

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences Appliquées

Département de Génie des Procédés

Mémoire

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Science et Technologies

Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Génie Chimique

Présenté par: Benyahia Mounir et Sofiane Medakene

Thème

Analyse Physico Chimique et Activité Biologique

de L'huile Essentielle *d'Artémisia Herba Alba*

Soutenu publiquement le :06/07/2019

Devant le jury :

Ghandour Zaouïa	MAA	à	UKM Ouargla	Présidente
Guerdouh Amelle	MCB	à	UKM Ouargla	Examinatrice
GHIABA Zineb	MCA	à	UKM Ouargla	Encadreur

Année Universitaire : 2018 -2019



Dédicace

Je dédie cet humble travail :

♡ À mes chère parent ♡

♡ À ma grande mère ♡

À toute la famille ♡ Medakane♡

À tous mes fidèles amis.

sofiane





DEDICACE

JE DÉDIE CE MODESTE TRAVAIL

À LA MÉMOIRE DE MON PÈRE.

A MA CHÈRE MÈRE QUI M'A TOUJOURS

SOUTENUS DANS LA VIE.

A MES CHÈRES FRÈRES ET SŒURS.

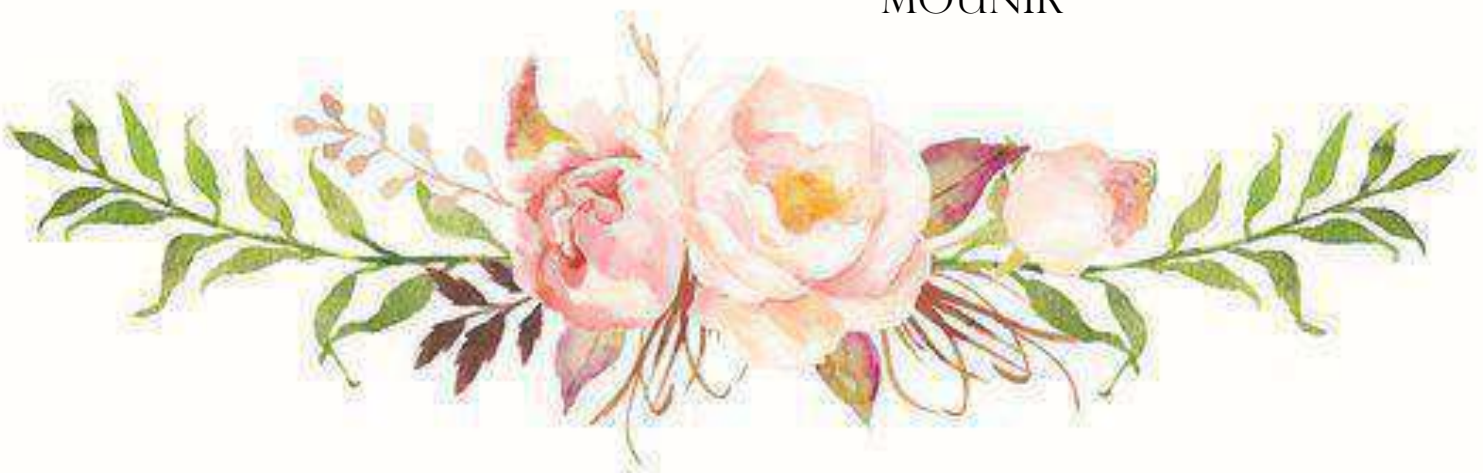
A MA CHÈRE FEMME POUR SA PATIENCE ET SON
ENCOURAGEMENT.

A MES ENFANTS MOHAMED EL AMINE , FOUAD ET ADEL.

A TOUS LES AMIS EN PARTICULIER MED CHRIF MOHAMED
FOUAD, KHERRAZE MOHAMMED EL HAFAD
ET SOUDANI EL ARBI.

A MON COUSIN BENYAHIA SMAIL.

MOUNIR



Remerciement

Au terme de ce travail, nos remerciements vont tout d'abord au tout puissant ALLAH qui nous a permis d'aller jusqu'au bout de nos études.

Nous tiendrons à remercier, Madame GHIABA Zineb, encadreur de ce mémoire, pour avoir accepté d'encadrer ce modeste travail et pour son aide inestimable sur plusieurs plans (documentations, connaissances, orientations, soutien moral).

Nos sincères remerciements vont tout particulièrement :

- *Monsieur SEGNI Ladjel le directeur du laboratoire de recherche Génie des Procédés.*
- *Monsieur GOUDJIL Bilal*
- *Monsieur Ghilani Djamel le responsable de laboratoire de pédagogie ;*
- *M^{ELLE} BENSACI Chaïma le responsable de laboratoire de recherche VPRS*

Nous remercions les membres de jury, chacun a son nom, d'accepter de juger notre travail

Madame Ghandour Zaouïa

M^{ELLE} Guerdouh Amelle

Enfin, nous adressons plus sincères remerciements à tous nos proches et amis qui nous ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.

MERCI à tous

Résumé

L'objectif de notre travail consiste à extraire les huiles essentielles d'Artémisa Herba Alba des régions de Djanet pour déterminer la composition chimique, l'analyse physico-chimique et l'activité biologique. L'extraction par hydro-distillation de HE a donné un rendement de 1.23% . l'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a révélé 62constituants, avec 47.02% camphor majoritaire.

Les résultats obtenus indiquent une activité anti radicalaire contre le DPPH avec IC50 = 0.12 mg/ml ,dans le test de phosphate de molybdate, on présente la meilleure activité antioxydant avec une valeur de TAC de 4240.54 mM , la détermination du pouvoir antibactériens a été réalisée par la méthode Vincent; l'huile essentielle d'*Artémisia herba alba* a montré une sensibilité vis a vis des souches bactériennes testés *Staphylocoque aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia Coli*, *Streptocoque* avec des diamètres inhibitrices compris entre 8.33et13.33 mm.

Mot clés: L'huile essentielle, *Artemisia herba alba*, Activité antioxydante, Activité antibactérienne, GC/MS.

Abstract

The objective of our work is to extract the essential oils of *Artemisia herba alba* from the region of Djanet and determine the chemical composition, the physico-chemical analysis and biological activity.

Extraction by hydro-distillation of *Artemisia herba alba* has given a yield of 1.23%. The analysis by gas chromatography coupled to mass spectrometry revealed 62 constituents with 47.02% camphor compound majority.

The obtain results indicate a activity anti-radical against DPPH with IC50 value 0.12 mg/ml ,but the Molybdate Phosphate showed the best antioxidant activity with TAC value 4240.54 mM.

The determination of the power antibacterial agents was performed by the method of Vincent;the essential oil of *Artémisia herba alba* showed a sensitivity with the bacterial strains tested *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia Coli*, *Streptococcus* with diameters of inhibition ranging between 8.33 and 13.33 mm.

Key words: Essential oil, *Artemisia herba alba*, Antioxidant activity, Antibacterial activity, GC / MS

الملخص

الهدف من عملنا هو استخراج الزيت الأساسي من عشبة *Artemisia Herba Alba* من منطقة جانت وتحديد الخصائص الفيزيائية والكيميائية والأنشطة البيولوجية، أعطى الاستخلاص بواسطة التقطير بالبخار مردود (1.23%). أعطى تحليل الزيت الأساسي من قبل الكروماتوغرافي الغازي المقترن بقياس الطيف الكتلي (MS/GC) 62 مكونا ، مع نسبة 47.02% من الكافور. تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى وجود نشاط الجذر الحر DPPH بقيمة $IC_{50}=0,12$ mg/ml، بينما في اختبار موليبيدات الفوسفات أظهر قدرة مضادة للأكسدة و بقيمة $TAC = 4240.54$ mM ، سجلت دراسة مضادة للبكتيريا للزيت العطري أكبر عملية تثبيط لنمو الجراثيم التي تم اختبارها:

Staphylocoque aureus, Salmonella typhi, Escherichia Coli, Streptocoque

مع أقطار مثبطة تتراوح بين 8.33 و 13.33 ملم.

الكلمات المفتاحية: الزيت الأساسي، *Artemisia Herba alba* ، الفعالية المضادة للبكتيريا ، الفعالية المضادة للأكسدة، GC/SM.

Liste des tableaux

Tableau II.1. Classification botanique <i>d'Artemisia herba albae</i>	14
Tableau II.2. Caractéristiques physico-chimiques de l'HE <i>d'A. herba alba</i>	15
Tableau II.3. Composition chimique de l'huile essentielle <i>d'A. Herba Alba</i> de divers pays.....	16
Tableau II.4. Composition chimique de l'HE <i>d'Artemisia Herba Alba</i> d'Algérie.....	17
Tableau III.1. Transcription des diamètres de la zone d'inhibition.....	28
Tableau IV.1. Caractéristiques organoleptiques de l'HE <i>d'A. herba alba</i>	30
Tableau IV.2. Propriété physico-chimique des huiles essentielles.....	31
Tableau IV.3. Composition chimique de l'Huile essentielle <i>d'Artemisia Herba Alba</i>	34
Tableau IV.4. Valeurs IC50 des huiles essentielles et de l'acide ascorbique et BHA et BH....	37
Tableau IV.5. Valeurs TAC des huiles essentielles et de l'acide ascorbique et BHA et BHT...	39
Tableau IV.6. L'effet antibactérienne <i>d'artemisia herba alba</i>	39
Tableau IV.7. L'activité antibactérienne <i>d'artemisia herba alba</i> sur les bactéries.....	41

Liste des figures

Figure I.1.Structures chimiques des terpènes.....	3
Figure I.2.Structures chimiques des composés aromatiques.....	4
Figure I.3.Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle.....	5
Figure I.4.Montage d'entraînement à la vapeur d'eau.....	5
Figure I.5.Schéma du principe de la technique d'hydro distillation.....	6
Figure I.6.Montage d'hydrodifussion.....	7
Figure I.7.Montage d'extraction par solvant.....	8
Figure I.8.Montage d'extraction assistée par micro-onde	8
Figure I.9.Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne.....	12
Figure II.1.la plante dans son milieu naturel au début de la saison de fleurai.....	13
Figure III.1.Le schéma général de la procédure expérimentale.....	19
Figure III.2. <i>Artémisa Herba Alba</i>	20
Figure III.3.Montage expérimental de l'hydrodistillation.....	20
Figure III.4.Densimètre électronique, de type DMA.....	23
Figure III.5.Réfractomètre.....	24
Figure III.6.Ph mètre.....	25
figure III.7.papier PH.....	25
Figure IV.1.L'HE d' <i>A.herba alba</i> extraite par l'HD.....	30
Figure IV.2.Profil chromatographique de HES partie aérienne d' <i>Artemisia herba alba</i>	33
Figure IV.3. Distribution en fonction du pourcentage des composants majoritaire de l'huile essentielle d' <i>Artemisia Herba alba</i>	35
Figure IV.4. Composants majoritaire de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i>	36
Figure IV.5. Mécanisme réactionnel du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH).....	36
Figure IV.6. Courbes graphiques montrant les taux d'inhibition de la racine DPPH à différentes concentrations des huiles essentielles et de l'acide ascorbique et BHA et BHT ...	37
Figure IV.7.Courbes représentant le pouvoir réducteur de Molybdate de <i>Artimisia herba alba</i> et BHA et BHT et l'Acide Ascorbique.....	38
Figure IV.8.Effet antibactérienne de l'HE d' <i>Artemisia Herba Alba</i> sur les bactéries	40

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation.

EC50: Concentration efficace qui réduit le Fer dans une absorbance de 0,5

Cm :Centimètre

CMI :Concentration minimale inhibitrice

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil

DMSO: Diméthyl sulfoxyde

Mp : Molybdate

GC/MS:Chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse

C: Concentration.

°C: Degré.

g: Gramme.

g/ml: Gramme par millilitre.

H Es:Les huiles essentielles.

H E: L'huile essentielle.

Hd: Hydrodistillation

m: Masse.

M: Masse molaire.

mg: Milligramme.

ml: Millilitre.

Mol / L: moles par litre.

N: Normalité.

R:Rendement.

T:Température.

V:Volume.

ρ :Masse volumique

SD:Standard déviation (écart-type)

SOMMAIRE

Remerciements	
Résumé	i
Liste des Tableaux.....	iii
Liste des Figures.....	iv
Liste des Abréviations.....	v
Introduction.....	1

Chapitre I

Généralité sur les huiles essentielles

I.Généralité sur les huiles essentielles.....	2
I.1.Historique.....	2
I.2.Définition.....	2
I.3.Localisation et lieu de synthèse.....	3
I.4.Composition chimique des huiles essentielles.....	3
I.4.1.Les terpènes.....	3
I.4.2.Les composés aromatiques.....	4
I.4.3.Composés d'origine diverses.....	4
I.5.Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	4
I.5.1.L'entraînement à la vapeur d'eau.....	5
I.5.2.L'hydro distillation.....	6
I.5.3.L'hydrodiffusion.....	6
I.5.4.Extraction par solvant.....	7
I.5.5.Extraction par micro-ondes.....	8
I.6.Propriété physico-chimique.....	8
I.7.Analyses des huiles essentielles et critères de qualité.....	9
I.8.Toxicité des H.Es.....	9
I.9.Utilisations des huiles essentielles.....	10
I.10.Activité biologique.....	10
I.10.1.Activité antioxydante.....	10
I.10.2.Activité antimicrobienne.....	11
I.10.2.1.Activité antibactérienne.....	11
I.10.2.2.Activité antifongique.....	12

Chapitre II

la plante étudiée(description et recherches antérieurs)

II.1.Description botanique.....	13
II.2. Classification botanique.....	14
II.3.Habitat.....	14
II.4.Ecologie de la plante.....	14
II.5. Propriétés thérapeutiques.....	15
II.6.Travaux antérieurs.....	15
II.7.Propriétés physico-chimiques.....	15
II.8.Composition chimique.....	15
II.9.Activités biologiques de l'HEs.....	17
II.9.1.Effets antioxydants.....	17
II.9.2.Effets Activité antimicrobienne.....	17

Chapitre III

Matériel et Méthodes

III.1.But d'étude.....	19
III.2.Matière végétale.....	20
III.3.Extraction des HE.....	20
III.3.1.Conservation de l'huile.....	21
III.3.2.Détermination de la composition chimique de l'HE par GC/MS.....	21
III.3.3.Evaluation de quelques indices physico chimique de HEs	22
III.3.3.1.Rendement.....	22
III.3.3.2.Détermination de l'indice d'acide.....	22
III.3.3.3.Mesure de densité relative à 20°C.....	23
III.3.3.4.Indice de réfraction.....	24
III.3.3.5.Mesure de pH.....	24
III.3.4.Evaluation de l' Activité biologique.....	25
III.3.4.1.Evaluation de l' Activité antioxydant.....	25
III.3.4.1.1.Méthode de piégeage du radical libre DPPH.....	25
III.3.4.1.2.Méthode de Molybdate.....	26
III.3.4.2.Activité antibactérienne.....	27
III.3.4.2.1.Méthode de diffusion sur gélose (Méthode de Vincent).....	27
III.3.4.2.2.Détermination de la Concentration Minimal Inhibitrice (CMI).....	28

Chapitre IV

Résultats et Discussions

IV. Résultats et discussions.....	30
IV.1. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles.....	30
IV.2.2. Les analyses physico-chimiques de l'H E.....	31
IV.2.3. Analyses chromatographiques.....	32
IV.3. Activités biologiques.....	36
IV.3.1. Activité antioxydante.....	36
IV.3.1.1. Effet scavenger du radical DPPH.....	36
IV.3.1.2. Test de Molybdate Phosphate (PM).....	38
IV.3.2. Etude de l'activité antibactérienne.....	39
IV.3.2.1. Test de l'aromatogramme (méthode de Vincent).....	39
IV.3.2.2. Détermination de la CMI.....	41
Conclusion	42
Références Bibliographiques	43
Annexes.....	49

introduction

INTRODUCTION

Introduction

L'Algérie est considérée parmi les pays connus pour leur diversité taxonomique vus sa position biogéographique privilégiée et son étendu entre la Méditerranée et l'Afrique .

