

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Dr.MOULAY TAHAR-Saida-

Département de Biologie



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme :Master II en Biologie

Spécialité :**biotechnologie végétale**

Thème

Contribution à l'étude du pouvoir Antibactérien et Antioxydant de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* collectée dans la région d' Ain sefra (Naama)

Présenté par : M^{elle} **BEKRI ZOHRA**

Soutenue publiquement le **10/06/2015** devant le Jury composé par :

Mme : HACHEM Yasmina Maitre Assistante « A » (Université de Saida) Présidente

Mme : HADJAJ Hassina Maitre Assistante « A » (Université de Saida) Examinatrice

Mme : DAHANIMoufida Maitre Assistante « A » (Université de Saida) Examinatrice

Melle : CHIKHI Amira Maitre Assistante « A » (Université de Saida) Promoteur

Année universitaire : 2014-2015

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale.....01

Synthèse bibliographique

Chapitre I : généralités sur l'armoise :

I. Introduction sur l'armoise blanche04

II. Description botanique.....04

II.1.partie souterraine04

II.2. partie aérienne05

III. Taxonomie05

V.Ecologieet répartition géographique.....06

V.1-Dans le monde.....06

V.2-Dans l'Algérie.....07

VI.Culture.....07

VII. Composition chimique.....07

VII.1.Terpènes.....07

VII.2.Flavonoïdes.....08

VIII. place de l'Artimisia herba-alba en phytothérapie.....09

➤ Chapitre II :généralités sur l'HE

I. Généralité sur les huiles essentielles.....	11
II. Définition d'HE.....	11
III. Localisation des HE.....	11
IV. Les propriétés biologiques d'HE	12
V. La composition chimique des HE.....	13
V.1-Les terpènes.....	13
V.2-La térébenthine.....	13
V.3-Les alcool et les esters.....	13
V.4-Les composé phénoliques	13
V.5-Les aldéhydes.....	13
V.6-Les cétones.....	13
V.7-composé d'origine diverses.....	13
V.8-Les flavonoïdes.....	13
V.8.1-structure.....	14
V.8.2-Rôle des flavonoïdes	14
VI. La répartition des HE.....	16
VII. L'utilisation d'HE.....	19
VII.1-Les HE dans le cosmétique.....	19
VII.2-Utilisation pharmaceutique.....	19
VII.3-Utilisation sanitaire.....	19
VII.4-Utilisation industrielles.....	20
VIII. Les différents voies d'utilisation d'HE	20
VIII.1-En usage interne	20
VIII.2-En usage externe	20
IX. précaution.....	20
X. Conservation d'HE.....	21
XI.Activité antimicrobienne d'HE	22

➤ **Chapitre III :Les souches bactériennes**

I.1-Staphylocoques.....	25
I.1.1-Caractères généraux.....	25
I.1.2-Habitat.....	25
I.2-Staphylococcus aureus.....	26
I.2.1-Caractères culturels	26
I.2.2-Caractères biochimiques	26
I.2.3-Facteurs de virulence.....	27
I.2.3.1-Composition de la paroi.....	27
I.2.3.2-Facteurs d'invasion et d'adhésion.....	27
I.2.3.3-Substances élaborées par <i>S.aureus</i>	27
I.2.4-Toxines.....	28
I.3-Escherichia coli	28
I.3.1-Caractères morphologiques.....	28
I.3.2-Habitat.....	29
I.3.3-Caractères culturels	29
I.3.4-Caractères biochimiques.....	29
I.3.5-Caractères antigéniques.....	30
I.3.6-pouvoir pathogène	30
I.3.6.1-Infection intestinales	30
I.3.6.2-Infection extra-intestinales.....	31
I.3.6.2.1-Infection urinaires.....	31
I.3.6.2.2-Méningites néo-natales	31
II- L'aromatogramme	32
II.1-Recours à l'aromatogramme.....	32
II.2-Comment faire un aromatoigramme.....	32
II.3-Intérêt de l'aromatogramme	32
II.4-Prescription.....	32

Matériels et Méthodes

I.1. Objectif	34
I.2-Matériels.....	34
I.2.1- Matériel végétal	34
I.3-Situation géographique de la zone d'étude.....	34
I.3.1-La végétation.....	35
I.4-Le climat d Ain Sefra.....	36
I.5- Conservation de la plante	36
II. Le matériel microbien.....	37
III. Méthodes d'étude.....	37
III.1-Les l'huile essentielle	37
• Les techniques d'extraction d'HE	
• Extraction par solvant volatiles.....	
• L'extraction par hydrodistillation.....	
III.2-Extraction de HE d'armoise.....	37
III.2.1-Procédé d'extraction	38
III.2.2-Décantation.....	38
III.2.3- Conservation D'HE.....	39
IV.1-Calcul de pourcentage d'humidité.....	39
IV.2-Calcul de rendement d'HE.....	39
V-Evaluation l'activité antibactérienne de l'HE :	40
V.1-Choix des milieux de cultures.....	40
V.2-La réactivation des souches.....	40
V.3-Le deuxième repiquage	40
V.4-Préparation de suspension bactériennes.....	40
V.5-Ensemencement	41
V.6-Technique de diffusion sur gélose Mueller(Méthode des disques).....	42
VI.1-Evaluation du pouvoir antioxydants.....	43
VI.1.1-Principe de l'activité anti-radicalaire.....	43

VI.2.Préparation des dilutions d'HEA.....	43
VI.3-Expression des résultats	45

Résultats et discussion

I. Résultat de l'extraction des huiles essentielles.....	47
II. Les caractères organoleptiques.....	47
III.Le pourcentage d'humidité	47
IV.Calcul de rendements obtenu par le procédé de l'Hydrodistillation.....	48
IV.1. Rendement en huiles essentielles.....	48
V.Résultats et discussions de l'aromatogramme.....	49
V.1.Evaluation de pouvoir antibactérienne des huiles essentielles.....	49
VI. Activité antioxydante	53
VI.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl).....	53
VI.2.Calcul des IC 50	54
Discussion générale.....	56
Conclusion générale.....
Références bibliographique.....
Les Annexe.....

Liste des Figures :

FigureN° 01 : photographie de plante l'armoise blanche d'Ain sefra.....	05
FigureN°02 : Carte de répartition <i>d'armoise dans le monde</i> (<i>Abou El-Hamad et ai.,2010</i>)..	07
FigureN° 03 : structure de base des flavonoides(Dacosta,2003).....	14
FigureN°04 : Procédé d'extraction des HE par hydrodistillation(Willem ,2004).....	16
Figure N°5 : Aspect de Staphylococcus aureus en microscopie électronique balayage(x32.000) (Koval, 2000).....	25
Figure N°6 : Aspect E. coli en microscopie (x10.000).....	28
FigureN°7 :situation géographique de la commune de Ain sefra.....	35
FigureN°8 : Les feuilles d'Armoise broyé.....	37
Figure N°9 : Montage d'un hydrodistillateur.....	39
Fig N°10 :dispositif d'une ampoule à décantée (Mellouk,2007).....	40
FigN°11 :Ampoule à décanté.....	40
FigureN°12 :Escherichia coli.....	41
FigureN°13 :Staphylococcus aureus.....	41
Figure N°14 :La préparation de l'inoculum.....	42
Figure N°15 :Méthode d'ensemencement par l'écovillonnage.....	43
FigureN°16 : Schéma illustrant la méthode des aromatoigrammes (Zaika, 1988).....	43
Figure N°17 : Les dilutions d'HE utilisées dans le but d'imprégner les disques.....	44
Figure N°18 : réduction du radical libre DPPH en DPPHH (Molyneux, 2004).....	44
FigureN°19 : Préparation des dilutions de l'HEA.....	45
FigurN°20 :L'huile essentielle d'espèce végétale « Armoise » extraite par hydrodistillation.....	47
FigurN°21 :Rendement d'huile essentiel d'armoise obtenu par hydrodistillation.....	48
Figure N°22 : : histogramme des diamètre en (cm) des zones d'inhibition d'huile essentielle d'Armoise.....	50
Figure N°23 :boites pétris des témoins de S.a ,E.c.....	51
FigureN°24 :Effet de l'HE d'armoise dans concentration de 1µl/ml sur S.a,E.c.....	51
FigureN°25 :Effet de l'HE d'armoise dans concentration de 2µl/ml sur S.a,E.c.....	51

FigureN°26 :Effet de l'HE d'armoise dans concentration de 2.5µl/ml sur S.a,E.C.....	52
FigureN°27 :l'activité antioxydant de l'HE d'Artimisia herba alba.....	53
FigureN°28 : pourcentages de réduction du radical libre DPPH par L'HEA.....	54

Liste des Tableaux

Tableau 01 :classification d'armoise blanche.(quezel et santa,1962).....	06
TableauN° 02 : Représente le taux des constituants des HE de l' <i>Armoise blanche</i> (Benammar, 2000).....	08
Tableau N°03 : principaux composés des huiles essentielles(willem,2004).....	15
Tableau N°04 :Les principales méthodes d'extractions des huiles essentielles.....	19
Tableau N°05 : Les caractères biochimiques de <i>S. aureus</i> (Jean, 1997).....	26
Tableau N° 06 : Caractères biochimiques d' <i>E.coli</i> (Prescot et Herley, 1995).....	30
Tableau N°07 :La situation géographique de la région de récolte.....	34
Tableau N°08 :origine et caractéristique du matériel végétal.....	36
Tableau N°09 :conditions opératoire d'hydrodistillation	37
Tableau N°10 :Les souches microbiennes testées.....	37
Tableau N°11 : Diamètre en (cm) des zones d'inhibition de l'HE d'Armoise.....	49
Tableau N°12 :Résultats obtenus par la méthode d'aromatogramme.....	50
Tableau N°13 :valeur de l'activité antioxydante d'HEA.....	53
TableauN°14 : Constituants de l'huile essentielle de l'armoise blanche de la région Guercif selon la date de récolte(Ghanmi, 2010).....	annex.

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR	Association Française de Normalisation
ATCC	American Type Culture Collection
BN	bouillant nutritive
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
DPPH	2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl
DMSO	Dimethylsulfoxyde
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
Fig.	Figure
GN	Gélosé Nutritive
HE	Huile essentielle
MH	Bouillon Mueller Hinton
MHA	Mueller Hinton Agar
NaCl	Chlorure de sodium
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
UFC	Unités Formant Colonies
°C	Degré Celsius
uL	Microlitre
%	Pourcentage

g : gramme

h : heure

Résumé

L'armoise blanche ou *Artemisia herba-alba* connue en Algérie sous le nom de Chih, est une espèce végétale très appréciée pour ces qualités aromatiques et thérapeutiques en médecine traditionnelle.

Cette étude a été conçue pour examiner les activités antioxydantes et antibactériennes de l'huile essentielle extraite par hydrodistillation de la partie aérienne de *Artemisia herba-alba* cultivée dans le sud d'Aïn sefra.

La teneur moyenne en huile essentielle de cette espèce est 0,4 % par rapport à la matière sèche. L'activité antimicrobienne de l'HEA a été testée par la méthode d'aromatogramme et de détermination de la zone d'inhibition. Les résultats ont montré que l'HE examinée a une activité antimicrobienne importante vis-à-vis des souches testées (*S.aureus*, *E.coli*) en addition. La capacité antioxydante évaluée in vitro par le test DPPH a montré une importante activité pour l'huile d'Armoise.

Cette étude préliminaire nécessite d'être soutenue par d'autres travaux de recherches afin de révéler le véritable rôle de chaque composante des huiles essentielles d'Armoise.

Mots clés : Armoise, activité antibactérienne, activité antioxydante, concentration minimale inhibitrice (CMI), huile essentielle.

Abstract

The white wormwood or *Artemisia herba-alba* known in Algeria as the Chih, is a popular plant species for these aromatic and therapeutic properties in traditional medicine.

This study was designed to investigate the antioxidant activities and antibacterial essential oil extracted by steam distillation of the aerial part of *Artemisia herba-alba* grown in southern AinSefra.

The average content of essential oil of this species is 0.4% on the dry matter. The antimicrobial activity of HEA was tested by the method of aromatogramme and determination of the inhibition zone. The results showed that the EO considered at a high antimicrobial activity vis-à-vis the strains tested (*S.aureus*, *E.coli*) in addition.

The antioxidant capacity evaluated in vitro by DPPH test showed significant activity for oil Wormwood.

This preliminary study needs to be support from other work to end research to reveal the true role of each component of essential oils of Artemisia.

Key Word: Artemisia, antibacterial activity, antioxidant activity, minimum inhibitory constration (MIC), oil.

الملخص:

الشيح نبتة معروفة بالجزائر وهي متميزة بصفاتھا العطرية والدوائية في الطب التقليدي ، تم تصميم هذه الدراسة لفحص النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية المستخلصة بواسطة التقطير البخار من الجزء العلوي لنبتة الشيح المزروع في جنوب منطقة العين الصفراء، متوسط المحتوى من الزيت العطري لهذه النبتة يقدر بـ 0.4% من المادة الجافة..

يتم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا وفقا لطريقة نشر القرص وتحديد منطقة التثبيط. تصاعدت النتائج بأنه اطلع على النشاط البكتيري المهم جدا لوجه من السلالات (المكورات العنقودية الذهبية، ايشيريشيا كولي) بالإضافة لاختبار القدرة المضادة للأكسدة التي جرى تقييمها في المختبر عن طريق زيت الشيح، الإختبار أظهر نشاطا ملحوظا للزيت الأساسي لنبتة الشيح

هذه الدراسة التمهيدية يجب أن تدعم بأعمال ودراسات أخرى تكشف الدور الحقيقي لكل عنصر مكون الزيوت الأساسية لنبتة الشيح.

الكلمات المفتاحية: الشيح، الزيوت الأساسية، النشاط ضد البكتيري، ايشيريشيا كولي، المكورات العنقودية الذهبية، التركيز الأدنى المثبط.

Introduction générale :

L'Algérie possède une flore très riche et variée, représentée par 4125 plantes vasculaires inventoriées, réparties en 123 familles botaniques. À cette richesse spécifique, la flore est associée une originalité sur le plan systématique (nombreuses plantes endémiques), sur le plan phytochimique (spécificité des substances biosynthétiques) et sur le plan pharmacologique.

La richesse de la flore Algérienne en plantes médicinales et aromatiques est incontestable. Leur utilisation dans la médecine traditionnelle sollicite l'intérêt récent des études scientifiques (Basli et al, 2012).

Malgré la nature hétérogène du continent, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents chimiothérapeutiques et prophylactiques de ces plantes (Farombi, 2003). Dans le souci constant de se préserver des maladies ou de trouver des méthodes afin de se soulager des douleurs, les humains ont cherché à extraire de leur biotope des substances que ce soit pour les transformer ou les utiliser en l'état (Croix, 2004).

Depuis deux décennies, des études ont été menées sur l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles. De nouvelles applications ont été développées dans le domaine de conservation alimentaire, industrie des parfums, des cosmétiques, de la pharmacie et de l'agroalimentaire.

C'est pourquoi, nous nous sommes intéressées à l'étude de certaines plantes, poussant à l'état spontané dans les monts de la région d'Aïn Sefra, et qui sont plus utilisées et applicables par la population.

L'armoise ou le genre *Artemisia* comprend environ 400 espèces, réparties sur les cinq continents (Vlatka, 2004). L'huile essentielle contenue dans les feuilles des *Artemisia* « CHIH » est connue pour ses propriétés régulatrices du cycle menstruel. On l'utilise aussi pour soigner les infections urinaires et d'autres maladies.

Via notre étude qui fait partie d'un axe de recherche à long terme, nous continuons à attirer l'attention sur les possibilités et l'utilité de cette plante, on se concentrant sur les propriétés bactéricides et antioxydantes de l'huile essentielle des feuilles d'armoise, et de ce fait connaître ces effets inhibitrices sur la croissance de certaines souches bactériennes.

Notre travail est initié par une recherche bibliographique où nous apportons dans le premier chapitre sur l'armoise. Le deuxième chapitre concerne les huiles essentielles et leurs bienfaits et différentes méthodes d'extraction, le troisième chapitre expose les souches bactériennes sélectionnées dans cette étude.

La partie expérimentale est subdivisée en deux chapitres, le premier chapitre présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail, le deuxième chapitre renferme les résultats obtenus et leur discussion.

I- Introduction sur l'Armoise blanche :

Le genre *Artemisia* est un membre d'une grande variété de plantes appartenant à la famille des Asteracées. Plus de 300 différentes espèces de ce genre se trouvent principalement dans les zones arides et semi arides d'Europe, d'Amérique, l'Afrique du Nord ainsi qu'en Asie. Les espèces d'*Artemisia* sont largement utilisées comme plantes médicinales en médecine traditionnelle. Certaines espèces, telles que l'*Artemisia absinthium*, l'*Artemisia annua* ou l'*Artemisia vulgaris* sont incorporés dans les Pharmacopées de plusieurs pays européens et asiatiques (**Proksch, 1992**).

En commun avec plusieurs d'autres espèces de ce genre, l'*Artemisia herba alba* Asso, plante caractéristique du moyen-orient et d'Afrique du Nord (**Feinbrun-Dothan, 1978**), est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies.

II-Description botanique :

L'armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso) connue sous le nom d'absinthe du désert (en arabe=Chih) est plante steppique poussant dans les terres arides ou semi-arides de l'Afrique du nord, c'est un sous arbrisseau, buissonnant de 30 à 80 cm, d'aspect sec et blanchâtre, nombreuses tiges ligneuses à la base, feuilles pubescentes, divisées en petites et fines languettes d'un vert argenté; inflorescence en très petits capitules jaunâtres sessiles groupés par 2 à 12 (suivant la variété); bractée de l'involucre glanduleuses (Fig.01). Odeur aromatique caractéristique. Ses rameaux **huileuxes** sur les rameaux stériles, capitules ovoïdes à involucre scarieux, le fruit est un akène oblong à division longue, étroit et espacées (**Mahmoudi, 1991**).

II.1. partie souterraine :

Elle est constituée de la racine ;

- L'armoise blanche dispose d'une racine principale pivotante, des ramifications abondantes à la surface du sol (**Aaidoud, 1983**).

- Elle peut être définie comme une orange dont le rôle est de fixer la plante au sol et d'absorber l'eau et les sels minéraux (**Deysson, 1987**).

-Le système racinaire à une extension peu profonde avec un grand nombre de ramification latérales particulièrement abondantes entre 2 à 5 cm de profondeur, met en relation cette forme de racine avec l'existence d'une croute superficielle (**Pourrat, 1974**).

II.2. Partie aérienne :

Elle comprend la tige, les feuilles et les fleurs.

-Tige :

elle peut être définie généralement comme un axe, prolongeant la racine et comprend la tige principale et la tige secondaire et partout des extensions latérales rameaux et

feuilles(**Daysson,1976**).La taille de ces tiges varie entre 30 et 50 cm (**Pourrat,1974**).La touffe des tige est plus ou moins importante suivant la pluviométrie reçue.Les tiges sont garnies de petites feuilles et de boutons que fleurissent entre mai et juin.

- Feuilles :

les feuilles sont courtes, blanches, laineuses, argentés et pennatifidées.Elles sont très petites et entières, ce qui réduit considérablement la surface transpirante et permet ainsi à la plante de résister à la sécheresse.Elle sont complètes, formées d'un limbe à nervation pennées ou palmée d'un pétiole et d'un bas foliaire élargi en graine, par contre nous trouvons que les feuilles des rameaux supérieures sont très réduites, cette restriction progressive du feuillage est le développement de l'appareil souterrain d'absorption montrant que l'Artémisia herba alba est apte à supporter la déshydratation (**Pourrat,1974**).

- Fleurs :

sont en nombre de 3 à 8 par capitule. Elles sont serrées,de couleur jaune tubuleuse de taille de 1 à 1.5 Cm.Le type florale est:5 sépales + 5 pétales + 5 étamines + 2 carpelles .

