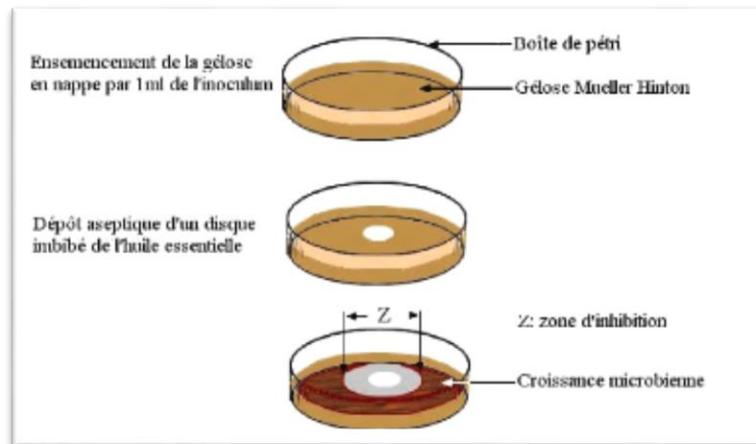


Figure 25: illustration de la méthode d'aromatogramme sur boîte de pétri

4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Cette technique consiste à ensemencer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en huile essentielle. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la concentration minimale inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance de 90% de la population microbienne [83]

Etude expérimentale

1 Réactivation de souches pathogènes

1.1 Les souches pathogènes utilisées

Les germes pathogènes, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 33862, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. cereus* ATCC 10876, et *C. albicans* ATCC10231 ont été réactivées en bouillon BHIB, et incubées à 37 °C pendant 24 H pour s'assurer de leurs pureté ainsi que les réactiver.

1.2 Le renouvellement et l'enrichissement des souches pathogènes

Le renouvellement et l'enrichissement est effectué par ensemencement des souches pathogènes dans un bouillon BHIB à 37°C pendant 24 heures d'incubation avant chaque test d'antagonisme pour obtenir une culture jeune [84]

2 LA méthode de Vincent

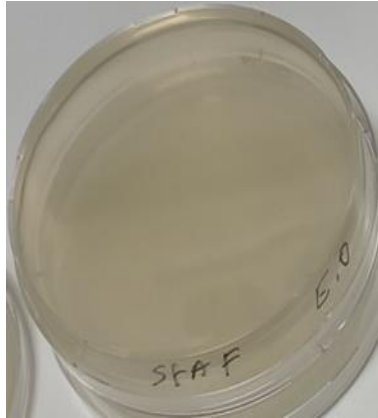
La méthode de diffusion sur disque, appelée aussi méthode de Vincent ou technique de l'aromatogramme ou technique de l'antibioaromatogramme, est mise au point par Schroeder et Messing en 1949. Cet examen se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques, préalablement sélectionnées et reconnues. Cette technique inspirée de celle des antibiogrammes, a été généralisée aux huiles essentielles.

Elle consiste à utiliser des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé convenable, déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée. Un disque stérile de papier filtre de 6 mm de diamètre imprégné d'une quantité connue d'huile essentielle est déposé sur le milieu gélosé préalablement ensemencé avec une culture microbienne. La dilution des HE se fait toujours dans un solvant tel que l'éthylène glycol I, l'acétone, l'éthanol à 95%. Le principe de cette méthode est toujours la migration de l'HE par diffusion dans la gélose.

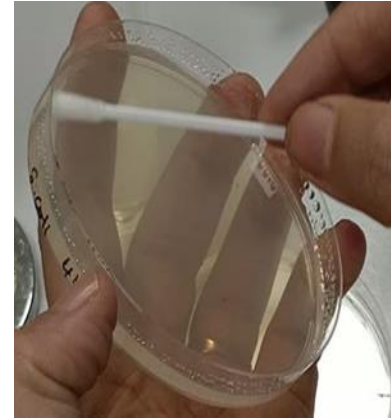
Après incubation, la lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres. La sensibilité aux différentes huiles essentielles est mesurée en fonction des diamètres des zones d'inhibition comme suit : non sensible (-) pour le diamètre moins sensible de 6 mm ; sensible (+) pour un diamètre entre 9-14 mm ; très sensible (+ +) pour un diamètre entre 15-19 mm et extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus que 20 mm



Cultures jeunes des souches pathogènes testées



15ml milieu gélosé



Ensemencement des bactéries à la surface de milieu gélosé



Pastilles papier filtre



Imbibé la pastilles de papier filtre dans l'huile essentielle



déposé la pasti sur le milieu gélosé



On met les boites pétri dans l'étuve pendant 24 h à température 37 C °

Figure 26: l'étape de méthode de diffusion sur disque

3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Généralement la concentration minimale inhibitrice (CMI) est considérée comme étant la plus faible concentration de substance antimicrobienne capable d'inhiber la croissance visible d'un microorganisme donné après un temps d'incubation de 24h [85]

La détermination de la CMI a été réalisée par la Méthode de micro dilution sur milieu liquide selon CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008).

