

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Ecologie fondamentale et appliquée

Présenté par :

- OULD MOHAMED Racha

- CHADLI Sara

Thème

*Extraction et Activité biologique des huiles
essentielles d'Artemisia herba Alba Asso et
Artemisia campestris dans la Région de Tiaret*

Soutenu le : 12/07/2021

Jury :

Grade

Président : Mme Omar Amina

MCA

Encadrant : Mme Abderrabi Khadidja

MCB

Examinatrice : Mme Mokhfi Fatima Zohra

MCB

Année universitaire 2020-2021

REMERCIEMENTS

Avant toutes choses, nous remercions Dieu, le tout puissant pour nous avoir donné la force et la patience, pour achever ce mémoire.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements et nos vives reconnaissances à notre promotrice, Mme ABDERRABI khadidja, qui a su, à sa façon, nous conseiller et nous orienter tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous tenons à exprimer nos infinis remerciements à Mme BOUKHALOUA Asma pour son aide précieuse et surtout pour tous ses conseils et ses remarques.

Un grand merci à Monsieur CHADLI.H pour sa gentillesse, son amabilité et sa disponibilité

Nos profonds remerciements vont aussi au membre du jury sans exception pour avoir accepté et présidé l'examen et la discussion de notre travail, pour leurs remarques judicieuses et leurs critiques enrichissantes qui vont valoriser notre mémoire

Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de nos très vifs remerciements

Dédicaces

Je dédie ce mémoire

A mon très cher père ,qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie .Puisse dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ,Merci pour les valeurs nobles ,l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A ma cher Méré Mona et ma deuxième Méré Aicha qui ont la même place dans mon cœur, pour l'amour qu'elles m'ont toujours donné, leurs encouragements et toute l'aide qu'elles m'ont apportée durant mes études.

Aucun mot, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération, et mon amour pour les sacrifices qu'elles ont consentis pour mon instruction et mon bien-être.

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours.

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,
Merci d'être toujours là pour moi.*

RACHA.

Dédicaces

C'est avec un infiniment plaisir que je dédie ce mémoire aux êtres qui me sont très chers dans cette vie.

A la prunelle de mes yeux a la femme qui a donné toute sa vie, toute sa tendresse et tout son amour sans rien demander en retour A ma chère mère K Khaira, que dieu prolongera sa vie.

A ma source de bonheur, Mon père CHADLI Khoudja, que ma langue est incapable de décrire, je sais en toute connaissance de cause que si j'arrive aujourd'hui, c'est le résultat de son labeur. Mon dieu protège-le par ta protection et au lieu de sa fatigue une place au paradis.

Je dédie ce modeste travail à ma famille, à tous ceux qui m'ont soutenu tout au long de mon parcours scolaire, même avec un petit mot motivant.

A mes sœurs : Ikram, Hala, Amina

A mes frères : Imad, Mohamed et Amir

*A mes oncles et mes tantes, cousins et cousines sous noms de familles
CHADLI. KENTOUR et BENAOUALI*

A mes voisins et voisines

*A ma petite famille - **KM3S**-*

Ainsi que pour toutes mes amies et tous ceux que j'aime et que je respecte.

Sarah

TABLE DES MATIÈRES

Remerciements

Dédicace

Liste des abréviations

List des figures

List des tableaux

Introduction.....

Partie bibliographiques

Chapitre 01 : La monographie des plantes

1.1.	INTRODUCTION.....	06
1.2	Présentation des plantes choisies	07
1.2.1	Artémisia herba halba Asso.....	07
1.2.2	Nom vernaculaires.....	07
1.2.3	Répartition géographique.....	08
1.2.4	Description botanique.....	09
1.2.5	Systématique de la plante.....	11
1.2.6	Usage de la plante.....	12
1.2.6.1	Domaine thérapeutique.....	12
1.2.6.2	Domaine alimentaire.....	13
1.2.6.3	Domaine cosmétique.....	13
1.2	Artémisia campestris l.....	13
1.2.1	Nomes vernaculaires	14
1.2.2	Répartition Géographique.....	14
1.2.3	Description botanique.....	15
1.2.3	Systématique de la plante.....	16
1.2.4	Usages de la plantes.....	17

Chapitre 02 : Les HUILES ESSENTIELLES et les activités biologiques

2.1.1 Définition d'une huile essentielle.....	19
2.1.2 Composition chimique des huiles essentielles.....	19
2.1.3 Localisation des huiles essentielles.....	21
2.1.4 Facteurs déterminants le degré d'activité des huiles essentielles.....	22
2.1.5. Activité liée à la composition chimique.....	22
2.1.6. Le type des microorganismes cible.....	22
2.1.7 Mode d'action des huiles essentielles.....	23
2.1.8 Les facteurs influençant d'HE.....	24
2.1.9 Toxicité des huiles essentielles	24
2.2 Méthodes d'extraction des huiles essentielles	25
2.2.1 L'Hydrodistillation.....	25
2.2.2 La distillation par entraînement à la vapeur d'eau.....	26
2.2.3 Extraction par micro-ondes.....	26
2.2.4 Extraction par solvant.....	27
2.3 Les principales propriétés des huiles essentielles.....	27
2.4 Les activités biologiques.....	28
2.4.1 Activité antioxydante.....	28
2.4.1.1 les antioxydants.....	28
2.4.1.2 les antioxydants naturels.....	29
2.4.2 Activité antimicrobienne.....	29
2.4.3 Activités antibactériennes.....	30
2.4.3.1 méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne.....	30
2.4.3.2 méthode de diffusion en milieu solide	30
2.4.3.3. méthode de dilution en milieu liquide.....	31
2.4.3.4. dilution en bouillon.....	31
2.4.3.5 dilution en gélose.....	31

2.4.4	Activité antivirale.....	21
2.4.5	Activité antifongique.....	34
2.4.6	Activité anticancéreuse.....	36
2.4.6.1	huiles essentielles aux propriété antitumorale	36
2.5	Hydrolat.....	38
2.5.1	Généralité.....	38
2.5.2	Définition.....	39
2.5.3	Activités biologiques.....	39
2.5.4	Composition chimique.....	40
2.5.5	Obtention de rendement	41
2.5.6	Domaines d'utilisation de l'hydrolat.....	41
2.5.6.1	EN cosmétique.....	41
2.5.6.2	En santé.....	41
2.5.6.3	En cuisine.....	41
2.6	Protocoles des activités biologiques.....	41
2.6.1	Etude de l'activité antioxydante.....	41
2.6.1.1	Dosage des polyphénols.....	42
2.6.1.2	Dosage des flavonoides.....	42
2.6.1.3	Analyse qualitative par HPLC.....	42
2.6.1.4	Activité antioxydante	42
2.6.1.4.1	Test de blanchissement du b- carotène.....	42
2.6.1.4.2	Test du DPPH.....	43
2.6.2	Pouvoir antimicrobien.....	43
2.6.2.1	Etude de l'effet antimicrobien par la méthode de Vincent.....	43
2.6.3	Etude de l'activité antibactérienne	44
2.6.3.1	Préparation de l'inoculum.....	44
2.6.3.2	Milieu de culture.....	44
2.6.3.3	Méthode de détermination de l'activité microbienne.....	44
2.6.3.4	Modèle de coloration de Gram.....	44
2.6.3.5	Aromatogramme.....	45
2.6.3.6	Préparation de la suspension bactérienne.....	46
2.6.3.7	Ensemencement	46
2.6.3.8	Mesure de l'activité	46
2.6.4	Etude de l'activité fongique	47
2.6.4.1	Test biologique	48
2.6.5	Eude de l'Activité antivirale.....	48
2.6.5.1	Test de l'activité antivirale.....	48

2.6.6	Etude de l'activité anticancéreuse	49
-------	--	----

Deuxième partie : étude expérimentale

Chapitre 03 : Présentation de la zone d'étude

3.1	Caractéristiques générales du milieu d'étude.....	52
3.1.1	Le territoire.....	52
3.2	Zone d'étude	52
3.2.1	Description du milieu physique	53
3.2.2	Occupation des sols	53
3.2.3	Le couvert végétale	54
3.3	Analyse climatique.....	55
3.3.1	Régime mensuel des précipitations.....	55
3.3.2	Température moyenne annuelle.....	56
3.3.3	Moyenne des températures minimales et températures maximales	56
3.3.4	Evolution températures- précipitation	57

Chapitre 04 : matériels et méthodes

4.1	Objectif du travail.....	59
4.2	Lieu et durée du travail.....	59
4.3	Matériel	60
4.3.1	matériels végétale	60
4.3.2	Matériels de laboratoire	60
4.4	Matériels biologiques.....	61
4.4.1	Souches bactériennes (E Coli, S aureus).....	61
4.4.2	Souches fongiques (Fusarium, Pénicillium, levure Candida).....	62
4.5	Méthodes	63
4.5.1	Extraction des huiles essentielles (Hydrodistillation)	63
4.5.2	Calcul du rendement d'extraction	65
4.6	Tests microbiologiques.....	66
4.6.1	Test de l'activité antibactérienne	66
4.6.2	Test de l'activité antifongique	71
4.6.3	Test de l'activité oxydante	74
4.6.3.1	Test de la réduction de FRAP.....	75

Chapitre 05 : Résultat et discussion

5.1 Caractéristique organoleptique des huiles essentielles obtenue	79
5.2 Le rendement en huile d'artemisia herba halba Asso et d'Artemisia campestris	79
5.3 Le rendement en huile d'Artemisia campestris.....	80
5.4 Etude de l'Activité antibactérienne.....	82
5.4.1 Etude de l'Activité antibactérienne des huiles essentielles et hydrolats sur les souches pathogènes.....	83
5.5 Etude de l'Activité antifongique.....	88
5.6 Etude de l'activité antioxydante	93
Conclusion	
Références	
Annex	
Résumé	

Liste des Tableaux

- **Tableau1** : Appellation de la plante d'Artemisia herba alba Assoselon les pays et les régions...8
- **Tableau02**: systématique de l'Artemisia herba alba Asso.....12
- **Tableau03** : Appellation de la plante d'Artemisia campestris L selon les pays et les régions..14
- **Tableau04** : systématique D'Artémisia compestris L.....15
- **Tableau 05**: Composition chimique de l'huile essentielle d'Ariemisia campestris L dans la région de Matmata (Tunisie).....20
- **Tableau06** : Activités antivirales de quelques composants d'huiles essentielles.....32
- **Tableau07**: Activités antivirales de quelquesplantes.....32
- **Tableau08**: Croissance mycélienne (cm) de FORL F1 en fonction du temps et de la concentration en HE d'Artemisia Herba alba.....34
- **Tableau09**: Croissance mycélienne (cm) de FORL F2 en fonction du temps et de la concentration en HE d'Artemisia Herba alba Asso.....34
- **Tableau10** : exemples d'huiles essentielles ayant des propriétés antitumorales.....37
- **Tableau 11** : Matériel utilisé au cours de l'expérimentation.....60
- **Tableau 12** : Espèce microbienne utilisé au cours de l'expérimentation.....61
- **Tableau 13** : Rendement d'huile essentielle d'Artémisia herba halba Asso.....79
- **Tableau 14** : Rendement en huile d'artemisia compestris l.....81
- **Tableau 15**: Diamètres des zones d'inhibition (mm) provoqués par les antibiotiques sur les souches bactériennes.....84
- **Tableau 16**: les diamètres des zones d'inhibition des huiles et des hydrolats des deux Plantes.....86
- **Tableau 17** : Classement des bactéries selon le diamètre de la zone d'inhibition.....87
- **Tableau 18** : effet antifongique des huiles essentielles d'Artemisia herba alba, Artemisia campestris L.....89
- **Tableau 19** : valeurs de l'absorbance des deux plantes et des standards utilisés.....95

Liste des Figures

- **Figure 01:** Artemisia herba Alba Asso.....7
- **Figure02 :** Distribution géographique d'Artemisia herba-alba Asso dans le bassin méditerranéen.....9
- **Figure03 :** Aire de distribution d'Artemisia herba-alba Asso en Algérie.....9
- **Figure04:**Morphologie générale de plante d'Artemisia herba alba.....10
- **Figure05:**Morphologie de la feuille d'Artemisia herba alba Asso.....11
- **Figure06:** Morphologie de la fleur.....11
- **Figure 07:** Artémisia campestris L.....13
- **Figure08 :** Distribution géographique d' Artemisia campestris l dans le monde.....14
- **Figure09:** Illustration des différents aspects morphologiques15
- d'Artemisia campestris l
- **Figure10 :** structures des compositions chimiques des huiles essentielles.....19
- **Figure11:** Schéma du procédé d'Hydrodistillation.....25
- **Figure12:**La distillation par entraînement à la vapeur d'eau.....25
- **Figure13:** Extraction par micro-ondes.....26
- **Figure14 :** Activité antivirale de l'huile essentielle de Melissa o. fficinalis sur HSV-1 à différents temps pendant la réplique virale.....33
- **Figure15 :** Taux d'inhibition de F1 et F2 en fonction de la concentration d'huile essentielle d'Artemisia. herba alba.....35
- **Figure16 :** Concentration minimale inhibitrice de l'HE d'Artemisia Herba alba sur la croissance mycélienne de FORL (F1 et F2).....35
- **Figure17:** Principe de la méthode de diffusion ou des aromatoigrammes.....44
- **Figure18:** galerie d'identification de différentes souches testées.....46
- **Figure19 :** Localisation de la wilaya de Tiaret.....51
- **Figure20 :** carte de situation géographique de la zone d'étude.....52
- **Figure 21 :** carte de l'occupation des sols de région de TIARET.....53
- **Figure 22 :**précipitation moyenne mensuelle pour la période allant de 1981 à 2016.....54
- **Figure 23:** évolution de la température moyenne annuelle pour la période allant de 1981 à 2016.....55

• Figure 24 : température moyenne mensuelle pour la période allant de 1981 à 2016.....	56
• Figure 25 : diagramme ombrothermique pour la période allant de 1981 à 2016....	56
• Figure 26 : Les plantes <i>Artemisia herba alba</i> Asso (à gauche) et <i>Artemisia campestris</i> l (à droite) sont prêtes à l'utilisation.....	59
• Figure 27 : Schéma du montage d'hydrodistillation.....	63
• Figure 28 : Montage d'hydro distillation.....	63
• Figure 29 : Montage de Décantation.....	64
• Figure 30 : Gélose Mueller Hinton.....	65
• Figure 31 : Mueller Hinton dans Des boites de Pétri.....	67
• Figure 32 : L'ensemencement de ces souches.....	67
• Figure 33 : Disques stériles.....	68
• Figure 34 : la préparation finale des boites.....	68
• Figure 35 : Aromatogramme sur boite de Pétri à diffusion linéaire à partir disque imprégné d'huile essentielle.....	69
• Figure 36 : Zone d'inhibition après incubation.....	69
• Figure 37 : Les étapes de l'activité antifongique.....	71
• Figure 38 : Mueller Hinton dans Des boites de Pétri.....	72
• Figure 39 : La préparation des boites.....	72
• Figure 40 : Disques stériles.....	73
• Figure 41 : Les boites de pétries en voie d'incubation.....	73
• Figure 42 : Aromatogramme sur boite de Pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque imprégné d'huile essentielle.....	74
• Figure 43 : Préparation de solutions (huile+ méthanol), (hydrolat+ méthanol) pour les deux plantes et l'ajout des réactifs mentionnés précédemment.....	75
• Figure 44 : Obtention des solutions à incubés.....	75
• Figure 45 : Incubation de solutions préparées.....	76
• Figure 46 : Préparation du premier témoin (acide ascorbique).....	76
• Figure 47 : préparation du deuxième témoin l'acide gallique.....	77
• Figure 48 : Résultats des tests d'antibiogramme des souches.....	83
• Figure 49 :Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des huiles essentielle d' <i>Artémisia herba halba</i> (AE) et d' <i>Artemisia campestris</i> (AC).....	84

- **Figure 50:** Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des hydrolats d'Artémisia herba halba (HAE) et d'Artemisia campestris (HAC).....85
- **Figure 51:** Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des huiles essentielles d'Artémisia herba halba (AE) et d'Artemisia campestris (AC) de S.Aureus.....85
- **Figure 52:** Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des hydrolats.....86
- **Figure 53 :** Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des huiles d'Artémisia herba halba (AE) et d'Artemisia campestris (AC) de Candida.....90
- **Figure 54 :** Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des hydrolats d'Artémisia herba halba (AE) et d'Artemisia campestris (AC) de Candida.....90
- **Figure 55:** Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des huiles d'Artémisia herbhalba (AE) et d'Artemisia campestris (AC) de penicillium.....91
- **Figure 56 :** Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des hydrolats d'Artémisia herba halba (AE) et d'Artemisia campestris (AC) de Penicillium.....91
- **Figure 57:** Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des huiles d'Artémisia herba halba (AE) et d'Artemisia campestris (AC) de Fusarium.....92
- **Figure 58 :** Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des hydrolats d'Artémisia herba halba (HAE) et d'Artemisia campestris (HAC) de Fusarium.....92
- **Figure 59 :** La variation de la couleur lors de la réduction de ferrocyanure des deux échantillons contenant chacun une des huiles essentielle des deux plantes.....95
- **Figure 60 :** Résultat du changement de couleur lors de la réduction de ferrocyanure des deux échantillons contenant chacun un des standards (acide ascorbique, acide gallique).....95
- **Figure 61:** Le blanc.....96
- **Figure62:** Graphereprésente l'absorbance en fonction de la concentration.....96

Liste des abréviations

Ab : Absorbance

AC : Artemisia campestris l

AE : Artemisia herba halba Asso

AFNOR : Association française de normalisation

B : blé

C : Concentration

C° : Degré Celsius

Candida A : Candida Albicans

CH : ksar chellala

CMB : concentration minimale bactéricide

CMI : concentration minimale inhibitrice

E.COLI : Escherichia coli

F : Frenda

HE : huile essentielle

I% : Pourcentage d'inhibition

IC50 : Concentration inhibitrice 50. La concentration inhibitrice à 50% (IC50)

M H : Muller Hinton

M: Maïs

mg : Milligramme

Or: Orge

PDA: Potato Dextrose Agar

R : Rahouia

S.aureus : Staphylocoque aureus

Sp. : Espèce

T : Tiaret centre

T. : Trichoderma

Vit C : vitamine C

INTRODUCTION

Introduction

Dans le passé et jusqu'à présent et dans toutes les régions du monde, les plantes occupent une place importante en médecine. Il y a des médicaments d'origine végétale et des médicaments dont au moins une molécule active est d'origine végétale (**FAO, 2003**).

L'histoire des substances naturelles s'identifie en partie à celle de la pharmacie, dont une discipline, la pharmacognosie, étudie les poisons et les remèdes naturels, ou par extension la plupart des substances biologiquement actives (**Mohammedi, 2013**).

Les scientifiques sont actuellement à la recherche de nouveaux antibiotiques et additifs alimentaires naturels, parmi les solutions disponibles, les métabolites secondaires des plantes sont des sources prometteuses et riches en nouveaux antimicrobiens efficaces, sans effets secondaires (**Benbelaid et al., 2013**). Contrairement à la plupart des antibiotiques actuellement utilisés, un exemple de ces métabolites est les huiles essentielles et les extraits de plantes qui seraient une nouvelle source d'alternatives naturelles (**Rahman et al., 2011**) ; de plus elles sont connues par leurs propriétés anticancéreuses, antidiabétiques, antivirales, antifongiques, antibactériennes et antioxydantes (**Luciardi et al., 2016**). Les huiles essentielles sont généralement connues comme composés non phytotoxiques ayant une activité potentielle contre les microorganismes.

En effet, les plantes sont souvent caractérisées par la biosynthèse de molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle les huiles essentielles connues depuis longtemps pour leurs activités antiseptiques et thérapeutiques dans la médecine populaire (**Selles, 2012**). Les vertus thérapeutiques des huiles essentielles occupent une place de plus en plus importante.

Aujourd'hui, elles sont très recherchées, car elles sont généralement dotées de propriétés biologiques intéressantes.

L'évolution des propriétés phytothérapeutiques comme antioxydantes et antimicrobiennes demeure une tâche très intéressante et utile surtout en présence de beaucoup d'infection microbienne et la résistance des bactéries qui s'observe de plus en plus dans le monde, la plupart des espèces végétales qui poussent ont des vertus thérapeutiques car ils contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme.

Ils sont utilisés tant en médecine classique qu'en phytothérapie, selon l'organisation mondiale de la santé, environ 80% de la population mondiale utilise les remèdes à base de plantes comme principale forme de soins de santé (**Botrel, 2001; Barnes et al., 2007**).

L'importance de l'utilisation des plantes médicinales dépend du composé chimique bioactive les polyphénols, flavonoids et les huiles essentielles (**Boudjouref et al., 2018**).

Les huiles essentielles considérées comme des substances naturelles bioactives occupent un bon choix dans la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques, et attirent l'intérêt de plusieurs recherches vue le nombre de leurs propriétés biologiques dénombrables.

L'Algérie est l'un des pays méditerranéens dont la richesse floristique est remarquable. Le nombre de taxons de sa flore est estimé à environ 4000. Dont environ 90% sont présents dans le nord du pays (**Sassouiet al., 2020**). Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Artemisia*. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues se trouve « *Artemisia campestris* L et *Artemisia herba alba* Asso »

Dans le cadre de la connaissance et la valorisation des produits naturels Algériens principalement d'origine végétale, nous nous sommes intéressées à l'extraction des huiles essentielles et leurs hydrolat à partir des plantes médicinales : *Artémisia herba-alba* Asso et *Artémisia campestris* L.

L'*Artemisia herba alba* Asso, ou encore l'armoise blanche désignée en arabe sous le nom de « chih » de la famille des *Asteraceae*, pousse généralement en touffes de tailles réduite. C'est une plante à différents usages. Elle se caractérise par sa richesse en huile essentielle de composition différente qui a conduit à la définition de plusieurs chémotypes; sa forte valeur fourragère et son rôle écologique très important contre l'érosion et la désertification. (**BouziDI, 2016**).

Artemisia campestris L communément appelée "tgouft", "alala" ou "tedjouq" (**Sassoui et al., 2020**) est largement utilisée en médecine traditionnelle particulièrement comme décoction pour ses propriétés antivenineuses, anti-inflammatoires, antirhumatismales, pour le traitement des ulcères, des troubles digestifs des brûlures, de la diarrhée et d'autres maladies (**Boudjouref et al., 2018**).

Toutes ces constatations nous ont donné l'idée d'étudier l'activité antimicrobienne, antioxydante et antifongique des huiles essentielles et l'hydrolat de quelques plantes sauvages poussant en Algérie, dans la wilaya de Tiaret, à savoir : *Artemisia herba-alba* Asso, *Artemisia campestris* L. Plusieurs recherches ont été menées sur l'activité biologique (**Mighri et al., 2010, Abu Darwish et al., 2015**).

L'objectif de notre travail est basé sur l'extraction et la récupération des huiles essentielles et l'hydrolat des plantes : *Artemisia herba-alba* Asso, *Artemisia campestris* L par hydrodistillation d'une part et de faire ressortir les activités biologiques des plantes étudiées.

Pour aboutir aux buts escomptés, notre mémoire est divisé en deux parties: une partie qui se rapporte à la recherche bibliographique et autre concerne la partie expérimentale.

La première partie est divisée en deux chapitres : le premier chapitre est consacré à l'étude des plantes, la composition chimique, l'activité biologique des huiles essentielles et hydrolats ainsi que leurs procédés d'extraction sont traités dans le deuxième chapitre.

Tandis que la deuxième partie est divisée en trois chapitres :

Le premier chapitre est consacré à l'étude de la zone d'étude,

Le deuxième chapitre qui résume le protocole expérimental suivis lors de notre investigation.

Le troisième chapitre présentera les résultats obtenus accompagnés de leur discussion.

Enfin, nous développerons une conclusion qui synthétisera les principaux résultats de notre travail et certaines perspectives

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I:
MONOGRAPHIE DES
PLANTES ÉTUDIÉES

1.1.INTRODUCTION

Les plantes ont de tout temps été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeurs thérapeutiques. Le pouvoir de guérison des plantes provient des effets de leurs métabolites secondaires. Ces métabolites interviennent dans la défense contre les parasites pathogènes. On distingue plusieurs groupes métabolites notamment les phénols (simples phénols, acides phénoliques, quinones, flavonoïdes, flavones, flavonols, tannins et les coumarines), les alcaloïdes, les terpénoïdes et polypeptides.

La famille des Astéracées compte environ 25000 espèces réparties dans le monde entier. Elle comprend des herbes, arbustes, arbres. Les feuilles montrent une diversification extrême, avec un arrangement alternatif, opposé ou verticillé. Les lames sont simples à composer, lobées, en forme d'aiguille, ou à l'échelle. La caractéristique commune de cette famille est la tête de nombreuses fleurs modifiées (**Lacyet Kaufman., 2006**). Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées: c'est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de cette famille; il contient un nombre variable d'espèces (**Mucciarelli and Maffei., 2002**).

Le genre *Artemisia* est l'un des plus grands de l'hémisphère nord. Ce sont souvent les plantes dominantes dans les steppes et semi- déserts d'Asie centrale, d'Afrique du nord et de californium, on le rencontre en France, dans l'est, le sud-est, l'ouest et sur le plateau central les endroits arides montueux (**Dubourg, 1992**)

Le genre *Artemisia* regroupe plusieurs petites herbes et arbustes (**Abad et al.,2012**), il comprend un grand nombre d'espèces, de 200 à 400 selon les auteurs, retrouvé dans toute la moitié nord du monde (**Salido et al.,2004**), il appartient à la famille des Astéracées, l'une des plus grandes familles qui englobe environ 1000 genre et plus de 20000 espèces (**Abad et al.,2012**), parmi ces genres les plus importants sont *Artemisia*, *Santolina*, *Centaurea*, *Chrysanthemum...ect* (**Doc et Benabdelkader,2006**). En Algérie, environ onze espèces d'*Artemisia* peuvent être trouvées (**Quezel et Santa, 1962 ; Boukhalkhal et al., 2018**). Historiquement, ce genre est connu pour sa richesse en composés biologiquement actifs, les recherches phytochimiques ont prouvé que ce genre contient principalement les monoterpènes et sesquiterpènes (**Tang et al., 2000 ; Houari et Ferchichi, 2009 ; Akrouit et al., 2010**). Il s'agit d'un genre hétérogène. Les espèces qui appartiennent à ce genre sont durables, des

herbes ou des petits arbustes bisannuels et annuels. Les trapézoïdes, les flavonoïdes, les coumarines, les acides caféoylquiniques, les stérols et les acétylènes constituent les essentielles classes de phyto composant du genre *Artemisia* (Taleghani et al., 2019).

Toutes les espèces de ce genre ont un arôme ou un goût caractéristique, causé par les mono terpènes et les sesquiterpènes et une diversité de métabolites secondaires. Certaines de ces molécules biologiquement actives justifient l'affirmation et l'assertion faite dans le cadre de l'utilisation médical folklorique (Megdiche – Ksouri et al., 2014).

1.2.Présentation des plantes choisies

1.2.1. *Artémisia herba alba* Asso

Connue depuis des millénaires, l'armoise blanche a été décrite par l'historien grec *Xénophon* au début du IV siècle avant J-C, dans les steppes de la mésopotamie. Elle a été ensuite répertoriée en 1779 par le botaniste espagnol **Ignacio Claudio** de Asso y del Rio.C'est une plante essentiellement fourragère, très appréciée par le bétail, elle présente une odeur caractéristique d'huile de thymol et un goût amer d'où son caractère astringent.



Figure 01: *Artemisia herba Alba*. Asso (Bouldjadj, 2009)

1.2.2. Nom vernaculaires

Tableau1 : Appellation de la plante *d'Artemisia herba alba* Assoselon les pays et les régions

Nom vernaculaire	Chih
Nom français	Armoise herbe blanche
Nom anglais	Wormwood
Nom Latin	Artemisia herba Alba
Nom amazigh	Izerg
Au Maroc	Kaisoum

1.2.3 Répartition géographique

- **Local:** Les Hauts plateaux et le Sahara septentrional
- **Régional :** Afrique du Nord
- **Mondial:** Espagne, Afrique du Nord et Asie occidentale. (**Hurabielle et al.,1981**)

Selon **Nabli, 1989**, l'Armoise blanche est largement répandue depuis les îles Canaries et le sud-est de l'Espagne jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan et à travers l'Afrique du Nord, l'Arabie et le Proche-Orient. En Afrique du nord, cette espèce couvre d'immenses territoires évalués à plus de dix millions d'hectares.

En Algérie les steppes à armoise blanche couvrent 3 millions d'hectares (**Nedjraoui ,2004**).C'est dans le sud oranais où couvrant près de 30 % des parcours, elle est la mieux représentée, formant un paysage végétal très monotone (**Djebaili et al., 1995**).

