

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB de BLIDA



DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Master II en Sciences agronomiques

Spécialité : Biotechnologie des Plantes Aromatiques et Médicinales et
des Produits Naturels

THEME

Caractérisation des populations et des huiles essentielles
d'*Artemisia campestris* de la région de Tébessa

Présenté par : HADJADJ Faiza

Devant le jury :

HOUMANI M	(Pr, Fac Agrovétérinaire, Univ, Blida)	Président
GHANAI R	(MAA, Fac Agrovétérinaire, Univ, Blida)	Promotrice
CHEBATA N	(MAA, Fac Agrovétérinaire, Univ, Blida)	Examinatrice
EL HADI D.	(MCA Fac Agrovétérinaire, Univ, Blida)	Examinateur

Année universitaire 2011/2012

Remerciement

Bien que cette page soit très ordinaire, elle a pourtant une importance capitale. A titre personnel, je suis heureux d'avoir l'occasion ici d'exprimer ma gratitude vis-à-vis de personnes qui ont eu un rôle réel ou relatif à ma thèse. J'espère que les mots que je m'appête à écrire réussiront à retranscrire fidèlement mes sentiments à leur égard.

*Avant toute chose, je remercie **Dieu**, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.*

*Aux joyaux de ma vie "**mes parents**" qui sont la source de ma réussite, je souhaite qu'ils trouvent à travers ce mémoire le faible témoignage de leurs efforts et sacrifices.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à, madame **HOUMANI Z.** pour son aide et ses conseils.*

*Monsieur **HOUMANI M** d'avoir accepté de présider cette soutenance.*

*Vive reconnaissance à ma promotrice, madame **GHANAI R**, à l'écoute et disponible pour m'accompagner dans la réalisation de ce travail.*

*Je remercie également madame **CHEBATA N.** et monsieur **EL HADI** d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

Je remercie les techniciennes de laboratoire pour leur précieuse contribution.

Je remercie toutes les personnes qui m'ont soutenue, m'ont encouragée, pour que ce travail aboutisse : mes sœurs, mes frères ainsi que l'ensemble de ma famille et mes amis.

Dédicace

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde mes chers parents qui m'ont permis de continuer mes études dans les meilleures conditions.

Je dédie aussi cette modeste réalisation :

-A mes très chers frères Nour edin, Med, Abderrahmane et nadir.

-A mes très chères sœurs Meriem Iman et Fatima Zohra.

- A Imade , Ferial ,Ferouz et Khawla .

-A toute ma famille, à mes ami (es) et tous ceux qui ont croisé mon parcours de loin ou de près

- A Brahim, Redhouan, Mouhamed ,Chaima , Siham et Lydia; je les remercie pour leur soutien.

HADJADJ Faiza

Remerciement

Bien que cette page soit très ordinaire, elle a pourtant une importance capitale. A titre personnel, je suis heureux d'avoir l'occasion ici d'exprimer ma gratitude vis-à-vis de personnes qui ont eu un rôle réel ou relatif à ma thèse. J'espère que les mots que je m'appête à écrire réussiront à retranscrire fidèlement mes sentiments à leur égard.

*Avant toute chose, je remercie **Dieu**, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.*

*Aux joyaux de ma vie "**mes parents**" qui sont la source de ma réussite, je souhaite qu'ils trouvent à travers ce mémoire le faible témoignage de leurs efforts et sacrifices.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à, madame **HOUMANI Z.** pour son aide et ses conseils.*

*Monsieur **HOUMANI M** d'avoir accepté de présider cette soutenance.*

*Vive reconnaissance à ma promotrice, madame **GHANAI R**, à l'écoute et disponible pour m'accompagner dans la réalisation de ce travail.*

*Je remercie également madame **CHEBATA N.** et monsieur **EL HADI** d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

Je remercie les techniciennes de laboratoire pour leur précieuse contribution.

Je remercie toutes les personnes qui m'ont soutenue, m'ont encouragée, pour que ce travail aboutisse : mes sœurs, mes frères ainsi que l'ensemble de ma famille et mes amis.

Résumé

L'objectif de ce travail est l'étude morphologique anatomique et caractérisation des huiles essentielles des échantillons d'armoise rouge provenant de deux localités différentes de la région de Tébessa .

La première localité est caractérisée par un climat semi aride et la deuxième présente un climat présaharien.

L'observation des coupes anatomiques de la tige montre l'existence des poils épidermiques

Le rendement en huiles essentielles est légèrement plus élevé pour les échantillons provenant du site semi aride. Ce rendement est meilleur pour les échantillons récoltés au stade préfloraison

L'analyse chromatographique des huiles essentielles montre que 4-Methoxybenzoic acid, 2-ethylcyclohexyl ester à 9,91% est le composant majeur pour les échantillons appartenant au site semi aride, et L'Alpha pinène à 1,17% est le majeur pour les échantillons appartenant au site pré-saharien

Mots clés :

Artemisia campestris, morphologie, anatomie, huile essentielle, Chromatographie en phase gazeuse

Summary

The objective of this work is the anatomical morphological study and characterization of essential oils of the samples of armoise red coming from two localities different from the area from Tébessa.

The 1st locality is characterized by an arid semi climate and 2nd a climate présaharien presents.

The observation of the anatomical cuts of the stem shows the existence of épidermiques hairs

The essential oil yield is slightly higher for the samples coming from the arid semi site. This output is better for the samples collected at the stage préfloraison

The chromatographic analysis of essential oils shows that 4-Methoxybenzoic acid, 2-ethylcyclohexyl ester with 9,91 % is the component major one for the samples belonging to the arid semi site. Alpha pinenewith 1,17 % is the major one for the samplesbelonging to the pre-Saharan site

Key words:

Artemisia campestris, morphology, anatomy, essential oil. Gaschromatography

المخلص

الهدف من هذا العمل هو دراسة الخصائص المرفولوجية و التشريحية و الزيوت الأساسية لنبته

Artemisia campestris المقطوفة من منطقتين مختلفتين في مدينة تبسة

تتميز المنطقة الاولى بمناخ شبه قاحل و الثانية بمناخ شبه صحراوي

ملاحظة المقاطع العرضية التشريحية للساق تبين وجود شعيرات للبشره

مردود الزيوت الاساسية للعينات المقطوفة من المنطقة الشبه صحراوية هي اقل بقليل من مردود

عينات المنطقة الشبه قاحلة

التحليل الكروماتوغرافي للزيوت العطرية تبين ان 4-Methoxybenzoic acid, 2-ethylcyclohexyl ester

هو المكون الرئيسي لعينات المنطقة الشبه قاحلة بنسبة 9.91%

و ان 1' Alpha pinène هو المكون الرئيسي للمنطقة الشبه صحراوية بنسبة 1,17%

الكلمات المفتاحية

Artemisia campestris, مرفولوجيا, علم التشريح, الزيوت العطرية, التحليل الكروماتوغرافي

Liste des tableaux

Tableau 01:	Avantages et inconvénients des procédés d'extraction	9
Tableau 02:	Composés importants d' <i>Artemisia campestris</i> L. de Tunisie	18
Tableau 03:	Composés importants d' <i>Artemisia campestris</i> L de la Turquie.....	18
Tableau 04:	Composés importants d' <i>Artemisia campestris</i> L d'Espagne.....	19
Tableau 05:	Composés importants d' <i>Artemisia campestris</i> L. d'Italie.....	19
Tableau 06:	Les principaux composés volatils identifiés dans l'huile essentielle d' <i>Artemisia campestris</i> de Reffana.....	39
Tableau 07:	Les principaux Composés volatils identifiés dans l'huile essentielle d' <i>Artemisia campestris</i> de EL maa Labied.....	39
Tableau 08:	Comparaison entre les composants des huiles essentielles des échantillons des deux localités.....	40
Tableau 09:	Taux de matière sèche, teneur en eau et rendement en huiles essentielles selon les deux stades de récolte	Annexes 1
Tableau 10:	Les composés volatils identifiés dans l'huile essentielle de l' <i>Artemisia campestris</i> de Reffana.....	Annexes 3
Tableau 11:	Les composés volatils identifiés dans l'huile essentielle de l' <i>Artemisia campestris</i> de EL maa Labied.....	Annexes 4

Liste des figures

Figure 01 :	principe de la technique d'hydrodistillation ou distillation simple.....	10
Figure 02 :	La tige d' <i>Artemisia campestris</i>	14
Figure 03 :	fleur d' <i>Artemisia campestris</i>	15
Figure 04 :	Les grappes des fleurs d' <i>Artemisia campestris</i>	16
Figure 05 :	Carte géographique montrant la localisation de la région de Tébessa...	21
Figure 06 :	Situation de deux zones d'études.....	22
Figure 07 :	L' <i>Artemisia Compestris</i> dans la station de Reffana.....	23
Figure 08 :	L' <i>Artemisia Compestris</i> dans la station de Elma-lebiad.....	23
Figure 09 :	Plante entière de l'armoise rouge.....	28
Figure 10 :	Base de la tige observée à la loupe : G : $\times 4$	29
Figure 11 :	la tige observée à la loupe G : $\times 4$	29
Figure 12 :	Feuilles de l'armoise rouge observées à la loupe : G : $\times 4$	30
Figure 13 :	Feuilles couvertes de poils observées à la loupe : G : $\times 8$	30
Figure 14 :	Inflorescence de l'armoise rouge observée à la loupe : G : $\times 4$	31
Figure 15 :	Pétales de l'armoise rouge observées à la loupe : G : $\times 4$	32
Figure 16 :	Fleurs de l'armoise rouge observées à la loupe : G : $\times 4$	32
Figure 17 :	Coupe transversale de la tige observée au microscope photonique G : $100 \times$	33
Figure 18 :	Coupe transversale de la tige observée au microscope photonique G : $100 \times$	34
Figure 19 :	Partie d'une coupe transversale de la tige montrant les cellules du sclérenchyme observées au microscope photonique : G : $250 \times$	35
Figure 20 :	Parenchyme médullaire observé au microscope photonique : G : $250 \times$	35
Figure 21 :	Parenchyme palissadique observées au microscope photonique G : $250 \times$	36

- Figure 22 :** Cellules de parenchyme palissadique observées au microscope photonique : G : 400×.....36
- Figure 23 :** rendement en huiles essentielles d' *Artemisia campestris* de Tebessa...37
- Figure 24 :** Chromatogramme de l'huile essentielle d'*Artemisia compestris* de la région de Reffana.....Annexes2
- Figure 25 :** Chromatogramme de l'huile essentielle d'*Artemisia compestris* de la région de Elma-lebiad.....Annexes2

Sommaire

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

Revus bibliographique

Chapitre I les huiles essentielles

I-1 Définition.....	3
I-2 Historique.....	3
I-3 Importance des huiles essentielles.....	4
I-4 Répartition, localisation des huiles essentielles.....	4
I-5 Fonction	5
I-6 Propriétés physico-chimiques	5
I-7 Biosynthèse des huiles essentielles.....	6
I-8 Composition chimiques des huiles essentielles.....	6
I-8-1- Les terpènes et leurs dérivés.....	6
I-8-2- Les composés aromatiques.....	7
I-9 Paramètres influençant la composition chimique.....	7
I-10 Procédés d'extraction.....	8
I-10-1-L'enfleurage	8
I-10-2-Procédé d'hydrodistillation.....	9
I-10-3-Entrainement à la vapeur d'eau.....	10
I-11 Identification des huiles essentielles.....	10
I-11-1-La chromatographie en phase gazeuse (C.P.G).....	10
I-11-2 -La spectrométrie de masse (M.S).....	11

	I-11-3- Le couplage C.G-M.S.....	11
ChapitreII	Les caractéristiques de l'armoire rouge (<i>Artemisia compestris</i>)	
	II-1 Répartition géographique.....	12
	II-2 Description botanique.....	13
	II-3 Répartition géographique.....	16
	II-4 Importance thérapeutique.....	17
	II-5 Exigences écologiques et édaphiques.....	18
	II-6 Composition chimique.....	18
	Partie expérimentale	
ChapitreI	Matériels et méthode	
	I-1 Matériels.....	20
	I-1-1Caractéristiques des zones de récolte.....	20
	I-2 Méthodes d'étude.....	24
	I-2-1Description morphologique	24
	I-2-2Description anatomique.....	24
	I-2-3Evaluation du rendement en huiles essentielles	25
	I-2-3-1-Détermination de la matière sèche.....	25
	I-2-3-2- Extraction des huiles essentielles.....	25
	I-2-3-3-Le rendement en huile essentielle.....	26
	I-2-4- Méthodes d'analyse chromatographique.....	26
	I-2-4-1-Couplage chromatographe gazeuse/Spectrométrie	26
	de masse	
	I-2-4-2-Le principe de couplage chromatographe	27
	gazeuse/Spectrométrie de masse	
ChapitreII	Résultats et discussions	

II-1	Description morphologique.....	28
	II-1-1-La tige	29
	II-1-2-La feuille	30
	II-1-3-L'inflorescence.....	31
II-2	Description anatomique.....	33
II-3	Rendement.....	37
	Conclusion.....	45
	Référence bibliographique	47

Annexe

L'Algérie par son aire géographique et sa diversité climatique est riche en flore naturelle. La gamme des plantes médicinales et aromatiques fait partie du grand patrimoine végétal de ce pays (ISERNI, 1990).

Les plantes médicinales sont utilisées en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétique, ainsi que dans la confection de boissons, soit nature, soit en préparation galénique, soit encore sous forme de principes actifs, comme matière pour l'obtention de médicaments (NAGHIBI et al, 2005 ; BABULKA, 2007).

Les astéracées ou composées constituent l'une des familles botaniques les plus importantes. Le genre *Artemisia* est un des plus importants de la famille des Asteraceae, de nombreuses recherches sur l'armoise ont été entreprises, concernant l'aspect biochimique, les premières extractions et identification ont été faites par une équipe de recherche chinoise. (BETINA, 2004).

L'*Artemisia campestris* est l'une des espèces appartenant à ce genre, est largement distribuée mais elle est plus commune dans le centre et l'Est des États-Unis et à l'ouest originaire d'Eurasie. Elle se produit parfois dans les États de la côte de l'Atlantique (HALL et al, 1923; HITCHCOCK et al, 1973).

En Algérie, elle est très répandue et abondante dans les régions steppiques et sahariennes. (DURAND, 1899).

Plusieurs auteurs ont travaillé sur l'*Artemisia campestris* : JUTEAU (2001) s'est intéressé par l'étude botanique, chimique et les activités biologiques de cette plante.

D'autres auteurs ont étudiés les caractéristiques de composition de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* (JUTEAU et al, 2002 ; SEFIUN et al, 2010). En Tunisie, AKROUT et al, (2010) ont travaillé sur les activités antioxydant et anti-tumorales de *Artemisia campestris*.

En Algérie, les études effectuées sur *Artemisia campestris* ont concerné le rendement et la composition chimique d'huile essentielle (Benmoukadem, 2003)

Krelifa (2011) a étudié l'effet de la variabilité morphologique sur le rendement en huile essentielle.

Nous nous sommes intéressée a faire suite à ces travaux. L'objectif de notre travail est le suivant :

-Apporter une contribution à la description générale de la plante sur le plan morphologique, et anatomique.

-Evaluer les rendements en huiles essentielles de la plante selon le site d'échantillonnage d'une part et le stade phénologique d'autre part.

-Identification des composants des huiles essentielles de *l'Artemesia compestris* par CPG-MS.

Notre travail débutera par une étude bibliographique. Nous envisagerons par la suite le matériel d'étude et les méthodes utilisées, les résultats et les discussions seront traités dans un autre chapitre, nous terminerons par une conclusion.