Dans cette technique, des microplaques à fond rond (96 puits) sont utilisées pour déterminer la concentration minimale inhibitrice, dans chaque ligne de la microplaque on dépose 100 µl du bouillon nutritif BHIB.

En prépare un solution mer de 100 µl de l'huile essentielle dans 1 ml de DMSO

Ensuite, 200 µl de la solution à tester sont introduits dans le premier puits. Après avoir bien mélangé le contenu du premier puits, 100 µl est prélevé, puis déposée dans le 2ème puits, et on continu ainsi de suite jusqu'au 11ème puits où 100 µl restants sont éliminés. Par conséquent, nous obtenons une dilution 1/2 entre chaque puits. Le dernier puit représente le témoin négatif : le puit N°12 contient uniquement le bouillon nutritif.

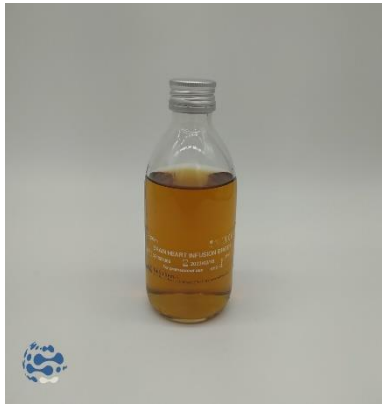
Enfin, ajoutée 10 µl de l'inoculum et 90 µl de BHIB dans chaque puits. Les microplaques sont scellées et incubées à 37 °C pendant 24h.



L'huile essentielle *Ruta montana l* + DMSO



200 µl de la solution à tester sont introduits dans le premier puits.



Bouillon BHIB



100 μ l de bouillon nutritif est déposée dans chaque puits



Puis 10 μ l de l'inoculum est ajouté 90 μ l de BHIB dans chaque puits.



Puis une dilution jusqu'au 11ème puits.



incuber à 37°C pendant 24h

Figure 27: l'étapes pour détermine la concentration minimal d'inhibitrice

Remarque

Dans le puits 12 j'ai fait tout l'étape mais son solution mer (l'huile essentielle RM + DMSO)

4 LES RÉSULTATS

Pouvoir de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle *Ruta montana l*

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antimicrobienne de la solution mer (huile essentielle *Ruta montana l*) par la méthode de Vincent sur un milieu gélosé solide, Mueller-Hinton, c'est le milieu le plus utilisé pour faire ces tests d'antagonisme.

L'activité antimicrobienne de solution a été estimée en terme de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits contenant la solution à tester vis-à-vis de 5 microorganismes testés qui proviennent de la collection du laboratoire LMBAFS, dont trois (2) bactéries Gram positif (+) : *B. cereus* ATCC 10876, et *S. aureus* ATCC 33862, et deux (2) bactéries Gram négatif (-) *P. aeruginosa* ATCC 27853 et *E. coli* ATCC 25922 ainsi qu'un champignon : une levure *C. albicans* ATCC10231

Méthode de vincent

C'est la technique de base utilisé pour étudier la capacité substance à exercer un effet antimicrobien. D'après Les résultats obtenus, on remarque que les propriétés antimicrobiennes dans ce test ont montré que la solution mer totalement sur, *B.cereus* ATCC10876 et *P. aeruginosa* ATCC 27853 , mais aucune activité antimicrobienne n'a été enregistrée vis-à-vis de la souche *E. coli* ATCC 25922 et *C. albicans* ATCC10231 et *S. aureus* ATCC33862

Tableau 6:présentation les valeurs des zones d'inhibition

Souche bactérienne	Zone d'inhibition
<i>E. Coli</i> ATCC 25922	R
<i>C. Albicans</i> ATCC10231	R
<i>S. Aureus</i> ATCC33862	R
<i>B. Cereus</i> ATCC10876	26.5 ±2.12
<i>P. Aeruginosa</i> ATCC 27853	20.5 ±0.70