La formule est la suivante :5S + 5 P + 5 E + 2 C

Le calice est très réduit , en forme de bourrelet annulaire .

-Fruits :

Sont des akènes, une espèce commune dans toute la zone tempérée comme adventices des jardins , plante redérale, mauvaise herbe des surfaces en herbe, c'est l'une des plantes médicinales et culturelles les plus anciennes au monde(**Qzenda,1985**).



Fig.n°01 :Photographie de plante l'armoise blanche d'Ain sefra

III-Taxonomie:

La plante Artémisia appartient à la famille des composées et elle a plusieurs noms,comme suit :

Nom botanique : *Artémisia herba alba*, Armoise commune, Armoise vulgaris L.

Nom Arabe : chih, boail haran, Tirkha, Alha.

Nom berbère : Ifessi, Izeri, Zérrare, Abelbel, Odessir.

Nom français : Armoise blanche, thym de steppes.

Nom anglais : wormwood (Mahmoudi, 1991)

Il existe des grandes problèmes systématiques, raison pour laquelle il est difficile de déterminer avec exactitude du genre *Artémisia* qui est riche en espèce et sous-espèces.

Le tableau suivant montre la classification d'*Artémisia herba-alba*.

Tableau n °01 : Classification d'armoise blanche (Quezel et Santa, 1962)

Règne	Végétal
Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales, épigynes, iostémones
Ordre	Astérales
Famille	Composées ou synanthérés
Sous-famille	Tubiliflores
Tribu	Anthéminées
Genre	<i>Artémisia</i>
Espèce	<i>Artémisia herba alba</i> asso. L

V. Ecologie et répartition géographique :

V.1. Dans le monde : Les espèces appartenant au genre *Artemisia* sont des buissons aromatiques médicaux se développent dans les grandes régions de l'hémisphère nord, en particulier dans le bassin aride et méditerranéen, s'étendant de l'Himalaya occidental (Vernin *et al*, 1995) (fig.n°2)



Fig.n°02 :Carte de répartition plantes d'armoise dans le monde (*AbouEl-Hamad et al, 2010*)

V.2.Dans l'Algérie :

Djebilet,(1984) classe les stations représentatives des trois régions steppiques (Ouest et Est, selon la période de sécheresse, en quatre catégories :

- La première avec une période de sécheresse de 11 à 12 Mois (Biskra, ouled Djalal, Laghouat, Ain-Sefra, et el Bioud)
- La deuxième avec une période de sécheresse de 7 à 10 Mois (el Kantara)
- La troisième avec une période de sécheresse de 6Mois (Mécherai)
- La quatrième avec 4 à 5 Mois de sécheresse (Djelfa, Aflou, Batna)

La partie steppique de la wilaya de Saïda est caractérisée d'une part de son rôle de réservoir minéral du sol et d'autre part de facteurs de morphogénèse, le substratum géologique et écologique exerce une influence importante sur la répartition de la végétation,cette dernière est prépondérante en zone arides du fait du faible recouvrement global de la végétation.

L'armoise est très répondeuse sur les hauts plateaux et le Sahara ainsi on la trouve dans le sud-oranais (**Juniora, 2007**).

VI-Culture :

L'artémisia herba alba se présente sur glacis en peuplement pur (**Aidoud,1983**).C'est la plante la plus commune dans la steppe.elle est très répondeuse dans les hauts plateaux ou elle forme de vastes nappes dans les zones argileuses et humides des nappes alfatières(**Body,1961**).

VII.Composition chimique :

Au Maroc, l'*Armoise blanche* constitue un fourrage particulièrement intéressant.En effet, la plante présente un taux de cellulose plus ou moins élevé (17 à 33%). La matière sèche (MS) apporte entre 6 et 11 % de matière protéique brute dont 72% est constituée d'acide aminé. Le

taux de β -carotène varie entre 1,3 et 7 mg/kg selon les saisons (*Fenardji et al, 1974*). La valeur énergétique de l'armoise blanche, très

faible en hiver (0,2 à 0,4 UF/Kg de MS), augmente rapidement au printemps (0,92 UF/Kg de MS) pour diminuer de nouveau en été (0,6 UF/Kg de MS).

En automne, les pluies de septembre provoquent une nouvelle période de croissance et la valeur énergétique augmente de nouveau (0,8 UF/Kg de MS). Les plantes de l'Artémisia, auquel appartient l'*Armoise blanche*, ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques par intérêt économique surtout pour les HE. Les métabolites les plus étudiés sont les sesquiterpènes lactones, les coumarines et les hydrocarbures. Deux principales classes de molécules sont impliquées dans les effets pharmacologiques attribués à l'*Armoise blanche* : les terpènes et les flavonoïdes.

VII.1. Terpènes

Les terpènes sont des polymères constitués d'unités en C₅ (isopentylpyrophosphate). Les mono terpènes (en C₁₀) sont des substances légèrement volatiles qui forment les huiles essentielles. Ils protègent les végétaux contre les parasites, inhibent la croissance bactérienne et attirent les animaux pollinisateurs (*Luttge, 1992*).

Les principaux monoterpènes, identifiés dans l'Armoise blanche, sont le thujonemonoterpène lactone, le 1,8-cinéol et le thymol (*Duke, 1992*). Des monoterpènes alcooliques (yomogialcool, santoline alcool) ont été mis en évidence (*Seg et al, 1980*). Ces mêmes auteurs ont identifié des sesquiterpènes (3 unités en C₅) et des sesquiterpènes lactones dans plusieurs chémotypes du Moyen-Orient (*Segal et al, 1985*). Le thujone est probablement l'un des constituants terpéniques les plus bioactifs de l'armoise. Son nom provient de Thuya (*Thuja occidentalis*) plante de laquelle il a été extrait pour la première fois.

VII.2. Flavonoïdes

Ce sont des composés phénoliques qui contribuent à la pigmentation de la plante. Composés très ubiquitaires, certains d'entre eux jouent le rôle de phytoalexines, métabolites synthétisés par la plante pour lutter contre divers parasites. Les flavonoïdes sont rencontrés à l'état libre (soluble) ou liés à un sucre (glycosides) dans le liquide vacuolaire. La coloration des dérivés dépend des différentes substitutions de l'atome d'hydrogène sur divers cycles de la formation de complexes avec les ions métalliques (Fe³⁺, Al³⁺) et du pH (*Luttge, 1992*). Les principaux flavonoïdes étudiés de l'Armoise blanche sont l'hispiduline, la cirsimarine (*Shen et al, 1994*) et le cislions (*Salah et Jaker, 2005*). Des flavones glycosides comme la 3-rétinoïde-quercitrine et l'isovitexine ont été mis en évidence chez des hémotypes du Sinaï (*Saleh et al, 1985*).

L'étude antérieure et récente, faite sur la composition chimique des HE de l'*Armoise blanche*, ont permis de classer les différents peuplements suivants la composition majoritaires. Dans le cas des HE, seuls sont rencontrés les terpènes les plus volatils c'est-à-dire ceux dont le poids moléculaire n'est pas trop élevé à savoir :

-Les mono-terpènes dont la formule générale est C₁₀H₁₆.

-Les sesquiterpènes dont la formule générale est C₁₅H₂₄.

Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques (*Benmansour, 1999*).

Tableau.n° 02 : Taux des constituants des HE de l'Armoise blanche (*Benammar, 2000*).

Composés identifiés Des extraits	Ethanol	Benzène
α -pinène	87,504%	-
Crysanthenone	5,335%	1,385%
Camphre	1,426%	9,071%
β-Thujone	-	0,702%
Cis-chrysanthényle α	-	33,671%

VII. Place de l'Artemisia herba alba en phytothérapie :

L'Artemisia herba alba Asso est très utilisé au Moyen-Orient et en l'Afrique du Nord contre plusieurs maladies y compris l'entérite et les troubles intestinaux. Dans une étude visant à révéler les raisons de l'utilisation de cette plante, l'extrait de l'huile essentielle d'Artemisia herba alba Asso a été testé contre différentes bactéries qui causeraient des troubles intestinaux, ainsi que sur des lapins afin de déterminer l'activité antispasmodique de cet extrait. L'huile essentielle d'Artemisia herba alba Asso a montré une activité antibactérienne contre plusieurs bactéries telle que l'Escherichia coli, Shigella sonnei et la Salmonelle typhose. Cette activité a été assimilée à linalool, pinocarvèneol et surtout terpène 4-ol.

De loin le plus fréquemment cité est l'utilisation de l'Artemisia herba alba dans le traitement du diabète sucré (*Twajj & Al-Badr, 1988; Al-Shamaony et al, 1994, Marrif et al, 1995; Taştekin et al 2006*). Plusieurs auteurs ont rapporté sur l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux d'Artemisia herba alba Asso (0.39 g/kg de poids corporel) sur des lapins, des rats et des souris rendus diabétiques par l'alloxan monohydrate. Les composés responsables de cet effet hypoglycémiant restent cependant à élucider.

En plus du diabète, l'extrait aqueux d'Artemisia herba alba Asso est utilisé traditionnellement en Jordanie comme un antidote contre les venins de plusieurs types de serpents et de scorpions (*Twajj & Al-Badr, 1988*), et en Afrique du Nord pour soigner la bronchite, l'abcès, les diarrhées, et comme vermifuge (*Gharabi et al, 2008*)

I. Généralité sur les huiles essentielles :

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles autant que métabolites secondaires, mais leur rôle exacte dans les processus de la vie de la plante est inconnu (Rai et al, 2003).

Certain auteurs pensent que la plante utilise l'huile comme des supports à une communication et certainement plusieurs effets apparents « utiles » ont été décrits: réduction de la compétition des autres espèces de plante par inhibition chimique de la germination des graines, et protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides, et contre les herbivores par goût et effet défavorables sur le système nerveux (Porter, 2001).

II. Définition :

Le terme « huile essentielle » a été inventé au 16^{ème} siècle par le médecin suisse Paracelsus Von Hohenheim pour désigner le composé actif d'un remède naturel (Caillet et al, 2007). Selon la définition de la norme française NFT75-006 (AFNOR, Février 1998) l'huile essentielle (=essence=huile volatile), est un « produit obtenu à partir d'une matière première végétale soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par hydrodistillation sèche » (Bruneton, 1999).

III. Localisation :

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes: fleur (origan), feuilles (citronnelle écorce (cannelier), bois (bois de rose), rhizome (acore), fruits (badiane) ou grain carvi (Degryse et al, 2008).

-Les huiles brutes ou naturelles :

Sont obtenues par distillation d'une grande quantité de matières premières broyées (branches, aiguilles, écorces, bois, etc...) elles ne sont pas raffinées.

-les huiles rectifiées :

Sont des huiles brutes purifiées, c'est-à-dire que certains résidus laissés lors de la distillation sont éliminés par l'entraînement à la vapeur.

-les huiles fractionnées :

Sont les huiles essentielles de qualité supérieure. On les obtient en séparant les composés volatiles en diverses fractions, selon leurs points d'ébullition spécifiques.

IV. Les propriétés biologiques des huiles essentielles :

Les propriétés des essences sont innombrables et variables selon les espèces, les huiles essentielles sont dotées d'un pouvoir de pénétration transcutanée, elles sont antiseptiques, pulmonaires, intestinales, et urinaires.

Des expériences ont permis de discerner l'existence de principes antibiotiques et d'hormones dans un certain nombre de végétaux et d'essences. Parmi les essences régularisantes et favorisant les règles figurent le persil, le lierre, l'armoïse.

De nombreuses essences ont un effet analgésique, on peut citer la camomille, le girofle. Ce sont des calmants au sédatifs qui apaisent la douleur en favorisant le sommeil (lavande, camomille, tilleul, verveine). La verveine, la lavande,.....ont également des propriétés antispasmodiques. L'essence de la camomille est à la fois antispasmodique et anti-inflammatoire grâce à l'azulène qu'elle contient. La puissance des huiles essentielles est affirmée par des exemples illimités et prouvée par les expériences scientifiques concernant leur activités antiseptiques, antifongiques et anti-oxydantes (**Salle, 1991**).

L'HE d'armoise possède des propriétés répulsives vis-à-vis des insectes. Un extrait éthanoïque d'armoise agit comme un insecticide. Un bouquet d'armoise dans une chambre est censé faire fuir des mouches et des moustiques. Des extraits de la plante ont également une activité antimicrobienne (**Rohmer, 2005**).

Le centre de Recherche et de développement des plantes à usage pharmaceutique de la faculté de pharmacie de Montpellier Pellecuer et *al* ; (1980) oriente une partie de ses travaux sur la mise en évidence du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de certaines plantes aromatiques méditerranéennes comme :

- Lavandula (lavande)
- Mentha spicata(Menthe).
- Artémisia herba-alba(Armoise blanche).
- Thymus vulgarisa(Thym).

L'HE d'armoise blanche possède une grande renommée dans la médecine traditionnelle et elle est connue par les populations vivant dans le désert comme vermifuge, par ses activités anthelminthiques et antibactériennes, elle est utilisée comme remède contre la toux, les troubles intestinaux le rhume, la rougeole et les faiblesses musculaires (**Bensegueni, 1984**).Les parties utilisées sont les feuilles et les racines.

Les principaux modes d'utilisation sont l'infusion et la macération. Cependant, il est conseillé d'en faire un usage modéré car à fort dose la plante se révèle très toxique et peut provoquer des convulsions et des manifestations. A forte dose également, l'armoise peut entraîner un avortement chez la femme enceinte en raison de l'effet congestionnant sur l'utérus (**Baba, 1999**).

V. La composition chimique :

C'est un mélange de molécules variées, comprenant en particulier des terpènes (hydrocarbures non aromatiques), c'est-à-dire dérivés de l'isoprène et non du benzène, et des composés oxygénés (alcools, aldéhydes, cétones).

V-1. les terpènes :

Ce sont des composés acycliques, ils entrent dans la composition des essences végétales, quelque soit leur mode de préparation.

V-2. La térébenthine :

C'est le nom donné en général aux résines semi-liquides extraites du térébinthe, du mélèze, du sapin, du pin maritime.

V-3. Les alcool et les esters :

La formule générale d'un alcool est C_nH_{2n+2} ou $C_nH_{2n+1}-OH$ ou $R-OH$ et d'un ester $C_nH_{2n}O_2$ jouent un rôle important en tant que principe odorant.

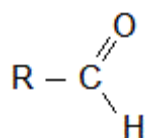
Les esters sont des corps résultants de l'action des acides sur l'alcool avec élimination de l'eau.

V-4. Les composés phénoliques :

La formule générale des esters -oxydes est $R-O-R$ ou $C_nH_{2n+2}O$. Ce sont les phénols, les éthers et oxydes de phénol.

V-5. Les aldéhydes :

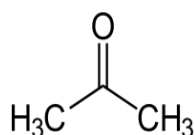
La formule générale d'un aldéhyde est



Ils dérivent des alcools primaires et sont des liquides volatiles (qui se transforment aisément en vapeur).

V-6. Les cétones :

La formule générale d'une cétone est :



Ce sont des produits d'oxydation des alcools secondaires, ce sont des liquides, incolores, inflammables, d'odeur éthérée, utilisés principalement comme solvants (Mastelic et al, 1997).

V-7. Composés d'origines diverses :

Il s'agit des produits de la transformation de molécules non volatiles généralement de faible masse moléculaire. Il en est de même pour les huiles essentielles lorsqu'ils sont entraînés par la vapeur d'eau de chaîne linéaire ou ramifiée, saturés ou non et portant différentes fonctions (Chakou et Bassou, 2007).

V-8. Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïdes ou bio flavonoïdes est attribué à une classe de métabolites secondaires désignant une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des poly phénols. Ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux (Lhuilair, 2007).

Les substances sont en général hydrosolubles. Elles sont responsable de la coloration des fleurs, des fruits et parfois même les feuilles qui leurs confèrent une couleur jaune ou blanchâtre (**Bruneton,1999**).

V-8.1.structure :

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromone(**Milane, 2004**) à 15 atomes de carbone(C6-C3-C6), constitué de deux noyau aromatiques, que désignent les lettre A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné que désigne la lettre C(**Dacosta,2003**), portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides (**Milane, 2004**).

On signale que le noyau flavone est lui même un dérivé du noyau flavane de base(**Milane, 2004**).

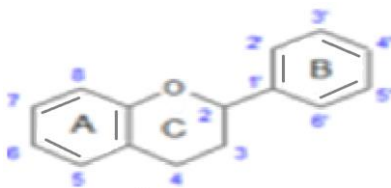


Fig N°3 : structure de base des flavonoïdes (**Dacosta, 2003**).

Les flavonoïdes sont classés sur cinq classes :

-flavonones, flavonols.

-flavonones et hydroflavonols

-bi flavonoïdes.

-chalcones, aurones.

-hétérosides flavonoidiques

V-8.2.Rôle des flavonoïdes :

Selon (**Gomez et al, 2006**).Ce sont des molécules données de plusieurs propriétés biologiques :

anti-inflammatoires, antivirales, et antibactériennes, anti-cancérogènes, antioxydant, peroxydant.

Les flavonoïdes sont utilisés dans le domaine capillaro-veineux

Ils ont des indications ou des propositions d'emploi suivantes :

-Traitement des symptômes en rapport avec l'insuffisance veinolympatique :crampes, paresthésie, jambe lourde et autre signe fonctionnels.

-Traitement des troubles de fragilités capillaires au niveau de la peau et des muqueuses.

-Hémorragies liées à la contraception par dispositifs intra-utérins (Bassene, 2001).

Tableau N°03 : principaux composés des huiles essentielles(willem,2004)

Elément	Caractéristique	Quelques produits contenant ces éléments
Les acides	Anti-inflammatoire très puissants Agissent en calmants du système nerveux	Le clou de girofle et le genévrier
Les aldéhydes	Intermédiaire entre alcools et cétones Anti-inflammatoires Calmants du système nerveux Anti-infectieux, Peuvent irriter les muqueuses et la peau	Le citron, la mélisse, la verveine des indes, la cannelle de chine
Les cétones	Anti-inflammatoires , Anti-infectieux Stimulent le système immunitaire à faible dose ; anti-coagulantes,cicatrisants,lipolytiques,calmantes. à forte dose peuvent être neurotoxiques. Les huiles essentielles riches en cétones ne doivent pas être employées seules	L'absinthe, la camomille. Le romarin officinal, l'eucalyptus mentholé.
Les coumarines	Neuro-sédatifs, Anti-coagulantes	L'angélique, le céleri, l'orange
Les éthers	Action antispasmodique Effets antalgiques Antidépresseur psychique	L'anis étoilé, l'estragon, le basilic, la rose de damas.
Les esters	Antispasmodiques, Anti-arythmiques Rééquilibrants nerveux	Le lavandin, la lavande officinale, le géranium rose
Les mono terpènes	Stimulants du système immunitaire Antiseptiques Antalgique	Le thym, le cyprès, la sauge officinale
Les phénols	Anti-infectieux Immunostimulants Action contre les microbes, les champignons, les virus et les bactéries	Le thym, l'origan d'Espagne, le poivre noir
Les sesquiterpènes	Anti-inflammatoires, Immunostimulants Anti-allergique	La mélisse, le cèdre d'atlas
Les sesquiterpénols	Stimulants généraux Toniques, Microbicides	Le patchouli, la grande carotte sauvage, le santal blanc

VI.1a répartition des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont largement ré pondues dans le monde végétal. Elles se trouvent en quantité appréciable chez environ 2000 espèces réparties en 60 familles-à titre d'exemple, nous citerons certaines d'entre elles :

Les abiaetaceaes (Epicéa,pin,sapin)

Les Apiaceaes(Angélique,carottes,persil)

Les Astéraceaes(Armoise,camomille,pissenlit)

Les Lamiaceaes(Basilic,lavande,Menthe,Thym)

LesMyrtaceaes(Eucalyptus,girofle) (Kambouch et EL abed, 2003).