La flore Algérienne recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes: on y trouve plus de 3000 espèces végétales[1].

Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Artemisia*, ce dernier est largement distribué surtout dans les régions semi arides. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues se trouve *Artemisia herba alba*. Cette plante largement utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères, les brûlures, la diarrhée,...etc. Elle a constitué le sujet de plusieurs études qui font déterminer leurs compositions chimiques , ainsi que les propriétés biologiques[2].

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes d'oxydation et de la résistance microbienne. Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à caractère antimicrobien et antioxydant[3].

De nos jours, le progrès de la biochimie et de l'analyse organique et pharmacologique, ainsi que la physiologie végétale, ont permis de révéler qu'une espèce végétale est une usine qui peut synthétiser des milliers de constituants chimiques différents et de commencer un tri rationnel dans la masse des actions attribuées aux plantes[4].

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des molécules d'origines végétales jouissantes d'activités biologiques notamment les activités antibactériennes, et antioxydants.

Dans le but de poursuivre ces activités, une étude phyto-chimique est faite sur une des plantes médicinales à savoir: *Artemisia herba alba*.

Notre travail est réparti en deux parties :

- La première partie concerne l'étude bibliographique des plantes et des huiles essentielles.
- La deuxième partie représente la partie expérimentale

Première partie
Synthèse bibliographique

Chapitre I
Généralité sur
les huiles essentielles

I. Généralité sur les huiles essentielles:

I.1.Historique:

Les végétaux furent pendant des millénaires utilisés pour combattre les maladies. L'un des premiers « ouvrages » traitant de leurs propriétés, a été rédigé en Chine, environ 1500 ans avant J.-C., intitulé Pen Tsao . Les plantes aromatiques étaient brûlées, ou mises à infuser ou à macérer dans des huiles végétales[5].

le chimiste français René Maurice Gattefosse utilisa pour la première fois le terme d'« aromathérapie » pour désigner les pratiques médicales utilisant les huiles essentielles. Faisant des recherches en parfumerie, il constata sur lui-même, après un accident de laboratoire, que l'huile essentielle de lavande avait des propriétés antiseptiques et cicatrisantes[5].

L'utilisation des produits naturels présente une alternative incontournable pour minimiser les répercussions indésirables des produits de synthèse qui menacent l'environnement et l'être humain. En l'occurrence, l'engouement actuel du grand public pour les produits d'origine naturelle est le reflet des effets controversés des additifs alimentaires de synthèse sur la santé ce qui oblige les secteurs agroalimentaires et pharmaceutiques à mettre l'accent sur la mise en évidence de l'exploitation de tels produits en remplaçant des produits purement synthétiques[6].

I. 2.Définition :

Les huiles essentielles sont des substances organiques, liquides et aromatiques. On les trouve naturellement dans diverses parties de plantes. Selon la norme AFNOR (NF T 75-006,2000), les huiles essentielles sont « des produits obtenus à partir de matières naturelles végétales, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle ainsi obtenue est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ».

La Commission de la Pharmacopée Européenne (2008) a défini l'huile essentielle comme étant un «Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie ».

I.3. Localisation et lieu de synthèse:

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires synthétisées et secrétées par les plantes aromatiques. La synthèse de ces huiles se fait par l'intermédiaire des structures histologiques spécialisées situées généralement sur la surface de la plante (les poils, les canaux et les poches sécrétrices)[7].

I.4. Composition chimique des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des extraits végétaux aromatiques très complexes et très concentrés. Elles peuvent à contenir plus d'une centaine de molécules aromatiques dans des proportions très variables. Ce sont ses différentes combinaisons de molécules qui donnent des propriétés si particulières aux huiles essentielles et qui sont responsables de leurs odeurs caractéristiques[8].

I.4.1. Les terpènes:

Les mono terpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%)., selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales[9].

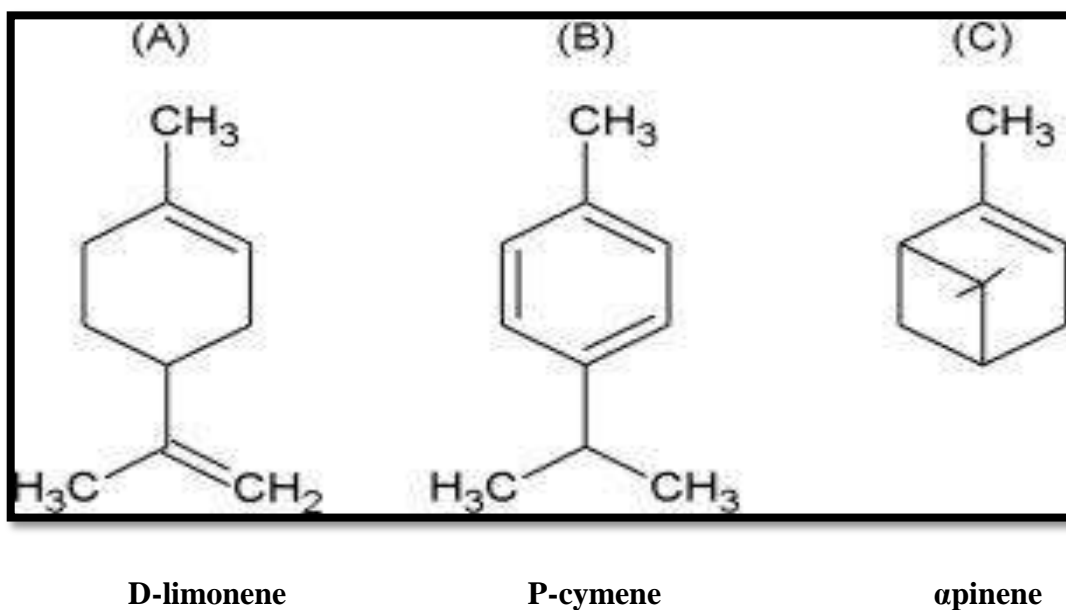


Figure. I.1: Structures chimiques des terpènes [10].

I.4.2. Les composés aromatiques:

Le groupe des composés aromatiques renferme les molécules de parfum comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol et l'estragol. Ces composés sont abondants dans les huiles essentielles des Apiaceae (Anis, Fenouil, Cannelle, Basilic)[11].

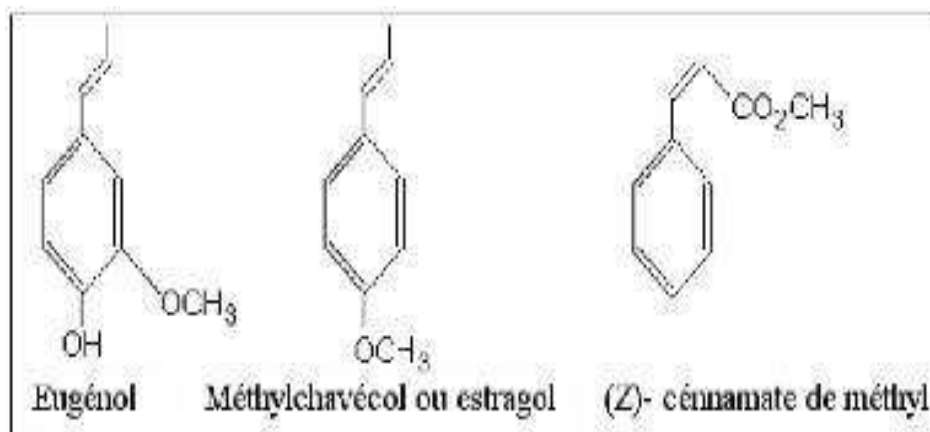


Figure. I.2: Structures chimiques des composés aromatiques[12].

I.4.3. Composés d'origine diverses:

Il existe un nombre non négligeable de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles issus soit de la dégradation des terpènes non volatils qui proviennent de l'auto-oxydation par exemple des carotènes ou des acides gras comme les acides linoléiques et α -linoléique en (3-cis hexanol, decanal, β -ionone)[11].

I.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles:

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles. Les principales sont basées sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction[13].

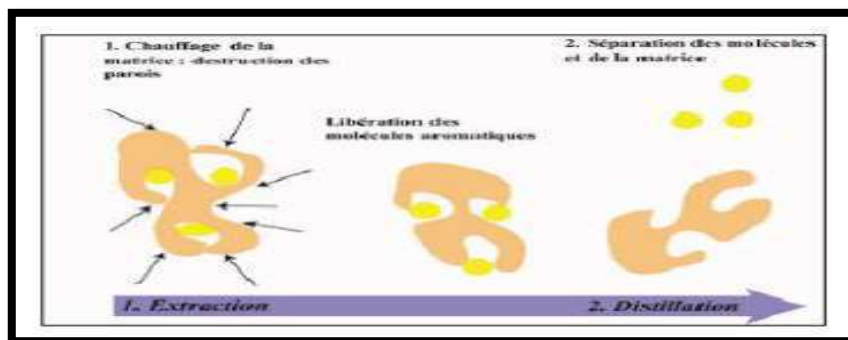


Figure .I.3: Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle[14].

Il existe plusieurs méthodes d'extraction dont voici les principales :

I.5.1.L'entraînement à la vapeur d'eau:

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydro distillation, cette technique ne met pas en contact direct de l'eau et la matière végétale à traiter. La vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique

l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile[9].

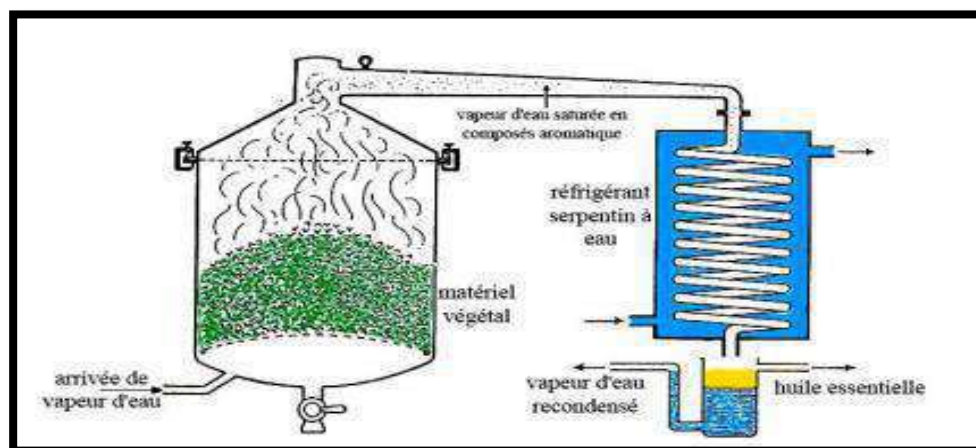
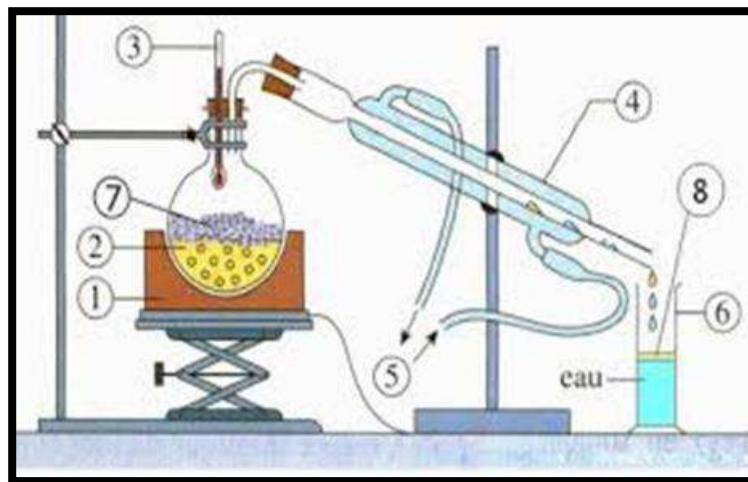


Figure .I.4:Montage d'entraînement à la vapeur d'eau [9].

I.5.2. L'hydro distillation:

C'est la méthode la plus ancienne, la plus utilisée et la plus rentable qui a été introduite en Europe par les Arabes entre le VIII^{ème} et le X^{ème} siècle. Il s'agit de mettre le matériel végétal à l'intérieur d'un alambic rempli d'eau et qui est porté ensuite à ébullition (Figure .I.5). L'huile essentielle se sépare par différence de densité après la condensation des vapeurs hétérogènes sur une surface froide[15].



1- Chauffe ballon 2- Ballon 3- Thermomètre 4-Réfrigérant 5 - Entrée et sortie d'eau
6 – Erlenmeyer 7 - Matière à extraire l'essence 8 - La couche

Figure .I.5:Schéma du principe de la technique d'hydro distillation[15].

I.5.3.L'hydrodiffusion:

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Cette technique relativement récente et particulière. Elle exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale (Figure .I.6). L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils, et de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur [9].

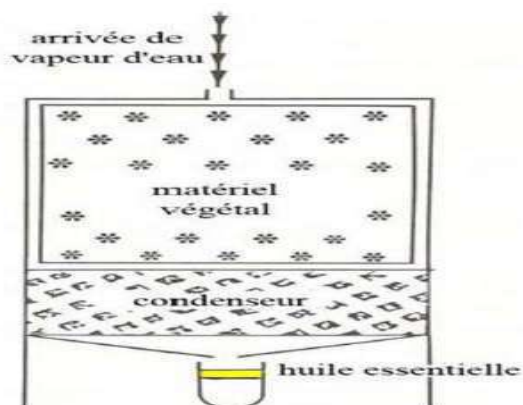


Figure .I.6:Montage d'hydrodiffusion[9].

I.5.4.Extraction par solvant:

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique[16].

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone[17].

Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lickens-Nickerson (Figure .I.7)[9]

Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances [18].

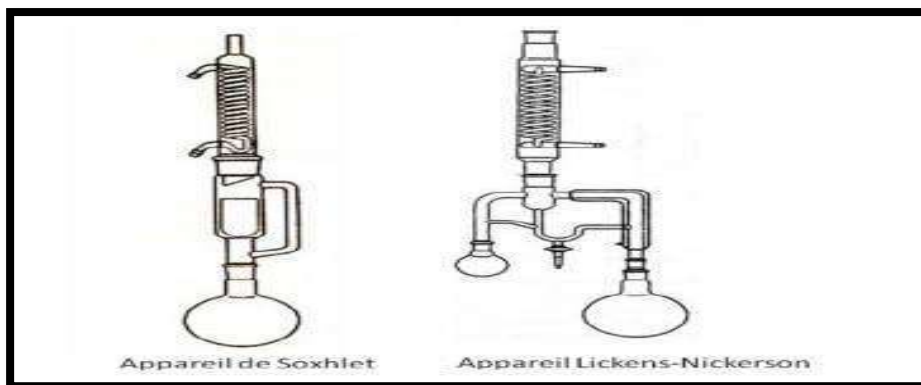


Figure .I.7:Montage d'extraction par solvant [9].

I.5.5.Extraction par micro-ondes:

Extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles (Figure .I.8). Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes 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 [19].

