

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahlab, Blida1



Faculté de Science de la nature et de vie
Département de biotechnologie

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en science de la nature et de la vie
Spécialité : Biotechnologie des plantes médicinales et aromatiques et produits naturels

THEME :

**Contribution à l'évaluation de quelques activités
biologiques des huiles essentielles de *Artemisia
campestris* (Armoise rouge) provenant de Djelfa et
Tamanrasset**

Présentée par :

KHENNOUSSI Hichem

date de soutenance le : 01/07/2015

TATA Yacine

Devant le jury composé de :

Mme HAMICHE.A	U.S.D.B	MCB	Président
Mme BELGUENDOZ. R	U.S.D.B	MCB	Examinatrice
Mme. FAIDI.H	U.S.D.B	MAA	Examineur
Mme GHANAI. R	U.S.D.B	MAA	Promotrice

2014/2015

REMERCIEMENT

Au terme de ce travail nous tenons à remercier :

*Avant tout le **DIEU**, le tout puissant qui nous a donné le courage, la force et la volonté pour accomplir notre travail*

*On exprime d'abord nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à Mme **GHANAIR** Promotrice de ce travail, pour avoir accepté de nous encadrer, pour ses orientations, ses encouragements et pour l'effort consenti à nous faire profiter de ses connaissances.*

*Mm **HAMMICHE** d'avoir accepté de présider le jury*

*Mm **BELGUENDOZ** et Mm **FAIDI** d'avoir bien voulu juger notre travail*

Nous remercions également les techniciens des laboratoires de biotechnologie des plantes médicinales et aromatiques pour leur précieuse contribution.

. Sans oublier de remercier nos familles et nos amis. Nous remercions tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin

Dédicace

Je remercie mon Dieu pour tout ce qu'il m'a donné

Je dédie ce travail :

A mes parents que dieu les protège

En témoignage de ma profonde affection. Qu'ils sachent que ce travail est en partie le fruit de leur soutien ; je leur suis très reconnaissant. Leur fierté à mon égard aujourd'hui est pour moi la meilleure des récompenses.

A mes très chères sœurs.

A toute la famille TATA.

A tous mes collègues de la promo.

A mes chers amis Karim, Anis, Walid Z et Walid A, Hamza Ginis, Fouad, Djamel et les autres pour leur présence de tous les instants, pour le soutien qu'ils m'ont apporté avec toute mon affection et ma reconnaissance

Et surtout surtout sans oublier mon binôme, frère et ami Hichem.

Dédicace

Je remercie mon Dieu pour tout ce qu'il m'a donné

Je dédie ce travail :

A mes très chers parents pour m'avoir soutenue et entouré d'amour et de tendresses.

A mes chers frères Rachid et Azzeddine et ma chère sœur.

A toute la famille KHENNOUSSI et la famille BENMAMMAR

A mon binôme, frère et ami Yacine

A tous mes collègues

A tous mes amis surtout : Ahmed mahir, Ali, Abdelmounaim, Kadour et Djamel

Hichem

Liste des abréviations :

AC : Acidité

ATCC: American type culture collection

CCM: Chromatographie sur couche mince

CLHP: Chromatographie en phase liquide à haute performance

CPG: Chromatographie phase gazeuse

CPG/SM: Chromatographie phase gazeuse couplé en spectrométrie de masse

CRAPC : Centre de recherches et analyses physicochimiques

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

DPTA : Direction de la Planification et de l'Aménagement du Territoire

HE: Huile essentielle

IA: Indice d'acide

IC50: Concentration inhibitrice à 50%.

IR: Indice de réfraction

LISTE DES TABLEAUX

Tableau1 : Références des souches microbiennes.....	25
Tableau2 : Caractéristique des souches microbiennes utilisées.....	25
Tableau 3: Propriétés organoleptiques des HE.....	41
Tableau 4 : Résultats d'indice d'acide et d'acidité des HE des deux régions.....	42
Tableau 5 : Résultats des différentes réactions du screening phytochimique.....	42
Tableau 6 : Principaux composés chimique (%) des huiles essentielles de <i>Artemisia campestrice</i> par GC/MS.....	43
Tableau7 : Diamètres des zones d'inhibitions des huiles essentielles.....	45
Tableau 8 : Résultats du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH.....	(Annexe 4)

LISTE DES FIGURES

Figure1: Schéma du dispositif de l'entraînement à la vapeur d'eau. (Khberi, 2011).....	06
Figure2 : Schéma du dispositif de l'hydro distillation. (Khberi, 2011).....	06
Figure 3 : Chromatographe en phase gazeuse muni d'un détecteur à ionisation de flamme. (Khberi, 2011).....	08
Figure 4 : La tige d' <i>Artemisia campestris</i> d'après RUSS K et al.,(2009).....	13
Figure 5 : Les feuilles d' <i>Artemisia campestris</i> d'après RUSS. K et al., (2009).....	13
Figure 6 : Fleur d' <i>Artemisia campestris</i> d'après RUSS K et al., (2009).....	14
Figure 7 : Les grappes des fleurs d ' <i>Artemisia campestris</i> d'après HARRI A, (2005).....	14
Figure 8 : Les sites d'échantillonnage montré sur la carte d'Algerie.....	21
Figure 9 :Site d'échantillonnage de l' <i>Artemisia campestris</i> à djelfa.....	22
Figure 10: Site d'échantillonnage d' <i>Artemesea campestris</i> à Idles w de Tamanrasset.....	23
Figure 11 : <i>Artemisia campestris</i> après séchage.....	27
Figure 12: Extraction par un Hydro distillateur.....	28
Figure 13 : Récupération des huiles essentielles.....	28
Figure 14 : Illustration de la méthode d'aromatogramme sur boite de pétrie (Pibiri, 2006)....	35
Figure 15 : Les suspensions microbiennes..... (annexe5)	
Figure 16 : Ensemencement..... (annexe5)	
Figure 17 : Imbiber les disques avec l'HE..... (annexe5)	
Figure 18 : Dépôt des disques stérilisé.....	38
Figure 19 : Rendement en huiles essentielles par rapport à la matière sèche.....	40
Figure 20 : Action des huiles essentielles de l' <i>Artemisia campestris</i> récolté en 2015 dans la région de Tamanrasset sur les souches microbienne.....	46

Figure 21 Action des huiles essentielles de <i>l'Artemisia campestris</i> récolté en 2014 région de Djelfa sur les souches microbiennes	47
Figure22 : Résultat du test antioxydant de l'HE de Tamanrasset au DPPH.....	50
Figure 23: Résultat du test antioxydant de l'HE de Djelfa au DPPH.....	50
Figure 24: Résultat du test antioxydant de la Vit C au DPPH.....	50
Figure 25 : Valeurs d'IC50 des HE et la VitC.....	51
Figure 26 : Chromatogramme de HE des échantillons de Djelfa	(Annexe 3)
Figure 27: Chromatogramme de HE des échantillons de Tamanrasset.....	(Annexe 3)

RESUME

Ce travail rentre dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales d'Algérie.

Artemisia campestris (armoïse rouge) est une des plantes médicinales très répandue en Algérie. Elle est connue et utilisée traditionnellement par le peuple algérien pour ces effets thérapeutiques connus.

La partie aérienne de cette espèce a été récoltée au niveau de deux régions différentes d'Algérie (Djelfa et Tamanrasset) dans le but d'identification des composés de ces huiles essentielles et d'étudier leurs effets antimicrobiens et antioxydants.

L'évaluation des rendements en huiles essentielles selon le site d'échantillonnage a été faite aussi. Les résultats obtenus ont montré que les rendements de l'huile essentielle sont légèrement plus élevés (0.52%) chez l'espèce prélevée de Djelfa (climat semi-aride) par rapport à celle de l'espèce de Tamanrasset (0.49%), (climat aride).

L'identification des composants de huiles essentielles par CG-SM a montré que cette huile essentielle est composée de Beta-pinène (26.62 % pour Djelfa et 28.94% pour Tamanrasset) suivie par Ocymène (15.27% pour Djelfa, 13.35 % pour Tamanrasset), Alpha-limonène (8.12% pour Djelfa, 8.51 pour Tamanrasset), Beta-myrcène (4.12% pour Djelfa, 4.16% pour Tamanrasset) et Beta-Spathulénol (4.88% pour Djelfa, 4.70% pour Tamanrasset).

L'activité antimicrobienne a été testée par la méthode de l'aromatogramme par détermination des zones d'inhibition. Les résultats ont montré que les deux huiles essentielles possèdent une activité antimicrobienne vis-à-vis des souches : *Staph.aureus* S (gram+), *Strepto.pneumo* (gram+), *Entero facium* vanco R (gram+), *Entero.facilis* (gram+).

La capacité antioxydante a été évaluée *in vitro* par la technique DPPH, elle a montré une activité plus ou moins importante pour les deux huiles essentielles.

Mots clés : *Artemisia campestris*- huile essentielle- effets antimicrobiens, effets antioxydants- Aromatogramme - CG-SM.

الملخص :

هذا العمل في إطار تثمين قيمة النباتات الطبية في الجزائر.

Artimisia campestris (الشيح) هي نبتة طبية واسعة الانتشار في الجزائر, وهي معروفة بسبب استعمالاتها التقليدية من طرف سكان الجزائر لاحتوائها على تأثيرات علاجية .