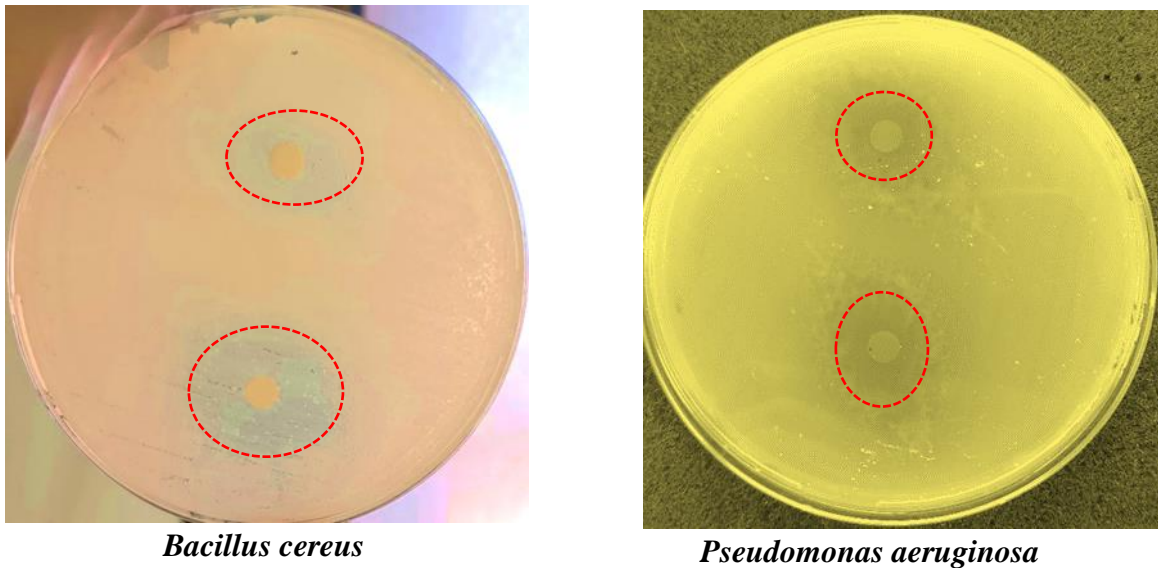


Figure 28: les zone d'inhibition de *Bacillus cereus* ATCC 10876 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

- ❖ Nous remarquons que le diamètre d'inhibition supérieur ($26,5 \pm 2.12$) a été observé par la souche *Bacillus cereus*, tandis que le diamètre d'inhibition inférieur (plus faible) (00 ± 00 mm) était observé par la souche *Escherichia coli*.
- ❖ Dans l'ensemble des résultats obtenus, il ressort que : *Bacillus cereus* ATCC10876, sont le plus sensible vis-à-vis la solution mer (activité antimicrobienne forte)
- ❖ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, sont moins sensible vis-à-vis la solution mer (activité antimicrobienne faible)
- ❖ *Escherichia coli* ATCC 25922, *staphylococcus aureus* ATCC 33862 , *Candida albicans* ATCC10231est résistants vis-à-vis de la solution mer (aucune activité antimicrobienne).

Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La CMI pour une souche pathogène donnée, représente la plus faible concentration de la solution mer qui inhibe toute croissance visible après 24h d'incubation. La CMI permet de définir la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes vis-à-vis d'un inhibiteur donné

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI en mg/μl de solution mer) des différentes souches pathogènes testées dans ce travail sont respectivement variables, selon la souche, 6.25 mg/μl à 100 mg/μl .les résultats obtenues sont représentées dans la figure ci- dessous :