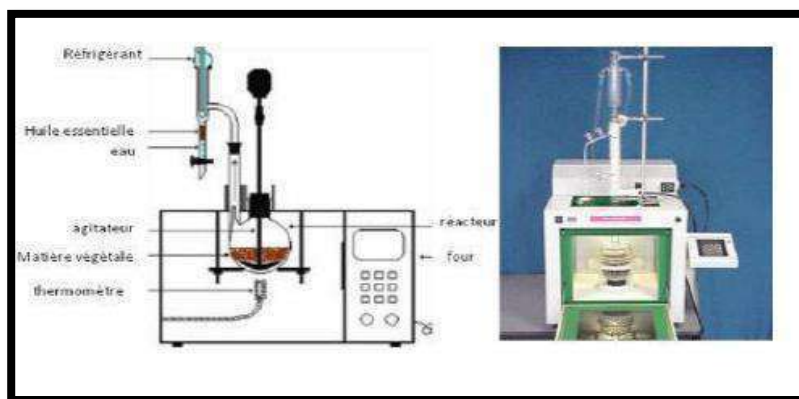


Figure .I.8:Montage d'extraction assistée par micro-onde [19].

I.6.Propriété physico-chimique:

Les huiles essentielles sont constituées des molécules aromatiques de très faible masse moléculaires et très odorantes, liquides à la température ambiante . Exposées à l'air, les huiles essentielles se volatilisent. Leur densité est plus souvent inférieure à celle de l'eau. Les huiles essentielles ne sont que très peu solubles ou pas du tout dans l'eau. Elles sont solubles dans l'éthanol et méthanol, l'alcool, l'éther et la plupart des solvants organiques [15].

I.7. Analyses des huiles essentielles et critères de qualité:

Lors de l'extraction, les huiles essentielles sont soumises à une série de tests pour déterminer leurs propriétés physiques et chimiques telles que l'indice de réfraction, l'indice d'acide, l'indice d'ester qui déterminent leurs qualités. Les méthodes de détermination des caractéristiques physico-chimiques à utiliser sont décrites avec précision dans le recueil de normes publié par l'Association Française de Normalisation (AFNOR, 1996), elles-mêmes identiques aux normes internationales de l'ISO [20].

Deux autres types d'analyse qui ont pour but d'identifier les différents constituants de l'huile essentielle afin d'en connaître la composition chimique: la chromatographie en phase gazeuse GC et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse GC/MS. La chromatographie en phase gazeuse GC est utilisée pour l'analyse quantitative et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse GC/MS pour l'analyse qualitative [21-23].

I.8. Toxicité des H.Es:

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise. [24].

Les huiles essentielles semblent n'être toxiques par absorption que si celle-ci est utilisée en de grandes quantités et en dehors du cadre classique d'utilisation. Les huiles ne seront toxiques par contact que si des concentrations importantes sont appliquées [24].

Selon ENGLEBIN, les huiles essentielles sont des substances très puissantes et très actives, c'est la puissance concentrée du plant aromatique, il ne faut donc jamais exagérer les doses, quelque soit la voie d'absorption, car toute substance est potentiellement toxique à dose élevée ou répétée Paracelse a dit: "rien n'est poison, tout est poison, tout dépend de la dose "Il faut également savoir qu'une période trop prolongée provoque l'inversion des effets et /ou l'apparition d'effets secondaires indésirables [25].

I.9.Utilisations des huiles essentielles:

Autrefois réservées à la parfumerie et à la médecine, les huiles essentielles sont aujourd'hui omniprésentes dans notre quotidien dans des produits cosmétiques, dans des produits d'hygiène ou dans des parfums d'ambiance, dans des huiles aromatiques destinées aux massages de bien-être, ou encore commercialisées sous forme de complexes visant à purifier notre air pollué. Elles trouvent également un intérêt grandissant auprès de l'industrie et de l'agroalimentaire [26].

Par leurs nombreuses et diverses propriétés, les plantes aromatiques et leurs essences trouvent leur emploi dans de multiples domaines tels que :

- * l'industrie agroalimentaire
- * pharmaceutique
- * cosmétique et parfumerie
- * l'aromathérapie.

I.10.Activité biologique:

Le rôle physiologique des huiles pour le rôle végétal est encore inconnu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confèrent des rôles et propriétés biologiques[27].

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires [28].

Dans notre étude, nous nous sommes focalisés qu'à deux types d'activités biologiques les activités Antioxydants et Antibactériennes.

I.10.1.Activité antioxydant:

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir [29].

De nos jours, Il existe un intérêt croissant(vis-à-vis)de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire [30].

I.10.2. Activité antimicrobienne:

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris, agents antibactériens. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections [31].

De nombreux auteurs ont rapporté que les extraits d'herbes ont des composés chimiques capables d'avoir une activité antimicrobienne [32].

Les constituants des HEs sont actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons.

I.10.2.1. Activité antibactérienne

Le mode d'action de ces agents sur les bactéries, peuvent être bactériostatique, lorsque la substance inhibe la multiplication des bactéries ou bactéricides lorsque la substance détruit totalement les bactéries [33].

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est principalement liée à leur composition chimique, en particulier de leurs composés volatils majeurs. Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action des HEs. Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des HEs ait son propre mécanisme d'action [4].

D'une manière générale, l'action des huiles essentielles se déroule en trois phases :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie [4].

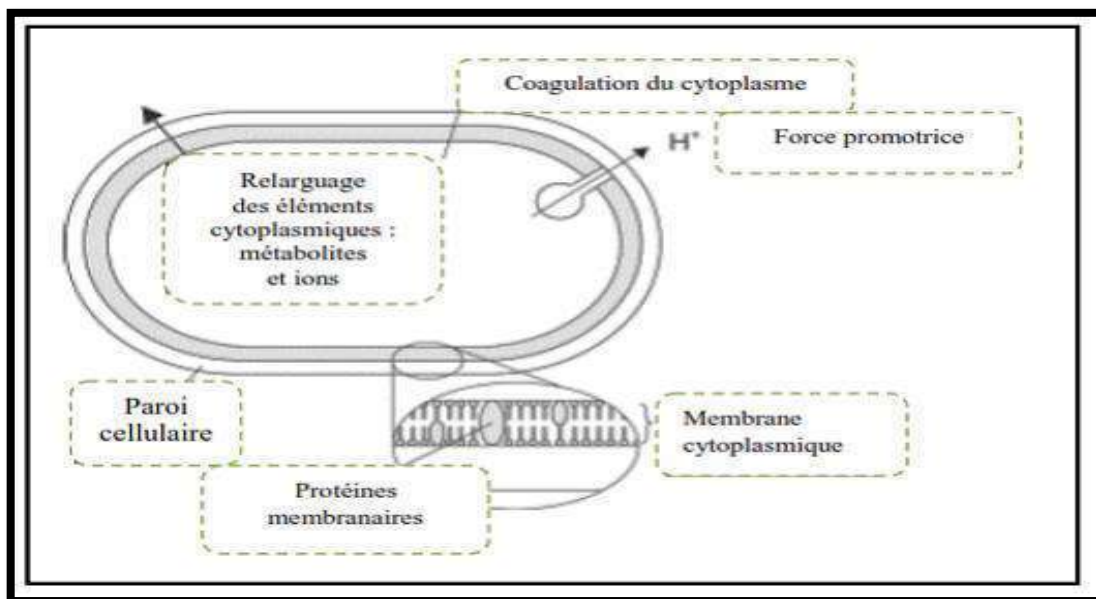


Figure .I.9: Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne[4].

I.10.2. 2. Activité antifongique :

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être utilisés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les micro-organismes envahissant les denrées alimentaires. [34].

L'action antifongique de ces composés est due à une augmentation de la perméabilité La membrane plasmique suivie de la rupture de cette dernière provoquant la fuite du contenu Le cytoplasme est donc la mort de levure[35].

En effet, les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures[36].

Chapitre II
la plante étudiée
(description et recherches antérieurs)

II.1.Description botanique

L'Artemisia Herba-Alba est une plante herbacée ligneuses et ramifiées, de 30 à 50 centimètres, très feuillée avec une souche épaisse. Les feuilles sont petites, blanches et laineuses. Les fleurs sont groupées en grappes, à capitules très petites et ovoïdes de 1,5 à 3 mm de diamètre[37].

présente sous forme d'une racine principale, ligneuse et épaisse, bien distincte des racines secondaires et qui s'enfonce dans le sol tel un pivot. La racine pénètre profondément jusqu'à 40 à 50 centimètres et ne se ramifie qu'à cette profondeur [38].

Noms scientifiques : *Artemisia herba-alb*

Nom Français : *Armoise blanche*

Nom Arabe : *Chih*

Nom Anglais : *Desert wormwood*



Figure. II.1: la plante dans son milieu naturel au début de la saison de fleuri.

II.2. Classification botanique:

L'Artemisia Herba alba est classée par Quezel et Santa selon le Tableau .II.1 [39].

Tableau .II.1: Classification botanique d'*Artemisia herba alba*.

Règne	Plantae
Embranchement	<i>Spermaphytes (Phanérogames)</i>
Sous- embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Sous classe	<i>Gamopétales</i>
Ordre	<i>Astérales</i>
Famille	<i>Composeae</i>
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>Artemisia herba alba</i>

II.3.Habitat:

L'Armoise est largement répandue depuis les îles Canaries et le sud-Est de l'Espagne Jusqu'aux steppes d'Asie centrale et à travers l'Afrique du Nord, l'Arabie et le Proche-Orient. En Afrique du nord, cette espèce couvre d'immenses territoires évalués à plus de dix millions d'hectares [40].

II.4. Ecologie de la plante:

L'armoise blanche existe dans les bioclimats allant du semi-aride jusqu'au saharien. Elle est indifférente aux altitudes et peut vivre dans les régions d'hiver, chaud à frais. Dans le sud, cette plante pousse sur les sols bruns steppiques de texture moyenne et en extrême sud sur les sols sableux. Elle résiste à la sécheresse, supporte le gypse et des niveaux de salinité modérément élevés [40].

II.5. Propriétés thérapeutiques:

L'Artemisia herba alba est très utilisé en médecine traditionnelle lors d'un désordre gastrique tel que la diarrhée et les douleurs abdominales. Elle est aussi utilisée en tant que remède de l'inflammation du tractus gastro-intestinal[41].

L'armoise est plus connue en Algérie, par son nom << Chih >>. c' est un remède très populaire auquel on a souvent recours pour faciliter la digestion, calmer les douleurs abdominales et certains malaises du foie et antidiabétique. Ses racines sont indiquées contre certains troubles nerveux [42].

II.6.Travaux antérieurs:

Plusieurs études ont porté sur la détermination de la composition chimique, des propriétés physiques et chimiques et des influences diverses.

II.7.Propriétés physico-chimiques d'HEs :

Les propriétés physico-chimiques sont déterminées selon un protocole précis et obéissent à des normes édictées par l'association française de normalisation (A.F.N.O.R).

Tableau .II.2: Caractéristiques physico-chimiques de l'HE d'*A.herba alba*

Spécification	Magraoui Sarra et Zahaf Djihad,2017		Goudjil ,2016	Norme AFNOR
	Djelfa	Tebessa	ouargla	
Densité	0.9310	0.9793	0.893	Norme NF T 75-111
Indice de réfraction	1.476	1.470	1.483	Norme NF T 75-112
pH	5	5	5.82	5-6.5
Indice d'acide	1.1222	1.1222	0.95	Norme NFT-60-2000

II.8.Composition chimique :

Nombreux travaux ont été fait pour déterminer la composition chimique de l'armoise blanche en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions

géographiques, climatiques, de séchage, de stockage et des méthodes d'études (extraction et détection) [43].

Les propriétés physico-chimiques de l'armoise blanche de plusieurs régions du monde ont éclairci que sa composition dépend des conditions géographiques et climatiques de l'endroit de la plante.

Tableau .II.3: Principaux composés de l'huile essentielle d'*A. Herba Alba* de divers pays.

Pays	Compositions Majoritaires	Référence
Maroc	<p>Camphor (31,9%) Chrysanthenone (25,8%) Camphene (5,5%)</p>	Paolini, Ouariachi et al. 2010 [44]
Espagne	<p>Camphor (15,0%) 1,8-cineole (13,3%) α-terpineol (6,3%)</p>	Feuerstein, Danin et al. 1988 [45]
Tunisie	<p>chrysanthenone (28,10%) camphre (26,67%) α-thujone (9,26%)</p>	Assia Zaim et al. 2012 [46]

Tableau .II.4: Composition chimique de l'HE d'*Artemisia Herba Alba* d'Algérie.

Régions	Compositions Majoritaires	Référence
Bou Saada	Camphor 30% α -thujone 26,7% chrysanthenone 21,2%	Dob et Benabdelkader 2006. [47]
BordjBou Arréridj	Chrysanthenone 54,5% camphor 15,9% 1,8-cineole 5,7%	Dob et Benabdelkader 2006. [47]
DJELFA	Davanone 62,20 % Carvacrol 4,88 % Camphor 3,48 %	TOUIL Souhila et BENREBIHA Fatima Zohra [48]
Ouargla	Davanone 42.8% Camphor 15.96% Thujone 9.63%	GOUDJIL Mohamed Bilal [4]

À travers les données indiquées dans les (tableaux II.3 et II.4), nous remarquons une nette différence entre les compositions chimiques d'une même plante, d'une région à une autre.

Cette différence est probablement liée aux conditions climatiques et géographiques d'une région à une autre. Le pourcentage de **camphre** et de **Davanone** est élevé dans toutes les régions. Le camphre varie entre 3.48% et 31.9% , tandis que Le davanone varie entre 42.8% et 62.20%.

II.9. Activités biologiques de l'HEs:

II.9.1. Effets antioxydants:

La concentration inhibitrice à 50% (IC₅₀) est définie comme étant la concentration de l'échantillon exigée pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution initiale du DPPH. Les IC₅₀ sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs faibles reflètent un effet anti-radicalaire important [49].

L'activité antioxydante de l'huile essentielle de l'armoise blanche d'origine tunisienne a été évaluée par méthodes DPPH [50] Les résultats ont montré que cette huile présente :

* Une capacité antioxydante remarquable pour réduire les radicaux DPPH (IC₅₀ = 8,552 µg/mL).

* Dans une autre étude, l'extrait méthanolique de l'*artemisia herba alba* ont été testées par méthodes essentielles DPPH Cette espèce a donné les résultats IC₅₀=20,64[51]

II.9.2. Effets Activité antibactérienne :

L'étude de l'activité antibactérienne de l'armoise blanche a fait l'objet de nombreuses recherches à raison de sa composition chimique différente de ses huiles essentielles.

L'activité antibactérienne de quatre types d'huiles essentielles extraites par hydrodistillation de la partie aérienne d'*Artemisia herba-alba* cultivée dans le Sud de la Tunisie a été.