منطقتين مختلفتين من الجزائر () بهدف تحديد مكونات زيوتها الأساسية و كذا تأثيرها ضد الميكروبات , ا أيضا بتقييم مردود الزيوت الأساسية وفق منطقة جلب العينات. النتائج المتحصل عليها تبين مردود الزيت الأساسية مرتفع قليلا (0.52%) (مناخ شبه ())

تحديد مكونات الزيوت الأساسية CG-SM أظهرت بان الزيوت الأساسية
Beta pinène (26.62 %)
Ocyméne (15.27%)
limonene (8.12%)
Beta.Spathulenol (4.88%)
Alpha- (13.35 %)
Beta-myrcere (4.12%)
 (4.16%)
 (8.51%)
 (4.70%)

اختبار النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة Aromatogramme، من خلال تحديد مناطق التثبيط، تدل النتائج على الزيوت الأساسية للمنطقتين لها مفعول ضد الميكروبات , *Strepto.pneumo* (gram+) , *Staph.aureus* S (gram+) , *Entero.facilis* (gram+) , *Entero facuim vanco R* (gram+) .

تم تقييم القدرة المضادة للأكسدة في المختبر بواسطة تقنية DPPH، النتائج أظهرت وجود نشاط مضاد للأكسدة متوسط بالنسبة للزيوت الأساسية للمنطقتين المدروستين

الكلمات المفتاحية : ضد الميكروبات-
- CG-SM-
- *Artemisia campestris* - الزيوت الأساسية- Aromatogramme

ABSTRACT

This work falls in the frame of the value of medicinal plants in Algeria.

Artemisia campestris is a wide spread medicinal plants in Algeria. It is known and used traditionally by the Algerian people for its known therapeutic effects.

The aerial part of this species was harvested too two different regions (Djelfa and Tamanrasset) in the purpose of identifying the composition of these essential oils and studying their antimicrobial and antioxidant effects.

According to the site, the evaluation of essential oil yield was also made, the results showed that yields of essential oil is slightly higher (0.52%) in the prevailing species of Djelfa (semi-arid climate) in comparison with species of Tamanrasset (0.49%) (arid climate).

The identification of essential components by GC/MS showed that the main compound of Beta-pinene (26.62 % to Djelfa and 28.94% to Tamanrasset) followed by Ocymene (15.27% to Djelfa 13.35 % to Tamanrasset), Alpha-limonene (8.12% to Djelfa 8.51 to Tamanrasset), Beta-myrcene (4.12% to Djelfa, 4.16% to Tamanrasset) and Beta-Spathulenol (4.88% to Djelfa 4.70% to Tamanrasset).

Antimicrobial activity was tested by the method of the Aromatogramme by determination of inhibition zones; the results showed that essential oils of the two regions have antimicrobial activity against: *Staph.aureus* S (gram+) , *Strepto.pneumo* (gram+), *Entero facium* vanco R (gram+) , *Entero.facilis* (gram+) .

Antioxidant capacity was evaluated in vitro by the technique of DPPH, showed an average activity for the essential oil of both regions.

Keywords: antioxidant effects, antimicrobial effects, *Artemisia campestris*, essential oils, Aromatogramme, , GC/MS.

Table des matières

Introduction.....	01
-------------------	----

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE :

CHAPITRE I : (LES HUILES ESSENTIELLES)

1 Définition.....	03
2 Propriétés physiques.....	03
3 Composition chimique.....	03
4 Facteurs influençant la composition des huiles essentielles:.....	04
4.1 Chémotype.....	04
5 Répartition et localisation des huiles essentielles.....	04
6 Fonctions des huiles essentielles.....	05
7 PROCÉDES D'EXTRACTION :	05
7.1 Entraînement à la vapeur d'eau.....	05
7.2 Hydro-distillation.....	06
7.3 L'enfleurage.....	07
7.4 Extraction par gaz supercritique.....	07
8 METHODES D'IDENTIFICATION CHIMIQUES.....	07
8.1 La chromatographie gazeuse couplée à la spectroscopie de masse CPG/SM.....	07
9 DOMAINE D'UTILISATION DES HUILES ESSENTIELLES.....	09
9.1 Parfumerie et cosmétologie.....	09
9.2 Industrie alimentaire.....	09
9.3 Désinfection des locaux.....	09
9.4 Médecine dentaire.....	10
9.5 Aromathérapie.....	10
10 Toxicité des huiles essentielles.....	10
11 Mode d'action des huiles essentielles.....	10

CHAPITRE II (L'ARMOISE ROUGE)

1-Généralités :	12
2 Artemisia campestris:	12
2.1 Description botanique et systematiques:	12
2.2 Répartition et habitat	15
2.3 Utilisation traditionnelle :	16
2.4 Les huiles essentielles d'Artemisia campestris :	16
3 Activité biologiques	18
3.1 .Activité antimicrobienne.....	18
3.2 Activité antioxydante.....	19
3.3 Activité hypoglycémiante.....	19

PARTIE EXPERIMENTALE :

MATERIEL ET METHODES

1. Matériels :	20
1.1. Matériel biologique :	20
1.1.1. Matériel Végétal :	20
1.1.1.1 Présentation des stations de récolte des échantillons.....	21
1.1.1.1.1 Djelfa.....	21
A) Le relief	21
B) Climat	22
C) Les précipitations	22
1.1.1.1.2 Tamanrasset :	22
A) Flore de la région de Tamanrasset	23
B) Climat :	24
1.1.3 Les souches bactériennes	24
1.1.3.1 Caractéristiques des souches microbiennes utilisées.....	25
1.2 Matériel non biologique.....	26
2. Méthodes d'étude :	26
2.1. Evaluation des huiles essentielles	26

2.1.1 Préparation des échantillons	26
2.1.2. Extraction des huiles essentielles :	27
2.1.2.1 Principe	27
2.1.2.2 Mode opératoire :	27
2.1.3. Détermination du rendement en huiles essentielles	29
3. Propriétés physico-chimique	29
3.1 Propriété organoleptique.....	29
3.2 Indice de réfraction :	29
3.2.1 Principe :	29
3.2.2 Mode d'opératoire :	29
3.3 Détermination de l'indice d'acide et l'acidité :	30
3.3.1 Définitions :	30
3.3.2 Mode opératoire :	30
3.4. Densité relative à 20°C :	31
4 Tests du Screening phytochimique :	31
4.1 : Préparation de l'infusé :	31
4.2 Identification de quelques métabolites secondaires :.....	31
4.2.1 Les anthocyanes	31
4.2.2 Les tanins :	32
4.2.3 Les flavonoïdes :	32
4.2.4 Les alcaloïdes :	32
4.2.5 Les glucosides :	32
4.2.6 Les mucilages :	33
5. L'analyse des HE par GC/MS :.....	33
5.1 Conditions Opératoires :.....	33
6. Etude de pouvoir antibactérien de l'HE :	34
6.1 Milieux de cultures :	34
6.2 Méthode de l'aromatogramme :	34
6.2.1 Principe.....	34
6.2.2 Mode opératoire :	35
6.2.2.1 Préparation de l'inoculum :	35
6.2.2.2 Préparation des milieux de culture :	36

6.2.2.3 Ensemencement :	36
6.2.2.4 Dépôt des disques :	36
6.2.2.5 Lecture :	36
7. Etude de pouvoir antioxydant de l'HE :	37
7.1. Détermination du pourcentage d'inhibition et l'IC50	37

RESULTATS ET DISCUSSIONS :

1 Rendements :	40
2 Détermination des indices physicochimiques :	41
2.1 Propriétés organoleptiques :	41
2.2 Indice de réfraction :	41
2.3 Densité relative :	41
2.4 L'indice d'acide et l'acidité :	42
3. Le screening phytochimique :	42
4. L'analyse D'HE par la GC/MS	43
5. L'activité antimicrobienne :	45
6. Activité antioxydante	49
6.1 Détermination d'IC50.....	49
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	53
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	54
ANNEXES	

INTRODUCTION

Les médications traditionnelles et l'utilisation des plantes en médecine empirique ont souvent été à l'origine de recherches scientifiques de haut niveau. Les plantes aromatiques possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles dans les soins de santé ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique (**Khebri, 2011**).

Il existe dans le monde des milliers d'espèces végétales connues et exploitées pour leurs vertus aromatiques, ou médicinales. Chaque espèce se caractérisant par une composition chimique différente (**ANONYME, 1991**).

Dans le Maghreb, l'Algérie est considérée parmi les pays connus par leur diversité taxonomique vu sa position biogéographique privilégiée et son étendue entre la Méditerranée et l'Afrique sub-saharienne. La flore algérienne est potentiellement riche, beaucoup d'espèces endémiques peuvent y être trouvées. (**POTTIER, 1981 in MESSAI, 2011**).

Les Astéracées constituent l'une des plus vastes familles du règne végétal très répandue dans le monde entier, mais principalement dans les régions tempérées (**GUIGNARD, 2001**). Le genre *Artemisia* est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de cette famille; il contient un nombre variable d'espèces allant jusqu'à 400 espèces (**Mucciarelli et Maffei., 2002**).

L'*Artemisia campestris* est l'une des espèces appartenant à ce genre, elle est largement distribuée dans le monde dans le monde 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 Etats de la côte de l'Atlantique (**HITCHCOCK et al., 1973**).

En Algérie, elle est très répandues et abondantes dans les régions steppiques et sahariennes. (**DURAND, 1899 in Hadjadj, 2012**), cette espèce est une plante utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies (les troubles digestives, les ulcères et les douleurs menstruelles) (**Dob et al., 2005**). Elle est également utilisée dans le traitement de diabète (**Sefi et al., 2010**), aussi pour traiter les maladies gastriques, l'hyperglycémie et la fièvre (**Akrout et al., 2010**).

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

INTRODUCTION

D'autres auteurs ont étudiés les caractéristiques de la composition de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* (JUTEAU et al., 2002).

En Tunisie, AKROUT et al., (2010) ont travaillé sur les activités antioxydante et antitumorale de *Artemisia campestris*.

La méthode suivie est:

- Evaluation des rendements en huiles essentielles de la plante selon le site d'échantillonnage
- Identification des composants des huiles essentielles de *l'Artemesia campestris* par CPG-MS.
- L'étude de l'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles extraites de plantes spontanées d'*A.campestris* récoltées dans deux régions d'Algérie (Tamanrasset et Djelfa).

