

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الجيلالي بونعاما خميس مليانة

Université Djilali Bounaama Khemis Miliana

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre

Département de Biologie



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention d'un diplôme de **Master en**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

L'extraction et l'activité biologique des huiles essentielles d'

Artemisia absinthium

Présenté par :

-BOULEFA Hanane

-AMAISSIA Fouzia

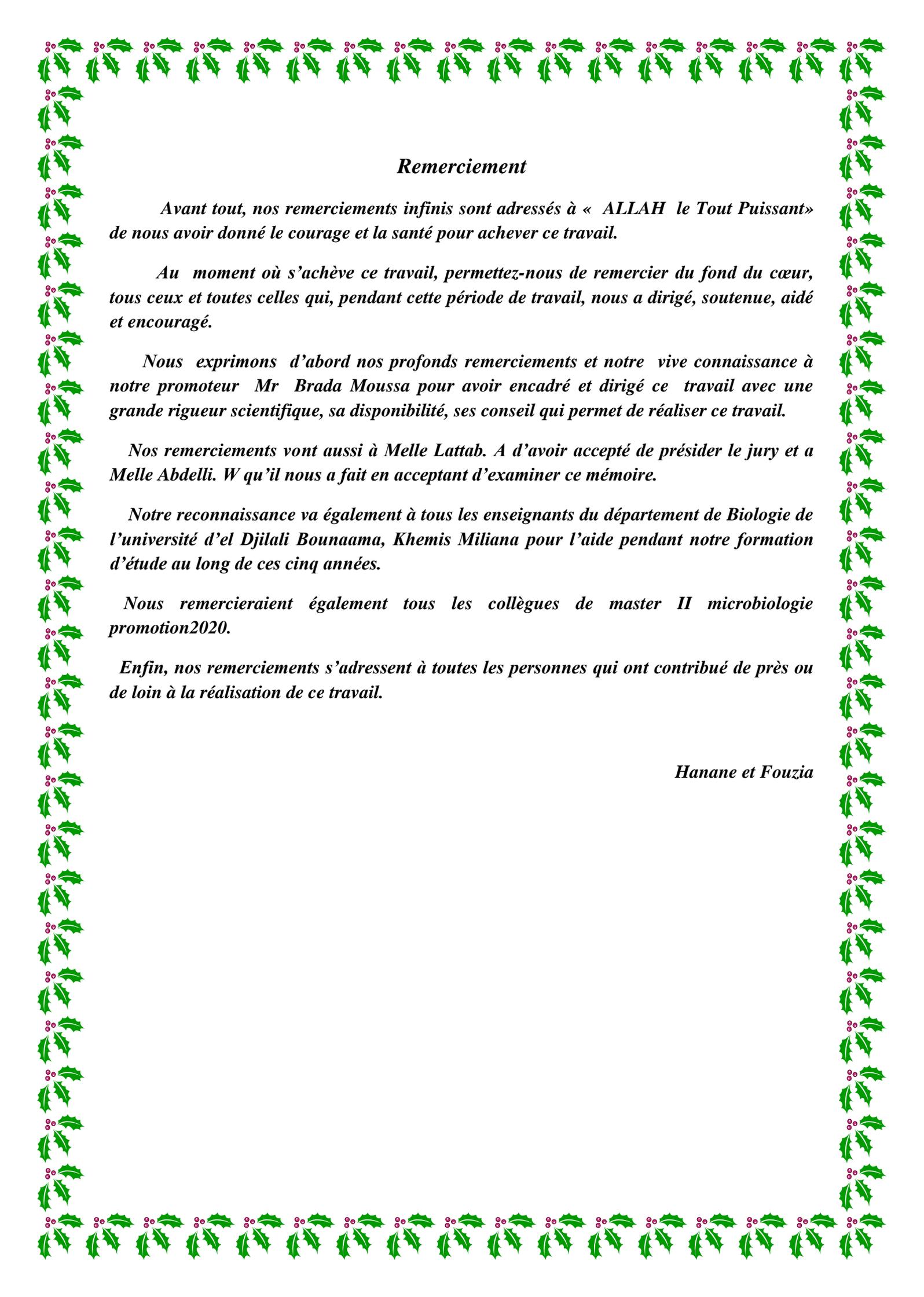
Devant le jury composé de :

Présidente : Melle Lattab Aicha MAB à U.D.B Khemis Miliana

Encadreur : Mr. Brada Moussa Prof à U.D.B Khemis Miliana

Examinatrice : Melle Abdelli Wafae MAB à U.D.B Khemis Miliana

Année universitaire 2019-2020



Remerciement

Avant tout, nos remerciements infinis sont adressés à « ALLAH le Tout Puissant » de nous avoir donné le courage et la santé pour achever ce travail.

Au moment où s'achève ce travail, permettez-nous de remercier du fond du cœur, tous ceux et toutes celles qui, pendant cette période de travail, nous a dirigé, soutenue, aidé et encouragé.

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive connaissance à notre promoteur Mr Brada Moussa pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseil qui permet de réaliser ce travail.

Nos remerciements vont aussi à Melle Lattab. A d'avoir accepté de présider le jury et a Melle Abdelli. W qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

Notre reconnaissance va également à tous les enseignants du département de Biologie de l'université d'el Djilali Bounaama, Khemis Miliana pour l'aide pendant notre formation d'étude au long de ces cinq années.

Nous remercieraient également tous les collègues de master II microbiologie promotion2020.

Enfin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Hanane et Fouzia

Dédicace

Je dédie ce projet :

A ma chère mère,

A mon cher père,

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

A mes frères,

A ma chère sœur et son mari,

Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A ma chère binôme

Pour sa entente et sa sympathie.

Pour leurs indéfectibles soutiens et leurs patiences infinies.

Ames chères amies

Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.

A toute ma famille.

AMAISSIA Fouzia

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À mes parents .Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour

Dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne

Santé et longue vie.

À mon père, qui est Toujours disponible pour nous, et prêt à nous aider, je lui

Confirme mon attachement et mon profond respect.

À ma mère qui m'a encouragé durant toutes mes études, et qui sans elle, ma

Réussite n'aura pas eu lieu.

Je dédie à Ma chère grande mère, que le bon dieu la protège pour moi.

Aussi je dédie ce travail :

À mes chères sœurs : Amina et Ahlem

Merci de m'avoir soutenue, aidée et encouragée pendant toutes ces années.

A mes chères tantes qu'elles trouvent dans ce travail le fruit de leurs soutiens

Et encouragement.

À ma cousine Nassima.

À toute ma famille.

À ma chère binôme Fouzia pour tout le moment que j'ai partagés avec toi.

À toute mes amis.

À tous ceux que j'aime et que je respecte.

BOULEFA Hanane

Résumé

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de l'extraction des huiles essentielles d' *Artemisia absinthium* (Absinthe) poussant à Miliana (W Ain -Defla) et leur activité biologique (antibactérienne, antifongique et antioxydante).

L' *Artemisia absinthium* est considérée comme matière pleine de substances médicinales et nutritionnelles, elle est aussi une source de substances (huile essentielle) qui possèdent des effets remarquables sur le plan biologique.

Selon la littérature, L'extraction d'huile essentielle de la partie aérienne réalisée par hydrodistillation, montré que les rendements sont variables d'un pays à un autre : Maroc (0,5 %), Canada (0,3 à 0,5 %), et en Algérie : (1,5 %) à Batna, et (0,5 %) à Tipaza et à Blida (0,52). Les analyses effectuées sur cette huile par la Chromatographie en phase gazeuse couplé par la spectrométrie de masse permettent d'obtenir des composés majoritaires tels que : Béta thujone (60,82%) à Tipaza, le chamazulène (25,2%) à Oran et camphre (44,93%) à Batna.

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante, des études rapportées par divers auteurs en Algérie ont donné une bonne efficacité antioxydante avec le DPPH ($IC_{50}\% = 62.66 \pm 2.55 \mu\text{g/ml}$), l'ABTS ($IC_{50}\% = 41.57 \pm 0.97 \mu\text{g/ml}$) et (CUPRAC $A_{050}\% = 38.15 \pm 0.79 \mu\text{g/ml}$).

L'activité antibactérienne et antifongique testé par la méthode d'aromatogramme sur extrait d' *A. absinthium* a révélée une activité inhibitrice contre les souches *E. coli*, *staphylococcus aureus*, *Bacillus*, *pseudomonase aeruginosa* et *candida albicans*.

Enfin, les résultats rapportés par la littérature sur ce thème sont prometteurs et ouvrent de nouvelles perspectives dans le domaine des applications naturelles qui peuvent être une alternative valable pour remplacer les produits chimiques.

Mots clés : *Artemisia absinthium*, extraction, huile essentielle, composition chimique, activité antioxydante, activité antibactériennes.

ملخص

هذا العمل هو جزء من استخلاص الزيوت الأساسية من نبتة شجرة مريم التي تنمو في مليانة (ولاية عين الدفلة) ونشاطها البيولوجي (مضاد للجراثيم ، مضاد للفطريات ومضاد للأكسدة).

تعتبر نبتة شجرة مريم حقلاً كاملاً من المواد الطبية والغذائية ، كما أنها مصدر للمواد (الزيت العطري) التي لها تأثيرات ملحوظة على المستوى البيولوجي.

وفقاً لمعظم الدراسات فإن استخراج الزيت العطري من الجزء العلوي التي تم إجراؤها بواسطة التقطير المائي أظهران الغلات متغيرة من بلد الى اخر: المغرب (0.5%) وكندا (0.3%) و في الجزائر: (1.5%) في باتنة، (0.5%) في تيبازة والبليدة (0.52%).

إن التحليلات التي أجريت على هذا الزيت بواسطة كروماتوغرافيا الغاز مقرونة بمقياس الطيف الكتلي تجعل من الممكن الحصول على مركبات رئيسية مثل:

بيتا ثوجون (60.82%) في ولاية تيبازة .

chamazulene (25.2%) في ولاية وهران .

camphre (44.93%) في ولاية باتنة .

لتقييم النشاط المضاد للأكسدة أعطت الدراسات التي أبلغ عنها مؤلفون مختلفون في الجزائر .كفاءة جيدة مضادة للأكسدة مع:

DPPH C50% =(62.66 ± 2.55µg/ml) (ABTS IC50% = 41.57 ± 0.97µg/ml) (CUPRAC A050% = 38.15 ± 0.79µg/ml)

تم اختبارا لنشاط المضاد للبكتريا والفطريات الذي اختبر بواسطة تقنية الاغوماتوغرام على مستخلص شجرة مريم. بين وجود نشاط كايح ضد سلالات:

E. coli ,staphylococcus aureus, Bacillus , pseudomonase aeroginosa et candida albicans.

في النهاية النتائج التي حصلت عليها الأعمال حول هذا الموضوع تفتح آفاقاً جديدة واعدة في مجال التطبيقات الطبيعية التي يمكن أن تكون بديلاً جيداً لاستبدال المواد الكيميائية.

كلمات البحث :

A.absinthium ، استخراج ، زيت اساسي، التركيب الكيميائي، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للبكتيريا

Abstract

This work is part of the extraction of essential oils from *Artemisia absinthium* growing in Miliana (W Ain Defla) and their biological activity (antibacterial, antifungal and antioxidant).

Artemisia absinthium is considered to be a material full of medicinal and nutritional substances, it is also a source of substances (essential oil) that have remarkable effects on the biological level.

According to the literature, The extraction of essential oil from the aerial part carried out by hydrodistillation, showed that the yields are variable from one country to another: Morocco (0.5%), Canada (0.3 to 0.5%), and also in Algeria: (1.5%) in Batna, and (0.5%) in Tipaza and Blida (0.52).

The analyses carried out on this oil by gas chromatography coupled by mass spectrometry make it possible to obtain major compounds such as: Beta thujone (60.82%) in Tipaza, chamazulene (25.2%) in Oran and camphor (44.93%) in Batna.

For the evaluation of antioxidant activity, studies reported by various authors in Algeria have given good antioxidant efficacy with (DPPH IC_{50%} = 62.66 ± 2.55 µg / ml) (ABTS IC_{50%} = 41.57 ± 0.97 µg / ml) (CUPRAC A_{050%} = 38.15 ± 0.79µg / ml).

The antibacterial and antifungal activity tested by the aromatogram method on extract of *A. absinthium* has shown inhibitory activity against strains of *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus, pseudomonase aeruginosa* and *candida albicans*.

Finally, the results reported by the literature on this topic are promising and open up new perspectives in the field of natural applications which can be a valid alternative to replace chemicals.

Key words : *Artemisia absinthium* , extraction, essential oil, chemical composition, antioxidant activity, antibacterial activity

Liste des abréviations

%: Pourcentage

A .absinthium: *Artemisia absinthium*

Ab: Absorbance

ABS: *Artemisia absinthium*

AC: *Artemisia campestris*

AHA: *Artemisia herba Alba*

AFNOR : Association française de normalisation

ATCC: American Type Culture Collection

°C : Degré Celsius

CG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplé par la spectrométrie de Masse

CMI : Concentrations minimales inhibitrices

D : La densité

DMSO : Dimethyl sulfoxide

DPPH: 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

E. coli: Escherichia coli

G-: Gram-negative

G+: Gram-positive

g : Gramme

GN : Gélose nutritive

H (%) : Taux d'humidité

HE : Huile essentielle

IA : indice d'acide

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

IK : Indice de Kováts

IR : Indice de rétention

ISO : Organisation International de Normalisation

KOH : Hydroxyde de potassium

mg : Milligramme

M-H : La gélose Mueller Hinton

ml : Millilitre

mm : millimètres

nm : Nanomètre

Na Cl : chlorure de sodium

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PI : pourcentage d'inhibition

RHE : rendement en huile essentielle en %

S. aureus : Staphylococcus aureus

T_R : le temps de rétention

Liste des figures

Figure 1: Photographies de <i>Artemisia absinthium</i>	7
Figure 2 : Feuilles d' <i>A absinthium</i> originale.....	8
Figure 3 : Fleurs d' <i>A absinthium</i>	9
Figure 4 : Structures des principaux constituants d' <i>Artemisia absinthium</i>	12
Figure 5 : <i>Artemisia absinthium</i> (région de Miliana w Ain defla).....	32
Figure 6 : Dispositif de l'extraction d'HE par hydrodistillation (Clevenger).....	33
Figure 7 : Appareillage d' hydrodistillation.....	34
Figure8 : Réaction du test du DPPH (2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl).....	38
Figure 9 : Les étapes de la réalisation de l'activité antioxydante.....	39
Figure 10 : Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri.....	42
Figure11 : Préparation des dilutions	43
Figure12 : Schéma représente la méthode de CMI.....	44

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Répartition géographique des espèces d'*Artemisia* dans le monde4

Tableau I.2 : Répartition géographique des espèces d'*Artemisia* en Algérie.....5

Tableau I.3 : Classification de l'*A. absinthium*10

Tableau I.4: Constituants chimiques principaux d'*A. absinthium*11

Tableau II.1 :Composition chimique de l'HE d'*A. absinthium* d'Algérie.....15

Tableau II.2: Principaux composés de l'huile essentielle d' *A. absinthium* de divers pays.....16

Tableau II.3: Caractéristiques organoleptiques des différentes espèces d'*Artemisia*.....17

Tableau II.4: Caractéristiques physico-chimiques de l'HE d'*A. absinthium*.....17

Tableau II.5 : Le rendement d'*A. absinthium* dans différentes régions.....18

Tableau II.6 : Zones d'inhibition de la croissance des micro-organismes en millimètres.....22

Tableau II.7 : Diamètres d'inhibition(en mm).....24

Tableau II.8 : Les CMI en mg..... 25

Tableau II.9 : Variation des diamètres d'inhibition des levures en fonction d'HE (en mm).....26

Tableau III.1 : La date, lieu et heure de récolte des échantillons d'*A. absinthium*.....30

Tableau III.2 : Les caractéristiques géographiques des régions de récolte de la plante.....31

Tableau III.3 : Les caractéristiques des souches microbiennes utilisées.....40

Table des matières

Remerciements.

Dédicace.

Résumé.