évaluée sur des bactéries de gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* NCIMB 8166) et de gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 35218, *Salmonella typhimurium* NRLB 4420, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Enterococcus faecalis* ATCC29212). Les résultats obtenus ont montré que toutes les huiles examinées ont une importante activité antibactérienne vis-à-vis des souches testées. [50]

Par ailleurs, les résultats obtenus par Zouari et ses collaborateurs des les huiles essentielles de l'armoise blanche dont les composés majoritaire sont cis-Chrysantenyl acetate/ Sabinyl acetate testées sur 6 souches de bactéries: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Bacillus cereus* (ATCC, 11778), *Enterococcus faecalis* (ATCC, 29212) et *Salmonella typhimurium* (NRRLB) ont montré que cette huile a une activité variable contres toutes les souches testées avec des zones d'inhibitions comprises dans la gamme de 8 - 23 mm ; le plus sensible est

Bacillus cereus, cette dernière, huile n'a pas été totalement active sur *Pseudomonas aeruginosa*. [52]

Par ailleurs, Bencheqroun et ses collaborateurs ont rapportés que pour les bactéries, la concentration de 1/3000 v/v a été suffisante pour arrêter la croissance de *Bacillus subtilis* (Gram +) qui s'est montré le plus vulnérable à L'HE d'*Artemisia mesatlantica*, suivi du *Staphylococcus aureus* (Gram +) et d'*Escherichia coli* (Gram -) qui ont été inhibés à partir de la concentration minimale de 1/2000 v/v. Par contre, *Micrococcus luteus* (Gram +) a été inhibé à la concentration en huile essentielle de 1/1000 v/v.

La présence d'une teneur importante de monoterpènes oxygénés (*thujones*, *camphène*, *camphre* et 1,8-cinéole) dans l'huile essentielle d'*Artemisia mesatlantica* peut être responsable de son activité prononcée contre *Staphylococcus aureus* et sa haute activité contre *Bacillus subtilis* [53].

En effet, Il a été démontré que le *Staphylococcus aureus* est le plus affecté par les monoterpènes cétones comme les thujones [54,55].

À l'inverse, une armoise *A.campestris* qui est composée essentiellement de monoterpènes hydrocarbonés, a révélé une activité antimicrobienne faible contre les germes pathogènes comme *E. coli* et *S. aureus* [56].

Ce qui indique que la présence d'une fonction oxygène dans la structure augmente les propriétés bactériostatique et fongistatique des terpénoïdes.

Des études antécédentes ont démontré que la majorité des HE testées pour leur propriétés antibactériennes ont un effet plus sensible contre les Gram +. Par contre la résistance des Gram – est attribuée à leur membrane externe hydrophile qui peut bloquer la pénétration de composés hydrophobes dans la membrane cellulaire cible [57].

deuxième partie
partie expérimentale

Chapitre III

Matériel et Méthodes

III. Matériel et Méthodes :

III.1. But d'étude:

Notre travail a été réalisé dans le laboratoire de V.P.R.S à l'université de Kasdi Merbah Ouargla. L'objectif de notre travail est porté sur l'étude des propriétés physicochimiques et l'Activité biologique de huile essentielle .

Cette phase a pour but d'extraire l'HE d'*Artemisia Herba Alba*. On utilise la méthode extraction par hydro distillation.

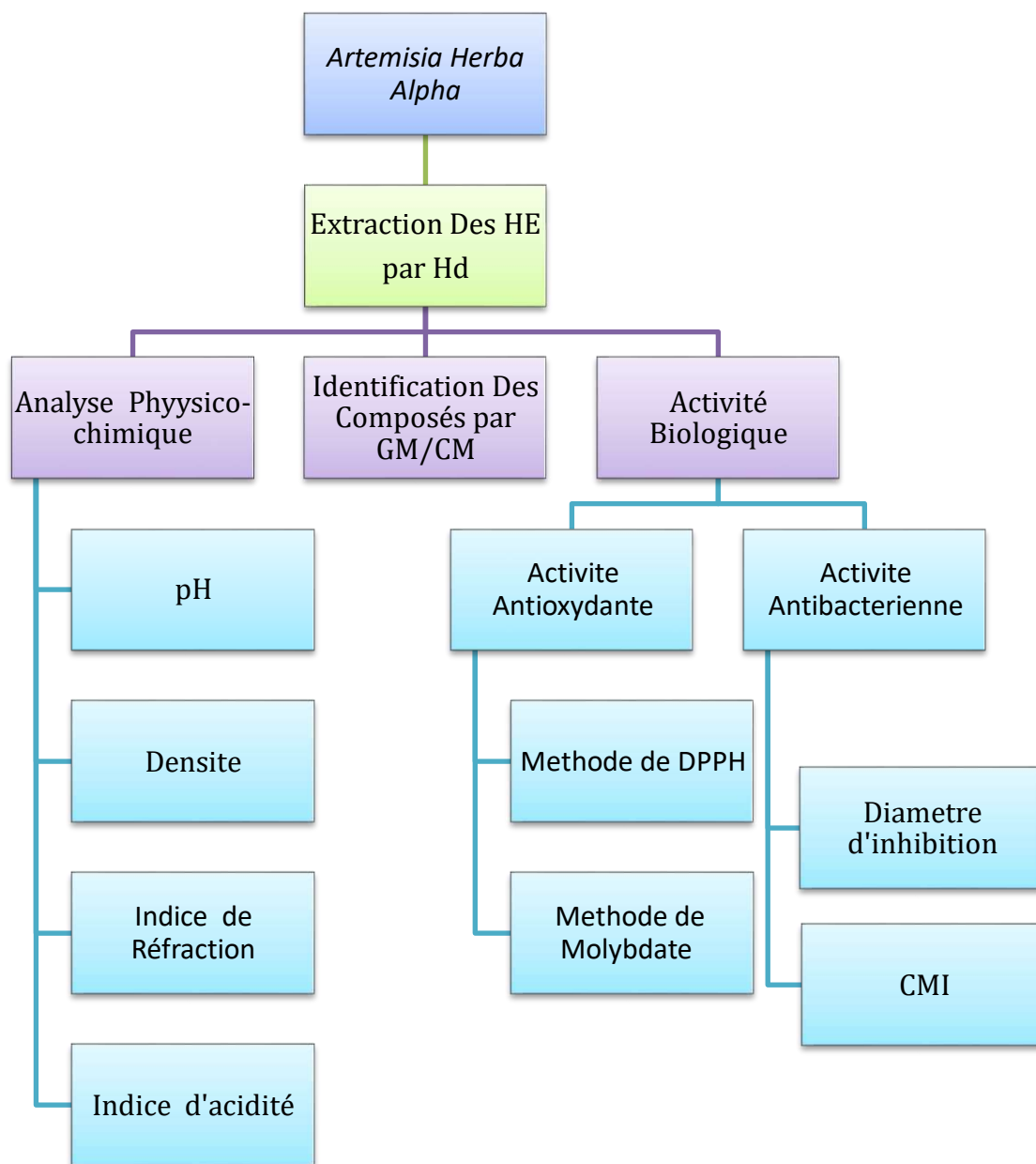


Figure .III.1: Le schéma général de la procédure expérimentale.

III.2.Matière végétale:

Les échantillons d'*Artémisia Herba Alba* (Figure .III.2) ont été récolté durant la période allant mois d' Avril 2019 de la région de Djanet .



Figure .III.2 : *Artémisa Herba Alba*.

III .3.Extraction des HE:

Les huiles essentielles de la végétal étudiée a été extraite par hydro distillation grâce à un appareil du type Clevenger (1928) (Figure .III.3). Cette méthode consiste à immerger directement le matériel plante à traiter dans l'eau distillée qui est portée à l'ébullition. Les principes constituants volatiles sont alors entrainés par la vapeur d'eau et après condensation du distillat, sont séparés par décantation.



Figure .III.3: Montage expérimental de l'hydrodistillation.

- **Mode opératoire:**

Cent grammes (100g) de la matière plante d'*Artémisa Herba Alba* est placée dans un ballon à vide de 1000 ml additionnées de 700ml d'eau . L'ensemble est porté à l'ébullition, après l'apparition de la première goutte de distillat à la sortie du condensateur de la vapeur ; l'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par un réfrigérant, qu'est fixé par un support vertical qui facilite l'écoulement du distillat. Le temps de cette extraction est d'environ trois heures. Le distillat est laissé au repos quelques minutes, ce qui résulte l'apparition de deux phases, l'une est organique (huile essentielle) chargée d'espèces volatiles contenues dans la plante et l'autre est aqueuse (ou l'hydrolat) ayant une densité plus élevée. Le volume de l'huile essentielle obtenue est récupéré dans une éprouvette. La masse d'HE est noté pour le calcul du rendement.

III.3.1. Conservation de l'huile:

La conservation de l'huile essentielle exige certaines précautions indispensables [58]. C'est pour cela nous avons déshydraté l'huile essentielle par le sulfate de sodium (Na_2SO_4) [59] et le conservée à une température voisine de 4°C, dans des tube bien fermées, recouvertes par papier aluminium pour la préserver de l'air et de la lumière.

III.3.2 Détermination de la composition chimique de l'HE du d'*Artémisa Herba Alba* par GC/MS

Cette étape a été réalisée au niveau de laboratoire de Recherche de Génie de Procédés université kasdi Merbah Ouargla , pour qualifier et quantifier la composition chimique de nos échantillon.

L'analyse chromatographique de l'HE a été effectuée avec un chromatographe en phase gazeuse type (Bruker SCION 436 GC) couplé à un spectromètre de masse. La fragmentation est effectuée par impact électronique à 70 eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire HP-5MS (15m x 0,25mm). L'épaisseur du film est de 0,25µm. La phase stationnaire de la colonne est constituée de : 5% Phényl et 95% diméthylpolysiloxane.

Les conditions opératoires sont :

- La température de l'injecteur (mode split 1:50) : 250°C
- La programmation de température : de 70 °C à 280 °C à raison de 10°C/min ;
- Le gaz vecteur utilisé est l'Hélium avec un débit de 1.5 ml/min.

Les températures de la source du quadripôle sont fixées, respectivement, à 250 °C et à 220 °C.

Les indices de rétention linéaires (RI) pour tous les composés ont été déterminés en utilisant n-alkanes comme standards. L'identification des différents constituants a été réalisée en comparant leurs spectres de masse à ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées disponibles (NIST et Wiley).

III.3.3. Evaluation de quelques indices physico - chimique de HEs

III .3.3.1. Rendement :

Selon la norme **AFNOR (1986)**, le rendement en huile essentielle (RHE), est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction (MHE) et la masse de la matière végétale utilisée (MS). Il est donné par la formule suivante[60] :

$$R_{HE} (\%) = (M_{HE}/M_S) * 100$$

R_{HE}: rendement de l'huile essentielle %

M_{HE}: masse de l'huile essentielle obtenue en gramme

Ms: masse en gramme de la matière végétale sèche

III .3.3.2. Détermination de l'indice d'acide:

L'indice d'acide IA est le nombre de milligrammes (mg) de potasse nécessaire pour neutraliser les acides libres dans 1,00 gramme (g) d'huile essentielle selon la réaction[61] :



- **Mode opératoire:**

On introduit 0.1g de l'H E dans un bécher. On ajoute 5 ml d'éther de pétrole neutralisé et 3 gouttes au maximum d'indicateur, soit la solution de Phénolphtaléine. Titrer le liquide avec la solution de KOH (C (KOH) = 0.1 mol/l), contenue dans la burette quelques secondes. Après le virage de la couleur vers le rose, on arrête le titrage. Noter le volume de solution de KOH utilisé.

L'indice d'acide est exprimé par la formule :

$$IA = (56, 11 \times N \times V) / m$$

N : normalité de KOH.

V : Volume en ml de la solution éthanoïque de KOH utilisée pour le titrage.

m : Masse en grammes de l'huile essentielle

III.3.3.3. Mesure de densité relative à 20°C :

La densité varie d'une huile à l'autre, ce qui est inférieur à la densité de l'eau, de sorte que l'huile flotte au-dessus de l'eau

La densité relative de l'HE est définie comme étant le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C et la masse égale de volume d'eau distillée à 20°C. Cette grandeur est sans dimension et son symbole est d^{20} [60] . La densité est mesurée à l'aide d'un densimètre et quand la détermination est effectuée à une température différente de 20°C, on effectue la correction à 20°C.

- **Mode opératoire:**

La densité est mesurée à l'aide d'un densimètre électronique, de type DMA . et quand la détermination est effectuée à une température différente de 20°C, on effectue la correction à 20°C par le biais de la formule:

Où :

$$d^{20} = dt' + 0,00068 (t' - t)$$

d^{20} : est l'indice de réfraction de référence.

dt' : est l'indice de réfraction mesurée.

t: : température de référence qui est à 20°C.

t' : température au moment de la mesure



Figure .III.4: Densimètre électronique, de type DMA.

III.3.3.4. Indice de réfraction:

L'indice de réfraction (changement de direction de la lumière au passage d'un milieu à un autre) d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air à l'huile essentielle maintenue à une température constante.[62].

- **Mode opératoire:**

On ouvre le prisme secondaire puis on dépose 2 ou 3 gouttes de l'échantillon liquide sur la partie centrale du prisme principal. Ensuite on ferme doucement le prisme secondaire. L'échantillon s'étale entre le prisme principal et le prisme secondaire en un film mince. On laisse attendre que la température soit stable pour effectuer la mesure. La valeur de mesure pour un échantillon liquide étant modifiée suivant le changement de température, lire l'indicateur de température pour connaître le degré de mesure réelle, et le joindre sans faute à la valeur mesurée.

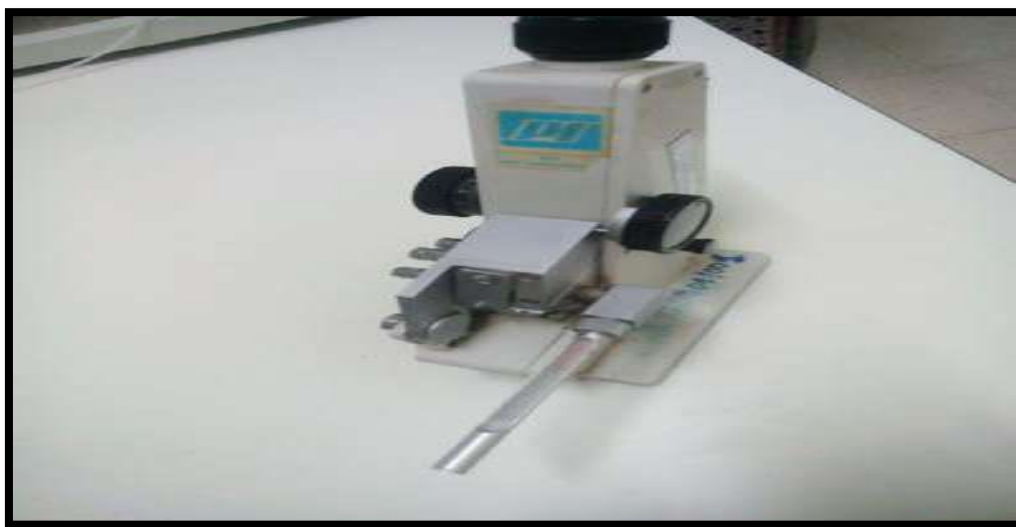


Figure .III.5: Réfractomètre

III.3.3.5. Mesure de pH:

PH :l'abréviation de potentiel d'hydrogène mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (H+) en solution

- Mesuré par un appareil pH-mètre
- de papier Ph .

On a mis quelques gouttes d'H E sur un bout de papier pH, après le changement de la couleur du papier on la compare avec une gamme de couleurs qui varient selon le pH



Figure .III.6: pH mètre



Figure .III.7: papier pH

III.3.4. Evaluation de l'Activité biologique :

III .3.4.1. Evaluation de l'Activité antioxydants :

III.3.4.1.1.Méthode de piégeage du radical libre DPPH:

Le DPPH, connu officiellement comme le 2,2-diphényl 1- picrylhydrazyl. Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique à 517nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété anti radicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons [63].