LES HUILES ESSENTIELLES

LES CARACTERISTIQUES DE L'ARMOISE ROUGE

MATERIEL ET METHODES

RESULTATS ET DISCUSSION

CONCLUSION

INTRODUCTION

ANNEXES

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

SOMMAIRE

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre I : Les huiles essentielles

I-1- Définition

Il est difficile de donner une seule définition, car il n'y a pas une réponse mais des réponses à cette question. (NAVES, 1974)

les huiles essentielles sont des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale; ces mélanges passent avec certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un courant de vapeur d'eau. (SALLÉ, 1991)

Les huiles essentielles "essences, huiles volatils" sont des produits de composition générale assez complexe renferment des principes volatiles contenus dans les végétaux, elles sont plus ou moins modifiées au cours de leur préparation. (BRUNETON , 1999)

Les huiles essentielles ne constituent pas une catégorie très définie de composés chimiques, mais plutôt un mélange hétérogène de substances volatiles. (FABROCINI ,1999)

L'expression "huile essentielle" est souvent remplacée par: essence de fleur ou de plante, essence florale ou aromatique de plante, et seulement les huiles essentielles non issues de synthèse chimique qui sont véritables et totalement naturelles. (GAUCHER et LUSSON, 2001)

I-2- Historique

L'aromathérapie est connue depuis la haute antiquité dont il y a plus de 4000 ans on faisait l'extraction les essences parfumées des plantes. Les égyptiens utilisaient ces essences aromatiques comme cosmétiques. (FABROCINI 1999),

Le 15ème siècle marqua le début de la diffusion des connaissances sur les plantes médicinales et sur la pratique médicale sous forme de compilations appelées herbiers (STARY 1992).

Les traces d'utilisation d'aromathérapie retrouvée au Pakistan ont plus de 7000 ans sur terre, des inscriptions ont été trouvées datant de 4000 ans en Egypte (GHILEAN 2005).

De nos jours les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus, c'est pourquoi on utilise à nouveau l'absinthe chinoise (*Artemisia annua*) et surtout son principe actif pour soigner la malaria sans provoquer d'effets secondaires lorsque les protozoaires responsables résistent aux médicaments (ZHONG 2001).

Les plantes produisent plus de 30.000 types de produits chimiques, y compris des principes volatils, colorants et d'autres, qui constituent aujourd'hui la base des traitements médicaux (LUAUTE et BENYAYA 2005).

I-3- Importance des huiles essentielles

L'intérêt économique des substances aromatiques réside principalement dans la qualité des produits. De se fait, la plupart des recherches ont été basées sur l'étude de leur composition chimiques. Bien que la quantité totale des huiles essentielles produites par les industries chimiques soit faible, elle représente la matière de base pour la fabrication des parfums, de produits cosmétiques ainsi que les produits pharmacologiques dans le monde (BRUNETON, 1993).

Près de 90 % de la production mondiale d'huile essentielle estimée à 45000 tonnes est réalisée par seize essences, dont le volume est supérieur à 500 tonnes par an. On trouve dans ce groupe les principales sources d'aromes alimentaires comme les Citrus, les menthes et les essences utilisées en parfumerie en gros volume (BEN MERIEM et BOURGUIG, 1996).

I-4- Répartition et localisation

D'après (BRUNETON 1993), les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs (bergamotier, tubéreuse), feuilles (citronnelle, eucalyptus) et, bien que cela soit moins habituel, dans des écorces (cannelier), des bois (bois de rose, santal), des racines (vétiver), des rhizomes (curcuma, gingembre), des fruits (toute-épice, anis), des graines (muscade). Selon ce dernier, si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon la localisation.

La biosynthèse des huiles essentielles est liée à des cellules spécialisées, rarement isolées (*Lauraceae* ou *Zingiberaceae*), le plus souvent regroupées en poches (*Myrtaceae*, *Rutaceae*) ou en canaux sécréteurs (*Apiaceae*, *Asteraceae*) (GUIGNARD, 2000) et en poils sécréteurs (*Lamiaceae*) (BRUNETON, 1993).

Pour avoir un maximum d'huile essentielle dans une plante, il est indispensable de cueillir la plante avant la floraison. C'est à ce moment que la plante donne son maximum d'huile essentielle (SALLE, 1991).

I-5-Fonction

Selon SALLE (1991) et RICHTER (1993), les fonctions possibles des huiles essentielles sont multiples :

- Attraction des insectes pollinisateurs pour permettre la fécondation.
- Protection contre les prédateurs de la plante.
- Inhibition de la germination et de la croissance.
- Inhibition de la germination des bactéries et des champignons.

I-6- Propriétés physico-chimiques

Malgré leurs grandes variabilités, les huiles essentielles possèdent un certain nombre de propriétés physiques et chimiques connues qui sont les suivantes : (MORABIELE et *al*, 1991).

- Elles sont généralement liquides à température ordinaire; odorantes et inflammables.
- Elles sont volatiles et entraînable à la vapeur d'eau.
- Elles sont généralement incolores ou jaune pâle. (CATIER et ROUX, 2007)
- Leur densité est le plus souvent inférieure à 1; seules trois huiles essentielles officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les huiles essentielles de cannelle, de girofle et de saffras.
- Elles sont peu polaires, et peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques.
- Leur indice de réfraction et leur pouvoir rotatoire sont généralement élevés.

- Elles sont également très sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser pour former des produits résineux. (SEGUIN et *al.* 2001)

De ces propriétés découlent les principales précautions à prendre pour les conserver dans des flacons de petite taille, bien bouchés, colorés ou en aluminium et si possible à basse température (ROUX et CATIER, 2007).

I-7- Biosynthèse des huiles essentielles

D'après Guignard (1985), la synthèse des terpènes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique. Selon l'auteur des cellules les produisant sont organisées en appareil sécréteur, certains terpènes ne sont toute fois synthétisés qu'au niveau des tissus des plantes.

I-8- Composition chimiques des huiles essentielles

Les propriétés des huiles essentielles proviennent de leur composition chimique, les composés qui les constituent peuvent être classés en deux groupes distincts ayant chacun des caractéristiques spécifiques.

I-8-1- Les terpènes et leurs dérivés: se rattachent des composés acycliques :

Certains contenant 5 carbones (hémiterpène constitués d'unités isoprènes ; C_5H_8), d'autre à 10 carbones (hydrocarbures, alcools et aldéhydes).

Ce sont des hydrocarbures cycliques et volatils de forme $C_{10}H_{16}$ composés d'unités isoprènes (JUDD et *al.* ; 2002). A la série isoprénique hydres) qui possèdent un enchaînement retrouvant régulièrement dans beaucoup de terpènes cycliques (GAUCHER et *al.*; 2001).

- **Les monoterpènes : (composés en C_{10})**

Ce sont des hydrocarbures cycliques et volatiles de formule brute $C_{10}H_{16}$. Se trouvent dans les essences naturelles, ils sont en grande partie responsables de l'odeur âcre des plants.

A ces monoterpènes se rattache leurs produits de hydrogénation $C_{16}H_{18}$ et $C_{10}H_{20}$, ainsi qu'un certain nombre de produits naturels à fonction chimique spéciale notamment les alcools, les aldéhydes, les cétones, phénols, les acides et les esters.

- **Les sesquiterpènes : (composés en C_{15})**

Ce sont des composés de formule brute : $C_{15}H_{22}$, $C_{15}H_{24}$, $C_{15}H_{26}$, constitués de trois éléments isopréniques, disposés de façon à donner des structures mono ou polycyclique. Ils se trouvent dans divers essences naturelles.

- **Les diterpènes (composés en C_{20})**

Ils sont généralement composés de quatre éléments isopréniques cycliques et acycliques.

- **Les tris terpènes : (composés en C_{30})**

Ils comprennent six éléments isopréniques, aliphatiques.

- **Les tétras terpènes : (composés en C_{40})**

Les tétras terpènes les plus connus sont les hydrocarbures colorés, ils sont importants du point de vue biochimique (carotène), comme ils sont très répandus dans les légumes, les graisses animales. Ces composés se caractérisent par une longue chaîne à double liaison conjuguée responsable de leurs couleurs (GRAM et MAHMOUD ; 1963, ALLIGER et al ; 1975).

I-8-2- Les composés aromatiques :

Ce sont des dérivés du phényl-propane en $C_6 - C_3$ (LUTTGE et al ; 2002). Selon (KASMI 1997), les dérivés de phényl-propane (C_6-C_3) ont une formation qui suit une voie biosynthétique dite l'acide chimique, conduisant essentiellement à la synthèse de tyrosine.

I-9-Paramètres influençant la composition chimique

Une HE est très fluctuante par rapport à sa composition chimique sur laquelle interviennent un certain nombre de paramètres, les principaux facteurs de variabilité de cette composition sont d'origine intrinsèque et extrinsèque: le génotype, l'environnement, l'origine géographique. (OUSSALA et al. ,2006 ; FELLAH et al. ,2006).

- L'heure de la récolte du matériel végétal ainsi que le moment de l'année sont en effet des facteurs importants (LAHLOU, 2004). La température et la durée et la manière du séchage ainsi que le mode d'extraction. (OUSSALA et *al.* 2006 ; FELLAH et *al.* ,2006).

- Le premier paramètre influençant la composition chimique d'une plante est sa biosynthèse et donc son profil génétique. C'est la raison pour laquelle, une même espèce peut présenter plusieurs chémotypes de profils chimiques différents. Il existe de nombreux exemples d'un tel phénomène, notamment chez le thym, l'origan, la sauge... (THOMPSON et *al.* 2003 ; FELLAH et *al.* 2006).

- Les conditions environnementales influencent aussi la composition, La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la pluviométrie et les conditions édaphiques (composition du sol) représentent autant de causes potentielles de variations de la composition chimique d'une plante donnée. (FELLAH et *al.* ,2006) (SOKMEN et *al.* 2004 ; LOZIENE et *al.* 2005).

I-10- Procédés d'extraction

Tableau1 : Avantages et inconvénients des procédés d'extraction (RICHARD ET MULTON, 1992).

Procédés	Avantages	Inconvénients
Hydro-distillation	Essence concentré de bonne qualité	Evaporation
Expression	Essence non altérables de bonne qualité	Diffusion lente
Enfleurage	Pommade gardant la finesse de l'odeur	Cout très élevé
Solvant organique	Rendement élevée, essence olfactivement proche du végétal	Essences impures Evaporation et cyclisation

Il existe plusieurs procédés d'extraction des matières aromatiques donnant les huiles essentielles.

I-10-1-L'enfleurage

Cette méthode n'est presque plus utilisée car elle est très coûteuse. Ce sont des clayettes où l'on met un corps gras (graisse animale type saindoux). On étale une couche de ce saindoux puis une couche de pétales de fleurs puis on recommence cette opération plusieurs fois. On chauffe la clayette légèrement aux environs de 30°. Le

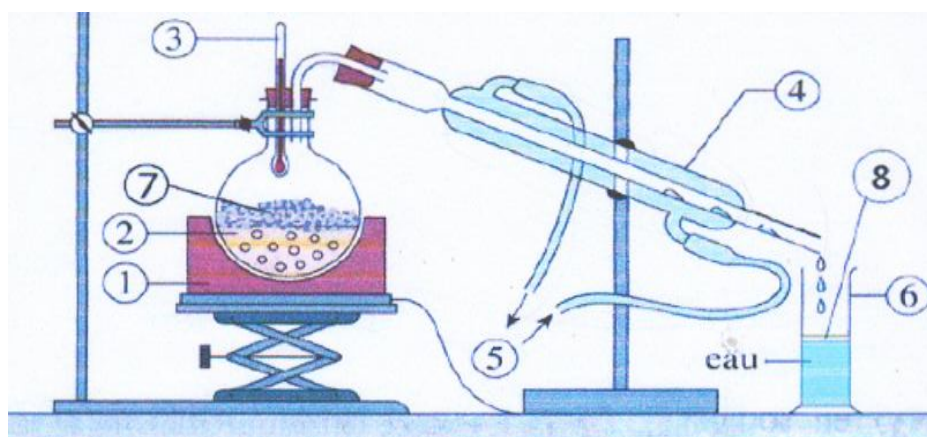
saindoux devient mou et se sature d'essence. Quand le saindoux se dissout, on met de l'alcool qui sert de vecteur à l'huile essentielle. On effectue ensuite la séparation par évaporation sous vide (SALLE, 1991).

I-10-2-Procédé d'hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode la plus employée pour récupérer les huiles essentielles, elle représente 80% pour la récupération des huiles essentielles (SALLE 1991).

L'hydrodistillation est la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition.

Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au dessus de l'hydrolat (FRANCHOMME *et al*, 1990).



Figure(1): principe de la technique d'hydrodistillation ou distillation simple. (Lucchesi, 2005).

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

I-10-3-Entrainement à la vapeur d'eau

Les plantes entières ou broyées, lorsqu'il s'agit d'organes durs (racine, écorce), sont disposées dans un alambic traversé par un courant de vapeur d'eau. Sous l'effet de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur qui, sous basse pression, traverse alors la cuve remplie de plantes aromatiques. La vapeur d'eau qui a volatilisé et entraîné l'huile essentielle se condense ensuite dans le serpentin du réfrigérant. À la sortie de l'alambic, un essencier autrefois nommé « vase florentin » permet de séparer l'eau de l'huile essentielle grâce à la différence de densité des deux liquides (ROUX, 2008).

I-11- Identification des huiles essentielles

Différentes méthodes sont utilisées pour identifier les composants d'une huile essentielle, parmi celles-ci la chromatographie en phase gazeuse (C.P.G), la spectrométrie de masse (M.S) et le couplage des deux techniques (G.C-M.S).

I-11-1-La chromatographie en phase gazeuse (C.P.G)

C'est une méthode d'analyse chimique utilisée pour séparer les constituants d'un mélange de gaz ou de composés vaporisables à haute température; elle permet d'identifier des constituants même à l'état de traces d'où ces derniers sont caractérisés par leur temps de rétention (SKOOG et NIEMAN 2003). Le chromatographe en phase gazeuse est constitué de trois modules : un injecteur, une colonne capillaire dans un four et un détecteur. Il existe différents types de détecteurs mais le spectromètre de masse tend aujourd'hui à supplanter tous les autres car il est le seul à fournir des informations structurales sur les composés séparés par chromatographie (SKOOG et NIEMAN 2003).

I-11-2 -La spectrométrie de masse (M.S)

Le spectromètre de masse permet l'identification et la quantification des analyses. Il existe de nombreux types de spectromètres de masse ; tous ont en commun trois éléments : une source, un analyseur et un détecteur; la source est la partie du spectromètre de masse où sont produits des ions gazeux à partir des molécules introduites, et l'analyseur sépare les ions produits par la source en fonction de leur rapport masse sur charge, alors quel rôle du détecteur est double: détecter les ions proportionnellement à leur nombre et amplifier le courant correspondant (de

l'ordre de 10^{-12} ampères) pour le rendre détectable par l'électronique du système (BOUCHONNET et *al.*, 2000). (BLETON et *al.*, 1997),

I-11-3- Le couplage C.G-M.S

En revanche, il existe une technique de couplage entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse (M.S), la technique est généralement désignée sous le terme abrégé de "GC-MS" pour "Gas Chromatography – Mass Spectrometry" ; elle est aujourd'hui à son apogée et trouve des applications dans des domaines aussi variés que l'industrie agroalimentaire, la médecine, la pharmacologie ou l'environnement (TRANCHANT et *al.*, 1995 in BOUCHONNET 2000).

Le couplage GC-MS consiste à réunir la colonne de chromatographe et le spectre de masse, soit en introduisant directement l'extrémité de la colonne dans la chambre d'ionisation, soit par le relais d'un capillaire de transfert chauffé placé entre le chromatographe et le spectromètre de masse (ROUESSAC 1992).

Chapitre II: Les caractéristiques de l'armoire rouge (*Artemisia campestris*)

II-1- Répartition géographique

Les Astéracées constituent l'une des plus vastes familles du règne végétal. C'est une famille répandue dans le monde entier, mais principalement dans les régions tempérées. Les premières Astéracées sont apparues à l'oligocène, soit il y'a environ 20 millions d'années (GUIGNARD, 2001), avec au moins 21000 espèces réparties en 1300 genres. Cette famille est l'une des plus belles réussites de l'évolution. Un fait le prouve sans conteste : le grand nombre de ses espèces. Selon (BRUNETON 2001), ces plantes sont rarement arbustives ou épiphytes ; elles sont surtout herbacées et souvent vivaces.