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Introduction générale.....1

Partie bibliographique

Chapitre I : Le matériel végétal «*Artemisia absinthium* »

I.1.La famille des Asteraceae3

I.1.1. Caractères botaniques.....3

• Appareil végétatif3

• Appareil reproducteur4

I.2. Genre *Artemisia* (les armoises)4

I.3. Répartition géographique des espèces d'*Artemisia dans le monde*.....4

I.3.1. Les principales espèces d' *Artemisia* en Algérie5

I.4. Usage traditionnels des espèces du genre d'*Artemisia*6

I.5. *Artemisia absinthium*7

I.5 .1.Historique.....7

I. 5.2. Description Botanique7

I.5.2.1.L'appareil végétatif de l'*A absinthium*8

I .5.2.2. L'appareil reproducteur de l'*A. absinthium*8

I.5.3. Description géographique9

I.5.4.Exigences écologiques	9
I.5.4.1.Exigences climatiques	9
I.5.4.2.Exigences édaphiques	9
I.5.5. classification botanique	10
I.5.6. Nomenclature	10
I.5.6.1.Noms scientifiques	10
I.5.6.2. Noms communs	10
I.5.7. Les compositions chimiques	11
I.5.8. Utilisation d' <i>A. absinthium</i>	12
I.5.9. Toxicité de la plante	13
I.6. Les huiles essentielles	13
I.6.1. Définition	13
I.6.2. Les facteurs influençant la composition chimique d'HE	13
I.6.3. Méthodes d'extractions des huiles essentielles	14
I.6.3.1. L'hydrodistillation	14
I.6.3.2. Entraînement à la vapeur d'eau	14

Chapitre II. Travaux antérieurs

II.1. Les huiles essentielles d' <i>Artemisia absinthium</i>	15
II.2. 1.Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Artemisia absinthium</i> en l'Algérie	15
II.2.2.Composition chimique de l'HE d' <i>A. absinthium</i> de divers pays	16
II.3. Caractérisation organoleptique des HE d' <i>A. absinthium</i>	17
II.4. Propriétés physico-chimiques d'huile essentielle d' <i>A. Absinthium</i>	17
II.5. Rendement en huile essentielle d' <i>A. absinthium</i>	18
II.6.Extraction de l'huile essentielle d' <i>A absinthium</i> par hydrodistillation	19
II.6.1.Les paramètres influençant le rendement en HE.....	19

II.6.1.1. L'influence de la masse végétale	19
II.6.1.2. Evolution de rendement en HE en fonction de la durée d'extraction (cinétique)	19
II.7. Activités biologiques de l'huile essentielle d' <i>A. absinthium</i>	19
II.7.1. Activité antioxydante	19
II.7.2. Activité antimicrobienne	20
II.7.2.1. Activité antibactérienne	21
II.7.2.2. Activité antifongique	21
II.7.3. Activité anthelminthique	22
II.7.4. Activité insecticide	23
II.7.5. Activité acaricide	23
II.8. Etude biologique de 3 espèces d' <i>Artemisia</i>	23
➤ Activité antibactérienne	23
➤ Activité antifongique	25
➤ Activité antioxydante.....	26
II.9. Utilisation du genre d' <i>Artemisia</i>	27
II.9.1. Les études pharmacologiques	27
II.9.1.1. Effets spasmolytiques	27
II.9.1.2. Effet Hypotensif.....	27
II.9.1.3. Effet hypoglycémique.....	27
II.9.1.4. Effet Hepato protectif.....	28
II.9.1.5. Activité Cytotoxique.....	28
II.9.2. Utilisation en cuisine	28

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériels et méthodes

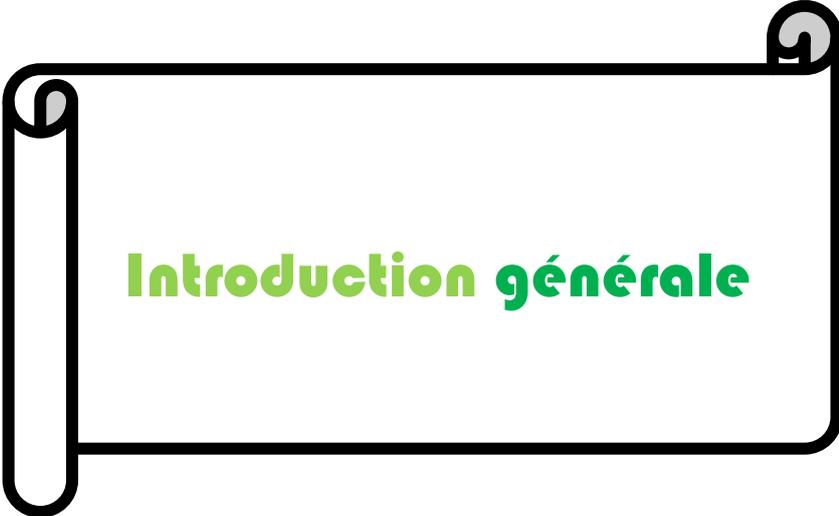
III.1.Procédure expérimentale	29
-------------------------------------	----

III.2. Lieu et période de travail	29
III.3. Matériels utilisé	29
III.3. 1. Matériel végétale	29
• Identification de l'espèce étudiée.....	29
• La récolte d'échantillon	29
• Situation géographique de station de récolte	30
III.3.2. Appareillage utilisé.....	31
III.4. Méthodes	31
III.4.1. Séchage de plante.....	31
III.4.2. Détermination du taux d'humidité.....	31
III.5. L'extraction d'HE d' <i>Artemisia absinthium</i>	32
III.5.1. Principe	32
III .5.2. Mode opératoire	33
III.5.3. Etude de la cinétique d'extraction	34
III.5.4. Détermination de rendement en huiles essentielles	34
III.6. Caractéristiques des huiles essentielles	34
III.6.1. Propriétés organoleptiques	34
III.6.2. Les propriétés physico-chimiques	35
III.6.2.1. Les propriétés physiques	35
➤ La densité	35
➤ Détermination de l'indice de réfraction [norme NF T 75 – 112].....	35
➤ Détermination de pH	36
III.6.2.2. Propriétés chimiques	36
➤ Détermination de l'indice d'acide(IA)	36
III .6.3. Analyses chromatographiques	37
III.7. Evaluation de l'activité biologique	37
III.7.1. Evaluation d'activité antioxydante	37

III.7.2.Méthode du DPPH	38
III.7.2.1.Principe	38
III.7.2.2. Mode opératoire	38
III.7.2.3. Pourcentage d'inhibition	39
➤ Détermination de Concentration inhibitrice 50 (IC50)	39
III.7.3. Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique	39
III.7.3.1. Facteurs déterminant le degré d'activité antimicrobienne de l'HE.....	39
III.7.3.2. Méthode d'évaluation de l'activité anti microbienne de l'HE	40
III.7.3.3. Les souches bactériennes et fongiques testés.....	40
III.7.3.4. Les milieux de culture	41
III.7.3.5. Préparation de l'inoculum bactérien	41
III.7.3.6. Préparation des disques	41
III.7.4. Évaluation qualitative de l'activité antibactérienne et antifongique	41
III.7.4.1. La méthode de l'aromatogramme	41
III.7.4.2. Évaluation quantitative de l'activité antibactérienne et antifongique de l'HE d' <i>A. absinthium</i>	42
III.7.4.2.1. Détermination de la dilution Minimale Inhibitrice	43

Chapitre IV. Résultats et discussions

Conclusion.....	47
Références bibliographiques.....	49
Annexe.	



Introduction générale

Introduction générale

Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus d'où l'homme puisse recourir non seulement à sa nourriture mais aussi utilise des substances actives qui procurent souvent un bienfait à son organisme [Labioud, 2016].

Les plantes médicinales et aromatiques ont été employées pendant des siècles comme remède pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeurs thérapeutique. Elles sont utilisées dans le processus de stress oxydatif et la lutte contre les maladies infectieuses [El Kalamouni, 2010].

L'Algérie avec sa grande variété de climat et de sol, sa situation géographique et ses reliefs, possède une flore végétale riche et diversifiée de 3150 espèces. Parmi les plantes qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Artemisia* [De Pascual *et al.* , 1984 ; Rauter *et al.* , 1989] , ce dernier est largement distribué surtout dans les régions semi arides [Joao *et al.* ,1998 ; Akrouit *et al.* , 2001].

Le genre *Artemisia* est l'un des plus importants de la famille des Asteraceae . IL a été enregistré onze espèce d'*Artemisia* en Algérie [Quezel *et al.* , 1963], dont certaines sont rares et d'autres très répandues [Abdelguerfi, 2003]. 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 connus se trouve *Artemisia absinthium* .

Artemisia absinthium communément appelé « Chedjert merieme » [Hose ,2002. Rezaeinodehie *al.* , 2008]. C'est une plante à différents usages, est largement utilisée pour traiter les troubles digestives , les ulcères , les brûlures , la diarrhée et comme un antipyrétique, un antimicrobien, dans le traitement des plaies, des insecticides et d'autres [Kordali *et al.* ,2005]. Elle se caractérise par sa richesse en huile essentielle en composition différente [Bouzidi, 2016].

Un intérêt considérable a été suscité aux huiles essentielles extraites à partir d'*A. absinthium* qui occupent un bon choix dans la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques, et attirent l'intérêt de plusieurs recherches vue le nombre de leurs propriétés biologiques dénombrables.

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de l'extraction des huiles essentielles d' *Artemisia absinthium* poussant à Miliana (W Ain Defla) et leur activité biologique notamment l'activité antibactérienne, antifongique et antioxydante.

Notre travail se subdivise en quatre chapitres:

Le premier chapitre est consacré à la présentation de la matière végétale : *A. absinthium* .

Le deuxième chapitre s'intéresse à l'étude des travaux antérieurs réalisés sur *A. absinthium*.

Un troisième chapitre est réservé au matériel et méthodes utilisées. Quant au quatrième Chapitre, nous présentons les différents résultats obtenus et leurs discussions.

Enfin, nous terminons par une conclusion générale qui portera sur une lecture attentive des différents résultats obtenus et des recommandations.



Partie bibliographique



Chapitre I :

le Matériel Végétal

Artemisia absinthium

Chapitre I : Le Matériel Végétal : *Artemisia absinthium*.

I.1. La famille des Asteraceae

La famille des Asteraceae (Astéracées en français), aussi appelée Compositae (Composées en français) est la famille la plus large des plantes à fleurs, avec 1530 genres et plus de 23000 espèces. Elle forme approximativement 10% de la flore du monde [Pottier, 1981] et peut se rencontrer sur toute la surface du globe. Cette famille est définie par les deux caractères suivants: groupement des fleurs en capitules et soudure des étamines par leurs anthères [Ozenda, 1983].

Les principaux genres sont *Senecio*, avec 1500 espèces, *Vernonia*, avec 1000 espèces, *Cousinia*, avec 600 espèces, *Eupatorium*, avec 600 espèces, *Hieracium*, avec 500 espèces, *Helichrysum*, avec 500 espèces, *Artemisia*, avec 400 espèces, *Baccharis*, avec 400 espèces.....[Botineau, 2013].

I.1.1. Caractères botaniques

- **Appareil végétatif**

L'appareil végétatif se caractérise par quatre caractères :

- Ce sont principalement des herbes, vivaces par des parties souterraines tubérisées, mais quelquefois annuelles ; on rencontre aussi quelques espèces ligneuses : lianes, arbustes et même arbres (Seneçon).

Les feuilles, toujours sans stipules, sont le plus souvent alternes, mais parfois opposées (Arnica), verticillées, ou regroupées en rosette. Ces feuilles sont souvent simples, profondément découpées, et dans les pays tropicaux, peuvent devenir succulentes ou au contraire se réduire à des écailles.

- Les Asteraceae sont pourvues d'un appareil sécréteur :
 - soit des cellules et canaux sécréteurs, responsables de l'odeur caractéristique de certaines espèces (armoise, Camomille...).
 - soit laticifères comme chez le groupe des Chicorées et plantes affines (Pissenlit, Laiterons...). Lorsqu'on brise la tige de ces plantes, il s'exsude un suc blanchâtre.
- Les organes de réserve contiennent de l'inuline, hydrolysable en fructose.
- Les Asteraceae sont riches en polyacétyléniques et en lactones sesquiterpéniques [Guignard, 1998 ; Botineau, 2013].
- **appareil reproducteur**

Celui-ci présente trois caractères originaux:

- l'inflorescence en capitule ;
- les fleurs, très particulières dont les anthères sont soudées entre elles, ce qui a valu à cette famille le qualificatif de Synanthérées ;
- les fruits, un akène généralement surmonté d'un Pappus [Gausson *et al*, 1982 ; Guignard, 1998].

I.2. Genre *Artemisia*

Le genre *Artemisia* comprend des plantes médicinales importantes qui font actuellement l'objet d'une attention phyto chimique en raison de leur diversité biologique et chimique [Kundan et Anupam, 2010].

Le genre *Artemisia* (les armoises) groupes des herbacées, des arbrisseaux et des arbustes, généralement aromatique, densément tomenteux, pubescentes ou glabres [Robert-Dernet, 1995]. C'est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de la famille Asteraceae [Mucciarelli et Maffei, 2002]. Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les acides caféolquiniques, les coumarines, les huiles essentielles, les stérols et les acétylènes [Kundan et Anupam, 2010].

I.3. Répartition géographique des espèces d'*Artemisia*

Dans le monde

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* poussent de façon spontanée dans plusieurs régions de l'hémisphère nord de la terre, surtout dans les zones semi arides et le bassin méditerranéen, et s'étendent jusqu'à l'Himalaya, dans l'hémisphère sud. Elles sont trouvées en Afrique du sud, l'Australie et l'Amérique du sud [Vernin *et al.* 1995].

Tableau I.1 : Répartition géographique des espèces d'*Artemisia* dans le monde.

Espèces	Origine	Description géographique
<i>Artemisia verlotiorum</i> [Pampanini, 1933]	Asie orientale (sud-ouest de la Chine)	Europe (France, Italie)
<i>Artemisia mesatlantica</i> [Ouyahya, 1982]	Maroc	Haut Atlas (sol limoneux pauvre et caillouteux), Moyen Atlas et l'Anti Atlas.
<i>Artemisia campestris</i> [Kyeong, 2007]	originaire de l'Asie.	hauts plateaux, plus rares dans la région présaharienne, manque au Sahara septentrional reparaît dans les montagnes du Sahara central.
<i>A. cina Berg</i>	/	Iran, Turkistan

[Badhwar, 1934]		Cultivée avec succès aux Etats-Unis à Washington.
<i>A. Absinthium</i> [Soijwan,.1948 ; Wehmer,.1950]	Sud de la sibérie et du cachemire	Nord de l'Asie, l'Afghanistan et se prolonge vers l'ouest jusqu'à l'Atlantique. Canada. Cultivé aux États-Unis.
<i>A. gallicaWilld</i> [Anon, 1934]	/	Allemagne, France, Angleterre et en Ecosse.

I.3.1. Les principales espèces d' *Artemisia* en Algérie

Il existe une dizaine d'espèces d'*Artemisia* en Algérie, et elles sont réparties selon les conditions édaphiques et climatiques dans les différentes régions [Baba Aissa , 2000]. *Artemisia* occupe une superficie d'environ 3 millions d'hectares dans les hautes plateaux et de 250.000 ha dans le sud Algérien et les espèces dominantes sont : *Artemisia herba alba* Asso, *Artemisia absinthium*, *Artemisia arborescens*, *Artemisia judaica* , *Artemisia atlantica*, *Artemisia alba Turra*, *Artemisia campestris. campestris Briq et Cav*, *Artemisia campestris. glutinosa Batt*, *Artemisia verlotorum*, *Artemisia vulgaris* [Benmokadem ,2003].

Tableau I.2 : Répartition géographique des espèces d'*Artemisia* en Algérie.

Espèces	Répartition géographique
<i>Artemisia herba alba asso</i> : [ozanda, 1983, Maire, 1933].	Dans le sahel et les plaines du littoral, telle : Constantinois, Hauts plateaux. Dans Sahara septentrional : Zousfara , El Goléa, Le hamada de Tinghert. Sahara central : Hoggar, Tamanrasset.
<i>Artemisia compestris</i> : [ouezela et santa.1963].	Dans les hauts plateaux : Constantinoise, Algérois , Oranais , dans les régions de Frenda , Mechria , Sétif, Borj bouarreridj ,Ain mlila , Ain el Beida , Msila, Khenchela. Dans Sahara centrale : Hoggar.
<i>Artemisia judaica</i> : [Maire, 1933] [Ozenda, 1983] [Santa ,1963].	Dans les lits sablonneux, et sa blono-limoneux des Oueds. dans les régions tropicale, répandu dans au Sahara orientale très présente au Sahara centrale, dans régions de Tadmait, Hoggar.

Artemisia arborecens : [Polunin . 1967]
[Quezel et Santa. 1963].

Dans le bassin méditerranéen, Dans les régions Médéa, Thniet el had.

I.4. Usage traditionnels des espèces du genre *d'Artemisia*

Artemisia herba alba Asso

Selon [Baba Aissa, 2000].L'armoise (Chih) est plus connue en Algérie, 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. L'espèce est très utilisée 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 [Gharabi, 2008], aussi comme agent anti tumorales, antispasmodiques, antiseptiques anti génotoxiques, anti diabétiques et antibactériennes, antiviral, antioxydant [Bezza *et al*,2010 ; Mighri *et al*,2010 ;Abu-Irmaileh *et Afifi*,2003].

Artemisia campestris

La plante est largement utilisée en médecine traditionnelle grâce à ses propriétés bactéricides, antifongiques, anti-inflammatoires, antihelminthiques, anti venins et analgésiques [Carvalho *et al*, 2011 ; Ghilissi *et al*, 2016]. La partie aérienne est utilisée dans le traitement de brûlures, de la diarrhée, les morsures de serpent, les piqûres de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la dysenterie, le rhumatisme, et pour traiter les infections urinaires, la fièvre la toux et les problèmes menstruels [Ben Sassi *et al*, 2007 ; Dob *et al*, 2005]. Les fleurs ont été utilisées comme agent hypoglycémique, dépurative, anti lithiasique, ainsi que pour le traitement de l'obésité et pour diminuer le taux de cholestérol [Sijelmassi, 1993 et Le Floc'h, 1983].

Artemisia judaica

Elle est traditionnellement utilisée comme herbe médicinale; la plante a été utilisée pour traiter les troubles de la peau-le système immunitaire affaibli ; l'athérosclérose le cancer et l'arthrite [Abdallâh et Abu-Zagra, 1987].

Artemisia vulgaris

Les parties aériennes ont une action antispasmodique (et furent utilisées pour traiter l'épilepsie) et un effet vermifuge comme antiparasitaire[Zekkour, 1982]et les maladies du système digestif [Lakhdar, 2015] Les feuilles et la tige d'armoise sont utilisées en médecine comme tonique digestif amer, stimulant utérin et antirhumatismal [Hickey *et al*, 2004] certains rapports ont révèlent que l'armoise est un puissant immun modulateur[Schmid-

Grendelmeier *et al*, 2003], antihypertenseur [Tigno *et al*, 2000], anti- inflammatoire [Tigno et Gumila, 2000], antioxydant [Ivo *et al*, 2007] et agent hépato protecteur [Gilani *et al*, 2005].

I.5. *Artemisia absinthium*

I.5 .1.Historique

A. absinthium est l'une des plus anciennes plantes médicinales connues. Depuis les temps les plus reculés ; on l'utilisait dans la thérapeutique. Selon Gilly : «bsinthium» signifie : douceur et avec le préfixe *a*privatif*absinthium*signifie : sans douceur. C'est une boisson alcoolisée très renommée appelée aussi «La Fée verte».Cependant, l'huile est toxique et la plupart des pays ont interdit sa fabrication depuis le début du 20^{ème} siècle. La plante fut déclarée toxique à cause de la présence des thuyones. Ce n'est qu' en 1999qu'il est à nouveau permis de cultiver de distiller et de consommer la plante [Gilly, 2005].