- **Mode opératoire**

- **Préparation de solutions standards:**

Préparer une solution standard d'acide ascorbique à une concentration de (1 mM), puis on prépare une série standard avec des concentrations(0.01-0.1mM), puis on ajoute 150ul de chaque solution standard à 3ml de la solution DPPH préparée à 0,1mM dans l'éthanol. Après 30 min d'incubation à l'obscurité, on procède à la lecture de l'absorbance à 517 nm; le mélange de 3 ml de la solution de DPPH et de 150ul d'éthanol est pris comme témoin.

Il en va de même pour les solutions standard de solution de BHT (0.35g/l) , une série standard est préparée avec des concentrations (0,035-0,35 g/l), de même une solution BHA de concentration (0.1 g/l) est préparée avec une série standard de différentes concentrations (0.01-

0.1 g/l). on traité par même méthode de la même manière que la série standard de la solution standard d'acide ascorbique [64].

- **Préparation des échantillons:**

Préparer une solution mère pour chaque extrait à une concentration spécifique puis des concentrations étendues et traité de la même manière par la même méthode que la série standard de la solution standard d'acide ascorbique

Le taux limité du DPPH par ces molécules est calculé en pourcentage suivant la formule suivante:

$$I \% = (A_0 - A_e / A_0) \times 100$$

A₀ : Absorbance du témoin.

A_e : Absorbance de l'échantillon.

A titre d'indication, l'acide ascorbique comme standard connu pour son effet anti-radicalaire a été testé en parallèle. Quant aux concentrations inhibitrices (IC50), elles sont calculées à partir des courbes de régression linéaire [64].

III .3.4.1. 2. Méthode de Molybdate Phosphate:

Le test du pouvoir réducteur du Molybdate Phosphate est un essai direct qu'on emploie principalement pour mesurer la puissance des antioxydants non enzymatiques. Il repose sur la réduction des molybdates en molybdène en présence des extraits en donnant une coloration verte détectable par la UV à une longueur d'onde de 695nm [64].

• **Mode opératoire:**

- **Préparation de la solution standard:**

On prépare 100 ml d'un mélange des trois solutions suivantes :

- 0.6M d'acide sulfurique
- 28 mM de phosphate du sodium
- 4 mM de molybdate d'ammonium

On prend 0.3 ml des solutions préparées de l'acide ascorbique de concentrations allant jusqu'à 0.001mM, préparer une série standard avec des concentrations (0.0001-0.001mM), on introduit ce volume dans un tube à essai, ensuite on ajoute 3ml de la solution préparée précédemment. Le mélange est placé dans un bain marie à une température de 95°C pendant

90 min. Après refroidissement jusqu'à température ambiante, on mesure l'absorbance à une longueur d'onde égale à 695nm.[64].

- **Préparation de témoin de référence:**

Préparer la souche de référence BHA et BHT à (0.1g/l) puis ajusté à chacune des séries standard avec des concentrations (0.01-0.1g/l),on traité de la même manière avec la même méthode que la série standard de la solution standard d'acide ascorbique.

- **Préparation des échantillons:**

Préparer une solution mère pour chaque extrait à une concentration spécifique puis des concentrations étendues qu'on traite de la même méthode manière que la série standard de la solution standard d'acide ascorbique.

- **Détermination de la capacité anti-oxydante totale:**

La capacité anti-oxydation totale a été déterminée en calculant la quantité de TAC à partir de la relation suivante:

$$TAC = \frac{K}{K'}$$

TAC: Capacité Antioxydant totale.

K: la pente de la courbe de l'huile.

K': la pente de la courbe standard de l'acide ascorbique.[64]

III .3.4.2.Activité antibactérienne:

L'activité antibactérienne est évalué par quatre souches bactériennes pathogènes provoquant certaines maladies infectieuses grave. Elles proviennent de laboratoire de Etablissement Hospitalier Spécialisé Mère Enfant de Touggourt.

Ces souches sont : *Staphylocoque auseus* , *Salmonella Typhi*, *Escherichia Coli*, *Streptocoque*.

III .3.4.2. 1. Méthode de diffusion sur gélose (Méthode de Vincent) :

Cette méthode est appelé aussi la méthode de l'aromatogramme ou technique de l'antibioaromatogramme. Son principe est base sur l'utilisation des disques buvard (wattman n°3) de 6 mm de diamètre imprégné par une concentration de l'huile essentiel à tester.

La méthode de l'aromatogramme est la technique choisie dans notre étude pour sa faillibilité et sa simplicité.

Cette méthode nous permet de mettre en évidence l'effet antimicrobien de l'huile essentielle sur la souche étudiée. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante[65].

Les souches bactériennes sont préparées dans des milieux de culture appropriés et adaptées à la norme (0.5 Mac Ferland), 0.1ml d'inoculum sont immédiatement ensemencés sur la gélose (Muller Hilton) préalablement coulé dans des boîtes pétri, à l'aide d'un étaleur stérile.[66].

Ensuite, des disques stérile de 6 mm de papier wattman imprégné de l'huile essentiel *d'artemisia herba alba* à l'état pur sont déposés au centre des boîtes pétri sur la surface du milieu ensemencés à l'aide d'une pince stérile dans des conditions aseptiques.[67].

Ces derniers sont maintenues pendant 20 min à température ambiante pour une bonne diffusion de l'huile essentielle, puis incubée à 37°C pendant 24h.

Après incubation l'activité antibactérienne est mise en évidence par la mesure d'une zone d'inhibition autour du disque, celle-ci est appelée diamètre de la zone d'inhibition, elle est mesurée à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle. Ces diamètres sont comparés par des diagrammes d'antibiotiques de référence. (Tableau .III.1)

Tableau .III.1: Transcription des diamètres de la zone d'inhibition

Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Transcription	Sensibilité
>8	-	Résistant
9-14	+	Sensible
15-19	++	Très Sensible
<20	+++	Extrêmement Sensible

III.3.4.2.2. Détermination de la Concentration Minimal Inhibitrice (CMI) :

La concentration minimal inhibitrice est la concentration la plus faible des huiles essentielles qui empêchent les bactéries de se développer. Elle est réalisée selon la méthode rapportée par Goudjil [2].

Afin de déterminer la CMI, on prépare une gamme de dilutions à partir de 500 µl d'huile essentielle diluée dans 500 µl de DMSO. Depuis ce tube, on prend 500 µl et les met dans un deuxième tube qui contient aussi 500 µl DMSO, bien agiter, puis on prépare une série de dilutions réalisée extemporanément en DMSO, à partir de la solution-mère. La gamme de concentrations finales ainsi obtenue correspond à : 1/2 – 1/4 – 1/8 – 1/16 – 1/32 – 1/64 -1/128 – 1/256 .

Des disques de papier buvard stériles de 6 mm de diamètre sont imprégnés de différentes solutions d'HE dissouts dans une solution de (DMSO), à l'aide d'une pince stérile ces disques sont déposés directement à la surface de la gélose (Muller Hilton)ensemencé par une suspension microbienne d'une densité optique de 0.5 Mc Farland (10^8 UFC/ml).

Après une heure de diffusion de l'HE, les boites sont incubées pendant 24h à 37° C.

Après l'incubation, l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible [68].

On prend des disques imprégnés de DMSO comme témoin.

Chapitre IV

Résultats et Discussions

IV. Résultats et discussions:

Dans ce chapitre, l'extraction des huiles essentielles d'*A. Herba alba*, propriétés organoleptiques, ainsi que leurs activités antioxydantes et antimicrobiennes et analyse Physico Chimique ont fait l'objet de discussion.

IV.1. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles :



Figure. IV.1 : L'HE d'*A. herba alba* extraite par l'HD.

Les informations sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau . IV.1: Caractéristiques organoleptiques de l'HE d'*A. herba alba*.

<i>Artemisia Herba Alba</i>	
Aspect	liquide limpide
Couleur	Jaune foncé
Odeur	Forte
Goût	Amer

IV.2. Les analyses physico-chimiques :

IV.2.1. Rendement d'extraction :

○ Résultats :

Les informations sont résumées dans le tableau suivant:

H E	Rendement %
<i>Artemisia herba alba.</i>	1.23

○ Discussion :

Le rendement en huile essentielle d'*artemisia herba alba* atteint un maximum de 1.23%. Le rendement de l'huile essentielle est nettement plus grand que ce lui trouvée par Goudjil en 2016 (0.54 %) [4].

Il faut noter que le rendement et la composition chimique des HEs dépendent de plusieurs facteurs à savoir l'espèce, Facteurs naturels tels que le climat, la qualité du sol, ..etc. le milieu de récolte, la période de récolte, les pratiques culturelles .

IV.2. 2.propriété physico-chimiques de l'H E :

• Résultat :

Tableau . IV.2: Propriété physico-chimique des huiles essentielles.

L'indice d'acide	1.68
pH	5.52
densité relative d^{20}	0.912
l'indice de réfraction nd_t	1.4799

○ Discussion :

Le pH obtenu indique que notre huile extraite est acide.

La densité relative à 20 ° C de notre huile essentielle est de 0.912. Cette propriété physique est utilisée dans la classification des huiles essentielles, ces données sont insuffisantes pour la classification des huiles. Ce paramètre est lié à la composition chimique de cette huile qui est affectée par un grand nombre de facteurs tels que le phénotype, le moment de récolte, le type de terrain, la conservation, le procédé et les conditions d'extraction [69].

L'indice de réfraction mesuré est de: 1.4799. Cet indice dépend de la composition chimique qui augmente en fonction des longueurs des chaînes d'acides, de leurs degrés d'insaturation et de la température, il varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé [4].

Un faible indice de réfraction de l'HE indique sa faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques. Les résultats indiquent que les paramètres physico-chimiques des échantillons analysés se retrouvent dans les fourchettes des références établies par les normes.

Un indice d'acide inférieur à 2 est une preuve de bonne conservation de l'essence (faible quantité d'acides libres) pour caractériser les huiles essentielles .

La détermination des propriétés physico-chimiques est une étape nécessaire mais demeure non suffisante pour caractériser l'HE. Il sera donc primordial de la compléter par des analyses chromatographique (CG et CG/SM) .

IV.2.3. Analyses chromatographiques :

La caractérisation des huiles essentielles a été réalisée par GC/SM.

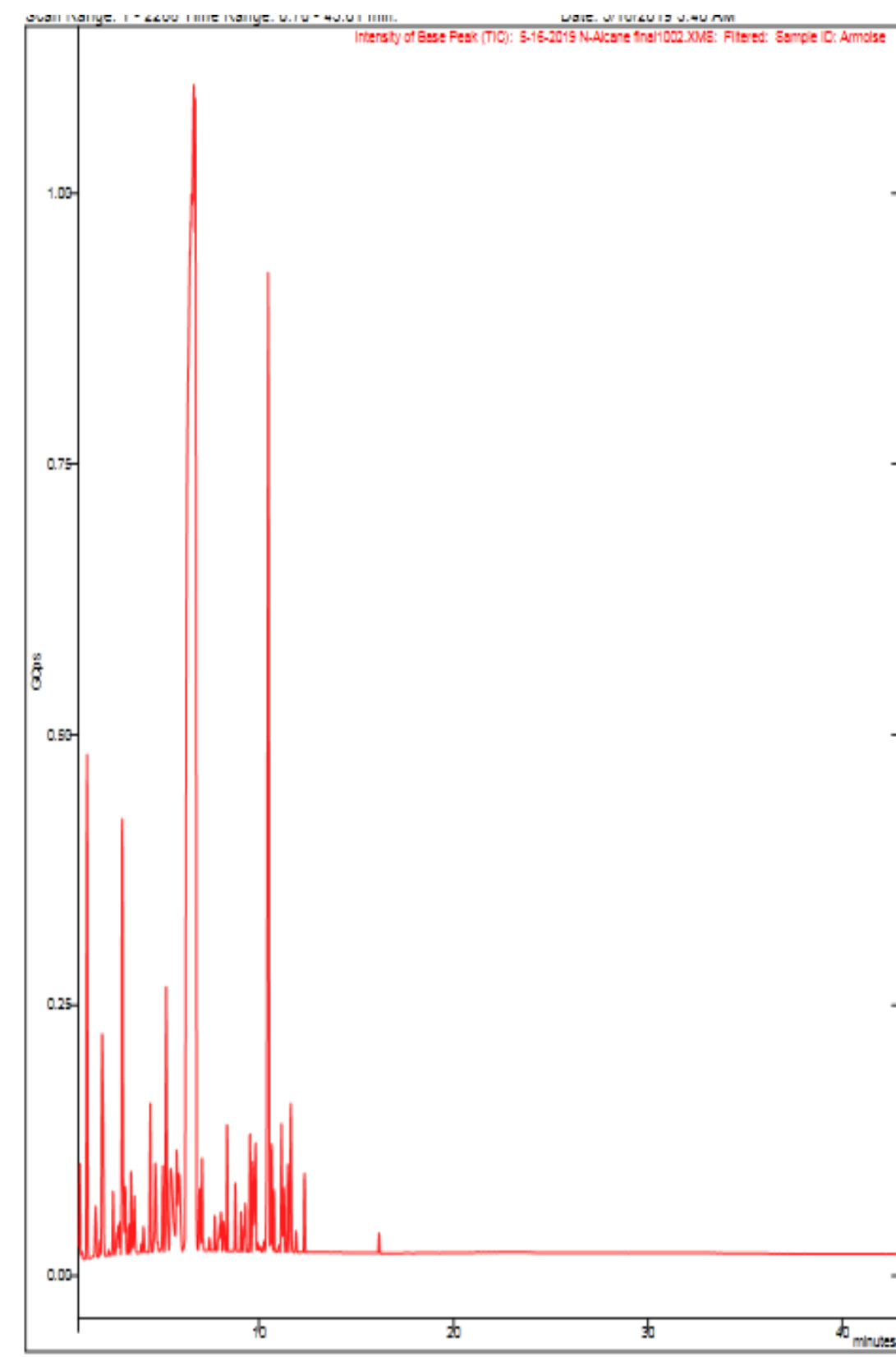


Figure. IV.2: Profil chromatographique de l'huile essentielle partie aérienne d'*Artemisia herba alba*

Tableau . IV.3: Composition chimique de l'Huile essentielle d'*Artemisia Herba Alba* .