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.

CHAPITRE I les huiles essentielles

1. Définition :

Les huiles essentielles sont définies comme étant des produits de composition chimique assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux. Ces huiles sont à la fois des parfums et des remèdes naturels. Elles doivent être utilisées à très faibles doses, car leurs principes actifs sont hyper concentrés, Elles sont constituées d'un mélange souvent complexe de molécules organiques, Certaines essences protégeraient la plante contre les agents pathogènes, d'autre attireraient les insectes pollinisateurs (**Bachelot et al., 2006**).

La norme A.F.NOR NF T 57-006 a donné la définition suivante « l'huile essentielle est un produit obtenu a partir d'une matière végétale, soit par entraînement a la vapeur soit par des procédés mécanique a partir de l'épicarpe de citrus soit par la distillation » (**Bruneton, 1999**)

2. Propriétés physiques

Les huiles essentielles, sont des substances volatiles, liquides à température ambiante, de nature hydrophobe, rarement colorées, et fortement odorantes. Elles ont un indice de réfraction élevé (**Bruneton, 1999**) peu miscibles à l'eau, et solubles dans les solvants organiques.

3. Composition chimique

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

- Les terpènes : sont construits à partir de plusieurs entités isopréniques, constituant une famille très diversifiée tant au niveau structural que fonctionnel. On rencontre dans les huiles essentielles principalement des mono et des sesquiterpènes (possèdent respectivement 10 et 15 atomes de carbone) plus rarement des di-terpènes (20 atomes de carbone) ainsi que leurs dérivés oxygénés.
- Les composés aromatiques dérivés du Phényl-propane tel que l'eugénol (huile essentielle de girofle), l'anéthol et l'aldéhyde ainsi que (huile essentielle de Badiane et d'anis), le carvacrol (huile essentielle d'origan), l'acide et l'aldéhyde cinnamiques.

CHAPITRE I les huiles essentielles

Ceux-ci constituent les principaux membres de cette famille. Les huiles essentielles peuvent contenir des composés aliphatiques plus ou moins fonctionnalisés. **(Bruneton, 1999)**

4. Facteurs influençant la composition des huiles essentielles:

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant divers conditions: l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le séchage, la température et la durée de séchage, les parasites, les virus et les mauvaises herbes **(Svoboda, 1995 et Smallfield, 2001)**. C'est ainsi l'action des huiles essentielles est le résultat de l'effet combiné de leurs composés actifs et inactifs, ces composés inactifs pourraient influencer la disponibilité biologique des composés actifs et plusieurs composants actifs pourraient avoir un effet synergique **(Svoboda et al., 1999)**.

Les conditions principales requis pour une production rentable en huile essentielle sont: le bon matériel végétal, variété de la plante, le sol, équipement de distillation et le climat **(Smallfield, 2001)**.

4.1 Chémotype :

C'est une classification chimique, biologique et botanique qui désigne la molécule majoritairement présente dans une huile essentielle **(Bruneton, 1999)**.

Cette classification des huiles essentielles selon le produit majoritaire ou chémotype dépend d'un certain nombre de facteurs, entre autres :

- Le mode de culture de la plante
- Le stade de développement botanique : pendant ou après la floraison
- L'organe distillé.
- Le mode d'extraction utilisé tel que la distillation ou l'hydro-distillation.
- L'origine géographique de la plante. **(Brada, 2007 ; Falmini et al., 2007)**.

5. Répartition et localisation des huiles essentielles :

Les HE sont largement repartis dans le règne végétal (conifères, Myrtacée, ombellifères, Labiée, Composées). Elles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux sommités fleurs, écorces, racines, rhizome, fruits, bois etc...

CHAPITRE I les huiles essentielles

Dans une même plante elles peuvent être dans différents organes. La composition des H.E peut alors varier d'un organe à l'autre. (**Bakhti, 2011**)

La synthèse et l'accumulation d'une huile essentielle dans les végétaux sont généralement liées à l'existence de structures histologiques spécialisées, localisées dans certains points des tissus, le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface de la plante (**Bruneton, 1999**). Ces structures peuvent être :

- Des cellules sécrétrices isolées (*Lauraceae, Zingibeaceae*) pouvant être épidermiques ou internes.
- Des poils sécréteurs externes (*Labiaceae, Graniaceas*) ou internes
- Des canaux sécréteurs (*Ombellifères, Conifères*).

6. Fonctions des huiles essentielles

Le rôle des huiles essentielles dans la plante est mal connu jusqu'à présent. Il est toute fois admis qu'ils ont un rôle écologique ; pour certaines d'entre elles, le rôle a été établi expérimentalement aussi bien que dans le domaine d'interaction végétale comme agent allélopathique et notamment comme des inhibiteurs de germinations, que dans le domaine d'interaction végétal-animal : comme protecteurs contre les prédateurs (insectes ou champignons). (**Khebri, 2011**).

7. PROCÉDES D'EXTRACTION :

Ils existent plusieurs procédés d'extraction des huiles essentielles :

7.1 Entraînement à la vapeur d'eau :

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter (**Bruneton, 1999**). Durant le passage de la vapeur d'eau à travers la plante, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action des vapeurs pour former un mélange eau et huile essentielle en deux phase, une phase organique et une phase aqueuse. L'avantage de cette technique est d'éviter certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant affecter la qualité des huiles essentielles. (Figure1)

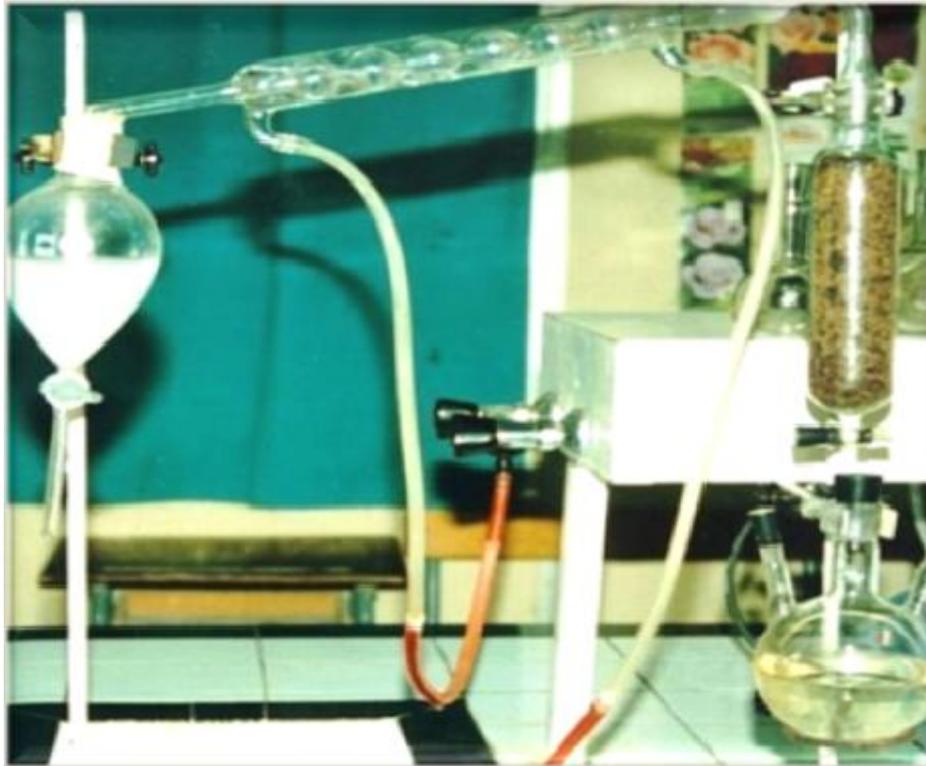


Figure1: dispositif de l'entraînement à la vapeur d'eau. (Khebri, 2011)

7.2 Hydro-distillation :

Le principe de cette technique consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition à pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement des cellules et la libération des molécules odorantes, ensuite le mélange est refroidi. Une fois condensées, eau et huile essentielle sont séparés du fait de leurs différences de densité (Bruneton, 1999). (Figure2)

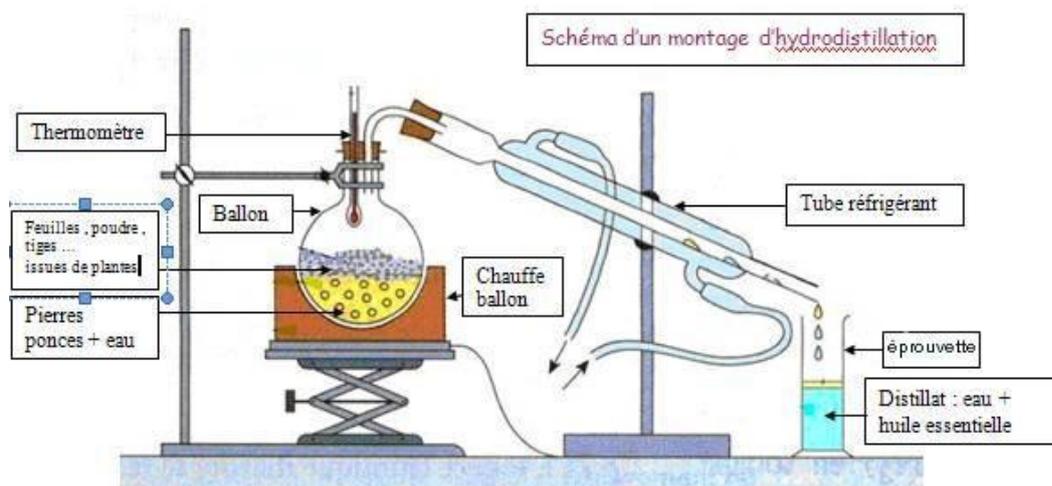


Figure2 : Schéma du dispositif de l'hydro distillation. (Khebri, 2011)

7.3. L'enfleurage

Procédé réservé aux huiles essentielles délicates qui ne supportent pas la chaleur. Les pétales fraîchement cueillies, sont étalées sur de la graisse sur des châssis en verre et remplacées toutes les 24 heures. Les huiles essentielles satureront progressivement la graisse. Le composé obtenu appelé pommade, est lavé avec de l'alcool qui, après évaporation produit l'huile parfumée (Bruneton, 1999).