I .5.2. Description Botanique

A. absinthium est une plante vivace pouvant atteindre 90 cm à 1m de haut. Recouverte de poils soyeux blancs argentées et de nombreuses glandes oléifères. Son odeur est très forte, sa saveur est fortement amère et aromatique [Dillile L.2007].



Figure 1: Photographies de *Artemisia absinthium*. [Larbi.2016]

I.5.2.1.L'appareil végétatif de l'*A absinthium* [Larbi.2016]

- ❖ **Racine** : La plante possède un rhizome dur.
- ❖ **Tige** : Les tiges sont souterraines, ligneuses ; dressés et rameuses. Les fragments de tige sont rigides, gris argentés, à l'extérieur ils sont anguleux et possèdent une moelle interne.
- ❖ **Feuilles** : *A absinthium* possède des grosses touffes de feuilles recouvertes d'un fin duvet gris pale (figure 2) dont les feuilles sont composées , opposées à la base, puis alternes pour le reste de la plantes. Elles sont très découpées, plumeuses, trilobées en trois lobes dentés. Les feuilles basilaires mesurent jusqu'à 25cm de long et sont

longuement pétiolées (figure 3). Les feuilles caulinaires sont brièvement pétiolées, moins divisées. Les feuilles au sommet peuvent même être simples sessiles (sans pétiole). Involucre blanchâtre à folioles linéaires. Les rameaux portent à leurs extrémités des petits capitules globuleux. Elles sont vert grisâtre au-dessus et vert argenté, presque blanches et soyeuses, sur le dessous.



Figure 2 : Feuilles d'*A. absinthium* [Larbi.2016].

I .5.2.2. L'appareil reproducteur de l'*A. absinthium*

✚ **Fleur et inflorescence :** Les fleurs sont jaunes (figure3) tubulaires. la floraison a lieu de juillet à septembre. Inflorescence en petits capitules (composée) globuleux souvent pendants , à leur tour réunis en grappes ou longs panicules feuillés et ramifiés , parfois terminales . bractées florales en rangs peu nombreux avec Pappus souvent présent [Bordez, 1753].



Figure 3 : Fleurs d'*A. absinthium* [Larbi.2016].

✚ **Fruits et graines :** Le fruit est un akène. fruit sec non soudé à la graine dont la dissémination est de type barochore. Les graines tombent à côté de la plante en automne [Bordez, 1753].

I.5.3. Description géographique

A. absinthium est une plante originaire des régions continentales à climat tempéré d'Europe, d'Asie et d'Afrique du Nord [Sharopov *et al* , 2012]. On la trouve aussi sur la côte Est des États-Unis [Iserin , 2001]. Nord de l'Asie, et se prolonge vers l'Ouest jusqu'à l'Atlantique [Soijwan, 1948 ;Wehmer, 1950].

I.5.4.Exigences écologiques

I.5.4.1.Exigences climatiques

La plantation de *A. absinthium* exige des endroits bien ensoleillés ; une terre souple et légère. la plante aime les sols riches en azote, elle peut pousser dans les régions à faible pluviosité et sa culture est possible également dans des zones arides et sèches [Skiredj *et al* . 2002].

I.5.4.2.Exigences édaphiques

A. absinthium n'est pas exigeante en sol, elle pousse dans les plaines , montagnes , pentes régions secs et arides terrains rocheux et le bord des routes .Elle réussit sur des sols acides et sols argileux calcaires . Cette plante est disséminée également dans les régions incultes. Elle est même indiquée pour mettre en valeur les terrains pauvres et inaptes aux autres cultures [Skiredj *et al* . 2002].

I.5.5. classification botanique

La classification d'*A absinthium* est montrée dans le tableau suivant : [Guignard, 1983]

Tableau I.3 : Classification de l'*A. absinthium*

Règne	Plantae
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae ou composée</i>
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>Artemisia absinthium</i>

I.5.6. Nomenclature

I.5.6.1.Noms scientifiques

Elle est connue sous plusieurs noms : *Artemisia absinthium* var. *insipida* Stechm. [The Plant List, 2012]; *Absinthium officinale* ; *Absinthium vulgare* ; *Artemisia pendula*. [Tela Botanica, 2019].

I.5.6.2. Noms communs

- **Arabe:** Chiha coracani , Chaibet el Adjouz , Degnatech Cheik, Chiba, Chadjert Merieme [Chemour .2005].
- **Français:** Absinthe, grande absinthe, herbe sainte, absinthe suisse, alvine armoise amère [Ghédira et Goetz. 2016].
- **Anglais :** Wormwood [Quinlan *et al.* 2002].
- **Allemand :** Wermut [Gilly.2005].
- **Italien :** Assenzo [Gilly .2005].

I.5.7. Les compositions chimiques

A. absinthium contient des principes amers, qui ajoutent leurs effets à ceux des constituants aromatiques pour lui donner des vertus apéritives et cholérétiques [Baba Aissa.1991]. Le plus connu est l'absinthine, qui est une lactone sesquiterpénique [Muto *et al.* 2003 ; Schauenberg et Paris 2005]. D'autres constituants ont été aussi identifiés, il s'agit des flavonoïdes, des caroténoïdes et des lignanes [Gilani et Janbaz, 1995], ainsi que des sels minéraux, des acides organiques (succinique, ascorbique, acétique, malique, etc.) et des tannins [Valnet. 1992 ; Ko *et al.* 2006 ; Lachenmeier *et al.* 2006].

Les principaux constituants chimiques d'*Artemisia absinthium* sont consignés dans le tableau suivant [Ghédira et Goetz ; 2016] :

Tableau I .4: Constituants chimiques principaux d'*A. absinthium*.

Familles de constituants chimiques	Constituants chimiques
Principes amers : (0,15 à 0,4% ; indice d'amertume de 10 000 à 15 000)	Lactones sesquiterpéniques dimères de type guaianolide : absinthines A – E (0,20 à 0,28%), isoabsinthine, absintholide et arténolide Lactones sesquiterpéniques monomères : artabsine, artanolide, désacétylglobicine, parishines B et C.
Huile essentielle (0,2 à 1,5%)	α et β -thuyone (33,1–59,9% dans le chémotype à β -thujone), chamazulène, acétate de trans-sabinène (18,1–32,8%), myrcène, cis-époxy-ocimène, acétate de chrysanthényle, thuyol, linalol, 1,8-cinéole, α -bisabolol, β -pinène, β -curcumène, spathulénol, trans-sabinène
Flavonoïdes	myricétine, quercétine, kaempférol, rutine, hespéridine, naringénine

Acides phénols	Acides salicylique, cafeique, gallique, p-coumarique, férulique ,vanillique, β -resorcylique et protocatechuique
----------------	--

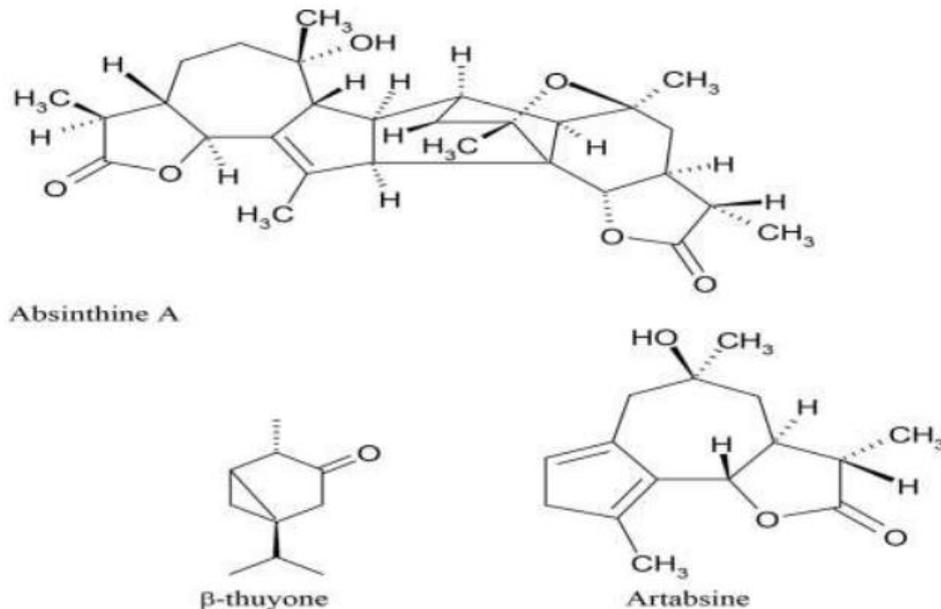


Figure 4 : Structures des principaux constituants d'*Artemisia absinthium* L. [Ghédira et Goetz ; 2016]

I.5.8. Utilisation d' *A. absinthium*

L' *A. absinthium* est utilisée comme agent aromatique dans le vin et les boissons alcoolisées. Et dans les boissons gazeuses moindre mesure et certains aliments, les confiseries et les desserts en particulier [Cardanovic *et al*, 2005].

- ✚ Au Moyen-âge, le vin d'*A. absinthium* était une boisson courante, composé principalement de grande absinthe. IL était prescrit pour ouvrir l'appétit ou soulager une mauvaise digestion.
- ✚ Aujourd'hui, l'essence d'*A. absinthium* est utilisée comme anti-inflammatoire dans beaucoup de produits pharmaceutiques disponibles librement.
- ✚ Elle est appréciée lors de problèmes digestifs (flatulences, ballonnements), ou pour relancer l'appétit grâce à l'effet stimulant (boire une tisane d'absinthe 30 minutes avant le repas).

A. absinthium possède des propriétés médicales et biologique liées à l'activité antihelminthique [Tariq *et al*, 2009], antifongique [Kordali *et al*, 2005], antimicrobienne [Lopez-Lutz *et al*, 2008], cholérétique, balsamique, dépurative, antiseptique, digestive , diurétique et emménagogue. L'extrait de l'*A. absinthium* a été

utilisé comme relaxant musculaire, ou sédatif doux pour traiter l'anxiété [Dewick, 2001 ; Lawless, 1999].

I.5.9. Toxicité de la plante

Quelques études de toxicité d'*Artemisia* à court terme sont disponibles. *L'A. absinthium* n'a montré aucun effet toxique. Cependant, l'incertitude persiste à cause de la présence du thuyone dans l'HE, qui possède des effets neurotoxiques [Lachenmeier, 2010]. Ainsi que l'abus de l'absinthe expose à de nombreux désordres (absinthisme), qui se traduisent par de graves perturbations psychiques, motrices et sensorielles, qui mènent à la déchéance totale de l'individu [Gambelungh et Melai, 2002; Lachenmeier *et al.*, 2006].

I.6. Les huiles essentielles

I.6.1. Définition

- **Huile** : ce terme provient du fait que les substances volatiles sont visqueuses.
- **Essentielle** : reflète le caractère des odeurs que dégage les plantes.

On les appelle couramment : essences, essences végétales, huiles ou essences aromatiques, parfums, huiles volatiles [Bruneton, 2009].

L'huile essentielle (HE) est un produit obtenu à partir de matière première végétale (fleurs, bourgeons, graines, feuilles, brindilles, écorce, herbes, bois, fruits et racines) soit par entraînement à la vapeur soit par des procédés mécaniques, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par un procédé physique [afnor, 2000].

I.6.2. Les facteurs influençant la composition chimique d'HE

La composition chimique, la qualité et la quantité extraite d'une huile essentielle dépendent de plusieurs paramètres. Les principaux facteurs de variabilité de cette composition sont d'origine intrinsèque et extrinsèque : le génotype, l'environnement, l'origine géographique, la période de récolte, la température et la durée de séchage ainsi que le mode d'extraction [Oussalah *et al.* 2006].

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'HE tels que: la température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition chimique du sol, la partie de la plante utilisée, le cycle végétatif de la plante, la méthode d'extraction [Bruneton , 1999], le mode de récolte et les conditions de transport [Yayiet *al.* 2004]. Les changements les plus importants interviennent pendant l'hydro distillation sous l'influence des conditions opératoires, notamment du milieu (l'acidité, la température) et de la durée d'extraction [Chemat *et al.* 2007 ; Lagunez.2006].

I.6.3. Méthodes d'extractions des huiles essentielles

Les méthodes d'extraction des huiles essentielles obéissent à des normes comme celle de l'AFNOR NF T 75-006 qui précise que seul l'entraînement à la vapeur, les procédés mécaniques et la distillation à sec peuvent produire une huile essentielle [Sutour, 2010].

I.6.3.1. L'hydrodistillation

Il s'agit de mettre le matériel végétal à l'intérieur d'un alambic rempli d'eau et qui est porté ensuite à ébullition. L'huile essentielle se sépare par différence de densité après la condensation des vapeurs hétérogènes sur une surface froide [Bruneton, 2009].

I.6.3.2. Entraînement à la vapeur d'eau

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle » qui est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique [Lucc, 2005].

Il existe d'autres méthodes d'extraction des huiles essentielles telles que :

- Extraction par solvant.
- Extraction par les fluides supercritiques.
- Extraction par micro-ondes.



Chapitre II :
Travaux antérieurs

Chapitre II : Travaux antérieurs.

II.1. Les huiles essentielles d'*Artemisia absinthium*

De nombreux travaux ont été effectués sur l'HE d'*Artemisia absinthium* pour déterminer la composition chimique de l'HE extraite, les propriétés physico-chimiques, et les différents effets sur cette huile. Nous présentons ci-après quelques-uns.

II.2. 1.Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* en l'Algérie

L'analyse de l'huile essentielle collectée, en mars 2012 à Cherchell (Tipaza) montre la dominance des Béta thujone (60,82%) chez l'*A. absinthium* [Bouchenak *et al.*, 2018] L'analyse de l'HE d'*A. absinthium*, récoltée de la région de Bousfer(Oran) mois de juin a permis d'identifier le chamazulène (25,2%) comme composé majoritaire [KHaroubi, *et al.*, 2008]. L'HE d'*A. absinthium* de la région de Batna (Timgad) est composée principalement de camphre (44,93%). [khebri . 2011]. La composition chimique de L'huile essentielle de la même plante en Algérie varie d'une région à une autre .Les principaux constituants de l'HE sont présentés dans le tableau II.1.

Tableau II.1 : Composition chimique de l'HE d'*A. absinthium* d'Algérie.

Composés	Batna			Tipaza			Oran	
	Ik	IR	Aire%	Ik	IR	Aire%	TR	Aire%
Camphène	954	10,615	2,876	938	6,01	0,05	5,03	2,65
Sabinène	975	11,421	0,193	965	6,24	0,18	5,12	0,67
béta pinène	979	11,590	0,144	902	6,78	0,1	/	/
Myrcène	991	12,001	3,409	/	/	/	/	/
alpha terpinène	1017	12,974	2,225	/	/	/	5,47	0,12
p-cymène	1025	13,210	1,350	1829	47,43	4,29	/	/
Limonène	1029	13,362	0,580	/	/	/	6,17	4,67
1,8-cinéole	1033	13,483	0,190	1030	9,12	1,28	/	/
gamma terpinène	1060	14,336	4,161	/	/	/	6,23	0,78
Terpinolène	1089	15,221	0,967	/	/	/	/	/
Linalol	1097	15,691	3,702	/	/	/	/	/
Borneol	/	/	/	1246	21,2	0,24	6,97	2,90
Camphre	1146	17,271	44,935	/	/	/	/	/
endobornéol	1169	17,961	1,307	/	/	/	/	/
terpinène-4-ol	1177	18,218	9,449	/	/	/	/	/
alpha terpinéol	1195	18,625	0,886	1177	16,55	0,58	/	/

Béta thujone	/	/	/	1112	13,66	60,82	6,83	9,72
alpha copaène	1377	23,595	0,260	/	/	/	/	/
Bétacaryophyllène	1418	24,742	0,257	/	/	/	/	/
germacrène-D	1485	26,259	2,089	/	/	/	/	/
norcalacorène	/	/	1,151	/	/	/	/	/
Chamazulène	1719	31,93	7,727	1716	37,34	16,65	16,38	25,2

IR : Indice de rétention ; IK : Indice de Kováts ; TR : le temps de rétention.

II.2.2.Composition chimique de l'HE d'*A. absinthium* de divers pays

De nombreuses études consternant le profil chimique d'*A. absinthium* des différentes régions du monde ont été menées. Le tableau suivant rassemble les teneurs en principaux constituants pour les différents pays : [Khebri, 2011].

Tableau II.2: Principaux composés de l'huile essentielle d' *A .absinthium* de divers pays [Khebri, 2011].

origine	Sabinène	Myrcène	1,8 cinéole	Linalol+ Alpha - Thujone	Béta - Thujone	Epoxy-ocimène	Acétate de sabinène	Curcumène	Butanoate De Neryle
Estonie	21,2	25,6	-	-	-	-	-	-	-
France	-	-	-	10,3	-	-	-	11,3	13,9
Hongrie	18,1	17,7	-	-	-	-	-	-	-
Belgique	9,3	-	-	-	-	-	18,6	-	-
Russe	9,3	-	-	-	-	22,1	-	-	-
Scotland	30,1	18,0	-	-	-	-	-	-	-
Armenia	-	-	-	6,1	-	-	34,2	-	-
Espagne	-	-	18,0	10,9	6,2	-	-	-	-
Moldova	9,2	38,9	-	-	-	-	-	-	-

Le composé majoritaire enregistré à Scotland est :Sabinène(30,1%), pour l'Arménie c'est l'Acétate de sabinène(34,2%) et pour la Moldovie c'est le Myrcène(38,9%)[Khebri, 2011]. Cette variabilité de la composition chimique de l'huile d'absinthe est due à divers paramètres intrinsèques(Matériel végétal et la partie de la plante utilisée ,le stockage des matières premières avant distillation...), extrinsèques(température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la pluviométrie, la composition du sol et la méthode utilisée pour l'extraction...) et à l'origine des plantes.