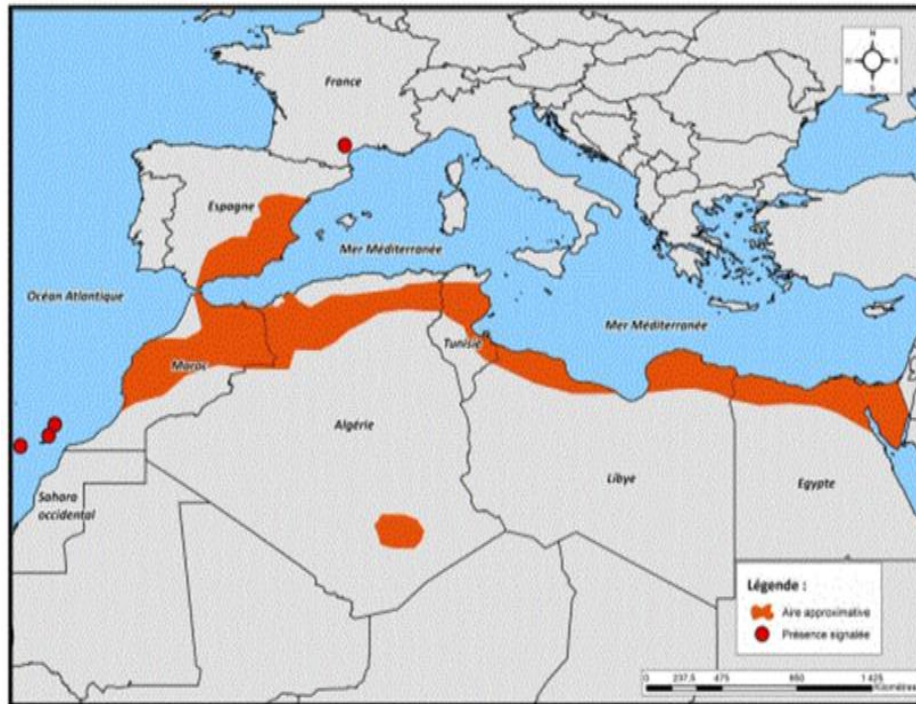


Figure02 : Distribution géographique d'*Artemisia herba-alba* Asso dans le bassin méditerranéen (carte modifiée extraite d'Aidoud, 1988)

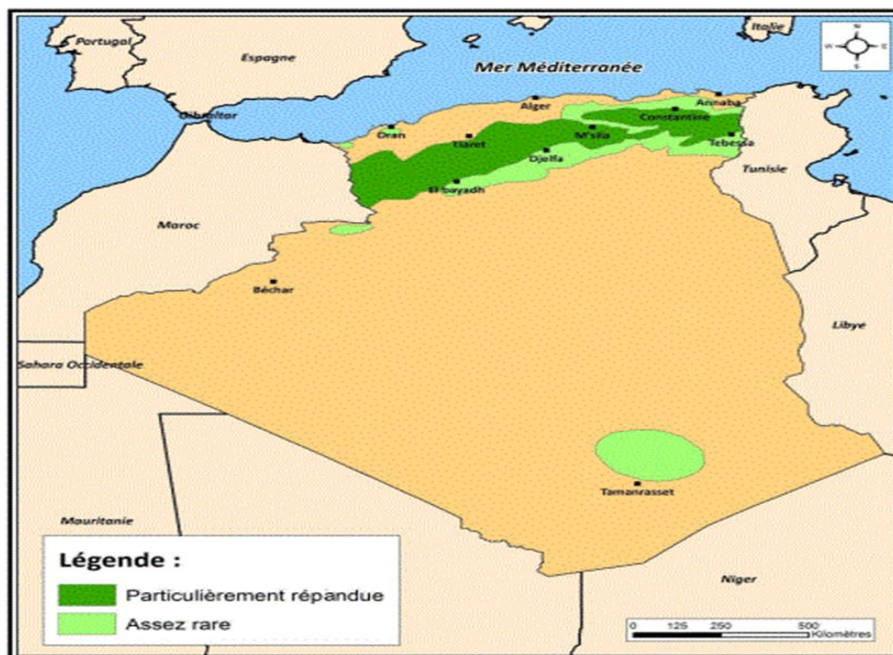


Figure03 : Aire de distribution d'*Artemisia herba-alba* Asso en Algérie (Quézel et al., 1963; Aidoud, 1988; Said et al., 2015)

1.2.4. Description botanique

De 30 à 50 cm de hauteur avec des tiges ramifiées, rigides et dressées. Les feuilles sont petites, sessiles, pubescentes, et à aspect argenté (Quézel et Santa, 1962), décomposée en

languettes fines, blanches et laineuses. Les fleurs sont groupées en grappes, à capitules très petites et ovoïdes de 1,5 à 3mm de diamètre, de couleur jaune à rougeâtre. Le fruit est un akène oblong, odeur aromatique caractéristique. (Bezza et al., 2010).

La croissance végétative de la plante a lieu à l'automne (feuilles de grande taille), puis dès la fin de l'hiver et au printemps (feuilles plus petites) (Akrouit ,2004). Les racines se présentent sous forme d'une racine principale, ligneuse et épaisse, bien distincte des racines secondaires et qui s'enfonce dans le sol comme un pivot. La racine pénètre profondément jusqu'à 40 à 50 cm et ne se ramifie qu'à cette profondeur (Aidoud, 1983)

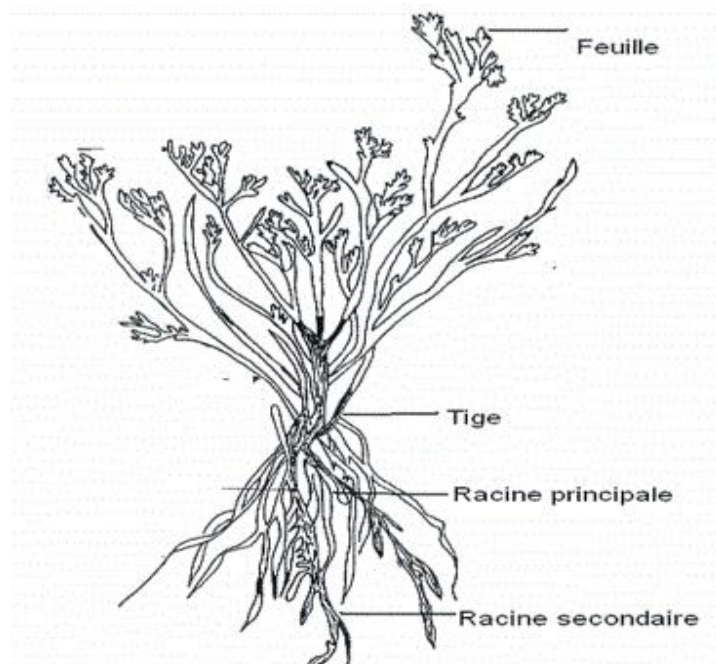


Figure04:Morphologie générale de plante d'*Artemisia herba alba*

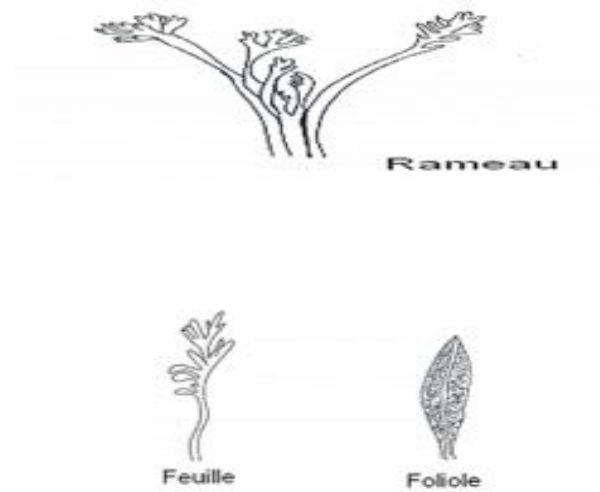


Figure05: Morphologie de la feuille d'*Artemisia herba alba* Asso

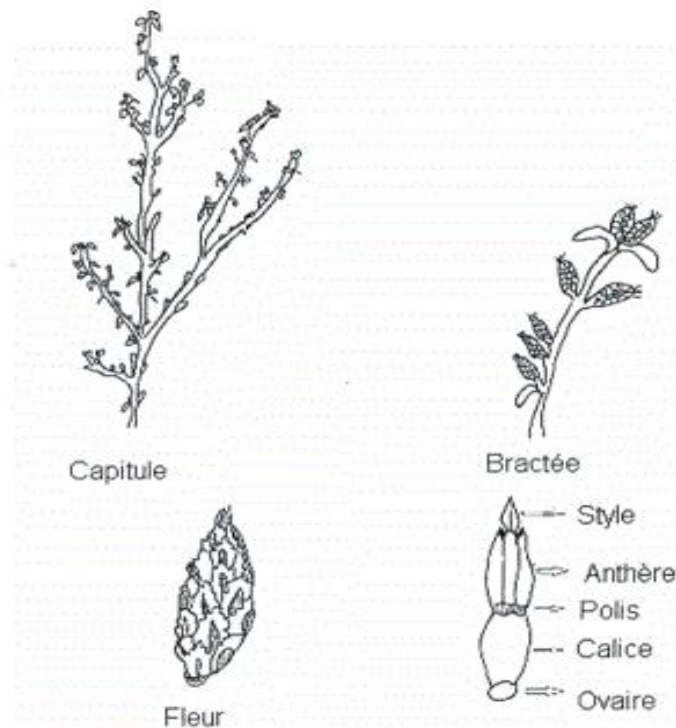


Figure06: Morphologie de la fleur

1.2.5. Systématique de la plante

La classification de l'*Artemisia herba alba* Asso la plus utilisée dans la systématique du genre *Artemisia* est celle donnée par **Quenzel et Santa (1962)**

Tableau02: systématique de *l'Artemisia herba alba* Asso

Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe:	Dicotylédones gamopétales
Sous-classe :	Gamopétale Epigynes Isotémones
Ordre	Astérales
Famille	Syntherées ou composées
Sous-famille	Tubiliflores
Tribu	Anthémidées
Genre	Artemisia
Espèce	Artemisia <i>Artémisia herba alba</i> Asso

1.2.6. Usage de la plante

L'Armoise blanche est une plante médicinale et surtout aromatique, largement exploitée pour son huile essentielle. Son pouvoir antibactérien, antiseptique et antifongique lui a conféré une application dans de nombreux domaines : thérapeutique, cosmétologie et en industrie agro-alimentaire (**Benjlali, 1984**).

1.2.6.1. Domaine thérapeutique

L'Armoise blanche est utilisée en médecine traditionnelle depuis l'antiquité. Très recherchée pour ses propriétés pharmacologiques, elle est utilisée pour traiter les maux les plus divers : troubles hépatiques, mycoses, contre les piqûres d'insectes et de scorpions et toutes les formes d'empoisonnements (**Bendjlali;1980**).

En chine, elle est utilisée pour régulariser le cycle menstruel et stopper leurs douleurs. Ses propriétés antispasmodiques la recommandent dans les syndromes neurologiques et

psychiatriques (hypotension, syncope, épilepsie), dans les affections du foie et de la vésicule biliaire (**Benjlali; 1984, Benmansour; 2001**).

Toutefois, elle doit être utilisée avec beaucoup de prudence et à des doses faibles car des doses trop élevées peuvent causer des intoxications très graves (caractérisées par une hépatonéphrite à prédominance rénale accompagnée de phénomènes convulsifs) (**Benjlali, 1984; Dahmani, 2004**).

1.2.6.2. Domaine alimentaire

En alimentation, *l'Artemisia herba halba* Asso est considérée comme l'arôme de certaines boissons comme le thé ou le café (**Bendjlali et al., 1984**). Néanmoins, son usage dans l'industrie alimentaire reste très limité à cause de la toxicité de la bêta thujone dont le taux ne doit pas dépasser 5mg/kg (**Bendjlali et al., 1984**).

1.2.6.3. Domaine cosmétique

En parfumerie, les huiles essentielles de *l'Artemisia herba alba* Asso, sont utilisées pour leur pouvoir antiseptique et aromatique. Elles servent à augmenter la durée de conservation des produits cosmétiques tout en leur assurant une odeur agréable.

1.2. *Artémisia campestris* L

Artemisia campestris L, est une plante appartenant à la famille des Astéracées. Elle est assez commune sur les sols siliceux et les bords des rivières jusqu'à 1500 m. Les feuilles de cette plante sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle comme anti-venin, anti-inflammatoire. (**Le Floch, 1983**).

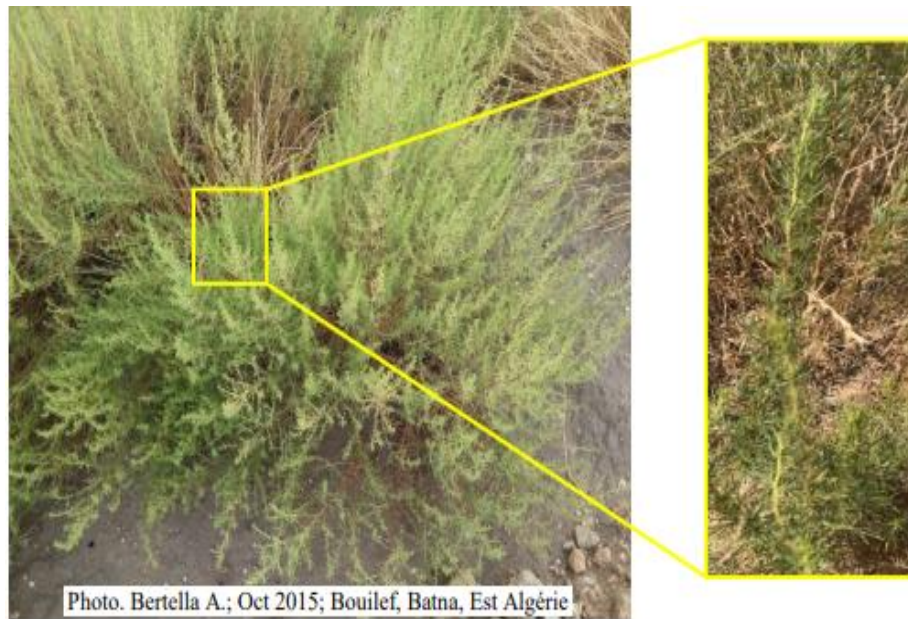


Figure 07: *Artémisia campestris* L Oct 2015 ; Bouilef, Batna, Est Algérie

1.2.1. Nomes vernaculaires

Tableau03 : Appellation de la plante d'*Artemisia campestris* L selon les pays et les régions

Nom vernaculaire	Dgouft – tguft
Nom français	Armoise champêtre – auronne des champs
Nom anglais	Field wormwood – tall wormwood
Nom scientifique	<i>Artemisia campestris</i> l
Nom amazigh	Tedjok
Mozabite	Hellala – ala

1.2.2. Répartition Géographique

Artemisia campestris l est une espèce polymorphe, avec une large distribution dans l'hémisphère nord; elle affiche une large répartition en Eurasie et prédomine l'aride région d'Afrique du Nord comme elle est répandue en Amérique du Nord (**Dib et al., 2017**).

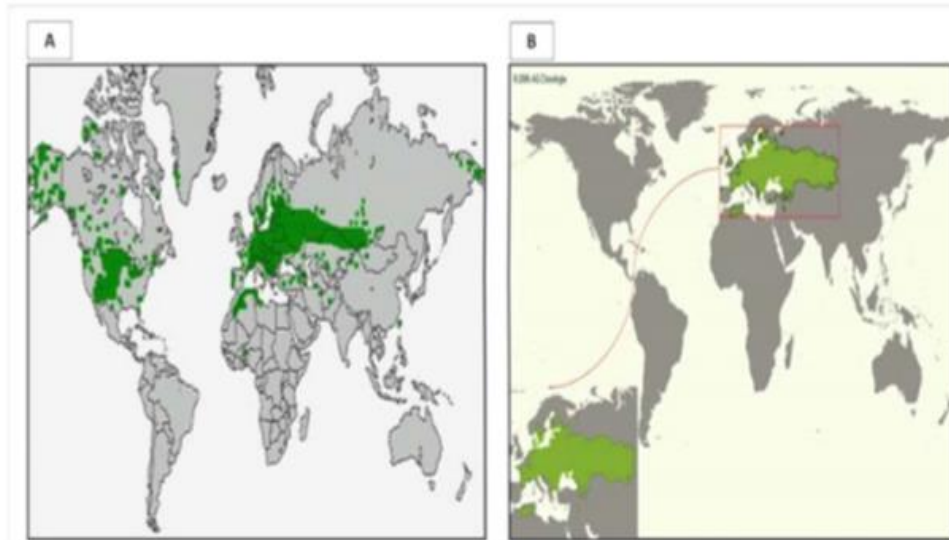


Figure08 : Distribution géographique d'*Artemisia campestris* L dans le monde

1.2.3. Description botanique

Artemisia campestris L, est un sous-arbrisseau vivace, pouvant atteindre 30-150 cm de hauteur, avec des tiges ramifiées et ascendantes formant une panicule; elles sont habituellement brunes à rouges et glabres, et d'une forme lignée dans la partie inférieure (**Quezel and Santa, 1962; Chalchat et al., 2003**). La plante a une inflorescence composée: la capitule ovoïde et hétérogame, contenant 8 à 12 fleurs, organisées sur un réceptacle convexe et glabre. Et entouré de bractées involuquées glabres organisées en plusieurs rangs. Les fleurs du rayon sont femelles pastillées et fertiles, tandis que les fleurs du disque sont stériles et fonctionnellement males avec des ovaires avortés réduits (**Ouyahya. 1990 ; Quezel and Sauta, 1962**).

Les fleurs males sont tubulaires, jaunâtres, dépourvues de calice, avec 5 pétales fusionnés et 5 étamines fusionnées, avec la présence de sacs sécrétoires sur des iodes de la corolle des fleurs en disque (**Minanu et al., 2010**). Le fruit est un akène ovoïde dépourvu de Pappus (**Kreitschitz et Valles. 2007**).

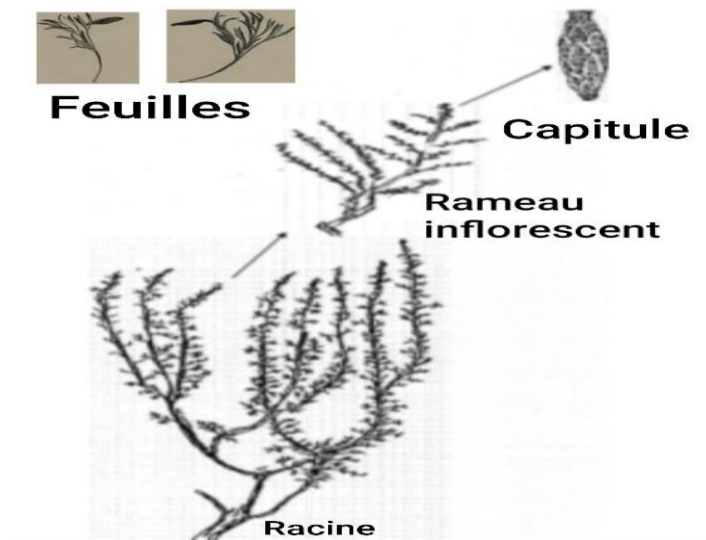


Figure09: Illustration des différents aspects morphologiques
d'*Artemisia campestris l*

1.2.4. Systématique de la plante

D'après **Quezel and Santa, 1962 ; Dupont, 2004**, la classification D'*Artemisia campestris* L dans la systématique est la suivante :

Tableau04 : systématique D'*Artémisia compestris* L

Embranchement	Phanérogames ou spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe:	Eudicots
Sous-classe :	Asteridae
Ordre	Astérales
Famille	Astéracées
Sous-famille	Asteroideae
Tribu	Anthémidées
Genre	Artemisia
Espèce	<i>Artemisia Campestris L</i>

1.2.5. Usages de la plantes:

Artemisia compestris L est une plante utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies:

En usage local *Artemisia compestris* L, est utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères et les douleurs menstruelles (**Dob et al.,2005**). Elle est également utilisée dans le traitement de diabète (**Sefi et al., 2010**).

La partie aérienne est utilisée dans le traitement de brûlures, de la diarrhée, les morsures de serpents, les piqûres de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la dysenterie, le rhumatisme, elle est utilisée également pour traiter les infections urinaires, la fièvre et la toux (**Ben Sassi et al., 2007**).

Les populations du Sud algérien l'utilisent pour calmer les troubles digestives, les douleurs abdominales, ainsi les nausées. Elle est utilisée en décoction pour les règles irrégulières ou pour l'accouchement. En usage externe, elle cicatrise les plaies et les brûlures (**Ferchichi, et al., 2006**).

CHAPITRE II:
LES HUILES ESSENTIELLES

2.1. les huiles essentielles

2.1.1. Définition d'une huile essentielle

On les appelle couramment: essences végétales, huiles ou essences aromatique, parfumés, huiles volatiles (**Bruneton, 2009**)

Les huiles essentielles sont des extraits végétaux volatiles et odorants appelés également substances organiques aromatiques liquides, qu'on trouve naturellement dans diverses parties des arbres, des plantes et des épices, elles sont volatiles et sensibles à l'effet de la chaleur, il s'agit d'un produit parfumé, composé de molécules sécrétées par certains arbres et plantes qui lui confèrent un parfum spécifique, elles ne contiennent pas de corps gras (**Yahyaoui, 2005**).

Selon **Solène (2012)**, les huiles essentielles sont le produit de la distillation d'une plante ou d'une partie de plante. Ce sont des substances de consistance huileuse mais sans corps gras, plus ou moins fluides, très odorantes, volatiles et souvent colorées.

La nouvelle Encyclopédie Funk et Wagnalls (2004), décrit les huiles essentielles comme «les liquides volatils, la plupart du temps insolubles dans l'eau, mais librement solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles végétales et minérales. Elles sont habituellement non huileuses au contact de la peau.

L'Association Française de Normalisation (**AFNOR, Edition 2000**), a défini les huiles essentielles comme étant : des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de Citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques.

2.1.2. Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique d'une huile essentielle est très complexe, le terme « complexe » indique que ces huiles sont des mélanges de nombreux constituants à proportions très différentes.

Ce sont des mixtures naturelles d'hydrocarbures et d'oxygène (alcools, aldéhydes, cétones, carboxyles, acides, esters et lactones). Elles sont susceptibles de s'oxyder rapidement, donc leur composition peut évoluer après extraction selon leur condition de stockage (**Meghazi, 2013**).

Comme toute substance, les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable. Le nombre de composants isolés est d'environ des milliers (Meghazi, 2013).

Sur le plan chimique, les huiles essentielles sont des mélanges de structure extrêmement complexe, pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces substances sont des molécules très volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes (Bakkali et al., 2008).

Plusieurs métabolites secondaires ont été isolés et identifiés de l'*Artemisia herba alba* dont les plus importants sont les sesquiterpènes lactones tels que les eudesmanolides et les germacranolides (Marco, 1989). Les flavonoïdes détectés dans l'armoise montrent aussi une diversité structurale allant des flavonoïdes communs (flavones glycosides et flavonols) jusqu'aux flavonoïdes méthylés qui sont très inhabituel. Les flavonoïdes glycosides comprennent les O-glycosides tels que quercitine-3-glucoside et des flavones C-glycosides qui sont rares dans le genre *Artemisia*, ainsi que dans l'ensemble des Astérocées (Saleh et al., 1987 ; Salah et Jager., 2005). En plus des sesquiterpènes lactones et des flavonoïdes l'analyse phytochimique a montré que la composition des huiles essentielles de l'*Artemisia herba alba* est riche en mono terpènes, tri terpènes pentacycliques, santonines, coumarines et tanins (Mohamed et al., 2010).

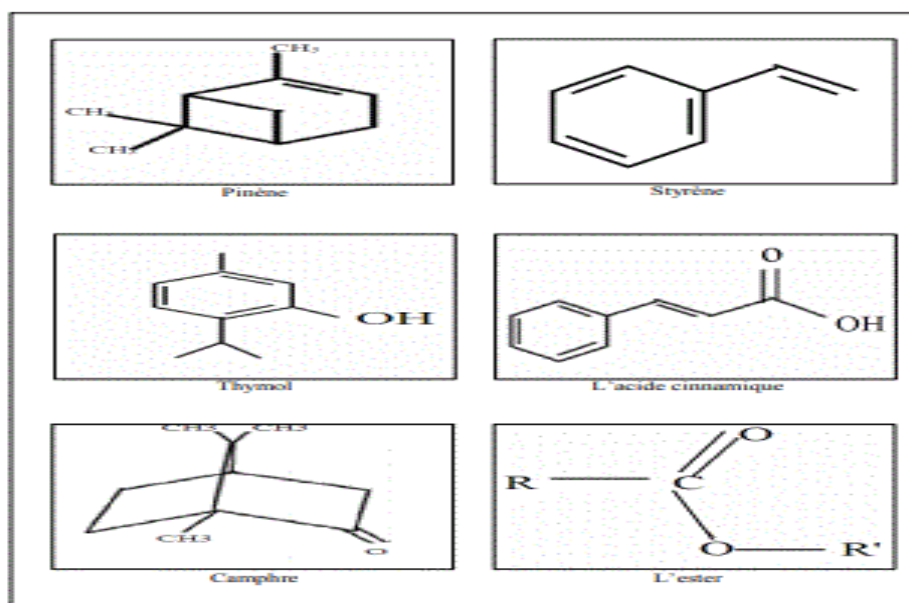


Figure10 : structures des compositions chimiques des huiles essentielles (kiel, 2004)

Les huiles essentielles *d'Artemisia campestris* L ont l'objet de plusieurs travaux décrivant la composition très variée.

Les premiers travaux effectués par **Govin, 1963** en Turquie rapportent que le composé majoritaire de l'huile essentielle est le α pinène (21 %) suivie par β pinène (12 %), 1,8-cineole (8 %), thujone (4%), Alcool thujyl (15 %), géraniol (13%), et un composé non identifié (11 %).

D'autres travaux sur la composition de l'huile essentielle de cette plante effectuée par **Silvestre et al., 1999** en Italie ont mis en évidence le composé majoritaire est le α pinène (15,3 %) suivie par β pinène (9,80 %), oxyde caryophyllène (18,2 %), Spathulénol (9.3 %), limonène (4,9 %) et 1,8-cineole (5.2 %).

En Algérie, **Dob et al., (2005)** ont montré que le composé majoritaire de cette l'huile est: (Z,E) farnesol (10.3 %) suivie par cedrol (5.4 %), verbenone (3.8 %).

Enfin **Akrout et al., 2007** ont déterminé la composition chimique de l'huile essentielle *d'Artemisia campestris* L (Tableau 2) provenant de quatre régions différentes de Tunisie. Le composé majoritaire est le β pinène (24% à 49,8 %) suivie par α pinène (5,9 % à 12,5%), p-cymène (3,4% à 9,4 %) et le limonène (4,9 % à 9,3 %).

Tableau 05: Composition chimique de l'huile essentielle *d'Ariemisia campestris* L dans la région de Matmata (Tunisie), (**Akrout et al., 2007**)

Composés	Teneur en %	Composés	Teneur en %
β pinène	24 - 49,8	α terpinéol	0,6 – 5,5
α pinène	5,9 - 12,5	Terpinene - 4 ol	0,7 -1.9
p-cymène	3,4 - 9,4	γ Murolene	0,3 – 5,4
limonène	4,9 – 9,3	δ cadinene	0,2 – 2,4
β ocimène	0,2 – 5,5	Spathulénol	1,2 – 8,9
γ Terpinene	2 – 6,5	β -Eudesmoi	1 – 6,4

2.1.3.Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux: les fleurs (bergamotier, tubéreuse..), mais aussi les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier..) et bien que ce soit moins habituel dans des écorces (cannelier), les bois (bois de rose, santal..), les racines,

les rhizomes (curcuma, gingembre..), les fruits (toutes épices, anis, badiane...), les graines (muscade...) (Oussala et al., 2006).

2.1.4. Facteurs déterminants le degré d'activité des huiles essentielles

Plusieurs facteurs influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles ou de leurs composants actifs, tels que la méthode d'évaluation antimicrobienne, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type de microorganisme ciblés et leur éventuelle adaptation aux huiles essentielles

2.1.5. Activité liée à la composition chimique

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et les possibles effets synergiques entre les composants.

Ainsi, la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant. L'activité d'une huile essentielle est souvent réduite à l'activité de ses composés majoritaires, ou ceux susceptibles d'être actifs. Évalués séparément sous la forme de composés synthétiques, ils confirment ou infirment l'activité de l'huile essentielle de composition semblable. Il est cependant probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique.

De cette manière, la valeur d'une huile essentielle tient à son « totum », c'est à dire dans l'intégralité de ses composants et non seulement à ses composés majoritaires (Lahlou, 2004). Il est connu que ce sont les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes qui confèrent aux huiles essentielles leurs propriétés antibactériennes.

L'activité de ces molécules dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarbonée et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les hydrocarbonées.

2.1.6. Le type des microorganismes cibles

Un autre paramètre important déterminant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est le type des microorganismes ciblés. En général, les différents microorganismes n'ont pas une sensibilité similaire vis à vis des huiles essentielles. Parmi les microorganismes, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* (Gram positif), *Escherichia coli* et *Pseudomonas*

aeruginosa (Gram 16 négatif), *Candida albicans* (Levures) et *Aspergillus niger* (champignons) ont été les plus étudiés.

Les champignons montrent généralement une sensibilité supérieure par rapport aux bactéries et parmi les bactéries, les Gram négatif apparaissent plus résistants que les Gram positif vis-à-vis des huiles essentielles (Cox et al., 2000; Amaral et al., 1998). Inversement, *Escherichia coli* est plus sensible vis à vis de l'huile de *Melaleuca alternifolia* que *Staphylococcus aureus* (Hayes et al., 1997). De même, certains champignons sont plus résistants vis-à-vis de l'huile de genévrier que les bactéries (Chao et al., 2000).

Enfin, une sensibilité supérieure des bactéries anaérobies a été observée quel que soit les huiles essentielles par rapport à celles vivant en aérobiose (Amaral et al., 1998; Juven et al., 1994).

2.1.7. Mode d'action des huiles essentielles

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Carson et al., 2002).

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des huiles essentielles sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (Davidson, 1997).

Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K⁺): ce mécanisme a été observé avec l'huile de *Melaleuca alternifolia* sur les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et Gram à négatif (*Escherichia coli*) et levure (*Candida albicans*) in vitro (Cox et al., 2000; Carson et al., 2002).

Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la

membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP (**Knobloch et al.,1989; Sikkema et al.,1995**).

Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée (**Wendakoon et Sakaguchi, 1995**). Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides (**Zani et al., 1991**).

Le mode d'action des huiles essentielles dépend aussi du type de microorganismes: en général, les bactéries Gram à négatif sont plus résistantes que les Gram à positif grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram à négatif est plus riche en lipopolysaccharides et en protéines que ceux de Gram positif qui la rendent plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer. Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaires comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides membranaires grâce à leurs groupements fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (**Dorman, 2000**).

2.1.8.Les facteurs influençant d'huile essentielle

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'HE tels que: la température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition chimique du sol, la partie de la plante utilisée, le cycle végétatif de la plante, la méthode d'extraction (**Bruneton J. 1999**), le mode de récolte et les conditions de transport (**Yayi et al.,2004**).

Les changements les plus importants interviennent pendant l'hydrodistillation sous l'influence des conditions opératoires, notamment du milieu (l'acidité, la température) et de la durée d'extraction (**Chemat et al.,2007 ; Lagunez. 2006**).