7.4. Extraction par gaz supercritique

Cette technique d'extraction permet d'extraire les principes actifs de la plante sans chauffage, le principe de ce procédé repose sur l'état supercritique du gaz carbonique, qui dans certaines conditions de pression et de température, se comporte comme un fluide qui a une densité d'un liquide et une viscosité d'un gaz. Il diffuse à travers les cellules de la plante, et extrait les principes actifs (Bocevaska *et al.*, 2007, Gaspar *et al.*, 2000)

8. METHODES D'IDENTIFICATION CHIMIQUES :

Les méthodes d'analyse ont pour but l'identification quantitative et qualitative des différents constituants du mélange complexe des huiles essentielles.

Parmi ces techniques les plus utilisées sont : La chromatographie en phase gazeuse **CPG** et la chromatographie gazeuse couplée à la spectroscopie de masse **CPG/SM**. Diverses techniques chromatographiques, telles que la CCM, la CLHP ainsi que la CPG, sont souvent utilisées. On s'intéresse dans ce travail à la technique la plus fréquemment utilisée, celle du CPG/MS. (khebri, 2011)

8.1. La chromatographie gazeuse couplée à la spectroscopie de masse CPG/SM :

La conception d'un appareil **CPG** correspond schématiquement à l'association de différents modules spécialisés : l'injecteur, la colonne, et le détecteur, intégrés dans un même bâti. La phase mobile nécessaire pour entraîner l'échantillon dans la colonne est un gaz, appelé gaz vecteur ou gaz porteur (Rouessac, *et al.*, 1995). (Figure 3)

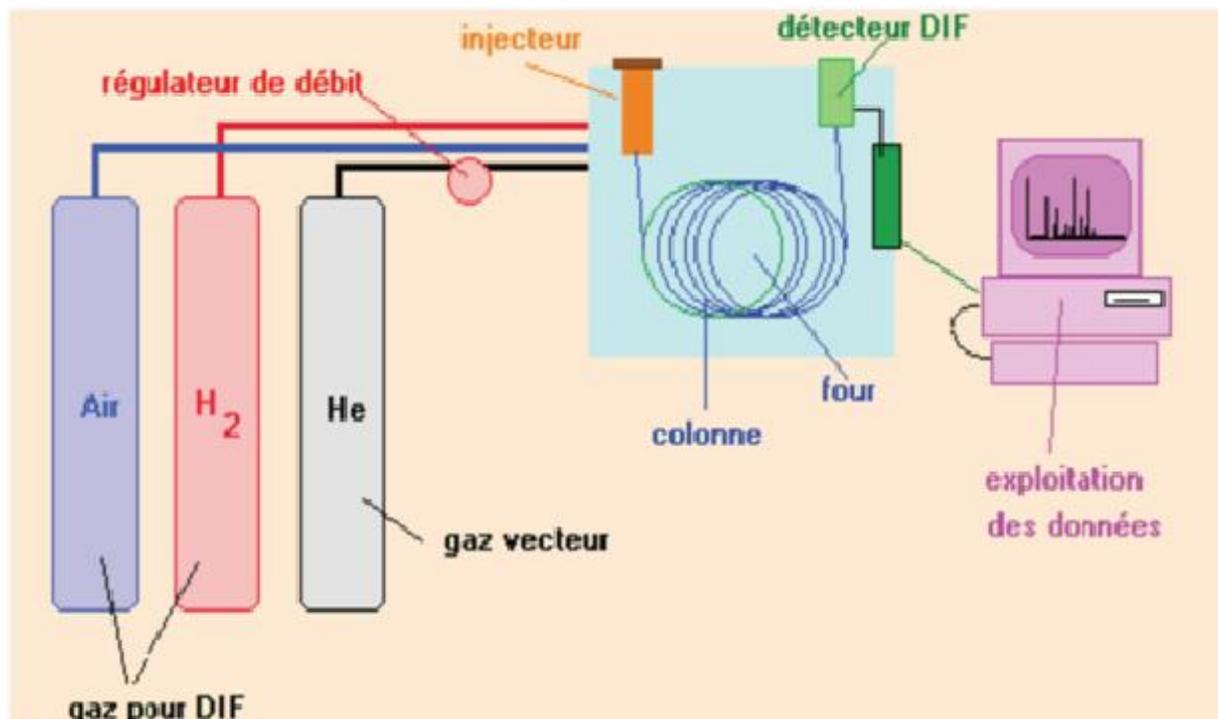


Figure 3 : Chromatographe en phase gazeuse muni d'un détecteur à ionisation de flamme.

(Khebri, 2011)

Actuellement cette technique est la plus fréquemment utilisée, elle repose sur le principe de la séparation des composés volatils d'un mélange complexe. Cette méthode consiste à injecter l'huile essentielle diluée dans un solvant (non retenu par la phase stationnaire) dans une colonne, cette dernière est liée à un spectromètre de masse lui-même lié à un détecteur. Chaque constituant possède un indice de rétention, ce dernier est un paramètre caractéristique de chaque constituant de l'huile essentielle.

Le couplage CPG/SM en mode impact électronique (SM-IE) est la technique la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles. Il permet de connaître, dans la grande majorité des cas, la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation (Cavalli et al. 2002).

Dans certains cas où se trouvent des molécules non connues dans la littérature (nouvelles molécules), on fait appel à d'autres techniques spectroscopiques telle que : RMN unidimensionnelle (¹H, ¹³C) bidimensionnelle (COSY, HSQC, HMBC...) IR après purification de la molécule cible par les divers méthodes chromatographiques (Cavalli, et al., 2002 ; Koffi et al., 2004).

9. DOMAINE D'UTILISATION DES HUILES ESSENTIELLES

La diversité de la composition chimique des huiles essentielles explique leur usage très vaste, en effet elles trouvent des emplois dans de nombreux secteurs :

9.1. Parfumerie et cosmétologie

Un nombre important d'huiles essentielles est utilisé dans l'industrie cosmétique (parfums, crèmes) grâce à leur pouvoir antiseptique et antioxydant, tout en leur assurant leur odeur agréable (**Montes-Belmont, Carvajal, 1998**). Certains composés chimiques isolés à partir d'une huile essentielle constituent des matières premières pour la synthèse d'autres substances odorantes, à titre d'exemple : à partir de l'eugénol extrait de l'huile essentielle de girofle on aboutira à l'iso eugénol qui a une odeur d'oeillet (**Montes-Belmont, Carvajal, 1998**). Et l'utilisation du safrôle pour la synthèse de l'héliotropine utilisée en parfumerie (**Bruneton, 1999**).

9.2. Industrie alimentaire

Dans les huiles essentielles la présence de molécules puissantes de propriétés anti oxydantes et antiseptiques, favorise leur utilisation comme agents de conservation dans les produits alimentaires, elles servent à la protection de ces produits contre la dégradation radicalaire, et sont également employées comme agents antimicrobiens.

Les travaux de **Montes-Balmont et carvajal, (1998)** montrent que les huiles essentielles du thym, de la cannelle, et d'origan ont un effet inhibiteur sur la croissance de plusieurs bactéries et champignons responsables d'infections alimentaires.

9.3. Désinfection des locaux

Grâce à leur pouvoir antiseptique, les huiles essentielles entrent dans la fabrication des « para germes » ; solution volatile à base d'une huile essentielle naturelle (citron, lilas), pour la désinfection des atmosphères. On peut envisager l'utilisation des huiles essentielles comme agents de préservation pour le contrôle de l'hygiène d'air, notamment dans les hôpitaux (**Rhayour, 2002**). Un mélange des huiles essentielles diffusé en aérosol, ou par une simple évaporation, peut assurer la destruction des germes contenus dans l'air, tout en dégageant une odeur agréable.

9.4. Médecine dentaire

En médecine dentaire, par leur diversité moléculaire et leur propriété antiseptique, les huiles essentielles ont trouvé une grande application et ont donné des résultats cliniques très satisfaisants notamment les huiles essentielles de : *chanaemelum nobil* (camomille vomcune), et d'*Eugenia caryophyllus* (clou de girofle) (**Lamendin et al., 2004**).

9.5. Aromathérapie

L'aromathérapie est une branche particulière de la phytothérapie. Ce terme est composé de deux parties : aroma signifiant parfum, et thérapie méthode visant à soigner les maladies (**Lardy et al., 2007, Garnier et al., 2002**). En médecine traditionnelle, on utilise les huiles essentielles pour aider à la désinfection, à la cicatrisation ou au traitement des traumatismes, et également en complément d'un traitement médical chronique.

10. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles, possèdent en générale une toxicité aigue par voie orale faible. Comme il est bien connu que les huiles essentielles entrent dans les préparations de la parfumerie, et sachant que certaines molécules peuvent provoquer des réactions d'allergie, il est indispensable d'établir un diagnostique d'allergie aux parfums. Ce risque a été attribué à certains terpènes contenus dans les huiles essentielles faisant partie de la composition chimique des parfums, mais pour une utilisation thérapeutique et à des concentrations dépassant celles que l'on peut rencontrer dans les parfums. A titre d'exemple le camphre, menthol, la thujone et l'eucalyptol qui peuvent provoquer des manifestations neurologiques (convulsion) (**Martini, 2006**) ainsi que des réactions d'allergies chez certains patients.