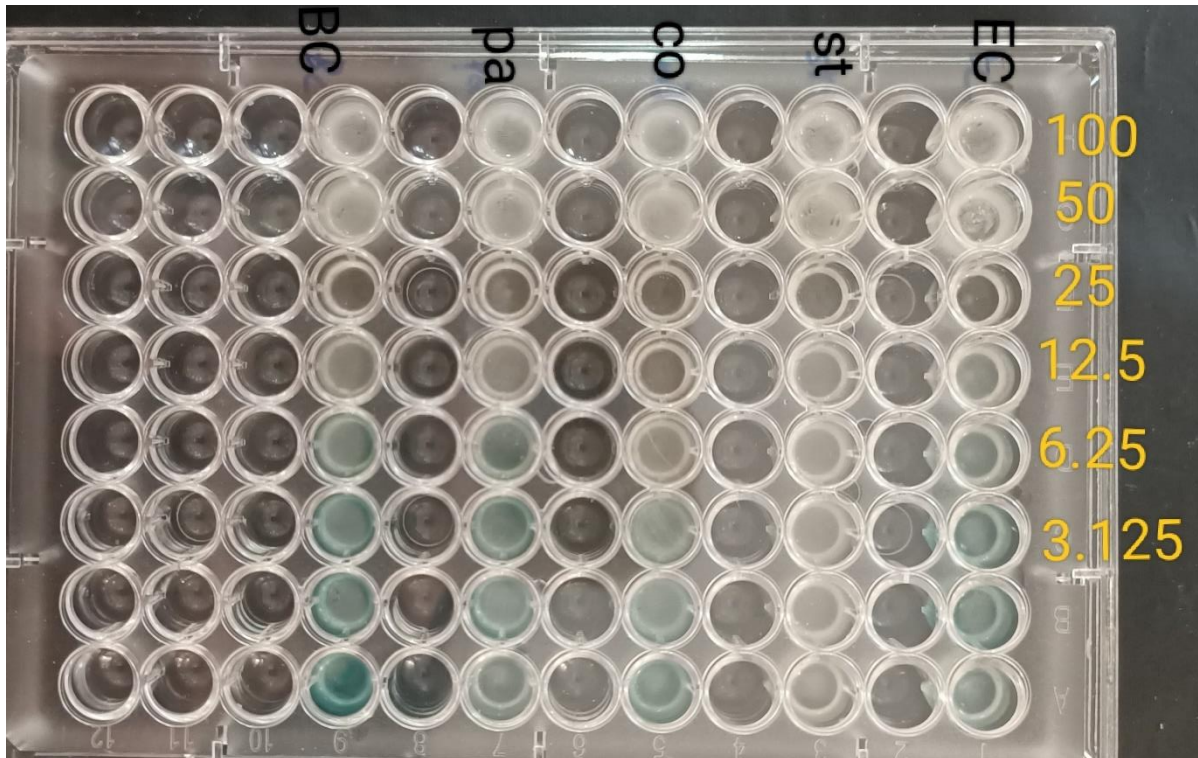


Figure 29:photographie d'un microplaque illustrant les concentrations minimales inhibitrices de la solution mer vis à vis *C. albicans* ATCC 10231, *S. aureus* ATCC 33862, *B. cereus* ATCC 10876, *P. aeruginosa* ATCC 27 853, *Escherichia coli* ATCC 25922

- ❖ Nous remarquons que la CMI la plus faible obtenu par la solution mer à 12.5 mg/ml vis-à-vis de la souche candida albicans.ATCC 10231

La CMI la plus élevée a été obtenue avec Escherichia coli ATCC 25922 à 100 mg/ml

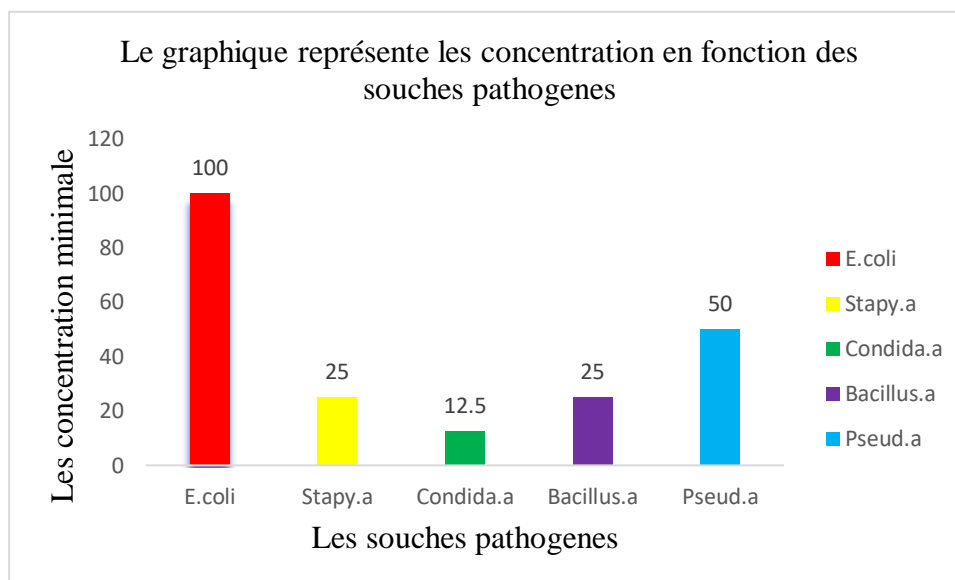


Figure 30:la concentration minimale d'inhibitrice en fontion des souches pathogenes

5 Conclusion

Nous avons réalisé cette expérience pour évaluer la capacité de l'huile essentielle de *Ruta montana l* à tuer les bactéries et les champignons, et nous avons obtenu des résultats remarquables

Les résultats de l'étude indiquent que l'huile essentielle de *Ruta montana l* présente une activité antimicrobienne variable selon les souches de micro-organismes testées. Le diamètre d'inhibition le plus élevé a été observé avec la souche de *Bacillus cereus* ATCC 10876, ce qui suggère une forte sensibilité de cette bactérie à la solution mer. De même, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 a montré une sensibilité notable à la solution mer, comme en témoigne son diamètre d'inhibition significatif.