II.3. Caractérisation organoleptique des HE d'*A. absinthium*

Les résultats des propriétés organoleptiques obtenus par l'étude d'*A. absinthium* sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau II.3: Caractéristiques organoleptiques des différentes espèces d'*Artemisia*.

Plante	Caractère organoleptique		
	Odeur	Apparence	Couleur
<i>Artemisia absinthium</i> [Vanhove. 2013]	Forte	Liquide	Vert foncé à vert brun
<i>Artemisia herba Alba</i> Asso[Goudjil,2016]	Forte	/	Jaune Foncé
<i>Artemisia campestris</i> [Khaldi, 2017]	Forte	Liquide	Jaune pale

II.4. Propriétés physico-chimiques d'huile essentielle d'*A. absinthium*

Les propriétés physico-chimiques tels que : le pouvoir rotatoire, l'indice de réfraction, l'indice d'acide, l'indice d'ester, l'indice de carbonyle,...etc., constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle. Ces essais sont déterminés selon un protocole précis et obéissent à des normes édictées par l'Organisation Internationale de Normalisation (I.S.O).

Tableau II.4: Caractéristiques physico-chimiques de l'HE d'*A. absinthium*.

Spécification	<i>Artemisia absinthium</i>
Densité à 20°C [Vanhove. 2013].	0,916-0,938 (moyenne, absinthe sauvage)
Miscibilité dans l'alcool [Vanhove. 2013].	minimum 90°/difficile d'obtenir une bonne miscibilité avec absinthe sauvage/cultivé: 2 Vol Ethanol 80°
Pouvoir rotatoire à 20°C [Vanhove. 2013].	-16°à40° (absinthe sauvage)
Point éclair [Vanhove. 2013].	64 °C
Indice de réfraction [Larbi <i>et al.</i> , 2016].	1,375
Indice d 'acide [Larbi <i>et al.</i> , 2016]	2,2
Indice d 'ester [Larbi <i>et al.</i> , 2016]	26,6

L'indice d'acide (IA) donne une idée sur le taux des acides libres dans l'HE. Une valeur élevée indique une dégradation d'HE (hydrolyse des esters) durant sa conservation. Dans

cette étude la valeur d'indice d'acide est faible ce qui prouve une bonne conservation de l'huile essentielle [Afnor, 1986].L'indice d'ester de cette HE est très élevé (26,6).

II.5. Rendement en huile essentielle d'*A. absinthium*

Le rendement en huile essentielle d'*A. absinthium* extrait par hydro-distillation dans différentes régions est présenté dans le tableau II.5.

Tableau II.5 : Le rendement d'*A. absinthium* dans différentes régions.

	Régions	Rendements (%)	Référence
Algérie	Tipaza	0,5	[Bouchenak <i>et al</i> , 2018]
	Batna	1,5	[Khebri , 2011]
	Blida (SOUMAA)	0,52	[Larbi <i>et al</i> , 2016]
Monde	Ethiopie	1,39	[Tariku <i>et al</i> , 2011]
	Tunisie :		
	Gafsa	1,24	[ORAV <i>et al</i> ,2006]
	Kasserine	1,87	
	Canada	0,3 à 0,5	[Lopes-Lutz <i>et al</i> ,2008]
Maroc	0,5	[Derwiche <i>et al</i> ,2009]	

Le rendement de l'HE d'*Artemisia absinthium* de Batna est le plus élevée (1, 5) par rapport aux autres régions algériennes. Le rendement le plus élevé d'HE est enregistré chez *A. cana*(1,3 %) et *A.frigida*(1,5 %). Par contre, le rendement de la partie aérienne d'*A.absinthium*, *A.biennis*, *A.dracunculus*, *A.longifoliae* *A. ludoviciana* est compris entre (0,3-0,5%) [Lopes-Lutz, 2008].Les variations des rendements peuvent être attribuées non seulement à l'origine géographique de la plante, mais également aux nombreux facteurs comme : le stade de croissance, les conditions pédoclimatiques, l'état de fraîcheur du végétal, etc... [Bruneton,1999].

II.6.Extraction de l'huile essentielle d'*A absinthium* par hydrodistillation

II.6.1.Les paramètres influençant le rendement en HE

Les paramètres qui influent sur le rendement en huile essentielle sont :

- ✚ La masse végétale.
- ✚ Le temps d'extraction (la cinétique d'extraction).

II.6.1.1. L'influence de la masse végétale

Le rendement en HE varie inversement avec l'augmentation de la masse de la matière végétale, il est maximal lorsque la masse est égale à 50g. Lorsque la masse augmente les rendements diminuent. Cela est dû probablement au tassement de la matière végétale. En effet, un tassement insuffisant ou excessif de la matière végétale impose à la vapeur d'emprunter des chemins préférentiels, sans entrer en contact effectif avec l'ensemble de la matière végétale, et par conséquent le rendement diminue. [Larbi, Gawabri. 2016].

II.6.1.2. Evolution de rendement en HE en fonction de la durée d'extraction (cinétique)

En théorie, la durée d'extraction est le temps nécessaire à la récupération de la totalité de l'huile contenue dans la matière végétale. Or en pratique, il est difficile de récupérer tout l'huile. Ce temps correspond alors au moment pour lequel nous n'observons plus d'huile dans le distillat. Il détermine la fin du processus. [Larbi, Gawabri. 2016].

II.7. Activités biologiques de l'huile essentielle d'*A. absinthium*

II.7.1. Activité antioxydante

A. absinthium a été étudiée par divers auteurs. [Kordali *et al.* 2005] ont mené une étude afin de montrer l'activité anti oxydante de l'HE de l'*A. absinthium* provenant de la Turquie. Il a été constaté qu'il est difficile de déterminer les composants responsables de l'activité anti oxydante. L'HE d'*A. absinthium* riche en composants phénoliques a montré qu'elle présente une forte activité antioxydante. La thuyone peut être le responsable de l'effet antioxydant car l'absence de ce composé dans quelques espèces d'*Artemisia* est fortement liée au faible taux d'activité antioxydante. Lopes-Lutz *et al.* [2008] ont confirmé dans une étude une faible activité antioxydante de l'huile d'*A. absinthium* à la présence de quelques composés non phénoliques tels que le 1,8-cinéole, l' α -pinène, β -pinène, le terpinèn-4-ol et le P-cimène.

Une autre étude s'est elle aussi penchée sur l'activité antioxydante, l'étude du pouvoir anti radicalaire en utilisant trois méthodes la technique de piégeage du radical libre DPPH, ABTS, et CUPRAC. L'étude de l'activité anti radicalaire a donné une bonne efficacité antioxydante avec un (DPPH IC50%=62.66±2.55 μ g/ml) (ABTS IC50%= 41.57±0.97 μ g/ml) (CUPRAC A050%= 38.15±0.79 μ g/ml). Ces méthodes ont confirmé les propriétés puissantes que possèdent les polyphénols à piéger les radicaux libres. Cette étude a montré que *A. Absinthium* est très riche en différents composés métaboliques et présente une bonne activité antioxydante [Belaidi *et al.*, 2018].

II.7.2. Activité antimicrobienne

L'effet antimicrobien de l'huile essentielle d'*A. absinthium* provenant de la Croatie a été constaté et décrit par différents auteurs [Kaul *et al.*, 1976]. Selon ces auteurs, le taux élevé de thuyone est la principale cause de l'activité antimicrobienne de l'huile.

Une étude a été menée afin de montrer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *L'A. absinthium* provenant de la Turquie. Ils ont constaté que cette HE a un pouvoir antifongique vis-à-vis de toutes les espèces fongiques testées [Kordali *et al.*, 2005].

D'autres études au centre agricole Scotlandais mettant l'accent sur la nature antimicrobienne des huiles volatiles ont révélé que l'huile d'Absinthe africaine, constituée d'un mélange de mono-terpènes, est active contre plusieurs souches bactériennes entre autre: *Escherichia coli*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Brevibacterium linens* et *Yersinia enterocolitica* [Khebri, 2011].

L'extrait d'*A. absinthium* a été testé pour un éventuel effet antimicrobien, par la méthode de diffusion sur gélose contre des souches pathogènes référencées: deux bactéries *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (ATCC 9392) et une levure *Candida albicans* (ATCC 24433). L'activité antimicrobienne de l'HE de l'*A. absinthium* s'est avérée plus efficace contre *B. subtilis* (16,36 mm de diamètre de zone d'inhibition) comparativement à *S. aureus* (13,42 mm) et *Candida albicans* (13,56 mm). La nature de l'activité exercée par cette huile diffère d'une souche à une autre, elle est bactéricide sur *B. subtilis*, bactériostatique vis-à-vis de *S. aureus* et fongistatique à l'égard de *C. albicans*. L'association de cette huile essentielle avec un antibiotique de synthèse, le Primazolfort a révélé un effet synergique sur *B. subtilis* (avec une zone d'inhibition de 18,4 mm de diamètre). Ce qui suggère l'usage de cette huile comme agent antiseptique ou complément thérapeutique et d'envisager leurs applications dans des domaines pharmaceutique et agronomique [Sebkhii *et al.*, 2014].

II.7.2.1. Activité antibactérienne

Artemisia absinthium présente des propriétés antibactériennes très intéressantes. Les antibiotiques traditionnels étant victimes de plus en plus de multi-résistances, beaucoup d'études se sont donc penchées sur cette plante. Dans *A. absinthium* une molécule a donc été isolée : l'acide dicaféylquinique (appelée également Cynarine présent dans l'artichaud (*Cynarascolymus* L.). Cette molécule présente une forte activité inhibitrice de la pompe à efflux. En effet cette molécule montre une liaison préférentielle avec le principal facilitateur de la pompe à efflux, un des facteurs clé de multi résistance chez les bactéries Gram⁺ [Flamegos, 2011]. C'est d'ailleurs pour cette raison que dans l'ensemble *A. absinthium* est plus active sur les bactéries pathogènes à gram⁺ [Moslemi, 2012] en particulier *S. aureus* et *S. epidermidis* [Lopes –Lutz, 2008] mais elle démontre aussi une activité, certes moindre, face à quelques bactéries Gram⁻.

En ce qui concerne le Staphylocoque doré (*S. aureus*), des études ont démontré chez le rat infecté au niveau d'une plaie dorsale, qu'une application locale (au niveau de la plaie) deux

fois par jour d'extrait *A. absinthium* produisait une action antibactérienne significative [Moslemi, 2012] et d'autres études ont démontré qu'*A. absinthium* agissait également sur les souches de *S. aureus* résistantes à la pénicilline [Mouakite, 1986].

D'autres molécules présentes dans l'HE agissent comme des antibiotiques (ce ne sont pas des inhibiteurs de la pompe à efflux mais des molécules ayant une activité antimicrobienne et inhibant la croissance des bactéries) tels que la thuyone, le linalol, le beta-caryophyllène [Blagojević, 2006] et l'acide chlorogénique [Fiamengo, 2011]. Ce sont ces molécules qui vont agir sur certaines bactéries à gram $\bar{}$ comme par exemple *Escherichia coli* [Blagojević, 2006], *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* [Mouakite, 1986].

II .7.2.2. Activité antifongique

On a également pu constater un effet fongicide contre *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* [Bailen *et al.*, 2013], *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Aspergillus niger* et sur des Dermatophytes comme *Trichophyton rubrum*, *Microsporium canis* et *Microsporium gypseum* [Lopes-Lutz *et al.*, 2008].

Selon le comité national des laboratoires chimiques de standardisation, les huiles essentielles riches en alpha et beta-thuyone, en linalol et en beta-caryophyllène inhibent de façon significative la croissance fongique et bactérienne [Blagojević *et al.*, 2006]. (Tableau II.6).

Tableau II.6 : Zones d'inhibition de la croissance des micro-organismes en millimètres [Lopes-Lutz *et al.*, 2008].

Micro organismes	type	<i>A. absinthium</i>	<i>A. cana</i>	<i>A biennis</i>
<i>Candida albicans</i>	Levure(champignon)	13 ±0,7	10±0,0	13± 0,7
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Levure(champignon)	14±1,4	14±0,7	20±0,0
<i>Aspergillus niger</i>	Moisissure(champignon)	18±0,7	13±0,7	25±1,4
<i>Trichophyton rubrum</i>	dermatophyte	27±1,4	20±0,0	40±1,4
<i>Microsporium canis</i>	dermatophyte	28±1,4	10±0,0	40±2,1
<i>Microsporium gypseum</i>	dermatophyte	17±1,7	10±0,0	28±1,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérie/Gram +	25 ±1,4	12±0,7	20±1,4

<i>Staphylococcus epidermis</i>	Bactérie/Gram +	20± 0,7	8±0,7	5±0,7
<i>Escherichia coli</i>	Bactérie/Gram -	5±0 ,0	9±0,7	5± 0,0

II.7.3. Activité anthelminthique

Une étude a été réalisée pour évaluer l'efficacité anthelminthique des parties aériennes d'*A. Absinthium* par rapport à l'albendazole contre les nématodes gastro-intestinaux (GI) de mouton a touché le test d'inhibition de la motilité des vers a été utilisé pour étudier les effets directs d'extraits de plantes sur la survie des nématodes adultes dans des conditions in vitro et le test de réduction du nombre d'œufs fécaux afin d'étudier les effets sur le rendement en œufs fécaux des nématodes gastro-intestinaux dans des conditions in vivo [Tariq *et al*, 2008].

Des effets anthelminthiques significatifs du CAE et du CEE sur des vers adultes d'*Haemonchus contortus* vivants ($P < 0,005$) ont été observés en termes de paralysie et/ ou de mort des vers à différentes heures après le traitement (PT). Cependant, les CEE étaient plus efficaces que le CAE. L'administration orale d'extraits chez le mouton a été associée à une réduction significative de la production d'œufs fécaux par les nématodes gastro-intestinaux. Le CEE était aussi efficace que le médicament de référence, l'Albendazole et démontrait une réduction du nombre d'œufs fécaux (FECR) de 90,46% chez les ovins à 2,0 g kg (-1) de poids corporel au jour 15 suivi de 82,85% du FECR à 1,0 g kg (- 1) pc au jour 15PT. Le CAE présentait une activité moindre et donnait un maximum de 80,49% de FECR à 2, 0 g kg (-1) pc. La posologie a eu une influence significative ($P < 0,05$) sur l'efficacité anthelminthique d'*A. absinthium*. La meilleure activité de la CEE peut être attribuée à la concentration plus élevée de principe anthelminthique actif soluble dans l'alcool et à une absorption transcuticulaire plus rapide de la CEE dans le corps des vers par rapport au CAE. Les résultats de la présente étude suggèrent que les extraits d'*A. Absinthium* sont une alternative prometteuse aux anthelminthiques disponibles dans le commerce pour le traitement des nématodes gastro-intestinaux du mouton [Tariq *et al* ., 2009].

II.7.4. Activité insecticide

L'activité insecticide de l'huile essentielle d'*A. absinthium* a été déterminée par Derwiche *et al*. [2009], est dû essentiellement à l'abondance de thuyone, l'acétate de sabinyl et aussi à tous les constituants chimiques contenus dans huile.

Une étude a été réalisée par Dhen, Mjdoub en 2014 ; ces auteurs ont rapportés que la potentialité insecticide de l'huile essentielle de l'*A absinthium*, a été investiguée contre deux insectes ravageurs à savoir *Rhyzopertha dominica et spodoptera littoralis*. L'huile essentielle de l'*A absinthium* a montré une forte toxicité par fumigation contre les adultes de *R.dominica*, un insecte des denrées stockées, avec des concentrations létales CL50 de 18,23µ/l d'air et CL90 de 41,74µ/l d'air [Oana craciunexu *et al*, 2012-Dhen *et al*, 2014].

II.7.5. Activité acaricide

Les huiles essentielles ont été extraites selon trois méthodes: un procédé assisté par micro-ondes (MAP), une distillation dans l'eau (DW) et une distillation directe à la vapeur(DSD), et ont été testées pour déterminer leur toxicité relative en tant qu'acaricides de contact .Le Tétranyque à deux points, Tetranychusurticae Koch. Les trois extraits d'*A.absinthium* ont été mortels pour le Tétranyque, mais à des degrés variables. La CL50 obtenue à partir de l'huile DSD d'*A. absinthium* était nettement inférieure (0,04 mg/cm²) à celle des huiles MAP (0,13mg/cm²) et DW (0,13 mg/cm²) de cette espèce végétale [Chiasson *et al*, 2001].

II.8. Etude biologique de 3 espèces d'*Artemisia*

Une étude a été réalisée pour évaluer in vitro le pouvoir antimicrobien et antioxydant des trois huiles essentielles d'*Artemisia* : *Artemisia herba alba*, *Artemisia absinthium*, et *Artemisia campestris* récoltée de la région de Batna(Timgad), durant la période :Mai-Septembre2008. [Khebri .2011].

➤ Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu solide [Mighri *et al* .2010]. Les résultats des tests d'inhibition des souches bactériennes par les différentes huiles essentielles sont regroupés dans le tableau II .7.

Tableau II .7 : Diamètres d'inhibition (en mm). [Khebri . 2011].

Souches	HE AHA	HE ABS	HE AC
<i>E.coli</i>	17.66±0.577	15.66±1.547	<6
<i>S. aureus</i>	36±0.000	16.33±0.577	<6
<i>Serratia.sp</i>	13±0.000	15±0.000	<6
<i>Klebsiella Pneumoneae</i>	15.33±0.577	16±1.000	<6
<i>Enterobacter.sp</i>	22.66±1.547	15.66±0.577	<6
<i>Sterptocoque sp</i>	20.66±1.547	20.66±0.577	7.66±0.577
<i>Heamophilus influenzae</i>	28±0.000	24±0.000	<6
<i>Klebsiella pneumoneae</i>	17.33±0.000	19.66±0.577	<6

<i>Pseudomena Aeruginosa</i>	<6	<6	<6
----------------------------------	----	----	----

- L'HE d' *A .compestris* n'a manifesté aucune activité antibactérienne Contre toutes les souches de la collection (D<6mm). Ce qui concorde en partie avec les résultats rapportés par Akrouit [Akrouit *et al.*2010], cependant leur huile a montré une activité non négligeable vis-à-vis d'*E.coli* (D = 18mm). Cette passivité de l'HE d'*A.campestris*, même vis-à-vis d'*E.coli* qui est une bactérie très susceptible, est vraisemblablement due à sa composition chimique caractérisée par un très faible taux en produits oxygénés (0.31%). Il est également à noter, que du point de vue physico-chimique, cette huile présente un aspect plus visqueux que les autres huiles, ce qui empêche en partie sa diffusion dans le milieu. Le diamètre d'inhibition peut être également affecté par la volatilité des hydrocarbures monoterpéniques. Qui ne présentent que de faibles interactions moléculaires.