	Les composants	TR	Aera %
1	Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	0.769	0,18
2	Butanoic acid, 3-methyl-, ethyl ester	1.146	2,67
3	1-Nonene	1.407	0,17
4	5-Ethyl-2-methyl-2-vinyltetrahydrofuran	1.568	0,23
5	2-Methyl-2,5-divinyltetrahydrofuran	1.607	0,23
6	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 3,6,6-trimethy	1.813	0,15
7	Cyclododecyl isothiocyanate	1.957	2,28
8	Lilac aldehyde B	2.335	1,51
9	(1R,3S,4S)-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent	2.482	0,36
10	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-m	2.684	0,25
11	2-Oxabicyclo[2.2.1]heptane, 1,3,3,7-tetr	2.754	0,38
12	(+)-4-Carene	2.836	0,3
13	o-Cymene	2.955	1,87
14	Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethen	3.015	0,48
15	2(3H)-Furanone, 5-ethenyldihydro-5-met	3.112	0,55
16	cis-Arbusculone	3.299	1,06
17	.gamma.-Terpinene	3.413	0,42
18	2-Furanmethanol, 5-ethenyltetrahydro-.al	3.489	0,22
19	Bicyclo[3.1.0]hexane, 6-isopropylidene-1	3.799	0,13
20	Cyclopentanol, 1,2-dimethyl-3-(1-methyle	3.942	0,32
21	Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethen	4.062	0,45
22	2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methyl	4.399	2,49
23	4,4-Dimethyl-non-5-enal	4.589	0,2
24	Cyclobutaneethanol, 1-methyl-2-(1-meth	4.781	0,13
25	trans-Chrysanthenol	4.96	0,28
26	1H-2,8a-Methanocyclopenta[a]cycloprop	5.043	0,69
27	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methyl	5.22	2,34
28	Terpineol	5.445	1,5
29	Camphor	6.422	47,26
30	2-Cyclohexen-1-one, 2-hydroxy-3-methyl	6.974	0,81
31	2-Oxabicyclo[2.2.2]octan-6-one, 1,3,3-tr	7.062	0,59
32	Lilac alcohol formate B	7.304	0,15
33	5-Ethylcyclopent-1-enecarboxaldehyde	7.444	0,22
34	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetat	7.721	0,25
35	Geranyl acetate	7.972	0,42
36	2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl-2-(2-pent	8.165	0,63
37	Ethanone, 1-(1,3-dimethyl-3-cyclohexen-	8.356	0,35
38	Undec-10-ynoic acid, tridec-2-yn-1-yl es	8.441	0,19
39	Davanone	8.968	7,92
40	2-Propenoic acid, 3-phenyl-, ethyl ester	9.065	0,36
41	(1R,2S,6S,7S,8S)-8-Isopropyl-1-methyl-3	9.217	0,47
42	Davana ether	9.288	2,05
43	(1S,2E,6E,10R)-3,7,11,11-Tetramethylbi	9.396	0,34

44	Artedouglasia oxide C	9.674	1,67
45	(2S,2'S,5S,5'S)-2,5'-Dimethyl-5-(prop-1-	9.929	0,17
46	2-(4a,8-Dimethyl-6-oxo-1,2,3,4,4a,5,6,8a	9.997	0,18
47	1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethy	10.258	0,5
48	Salvial-4(14)-en-1-one	10.562	0,19
49	Curcumenone	10.651	1,46
50	Caryophyllene oxide	10.712	0,18
51	Cyclobutanecarboxylic acid, tridec-2-yny	10.762	0,3
52	trans-Z-.alpha.-Bisabolene epoxide	10.838	0,34
53	R-Limonene	10.986	0,28
54	(-)-Spathulenol	11.039	0,36
55	Cyclopentaneacetic acid, 3-oxo-2-(2-pent	11.152	1,78
56	2-Naphthalenemethanol, decahydro-.alp	11.283	0,92
57	1,4-Methanophthalazine, 1,4,4a,5,6,7,8,8	11.477	0,87
58	(2R,2'S,5S,5'S)-2,5'-Dimethyl-5-(prop-1-	11.634	1,54
59	Butanoic acid, tridec-2-ynyl ester	11.708	0,12
60	(S,E)-6-Hydroxy-6-methyl-2-((2S,5R)-5-	11.878	0,54
61	Lilac alcohol A	12.336	0,88
62	trans-13-Octadecenoic acid	16.173	0,43
totale			96,56

TR : Temps de rétention

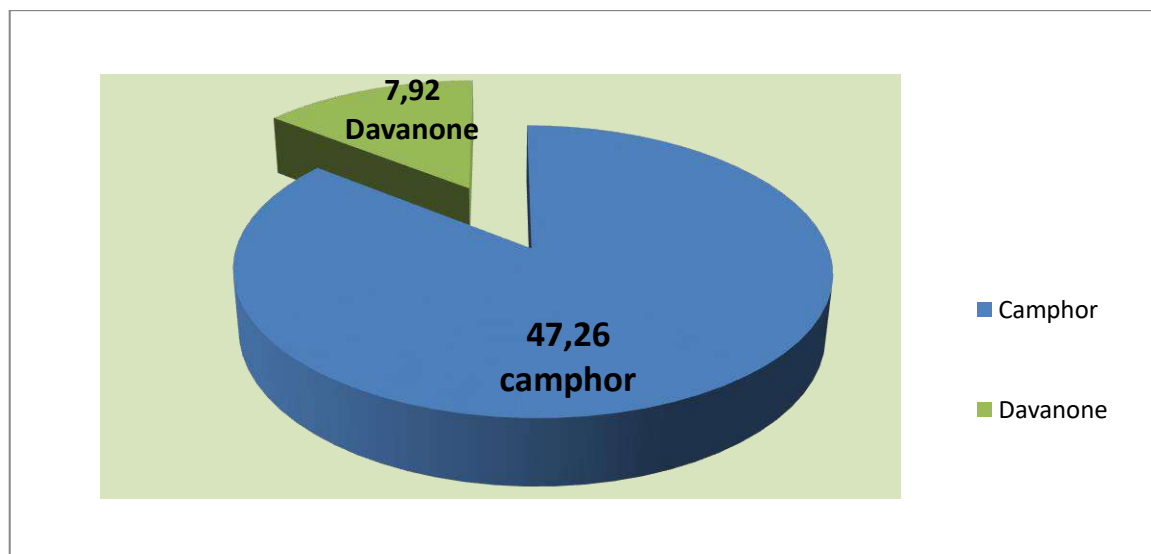


Figure. IV.3: Distribution en fonction du pourcentage des composants majoritaire de l'huile essentielle d'*Artemisia Herba alba*

L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* de Sud d'Algérie de la région de Djanet est composée principalement par Camphor (47,26%) et Davanone (7,92%), qui présentent 55,18 % de la composition totale de notre huile (Figure. IV.3). Il faut noter que la composition chimique des HE dépend de plusieurs facteurs à savoir l'espèce, le milieu de récolte, la

période de récolte, l'environnement, la température et la durée de séchage et la technique d'extraction.

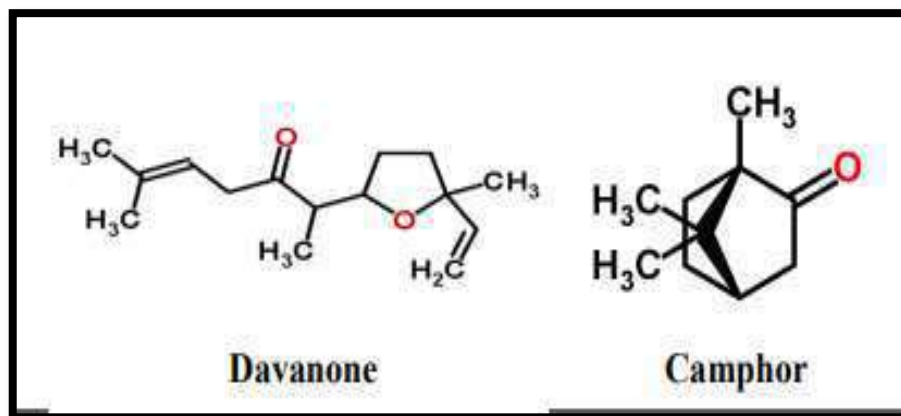


Figure. IV.4: Composants majoritaire de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*

IV.3. Activités biologiques :

IV.3.1. Activité antioxydante :

L'activité antioxydante en laboratoire est évaluée par plusieurs techniques. Ces méthodes sont exclusivement utilisées pour réduire ou pour bloquer les radicaux qui sont un indicateur de son potentiel.

IV.3.1.1. Effet scavenger du radical DPPH :

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH) est un radical stable, violet en solution et présentant un maximum d'absorption caractéristique à 517 nm. Le protocole appliqué en routine repose sur la disparition de ce maximum lorsque le DPPH est réduit par un composé à propriété anti radicalaire, entraînant ainsi la décoloration vers la couleur jaune (Figure. IV.5).

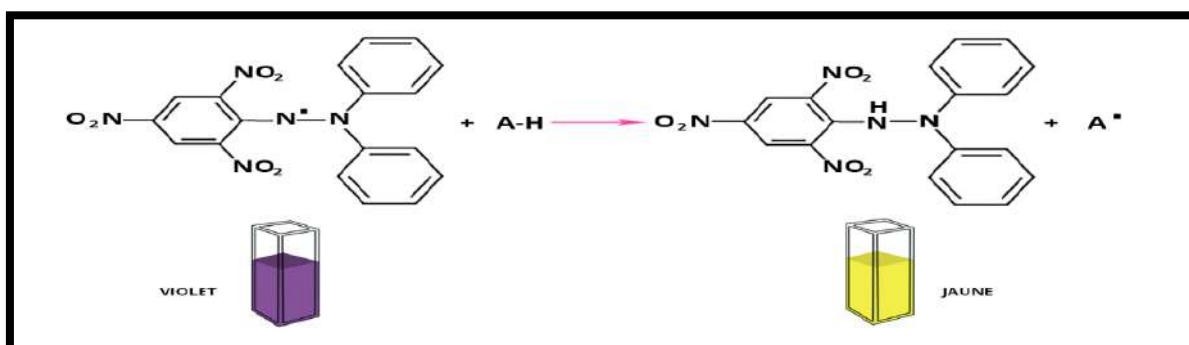


Figure. IV.5: Mécanisme réactionnel du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH) [70]

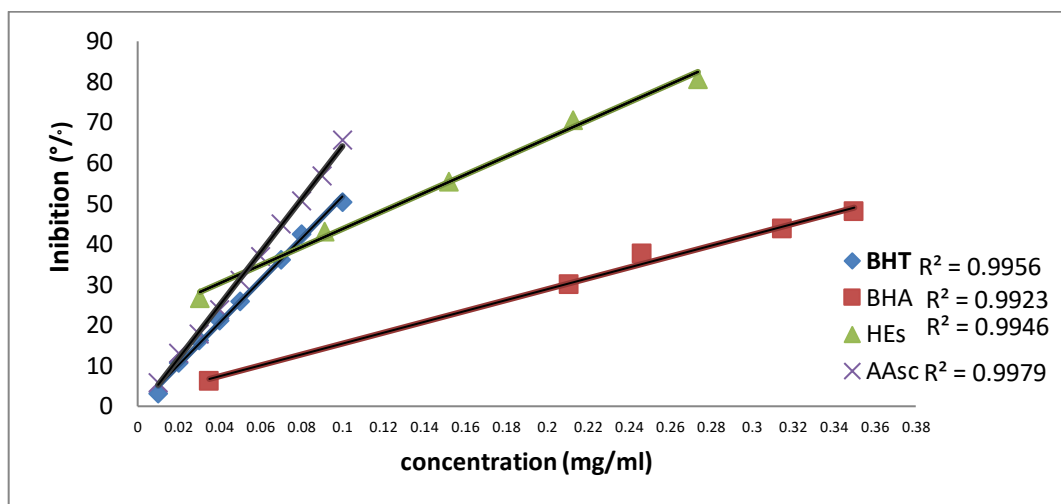


Figure. IV.6: Courbes graphiques montrant les taux d'inhibition de la racine DPPH à différentes concentrations des huiles essentielles et de l'acide ascorbique et BHA et BHT

Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes. A partir de ces courbes nous pouvons déterminer les pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées ainsi que la valeur IC₅₀.

Tableau . IV.4 : Valeurs IC₅₀ des huiles essentielles et de l'acide ascorbique et BHA et BHT.

Echantillon	IC ₅₀ (mg/ml)
HES	0.12
BHA	0.094
BHT	0.356
AAsc	0.080

Discussion :

On sait que plus les valeurs de la IC₅₀ sont faibles plus l'efficacité est grande, elle se classe donc dans l'ordre décroissant suivant: **AAsc > BHA > HES > BHT**

D'après les résultats, l'activité antiradicalaire augmente quand on augmente les concentrations. Il semble que la vitamine C (l'acide ascorbique) est l'antioxydant le plus efficace que les huiles essentielles étudiées avec une valeur de 0.080 (mg/ml) suivie par BHA

avec une valeur 0.094 (mg/ml) et l'huile essentielle *d'Artemisia herba alba* avec une valeur 0.12 (mg/ml) finalement BHT qui semble être la moins performante avec une IC50 de 0.356(mg/ml).

IV.3.1.2. Test de Molybdate Phosphate (PM)

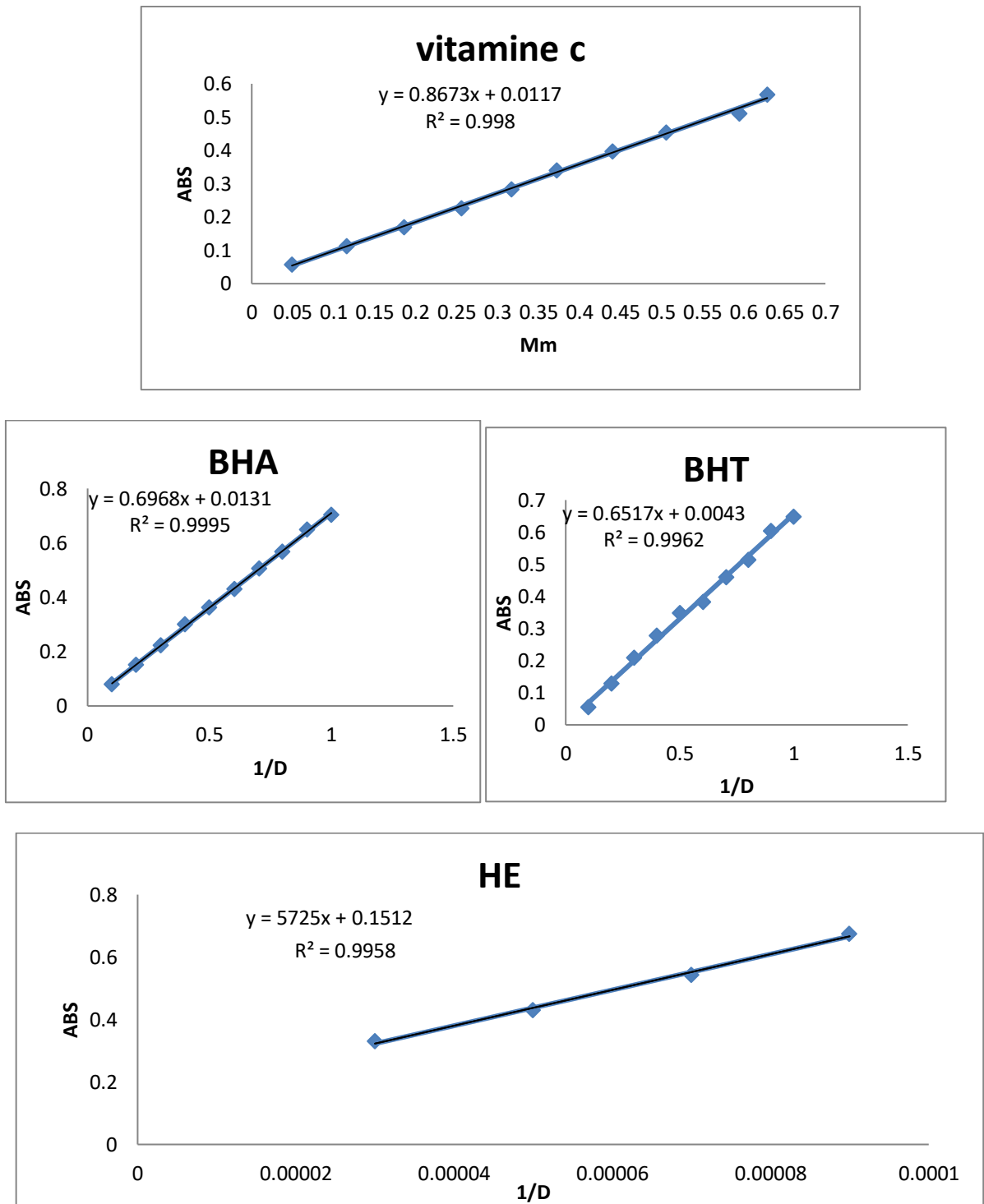


Figure. IV. 7: Courbes représentant le pouvoir réducteur de Molybdate d' *artimisia herba alba* et BHA et BHT et l'Acide Ascorbique.