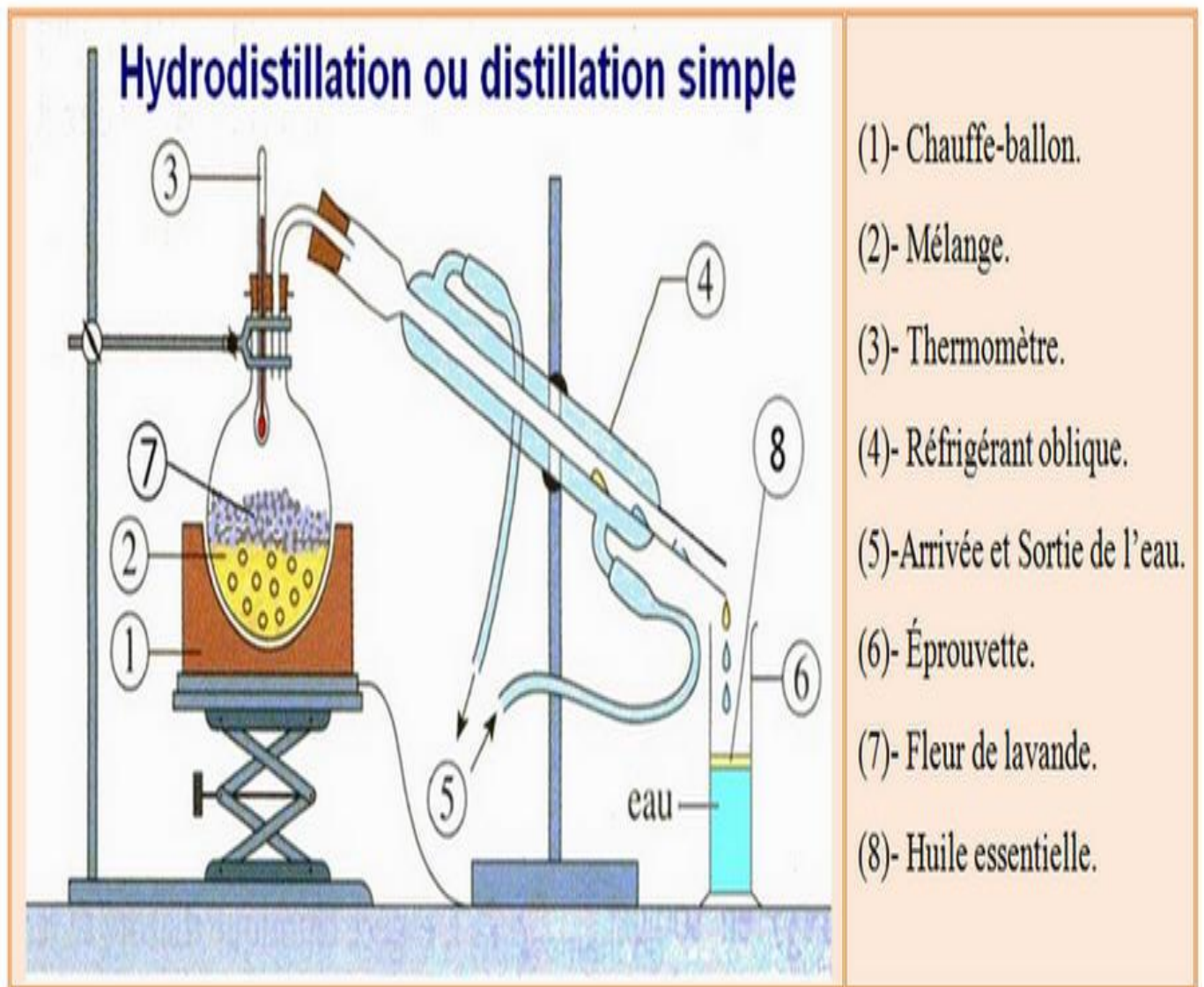


Fig N°04 : Procédé d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation(Willem, 2004)

Tableau N°04 : Les principales méthodes d'extractions des huiles essentielles

Méthodes d'extraction		Principes	Références
distillation	Hydro-distillation	La partie de la plante contenant la molécule à extraire est placée dans un ballon avec l'eau et quelques morceaux de pierre ponce pour assurer le brassage de la solution. En chauffant, l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatiques. En passant dans un erlenmeyer ou il est possible de distinguer deux phases bien distinctes : HE et l'eau aromatique.	(Lawencet, 2000) ; (Rose, 1965).
	Entrainement à la vapeur d'eau	La matière végétale placée dans un alambic est traversée par un courant de vapeur d'eau, les principes volatiles, peu solubles dans l'eau, sont entraînés et après condensation séparés du distillat par décantation dans un récipient spécial	(Cazier et Roux, 2007)
	Hydro-diffusion	Le procédé consiste à exercer sous un courant d'eau une action abrasive sur toute la surface du fruit. Après élimination des déchets solides, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par centrifugation	(Wilson, 2002)
Distillation «sèche» ou distillation destructive		La distillation sèche consiste à chauffer de façon très modérée les plantes ou parties de plantes sans ajout d'eau ni de solvants organiques, puis à condenser les substances volatiles.	(Kapeta et Coll, 1984)

<p>Extraction par décantation</p>	<p>Consiste à faire bouillir dans l'eau les plantes sèches ou fraîches. Réalisées à partir des racines, d'écorces et de baies</p>	<p>(Iserin,2001)</p>
<p>Expression au solvant volatil</p>	<p>Le matériel végétal est placé sur des grilles puis dans des cuves appelées extracteurs. On les remplit de solvant et on effectue ainsi plusieurs lavages successifs. Le mélange est ensuite envoyé dans un décanteur ou on le laisse reposer.</p>	<p>(Werner,2002)</p>
<p>Extraction assistée par micro-ondes</p>	<p>Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-onde dans une enceinte close 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 condensation, refroidissement, et décantation.</p>	<p>(Hemwinon et Coll,2007)</p>
<p>L'entraînement à l'air</p>	<p>Le système proposé est inspiré du procédé l'entraînement à la vapeur classique. Il se compose en fait de trois parties : un compresseur envoyant de l'air dans le ballon où se trouve la matière végétale placée dans un four micro-ondes domestique. Ce ballon est soumis aux radiations micro-ondes. La vapeur d'eau saturée en molécules volatiles est ensuite entraînée vers un second ballon de récupération plongé dans de la glace et situé à l'extérieur du four à micro-ondes. L'eau ainsi que les molécules aromatiques est donc condensées dans ce ballon extérieur.</p>	<p>(Craveiro et Coll,1989)</p>

<p>Extractions par CO₂ supercritique</p>		<p>Cette technologie utilise le CO₂ à l'état liquide ou supercritique. Le CO₂ passe à l'état supercritique lorsqu'il est soumis à une pression supérieure à 73 bars et à une température supérieure à 31.4°C.</p> <p>Dans ces conditions, il possède un bon pouvoir dissolvant plus ou moins sélectif selon la température, la pression et la nature des solutés, qui vont déterminer le rendement d'extraction et la composition de l'extrait.</p>	<p>(Bernard et Coll,1988) ; (Menaker et coll,2004)</p>
<p>L'enfleurage</p>	<p>L'enfleurage Macération</p>	<p>C'est une technique utilisant la haute solubilité des huiles essentielles dans les corps gras Il consiste à extraire au moyen de corps gras, préalablement bien épurés, les HEs de certaines plantes la partie de la plante utilisée est plongée dans le solvant chauffé à environ 60°C pendant un certain temps (24 à 48 heures).</p>	<p>(Lardry et Haberkorn ,2007)</p>
	<p>L'enfleurage à froid ou absorption</p>	<p>Est pratiquée pour certaines fleurs dans lesquelles les constituants odorants ne se développent que très progressivement (par hydrolyse des glucosides par exemple)</p>	

VII.L'utilisation des huiles essentielles :

VII.1. Les huiles essentielles dans les cosmétiques :

Les marques de cosmétiques naturels contiennent des huiles essentielles pour leurs propriétés pour servir de conservateur et aussi pour remplacer les parfums de synthèse. Les personnes allergiques à certaines huiles essentielles peuvent réagir aux cosmétiques naturels.

VII.2. Utilisation pharmaceutique :

Les huiles essentielles ont un grand intérêt en pharmacie pour leurs propriétés aromatisées pour masquer l'odeur désagréable des médicaments destinés à la voie orale. Plus de 40 % des médicaments sont à base de composants actifs issus de plantes, de nombreuses huiles essentielles se trouvent dans la formule d'un grand nombre de spécialités pharmaceutiques :sirop, gouttes, gélules....etc.

VIII.3. Utilisation sanitaire :

L'huile essentielle est utilisées en raison de leurs propriétés stimulantes ou inhibitrices notamment sur les microbes (désinfection)et les activités cellulaires des plantes ou animaux.

VII.4. Utilisation industrielles :

Les huiles essentielles sont utilisées comme produit de base pour ajouter des odeurs, en raison de leur forte volatilité et du fait qu'elles ne laissent pas de trace grasse, dans l'agroalimentaire aussi on utilise des huiles essentielles pour incorporer aux aliments des saveurs. Par ailleurs, le pouvoir antioxydant de certaines essences permet la conservation des aliments en évitant les moisissures. Actuellement, l'industrie agro alimentaire utilise des essences dans les préparations surgelées pour empêcher les contaminations alimentaires (Salle, 1991).

VIII. Les différentes voies d'utilisation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles peuvent s'utiliser par différentes voies. L'emploi des huiles nécessite le respect de certaines règles si l'on veut bénéficier de leur efficacité et éviter les désagréments dus à un mauvais usage. Les huiles essentielles s'utilisent en usage interne ou externe.

VIII.1. En usage interne:

1. Voie orale :

C'est la voie la plus rapide et la plus efficace mais celle, la plus dangereuse (Jean, 2003). Il ne faut pas l'utiliser pure car elles peuvent provoquer des brûlures digestives (Biogassendi, 2003). Le dosage doit rester faible, ne pas dépasser 06 gouttes par jour (Bachelot et al, 2006).

2. Voie rectale :

Elles doivent être prises sous forme de suppositoires (Bachelot et al, 2006).

3. Voie vaginale :

Elles sont prises sous forme d'ovule (Bachelot et al, 2006).

C'est deux voies permettent d'éviter le système digestif donc la diffusion dans l'organisme se fait par circulation générale (Bachelot et al, 2006).

VIII.2. En usage externe :

1. Voie cutané :

Moins toxique car elle permet une pénétration facile et rapide dans la microcirculation périphérique puis dans la circulation générale (Biogassendi, 2003).

2. Inhalation :

Généralement quelques gouttes de l'huile essentielle sont ajoutées à un bol d'eau chaude, et on respire la vapeur qui s'en dégage (Mrie, 2006).

IX. Précaution :

Certaines huiles sont agressives pour la peau, comme l'origan. Par conséquent, il faut agir avec grande précaution et respecter ces quelques règles de base :

-Ne jamais appliquer une huile essentielle pure sur la peau et surtout sur les muqueuses (Marie, 2006).

Certaines huiles essentielles peuvent être irritantes, voire même contenir des allergènes (donc allergisantes pour certaines personnes) (Marie, 2006).

X. Conservation des huiles essentielles :

La conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables si l'on veut éviter leur oxydation et leur dépolymérisation. Il est recommandé de stocker les huiles essentielles dans des flacons en verre ambre ou foncé, de manière à les protéger de la lumière, il faut éviter les forts écarts de température et le contact avec l'air (pas d'ouverture prolongée des flacons) dans ces conditions, les huiles essentielles se conservent plusieurs années. Les flacons doivent être stockés en position verticale (en position horizontale, il y a un risque que le bouchon soit attaqué par l'huile essentielle).

Il est en outre important que les matériaux (Caoutchouc, plastic) ne doivent pas être en contact direct avec l'huile essentielle car ils n'y résistent pas à ce dernier. Les récipients en verre sont utilisables pour les petites quantités d'HE, et pour récupérer des grandes quantités on utilise les récipients métalliques.

La durée de conservation des HE pures, dans les bonnes conditions, se situe aux alentours de 12 à 36 mois selon l'HE considérée (12 mois pour les essences de citrus) (Roux, 2008).

XI. Activité Antimicrobienne des huiles essentielles

La plupart des HE possèdent des propriétés antimicrobiennes plus ou moins prononcées. En effet, en raison de leurs constituants, les HE se lient aux membranes cellulaires des micro-organismes. Ils inhibent notamment les échanges d'électrons membranaires lors des phosphorylations oxydatives et freinent ainsi le métabolisme énergétique. De fortes concentrations en l'HE conduisent également à la lyse membranaire et à la dénaturation des protéines cytoplasmiques (Rohmer *et al*, 2005).

L'activité antimicrobienne de nombreuses huiles ou de leurs constituants peut être comparée à celle du phénol. Ainsi, à titre d'exemple, le coefficient phénolique qui exprime l'activité antimicrobienne comparativement au phénol de référence (phénol=1), s'élève pour l'HE de l'Armoise Blanche 1,6 ; pour l'HE de lavande à 2,7 et pour celle du thym à 13,2. Pour certains de leurs constituants, il atteint également des valeurs élevées : 0,9 pour le menthol, 3,0 pour l'aldéhyde cinnamique, 6,2 pour le camphre, 8,6 pour l'eugénol et 20 pour le thymol.

L'activité antibactérienne et antifongique des huiles de l'*Armoise blanche* peut être expliquée par leurs richesses en composés oxygénés (chrysothénone, camphre, α -terpin-7-al et trans- β -terpinéol).

En effet, il a été démontré que les huiles d'*Artemisia herba alba* possédant le taux le plus élevé en composés oxygénés monoterpéniques sont plus actives (**Kordali et al, 2005**). Le pouvoir antimicrobien de l'huile issue des échantillons d'armoise du mois de septembre, de dominance camphre (45 %), α -terpin-7-al (22,30 %) et trans- β -terpinéol (11,10 %), est supérieur à celles des deux autres récoltes (avril et juin) riches en chrysothénone (47,70–48,45 %) et en camphre (21,60–24,85 %). Cela est dû au fait que les aldéhydes et les alcools terpéniques sont plus efficaces contre les micro-organismes que les cétones. Cette constatation a montré que l'activité antimicrobienne de certains composés terpéniques est dans l'ordre croissant suivant : aldéhydes > alcools > cétones > hydrocarbures (**Channaoui et al, 1997**).

Cependant, certaines études ont trouvé que l'activité antimicrobienne des HE peut être supérieure à celle de leurs composés majoritaires testés séparément (**Lahlou, 2004**). Cette dominance d'activité des essences sur celle d'un composant majoritaire confirme bien l'effet de synergie que pourraient apporter les composants minoritaires à l'activité des HE (**Franchomme, 1981**).

I.1. *Staphylocoques*

I.1.1. Caractères généraux :

Les staphylocoques sont des bactéries saprophytes de l'homme et de l'animal (peau et muqueuses). Certaines espèces sont responsables d'infections locales ou générales (Septicémies). Après coloration, ils apparaissent sous la forme de cocci à gram positif de 0,5 à

2,5 um de diamètre, non sporulés, immobiles isolés ou groupés en diplocoques ou en amas ayant la forme de grappe de raisin (**Azele, 1979**).

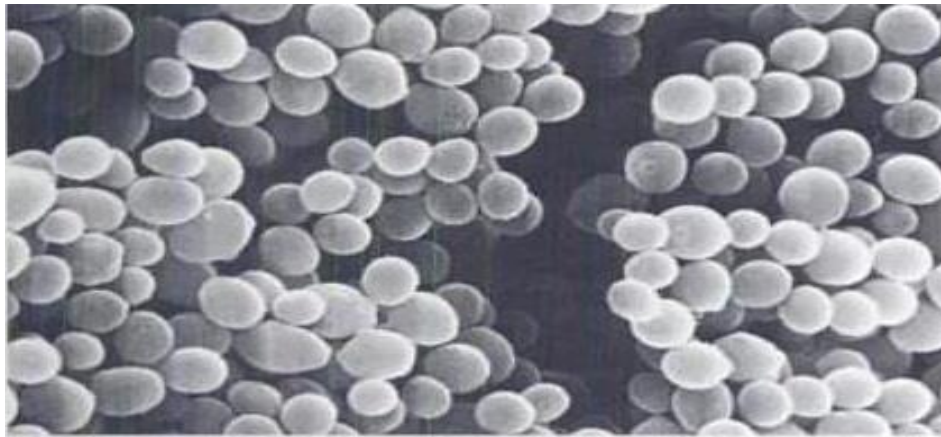


Figure.n°5: Aspect de *Staphylococcus aureus* en microscopie électronique à balayage (x32.000) (**Koval, 2000**).

I.1.2. Habitat :

Il s'agit de germes très répandus dans la nature (air, eau, sol). Les Staphylocoques, en particulier les espèces *S. aureus* et *S. épidermidis*, font partie de la flore normale de nombreux individus qui sont des « porteurs asymptomatiques ». Cependant ces souches peuvent être à l'origine d'auto-infections ou contaminer d'autres individus. Les Staphylocoques peuvent être trouvés particulièrement dans les fosses nasales antérieures (*S. aureus* : 30-40%, *S. épidermidis* 30-100%). La transmission est directe entre les individus (contact, dissémination, à partir du nez notamment) ou indirecte par l'intermédiaire des aliments ou du milieu extérieur. Le nouveau-né est rapidement colonisé par *S. aureus* après l'accouchement et, plus tard l'enfant peut être contaminé au sein d'une collectivité ; la contamination entre individus est très variable, certains individus étant de « dangereux disséminateurs », alors que d'autres sujets ne transmettent pratiquement jamais leurs souches (**Jean-loup et al, 2000**).

I.2. Staphylococcus aureus

Entre 18 à 24 heures sur milieu gélosé riche, on observe des colonies de 1 à 2 mm de diamètre produisant parfois un pigment jaune et constitué de cocci à Gram (+) en amas et catalase (+) (**tab 04**).

I.2.1. Caractères cultureux

S. aureus croit abondamment sur milieu gélosé, en présence de fortes concentrations salines (milieu sélectif de Chapman à 7.5% de NaCl). Le pH optimal est de 7 à 7.5. Il existe des variantes exigeantes en facteurs de croissance : thiamine, acide panthénique... Pour les produits mono microbiens, l'isolement est facile en bouillon, ou en milieu solide non sélectif. (Trypticase-soja, Mueller Hinton (MH), gélose au sang), et Pour les produits pathologiques polymicrobiens, on doit recourir à des milieux sélectifs comme le milieu de Chapman (milieu hyper salé + mannitol) ou milieu de Barid-parker au tellurite (**Jean-loup et al, 2000**).

I.2.2. Caractères biochimiques

S. aureus a un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif, catalase positif. Elle est toute fois capable de fermenter le glucose (métabolisme anaérobie). Il est habituellement capable de fermenter le mannitol. Ce caractère est souvent, mais pas obligatoirement, associé à la pathogénicité. Il est utilisé dans le milieu de Chapman. La fermentation se traduit par le virage au jaune du milieu de culture (**Jean, 1997**).

Tableau°05: Les caractères biochimiques de *S. aureus* (**Jean, 1997**).

Teste d'identifications	Caractères
Coagulase	+
DNAase	+
Résistance à novobiocine disque (5g)	-
Nitrate réductase	+
Phosphatase	+
Mannitol	+
Culture en anaérobie	+
ADH	+
Catalase	+

oxydase	-
---------	---

I.2.3. Facteurs de virulence :

I.2.3.1. Composants de la paroi :

Les composants de la paroi comme le peptidoglycane, les acides téichoïques et lipoteichoïques possèdent des effets biologiques démontrés *in vitro*, qui en contact des cellules lymphomonocytaires, entraînent la sécrétion de cytokines. Alors que le peptidoglycane est peu immunogène, les acides teichoïques (polymères linéaires du phosphate) donnent naissance à des anticorps que l'on trouve dans le sérum de malades atteints d'infection récente. Ces acides teichoïques sont les récepteurs de bactériophages (lysotypie des staphylocoques) (Jean- loup et al, 2000).