11. Mode d'action des huiles essentielles

Les études sur les mécanismes d'action de cette activité sont en nombre négligeable, certaines recherches ont montré que la puissance de l'action des HE dépend de leurs constituants majoritaires, et que le mode d'action est principalement lié au profil chimique des constituants de chaque HE, qui est largement diversifié (**Chaumont et al., 1989 ; Edris, 2007**).

Boonchild et Flegel, (1982) ont suggéré que les HE auraient des cibles qui dépendent de la concentration en HE qui est la paroi cellulaire, la membrane cytoplasmique et le cytoplasme.

CHAPITRE I les huiles essentielles

De son côté, **Franchomme, (1981)** pensait que les HE riches en constituants hydroxylés créent des perturbations enzymatiques et prennent pour cibles les enveloppes protectrices et le cytoplasme.

ARTEMISIA CAMPESTRIS

1. Généralités :

Les Astéracées constituent l'une des plus vastes familles du règne végétal très 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, avec au moins 21000 espèces réparties en 1300 genres ces derniers désignent des herbacées, buisson ou arbres. Les Asteraceae ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunis en capitule c'est-à-dire serrées les unes a coté des autres sans pédoncule , placées sur l'extrémité d'un rameux ou d'une tige et entourée d'une structure formé pas des bractées florales , cette structure en forme de coupe ou de collerette est appelé un involucre .Les principaux genres sont : Senecio (1250 esp.), Vernonia (1000 esp.), Cousinia (650 esp.), Eupatorium (600 esp.), Centaurea (600 esp.), Artemisia (400 esp). **(Guignard, 2001)**

Le genre *Artemisia* est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de cette famille; il contient un nombre variable d'espèces allant jusqu'à 400 espèces **(Mucciarelli et Maffei., 2002)**. Elles sont très répandues dans les zones arides, y compris notamment l'ouest des Etats-Unis et les steppes asiatiques. On en trouve également en Afrique du sud et en Amérique du sud **(Quezel et Santa, 1963)**. Le genre *Artimesia* groupe des herbacées , des arbrisseaux et des arbustes généralement aromatiques, densément tomenteux, pubescents ou glabrés, leurs fleures sont pennés rarement palmées, Il a été rapporté que ce genre est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les acides cafféoylquinique , les coumarines, les huiles essentielles, les stérols et les acétylènes **(Kundan et Anupam, 2010)**, Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* possèdent des propriétés thérapeutiques, elles sont non seulement utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique **(Mirjalili et al., 2007)**,

2. *Artimesia campestris*:

2-1/Description botanique et systématique:

Le nom commun de cette espèce est l'armoise rouge. *Artemisia campestris* L a été décrite en 1753 par Linné et la sous espèce *Glutinosa* a été découverte 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* **(QUEZEL et SANTA, 1963)**.

ARTEMISIA CAMPESTRIS

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 al., 1805). Ligneuse pouvant atteindre 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 50 cm tout au plus. (Figure 4)



Figure 4 : La tige d'*Artemisia campestris* d'après RUSS K et al.,(2009) in Hadjaj,F,(2012)

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 al., 1805). (Figure 5).



Figure 5 : Les feuilles d'*Artemisia campestris* d'après RUSS K et al.,(2009) in Hadjaj,F,(2012)

ARTEMISIA CAMPESTRIS

- Les fleurs sont jaunâtres, et forment des grappes simples très-grêles et terminales (Figure 6 et 7), 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.



Figure 6 : fleur d'*Artemisia campestris* d'après RUSS K et *al.*,(2009) in Hadjaj,F,(2012)



Figure 7 : Les grappes des fleurs d '*Artemisia campestris* d'après HARRI A, (2005 in Hadjaj,F,(2012)

ARTEMISIA CAMPESTRIS

- 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 al., 1805).**
- fruits sont très petite capselle cylindrique de couleur marron clair. **(DE LAMARCK et al., 1805).**

Selon **JOHN et KARTESZ (2006)**, *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..... *Artemisia*
Espèce..... *Artemisia campestris*
Nom arabeDgouft

2.2. Répartition et habitat

- Selon **MAIRE (1933)**, **QUEZEL et SANTA (1963)**, et **OZENDA (1983)**, cette espèce est très répandue dans les sols 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 Mechria, Setif, Bordj Bou Arreridj, Aïn M'lila, Aïn El Beïda, MsiIa et Khenchela (**QUZEL et al., 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, on la rencontre à oued Outoul à 1400 m, à Tamenrasset à 1500 m, dans le Ravin au pied do Tahat à 2500 m et dans les plateaux de Tigharghar entre 1000 et 2000 m d'altitude (**MAIRE, 1933**).

ARTEMISIA CAMPESTRIS

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).

2.3. Utilisation traditionnelle :

L'*Artemisia campestris* est une plante utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies; elle est utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères et les douleurs menstruelles (Dob *et al.*, 2005). Elle est également utilisée dans le traitement de diabète (Sefi *et al.*, 2010).

La partie aérienne est utilisée dans le traitement de brûlures, de la diarrhée, les morsures de serpents, les piqûres de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la dysenterie, le rhumatisme, elle est utilisée également pour traiter les infections urinaires, la fièvre et la toux (Ben Sassi *et al.* 2007). Selon Saoudi *et al.*, (2010) la consommation journalière d'une décoction préparée à partir des tiges et feuilles d'*Artemisia campestris* permet de réduire les symptômes digestifs.

En Tunisie l'espèce est utilisée sous plusieurs formes (infusion, décoction, poudre) pour traiter les maladies gastriques, l'hyperglycémie, la fièvre, et aussi contre les vers intestinaux. En Algérie la plante est utilisée en décoction comme remède anti-diarrhéique, antispasmodique, et contre l'ulcère gastrique (Lucienne, 2007; Juteau *et al.*, 2003; Aniya *et al.*, 2010; Akrouit *et al.*, 2010)

- Les populations du Sud Algérien l'utilisent pour calmer les troubles digestives, les douleurs abdominales, ainsi les nausées. Elle est utilisée en décoction pour les règles irrégulières ou pour l'accouchement. En usage externe, elle cicatrise les plaies et les brûlures (Ferchichi *et al.*, 2006).

2.4. Les huiles essentielles d'*Artemisia campestris* :

Diverses études sur la composition chimique des huiles essentielles de cette espèce ont été décrites (Akrouit *et al.*, 2010; Chalchat *et al.*, 2006). Ces travaux mettent en évidence une grande variabilité chimique.

Mucciarelli *et al.*, (1995), ont analysé plusieurs échantillons des huiles essentielles de diverses espèces d'*Artemisia*, parmi ces échantillons deux huiles d'*Artemisia campestris* provenant de deux sites de récolte différents originaire d'Italie. Les produits majoritaires

ARTEMISIA CAMPESTRIS

identifiés, pour le premier échantillon, sont : l'oxyde de caryophyllène (18.2%), α -pinène (15.31%), et le spathuléol (9.3%), le β -pinène est présent avec un pourcentage de (9.8%). Le deuxième échantillon, renferme le 1,8-cinéole (19.2%), l' α -pinène (16.5%), le Spathuléol (18.1%), et l'épi-cubénole (14.1%). Cette variation chimique est due à la nature du sol et le climat qui diffère d'un site à l'autre.

- **Khalilov et al., (2001)**, ont déterminé la composition chimique de l'HE d'*A.campestris* originaire de la Russie, celle-ci est dominée par l' α -pinène (41%), le β -pinène (29.7%), le limonène (6.4%), et le sabinène (4.5%).

- La composition chimique de l'huile essentielle originaire de la France, a été étudiée en fonction de la saison de récolte. Quatre échantillons ont été analysés : Le premier échantillon a été récolté au cours du mois de Mai, son huile essentielle est dominée par la présence du β -terpinène (46.5%), et le 1-Phényl-2,4-pentadiyne (26.9%).

- Par contre le deuxième échantillon, récolté au mois d'Aout, est caractérisé par la présence du capillène (27.2%), β -terpinène (26.5%), le 1-Phényl-2,4-pentadiyne (19.1%).

-Tandis que le troisième échantillon récolté au cours du mois de Septembre (stade de la floraison) est dominé par le 1-Phényl-2,4-pentadiyne (29.7%), le β -terpinène (20.8%), et le capillène (22.3%). Et enfin le quatrième échantillon récolté au mois de Novembre, est caractérisé par la présence du : 1-Phényl-2,4-pentadiyne (16.2%), le capillène (33.1%), et l'oxyde de caryophyllène (11.3%) (**Juteau et al., 2002**).

- **Akrout et al., (2003)**, ont déterminé la composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris*, originaire de la Tunisie (différentes régions de récolte).

L'échantillon provenant de Bengardane est constitué essentiellement de : β -pinène (24.2%), P-cymène (17.4%), le camphre (10.3%), spathuléol (10%), et α -pinène (6.2%).

Le deuxième échantillon provenant de Benikhadache est dominé par la présence de : β -pinène (27.9%), P-cymène (22.3%), et le β -terpinène(5%).

Le profil chimique de l'huile essentielle de l'échantillon provenant de Djerba est caractérisé par : le β -pinène (25.2%), le P-cymène (20.7%), l' α -pinène (11%), l'arcurcumène (6.9%), et le spathuléol (7.1%). Le dernier échantillon originaire de Tataouine est prédominé par le β -pinène (24.3%), P-cymène (20.1%), spathuléol (8.5%), et α -pinène (8.7%).

L'huile essentielle originaire de la Serbie est caractérisé par la présence de sesquiterpène alcools, spathulénol (9.2%), le 4-hydroxy-9-epi- -caryophyllène (3%), -pinène (9.1%), -pinène (3.4%), limonène (2.5%), et germacrène (3.3%) (**Chalchat et al., 2006**).