L'importante famille des Composées comprend de rares espèces médicinales et parmi celles-ci peu appartiennent à la flore des zones arides ou semi-arides ; les plus importantes sont les *Artemisias* (PARIS et DILLEMANN, 1960).

Ce genre est composé d'un grand nombre d'herbacées de petite taille dont plus de 300 espèces différentes se trouvent principalement dans les zones arides et semi arides d'Europe, d'Amérique, d'Asie et d'Afrique du Nord. Les espèces d'*Artemisia* (*l'Artemisia absinthium*, *l'Artemisia annua* et *l'Artemisia vulgaris*) sont largement utilisées comme plantes médicinales en médecine traditionnelle (CHOPRA et al, 1960 ; WRIGHT, 2002).

D'après (LE HOUEROU 1995), les espèces rencontrées en Algérie sont : *Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris L*, *Artemisia judaica L*, *Artemisia arborescens L*, *Artemisia absinthium L*, *Artemisia atlantica coss et Dur*, *Artemisia alba turra ssp kabylica*, *Artemisia verlotorum lamott*, *Artemisia vulgaris L*, *Artemisia monosperma L*.

II-2- Description botanique

Selon JOHN et KARTESZ (2006), l'armoise rouge, *Artemisia campestris* est une plante steppique qui appartient au :

Règne	Planta
Sous règnes.....	Plantes vasculaires
Super division.....	Spermatophytes
Division.....	Plantes à fleurs
Classe	Dicotylédones.
Sous classe.....	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae (Compositae)
Genre.....	<i>Artemisia</i>
Espèce.....	<i>Artemisia campestris</i>

Le nom commun de cette espèce est l'armoise (MAIRE, 1933; QUEZEL et SANTA, 1963). *Artemisia campestris* L a été d'écrite en 1753 par Linné et la sous espèce *glutinosa* a été découverte et déci en Algérie en 1889 par J. Gay. Cette même espèce a été déjà découverte en Russie en 1835 sous le nom scientifique d'*Artemisia jussieana* (JAUZEIN 1995).

L'*Artemisia campestris* (Aurone-des-champs, L'armoise rouge, en arabe dgouft) est une espèce de plantes herbacées bisannuelles ou vivaces, de 20 à 80 cm de longueur. (DE LAMARCK et DE CANDOLLE ,1805). Aromatique, ligneuse pouvant atteinte 150 cm, (MARIE-CLAIRE et al ,1999). La saveur est aromatique, forte et amère (MAHMOUDI, 2011).

Les tiges sont un peu couchées, dures à leur base, pubescentes vers leur sommet, cylindriques, ordinaires rougeâtres, quelques fois d'un vert blanchâtres et haute de 5 dm tout au plus, (Figure 2).

Les feuilles sont écopées vers leur sommet rétrécies et linéaires à leur base, et paraissent pétiolées ; elles sont soyeuses et blanchâtres sur les jeunes pousses, et deviennent vertes à mesure que la plante se développe (DE LAMARCK et DE CANDOLLE, 1805). (Figure 3).

Les fleures sont jaunâtres, solitaires et forment des grappes simples très-grêles et terminales (Figure 3 et 4), leur involucre est glabre, hémisphérique, composé de folioles un peu scarieuses sur les bords ; le réceptacle est nu. La corolle est formée de cinq pétales fusionnés.

Le calice rudimentaire ou absent. Les cinq étamines présentent des anthères regroupées en tube autour du style. Le pistil est constitué de deux carpelles soudés, style solitaire, stigmate bilobé. (DE LAMARCK et DE CANDOLLE, 1805).

Leurs fruits sont très petite capselle cylindrique de couleur marron clair. (DE LAMARCK et DE CANDOLLE ,1805).



Figure 2 : La tige d'*Artemisia campestris* d'après RUSS K et al, 2009



Figure 3 : Les feuilles d'*Artemisia campestris* d'après RUSS. K et *al*, 2009.



Figure 3 : fleur d'*Artemisia campestris* d'après RUSS K et *al*, 2009



Figure 4 : Les grappes des fleurs d '*Artemisia campestris* d'après HARRI A, 2005.

II-3- Répartition géographique

Selon MAIRE (1933), QUEZEL et SANTA (1963), ANONYME (1982) et, OZENDA (1983), cette espèce est très répandue dans les lits pierreux et sablonneux des oueds des montagnes dans les étages méditerranéens; plus rarement sur les pentes pierreuses de l'étage supérieur, elle descend assez bas dans l'étage tropical. En Algérie, cette espèce est assez commune dans les hauts plateaux constantinois, algérois, oranais, et surtout dans les régions de Frenha, Mechria, Setif, Bordj Bou Arreridj, Aïn M'liha, Aïn El Beïda, Msiha et Khenchela (QUEZEL et SANTA, 1963).

Elle est très connue dans les montagnes du Sahara Central en altitude. Elle est répandue dans le Hoggar et moins fréquentes dans les régions du Tefedest et du Tassili cas Ajer, on la rencontre dans l'oued Tit à 1300 m, dans l'oued Outoul à 140 m, à Lamnasset à 1500 m, dans le Ravin au pied de Tahat à 2500 m et dans les plateaux de Tigharghar entre 1000 et 2000 m d'altitude (MAIRE, 1933).

Dans, la région de Tamanrasset, cette armoise fournit un pâturage médiocre, elle est broutée en dernier recours par le cheptel composé, exclusivement de caprins et de chameaux (BENCHELAH et al. 2000).

II-4- Importance thérapeutique

Les plantes médicinales sont utilisées de façon traditionnelle depuis des siècles pour soigner les maladies courantes ou plus graves. Les actions proviennent de leur composés chimiques : métabolites primaires et secondaires, et sans doute de la synergie entre les différents composés présents (SMALL et CATLING, 2000).

Différents composés ont été isolés à partir du solvant (chloroforme, hexane extraits et l'alcool) de *l'Artemisia campestris* comme les flavonoïdes, et les acétophénones (EL GHAZZOULY et OMAR, 1984 ; DE PASCUAL et al, 1986 ; TARHOUNI, 1996) qui sont à l'origine de différentes activités biologiques de cette espèce, comme antioxydant, antibactérien et anti venin (ANIYA et al, 2000 et MEMMI et al, 2007). Antispasmodique, antihémorragique, hémostatique, cicatrisante, vulnérable et antivenimeuse (MAHMOUDI, 2011).

Les algériens utilisent *l'Artemisia campestris* pour calmer les troubles digestifs, les maux abdominaux ainsi que les nausées. En usage externe, elle cicatrise les plaies et les brûlures. (TEMANI, 2005).

Les feuilles d'armoise rouge recueillies en été (août) sont largement utilisés en médecine traditionnelle comme la décoction pour leur anti venin, anti-inflammatoires, des propriétés antirhumatismales et antimicrobiens (LE FLOC'H, 1983).

L'Artemisia campestris se produit naturellement le long du littoral des îles Ryukyu et a été traditionnellement utilisé en médecine traditionnelle pour le traitement des troubles hépatiques et rénaux. (MINAMI et al, 2010), c'est une herbe vivace peigne aromatique utilisée en médecine populaire pour guérir plusieurs problèmes digestifs (CHALCHAT et al ; 2003, BABA AISSA, 1991).

Dans les zones méditerranéennes, il existe un problème d'envahissement des steppes sableuses par *l'Artemisia campestris* (long G, 1954 ; LE HOUEROU, 1955). Ceci compromet les possibilités d'amélioration pastorale et déprécie la valeur des parcours : *Artemisia campestris* est en effet peu consommée en année à pluviométrie normale ; par contre, en année de disette, les animaux la mangent ce qui amène des troubles nutritionnels et l'avortement chez les chèvres gestantes. Par ailleurs, cette espèce semble exercer un effet inhibiteur sur le développement d'autres espèces plus intéressantes.

II-5-Exigences écologiques et édaphiques

Selon (LAMBERT et al, 2010), l'*Artemisia campestris* pousse dans les sites ouverts sur sols sablonneux et secs dans tout le Royaume boréale, dans les climats tempérés de l'Nord Continent américain et l'hémisphère sud, habituellement en sec ou Habitats semi-sec.

II-6- Composition chimique

AKROUT et al. en 2001, ont analysé cette espèce récoltée en Tunisie, et nt trouvé que plus d 46 % de son huile est composée par β -Pinène, α -Pinene et *P*-Cymene (tableau 2).

Tableau 2 : Composés importants d'*Artemisia campestris* L. de,Tunisie

(AKROUT et al. 2001)

Composés chimiques	Les proportions en %
B – Pinene	24.2 - 27.9
α –Pinene	4.1 - 11.C'
P – Cymene	17.4 - 22.3

Des analyses effectuées sur une même espèce en Turquie et en Espagne donnent les résultats portés respectivement dans te tableau 3 et 4. On constate une différence dans la composition chimique de cette espèce issue de deux régions différentes, il n'y a que α et β -Pinene qui sont présents dans l'espèce des deux pays.

Tableau 3 : Composés importants d'*Artemisia campestris* L de la Turquie

(AKROUT et al. 2001).

Composés chimiques	Les proportions en %
β -Pineneet α -Pinene	21.0
Eucalyptol	8.0
L-Thuyone	4.0
Thuyol- alcool	15.0
Geraniol	13.0

Tableau 4 : Composés importants *d'Artemisia campestris L.* d'Espagne

(AKROUT et al. 2001)

Composés chimiques	Les proportions en %
1,8-Cinéole	5.2
β -Pinene	9.8
α - Pinene	15.3
Caryophiline oxyde	18.2
Spathulenol	9.3
Limonenô	4.9

BELLOMARIA et al. en 2001, ont effectué des analyses sur l'*Artemisia campestris L.* de diverses régions d'Italie et ils ont trouvé d différences dans les proportions des composés des huiles essentielles des plantes récoltées (tableau 5). Par ailleurs, les composés chimiques contenus dans les huiles essentielles de L'espèce récoltée en Espagne, en Turquie et en Italie ne sont pas les mêmes.

Tableau 5: Composés importants *d'Artemisia campestris L.* d'Italie

(BELLOMARIA et al. 2001)

Composés chimiques	Variation des proportions en % dans les 5 régions.
β -Pinene	6.9 - 57.2
Germacrene D	0.4 - 73.6
Elcyclo-germacrene	1.0 - 14.5

Chapitre I : Matériels et méthode

L'essentiel de cette étude a été réalisé au niveau du laboratoire de recherche des plantes aromatiques et médicinales du département d'agronomie de l'université SAAD DAHLEB de Blida .

I-1- Matériels

Le matériel végétal provient de deux stations différentes de la wilaya de Tébessa (la région de Reffana et la région de Elma lebiad), pour chaque station nous avons récolté un ensemble de touffes de l'*Artemisia campestris* à la fin du mois de décembre (stade feuillaison), et le début de mois de avril(stade pré floraison)

I-1-1-Caractéristiques des zones de récolte

La wilaya de Tébessa est située à 40 km de la frontière algéro tunisienne. Elle se trouve au sud-est de l'Algérie (figure 5), sur les Hauts plateaux et limitée au Nord par la wilaya de Souk-Ahras, à l'Ouest par les wilayas d'Oum El Bouaghi et Khenchela, au Sud par la wilaya d'El- Oued et à l'Est par la Tunisie (GHERZOULI, 2007). L'altitude est de 800 m environ.

La région de Tébessa (figure 6) est caractérisée par un hiver froid et un été chaud. Les précipitations moyennes annuelles sont de 378 mm et la température est comprise entre 05°C et 07 °C en hiver et 30°C à 32° C en été ce qui favorise l'évaporation. Le vent a une direction Nord-Ouest pendant l'hiver et Sud pendant l'été (BAAZI et al, 2001)

Reffana (figure 7) se trouve au centre de Tébessa. Elma lebiad (figure 8) est située à 35 km de sud est de la willaya.



Figure 5 : Carte géographique montrant la localisation de la région de Tébessa

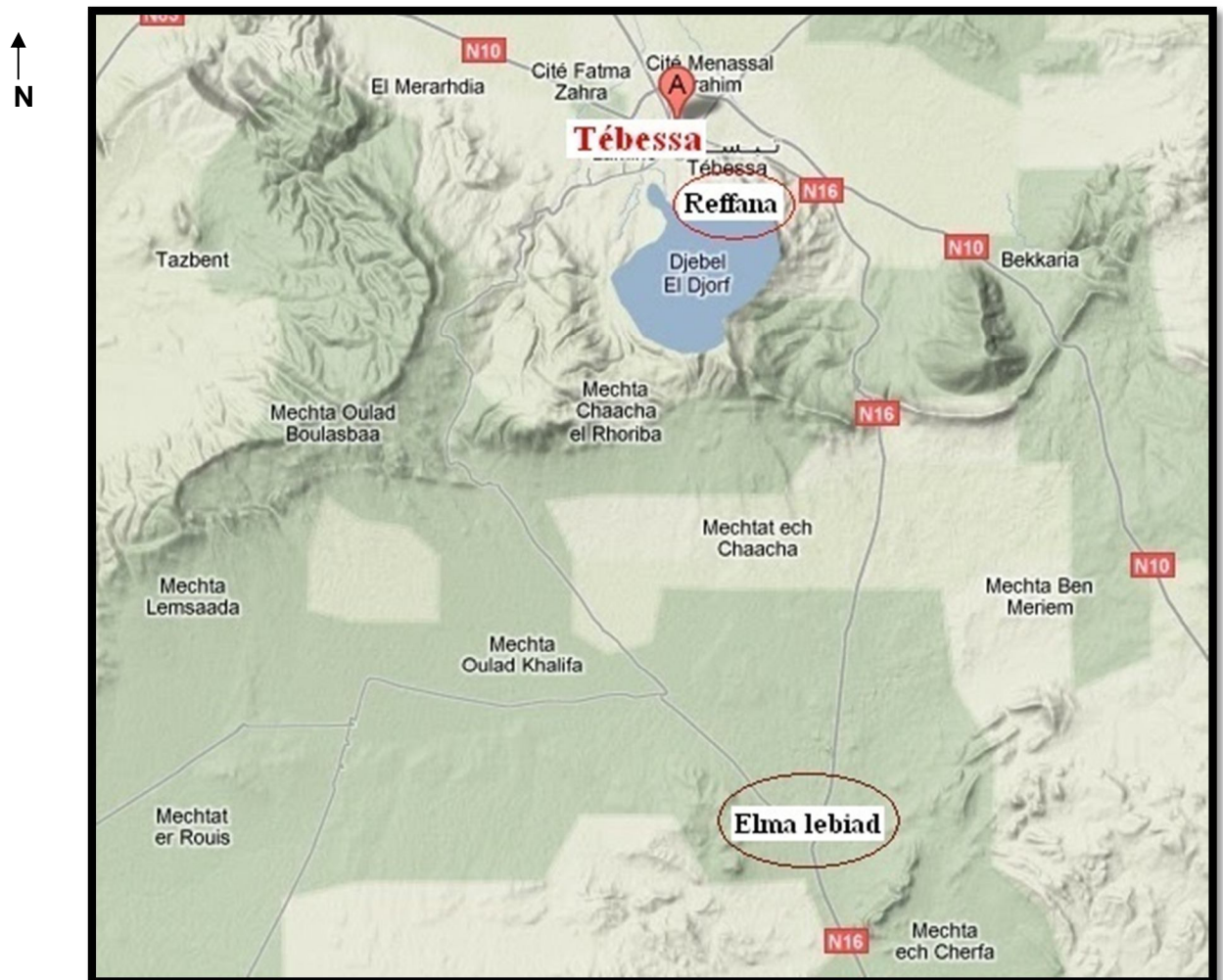


Figure 6: Situation de deux zones d'études



Figure 7: L' *Artemesia Compestris* dans la station de Reffana



Figure 8: L' *Artemesia Compestris* dans la station de Elma-lebiad

I-2- Méthodes d'étude

Pour notre travail, nous avons réalisé le suivant :

- Une description morphologique de la plante.
- Une description anatomique.
- Une extraction et évaluation des rendements des huiles essentielles pour deux stades différentes de récolte (stade feuillaison et stade préfloraison)

I-2-1-Description morphologique

Pour la description morphologique, un échantillon de notre espèce a été séché et déposé sur une feuille propre pour montrer l'aspect morphologique de la plante. D'autre part, un échantillon de l'espèce est pris pour une observation à l'œil nu et à la loupe.