Cependant, d'autres souches telles que *C. albicans* ATCC 10231 et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Escherichia coli* ATCC 25922 s'est avéré résistant à la solution mer, ce qui signifie qu'aucune activité antimicrobienne n'a été observée contre cette bactérie.

Nos observations démontrent que l'huile essentielle de RM présente une capacité significative à inhiber la croissance de divers micro-organismes, tels que *Candida albicans* ATCC10231, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Bacillus cereus* ATCC 25922

La concentration minimale inhibitrice (CMI) la plus basse, indiquant la plus grande efficacité, a été enregistrée à 12,5 mg/ml contre *Candida albicans* ATCC 10231 . En revanche, la CMI la plus élevée, traduisant une résistance plus forte, a été observée à 100 mg/ml pour *Escherichia coli* ATCC 25922. Ces résultats soulignent la promesse de la solution mer comme agent antimicrobien potentiel, en particulier contre les infections fongiques telles que celles causées par *Candida albicans* ATCC 10231, bien que des concentrations plus élevées puissent être nécessaires pour lutter contre certaines souches bactériennes comme *Escherichia coli* ATCC 25922

CONCLUSION GÉNÉRALE

Conclusion générale

L'extraction d'huiles essentielles est aujourd'hui de plus en plus présente sur le marché des produits naturels. Les praticiens en aromathérapie les utilisent souvent en complément d'une thérapie par les huiles essentielles.

La *Ruta Montana L* et son huile essentielle offrent une combinaison unique de propriétés médicinales et aromatiques qui les rendent précieuses dans divers contextes. Cependant, leur utilisation nécessite une connaissance approfondie des précautions et des dosages appropriés pour garantir une utilisation sûre et efficace. L'analyse chromatographique de l'huile essentielle par CG/MS a permis d'identifier la composition chimique de *Ruta montana L*. L'analyse quantitative montre la présence de vingt produits, Les principaux composés sont constitués de monoterpènes oxygénés, caractérisés par la forte prévalence de deux cétones-undécan-2-one (32,81 %), Nonan-2-one (29,54 %). Nonanol-2-acétate (18,20 %), acétate de 2-Undécanol. (4,02 %) et Psoralène (3,52 %) ...

Les tests des phytochimies nous donnent des résultats positifs qui indiquent la présence des Alcaloïdes, des tanins, des Flavonoïdes, des Coumarines, des mucilages et des Saponines.

Il nous l'avont confirmé par le test d'activité anti-oxydante la capacité de l'huile essentielle RM à réduire les radicaux libres de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazul) et en a déterminé l'IC50 (Concentration inhibitrice équivalente à 50%) à partir du graphe et obtenu la valeur de 17.65 mg/ml.

L'huile essentielle RM a prouvé son efficacité comme inhibiteur pour réduire la vitesse de corrosion du matériau. Comme indiqué dans le graphe (la figure 22), à chaque fois qu'on augmente la concentration d'inhibiteur, la vitesse de corrosion diminue. Après nous avoir fait le test de l'activité antimicrobienne avec la méthode de Vincent sur les souches *C. albicans* ATCC 10231, *S. aureus* ATCC 33862, *B. cereus* ATCC 10876, *P. aeruginosa* ATCC 27 853, *Escherichia coli* ATCC 25922, nous savions qu'elle a une résistance contre *B. cereus* ATCC 10876, *p. aeruginosa* ATCC 27853. En remarquant ça dans la figure 24, à la fin, on a déterminé la CMI (la concentration minimale inhibitrice) et représenté le résultat se forme de graphe (figure25) et on a obtenu que la CMI la plus faible est de 12.5 mg/ml vis-à-vis de la souche *candida albicans*. ATCC 10231, et la CMI la plus élevée si *Escherichia coli* ATCC 25922 à 100 mg/ml.