- En Algérie, **Dob et al., (2005)** ont montré que le composé majoritaire de cette l'huile est: (Z, E) farnesol (10.3 %) suivie par cedrol (5.4 %), verbenone (3.8%).

3. Activité biologiques

Les huiles essentielles de cette plante ont une activité, antibactérienne, antifongique et anti oxydante (**Akrout et al., 2007**).

3.1 .Activité antimicrobienne

Des études ont montré que les huiles essentielles et leurs constituants présentent un potentiel important en tant qu'agents antimicrobiens (**Kurita et al., 1982; Dorman et al., 2000**).

La nature des composés majoritaires joue un rôle principal dans leur efficacité (**Kurita et al., 1982**).

La première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1981 par Delacroix, depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (**Burt, 2004**). Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (**Kalembe et Kunicka, 2003**).

l'activité antibactérienne des HE se classe dans l'ordre décroissant suivant la nature de leurs composés majoritaires (**Franchomme, 1981; Lee et al., 1971**): Phénols > Alcools > aldéhydes > Cétones > oxyde > esters> hydrocarbure. Toutefois l'effet des composés quantitativement minoritaires n'est parfois pas négligeable (**Rhayour, 2002**).

3.2 Activité antioxydante

- La partie aérienne d'*Artemisia campestris* possède des activités anti-oxydantes significatives.

En effet cette plante est riche en composés doués d'activité antioxydante tels que: les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins, ces différents constituants exercent ses actions antioxydantes en inhibant la production de l'anion superoxyde, l'hydroxyle, comme ils inhibent la peroxydation lipidique au niveau des microsomes (**Bruneton, 1999**).

Dans une étude faite par **Aniya et al., (2000)** l'activité antioxydante de l'extrait aqueux d'*Artemisa campestris* a été testée par la méthode de DPPH (2,2-diphenyl-1-1-picrylhydrazyl), les résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux possède une activité antioxydante élevée. De leurs coté **Akrout et al., (2010)** ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* (huile essentielle, extrait aqueux, extrait éthanolique 50%) en utilisant trois méthodes différentes: la méthode de DPPH, la technique de décoloration du β -carotène et la méthode d'ABTS (2,2 azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid), ils ont trouvé que l'huile d'*Artemisia campestris* possède une faible activité antioxydante, alors que les extraits aqueux et organique montrent une activité antioxydante importante en comparaison à celle de l'huile essentielle.

3.3 Activité hypoglycémiant

- **Sefi et al., (2010)** ont trouvé que l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia campestris*, diminue le taux de glucose dans le plasma des rats chez lesquels le diabète est induit par l'alloxane monohydrate, ils ont trouvé également que la diminution de la concentration de glucose s'accompagne d'une part d'une diminution des taux de triglycérides et des lipoprotéines de faibles densité (LDL), et d'autre part d'une augmentation du niveau de l'insuline, ce qui peut prévenir les complications du diabète

MATERIELS ET METHODES

Notre travail consiste à l'étude de l'effet antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de la partie aérienne des échantillons d'*Artemisia campestris* provenant de deux régions différentes d'Algérie : Tamanrasset et Djelfa.

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche sur les plantes médicinales et aromatiques du département de biotechnologie (ex sciences agronomiques) de l'université Blida 1.

L'analyse des HE par GC/MS a été faite au niveau de centre de recherches et analyses physicochimiques (CRAPC) de Bousmail d'Algérie

L'étude de l'effet antimicrobien des huiles essentielles à été réalisée au niveau de laboratoire de microbiologie de l'hôpital Frantz fanon de Blida.

L'étude de l'effet antioxydant des huiles essentielles à été réalisée au niveau laboratoire galénique du département de pharmacie de Blida.

1. Matériels :

1.1. Matériel biologique :

1.1.1. Matériel Végétal :

Les plantes d'*Artemisia campestris* ont été récoltés dans deux régions différentes de l'Algérie ; Djelfa et Tamanrasset. (figure8).

Pour Djelfa ; la récolte a été faite le 09/12/2014 a coté de l'université de Ziane Achour route vers Moudjbara (figure 9).

Pour Tamanrasset ; la récolte a été faite le 06/01/2015 a IDLES (200km au nord de la capitale de wilaya). (figure 10).

L'identification a été faite conformément aux critères botaniques cités par **QUEZEL et SANTA, (1963)**.



Figure 8 : les sites échantillonnage montré sur la carte d'Algérie

1.1.1.1 Présentation des localités de récolte des échantillons

1.1.1.1.1 Djelfa :

La wilaya de Djelfa est située dans la partie centrale de l'Algérie du Nord au de la des piments Sud de l'Atlas Tellien en venant du Nord dont le chef lieu de Wilaya est à 300 Km au Sud de la capitale (DPTA, 2003) Elle est comprise entre 2° et 5° de longitude Est et entre 33° et 35° de latitude Nord.

A) Le relief : Assurant le lien entre le Nord et le Sud du pays, le relief de la Wilaya de Djelfa est caractérisé par la succession de quatre (04) zones distinctes du Nord au Sud de son territoire. Le point culminant de la Wilaya se trouve à l'Est de l'agglomération de Benyagoub dans la Daira de Charef avec une altitude de 1.613 mètres et le point le plus bas est à l'extrême Sud de la Wilaya avec une altitude de 150 mètres

B) Climat : Le climat de la wilaya de Djelfa est nettement semi aride à aride avec une nuance continental, en effet le climat est semi aride dans les zones située dans les partie du Centre et du Nord de la wilaya et aride dans toute la zone située dans la partie Sud de la wilaya. (DPTA, 2003).

C) Les précipitations : En raison de ces altitudes élevées, la partie centrale de la wilaya est celle qui reçoit le plus de pluies avec une moyenne de 250 à 300 mm/ans. La pluviométrie est cependant moins importante dans la région nord de la wilaya avec une moyenne de 250 mm/an que dans les régions sud avec une moyenne de 150 mm/ans. Á l'extrême sud de la wilaya elle est au dessous de 150 mm/ans. D'une manière générale. La pluviométrie est marquée par une grande irrégularité d'une année à une autre. Les pluies sont souvent sous forme d'orage, accentuant de ce fait le phénomène d'érosion des sols.



Figure 9 : site d'échantillonnage d'*Artemisia campestris* à Djelfa

1.1.1.1.2 Tamanrasset :

Tamanrasset ou Tamanghasset est la capitale incontestée du Hoggar située à l'extrême Sud du pays Elle s'étend sur une superficie de 557.906,25 Km², soit le ¼ du territoire national avec une bande frontalière de 1200 Kms.



Figure 10: Site d'échantillonnage d'*Artemesia campestris* à Idles w de Tamanrasset

A) Flore de la région de Tamanrasset

La flore du massif du Hoggar est estimée à quelques 300 espèces (**Ozenda, 1983**). Elle comprend des espèces propres au Sahara, auxquelles s'additionnent des éléments méditerranéens et tropicaux. La cohabitation d'origines aussi différentes s'est maintenue grâce à la remarquable adaptation développée par ces plantes depuis les premières ères géologiques (**Hamdine, 2001**).

La répartition de la flore spontanée de Tamanrasset varie selon les différentes zones climatiques (**Ozenda, 1977**). De façon schématique, la végétation présente un étagement allant des plaines situées dans les altitudes basses (environ 500 m) où l'on trouve les pâturages les plus importants, aux hautes montagnes de l'Atakor (3000 m) où la végétation se développe sur des plateaux mais aussi sur les flancs des massifs (**Hamdine, 2001**).

B) Climat :

Tamanrasset possède un climat désertique chaud typique du Hoggar, massif montagneux situé au Sahara avec des étés longs et très chauds et hivers courts et modérément chauds. L'altitude élevée, modère beaucoup les températures maximales moyennes rencontrées tout au long de l'année et elle est responsables de précipitations légèrement plus abondantes qu'aux environs

MATERIELS ET METHODES

à basse altitude. Néanmoins, le climat y est considéré comme extrêmement chaud et sec pour une telle altitude. Le climat y est hyper-aride et extrêmement sec toute l'année puisque les précipitations annuelles moyennes sont environ de 43 mm. En été, la chaleur, bien que très modérée, est très forte et prend un caractère persistant : les températures moyennes maximales tournent autour de 40 °C entre juin et septembre. Les températures sont très agréables et élevées en hiver mais seulement la journée car dans les étendues désertiques, il n'y a rien pour retenir la chaleur et températures minimales moyennes avoisinent 5 °C. Le ciel est clair toute l'année et les journées couvertes restent très rares, si existantes. La température moyenne journalière annuelle avoisine 22 °C à L'humidité relative y est exceptionnellement faible toute l'année avec une moyenne annuelle d'environ 23 %. A cause de la très forte irradiation solaire et donc de l'intense échauffement produit, des températures maximales supérieures à 70 °C ont été enregistrées sur le sol de Tamanrasset en plein été à plusieurs reprises. (**Hamdine, 2001**).

1.1.3 Les souches bactériennes

Les souches bactériennes nous ont été fournies par Dr MAHFOUD assistant de l'unité microbiologie de laboratoire centrale de l'hôpital Frantz fanon willaya de Blida

La souche fongique *Candidat albicans* nous a été fournie par Dr RAZKELLAH assistante de l'unité parasitologie de laboratoire centrale de l'hôpital Frantz fanon willaya de Blida.

