



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine Des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biodiversité et Conservation des Ecosystèmes

Thème

**Evaluation de l'activité antioxydante, antifongique et
antibactérienne des huiles essentielles de la plante médicinale
Artemisia herba alba**

Présenté par : BELKHIRI Nersine
BEHNAS Nesrine

Devant le jury :

Président : Haizia KELALECHE MAA UNIVERSITE DE BORDJ BOUARRERIDJ

Encadrant : Sabah BOUMERFEG MAA UNIVERSITE DE BORDJ BOUARRERIDJ

Examineur : Hassina GUERGOUR MAA UNIVERSITE DE BORDJ BOUARRERIDJ

Année universitaire : 2015/2016



Remerciements

Nous tenons tous d'abord à exprimer notre très grande gratitude à

ALLAH.

Tous puissants qui nous ont donné la force et la volonté d'élaborer ce travail.

On tient à remercier notre encadrant Mme Sabah BOUMERFEG, Maitre de conférences au Département des Sciences biologiques, *Faculté d'SNV* Université de Bordj-Bou-Argeridj pour avoir dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, pour ses conseils qui nous ont permis de réaliser ce travail.

Merci à tous les membres de jury *d'avoir fait l'honneur d'accepter d'examiner* notre travail.

Un remerciement spécial à

Mme Najet RIGHI

pour son assistance et ces orientations

Nous adressons nos sincères remerciements à nos familles qui nous ont aidés tout au long de la carrière académique.

Sans oublier tous nos amis et camarades et nos Enseignants qui nous ont aidés de près ou de loin.

Merci à tous.



Dédicaces

A-lhamdou-li-Allah qui m'a destiné la réussite Pour terminer avec succès, J'espère que dieu m'offre le courage pour continuer

Je dédie ce mémoire

A mon cher père Ferhat

A mon chère mère Habiba

Pour leur dévouement, leur amour, leurs sacrifices et leurs encouragements et sans qui, je ne serais pas là aujourd'hui. Que ce travail leur soit dédié en guise de témoignage de ma profonde affection et tendresse. Je souhaite à Dieu de prolonger votre âge.

A ma petite chère sœur Aicha qui dessine un sourire sur mes lèvres

A mes frères qui sont très chers Mounir, Mohamed

A mon grand-père Rabeih

A mes grand-mère Keltoume et Liakoute

A mes tantes et surtout ma chère Amel et ses enfants

A toutes la famille Belkhirî et Benchikh

A toutes mes amies que je garde toujours dans mon

cour Meriem, Hada, Zineb, Naziha, Souhila, Bechra, Khawela, Dalal

, Abela ,à la source de courage Samir

et surtout mon chère Nesrine qui m'a accompagné toutes ces

circonstances terme et de dévotion leur aidée et encouragée

pendant cette période de thèse.

Nesrine



Dédicaces

Je dédie ce travail estimable :

*A mon cher père rien au monde ne vaut les efforts fournis jours et nuits pour mon éducation,
mon bien être, et pour son soutien moral que d'assistance.*

*A ma chère mère vous êtes l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de
prier pour moi.*

A mes frères « Nadjib et Akram », j'espère que ce travail vous soit un exemple.

A mes sœurs Sara, Wiam

Je dédie ce travail spécialement à mon ange Fatma

A toute la famille « Behnas et Laarossi »

*A mes amies proches « Souhila, Zineb, bouchra, Ahlam, Zahra, Meriem, a mes cousines et
a mon ami Rahim et spécialement à la source de courage Mourssli »*

A mon fiancée et sa famille

A tous mes amies et collègues que je n'ai pas cités et à tous ceux qui me connaissent.

A tous ceux qui sont chers pour moi.

A mon binôme Nesrine

*Ma plus belle histoire d'amitié et de fidélité, j'espère que tu restes près de moi tout le reste de
ma vie*



Nesrine

Introduction

Les plantes médicinales sont à la fois un produit fini destiné à la consommation et une matière première pour l'obtention de substances actives. Elles représentent une source de revenu non négligeable pour de nombreuses populations, contre les maladies ou employé des remèdes traditionnels dues à leurs actions bénéfiques. Actuellement plus de 80 % de la population africaine ont recours aux drogues faites essentiellement de matières végétales qui poussent autour de leur ville. En plus dans le monde, près de 25% des prescriptions sont à base de plantes et 60 à 70% des médicaments antibactériens et anticancéreux sont des substances d'origine naturelle (**Dacosta, 2003**).

Les risques et les effets néfastes des antioxydants synthétiques utilisés comme additifs alimentaires ont été questionnés au cours des dernières années et la nécessité de les substituer par des antioxydants naturels, issus de plantes médicinales, est apparente. Les plantes médicinales aromatique constituent une source inépuisable de substances ayant des activités biologiques et pharmacologiques très variées (**Gharabi, 2008**).

La lutte biologique par l'utilisation des substances naturelle antioxydantes et antifongiques pouvant constituer une alternative aux produits chimiques. Parmi ces substances naturelles figurent les huiles essentielles (**Gharabi, 2008**).

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures in vivo et in vitro de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des polyphénols et les huile essentielles végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, antiinflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, antiradicalaires et antimicrobiennes (**Dacosta, 2003**).

Ce travail est consacré essentiellement à l'étude de l'effet biologique des huiles essentielles de l'une des espèces de la famille des Astéracées : l'armoise blanche (*Artemisia herba alba*). Des thés de fines herbes de ces espèces ont été employés comme agents analgésiques, antibactériens, anti-plasmodique, hémostatiques, anthelminthique, anti-diarrhéique et diurétique

C'est dans cette optique que s'oriente notre étude dont les objectifs principaux se résument dans les volets suivants :

- L'extraction des huiles essentielles
- L'évaluation de l'effet antioxydant des huiles essentielles en utilisant les tests DPPH et le β -carotène

- Etude in vitro de l'effet antifongique des huiles essentielles sur la croissance de la souche mycélienne *Fusarium oxysporium*
- Etude in vitro de l'effet antibactérien des huiles essentielles sur les souches bactériennes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*

La partie Matériels et Méthodes mis en œuvre l'extraction et l'évaluation des activités biologiques (antioxydante, antibactérien et antifongique) des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* Asso. Suivie des principaux résultats et leurs discussions. L'étude est achevée par une conclusion générale et des perspectives.

I.1. Stress oxydatif

Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agression physiques chimiques (acidose, toxines) et métaboliques. La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production des radicaux dérivés de l'oxygène. **(Walker et al., 1982).**

Dans certaines situation (Tabac, stress, pollution, radiation...), la production des radicaux oxygénés augmente fortement, entraînant un stress oxydatif qui consiste en un déséquilibre entre la production et la destruction de ces molécules **(Soares, 2005).**

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversible. La réduction univalente de l'oxygène résulte dans la formation des espèces oxygénées activées (EOA) dont font partie les radicaux libres anion super oxyde, radical hydroxyle, le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulget . Toutes ces espèces sont potentiellement toxiques pour l'organisme car elles peuvent inactiver des protéines, dégrader les sucres, oxyder les lipoprotéines et initier des processus de peroxydation lipidique au sien de la membrane cellulaire en s'attaquant aux acides gras polyinsaturés **(Pincemail et al., 2001).**

C'est le stress oxydatif. Celui-ci est de plus en plus impliqué pour expliquer les dégâts cellulaires observés dans les états inflammatoires aigus, le vieillissement, le cancer, les troubles consécutifs à l'ischémie-reperfusion, le diabète ou les maladies cardiovasculaires **(Pincemail et al., 2001).**

I.1.1. Les radicaux libres

Un radical libre est définie comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés **(Jacques et André, 2004)**, cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaine débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre **(Martinez-Cayuela, 1995)**. Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable **(Baudin, 2006).**

I.1.2. Les antioxydants

Chez tout individu, il existe, en permanence un équilibre entre les dégâts causés par les molécules oxydantes et leur réparation. Si celui-ci est rompu, le stress oxydatif apparaît. Il semble donc intéressant de soutenir les défenses antioxydants de l'organisme pour éviter cette rupture. Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion (**Favier, 2003**).

Il existe dans l'organisme deux systèmes des antioxydants ;

a- Le Système enzymatique qu'il s'agit principalement de trois enzymes (**Piquet et Hebuterne, 2007**):

- la superoxyde dismutase (SOD) : accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène.
- La catalase (CAT): catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire.
- La glutathion peroxydase (GPx): agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du H_2O_2 en H_2O et O_2 . Lors de cette réaction deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion disulfure (GSSG)

b- Système non enzymatique renferme de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, la mélanine, la mélatonine, l'acide lipoïque. De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion réduit (thiol majeur au niveau intracellulaire) (**Trivalle, 2002**).

D'autres substances exogènes apportées par l'alimentation, telles que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes (**Bruneton, 1999**). De nombreux composés phénoliques réagissent avec les radicaux libres (**Bagchi et al., 1998**), empêchant ainsi les dégradations liées à leur intense réactivité au niveau des phospholipides membranaires (**Halliwel et Aruoma, 1993**).

I.2. Métabolite secondaire

I.2.1. Les polyphénols

Les polyphénols sont des molécules spécifiques du règne végétal (**Bruneton, 1999**), plus de 8000 molécules ont été isolés et identifiés (**Mompon et al., 1998**). Selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun ; la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (**Hennebelle et al., 2004**). Les flavonoïdes sont les polyphénols les plus nombreux, plus de 5000 molécules présentes dans tout le règne végétal ont été isolées. Ce sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles (**Pietta, 2000 ; Peluso, 2006**). Depuis long temps, les flavonoïdes retenu l'attention, en particulier à cause de leurs propriétés antioxydants. Ils sont aussi connus comme inhibiteurs de différentes espèces oxydantes (OH., DPPH., O₂⁻). Par ailleurs, de nombreux articles ont été consacrés à l'efficacité de ces composés pour l'inhibition de la peroxydation des lipides (**D'Archivio et al., 2007**).

I.2.2. Les alcaloïdes

Ce sont des substances d'origine biologique et le plus souvent végétale, éventuellement reproductibles par synthèse, azotées, de réactions alcalines plus ou moins prononcées et douées à faible dose de propriétés pharmacodynamiques marquées. Les alcaloïdes renferment toujours du carbone, de l'hydrogène et de l'azote, et le plus souvent, en plus, de l'oxygène (exceptionnellement quelques alcaloïdes contiennent du soufre). Leurs propriétés pharmacologique sont généralement variées et dépendent de leurs composantes chimiques soit une action hypertenseur, antibiotique, antiparasitaire, anthelminthique ou antitumorale (**Burda et Oleszek, 2001**).

I.2.3. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles, sont des substances volatiles, liquides à température ambiante, de nature hydrophobe, rarement colorées, et fortement odorantes. Elles ont un indice de réfraction élevé, peu miscibles à l'eau, et solubles dans les solvants organiques (**Bruneton, 1999**). Ce sont une bonne source de plusieurs composés bioactive, qui possèdent des propriétés antioxydants et antimicrobiennes (**Tongnuachan et Benjakul, 2014**).