I-2-2- Description anatomique

Pour la description anatomique, nous avons effectué des coupes transversales de la jeune tige de l'armoise rouge par la technique de double coloration en suivant le protocole :

- Trempage des coupes dans l'eau de javel pendant 5 à 10 minutes afin de vider les cellules.
- Rinçage abondant à l'eau de robinet et laissant par la suite les coupes dans l'eau pendant 5 à 10 minutes pour élimination de tout excès d'eau de javel.
- Trempage des coupes dans l'acide acétique pendant 1 à 3 minutes, pour préparer les parois à recevoir les colorants.
- Rinçage à l'eau de robinet et laissant dans l'eau pendant 5 à 10 minutes.
- Trempage dans le vert de méthyle (1^{er} colorant) pendant 20 minutes.
- Rinçage à l'eau de robinet et laissant dans l'eau pendant 5 à 10 minutes.
- Trempage dans le rouge de Congo (2^{ème} colorant) pendant 5 minutes.
- La coupe est mise sur une lame et couverte par une lamelle pour l'observation au microscope photonique.

I-2-3- Evaluation du rendement en huiles essentielles

I-2-3-1-Détermination de la matière sèche

Un échantillon frais est pris juste après la récolte de l'espèce et pesé afin de déterminer le poids frais. Après un séchage à l'étuve à 60°C pendant 24heures, l'échantillon est pesé de nouveau pour déterminer la masse de la matière sèche.

Le taux de la matière sèche est calculé selon la formule suivante:

$$\text{MS}\% = (\text{PS} / \text{PF}) \times 100$$

MS%: pourcentage de la matière sèche.

PS: poids sec de l'échantillon.

PF: poids frais de l'échantillon.

I-2-3-2- Extraction des huiles essentielles

Le matériel végétal fraîchement récolté a été mis à l'ombre pour séchage pendant 15jours. Les parties aériennes séchées sont coupées en petits morceaux et pesées à l'aide d'une balance précise.

Les huiles essentielles ont été isolées par hydrodistillation. Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau distillée qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (BRUNETON, 1999).

Après 3heures d'ébullition et refroidissement du mélange contenu dans le ballon, l'huile émergée est récupérée. La distillation est répétée 3fois et le volume global du distillat est estimé en (ml).

I-2-3-3-Le rendement en huile essentielle

- Le rendement en huiles essentielles est exprimé en pourcentage (%):

$$R (\%) = (V/M) \times 100$$

R (%): production en h e par 100g de MS.

V: volume de distillat en ml .

M: poids de la matière végétale exprimé par rapport à la MS en g.

Nous avons effectué trois répétitions. La moyenne de ces trois répétitions a été calculée.

I-2-4- Méthodes d'analyse chromatographique

I-2-4-1-Couplage chromatographe gazeuse/Spectrométrie de masse

C'est une technique de la chromatographie gazeuse est couplée à la spectrométrie de masse. Elle permet d'exploiter les avantages de chacune des deux méthodes. La chromatographie sépare les constituants du mélange en fonction «pure», la spectrométrie de masse fournit sur chaque fonction «pure» des informations qualitatives titrées du spectre de masse caractéristiques chacune des deux méthodes est essentielles pour le couplage (TRANCHANT et *al*, 1982).

I-2-4-2-Le principe de couplage chromatographe gazeuse/Spectrométrie de masse

Les huiles essentielles ont été analysées par la technique de CPG -SM (Perkin Elmer MS 500) équipé d'une colonne capillaire DBS -MS (30m x 0,25 mm D.I, 0,25um épaisseur de film)

Une quantité injectée est (-) ul d'huile essentielle et (-) ml (hexane) par exemple ,le débit d'hélium dans la colonne était de 1,3 ml /minute. La programmation en température du four 30°C durant 5 minutes puis 250°C et 10 minute à 250°C, la température de l'injecteur 250°C et celle de détecteur DIF est de 250°C. on appliqué un split de 50 :1.

Es spectres de masse son enregistrés en mode d'impact électronique avec une énergie d'ionisation de 70 eV, l'identification des composés est basée sur les comparaisons des indices expérimentales (IR) et bibliographique et des spectres de masse expérimentaux et contenus dans les bases de b NIST 2005 et WILEY (2751).

Glossaire

Antispasmodique : Médicament possédant la capacité de combattre les spasmes (contractures, crampes, convulsions).

Akène : Fruit sec à une seule graine et qui ne s'ouvre pas à maturité, ex: la noisette.

Bractée : Petite feuille à la base de la tige d'une fleur

Capitule : Inflorescence constituée de petites fleurs qui sont serrées les unes contre les autres.

Chaméphyte : Plante vivace rampante et plus ou moins ligneuse vivant dans les régions froides et en montagne

Convulsion : Contraction involontaire et saccadée des muscles. {sens figuré} Trouble, agitation.

Diurétique : Qui accroît la sécrétion d'urine

Emménagogue : Qui favorise, régularise ou provoque l'écoulement menstruel (règles).

Hémostatique : Médicament qui permet d'arrêter une hémorragie

Involucre : Réunion de bractées formant autour d'une fleur, ou de fleurs réunies, ou à la base d'une ombelle, une enveloppe générale..

Phénologie : Science ayant pour objet l'étude des phénomènes qui marquent la vie des plantes et des animaux au cours de l'année : germination, floraison, fructification, ..., arrivée et départ des animaux migrants, époque de nidification, entrée en hibernation.

Pubescente : Se dit des plantes garnies de poils très fins et courts.

Purgatif : laxatif

Sédatif : Qui apaise la douleur, qui calme.

Septentrionale : qui concerne le nord

Spasme : Contraction involontaire des muscles

Stomachique : Qui facilite la digestion, qui est bon pour l'estomac.

Synanthérées : soudée par les anthères

Tomenteux : organe végétal d'une plante couvert de poils mous, à l'aspect cotonneux.

Tonique : Qui stimule l'activité de l'organisme. Relatif au tonus musculaire. Qui donne de la force, de l'énergie, qui stimule le corps ou l'esprit.

Chapitre II : Résultats et discussions

II-1-Description morphologique

Les résultats de l'étude morphologique vont montres dans les figure suivent :



Figure 09 : Plante entière de l'armoise rouge

Les plants d'*A.campestris* récoltés au niveau des deux localités, Ne présentent pas une difference de point de vue odorantes et couleur de deux station de récolte .

La plante est un arbuste de longueur varie qui entre 0.50m à 1.00 m selon l'âge,

II-1-1-La tige

La tige de l'armoise rouge est ramifiée et couverte de poils lui donnant un aspect cotonneux. Nous remarquons que le sommet de la tige est plus riche en poils par rapport à la base (figure 10 et 11). Le nombre de poils diminue de haut en bas jusqu'à disparition totale à la base (figure 10).



Figure 10 : Base de la tige observée à la loupe : G : $\times 4$



Figure 11 : la tige observée à la loupe G : $\times 4$

II-1-2-La feuille

Les feuilles sont de petite taille (figure 12), laineuses et couvertes de poils abondants ce qui leurs donne une couleur vert argenté (figure 13)

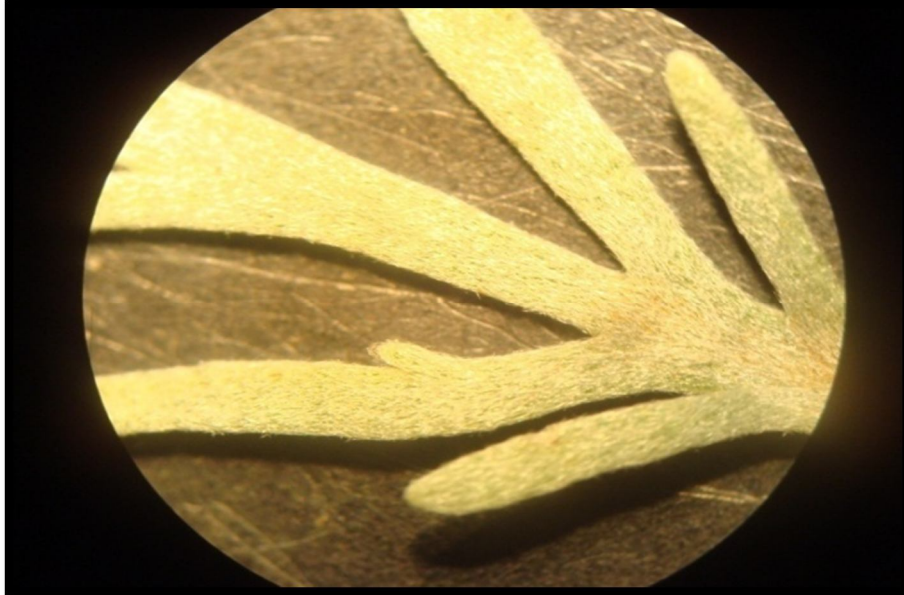


Figure 12 : Feuilles de l'armoise rouge observées à la loupe : G : $\times 4$



Figure13: Feuilles couvertes des poils observées à la loupe : G : $\times 8$

D'après BABAISSA (1999), les feuilles sont pubescentes, divisées en petites et fines languettes d'un vert argenté

II-1-3-L'inflorescence

L'armoise rouge porte des boutons floraux présentant les caractéristiques suivantes (figure 14, 15 et 16)

-Les inflorescences sont constituées de fleurs entassées dans de petits capitules jaunâtres (Figure 14).

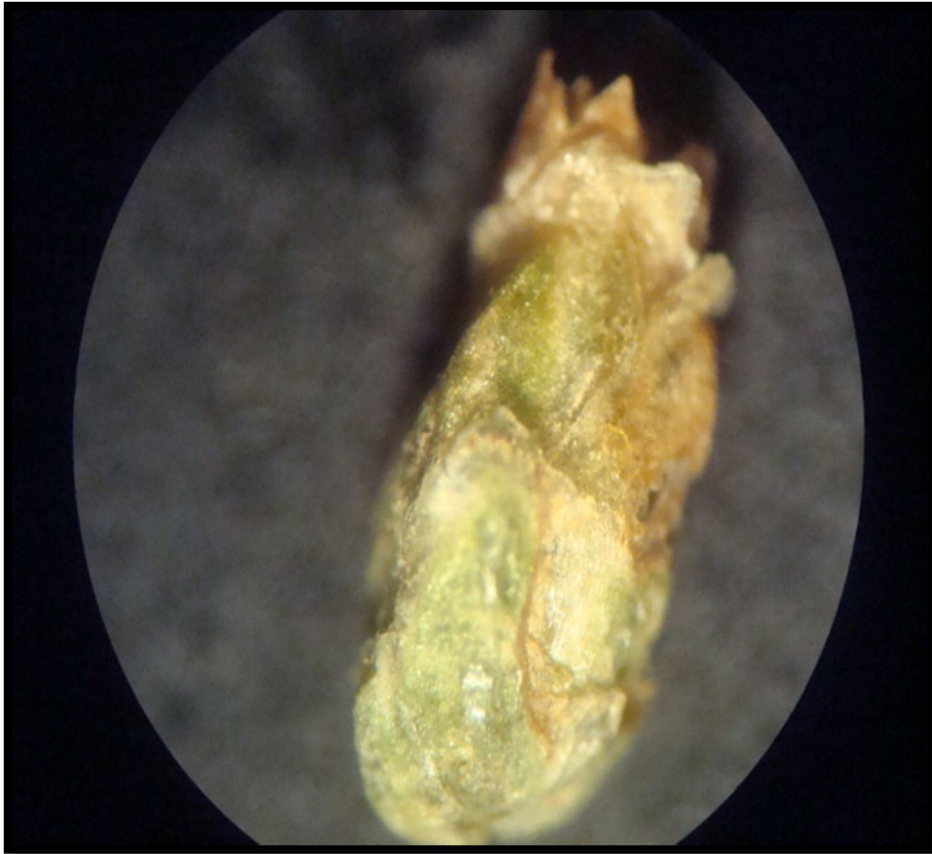


Figure 14 : Inflorescence de l'armoise rouge observée à la loupe :G : $\times 4$

-Les pétales sont soudés (gamopétales) (Figure 15).

-Le capitule renferme 3 fleurs jaunâtres (Figure 16).

D'après QUEZEL et SANTA (1963), les fleurs sont entassées dans de très petits capitules, étroits, ovoïdes, à l'involucre scarieux comportant 2 à 5 fleurs.



Figure 15 : Pétales de l'armoise rouge observées à la loupe : G : $\times 4$



Figure 16 : Fleurs de l'armoise rouge observées à la loupe : G : $\times 4$

II-2-Description anatomique

Pour mieux comprendre les phénomènes de la production d'huile végétale, et pour approfondir dans les détails de sa sécrétion, nous avons effectué des coupes transversales au niveau des tiges de l'*A.compestris*.

L'observation de la coupe transversale au microscope photonique montre de l'extérieur vers l'intérieur (figure 17, 18)

- un épiderme cutinisé avec présence de poils
- Les amas de sclérenchyme à cellules polyédriques
- Un parenchyme corticale
- Le bois
- Parenchyme médullaire