Les références des souches microbiennes utilisées sont indiquées dans le tableau 1 :

Tableau1 : références des souches microbiennes

Souche	référence
<i>Escherichia coli</i>	ATTC25923
<i>Staphylococcus aureus S</i>	ATTC 25923
<i>Staphylococcus aureus R</i>	ATTC 43300
<i>pseudomonas aeruginosa S</i>	ATCC 27853
<i>streptococcus pneumoniae</i>	----
<i>enterococcus faecalis</i>	----
<i>candidat albicans</i>	ATCC24433

MATERIELS ET METHODES

1.1.3.1 Caractéristiques des souches microbiennes utilisées :

Tableau 2 : caractéristique des souches microbienne utilisé

Espèce microbienne	Caractéristiques	Maladies provoqué	Référence
<i>Escherichia coli</i>	Bacille, mobile, gram négatif, pathogène.	Diarrhée, infection urinaire, méningite, septicémie	(Burits et Bucar, 2000)
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Cocci, immobile, gram positif, disposé en amas ou en grappe de raisin.	Infections cutanées suppurées , toxi-infection alimentaire.	(Clave, 2013)
<i>Enterococcus faecalis</i>	Coques d'aspect ovoïde en courtes chaînes, immobiles en bouillon et acapsulés. Gram +	'infections urinaires, endocardites, 'infections intra abdominales	(Archambaud, M et Clave, D, 2007)
<i>Enterococcus facium</i>	Coques d'aspect ovoïde en courtes chaînes, immobiles en bouillon et acapsulés. Gram +	infections urinaires septicémies, endocardites, suppurations diverses	(Clavé, 1998)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	cocci gram+, en diplocoques, lancéolés, pouvant être capsulés, immobiles	Les infections pneumopathies communautaires, les surinfections bronchiques, les méningites	(Clave, 2013)
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	bacilles fins à Gram -, non capsulés, mobiles	Responsable de broncho-pneumopathies et les affections respiratoires infections cutanées dans les ulcères	(Clave, 2011)

MATERIELS ET METHODES

<i>Candidas albicam</i>	champignon diploïde et encapsulé, polymorphes	candidose, une infection fongique	(Hazen et Howell, 2007)
-------------------------	---	-----------------------------------	--------------------------------

I.2. Matériel non biologique :

L'ensemble des verreries, l'appareillage et les réactifs utilisés est mentionnés dans l'annexe 1 :

2. Méthodes d'étude :

2-1. Extraction des huiles essentielles

2.1.1 Préparation des échantillons

La partie aérienne d'*Artemisia campestris* fraîchement récolté a été étalée sur un papier journal, et placée sur une pailleasse pour sécher à l'air libre, à l'ombre, à température ambiante pendant 25 jours.

Après le séchage les échantillons sont coupés en petits morceaux et pesées à l'aide d'une balance précise.

Les échantillons séchés vont servir pour l'extraction des huiles essentielles (figure11)



Figure 11 :*Artemisia campestris* après séchage

2.1.2 Extraction des huiles essentielles :

2.1.2.1 Principe

Les huiles essentielles ont été extraites 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).

2.1.2.2 Mode opératoire :

Mettre 90g du matériel végétal sec dans un ballon rond de 1000 ml et introduire 750 ml d'eau dans le même ballon.

Chauffer le contenu avec un chauffe ballon. La vapeur se charge de substances volatiles, puis condensée grâce à un réfrigérant. Poursuivre la distillation jusqu'à l'obtention de maximum des HE, (figure 12). La récupération des HE est faite après la lecture du rendement à l'aide de la burette graduée attachée à l'appareil.

MATERIELS ET METHODES

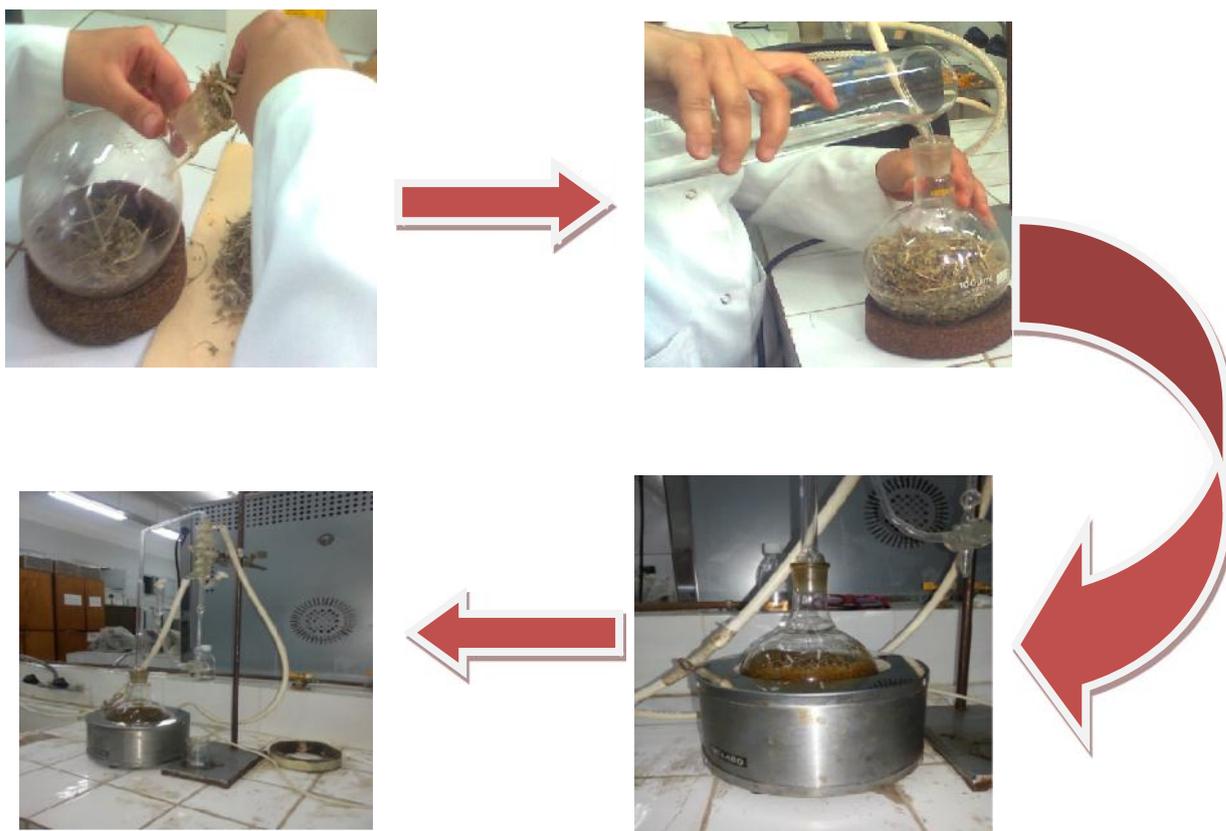


Figure 12 : Extraction par un Hydro distillateur

A la fin de chaque extraction, ces huiles essentielles ont été récupérées directement sur un Eppendorf (figure 13).



Figure 13 : Récupération des huiles essentielles

La distillation est répétée plusieurs fois et le volume global du distillat est estimé en (ml). Les huiles obtenues ont conservées au réfrigérateur à + 4 °C jusqu'à leur utilisation pour les tests biologiques

2.1.3. Détermination du rendement en huiles essentielles

Le rendement est obtenu par rapport à la matière végétale sèche et exprimé selon la formule ci-dessous :

$$R_H = (V/M_{MV}) \cdot 100$$

Où

R_H: Rendement des huiles essentielles en (ml) par apport à 100g de matière sèche (%)

V : volume d'huile essentielle en (ml)

M_{MV}: masse de la matière végétale sèche (g)

3. Propriétés physico-chimique :

3.1 Propriété organoleptique

L'observation à l'œil nu permet de définir les propriétés organoleptiques de notre HE telle que la : Couleur, l'odeur, l'aspect, et l'état.

3.2 Indice de réfraction :

3.2.1 Principe :

Selon la norme **PHARMACOPEE EUROPIENNE (2008)**, l'indice de réfraction d'un milieu rapporté à l'air est égale au rapport du sinus de l'angle d'incidence d'un rayon lumineux dans l'air et le sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré.

3.2.2 Mode opératoire :

- Etalonner le réfractomètre avec l'eau distillée
- Placer 2 à 3 gouttes des huiles essentielles testées sur l'appareil.
- Régler le réfractomètre jusqu'à la stabilisation.
- Lire la valeur de l'indice de réfractomètre sur le cercle gradué.

3.3. Détermination de l'indice d'acide et l'acidité :

3.3.1 Définitions :

Indice d'acide : nombre de milligrammes d'hydroxyde de sodium nécessaires pour neutraliser les acides gras libres présents dans 1g de corps gras.

Acidité : Expression conventionnelle du pourcentage d'acide gras libre.

3.3.2 Mode opératoire :

Mise en solution d'une prise d'essai (0.2ml d'HE) dans un mélange de solvant (5ml d'éthanol et 5ml d'éther di-éthylique) puis titrage des acides gras libres présents à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium (**Charfi, 2012**).

Les résultats sont calculés par les équations suivantes :

A) Indice d'acide IA :

$$IA = \frac{M \times V \times C}{m}$$

Ou :

M : est la masse molaire, exprimée en gramme par mol, de l'hydroxyde de sodium.

V : est le volume en millilitres de la solution titrée d'hydroxyde de sodium utilisé

C : est la concentration exacte, en moles par litre de la solution titrée d'hydroxyde de sodium utilisée

m: est la masse en grammes de l'HE.

B) Acidité AC :

$$AC = \frac{M}{1000} \times \frac{100}{m} = \frac{M \times V \times C}{10 \times m}$$

Ou :

M : est la masse molaire, exprimée en gramme par mol, de l'hydroxyde de sodium.

V : est le volume en millilitres de la solution titrée d'hydroxyde de sodium utilisé

C : est la concentration exacte, en moles par litre de la solution titrée d'hydroxyde de sodium utilisée

m: est la masse en grammes de l'HE.

3.4. Densité relative à 20°C :

- La densité relative d'une huile est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C.

La densité relative est mesurée par une suite de pesées à l'aide d'un pycnomètre.

Après nettoyage et séchage du pycnomètre, il a été pesé et rempli d'eau distillée.