I.2.3.2. Facteurs d'invasion et d'adhésion :

S.aureus colonise la peau et les muqueuses en adhérant aux cellules et aux composants de la matrice extracellulaire. *S.aureus* se fixe aux cellules par l'intermédiaire de protéines de surface, les adhésines, qui sont ancrées dans le peptidoglycane. Cinq protéines ont été caractérisées :

- La protéine A, élaborée uniquement par les souches d'origine humaine, se lie au fragment des immunoglobulines. Elle intervient dans la phagocytose.
- La protéine de liaison au collagène permet l'adhésion de *S. aureus* aux caillots plasmatiques.
- La protéine de liaison au fibrinogène qui provoque l'agrégation de bactéries en présence de plasma permettant de transformer directement le fibrinogène en fibrine.
- La protéine de liaison à l'élastine.

I .2.3.3. Substances élaborées par *S.aureus*

S.aureus élabore des protéines diffusibles douées soit d'activité toxique, soit d'activité seulement enzymatique.

I.2.4.Toxines : Cinq principales toxines sont décrites chez *S.aureus* :

- Les hémolysines ont une action cytotoxique sur de nombreuses cellules eucaryotes, notamment les globules rouges et les plaquettes. L'hémolysine α , sécrétée par la quasi-totalité des souches de *S.aureus*, La perméabilisation membranaire entraîne une fuite osmotique du contenu cellulaire aboutissant à la mort des cellules. La cytolysse de plaquettes et de monocytes libère des cytokines et d'autres médiateurs de la réaction inflammatoire expliquant le choc septique des infections sévères à *S.aureus*(Foster, 1991).

- La leucocidine est formée de 2 composés, elle agit sur les polynucléaires et les macrophages chez lesquels elle provoque la perte de mobilité, le dé granulation, la destruction nucléaire et la lyse cellulaire.
- L'exfolitine est une protéine thermostable responsable des lésions d'érythrodermie bulleuse que l'on observe parfois au cours des septicémies à staphylocoques et au cours de l'impétigo.
- Les entérotoxines, dont il existe 7 sérotypes différents (A, B, C1, C2, C3, D, E) sont des protéines thermostables responsables d'intoxication alimentaires (diarrhée, vomissements, douleurs abdominales).
- ✓ La toxine responsable du choc toxique staphylococcique (TSST) :

Cette protéine antigénique entraîne la formation d'anticorps protecteurs présents chez 85% des sujets adultes. Cette toxine, comme les entérotoxines, a un effet pyrogène et est un super antigène qui entraîne l'activation simultanée de plusieurs sous-populations lymphocytaires, ce qui entraîne la libération de plusieurs médiateurs (interleukine, interféron gamma) responsables de la symptomatologie du choc staphylococcique (**Sutra et Poutrel, 1994**).

I.3. Escherichia coli :

I.3.1. Caractères morphologiques :

E. coli est un bacille (fig 06) à Gram négatif dont les dimensions varient de 2 à 3 µm de longueur et de 0.5 µm de largeur. Elle est entourée de nombreux et longs cils péritriches, d'où une relative mobilité cohérente (16 µm/sec), non sporulée et aéro-anaérobies facultatif (**Biugunicourt, 1995**).

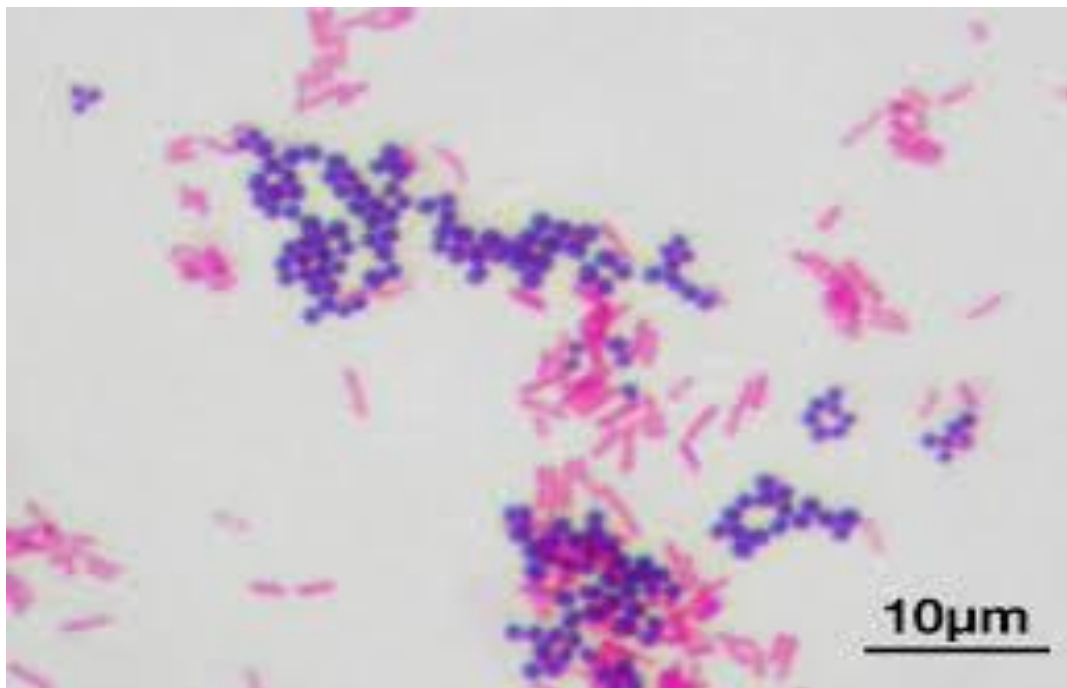


Figure N°6: Aspect *E. coli* en microscopie (x10.000)

I.3.2. Habitat :

Le nom d'entérobactérie a été donné aux *Escherichia coli* parce que ces bactéries sont en générale des hôtes normaux ou pathologique de l'intestin : ils représentent près de 80% de la flore intestinale aérobie de l'adulte, on peut les retrouver également au niveau de diverses muqueuses chez l'homme et chez les animaux. Leur présence dans l'environnement ou dans les aliments indique une contamination fécale (Azele, 1979).

I.3.3. Caractères cultureux

La culture de ce germe en bouillon est facile, elle donne un trouble dans la masse et des ondes avec léger voile, d'odeur fécaloïde est caractéristique. Sur la gélose nutritive à 37°C, *E. coli* peut être cultivée sur des milieux sélectifs et principalement sur la gélose MacConkey en donnant des colonies colorées en rouge. Assez grande vitalité du germe à la bonne température avec résistance au phénol et à quelques colorants et peu résistants aux sels biliaires (Bourgeois et Leveau, 1991).

I.3.4. Caractères biochimiques

Le métabolisme ordinaire anaérobie de ce groupe oscille entre la fermentation hétérolactique et la fermentation des acides mixtes avec production de déchets panachés : 45% d'acide acétique, 5% d'acide succinique, 17% d'acide lactique, 13% de dioxyde de carbone, 16% d'éthanol et 1% d'hydrogène (Prescot et al, 1995). Les caractères biochimiques d'*E. coli* sont présentés dans le (tableau.05).

Tableau.n°06 : Caractères biochimiques d'*E. coli* (Prescot et Herley, 1995).

Tests d'identification	Caractères
Rouge de méthyle	+
VogeProskauer	-
Production d'indole	+
Utilisation de citrate	-
Production d'H ₂ S	-
Uréase	-
B. Galactosidase	+
Gaz à partir de glucose	+

Acide à partir du lactose	+
Phénylalanine désaminase	-
Lysine décarboxylase (LDC)	+
Ornithine décarboxylase(ODC)	+
Liquéfaction de la gélatine	22°C
% (G+C)	48,52

I.3.5. Caractères antigéniques :

- ❖ Antigènes O, somatique ou lipopolysaccharidique : Il existe environ 160 antigènes O différents. Au moyen d'immuno-sérum spécifiques, il est possible de classer sérologiquement les souches de E. coli dans le groupe O. cette sérotypie est la seule à être utilisée en routine pour reconnaître notamment les souches E. coli entéro-pathogène (ECEP).
- ❖ Antigène H ou flagellaires : protéiques Ils ne sont présents que chez les souches mobiles. (Environ 56 antigènes H).
- ❖ Antigène K : capsulaires, polysaccharidiques, environ 70 antigènes d'enveloppe différents ont été reconnus. La majorité des souches responsables de méningites possède l'antigène K1. De plus, K sont subdivisées en type A et B ou L. Le type B est rencontré exclusivement dans les souches associées aux diarrhées infantiles (Jean-loup et al, 2000).

I.3.6. Pouvoir pathogène :

I.3.6.1. Infections intestinales :

Dans les années 50, E. coli est responsable, de diarrhées infantiles graves ou toxiques survenant par épidémies dans des crèches ou maternités. Ces souches encore appelées E. coli des gastro-entérites infantiles (GEI) sont plus rarement rencontrées aujourd'hui.

Les E. coli entéro-toxine (ECET) : elles provoquent des syndromes cholériques (diarrhée des voyageurs), se sont capables de sécréter des toxines.

Les E. coli entéro-invasif (ECEI) : sont des souches infectieuses provoquant des diarrhées aiguës avec fièvre. La présence de leucocytes dans les selles est le témoignage du processus invasif.

Les E. coli entéro- hémorragiques (ECEH) : ces souches sont responsables d'épidémies de diarrhée aqueuse puis hémorragique. Un produit alimentaire contaminé peut être à l'origine de la diffusion de l'épidémie. Ces souches sont aussi responsables du syndrome d'urémie-Hémolytique (**Josef, 1998**).

I.3.6.2. Infections extra-intestinales :

I.3.6.2.1. Infections urinaires

La majorité des infections urinaires de la femme jeune est due à E. coli. Les souches provenant de la flore fécale contaminent les urines par voie ascendante (**Jean-loup et al, 2000**).

I.3.6.2.2. Méningites néo-natales

Un tiers d'entre elles sont dues à E. coli. Les souches en cause possèdent le plus souvent un antigène polysaccharidique de type K1 (**Jean-loup et al, 2000**).

II.L'aromatogramme :

II.1.Recours à l'aromatogramme :

C'est un examen de laboratoire simple et peut couteux(Roulier,1999) .Lorsque les antibiotiques classiques n'agissent plus ou que la sensibilité de la personne aux infections devient chronique ou tout simplement par choix, le praticien peut avoir recours à l'aromatogramme(**Luu,2002**).

Après de nombreuses expérimentations qu'ils ont mené 1972,une équipe de chercheurs(Dr.Duraffourd C et Lapraz J-C)est restée fidèle à la technique des disques, car elle est la plus fiable ,la plus simple, la moins onéreuse. Selon ces chercheurs, il n'existe aucun avantage à utiliser une autre technique, et notamment celle en phase liquide.Ils ont affirmé cela sur un recul de plus de 25 ans.

Pour son utilisation pratique, l'aromatogramme n'est qu'un examen complémentaire pratique en laboratoire, en aucun cas il ne fait le diagnostic .comme tout examen de laboratoire, quelle que soit sa spécificité, il n'apport au clinicien qu'un complément d'information : confirme le diagnostic, l'étaye, l'oriente (**Duraffourd et Lapraz,1997**).

II.2.Comment faire un aromatoigramme :

C'est un test de laboratoire pour déterminer quelle huile essentielle est plus active, dans une situation clinique donnée. Cet examen se fait de la même manière qu'un antibiogramme ou les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques, préalablement sélectionnées et reconnues. Cette technique datant de 1950 et a été perfectionnée depuis lors (**Luu,2002**).

Elle consiste à faire une culture de pathogènes venant des échantillons de tissus infectés, urines, prélèvements...puis tester les huiles essentielles sur ces microorganismes .Ce test nécessite l'utilisation de disques de papier buvard, qui sont pré stérilisés à 110 C, après ils

sont imprégnés avec une quantité d'huile essentielle. Les disques imprégnés avec la même huile sont conservés ensemble dans un récipient hermétique, loin de la lumière, pour une durée maximale de 3 mois, et ne sont pris que par une pince stérile. Les diamètres des disques et la quantité d'huile différente selon les techniques utilisées (**Janssen et al,1987**).

Les microorganismes sont cultivés sur gélose nutritive dans des boîtes de pétri, pouvant contenir 10 à 12 disques.

Les zones d'inhibitions autour des disques, de diamètres variés, indiquent les huiles essentielles auxquelles les germes sont sensibles. Les limites de l'aromatogramme sont ceux de n'importe quelle technique *in vitro*, il représente un point de référence essentiel, puisqu'il est identique à la technique utilisée pour mesurer l'activité bactéricide des antibiotiques, alors la comparaison est simple pour n'importe quel praticien (**Nicholls,1998**).

II.3. Intérêt de l'aromatogramme :

Il permet un choix judicieux, en adaptant la prescription d'essences à chaque syndrome infectieux. Il permet une aromathérapie véritablement sur mesure et appropriée à chaque cas particulier. Les essences les plus efficaces et qui se retrouvent le plus souvent sont : l'origan d'Espagne, la sarriette de Provence, le thym (hémotypes variables), la cannelle de Ceylan et la cannelle de la Chine, le girofle. Elles sont appelées ; les essences majeures de germe. Mais l'aromatogramme révèle aussi des sensibilités à certaines essences, dont le pouvoir antiseptique était totalement insoupçonné. Il semblerait que ces essences, soit marquées par le terrain de l'individu d'où proviennent les germes, ce qui les rendait efficaces contre eux dans ce cas précis. Ce sont les essences de terrain et peuvent être très variables (**Luu,2002**).

II.4. Prescription :

A partir des huiles essentielles qui se révèlent actives, le thérapeute prescrira selon les cas, des gélules, les ovules, des suppositoires, des gouttes, des lotions antiseptiques et traitantes. Il veillera à associer dans ces préparations essences majeures de germes et essences de terrain pour tout à la fois assainir et renforcer le terrain du patient. Les résultats de tels traitements sont le plus souvent très positifs.

Il est évident que les huiles essentielles utilisées pour la prescription doivent être les mêmes que celles qui ont servi à dresser l'aromatogramme. Si leur qualité diffère, Si leurs composants ne sont pas exactement les mêmes, le traitement peut être totalement inefficace bien que le nom de ces huiles soit bien choisi (**Luu,2002**).

I .1.Objectifs :

Le choix de cette espèce, a été dicté d'une part par leur utilisation importante par la population locale en tant que plante médicinale et aromatique et d'autre part, valoriser les ressources naturelles locales.

Les expérimentations ont été réalisées selon les approches suivantes:

1-une approche biochimique consiste à :

- Extraire l'huile essentielle de l'Armoise blanche.
- Evaluation de l'activité antioxydante par la détermination de pouvoir réducteur par la moyenne de DPPH pour avoir connaître la capacité de l'HE de l'Armoise à piéger les radicaux libres.

2-une approche microbiologique consiste à :

- repiquer et incuber les souches bactériennes
- mise en évidence de l'effet inhibiteur de l'huile d'armoise sur la croissance microbienne de deux souches sélectionnées par le biais de l'aromatogramme.

Les expérimentations ont été réalisées au niveau de laboratoire de l'université Saida (Ain el Hadjar)

I .2. Matériels :

I .2.1. Matériel végétal :

Notre étude est portée sur l'Armoise blanche, récoltée dans la région de wilaya de NAAMA, plus précisément à Ain Sefra, au sud de la wilaya, choisie pour leur abondance dans notre région et pour leur utilisation courante par la population locale en médecine traditionnelle.

Tableau N°07 :La situation géographique de la région de récolte

Région	Altitude	Latitude	Longitude	superficie
DjbelMekter	1070m	32 °45	36°2 24	1023,13km ²

I.3.situation géographique de la zone d'étude :

NAAMA , wilaya frontalière avec le royaume du Maroc , et limitée par :

- Au Nord par la wilaya de Tlemcen et Sidi Bel Abbès.
- Au l'Est par la wilaya d'Elbayadh .

- Sud par la Wilaya de Béchar .
- A l'Ouest par la frontière Algéro-Marocaine .

La zone concernée pour cette étude est la partie Sud – Oest des hautes plaines oranaise. Elle se rattache administrativement à la Wilaya de Naama. Cette dernière est issue du dernier découpage administratif de 1984. Elle se compose de 07 Dairas regroupent 12 communes. Elle est insérée entre l'Atlas au Nord et l'Atlas de Sud.

La daïrad'Ain Sefra appartient administrativement à cette wilaya et situe au sud-ouest de cette dernière.

Elle s'étend sur une superficie de 1023,13 Km² pour une population estimée à 54229 Habitants, soit une densité de 53,00 ha/Km² limitée au Nord par la commune de Naama, à l'Est et par celle de Tiout, à l'Ouest par la commune de Sfisifa et au sud par Moughrar.(D.P.A.T,2011)

la ville est à 1075 mètres d'altitude et est située entre deux montagnes; Djbel Mekther au Sud et Djbel Aïssa au nord. Elle s'agit d'une partie des monts des Ksour et des piémonts de l'Atlas Saharien, traversé par l'oued de Tirkounte et de Breidj considérés comme l'Affluent principal de l'Oued Ain Sefra .

Elle est caractérisée par la prédominance de l'activité pastorale et l'agriculture de type oasisien .

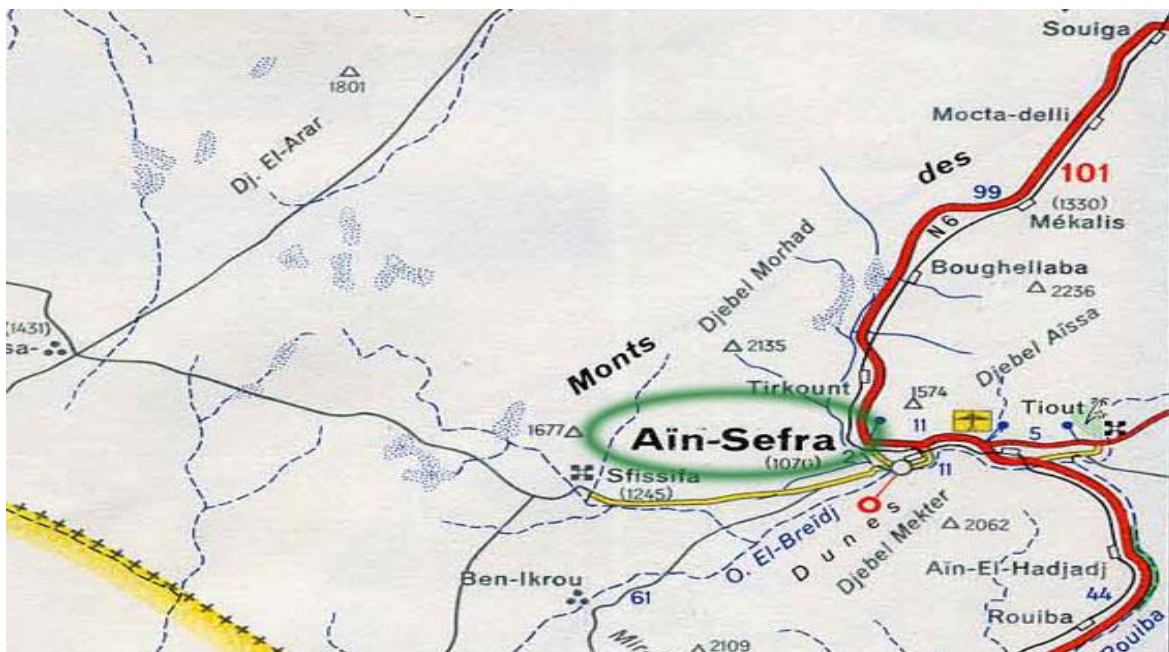


Fig.07 :situation géographique de la commune de Aïn sefra(Carte michelin).