Tableau . IV.5: Valeurs TAC des huiles essentielles et de l'acide ascorbique et BHA et BHT.

Echantillon	TAC(mM)
HE	4240.54
BHT	0.750
BHA	0.802

On sait que plus la valeur de la TAC est élevée plus elle est efficace; elle se classe donc dans l'ordre décroissant suivant :

$$\text{HE} > \text{BHA} > \text{BHT}$$

Dans cette étude, l'acide ascorbique a été adopté comme étalon de référence, le BHA et le BHT comme marqueurs de référence. Le tableau montre que l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a une capacité anti-oxydante totale (Capacité anti-oxydation TAC).

IV.3.2. Etude de l'activité antibactérienne:

IV.3.2.1 .Test de l'aromatogramme (méthode de Vincent):

Le test de l'aromatogramme consiste à déterminer la sensibilité des extraits de l'huile essentiels vis-à-vis des souches bactériennes.

Cette sensibilité est exprimée par l'apparition d'une zone inhibitrice autour du disque de papier imprégné d'extraits de l'huile brute étudiée. Le diamètre de la zone inhibitrice diffère d'une bactérie à une autre.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile *Artemisia Herba Alba* a été réalisée sur quatre bactéries pathogènes; les résultats obtenus sont regroupés dans le Tableau . IV.6.

Tableau . IV.6. L'effet antibactérienne d'*Artemisia herba alba* .

Bactérie	Gram	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<i>Staphylocoque aureus</i>	+	8.33 ± 0.47
<i>Salamonella Typhi</i>	-	10 ± 0.26
<i>E.Coli</i>	-	12 ± 0.36
<i>Streptocoque</i>	+	13.33 ± 0.62

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD de trois essais (n=3).

Les résultats présentés dans le **tableau n°11** montrent que l'effet antibactérien de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* sur les souches bactériennes testées présente une sensibilité à la plupart des bactéries employés.

Les diamètres des zones d'inhibitions enregistrés varient entre 8.33 ± 0.47 et 13.33 ± 0.62 mm.

Le diamètre le plus faible (8.33 ± 0.47 mm) est obtenu avec la bactérie *Staphylocoque ausus* par contre le diamètre le plus élevé (13.33 ± 0.62 mm) est obtenu avec la bactérie Streptocoque.

Les résultats obtenus sont en général en accord avec ceux rapportés par la littérature. On peut constater d'après le classement de **Ponce et al., (2003)**[71], que notre l'huile possède un effet inhibiteur donc sensible vis à vis des quatre bactéries testes.

Les résultats obtenus avec la bactérie *E.coli* sont en accord avec ceux rapportés par **Goudjil,2016**[4], : *E.coli* ($12,2 \pm 0.52$ mm) et **M^{elle} Magraoui, M^{elle} Zahaf,2018**[72], : *E.coli* (12 mm) pour les deux régions de Djelfa et Tébessa.

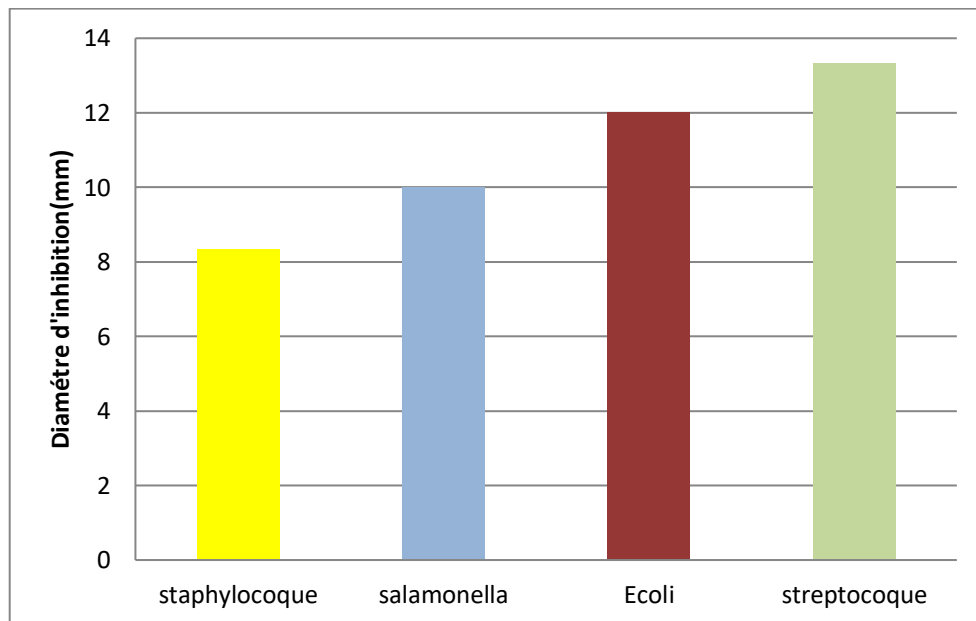


Figure. IV. 8: Effet antibactérien de l'HE d'*Artemisia Herba Alba* sur les bactéries

IV.3.2.2. Détermination de la CMI:

Les résultats de CMI obtenu par l'activité antibactérienne de notre l'huile essentielle d'*artemisia herba alba* sont représentés dans le Tableau . IV.7.

Tableau . IV.7: l'activité antibactérienne d'*artemisia herba alba* sur les bactéries.

Dilution v/v Bactéries	1/2	1/4	1/8	1/16	1/24	1/32	1/128	1/258	Témoin
Staphylocoque auseus	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Salamonella Typhi	-	-	-	-	+	+	+	+	+
E.Coli	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Streptocoque	-	-	-	-	-	+	+	+	+

(-): inhibition, (+): croissance.

Le seuil de la CMI est compris entre 1/4 v/v et 1/24 v/v .

La concentration de 1/4 v/v a été suffisante pour arrêter la croissance de la bactérie Staphylocoque auseus (Gram +) qui s'est montre la plus résistante à l'effet de notre HE, suivi des bacteries Salamonella (Gram -) et E.Coli (Gram -) qui ont été inhibés à partir de la concentration 1/16 v/v. par contre la dernière bactérie Streptocoque est inhibé à la concentration 1/24 v/v qui s'est montre la plus vulnérable.

En conséquent, les germes pathogènes utilises dans ce test ont montrés une sensibilité à l'huile essentiel d'*artemisia herba alba*.

Les différentes valeurs de CMI obtenues nous permettent de constater que l'activité antibactérienne est fonction de la bactérie, ce qui confirme que le type de microorganismes est un paramètre important déterminant l'activité antibactérienne **Bouguerra, 2012**)[73],.

Les composants majeurs comme le camphor et le davanone peuvent être responsable de l'évolution de l'activité antimicrobienne.

Conclusion

Conclusion

L'armoise blanche « *Artemisia herba alba* » est une plante médicinale et aromatique, utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle algérienne. Malgré son potentiel et son pouvoir biologique, elle n'est peut exploiter qu'à une échelle assez réduite.

Ce travail est consacré à la détermination du rendement de l'HE extraite par hydrodistillation, de l'activité physicochimique et de la composition chimique de cette huile.

Aussi, l'étude est portée sur l'effet du pouvoir biologique notamment sur l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*.

L'extraction de l'huile essentielle par l'hydrodistillation a montré un rendement de 1.23%. Des propriétés organoleptiques caractéristiques (odeur, couleur et goût). On observe la couleur de l'*Artemisia herba alba*. est Jaune foncé

La détermination des caractéristiques physiques des H Es (Indice de réfraction, densité relative et détermination de pH) révèle qu'elles sont conformes aux normes établies par les différentes pharmacopées et proches de certains travaux antérieurs. .

pour la plante *Artemisia herba alba*. Les résultats obtenus des analyses antioxydantes indiquent une activité anti-radicalaire. D'autre part, l'étude du pouvoir antibactérien réalisée par la méthode d'aromatogramme de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a montré une sensibilité (vis-à-vis) des souches bactériennes testées sur *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia Coli*, *Streptococcus*. le diamètre de la zone inhibitrice varie entre 8.33 et 13.33 mm. Nous remarquons que l'effet antibactérien est proportionnel à la concentration de l'huile essentielle.

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a permis d'identifier 62 constituants volatils représentant 96.56% de l'essence totale. le camphor est le constituant le plus majoritaire avec 47.26 %.

D'après ces résultats obtenus nous pourrions prédire que l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* de la région de Djanet a une bonne activité antimicrobienne et antioxydante par rapport à d'autres études de la même plante dans des milieux différents.

Cette étude peut être considérée comme une source d'information importante sur les différentes propriétés, il serait intéressant de mener une étude plus approfondie sur cette HE notamment sur l'effet antifongique, anti-inflammatoire, antivirale et l'absence de l'effet toxique de la plante.

Références
bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Duraffourd C., Lapraz J-C., Chemli R. (1997). *La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès Intercontinental. Tunis. Ed. Granche. Paris*
2. De Pascual J.T., Gonzalez M.S., Muriel M.R and Bellid I.S. (1984). *Phenolic derivatives from Artemisia campestris Subsp Glutinosa. Phytochemistry. 23 (8): 1819-1821.*
3. Hostettmann K. et Marston A. (2002): *Twenty years of research into medicinal plants: Results and perspectives. Phytochemistry Reviews 1:275-285.*
4. Goudjil Mohamed Bilal.(2016). *Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. these du doctorat.universite kasdi merbah ouargla.*
5. Guitard Eugène-Humbert (1962), *Les «Pen-ts'ao» source de la science pharmaceutique de l'Extrême-Orient: Dr Nguyen Tran huan, Archives intern, d'histoire des sciences, 1961, Revue d'histoire de la pharmacie.*
6. Paradiso, V.M., C. Summo, A. Pasqualone, and F(2009). *Caponio.Evaluation of different natural antioxidants as affecting volatile lipid oxidation products related to off-flavours in corn flakes. Food Chemistry,. 113(2): p. 543-549*
7. Bruneton J. (1993). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Paris : éditions médicales internationales. Editions Tec et Doc Lavoisier.409-417.915.*
8. <http://action.labo-hevea.org>
9. Abderrahim EL HAIB(2011), *valorisation de terpenes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques.these du doctorat, Université de Toulouse,.*
10. Hamdani. D(2012). *Action des poudres et des huiles de quelques plantes aromatiques sur les paramètres biologiques du bruché de Haricot acanthoscelides obtectus say. Coleoptera Bruchidae. Mémoire de Magister . Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.*
11. Z.Hellal (2011), *Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (Sardina pilchardus). Mémoire de Magister, Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.*
12. Souhila Boubrit et Nafaa Boussad (2007).*Détermination "in vitro " du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'eucalyptus, myrte, clous de girofle et sarriette, et leur application à la conservation de la viande fraîche type hachée. Mémoire de Magister .Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

13. Samate Abdoul D, (2001). *Composition chimique d'huiles essentielles extraites de plantes aromatique de la zone soudanienne du burkina faso: valorisation,thèse de doctora univ de ouagadougou, burkina faso*
14. Marie Elisabeth Lucchesi(2005). *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. these doc. universite de la reunion.*
15. Bruneton J. (2009). *Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4ème éd., revue et augmentée, Tec et Doc. éditions médicales internationales, Paris : 1288*
16. Marie Elisabeth Lucchesi, (2005). *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles.these docteur universite de la reunion.*
17. BENOUALI Djillali, (2015). *Extraction et identification des huiles essentielles, universite des sciences et de la technologie d'oran.*
18. Hernandez-Ochoa L.R.,(2005). *Substitution de solvants et de matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse,*
19. Hemwimon, S., Pavasant, P., Shotiprux, A, Microware(2007) *.assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of Morinda Citrifolia. Separation and Purification Technology*
20. ISO,(1997). *Norme ISO 9235 : Matières premières d'origine naturelle - Vocabulaire., Jacob M., Pellecuer J. & Tomei R., 1979. Centre régional d'étude et de développement des plantes à usage pharmaceutique. Rivista Italiana E.P.P.O.S. 11*
21. Lamarti A., Badoc A. & Carde J.P., (1993). *Etude chromatographique de l'huile essentielle de la plantule de fenouil amer (Foeniculum vulgare Mill.) ; caractéristiques spectrales (UV, IR, SM) de ses constituants. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*
22. Marriott P.J., Shellie R. and Cornwell C. (2001). *Review : Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. Journal of Chromatography A, 936; p. 1-22*
23. Bourkhis B., Ouhssine M., Hnach M., Bourkhiss M., Satrani B. & Farah A.,(2007). *Composition chimique et bio activité de l'huile essentielle des rameaux de Tetraclinis articulata. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 146, pp. 75-84*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

24. Degryse A., Delpla I., Voinier M. (2008). *Risque et bénéfices possibles des huiles essentielles*. Ingénieure du Génie Sanitaire. Atelier santé environnement
25. Englebin M. (2011), *Essences et huiles essentielles: précaution d'emplois et conseils d'utilisation*, centre de formation en aromathérapie,
26. robin deschepper (1990). *variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie*. Thèse de Doctorat. Université d'Aix-Marseille.
27. Daouda Toure, (2015). *études chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'Ivoire*. Chimie organique. Université Felix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire. Français
28. Lahlou, M. (2004), *Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils*. *Phytotherapy Research*, 18(6): p. 435-448.
29. Richard F., (1992). *Manuel des corps gras*, Paris, Ed: Lavoisier, Tec.&Doc., p :1228-1242.
30. Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R. and Bernigault R. (2005) *Mesure de la résistance aux radicaux libres*. *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole*; 554-558
31. CCE. (2001). *Commission des Communautés Européennes: propositions de la commission en matière de lutte contre la résistance antimicrobienne*. Bruxelles, vol 885.
32. BOUSBIA N., (2003). *Extraction et identification de quelques huiles essentielles (Nigelle, Coriandre, Origan, Thym, Romarin). Etude de leurs activités antimicrobiennes*. Thèse de magister. I. N. A. Alger. P : 38-115
33. M Lis-Balchin et S.G.Deans. (1996). *Bioactivity of selected plant essential oils against Listeria monocytogenes*. *École des sciences appliquées, South Bank University, Londres. Journal*.
34. Cox, S., C. Mann, J. Markham, H. Bell, J. Gustafson, J. Warmington, and S. Wyllie, (2000) *The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil)*. *Journal of applied microbiology*, 88(1): p. 170-175.
35. Cox, S., C. Mann, J. Markham, H. Bell, J. Gustafson, J. Warmington, and S. Wyllie, (2000) *The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil)*. *Journal of applied microbiology*, 88(1): p. 170-175.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