2.1.9.Toxicité des huiles essentielles :

Les huiles sont des substances puissantes et très actives. Elles représentent une source inépuisable de remèdes naturels. Néanmoins il est important de souligner que l'automédication fréquente et abusive surtout en ce qui concerne le dosage ainsi que le mode d'application interne ou externe par les essences est nocive.

Elle engendre des effets secondaires plus ou moins néfaste dans l'organisme (allergie, coma, épilepsie, etc..) principalement chez les populations sensibles (enfants, femmes enceinte, et allaitantes, personnes âgées, ou allergiques).

L'accumulation des essences dans l'organisme par des prises répétées peut conduire à des nausées, des céphalées, l'ingestion de plus de 10ml d'huile essentielle est neurotoxique et épiléptogène par inhibition de l'apport d'oxygène au niveau des tissus encéphaliques **(Baudoux, D, Belgique 1997)**.

2.2.Méthodes d'extraction des huiles essentielles

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix des processus d'obtention délicat. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte **(Fernandez et Cabrol-Bass, 2007)**. Comme :

- La volatilité
- La solubilité
- La taille et la forme des molécules constitutives
- L'adsorption.

En général le choix de la méthode d'extraction dépend de la nature de matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), de la nature des composées à extraire (les flavonoïdes, les huiles essentielles, les tanins), de rendement en l'huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées **(Hellal; 2011)**.

2.2.1.L'hydrodistillation

Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat **(Franchomme; 1990)**

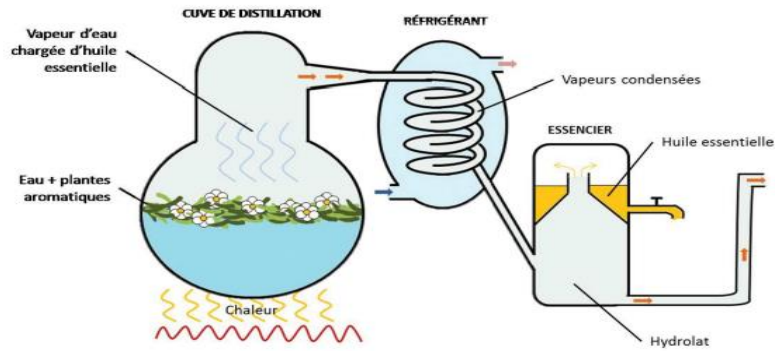


Figure11: Schéma du procédé d'Hydrodistillation

2.2.2. La distillation par entraînement à la vapeur d'eau

Le matériel végétal est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau (Figure 12). La vapeur d'eau traverse le matériel végétal et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques (Franchomme; 1990).

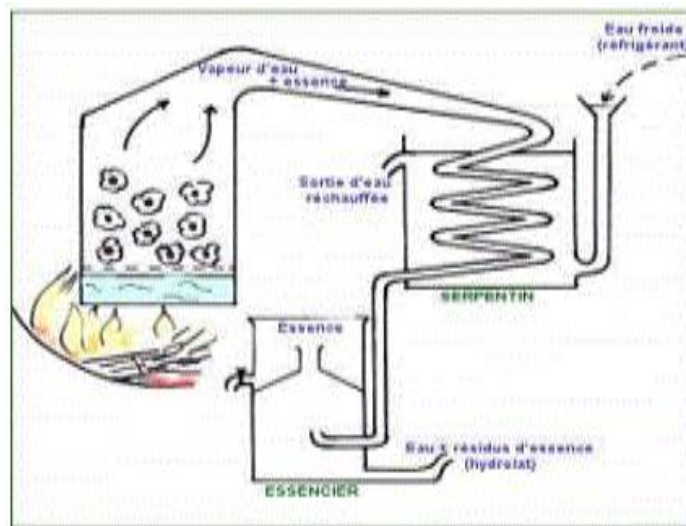


Figure12: La distillation par entraînement à la vapeur d'eau

2.2.3. Extraction par micro-ondes

Dans ce procédé, la matrice végétale est chauffée par micro-ondes (Figure 13). Dans une enceinte fermée dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle.

Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation.

Ce procédé permet un gain de temps (temps d'extraction divisé par 5 à 10) et d'énergie (température plus basse) considérable (Mengel; 1993)

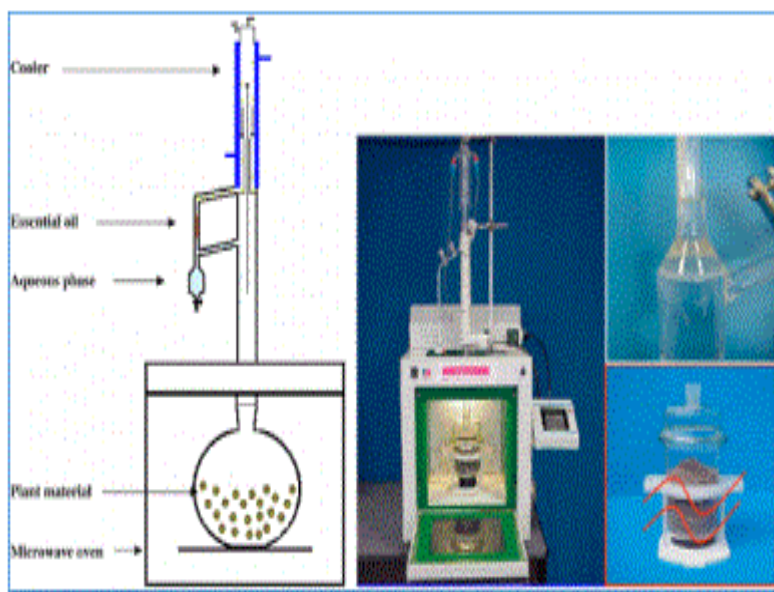


Figure13: Extraction par micro-ondes

2.2.4.Extraction par solvant

Elle consiste à épuiser la matière végétale de ses constituants odorants au moyen d'un solvant, elle est ensuite dépouillée du solvant par évaporation sous vide à 40°C afin d'éviter la dégradation thermique des molécules odorantes. Cette extraction conduit à l'obtention d'essences, concrètes ou oléorésines, de rétinoides et d'absolues.

2.3.Les principales propriétés des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des liquides à température ordinaire, d'odeur aromatique trèsprononcée, généralement incolores ou jaune pâle à l'exception de quelques huilesessentielles telles que l'huile de l'Achillée et l'huile de la Matricaire. Ces dernières se caractérisent par une coloration bleu à bleu verdâtre, due à la présence de l'azulène et du chamazulène (Abou Zeid, 2000). La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et sont entraînable à la vapeur d'eau ; il existe, cependant, des exceptionnelles

que les huiles essentielles de Sassafras, de Girofle et de Cannelle dont la densité est supérieure à celle de l'eau.

Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire (**Paris et Hurabeille, 1981 ; Duraffourd et al.,1990 ; Salle et Pelletier, 1991**). La densité nous renseigne selon **Garnero(1996)** sur la composition chimique: ainsi une densité inférieure à 0.9 indique la présence, dans cette huile, de composés terpéniques et aliphatiques à des taux élevés, alors qu'une densité supérieure à 1 indique une composition très variée en composés terpéniques polycycliques (**Leung Albert Y, 1980 ; Bernadet ,2000**).

Les huiles essentielles s'évaporent et se volatilisent à température ambiante. Très peu solubles dans l'eau à laquelle elles communiquent leurs odeurs, cette eau est dite «eau distillée florale». Les huiles essentielles sont solubles dans les alcools, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques (**Paris et Hurabielle, 1981 ; Bruneton, 1999 ; Abou Zeid, 2000;Ghuestem et al.,2001**). Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C et dépend de leurs poids moléculaires par exemple les points d'ébullition du caryophyllène, du géraniol, du citral et du α -pinène sont 260°, 230°, 228° et 156°C respectivement (**Abou Zeid, 2000**), mais d'après **Valnet (1984)**, ce point varie de 160°C à 240°C (**Bruneton, 1987 ; El Abed et Kambouche, 2003, Catier et Roux, 2007**).

Les huiles essentielles s'oxydent facilement à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène, en même temps, leurs odeurs se modifient, leurs points d'ébullition augmentent et leurs solubilités diminuent. Elles absorbent le chlore, le brome et l'iode en dégageant de la chaleur (**Duraffourd et al.,1990 ; Padrini et Iucheroni, 2006**).

2.4.Les activités biologiques

2.4.1.Activité antioxydante

a- Les antioxydants

Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (enzymes, protéines, oligo éléments), ils sont produits par l'organisme, mais aussi apportées par notre alimentation. Parmi de bons capteurs de radicaux libres on trouve les HE soufrés, contenant des aldéhydes mono et di terpéniques, des dérivés des aldéhydes benzéniques et cinnamiques, des mono phénols (eugénol) qui peuvent former des

hémiquinones relativement stable. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (**Haddouche ; 2008**).

Les antioxydants endogènes sont capable soit de maintenir les espèces réactives de l'oxygène à des concentrations quasi stationnaires soit de piéger ces espèces (antioxydants non enzymatiques).

b. Les antioxydants naturels

La vitamine E: capable d'une part de piéger chimiquement l'oxygène singulet (O_2) en s'oxydant en quinone, d'autre part, de réagir avec le radical hydroxyle (OH).

La vitamine C: c'est un piégeur très efficace des anions superoxydes, du peroxyde d'hydrogènes et de l'oxygène singulet.

La Caroténoïdes: leur rôle protecteur dans les systèmes biologiques implique la désactivation d'espèces électroniquement activées telles l'oxygène singulet O_2 et la désactivation d'espèces chimiques réactive telles les radicaux peroxydes $ROO\cdot$ et alkyles $R\cdot$, qui peuvent être générés à l'intérieur des cellules et occasionner des dommages oxydatifs.

Le Zinc joue un rôle antioxydant indirect en assurant la stabilisation de la $CuZnSO_4$, cependant il possède d'autres propriétés antioxydantes dont le mécanisme précis est encore incomplètement connu.

Le Sélénium: joue un rôle dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire, le maintien de l'intégrité membranaire réduit la probabilité de propagation de lésions oxydative à des biomolécules (Delattre; 2005).

2.4.2. Activité antimicrobienne

L'utilisation des antibiotiques conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes. Cette résistance est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons, intégrons). Ces résistances ont conduits à chercher de nouveau agents antimicrobiens possédant une efficacité plus importante que les drogues synthétiques d'une part et bien accepté par l'organisme d'autre part (sans exercer des effets délétères sur la santé humaine) (**García-Ruiz et al., 2008 ; Kempf et Zeitouni., 2009**).

Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que fenel (*Foeniculum vulgare*), peppermint (*Mentha piperita*), thyme (*Thymus vulgaris*), ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus (**Jürgen et al.,2009**)

D'autres groupes de chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industrie pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle (**Huang et al.,2008**).

2.4.3.Activités antibactériennes

Il a été prouvé par des chercheurs israéliens en 1979 que l'huile essentielle de l'*Artemisia herba alba* Asso est active contre quatre souches bactériennes : Gram+ (*staphylocoques* et *streptocoques*) et Gram- (*E. Coli* et *Salmonella typhosa*) et ceci en inhibant leur croissance (activité bactériostatique). Lors d'une étude menée par Khebri. (2011), *Artemisia herba alba* Asso s'est montrée très active vis-à-vis de : *E. Coli*, *Serratia.sp*, *Staphylococcus aureus*, *Entérobactéries* et *Hémophilus*.

Artemisia campestris est une plante médicinale utilisée dans le traitement de nombreuses infections telles que les infections urinaire.

Naili et al., (2010) ont testé l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Artemisia campestris*, ils ont trouvé que l'activité de cet extrait a été plus efficace contre les bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus*) que les bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*).

2.4.3.1.Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne

L'examen des données bibliographiques fait apparaître d'emblée la diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des huiles essentielles. Les techniques utilisées ont une grande influence sur les résultats. Ces méthodes utilisées donnent parfois des résultats différents selon les conditions opératoires expérimentales pour chaque manipulateur (**Surk, 2003**). L'insolubilité des huiles essentielles dans l'eau et d'une manière générale dans les milieux aqueux largement utilisés en microbiologie, est une des explications de la variété des techniques d'évaluation. Selon la souche microbienne, l'huile essentielle et l'application choisie, divers milieux de culture peuvent être mis en œuvre.

2.4.3.2.Méthode de diffusion en milieu solide

Cette méthode est aussi appelée méthode de l'aromatogramme, ou technique de l'antibioaromatogramme ou encore méthode de Vincent (Pibri, 2006). La diffusion de l'agent antimicrobien dans le milieu ensemencé résulte d'un gradient de l'antimicrobien. Quand la concentration de l'antimicrobien devient très diluée, il ne peut plus inhiber la croissance de la bactérie testée, la zone d'inhibition est démarquée. Le diamètre de cette zone d'inhibition est corrélée avec la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour la combinaison particulière bactérie/antimicrobien, la zone d'inhibition correspond inversement à la CMI de l'essai. Généralement, plus la zone d'inhibition est petite, plus la concentration d'antimicrobien nécessaire pour inhiber la croissance des microorganismes est faible.

2.4.3.3.Méthode de dilution en milieu liquide

Le but des méthodes de dilution en bouillon et en gélose est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée (la CMI, habituellement exprimée en mg/mL ou mg/L).

2.4.3.4.Dilution en bouillon

La dilution en bouillon est une technique dans laquelle une suspension bactérienne (à une concentration optimale ou appropriée prédéterminée) est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide. La méthode de dilution en bouillon peut être effectuée dans des tubes contenant un volume minimum de 2 ml (macrodilution) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de microtitration (microdilution).

2.4.3.5.Dilution en gélose

La dilution en gélose implique l'incorporation d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé à des concentrations variables, en général une dilution en série de β en β , suivie de l'ensemencement d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose de la boîte.

2.4.4.Activité antivirale

Pendant de nombreuses années, les données sur l'activité antivirale des huiles essentielles et leurs constituants étaient très modestes par rapport aux autres activités biologiques, telle que l'activité antibactérienne et antifongique, et ceci est bien prouvé par le peu de publication sur ce sujet.

Les huiles essentielles et leurs composants sont des agents antiviraux potentiels. Onze monoterpènes comprenant (alpha-terpinène, gamma-terpinène, alpha-pinène, beta-pinène, alpha-terpinéol, terpinène-4-ol, limonène, thymol, p-cymène, et 1,8-cinéol, avec de l'hydrocarbure, l'alcool, l'aldéhyde et l'éther), qui sont des composants principaux d'huiles essentielles, ont été évalués pour leurs activité anti-HSV. Dix monoterpènes ont montré une activité antivirale très élevée contre ce dernier. A une concentration maximale non cytotoxique, tous les monoterpènes ont réduit la formation de plaque par 80-100%, à l'exception de l'éther monoterpènes (tableau 06).

Afin de déterminer le mode d'action antivirale, les monoterpènes étaient testés sur des cellules hôtes ou sur des virus à différentes étapes de l'infection. L'inactivation de l'infection virale HSV-1 par des composés de monoterpènes tels que γ -terpinène et P-cymène été rapportée.

Des travaux effectués sur l'effet antiviral des huiles essentielles d'une variété d'*artemisia* (*Artemisia vulgaris*) ont rapportés l'effet inhibiteur de ces dernières sur la réplication de virus de la fièvre jaunes (flavivirus) (**Ocazionez et al.,2010**).

Plusieurs composants d'huiles essentielles jouent un rôle de la pénétration dans les cellules, lipophiles ou attraction et fixation hydrophiles sur les parois et des membranes cellulaire (**Bakkali et al., 2005**).

Tableau06 : Activités antivirales de quelques composants d'huiles essentielles (**Iqbal et al.,2006**)

Classe	Sous-Classe	Exemple	Mécanisme d'action
Terpénoïdes	Terpénoïdes et huiles essentielles	Caesalmin, la capsaïcine, pulégone, terpinèn-4-ol.	Inhibe l'adsorption, transmission cellule-cellule, multiplication.
	Triterpénoïds	acide Betulinique, arginine, vaticonine, acide ursolique.	Inhibe l'entrée des virus, protéase, réplication.
	Autres terpénoïds	Faicalein, swertifrancheside.	Protéine liée.

Tableau07: Activités antivirales de quelques plantes (Iqbal et al., 2006)

Composés (classe)	Nom de plante	Virus
Huiles essentielles	<i>Santalum album</i>	HSV-1
	<i>Artemisia douglasiana, Eupatorium</i>	HSV-1
	<i>Eupatorium patens</i>	HSV-1, HSV-2
	<i>Melissa officinalis</i>	HSV-2
	<i>Boussin gaultiagracillis, Serissa japonica</i>	HSV, ADV 8
	<i>Artemisia douglasiana, Eupatorium patens</i>	Dengue-2
	<i>Rheum palmatum</i>	HBV
	<i>Lippia junelliana, L. turbinata, Heterotheca latifolia, Tessaria absinthides</i>	Junin virus

L'activité antivirale de quelques huiles essentielles contre les virus enveloppés et non enveloppés, contre le herpesvirus, est été rapporté. Les résultats obtenus indiquent que l'huile essentielle affect les virus après leurs adsorptions. L'effet inhibiteur est dû à l'attachement de cette huile sur les protéines virales impliquées dans l'adsorption et la pénétration dans la cellule hôte ou il est dû au dommage des virions, probablement leurs enveloppes perturbés de ce fait leur capacité d'infecter les cellules hôtes (Schnitzler et al., 2008). Prenons l'huile essentielle de *Melissa officinalis* comme exemple.

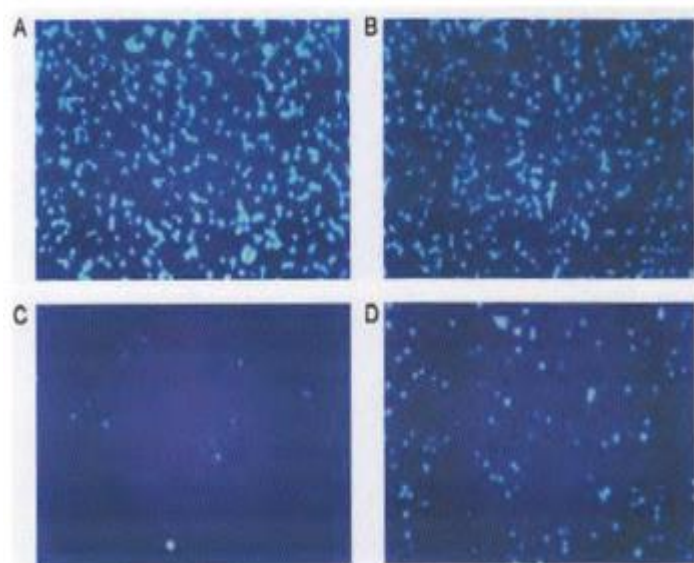


Figure14 : Activité antivirale de l'huile essentielle de *Melissa o. officinalis* sur HSV-1 à différents temps pendant la réplique virale.

(A) contrôle non traité (B) huile est ajoutée après infection antérieure des cellules, (C) au virus avant l'infection et (D) pendant la période d'adsorption. Des cultures cellulaires infectées ont été incubées pendant 3 jours, puis fixées et marquées avec le cristal violet pour visualiser les plages (**Schnitzler et al.,2008**)

2.4.5. Activité antifongique

D'après **KOLAI N., SIAIAH F., BOUDIA A** .Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne de la plante (*Artemisia herba-alba*Asso). Pour ce teste nous avons utilisé deux souches représentant les deux formes spéciales de l'espèce *Fusarium oxysporum* : F1 et F2 provenant du laboratoire de protection des végétaux l'extrait de l'huile essentielle est dilués jusqu'à l'obtention des concertations désirées (0%, 0.1%, 0.5%, 1%, 2%, 3% et 5%).

Une quantité de 1ml de chaque concentration sont rajoutées à chaque boite de Pétri contenant le milieu de culture en surfusion. Pour les tests sur la croissance mycélienne des deux formes spéciale (F1 et F2) du *Fusarium Oxysporum* f. sp. *Radicis lycopersici* avec les différentes concentrations d'huile essentielle extraite, on remarque que la croissance mycélienne démarre après le deuxième jour pour la concentration de 0,1% et après le troisième jour pour la concentration de 0.5%, par contre pour la concentration de 1% ; elle démarre après le cinquième jour, au-delà de cette concentration on observe aucune croissance (tab 08et 09). (**KOLAI N., SIAIAH F., BOUDIA A**).

Tableau08: Croissance mycélienne (cm) de FORL F1 en fonction du temps et de la concentration en HE d'*Artemisia Herba alba*

Concentration d'HE d' <i>A. herba alba</i>	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7
Témoin	0	0.93	1.75	2.57	3	3.32	4
0.1%	0	0.56	0.75	1.3	1.5	1.77	2.2
0.5%	0	0	0.07	0.13	0.3	0.43	0.54
1%	0	0	0	0	0.1	0.21	0.35
2%	0	0	0	0	0	0	0
3%	0	0	0	0	0	0	0
5%	0	0	0	0	0	0	0

Tableau09: Croissance mycélienne (cm) de FORL F2 en fonction du temps et de la concentration en HE d'*Artemisia Herba alba Asso*

Concentration d'HE d' <i>A. herba alba</i>	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7
Témoin	0	0.72	1.38	1.82	2.65	3.32	4
0.1%	0	0.15	0.26	0.43	0.6	0.82	0.9
0.5%	0	0	0.06	0.13	0.17	0.22	0.28
1%	0	0	0	0	0	0.16	0.22
2%	0	0	0	0	0	0	0
3%	0	0	0	0	0	0	0
5%	0	0	0	0	0	0	0

En général, les résultats obtenus avec les différentes concentrations de l'extrait révèlent que l'activité inhibitrice croît au fur et à mesure que la concentration augmente. En effet, des études récentes ont montrés que l'importante action antimicrobienne d'huile essentielle de la plante étudiée est en relation avec leurs fortes teneurs en α -thuyone et en camphre. Ces composés phénoliques sont réputés à avoir une grande action antibactérienne et antifongique.

Une activité inhibitrice de 100% a été remarquée par l'application d'une concentration de 200 μ l/ml (fig. 3)

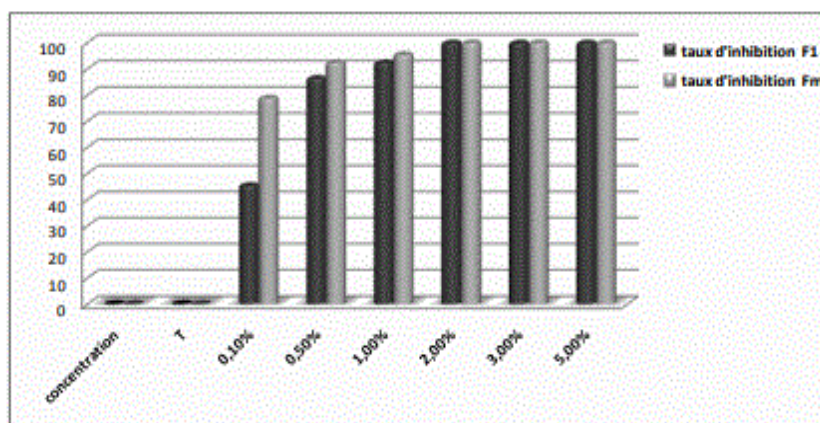


Figure15 : Taux d'inhibition de F1 et F2 en fonction de la concentration

d'huile essentielle d'*Artemisia. herba alba*

La valeur de CI50 semble être proche aux environs de concentration qui est 0.1 % de l'extrait d'HE sur les deux souches F1 et F2.

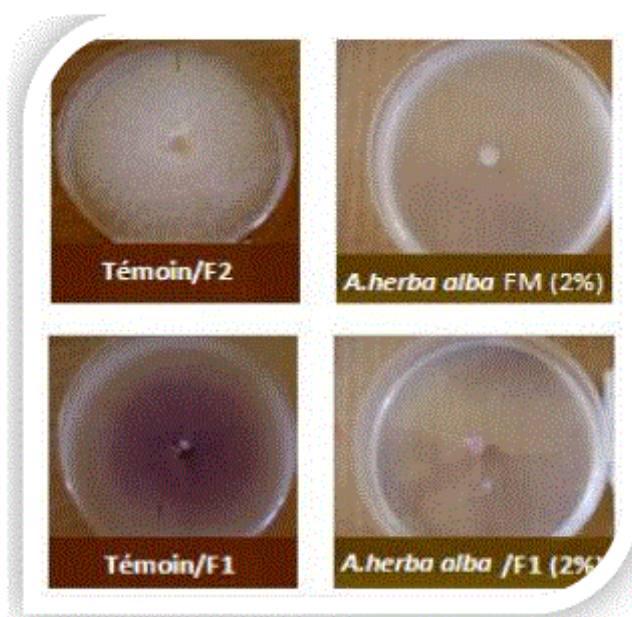


Figure16 : Concentration minimale inhibitrice de l'HE d'*Artemisia Herba alba* sur la croissance mycélienne de FORL (F1 et F2)

2.4.6. Activité anticancéreuse

Akrouf et ses collaborateurs (2011) ont étudié l'activité anticancéreuse de l'huile essentielle et des extraits organiques : hydroalcoolique (éthanol-eau), hexane et l'extrait

aqueux pour leur capacité à inhiber la croissance des cellules cancéreuses HT-29 du cancer du côlon humain.

D'après les résultats, l'huile essentielle ainsi que les extraits à l'exception de l'extrait d'hexane ont montré une activité inhibitrice de croissance des cellules cancéreuses. L'action inhibitrice la plus significative a été montrée par l'huile essentielle d'*Artemisia campestris*.

Huiles essentielles aux propriétés antitumorales

Malgré les progrès dans la compréhension des mécanismes de la transformation cellulaire, le cancer continue à poser de graves problèmes de santé mondiale, surtout avec l'apparition des multidroques résistance (DMR) par les cellules transformées. La plasticité et la flexibilité cellulaire ainsi que la forte exposition à des drogues anticancéreuses rendent les tumeurs résistantes. Les propriétés antitumorales des huiles essentielles, connues depuis l'Antiquité dans des études empiriques, ont fait l'objet d'un bon nombre de publications qui ont été confirmées par des études *in vitro*, leur action cytotoxique contre des lignées cellulaires tumorales représentant différents types de cancer (Tableau 10). Plusieurs molécules présentes dans les HE sont douées de propriétés antitumorales, et particulièrement les phénols (tels que le carvacrol, le thymol et l'eugénol), les alcools (tels que le linalool) et les aldéhydes (tels que le cinnamaldéhyde).

Ce sont généralement les huiles essentielles riches en de telles molécules qui présentent la plus grande efficacité cytotoxique contre des lignées cellulaires cancéreuses humaines. Ce sont généralement les HE riches en telles molécules qui présentent la plus grande efficacité antitumorale. Certaines HE des plantes (comme l'eucalyptus, la camomille, l'armoise et la verveine officinale) ont le pouvoir d'activer l'apoptose dans les cellules tumorales. D'autres sont capables de perturber le potentiel membranaire mitochondrial.

Tableau10 : exemples d'huiles essentielles ayant des propriétés antitumorales.

Huile essentielle	Famille	Composants majoritaires	Références
<i>Origanum dictamnus</i>	Lamiaceae	p-cymène γ-terpinène Carvacrol	[38]
<i>Thymus vulgaris</i>	Lamiaceae	p-cymène Thymol	[39]
<i>Salvia officinalis</i>	Lamiaceae	α-thujone Camphor Bornéol	[40]
<i>Ocimum kilimandscharicum</i>	Lamiaceae	1,8-cinéole Limonène Camphor	[7]
<i>Toona sinensis</i>	Meliaceae	Caryophyllène β-caryophyllène	[41]
<i>Croton flavens</i>	Euphorbiaceae	Viridiflorène	[42]
<i>Nepeta ucrainica</i>	Lamiaceae	D-germacrène	[43]
<i>Casearia sylvestris</i>	Flacourtiaceae	β-caryophyllène α-humulène	[44]
<i>Zanthoxylum rhoifolium</i>	Rutaceae	β-caryophyllène β-élémane	[45]
<i>Comptonia peregrina</i>	Myricaceae	β-caryophyllène α-humulène	[46]
<i>Cyperus rotundus</i>	Cupressaceae	β-pinène α-pinène	[47]
<i>Eugenia zuchowskiae</i>	Myrtaceae	α-pinène β-caryophyllène	[48]
<i>Juniperus excelsa</i>	Cupressaceae	Cédrool L-verbénol D-verbénol	[49]
<i>Photinia serrulata</i>	Rosaceae	γ-eudésmol α-pinène Sabinène α-humulène α-thujène	[50]
<i>Tetraclinis articulata</i>	Cupressaceae	Bornyl d'acétate Camphor	[51]

2.5.Hydrolat

2.5.1.Généralité

L'hydrolathérapie, ou thérapie par les eaux florales, est une branche de l'aromathérapie, elle-même issue de l'ensemble plus vaste de la phytothérapie. Au cours de la distillation d'une

plante, deux produits très précieux émergent: d'une part l'huile essentielle (HE) et d'autre part l'hydrolat (HA) à savoir l'eau imprégnée de molécules aromatiques. En l'espace d'une décennie, les huiles essentielles ont fait un chemin remarquable dans la conscience collective. En revanche, il n'en va pas de même des hydrolats qui restent bien souvent peu exploités. Ces "eaux magiques" ont pourtant, elles aussi, des vertus thérapeutiques hors pair, issues de la plante, mais aussi de la faculté purificatrice de l'eau (**Beaudoux, 2000**).

2.5.2 Définition

Les hydrolats sont des produits issus de la distillation (Hydrodistillation ou entraînement à la vapeur) de fleurs ou de plantes aromatiques. Ils sont également appelés « eaux florales » lorsqu'il s'agit de distillation de fleurs. Selon l'**AFNOR ISO 9235 :2014 (AFNOR 2014)**, l'hydrolat est un « distillat aqueux qui subsiste après l'entraînement à la vapeur d'eau et la séparation de l'huile essentielle lorsque c'est possible ». Les hydrolats sont les coproduits de distillation des huiles essentielles.