I. 3.1.la végétation :

La végétation steppique est formée en grande partie par des espèces vivace ligneuses (chamaephytes) ou graminéennes, arbustive au buissonnantes, elle est discontinue formant des touffes couvrant 10 à 80 % de la surface de sol. C'est une végétation basse, et traque une

hauteur variable entre 10 à 60 Cm. Ces espèces vivaces sont particulièrement adaptées aux conditions climatiques et édaphique arides (**Haddouche , 2009)**

L'armoise blanche est localisée dans les étages arides supérieurs et moyens à hiver frais et froid avec des précipitation oscillant entre 100 et 300 mm . Elle s'étale dans les zones humides (zone d'épandage) et sur un substrat plus ou moins limoneux ou sur un sol argileux dans les fonds des dépressions non salées (**BouAbellah, 1991**).

I.4.Le climat de la région Ain Sefra :

Le climat à Ain Sefra est dit désertique. Tout au long de l'année, il n'y a techniquement aucune pluie à Ain Sefra, sur l'année, la température moyenne à Ain Sefra est de 17,5° C. Les précipitations annuelles moyennes sont de 154 mm(**Anonyme 01**).

Le climat :

D'une manière générale, l'année climatique de la wilaya est divisée en deux grandes saisons ; une saison froide est relativement humide qui s'étend de novembre à avril et une saison chaude et sèche allant de mai à octobre. Cependant ce climat est marqué par une irrégularité. Celle –ci est sensible non d'une année à une autre mais aussi dans la répartition entre les différents mois.

En général la pluviométrie demeure faible et irrégulière ; elle est hétérogène dans le temps et dans l'espace. les températures extrêmes peuvent être à l'origine de dégradation du couvert végétal :

- la période de basses températures allant de novembre à février, sont à l'origine de l'intensité de gelées hivernales qui peuvent se traduire par des dégâts végétatifs tels que les nécroses.
- la période de hautes températures, s'étalant de juin à octobre. peut provoquer l'échaudage par suite de l'augmentation de transpiration (**Anonyme 02**).

I.5.La cueillette du matériel végétale :

La plante a été cueillit durant deux périodes différentes, la première pendant le mois de janvier 2015(08/01/2015), et la deuxième durant le mois d'Avril 2015(16/04/2015), le lieu de récolte c'est Djebel Mekter.

I.6.Conservation de plante :

La plante fraîchement collectée, est débarrassée des impuretés ensuite lavée puis laisser séchée dans l'étuve à 50°c pendant 3 jours. Après séchage de la plante, les feuilles sont récupérées dans des sacs propres.

Tableau N°08 : Origine et caractéristique du matériel végétal.

Quantité du matériel végétal traité :	1.5kg
Lieu de la récolte :	Djebel Mekter

La date de la récolte :	Janvier et avril 2015
Durée de séchage :	03 jours
Partie utilisée :	Feuilles
Etat :	Sèche



Figure N°08 : les feuilles d’Armoise broyée

TableauN°09 : conditions opératoire d’hydrodistillation .

Conditions	Artémisia herba alba
Quantité de matière végétale	50g de matière sèche
Quantité d’eau	250ml
Température	200°c
Temps d’extraction	3 heures

II.Le Matériel microbien :

Les souches bactérienne (Tableau N°10) ont été ramenés et identifiés par Mr Halla, maître assistant au niveau de l’université de Saida.

TableauN°10 : Les souches microbiennes testées

Nom de la souche	N°ATCC	Gram	Famille	Source et identification
E-coli	25922	-	Enterobacteriaceae	Laboratoire LAMAABE- Université de Tlemcen
S-aureus	25923	+	Micrococcaceae	

Ces micro-organismes étudiés au cours de ce travail ont été choisis pour leur fréquence élevée de contamination et pour leur pathogénicité, elles sont déposées par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance.

III.Méthodes d'étude :

III.1.Les huiles essentielles :

Extraction de l'HE pour la plante a été effectuée selon la méthode de distillation décrite par Bruneton(1999)en utilisant le montage de l'hydrodistillation (**Carramina,2008**).

➤ **les techniques d'extraction des huiles essentielles :**

Ils existent plusieurs procédés d'obtention des huiles essentielles. On peut citer parmi eux essentiellement l'hydrodistillation et l'extraction par solvants organiques :

- Extraction par solvants volatiles :

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratique (**Kim et Lee, 2002**).

Quant à l'extraction par solvants volatils, elle a l'inconvénient d'entraîner une récupération plus difficile des huiles essentielles, végétaux présentant un pourcentage infime de principes odorants (**Sousa et al, 2002**).

-cette méthode est utilisée pour extraire certains composés contenus dans les plantes non entraînés par la vapeur d'eau, en utilisant des solvants organiques, ces solvants doivent être dépourvus de toxicité et facilement éliminable :

Les plus utilisées sont l'hexane, l'alcool éthylique, l'acétate d'éthyle ou certains solvants chlorés (dichlorométhane).Le benzène, très utilisé par le passé, est désormais interdit car il est classé cancérigène depuis 1998.

On obtient des extraits plus complets (substances volatiles, triglycérides, cires,...).Ces solvants sont ensuite éliminés pour conserver les substances les plus volatiles (**Degryse et al, 2008**).L'avantage de cette méthode est qu'elle est totalement passive. Néanmoins, l'inconvénient majeur est la possibilité de traces de solvants si l'évaporation n'est pas totale ; de plus, l'utilisation de solvants implique des consignes strictes de sécurité (**Bachelot et al, 2006**).

-Un autre inconvénient réside dans la toxicité des solvants : règles contraignantes d'utilisation, problèmes des résidus dans le produit final (**Shirner, 2004**).

- L'extraction par hydrodistillation :

L'hydrodistillation est sans aucun doute le procédé chimique le plus ancien, le plus utilisé, et le plus rentable et celui convenant le mieux à l'extraction des molécules en vue d'une utilisation thérapeutique(**Willem, 2004**).La distillation reste la méthode la plus utilisée pour l'obtention des composés d'arôme du fait qu'elle produit des substances volatiles facilement

analysable par chromatographie en phase gazeuse et exigeant technologie relativement simple, donc un cout plus bas ainsi qu'une reproductibilité facilement contrôlable (**Benjilali, 2004**).

-Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter(intact ou éventuellement broyé)dans un alambic rempli d'eau distillée qui est ensuite portée à ébullition, les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité(**Bruneton,1999**).

-Les végétaux sont déposés sur une grille à travers laquelle circule de la vapeur d'eau. Celle -ci entraîne avec elle les molécules parfumées qu'elle enlève aux plantes. La solution obtenue circule dans un serpention ou elle se condense en refroidissant. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau, elle reste en surface. On obtient ainsi deux phases non miscibles que l'on sépare par décontation: les huiles essentielles et les eaux aromatiques(ou hydrolat chargées des parties hydrosoluble des essences distillées).Elle se fait lentement, sous basse température et basse pression ,avec de l'eau de source non calcaire(**Degryse et al, 2008**).

III.2.Extraction des huiles essentielles d'Armoise blanche :

Le montage de l'hydrodistillationest constitué d'une chauffe à plaque,une fiole à vide en verre pyrex ou l'on place la matériel végétal et de l'eau distillée, d'une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant)qui vient de l'échauffement de la fiole à vide liée à un flacon pour récupérer les extraits de la distillation.



Figure. 09: Montage d'un hydrodistillateur.

Procédé d'extraction :

50g des feuilles sont mises dans une fiole à vide de 1000ml,additionnées de 500ml d'eau distillée, L'ensemble est porté à l'ébullition,après l'apparition de la première goutte de distillat à la sortie du tube de condensation de la vapeur;L'huile essentielle est alors entraînée

par la vapeur d'eau (fig.09), elle est ensuite condensée en passant par le condensateur. Le temps de cette extraction est d'environ quatre heures. Les vapeurs chargées par l'huile, en traversant un réfrigérant se condensent et chutent dans un erlenmeyer, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité (Rafaa et Saidi, 2007)

Le distillat obtenu est récupéré dans une ampoule à décanter (fig N°11). En fin, l'huile essentielle extraite sera par la suite récupérée dans des flacons teintés fermés hermétiquement.

Décantation :

Le distillat est versé dans une ampoule à décanter durant 1h, On ajoute quelques gouttes (traces) de NaCl pour éliminer toute réaction de solubilité entre l'huile et l'eau.

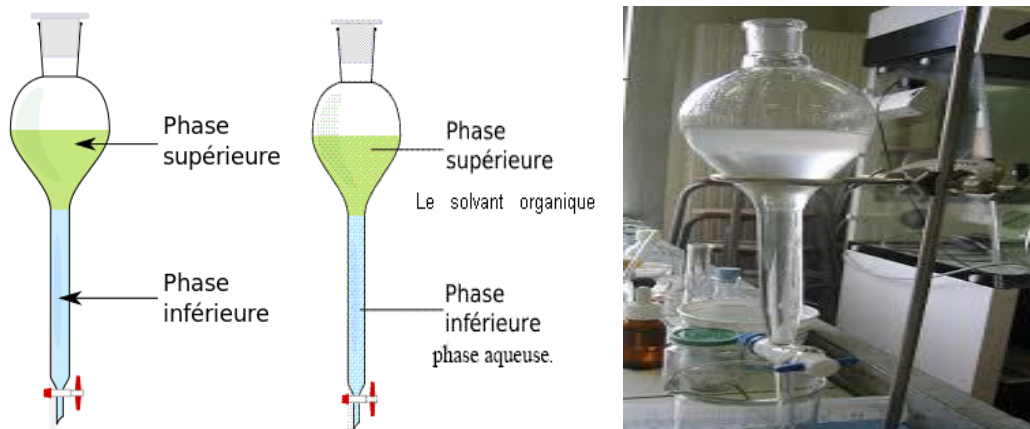


Fig. 10: Dispositif d'une ampoule à décanter (Mallouk, 2007)



Fig. 11 : Ampoule à décanter

III .2.3. Conservation des huiles essentielles :

Les HE récupérées sont recueillies dans un flacon en verre stérile et bien enveloppé par un papier aluminium, et gardé à une température de réfrigération de 4°C pour éviter leur dégradation due à l'action de l'air ou de la lumière (Nelly Grosjeau, 2007).

IV.1. Calcul de pourcentage d'humidité :

La détermination du pourcentage d'humidité a été effectuée jusqu'au poids constant, à 50°C pendant 72h, la moyenne des pertes en eau est calculée et le taux d'humidité est déterminé par la relation :

$$H(\%) = \left(\frac{m f - m s}{m f} \right) \times 100$$

Avec **m f** et **m s** qui sont respectivement les masses de la plante à l'état frais et à l'état sec. **IV.2. Calcul de rendement en huile essentielle :**

Le rendement en HE est exprimé par le volume d'huile (en millilitre) obtenue pour la masse (en g) de matière végétale sèche par la relation suivante (Ghanmi et al, 2010)

$$Rdt(\%) = \left(\frac{V}{m s} \times 100 \right)$$

Avec :

Rdt(%) : rendement en HE (ml/g) ;

V : volume d'HE recueilli ;

m s : masse végétale sèche.

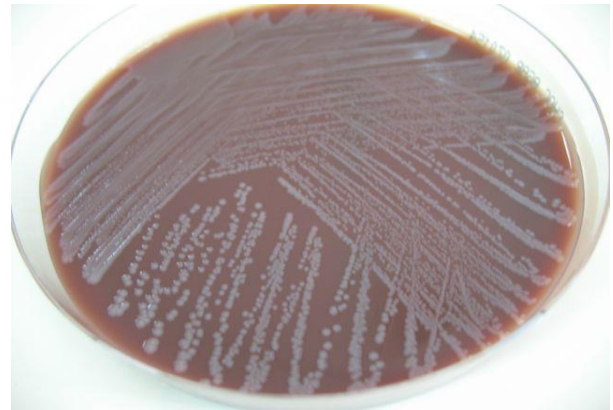
V. Evaluation de l'activité antibactérienne :

V.1. Choix des milieux de culture :

Le Bouillon nutritif est le milieu d'enrichissement pour toutes les souches bactériennes (Benkeblia, 2004). Pour obtenir une culture jeune des bactéries afin de mettre en évidence l'activité antibactérienne de HE d'Armoise. Plusieurs milieux de culture ont été utilisés comme la gélose nutritif pour les E.coli et Le milieu Chapman pour le Staphylococcus aureus. Le milieu de culture utilisé pour étudier l'activité antibactérienne est l'Agar de Muller Hinton (AMH) parce que c'est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens (Hussain et al, 2010).



FigN°12 : Escherichia coli



FigN°13 :Staphylococcus aureus

V.2.La réactivation des souches :

Après les repiquages des deux souches bactériennes(S.aureus,E.coli)et à l'aide d'une Ance de platine,on prélève quelques colonies (3à5 colonies)et mises dans des tubes de 5 ml de bouillon nutritif en mélange le tous puis en fait l'incubation à 37°C pendant 24 heures.

V.3.Le deuxième repiquage :

A partir des souchesensemencés dans le bouillon nutritive et à l'aide d'une Ance de platine on fait l'ensemencement sur des boites de gélose nutritif puis incubation à 37 °C pendant 18 heures pour avoir des cellules bactériennes à leur phase exponentielle de croissance.

V.4. Préparation de suspensions bactériennes :

A fin d'obtenir une culture bactérienne fraîche(phase exponentielle de croissance).A partir de ces boites , à l'aide d'une Ance de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées et mises dans 5 ml d'eau physiologique stérile.

On agite pendant quelques secondes. A fin d'avoir une turbidité voisine à celle de Mc Farland 0.09à0.1 nm.On admet que cette densité mesuré de 620 nm est équivalente à (10 UFC/ML)(Mohammedi,2006) pour la standardisation de charge de l'inoculum de départ.

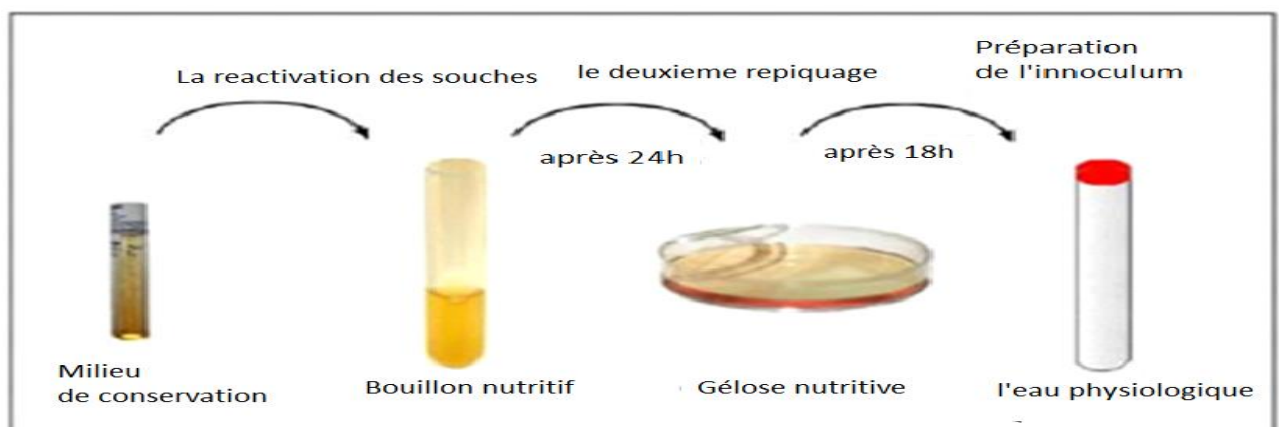


Fig N°14:La préparation de l'inoculum

V.5.Ensemencement :

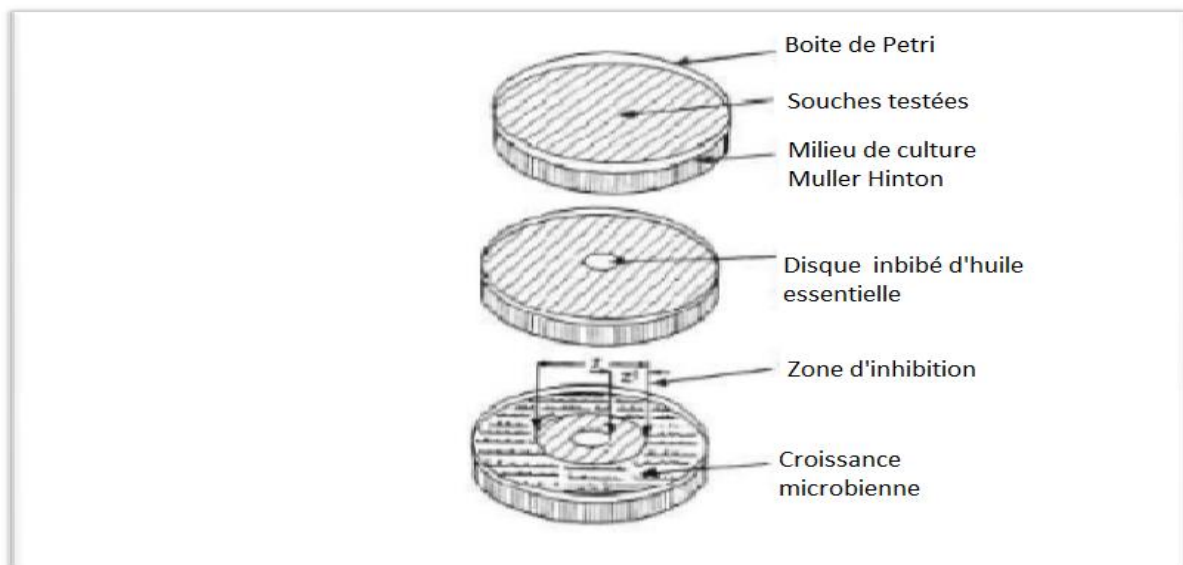
Dans les 15 minutes suivant d'ajustement de la suspension servant d'inoculum. On remplit les boîtes pétri de la gélose Muller Hinton après solidification du milieu, on a trempé un écouvillon dans la suspension et on a étalé la surface de la gélose Muller Hinton à trois reprises. En tournant la boîte à environ 60°. En fin on a écouvillonné partout autour du bord de la surface de la gélose Muller Hinton dont le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum.



Fig N°15 :Méthode d'ensemencement par l'écouvillonnage.

V.6. Technique de diffusion sur gélose Muller Hinton (méthode des disques) « Aromatogramme » :

Des disques de 6 mm de diamètre ont été préparés à base de papier filtre (Whatman No.1), puis stérilisés par autoclavage. Chaque série de disques a été imprégné par une solution à base de l'HE (voir figure N°16) puis placés sur la gélose préalablement ensemencée par les bactéries à tester. Les boîtes ainsi préparées sont pré incubées pendant 15 minutes à température ambiante avant d'être placées dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24h.



FigN°16: Schéma illustrant la méthode des aromatogrammes (Zaika, 1988)

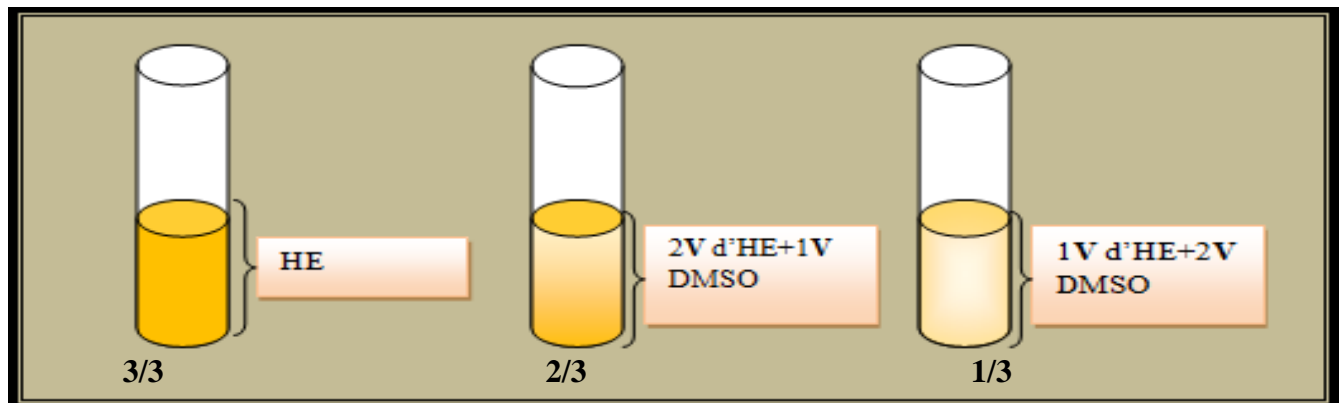


Figure N°17: Les dilutions d'HE utilisées dans le but d'imprégner les disques.