Référence

- [1] Jayasuriya DC A review of legislation concerning medicinal plants. 1990 Unpublished report
- [2] Jayasuriya dc. The regulation of medicinal plants – a preliminary review of selected aspects of national legislation .unpublished report
- [3] (Khadhri, 2013). composés phénoliques et activités antioxydantes de deux extraits de
- [4] Science National, 39 : 44-52.
- [5] (Wiat C, 2006) Medicinal Plants of the Asia – Pacific : Drugs for the future ; Ed : WORLD SCIENTIFIC, p : 401 – 416
- [6] Brassard R naissance, p. Arbres et arbustes d'ornement des régions tempérées et méditerranéennes. Paris. 1981
- [7] https://www.tela-botanica.org/eflore/?referentiel=bdtfx&niveau=2&module=pdf-export&action=pdf-export&num_nom=58994
- [8] Bonnier G.; 1999; La Grande Flore en Couleur; Ed : BELIN; Tome 3; p:205 –206
- [9] (Duke et al., 2008 ; DUKE'S HANDBOOK of Medicinal Plants of the Bible, Ed : CRC PRESS ; p : 394 – 397
- [10] (Baba Aissa, 1999) Encyclopédie des Plantes Utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb. Ed : LIBRAIRIE MODERNE – ROUIBA. P : 243 – 244.
- [11] (Xiang Ke et al 2004 Rutaceae. Bot. Garden South China. Vol.11 : 51-9
- [12] Miller 1785 Dictionnaire des jardiniers, ouvrage traduit de l'Anglais sur la huitième édition, p 410-411.
- [13] (Benkiki , N.,Etude phytochimique Des plantes médicinales Algériennes : Ruta montana, Matricaria pubescens et Hypericum perforatum. Thèse de doctorat d'état. P 12. 2006.
- [14] (Crète P, (1965), Systématique Des Angiospermes, Masson Cie Editeurs, Paris VIe, France.
- [15] Hammiche v (2013) Les rues : ethnobotanique, phytopharmacologie et toxicité1. Phytothérapie 11:22-30

- [16] (Gaussen et al., 1982) Gaussen H. Ozenda P. Leroy J.F. (1982). Précis de botanique, végétaux supérieurs. Tome II. Ed. Masson, Paris. P: 600.
- [17] (Allon. Kahina, (2013). Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de l'aneth (*Anethum graveolens* L), de la sauge (*Salvia officinalis* L), et de la rue des montagnes (*Ruta montana* L). Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de magister en Agronomie, Alger.
- [18] Fatima Zahra hamdani (2011), extraction et comparaison de l'activité bactéricide et insecticide d huiles essentielles de ruta montana. Mémoire en génie des procédés organiques. université Saad dahlep de blida.
- [19] - Bruneton J. (2005). Plantes toxiques dangereux pour l'homme et les animaux. 3^{ème} édition. Ed. TEC DOC Lavoisier. Paris 505p
- [20] Duval J. (1992). La culture de la rue. AGRO-BIO.3: 6-45.
- [21] Eberhard T. Robert A. et Annelise L. (2005). Plantes aromatiques: épices, aromates, condiment et leurs huiles essentielles. Ed. Tee & Doc, Paris, 521p
- [22] - Ait My (2006). Plantes médicinales de Kabylie. Ed. Ibispress. Paris. 293pp.
- [23] Duval J. (1992). La culture de la rue. AGRO-BIO.3: 6-45.
- [24] https://www.horticulture.red/fr/expertise/qualité/métabolites_secondaire/
- [25] Eric G, 2008- Effet de l'environnement sur la croissance et l'accumulation de métabolites secondaires chez *Datura innoxia* Mill. cultivée en condition hors sol, impact des facteurs biotique et abiotique, thèse doctorat, ECOLE NATIONALE SUPERIEURE D'AGRONOMIE ET DES INDUSTRIES ALIMENTAIRES, 238p.
- [26] Manal DJ – Ismahane K, (2016) -Contribution à l'étude phytochimique et du pouvoir antioxydant des feuilles de blé tendre (*Triticum aestivum*), mémoire Université des Frères Mentouri Constantine, 77p.
- [27] Belkhir F, Baghiani, A, (2017)- plantes médicinales activité antioxydante et antimicrobienne, universitaires européennes, 149p.
- [28] Veronika Č, (2013)-contribution à l'étude phytochimique d'arochidées tropicales, thèse de doctorat, université de srabouge, 316p.