2.5.3 Activités biologiques

Les études concernant la bioactivité des hydrolats sont peu nombreuses en comparaison de celles réalisées sur les huiles essentielles. Malgré la ressemblance directe entre les hydrolats et les huiles essentielles correspondantes d'un point de vue chimique, (**Carlini et al., (1983)**) ont observé que l'effet psychopharmacologique de l'hydrolat obtenu des graines de *Licaria puchury-major* n'est pas en relation avec le contenu moléculaire de l'huile essentielle correspondante. **Souza et al., (2007)** ont mis en évidence la bioactivité de l'HE et l'HD du bois et des branches d'*Aniba duckei* sur les larves d'*Artemia franciscana*. L'HE avec une concentration de 2 mg/ml et l'HD à 25% entraînent tous deux une mortalité de 100%. Le linalool présent à 0.09% dans ce dernier, serait d'après les auteurs, responsables de cette activité biologique. La croissance d'*Alternaria mali* et *Botrytis cinerea* est inhibée avec différentes concentrations d'HE et HD de *Satureja hortensis*, plante sauvage de Turquie. Cette étude montre des résultats convaincants avec 10% d'HD sur *B. cinerea* et 15% sur *A. mali* Boyraz & Ozcan (2006). Sagdic et Ozcan (2003) ont mis en évidence l'activité antibactérienne des hydrolats de *Pimpinella anisum*, *Cuminum cyminum*, *Satureja hortensis*, *Thymbra spicata* et *Origanum vulgare* sur *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Proteus vulgaris* et d'autres bactéries.

2.5.4 Composition chimique

Contrairement aux huiles essentielles, il existe peu de travaux portant sur la composition chimique et l'activité biologique des hydrolats. A cet égard, **Aazza et al., 2011**, présente la liste des équipes de chercheurs qui ont étudié l'un de ces sujets ; **Paolini et al., 2008**, **Lis-Balchin et al., 2003**; **Sağdıç and Özcan, 2003**; **Boyras and Özcan, 2005**; **Özcan et al., 2008**; **Ulusoy et al., 2009**). L'équipe d'**Inouye (2008)** doit aussi être mentionnée dans le domaine des hydrolats compte tenu de l'étude comparative importante qu'elle a réalisée sur 44 hydrolats et leurs HE respectives. Cependant, cette étude ne présente pas la méthode d'obtention des hydrolats et tout spécialement le rapport masse végétale versus volume d'hydrolat obtenu. Par ailleurs, il est important de noter dans cette étude que le composé majoritaire dans l'HE n'est pas systématiquement celui qui est présent dans l'hydrolat.

C'est le cas par exemple d'*Eucalyptus citriodora* dont le composé majoritaire dans l'HE est le citronellal alors que dans l'hydrolat c'est le cis-p-menthane-3,8-diol qui présente la concentration majoritaire. La même observation est réalisée pour *Chamaecyparis obtusa*. Dans cette dernière étude, le thymol est le composé majoritaire avec respectivement des pourcentages de 79.2 et 37.0 dans l'HD et l'HE.

Par contre le paracymène présent avec un pourcentage de 32.5% dans l'HE est absent dans l'HD. Dans le cas de *Rosmarinus officinalis*, bien que l' α -Pinène (25.4%) soit présent en majorité dans l'HE suivi par le 1,8 cinéole (17.8%), il est absent dans l'HD dans lequel le composé majoritaire est la verbénone (23.1%) suivie du camphre (21.9%) et du 1,8 cinéole (19.0%). **Adelon et al., (1835)** précisent que lorsque les hydrolats sont pauvres en HE, ils sont particulièrement instables et ceux riches en HE pourront être conservés pendant plusieurs années.

D'un point de vue moléculaire, les composés principaux de l'hydrolat sont en général les mêmes que ceux qui sont présents dans la fraction oxygénée de l'HE correspondante (**Price & Price, 2004**), lesquels sont responsables de l'odeur de cette solution aqueuse. Au niveau scientifique et industriel il n'existe pas de définition légale, de standards proposés par l'industrie ou la communauté scientifique internationale ou de spécifications de la part d'organismes internationaux comme ISO ou AFNOR (**Tannous, Juliani, Wang, & Simon, 2004**).

2.5.5 Obtention de rendement :

En ce qui concerne les rendements d'obtention des hydrolats, **Bonnafous (2013)** recommande la proportion d'un kilogramme de matériel végétal pour un litre d'hydrolat.

2.5.6 Domaines d'utilisation de l'hydrolat

2.5.6.1 En cosmétique

L'hydrolat est un régénérant et un antioxydant qui combat les radicaux libres et prévient le vieillissement prématuré de la peau. C'est un purifiant et équilibrant qui aide à contrôler les sécrétions de sébum et assainit la peau.

En plus, il régularise la transpiration excessive et il est considéré comme un embellisseur capillaire en redonnant une brillance et une vitalité aux cheveux foncés (**Bouissy, 2004**).

2.5.6.2 En santé

Il existe plusieurs cas d'utilisation de l'hydrolat dans le domaine de la santé surtout dans les cas des insuffisances biliaires et hépatiques, les bouffées de chaleur, les troubles circulatoires liés au système hormonal, asthme, bronchite, toux, cholestérol, aphtes infections buccales. (**Baudoux, 2000**).

Il est considéré comme un harmonisant des fonctions rénales, surrénales et hépatiques et un mimétique des œstrogènes, Il apaise les symptômes prémenstruels et ceux liés à la ménopause. Cet extrait joue aussi un rôle très important dans la régulation de la flore intestinale et dans le soulagement des maux de la bouche (**Baudoux, 2000**).

2.5.6.3 Cuisine

Les hydrolats sont utilisés dans l'industrie alimentaire et cosmétique. C'est le cas par exemple de l'eau de rose et l'eau de fleur d'oranger utilisées non seulement pour le soin de la peau ou dans la préparation de gâteaux et boissons.

2.6 -Protocoles des activités biologiques

2.6.1 Etude de l'activité antioxydante.

-Matériels et méthodes

-Matériel végétal et préparation des extraits

2.6.1.1 Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin Ciocalteu selon la méthode citée par (**Wong et al., 2006**).

2.6.1.2 Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl₃) citée par (**Djeridane et al., 2006**) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans ces extraits.

2.6.1.3 -Analyse qualitative par HPLC

L'analyse qualitative des flavonoïdes est réalisée par HPLC (VP Shimadzu liquid chromatograph). Pour cela, 20 µl de chaque extrait ont été injectés sur une colonne de type phase inverse C18, de dimensions égales à 125 x 4.6 mm. La phase mobile est constituée de trois éluants : l'eau distillée, le méthanol et l'acide acétique (50 : 47 : 2.5) (V /V /V).

Le gradient d'éluant appliqué est de type isocratique étalé sur 10 min. Le débit est de 1 ml / min (**Amarowicz et al., 2005**). La détection a été effectuée par un détecteur UV-Vis à une longueur d'onde égale 254 nm.

2.6.1.4 Activité antioxydante

2.6.1.4.1 Test de blanchissement du β- carotène

Dans cette analyse la capacité antioxydante est déterminée par la mesure de l'inhibition des composés organiques volatils et les hydro-péroxydes conjugués diène résultant de l'oxydation de l'acide linoléique (**Tepe et al., 2006**). Brièvement 2 mg de β - carotène ont été dissous dans 1 ml de chloroforme. La solution obtenue a été introduite dans un ballon contenant 2 mg d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40.

Après évaporation du chloroforme, 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène ont été ajoutés avec agitation vigoureuse. De cette nouvelle solution 2.5 ml sont transférés dans des tubes, et 350µl de chaque extrait (2g/l) et du témoin BHT sont ajoutés. L'absorbance a été immédiatement mesurée pour le BHT à 490 nm. D'autres lectures sont mesurées à différents intervalles de temps (2h, 4h, 6h, 12h, et 48h) (**Tepe et al.,2006**). L'activité antioxydante

relative après 48 heures est calculée selon la relation suivante : $AAR = (\text{Abs Échantillon} / \text{Abs BHT}) \times 100$ où :

AAR : activité antioxydante relative.

Abs Échantillon : absorbance de l'échantillon après 48 heures.

Abs BHT : absorbance du BHT après 48 heures.

2.6.1.4.2 Test au DPPH :

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH. (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune (Maataoui *et al.*, 2006). L'activité du balayage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par (Lopes-Lutz *et al.*, 2008). Dans des tubes on introduit 2.5 ml de chaque extrait (0.1 mg/ml) et 1 ml de la solution méthanolique au DPPH (0.3 mM), après agitation par un vortex, les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm. Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$\% = [1 - (\text{Abs Échantillon} - \text{Abs Contrôle négatif})] \times 100 \text{ où}$$

% : pourcentage de l'activité anti-radicalaire.

Abs Échantillon : absorbance de l'échantillon.

Abs Contrôle négatif : absorbance du contrôle négatif.

2.6.2 -Pouvoir antimicrobien:

Il s'agit de déterminer le diamètre d'inhibition selon la méthode de Vincent, pour les bactéries, et la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) selon la méthode de contact direct par dilution en milieu gélose.

2.6.2.1 -Etude de l'effet antimicrobien par la Méthode de Vincent :

Montre l'activité et l'inactivité d'huile testée sur les souches bactériennes par : Le coefficient d'activité A pour les souches bactériennes dont les zones d'inhibition sont importantes est estimées

$A = z' / q$ avec.

$$z' = \pi (z^2 / 4).$$

z' : la surface d'inhibition.

q : la quantité de l'huile essentielle (en μ l).

z : le diamètre d'inhibition (cm), diamètre du disque imbibé inclus.

2.6.3 Etude de l'activité antibactérienne.

2.6.3.1 Préparation de l'inoculum :

Le prélèvement, à l'aide d'une oese, une colonie des souches testées. Puis, on traverse le contenu de l'oese dans un tube contenant 2.5ml d'eau physiologique stérile : les colonies sont émulsionnées sur le bord du tube en dehors de l'eau puis peu à peu dans le liquide. Ensuite on agite vigoureusement, une culture bactérienne fraîche est préparée et incubé pendant 18H-24H à 37°C.

2.6.3.2 Milieu de culture :

Milieu de Muller Hinton pour les entérobactéries, Pseudomonas et le milieu Chapman pour les staphylocoques appelés *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM). En fait les SARM, sont non seulement résistants à la méticilline mais également à tous les autres antibiotiques de la même classe. *S. aureus* est devenu l'une des premières causes des infections nosocomiales dans les hôpitaux du monde entier. Fauchère et al. Ont rapporté que 10 à 50 % de souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans les hôpitaux résistent à la méticilline. (Fauchère et al., 2001).

2.6.3.3 Méthodes de détermination de l'activité microbienne

-Critères de sélection des souches

Le choix des souches est basé sur plusieurs paramètres :

- Les souches sont d'origine hospitalière,
- Pour leurs fréquences élevées à contaminer les gens au sein de l'hôpital V à Meknès

- Les souches sont choisies pour leur résistance naturelle à divers types d'agents antimicrobiens surtout staphylocoques aureus (*S. aureus* est souvent retenu comme bactérie-test)

2.6.3.4 Modèle de coloration de Gram

- ✓ Préparer un frotti ; recouvrir le frotti avec de violet de Gentiane ; laisser agir 1mn ; rincer à l'eau distillée.
- ✓ Verser du Lugol et le laisser agir pendant 1 mn.
- ✓ Décolorer à l'alcool à 95°, entre 15 et 30 secondes ; rincer à l'eau distillée.
- ✓ Fixation avec de la fuchsine pendant 10 à 30 secondes ; rincer à l'eau distillée. - sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen.
- ✓ Observation au microscope optique à l'objectif x 100 à immersion, les Gram+ se colorent en violet tandis que les Gram- apparaissent colorés en rose.

2.6.3.4 Aromatogramme :

C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles essentielles chémotypées. Différents types d'aromatogrammes, en milieu solide, liquide, sont exploitables. Cependant, en pratique quotidienne, c'est le milieu solide qui est le plus simple et le plus facilement reproductible (**PIBIRI ; 2005**). Placés dans une étuve à 37,5 °C, dans des conditions optimales de culture, les germes pathogènes se développent rapidement sur le milieu nutritif.

Sur ces colonies microbiennes, plusieurs séries (6 à 8 par boîte) de petits disques de papier buvard imprégné de différentes huiles essentielles à tester sont ensuite disposées. Après un temps de latence à 37,5 °C, le diamètre du halo d'inhibition entourant les disques est alors mesuré. Chaque halo, une zone claire montre la destruction des germes pathogènes et donne une indication précise de l'activité antibactérienne des huiles utilisées. L'aromatogramme représente cependant un point de repère essentiel puisque sa technique est identique à celle utilisée pour mesurer l'activité bactéricide des antibiotiques (**ZHIRI ; 2006**)

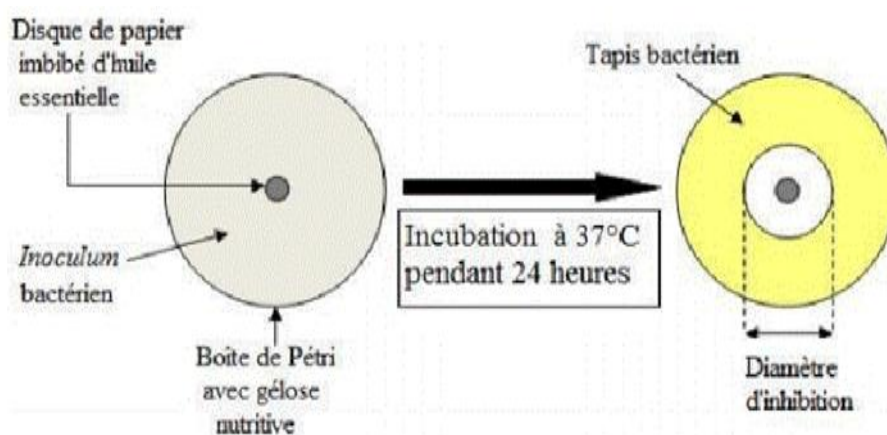


Figure17: Principe de la méthode de diffusion ou des aromatogrammes (Rasooli et al.,).

2.6.3.6 Préparation de la suspension bactérienne :

Une colonie bien isolée issue d'une culture de 18-24 H introduite dans 5 ml d'eau physiologique contenue dans un tube à essai.

2.6.3.7 Ensemencement :

Ensemencement avec la coton tige l'inoculum.

-Imprégnation des disques :

Les disques blancs de 6 mm de diamètre ont été imprégnés de 5,10 et 15 μ l de la solution d'essai préparé. Les disques ont été placés dans des boîtes de pétri sur lesquelles ont été séchés.

-La méthode de dilutions ou méthode de Kirby-Bawer 1960/

La méthode de dilution consiste à préparer une série de tubes de bouillon Mueller-Hinton contenant des concentrations d'huile essentielle variant de 0,251!g/ml à 20!g/ml et on inocule avec une population de l'organisme à tester.

2.6.3.8 Mesure de l'activité :

La macrométhode de dilution en milieu liquide est utilisée pour déterminer les paramètres de l'inhibition de la croissance bactérienne (CMI, CMB), des extraits actifs.

-Concentration minimale inhibitrice (CMI) :

On procède à une dilution successive par progression les dilutions suivantes 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/50, 1/64, 1/80, 1/128, (**Oussou et al 2004**), Du fait de la non miscibilité des H.E. à l'eau et donc au milieu de culture, la mise en émulsion a été réalisée grâce à une solution d'agar à 0,2 % afin de favoriser le contact germe/composé.

-Concentration minimale bactéricide(CMB) :

La gélose nutritive coulée dans des boîtes de pétri estensemencée en stries par 100ul des contenus des tubes ayant une concentration \geq CMI dans la série de dilution précédente. La CMB est déterminée après une incubation de 24 heures à 37°C.

C'est la plus petite concentration qui inhibe totalement la croissance. L'effet antibactérien a été jugé bactéricide ou bactériostatique en fonction du rapport : CMB/CMI .En effet, si CMB/CMI = 1 à 2, l'effet est bactéricide et si CMB/CMI = 4 à 16, l'effet est bactériostatique (**Berche et al., 1991**).

-Etude comparée de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle avec celle des antibiotiques contre une bactérie :

La méthode utilisée est celle de l'antibiogramme par diffusion.

- l'huile essentielle obtenue.

On compare les diamètres des zones d'inhibition.

-Choix des germes :

La coloration de gram et observation électronique :

Les résultats de la coloration du gram se fait par microscope.

-L'identification bactérienne :

La confirmation des souches bactériennes s'effectuent par la galerie d'identification.

Galerie d'identification									
lactose	Glucose	H2S	GAZ	Mannitol	urée	indol	mobilité	app	cs
-	+	OXYDAE +	-	+	+	-	-	-	-
-	+	-	+	+	-	+	+	-	-
	+	OXYDAE+	-	+	+	-	-	-	-
-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

Figure18: galerie d'identification de différentes souches testées.

2.6.4 Etude de l'activité antifongique

-Matériel

-Matériel végétal

La récolte des échantillons des plantes x, Les huiles essentielles sont extraites par hydrodistillation ou tout type d'extraction.

-Matériel fongique

Types de champignons à tester, isolées et identifiées en se basant sur leurs caractères morphologiques et microscopiques. Elles sont régulièrement entretenues par repiquage sur un milieu gélosé.

2.64.1. Test biologique

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles a été évalué par la méthode de microatmosphère. Dans cette technique, une boîte de Petri (90 mm) contenant 25 ml de milieu gélosé, est d'abordensemencée par un fragment de 10 mm de diamètre prélevé à la périphérie d'une culture fongique dans le milieu gélosé âgée de sept jours ; ensuite un disque de papier Wattman imbibé d'une quantité d'huile essentielle pure (2,5 ; 5 ; 10 ; 20 ; 30µl) est déposé au centre du couvercle de la boîte de Petri. La culture est ensuite incubée à l'obscurité, couvercle en bas, pendant sept jours à 25 °C. Chaque essai est répété trois fois. Un témoin, dépourvu d'huile essentielle, est préparé dans les mêmes conditions avec un disque de papier imprégné d'eau distillée.

2.6.5 Etude de l'activité antivirale

2.6.5.1 Test de l'activité antivirale

Trois protocoles, décrits ci-dessous, ont été suivis (en triplicata) pour chacune des trois souches virales. Pour chaque test nous avons pris comme témoin négatif des cellules ne contenant que du milieu et comme témoin positif des cellules infectées par le virus à une même concentration que celle utilisée dans le test (Cos et al., 2002 ; Ooi et al., 2004 ; Tshikalange et al., 2005). L'absence d'ECP à une concentration donnée de l'extrait au moment où le témoin viral manifeste un ECP nous indique que l'extrait en question possède une activité antivirale à cette concentration (Meyer et al., 1996).

Protocole 1 :

La préincubation de l'extrait avec la suspension virale ; les différentes concentrations de l'extrait sont préincubées pendant 1 h 30 à 37 °C avec la suspension virale à 100 DICT50/ml à volume égal. Ce mélange est ensuite inoculé aux cellules vero en culture présentant une nappe confluyente (1,6.10⁵ cellules/puits). Les cellules sont réincubées pendant 5 à 7 jours et régulièrement observées jusqu'à l'apparition d'un ECP total au niveau du témoin viral.

. Protocole 2 :

Préincubation de l'extrait avec les cellules : les cellules débarrassées de leur milieu sont préincubées durant 1h 30 à 37 °C avec les différentes concentrations de l'extrait (100 µl/puits). 100 µl de la suspension virale sont ensuite ajoutés dans chaque puits et les plaques sont réincubées et contrôlées pendant 5 à 7 jours jusqu'à l'apparition d'un ECP total au niveau du témoin viral.

. Protocole 3 :

Préincubation des cellules avec la suspension virale : les cellules sont infectées par la suspension virale à raison de 100 µl/puits et incubées pendant 1h 30 à 37 °C. Les différentes concentrations de l'extrait sont ensuite ajoutées (100 µl/puits) et les cellules sont réincubées durant 5 à 7 jours jusqu'à manifestation d'un ECP total au niveau du témoin viral.

2.6.6. Etude de l'activité anticancéreuse

L'activité anticancéreuse est évaluée à l'aide du test de réduction de la résazurine en résorufine (O'Brien et al., 2000). La résazurine non fluorescente est réduite par le

métabolisme mitochondrial des cellules en une molécule fluorescente, la résorufine. L'inhibition de la croissance cellulaire peut ainsi être mesurée. Pour corroborer les résultats obtenus à l'aide de ce premier test, une autre mesure est effectuée en quantifiant l'ADN cellulaire.

Cette méthode est appelée test de Hoechst (**Rago et al., 1990**). Les résultats sont exprimés en IC50, c'est-à-dire la concentration (en u.g/mL) qui inhibe 50% de la croissance cellulaire. Le potentiel anticancéreux des huiles essentielles a été évalué sur trois lignées cellulaires: A549 correspond au carcinome de poumon, DLD-1 correspond à l'adénocarcinome de côlon et WS1 correspond aux fibroblastes humains. Cette dernière lignée, non cancéreuse, permet d'évaluer la toxicité des huiles essentielles envers les cellules saines. L'étoposide est utilisé comme témoin positif.

DEUXIEME PARTIE:
ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 03 :
PRÉSENTATION DE LA
ZONE D'ÉTUDE

3.1.Caractéristiques générales du milieu d'étude

3.1.1.Le territoire

La wilaya de Tiaret est située à l'ouest du pays à plus de 300 km au sud-ouest de la capitale. Elle se présente comme une zone de contact entre le Tell au nord et les hautes plaines au sud. Son territoire est constitué de zones montagneuses au nord, et les hautes plaines au centre et au sud. Elle s'étend sur 20113,90 Km² (CFT, 2009) et compte une population de 731776 habitants. Elle est limitée:

- Au Nord, par les wilayas de Tissemsilt et Relizane
- A l'Est, par la wilaya de Djelfa
- Au Sud, par les wilayas de Laghouat et El Bayadh
- A l'Ouest, par les wilayas de Mascara et Saïda.

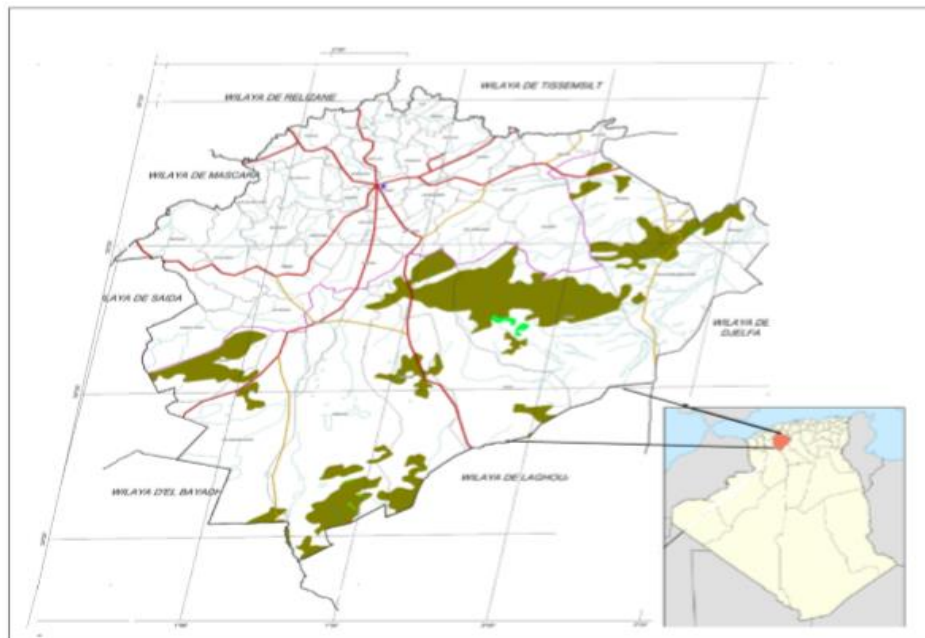


Figure19 : Localisation de la wilaya de Tiaret.

3.2.Zone d'étude

La zone d'étude se situe dans la partie centrale de la région steppique de la wilaya de TIARET (Figure n°20), sur le plateau d'AIN DHEB, au Sud du massif du NADHOR. L'Analyse de la géographie de la région de TIARET motive le choix fait sur la région d'étude, une lecture de la géomorphologie de la région de TIARET permet d'identifier la région steppique sur trois grands ensembles géographiques :

- Le faciès de CHOTT CHERGUI à l'Ouest.
- Le plateau steppique de AIN DHEB au centre

➤ Le massif alfatier du Nadhor à l'Est..



Figure20 : carte de situation géographique de la zone d'étude.(Bouacha;2013)

Le plateau steppique d'AIN DHEB est limité au Nord par les monts de Djebel NADOR, dans sa partie Est, se situe le plateau du Sersou, au Sud par l'ATLAS SAHARIEN et par chottchergui dans sa partie Ouest. C'est la région où le maximum de végétation y est recensé et observé, la partie Est étant une région dépourvue de couverture végétale du fait notamment de la salinité des sols. Pour sa part le faciès de CHOTT CHERGUI est région sujette à un ensablement massif et à une diminution de la superficie de la zone humide. L'hypothèse et la connaissance des facteurs impliqués dans la dynamique de la végétation steppique semble être altérée par ce constat (ensablement, salinité des sols ...etc). De ce fait le choix de la zone d'étude fut porté sur la région d'AIN DHEB.

3.2.1 Description du milieu physique :

3.2.2. Occupation des sols :

La région de TIARET est une région à vocation agro sylvo pastorale, une lecture de la carte d'occupation des sols (figure n°21) fait ressortir une dominance de la classe agriculture, notamment dans la partie Nord de la wilaya, les formations forestières sont constituées essentiellement de maquis dégradés, la présence de quelques peuplements constitués de

vieilles futaies de chêne liège et de pistachier de l'Atlas est à noter. La zone d'étude quant à elle est une région steppique représentant une zone de parcours, la végétation dominante est constituée de groupement à alfa (*Stipa Tenascisima*). C'est une région se caractérisant par l'élevage ovin. Cependant les changements intervenus dans les pratiques agricoles dans la région, dû notamment à la sédentarisation de la population nomade ; font état d'un changement de la pratique agricole vers la céréaliculture, dans la perspective d'assurer une source fourragère de substitution.

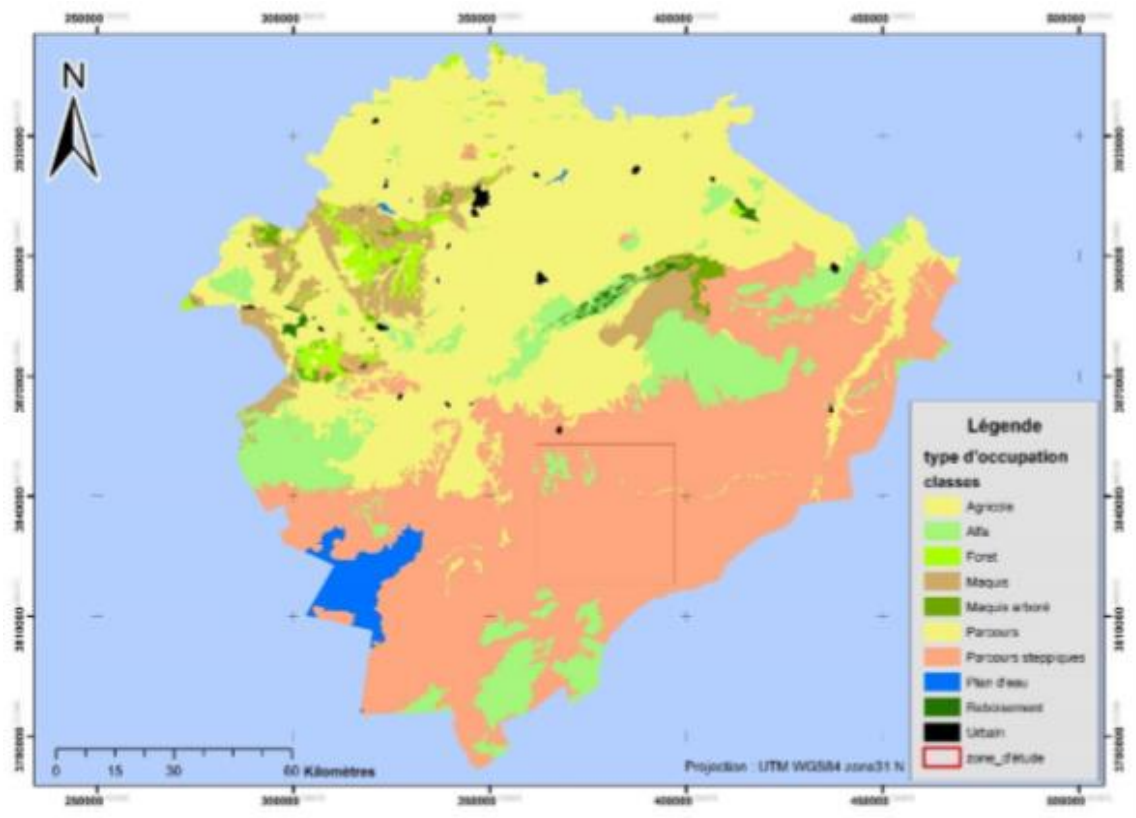


Figure 21 : carte de l'occupation des sols de région de TIARET. (CFT2018)

3.2.3 Le couvert végétal :

La végétation rencontrée au niveau des parcours steppiques dans la région de Tiaret est typique des écosystèmes semi-arides, en effet on y rencontre divers groupements végétaux, c'est ainsi que l'on identifie, au niveau de la région d'étude les steppes d'alfa, les steppes d'armoïse, une végétation psamophytes. La distribution spatiale de la végétation steppique sur l'ensemble du territoire de la zone d'étude, répond à plusieurs variables notamment édaphiques. Plusieurs travaux de recensement des divers groupements végétaux furent entrepris par les administrations chargées de gérer l'espace steppique. Néanmoins les documents cartographiques consultés ne sont malheureusement pas mis à jour de façon périodique.

La végétation naturelle de la zone steppique est caractérisée par des sous arbustes tel que le CHOBROG (*Noaea mucronata*) qui occupe les sols à croûte calcaire et d'une steppe rase à sparte (*Lygeumspartum*) Le couvert végétal à armoise blanche (*Artemisia herba alba*) Le couvert végétal à artémisia (*Artémisia campestris*) et la couverture végétale d'alfa pure (*Stipa tenacissima*) sont s très dominante dans les endroits d'apports ces associations consomment les principales végétations naturelles des parcours.