La lecture se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition autour du disque (CLSI-M2-A9, 2006). Les zones doivent être uniformément circulaires (Espinel-Ingroff et Cantón 2007).

Selon Barros et al, 2007, l'activité antimicrobienne est exprimée en zones d'inhibition comme suit :

- ❖ Diamètres inférieurs à 7 mm : *aucune activité antimicrobienne* (–)
- ❖ Diamètres de 7 à 9,9 mm : *activité antimicrobienne faible* (+)
- ❖ Diamètres de 10 à 11,9 mm : *activité antimicrobienne modeste* (++)
- ❖ Diamètres de 12 à 15 mm : *activité antimicrobienne élevée* (+++)
- ❖ Diamètres supérieurs à 15 mm : *activité antimicrobienne forte* (++++)

VI.1. Evaluation du pouvoir antioxydant de l'HEA :

L'activité antioxydante de l'HEA est évaluée par la méthode de l'activité anti-radicalaire DPPH.

VI.1.1.Principe de l'activité anti-radicalaire :

- **Principe**

Le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazine (DPPH•) est un radical organique stable de couleur rouge pourpre. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune, ce qui entraîne une diminution de son absorbance (Gachkar et al, 2007).

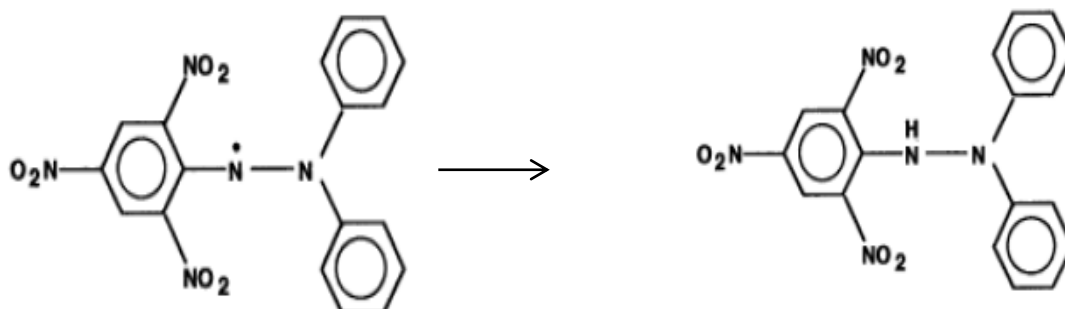


Figure N°18 : réduction du radical libre DPPH en DPPHH (Molyneux, 2004)

- Protocole

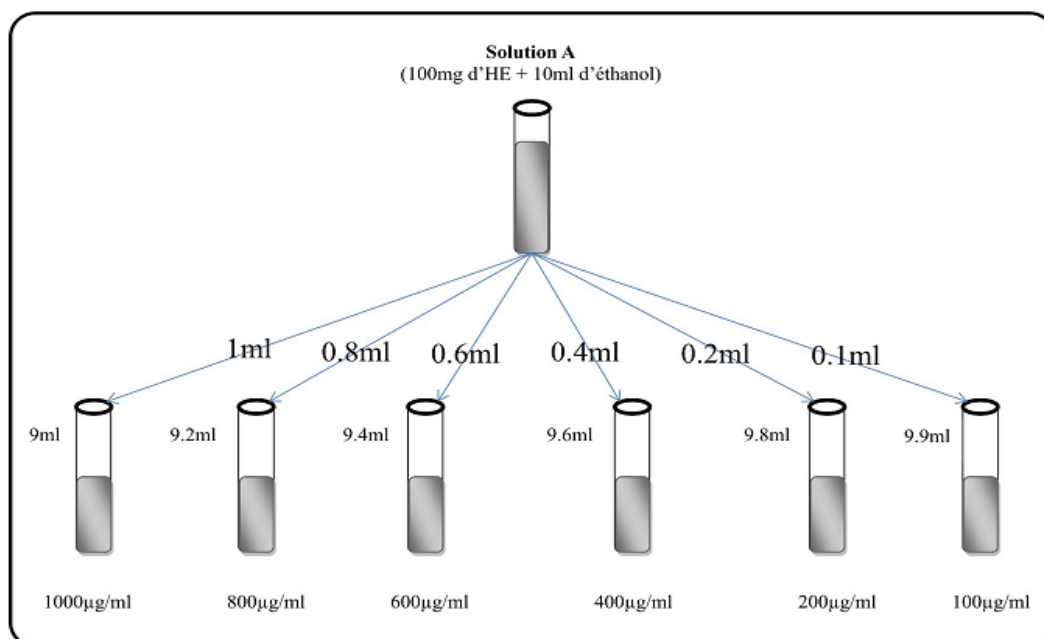
L'activité anti-radicalaire l'HEA a été mesurée par la méthode décrite par (Archana et al. 2005) et (Dung et al, 2008). (100µl) de différentes dilutions d'HE ont été mélangés avec 2.9ml de la solution d'éthanol de DPPH•de 0.004% (p/v) dans des tubes à essai secs. Après 30min d'incubation à une température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 517nm.

Le contrôle négatif est composé de 100µl d'éthanol et de 2.9ml de la solution de DPPH•. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard (HEA).

VI.2.Préparation des dilutions de l'HEA :

Une gamme de dilutions de concentrations allant de 100µg/ml à 1000µg/ml a été préparée comme suite:

- Peser 100mg de l'HEA par une balance analytique (précision de 0.0001g).
- Introduire ces 100mg dans un tube à essai contenant 10 ml d'éthanol (solution A) (10000µg/ml).
- Introduire ensuite 1ml de la solution (A) dans un tube contenant 9ml d'éthanol (solution B) (1 000µg/ml).
- Introduire 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, et 0.1ml de la solution (B) dans des tubes contenant 9.2, 9.4, 9.6, 9.8 et 9.9ml d'éthanol, respectivement pour avoir les concentrations 800, 600, 400, 200 et 100µg.ml⁻¹ (figure N°19).



FigureN°19 : Préparation des dilutions de l'HEA

VI.3.Expression des résultats

L'activité anti-radicalaire est exprimée par le pouvoir de réduction de la solution d'éthanol de DPPH• (Rashid *et al*, 2010). D'après (Dung *et al*, 2008) et (Eyob *et al*, 2008), le pouvoir de Réduction est déterminé en appliquant la formule suivante :

$$PR = (A_C - A_E) / A_C \cdot 100$$

PR: pouvoir de la réduction en %

AE: absorbance de la solution de DPPH• en présence de l'huile essentielle

AC: absorbance de la solution de DPPH• en absence de l'huile essentielle

La variation du pouvoir de réduction en fonction de la concentration de l'HEA, nous permet de calculer le paramètre IC₅₀. La IC₅₀ «Concentration Efficace » est définie comme étant la concentration de l'huile essentielle nécessaire pour réduire 50% des radicaux libres dans le milieu réactionnel. Plus la valeur de IC₅₀ est basse, plus l'activité anti-radicalaire est élevée, et vice versa (Qian & Nihorimbere, 2004; Gramza *et al*, 2005).

Les valeurs IC₅₀ moyennes ont été calculées graphiquement à partir de trois essais séparés où l'abscisse est représentée par la concentration des composés testés et l'ordonnée par le pouvoir de réduction en pourcentage (Portes, 2008).

Résultats et Interprétation

Le travail expérimental a porté sur l'évaluation de l'effet antibactérien et antioxydant de l'huile essentielle d'Artemisia herba-alba extraite à partir de feuilles séchées d'Armoise blanche (fig.20).

I. Résultat de l'extraction des huiles essentielles :



Figure N°20: L'huile essentielle d'espèce végétale « Armoise » extraite par l'hydrodistillation.

II. Les caractères organoleptiques :

Après l'extraction de l'HE de l'Armoise blanche. On a remarqué que cette huile possède des caractères organoleptiques suivants :

Aspect : liquide

Odeur : très forte

Couleur : jaune claire

III. Le pourcentage d'humidité :

$$H(\%) = \left(\frac{m_f - m_s}{m_f} \right) \times 100$$

Donc la masse de la plante à l'état frais = 650g. Et la masse de la plante à l'état sec = 490g

$m_f = 650g$ $m_s = 490g$

Nous avons obtenu les résultats suivants :

$$H(\%) = \left(\frac{650 - 490}{650} \right) \times 100$$

H(%) =24.61(%)

IV.Calcul de rendements obtenu par le procédé de l'Hydrodistillation :

Le rendement en HE est exprimé par le volume d'huile (en millilitre) obtenue pour la masse 100g de matière végétale sèche par la relation suivante :

$$\text{Rdt}(\%) = \left(\frac{V}{ms} \times 100 \right)$$

$$\text{Rdt}(\%) = \left(\frac{0,4}{100} \times 100 \right)$$

Rdt(%)=0.4%

Avec :Rdt :rendement en HE (ml/g)

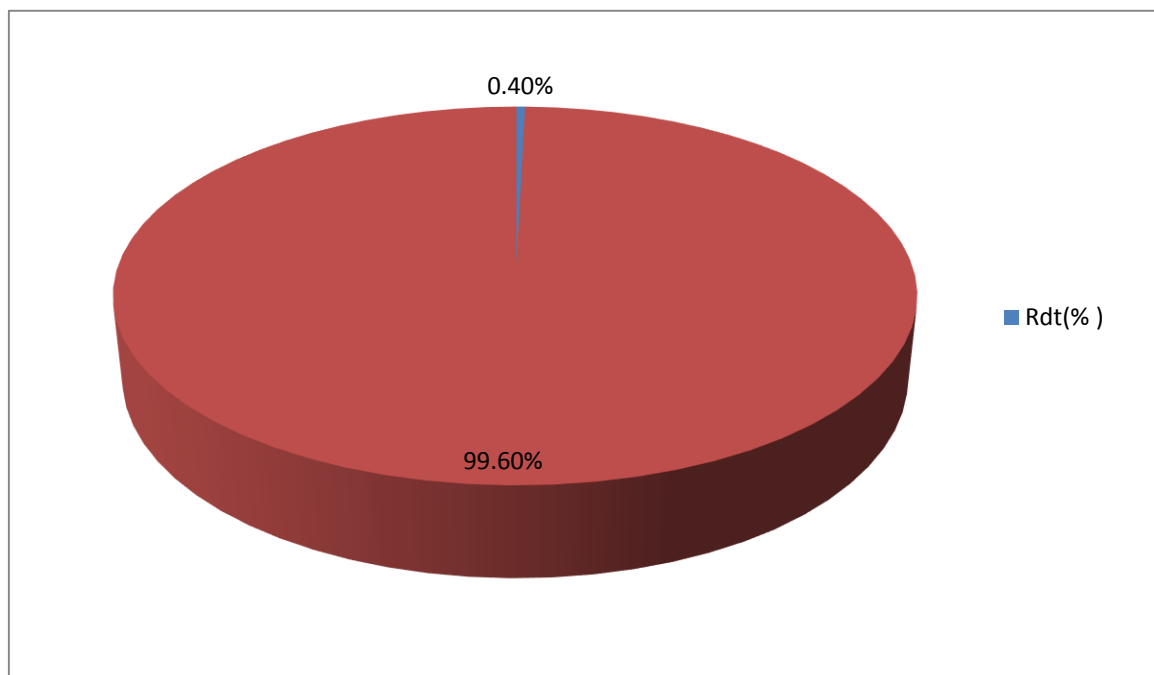


Figure. 21 : Rendement d'huile essentiel d'armoise obtenu par hydrodistillation.

IV.1. Rendement en huiles essentielles

Les Huiles essentielles ont été extraites des matériaux végétaux secs, le rendement en HE varie avec la plante utilisée, le matériel employé pour l'extraction et la méthode d'extraction, ainsi bien l'origine de la plante.

Résultats et Interprétation

Le rendement en HE de l'armoise blanche de la région d'Ain sefra est 0.4%. Il est relativement faible comparativement à celui d'armoise blanche de la région de Maamoura (Saida) (0,65%)(souiah, 2014) et par rapport le rendement en HE de l'Armoise blanche de la région de El-Bayad (Stitten)dont ils ont obtenu un rendement de(0.5%) (Bouallaoui et Kadri, 2012)et plus faible à HE fourni par Artémisiajudaica de la région de Tamanresset (Aoulef-Adrar)(1.27%) (Bentoumi et Belouafi,2013)

Cette différence en rendement entre les Armoises peut être expliquée par l'effet de la date de récolte (Ghanmi, 2010), le stade végétatif de la plante et les conditions édaphiques de la région.

Ce rendement peut être considéré comme moyenne par rapport à certains plantes qui sont exploitées industriellement comme source d'huile essentielle, il est plus élevé que celui de la rose(0.1-0.35%) et plus faible que celui de la menthe poivrée (0.5-1%),le néroli(0.5-1%),l'anise(1-3%),la lavande(0.8-2.8%),le romarin (1-2,5%) et thym (2-2,75%) (Edward et al, 1987).

Cette différence en teneurs peut être expliquée par différents facteurs climatologiques (température, humidité), pédologiques (texture du sol, fertilisation)...,ect.

V.Résultats et discussions del'aromatogramme :

V.1.Evaluation de pouvoir antibactériendes huiles essentielles :

L'étude de l'activité antibactérienne d'huile essentielle d'Armoise à été mise en évidence par le test d'aromatogramme (la méthode de diffusion des disques)vis-à-vis les souches bactériennes (*E.coli*,*S.aureus*).

Le test d'aromatogramme permet de savoir la présence ou l'absence d'une activité antibactérienne et la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)vis-à-vis les souches testées,et par rapport au témoin réalisé sans HE. Cependant la concentration minimale inhibitrice (CMI) correspond à la plus faible concentration en HE capable d'inhiber toute croissance bactérienne. Les zones d'inhibitions sont indiquées dans le (tableau. n°10).

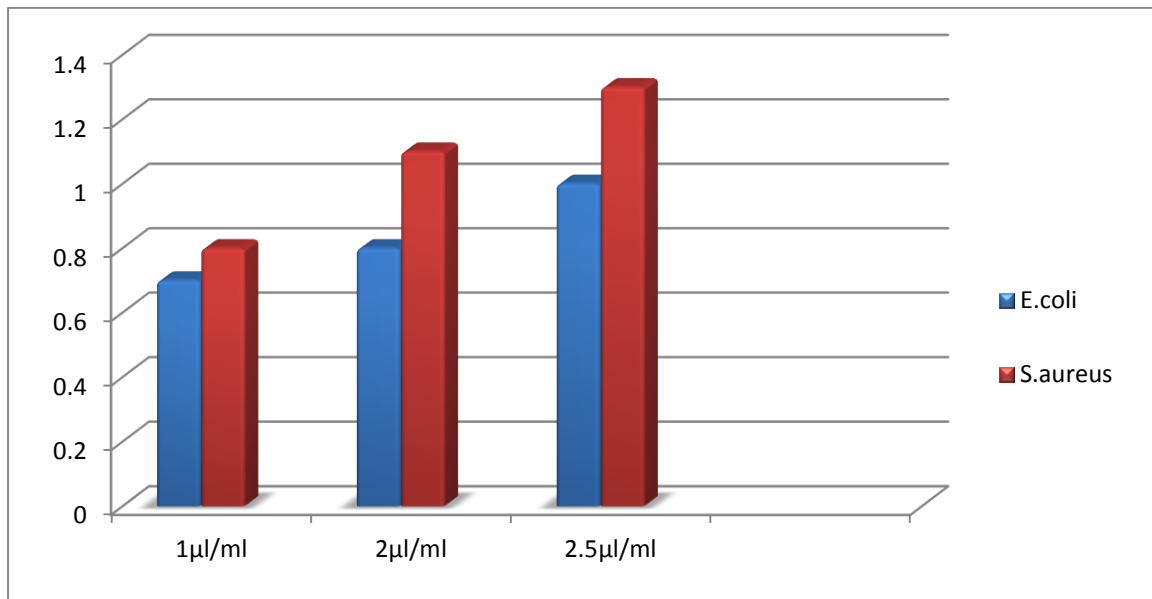
- Ces résultats indiquent que les deux souches sont sensibles à HE d'*Artémisia herba-alba*.

Tableau N°11 :Diamètreen(cm) des zones d'inhibition de l'HE d'Armoise.

Dilution Souches	Témoin	1µl/ml	2µl/ml	2.5µl/ml
<i>E.coli</i>	0	0.7	0.8	1
<i>S.aureus</i>	0	0.8	1.1	1.3

- Les résultats obtenu ont montré que l'HE d'Armoise présent une activité antibactérienne variable vis-à-vis les souches bactériennes testées.

Résultats et Interprétation



FigureN°22 :histogramme des diamètre en (cm) des zones d'inhibition d'huile essentielle d'Armoise.