I.2.3.1. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges de composition chimique très variable et complexe, en effet, elles peuvent renfermer jusqu'à plusieurs centaines de molécules différentes, chacune ayant des propriétés particulières. Ces molécules appartiennent généralement à deux grandes familles chimiques (**Brada et al., 2007**).

a) Les terpènes

Une famille très diversifiée tant au niveau structural que fonctionnel. On rencontre dans les huiles essentielles principalement des mono et des sesquiterpènes (possèdent respectivement 10 et 15 atomes de carbone) plus rarement des di-terpènes (20 atomes de carbone) ainsi que leurs dérivés oxygénés (**Brada et al., 2007**). Les terpènes possèdent des propriétés pharmacodynamiques très variées, en relation avec les différentes fonctions liées au squelette terpénique (**Paris et Moyse, 1965**). La synthèse d'une grande variété de terpènes, cycliques et non cycliques, dans les plantes, fait intervenir un nombre variable d'éléments isopréniques où se trouvent des liaisons " tête-tête " et " queue-queue " (**Paris et Moyse, 1965**). Suivant le nombre entier d'unité pentacarbonés (C5) x n ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiène, on peut les classer en :

- pour n = 2 : les monoterpènes (C10)
- pour n = 3 : les sesquiterpènes (C15)
- pour n = 4 : les diterpènes (C20)
- pour n = 5 : les sesterpènes (C25)
- pour n = 6 : les triterpènes (C30)
- pour n = 8 et le caoutchouc naturel : les polyterpène

b) Les composés aromatiques

Dérivés du Phényl-propane tel que l'eugénol (huile essentielle de girofle), l'anéthol et l'aldéhyde (huile essentielle de Badiane et d'anis), le carvacrol (huile essentielle d'origan), l'acide et l'aldéhyde cinnamiques. Ceux-ci constituent les principaux membres de cette famille (**Brada et al., 2007**). Les huiles essentielles peuvent contenir des composés aliphatiques plus ou moins fonctionnalisés, à noter que pour une même espèce botanique, en fonction de différentes conditions (sol, ensoleillement, saison, partie de plante) peut fournir des huiles essentielles avec des compositions différentes, ces variations génèrent la notion de chémotype (**Brada et al., 2007**).

I.2.3.2. Chémotype des huiles essentielles

C'est une classification chimique, biologique et botanique qui désigne la molécule majoritairement présente dans une huile essentielle (**Bruneton, 1999**). Cette classification ou chémotype selon **Brada et al., 2007** dépend d'un certain nombre de facteurs, entre autres :

- Le mode de culture de la plante.
- Le stade de développement botanique : pendant ou après la floraison L'organe distillé.
- Le mode d'extraction utilisé tel que la distillation ou l'hydro-distillation.
- L'origine géographique de la plante.

I.2.3.3. L'utilisation des huiles essentielles

En médecine traditionnelle, les huiles essentielles sont utilisées pour aider à la désinfection, à la cicatrisation ou au traitement des traumatismes, et également en complément d'un traitement médical chronique (**Lardy et Haberkorne, 2007 ; Garnier et Delamarre, 2002**).

La diversité de la composition chimique des huiles essentielles explique leur usage très vaste, en effet se sont utilisé dans de nombreux secteurs surtout dans l'industrie cosmétique (parfums, crèmes) grâce à leur odeur agréable (**Montes et Carvajal, 1998**). Certains composés chimiques isolés à partir d'une huile essentielle constituent des matières premières pour la synthèse d'autres substances odorantes, à titre d'exemple : à partir de l'eugénol extrait de l'huile essentielle de girofle on aboutira à l'iso eugénol qui a une odeur d'œillet (**Montes et Carvajal, 1998**) et l'utilisation du safrôle pour la synthèse de l'héliotropine utilisée en parfumerie (**Bruneton, 1999**).

les huiles essentielles et leurs composants, actuellement employés comme arômes alimentaires, sont également connus pour posséder des activités antioxydants et antimicrobiennes sur plusieurs bactéries responsables de la pollution des aliments et pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaires (**Kim et al., 1995**).

Les huiles essentielles ont également des propriétés fongicides (**Mahadevan, 1982**) être efficaces contre les moisissures responsables de la détérioration des denrées alimentaires lors de leur stockage.

I.2.3.4. Caractérisation des huiles essentielles

De nombreux facteurs peuvent modifier les essences provenant du végétal. Les huiles essentielles sont des composés très altérables car ils renferment des composés oxydables sous l'action de l'air et de la lumière (**Djeddi, 2012**). Ils s'altèrent en se résinifiant, ce qui entraîne

une modification du parfum, leur saveur et leur constantes physiques et chimiques en les rendant impropres à l'utilisation (**Djeddi, 2012**). La normalisation des huiles essentielles concerne:

- Les propriétés organoleptique: odeur, couleur, aspect, saveur ;
- Les caractéristiques chimiques: indice d'acide et d'ester ;
- Le profil chromatographique et la quantification relative des différents constituants.

I.3. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ...), de la nature des composés (les huiles essentielles, huiles lourdes....) (Marie, 2005). Le rendement en huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées ; Les principales méthodes d'extraction sont :

- Hydrodistillation
- Entraînement à la vapeur d'eau
- Hydrodiffusion
- Extraction par du CO₂ supercritique
- Extraction assistée par micro-onde
- L'expression à froid
- L'extraction par solvants volatils

I.3.1. Hydro distillation

Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotrope (Marie, 2005). Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger.

Les eaux aromatiques ainsi prélevées sont ensuite recyclées dans l'hydrodistillateur afin de maintenir le rapport plante/eau à son niveau initial. La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait (Marie, 2005).

I.3.2. Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct de l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous

l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique: l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (**Martini et Seiller, 1999**).

I.3.3. Hydro diffusion

L'hydro diffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Cette technique relativement récente et particulière. Elle exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale (**kim et al., 2002**).

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils, et de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur (**kim et al., 2002**).

I.3.4. Extraction par du CO₂ supercritique

La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide et la séparation dans le domaine gazeux. Le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Il est ensuite injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, puis le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant. L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. De plus les températures d'extraction sont basses dans le cas de dioxyde de carbone et non agressives pour les constituants les plus fragiles. Cette technique est utilisable pour les essences difficilement distillables (**Martini et Seiller, 1999**).

I.3.5. Extraction assistée par micro-onde

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelée Vacuum Microwave Hydro distillation (VMHD). Cette technique d'extraction a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques. Le procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale broyée en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les microondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires.

L'ensemble est chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement. L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et d'obtenir un bon rendement d'extrait (Wang et al., 2006).

I.3.6. L'expression à froid

Le procédé d'extraction par expression à froid est assurément le plus simple mais aussi le plus limité. Il est réservé à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes des hespéridés ou encore d'agrumes qui ont une très grande importance pour l'industrie des parfums et des cosmétiques. Cependant ce sont des produits fragiles en raison de leur composition en terpènes. Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices. L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau et reçoit tout le produit habituel de l'entraînement à la vapeur d'eau (Anton et Lobstein, 2005).

I.3.7. L'extraction par solvants volatils

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Les solvants les plus utilisés sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait.

Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits contiennent des composés volatils et de bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances (Hubert et al., 1992).

I.4. *Artemisia herba alba* Asso

I.4.1. Le genre *Artemisia*

La famille des Asteraceae englobe un grand nombre de plantes différentes parmi lesquelles ; l'armoise ou le genre *Artemisia* qui comprend plus de 400 espèces, réparties dans le monde (Bencheqroun et al., 2012). Ces espèces ont été utilisées dans la médecine traditionnelle depuis les périodes antiques comme agents analgésiques, antibactériens, anti-plasmodique, anti-diarrhéique et diurétique (Ahmed et al., 1990). Plusieurs extraits et huiles essentiels sont incorporés dans les pharmacopées de plusieurs pays grâce à leurs activités biologiques antimicrobiennes et antioxydantes (Bouldjadj, 2009 ; Lim et al., 2013).

I.4.2. Espèce *Artemisia herba alba* Asso

A. herba alba (Armoise blanche, "Chih") est une plante aromatique et médicinale à large distribution dans les régions semi-aride et aride appartenant à la famille des Astéracées (Quézel et Santa, 1962). L'utilisation de cette espèce est patronnée dans la restauration des écosystèmes dégradés. Cette plante se caractérise par un polymorphisme morphologique très important en relation avec les conditions écologiques locales (Figure 1) (Chaieb, 2000).



Figure 1: La plantet *Artemisia herba alba* Asso (Bouldjadj, 2009).

I.4.2.1. Dénominations

Artemisia est le nom du genre des armoises, il provient de celui de la déesse grecque de la chasse Artémis selon **Abass, 2012**; herba-alba signifie herbe blanche son nom scientifique est Artemisia herba-alba asso.

- **Nom en arabe** : Chih, elkayssoum, chih elkarssani
- **Nom tamazight** : Ifsi
- **Noms en français** : Armoise blanche
- **Noms en anglais** : Desert worm wood on white worm wood

I.4.2.2. Taxonomie :

Classification botanique de l'Artemisia herba-alba asso (**Friedman et al., 1986**).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	Artemisia
Espèce	Artemisia herba alba (Asso)

I.4.2.3. Description botanique

L'A. herba alba est une plante herbacée vivace de 30-50 cm de long, qui se caractérise par une odeur de thymol, très verdoyante et avec de jeunes branches tomenteuses. Les feuilles sont courtes, généralement pubescentes, argentées. Les fleurs sont hermaphrodites, emballés dans des petites capitules (comprenant chacun de 3 à 8 fleurs) sessiles et en bottes et les fruits sont des akènes. La croissance végétative de l'A. herba alba à lieu à l'automne, la floraison commence en Juin et se développe essentiellement en fin d'été (**Gharabi, 2008**).

I.4.2.4. Ecologie

L'Artemisia herba-alba existe dans des bioclimats allant du semi-aride jusqu'au saharien (entre les isohyètes de 150 à 500 mm). Elle semble indifférente aux altitudes et peut vivre dans des régions d'hiver chaud à frais. Par ailleurs, cette espèce est abondante dans le centre sur des sols, à texture fine, assez bien drainées (marnes, marno-calcaires en pente). Dans le sud, elle pousse sur des sols bruns steppiques de texture moyenne et en extrême sud sur des sols sableux. L'armoise résiste à la sécheresse, supporte le gypse et des niveaux de salinité modérément élevés. Dans un type de biome steppique, les groupements d' A. herba alba sont marqués par deux strates : une strate de ligneux bas (environ 40 cm du sol) et une autre constituée d'herbacées annuelles (hauteur moyenne de 20 cm) (Nabli, 1989).

I.4.2.5. Usage traditionnelle

L'espèce A. herba-alba appelée localement « chih » ou armoise blanche est largement utilisée en médecine traditionnelle. Elle a été utilisée, tout d'abord, comme aromatisant dans le thé et le café, puis elle est devenue une panacée dans la médecine traditionnelle arabo-musulmane pour traiter les désordres gastriques, elle présente aussi un caractère vermifuge très prisé pour le bétail. Des études ethnopharmacologiques ont montré l'intérêt de l'armoise blanche contre le diabète grâce à son activité hypoglycémiante, ainsi que contre l'hypertension, et également la présence d'activité emménagogue. Les extraits aqueux d'armoise blanche montrent des activités antileishmaniose, antigénotoxiques, antidiabétiques, antibactériennes et antispasmodiques par contre l'huile essentielle présente quelques activités antimicrobiennes, antifongiques, spasmolytiques et hypoglycémiques (Marrif et al., 1995 ; Bellakhdar, 1997).

I.4.2.6. Composition chimique

L' Artemisia herba-alba constitue un fourrage particulièrement intéressant. En effet, la plante présente un taux de cellulose beaucoup moins élevé bien que son aspect extérieur indique l'inverse (17 à 33%). La matière sèche (MS) apporte entre 6 et 11% de matière protéique brute dont 72% est constituée d'acides aminés (Fenardji, 1974 ; Saleh, 1985) et d'autres composants phytochimique (Tableau I).

Tableau I : Composants phytochimiques de l'Artimisia herba alba Asso.

Nature du composé	nom du composé	Références
Flavonoïdes	des flavones glycosides : <ul style="list-style-type: none"> • 3-rutinoside- quercétine • l'isovitexine 	(Saleh, 1985).
Terpènes	<ul style="list-style-type: none"> • thujone (monoterpène lactone), • le 1,8-cinéol • thymol. 	(Duke, 1992)
Les huiles essentielles	<ul style="list-style-type: none"> • p-cymène • camphre • 1,8-cinéole • davanone • γ-terpinène, et • myrcène • α, β-thujone • sabinène • chrysanthénone 	(Feuerstein et al., 1986) (Hudaib et Aburjai, 2006) (Nezhadali et al., 2008) (Haouari eFerchichit, 2009) (Dob et Benabdelkader, 2006)

I.5. Présentation de la zone d'étude

I.5.1 .Localisation géographique

La région de Bordj Bou Arreridj est située dans le secteur nord-est de l'Algérie entre 39° 23' et 40°47' de l'altitude Nord et 1°92' et 2°90' de longitude Est. Elle occupe une superficie de 4,115 Km² et se situe à plus de 900 mètres d'altitude (**Maouche et al., 2003**). Elle est limitée au nord par Bejaia, au sud par M'sila, à l'ouest par Bouira et à l'est par Sétif (**C.F.B.B.A, 2011**).