Il existe aussi d'autres types de végétation telle que les halophiles composées de l'*Atriplex halimus*, situées sur les sols à forte salinité, notamment vers partie Sud-Est, au prolongement de la zone humide de CHOTT CHERGUI. Aussi il est à noter que l'on identifie un autre type de groupement végétaux, les psamophiles sont en effet identifiés sur l'ensemble des zones sableuses telle que le tamarix gallica ou le retama retam.

3.3.Analyse climatique :

Les données relatives à la pluviométrie et à la température furent acquises à partir de la plate-forme en ligne de google earth engine.

3.3.1. Régime mensuel des précipitations :

Le régime mensuel des précipitations pour la région d'étude, a atteint (350,26 m) durant la période allant de 1981 à 2016, avec un maximum de 33.11 mm minimum de 2,66 mm durant le mois de juillet.

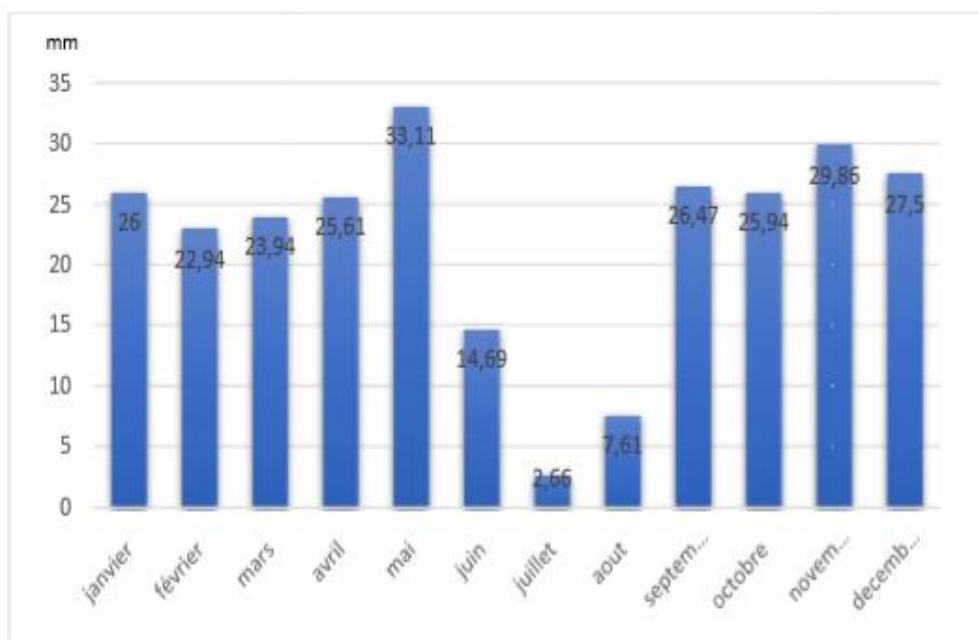


Figure 22 :précipitation moyenne mensuelle pour la période allant de 1981 à 2016

1.2 Température moyenne annuelle:

La moyenne des températures annuelles enregistrées pour la période de 1981 enregistré un maximum de 11,33 °C pour l'année 1987 et un minimum de l'année 1992 à l'opposé des précipitations qui connaissent une évolution irrégulière, les températures manifestent une tendance à la hausse (figure n°

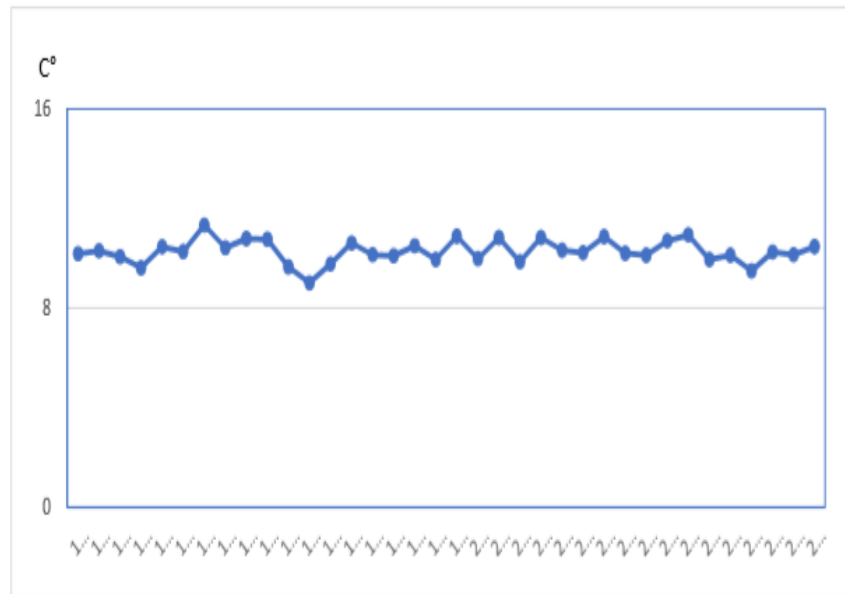


Figure 23: évolution de la température moyenne annuelle pour la période allant de 1981 à 2016

Moyennes des températures minimales et températures maximales:

Sur l'ensemble de la période 1981-2016, le mois de janvier demeure le plus froid avec une moyenne de 1,99 °C avec un minimal de -0,5°C. Le mois le plus chaud est celui de juillet avec une moyenne de 20,79°C atteignant un maximal de 22,85 °C (figure n°24)

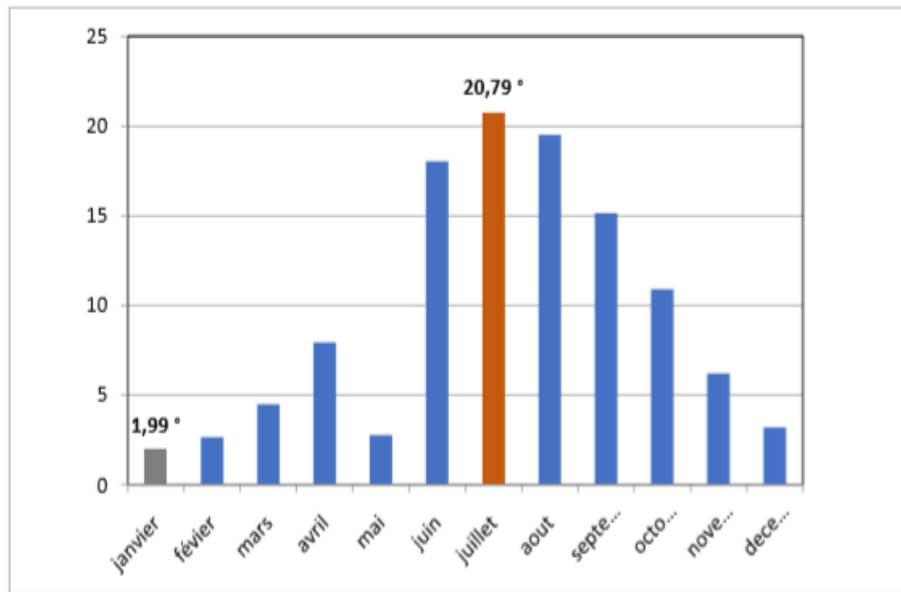


Figure 24 : température moyenne mensuelle pour la période allant de 1981 à 2016.

1.3 Evolution températures-précipitations :

-diagramme ombrothermique de BAGNOULS & GAUSSEN

Une comparaison évolutive entre la température et les précipitations permet de comprendre le comportement du climat dans notre région. La figure n°25, illustre le diagramme xérothermique de la région d'étude pour la période 1981 à 2016 D'un point de vue globale, l'on remarque que la période sèche pour l'ensemble de la période d'observation s'étend sur 05 mois, à partir du mois de mai mois jusqu'au mois de septembre.

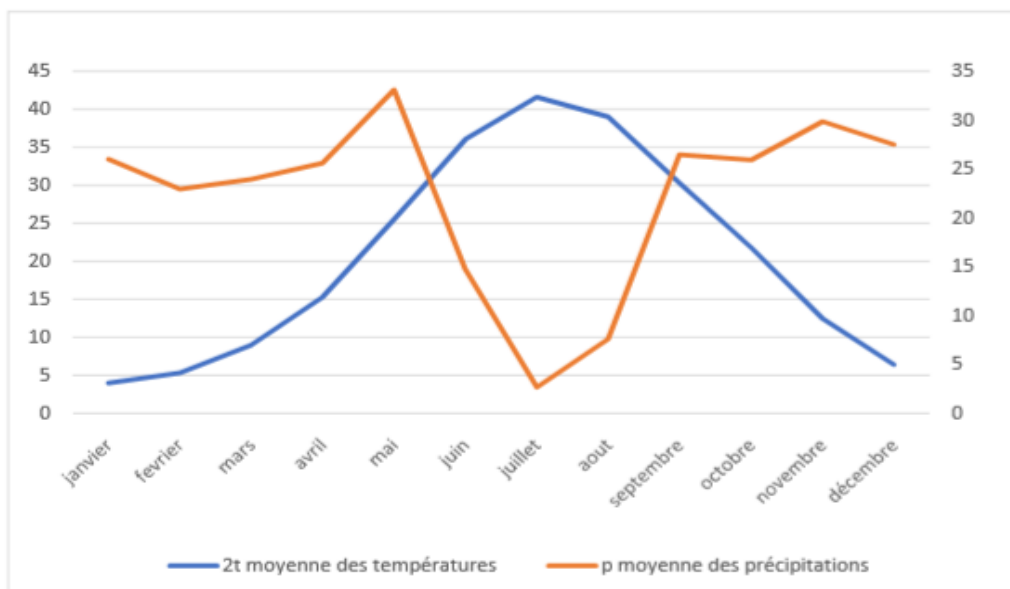


Figure 25: diagramme ombrothermique pour la période allant de 1981 à 2016.

CHAPITRE 04 : MATÉRIELS ET MÉTHODES

4.1 Objectif du travail:

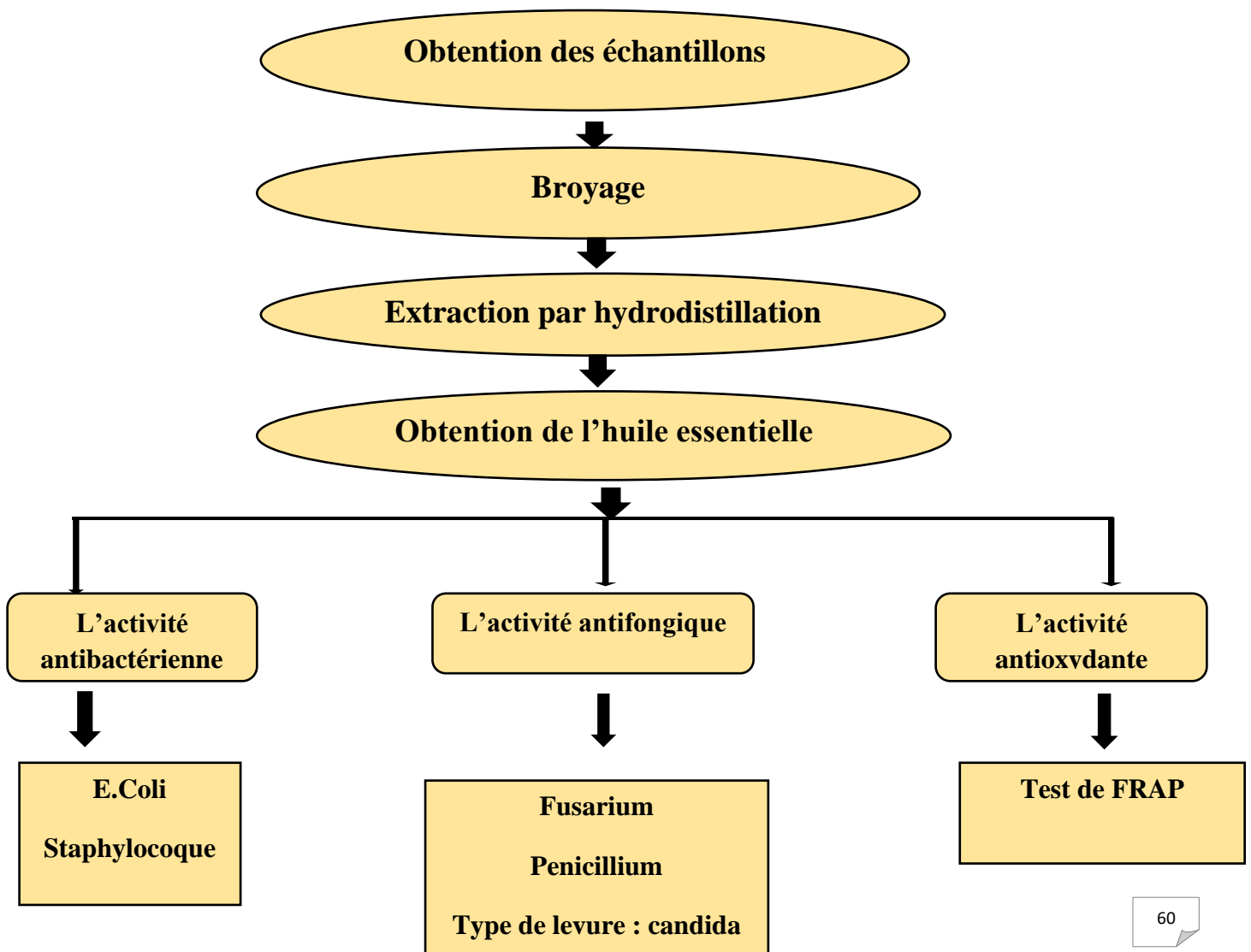
Le but de notre étude est d'extraire l'huile essentielle d'*Artemisia herba Alba* Asso et *Artémisia campestris* L par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger d'une part, et d'autre part d'évaluer l'activité antibactérienne, antifongique et antioxydante.

4.2 Lieu et durée du travail:

Cette étude est réalisée au niveau des trois laboratoires de l'université Ibn Khaldoun-Tiaret pendant la période allant du 14/03/2020 au 25/05/2020.

L'extraction des huiles essentielle a été effectuée au laboratoire de protection des végétaux, les expérimentations de l'activité antibactérienne et antifongique ont été conduites au sein de laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, alors que l'activité antioxydante a été réalisée au niveau du laboratoire d'amélioration et valorisation des productions animal locale.

Le Protocol expérimental suivi lors de notre recherche est comme suit :



4.3 Matériels

4.3.1 Matériel végétal:

Les plantes qui ont fait l'objet de notre étude sont l'*Artemisia herba alba* Asso connue par le nom Chih et *Artemisia campestris* L connue par le nom de Tggouft, elles ont été choisies sur la base de ses utilisations en médecine traditionnelle locale.

Ce sont les parties aériennes (feuilles, tiges) qui ont fait l'objet de notre étude. Un ramassage au hasard est effectué dans un endroit naturel, une région loin de la pollution et ce pour écarter toute possibilité de modification dans la composition chimique du matériel végétal.

La récolte des deux plantes, *Artemisia herba Alba* Asso et d'*Artemisia campestris* a été effectuée au mois de février 2020 dans la région de Ain Dheb TIARET, les plantes ont été nettoyées puis séchées à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à une température ambiante pendant 15 jours puis conservées dans des sacs en papier jusqu'à l'utilisation.

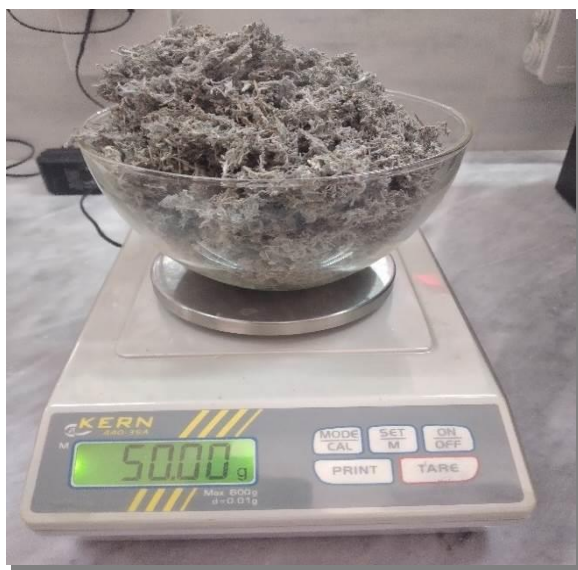


Figure 26: Les plantes *Artemisia herba alba* Asso (à gauche) et *Artemisia campestris* l (à droite) sont prêtes à l'utilisation (**Photo originale**)

4.3.2 Matériels de laboratoire

Le matériel utilisé dans les laboratoires durant notre expérimentation est représenté dans le tableau ci-dessous:

Tableau 11 : Matériel utilisé au cours de l'expérimentation.

Appareillages	Verreries et autres matériels	Produits et Milieux de culture utilisés
- Hydro distillateur (Type Clevenger)	- Ampoule à décantation	Eau distillée (H ₂ O)
- BeckBunsen	- Ballon	Gélose Nutritive
- Autoclave	- Bêchers	Muller-Hinton
- Agitateur	- Boîtes de Pétri	Tampon phosphate (Ph 6,6)
- Balance	- Flacons	Ferrocyanure de potassium (K ₃ Fe(CN) ₆) à 1
- Cuve	- Lance métallique	Acide trichloracétique (10%)
- Etuve (MEMMERT)	- Micropipette	Chlorure de fer (FeCl ₃) à 0,1%
- Incubateur	- Papiers watt man	
- Pied à coulisse	- Pipette de Pasteur	
- Spectrophotomètre	- Tubes à essai	
- Stérilisateur	- Verre de montre	

4.4 Matériel biologique

4.4.1 Souches bactériennes:

L'activité antibactérienne a été évaluée contre des souches de référence et des souches pathogènes dont les deux sont multi résistantes. Ces bactéries sont conservées et maintenues en vie par des repiquages continus, sur un milieu de culture choisis.

Nous avons sélectionné deux groupes de bactéries références:

- Des bactéries Gram négatif : E. Coli
- Des bactéries Gram positif : Staphylocoque

Ces souches proviennent du laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Ibn Khaldoun-Tiaret

4.4.2 Les souches fongiques:

Nous avons utilisé trois souches fongiques

- Fusarium
- Penicillium
- Type de levure : candida

Tableau 12 : Espèce microbienne utilisé au cours de l'expérimentation

Espèce microbienne	Caractéristiques	Maladies provoquées	Référence	Provenance
<i>Escherichia coli</i>	Bacille, mobile, Gram-pathogène.	Diarrhée, infection urinaire, méningite.	(Avril et al, 1992 ; Donnenberg, 2002)	Laboratoire de microbiologie, université Ibn Khaldoun Tiaret
<i>Staphylococcus aureus</i>	coques, immobile, Gram+	Infection cutanées, toxi-infection alimentaire. infection nosocomiales	(Avril et al, 1992 ; Donnenberg, 2002)	Laboratoire de microbiologie, université Ibn Khaldoun Tiaret
<i>Fusarium</i>	Sports pluricellulaires fusiformes plus ou moins courbées	Fusarioses	Site scientifique de l'ESIAB	Laboratoire de microbiologie, université Ibn Khaldoun Tiaret
<i>Penicillium</i>	Présence de conidiophores dressés ramifiés	Infection cutané et buccale	Site scientifique de l'ESIAB	Laboratoire de microbiologie, université Ibn Khaldoun Tiaret
<i>Candida albicans</i>	Champignon (levure unicellulaire, hét Erotrophe	Candidose	(Assous et al.1999;Bedd ou, 2015)	Laboratoire privé MAACHI

4.5 Méthodes

4.5.1 Extraction des huiles essentielles (HD):

L'extraction a été réalisée au niveau du laboratoire de protection des végétaux de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret, effectuée par la méthode d'hydro distillation.

Une hydrodistillation (Figure 28) est assurée grâce à un appareil de type Clevenger, où 50 g de matière végétale sont introduites avec 500 ml d'eau dans un ballon de 1000 ml.

Après installation et fermeture du montage, la mise en marche du chauffe ballon est effectuée avec un réglage optimum du chauffage pour permettre une stabilité de l'extraction à une vitesse constante et bien maîtrisée.

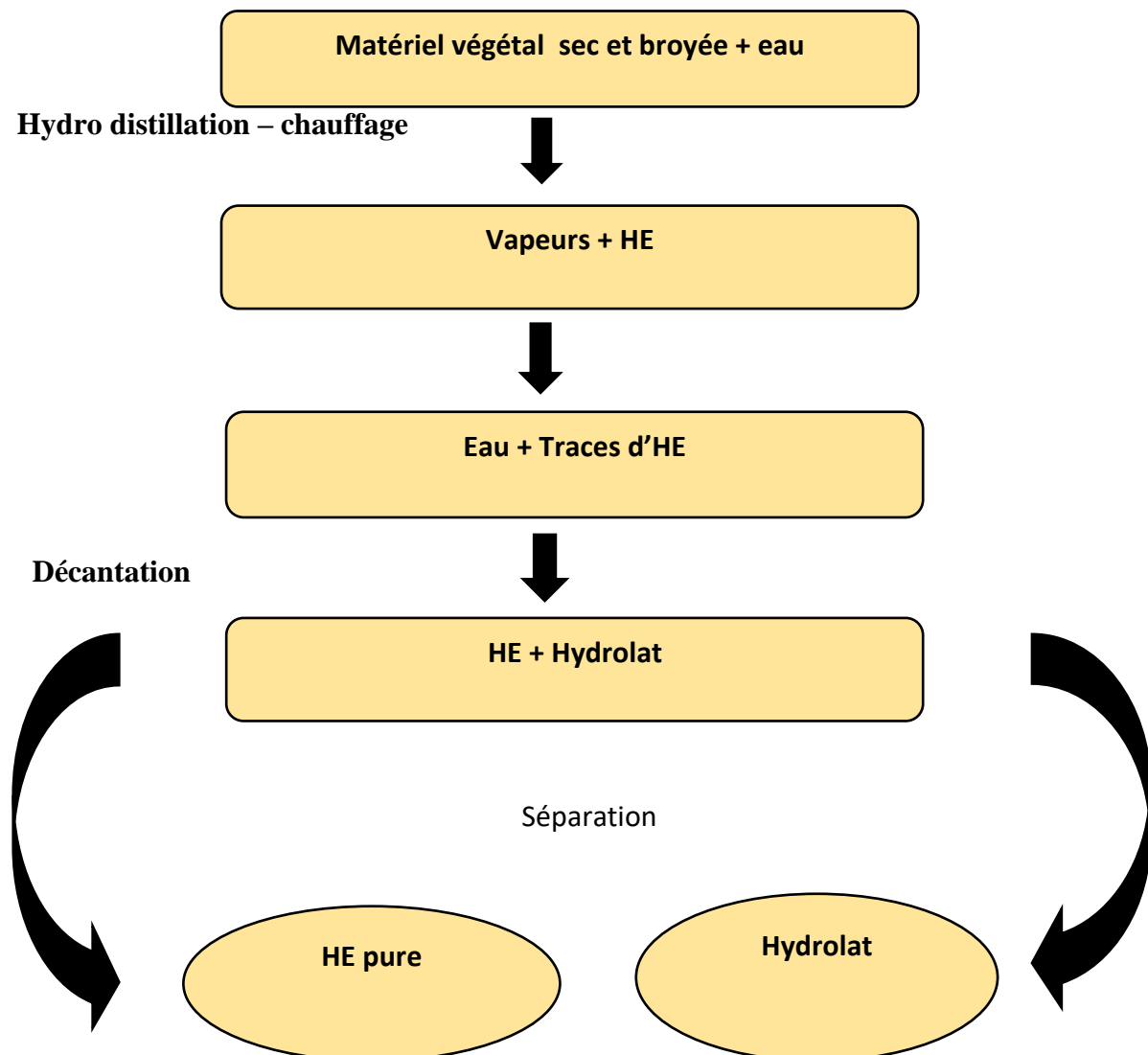


Figure : Les étapes d'extraction d'huile essentielle

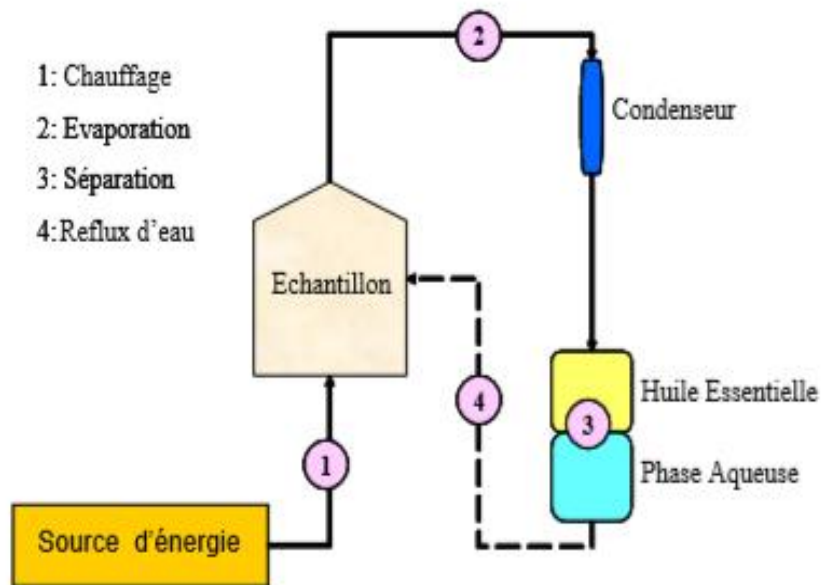


Figure 27: Schéma du montage d'hydrodistillation.



Figure 28 : Montage d'hydro distillation (Photo originale)

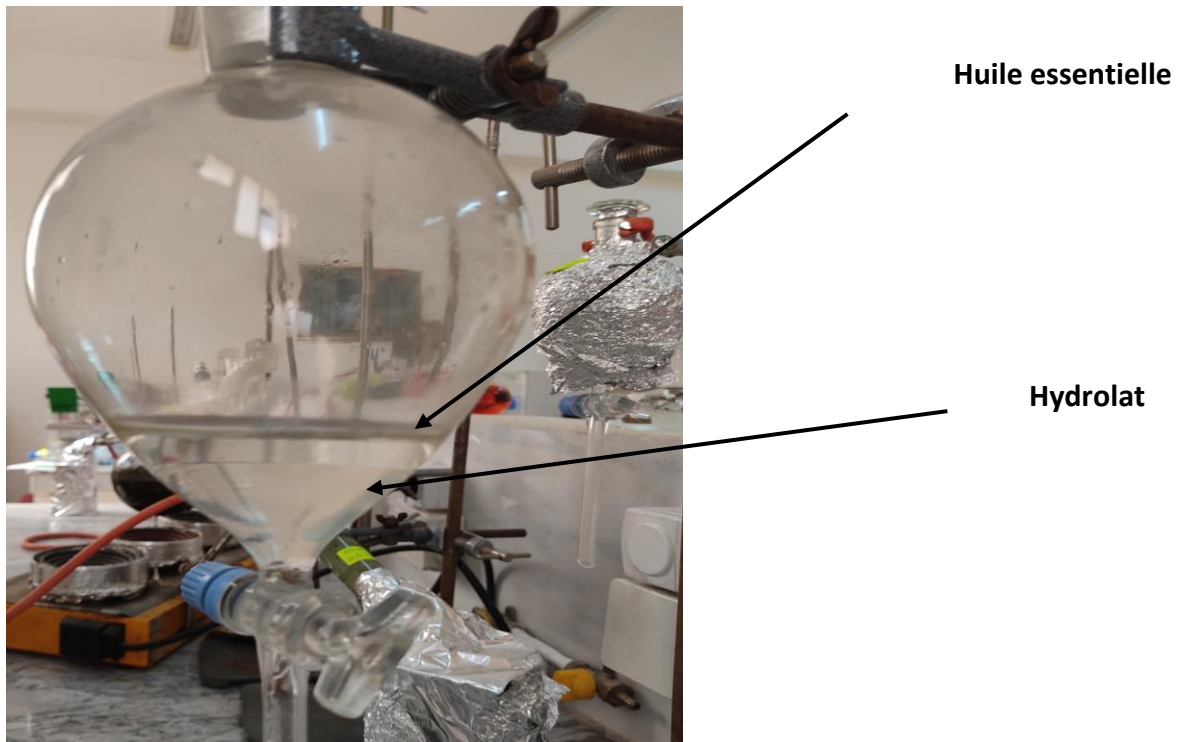


Figure 29 : Montage de Décantation (**Photo originale**)

La vapeur chargée d'huile essentielle arrive dans le condenseur. La durée totale de l'extraction est estimée à 3 h (jusqu'à ce qu'on obtienne plus d'HE). L'huile essentielle se distingue de l'hydrolat (eau aromatique) par sa différence de densité et de couleur.

On la sépare de celui-ci par décantation, puis récupérée et conservée et stockée dans un endroit frais (4°C).

4.5.2 Calcul du rendement d'extraction:

Selon la norme **AFNOR(1986)**, Le rendement en huile essentielle est estimé par le rapport des masses de l'huile essentielle et de la matière végétale séchée. Il est exprimé en pour cent (%).

$$\mathbf{R(\%) = MHE / MS \times 100}$$

Où

R : Rendement de l'huile essentielle en %

MHE : La masse d'huile essentielle en g

MS : La masse de la matière végétale utilisée en g

4.6 Tests microbiologique:

4.6.1 Test de l'activité antibactérienne

-Les souches bactériennes utilisées

L'activité antibactérienne a été évaluée contre des souches de référence et des souches pathogènes dont deux sont multi résistantes. Ces bactéries sont conservées et maintenues en vie par des repiquages continus, sur un milieu de culture choisis. Nous avons sélectionné deux groupes de bactéries références:

- Des bactéries Gram négatif : E. Coli
- Des bactéries Gram positif : Staphylocoque

- Conservation des souches

Les souches sont conservées à 4°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de bouillon nutritif.

-Les milieux de culture

Le milieu de culture utilisé pour la réalisation des tests antimicrobiens est le suivant:

La gélose Mueller Hinton (M-H) pour l'isolement et l'entretien et pour l'étude de la sensibilité des souches aux huiles essentielles extraites de nos plantes



Figure 30 : Gélose Mueller Hinton (Photo originale)

-Revivification :

La revivification se fait par l'ensemencement de ces souches sur le milieu

Sélectionné (MH) :

-Incubées à 37° pendant 24 heures pour l'obtention d'une culture

Jeune (Ksouri et al.,2017).