-L'HE d'*A. herba alba* s'est montrée active contre toutes les souches testées mis-à-part la souche *Pseudomonas. aeruginosa*. Cette dernière a manifesté une résistance contre toutes les huiles testées. La résistance des souches *Pseudomonas.a* aux HE n'est pas surprenante ; cette bactérie possède une résistance intrinsèque aux agents biocides, qui est en relation avec la nature de sa membrane. [Zouari *et al* .2010]. La sensibilité des microorganismes est variée pour l'huile de l'armoise blanche, les diamètres d'inhibition sont compris entre 13 et 36 mm [Khebri .2011].

-L'HE d'*A .absinthium* inhibé toutes les souches avec des diamètres variés. Son activité antibactérienne est importante puisque les diamètres d'inhibition sont supérieurs à 15mm. Notons que l'inhibition est maximale pour la souche *Heamophilus* avec une valeur moyenne de 24mm, pour *Streptocoque*, elle est de 20mm. Le reste des souches sont presque de sensibilités identiques (15<D<19mm) et sont donc très sensibles [Khebri .2011].

-Les huiles d'*A. herba alba* et celle d'*A. absinthuim* présentent une similarité quant à leurs activités antibactériennes. Ceci est prévisible vue la similarité de leurs profils chimiques; dominés essentiellement par le camphre (29,14%) et (44,93%) respectivement [Khebri .2011].

Des données plus précises sur les propriétés antibactériennes de nos huiles ont été obtenues par la détermination des valeurs des CMI (concentration minimale inhibitrice) qui sont rassemblées dans le tableau II.8.

Tableau II.8 : Les CMI en mg/ml [Khebri .2011].

CMI mg/ml Souhes	AHA	ABS
<i>E.coli</i>	1.78	3.83
<i>Serratia</i>	1.78	5.75

<i>Klaebssiella</i>	7.12	7.67
<i>Enterobacter</i>	7.12	7.67

L'HE d'A .*herba alba* a exhibé des concentrations plus faibles que celle de L'A. *absinthium*, et les plus faibles paramètres ont été obtenus pour les souches *E.coli* et *serratia* avec des valeurs de CMI de 1,78 mg/ml. Les plus fortes valeurs de 7,12 mg/ml sont associées aux souches résistantes type BLSE.

➤ Activité antifongique

La méthode de diffusion en milieu solide a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antifongique (contre les souches : *Candida albicans*, et *Candida kefyre*).

Les résultats illustrés dans le Tableau II.9, à montré que les deux souches *Candida*, sont sensibles aux HE d'A .*herba alba* et d' A. *absinthium*, cependant les deux levures ont montré une résistance à l'HE d'A .*campestris*. Ce ci peut être attribué au profil chimique de cette huile et sa nature visqueuse.

Tableau II.9 : Variation des diamètres d'inhibition des levures en fonction d'HE (en mm) [Khebri .2011].

HE (10 µL)	AHA	ABS	AC
Levures			
<i>Candida albicans</i>	29.66 ± 0.577	22.33 ± 0.577	06.00± 00.00
<i>Candida kefyre</i>	30.33 ± 0.577	18.66 ± 1.154	06.00± 00.00

L'HE d'A.*campestris* n'a manifesté qu'une très faible activité Fongicide par rapport aux autres huiles testées. Ce ci peut être attribué au fait que sa teneur en composés oxygénés est relativement faible [Akrouit *et al.*2010]. Par contre les deux HE d'A.*absinthium*, et d'A.*herba alba* ont exercé une forte activité fongicide contre les deux levures : *Candida albicans*, et *Candida kefyre*. Cette activité pourrait être attribuée au camphre qui est le produit majoritaire dans le profil chimique des deux huiles, et par la richesse en composés oxygénés. [Pauli.2006]

➤ Activité antioxydante

L'Activité antioxydant des trois huiles essentielles d'*Artemisia* on été évaluées par deux techniques différentes [Khebri .2011] :

-Le test de blanchissement du β -carotène.

-Le test de piégeage du radical libre DPPH (1,1-diphényl-2-picryl-hydrasyl).

La cinétique de blanchissement du β - carotène en présence et en absence des huiles essentielles, d'antioxydant standard (BHT) et les activités antioxydants relatives(AAR). Les résultats montrent que l'antioxydant standard, et les huiles essentielles testées inhibent d'une manière significative ($p < 0.001$) l'oxydation couplée de l'acide linoléique et le β -carotène par rapport au contrôle négatif qui représente 100% de la peroxydation.

L'HE d'*A .absinthium* montrent plus grande activité inhibitrice avec des AAR de : (46.87%) respectivement ce huile ne présentent pas une différence significative dans leur activité ($p < 0.05$), mais cette activité reste significativement inférieure à celle du BHT (100%) utilisé comme contrôle positif. Une activité antioxydante intermédiaire a été obtenue avec l'HE d'*A herba alba* (33.84%) mais significativement supérieure à celle de l'HE d'*A .campestris* (18%)[Khebri .2011].

L'activité anti radicalaire des huiles essentielles d'*Artemisia* vis-à-vis du radical DPPH à été suivie spectro photo métriquement à 517 nm, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par le changement de couleur : du violet au jaune. L'HE d'*A.absinthium* a témoigné l'activité anti radicalaire la plus élevée (80%) suivie par l'HE de *A. herba alba* (37%) L'HE d'*A.compestris* est doté de l'activité anti-radicalaire la plus faible (18%). Les résultats de l'activité anti-radicalaire de l'HE d'*A.campestris* sont en accord avec ceux obtenus par Akrouit, qui a montré que l'échantillon tunisien est doté d'une faible activité anti-radicalaire moins importante que l'HE d'*A .herba alba*. [Akrouit.2010].

II.9. Utilisation du genre *Artemisia*

II.9.1. Les études pharmacologiques

II.9.1.1. Effets spasmolytiques

Abu-zarga *et al.* , (1995) ont rapporté l'effet spasmolytique d'un extrait aqueux d'*Artemisia monosperma* sur l'iléum, l'utérus et la vessie du rat.

II.9.1.2. Effet Hypotensif

Certains auteurs sont signalés que l'administration intraveineuse (3-30mg/kg) de l'extrait de *l'Artemisia scoparia* dans le mélange eau-méthanol produit des effets d'hypotension et des effets cardiaques et ces effets sont demeurés inchangés chez les animaux traités par l'Atropine. [Gilani *et al.* 1994]

II.9.1.3. Effet hypoglycémique

Alshamaony *et al.*, [1994] ont rapporté l'effet hypoglycémique d'*Artemisia herba alba*. Dans cette étude l'alimentation des rats et des lapins diabétiques avec 0.39 g/kg de poids corporel de l'extrait aqueux des parties aériennes de la plante pendant 2-4 semaines a montré une réduction significative de niveau de glucose dans le sang, empêche l'élévation du niveau glycolyse d'hémoglobine et possède un effet de hypoliposis, en plus de la protection contre la perte de poids corporel d'animaux diabétiques.

II.9.1.4. Effet Hepato protectif

Gilani *et al* [1995] ont rapporté l'activité hepato protective de l'extrait dans (eau-méthanol) de *A.martima* contre l'acetaminophen et des dommages hépatiques induits par le tétrachlorure de carbone.

II.9.1.5. Activité Cytotoxique

Agari *et al* [1995] ont signalé l'activité anticancéreuse des sequiterpene lactones A, B et C séparés des feuilles de *Artemisia argyl*, ces lactones peuvent être employées dans le traitement de la leucémie et des tumeurs pleines.

Ryum *et al.*, [1997] ont rapporté que l'extrait d'*Artemisia princeps* a montré une activité cytotoxique significative contre les lignes cultivées des cellules humaines de tumeur.

II.9.2. Utilisation en cuisine

La consommation journalière d'une décoction préparée à partir des tiges et feuilles d'*A. campestris* permet de réduire les symptômes digestifs. [Saoudi *et al.* 2010]

A. arborescens est connue dans le secteur méditerranéen comme boisson alcoolisée, et a été employée dans la médecine classique comme un antispasmodique, d' autre part, *A. cina* et *A. herba alba* ont une action contre les vers ronds, en particulier les ascarides Lumbercoids [Shilin *et al.*, 1989 ;Abu-Zarga *et al.*, 1971 ; Khafagy *et al.*, 1971].

Dans le nord-ouest de l'Italie, cette espèce est recueillie de façon active ou cultivés pour la production de la plante séchée d'être utilisée comme un ingrédient important dans des boissons alcoolisées ainsi que dans boissons amères. Cette espèce est utilisée également en parfumerie et dans une gamme d'applications alimentaires qui comprennent les soupes, les sauces et salade [Muccairelli *et al* , 1995].



Partie expérimentale



Chapitre III :
Matériels et méthodes

Chapitre III : Matériels et Méthodes

III.1. Procédure expérimentale

Cette étude menée sur l'huile essentielle *d'Artemisia absinthium* vise à valoriser cette plante médicinale et aromatique très répandue en Algérie. Les principaux objectifs sont l'extraction et la récupération des huiles essentielles, la détermination de la qualité de ces huiles extraites et l'étude de leurs activités biologiques (antioxydante, antibactérienne, antifongique).

Le plan de travail suivant est alors suivi :

- ✚ Extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle *d'A .absinthium* récoltée de région d ' Algérie (miliana wilaya de Ain defla).
- ✚ Réalisation des analyses physico-chimiques et chromatographiques sur les huiles essentielles obtenues.
- ✚ L'étude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles par la méthode du DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil).
- ✚ Évaluation des activités antimicrobiennes par la méthode de l'aromatogramme.

III.2. Lieu et période de travail

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de chimie (2) et laboratoire de microbiologie de l'Université de Khemis Miliana et au laboratoire d'analyses médicales (EL RAZI) du 01/03/2020 -01/06/2020.

III.3. Matériels utilisés

III.3. 1. Matériel végétale

- **Identification de l'espèce étudiée**

L'identification botanique de l'espèce *A absinthium* a été confirmée selon Encyclopédie des plantes utiles –Flore d Algérie et de Maghreb. [Baba Aissa, 1999].

- **La récolte d'échantillon**

Notre étude a porté sur la partie aérienne (feuilles et tiges) de *A absinthium* récoltée de la région de miliana de wilaya de Ain defla (Algérie) durant le mois de Février 2020. La date, le lieu et l'heure de récolte d'échantillon sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau III.1 : La date, lieu et heure de récolte des échantillons de *A absinthium*

Echantillon	Date de récolte	Lieu de récolte	Heure de récolte	Température
	13 Février 2020	Miliana	10 :36	23 °C

- **Situation géographique de station de récolte**

La présentation géographique de région d'étude (Ain defla) est donnée au niveau de l'annexe.

Zone d'étude : Miliana (Ain defla).

Miliana est une commune algérienne située au nord de la wilaya d'Aïn Defla, chef-lieu éponyme de daïra de Miliana, elle est située au sud du Dahra, sur les contreforts du mont Zaccar, dominant la vallée du Chelif. La ville se situe à 113 km au sud-ouest d'Alger, à 50 km à l'ouest de Médéa et à 92 km à l'est de Chlef.

Tableau III.2 : Les caractéristiques géographiques des régions de récolte de la plante.

Région de récolte	Superficie (km ²)	Altitude(m)	Latitude	Longitude	climat
Ain defla	4897 km ²	980m	36,2501	2,0907	Climat méditerranéen avec été chaud.
Miliana	55km ²	721m	36,29	2,21	climat Méditerranéen. Les hivers sont doux voire frais, et les étés sont très chaud

III.3.2. Appareillage utilisé

La liste de verreries, produits et appareils utilisés dans cette étude est donnée au niveau de l'annexe.

III.4. Méthodes

III.4.1. Séchage de plante

Après la récolte, L'échantillon ont été nettoyé et égoutter puis étalé sur du papier. Le séchage de la plante est effectué à l'air libre, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Devenu sèche, en conservées dans des sacs propres.



A



B

Figure 5 : *Artemisia absinthium*. **A**) plante fraîche; **B**) plante sèche.

III.4.2. Détermination du taux d'humidité

Le taux d'humidité est la quantité d'eau contenue dans la matière végétale. [Taleb-Toudert, 2015]. Les parties aériennes de l'absinthe sont disposées pour être séchée à l'air libre. L'échantillon est pesé quotidiennement jusqu'à ce que sa masse P_f devienne constante. La différence entre P_f et P_s représente la quantité d'eau contenue initialement dans l'échantillon utilisé.

Le taux d'humidité est estimé par la formule suivante :

$$H(\%) = (P_f - P_s) / P_f \times 100$$

Où :

P_f : poids frais de l'échantillon (g).

P_s : poids sec de l'échantillon (g).

H (%) : Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

III.5. L'extraction d'HE d'*Artemisia absinthium*

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée, par hydrodistillation, dans un appareil de type clevenger.

III.5.1. Principe

La méthode consiste à immerger le matériel végétal directement dans un récipient rempli d'eau placé sur une source de chaleur. L'ébullition de l'eau entraîne alors les HE, qui au contact d'un réfrigérant, se condensent et se récupèrent sous forme d'une émulsion (eau +HE). L'huile essentielle se sépare, par la suite, par simple différence de densité. [Bruneton J, 1999]

Le montage de l'hydrodistillation comprend essentiellement les parties suivantes :

- ✚ Ballon : Il sert à contenir la matière végétale immergée dans l'eau distillée.
- ✚ Réfrigérant : C'est un échangeur de chaleur servant à convertir toute vapeur en liquide provenant du ballon.
- ✚ Cohobe: colonne de recyclage de l'eau aromatique.

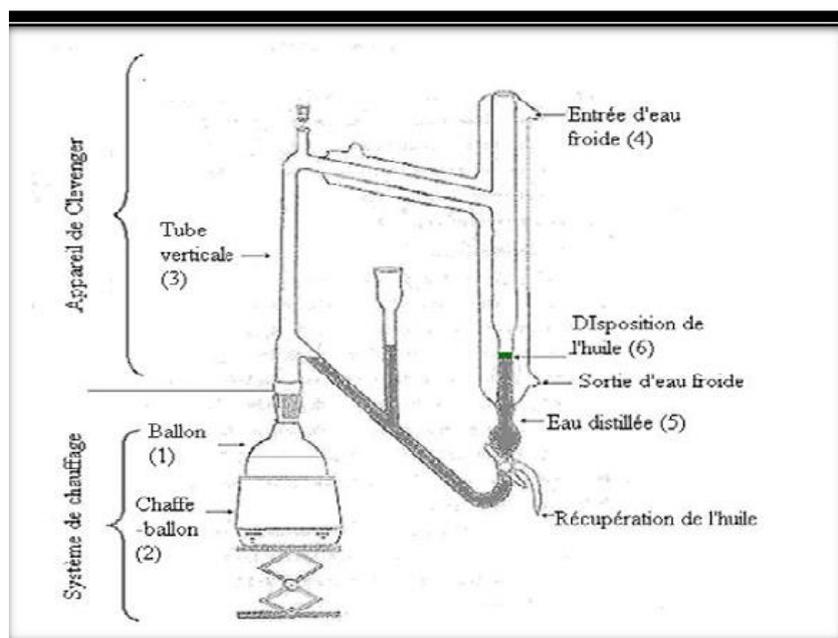


Figure 6 : Dispositif de l'extraction d'HE par hydrodistillation (Clevenger) [Hadj Ahmed.2016].

III .5.2. Mode opératoire

-50g de matière végétale sèche +500ml d'eau distillée sont introduits dans un ballon de 1L.

-On chauffe le ballon rempli à 100°C.

- Après les heures d'extraction, les deux phases non miscibles sont séparées.
- l'huile essentielle est récupérée dans des petits flacons en verre.
- Le volume d'essence obtenue est noté pour le calcul du rendement.



Figure 7: Appareillage d'hydrodistillation[Meghazi, 2012].

III.5.3. Etude de la cinétique d'extraction

La cinétique est l'évaluation de la quantité d'huile essentielle extraite par hydro distillation d'une masse de végétale en fonction du temps [Selvakumar *et al*, 2012].

III.5.4. Détermination de rendement en huiles essentielles

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal utilisé. Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et est calculé par la formule suivante : [Selvakumar *et al*, 2012].

$$\text{RHE}\% = (\text{mh} / \text{mv}) \times 100$$

RHE = rendement en huile essentielle en %.

mh = masse d'huiles essentielles récupérées en gramme (g).

mv = masse d'essai du matériel végétal en gramme (g).

III.6. Caractéristiques des huiles essentielles

III.6.1. Propriétés organoleptiques

Chaque HE est caractérisée par ces propriétés organoleptiques tels que : l'odeur, l'aspect et la couleur [Hameurlaine, 2009].

- **L'aspect physique** : l'aspect d'une HE dépend des produits qui la constituent, elle nous apparaitre sous forme liquide, solide ou bien semi solide.
- **Odeur** : il appartient aux sens chimiques les plus sensibles.
- **Couleur** : la coloration d'une HE dépend des produits qui la constituent, donc la couleur change d'une HE à l'autre; elle peut être déterminé à l'œil nu.

III.6.2. Les propriétés physico-chimiques

La connaissance d'indices physiques et chimiques est importante puisqu'elle permet de caractériser, voire d'identifier une huile essentielle.

III.6.2.1. Les propriétés physiques

➤ La densité

Elle constitue un point de repère important car sa valeur permet d'avoir une idée sur la composition chimique de l'HE [Haddouchi *et al.* 2009].