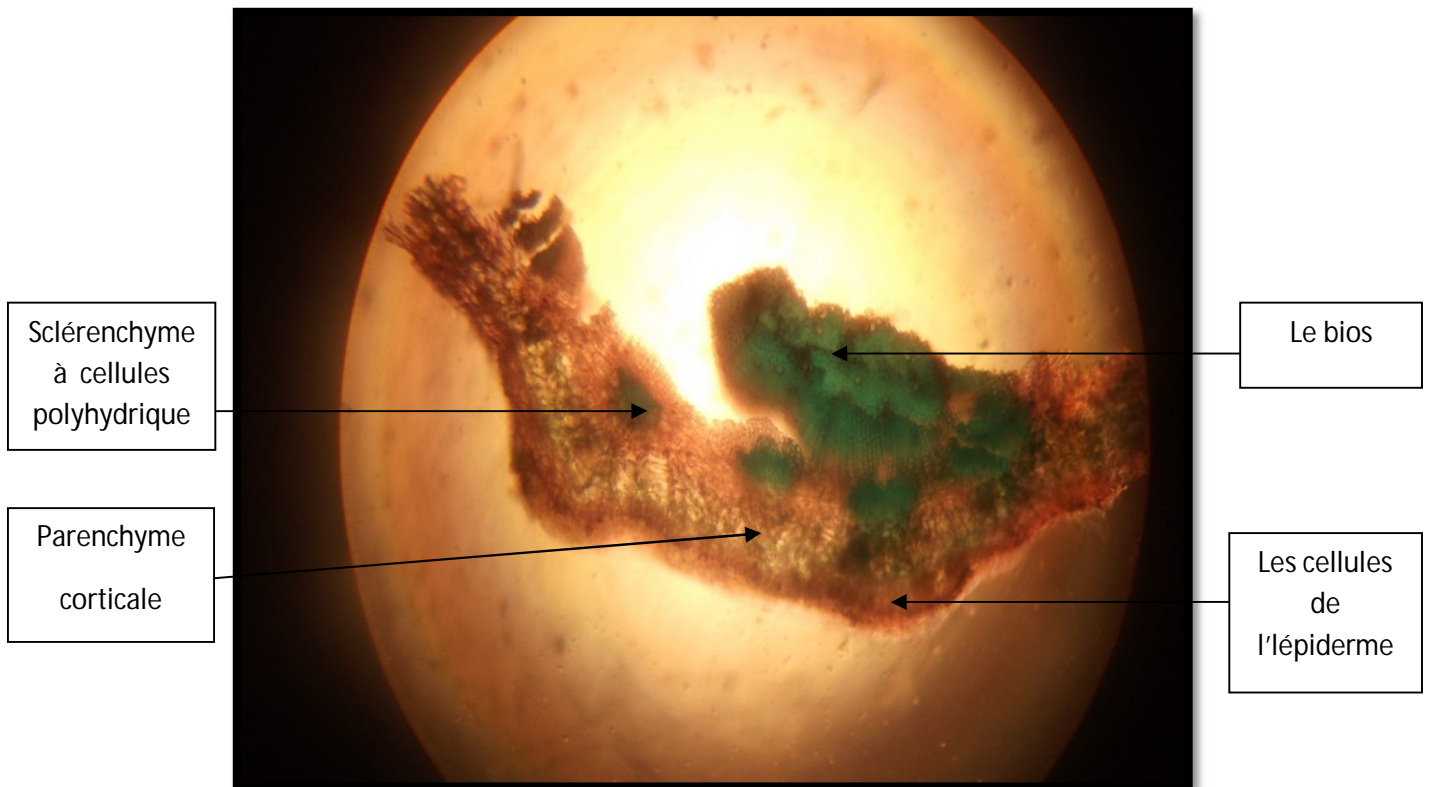


Figure 17 : Coupe transversale de la tige observée au microscope photonique

G : 100×

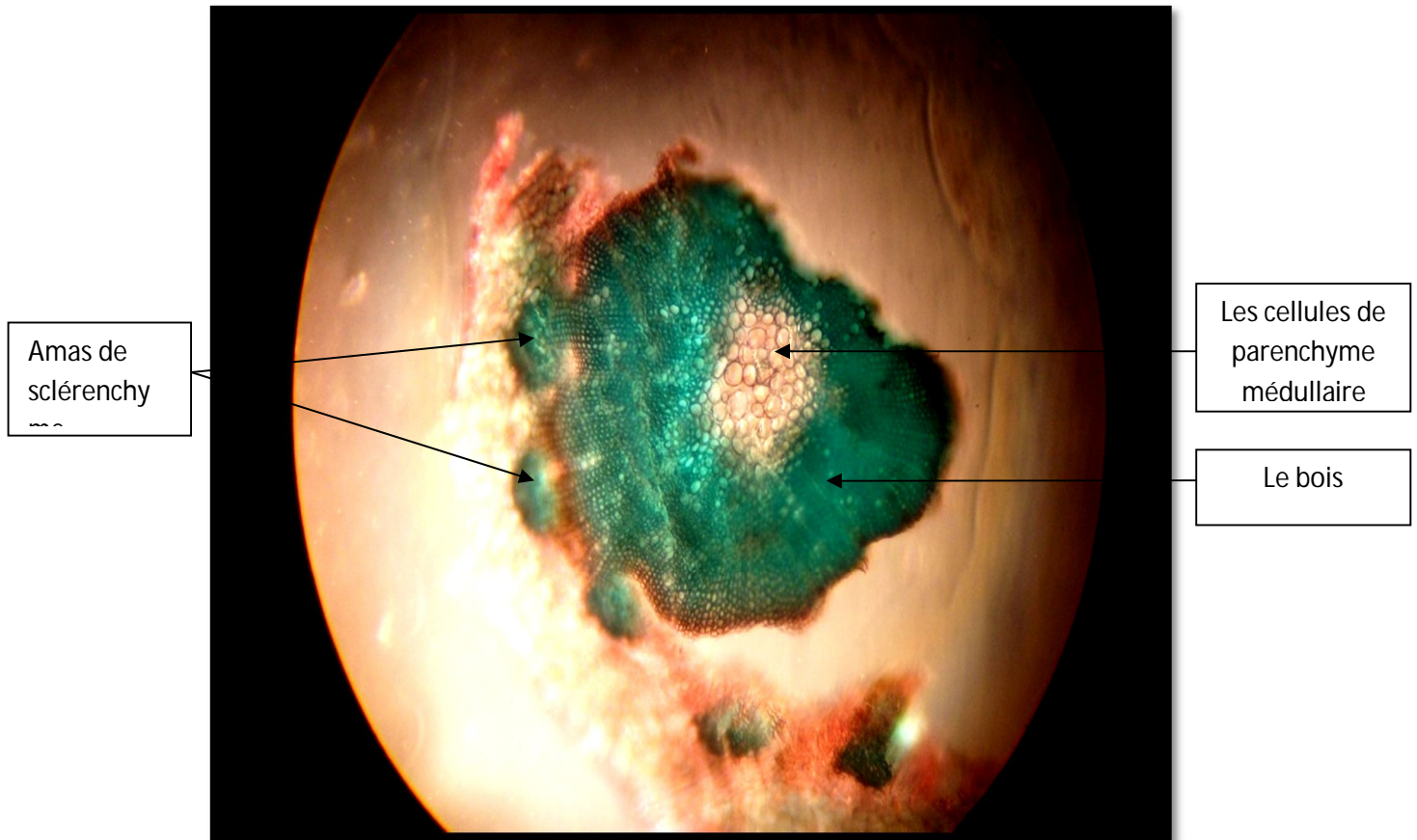


Figure 18 : Coupe transversale de la tige observée au microscope photonique

G : 100 ×

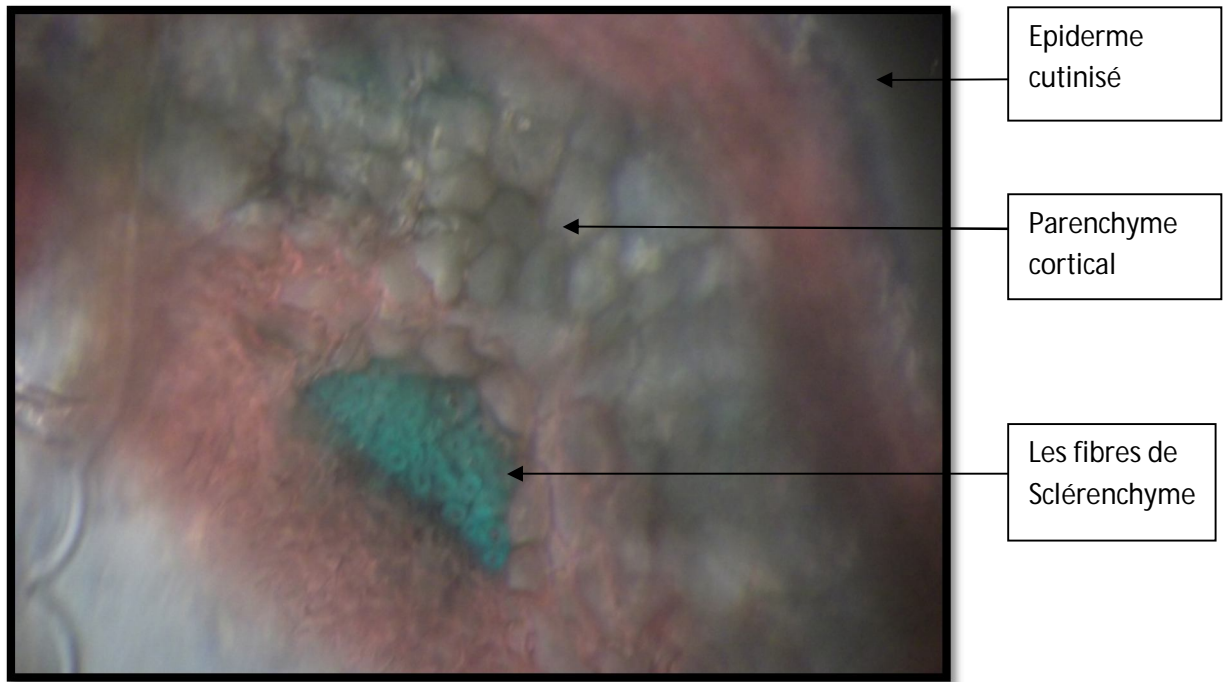


Figure 19 : Partie d'une coupe transversale de la tige montrant les fibres de sclérenchyme observées au microscope photonique : $G : 250 \times$

-Au centre de la coupe, on trouve le parenchyme médullaire (figure20).

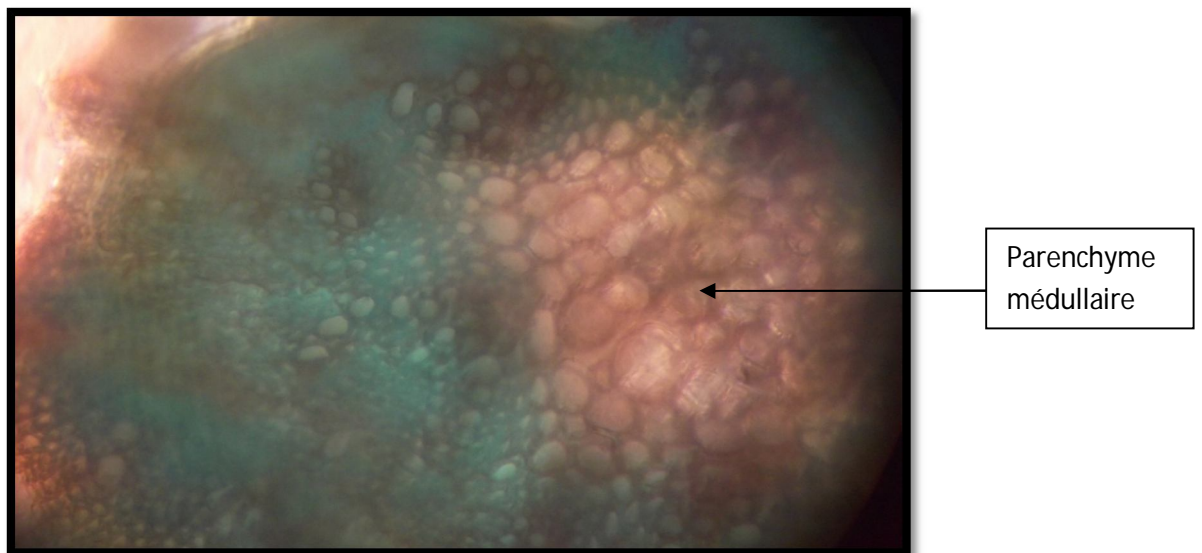


Figure 20: Parenchyme médullaire observé au microscope photonique
: $G : 250 \times$

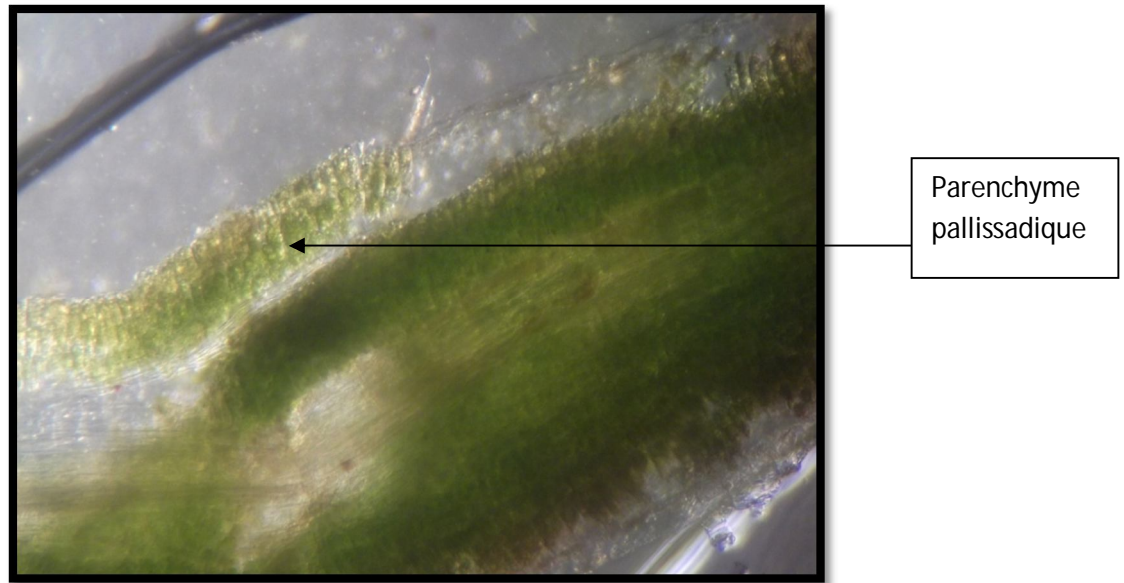


Figure 21 : Parenchyme palissadique de la feuille observées au microscope photonique : $G : 250\times$

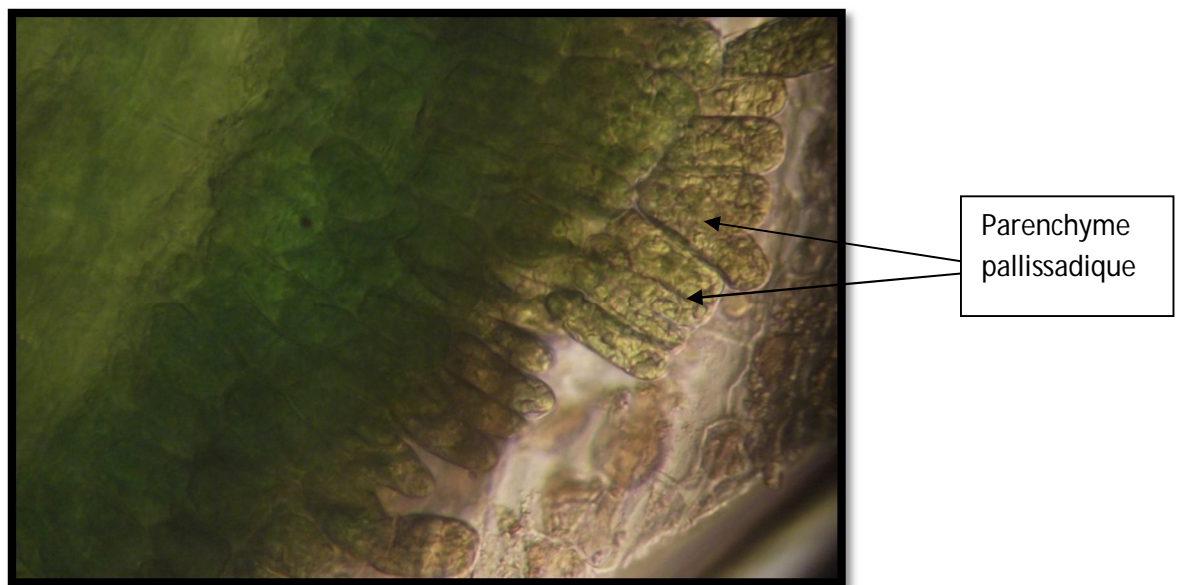


Figure 22 : Cellules de parenchyme palissadique observées au microscope photonique : $G : 400\times$

II-3- Rendement

Le rendement moyen en huiles essentielles a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. ce rendement a fourni un taux de 0,10 % au stade feuillaison et 0,12% au stade floraison pour les échantillons provenant de la zone pré-saharienne (elma labiad) et 0,13% ,au stade feuillaison et 0,16% au stade floraison pour les échantillons provenant de la zone semi aride (Reffana) ,(figure 23) . Ces rendements sont faibles par rapport à ceux obtenus pour les échantillons récoltés en décembre 2010 au niveau de la même région (Krelifa, 2011). D’après ces résultats, nous distinguons nettement que le rendement de la zone semi aride qui est légèrement plus élevé (0,13% et 0,16%) par rapport au rendement de zone la présaharienne (0,10% et 0,12%.)