-Préparation de l'inoculum bactérien

Les bactéries à tester ont étéensemencées sur des tubes secs contenant le milieu sélectif approprié aux souches bactériennes utilisées puis incubés à 37°C pendant 24 heures, afin d'obtenir des colonies jeunes et bien isolées.

Après ce temps d'incubation, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées à l'aide d'une anse de platine puis émulsionnées dans un tube contenant 5ml à 10 ml d'eau distillée stérile puis agiter a fin d'homogénéiser la suspension ,la standardisation à 10⁶ UFC/ml a été réalisée par la spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 625 nm. La densité optique obtenue doit être comprise entre 0,08 et 0,1 ce qui correspond à une concentration de 10⁷ à 10⁸ UFC/ml selon Mc Ferland (Duraffour et al.,1990).

-Préparation des disques

Le papier buvard est coupé en disque de 6mm (0.28 cm² de surface) par l'emporte-pièce, ces disques doivent posséder un contour régulier pour donner une zone d'inhibition que l'on peut mesurer facilement.

Les disques sont ensuite stérilisés dans un autoclave pendant 20 min à 120°C, et stockés à une température ambiante

-Évaluation qualitative de l'activité antibactérienne et antifongique

-La méthode de l'aromatogramme (diffusion sur disques)

Cette méthode est appelée méthode de l'aromatogramme, ou technique de l'antibioaromatogramme ou encore méthode de Vincent (Pibiri, 2005), appelée aussi la méthode de diffusion des disques, la méthode de l'aromatogramme est la technique choisie pour déterminer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Artemisia herba- alba* et d'*Artemisia campestris* à cause de son large utilisation par les chercheurs.

-Protocole expérimental

Couler aseptiquement le milieu de culture gélosé Mueller Hinton dans Des boites de Pétri.



Figure 31 : Mueller Hinton dans Des boites de Pétri. (Photo originale)

Préparer l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* et d'*Artemisia campestris* et leurs hydrolats. L'ensemencement des deux souches mentionnées précédemment sur le milieu Sélection



Figure 32 : L'ensemencement de ces souches (Photo originale)

Des disques stériles en papier (6 mm de diamètre) sont imprégnés avec 5 μ l d'huile essentielle, en mettant seulement en contact le bout du disque, celui-ci va absorber progressivement l'huile essentielle et l'hydrolat jusqu'à l'imprégnation totale du disque, puis déposer sur la gélose.



Figure 33 : Disques stériles (Photo originale)

Les boîtes de Pétri étaient maintenues pendant 15 min à température ambiante puis incubées à 37°C pendant 24 h. Chaque essai a été réalisé en triplicata pour chaque espèce bactérienne (Djenane *et al.* 2012).

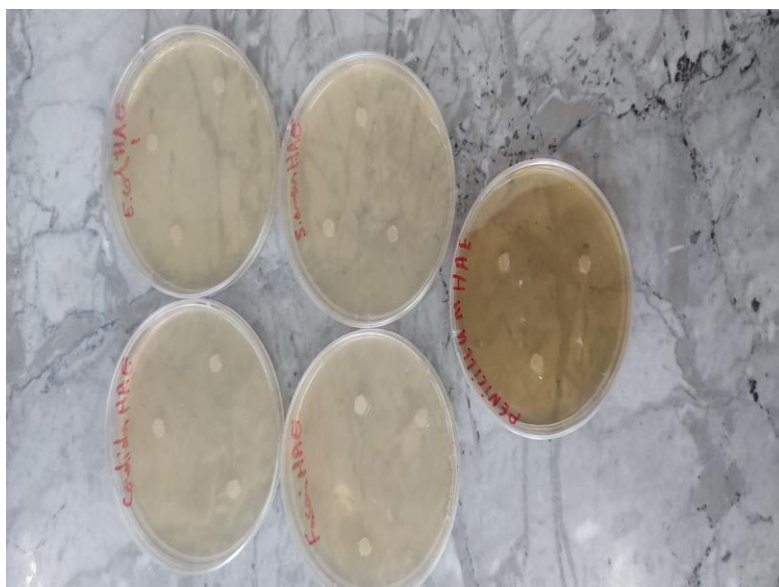


Figure 34 : la préparation finale des boîtes (Photo originale)

-Mesure de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

Nous avons appliqué la technique par contact direct de l'aromatogramme pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles et leurs hydrolats. Ce test a été effectué suivant la méthode de **Conner et Beuchat (1984 a, b)**, **Adam *et al.* (1998)** et **Chao *et al.* (2000)** et en respectant les recommandations établies par le BSAC (**British Society for Antimicrobial Chemotherapy**) et développées par **Andrews (2001)**. Ce test est effectué par dépôt d'un disque stérile de cellulose de 9 mm de diamètre (Whatman N°1) imprégné d'une quantité

d'huile essentielle sur un milieu gélosé préalablement ensemencé avec une culture microbienne. Après incubation,

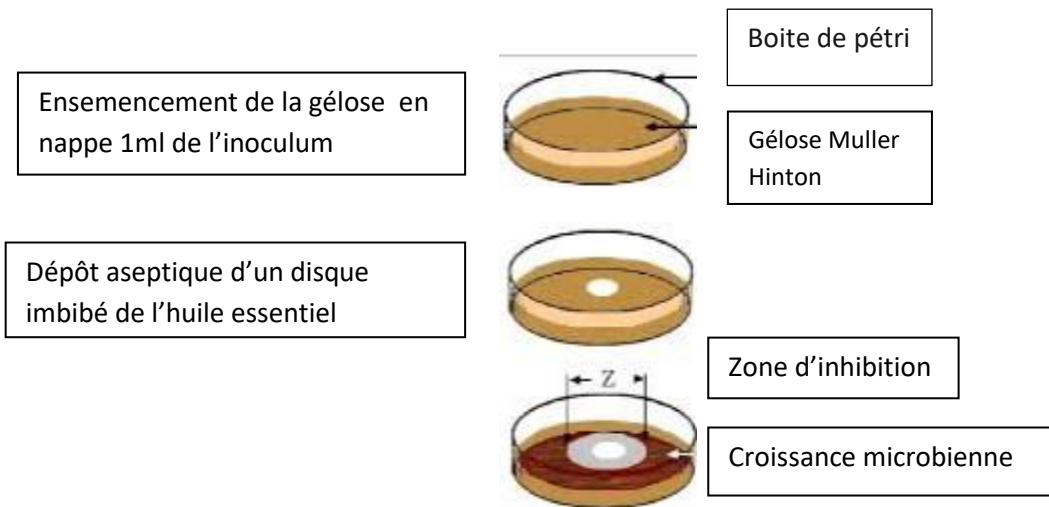


Figure 35 : Aromatogramme sur boîte de Pétri à diffusion linéaire à partir disque imprégné d'huile essentielle.

L'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (**Choi et al.,2006**). La lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres.

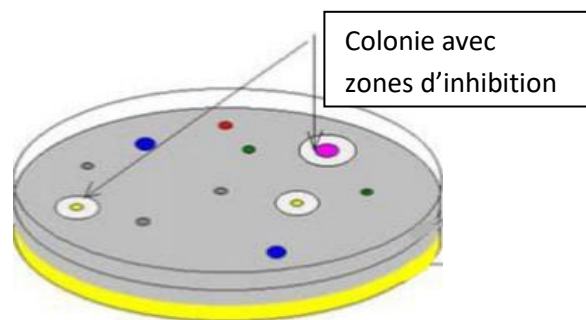


Figure 36 : Zone d'inhibition après incubation

-Expressions des résultats

Pour cette méthode, Le pourcentage d'inhibition de la croissance bactérienne et fongique est calculé par la formule suivante:

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{D \text{ test}}{D \text{ control}} \times 100$$

% Inhibition: pourcentage d'inhibition

D test: Diamètre de la zone d'inhibition

D control: Diamètre de la boîte pétri

4.6.2 Test de l'activité antifongique :

Nous avons utilisé trois souches fongiques

- Fusarium- Penicillium
- type de levure : candida

La méthodologie qu'on a suivie pour l'évaluation de l'effet antifongique de l'huile essentielle extraite d'A.E et A.C. est la méthode de contact direct qui permet la mise en évidence de l'activité antifongique (fongistatique ou fongicide) de ces extraits (**Fandohan et al.2004**).

-Principe de la méthode

L'huile essentielle et l'hydrolat à tester sont incorporés dans le milieu de culture gélosé. Après solidification, le milieu estensemencé et incubé

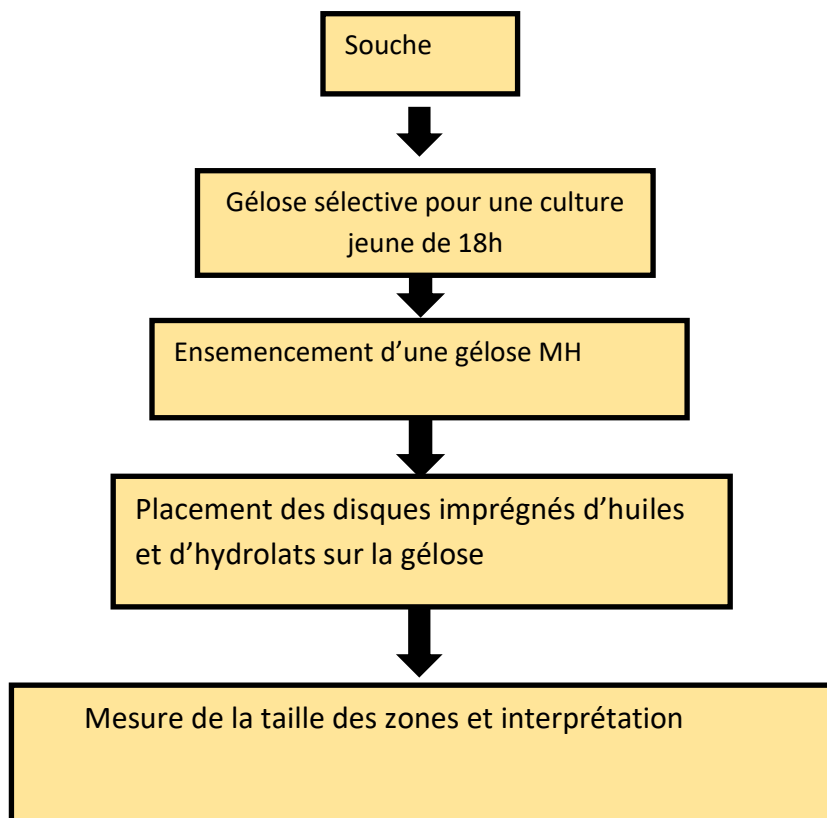


Figure37: Les étapes de l'activité antifongique

1-Préparation des milieux de cultures contenant une concentration en huile essentielle et en hydrolat.

Compte tenu de la non miscibilité des huiles et d'hydrolats à l'eau et par conséquent au milieu de culture, une mise en émulsion de ces deux derniers a été réalisée par le tween 20 afin d'obtenir dans le milieu une répartition homogène des composés à l'état dispersé (Remmal et *al.*,1993 ; Satrani et *al.*,2001). La méthode utilisée est celle de Fandohan (2004)

Ensemencement et incubation des boîtes de Pétri

- Le milieu sélectif (MH), est coulé dans des boîtes de Pétri



Figure 38 : Mueller Hinton dans Des boîtes de Pétri. (Photo originale)

A l'aide d'une pipette pasteur stérile, nous prélevons un volume de 1ml de culture fongique à partir d'une suspension mycélienne, et déposé dans la boîte de pétri et l'étalée avec un etaloir en verre au contact de la gélose et en fait tourner la boîte.



Figure 39 : La préparation des boites (**Photo originale**)

Nous inhibons les huiles essentielles sur les disques et nous déposons ces derniers sporadiquement dans la boîte de pétri.



Figure 40 : Disques stériles (**Photo originale**)

Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées hermétiquement incubées à température ambiante, pendant 48h.



Figure 41 : Les boîtes de pétries en voie d'incubation (**Photo originale**)

-Evaluation de la croissance mycélienne

La cinétique de croissance mycélienne a été évaluée après les 48 heures en mesurant le diamètre de la rondelle qui forme la zone d'inhibition.

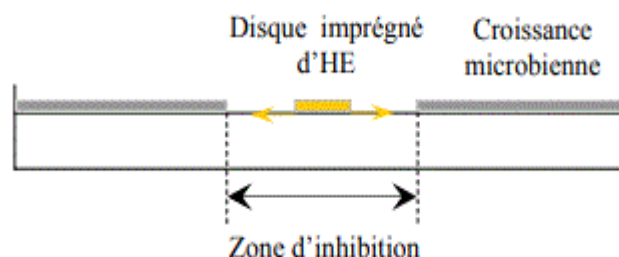


Figure 42 : Aromatogramme sur boîte de Pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque imprégné d'huile essentielle.

4.6.3 Test de l'activité antioxydante

-Mise en évidence de l'activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant de nos huiles et nos hydrolats a été testé en employant la méthode :

- Test de la réduction du fer FRAP qui est souvent employé pour étudier la capacité d'une substance à donner des électrons. Cette propriété constitue un important mécanisme de l'action antioxydante (**Ebrahimzadeh et al.,2008**).

4.6.3.1 Test de la réduction du fer FRAP

-Mode opératoire

L'activité réductrice du fer de notre extrait aqueux est déterminée selon la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**.

Préparation des différentes solutions du protocole les différentes solutions préparées :

- ✓ Tampon phosphate (Ph 6,6)
- ✓ Ferrocyanure de potassium (**K₃Fe(CN)₆**) à 1
- ✓ Acide trichloracétique (10%)
- ✓ Chlorure de fer (FeCl₃) à 0,1%

Dans un tube à essai contenant 1 ml de chaque échantillon, on a ajouté 1 ml de tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 1 ml d'hexacyanoferrate de potassium (1%). Le tube est chauffé à 50°C pendant 20 min dans un bain marie. Un volume de 1 ml d'acide trichloracétique (10%) est ajouté au mélange qui est centrifugé à 3000 tours/min pendant 10min. Enfin, 1 ml du surnageant ont été mélangé avec 1 ml d'eau distillée et 0.2 ml de chlorure ferrique (0,1 %). Un contrôle sans échantillon est préparé dans les mêmes conditions. La lecture est mesurée à 700 nm.

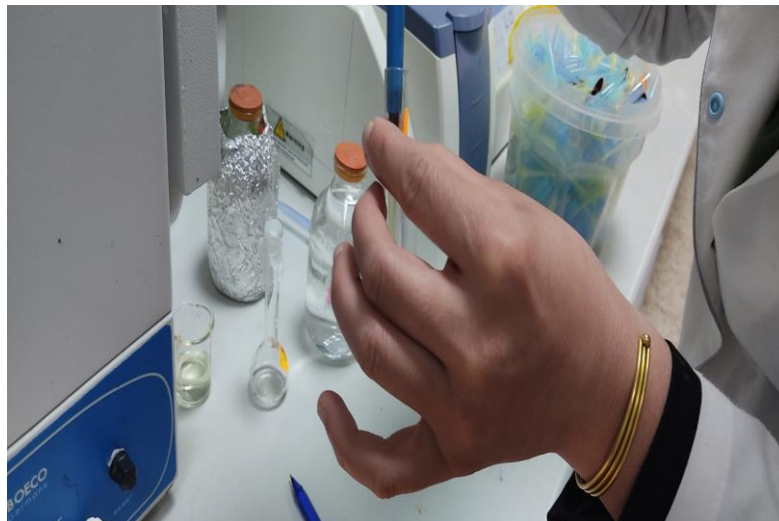


Figure 43: Préparation de solutions (huile+ méthanol), (hydrolat+ méthanol) pour les deux plantes et l'ajout des réactifs mentionnés précédemment (**Photo originale**)



Figure 44 : Obtention des solutions à incubés. **(Photo originale)**



Figure45 : Incubation de solutions préparées **(Photo originale)**

L'acide ascorbique et acide gallique sont utilisés comme témoins positifs, une solution préparée d'un volume de 9ml de méthanol et 1gm d'acide ascorbique. Autrement une solution préparée d'un volume de 9mL de méthanol et 1gmd'acide gallique.



Figure 46 : Préparation du premier témoin (acide ascorbique) (Photo originale)



Figure 47 : préparation du deuxième témoin l'acide gallique (Photo originale)

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

5. Résultats et discussions

5.1. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

L'huile essentielle a été extraite à partir des deux plantes séchées à l'air libre et ceci par hydro-distillation dans un appareil de type clevenger nous avons obtenus une huile de couleur transparente et odeur accentué, très forte pour *Artemisia herba halba*, l'*Artemisia campestris* à donné une huile à odeur moins accentué.

5.2. Rendement en huile d'*artemisia herba halba* Asso

Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation des matériaux végétaux secs. Les rendements en huiles essentielles ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. Les échantillons d'*Artemisia campestris* ont fourni un taux d'environ 0,73 % (Tab14), qui est plus élevé que celui obtenu à partir d'*Artemisia herba halba*, qui représente un faible rendement en huile essentielle de 0,25 % (Tab.13).

Tableau 13 : Rendement d'huile essentielle d'*Artémisia herba halba* Asso

	<i>Artemisia herba halba</i> Asso		
	Masse de la matière végétale m (g)	Masse de l'huile Essentielle m1/ g	Rendement R (%)
Les 5 premières extractions	250	0.394	0.157
Les 5 deuxièmes extractions	250	0.855	0.342
La somme	500	1.249	0.499
La moyenne	/	/	0.25%

Le rendement en huile d' *Artemisia herba halba* pour notre cas était moyen par rapport à celui trouvé précédemment par certains auteurs , ce rendement est étroitement proche à celui de **Merged (2019)** dans la wilaya de Djelfa ,qui était de 0.23%(m/m),une valeur de rendement élevée de 0.62% a était marquée par **Dahmani et Baaliouamer (2010)** suivi par celle obtenue à partir des échantillons prélevés de la région Builef à Batna qui est 0.64% (m/m) (**Anis Bertilla 2019**) et l'étude d'**Akrout (2004)** par un rendement de 0.65 %.

La valeur de rendement la plus faible retrouvée était de 0.1 % (**Feuerstein et al., 1988 ; Fleisher et al., 2002 ; Dob et Benabdelkader, 2006**), alors que la teneur en huile essentielle

la plus importante est de 3 % trouvée pour la plante collectée dans la région de Boussaira au sur de la Jordanie (**Abu –Darwish et al.,2015**) et 4.9 % pour la plante collectée dans la région d'EL kef en Tunisie (**Boukriche et al., 2010**)

5.3.Rendement en huile d'*Artemisia campestris*

Le rendement en huile essentielle d'*Artemisia campestris* est 0.73 %. Ce rendement peut être considéré comme important par rapport à certains échantillons de la même espèce qui sont exploitées industriellement comme source d'huiles essentielles.

La teneur en huile essentielle des parties aériennes d'*Artémisia campestris* obtenu est plus élevée que celle rapportée pour l'*Artémisia campestris* d'**Anis Bertilla 2019 et Souhila Touil, 2012**), qui sont de l'ordre de 0.29% (m/m) et 0.3%.

Notre rendement en huiles essentielles d'*Artémisia campestris* est légèrement proche de celui enregistré par **Akrouit et al., 2001(Tunis) , Dob et al., 2005 (Algérie) et par Rani et al., 1985 (Maroc)**, qui sont de 0.7%.

Corrélativement à une étude antérieure faite, notre rendement est considéré plus faible à celui obtenu a partir des échantillons prélevés de la France (**Fabien et al., 2002**) qui est de 1.4%.

Tableau 14 : Rendement en huile d'*artemisia campestris l*

	<i>Artémisia campestris l</i>		
	Masse de la matière végétale m0 (g)	Masse de l'huile Essentielle m1 (g)	Rendement R (%)
1^{ère} extraction	50	0.861	1.722
2^{ème} extraction	50	0.079	0.158
3^{ème} extraction	50	0.484	0.968
4^{ème} extraction	50	0.267	0.534
5^{ème} extraction	50	0.426	0.852
6^{ème} extraction	50	0.272	0.544
7^{ème} extraction	30	0.023	0.046
La somme	330	2.412	4.79
La moyenne			0.73 %

Le rendement en huile essentielle varie beaucoup avec la plante utilisé, le matériel employé pour l'extraction et la méthode d'extraction, aussi bien l'origine de la plante.

Cependant, la teneur obtenue en huile essentielle pour les deux armoises (*Artemisia .campestris L et Artemisia herba alba* Asso) reste relativement faible par rapport à celle des autres espèces d'*Artemisia*. (Jalali et al., 2007 ; Ghasem et al., 2006)

Cette différence en rendement entre les armoises peut être expliquée selon **Kelen et Tepe, 2008**, par le choix de la période de récolte car elle est primordiale en termes de rendement et qualité de l'huile essentielle.

Le climat, la zone géographique, la génétique de la plante, l'organe de la plante utilisé, le degré de fraîcheur, la période de séchage, la méthode d'extraction employée, etc. ce sont

des facteurs entre autres qui peuvent avoir aussi un impact direct sur les rendements en huile essentielle. (**Vekiari et al., 2002**)

Pour optimiser le rendement en huile essentielle, plusieurs études ont été réalisées sur des parties végétales fraîches et, la concentration en eau du matériel végétal a été prise comme facteur de variation. (**Bendimerad et al., 2005**).

5.4. Etude de l'Activité antibactérienne

L'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et d'*Artemisia campestris* été faite sur 2 bactéries provenant de la collection du laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Ibn Khaldoun-Tiaret.

Nous avons sélectionné deux groupes de bactéries références:

- Des bactéries Gram négatif : E. Coli
- Des bactéries Gram positif : Staphylocoque

L'évaluation de l'activité antibactérienne de différents extraits permis de mettre en évidence son efficacité sur les deux souches . Cette évaluation a été faite par la méthode des aromagrammes.

Le pouvoir antibactérien des extraits a été estimé en termes de diamètre de la zone d'inhibition (mm) autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de la bactérie *Escherichia coli* et *staphylococcus aureus*.

Pour démontrer la sensibilité et la résistance des souches bactériennes à l'huile essentielle obtenue, nous avons utilisé des antibiotiques à savoir : *Céfazoline*, *Nalidixic acid*, comme témoin positif.

L'antibiogramme consiste à chercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques, le tableau ci-dessous rapporte les valeurs en mm des zones d'inhibitions manifestées par les antibiotiques sur les deux souches étudiées.

Après 24h d'incubation, à 37°C, les résultats des témoins positifs sont mentionnés dans la figure N°48

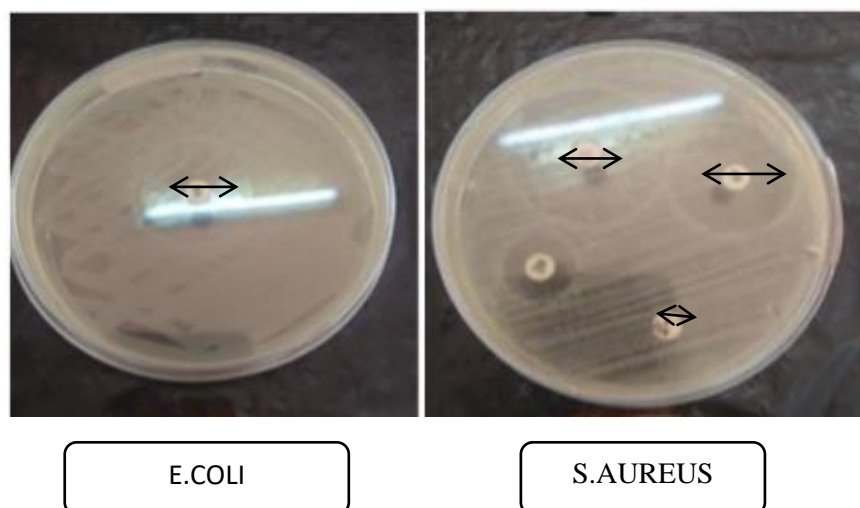


Figure 48: Résultats des tests d'antibiogramme des souches (Photo originale)

Tableau 15: Diamètres des zones d'inhibition (mm) provoqués par les antibiotiques sur les souches bactériennes.

Souches	Antibiotiques	
	Nalidixic acid	Céfazoline
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	19
<i>Escherichia coli</i>	20	/

Les résultats obtenus après une provocation des antibiotiques sur les souches bactériennes, on révélé que les souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*) n'ont montré aucune zone d'inhibition ce qui est traduit par la résistance des souches à l'action de l'antibiotique *céfazoline* et une sensibilité à l'antibiotique *Nalidixic acid* avec un diamètre de 20mm.

Par contre la bactérie *Staphylococcus aureus* (Gram+) est sensible aux deux antibiotiques : *Nalidixic acid*, *Céfazoline* avec une zone de 25mm et 19mm respectivement.

5.4.1. Activité antibactérienne des huiles essentielles et hydrolats sur les souches pathogènes

La technique d'aromatogramme a été utilisée pour l'ensemble de deux souches bactériennes, ce test préliminaire nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des deux huiles essentielles avec leurs hydrolats.



Figure 49: Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des huiles essentielles d'*Artémisia herba halba* (AE) et d'*Artemisia campestris* (AC) (Photo originale)

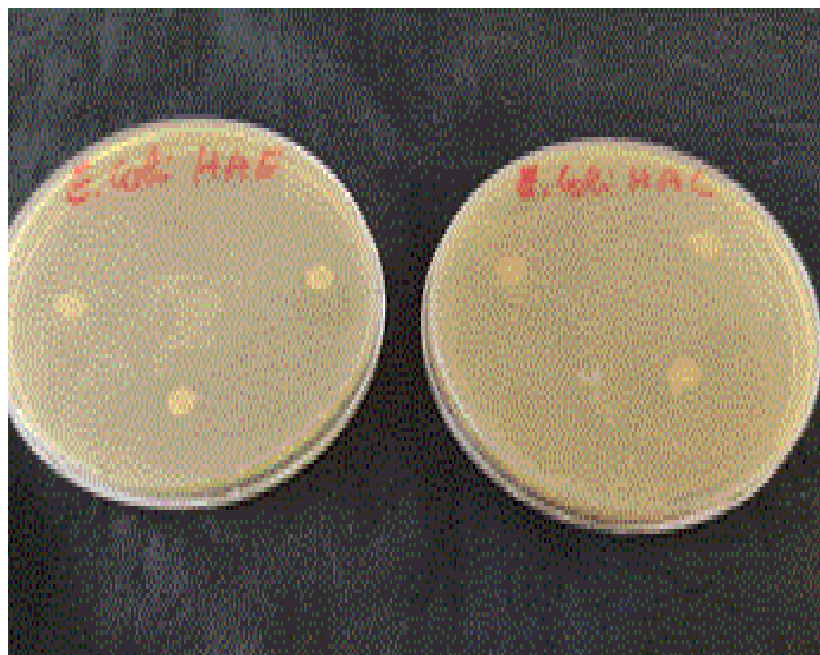


Figure 50: Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des hydrolats d'*Artémisia herba halba* (HAE) et d'*Artemisia campestris* (HAC) (Photo originale)

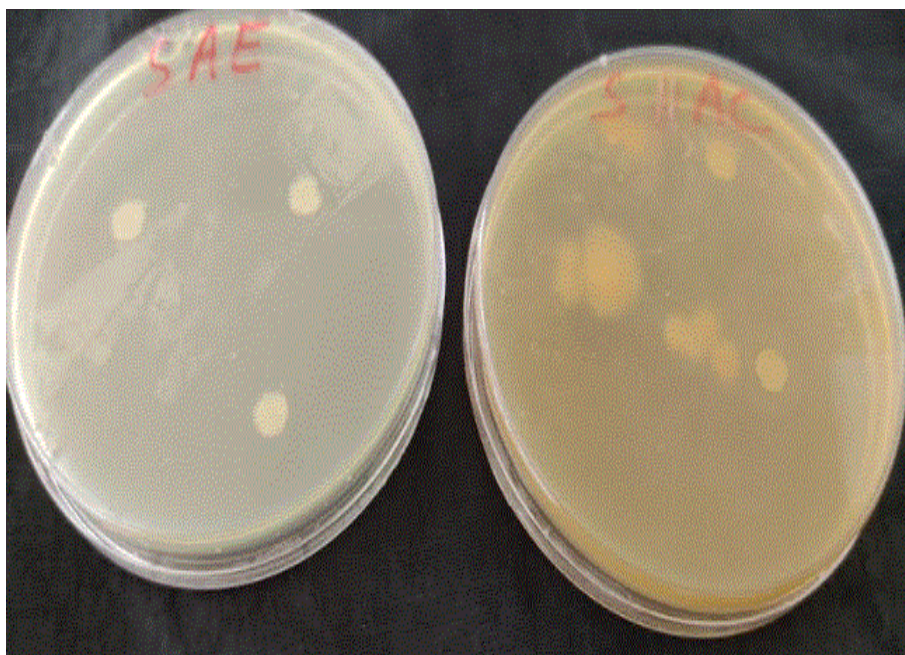


Figure 51: Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des huiles essentielles, d'*Artémisia herba halba* (AE) et d'*Artemisia campestris* (AC) de *S.Aureus* (**Photo originale**)

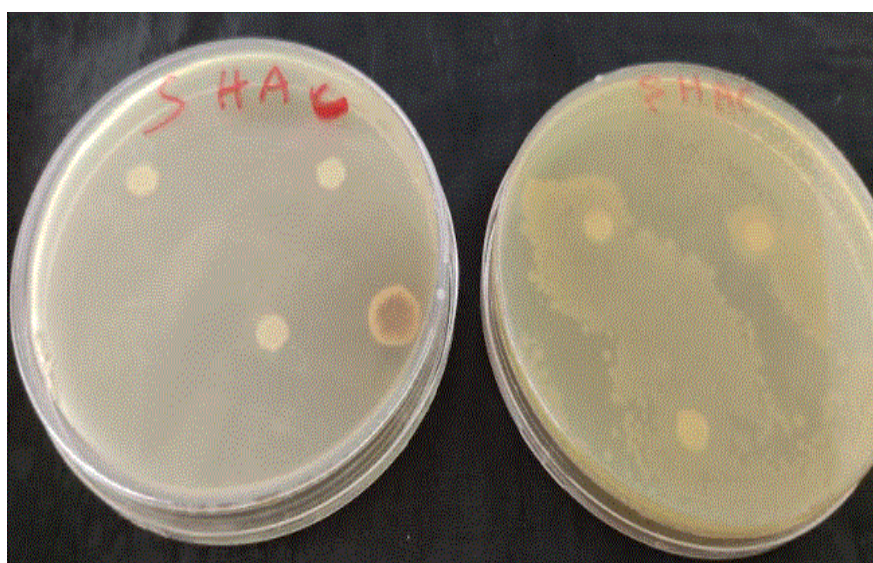


Figure 52: Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des hydrolats, d'*Artémisia herba halba* (AE) et d'*Artemisia campestris* (AC) de *S.Aureus* (**Photo originale**)

L'action inhibitrice se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'huile étudié (figure 52).