I.5.2. Les Facteurs abiotiques de la région d'étude

Les facteurs abiotiques de la région d'étude sont les facteurs pédologiques et les facteurs climatiques.

- **Les facteurs Pédologiques**

Selon Maouche et al (2003), le territoire est occupé majoritairement par des parcelles agricoles représentées par des sols de couleur noir, profonds et caractérisés par un taux élevé d'argile qui offre une image de terre grasse et riche.

- **Facteurs climatiques**

Le climat est un facteur principal qui joue un rôle fondamental de contrôle de la distribution des êtres vivants et de la dynamique des écosystèmes (**Leveque, 2001**). Les caractéristiques climatiques de la région d'étude, sont représentées par les variations mensuelles des températures, des précipitations, et les vents.

- La température et les autres facteurs climatiques ont des actions multiples sur la physiologie et sur le comportement des insectes (**Dajoz, 2007**). Une étude en 2012 a montré que le mois le plus chaud est aout avec une température moyenne égale à 29,9°C. Et le plus froid est Février avec une température moyenne de 4,3°C.

- La pluviométrie constitue un facteur écologique d'importance fondamentale pour le fonctionnement et la répartition des écosystèmes (**Ramade, 1984**). Le total des précipitations en 2012 est égal à 302,8mm. Le mois le plus pluvieux est novembre avec 63mm et le plus sec est juin avec 2mm.

- Le vent est un facteur écologique qui est souvent sous-estimé dans l'étude du fonctionnement des écosystèmes (**Leveque, 2001**). Il intervient dans le transport des insectes sur plusieurs milliers de kilomètres de distance (**Leveque, 2001**). La région de Bordj Bou Arreridj est généralement traversée par des vents de direction Nord- Ouest et de Sud-est

pendant la grande partie de l'année, tandis que les vents venant de Sud (sirocco) sont fréquents en été.

L'étage bioclimatique d'une région ainsi que sa période de sécheresse, ne peuvent être déterminés qu'à partir de la synthèse entre deux paramètres climatiques tels que la température et la pluviométrie. Le diagramme ombrothermique de Gaussen est utilisé pour mieux caractériser le climat d'une région donnée et notamment pour faire ressortir les périodes sèches et humides. Dans la région de Bordj Bou Arreridj, il est à remarquer la présence de deux périodes, une sèche qui débute de la mi-avril jusqu'en octobre. Les autres mois de l'année correspondent à la période humide (**Figure 2**).

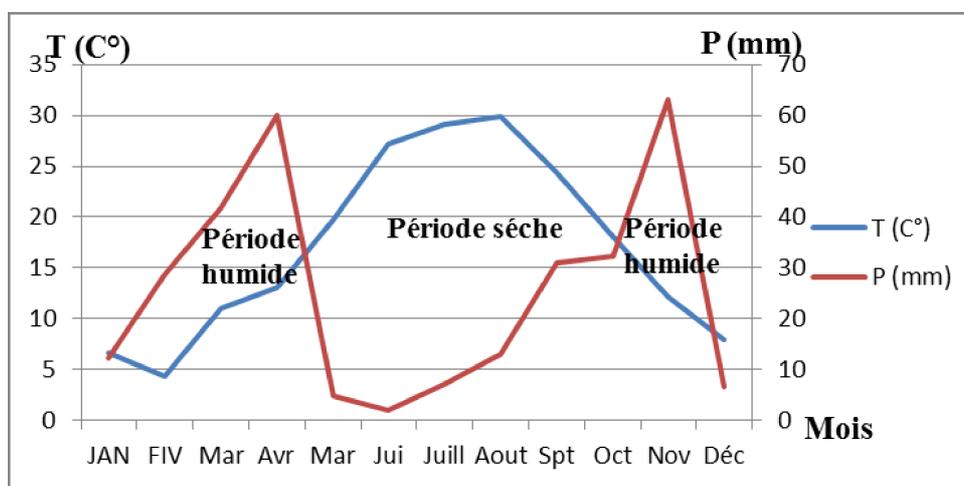


Figure 2 : Diagramme ombrothermique de la région de Bordj Bou Arreridj (C.F.B.B.A, 2011).

I.5.3. Les Facteurs biotiques de la région d'étude

- **La flore et la faune**

La flore de la région d'étude est caractérisée par une richesse forestière de plus de 21% de la superficie totale. Elle est concentrée principalement à l'ouest et au nord de la région. Les essences principales qui composent le fond forestier sont : Le Pin d'Alep (64,464 ha), le Chêne vert (17,019 ha), l'Eucalyptus (1,183 ha) et le cèdre (500 ha) (C.F.B.B.A, 2011). Une grande zone steppique est occupée par l'armoise et l'Alpha, soit 20000 hectares. La faune de la région est très diversifiée. Elle regroupe les insectes, les mammifères, les oiseaux et les poissons. Dans ce qui va suivre, les données faunistiques qui caractérisent la région d'étude sont traitées (C.F.B.B.A, 2011).

II .Matérielle et méthode

II.1. Matériels

II. 1.1. Matériel végétal

La récolte du matériel végétal a été effectuée au mois de Mars 2016 à Mansoura wilaya de Bordj Bou-Arredj, Algérie. L'identification botanique de l'espèce a été effectuée par Pr GHARZOULI Rachid. Université Ferhat Abbas, Sétif.

II.1.2. Produit chimique et appareillage

Tous les réactifs chimiques utilisés dans cette étude proviennent de Sigma (Allemagne) de Fluka (France), Merck, (Germany) et Becton Dickinson (USA).

Parmi l'appareillage utilisé ; Rota-vapeur (Germany, BÜCHI461), Agitateur magnétique (GP SELECTAS ACE), Bain marie (Memmert), Etuve (Memmert), Autoclave, Spectrophotomètre visible. Bec benzène, Balance à précision (Kern), la hote (EQUIPLABO), Vortex (Top Mix).

II.1.3. Souches bactériennes utilisées

Une souche fongiques *Fusarium oxysporum* et trois souches bactériennes de référence-*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*. ont été obtenus auprès des laboratoires de Phytopathologie et Microbiologie.

II.2. Méthodes

II.2.1. Extraction des huiles essentielles

II.2.1.1. Préparation du matériel végétal

La plante a été séchée pendant deux semaines. Une fois séchée le matériel végétal a été broyé, puis conservés à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur jusqu'à son utilisation.

II.2.1.2. Extraction des l'huiles essentielles (HEs)

L'extraction des HES a été effectuée par hydro distillation dans un Clevenger. 200 g de matériel végétal sec a été mélangés avec un litre d'eau dans un ballon de deux litres surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant. Trois distillations ont été réalisées par ébullition, pendant 3heure, Le rendement en HEs est exprimé par le volume d'huile (en millilitre) obtenu pour la masse 100 g de matière végétale sèche. HEs ont été conservé à 4 °C à l'obscurité (**Figure 3 et 4**).



Figure 3: L'extraction des HES par hydrodistillation (clevenger). (a) Huiles essentielles d'Artemisia herba alba (b) phase aqueuse.

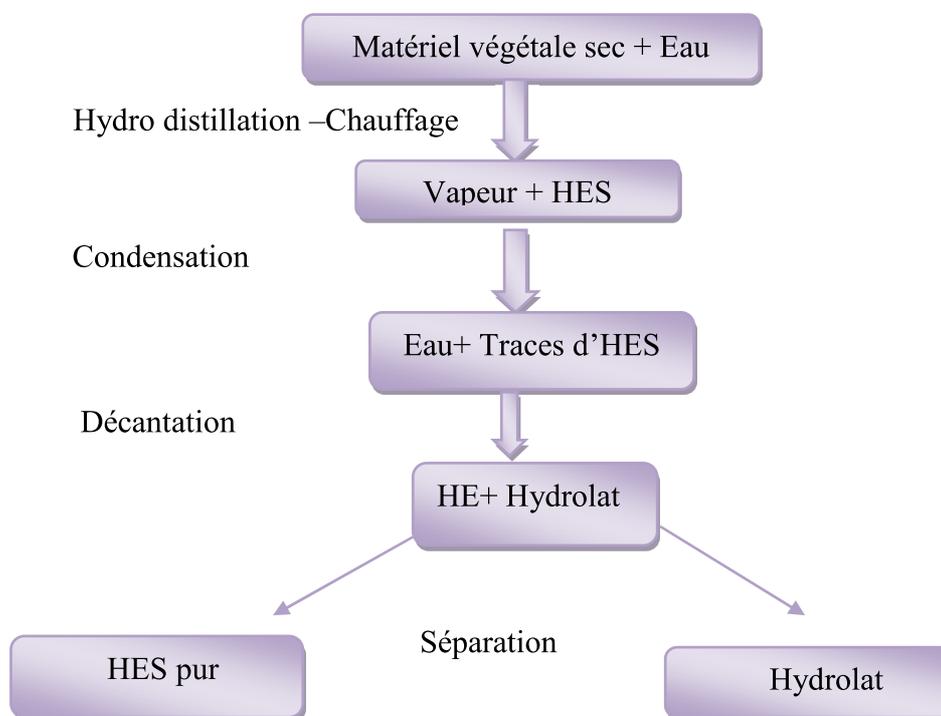


Figure 4: Procédé d'extraction d'huile essentielle (Belkhiri, 2015)

II.2.1.3. Calcul du rendement

Le rendement en huiles essentielles (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse des huiles essentielles obtenue après l'extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Le rendement est exprimé en pourcentage selon AFNORNF.

$$\text{RHE}(\%) = \text{M}'/\text{M} \times 100$$

- **RHE** : Rendement en huile essentielle en %.
- **M'** : Masse des huiles essentielles en gramme.
- **M** : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

II.2.2. Étude des activités biologiques

II.2.2.1. Activité antioxydante

II.2.2.1.1. Teste de DPPH

L'activité anti-radicalaire de l'HE d'*A. herba alba* est évaluée, in vitro, par le test de DPPH. a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm (Cuendet et al., 1997).

Pour cela, 500 µl de chacune des différentes concentrations des extraits ont été incubés avec 500 µl d'une solution méthanolique de DPPH à 0.1 mM. Après une période d'incubation de 30 minutes, les absorbances à 517 nm ont été enregistrées. Les résultats obtenus ont été exprimés par rapport à ceux obtenus pour le BHT pris comme antioxydant de référence. Le pourcentage d'inhibition (% I) du radical DPPH par les extraits a été calculé comme suit:

$$\% I = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

AC : absorbance en absence (contrôle négatif)

AE : absorbance en présence de piègeur des radicaux libres (échantillon)

Le graphique de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des huiles essentielles permet de déterminer le IC50 (autrement appelée EC50, concentration correspondant à 50 % d'inhibition et qui constitue l'activité antioxydante des

huiles essentielles). Cette valeur est comparée à celle trouvée pour le composé de référence (BHT).

II.2.2.1.2. Test de blanchissement du β -carotène

Le mécanisme de blanchiment de β -carotène est un phénomène à médiation des Radicaux libres (RLs) résultant d'hydro peroxydes formés à partir d'acide linoléique, ces RLs vont par la suite oxyder le β -carotène, en entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivi spectrophotométriquement à 490 nm. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les RLs dérivés de l'acide linoléique et/ou inhibé l'oxydation donc prévenir le blanchissement du β -carotène (Naidu et al., 2011).