La densité est donnée par l'expression suivante :

$$d = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

m_0 : la masse du flacon vide.

m_1 : la masse du flacon rempli d'eau distillée.

m_2 : la masse du flacon rempli d'HE.

➤ Détermination de l'indice de réfraction [norme NF T 75 – 112]

Les mesures sont effectuées à l'aide d'un réfractomètre d'Abbé Prisma- CETI convex. Quelques gouttes d'HE sont déposées dans l'appareil et la lecture de l'indice se fait comme suit :

- Le réfractomètre est réglé d'une manière à obtenir une moitié supérieure claire et une autre moitié inférieure sombre au niveau du cadran.

L'indice de réfraction n_D^t à la température de référence t est donné par la formule :

$$[n]_D^t = n_D^{t'} + 0,00045 (t' - t)$$

$[n]_D^{\circ t}$: indice de réfraction de référence.

$n_{Dt'}$: indice de réfraction mesurée.

t : température de référence qui est à 20.

t' : température au moment de la mesure.

➤ Détermination de pH

Le pH mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (H^+) en solution. Il s'agit d'une valeur numérique permettant de savoir si une solution est acide, basique ou neutre [Barbier *et al.* 1961].

La détermination du pH est effectuée à l'aide d'un papier pH au lieu d'un pH-mètre en raison de l'insuffisance d'HE.

III.6.2.2. Propriétés chimiques

➤ Détermination de l'indice d'acide(IA)

C'est le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'HE. Les acides libres sont neutralisés par une solution Ethanol titrée par une solution d'hydroxyde de potassium [Haddouchi *et al.*, 2009].

• Réactifs

Au cours de l'analyse on utilise uniquement des réactifs de qualité reconnus :

- Ethanol, à 95 % (v/v) à 20 °C,
- Hydroxyde de potassium, KOH (0.1 mol/L),
- Phénolphtaléine (indicateur coloré), à 2 g/L dans de l'éthanol.

• Mode opératoire

Le mode opératoire consiste d'introduire 0,5 g d'huile essentielle dans une fiole où on ajoute 5 ml d'éthanol, et 5 gouttes de la solution de phénolphtaléine (indicateur coloré). Puis, on fait l'agitation et le titrage avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium titrée ($[KOH]= 0.1 \text{ mol/l}$). La couleur jaune clair du liquide (la couleur de l'HE) vire à la neutralisation vers une couleur rose. Le volume de KOH qui a servi à la neutralisation est lu directement sur la burette. L'indice d'acide est exprimé par la formule :

$$IA = (V \times N \times M) / m$$

M: masse molaire de KOH.

V : le volume, en millilitres, de solution d'hydroxyde de potassium utilisé pour le titrage.

N : normalité de la solution de K .

m : la masse, en grammes, de la prise d'essai. Exprimer le résultat à une Décimale près.

III .6.3. Analyses chromatographiques

La composition chimique d'HE a été effectuée par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).

Le spectromètre de masse, Agilent 5973 à quadripole est couplé à un chromatographe en phase gazeuse Agilent 6890.

La colonne utilisée est identique à celle mentionnée ci-dessus. Les conditions opératoires sont :

-la température de l'injecteur splitless : 250 °C ;

-la programmation de température : de 40 °C à 250 °C à raison de 6 °C/min ;

-le gaz vecteur : He à 1 ml/min (vitesse linéaire moyenne = 36 cm/sec).

Les températures de la source et du quadripole sont fixées à 230 °C et 150 °C respectivement ; énergie d'ionisation 70 eV, gamme de masse : 35 à 400 amu.

L'identification des différents constituants est réalisée à partir de leurs spectres de masse en comparaison avec ceux des composés standards de la banque de données informatisées (Wiley 275.L) [Adams, 1998].

Pour les hydrocarbures terpéniques diverses confirmations sontobtenues par comparaison des spectres de masse et de leurs indices de rétention selon Kovats donnés par la littérature [Joulain *et al* .1998].

III.7. Evaluation de l'activité biologique

III.7.1. Evaluation d'activité antioxydante

Les antioxydants peuvent être définis en tant que composés qui empêchent ou retardent l'oxydation des substances biologiques en empêchant le déclenchement ou la propagation des réactions en chaîne d'oxydation. Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs [Gulcin *et al.*, 2010].

III.7.2.Méthode du DPPH

La méthode de réduction du DPPH a été utilisée pour évaluer l'activité antioxydante de l'HE d'*A. absinthium*.

III.7.2.1.Principe

Le DPPH 2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyl est un radical stable qui possède un électron célibataire sur l'atome d'azote, caractérisé par une couleur violette et un pic d'absorption spectral maximal à 517 nm. En présence d'antioxydant, l'électron célibataire devient apparié, ce qui conduit à la décoloration du DPPH du violet (forme radicalaire DPPH) au jaune (forme réduite DPPH-H). Cette décoloration représente donc la capacité de l'échantillon à piéger ce radical. [Ramadan. 2010].

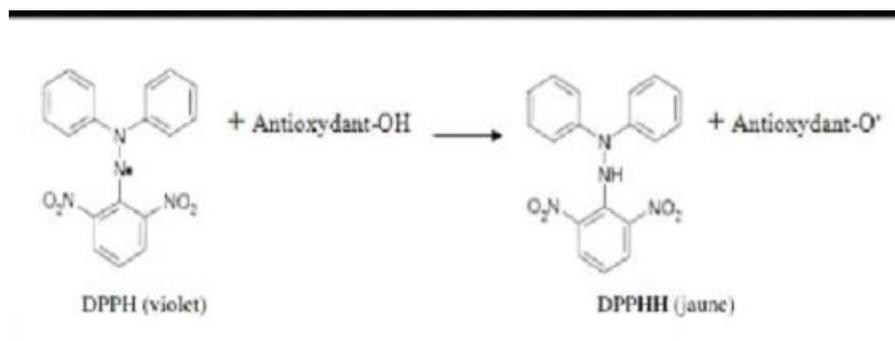


Figure8 : Réaction du test du DPPH (2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl) [Hadj Ahmed.2016].

III.7.2.2. Mode opératoire

L'activité anti radicalaire de l'HE extraite a été mesurée par la méthode décrite par Archana *et al.* 2005.

50µl de différentes dilutions d'huile essentielle (2.5, 5, 7.5, et 10 mg/ml) ont été mélangés avec 2 ml de la solution d'éthanol, de DPPH 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 à l'aide de spectrophotomètre UV-visible.

-Le contrôle **négatif** est composé de 50µl d'éthanol et de 2 ml de la solution de DPPH•.

-Le contrôle **positif** est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'absorbance de l'acide ascorbique est mesurée dans les mêmes conditions que celle de l'huile essentielle.

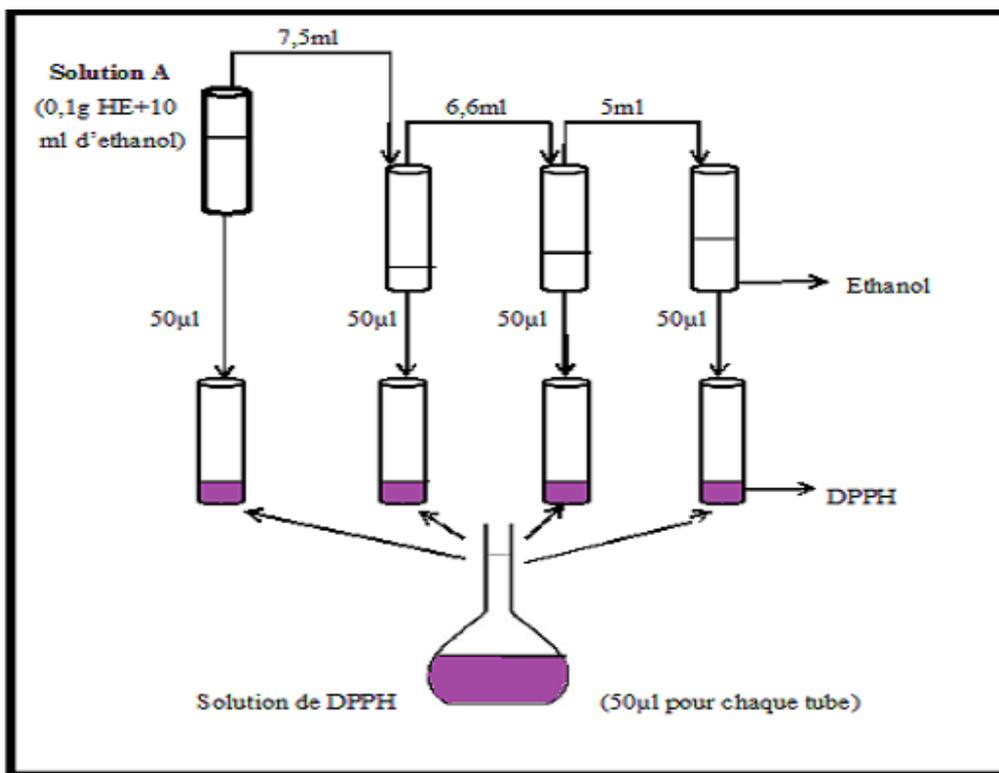


Figure 9 : Les étapes de la réalisation de l'activité antioxydante [Magraoui.2018].

III.7.2.3. Pourcentage d'inhibition

Selon [Sharififar *et al.* 2007], l'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) est calculée de la manière suivante :

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

A blanc : Absorbance du blanc (DPPH dans le méthanol).

A échantillon : Absorbance du composé d'essai.

➤ Détermination de Concentration inhibitrice 50 (IC50)

Le paramètre IC50 est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH• initiale de 50% [Sharififar *et al.* 2007].

Il a été calculé par régression linéaire à partir des graphes des taux d'inhibition.

III.7.3. Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique

III.7.3.1. Facteurs déterminant le degré d'activité antimicrobienne de l'HE

Plusieurs facteurs influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles ou de leurs composants actifs, tels que la méthode d'évaluation antimicrobienne,

le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type de microorganisme ciblés et leur éventuelle adaptation aux huiles essentielles.

III.7.3.2. Méthode d'évaluation de l'activité anti microbienne de l'HE

Pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne *in vitro* de l'HE d'*A. Absinthium*, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disques (**aromatogramme**) pour tester la sensibilité des souches et ensuite par la méthode de micro-dilution pour déterminer les valeurs de CMI.

III.7.3.3. Les souches bactériennes et fongiques testés

Nous avons utilisé quatre souches bactériennes *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, et *pseudomonas aeruginosa*, *bacillus subtilus* et un seul type de levure : *Candida albicans*. Les caractéristiques des souches microbiennes utilisées sont représentées dans le tableau III.3

Tableau III.3 :Les caractéristiques des souches microbiennes utilisées.

Espèce microbienne	Caractéristiques	Référence ATCC (American type culture collection)
<i>Escherichia coli</i>	Bacille, mobile Gram -, pathogène.	25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	coques, immobile Gram+.	25923
<i>pseudomonas aeruginosa</i>	Bacilles, Gram- mobile, pathogène.	27853
<i>bacillus subtilus</i>	Gram+, catalase+ Aérobie, mobile.	10876
<i>Candida albicans</i>	Champignon (levure) unicellulaire, hét érotrophe	24433

III.7.3.4. Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens sont les suivants:

- ❖ La gélose nutritive (GN) pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes.

- ❖ La gélose Mueller Hinton (M-H) pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux huiles essentielles extraites de notre plante.
- ❖ La gélose Sabouraud pour l'isolement et l'entretien de la levure et l'étude de sa sensibilité aux huiles essentielles.

III.7.3.5. Préparation de l'inoculum bactérien

Les bactéries à tester ont été ensemencées sur des boîtes de Pétri contenant des milieux sélectifs appropriés aux souches bactériennes utilisées puis incubés à 37°C pendant 24 heures, afin d'obtenir des colonies jeunes et bien isolées. Après ce temps d'incubation, 1 à 2 colonies bactériennes bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées à l'aide d'une anse de platine, puis émulsionnées dans un tube contenant 5mL d'eau physiologique stérile à 0.9% de sel (Na Cl) puis agiter, leur opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une densité optique de 0.08 à 0.1 lue à 625 nm. Cette densité est ajustée en ajoutant du milieu de culture (BN) si elle est trop élevée, correspond à 1.5×10^8 c/ml, ou en incubant davantage les souches si jamais elle est trop faible [Bouzidi *et al.* 2016].

III.7.3.6. Préparation des disques

On a coupé le papier buvard en disque de 6mm (0.28cm² de surface) par l'emporte-pièce, ces disques doivent posséder un contour régulier pour donner une zone d'inhibition que l'on peut mesurer facilement. Les disques sont ensuite stérilisés dans un autoclave pendant 20min à 120°C, et stockés à une température ambiante (le tube à essai est hermétiquement fermé).

III.7.4. Évaluation qualitative de l'activité antibactérienne et antifongique

III.7.4.1. La méthode de l'aromatogramme

Cette méthode est appelée méthode de l'aromatogramme, ou technique de l'antibio aromatogramme ou encore méthode de Vincent [Pibiri, 2005]. Appelée aussi la méthode de diffusion des disques, la méthode de l'aromatogramme est la technique utilisée pour étudier d'une manière fiable et reproductible la sensibilité et la résistance des germes aux huiles essentielles [Haddouchi *et al.*, 2008].

•Principe

La technique de l'aromatogramme utilise des disques de papier buvard imprégnés d'une concentration donnée de l'huile testée. Ces disques sont déposés à la surface d'une gélose spécifique (Mueller Hinton) coulée en boîtes de Pétri uniformément ensemencée d'une suspension microbienne. Cette méthode nous permet de mettre en évidence l'effet antimicrobien d'HE sur la souche étudiée. Ainsi la souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante [Amhis *et al.* 2001].

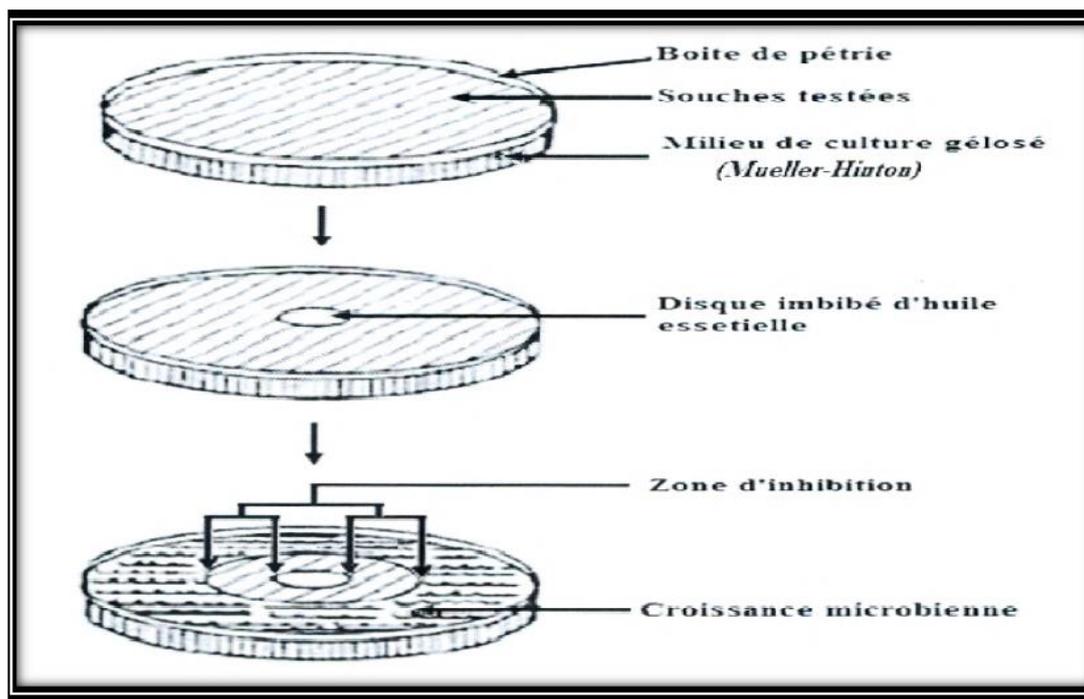


Figure 10 : Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîte de Pétri [Zaika. 1988] .

➤ Protocole expérimentale

- Couler aseptiquement le milieu de culture gélosé Mueller Hinton dans des boîtes de Pétri pour les bactéries et gélose sabouraud pour *Candida*.
- Préparer l'huile essentielle d'*A. absinthium* .
- Des disques stériles en papier (6 mm de diamètre) sont imprégnés avec 5 μ l de HE à la concentration de 20 mg/ml en mettant seulement en contact le bout du disque, celui-ci va absorber progressivement l'HE jusqu'à l'imprégnation totale du disque, puis déposer sur la gélose.
- Les boîtes de Pétri étaient maintenues pendant 15 min à température ambiante puis incubées à 37°C pendant 24 h. Chaque essai a été réalisé en triplicata pour chaque espèce bactérienne [Djenane *et al.*, 2012].
- L'activité antibactérienne et anti fongique de l'HE été mise en évidence par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour des disques.

III.7.4.2. Évaluation quantitative de l'activité antibactérienne et antifongique de l'HE d'*A. absinthium*

III.7.4.2.1. Détermination de la dilution Minimale Inhibitrice

La sensibilité d'une bactérie est mesurée par la concentration minimale inhibitrice de l'antibiotique considéré. C'est la méthode de référence préconisée par l'OMS [Amhis *et al.*, 2001].

La CMI ou concentration minimale inhibitrice est la concentration la plus petite d'un antibiotique qui empêche les bactéries de se multiplier. C'est le paramètre le plus utilisé pour

mesurer in vitro l'activité d'un antibiotique ; elle s'exprime en mg/l [Fauchère et Avril, 2002; Toutain, 2010].

La dilution minimale inhibitrice a été réalisée sur les souches testées qui ont montré une sensibilité vis-à-vis de l'HE par la méthode de diffusion sur disque.