Le pourcentage d'inhibition des huiles essentielles et des hydrolats des deux plantes sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 16: les diamètres des zones d'inhibition des huiles et des hydrolats des deux plantes

	<i>Artémisia herba halba</i>		<i>Artémisia campestris</i>	
	Huile	Hydrolat	Huile	Hydrolat
<i>Escherichia coli</i>	1.25	0.625	0.75	0.375
<i>Staphylococcus aureus</i>	00	00	00	00

D'après l'observation des résultats du tableau n 16, il a été constaté que les huiles essentielles des deux plantes et leurs hydrolats ont un effet faible sur *Escherichia coli* les diamètres des zones d'inhibition obtenus varient entre (0.3 mm et 1.3mm), contre *Staphylococcus aureus* dont le diamètre de la zone d'inhibition est de 0 mm.

Selon **Ponce et al., (2003)**, la sensibilité d'une souche bactérienne à une huile essentielle a été classée par le diamètre des halos d'inhibition (Tab 17)

Tableau 17 : Classement des bactéries selon le diamètre de la zone d'inhibition

Diamètre	Sensible ou résistante
< 8mm	non sensible (-) ou résistante
9 à 14 mm	Sensible
15 à 19 mm	très sensible (++)
> 20 mm	extrêmement sensible (+++).

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'une huile à une autre. La variation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles explique les variations de leurs compositions chimiques.

Pour *Escherichia coli*, la zone d'inhibition apparaitre faiblement avec un diamètre d'inhibition noté de 1.25 et 0.75mm pour l'huile essentielle et un diamètre de la zone d'inhibition varie entre 0.625 et 0.375mm pour l'hydrolat des deux plantes : *Artémisia herba halba* Asso et *Artémisia campestris*. Les résultats obtenus montrent que les Gram(-) *Escherichia coli* sont sensibles quelle que soit l'huile.

En effet, *Staphylococcus aureus* Gram(+) marque une absence d'une zone d'inhibition pour les deux espèces (huile, hydrolat). A partir de ces résultats on constate que *Staphylococcus aureus* représente la bactérie résistante aux huiles et hydrolats des deux plantes.

Afin de prouver cette faible efficacité, la comparaison est faite avec un disque d'antibiogramme témoin s'avère utile, les deux témoins utilisés ont présenté un halo d'inhibition (Figure N°) d'un diamètre de 25 mm pour *Nalidixic acid* et 19 mm pour *Céfazoline*. Alors que notre huile extraite a présenté un halo de 1.25 mm pour *Artemisia herba alba* Asso et de 0.75 mm pour *Artemisia campestris* L.

En comparant les données obtenues des différentes études, la plupart des auteurs font état d'une généralisation de l'activité antibactérienne d'une huile essentielle, ou d'un extrait de plante contre les bactéries à Gram (+) et à Gram (-).

L'analyse globale des résultats consignés dans le tableau XX révèle que ces derniers sont plus ou moins élevés par rapport à d'autres travaux à savoir l'étude faite par **Magraoui Sara, Zahaf Djihad, 2018** à Djelfa avec un diamètre de 12 mm noté par *Escherichia coli* pour l'huile correspond à l'*Artémisia herba halba* Asso et 0.5 mm pour l'*Artémisia campestris* (**Mourad Boudjrouf 2011**).

Pour *Staphylococcus aureus* nous avons remarqué que nos résultats sont très faible par rapport aux résultats obtenues par un travail récent là où le diamètre de la zone d'inhibition est égale à 1.8 mm (**Mourad Boudjrouf 2011**), et 15mm, 14 mm pour l'étude de **Merged 2018**, d'*Artémisia campestris* et *Artémisia herba halba* respectivement.

Très peu de recherche se sont intéressées à l'étude de l'activité antimicrobienne d'*Artemisia campestris* (**Ben Sassi et al., 2007 ; Naili et al., 2010**).

L'huile essentielle de notre espèce *Artemesia campestris* présente un très faible effet antibactérien que l'huile essentielle étudiée par **Khebri ,2011** qui a donnée un diamètre de la zone d'inhibition inférieurs à 6mm sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* présentés sont similaires à une étude réalisés par **Zouari et al.,2010** sur cette même espèce contre *Escherichia coli* dont le diamètre de la zone d'inhibition est de 11,3mm se qui révèle la sensibilité de cette bactérie à l'huile essentielle de cette plante.

GHANMI et al., ont étudié le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle issue de l'armoise blanche de la région de Guerçif (Maroc oriental) vis-à-vis *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Ils ont démontré que *Staphylococcus aureus* est résistante à cette huile, ce qui concorde avec nos résultats.

Il est à noter que ces résultats se diffèrent avec ceux de **Mighri et al., 2010**, qui ont montré que les huiles de l'armoise blanche sont efficaces contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, et d'autres espèces bactériennes. Ces mêmes auteurs confirment que l'activité antibactérienne des huiles essentielles est due à la présence des molécules comme le β -thujone, α -Thujone, thujone (α et β) qui donne une large zone d'inhibition contre *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de 22mm.

Cette différence de résultats est probablement liée à la différence de la composition chimique des deux types d'huiles et même à la méthode et aux conditions d'extraction. Sachant que la région, la période saisonnière et le climat de reproduction ont un effet significatif sur cette composition.

En résumé on peut dire que les deux souches bactériennes testées ont montrées un certain degré de sensibilité à l'huile essentielle et l'hydrolat d'*Artemisia herba alba* et *Artemesia campestris*.

En comparant les données obtenues des différentes études, la plupart des auteurs font état d'une généralisation de l'activité antibactérienne d'une huile essentielle, ou d'un extrait de plante contre les bactéries à Gram (+) et à Gram (-).

Des études antécédentes ont démontré que la majorité des huiles essentielles testées pour leur propriétés antibactériennes ont un effet plus prononcé contre les Gram (+). La résistance des Gram (-) est attribuée à leur membrane externe hydrophile qui peut bloquer la pénétration de composés hydrophobes dans la membrane cellulaire cible (**Wan, 1998**).

5.5. Etude de l'Activité antifongique

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles et hydrolats d'*Artemisia herba alba* Asso et *Artemisia campestris* sur les trois souches fongiques (champignons) : *Fusarium*, *Penicillium* et *Candida* A utilisées, a été étudié par la technique de diffusion par disque.

Nous avons utilisé trois souches fongiques

- *Fusarium*
- *Penicillium*
- Type de levure : *candida*

Les résultats de l'essai de l'activité antifongique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* et d'*Artemisia campestris* de la région de Tiaret figurent dans le tableau n° 18 et les figures 53

Tableau 18 : effet antifongique des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris*

	<i>Artémisia herba alba</i>		<i>Artémisia campestris</i>	
	Huile	Hydrolat	Huile	Hydrolat
Fusarium	00%	00%	01.58%	2.05%
Pénicillium	0%	0%	0%	0%
Candida .A	0%	0%	0%	0%

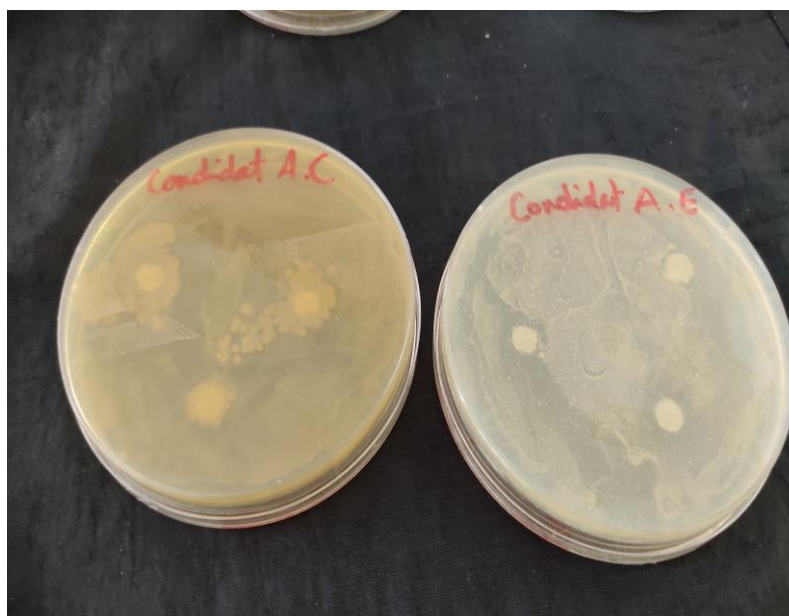
**Figure 53** : Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des huiles d'*Artémisia herba halba* (AE) et d'*Artemisia campestris* (AC) de *Candida*



Figure 54 : Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des hydrolats d'*Artémisia herba halba* (AE) et d'*Artemisia campestris* (AC) de *Candida* (Photo originale)

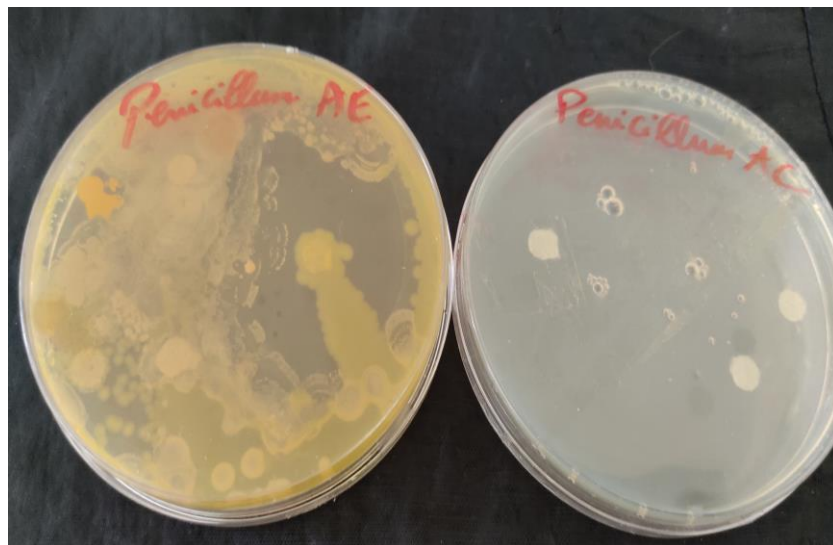


Figure 55: Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des huiles d'*Artémisia herba halba* (AE) et d'*Artemisia campestris* (AC) de penicillium (Photo originale)

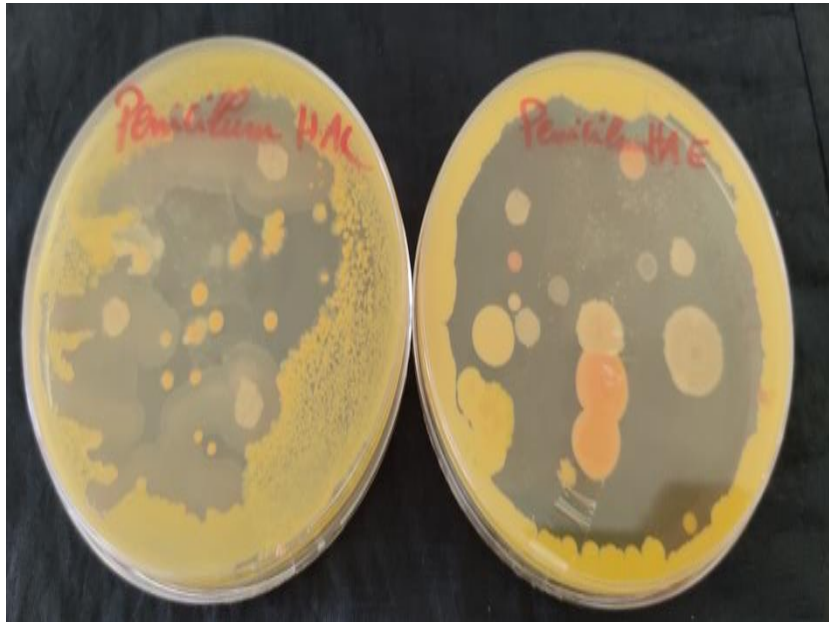


Figure 56 : Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des hydrolats d'*Artémisia herba halba* (AE) et d'*Artemisia campestris* (AC) de *Penicillium* (**Photo originale**)



Figure 57: Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des huiles d'*Artémisia herba halba* (AE) et d'*Artemisia campestris* (AC) de *Fusarium* (**Photo originale**)



Figure 58 : Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) des hydrolats d'*Artémisia herba halba* (HAE) et d'*Artémisia campestris* (HAC) de *Fusarium* (**Photo originale**)

A partir des résultats obtenus du (tableau 18) et(figures 57et 58), l'activité antifongique des huiles essentielles et leurs hydrolats semble varier de faible à nulle et aucun pouvoir antifongique, l'huile essentielle d'*Artémisia campestris* montre un potentiel antifongique très faible sur l'espèce *Fusarium* avec un diamètre de la zone d'inhibition de 01.58mm pour l'huile essentielle et 2.05mm pour l'hydrolat, comme ils apparaît complètement inactifs par rapport aux échantillons fongiques restants *Penicillium* et *Candida*.

Quant à l'huile et hydrolat d'*Artémisia herba alba* *Asso*, elles sont apparues avec un effet totalement inexistant pour tous les échantillons fongiques.

Comparons nos résultats avec des travaux récents, une étude à montrer que l'huile d'*Artémisia campestris* à une faible activité anti fongique contre les champignons testés (**Khaldi, Achraf.2017**) et contrairement pour l'huile d'*Artémisia herba halba*, une autre étude à montrer qu'elle a une bonne activité antifongique sur les moisissures testés avec une concentration minimale inhibitrice de 0.05%.

Ces champignons possèdent un potentiel de résistance très élevé contre l'action antifongique des huiles essentielles d'*Artémisia*.

La faible activité antifongique de l'huile essentielle d'*Artémisia campestris* peut s'expliquer par son profil chimique pauvre en composés connus pour leur pouvoir antifongique comme certains alcools monoterpéniques (**Koba et al., 2004 ; Scora et al.,**

1998) et les phénols et riche en hydrocarbures terpénique (68%), notamment l' β -pinène et le limonène. ce dernier, en particulier, ne présente aucun effet fongique (Kordali et al, 2005).

L'activité antifongique d'*Artemisia herba-alba* s'est avéré être associé à deux grands composés volatils: Carvone et pipéritone (Saleh et al, 2006).

Ces derniers composés sont absent dans l'huile d'*Artemisia herba alba* testée, ce qui explique l'absence du taux d'inhibition dans tous les essais. Lors d'une étude menant sur 25 plantes médicinales, y compris *Artemisia herba-alba*, l'activité antifongique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* contre *Penicillium* a été étudiée. L'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* n'a montré aucune activité antifongique (Bohra et al, 2003).

Dans une autre étude, l'activité antifongique des huiles de l'armoise blanche est expliquée par leurs richesses en composés oxygénés (chrysonthénone, camphre, α -terpin-7-al et trans- β -terpinéol). Alors que l'huile d'armoise blanche de Djelfa est très riche en sesquiterpènes (74 %) de la totalité des composants.

Les huiles d'*Artemisia herba alba* et *Artemisia campestris* n'ont exercé aucune activité fongique contre tous les champignons testés. Ceci est dû à leurs profils chimiques pauvres respectivement en carvacrol et en thymol. Nos résultats corroborent ceux d'autres recherches qui ont démontré que le thymol et le carvacrol sont parmi les composés des huiles essentielles les plus actifs contre les champignons.

De ces résultats, nous concluons que les deux plantes ont un effet faible à totalement inefficace contre les champignons testés.

5.6. Etude de l'Activité antioxydante

Quelques travaux ont rapporté que certaines huiles essentielles sont plus efficaces que les antioxydants synthétiques (Hossain, et al.2010).

L'activité antioxydante des huiles d'*Artémisia herba alba* Asso et *Artémisia campestris* est réalisée par la méthode du FRAP(Ferric Reducing Antioxidant Power). Cette méthode repose sur la réduction des antioxydants du complexe ferro-triipyridyltriazine qui basée sur la réaction chimique de réduction du Fe⁺³ en Fe⁺² cette capacité réductrice peut servir comme un indicateur significatif de l'activité antioxydant potentielle d'un composé. Cette réaction crée un très intense couleur bleu marine. L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm. (John et al., 2012; Pisoschi et Negulescu., 2011) .

L'essai du pouvoir réducteur est utilisé pour tester la capacité de l'huile essentielle d'*Artemisia* à convertir le ferricyanure de potassium (Fe^{3+}) en ferrocyanure de potassium (Fe^{2+}) qui réagit ensuite avec le chlorure ferrique pour former des complexes ferreux. Cette propriété constitue un important mécanisme de l'action antioxydante.

L'augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel indique une augmentation de la capacité réductrice de l'huile testée. Cette capacité peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante (Chang et al.2007; Degryse et al.,2008).

L'activité anti oxydante des huiles a été évaluée par spectrophotométrie en suivant la réduction de ferrocyanure qui s'accompagne par son passage de la couleur jaune à la couleur verte mesurable à 700nm, les résultats sont présentés dans le tableau et les figures ,,,,, ci-dessous.

Tableau 19 : valeurs de l'absorbance des deux plantes et des standards utilisés

	<i>Artémisia herba halba</i>		<i>Artémisia compestris</i>		Acide ascorbique	Acide gallique
	huile	hydrolat	huile	hydrolat		
(C)	50	pur	50	Pur	50	50
DO	0.031	0.004	0.041	0.007	0.422	0.963

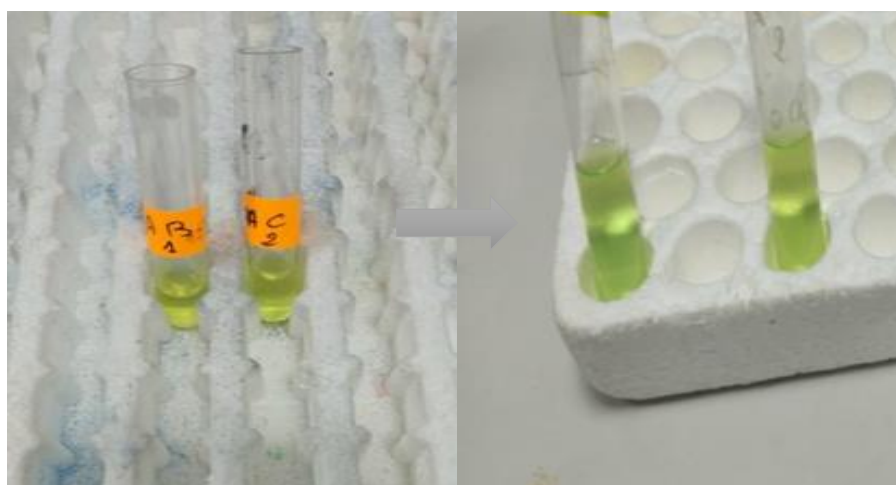


Figure 59 : La variation de la couleur lors de la réduction de ferrocyanure des deux échantillons contenant chacun une des huiles essentielle des deux plantes (Photo originale)

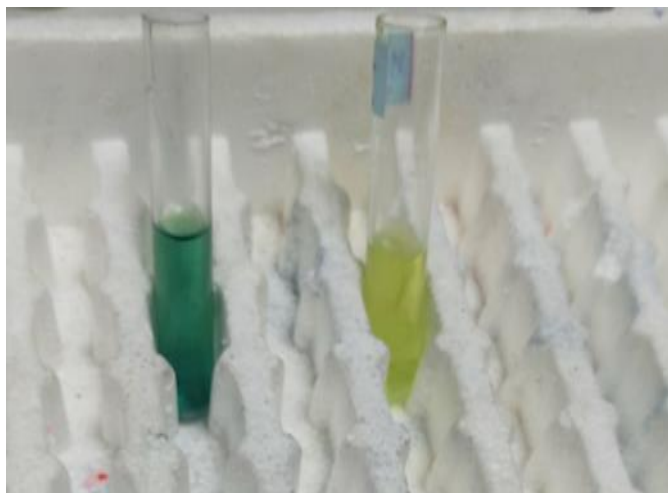


Figure 60 : Résultat du changement de couleur lors de la réduction de ferrocyanure des deux échantillons contenant chacun un des standards (acide ascorbique, acide gallique)

(Photo originale)



Figure 61 : le blanc **(Photo originale)**

Après avoir vu les résultats du changement de couleur, on peut les prendre comme des résultats préliminaires à l'œil nu, dont la couleur de l'échantillon d'huile est vert clair, proche de l'échantillon du blanc, un très léger changement résultant d'une faible réduction.

Comme il est également loin de la couleur du témoin, qui est vert foncé, ce qui indique la force de réduction. Nous constatons que les deux huiles ont une faible activité antioxydante avant que cela puisse être confirmé par mesure de la densité optique.

En évaluant la concentration uniforme des échantillons testés la valeur de l'absorbance correspondante pour chacune, on a tracé le graphe qui représente la variation de la densité optique en fonction de la concentration de 50mg/ml.

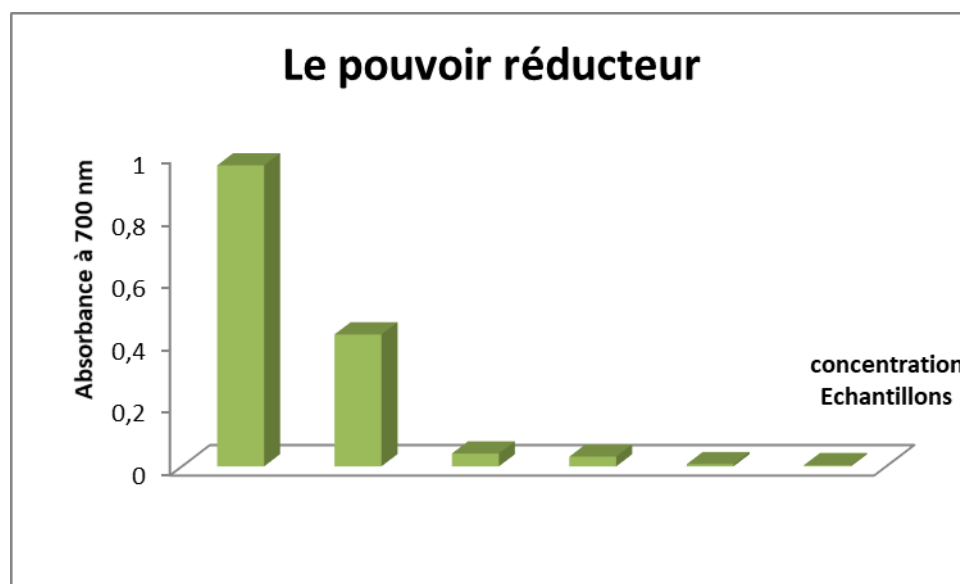


Figure 62: Graphe représente l'absorbance en fonction de la concentration.

L'activité antioxydante se classe donc dans l'ordre décroissant suivant :

L'acide gallique > La vitamine c > *Artemisia herba halba* Asso > *Artemisia campestris* > hydrolat d'AC > hydrolat d'AE.

Concernant le test du pouvoir réducteur, le graphe ci-dessus montre que les huiles et les hydrolats d'*Artémisia* possèdent une activité antioxydante faible par rapport à celle de l'acide ascorbique et l'acide gallique à la même concentration.

Le pouvoir réducteur est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les Composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (**Siddhuraju et Becker, 2007**).

Un travail précédent montre également le même résultat que l'*Artemisia herba halba* à une activité antioxydante faible par rapport à celle de l'acide ascorbique (**Kaouan et al., 2017**).

Un travail récent montre aussi le même résultat que l'*Artémisia campestris* qui présente un pouvoir antioxydant très faible (**Boudjouref Mourad. 2011**).

En générale, **Lopes-Lutz et al., 2008** ont confirmé dans une étude faite sur quelques espèces d'*Artemisia* que l'activité antioxydante de ces plantes est faible.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Les plantes aromatiques et médicinales sont d'une grande importance, surtout avec les vertus thérapeutiques et les activités biologiques que présentent et qui sont connues depuis l'antiquité, ces dernières continuent à faire l'objet de plusieurs recherches scientifiques à travers le monde.

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés anti-toxiques, anti-venimeuses, anti-virales, anti-oxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anti-cancéreuses.

Différentes analyses sont appliquées à cette plante : extraction de l'huiles Essentielle, la détermination de leur pouvoir antibactérien in vitro sur des souches pathogènes et multi résistantes : il s'agit d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, leurs pouvoir antifongique sur trois champignons : *Fusarium*, *Candida albicans* et *Penicillium* et en fin le test de leurs pouvoir antioxydant utilisons la méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).

L'extraction de l'huile essentielle et l'hydrolat des parties aériennes des deux plantes est réalisée par hydrodistillation ; les plantes ont été récoltées sur le même site : Ain d'heb (wilaya de Tiaret).

Le rendement d'huile essentielle obtenue à partir des deux plantes varie pour être de 0.25% d'*Artemisia herba halba* et 0.73% pour l'*Artemisia campestris*. Il est relativement proche des valeurs obtenues à partir d'autres études des même espèces ils appartiennent à l'intervalle de 0.23% (**Magraoui.et al.,**) à 0.64% (**Anis Bertilla**) d'*Artemisia* E.A et de 0.3% (**Anis Bertila 2019**) à 0.29% (**souhila Touil**) d'*Artémisia campestris* .

La méthode de l'aromatogramme nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien et antifongique de l'huile essentielle et l'hydrolat d'*Artemisia herba alba* et *Artemisia campestris* vis-à-vis les deux bactéries, et les deux champignons ainsi que la levure.

L'activité antibactérienne évaluée par les tests *in vitro*, ressort que les huiles essentielles et les hydrolats des deux plantes possédant un faible pouvoir antibactérien sur les souches testées.

En comparant les résultats entre les deux plantes, nous avons remarqué que l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* surpassait l'autre lors de la mesure de la zone d'inhibition pour chaque souche. La souche la plus sensible est *Escherichia coli* avec une zone d'inhibition de 1,25mm et 0,75mm de diamètre pour l'*Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris*

L'étude de l'activité antifongique a été démontrée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne par la technique de contact directe sur trois souches fongiques. Les huiles essentielles et les hydrolats des deux plantes ont une faible activité inhibitrice vis-à-vis les souches testées. Notre application du pouvoir antibactérien et antifongique a donné des inhibitions faibles par rapport aux témoins.

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode du FRAP montre que les plus grandes activités ont été obtenues avec les deux standards : acide ascorbique et acide gallique (0.422%, 0.963%), suivi par l'huile d'*Artemisia herba alba* Asso (0.031%) et celle d'*Artemisia campestris* avec (0.041%) et en dernier l'hydrolat des deux espèces *Artemisia herba alba* , *Artemisia campestris* avec 0.004% et 0.007% respectivement , en constatant les résultats précédents, ce teste a montré que les deux huiles et les deux hydrolats ont un faible pouvoir antioxydant par rapport aux témoins utilisés.

Ces résultats obtenus ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle active biologiquement d'une plante locale a des propriétés médicinales et aromatiques, la grande activité inhibitrice des huiles essentielle étudiées sur la croissance bactérienne et fongique laisse entrevoir des perspectives d'application dans plusieurs domaines industriels : pharmaceutique, cosmétique, alimentaire, etc.

Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence. De nouvelles perspectives peuvent être envisagées par une étude plus poussée de l'activité antibactérienne, et antifongique non seulement sur les huiles essentielles utilisées seules ou leurs composants majoritaires, mais également en mélange, permettant ainsi une éventuelle synergie. Il serait intéressant de continuer ces travaux notamment sur d'autres bactéries pathogènes, afin de confirmer l'efficacité ou non des huiles essentielles d'*Artemisia*.

Tenant compte de l'activité antioxydante de ces huiles essentielles et leurs profils aromatiques, nous suggérons d'étendre cette étude au test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

Ces résultats encourageants de cette étude nous motivent à mener des expérimentations plus approfondies sur les activités biologiques des deux plantes étudiées notamment l'activité antivirale surtout durant la période de la pandémie liée au COVID-19, cette situation nous pose la question de l'intérêt de l'utilisation des huiles essentielles dans la stratégie thérapeutique de lutte contre les infections respiratoires virales.

Les espèces d'*Artemisia*, en particulier *Artemisia herba alba* (l'armoise blanche) et *Artemisia campestris* (l'armoise des champs) sont bien connues pour leurs propriétés antivirales, qui ont été moins étudiées, mais les études publiées à ce jour sont prometteuses.

Elles ouvrent une voie de recherche qui devrait être encouragée dans le contexte actuel de course contre la montre pour trouver une parade à la pandémie de Covid19.

Les études scientifiques déjà menées sur les espèces d'*Artemisia* montrent :

- ✓ Le potentiel antiviral des plantes prises sous forme de tisane ou de poudre.
- ✓ le potentiel antiviral de certains composés chimiques.
- ✓ le potentiel immunostimulateur des plantes citées.
- ✓ L'efficacité de l'administration de décoctions médicinales incluant de l'*Artemisia herba alba* surtout en complément de traitements conventionnels pour atténuer les symptômes.
- ✓ L'absence de toxicité de l'infusion ou de la poudre de la plante.

Considérant d'une part, que des cas, à ce jour anecdotiques mais de plus en plus nombreux, suggèrent que la prise de tisanes des deux plantes choisies plus précisément l'armoise blanche a eu un effet curatif pour des patients infectés par **CORONA-VIRUS** et que d'autres cas tendent à montrer qu'elle aurait également un effet préventif, d'autre part, l'absence actuelle de traitement disponible pour parer aux effets délétères du **Covid19**.