Brièvement, 2mg de β -carotène dissous dans 1ml de chloroforme ont été introduit dans un ballon contenant 2mg d'acide linoléique et 200mg de Tween40. Après l'évaporation complète du chloroforme, 100ml d'eau distillée saturée en oxygène ont été ajoutés au mélange réactionnel avec agitation. 2.75ml de cette solution sont alors transférés dans des tubes qui contiennent 250 μ l des huiles essentielles (2mg/ml) et du témoin BHT sont ajoutés. L'absorbance a été mesurée immédiatement pour le BHT à 490nm. Par contre les huiles essentielles ont été d'abord incubées au bain marie à 50 C°, les lectures d'absorbances ont été effectuées chaque 2h pendant 15min à 490 nm (Tepe et al., 2006).

L'activité antioxydante (relative AAR) des huiles essentielles est calculée après 2h selon l'équation suivante :

$$AA\% = 1 - [(A_0 - A_t) / (A_0^\circ - A_t^\circ)] * 100$$

Où

AA% : activité anti-oxydante relative.

A_0 : absorbance au temps 0 min test.

A_t : absorbance au temps 120 min test.

A_0° : Absorbance au temps 0 min du contrôle négatif.

A_t° : Absorbance au temps 120 min du contrôle négatif.

II.2.2.2. Activité antifongique

La souche fongique *Fusarium exsporium* été obtenue auprès du laboratoire de phytopathologie de l'université de BBA. La culture de cette espèce fongique a été maintenue

dans le milieu Potato Dextrose Agar (PDA : 200 g de pomme de terre, 20 g de glucose, 20 g d'agar-agar, 1000 ml d'eau distillée) inclinée et conservée à une température de 4°C.

L'évaluation de l'activité antifongique des HES contre la *Fusarium exsporium* a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu solide. Le pourcentage d'inhibition est estimé selon la méthode de **Fandohan et al (2004)**.

Brièvement une solution mère des huiles essentielles a été préparées, à fin de préparer des dilutions de 1, 0,5, 0,25, 0,05, et 0,01%, ces dilutions sont alors incorporées séparément dans des tubes contenant 15ml du milieu PDA maintenu en surfusion. Chaque tube est homogénéisé instantanément par agitation manuelle puis son contenu est coulé dans une boîte de pétri. À l'aide d'une anse platine stérile des disques de mycéliens de diamètre de 6mm prélevé de la culture jeune du mycète a été inoculé. Ces derniers ont été déposés dans les milieux préparés préalablement avec des dilutions des huiles essentielles.

La lecture des résultats a été effectuées après 48 heures d'incubation à (25 ± 2) °C pendant 7 jours par mesure du diamètre de la zone de croissance. Parallèlement, le diamètre de la zone de croissance de ces mêmes souches fongiques en absence HES (Témoin) été déterminé. Les résultats obtenus sont comparés par rapport au témoin.

L'effet antifongique des HES sur la croissance des souches filamenteuses est déterminé par la mesure des taux d'inhibition de la croissance en utilisant la formule d'Ebbot (**Motiejūnaitė, 2004**):

$$T = (Dk - D0) / Dk \times 100$$

- **Dk** : Diamètre de la colonie fongique du témoin (en mm)
- **D0** : Diamètre de la colonie fongique en présence de l'extrait (en mm)
- **T** : Taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage

L'huile est dite:

- Très actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 75 et 100 %, la souche fongique est dite très sensible.
- Actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 50 et 75 %, la souche fongique est dite sensible.
- Moyennement actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 25 et 50%, la souche est dite limite.
- Peu ou pas actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 0 et 25%, la souche est dite peu sensible ou résistante.

II.2.2.3. Activité antibactériennes

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu solide (Mighri et al., 2010) en utilisant deux milieux de culture:

- **Gélose nutritive:** utilisé pour l'obtention des souches jeunes
- **Milieu mueller Hinton:** utilisé à l'étude antibactérienne de HES

II.2.2.2.1. Méthode de diffusion en milieu solide

a) Ensemencement et incubation

La méthode de diffusion a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antibactérienne. Une suspension bactérienne de 18 à 24 heures de chaque souche bactérienne est préparée avec l'eau physiologique (NaCl).

Des boîtes de Pétri contenant la gélose de Mueller Hinton à raison de 15ml par boîte laissées refroidir et solidifier sont inoculées. Ensuite étalé à la surface du milieu de culture à l'aide d'un écouvillon. A l'aide d'une pince stérile, prélever un disque a la surface de chaque boîte on dépose 3disques de papier filtre (Whatman) stériles de 6 mm de diamètre imbibés par 10 µl de différentes concentration des huiles essentielles supplémentée de DMSO (HE, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 et DMSO). Les boîtes Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser et mises à l'étuve à une température de 37C° pendant 24 heures. Après 24 heures d'incubation, une zone ou un halo clair est présent autour du disque si l'huile essentielle inhibe le développement microbien (**Figure 5**).

Dans la technique de diffusion il y a une compétition entre la croissance de la bactérie et la diffusion du produit à tester (Guinoiseau, 2010).

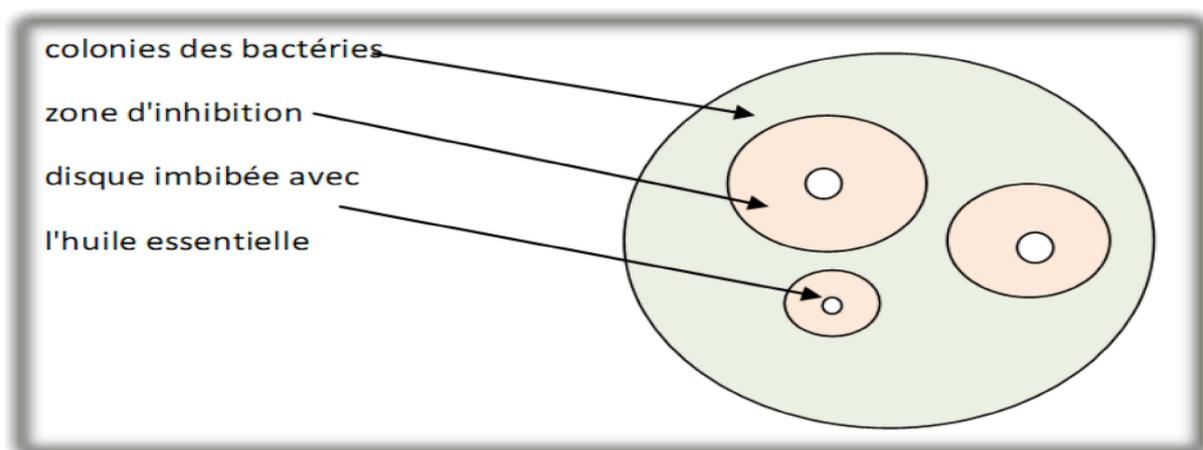


Figure 5: Méthode de diffusion sur disque

b) Lecture de l'aromatogramme

L'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibitions de la croissance microbienne autour des disques contenant l'extrait à tester.

Le résultat de cette activité est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibitions et peut être symbolisés par des croix selon **Ponce et al., 2003**. La souche ayant un diamètre :

- $D < 0.8\text{cm}$: Souches résistante (-).
- $0.99\text{cm} \leq D \leq 1.4\text{cm}$: Souches sensible (+).
- $1.5\text{cm} \leq D \leq 1.9\text{cm}$: Souches très sensible (++).
- $D > 2\text{ mm}$: Souches extrêmes sensible (+++).

II.3. Analyse statistique

L'étude statistique a été réalisée par le logiciel statistique origine V 2015. Tous les essais ont été réalisés en triple, les résultats sont exprimés en moyen \pm SD. Les résultats sont analysés par le test Anova univarié suivi du test Dunnet/Tukey pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les valeurs de $p < 0.001$ sont considérées significatives.

III. Résultats et discussion

III.1. Détermination de rendement d'extraction :

Selon la norme **AFNOR (1986)**, le rendement en huile essentielle (RHE), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Il est donné par la formule suivante:

$$RHE = M'/M.100$$

RHE : Rendement en huile essentielle en%.

M' : Masse d'huile essentielle en gramme.

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

Le rendement moyen obtenu des huiles essentielles extraites de la plante *Artemisia herba-alba* étudiée est de l'ordre de 1,2% de couleur jaune clair et d'une forte odeur aromatique (Tableau II) Ce pourcentage est relativement supérieur à celui des HES extraites de la même espèce récoltée dans la région de Matmata en Tunisie (0,65%) (**Akrout, 2004**), de Biskra (0,95%) (**Bezza et al., 2010**) et de M'sila (1,02%) (**Dob et Benabdelkader, 2006**) en Algérie. Il est sensiblement inférieur à celui de la Jordanie (1,3%) (**Hudaiba et Aburjai, 2006**). Par contre, le taux de rendement des HES de l'espèce *Artemisia herba-alba* varie au Maroc ; il est entre 0,56% et 1,23% (**Ghanmi et al., 2010**). Ces différences sont dues à plusieurs facteurs : l'origine géographique, les facteurs écologiques notamment climatiques (la température et l'humidité), l'espèce végétal elle-même, l'organe végétal, le stade de la croissance, la période de la récolte, la conservation du matériel végétal et la méthode d'extraction (**Belkhiri, 2015**).

Tableau II : Caractères organoleptiques

Origine d'HE	Caractères organoleptiques		
	Couleur	Odeur	Aspect
Artemisia herba Alba	Jaune clair	Forte odeur rappelant l'odeur des feuilles	

III.2. Activité antioxydant

III.2.1. Test anti radicalaire DPPH

Le test DPPH a été choisi, en raison de sa simplicité, rapidité, sensibilité et de sa reproductibilité, L'activité anti radicalaire des huiles essentielles d'Artemisia vis-à-vis le radical DPPH a été suivie spectrophotométriquement à 517 nm, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par le changement de couleur du violet au jaune, cette décoloration représente donc la capacité d'échantillon de piéger ce radical.

Les résultats de l'activité anti-radicalaire peuvent être exprimés en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$\%I = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle.

At : Absorbance du test.

Selon les résultats enregistrés, les huiles essentielles de l'armoise blanche est douée un pouvoir antioxydant importante ; le graphe trace une courbe exponentielle avec la présence d'une phase stationnaire qui définit la réduction presque totale du DPPH en sa forme non radicalaire (**Figure 6**).

L'huile essentielle de l'Artemisia herba alba exercent une Activité anti radicalaire assez substantielle avec des IC50 de l'ordre de 15,82±1,41 µg/ml En comparaison à l'activité de l'antioxydant standard, le BHT (IC50 de 7,84±0,37µg/ml), ces huiles sont 2 fois moins actives. La différence entre l'activité des huiles et le BHT sont statistiquement non significative (p < 0.001) (**Figure 7**).

En effet, il a été démontré que les constituants responsables de l'activité antioxydante des huiles essentielles sont généralement des composés oxygénés comme les phénols, les alcools et les cétones (**Bourgou et al., 2008**).