- [29] JEAN-J.M et al., (2005).les composés phénoliques des végétaux .Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes .Paris.192p
- [30] Chérifa B .,(2014) - Etude de l'activité antioxydant des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques, Thèse de doctorat .Université Mohamed khider-Biskra ,210p.
- [31] Jin D , Russell J. Mumper,2010- Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. Journal Molecules 2010, 15, 7313-7352;
- [32] Matou M ,(2019)-Composition et propriété biologique d'extraits de phytTllanthus amarus schumacher & Thonning (1827) . utilisée en médecin traditionnelle aux Antilles ,Thèse de doctorat .Université des Antilles ,212.
- [33] Guinard J.L ;,Cosson L.,Henry M .,(1985) -Abrégé de phytochimie .Paris ,Masson .224p.
- [34] Havsteen -BH.,(2002) . The biochemistry and médical signifiante of the flavonoids The biochemistry and médical significances of the flavonoids. Pharmacology & Therapeutics N°96 . P 67–202 .
- [35] Ghedira .K.,(2005). Les flavonoïdes :structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie N°4 , P 162-16 .
- [36] Moufida R . ,2019. Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical, thèse de doctorat Université Clermont Auvergne,231p .
- [37] Akroum S ,2011.Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels , thèse de doctorat ,Université Mentouri Constantine ,125p .
- [38] Maoul S ,Mahfouf F ,. 2016,les métabolites primaires et secondaires à activité biologique d'urtica dioica (la grande ortie) Et contrôle de la qualité de quelque produits alimentaires commercialisés . Mémoire , Université mouloud Mammeri tizi ouzou,76p
- [39] <https://www.aquaportail.com/definition-10605-coumarine.html>
- [40] Boukhobza M .2014- Extraction et analyse des métabolites secondaires de Solanum elaeagnifolium. Recherche d'activité biologique. Université , D'Oran Mohamed Boudiaf.100p.

- [41] Djedi S.2012-les huiles essentielles :«des mystérieux métabolites secondaires . ED, presses académiques Francophones .65p.
- [42] Badiaga M .2011-Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récolte au mali .Thèse (cotutelle) .Université de Bamako .184P .
- [43] Belila S, Ouinis Z . 2018-Contribution à l'étude phytochimique et biologique des alcaloïdes de la partie aérienne de *pergularia tomentosa* L. Université Echahid Hamma Lakhdar-El oued ,69p.
- [44] Benatous Z .2018-Contribution à l'étude phytochimique des alcaloïdes de deux plantes médicinales du Sahara Algérienne . Mémoire .Université ouargla.82p.
- [45] Harborne J-B ,1998- Phytochemical Méthods :A guide to Modern techniques of plantes analysis .ED troisième ,Chapman & Hall . 317p.
- [46] Merzouk M, Niboucha Ch .2020-Contribution à l'étude phytochimique des plantes médicinales Algériennes :le genre *Centaurea* ,les flavonoïdes et leurs méthodes d'identification .Mémoire .Jijel.74p.
- [47] Guinard J.L ;,Cosson L.,Henry M .,(1985).Abrégé de phytochimie .Paris ,Masson .224p.
- [48] Kone K ,P,F,O ,2018 - Application des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l'identification des métabolites secondaires de trois plantes antidiabétiques et antihypertensives de la pharmacopée et ivoirienne. Thèse de doctorat. Ecole doctoral polytechnique ,302p
- [49] Mucilage : définition illustrée et explications (aquaportail.com).
- [50] Saponine : définition illustrée et explications (aquaportail.com).
- [51] Kazuyoshi O,Miyuki L ,et 1992,Components Responsible for the Undesirable Taste of Sooybean Seeds , Biosciences ,Biotechnology ,Universtitaires Oxford press ,Vol56 ,P99-103.
- [52] Draghi, F. (2005). ortie dioïque (*Urtica dioïca* L.) : étude bibliographique .Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Henrie Poincar Nancy.
- [53] Bezzaz N,.2014. Détermination structurale des métabolites secondaires, et extraction de huiles essentielles de *Mentha rotundifolia*. Mémoire .Université msila .122p
- [54] Larousse B ,2001, Encyclopedia of Médicinal Plantes.