Nous pensons que la conduite d'essais cliniques sur la base de la prise de tisane d'*Artemisia herba alba* et *Artemisia campestris* devrait être très rapidement encouragée, de même que la prise de tisane des deux plantes de façon préventive, notamment pour les personnes particulièrement exposées comme le personnel soignant.

RÉFÉRENCES

- **AFNOR (2014).** Matières premières aromatiques naturelles -- Vocabulaire. ISO 9235:2014. AFNOR.
- **AFNOR, 2000 :** Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1 – Echantillonnage et méthode d'analyse 471 P. Tome 2 – Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles 323 P. Tome 2 – Volume 2 Monographie relative aux huiles essentielles 663 P
- **Afnor. (1986).** Recueil des Normes françaises – huiles essentielles-, AFNOR. Paris. 57p.
- **Aidoud, A.** 1988. Les écosystèmes steppiques à armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso) : Caractères généraux. Biocénose : Bulletin d'écologie terrestre. CRBT. Alger. Tome 3. N° 12, année 1988
- **Aidoud.A,** 1983 Contribution à l'étude des écosystèmes steppiques du sud 3ème cycle, univ,
- **Akrout A.** 2004. Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). In : Ferchichi A. (comp.), Ferchichi A. (collab.). Réhabilitation des pâturages et des parcours en milieux méditerranéens. Zaragoza : CIHEAM, 2004. p. 289-292 (Cahiers Options Méditerranéennes; n. 62) sci, tech, Houari Boumediène, Alger.
- **Al-waili N S .** Treatment of diabetes mellitus by *Artemisia herba Alba* extract: preliminary study . Clin Exp Pharmacol physiol.1986; 13(7): 569-73
- **Amarowicz, R.,** Troszynska, A., Shahidi, F. 2005. Antioxidant activity of almond seed extract and its fractions. J. Food Lipids, 12: 344-358.
- **ANIS BERTELLA** Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris* et *Rosmar*
- **Baudoux D.** (2000). L'aromathérapie se soigner par les huiles essentielles Douce Alternative,38 Biarritz, France, 221, 6-29.
- **Baudoux, D** « Aroma news », Lettre d'information de NARD : Naturel Aromatherapy Research and Développement, Belgique 1997.
- **Beddou Fawzia .** Etude phytochimique des activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex visicarius* L.et *Anvillea radiata* Coss.& Dur. Thèse de doctorat en biologie cellulaire et biochimie. Université de Tlemcen. 2015.
- **Ben Sassi A.,** Harzallah-Skhiri F., and Aouni1 M. (2007). Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities.*J. Pharmaco. Bio.* **45 (5):** 421–428.
- **Ben Sassi A.,** Harzallah-Skhiri F., and Aouni1 M. (2007). Investigation of some medicinal
- **Bendimerad, N.,** Taleb, S.A., Bendiab, A., Benabadji, B., Fernandez, X., Valette, L., Lizzani-cuvelier, L., “Composition and antibacterial activity of *Pseudocytisus*

integrifolius (Salisb.) essential oil from Algeria”, Journal of Agricultural and Food Chemistry, n° 53, (2005), 2947-2952.

- **Bendjilali. B,** Richard. H., 1980. Etude de quelques peuplements d'armoise blanche du Maroc. *Artemisia herba alba*, Rivista Italiana E.P.P.O.S, LXII, (2)-69-74.
Bendjilali. B, Richard. H; Liddle. P., 1984 chémotypes d'armoise blanche du Maroc, congrès international de la société italienne de phyto-chimie, 131-151.
- **Benmessaoud L D.,** Zertoubi M., Irhzo A. et Azzi M (2013). Revue : Huiles et Extraits de plantes comme inhibiteurs de corrosion pour différents métaux et alliages dans le milieu acide chlorhydrique, journal of materials and Environmental science.
- **Berche P., Gaillard J. L.,** Simonet M., 1991. Les bactéries des infections humaines. Éditeur : Flammarion, Médecine & Sciences. 660 p.
- **Bezza L.,** Mannarino A., Fattarsi K., Mikail C., Abou L., Hadji-Minaglou F., Kaloustian J. 2010. Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). *Phytothérapie.*, 8 : 277-281.
- **Botrel. A,** (2001). Larousse Encyclopedia of Medicinal Plants identification, préparations, soins. 2eme Ed. Paris. P 11.
- **Bouboutou O.H.R.,** Loukou Y.G. & Tako Iouso D., 1995.- Evaluation de l'activité antidiarrhéique de quelques plantes utilisées en Afrique et en Côte d'Ivoire. *Revue de médecine et pharmacopées africaines* : 9 (1) : 31-35.
- **Bouchra, C.,** Achouri, M., Hassani, L.M.I., Hmamouchi, M., “Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers. Fr”, *Journal of Ethnopharmacology*, n° 89, (2003), 165-169.
- **Boudjelal Amel,** 2013 : Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences. Badji- Mokhtar
- **Bouldjadj,** 2009 : étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de L'extrait aqueux lyophilisé d'*artemisia herba alba* asso Chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par Streptozotocine. P 31
- **Bouزيد I,** Yahia M, Abdeddaim M, Aberkane M C et Ayachi A (2016). Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de L'Aubepine Monogyne. *Lebanese Science Journal*, 12 (1), 59-69.
- **Bruneton J.** Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales. 4ème éd. Revue et augmentée. Tec et Doc. Editions médicales internationales. Paris. 1288, 2009
- **Bruneton J.** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3ème Ed Tec&Doc. Paris. 1999.
- **Cowan M.M.,** 1999- Plants products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12: 564-582.

- **Dahmani-Hamzani N.**, Baaliouamer A. 2005. Chemical composition of the Algerian essential oil of *Artemisia herba-alba* native to Dejelfa. Riv. Ital. EPPOS., 40 : 7-13.
- Ebrahimzadeh M.A., Pourmorad F. and Hafezi S. (2008). Antioxidant Activities of Iranian Corn Silk. Turk. J. Biol., 32, 1-7.
- **Diehl M.**, 1998.- Activité anthelminthique de plantes médicinales présentes en Côte d'Ivoire. Travail de diplôme. Institut de Zoologie, Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel, Suisse, 114 p.
- **Djaman A. J.**, Dje M.K. & Guede guina F. 1998. Evaluation d'une action antiplasmodiale de *Oxalis subscorpioidea* sur les souches chloroquino-résistantes de *Plasmodium falciparum*. Revue de Médecines et Pharmacopées Africaines : 12 : 177-182.
- **Djeridane, A.**, Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chem., 97: 654-660.
- **Dob T.**, Dahmane D., Berramdane T., and Chelghoum C. (2005). Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia campestris* L. from Algeria. J. Pharm. Bio. 43(6): 512–514.
- **Fabien, J.**, Veronique, M., Jean-Marie, B., Josette, V., "Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris* var. *glutinosa*", Biochemical Systematics and Ecology, V. 30 n° 11, (2002), 1065-1070.
- **FAO (2003)** ; Stratégie et politique agricoles ; la filière (Plantes Aromatiques et médicinales), préparé par Anthola DOSSIDES
- **Fauchère JL et Avril JL.** Bactériologie générale et médicale. Paris : Ellipses, 2002 ; 365 p.
- **Ferchichi L.**, Merza J., Landreau A., Le Ray A.M., Legseir B., Seraphin D., and Richomme P. (2006). Occurrence of isocoumarinic and phenolic derivatives in *Artemisia campestris* L. subsp. *campestris*. Biochem Syst. and Ecol. 34: 829-832.
- **Francis Joannès**, 2001. Dictionnaire de la civilisation mésopotamienne. Ed Robert Laffont ISBN2-221-09 207-4.
- **Ghanmi, M.**, Satrani, B., Aafi, A., Isamili, M.R., Houti, H., El monfalouti, H., Benchakroun, K.H., Aberchane, M., Harki, L., Boukir, A., Chaouch, A., Charrouf, Z., «Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guerçif (Maroc oriental)», Phytothérapie, n° 8, (2010), 295–301.
- **Ghasemi, E.**, Yamini, Y., Bahramifar, N., "Comparative analysis of the oil and supercritical CO₂ extract of *Artemisia sieberi*", J. Food. Eng. V. 79 n° 1, (2006), 306–11.

- **Ghorab, H.**, Laggoune, S., Kabouche, A., Semra, Z., & Kabouche, Z. (2013). Essential oil composition and antibacterial activity of *Artemisia campestris* L. from Khenchela (Algeria). *Der Pharmacia Lettre*, 5(2), 189-192.
- **Hurabielle M.**, Malsot M., Paris M. Contribution à l'étude chimique de deux huiles d'artémisia : *artémisia herba alba asso* et *artémisia vulgaris linnaeus*. Intérêt chimiotaxonomique. *Rivista italiana e.p.p.os*, lxiii (6). 296- 299, 1981
- **Jalali, H.M.**, Sereshti, H., "Determination of essential oil components of *Artemisia haussknechtii* Boiss. Using simultaneous hydrodistillation-static headspace liquid phase microextraction-gas chromatography mass spectrometry", *J. Chromatogr A* 1160, n° 1 & 2, (2007), 81–9.
- **John, J.**, Mehta, A., & Mehta, P. (2012). Evaluation of antioxidant and anticancer potential of *Cassia tora* leaves. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 7(6), 260-267.
- **Kamanzi A.K.** 2002. Plantes médicinales de Côte d'Ivoire : investigations phytochimiques guidées des essais biologiques. Doctorat d'Etat ès-Sciences en biologie végétale. UFR Biosciences, Université de Cocody, Abidjan, 190 p.
- **Kelen, M.**, Tepe, B., "Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora", *Bioresource Technology*, n° 99, (2008), 4096-4104.
- **Khebri S.**, (2011). Etude chimique et biologique des huiles essentielles de trois *Artemisia*. Mémoire de magister. Université Hadj Lakhdar Batna, Algérie. 150p
- **Koba, K.**, Sanda, K., Raynaud, C., Nenonene, Y.A., Millet, J., Chaumont, J.P., «Activités antimicrobiennes d'huiles essentielles de trois *Cymbopogon* sp. africains vis-à-vis de germes pathogènes d'animaux de compagnie», *Ann. Méd. Vét*, n° 148, (2004), 202-206. Scora k, M., Scora, R.W., "Effect of volatiles on mycelium growth of *Penicillium digitatum*, *P. italicum*, and *P. ulaiense*", *J. Basic Microbiol*, V. 38 n° 5, (1998), 405-413.
- **koné M.W.** 1998.- Evaluation de l'activité antibactérienne des plantes utilisées en médecine traditionnelle dans la région de Ferkessedougou (Côte d'Ivoire. Mémoire pour obtention du diplôme d'études approfondies en Ecologie tropicale, UFR Biosciences, Université de Cocody, Abidjan, 62 p
- **Kordali, S.**, Kotan, R., Mavi, A., Cakir, A., "Determination of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oil of *Artemisia dracunculus* L. and of the Antifungal and Antibacterial Activities of Turkish *A. dracunculus*, *A. absinthium* and *santonicum* Essential Oil", *J. Agric. Food Chem.*, n° 53, (2005), 9452-9458.
- **Kyeong W.Y.**, Anwar M., and Jong H.K. (2007). Effects of the Aqueous Extract from *Artemisia campestris* ssp. *caudata* on Mycorrhizal Fungi Colonization and Growth of Sand Dune Grasses. *J. Plant. Biology*. 50 (3): 358-361.
- **Lopes-Lutz, D.**, S. Alviano, D., S. Alviano, C., P. Kolodziejczyk, P. 2008. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*, 69 :1732-1738.

- **Lopez-Lutz D.**, Alviano D., Alviono C.S and Kolodziejczyk P.P.(2008). Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry* .69:1732-1738.
- **Maataoui, B.S.**, Hmyene, A., Hilali, S. 2006. Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*, 7(1): 3-8.
- **Magraoui Sarra** , Zahaf Djihad. Etude de l'extaction et l'activité biologique des huiles essentielles d'*Artemisia* (Chih) en Algérie 2017/2018
- **Megdiche-Ksouri, W.**, Trabelsi, N., Mkadmini, K., Bourgou, S., Noumi, A., Snoussi, M., ... & Ksouri, R. (2015). *Artemisiacampestris* phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity. *Industrial Crops and Products*, 63, 104-113.
- **Mighri, H.** Hajlaoui, A. Akrou, H. Najjaa and M. Neffati., 2010; Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *C.R. Chimie* 380-386.
- **Mighri, H.**; Hajlaoui, H.; Akrou, A.; Najjaa, H.; Neffati, M.; *Compts Rendus Chimie*, 2010, 13, 380-386
- **Mobié M.**, Bonga G.M., Vangah-manda M., De souza C. & Guede-guina F.R., 1997-1998.- Action antifongique d'une huile végétale sur *Trichophyton rubrum*, *Revue de Médecines et Pharmacopées Africaines* : (11-12) : 185-192.
- **Mobié M.**, Bonga G.M., Vangah-manda M., De souza C. & Guede-guina F.R., 1997-1998.- Action antifongique d'une huile végétale sur *Trichophyton rubrum*, *Revue de Médecines et Pharmacopées Africaines* : (11-12) : 185-192.
- **Mohammedi Z.** (2013) : Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la région Nord et Sud - Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat en biologie. Université de Tlemcen.p :23
- **NABLI. MA.** 1989. Essai de synthèse sur la végétation et la phyto écologie tunisiennes. Tome 1. Ed MAB (faculté des sciences de Tunis)
- **Nabli. Ma.** 1989. Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes. Tome.
- **Naili M.B.**, Alghazeer O.A., Saleh N.A., Al-Najjar A.Y. (2010). Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab. J. Chem.* **3**: 79–84.
- **O.M.S**, 2002.- Organisation Mondiale de la santé (OMS) Rapport sur la médecine traditionnelle : Besoins et potentiel. N° 4. 6 p.
- **O'Brien, J.; Wilson, I.**; Orton. T.; Pognan, F. 2000. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *Eur. J. Biochem.* 267, 5421-5426.
- **Pisoschi, A. M.**, & Negulescu, G. P. (2011). Methods for total antioxidant activity determination: a review. *Biochem Anal Biochem*, 1(1), 106. plants from Tunisia for antimicrobial activities. *J. Pharmaco. Bio.* 45 (5): 421–428.

- **Pousset, J.L.**, 1994.- Plantes médicinales africaines. Le pharmacien d'Afrique : 87, 6.
- **Quezel and Santa**, 1962; Quezel et Santa. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie Ed : éditions du centre nationale de la recherche scientifique .Paris. Tome I. 990p. Chalchat et al., 2003).
- **Quezel P., Santa S.** 1962. Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, Tome I. 565 p.
- **Rago, R.;** Mitchen, J.; Wilding, G. 1990. DNA fluorometric assay in 96-well tissue culture plates using Hoechst 33 258 after cell lysis by freezing in distilled water. Anal. Biochem. 191, 31- 34.
- **Said, M.E.-A.**, Vanloot, P., Bombarda, I., Naubron, J.-V., Dahmane, E.M., Aamouche, A., Jean, M., Vanthuynne, N., Dupuy, N. & Roussel, C. 2015. Analysis of the major chiral compounds of Artemisia herba-alba essential oils (EOs) using reconstructed Vibrational Circular Dichroism (VCD) spectra: en route to a VCD chiral signature of EOs, Analytica Chimica Acta, doi: 10.1016/j.aca.2015.11.010
- **Said, M.E.-A.**, Vanloot, P., Bombarda, I., Naubron, J.-V., Dahmane, E.M., Aamouche, A., Jean, M., Vanthuynne, N., Dupuy, N. & Roussel, C. 2015. Analysis of the major chiral compounds of Artemisia herba-alba essential oils (EOs) using reconstructed Vibrational Circular Dichroism (VCD) spectra: en route to a VCD chiral signature of EOs, Analytica Chimica Acta, doi: 10.1016/j.aca.2015.11.010
- **Saleh, M.A.M.**, Belal, H., El-baroty, G., "Fungicidal activity of Artemisia herba-alba Asso (Asteraceae)". J. of envir. sci. and health. Part B. Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes, V. 41 n° 3, (2006), 237-244.
- **Sefi M.**, Fetoui H., MakniM., and Najiba Zeghal N. (2010). Mitigating effects of antioxidant properties of Artemisia campestris leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. J. Food. Chem.Toxicol.48: 1986–1993.
- **Selles C.** (2012).Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen :Anacyclus pyrethrum L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dansH2SO4 0.5M. Thèse de doctorat en sciences physiques. Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. p : 30-45.
- **Souhila touil.** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Artemisia Herba Alba Asso et Artemisia campestris L de la Region de Djelfa 14/11/2012
- **Taleghani, A.**, Emami, S. A., &Tayarani-Najaran, Z. (2020). Artemisia:apromising plant for the treatment of cancer. Bioorganic&MedicinalChemistry, 28(1), 115180.traditionellen Medizin der Elfenbeinküste. Universität Basel, 134 p.
- **Tepe, B.**, Sokmen, M., Akpulat, H.A., Sokmen, A. 2006. Screening of the antioxidant potentials of six Salvia species from Turkey. Food Chem., 95: 200-204.

- **Traoré A.**, Datte Y.J., Offoumou A.M., AKA K.J. & Sawadogo L.L. 1999.- Effets antihypertensifs de l'extrait aqueux de *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae) sur la pression artérielle de mammifères. *Revue de Médecines et Pharmacopées Africaines* : 13, 41-48. Duke J.A, 1990.- Promosing phytochemicals. In: advances in new crops. Janick J. and Simon. Timber press, Portland.491-498.
- **Vangah-manda M.**, Dje M., Guede-guina F.K. et de Souza, C. 1994.- Evaluation des effets antimicrobien et cytotoxique des extraits aqueux totaux de *Thonningia sanguinea* Vahl. *Revue de Médecines et Pharmacopées Africaines* : 8 (2): 153-157.
- **Vangah-Manda M.O.**, 1986.- Contribution à la connaissance des plantes médicinales utilisées par les ethnies Akans de la région littorale de la Côte-d'Ivoire. Thèse de Doctorat de 7ème Cycle, Université Nationale de Côte-d'Ivoire, Abidjan, Côte d'Ivoire, 464 p
- **Vekiari, S.A.**, Protopapadakis, E.F., Papadopoulou, P., Papanicolaou, D., Panou, C., Vamvakias, M., "Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of a lemon variety", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 5 n°1, (2002), 147-153.
- **Vernin G.**, Merad O., Vernin G.M.F., Zamkotsian R.M. and Parkanyi C. (1995). GC-MS analysis of *Artemisia herba-alba* Asso essential oils from Algeria. *Dev. Food Sci.* 37A: 147 205.
- **Wan, J.**, Wilcock, A., Coventry, M.J. 1998. "The effect of essential oils of basil of the growth *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*.", *J. Appl. Microbiol.*, 84: 152-158.
- **Weiss C.**, 1997.- Ethnobotanische und pharmakologische Studien zu Arzneipflanzen der
- **Wong, C.C.**, Li, H.B., Cheng, K.W., Chen, F. 2006. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem.*, 97: 705-711.
- **Zinzendorf, Y.**, 1989.- Contribution à l'étude des plantes médicinales utilisées en Odontostomatologie traditionnelle. Mise en évidence des activités bactériostatique et bactéricide, proposition d'une formule galénique. Thèse, Faculté de Pharmacie, Université d'Abidjan, 180 p. 1. Ed MAB (faculté des sciences de Tunis) : 186-188 p.
- **Zouari S.**, Zouari N., Fakhfakh N., Bougatef A., (2010). Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian *Artemisia herba-alba* Asso. *J. Med. Plants Res.*, 4, 871-880.

ANNEXES

Annexe 01 : Composition des différents milieux de culture

Gélose Mueller – Hinton (Mueller et Hinton, 1941)

Composition	g/L
Macération de viande de bœuf	0.300ml
Hydrolysate caséine	17.5g
Amidon	1.5g
Agar	10g
Eau distillée	1000ml
PH = 7,4	

Annexe 02 : Tableau I: Appareillage, verrerie et autres matériel utilisés

Appareillage	Verrerie et autres matériel
Autoclave (PBINTERNATIONAL) ; - Bain Marie (MEMMERT) ; - Balance de précision 0,01 mg (SARTORIUS) ; - Centrifugeuse réfrigérée (SIGMA 3-18K) ; - Etuve (MEMMERT) ; - Réfrigérateur (ENIEM); - Spectrophotomètre (SCHIMADZU).	Anse à boucle ; - Boîtes de pétri en plastique à 90 mm de diamètre ; - Coton ; - Ecouvillon ; - Entonnoir ; - Erlen-Meyers ; - Epprouvettes graduées ; - Flacons stériles ; - Micropipettes (de 10µl à 1000µl) ; - Papier aluminium ; - Tubes à essai stériles ; - Tubes ECBU ; - Papier wattman

Annexe03 : Composition des solutions

- Préparation de la solution du chlorure de fer (FeCl_3) 0.1%
Dissoudre 0.1g dans un volume de 100ml d'eau distillée.
- Préparation de l'acide trichloracétique (TCA) à 10%
Dissoudre 10g dans un volume de 100ml d'eau distillée.
- Préparation de ferrocyanure $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%
Dissoudre 10g dans un volume de 100ml d'eau distillée.
- Préparation du tampon phosphate pH = 6.6
Préparé par un mélange de (65ml+300µl) de solution A + (34ml+700µl) de solution B ou la solution A (0.9073g de K_2HPO_4 dans 100ml d'ED) et la solution B (0.5935g de Na_2HPO_4 dans 50ml d'ED).

Annexe 04 : les conditions climatiques de la wilaya de Tiaret 2020/2019/2018

2020

2020	Vent moyen mensuel en m/s	Précipitations mensuelle en mm	T min moyenne mensuelle en °C	T max moyenne mensuelle en °C	T moyenne mensuelle en °C	T min absolue en °C	T max absolue en °C	Humidité moyenne mensuelle en %	Evaporation mensuelle en mm
Janvier	3.2	23	-0.9	15.5	5.4	-04.8	18.4	77	49.1
Février	3.1	00	01.5	18.8	9.5	-03.0	22.0	68	20.6
Mars	05.0	49.6	04.7	16.7	10.3	-04.1	24.6	71	75.3
Avril	04.0	68.7	07.7	19.4	13.2	01.0	28.6	79	84.5
Mai	03.7	04.6	10.6	27.9	19.1	05.5	33.5	51	148.4
Juin	04.0	00.8	13.4	30.5	22.1	06.7	40.1	39	202.9
Juillet	03.3	01.8	18.5	36.6	22.3	13.6	40.8	27	288.5
Aout	03.4	00.4	18.6	36.3	27.5	15.0	41.0	27	275.5
Sept	03.1	13.2	13.6	29.3	21.1	06.3	33.9	48	153.4
Octobre	03.8	05.2	07.8	22.7	14.8	02.3	29.7	52	127.1
Novembre	04.4	30.2	06.5	18.7	12.2	-02.0	25.9	62	106.3
Décembre	05.0	71.3	03.5	11.6	09.3	-05.0	12.8	93	043.2

2019

2019	Vent moyen mensuel en m/s	Précipitations mensuelle en mm	T min moyenne mensuelle en °C	T max moyenne mensuelle en °C	T moyenne mensuelle en °C	T min absolue en °C	T max absolue en °C	Humidité moyenne mensuelle en %	Evaporation mensuelle en mm
Janvier	4.81	88	-1.46	10.99	4.35	-6.5	15.5	77.33	36.5
Février	3.76	19.9	-1.26	13.45	5.66	-5.3	20	62.55	54
Mars	3.5	19.9	2.14	16.14	8.94	-2.7	23.8	65.69	72.9
Avril	4.69	29.7	4.78	18.02	11.15	-0.5	29.7	69.62	79
Mai	3.38	17.7	7.5	24.39	16.15	3.6	29.7	50.28	127.5
Juin	3.59	0.8	13.78	32.85	23.47	7.1	41.4	34.8	231.2
Juillet	3.71	05.6	18.64	36.88	27.36	14.0	43	31.55	274.7
Aout	3.54	03.0	18.63	35.34	26.75	12.4	40.7	34.64	239.1
Sept	3.57	39.5	14.56	30.08	21.75	07.0	35.5	53.84	159.2
Octobre	3.60	06.7	8.85	23.9	16.00	03.1	32.0	54.73	127.3
Novembre	5.96	62.3	5.76	14.18	09.13	0.5	21.1	87.59	47.6
Décembre	4.73	38.4	03.7	14.21	08.27	-04.0	20.5	79.05	50.9

2018

2018	Vent moyen mensuel en m/s	Précipitations mensuelle en mm	Tmin moyenne mensuelle en °C	T max moyenne mensuelle en °C	T moyenne mensuelle en °C	T min absolue en °C	T max absolue en °C	Humidité moyenne mensuelle en %	Evaporation mensuelle en mm
Janvier	4.53	25.2	1.29	13.18	6.72	-2.5	20.5	74.11	51
Février	4.96	40.7	0.09	10.73	5.05	-6.2	22.0	78.14	33.4
Mars	6.60	134.4	4.39	14.21	9.08	-1.8	24.7	78.48	56
Avril	5.05	135	6.58	18.62	12.22	-1.5	28.3	73.88	71.4
Mai	3.50	16	7.69	20.59	14.36	2.3	30.0	72.88	64.5
Juin	3.18	42	12.1	29.03	20.76	7.0	38.7	58.31	137
Juillet	2.92	0.1	18.22	36.05	26.91	12.0	41.2	39.09	232
Aout	2.70	4.8	16.17	33.01	24.9	12.4	37.5	49.99	191.9
Sept	3.35	51.8	15.39	29.57	21.86	9.9	35.9	62	130
Octobre	3.99	93.6	8.75	21.05	14.52	-0.4	27.6	72.60	78.5
Novembre	4.99	37.5	4.70	16.09	10.07	-0.2	22.0	74.93	64.8
Décembre	3.01	34.4	1.0	15.94	7.70	-03.7	24.5	77.76	40

RÉSUMÉ

Résumé :

Cette étude a pour objectif d'examiner les activités biologiques (antibactérienne, antifongique et antioxydante) des huiles essentielles extraites des deux espèces de la famille des astéracées : *Artemisia herba alba* Asso «chih» et *Artemisia campestris* «Dgouft» récoltées dans la région d'Aïn Deheb (Tiaret).

L'extraction des huiles essentielles et l'hydrolat de la partie aérienne des plantes étudiées a été réalisée par la méthode d'Hydrodistillation avec un rendement de 0.25% et 0.73% respectivement.

Sur le plan biologique, l'activité antibactérienne a été déterminée sur deux souches bactériennes «*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*», à l'aide de la méthode d'aromatogramme les huiles essentielles et les hydrolats s'y montrés relativement inactive à inexistant avec une sensibilité d'E. Coli et une résistance de S. Aureus, par rapport aux témoins utilisés contre ces deux souches bactériennes testés. En addition, une activité antifongique faible pour les trois moisissures testés (*Fusarium*, *Penicillium*, *Candida*) après voir leurs croissance. L'activité antioxydante des huiles essentielles des deux plantes est évaluée par la méthode de la réduction du fer (test de FRAP), montre une activité faible de 0.031% d'*Artemisia herba halba* et de 0.041% d'*Artémisia compestris*, surtout par rapport aux pourcentages obtenus des standards employés de 0.96% pour l'acide gallique et 0.42% pour l'ascorbique.

Mots clés : *Artemisia herba halba*, *Artémisia compestris*, antibactérienne, antifongique, antioxydante, huile essentielle,

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو استعراض الأنشطة البيولوجية (مضاد البكتيريا. مضاد الفطريات. مضاد الاكسدة). . للزيوت الأساسية المستخرجة من فصيلتين من اسرة الشيح البري و الشيح الحقلي التي تم جمعها في منطقة عين الذهب (تيارت). وقد تم استخراج الزيوت الأساسية و المياه العطرية الخاصة بها من الجزء من النباتات التي شملتها الدراسة باستخدام منهجية التقطير المائي بنسبة 0.25 في المائة و 0.73 في المائة على التوالي. وقد تم تحديد النشاط البيولوجي لمكافحة البكتيريا على نوعين منها وقد تبين ان الزيوت الأساسية و المياه العطرية الخاصة بها غير نشيطة نسبيا في هذا المجال الى معدومة باستخدام منهجية اروماتوغرام مقارنة بالمضادات الحيوية التي استخدمت كشاهد ضد نوعا البكتيريا المختبرة. وإضافة إلى هذا فإن النشاط المضاد للفطريات تبين انه منخفض بالنسبة للفطريات الثلاثة المختبرة " الفيوزاريوم و البنسليوم و المبيضة" بعد ان شهدت نموا. كما تم تقييم نشاط الزيوت الاساسية المضادة للأكسدة في كل من النبتتين وقد تبينا لنا انها منخفضة بنسبة 0.031% لنبات

الشيخ البري و 0.041% بالنسبة لنبات الشيخ الحلقي "تققد" مقارنة بالنسب المئوية لحمض الغاليكا و حمض الاسكوربيك على التوالي 0.96%
الكلمات الرئيسية: الشيخ البري، الشيخ الحلقي ، مضاد البكتيريا، مضاد الفطريات، مضادات الأكسدة، الزيت الأساسي

Abstract:

The aim of this study is to investigate the biological activities (antibacterial, antifungal and antioxidant) of essential oils extracted from two species of the Asteraceae family: *Artemisia herba Alba* Asso "chih" and *Artemisia campestris* "Dgouft" collected in the region of Aïn Deheb (Tiaret).

The extraction of essential oils and hydrolate from the aerial part of the studied plants was carried out by the hydrodistillation method with a yield of 0.25% and 0.73% respectively.

Biologically, the antibacterial activity was determined on two bacterial strains "*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*", using the aromatogram method the essential oils and hydrolats were shown to be relatively inactive to non-existent with a sensitivity of *E. coli* and a resistance of *S. Aureus*, compared to the controls used against these two bacterial strains tested. In addition, weak antifungal activity for the three moulds tested (*Fusarium*, *Penicillium* and *Candida*) after seeing their growth. The antioxidant activity of the essential oils of the two plants is evaluated by the iron reduction method (FRAP test), showing a low activity of 0.031% of *Artemisia herba halba* and 0.041% of *Artemisia compestris*, especially compared to the percentages obtained from the standards used of 0.96% for Gallic acid and 0.42% for ascorbic.

Key words: *Artemisia herba halba*, *Artemisia compestris*, antibacterial, antifungal, antioxidant, essential oil