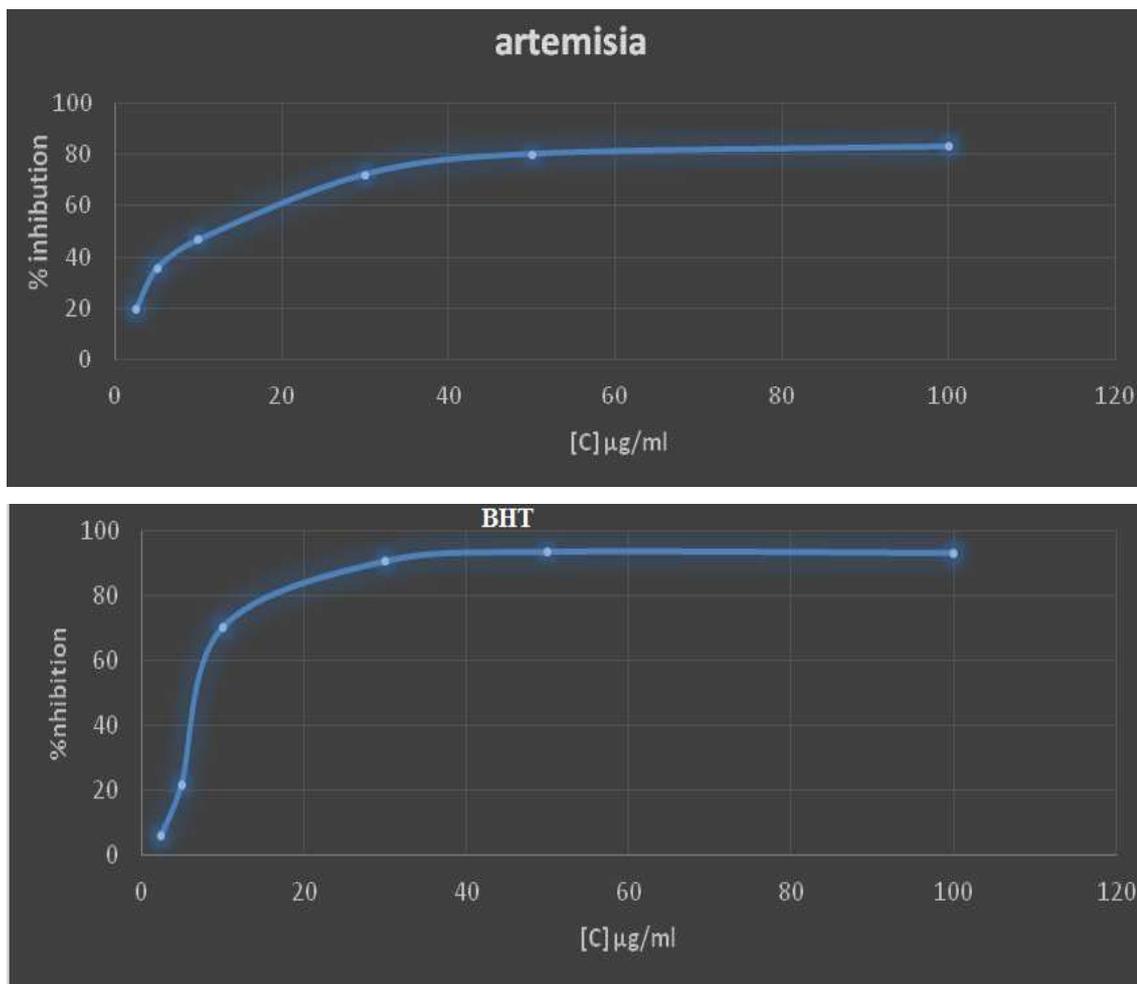


Figure 6: Pourcentage d’inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des huiles essentielles d’Artemisia et du BHT. Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais \pm SD



Figure 7: L'activité anti-radicalaire (IC_{50}) des huiles essentielles d'*Artemisia* et du BHT. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

III.2.2. test du blanchissement de B-carotène

L'oxydation d'acide linoléique génère des radicaux libres qui vont par la suite oxyder la β -carotène hautement insaturé, ce qui conduit à la disparition de sa couleur orangée. Cependant la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement de β -carotène (**Gachkar et al., 2007**).

La cinétique du blanchissement de β -carotène en présence et absence des huiles essentielles et L'activité antioxydant relative (AAR%) sont présentés dans les **Figures (8 et 9)**

Les résultats de ce test et les analyses statistiques montrent que les absorbances de l'émulsion de β -carotène/acide linoléique en présence des huiles essentielles avec une concentration de 2 mg/l sont significativement ($P < 0,001$) plus élevées que celles du contrôle négatif. Au temps 0, l'absorbance de la solution du β -carotène en absence des huiles essentielles (contrôle négatif) est de $0,83 \pm 0,007$. Cette absorbance diminue après 2 heures d'incubation jusqu'à $0,209 \pm 0,003$, alors qu'en présence des huiles essentielles de l'armoise blanche les absorbances diminuent de $0,98 \pm 0,007$ jusqu'au $0,49 \pm 0,029$; Ce qui confirme que les huiles essentielle ont un pouvoir substantiel d'inhiber l'oxydation couplée de β -carotène/acide linoléique et avec des pourcentages de 36,35. Cette activité reste significativement inférieure à celle de BHT qui a donné un pourcentage d'inhibition de 84,17% avec une absorbance de $1,05 \pm 0,009$ au temps 0 et $0,942 \pm 0,025$ après 2 heures (**Figures 8 et 9**). En comparaison avec une autre étude, l'huile essentielle de *l'Artemisia herba alba* a une capacité antioxydante élevée (36,35) par rapport aux travaux de **Khebri Souad (2011)** où ils ont enregistrés une valeur proche de 33,84 %.

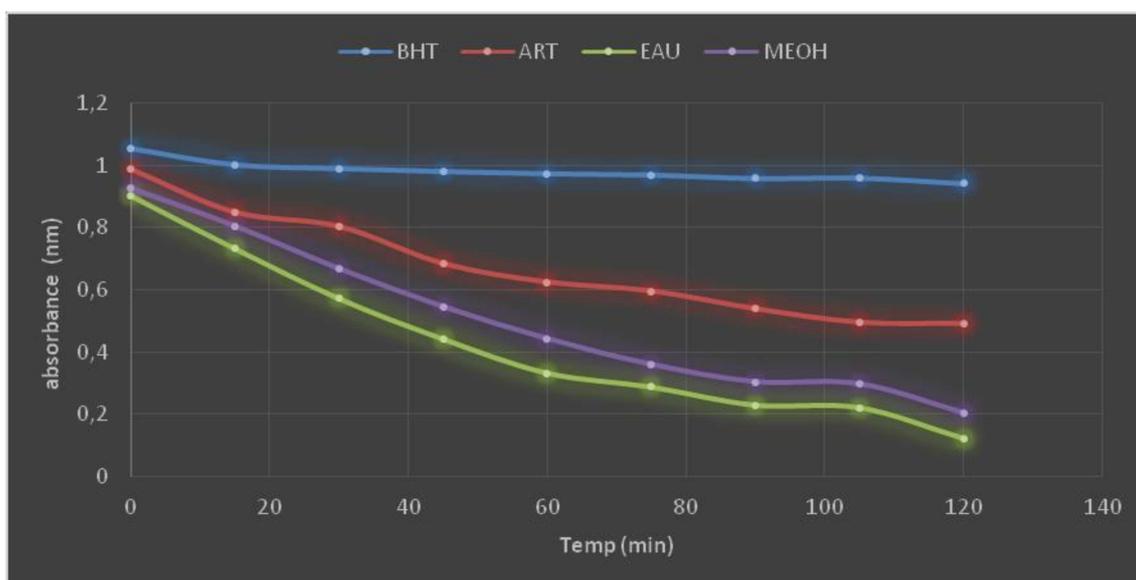


Figure 8 : Cinétique du blanchissement de β -carotène en présence et en absence des huiles essentielles.



Figure 9: Activité anti-oxydante relative des huiles essentielles de *l'Artemisia herba alba* Asso, BHT et le contrôle négatif.

L'activité antioxydante des huiles essentielles de *l'Artemisia herba alba* Asso semble être attribuée aux composés phénoliques particulièrement le thymol qui possèdent un groupement hydroxyle OH a une grande aptitude de donner un hydrogène (**Gholivand et al., 2010 ; Hazzit et al., 2009**) D'autre composés tell que les alcools (linalool, 1,2-cineol), les cétones (menthone, isomenthone), les aldéhydes (neral, geranial, citronellal), les éthers et les hydrocarbures (α -terpinène, γ -terpinène et α -terpinolene) peuvent contribuer à l'activité antioxydant des huiles essentielles en agissant par synergisme (**Edris, 2007**).

III.3. Activité antifongique

Face aux problèmes d'altération des cultures par les moisissures, beaucoup de travaux ont été menés sur le pouvoir antimicrobien des produits naturels extraits des plantes. Lors de cette étude, l'action de l'huile essentielle d'*A.herba alba* vis-à-vis la *F.exsporium* a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu solide. Après 7 jours d'incubation à 30° C, Les résultats obtenus montrent que les diamètres de croissance varient en fonction des concentrations des huiles essentielles testées (**Tableau III**) (**Figure 10**) selon **Bendahou et al., 2008** . La croissance mycélienne consiste à mesurer la croissance linéaire et diamétrale des colonies en utilisant la formule suivante :

$$L = D-d / 2$$

- L : croissance mycélienne
- D : diamètre de la colonie
- d : diamètre de l'explant

Tableau III : L'effet de d'HES d'A. herba alba sur la croissance de *Fusarium exsporium*

Concentration d'HES d'A. herba alba	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7
Témoin	0,47	1,21	1,65	2	1,96	1,90	2
0,01%	0,65	1,21	1,59	1,85	1,85	1,90	1,91
0,05%	0,28	0,53	0,81	1,15	1,42	1,75	1,86
0,25%	0	0	0	0	0,03	0,07	0,1
0,5%	0	0	0	0	0	0	0
1%	0	0	0	0	0	0	0

Les résultats montrent que la croissance est démarré après le premier jour pour les concentrations de 0,01% et 0,05%; par contre pour la concentration de 0,25%; elle démarre après le cinquième jour, au-delà de cette concentration aucune croissance n'a été observée (**Tableau III**) avec une valeur de CMI de 0,25%. Le témoin présente des résultats négatives ceci implique que l'activité antifongique est due uniquement aux substances renfermées dans les d'HES.

III.4.1. Taux d'inhibition

L'huile essentielle est dite :

- très active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 75 et 100 % ; la souche

Fongique est dite très sensible ;

- active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 50 et 75 % ; la souche

Fongique est dite sensible ;

- moyennement active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 25 et 50% ; la

Souche est dite limitée ;

- Peu ou pas active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 0 et 25% ; la

Souche est dite peu sensible ou résistante.

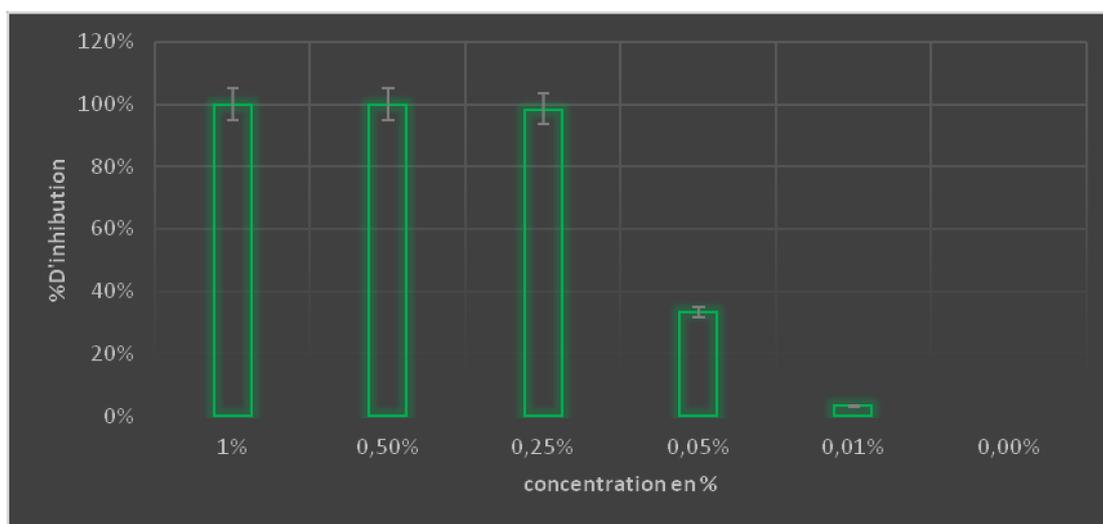


Figure 11 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne par les HES d'Artemisia herba alba Asso.