A)pour L'E.coli :

E.coli présente une sensibilité vis-à-vis l'HE de l'armoise et donne des diamètres de la zone d'inhibition (0.7 ;0.8 ;1)cm

B)pour les S.aureus :

S.aureus présente une forte vis-à-vis l'HE de l'armoise et donne des diamètres de la zone d'inhibition (0.8 ;1.1 ;1.3)cm

TableauN°12 :Résultats obtenus par la méthode d'aromatogramme

HE \ Bactérie	E.coli	S.aureus
Armoise	++	+++

a)++ sensible

b)+++très sensible

D'après ces résultats ,on constate que la souche de S.aureus(Gram+) est plus sensible avec une zone d'inhibition de des diamètres (0.8 ;1.1 ;1.3)cm celui de E.coli(Gram-) avec une zone d'inhibition des diamètres (0.7 ;0.8 ;1)cm

La concentration de 1µl/ml à été suffisante pour arrêter la croissance de Staphylococcus aureus(Gram +)qui s'est montré le plus vulnérable à cette HE ,suivi du Escherichia coli (Gram-)qui est inhibé à 2.5µl/ml Donc les huiles essentielles de l'armoise blanche présentent une activité antibactérienne. L'activité des HE agit sur les souches bactériennes grâce aux composants des HE qui interviennent dans le métabolisme cellulaire. Ils se fixent sur les phospholipides

Résultats et Interprétation

membranaires et désorganisent la membrane plus précisément au niveau des sites actifs des enzymes de la paroi bactérienne

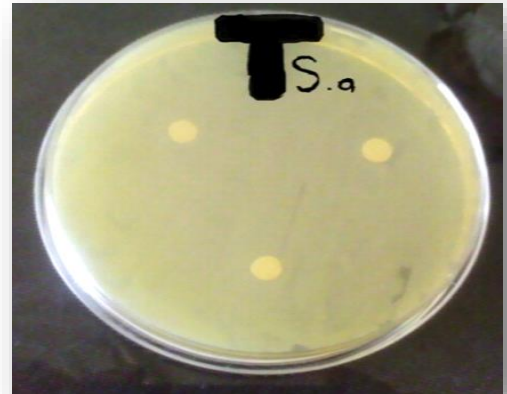
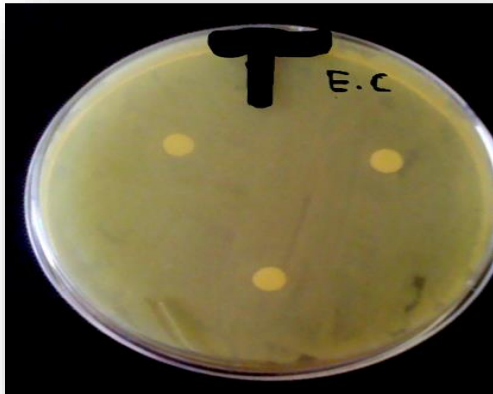


Figure N°23 : Boites pétris des témoins de S.a ,E.c



Figure. n°24 :Effet de l'HE d'armoise dans concentration de 1µl/ml sur S.a,E.c

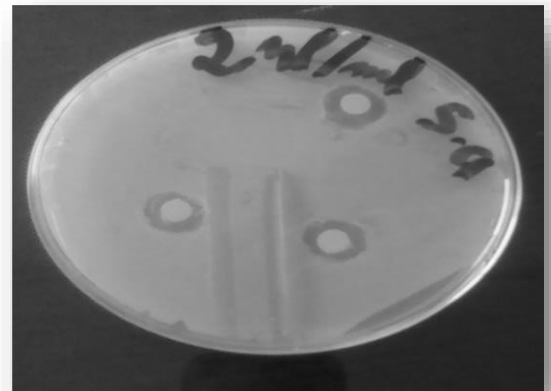
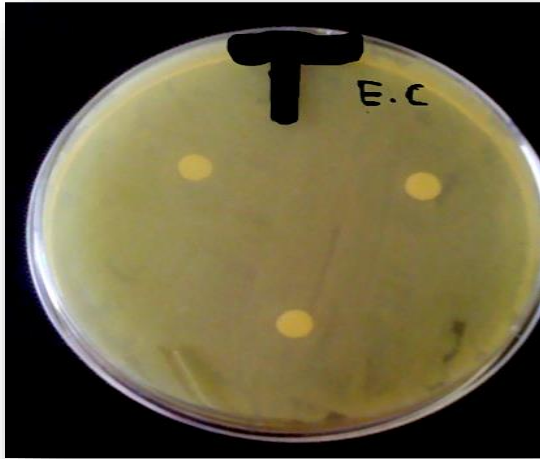


Figure N° 25 : effet de l'HE d'armoise dans concentration de 2µl/ml sur S.a,E.c

Résultats et Interprétation



FigureN°23 : Boites pétris des témoins de S.a ,E.c



FigureN°26 : Effet de l'HE d'armoise dans concentration de 2.5µl/ml sur S.a,E.C

VI. Activité antioxydante :

VI.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl):

L'activité antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* vis-à-vis du radical DPPH à été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 515 nm.

Résultats et Interprétation



FigureN°27: l'activité antioxydant de l'HE d'*Artemisia herba-alba*

Pour cela une gamme de concentration en HE allant de 10 mg/ml jusqu'à 100mg/ml à été testée. Les différentes densités optiques ont permis de tracer pour chaque composé une courbe d'allure exponentielle représentée sur la (figureN°28), ce qui signifie l'existence d'une relation proportionnelle entre le pourcentage de réduction du radical libre et la concentration d'HE dans le milieu réactionnel. L'inhibition de la décoloration du radical DPPH est en fonction des différentes concentrations utilisées.

Calcul de l'activité antioxydante :

- Pourcentage d'inhibition : Pourcentage d'inhibition du DPPH (I%)est calculé de la manière suivante selon **Laib,2011** et **Bouguerra,2011**

$$I\% = (A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}) \times 100 / A \text{ blanc}$$

- ✓ A blanc : Absorbance du blanc (DPPH dans l'éthanol).
- ✓ A échantillon : Absorbance du composé d'essai.

Le calcul de l'activité antioxydante est résumé dans le (TableauN°13)

TableauN°13 : Valeur de l'activité antioxydante d'HEA

concentrations	100 µg/ml	200 µg/ml	400 µg/ml	600 µg/ml	800 µg/ml	1000 µg/ml
I%	84,56	87,04	88,88	90,74	91,97	93,82

Résultats et Interprétation

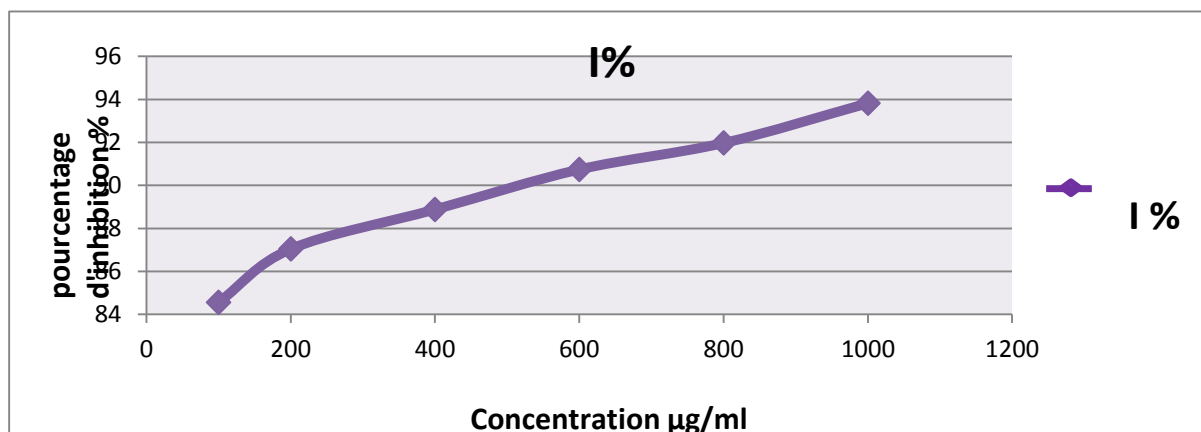


Figure N°28 : pourcentages de réduction du radical libre DPPH par L'HEA.

D'après les résultats, il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration de l'huile essentielle d'Armoise.

Comparant les résultats obtenus avec les résultats de **Souiah, 2014** dans les mêmes concentrations de l'HE que l'activité de piégeage des radicaux libres de l'huile d'*Artémisia herba-alba* (maamoura) est presque égale à celui d'Armoise d'Ain Sefra.

VI.2. Calcul des IC 50 :

La capacité antioxydante de notre huile essentielle a été déterminée à partir des IC₅₀. C'est la concentration en extrait nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH. L'IC₅₀ et l'activité antioxydante de l'extrait testé sont inversement proportionnels (**Prakash et Coll, 2007**).

L'IC₅₀ est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (**Laib et Barkat, 2011**).

La valeur d'IC₅₀ pour l'huile essentielle d'*Artémisia herba alba* présentée par la courbe est à peu près de concentration 200 µg/ml.

L'indice CE₅₀ montre les concentrations de l'antioxydant nécessaires pour faire décroître la concentration initiale du DPPH de 50% (exprimée en mol antioxydant/mol DPPH ou mg antioxydant/g DPPH) mais ne prennent pas en considération l'influence de la concentration sur le temps de la réaction (**Popovici, 2009**).

L'activité anti-radicalaire des extraits est donc relativement dépendante de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Les résultats obtenus que l'huile essentielle d'*Artémisia* a une activité antioxydante efficace, il peut piéger les radicaux libres de DPPH, cela est dû aux composés flavonoïdes qui ont un pouvoir antioxydant (**Siddhuraju et Becker, 2003**).

Kang et al., (2003) ont suggéré que les extraits des végétaux qui contiennent des molécules polaires

Le teneur en huile essentielle de l'armoise blanche, dans cette présente étude, est faible si l'on comparant à d'autres espèces, cette différence en rendement entre les armoises peut être expliquée par la nature de l'espèce et l'effet du stade végétatif de la plante et les conditions édaphiques de la région. La collecte du mois d'Avril montre un meilleur rendement par rapport les autres périodes de collecte.

La technique d'hydrodistillation a permis d'extraire l'huile essentielle avec un rendement de 0,4%, qui est un pourcentage faible s'il est comparé au rendement des HE extraites de la même plante récoltée dans la région tunisienne suscitée (**Akrout , 1999**).

Le rendement de certaines espèces en huile essentielle est maximal au stade pleine floraison, qui correspond au moi de juin et juillet c'est-à-dire la saison d'été, qui présente toute les conditions favorables d'une production maximale d'huile essentielle (climat sec, température élevé, intensité lumineuse élevée et nuit chaude). La quantité des HE augmente dans ces conditions parce que le rôle des HE dans la plante consiste à conserver l'humidité.

La technique de aromatogramme a permis de confirmer ces différentes inhibitions par différentes dilution (1; 2; 2.5µl/ml) montrées par la présence de la culture des deux souches étudiées, mais cet effet est variable d'une dilution à autre ce qui signifie que l'HE possède une activité inhibitrice, mais l'inhibition totale de la culture apparaît lorsqu'on utilise des doses supérieures

La quantité initiale des bactéries (l'inoculum).

La diffusion des principes actifs de l'HE sur le milieu de culture.

Sachant bien que la sensibilité des microorganismes peut être variée selon le germe testé, car une huile essentielle peut être biocide vis-à-vis certaines souches, bactériostatique et vis-à-vis d'autres ou n'avoir aucun effet (**Hermal, 1993**), c'est pour cela qu'il est important de mentionner le Gram des microorganismes ainsi que l'espèce botanique et le chémotype de l'huile essentielle. Cette activité antibactérienne pourrait être due à la présence de fortes concentrations des aldéhydes monoterpéniques (camphène) et des alcools (Alcool de caryophyllène) dans l'huile essentielle d'armoise. Alors que les aldéhydes sont très électronégatifs et peuvent induire des réactions de transfert d'électrons et réagir avec des composés nitrés vitaux pour la bactérie (protéines et acides nucléiques) d'après **Franchomme et Penoel (1990)**. résultats sont corroborés avec plusieurs travaux qui ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram (-) (**Falleh et al., 2008 ; Hayouni et al., 2007 ; Turkmen et al, 2007 ; Shan et al., 2007 ; Kone et al., 2004**). Ceci peut être attribué à la différence dans les couches externes des bactéries Gram (-) et Gram (+). Les bactéries Gram (-) comme le cas d'*Escherichia coli* et possèdent une couche additionnelle, la membrane externe, indépendamment de la membrane des cellules, qui se compose des phospholipides, des protéines et des lipopolysaccharides, cette membrane est imperméable à la plupart des molécules parce qu'elle présente une haute hydrophobicité et agit ainsi comme une barrière forte contre les molécules hydrophobiques (**Pattaratanawadee et al., 2006**). Néanmoins, la présence des porines dans cette couche permet la diffusion libre des molécules avec une masse moléculaire en dessous de 600 Dalton. L'hypersensibilité de la souche *Staphylococcus aureus* peut s'expliquer par l'absence de la membrane externe (**Balentine et al., 2006**). Ainsi d'autres auteurs comme **Franchomme, et al., (1990)**, ont montré que les huiles essentielles riches en monoterpénol et en phénol comme c'est le cas des

huiles essentielles que nous avons utilisé, endommagent les cellules de *Staphylococcus aureus*, car ces composés peuvent passer à travers la paroi cellulaire des bactéries Gram(+) plus facilement que la paroi des bactéries Gram(-), ce qui a été démontré par d'autres auteurs. Ceci est remarqué dans les tableaux précédents où les zones d'inhibition augmentent considérablement avec les concentrations des huiles essentielles, ce qui a été observé par **Dordevic et al., (2007)**.

L'activité antioxydante est tributaire de la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle des composés phénoliques de l'huile essentielle. En présence d'un radical libre DPPH ; L'atome H est transféré sur ce dernier alors transformé en une molécule stable DPPH, ceci provoque une diminution de la concentration du radical libre et également l'absorbance au cours du temps de réaction jusqu'à l'épuisement de la capacité d'antioxydant donneur d'hydrogène. (**Laib, 2011; Yang, 2012**).

Par ailleurs, notre HE a pu montrer une très bonne activité antioxydant avec une valeur IC50 égale à 200µg/lm et I% potentielle qui atteignent les 93.82% qui se concorde avec celle obtenue par (**Souiah, 2014**) égal à (90%).

L'activité radicalaire des extraits est donc relativement dépendante de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes .

Selon (**Turkmen et al., 2007**) les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale, et selon (**Gomez, Caravaca et al., 2006**), les flavonoïdes sont des molécules dotées de plusieurs propriétés biologiques :antibactériennes ,antioxydant, peroxydant.Et plusieurs études ont montré que les groupements hydroxyles dans les flavonoïdes sont responsables de leurs pouvoirs antioxydants (**Heignen et al., Heim et al.,2002**),et aussi les sites d'hydroxylation des différents noyaux affectent la potentialité antioxydante (**Attou, 2011**).Pour l'espèce étudiée, cette activité antioxydant dépend de l'apport de L'HE en flavonoïdes (**Yang, 2012; Wu et al., 2013**).Ces dernières contribuent au pouvoir antioxydant du fait qu'elles sont capables de piéger les radicaux libres(**Lin, 2003**).

Conclusion

La présente étude est une contribution à la valorisation des huiles essentielles des plantes aromatiques pouvant être présenté un potentiel important en tant qu'agents antimicrobiens et dans plusieurs domaines industriels et médicaux.

L'Armoise blanche où le conservateur alimentaire alternative, il est bien connu par leur propriété antimicrobienne et antioxydante, c'est l'espèce végétale la plus utilisée traditionnellement pour traiter les troubles gastriques et autres maladies.

Les HE sont reconnues par leurs composants naturels comme les monoterpènes et les hydrocarbures avec des groupes fonctionnels divers et composition chimiques complexe, ce qui confère des propriétés potentiellement bioactifs contre les microorganismes.

L'extraction par hydrodistillation a donné un rendement de 0.4% pour l'*Artemisia herba-alba* avec une bonne qualité d'HE.

Le test d'activité antibactérienne par la méthode d'aromatogramme permis la détermination de la zone d'inhibition et la concentration minimale inhibitrice (CMI) par l'ajout de DMSO qui correspond à une meilleure incorporation des différentes concentration et montre que l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* présente une activité inhibitrice importante et variable sur les deux souches bactériennes testés (*S. aureus* et *E. coli*) avec des différentes concentrations d'HE (1; 2; 2.5 µl/ml) respectivement.

Staphylococcus aureus très sensible à ce dernier avec un diamètre de (0.8; 1.1; 1.3 cm), pour *E. coli* sensible avec un diamètre de (0.7; 0.8; 1 cm).

Une étude comparative du rendement et la composition chimique de l'huile essentielle (HE) issue de l'armoise blanche selon la date de récolte suivi par une analyse chromatographique semble être importante pour juger la qualité de notre huile essentielle.

L'évaluation des activités antioxydantes d'huile essentielle d'Armoise blanche, par la méthode de piégeage du radical libre de DPPH, ce dernier montre que notre huile essentielle possède une bonne activité, donc cette plante contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques.

Ce travail pourrait contribuer à mieux valoriser cette plante pour une meilleure utilisation dans différents secteurs industriels. Il est bien évident que les propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles peuvent servir comme additifs alimentaires alternatifs pour remplacer les conservateurs synthétiques dont l'innocuité est discutée. Mais avant de se lancer dans ce domaine prometteur, il nous faut une stratégie parfaitement adaptée, où l'on devra penser tout d'abord à la plante qui va nous donner ces fabuleuses substances; comment la protéger? Comment la cultiver? Afin de la rentabiliser pour satisfaire la demande de ses produits. Les huiles essentielles étant connues à la fois pour leurs propriétés aromatisants et antimicrobiennes et leur toxicité réduite comparée à celle des additifs alimentaires synthétiques.

Références Bibliographiques

Les références bibliographiques

1.Aaidoude.A ;1983 :contributions à l'étude des écosystème steppique du sud oranais phytomasse productivité primaire et application pastorale .thèse de doctorat 3 ème cycle université des sciences e t technologie H. boumadienealger p116.

2.AitAbdelouahabNaouale(2007).Microbiologie alimentaires office des publication universitaire édition :2,p.76.

3.Abou El-Hamd H.M., El-Sayed M.A., El-Hegazy M.,Helaly S.E., EsmailA.M.and Mohamed E.N.(2010).Chemical composition and biological activities of Artemisia herbaalba.Rec.Nat.Pord.4(1) :1-25.

4.Archana B.,DasgutaN.and De B.,2005.In vitro study of antioxidantactivity of Syzygiumcuminifruit.Food Cheem.90,pp.727-733.

5.Akrout.A, 1999:" Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie) ". Institut des Régions Arides, 4119 Medenine, Tunisie.

6.Azele. F, 1979: "Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine". Ed. Crouan et Roque.20-25p.

7. Baba Aissa, 1999 : "Encyclopédie des plantes utiles. Flor d'Algérie et du Maghreb.

8. Baba-Aissa,1991: Les plantes médicinales en Algérie occidental Bouchene et AD,Davianalger 181p.

9.Bachelot Coraline,Blaise Aurelie,Corbel Tanguy et LeguernicAurelie ,2006,les huiles essentielles pp3.

10.Balentine C.W., Crandall P.G., O'Bryan C.A., Duong D.Q., ET Pohlman F.W. (2006)-The pre-and post-grinding application of Rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. Meat Science.73, p. 413-421.

11.Bassen E.(2001).Cours de phytochimie.AEA chimie et biochimie des produits naturels UCAD ,Dakar.

12.Benammar. M, 2000 : " Extraction et identification de l'huile essentielle de l'armoise blanche (*Artémisia herba alba*).mémoire d'ingénieur en Biologie, 43p

13.Benjilali,B,2004 :Extraction des plantes aromatiques et médicinales :cas particuier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipement .Institut agronomique et vétérinaire,Maroc,2004

14. Benmansour, 1999 : "Etudes et visualisation de l'armoise blanche de l'ouest algérien et des noyaux de deux variétés des dattes algérienne.37-69p13.

15. Bensegueni,R, 1984 : "Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba-alba*"

Références Bibliographiques

- 16. Bruneton.J, 1999 :**" Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales, 3ème Edition. Ed. Lavoisier Technique et Documentation. Paris. 481-511p.
- 17.Bouabellah. H,1991 :**Dégradation du couvert végétal steppique de la zone sud-ouest oranaise(le cas d'EL Aricha)Université d'Oran.Institut de géographie et de l'aménagement du territoire.ORAN.180p.
- 18.Boudy.P,(1961) :**Guide des forestiers en Afrique du nord .Ed .La maison Rustique.Paris.211-222.
- 19. Bourgois.C.M et Leveau.J.Y , 1991:** " Technique d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires". Ed. Tec et Doc. Paris.248p.
- 20. Biogassendi,2003**<http://biogassendi.lfrance.com>.
- 21. Biugunicourt.M , 1995 :** " Dictionnaire de microbiologie générale". Ed. Ellipses.
- 22.CAILLET S. et LACROIX M. (2007) –** les huiles essentielles leurs propriétés antimicrobienne et leur application potentielle en alimentaire. Laboratoire de Recherche en Science Appliquée à l'alimentation (RESALA) de l'INRS, Institut Armand-Frappier, Université de Laval(Québec).
- 23. Channaoui S et Elaraki .A.T, 1997 :** "plantes aromatiques et médicinales et leurs huiles essentielles" 247–50.
- 24.CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2006)** Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. Ninth Edition (M2-A9).26 (1).
- 25.Dacosta.E,(2003)**Les phytonutrimentsbioactifs.YVesDacosta(Ed).Paris,317p.
- 26.Degryse,A,DelphatI,Voinier M.(2008) :**Atelier santé environnement .Ingénieur de génie sanitaire.Risques et bénéfices possibles des HE.EHESP.
- 27. Deysson. L, 1963.** "Organisation et classification des plantes vasculaires"
Tom2 .2eme partiesystématique.
- 28. Duke, 1992 :** "Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs other economic plants ".Boca Raton,FL.CRC Press.
- 29.DungN.T.,KimJ.M.and Kang S.C.,2008.**Chemical composition ,antimicrobial and antioxidantactivities of the essential oil and the ethanolextract of cleistocalyxoperculatus (Roxb.)Merr and perrybuds.Food and chemical Toxicology 46 :pp.3632-3639.
- 30.DuraffourdC,Lapraz J-C et le Pr.Chemli R ,(1997) :**1 er CongrèsInternational-Tunis,De l'usage Empirique à la phytothérapie Clinique,Mai 97 à Monastir.
- 31.Farombi.E.O, 2003 :**"African indigenous plants.withchemotherapentie potentials and biotechnological approach to th production of bioactive prophylactic agents. African Journal of biotechnology.2(12).662-671.
- 32.Fenardji et al, 1974 :** "Contribution à l'étude de l'armoise blanche". (*Artémisia Herba alba*) p27.
- 33.Foster.T.J,1991 :** Vaccin 9.221-227p
- 34.Franchomme.P, 1981 :** " L'aromatologie à visée anti-infectieuse. Phytomédecine 1 & 2" 25–45p.
- 35.Josef .P.G,1998 :**Microbiologie Alimentaire .Ed.Abunod,227p.