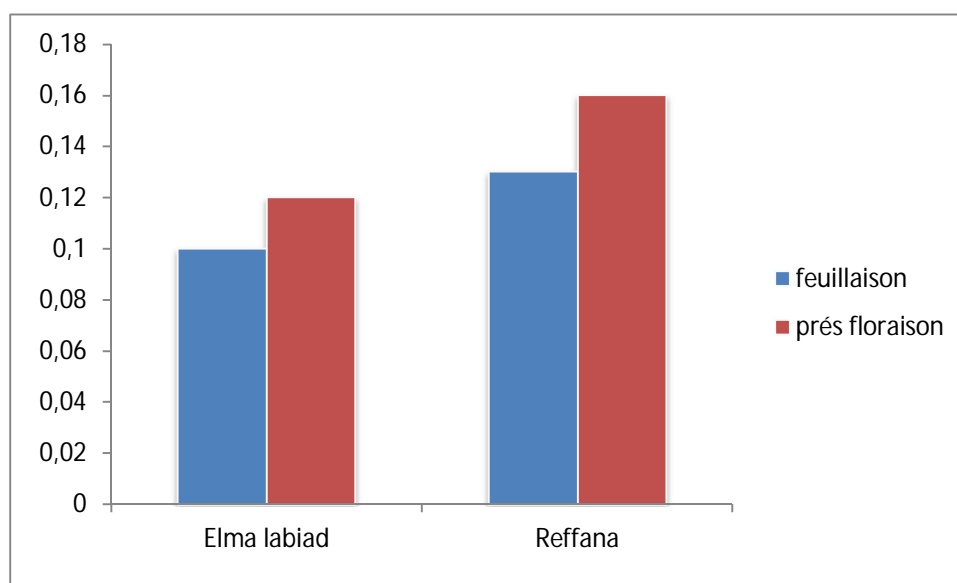


Figure 23 : rendement en huiles essentielles de *Artemisia campestris* de Tebessa

Le rendement en huiles essentielles de *Artemisia campestris* récolté au niveau d’un climat aride (Tamanraset) au mois de mars 2001 est plus important (0,52%) (Benmokadem , 2003)

Le rendement peut être considéré comme moyen par rapport à certaines *Artemisia* . Il est plus faible que celui de *l’Artemisia herba alba* récolté au niveau de la meme region et au meme stade (0,33%) (Benbouabdelleh , 2011), et de celle récolté au mois

de mars au niveau du sahara (Tamanraset) (1,05 %) et ainsi que celui de *l'Artemisia arborescens* récolté au mois de juin au niveau de la région de la mitidja (climat sub humide) (0,46%) , et celui de *l'Artemisia judaica* récolté à Tamanraset (le Sahara) au mois de mars (1,03%) . (Ben mokadem , 2003). Ce pendant il est plus élevé par rapport à celui extrait de *l'artémisia herba alba* récolté au niveau de la steppe mais obtenu par entrainement à la vapeur (0,02%%) , et plus faible pour celui obtenu par l'extraction par solvant volatils (1,28% par l'ether de pétrole et 1,78% par le cyclohexane) (Belhenniche et belhanniche, 2005)

II-3-Composition chimique

Les resultates sont montres dans le tableau suivant

Les analyses chromatographiques des HE d'*Artemisia campestris* de la région de tébessa ont révélé la présence de plusieurs composés.

(Tableau 6 et 7 et fig. 24et 25) annexes

Pour l'huile essentielle des échantillons récoltés au niveau d'un climat semi aride (Tableau 6), Les composés majoritaires sont : le 4-Methoxybenzoic acid, 2-ethylcyclohexyl ester , (9.91%) , suivi du 1-n-butyladamantane (3.24%) , et du Lenacil (2.56%) , le premier et le troisieme composants sont des composants oxydés

Pour l'huile essentielle des échantillons récoltés au niveau d'un climat présaharienn (Tableau 7), Les composés majoritaires sont : le Oxacyclotetradeca-4,11-diyne , (2.51%) , suivi du Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)- (1.59%) , et du à-Pinene (1.17%) , le premier composant est oxydé.

Résultats et discussions

Tableau 6 : Les principaux composés volatils identifiés dans l'huile essentielle de *A . campsestris* de Reffana

N°	Temps de retention	Identification	For mule	Aire (%)
1	15.58	à-Pinene	C10H16	0.09
2	16.24	Camphene	C10H16	0.25
3	20.34	Artemiseole	C10H16O	0.02
4	21.19	Longipinene epoxide	C15H24O	0.02
5	22.06	1-n-butyladamantane	C14H24	3.24
6	21.74	4-Methoxybenzoic acid, 2-ethylcyclohexyl ester	C16H22O3	9.91
7	23.17	Lenacil	C13H18N2O2	2.56
8	23.53	cis-Ocimene, 8-oxo-	C10H14O	0.13
9	23.81	Santolina epoxide	C10H16O	0.18
10	26.88	Santolina triene	C10H16	0.02
11	34.95	(-)-Spathulenol	C15H24O	0.05
12	35.43	Azulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1à,4à,7à)]-	C15H24	0.05

Tableau 7 : Les principaux composés volatils identifiés dans l'huile essentielle de *A . campsestris* de EL MAA Labied

N°	Temps de Retention	Identification	For mule	Aire (%)
1	15.55	à-Pinene	C10H16	1.17
2	17.20	6-(1,2-Dimethyl-1-propenyl)-4,5-diazaspiro[2.4]hept-4-ene	C10H16N2	0.77
3	18.74	Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-	C10H14	1.59
4	23.07	Camphenol, 6-	C10H16O	0.18
5	23.48	cis-Ocimene, 8-oxo-	C10H14O	0.07
6	26.97	(Thymol) Benzenemethanol, 4-(1-methylethyl)-	C10H14O	0.26
7	32.12	Benzene, 1-methyl-4-(2-propenyl)-	C10H12	0.49
8	34.97	Oxacyclotetradeca-4,11-diyne	C13H18O	2.51

Tableau 8 : Comparaison entre les composants des huiles essentielles des échantillons des deux localités

N°	Climats Composés(%)	Semi-aride (Reffana)	Présaharien (El Maa Labied)
1	à-Pinene (C10H16)	0,09 %	1,17 %
2	Camphene C10H16	0.25	-
3	1,8-Nonadiyne C9H12	0.06	-
4	6-(1,2-Dimethyl-1-propenyl)-4,5-diazaspiro[2.4]hept-4-ene C10H16N2)	0.02	0.77
5	Cyclohexene,1-methyl-4-(1-methylethylidene)- C10H16	0.02	-
6	Benzene,1-methyl-2-(1-methylethyl)- C10H14	0.13	1.59
7	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-, (ñ)- C10H16	0.04	0.27
8	Artemiseole C10H16O	0.02	-
9	Longipinene epoxide C15H24O	0.02	-
10	2,6-Dimethyl-1,3,6-heptatriene C9H14	0.22	0.16
11	4-Methoxybenzoic acid, 2-ethylcyclohexyl ester C16H22O3	9.91	-
12	1-n-butyladamantane C14H24	3.24	-
13	5-Decene, 4-ethynyl-, (E)- C12H20	0.30	0.07
14	Lenacil C13H18N2O2	2.56	-
15	cis-Ocimene, 8-oxo- C10H14O	0.13	0.07
16	Santolina epoxide C10H16O	0.18	-
17	1-Decen-4-yne, 2-nitro- C10H15NO2	0.05	-
19	Santolina triene C10H16	0.02	-
20	(Thymol) Benzenemethanol, 4-(1-methylethyl)- C10H14O)	0.02	0.26
21	1,3-Cyclopentadiene, 2-(4-bromobutyl)-5,5-dimethyl- C11H17Br	0.12	-
22	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl-, (1S)- C10H14O	0.43	0.12
23	5,9-Tetradecadiyne C14H22	0.01	0.06

Résultats et discussions

24	3,5-Dodecadiyne, 2-methyl- C ₁₃ H ₂₀	0.04	0.00
25	(-)-Spathulenol C ₁₅ H ₂₄ O	0.05	-
26	Oxacyclotetradeca-4,11-diyne C ₁₃ H ₁₈ O	0.07	2.51
27	Azulene,1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4- dimethyl-7-(1-methylethenyl)-,[1S(1à,4à,7à)]- C ₁₅ H ₂₄	0.05	-
28	1H-3a,7-Methanoazulene, octahydro-1,4,9,9- tetramethyl- C ₁₅ H ₂₆	0.03	0.32
29	Benzeneethanol, á-butyl- C ₁₂ H ₁₈ O	-	0.02
30	1-Decen-4-yne, 2-nitro- C ₁₀ H ₁₅ NO ₂	-	0.01
31	Camphenol, 6-C ₁₀ H ₁₆ O	-	0.18
32	1-Dec-en-4-yne, 2-nitro- C ₁₀ H ₁₅ NO ₂	-	0.03
33	Benzene, 1-methyl-4-(2-propenyl)- C ₁₀ H ₁₂	-	0.49
34	Benzenepropanoic acid, á,á-dimethyl-, methyl ester C ₁₂ H ₁₆ O ₂	-	0.06
35	1,8-Cyclopentadecadiyne C ₁₅ H ₂₂	-	0.05
36	2-Ethyl-3-methylene-indan-1-one C ₁₂ H ₁₂ O	-	0.36
37	1-Phenyl-1-heptyne C ₁₃ H ₁₆	-	0.40
38	9H-Fluoren-9-one, 1,2,3,4,4a,9a-hexahydro- C ₁₃ H ₁₄ O	-	0.06

Discussion

D'après les résultats montrés dans les tableaux 6 et 7, nous constatons que *l'Artemisia campestris* est riche en composants importants, soit oxydés ((-)-Spathulenol, Benzenemethanol, 4-(1-methylethyl)-, cis-Ocimene, 8-oxo.....etc), soit non oxydés (Azulene, Santolina triene, Campheneetc).

D'après le tableau 8 (tableau comparatif entre la composition des huiles essentielles des échantillons des deux localités), nous constatons qu'il existe des composants communs aux huiles essentielles des échantillons des deux localités (semi aride et prés sahariens) (Methanoazulene, Benzenemethanol, 4-(1-methylethyl) et - à-Pinene),

Selon les deux tableaux 6 et 7 les échantillons de *A Campestris* des deux sites (semi aride et pré sahariens) contiennent des composés communs qui sont surtout des terpenes comme à-Pinene (C₁₀H₁₆), et le Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-, (ñ)-, (C₁₀H₁₆)

D'autres composés caractérisent uniquement les individus provenant d'un climat semi aride (Reffana), soit à faible proportion variant entre 0,02% à 0,06% (1,8-Nonadiyne (C₉H₁₂) Camphene(C₁₀H₁₆), 1,8-Nonadiyne (C₉H₁₂), Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-(C₁₀H₁₆), Artemiseole (C₁₀H₁₆O), Longipinene epoxide (C₁₅H₂₄O), Santolina triene(C₁₀H₁₆) soit à des teneurs plus ou moins élevées (Santolina epoxide C₁₀H₁₆O), cis-Ocimene, 8-oxo- (C₁₀H₁₄O).

Le Camphene rentre aussi dans la composition des huiles essentielles de *Artemesia . salsoloides* de Himalayas (Jaime A. et Teixeira da Silva, 2004), d'autres chercheurs l'ont identifié chez *Art mesatlantica* du maroc (Hassania K. et al, 2012) et chez *Achillea millefolium* du sud-est de Toulouse (EL KALAMOUNI, 2010)

Pour les échantillons provenant du climat pré saharien (El maa labied), les composants qui les caractérisent à faible proportion sont le Benzeneethanol, á-butyl-C₁₂H₁₈O et le 1-Decen-4-yne, 2-nitro- C₁₀H₁₅NO₂ (0,02% et 0,01% répectivement). D'autres composés sont présents avec des teneurs plus ou moins élevés variant entre 0,36% et 0,49% (2-Ethyl-3-methylene-indan-1-one C₁₂H₁₂O, 1-Phenyl-1-heptyne C₁₃H₁₆, Benzene, 1-methyl-4-(2-propenyl)- C₁₀H₁₂)

D'après les résultants obtenus , *l'Artemisia campestris* est riche en terpenes, nous avons des monoterpènes comme α -pinène qui se trouvent avec une teneur plus ou moins élevée (1,17%) chez les espèces récoltées dans un climat pré saharien (El maalabied) et le camphène qui caractérise les échantillons récoltés dans un climat semi aride (Reffana)

La présence du camphène chez les artemisia a été déjà affirmé, soit chez *A herba alba* (BEN MOUKADEM, 2003), soit chez *Artemesia mesatlantica* du Maroc (BENCHEQRO et al, 2012). D'après ce dernier, le camphène constitue une forte teneur (7,48%) de l'huile essentielle des parties aériennes de *l'Artemesia mesatlantica* récoltées au Maroc au mois de mars de l'année 2011

Les résultats obtenus par Ben Moukadem (2003) ont révélé la présence de α -pinène chez *Artemesia campestris* récoltées au mois de mars dans le nord est de Tamanrasset , (Sahara de l'Algérie) avec une teneur moyenne de 5,52%

D'autre part, selon AKROUT et al (2001) in BEN MOUKADEM (2003) , α -pinène caractérise *Artemesia campestris* de la Turquie avec une teneur de 21% et de l'Espagne avec une teneur de 15,3%, et de la Tunisie avec une teneur qui varie entre 4,1% à 11%

Parmi les autres composants obtenus dans l'huile essentielle de nos échantillons, nous avons noté la présence de l'Artemisiole (C₁₀H₁₆O) qui caractérise les échantillons récoltés à Reffana avec une teneur très faible (0,02%) , le lencil (C₁₃H₁₈N₂O₂) qui se trouve comme constituant majeur chez les espèces appartenant au site semi aride avec une teneur de 2,56%

La Santolina époxide (C₁₀H₁₆O) et la Santolina triène (C₁₀H₁₆) se rencontrent chez ces dernières espèces avec des teneurs plus ou moins faibles (0,18% et 0,02% respectivement) . Ce dernier composant caractérise l'espèce *Achillea santollina* avec une teneur de 0,18% (BADER et al, 2003 in JAIME et TEIXEIRA , 2004)

L'Artemesia campestris de Reffana contient une faible teneur (0,05%) de (-)-Spathulenol (C₁₅H₂₄O) . D'après les travaux de Ben Moukadem (2003) , ce composé caractérise *l'Artemesia arborescens* d'Algérie avec une teneur de 4,1% .

L'Azulène, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4-diméthyl-7-(1-méthylethényl)-, [1S-(1 α ,4 α ,7 α)]-

(C₁₅H₂₄) caractérise les échantillons du site semi aride avec une teneur de 0,05% , le Methanoazulene, se trouve chez les échantillons des deux sites avec une teneur plus faible pour les échantillons appartenant au site semi aride (0,03% contre 0,32%)

Camphenol, 6-(C₁₀H₁₆O) se rencontre chez les échantillons du site prés saharien avec une teneur de 0,18%

CONCLUSION

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de biotechnologie des plantes aromatiques et médicinales ainsi qu'au niveau de l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Centre Universitaire Régional d'Interface Fès Maroc .

Nous avons comme objectif de faire une étude morphologique, anatomique, et d'évaluer le rendement en huiles essentielles et l'analyse des huiles essentielles par le CPG-MS de l'armoise rouge (*Artemisia campestris*) récoltée dans la région de Tébessa.

L'étude morphologique à montré que :

Les feuilles d'*Artemisia campestris* sont de petites tailles, laineuses et pubescentes. Cet aspect leur donne une couleur vert argenté.

La tige est ramifiée, couverte de poils abondants lui donnant un aspect cotonneux. Le nombre de ces poils diminue de haut en bas jusqu'à disparition totale à la base.

L'étude anatomique de la tige à montré que :

La tige est constituée des cellules épidermiques cutinisées avec la présence des poils, un parenchyme cortical, des amas de sclérenchyme à cellules polyédriques , Au dessous du sclérenchyme, se localise le faisceau cribro-vasculaire, Au centre de la coupe, se trouve le parenchyme médullaire.