36. Knobloch, K., A. Pauli, B. Iberl, H. Weigand, and N. Weis,(1989) . *Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. Journal of Essential Oil Research, 1(3): p 119-128.*
37. Bezza, L., A. Mannarino, K. Fattarsi, C. Mikail, L. Abou, F. Hadji-Minaglou, and J. Kaloustian.(2010), *Composition chimique de l'huile essentielle d'Artemisia herba-alba provenant de la région de Biskra (Algérie). Phytothérapie., 8(5): p. 277-281*
38. POTTIER. G, (1981). *Artémisia herba alba Flore de Tunisie: angiospermes dicotylédones gamopétales, 1012p*
39. Quezel P and Santa S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, C.N.R.S, Editor; Paris. France*
40. Nabli M. A., (1989). *Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I. Ed. MAB (Faculté des sciences de Tunis) ; 186-188 p.*
41. Gharabi Z. Sand Rl., (2008)-*Artemisia herba Alba asso. A guide to Medicinal Plants in North Africa: 49-49*
42. Baba Aissa F., (2000) *Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Edition librairie moderne. Rouiba*
43. Dahmani-Hamzaoui, N. and A. Baaliouamer.(2010), *Chemical Composition of Algerian Artemisia herba-alba Essential Oils Isolated by Microwave and Hydrodistillation. Journal of Essential Oil Research, 22(6): p. 514-517.*
44. Paolini, J., E. Ouariachi, A. Bouyanzer, B. Hammouti, J.-M. Desjobert, J. Costa, and A. Muselli, (2010). *Chemical variability of Artemisia herba-alba Asso essential oils from East Morocco. Chemical Papers, 64(5): p. 550-556.*
45. Feuerstein, I., A. Danin, and R. Segal,(1988). *Constitution of the essential oil from an Artemisia herba-alba population of Spain. Phytochemistry, 27(2): p. 433-434.*
46. Assia ZAIM , Lahsen EL GHADRAOUI & Abdellah FARAH.(2012). *Effets des huiles essentielles d'Artemisia herba-alba sur la survie des criquets adultes d'Euchorthippus albolineatus.. n° 34 (2), p. 127-133.*
47. Dob, T. and T. Benabdelkader, (2006). *Chemical Composition of the Essential Oil of Artemisia herba-alba Asso Grown in Algeria. Journal of Essential Oil Research, 18(6): p. 685-690*
48. touil souhila et benrebiha fatima zohr. *composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'artemisia herbaalbaasso et artemisia*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- campestris l de la region aride de DJELFA. Laboratoire de biotechnologie des Production Végétales, Université Blida.p43*
49. Villaño D, Fernández-Pachón M.S, Moyá M.L, Troncoso A.M and García-Parrilla M.C. (2007). *Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. Talanta. 71(1): p230-235.*
50. Mighri H, Hajlaoui H, Akrouf A, Najjaa H, and Neffati M. (2010). *Antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia herba-alba essential oil cultivated in Tunisian arid zone. Comptes Rendus Chimie, 13(3): p380-386.*
51. Khlifi, D., R.M. Sghaier, S. Amouri, D. Laouini, M. Hamdi, and J. Bouajila, *Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of Artemisia herba-alba, Ruta chalpensis L. (2013). and Peganum harmala L. Food and Chemical Toxicology. 55(0): p. 202-208*
52. Sami Zouari, Nacim Zouari, Nahed Fakhfakh, Ali Bougatef, M. A. Ayadi, and Mohamed Neffati, (2010) *Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian Artemisia herba alba Asso. Journal of Medicinal Plants Research. Vol. 4(10),: p. 871-880.*
53. Hassania K. Bencheqroun, Mohamed ghanmi , Badr Satrani , Abderrahman Aafi et Abdelaziz Chaouch , (2012) *Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Artemisia mesatlantica, plante endémique du Maroc, p. 4 – 21*
54. Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., Lacroix, M. (2007), *“Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157:H7, Salmonella Thyphimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes”.* *Food Control, 18, 414-420.*
55. Dorman, H.J.D., Deans, S.G. (2000). *“Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol., 88, 308-316.*
56. Ahmed Akrouf, Hajer El Jani, Sondes Amouri, Mohamed Neffati, *Recent Research in Science and Technology(2010) Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of Artemisia campestris l. (2010), Artemisia herba alba asso, & thymus capitatus hoff. et link. Growing wild in the southern of Tunisia Rec Res Sci Tech 2 pp(29-39).*
57. Wan, J., Wilcock, A., Coventry, M.J. (1998). *“The effect of essential oils of basil of the growth Aeromonas hydrophila and Pseudomonas fluorescens.”, J. Appl. Microbiol., 84: 152-158*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

58. Burt S., (2004), *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review*, *International Journal of Food Microbiology*, p.223-253
59. Bajpai V.K. and Kang S.C., (2010). *Antifungal activity of leaf essential oil and extracts of Metasequoia glyptostroboides Miki ex Hu.* *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 87: pp. 327-336
60. AFNOR,(2000.)*Huiles essentielles. Echantillonnage et méthodes d'analyse Monographies relatives aux huiles essentielles.*
61. Jacques Kaloustian. Francis Hadji-Minaglou(2012). *La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée.* Springer-Verlag France, Paris,
62. D. Joulain.(1994) *Method for analysing essential oil. modern analysis methodologies: use and abuse, perfum., Flavor, vol. 19, pp. 5–17*
63. / Sanchez-Moreno C. (2002). *Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems.* *Int. J. of Foods Sci. Tech.* 8: 121-137.
64. بن ساسي شيماء.(2018).تقييم الفعالية المضادة لألكسدة و المضادة للبكتيريا للمركبات الفينولية لبعض أصناف التمور من منطقة وادي ريغ بطرق مختلفة. رسالة الدكتوراه. جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
65. Amhis W. , Benslimane A. , Tiout D. et Naim M. (2001) *Tests de sensibilité utiles au traitement antibiotique.* *Médecine de Maghreb.* N° 91, 022-025.
66. Benabderrahmane, M., M. Benali, H. Aouissat, and M.J. Jordán Bueso, (2009).*Activité antimicrobienne des huiles essentielles de Pistacia atlantica Desf. de l'Algérie.* *Phytothérapie,*. 7(6): p. 304-308
67. Melle Bechiri Souhila et Melle Tahar Mezedek Salima(2018). *Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Artemisia herba alba de la région d'El Kantara (wilaya de Biskra) et de Mentha pulegium de la foret de Mesra (wilaya de Mostaganem).* *Mémoire de master. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem*
68. Choi Y.M, Noh D.O, Cho S.Y, Suh H.J, Kim K.M, and Kim J.M. (2006). *Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea.* *LWT.* 39:756-761.
69. Tenscher E., Anton R et Lobstein A., (2005): *Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles.* Edition Tec&doc. Pp3-50/121-124.
70. <http://chimactiv.agroparistech.fr/fr/aliments/antioxydant-dpph/principe>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

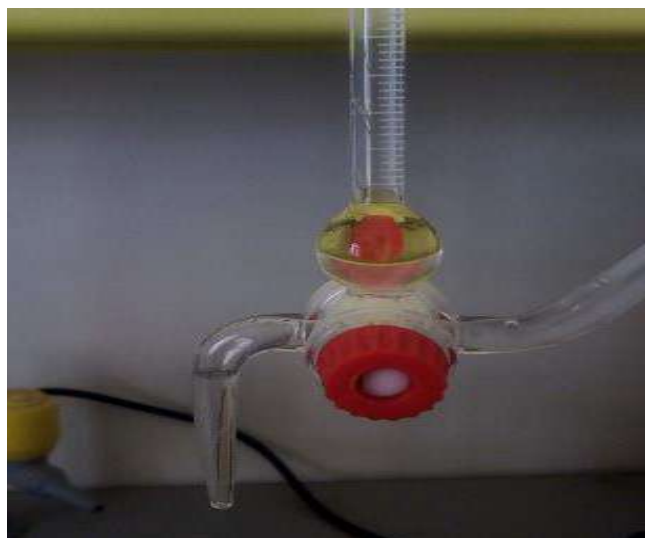
71. Ponce A.G., Fritz R., del Valle C.E., Roura S.I. (2003): *Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 36: 679–684.
72. M elle Magraoui, M elle Zahaf,(2018). *Etude de extraction et activité biologique des huiles essentielles dArtemisia «Chih» en Algérie Mémoire de Master.un Khemis Miliana.*
73. M. Bouguerra Ali. (2012) *.Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de Foeniculum vulgare Mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Mémoire du Magister.Université Mentouri Constantine.*

Annexes

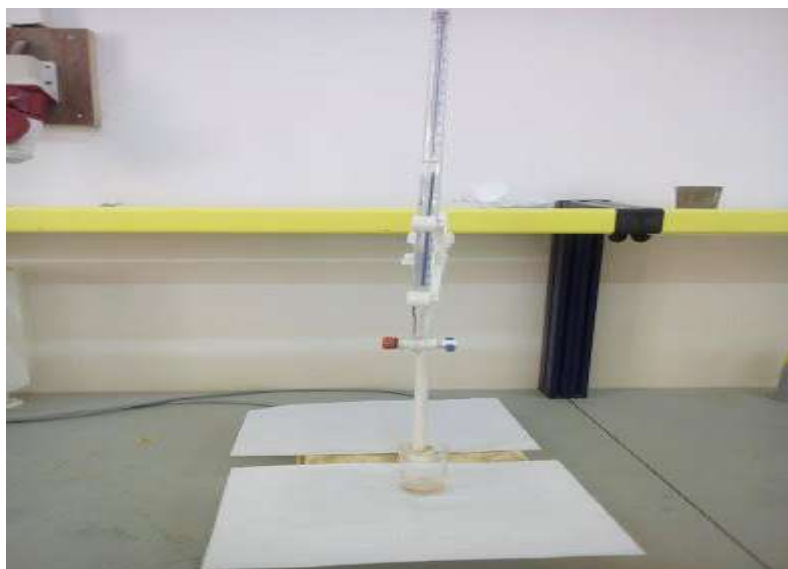
ANNEXES

Annexes :

Annexe 1: l'extraction des huiles essentielles des épices



Annexe 2: Dispositif de mesure d'indice d'acide



ANNEXES

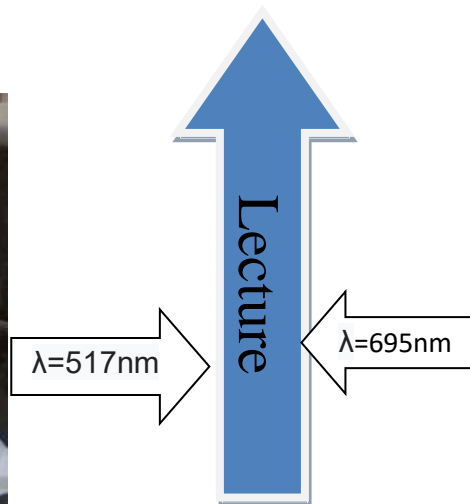
Annexe 3: Activité antioxydants



Spectrophotomètre UV- Visible

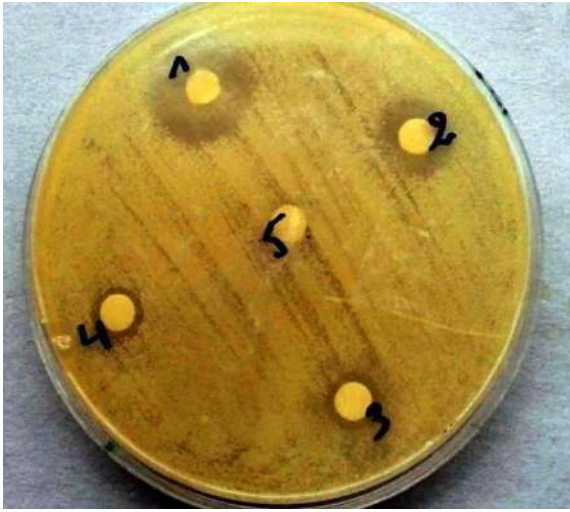


Dpph



molybdate

ANNEXES

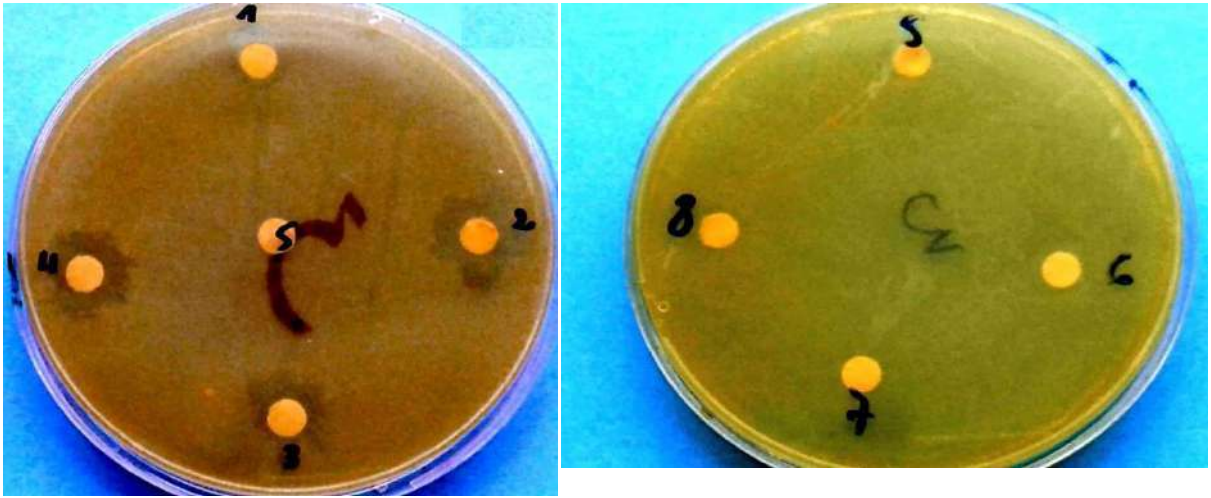


Annexe 4: Effet d'HE sur la bactérie *Staphylocoque aureus*

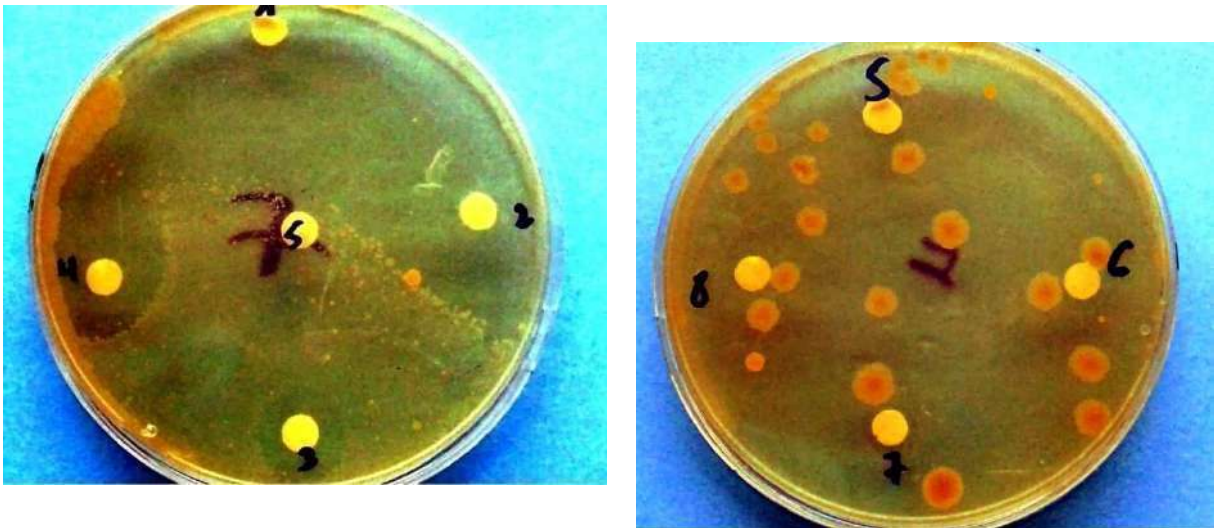


Annexe 5: Effet d'HE sur la bactérie *Salmonella Typhi*

ANNEXES



Annexe 6: Effet d'HE sur la bactérie E.Coli



Annexe 7: Effet d'HE sur la bactérie Streptocoque