Références Bibliographiques

- 36. Mahmoudi, 1991** : La thérapeutique par les plantes les communes en Algérie. Paris de livre Blida 120p.
- 37. Fellah S, M Romdhane, M. Abderraba, (2006)**. « Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* .L cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie » J.SOC.alger.chim., 2006, 16(2), 193-202. Journal de la société algérienne de chimie.
- 38. Quezel et Santa, 1962** : Flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales tome 2 édition du CNES Paris. 1170p.
- 39. Rachid. ChA., Qureshi M.Z., Raza S.A., William J. and Archad M., 2010**. Quantitative determination of antioxidant potential of *Artemisia persica* analele universitii din bucuresti-chimie (serie noua), Vol. 19 N° 1, pp. 23-30.
- 40. Pourrat, y, 1974** : propriétés écophysiological associées à l'adaptation d'*Artemisia herba alba* , plante d'intérêt pastoral en milieu désertique, thèse 3ème cycle université de paris 135p.
- 41. Vernin , G., Merad, O., Vernin, G.M.F., Zamkotsian, R.M. and Parkanyi, C. (1995)**. GC-MS analysis of *Artemisia herba-alba* Assosessential oils from Algeria. Dev. Food Sci. 37A : 147-98-92.
- 42. Salle, J-L. , 1991** : Les huiles essentielles d'aromathérapie et introduction à la hypnotherapie, Edition : frison roche, Paris. pp 11-16-1718-23.
- 43. Kim. N. Y., Jang. M. K., Lee D. G., Yu. H., Jang. H., Kim. M., KIM. S , Yoo. B. H. and Lee S. H., (2002)** : Nutrition Research and Practice (NutrResPract) ; 4(1) : 16-22.
- 44. Willem J.P., 2004**, Les huiles essentielles, médecine d'avenir, Ed, Estem. p 318.
- 45. Luu C, (2002)** : Les essences majeures anti-infectieuses, l'aromatogramme. Votre diététique N 53.
- 46. Nicholls. C (1998)** : Aromatic medicine in the treatment of infections. British Journal of Phytotherapy. Vol. 5, n1.
- 47. Roux. D., (2008)** : Conseil en aromathérapie. 2ème édition, Pro-Officina, 187.
- 48. Marie France Muller. , 2006**, huile essentielle, pp 23, 45, 55, 56.
- 49. Turkmen, N., Velioglu , y. S., Sari, F., Polat, G 2007**. Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea , Molecules, 12 : 484-496
- 50. Qzenda, 1985** : Flore du sahara. Tom 1, Edition CNRS. Ed lavoisier. Tec et Doc. paris.
- 51. Kordali .S, Kotan .R, Mavi .A, et al. 2005** : " Détermination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dranunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *Artemisia dranunculus*,
- 52. Josef. P. G, 1998** : " Microbiologie Alimentaire. Ed. Abunod, 277p
- 53. Jean-loup et al , 2000** . 3ème édition. Ed. Ellipses. Paris, 189p.

Références Bibliographiques

- 54. Duke, 1992** : Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs other economic plants .Boca Raton, FLCRC press.
- 55. Ghanmi M., Satrani ,A. Aafi, M.R. Isamili ,H. Houti, H. ElManfalouti ,K.H. Bencheqroun, M. Aberchane, L. Harki, A. Boukir, A. Chaouch, Z. Charrouf. Phytotérapie (2010) 8, 295-310** : « 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 Guercif (Maroc oriental). »
- 56. Luttge, 1992** : « Alpha-thujon reduces 5-HT₃ receptor activity by an effect on the agonist-reduced desensitization ». 46(2).
- 57. Seg et al. 1980** : "Evaluation of putative allelochemicals in rice root exudates for their role in the suppression of arrowhead root growth" .Ecol. 1663-1678
- 58. Segal et al. 1985** : "plant phenolics in allelopathy" 186-202
- 59. Shen et al, 1994** : " Abrégés de phytochimie". Ed. MASSON. p194.
- 60. Salah et Jaker, 2005** : "Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities" .Journal of Ethnopharmacology 97, 145-149.
- 61. Saleh ,El-Nougoumy S, Abd-allah M, Abou. Z M, Dellamonica G, Chopin J, 1985.** Flavonoïdes glycosides of *Artemisia monosperma* and *A. herba alba* .phytochemistry 24(01) :201-203.
- 62. Kim Mj. 2011.** Antimicrobial effect of Korean propolis against the mutants streptococci isolated from Korean J. Microbiol. 49(1):161-164
- 63. MOLYNEUX. P. 2004.** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity of songklanakarini. Journal of science technology, 26(2) :211-219.
- 64. Turkmen, N., Velioglu, Y. S, Sari, F., Polat, G. 2007.** Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12: 484-496.
- 65. Yang H., Dong Y., Du H., Shi H., Peng Y., Li X. 2011.** Antioxidant compounds from propolis collected in Anhui, China *Molecules*. 16(4):3444-3455
- 66. WILLEM J.P. (2004)**-Les huiles essentielles. Ed : Edition du Dauphin Médecine d'avenir, p.318.
- 67. ZAIKA L.L. (1988)**-Spices and herbs-Their antimicrobial Activity and Its Determination. *Journal of Food Safety* : 9-2, p.97-118.
- 68. Rohmer, 2005** : "Plantes thérapeutiques. tradition, pratique officinales science et thérapeutiques" .2^{ème} Ed Lavoisier. Tec&Doc. paris.
- 69. Jean-Luis. F, 1997** : " Bactériofiches, techniques à la bactériologie chimique. Ed. Marketing S.A. Paris, 22p.

Références Bibliographiques

70. Jean-loup et al , 200 .3^{ème}édition. Ed. Ellipses. Paris, 189p.

71. MOHAMMEDI ZOHRA. (2005-2006)- Étude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère en Biologie. Option: Produits Naturels, Activités biologiques et synthèse. Université Abdou BakrBelkaid Tlemcen. Faculté des Sciences, Département de Biologie. Laboratoire P produits Naturels

72. Espinel-Ingroff Ana and Cantón Emilia. (2007) Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. In: **Richard Schwalbe, Lynn Steele-Moore, and Avery C. Goodwin.** Antimicrobial susceptibility testing protocols. *Taylor & Francis Group*; 173-208. essentielles.option travail d'étude .U.C.O BretagneNord.

73. CAILLET S. et LACROIX M. (2007) – les huiles essentielles leurs propriétés antimicrobienne et leur application potentielle en alimentaire. Laboratoire de Recherche en Science Appliquée à l'alimentation (RESALA) de l'INRS, Institut Armand-Frappier, Université de Laval(Québec).

74. CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2006) Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. Ninth Edition (M2-A9).26 (1).

75. El-Massry Khaled F, El-Ghorab Ahmed H, Amr Farouk (2002) Antioxidant activity and volatile components of Egyptian Artemisia judaica L. National Research Center, Flavour and Aromatic Department, Tahrir Street, Dokki, Cairo, Egypt.

76. Hemwimon S., Pavasant P. et Shotiprux A. (2007). Microwave assisted extraction of antioxidant anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. Separation and Purification Technology, 54, 44-50.

77. Lawrencet Brian M. (2000). Essential oils: from agriculture to chemistry. The international Journal of Aromatherapy., 10: 82-98.

78. LAIB I, BARKAT M. (2011) COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITE ANTIOXYDANTE DE L'HUILE ESSENTIELLE DES FLEURS SECHES DE *LAVANDULA OFFICINALIS*. - Institut de Nutrition, d'Alimentation et des Technologies Agro alimentaires, Université de Constantine Mentouri, Algérie, pp97.

79. PRAKASH D., UPADHYAY G., BRAHMA N. ET SINGH H.B, (2007); Singh antioxidant and Free radical scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean; Food Chemistry 104; p: 783-790.

80. Rose A.E. (1965). Technique of organic chemistry, Vol. IV Distillation, 2nd Edition by John Wiley and sons, New York.

81. Siddhuraju, P. and K. Becker (2003). Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *J. Agric food Chem.*, 51(8): 2144-55.

82. Rafea Z., Saidi I. (2007). Etude physico-chimiques et l'effet antibactérien des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* chez les *Streptococcus Faecalis* et *Pseudomonas aeruginosa* .Mémoire d'Ingénieur d'état en biologie. Université de sidi Belabbes, p.35.

Références Bibliographiques

83. Liu, C.Z., Murch, S.J., El Demerdash, M., Saxena, P.K., (2003) Regeneration of the Egyptian medicinal plant *Artemisia Judaica*. *Plant Cell Rep.* 21(6), pp.525-530.
84. Prescott, Harley et Klein (1995). *Microbiologie*. De Boek-Wesmael. S.A., p.1014.
85. Rai M.K., Acharya D., Wadegaonkar P. (2003). *Plant derived-antimicrobials: potential of Asteraceous plants*, In: *Plant-derived antimicrobials*. Haworth Press, New-York, London, Oxford. pp.165-185.
86. Hussein Moustafa H, (2001). *L'Apiculture en Afrique*. Les pays du nord, de l'est, du nord-est et de l'ouest du continent. *Apiacta* 1, p.34-48.
87. Mastelic et Kustrak (1997) *un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivantes avec VIH*. Canadian AIDS ; Treatment Information Exchange. Réseau Canadien d'informations sida .
88. Milane, H., (2004) *La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; étude et applications thérapeutiques*. Thèse de doctorat. Strasbourg
89. Kambouche N et El Abed D, (2003), « Les huiles essentielles ». Edition Dar El Gharb.
90. Sousa EMBD, Chiavone-Filho O., Moreno M.T. Silva D.N., Marques M.O. et Meireles M.A. (2002). Experimental results for the extraction of essential oil from *Lippia sidoides* using pressurized carbon dioxide. *Brazilian journal of chemical engineering* 19(02), 229-241
- Kapetanovic, S., Ramic, R. (1984). *Isolément de l'huile essentielle de rose par distillation sèche*, parfums, cosmétiques et Aromes, 1984, 56, 77, 78.
91. Lahlou, M., 2004: "Méthodes to study phytochemistry and bioactivity of essential oils ". *PhytotherRes* 18: 435-48.
92. Lhuillier (2007). *Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : Aguaria Salicifolia Hook, Fex oliver, Agaurapolyphylla Baker (Ericaceae), Tambourissatrichophylla Baker (Monimiaceae) et Embelia Concinna Baker (Myrsinaceae)*. Thèse de doctorat. Toulous.
93. Sutra, L. et Poutrel, B., 1994 : « *J. med Microbiology* ». 40, 79-89p.
94. Prescott, L. et Harley, K., 1995 : « *Microbiologie*, 2ème édition A. Time Minory ». 326-329.
95. Mallouk Hamid. (2007). *Extraction des volatils à partir du bois par détente instantanée contrôlée (DIC) : Valorisation industrielle des extraits et des résidus solides*. Thèse de doctorat, Spécialité génie des procédés. Université de la Rochelle., 152p.
96. Nelly Grosjean. (2007) - *L'aromathérapie tout simplement*. p.52.
97. Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A. and Rassouli I., 2007. *Chemical and biological characteristics of Cuminum Cyminum and Rosmarinus officinalis essential oils*. *Food chem.*, 102 : pp.898-904.

Références Bibliographiques

- 98.QianH.andNihorimbere v.,2004.**Antioxidant power of phytochemicals from psidiumguajava lea J.ZhejiiangUniv.SCI 5(6) :ppp.676-683.
- 99.Gramza A.,Pawlak .Lemaska K.,Korczak J.,SowiczE.W.andRudzinska M.,2005.**Tea extracts as free radical scavengers.Polish Journal of Environmentals Studies Vol.14,N°6pp.861-867.
- 100.Portes E.,2008.**synthèse et Etudes de tetrahydrocurcuminoïdes :propriétés photochimiques et antioxydantes, applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle .Thèse de doctorat .N°3695-.Université Bordeaux I,224p
- 101.EdwardP.Claus .,VarroE.T.,Lynn R.B.(1987).**Pharmacognosy.sixthedition .LEA et Febiger(ed) :184-187.
- 102.HERMAL C. (1993)-** Activités bactériostatiques de sept émulsions d'huiles essentielles et de deux associations d'émulsions d'huiles essentielles. Faculté de pharmacie, Université de Montpellier, 1 (87).
- 103.Shan B.,CaiY.Z.,BrooksJ.D.,etCorke H.,(2007)** .The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herbs extracts,International J food Microbiology.117,p.112-19.
- 104.Kone W.M.,KamanziAtindeho K.,Terreaux C.,Hostettmann K.,TraorD.,etDosso M.,(2004)-**Traditional medicine in north cote-d'Ivoire :Screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity.J.Ethnopharmacol.93,p.43-49.
- 105.HAYOUNI E.A., ABEDRABBA M., BOUIX M., ET HAMDI M. (2007)-**The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian Quercuscoccifera L. and Juniperusphoenicea L. fruit extracts. Food chem.
- 106.Pattaratanawaadee.E.,Thongson C.,MahakarnchanakulW.,etWanchaitanawong p (2006).**Antimicrobial activity of spices extracts against pathogenic and spoilage microorganisms .In the proceeding of the 44th Kasetsart University annual Conference,Kasetsart,p.297-307.
- 107.Dordevic S.,Petrovic S.,Dobric S., Milenkovic M., Vucicevic D.,Zizic S., et Kukic J(2007).**Antimicrobial,anti-inflammatory ,anti-ulcer and antioxidant activities of CarlinaAcanthifolia root essential oil J.Ethmopharmacol.109,p.458-463.
- 108.**Direction de la planification et d'Aménagement du Territoire.(DPAT)2011.Wilaya de Naama.
- 109.Anonyme 01.**Fr.climate-data.org/location/4415v
- 110.Anonyme02.**WWW.andi-dz/pdf/monographies/NAAMA.pdf.
- 111.Cartemichlin Ain-Sefra.JPG.**

Annexe I :

Composition des milieux de cultures

➤ **Gélose nutritive (GN)**

Peptone	15g
Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
Chlorure de sodum	5g
Agar agar	15g
Eau distillée	1000ml
pH= 7,4	

➤ **Bouillon nutritif (BN)**

Peptone	5g
Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
Chlorure de sodum	5g
Eau distillée	1000ml
pH= 7,4	

➤ **Milieu Chapman**

Peptone pancréatique de caséine.....	20g
Extrait de viande.....	1g
Chlorure de sodium.....	5g
Manitol	10g
Agar.....	10g
Rouge Phenol.....	0.025g
Eau distillée	1000ml
pH =7	

➤ **Eau physiologique :**

Chlorure de sodum	9g
Eau distillée	1000ml

➤ **Mueller Hinton(Gélose)**

Infusion de viande de bœuf.....	300ml
Hydrolysate de caséine.....	17.5g
Amidon.....	1.5g
Agar.....	10g
pH=7.4	

Annexe. II :

Tensioactif : le DMSO

Un tensioactif ou agent de surface est un composé qui modifie la tension superficielle entre deux surfaces. Les composés tensioactifs sont des molécules amphiphiles, c'est-à-dire qui elles présentent deux parties polarité différente, L'un lipophile (miscible dans l'huile) et apolaire, L'autre hydrophile(miscible dans l'eau)et polaire.On parle aussi de surfactif, transposition du mot anglais surfactant qui est compression de surface active agent (agent de surface actif).

Noté aussi DMSO est un solvant polaire (organosulfuré), aprotique, de formule brute C_2H_6OS . Il se présente comme un liquide incolore, qui dissout à la fois des composés polaires et non-polaires, et qui est miscible dans une large gamme de solvants organiques, ainsi que dans l'eau .

Il pénètre très facilement et rapidement la peau avant de diffuser dans tout l'organisme, ce qui explique qu'une personne en ayant reçu sur la peau peut ensuite rapidement ressentir un goût d'ail dans la bouche (**K.M.Novak; 2002**).

Tableau N°14 : Constituants de l'huile essentielle de l'armoise blanche de la région Guercif selon la date de récolte (Ghanmi, 2010)

N°	Constituants	Date de la collecte		
		Avril%	Juin%	Septembre%
1	Tricluéne	0.25	-	0.13
2	α -thujène	0.54	0.22	1.55
3	α -pinène	4.31	2.16	2.37
4	Camphène	0.38	0.13	0.29
5	β -pinène	1.07	0.54	0.38
6	Myrcène	0.24	0.09	0.26
7	α -terpinène	0.20	0.32	-
8	Limonène	1.10	1.50	1.80
9	1.8-cinèole	-	-	3.45
10	Artémisia cétone	-	-	0.21
11	γ -terpinène	0.19	0.13	0.23
12	α -thujone	4.06	4.40	0.25
13	β -thujone	0.57	0.20	-
14	Crysanthénone	47.71	48.45	0.28
15	Cis- β -dihydroterpinéol	0.80	1.25	-
16	Camphre	21.59	24.85	45.03
17	Trans- β -dihydroterpinéol	1.81	1.70	0.22
18	Trans- β -terpinéol	2.17	2.49	11.11
19	Terpin-4-ol	0.39	0.53	1.06
20	α -terpinéol	0.24	0.25	1.38
21	Trans-pipritol	0.40	0.54	-
22	Trans-myrtanol	0.56	0.54	1.77
23	Neo-3-acétate de thujyl	0.57	0.83	-
24	α -terpin-7-al	0.46	0.44	22.26
25	γ -terpin-7-al	-	-	0.30
26	3-acétate de thujyl	-	-	1.84
27	Neo-iso-acétate isopulegol	0.61	0.20	-
28	Trans-dihydro- α -acétate de terpinyl	0.42	0.60	-
29	β -elemène	2.86	1.78	1.59
30	β -longipinène	-	-	0.24
31	Caryophyllène	-	-	0.21
32	β -germacrène	3.15	0.77	0.51
33	α -muurolène	1.41	0.51	-
34	Alcool de caryophyllène	0.25	-	-
35	Germacrène D-4-ol	0.37	-	-
36	Davanone	1.13	0.54	-
Total		99.81	95.96	98.72

Ce tableau montre que la composition chimique de l'HE de l'armoise blanche est très variable selon la période et le lieu de la récolte. L'activité antibactérienne des huiles de l'armoise

Les Annexes

blanche peut être expliquée par leurs richesse en composés oxygénés(chrysonthénone,camphre, α -terpin-7-al et trans-b-terpinèol).Cela est dû au fait que les aldéhydes et les alcools terpéniques sont plus efficaces contre les micro-organismes que les cétones. Cette constatation a été prouvée par Channaoui et Elaraki qui ont montré que l'activité antimicrobienne de certains composés terpéniques est dans l'ordre croissant suivant : aldéhydes > alcools > cétones > hydrocarbures (**Ghanmi, 2010**)