La feuille de l'armoise rouge montre la présence de parenchyme palisadique

Le rendement en huiles essentielles de l'armoise rouge ont été obtenu pour les échantillons récoltés au deux stades (feuillaison, prés floraison) On montre que le meilleur rendement enregistré est celui de la pré floraison pour les deux stations. Nous avons signalé aussi que l'*Artemisia campestris* de la station de Elma lebiad enregistre un rendement inférieur en huiles essentielles par rapport à celle de la station de Reffana cette différence est expliquée par la différence climatique.

L'analyse chromatographique des huiles essentielles montre que le **4-Methoxybenzoic acid, 2-ethylcyclohexyl ester** est le composant majeur pour les échantillons appartenant au site semi aride , et le **l'Alpha pinène** est le majeur pour les échantillons appartenant au site pré-saharien.

L'huile essentielle des parties aériennes d' *Artemisia campestris* de l'Est algérien est riche en monoterpènes qui sont stimulant du système immunitaire ,Cette huile contient aussi des sesquiterpènes qui ont un rôle anti inflammatoire ,nous trouvons aussi des composants oxydés

notre travail peut être complété par une caractérisation des huiles essentielles selon le paramètre phénologique .Un analyse du sol peut expliquer la différence du rendement et de la qualité des huiles essentielles pour les échantillons de chaque localité.

L'Algérie par son aire géographique et sa diversité climatique est riche en flore naturelle. La gamme des plantes médicinales et aromatiques fait partie du grand patrimoine végétal de ce pays (ISERNI, 1990).

Les plantes médicinales sont utilisées en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétique, ainsi que dans la confection de boissons, soit nature, soit en préparation galénique, soit encore sous forme de principes actifs, comme matière pour l'obtention de médicaments (NAGHIBI et al, 2005 ; BABULKA, 2007).

Les astéracées ou composées constituent l'une des familles botaniques les plus importantes. Le genre *Artemisia* est un des plus importants de la famille des Asteraceae, de nombreuses recherches sur l'armoise ont été entreprises, concernant l'aspect biochimique, les premières extractions et identification ont été faites par une équipe de recherche chinoise. (BETINA, 2004).

L'*Artemisia campestris* est l'une des espèces appartenant à ce genre.

L'*Artemisia campestris* est largement distribuée mais elle est plus commune dans le centre et l'Est des États-Unis et à l'ouest originaire d'Eurasie. Elle se produit parfois dans les États de la côte de l'Atlantique (HALL et al, 1923; HITCHCOCK et al, 1973).

En Algérie, elle est très répandue et abondante dans les régions steppiques et sahariennes. (DURAND, 1899).

Nous nous sommes intéressés à faire suite à ces travaux. L'objectif de notre travail est le suivant :

- Apporter une contribution à la description générale de la plante sur le plan morphologique, et anatomique.
- Evaluer les rendements en huiles essentielles de la plante selon le site d'échantillonnage d'une part et le stade phénologique d'autre part.

-Identification des composants des huiles essentielles de *l'Artemisia campestris* par CPG-MS.

Matériels et méthode

L'essentiel de cette étude a été réalisé au niveau du laboratoire de recherche des plantes aromatiques et médicinales du département d'agronomie de l'université SAAD DAHLEB de Blida .

1- Matériels

2- La plante est un arbuste de longueur varie qui entre 0.50m à 1.00 m selon l'âge,

Le matériel végétal provient de deux stations différentes de la wilaya de Tébessa (la région de Reffana et la région de Elma lebiad), pour chaque station nous avons récolté un ensemble de touffes de *l'Artemisia campestris* à la fin du mois de décembre stade feuillaison. et le début de mois de avril stade pré floraison

Reffana (figure 7) se trouve au centre de Tébessa. Elma lebiad (figure 8) est située à 35 km de sud est de la willaya.

2- Méthodes d'étude

Pour notre travail, nous avons réalisé le suivant :

Une étude morphologique

un échantillon de notre espèce a été séché et déposé sur une feuille propre pour montrer l'aspect morphologique de la plante.

D'autre part, un échantillon de l'espèce est pris pour une observation à l'œil nu et à la loupe.

Une étude anatomique

nous avons effectué des coupes transversales de la jeune tige de l'armoise rouge par la technique de double coloration en suivant le protocole :

- Rinçage à l'eau de robinet et laisser dans l'eau pendant 5 à 10 minutes
- Trempage des coupes dans l'eau de javel pendant 15 à 20 minutes afin de vider les cellules.
- Rinçage abondant à l'eau de robinet et laissant par la suite les coupes dans l'eau pendant 5 à 10 minutes pour élimination de tout excès d'eau de javel.

- Trempage des coupes dans l'acide acétique pendant 1 à 3 minutes, pour préparer les parois à recevoir les colorants.
- Rinçage à l'eau de robinet et laissant dans l'eau pendant 5 à 10 minutes.
- Trempage dans le vert de méthyle (1^{er} colorant) pendant 20 minutes.
- Rinçage à l'eau de robinet et laissant dans l'eau pendant 5 à 10 minutes.
- Trempage dans le rouge de Congo (2^{ème} colorant) pendant 5 minutes.
- La coupe est mise sur une lame et couverte par une lamelle pour l'observation au microscope photonique.

3- Evaluation du rendement en huiles essentielles

I-2-3-1-Détermination de la matière sèche

Un échantillon frais est pris juste après la récolte de l'espèce et pesé afin de déterminer le poids frais. Après un séchage à l'étuve à 60°C pendant 24 heures, l'échantillon est pesé de nouveau pour déterminer la masse de la matière sèche.

Le taux de la matière sèche est calculé selon la formule suivante:

$$\text{MS}\% = (\text{PS} / \text{PF}) \times 100$$

MS%: pourcentage de la matière sèche.

PS: poids sec de l'échantillon.

PF: poids frais de l'échantillon.

I-2-3-2- Extraction des huiles essentielles

Le matériel végétal fraîchement récolté a été mis à l'ombre pour séchage pendant 15 jours. Les parties aériennes séchées sont coupées en petits morceaux et pesées à l'aide d'une balance précise.

Les huiles essentielles ont été isolées par hydrodistillation. Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau distillée qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (BRUNETON, 1999). Après 3 heures d'ébullition, l'huile émergée est récupérée. La distillation est répétée 3 fois et le volume global du distillat obtenu est estimé en (ml).

A la fin d'ébullition et après refroidissement du mélange contenu dans le ballon, on détermine le volume de l'huile essentielle grâce aux graduations millimétriques de l'appareil utilisé.

Les rendements en huiles essentielles sont exprimés par rapport à la matière sèche, selon la formule suivante:

$$R (\%) = (V/M) \times 100$$

R (%): production en h e par 100g de MS

V: volume de distillat en ml

M: poids de la matière végétale exprimé par rapport à la MS en g

Nous avons effectué trois répétitions. La moyenne de ces trois répétitions a été calculée

I-2-3-3-Le rendement en huile essentielle

- Le rendement en huiles essentielles est exprimé en pourcentage (%):

$$R (\%) = (V/M) \times 100$$

R (%): production en h e par 100g de MS

V: volume de distillat en ml

M: poids de la matière végétale exprimé par rapport à la MS en g

I-2-4- Méthodes d'analyse chromatographique

Les HE ont été analysés par la technique de CPG-MS

C'est une technique de la chromatographie gazeuse est couplée à la spectrométrie de masse. Elle permet d'exploiter les avantages de chacune des deux méthodes. La chromatographie sépare les constituants du mélange en fonction «pure», la spectrométrie de masse fournit sur chaque fonction «pure» des informations qualitatives titrées du spectre de masse caractéristiques chacune des deux méthodes est essentielles pour le couplage

Résultats et discussions

II-1-Description morphologique

Les plants d'*A.campestris* récoltés au niveau des deux localités, Ne présentent pas une différence de point de vue odorantes et couleur.

1-La tige

La tige de l'armoise rouge est ramifiée et couverte de poils lui donnant un aspect cotonneux. Nous remarquons que le sommet de la tige est plus riche en poils par rapport à la base

- 2-La feuille

Les feuilles sont de petite taille (figure 12), laineuses et couvertes de poils abondants ce qui leurs donne une couleur vert argenté

3-L'inflorescence

L'armoise rouge récoltée au stade feuillaison (Janvier) porte des boutons floraux présentant les caractéristiques suivantes (figure 14, 15 et 16)

-Les inflorescences sont constituées de fleurs entassées dans de petits capitules jaunâtres (Figure 14).

-Les pétales sont soudés (gamopétales) (Figure 15).

-Le capitule renferme 3 fleurs jaunâtres

L'observation de la coupe transversale au microscope photonique montre de l'extérieur vert l'intérieur

- un épiderme cutinisé avec présence de poils

-Les amas de sclérenchyme à cellules polyédriques

-Un parenchyme corticale

-Le bois

-Parenchyme médullaire

Rendement

Le rendement moyen en huiles essentielles a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. ce rendement a fourni un taux de 0,10 % au stade feuillaison et 0,12% au stade floraison pour les échantillons

provenant de la zone pré-saharienne (elma lebiad) et 0,13% ,au stade feuillaison et 0,16% au stade floraison pour les échantillons provenant de la zone semi aride (Reffana) ,(figure 23) , nous distinguons nettement que le rendement de la zone semi aride qui est légèrement plus élevé (0,13% et 0,16%) par rapport au rendement de zone la présaharienne (0,10% et 0,12%.)

Les résultats sont montrés dans le tableau suivant

Les analyses chromatographiques des HE d'*Artemisia campestris* de la région de tébessa ont révélé la présence de plusieurs composés.

(Tableau 6 et 7 et fig. 24 et 25) annexes

Pour l'huile essentielle des échantillons récoltés au niveau d'un climat semi aride (Tableau 6), Les composés majoritaires sont : le 4-Methoxybenzoic acid, 2-ethylcyclohexyl ester , (9.91%) , suivi du 1-n-butyladamantane (3.24%) , et du Lenacil (2.56%) , le premier et le troisième composants sont des composants oxydés

Pour l'huile essentielle des échantillons récoltés au niveau d'un climat présaharienn (Tableau 7), Les composés majoritaires sont : le Oxacyclotetradeca-4,11-diyne , (2.51%) , suivi du Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)- (1.59%) , et du α -Pinene (1.17%) , le premier composant est oxydé.

Liste des abréviations

- **CPG MS** : Chromatographie phase gazeuse couplé en spectrométrie de masse
- **H.E** : huile essentielle
- **M.S** : matière sèche
- **P.F** : Poids frais
- **P.S** : Poids sec
- **T.E** : Teneur en eau
- **R** : Rendement en huile essentielle
- **A.** : *Artemisia*

- **AKROUT A, EL JANI H.S , NEFFATI A., 2010** : dépistage des activités anti-radicalaires et antibactériens des huiles essentielles de *Artemisia campestris L. Artemi*
- **AKROUT A, NEFFATI M, CHEMLI R, AOUNI M, JERRAYA R, DAMMAK M, SALAM A., 2007** : Composition chimique et Activités Biologiques de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris L.* Revue des Régions Arides, Numéro spécial, Actes du séminaire international «Les Plantes à Parfum, Aromatiques et médicinales», SIPAM, Djerba, Tunisie, pp 231-240
- **AKROUT.A, 2005** : Contribution à L'Etude chimique et Activités Biologiques de *Artemisia campestris L.* Ces fr Chimie. Faculté des Sciences de Sfax, Tunisie.
- **ALI KHOUDJA. WAHIBA. 2008.**,extraction,caracterisation et etude analytique de l'huile essentielle de la lavende (*lavendula angustifolia*)
- **ALLIGER N. L., CAVA M. P., JONSON G. R., LEBEL N. A. et SEVENS CL., 1975.** Chimie organique.
- **ANIYA Y, SHIMABUKURO M, SHIMOJI M, KOHATSU M, GYAMFI M.A, MIYAGI C, KUNII D, TAKAYAMA F , EGASHIRA ., 2000** : antioxydant et actions hépato protecteur de l'herbe médicinale *Artemisia campestris* des îles d'Okinawa, Biol. Pharm. Bull. 23 (3) (2000), p. 309-312.
- **AZOU DJ S., 1999.** Valorisation des huiles essentielles de quelque espèce de origanum et thymus spontanées en Algérie : Thèse ingénieur. INES Blida, 69p.
- **BABA AISSA F., 1991** : Les plantes médicinales en Algérie. Coédition Bouchene et Addiwane, Alger, Algérie.
- **BELLOMARIA B, VALENTINI G, BIONDI E ., 2001** : chimiotaxonomie des *Artemisia variabilis* Dix, et *Une. campestris L. ssp. Glutinosa* (Ten.) Briq. et Cavill. (Asteraceae) De l'Italie, Essent juge. Res huile. 13 (2001), pp 90-94.
- **BENMERIEM L., BOURGUIG C, 1996** -Extraction des essences par hydro distillation et par solvants volatils des feuilles de la Saugé officinal. Thèse Ingénieur. INES chimie industrielle, Blida.

- **BENMOKADE N., 2003.** Contribution à l'étude des profils des huiles essentielle produites chez quelques espèces spontanées algériennes du genre *Artemisia*. Blida Thèse magistère INES 1-13 P.
- **BLETON J. & TCHAPLA A(1997),**, “Identification par GC/MS de constituants d'un linoléum du Titanic”. *Les rencontres du CRCDDG: « Autour du Titanic »*. France. pp 33-39.
- **BOUCHONNET S. & LIBONG D. (2000),** “Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse”. Article, département de Chimie, Laboratoire des Mécanismes Réactionnels. Maroc 24p.
- **BRADA M.,** “Contribution à l'étude de l'extraction des huiles essentielles et des concrètes de deux espèces de menthe (*Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia*) étude cinétique et analytique”. Thèse mag. Univ. Blida. Dép. chimie industrielle. (2008), pp 26-29.
- **BRUNETON J. 1999 :** « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales ». Editions Tec & Doc, Paris, éditions médicales internationales, pp: 483-560.
- **BRUNETON J.,** “Pharmacognosie phytochimie des plantes médicinales”. Ed. Lavoisier, n°2, Paris, (1993), 464p.
- **BRUNETON J.,** “Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales”. Ed. Tec et Doc., Lavoisier, n°3, Paris, (1999), 1120p.
- **BRUNETON J.1993 :** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales .2eme édition Lavoisier 915
- **BRUNETON J,, 1993.** Pharmacognosie phytochimie, plantes médicinales 2^{ieme} Edit, Ed. LAVOISIER. Paris, 464P.
- **CHALCHAT J.C , CABASSU S.D , PETROVIC Z.A, MAKSIMOVIC M.S, GORUNOVIC, 2003 :** Composition of essential oil of *Artemisia campestris* L. From Serbia. *J. Essent. Oil Res.*, 15: 251-253.
- **CHALCHAT J.C , CABASSU S.D , PETROVIC Z.A, MAKSIMOVIC M.S, GORUNOVIC, 2003 :** Composition of essential oil of *Artemisia campestris* L. From Serbia. *J. Essent. Oil Res.*, 15: 251-253.
- **DE LAMARCK et DE CANDOLLE ., 1805:** flore française ou description succinctes de toutes les plantes qui croissent naturellement en France ;

troisième édition à paris : chez H. Agasse ; rue de poitevins, №6. 400 pages (194).