L'HEs de l'Artemisia herba alba Asso inhibe complètement la croissance de *F.oxysporum* à des concentrations égales à 1, 0.5 et 0.25%. Les variations d'inhibition de la croissance milicienne est en fonction de nombreux facteurs notamment la concentration de l'huile essentielle et la souche fongique étudiée. Les résultats obtenus dans cette étude ont montré une inhibition hautement significative ($P < 0,001$) des HES sur la croissance de *F.oxysporum*, Le témoin présente des résultats négatives ceci implique que l'activité antifongique est due uniquement aux substances renfermées dans les HES. Cette activité antifongique est liée à la substance active ; la valeur d'IC50 semble être proche à la concentration de 0.11 % des HES. Ces résultats rejoignent ceux trouvés par Kolai et ses collaborateurs (2012) qui constatent que les huiles essentielles séparés de l'Artimisia herba alba Asso montrent une activité antimicrobienne contre *F.oxysporum*.

Des études récentes ont montrés que l'importante action antifongique d'huile essentielle de la plante étudiée est en relation avec leurs fortes teneurs en terpénoïdes qui ont des effets contre les champignons (Saleh Mahmoud et al., 2006 ; Cowan, 1999).

III. 4. L'activité antibactérienne

L'examen des différentes boîtes de Pétri à révéler la présence d'un halo d'inhibition autour des disques imbibés par les différentes dilutions des huiles essentielles d'A. herba alba pour les diverses souches testées E.coli (Gram -), S.aureus (Gram+), B.cereus (Gram+)

- **Escherichia coli** C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. Escherichia coli est habituellement une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers (Nauciel, 2000).
- **Staphylococcus aureus** sont des cocci à gram positif qui tendent à se grouper en amas (Nauciel, 2000), irrégulier à la façon d'une grappe de raisin. est un germe aérobie - anaérobie facultatif (Avril et al., 2000), doit son nom d'espèce à l'aspect pigmenté de ses colonies. Il tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales, possède une coagulase, ce qui le distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques. La bactérie est très répandue chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales.
- **Bacillus cereus** en forme de bâtonnet de 1 µm de large pour 3 à 4 µm de long, sporulé, mobile grâce à une ciliature péritriche, aéro-anaérobie, responsable d'intoxications alimentaires opportunistes (Nauciel, 2000).

Après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C le pouvoir antibactérienne des huiles essentielles est obtenu par la mesure du diamètre de zone d'inhibition en (mm) à l'aide d'une règle **Tableau IV**.

Les souches bactériennes E.coli et B.cereus étudiées sont sensible à l'amoxicilline avec zone d'inhibition de 24,33±0,44 mm et 23,33±0,88 respectivement, S.aureus est révélés plus sensibles à cet antibiotique avec une zones d'inhibitions atteint 35,65±0,44 mm.

Tableau IV: Les zones d'inhibition en (mm) de la croissance des souches bactériennes E. coli, S.aureus et B. cereus.

Produits Testés / Souches bactériennes	ATB	Témoin DMSO	HES (1)	HES (1/2)	HES (1/4)	HES (1/8)	HES (1/16)
Escherichia coli	24,33±0,44	-	12,3±0,015	8,8±0,17	7,8±0,17	9±0,0	6±0,0
Staphylococcus aureus	35,65±0,44	-	31,4±0,0075	30,4±0,0	24,1±0,41	14,4±0,22	12,5±0,1
Bacillus cereus	23,33±0,88	-	23,6±0,20	22,6±0,20	9,8±0,202	8,6±0,11	6±0,0

(-): pas d'inhibition, **DMSO**: témoin, **ATB**: antibiotique, **HES**: les huiles Essentielles

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *l'Artemisia*, évaluée par la méthode de diffusion, a permis de révéler une activité importante sur la croissance de *S. aureus* (diamètre d'inhibition 30 mm, dilution 1/2) et *B. cereus* (diamètre d'inhibition 22 mm, dilution 1/2), alors que son activité vis-à-vis des souches de: *E. coli*, été limitée à des diamètres d'inhibition de 8 mm à la dilution 1/2. La plus grande activité inhibitrice des huiles essentielles a été remarquée lorsque ce dernier est non diluer avec des zones d'inhibition atteint 31,4mm, 23,6 et 12,3 pour *S. aureus*, *B. cereus* et *E. coli* respectivement. Les diamètres des halos d'inhibition montrent que le pouvoir antibactérienne est inversement proportionnel à la dilution, c'est-à-dire l'effet diminue avec l'augmentation de la dilution des huiles essentielles (**Figure 11 et 12**). La différence dans la sensibilité des espèces microbiennes enregistrée suggère la susceptibilité de différentes bactéries aux divers composants des huiles essentielles.



Figure 10 : Histogramme présent les zones d'inhibition pour toutes les souches des bactéries

b1: E.coli, b2: S.aureus, b3: B.cereus ; D1=1/2, D2= 1/4, D3=1/8, D4=1/16.

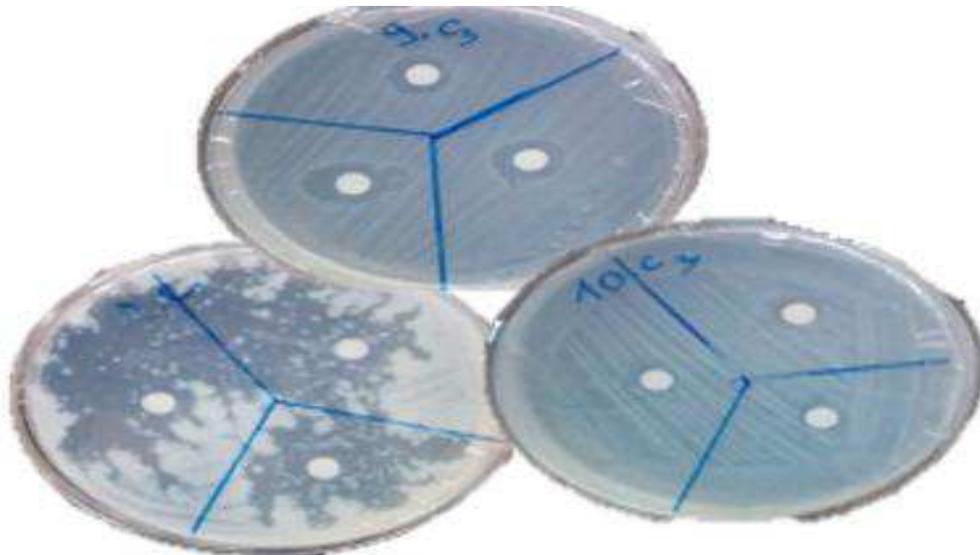


Figure 11 : zone d'inhibition après l'application des huiles essentielles de l'artemisia herba alba, E.coli (10), S.aureus (2), b.cereus (9).

La sensibilité de la souche aux huiles essentielles est déterminée comme suit :

- $D < 0.8\text{cm}$: Souches résistante (-).
- $0.99\text{cm} \leq D \leq 1.4\text{cm}$: Souches sensible (+).
- $1.5\text{cm} \leq D \leq 1.9\text{cm}$: Souches très sensible (++).
- $D > 2\text{ mm}$: Souches extrêmes sensible (+++)

Selon cette classification, les souches de S.aureus et B.cereus sont des souches extrêmement sensibles, la souche l'E.coli est définie comme une souche sensible. La présence d'une teneur importante de mono terpènes oxygénés (thujones, camphène, camphre et 1,8-cinéole) dans les huiles essentielles d'A. herba alba peut être responsable de son activité prononcée contre les souches.

Les HES d'A.herba alba présentent une similarité dans leurs activités antibactériennes. Ceci est prévisible vue la similarité de leurs profils chimiques ; dominés essentiellement par, le camphre (29,14%). Des études antécédentes ont démontré que la majorité des HES 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 grâce à ses charges négatives de surface empêche la diffusion de ces molécules (Wan, 1998). L'action relative

des thujones et de l'eucalyptol (ou 1,8-cinéole) a été associée à leur basse hydro solubilité et la capacité de former des liaisons hydrogènes, ce qui limite leur entrée dans les Gram – qui possèdent des voies hydrophobes inopérants dans la membrane externe (**Faleiro, 2003**).

Sommaire

Remerciements	
Résumés	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1

Chapitre I: Recherches bibliographiques

I.1. Le stress oxydatif.....	3
I.1.1 Les radicaux libres.....	3
I.1.2. Les antioxydants	4
I.2. Métabolite secondaire.....	5
I.2.1. Les polyphénols.....	5
I.2.2. Les alcaloïdes	5
I.2.3. Les huiles essentielles	5
I.2.3.1. Composition chimique.....	6
I.2.3.2. Chémotype des huiles essentielles.....	7
I.2.3.3. L'utilisation des huiles essentielles	7
I.2.3.4. Caractérisation des huiles essentielles	7
I.3. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles	9
I.3.1. Hydro distillation.....	9
I.3.2. Entraînement à la vapeur d'eau	9
I.3.3. Hydro diffusion.....	10
I.3.4. Extraction par du CO ₂ supercritique.....	10
I.3.5. Extraction assistée par micro-onde.....	10
I.3.6. L'expression à froid.....	11
I.3.7. L'extraction par solvants volatils	11
I.4. Artemisia herba alba Asso.....	12
I.4.1. Le genre Artemisia.....	12

I.4.2. Espèce <i>Artemisia herba alba</i> Asso.....	12
I.4.2.1. Dénominations.....	13
I.4.2.2. Taxonomie	13
I.4.2.3. Description botanique.....	13
I.4.2.4. Ecologie.....	14
I.4.2.5. Usage traditionnelle.....	14
I.4.2.6. Composition chimique.....	14
I.5 Présentation de la zone d'étude.....	16
I.5.1. Localisation géographique.....	16
I.5.2. Les Facteurs abiotiques de la région d'étude.....	16
I.5.3. Les Facteurs biotiques de la région d'étude	17

Chapitre II: Matériels et méthodes

II.1. Matériels.....	18
II. 1.1. Matériel végétal.....	18
II.1.2. Produit chimique et appareillage.....	18
II.1.3. Souches bactériennes utilisées.....	18
II.2. Méthodes.....	18
II.2.1. Extraction des huiles essentielles.....	18
II.2.1.1. Préparation du matériel végétal.....	18
II.2.1.2. Extraction des l'huiles essentielles.....	18
II.2.1.3. Calcul du rendement.....	20
II.2.2. Étude des activités biologiques.....	20
II.2.2.1. Activité antioxydante.....	20
II.2.2.1.1 Teste de DPPH.	20
II.2.2.1.2. Test de blanchissement du β -carotène	21
II.2.2.2. Activité antifongique.....	21
II.2.2.3. Activité antibactérienne.....	23
II.2.2.3.1. Méthode de diffusion en milieu solide	23
II.3. Analyse statistique.....	24

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Détermination de rendement d'extraction.....	25
III.2. Activité antioxydante	26
III.2.1. Test anti radicalaire DPPH.....	26
III.2.2. Test du blanchissement de B-carotène.....	28
III.3. Activité antifongique.....	30
III.3.1. Taux d'inhibition.....	30
III.4. L'activité antibactérienne.....	32
Conclusion générale et perspectives	36
Références bibliographiques.....	37
Annexes	

Annex

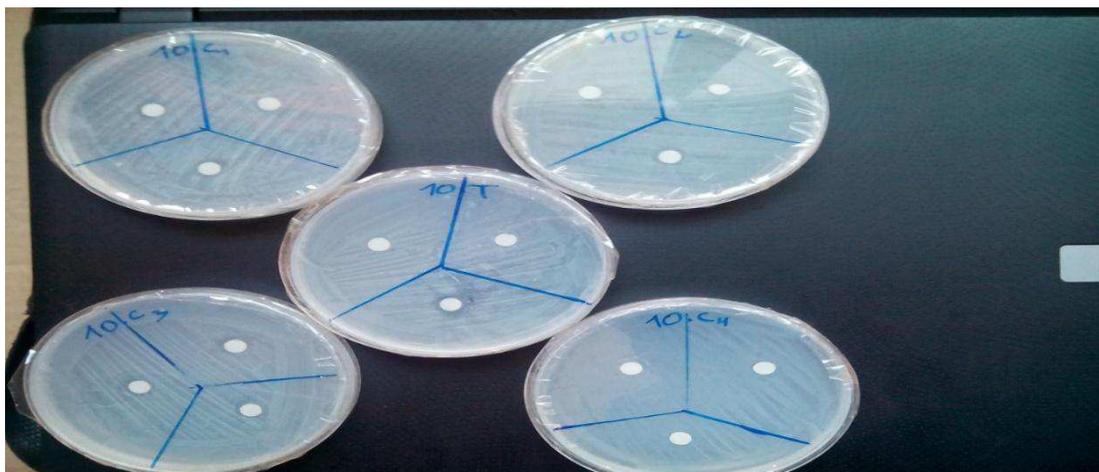


Figure 1: Les zones d'inhibition de l'huile essentielle testée (E.coli).