➤ Préparation des dilutions de l'HE

Cette méthode permet la détermination de la CMI à partir d'une gamme de concentration d'extrait dans un solvant [Sidali *et al.*, 2014]. 500 µl d'HE est diluée dans 500 µl de DMSO. À partir de ce tube on prend 500 µl et met dans un deuxième tube qui contient 500 µl DMSO, agiter bien, puis une série de dilutions est réalisée extemporanément en DMSO, à partir de la solution-mère. La gamme de concentrations finales ainsi obtenue correspond à: C1/2 -C1/4 - C1/8 - C1/16-C1/32-C1/64- 1/128-C1/256-C1/512-C1/1024-C1/2048-C1/4096[Haddaf *et al.*, 2004]

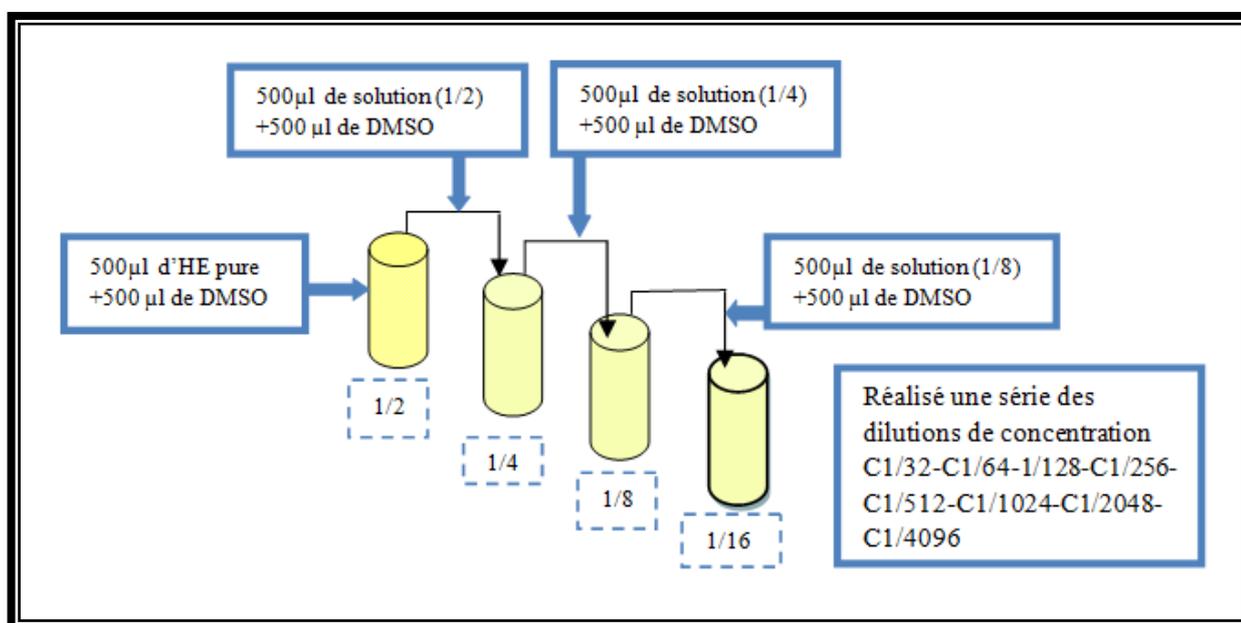


Figure11 : Préparation des dilutions [Magraoui .2018].

➤ Application

Des disques de papier buvard stériles de 6 mm de diamètre sont imprégnés de différentes solutions d'HE dissouts dans le diméthylsulfoxyde (DMSO), à l'aide d'une pince stérile les disques sont déposés à la surface d'un milieu ensemencé par une suspension microbienne d'une densité optique de 0.5 Mc Farland. Après diffusion, les boîtes 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 [Choi *et al.*, 2006].

Témoins négatifs : des disques imprégnés de DMSO.

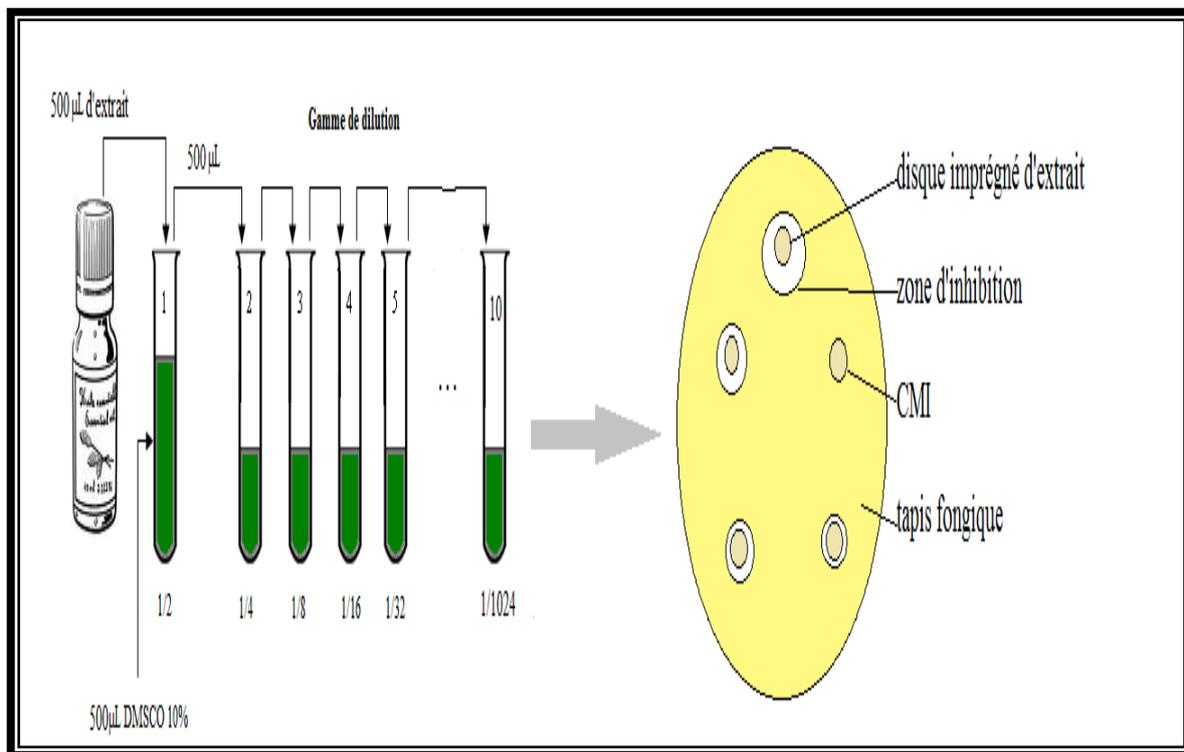


Figure12 : Schéma représente la méthode de CMI [Bouchareb.2018].

➤ Expressions des résultats

La lecture se fait par la mesure précise des diamètres des halos clairs à l'aide d'une règle qui permet de classer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles dans l'une des catégories ci-dessous :

- Non sensible (résistante) $d < 8\text{mm}$;
- Sensible (+) : $9 < d < 14\text{ mm}$;
- Très sensible (++) : $15 < d < 19\text{ mm}$;
- Extrêmement sensible (+++) $d > 20\text{ mm}$.

Plus la zone d'inhibition mesurée est grande, plus le germe est sensible.

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

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

% Inhibition: pourcentage d'inhibition.

D test: Diamètre de la zone d'inhibition.

D control: Diamètre de la boîte pétri.



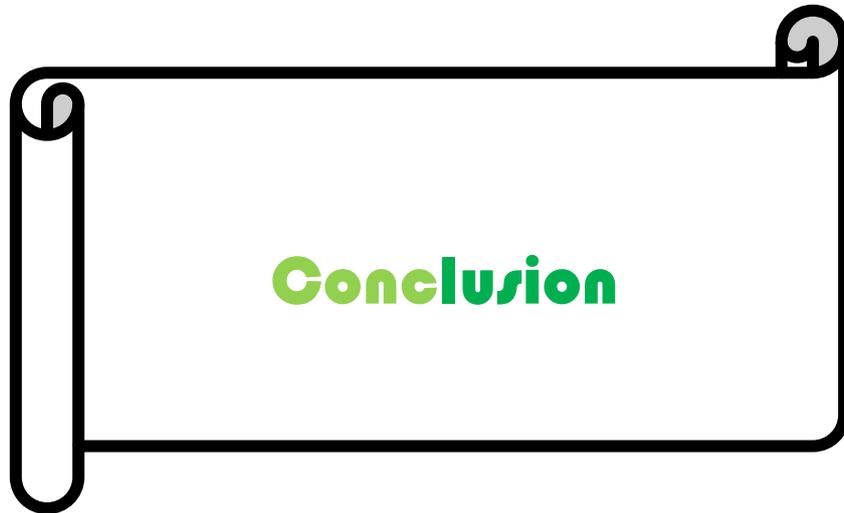
Chapitre IV :

Résultats et discussions

Chapitre IV. Résultats et discussions

A cause de la pandémie coronavirus (COVID-19) qui a augmenté le nombre d'infections et la vitesse de sa propagation parmi les personnes en Algérie, la partie expérimentale n'a pu être réalisée.

Nous nous contentons de la littérature pour tirer nos conclusions.



Conclusion

Le présent travail est consacré à l'extraction et la récupération de l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium*, la détermination du rendement de l'HE extraite, des caractéristiques physicochimiques et de la composition chimique de cette huile. Aussi, l'activité biologique (notamment l'activité anti-microbienne et antioxydante) de l'HE extraite est déterminée.

Selon la littérature, nous concluons ce qui suit :

Le rendement en huile essentielle d'*A. absinthium* extraite par hydrodistillation est variable d'une région à une autre ; Au Maroc il est de (0,5%)[Derwiche E et al, 2009], celui du Canada (0,3 - 0,5%) [Lopes-Lutz et al., 2008]. En Algérie : Batna(1,5%)[Khebri, 2011], Tipaza(0,5%) [Bouchenak et al., 2018]et à Blida(0,52%) [Larbi et al.,2016].

L'analyse par CG/SM a permis d'identifier les composés chimiques de l'HE d'*A. absinthium*. Les principaux constituants qui sont rapportés par la littérature sont variables: β -thujone(60,82%) à Tipaza [Bouchenak et al., 2018], le chamazulène(25,2%) à Oran [Kharoubi, et al, 2008]et le camphre(44,93%) à Batna[Khebri, 2011].

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante de l'HE d'*A. absinthium* d'Algérie, trois méthodes sont utilisées : la technique de piégeage du radical libre DPPH, ABTS, et CUPRAC[Belaidi et al., 2018]. L'étude de l'activité anti radicalaire a donné une bonne efficacité antioxydante avec le DPPH (IC50%= 62.66±2.55 μ g/ml), ABTS (IC50%= 41.57±0.97 μ g/ml) et CUPRAC A₀50%= 38.15±0.79 μ g/ml).

Pour L'activité antibactérienne et antifongique de l'HE d'*A. absinthium*, elle a été déterminée selon la méthode de l'aromatogramme. Les résultats montrent que l'huile avait des actions de sensibilisation inhibitrice contre *E. coli*, *S. aureus*, *Bacillus*, *P. aeruginosa* et *C.albicans* [Larbi et al.2016].

L'HE d'*A. absinthium* présente un intérêt pratique et pourrait avoir des applications phytosanitaires comme procédé de lutte biologique à base de substances naturelles afin d'éradiquer les infections d'origine fongique.

Aussi l'HE d'*A.absinthium* possède des propriétés antihelminthique[Tariq et al, 2009], antimicrobienne [Lopez-Lutz et al, 2008], cholérétique, balsamique, dépurative, antiseptique, digestive, diurétique, emménagogue et utilisé comme relaxant musculaire, ou sédatif doux pour traiter l'anxiété [Dewick, 2001 ; Lawless, 1999].

Il est important donc de compléter les travaux concernant cette plante et serait intéressant de mener une étude approfondie sur l'espèce *A.absinthium*. Il serait nécessaire de :

- Récolter la plante de diverses régions géographiques différentes d'Algérie.

- Récolter la plante à différents stades de sa croissance afin de suivre l'évolution qualitative et quantitative de l'HE .
- Tester d'autres méthodes d'extraction de l'huile essentielle, et leur influence sur le rendement et la composition chimique.
- Déterminer l'activité antioxydante par d'autres méthodes.
- Déterminer le ou les principes actifs, responsables de l'activité antimicrobienne.
- Etude d'autres activités biologiques attribuées à ces plantes telles que : les activités insecticide et antivirale.

Références bibliographiques

Abu -Zarga M, Qauasmeh R, Sabri S, Munsoor M and Abdella S. (1995). *Planta Medica.* 61: 242-245.

Adams RP. (1998); Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/
Quadrupole Mass Spectroscopy. Carol Stream, IL., USA ; Allured Publishing Co,(2001).

Afnor...,2000 ; Association française des normes, Recueil de norme. Les huiles
Essentielles Échantillonnage et méthodes d'analyse (Tome I) p : 471. Monographies
relatives aux huiles essentielles (Tome II, Volume1 p: 323 et 2 p : 663). Ed. AFNOR ,
France.

Agari S, Fukuhara K, Hori Y, Manabe S, Watanabe W. (1995). *Jpn . Kokai, Tokyo Koho, JP.* 07: 206-839.

Alshamaony L , Alkhazraji S and Twaij H . J . (1994) . *Ethno pharmacology .* 43(3):
167-171.

Amhis W, Benslimane A, Tiouit D et Naim M. (2001). Tests de sensibilité utiles au
traitement antibiotique. *Médecine du Maghreb* n°91.

Anon . (1934). *Bull. Imp . Inst. (Lond .),* 32, 33.

Archana B, Dasgupta N et De B. (2005). « In vitro study of antioxidant activity of
Syzygium cumini fruit ». *Food Chem. Vol. 90,* pp727-733.

Association française de normalisation. (1986). Recueils des normes françaises « Huiles
essentielles ». ; AFNOR. ; Paris AFNOR NF T 75-006.

Baba Aissa F. (1991). Les plantes médicinales en Algérie. Co édition Bouchène et Ad-
Diwan, p 11, 159.

Baba Aissa F., (1999) ; Encyclopédie des plantes utiles-Flore d'Algérie et du Maghreb,
Ed ; Librairie Modern –Rouïba .Pp : 20-21,171-173.

Badhwar . (1934). Report on *Kurram artemisias* from the santonin stand point.

**Bailen M, Julio L, Diaz C, Sanz J, Martinez-Diaz R, Cabrera R, et al.(1 Août
2013).** Chemical composition and biological effects of essential oils from *Artemisia
absinthium* L. cultivated under different environmental conditions. *Ind Crops Prod.* 49:102-7.

Barbier, E. C., Pangaud, C., Barbier, E. C., Origine, C. P., & Et, B. (1961). Origine
Botanique et caractéristiques physicochimiques des miels.

Belaidi Nada, Boubendira Kenza . (2017 -2018). Mémoire présenté pour obtenir le diplôme de master .spécialité : biochimie appliquée .thème : évaluation de l'activité antioxydante de l'espèce *Artemisia absinthium*.

Benmokadem .N. (2003) : Contribution à l'étude des huiles essentielles produites chez quelques espèces spontanées du genre d' *artemisia* . Thèse de Magister .Université de Blida.

Blagojević P, Radulović N, Palić R, Stojanović G. (1 juin 2006). Chemical composition of the essential oils of Serbian wild-growing *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*. *J Agric Food Chem.* 54(13):4780-9.

Bouchenak Fatima, Degaichia Hocème1, LamgharBI Abdelbaki1 et Benrebiha Fatima1 (2018). Evaluation in vitro du potentiel antifongique de l'huile essentielle et des extraits méthanoïques d'une asteraceae d'*artemisia absinthium* L. revue agro biologique. Université blida, faculté des sciences de la nature et de la vie.

BOUZIDI N. (2016). Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche « *Artemisia herba alba Asso* » Université Mustapha Stambouli de MASCARA.

Bordez L. (1753). «Grandes absinthe *Artemisia absinthium* L » Faculté libre des sciences et technologies, université catholique de Lille.

Botineau M. (2013). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Edition Tec&Doc Lavoisier. pp1143-1193.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie : Phyto chimie ; Plantes médicinales, 3ème éd. Lavoisier Paris : Technique et Documentation et Editions médicales Internationales, 1120.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie: phyto chimie plantes médicinales.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie – Phyto chimie, plantes médicinales, 4ème éd., revue et augmentée, Tec et Doc. Éditions médicales internationales, Paris. P : 1288.

Canadanovic-Brunet JM, Dilas SM, cetkovic G, Tumbas VT(2005). Free- radical scavenging activity of worm wood (*Artemisia absinthium* L.) extracts .*J Sci Food Agric* 2005; 85:265-72.

Chemat F, Abert Vian M et Dangles O. (2007). International Journal of Essential Oil. Therapeutics 1 .

Chemour G . «Les plantes médicinales dans la région des ouadhia et Boghni» .Thèse d'ingénieur, U.M.M.T.O, Institut d'agronomie, 2004/2005.

Chiasson H., Bélanger A., Bostanian N., Vincent C. Poliquin A. (2001) . Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. *J. Econ. Entomol .* 94(1):167-171.

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.

Dellile I .(2007). «Les plantes médicinales d'Algérie».Ed . Berti , Alger.

Derwiche E ., Benziane Z and Boukir A. (2009). Chemical compositions and insecticidal activity of essential oils of three plants Artemisia species : Artemisia herba-Alba, Artemisia asinthium and Artemisia Pontica (Morocco) EJEAF Che , 8(11):1202 – 1211.

Dhen N.;Majdoub O .;Tayeb W .;Laarif A and Chaib L.(2014). «chemical compositions and fumigant toxicity of Artemisia absinthium essential oil against rhyzopertha dominica and spodoptera litoralis » . Tunisian journal of plant protection 9:57-65.

Djenane D, Yanguela J, Deriche F, Bouarab L et Roncales P. (2012). Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens ; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. Nature et technologie n°7, 53-61.