- [55] Djedi S.2012-les huiles essentielles :«des mystérieux métabolites secondaires . ED,preses académiques Francophones .65p.
- [56] Moussaoui,.2011. CARACTÉRISATION DES MÉTABOLITES SECONDAIRES DES CRUCIFÈRES. EFFETS SAISONNIERS ET RÉGIONAL SUR L'EXPRESSION DES MOLÉCULES BIOACTIVES. MÉMOIRE DE MAGISTER.133p.
- [57] Cuvier, Anat. comp, t. 1, 1805, p. 134
- [58] Encyclop. méthod. Méd.t. 51792
- [59] Encyclop. méthod. Méd.t. 51792
- [60] Encyclop. méthod. Méd.t. 51792
- [61] <https://www.edumedia-sciences.com/fr/media/487-hydrodistillation>.
- [62] Miloudi R , Benzerguine KH, Berkan R.2020. etude des propriétés physicochimiques et biologiques d'eucalyptus citriodora Hook .81p.
- [63] <https://www.albertvieille.com/lexique/extraction-au-co2-supercritique/>
- [64] P. ZERBO et al ,2007. Contribution à la connaissance des plantes médicinales utilisées dans les soins infantiles en pays San, au Burkina Faso .Int. J. Biol. Chem. Sci. 1(3): 262-274, .
- [65] dans les soins infantiles en pays San, au Burkina Faso .Int. J. Biol. Chem. Sci. 1(3): 262-274, .
- [66] <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/soxhlet-extraction>
- [67] koffi, N et al .2009.screening phytochimie de quelque plantes médicinales ivoiriennes utilisé en pays kroubou (agboville , côte-d'ivoire).article . Sciences & nature Vol . 6 N°1.
- [68] D.M.T .- I.N.R.S.P (MALI)
- [69] S. Sankarapavinasam, F. Pushpanaden, M.F Ahmed., Corros. Sci. 32 (1991) 193.
- [70] A.F. Makhoulf. « Efficacité inhibitrice de la molécule Benzotriazole sue la corrosion de l'acier X-70 dans un milieu acide ». Mémoire de Master. Université de Guelma(Algérie), 2016.
- [71] NACE Glossary of corrosion Terms. Materials Protection, (1965) 79.
- [72] A. Bencheham, S. Hamrouni. « Etude de l'Effet Inhibiteur de corrosion des extraits aqueux de quelques plantes ». Mémoire de Master. Université de Ouargla(Algérie), 2007.

- [73] G. Sachetti, S. Maietti, M. Muzzoli, M. Scaglianti, S. Manferdini, M. Radice, R. Bruni.
« Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods ». *Food Chem*, 2005
- [74] Rhayour, 2002 Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat, Biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté des Sciences Dhar Mehraz, Fès.
- [75] Jacob ; Pellecuer et Tomei, 1979) Centre régional d'étude et de 63 développements des plantes à usage pharmaceutique. *Rivista Italiana E.P.P.O.S.* 11: pp. 26-30
- [76] Bachiri Echchegadda G., Ibjibjen J., Nassiri L. (2016). Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc : « *Lavandulastoechas* L. et *Lavanduladentata* L. ». *European Scientific Journal*.
- [77] Cornet, t F. (1981). L'aromatogramme. *Phytomédecine*, 1 et 2, 109-117
- [78] DAYAL et Purohit, I, B., Purohit, R.M. (1971). Screening of some Indian essential oils for their antifungal activity. *The flavor industry*, 2: 484-485)
- [79] Martinez ; Nadal, N.G., Montalvo, A.E., Seda, M. (1973). Antimicrobial properties of bay and other phenolic essential oils. *Cosmetics and perfumery*. 88: 37-38
- [81] Conner D. E. (1993). Naturally occurring compounds. In Davidson P. M.; Branen A. L. *Antimicrobials in foods*, 2nd Ed. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. pp. 441-468
- [82] Chao S.C., Young D.G., Oberg G.J. (2000). Screening for Inhibitory Activity of Essential Oils on Selected Bacteria, Fungi and Viruses. *J. Essent. Oil Res*, 12: 639-649. ; Andrews, 2001J.M. (2001). The Development of the BSAC standardized method of disc diffusion testing . *J. Antimic. Chemo.*, 48 (1) : 29-42. ; Wilkinson, 2006 . Methods for testing the antimicrobialactivity of extracts. Chapter VIII.pp.157-165. In Ahmad I., Aqil F. and Owais M. *Modern Phytomedicine : Turning Medicinal Plants into Drugs*. Ed. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 405 p

[83]Ponce. A G., Fritz R., del Valle C E., Roura S I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microfora of organic Swisschard. *Lebensmittel-Wissenschaftund - Technologie*, 36: 679-684.

[84] Levine, (1987). *Escherichia coli* that cause diarrhea : entero toxigenic, entero pathogenic, entero invasive, entero hemorrhagic, and entero adherent. *Journal of infectious Diseases*, 155 : 377-389.

[85] Kishor, G. K., Pande ,S. et Podile, A.R. (2005). Biological control of late leaf spot of Peanut (*Arachishypogaea*) with chitinolytic bacteria. *The American Phytopathological Society* 95 , 1157- 1165.

[86] Ganière, J.P., MANGION,C. et PÉRIDY, M .(2004). Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices et Bactéricides de la cefquinome, la marbofloxacin, la tylosine et la spiramycine en solution dans du lait vis-à-vis de bactéries isolées de mammites bovines. *Revue Méd. Vét* , vol 8-9, 411-416.