Figure 2: Les zones d'inhibition de l'huile essentielle testée (Staphylococcus aureus)



Figure 3: Les zones d'inhibition de l'huile essentielle testée (bacillus cereus)



Figure 4: L'effet de d'HES d'A. herba alba sur la croissance de *Fusarium exsporium* (C 4)



Figure 5: L'effet de d'HES d'A. herba alba sur la croissance de *Fusarium exsporium* Temoin



Figure 6: L'effet de d'HES d'A. herba alba sur la croissance de *Fusarium exsporium* (C 3)

Liste des abréviations

AAR: Activité Antioxydante Relative

AHA: Artemisia Herba Alba

ATB: Antiboitique

B.cereus : Bacillus cereus

BHT: Butylhydroxytoluene

CAT : Catalase

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

DMSO: Dimethyl sulfoxyde

DPPH : 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl

E.coli : Escherichia coli

EOA: Espèces Oxygénées Activées

GPx : Glutathion Peroxydase

HD: Hydrodistillation

HE: Huile Essentielle

MS : Matière Sèche

PDA: Potato Dextrose Agar

RHE: Rendement en Huile Essentielle

RLs: Radicaux libres

S.aureus : Staphylococcus aureus

SOD : Superoxyde dismutase

VMHD : Microwave Hydro distillation

Liste des figures

Figure 01: La plante <i>Artemisia herba alba</i> asso.....	12
Figure 02: Diagramme ombrothermique de la région de Bordj Bou Arreridj.....	17
Figure 03: L'extraction des HES par hydrodistillation (clevenger).....	19
Figure 04: Procédé d'extraction d'huile essentielle.....	19
Figure 05: Méthode de diffusion sur disque.....	23
Figure 06: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des huiles essentielles d' <i>Artemisia</i> et du BHT.....	27
Figure 07: L'activité anti-radicalaire(IC_{50}) des huiles essentielles d' <i>Artemisia</i> et du BHT.....	27
Figure 08: Cinétique du blanchissement de β -carotène en présence et en absence des huiles essentielles.....	29
Figure 09: Activité anti-oxydante relative des huiles essentielles de l' <i>Artemisia herba alba</i> asso, BHT et le contrôle négatif.....	29
Figure 10: Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne par les HES d' <i>Artemisia herba alba</i> asso.....	31
Figure 11: Histogramme présent les zones d'inhibition pour toutes les souches des bactéries.....	32
Figure12 : zone d'inhibition après l'application des huiles essentielles de l' <i>Artemisia herba alba</i> asso.....	34

Liste des tableaux

Tableau I. Composants phytochimiques de l' <i>Artemisia herba alba</i> asso.....	15
Tableau II. Caractères organoleptiques.....	25
Tableau III. L'effet de l'HE d' <i>A. herba alba</i> sur la croissance de <i>Fusarium sporium</i>	30
Tableau IV. Les zones d'inhibition en (mm) de la croissance des souches bactériennes <i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Bacillus cereus</i>	33

References Bibliographiques

- Abass O.A.** 2012. Therapeutic effect of Artemisia herba-alba aqueous extract added to classical therapy of acquired hyperlipidemia. *Iraqi Journal of community Medicine* 4: 320-323.
- AFNOR, 1986.** Recueil des Normes Française « huiles essentielles », AFNOR. Paris. 57
- AFNORNF T 75-006,** huile essentielle. association française de normalisation.Paris. pp559-563.
- Ahmed, A., A., Abou-El-Ela, M., Jakupovic, J., Seif-El-Din, A. A. and Sabri, N** *Phytochemistry* 1990, 29(11), 3661-3663
- Akrout A.** 2004. Essential oil study of some pastoral plants from Matmata (south Tunisia) [in French]. *Cah. Options. Med.* 62: 289-292.
- Al-Khazraji S.M., Al-Shamaony L.A., Twajj H.A.A.** 1993. Hypoglycaemic effect of Artemisia herba alba. I. Effect of different parts and influence of the solvent on hypoglycaemic activity. *Journal of Ethnopharmacology* 40 : 163-166
- Anton R., Lobstein A. Plantes aromatiques.** 2005. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, Paris, 522
- Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C and Masella R.** 2007 : Polyphenols, dietary sources and bioavailability, *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità* **43** (4): 348-361
- Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F., Monteil, H.** 2000. *Bactériologie clinique.* 3^{ème} édition Ellipses (Ed) Paris, 602
- Bagchi D., Kuszynski C., Balmoori J., Bagchi M. & Stohs S. J., 1998: Hydrogen peroxide induced modulation of intracellular oxidized states in cultured macrophage J774A. 1 and neuroactive PC-12 cells, and protection by a novel grape seed proanthocyanidin extract .Bougandoura N, Bendimerad N 1-7** *Revue Des Bioressources Vol 2 N 1 Juin 2012 Phytotherapy Research Volume_12, Issue_8, Pages 568–571, December 1998*
- Baudin B.** 2006. Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *MT Cardiologie* **2** (1) : 43- 45,
- BELKHIRI F. Z., 2015 :** Etude de l'activités antibactérienne des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis L,5-32.
- Bellakhdar, H.,** Pharmacopée marocaine traditionnelle, **1997**, Ed. IBIS Press, Paris.
- Bencheqroun H.K., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A. et Chaouch A. 2012.** Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Artemisia mesatlantica, plante endémique du Maroc. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège* 81 : 4-21.
- Bendahou, M.; Muselli.A., Gringnon. Gringnon- Dubois, M.; Benyoucef, M.; Desjobert, J. M.; Bernardini, A.F.; Costa, 2008 J.,** Food chemistry, , 106, 132-139.
- Benjilali B. et Richard H.** 1980. Etude de quelques peuplements d'armoise blanche du Maroc (Artemisia herba alba). *Rivista Italiana E.P.P.O.S.* 62 : 69 74.
- Bezza L., Mannarino A., Fattarsi K., Mikail C., Abou L., Hadji-Minaglou F. & Kaloustian J.** 2010. Chemical composition of the essential oil of Artemisia herba-alba issued from the district of Biskra (Algeria). *Phytothérapie*, 8, 5, 277-281.
- Bouldjadj R.** 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.

References Bibliographiques

Mémoire de Magister en Biologie Cellulaire et Moléculaire. Université Mentouri, Constantine, pp. 31-32.

Bourgou S, Ksouri R, Skandranf I, Chekir-Ghedira L, Marzouk B. 2008 :Antioxydant and antimutagenicactivities of the essential oil and methanolextractfromTunisianNigellasativaL.(Ranunculaceae) .Ital. J. Food Sei;20(2):191-201.

Brada, M.; Bezzina, M.; Marlier, M.; Carlier, A.; Lognay, G., **Biotechnol.** 2007 Agron. Soc. Environ, , 11(1), 3-7.

Bruneton J., 1999 : Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. 3ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.

Burda,S.; Oleszek,W.; 2001 : Antioxydant and antiradical activities of flavonoids;J. Agric. Food Chem.; Jun;49 (6):2774-9.

C.F.B.B.A., 2011 : Patrimoine forestier de la wilaya de Bordj Bou Arreridj. Rapport Conservation forêts, Bordj Bou Arreridj, 38.

Chaieb., 2000 : Caractéristiques Floristiques des îles Kneiss. Projet de préservation de la biodiversité dans la réserve naturelle des îles Kneiss. TUN/98/G52/13, 38.

Cowan M. M. 1999 : Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical biology Reviews. 12 (4), 564–582

Cuendet M., Hostettmann K. & Potterat O., 1997: Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. Helvetica Chimica Acta. **80**, 1144-1152.

Dacosta Y. 2003Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Ed. Yves Dacosta, Paris. p317.

Dajoz R., 2007: Les insectes et la forêt : rôle et diversité des insectes dans le milieu milieu forestier. Ed. Lavoisier. Paris, 648.

Djeddi S ., 2012 : Les huiles essentielles « des mystérieux métabolites secondaires». Presses Académiques Francophones. 265p

Dob, T.; Benabdelkader, 2006 T., J. Essent. Oil. Res, , 18, 685-690.

Duke J., 1992 : Handbook of phytochemical constituents of gras herbs and other economic plants. Boca. Raton, FL. CRC Press.

Edris AE. 2007Pharmaceutical and TherapeuticPotentials of Essential Oils and TheirIndividual Volatile Constituents: A Review. PhytotherRes; 21(4):308-23.

EL Rhaffari L. 2008 : Catalogue des plantes potentielles pour la conception de tisanes, l'organisation non gouvernementale italienne (MOVIMONDO), p 11.

Faleiro, M.L., Miguel, M.G., Ladeiro, F., Vanancio, F., Tavares, R., Brito, J.C., Figueirido, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G. 2003 :Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of *Thymus*. Lett. App. Microbiol., **36**, 35-40.

Fandohan P., Gbenou J. & Gnonlofin B., 2004: Effet of essential oil on the growth of Fumonisin contamination in corn. Journal of Agriculture and Food Chemistry **52**, 6824-6829

Favier A., 2003 : Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.

References Bibliographiques

- Fenardji F., Klur M., Furlon C., Ferrando R.**, White Artemisia (*Artemisia herba-alba* L.). *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.*, (1974) 27(2):203-6.
- Feuerstein, I.; Müller, D.; Hobert, K.; Danin, A.; Segal, R.**, *Phytochemistry*, **1986**, 25, 2343-2347.
- Friedman J., Yaniv Z., Dafni A. & Palewitch D.**, 1986: *Israel. J Ethno pharm.* Jun, **16(2-3)**, 275-87.
- Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh S.A., Rasooli, I.** 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Atimisia herba alba* essential oils. *Food Chem.*, 102: 898-904.
- Garnier, M ; Delamarre, V.**, *Dictionnaire des termes de médecine*, **2002**, 27 Ed. Maloine, Paris.
- Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Ismaili M.R., Houtia H., Manfalouti H., Benchakroun K., Abarchane M., Harki L., Boukir A, Chaouch A. & Charrouf Z.** 2010. Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique
- Gharabi Z. S. & R.L.**, **2008**: *Artemisia herba alba* Asso. A Guide to Medicinal Plants in North Africa: 49, 49.
- Gholivand BM, Rahimi-Nasrabadi M, Batooli H, Ebrahimabadi AH.** 2010 : Chemical composition and antioxidant activities of the essential oil and methanolextracts of *Psammogeton canescens*. *Food and Chemical Toxicology*; 48: 24–28.
- Guinoiseau E.** 2010 : Molécules, antibactérienne issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat de l'Université de Corse, option : Biochimie- Biologie moléculaire, France. 50p.
- Halliwell, B. & Aruoma, O. I., 1993**: DNA damage by oxygen-derived species: its mechanism and measurement using chromatographic methods. In *Molecular Biology of Free Radicals Scavenger System*. (JG Scandalios, ed). Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York. 47–67.
- Haouari, M.; Ferchichi, A., 2009** *Molecules*, , 14, 1585-1594.
- Hazzit M, Baaliouamer A, Veríssimo AR, Faleiro ML, Miguel MG.** 2009 : Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chemistry*; 116: 714– 721.
- Hennebelle T., Sahpaz S. & Bailleul F., 2004** : Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, **1**, 3-6.
- Hubert R., Epices et aromates, Tec et Doc – Lavoisier, APRIA., Paris, 1992.**
- Hudaiba M. & Aburjai T.** 2006 : Composition of the essential oil from *Artemisia herba-alba* grown in Jordan. *J. Essential Oil Res.*, 18, 3, 301-304.
- Jacques B. & André R., 2004**: *Biochimie métabolique* Ed ellipses .Paris, 217-219- 220-223-225.
- Khebri S., 2011** : Etude chimique et biologique des Huiles essentielles de trois artimisia , 101-102
- Kim J., Marshall M. R., and VEI C., 1995** : Antibacterial activity of some essential oil components against five food borne pathogens. *J. of Agricultural and Food Chemistry*, 43, pp: 2839-2845.
- KOLAI N., SAIAH F., BOUDIA A., 2012** : EFFET INHIBITEUR IN VITRO DE L'HUILE ESSENTIELLE D'*Artemisia herba alba* SUR DEUX SOUCHES DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Algerian journal of arid environment* Volume 2, n°1,71
- Lardy, J.; Haberkorne, V., Kinesither Rev, 2007**, 61, 14-7.
- Leveque C., 2001** : *Ecologie de l'écosystème à la biosphère*. Ed. Dunod. Paris, 303.