F iamegos Y., Kastritis P., Exarchou V., Han H., Bonvin A., Vervoort J., et al. (4 avr 2011).Antimicrobial and efflux pump inhibitory activity of caffeoylquinic acids from Artemisia absinthium against gram-positive pathogenic bacteria. PloS One. 6(4):e18127.

Ghédira K. et P. Goetz, (2016). « Artemisia absinthium L. : absinthe (Asteraceae) », Phyto thérapie, vol. 14, n o2, p. 125-129, avr. 2016.

Gilani A.H, Jambaz K, Lateef A, Zaman M. (1994). Phyto thérapy Research. 8(3): 161.

Gilani A. H. et Janbaz K. H. (1995). Preventive and curative effects of Artemisia absinthium on acetaminophen and CCL4 - induced hepato toxicity. General pharmacology , 26, 2, 309 - 315.

Gilly G . (2005). «Les plantes aromatique et huiles essentielles à grasse» ed. L'hamattan paris , p193-197.

Goudjil M.B. (2016). Composition chimique, activité antimicrobienne et anti oxydante de trois plantes aromatiques. Thèse de Doctorat. Université Kasdi Merbah, Ouargl.

Guignard. J. (1983) .LOUIS. P.M, Abrégé de botanique. 5ème Edition.

Gulcin I, Huyut Z et Elmastas M. (2010). « Radical scavenging and antioxydant activity of tannic acids ». Arabian journal oh chemistry. Vol. 3, pp43-53.

HaddaY,KaloustionJ,GiordanR.P,ChefourA,AbouL,Mikail C,PortugalH.(2004).Compos ition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de Thymus vulgaris L.et de thymus numidicus Poiret d'Algérie. 6 e sumposium international d'aromathérapie scientifique et plantes médicinales ; Grasse, France.

Haddouchi, F., Lazouni, H. A., Naturels, P., Biologie, D. De, Sciences, F., & Belkaid,

U. A. (2009). Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de

Thymus fontanesii Boiss & Reut. Science, 5(2), 246–259.

Iserin P. (2001). Larousse Encyclopédie des plantes médicinales: Identification, préparations, soins. Ed Larousse, 66-298 pp.

Joulain D., König WA.,(1998) . The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons, Hambourg: E.B.- Verlag.

Kaul V , Nigam S , Dhar L.(1976). « Antimicrobial activity of the essential oils of Artemisia absinthium L , Artemisia valesiaca wall and Artemisia vulgaris L» India J pharmacot .38 21-2.

Khafagy S. M, Gharbo S.A and Sarg T.M. (1971). Planta Medica . 20 , 90.

Khaldi A. (2017). Etude des effets antifongiques et anti myco toxiques des extraits des plantes médicinales de la région de Béchar. Thèse de Doctorat en Sciences. Université Mustapha Stambouli Mascara.

Khebri S .(2010-2011). «Etude chimique et biologique de trois Artemisia ».thèse de magister université El –Hadj -Lakhdar batna , faculté des sciences département de chimie.

Ko Y. D., Kim J. H., Adesogan A. T., Ha H. M. et Kim S. C. (2006). The effect of replacing rice straw with dry wormwood (Artemisia sp.) on intake, digestibility, nitrogen balance and ruminal fermentation characteristics in sheep. Animal Feed Science and Technology, 125, 99- 110.

Kordali s; Cakira A ; Mavia ; Kilich and Yildirim A. (2005). « screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential from three turkish Artemisia species »J .agric food chem. 53,1408-1416.

Kundan S , and Anupam S. (2010). The Genus Artemisia: A Comprehensive Review. J. Pharm. Biol.pp:1-9.

Kyeong W.Y, Anwar M, Jong H.K. (2007). Effects of the Aqueous Extract from Artemisia campestris ssp . caudataon Mycorrhizal Fungi Colonization and Growth of Sand Dune Grasses. J. Plant. Biology. 50(3): 358-361.

Lachenmeier D. W., Emmert J., Kuballa T. et Sartor G. (2006). Thujone - Cause of absinthism. Forensic Science International, 158, 1 - 8.

Lachenmeier, D.W., (2010). Wormwood (Artemisia absinthium L.) A curious plant with both neurotoxic and neuro protective properties, Journal of Ethno pharmacology, 131(1): 224-227. Doi : 10.1016/j.jep.2010.05.062.

Lagunez Rivera L. (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermo magnétique directe. Thèse Doctorat, I' institut national polytechnique de Toulouse. P15-35.

Larbi Mohamed. Jawabri Adel. (2015 -2016). Mémoire de master en génie des procédés. Spécialité: pharmacie industrielle .thème : formulation pharmaceutique d'une émulsion buvable a base d'huile essentielle *d'artemisia absinthium L.*

Lopes-Lutz D., Alviano D.S., Alviano C.S. and Kolodziejczyk P.P. (2008) . Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phyto chemistry.*; 69 (8) :1732-1738.

Lucc M E . (2005) .thèse sur ; Extraction sans solvants assistée par Microondes

Conception et application à l'extraction des huiles essentielles, université de la reunion. Pp : 59-71.

Moslemi H, Hoseinzadeh H, BADOUEI M, KAFSHDOUZAN K, FARD R. (2012).Antimicrobial activity of *Artemisia absinthium* against surgical wounds infected by *Staphylococcus aureus* in a rat model. *Indian J Microbiol.* déc 52(4):601-4.

Mouakite N. (1986). Étude de 3 plantes à huile essentielle contenant de la thuyone: absinthe, sauge, thuya [Thèse d'exercice]. [France]: Université de Caen. UFR des sciences pharmaceutiques.

Muccairelli M, Caramiello R and Maffei M. (1995). Essential Oils from Some *Artemisia* Species Growing Spontaneously in North-West Italy. *Flavour Journal.* Vol.10 : 25-32.

Muto T., Watanabe T., Okamora M., Moto M., Kashida Y. et Mitsomori K. (2003). Thirteen-week repeated dose toxicity study of Wormwood (*Artemisia absinthium*) extract in rats. *The Journal of Toxicological Sciences*, 28, 5, 471 – 478.

Polunin. (1967): Eléments de géographie botanique .Ed. Gauthier-Villars. Paris. Pp 45-62.

Oana Crac iunescu. ; Daniel Constantin. ; Alexandra Gaspar . ; Liana Toma . ; Elena Utoiu and Lucia Moldovan.(2012). « polyphenol composition and anti oxidant activity of extract of extract from *Artemisia absinthium L* »chemistry central journal 2012.

Ouezela et Santa. (1963) :-Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II .Ed . Centre national de la recherche scientifique. Paris .624p.

Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. (2006). Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat- *Meat Science*, Vol. 73, pp236-244.

Ouyahya, Aicha. Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat. (1982). « Étude d'une combinaison nouvelle d'armoise au Maroc *Artemisia negrei* ouyahya A.mesatlantica var. *Subsimplex* HUMBERT ET MAIRE ». n6, 89 - 103.

Orav A.; Raal A.; Arak E.; Muurisepp M.; Kailas T.; (2006). « Composition of the essential oil of *Artemisia absinthium L* of different geographical origins proceeding of the Estonian Academy of Sciences Chemistry » Vol .55, no .3, pp155 –165.

- Ozenda P. (1983).** Flore du sahara . Edition CNRS. 2e édition. pp416-442.
- Pampanini R. (1933).** Settimo ed ultimo contributo..., Nuovo Giorn. Bot. Ital., n.s. 40, 183-224.
- Pibiri P. (2005).** Assainissement microbiologique de l'air et de systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat : Faculté Environnement Naturel, Architectural et Construit, EPFL (Suisse). 161p.
- Pottier G . (1981) .** Artemisia herba - alba. Flore de la Tunisie: angiospermes dicotylédones– gamopétales.
- Quinlan M. B., Quinlan R. J. et Nolan. M. J. (2002).** Ethno physiology and herbal treatments of intestinal worms in Dominica, West Indies. Journal of Ethno pharmacology , 80 , 75 - 83.
- Ramadan MF. Rapid ,(2010)**; antiradical method for screening deep fried oils. Journal of Consumer Protection and Food Safety ; 5.Pp: 47-50.
- Robert –dernet .s. (1995).** Antibiotique et antibiogrammes. ed .vioge et .paris.p 233.
- Ryum S .Y, Kim J.O and Choi S.U. (1997).** Planta medica . 63 , 384.
- Saoudi M, Allagui M.S, Abdel mouleh A , Jamoussi K, El Feki A. (2010).** Protective effects of aqueous extract of Artemisia campestris against puffer fish Lagoce phalusla gocephalu extract-induced oxidative damage in rats. Exp.Tox. Pathol. 62: 601–605.
- Sebkhi Z., Ayouni Z., Arkoub M., Chader F. (2014).** Evaluation du potentiel antimicrobien de l’huile essentielle d’absinthe (Artemisia absinthium L.) sur Staphylococcus aureus, Baccilus subtilis et Candida albicans. PhytoChem & Bio Sub Journal, 8(4).
- Selvakumar, P., Naveena, B. E., & Prakash, S. D. (2012).** Studies on the antidandruff Activity of the essential oil of coleus amboinicus and eucalyptus globulus. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 2(SUPPL2), S715–S719.
- Schauenberg P. et Paris F. (2005).** Guide des plantes médicinales: analyse, description et utilisation de 400 plantes. Ed: Delachaux et Niestle, pp 204 – 207.
- Sharopov F S, Sulaimonova V A, Setzer W N (2012).** Composition of the essential oil of Artemisia absinthium from Tajikistan , Rec. Nat . 0Prod . P 127–134. State University /USDA, p 53–70.
- Sharififar, F., Moshaf, M. H., Mansouri, S. H., Khodashenas, M., & Khoshnoodi, M. (2007).** In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic Zataria multiflora Boiss, 18, 800–805.

- Shilin Y , Robrts M.F and Philipson J.D. (1989) .** Phyto chemistry . 28(5): 1509-1511.
- Sidali L, Brada M,fauconnier M, Lognay G. (2014).** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*du Nord d'Algérie *PhytoChem&BioSubJournal*. Vol. 8, No. 3
- Skiredj A. Elattir H. Elfadi A. (2002).** «Bulletin mensuel d'information et de liaison du programme national de technologie en agriculture » (PANTA) DERD ,RABAT.
- Soijwan T.A. (1948).** Manual of pharmacology, 7e éd ; London, W. B. Saunders Co., 1948, 211.
- Sylvain Sutour . (2010).** Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthe de Corse et de Kumquats. Chimie. Université de Corse. P8 .
- Taleb-Toudert K. (2015).** Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes Aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien).Evaluation de leurs effets sur Le bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : bruchidae). Thèse Doctorat.
- Tariq K.A., Chishti M.Z., Ahmad F., Shawl A.S. (2008) .** Anthelmintic activity of extracts of *Artemisia absinthium* against ovine nematodes. *Vet Parasitol* 160(1-2):83-88.
- Tela Botanica, (2019).** Fiche de flore des Asteraceae (en ligne) (page consultée le 30/10/2015. «<http://www.tela-botanica.org> . bdtfx v.3.02.
- Valnet J. (1992).** Phyto thérapie: traitement des maladies par les plantes. In « Etude particulière des plantes». Ed : MALOINE, paris, 6 , pp 167- 439.
- Vanhove Michel. (2013).** Fiche Technique Huile essentielle Absinthe, France, Bio, *Artemisia absinthium*, Lot nr Li11. Nombre de Pages: 2. Date de création: 19/04/2010 48110. Date de révision: 18/12/2013. La Castagnade, 48110 Le Pompidou.
- Vernin G, Merad O, Vernin G.M.F, Zamkotsian R.M. and Parkanyi C. (1995) .** GC-MS analysis of *Artemisia herba- alba* Asso essential oils from Algeria.*Dev. Food Sci.* 37A: 147-205.
- Wehmmmer C. (1950).** Die Pflanzenstoffe, Jena, Verlag von Gustav Fischer. II. 1243, 1248.
- Zaika, L., (1988) ;** Spices and Herbs – Their Antimicrobial Activity andIts Determination. *Journal of Food Safety.* 9(2).Pp : 97-118.

Annexe I

Présentation de la wilaya d'Aïn Defla :

Aïn Defla est une commune du nord de l'Algérie, dans la wilaya du même nom. C'est aussi le nom de la localité, anciennement Duperré, située à 140 km au sud-ouest d'Alger, chef-lieu de la commune et de la wilaya. Elle est délimitée par 05 wilayas : Au Nord la wilaya de TIPAZA ; au Nord-Est la wilaya de BLIDA ; a L'Est la wilaya de MEDEA ; a l'Ouest la wilaya de CHLEF ; au Sud la wilaya de TISSEMSSILT [ANDI.2013].

Ain Defla est une wilaya montagneuse qui fait partie intégrante de la région du Tell, elle est formée par le massif de la Dahra au nord qui culmine au mont Zaccar (1 550 m) au nord de Miliana, par l'Ouarsenis qui culmine au mont Achaou en pres de 1 800 m au sud est de Tarik ibn ziad, et la vallée de Chellif entre les deux massifs.



Figure 1 : Carte géographique de la wilaya de d'Aïn Defla [ANDI.2013].

Annexe II

Tableau 1: Liste d'appareillages et de verrerie utilisés.

Appareils	Verreries	Produits utilisés
-Autoclave	-Anse de platine	-L'huile d' <i>A. absinthium</i>
-Bain marie	-Ballon	-Phénolphtaléine
-Balance de précision	-Béchers	-Eau distillée
-Chauffe ballon	-Boîtes de pétri	-Ethanol
-Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectroscopie de Masse	-Disques d'ATB	-Eau physiologique
-Etuve	-Ecouvillons	-Vitamine C
-Four Pasteur	-Emporte-pièce	-DPPH (2,2-Diphényl 1 picryl hydrazine)
-Hydro distillateur de type Clevenger	-Epindorffs	-KOH (Hydroxyde de potassium)
-Incubateur	-Eprovettes	-DMSO (Diméthylsulfoxyde)
-Réfrigérateur	-Erlenmeyers	
-Réfractomètre	-Fioles	
-Spectrophotomètre	-Flacon en verre	
-Vortex	-Gants	
	-Micropipette	
	-Papier aluminium	
	-papier buvard	
	-Pince	
	-Pipettes pasteur	
	- seringues	
	-Spatule	
	-Tubes à essai	
	-Verres de montre	

Annexe III

Les souches microbiennes utilisées :

Escherichia coli :

C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. *Escherichia coli* est habituellement une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers [Nauciel, 2000].

La présence de colibacilles ou d'espèce voisine (les coliformes) dans l'eau est un témoin contamination fécale. et c'est aussi le premier germe responsable d'infections communautaires et nosocomiales. Également responsable d'infection materno-fœtal, de prostatites de suppuration diverses à partir de la flore digestive (infection des voies biliaires, péritonites, salpingites, infection postopératoires...) [Avril *et al*, 1992].

Classification :

Règne: Bacteria

Embranchement: Proteobacteria

Classe: Gamma proteobacteria

Ordre: Enterobacteriales

Famille : Enterobacteriaceae

Genre : *Escherichia*

Espèce : *Escherichia coli*

Staphylococcus aureus :

Les staphylocoques sont des cocci à gram positif qui tendent à se grouper en amas, irrégulier à la façon d'une grappe de raisin [Nauciel, 2000]. *Staphylococcus aureus* est un germe aérobie - anaérobie facultatif [Avril, 2000], doit son nom d'espèce à l'aspect pigmenté de ses colonies. Il tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales, possède une coagulase, ce qui le distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques. La bactérie est très répandue chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales. Chez l'homme, environ un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses et des zones cutanées humides. Il développe rapidement des résistances aux antibiotiques et les souches hospitalières ne sont souvent sensibles qu'aux glycopeptides [Nauciel, 2000].

Classification :

Régne: Bacteria

Division: Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre: Bacillales

Famille : Staphylococcaeae

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *Staphylococcus aureus*

Pseudomonas aeruginosa :

Le genre *pseudomonas* est fait de bacilles mobiles aérobies stricts, se cultive facilement sur les milieux usuels. *Pseudomonas aeruginosa* (ou bacille pyocyanique) se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ses colonies [Nauciel, 2000]. C'est une bactérie ubiquiste qui vit normalement à l'état de saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux. Cette bactérie peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'homme et des divers animaux. Considéré comme une bactérie pathogène opportuniste c'est le germe-type des infections hospitalières ou nosocomiales

Classification :

Règne: Bacteria

Division: Proteobacteria

Classe: Gamma proteobacteria

Ordre: Pseudomonadales

Famille: Pseudomonadaceae

Genre : *Pseudomonas*

Espèces : *Pseudomonas aeruginosa*

Bacillus subtilis :

Bacillus subtilis, bactérie ubiquitaire à Gram positif, catalase positive, aérobie pouvant se développer en anaérobiose, mobile par des flagelles peritriches, formant des spores très résistantes dont l'élimination efficace nécessite des conditions particulières. Malgré le fait qu'il s'agisse d'une bactérie à faible potentiel pathogène, elle peut donner lieu à de redoutables infections dans certains cas ou encore être à l'origine d'une intoxication

alimentaire d'où l'importance de l'application des recommandations en matière d'hygiène et stérilisation afin d'éviter ces risques [Nauciel, 2000].

Classification :

Règne : Bacteria

Embranchement : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : Bacillaceae

Genre : *Bacillus*

Espèce : *Bacillus subtilis*

***Candida albicans* :**

Candida est un genre de levures (dont la plus importante espèce est *candida albicans*) qui est répandu dans tout le monde habité et forme normalement un commensal parfaitement toléré par l'homme sain dans la bouche, sur la peau, dans le système digestif et dans la flore vaginale. Elle devient pathologique et provoque parfois des mycoses (candidiase ou candidose) chez les humains et d'autres animaux quand l'organisme est affaibli [Frisvad ,1990].

Classification :

Règne: Fungi

Division: Ascomycota

Classe: Saccharomycetes

Ordre: Saccharomycetales

Famille: Saccharomycetaceae

Genre : *Candida*

Espèce : *Candida albicans*