- **EL GHAZZOULI M ET OMAR A., 1984** : flavonoïdes constituants de l' *Artemisia campestris*, *Fitoterapia* 55 (2) (1984), pp 115-116.
- **FABROCINI C.**, “Comment se soigner avec l'aromathérapie”. Ed. VECCHI S.A, Paris, (1999), 51p.
- **GAUCHER I, LUSSON J. 2001** ., “ projet génie agro alimentaire industries alimentaire et biologiques
- **GAUCHER I. & LUSSON J.**, “Projet Génie Agro-alimentaire, industrie alimentaire et biologique”, <http://www.perso.wanadoo.fr/GIA/GIA> (2001).
- **GAUCHER I. Et LUSSON J., 2001.** Projet génie agro-alimentaire, industrie alimentaire et biologiques : <http://www.perso.wanadoo-fr/JI/GIA/GIA.index.-html>
- **GHERZOULI L, 2007** : renouvellement du centre ancien de la ville de tébessa, mémoire de magister, université mentouri Constantine.
- **GHILEAN P.**, “The cultural history of plants”. Ed. Master e-book ISBN., New York, (2005), pp 1-13.
- **GRAM DJ. et HAMMOND G.S., 1963. Chimie organique, T VII. Edit GAUTHIER VILLARS.**
- **GUIGNARD J .L.2000** : biochimie végétale. Masson, P257
- **GUIGNARD J.L, 1985. Phytochimie, Ed. MASSON, Paris, 120-170P.**
- Hoff. Link et.al .,2010, *sia helba Alba Asso*, et *Thumus capitatus* l'état sauvage dans le sud de la Tunisie, *Res récentes. Sci. Technol.* 2 (1) p. 29-39.
 - <http://WWW.perso.doo.fr>.
- **JOHN T et KARTESZ., 2006** : le biote du programme de l'Amérique du Nord
- **JUDD W.S. CAMPELL E.A. KELLOGG P., 2002.** Botanique et systématique: une perspective phylogénétique, 1^tre Edit, Edit, DE BOECK, USA 36-385P.
- **KASMI M., 1997.** Extraction des huiles essentielles du romarin et du pin d Alep. Thèse ing. INES chimie industrielle, Blida, 48P.

- **KOTHE H.W.**, “1000 plantes aromatiques et médicinales propriétés et usages”, Ed. ISBN-Terres, Toulouse, (2007), pp 6-57.
- **LAMBERT M, MARIAM T, SUSAN F, 2010** : *Artemisia Campestris* ; VDM Verlag Dr. Mueller AG & Co. Kg. 108 p
- **LE FLOC'H, 1983** : la contribution de UNE ethnobotanique de la flore tunisienne, Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique, Tunisie (1983).
- **LE HOUEROU H.N ., 1995** : bioclimatologie et biogéographie des steppes arides du Nord de l'Afrique. Diversité biologique, développement durable et désertisation ; options méditerranéennes, Sér. B : recherches et études : 1- 396 p.
- **LONG G., 1954** : contribution à l'étude de végétation de lé Tunisie centrale. Ann. Serv. Bot. Agro. Tunis 27.388p.
- **LUAUTE J.P., SALADINI O. & BENYAYA J.**, “Toxicité neuropsychiatrique de l'absinthe. Historique, données actuelles”. Annales Médico Psychologiques, 163, (2005), pp 497–501.
- **LÜTTGE U. RLUGE M. BAUER G., 2002. Botanique : traité fondamental. Edit.. Lavoisier, Paris. PP 85-463.**
- **MAHMOUDI Y, 2011** : La thérapeutique par les plantes en Algérie. Edi: Palais du livre-Blida.
- **MARIE-CLAIRE M ET LE GROUPE BOTANIQUE ANGEVIN., 1999** : plantes indigènes, adventices naturalisées, subspontanées ou accidentelles ? Crex, 4 : 73-79.
- **MEMMI A, SANS A G, RJEIBI I, EL AYEB M, SRAÏRI-ABID N, BELLASFER Z, FEKHIH A ., 2007** : utilisant des les plantes médicinales contre les venins scorpionic et ophidien, Archives de l'Institut Pasteur de Tunis 84 (1-4) (2007), p. 49-55.
- **MINAMI M ., 2010** : préliminaire du sondage problèmes taxonomiques, caractéristiques pharmacognostical, et les polymorphismes d'ADN chloroplastique de la plante médicinale *Artemisia campestris* des îles Ryukyu, au Japon. Journal des médecines naturelles ; Volume 64, Numéro 2, Page (s) 239-244

- **MOHAMMEDI Z, 2006** : Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelque plante de la région de Tlemcen. Thèse de magister, université Abou Bakr Belkaide Tlemcen ; p. 140.
- **OZENDA. P., 1977** : Flore du sahara, ED : du C. N. R. S, Paris, 622pages
- **PENOEL 1999**. L'aromathérapie, clef de la médecine systémique.
<http://www.biogassendi.com>
- **QUEZEL, P. AND S. SANTA, 1963** : Nouvelle flore de l'Algérie et des regions désertiques méridionales (Tome II), Paris, Ed.CNRS. In Belhattab R et al, 2011 : Composition d'huile Essentielle *d'Artemisia campestris* Cultivée en Algérie, Les progrès de la biologie de l'environnement, 5 (2): 429-432, Université Ferhat Abbas, Sétif 19000, Algérie.
- **RICHARD H., LOO A., 1992**. La fabrication des extraits : extraction par le dioxyde de carbone, in Epices et Aromates, Tec. et Doc, Lavoisier, Paris, 193-153 pp. 66 p. [http://www.mon-jardin.fr/jardin, htm](http://www.mon-jardin.fr/jardin.htm).
- **RICHTER G.**, "Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie", Presse polytechnique et universitaire, Romande, France, (1993), 515 p.
- **RICHTER. G., 1993** : Métabolismes des végétaux physiologie et biochimie. Edit. Tec and Doc, Paris. 526pages.
- **ROUESSAC F. & A.**, "Analyse chimique, méthodes et techniques instrumentales modernes". Ed. Masson, Paris, (1992), pp 5-19.
- **SALLE J.L.**, "Le totum en phytothérapie. Approche de phyto-biothérapie". Ed. Frison-Roche, Paris, (1991), pp13-96..
- **SALLE J.L., 1991**. Les huiles essentielles, Edit FRISON-ROCHE, Paris, 166P.
- **SILOU T., MALANDA M. & LOUBAKI L.**, "Optimisation de l'extraction de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* grâce à un plan factoriel complet 2³". art. dans journal food engineering. Vol. 65. Issue 2 (2003).
- **SKOOG D., HOTTER G. & NIEMAN F.**, "Principes d'analyse instrumentales". Ed. Bocker university, 5. Maroc (2003) 956p.
- **STARY F.**, "Plantes médicinales". Ed. ISBN, n°1, Paris, (1992): 5-8.

- **TARHOUNI ., 1996** : l'isolement et la caractérisation des flavonoïdes *Artemisia campestris L. subsp. Glutinosa* plantes, J. Soc. Chim. De Tunisie 3 (12) (1996), pp 891-894.
- **ZHONG J.**, “Plant cells. Advances in biochemical engineering biotechnology”, Ed. ECUST-SPRINGER, Shanghai, (2001), pp 1-12.

ANNEXE

Tableau 9: Taux de matière sèche, teneur en eau et rendement en huiles essentielles selon le stade de récolte

paramètres stade	MS %	Teneur en eau %	Rd% (ml/100 g) Janvier	Rd% (ml/100 g) Avril
Reffana	2,75	86,25	0,13	0,16
Elma lebiad	11,14	49,37	0,10	0,12

Matériel non biologique

1-Appareillage

- Dispositif d'extraction
- Balance de précision
- Etuve microbiologique
- Chromatographie phase gazeuse CPG
- Chromatographie phase gazeuse couplée a un spectromètre de masse CPGMS
- Microscope photonique
- Plaque chauffante
- Lampe loupe

2-Les Verreries

- Erlén Meyer
- Burette
- Ballon
- Lame
- Lamelle

3- Les solutions

- Eau physiologique
- Eau distillée
- Eau de javel
- Alcool
- L'acide acétique
- Vert de méthyle
- Rouge congou

RT: 0.00 - 60.00

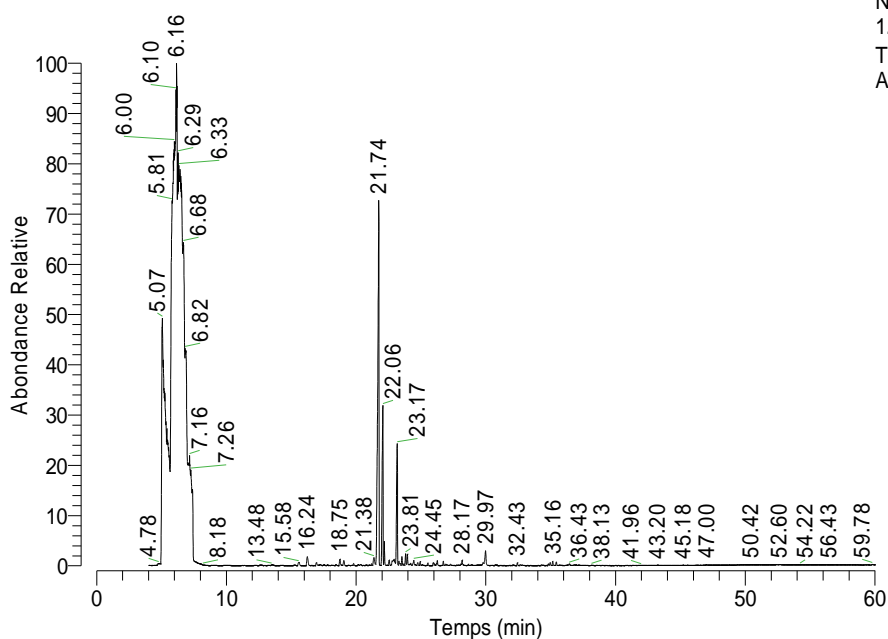
NL:
1.16E6
TIC F: MS
AI1

Figure 24 : Chromatogramme de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* de la région de Reffana

RT: 0.00 - 60.01

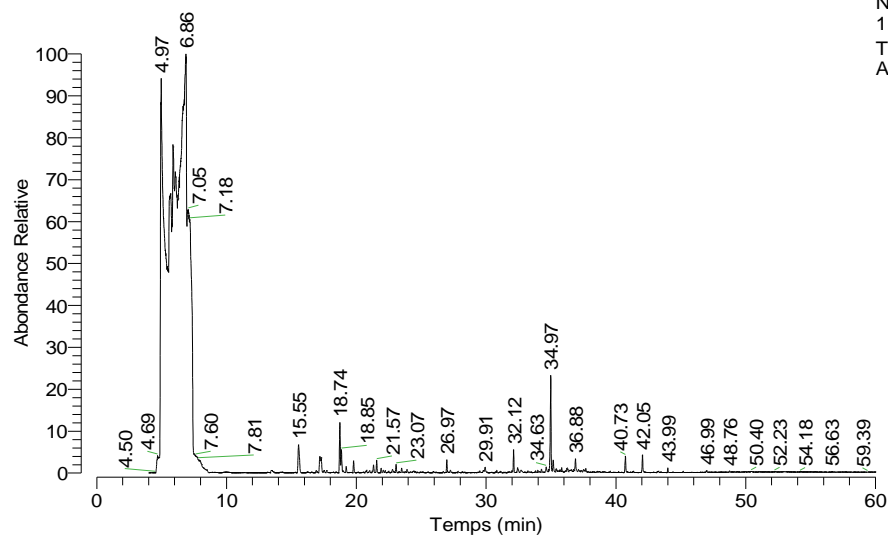
NL:
1.59E5
TIC F: MS
AI9

Figure 25 : Chromatogramme de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* de la région de Elma-lebiad

Tableau 10 : Composés volatils identifiés dans l'huile essentielle de *A. campsestris* de Reffana

N°	Temps de retention	Identification	For mule	Aire (%)
1	15.58	à-Pinene	C10H16	0.09
2	16.24	Camphene	C10H16	0.25
3	16.93	1,8-Nonadiyne	C9H12	0.06
4	17.21	6-(1,2-Dimethyl-1-propenyl)-4,5-diazaspiro[2.4]hept-4-ene	C10H16N2	0.02
5	18.43	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	C10H16	0.02
6	18.75	Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-	C10H14	0.13
7	19.81	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-, (ñ)-	C10H16	0.04
8	20.34	Artemiseole	C10H16O	0.02
9	21.19	Longipinene epoxide	C15H24O	0.02
10	21.38	2,6-Dimethyl-1,3,6-heptatriene	C9H14	0.22
11	21.74	4-Methoxybenzoic acid, 2-ethylcyclohexyl ester	C16H22O3	9.91
12	22.06	1-n-butyladamantane	C14H24	3.24
14	22.93	5-Decene, 4-ethynyl-, (E)-	C12H20	0.30
15	23.17	Lenacil	C13H18N2O2	2.56
16	23.53	cis-Ocimene, 8-oxo-	C10H14O	0.13
17	23.81	Santolina epoxide	C10H16O	0.18
18	24.75	1-Decen-4-yne, 2-nitro-	C10H15NO2	0.05
19	24.93	cis-Ocimene, 8-oxo-	C10H14O	0.05
20	26.88	Santolina triene	C10H16	0.02
21	27,27	Benzenemethanol, 4-(1-methylethyl)-	C10H14O	0.02
22	28.17	1,3-Cyclopentadiene, 2-(4-bromobutyl)-5,5-dimethyl-	C11H17Br	0.12
23	29.97	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl-, (1S)-	C10H14O	0.43
24	30.84	5,9-Tetradecadiyne	C14H22	0.01
25	32.43	3,5-Dodecadiyne, 2-methyl-	C13H20	0.04
26	34.95	(-)-Spathulenol	C15H24O	0.05
27	35.16	Oxacyclotetradeca-4,11-diyne	C13H18O	0.07
28	35.43	Azulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1à,4à,7à)]-	C15H24	0.05
29	36.43	1H-3a,7-Methanoazulene, octahydro-1,4,9,9-tetramethyl-	C15H26	0.03

Tableau 11 : Composés volatils identifiés dans l'huile essentielle de *A. campsestris* de EL maa Labied

N°	Temps de Retention	Identification	For mule	Aire (%)
1	15.55	à-Pinene	C10H16	1.17
2	17.20	6-(1,2-Dimethyl-1-propenyl)-4,5-diazaspiro[2.4]hept-4-ene	C10H16N2	0.77
3	18.74	Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-	C10H14	1.59
4	19.22	1,7-Octadiene, 3,6-dimethylene-	C10H14	0.10
5	19.79	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-, (ñ)-	C10H16	0.27
6	21.33	2,6-Dimethyl-1,3,6-heptatriene	C9H14	0.16
7	21.91	5-Decene, 4-ethynyl-, (E)-	C12H20	0.07
8	22.09	Benzeneethanol, á-butyl-	C12H18O	0.02
9	22.78	1-Decen-4-yne, 2-nitro-	C10H15NO2	0.01
10	23.07	Camphenol, 6-	C10H16O	0.18
11	23.48	cis-Ocimene, 8-oxo-	C10H14O	0.07
12	23.91	1-Decen-4-yne, 2-nitro-	C10H15NO2	0.03
13	26.97	(Thymol) Benzenemethanol, 4-(1-methylethyl)-	C10H14O	0.26
14	29.91	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl-, (1S)-	C10H14O	0.12
15	32.12	Benzene, 1-methyl-4-(2-propenyl)-	C10H12	0.49
16	32.42	5,9-Tetradecadiyne	C14H22	0.06
17	32.69	3,5-Dodecadiyne, 2-methyl-	C13H20	0.00
18	34.63	Benzenepropanoic acid, á,á-dimethyl-, methyl ester	C12H16O2	0.06
19	34.82	1,8-Cyclopentadecadiyne	C15H22	0.01
20	34.97	Oxacyclotetradeca-4,11-diyne	C13H18O	2.51
21	35.83	1,8-Cyclopentadecadiyne	C15H22	0.05
23	36.88	1H-3a,7-Methanoazulene, octahydro-1,4,9,9-tetramethyl-	C15H26	0.32
24	40.73	2-Ethyl-3-methylene-indan-1-one	C12H12O	0.36
25	42.05	1-Phenyl-1-heptyne	C13H16	0.40
26	43.99	9H-Fluoren-9-one, 1,2,3,4,4a,9a-hexahydro-	C13H14O	0.06