References Bibliographiques

- Mahadevan J., 1982.** Biochemical aspects of plant disease resistance, Part I: Performed inhibitory substances. Today and Tomorrow Printers and Publishers, New Delhi, India, pp: 425-431.
- Maouche O., Izemran L., Boucou L. & Talbi A., 2003:** Monographie sommaire de la wilaya de Bordj Bou Arreridj, 57.
- Marie Elisabeth Lucchesi . 2005 :** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles : p 17 ; 23, 52
- Marrif, H.I.; Ali, B.H.; Hassan, K.M., 1995** J of Ethnopharmacol. (b), 49, 51-55.
- Martinez-Cayuela M., 1995:** Oxygen free radicals and human disease. *Biochem.* 77, 147- 161.
- Martini M. C., Seiller M., Editions Tec & Doc, 1999 :** Editions médicales internationales Paris. Lavoisier, 563
- Mighri, H.; Hajlaoui, H.; Akrouf, A.; Najjaa, H.; Neffati, M.; 2010 :** Compts Rendus Chimie, , 13, 380-386.
- Mompon B., Lemaire B., Mengal P. & Surbled M., 1998 :** Extraction des polyphénols : du Laboratoire à la production industrielle. Ed. INRA, Paris (les Colloques, N° 87).
- Montes-Belmont, R; Carvajal, M., 1998** Journal of food Prot., , 61, 616-619.
- Motiejūnaitė O. & Peičulytė D., 2004:** Fungicidal properties of *Pinus sylvestris* L. for improvement of air quality. *Medicina Kaunas*, 40(8), 787- 794
- Nabli M. A., 1989:** Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I. Ed. MAB (Faculté des sciences de Tunis), 186-188.
- Naidu M. M., Shyamala B. N., Naik J. P., Sulochanamma G. & Srinivas P., 2011:** Chemical composition and antioxidant activity of the husk and endosperm of fenugreek seeds. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, 44, 451-456.
- Nauciel, C., 2000** Bactériologie médicale, , Masson .Ed.Paris. 276p(2000).
- Nezhadali, A.; Akbarpour, M.; Zarrabi Shirvan, B2008.,** E-Journal of Chemistry, , 5 (3), 557-561.
- Paris R.R, Moyses H., 1965,** Précis de matière médicale, Tome 1, Masson et Cie, Editeurs.
- Peluso M R. 2006 :** Flavonoids attenuate cardiovascular disease, inhibit phosphodiesterase, and modulate lipid homeostasis in adipose tissue and liver. *Experimental Biology and Medicine*, 231, 1287-1299,.
- Pietta P.G. 2000 :** Flavonoids as Antioxidants. *J Nat Prod*, 63, 1035-1042,
- Pincemail J., Lecomte J., Collart E., Castiaux J P., Defraigne J O. 2001 :** Stress oxydant, antioxydants et exercice physique. *Vaisseaux, Coeur, Poumons* 6 (5) : 1-3,.
- Piquet M. A. & Hébuterne X., 2007:** Nutrition en pathologie digestive ; Ed : DOIN, 16-20.
- Ponce A.G., Fritz R., del Valle C.E., Roura S.I. ,2003 :** Antimicrobial activity of essential oils on the native microfora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 36: 679–684
- Quezel P. & Santa S., 1962-1963 :** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions méridionales. Tome 1. Ed. CNRS. Paris, 1170.
- Ramade F., 1984 :** Eléments d'écologie. Ecologie fondamentale. Education. Mc Graw-Hill, Paris, 397.
- Saleh Mahmoud A., Belal Mohamed H. et El-Baroty G., 2006.-** Fungicidal activity of *Artemisia herba alba* Asso (Asteraceae) vol. 41 (3): 237-244.

References Bibliographiques

- Saleh N., El-Nougoumy S., Abd-Allah M., Abou-Zaid M., Dellmonica G. ,Chopin J., 1985** Phytochemistry24(01): 201-203.
- Seddiek S.A., Ali M.M., Khater H.F. and El-Shorbagy M.M. (2011).** Anthelmintic activity of the white wormwood, *Artemisia herba-alba* against *Heterakis gallinarum* infecting turkey poults. *Journal of Medicinal Plants Research* 5 (16) : 3946-3957.
- Soares, A.F. 2005 :** Thèse de doctorat " Effet du stress oxydant sur le fonctionnement des adipocytes : adiponectine et prostaglandines", , Université de Lyon.
- 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.
- Tongnuachan P. & Benjakul S., 2014:** Essential..... Preservation. *Journal of food science* . N 7, 1232-1237
- Trivalle C., 2002 :** Gériatologie préventive: élément de prévention du vieillissement pathologique ; Ed : MASSON (PARIS), 104-106.
- Walker J. E. M., Saraste, M. J., Runswick N. J. Gay., 1982:** Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *Embo Journal*, 1 (8), 945-51.
- 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.
- Z.Wang, L. Li. T. Ding, X. Zhou, L. Wang, H. Zhang, L. Liu, Y. Li, Z. Liu, H. Wang, H. Zeng, H. He, J. Chrom. A, 2006.1102**

Résumé

Le but de cette étude est d'évaluer les activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *l'Artemisia herba alba* Asoo utilisées en médecine traditionnelle. Le broyat de la plante sèche a été soumis à une extraction par hydro distillation de type Clevenger afin d'obtenir les huiles essentielles (HE). L'activité antioxydante a été évaluée par deux techniques différentes : le test de DPPH et la technique de blanchissement du β -carotène. Les résultats obtenus démontrent que les huiles essentielles de *l'Artemisia herba alba* Asoo exercent une activité anti radicalaire vis-à-vis le radical DPPH très puissante avec une IC_{50} de $15,82 \pm 1,41 \mu\text{g/ml}$ deux fois inférieure à celle du BHT ($IC_{50} = 7,84 \pm 0,37 \mu\text{g/ml}$), cette différence est statistiquement non significative ($p < 0.001$). D'autre par les HE ont montré un pouvoir inhibiteur substantiel de l'oxydation couplée de β -carotène/acide linoléique avec un pourcentage d'inhibition de 36,35%. L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Artemisia* par la méthode de diffusion a permis de révéler une activité importante sur la croissance de *S. aureus* (diamètre d'inhibition 30 mm, dilution 1/2) et *B. cereus* (diamètre d'inhibition 22 mm, dilution 1/2), alors que son activité vis-à-vis les souches d'*E.coli*, a été limitée à des diamètres d'inhibition de 8 mm même à la dilution 1/2 ($P \leq 0.001$). En plus le pouvoir antifongique des huiles essentielles a révélé une bonne activité antifongique sur le champignon testé ; *Fusarium Oxysporum* avec un maximum d'inhibition de 100% à la concentration 1% et 0,5% ($P \leq 0.001$).

Les résultats obtenus de cette étude, confirme que *l'Artemisia herba alba* Asoo possède une activité biologique considérable.

Mots clés : *Artemisia herba alba* Asoo, les huiles essentielles, Activité antioxydante, Activité antifongique, Activité antibactérienne.

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم نشاطية الزيوت الاساسية المضاد للأكسدة و للميكروبات لنبته الشيح التي تستخدم بشكل واسع في الطب التقليدي. تم استخلاص الزيوت الأساسية لهذه النبتة عن طريق التقطير المائي باستخدام Clevenger. قدرت النشاطية المضاد للأكسدة باستخدام تقنيتين مختلفتين هما اختبار جذر DPPH و β -carotène. أظهرت الزيوت الأساسية نشاطية عالية مضادة للأكسدة تجاه جذر DPPH حيث اعطت IC_{50} مساوية ل 1.41 ± 15.82 ميكروغرام/مل غير بعيدة عن تلك المحصل عليها مع مضاد الاكسدة المرجعي BHT ($IC_{50} = 7,84 \pm 0,37 \mu\text{g/ml}$) وهو فرق غير معتبر احصائيا، كما اثبتت نتائج الدراسة ان الزيوت الاساسية لنبته الشيح تملك نشاط معتبر مضاد لأكسدة β -carotène بنسبة 36.35 %.

بينت نتائج دراسة النشاطية المضادة للبكتيريا ان الزيوت الاساسية لنبته الشيح تملك نشاط عالي ضد نمو بكتريا المكورة العنقودية S.aureus (قطر تثبيط 30 ملم، تخفيف 2/1) وعصيات الشمعية B.cereus (قطر تثبيط 22 ملم، تخفيف 2/1)، غير ان البكتيريا القولونية E.coli أظهرت بعض المقاومة عند نفس التخفيف 8 ملم ($P \leq 0.001$). اما بالنسبة للنشاطية المضادة للفطريات فقد وصل تثبيط نمو السلالة المختبرة Fusarium Oxysporum الى نسبة 100% عند التركيزين 1% و 0.5% من قبل الزيوت الاساسية وهذا ما يدل على نشاطيتها العالية المضادة للفطريات ($P \leq 0.001$).

بينت نتائج هذه الدراسة ان نبات الشيح Artemisia herba alba Asso يملك نشاطية بيولوجية معتبرة

الكلمات المفتاح: Artemisia herba alba Asso ، الزيوت الأساسية، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات.

Conclusion

De nos jours, un grand nombre des 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.

L'étude des propriétés antioxydantes, des huiles essentielles de l'*Artemisia herba alba* Asso a permis d'obtenir des résultats intéressants qui confirme que les HE de cette plante possède une activité anti radicalaire très importante par le piégeage de radical DPPH et le blanchissement de B-carotène.

L'ensemble des résultats présentés dans ce travail sur les données expérimentales de la de l'activité antimicrobienne suggèrent une bonne activité traduite par des grande zones d'inhibition des différentes souches bactérienne (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) et un pourcentage d'inhibition très importante sur la croissance de la souche fongique (*Fusarium Oxysporum*).

Ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude *in vivo* est souhaitable, afin d'obtenir une vue plus approfondie sur les activités antioxydante, antifongique et antibactérienne des HES de cette plante.

Artemisia herba alba est une plante riche en métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches. Nos travaux sont une étape préliminaire pour des études plus larges, plus approfondies et plus accomplies impliquant :

- l'amélioration des capacités d'adaptation des systèmes de production pour produire de nouvelles technologies et les mettre à la disposition des agriculteurs à travers les organismes de développement et de vulgarisation.
- Développer des produits à base cette plante qui être un alternatif à l'utilisation des produits de synthèse pour lutter contre les agents pathogènes.
- Développer des médicaments anti radicalaires à partir de cette plante doués d'une activité antioxydant.
- Utilisation des extraits de la plante étudiée comme additive alimentaire pour la protection des denrées alimentaire contre tout genre d'oxydation.