Le pycnomètre a été retiré, essuyé extérieurement et pesé.

La même procédure est suivie pour l'huile en remplissant le pycnomètre par le même volume d'huile. Ensuite, le pycnomètre est essuyé et pesé.

La densité relative se détermine :

$$D_{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

m_0 : masse du pycnomètre vide,

m_1 : masse du pycnomètre rempli d'eau distillée,

m_2 : masse du pycnomètre rempli d'huile,

4. Tests du Screening phytochimique

Le but de ces tests est de connaître la composition en métabolites secondaires, ils sont effectués soit sur la poudre du broyat, soit sur un infusé.

4.1. Préparation de l'infusé

- A 10 g de poudre végétale, sont ajoutés 100 ml d'eau distillée bouillante, laissé infuser pendant 15 min avec agitation de temps en temps, après filtrer.

4.2. Identification de quelques métabolites secondaires

4.2.1 Les anthocyanes

A 5 ml d'infusé, sont ajoutés quelques gouttes d'ammoniaque ½.

L'apparition d'une couleur rouge, indique la présence des anthocyanes.

4.2.2 Les tanins

A 5 ml d'infusé, sont ajoutés quelques gouttes d'une solution de F_eCL_3 à 5%.

La réaction donne une coloration bleu noir en présence des tanins.

✓ Les tanins catéchiques

15 ml d'infusé, sont additionnés à 7 ml de réactive de Stiasny (10 ml de formol a 40% et 5 ml d'HCL concentré).

La réaction donne une coloration rouge en présence des tanins catéchiques.

✓ Les tanins galliques

A 5 ml d'infusé, sont ajoutés 2 g d'acétate de sodium et quelques gouttes de F_eCL_3 .

La réaction donne une coloration bleu foncée en la présence des tanins galliques.

4.2.3 Les flavonoïdes

A 5 ml d'infusé, sont additionnés 5 ml d'HCL, un copeau de Mg et 1 ml d'alcool isoamylique.

La réaction donne une coloration rouge orangée en présence des flavonoïdes.

4.2.4 Les alcaloïdes

Introduire 1g de poudre végétal dans un tube a essai,ajouter 10ml d'acide sulfurique (10%)

Agiter énergiquement pendant 2 mn et filtrer, ajouter 2 gouttes du reactif de Dragendorff.

Résultats : apparition d'un précipité rouge orangé.

4.2.5 Les glucosides

A 2 g de poudre végétale, sont ajoutées quelques gouttes d'acide sulfurique.

La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides.

4.2.6 Les mucilages

On introduit 1ml de l'infusé dans un tube et on lui ajoute 5ml d'éthanol absolu, l'obtention d'une précipitation floconneux indique la présence des mucilage.

5. L'analyse des HE par GC/MS :

Le chromatographe utilisé dans l'analyse est : HP (Agilent technologies) 6800 plus

Spectrometre de masse utilisé est : HP (Agilent technologies) MSD 5973

5.1 Conditions Opératoires :

- **Injecteur**

Température : 250°C

Mode d'injection : Split 50 :1

Volume injecté : 0.2 µl

- **Colonne**

Type : hp-5MS

Dimensions : long 30 m * D int 0.25 mm * épaisseur film 0.25 µm

Phase stationnaire : (5%-phényl)-méthylpolysiloxane

Température du four :60°C pendant 8 min, 2°C/min jusqu'à 250°C, isotherme pendant 10 min

Gaz vecteur : Hélium pure

Débit GV : 0,5 ml/min

- **Détecteur de masse**

Mode d'analyse : Scan (de 34 à 450)

Solvant utilisé : Hexane

Délai du solvant : 3.50 min

Température de l'interface : 280 °c

Type d'ionisation : Impact électronique

Intensité du filament : 70 év

Type de l'analyseur de masse : Quadripôle

Température du quadripôle : 150 °c

Température de la source : 230 °c

- **Identification :**

L'identification des constituants des huiles essentielles est basée sur la proposition et du pourcentage de probabilité de présence du composé fournis par la base de données du micro-ordinateur couplé au spectromètre de masse.

6 . Etude de pouvoir antimicrobien de l'HE :

6.1. Milieux de cultures

Pour les cultures bactériennes deux milieux de cultures ont été utilisés :

- Milieu Muller Hinton
- Milieu Muller Hinton + sang de cheval

Pour la souche fongique, le milieu de culture utilisé est :

- Milieu Sabourau

Les compositions des milieux de culture sont mentionnées dans l'annexe 2

6.2. Méthode de l'aromatogramme :

Cette technique permet d'évaluer l'activité antibactérienne et antifongique des HE.

6.2.1 Principe : (Figure 14)

Pour cette méthode, nous utilisons des disques de papier Wattman de 9 mm de diamètre, ils sont absorbants et stériles. Imbibé d'HE, le disque sera déposé sur la boîte de Pétri contenant un milieu sélectif préalablement inoculée et uniformémentensemencée par une suspension bactérienne ou fongique (**Benjlali, 1986**).

MATERIELS ET METHODES

Durant l'incubation des Boîtes de Pétri, les souchesensemencées entreront en contact avec l'HE et l'inhibition se traduira par une zone circulaire stérile (Zone d'Inhibition) dont le diamètre sera fonction de la sensibilité ou de la résistance du germe microbien (**Guezlane-Tebibel et al., 2012**)

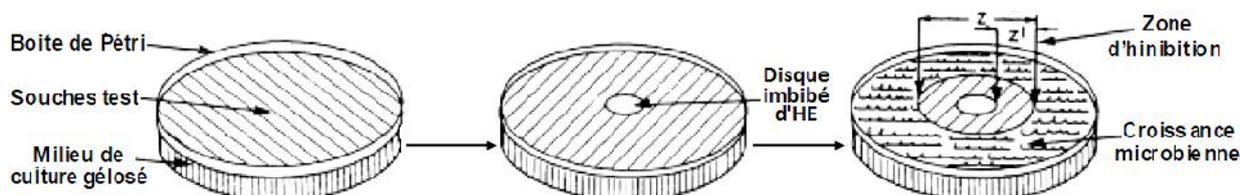


Figure 14 : Illustration de la méthode d'aromatogramme sur boîte de pétrie (Pibiri, 2006).

6.2.2. Mode opératoire :

Le protocole adopté est celui de la Pharmacopée européenne (2002),

6.2.2.1 Préparation de l'inoculum :

Préparer une suspension microbienne à partir de cultures jeunes de bactéries (18-24H) ou de levure (48H), prélever quelques colonies isolées et incorporer dans 5 ml d'eau physiologique. (Figure15, annexe 5)

Agiter et homogénéiser la suspension à l'aide de l'agitateur Vortex afin d'obtenir une suspension bactérienne équivalente à celle de l'étalon 0.5 Mac Farland.

- Incuber les suspensions bactériennes et fongiques respectivement dans des étuves à 37 C° et 25 C° et ce pendant 20 à 25 mn.

6.2.2.1. Préparation des milieux de culture :

- Liquéfier les milieux de cultures Muller Hinton (Bactéries) et Sabouraud (levures et champignons) dans un bain Marie à 95 C° et garder en surfusion dans une étuve à 45°C.
- Sous hotte à flux laminaire, verser aseptiquement les milieux de culture gélosés sur les boîtes de Pétri à raison de 15 ml par boîte.

- Laisser refroidir et solidifier à température ambiante, et conserver dans des conditions évitant toute modification de leur composition.

6.2.2.2 Ensemencement :

- Imbiber aseptiquement un écouvillon avec la suspension microbienne.
- Essorer l'écouvillon en pressant fermement et en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger du surplus de suspension.
- Ensemencer aseptiquement une boîte de Pétri en frottant délicatement l'écouvillon sur la surface de la gélose en stries serrées, répéter l'opération quatre fois, en tournant la boîte à 45° de façon à croiser les stries, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. (Figure 16 annexe5)

6.2.2.3. Dépôt des disques :

- Prélever aseptiquement un disque stérile de 6 mm de diamètre avec une pince stérile.
- Mettre en contact le bout du disque avec l'HE pure, qui va être absorbée par le disque par capillarité.(figure17,18 annexe 5)
- Déposer le disque ainsi imbibé d'HE à la surface de la gélose, au centre de la boîte de Pétri.
- Laisser diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes.
- Incuber les boîtes à 37°C durant 24H pour les bactéries et à 25°C durant 48H pour les levures.

N.B : Afin d'assurer les conditions d'asepsie locale indispensables, le travail s'est effectué près d'un bec bunsen (pour stériliser les instruments en les passant dans la flamme).

6.2.2.4. Lecture :

- La lecture est faite après 24h pour les bactéries et 48h pour les champignons par l'observation de la présence ou l'absence de zone claire autour des disques.
- Mesurer avec précision le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'une règle double décimètre.

7. Etude de pouvoir antioxydant de l'HE :

L'activité antioxydante in vitro a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) selon la méthode décrite par (**Burits et Bucar**), où 50µl de chacune des solutions méthanoliques de l'huile essentielle testées à différentes concentrations (200, 400, 600, 800 et 1000 µg/ml) sont mélangées avec 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004 %). Après une période d'incubation de 30 minutes à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm. L'inhibition du radical libre DPPH par la vitamine C a été également analysée à la même concentration pour comparaison. On détermine la cinétique de la réaction et les paramètres de calcul de l'activité antioxydante pour la vitamine C et pour l'huile essentielle (Pourcentage d'inhibition, l'index IC50).

7.1 Détermination du pourcentage d'inhibition et l'IC50 :

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

$$I\% = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{blanc}}}$$

Avec :

Ablanc : Absorbance du blanc (méthanol)

Aéchantillon : Absorbance du composé d'essai.

La cinétique des réactions de l'huile essentielle et de la vitamine C avec le DPPH a été inscrite à chaque concentration examinée. Les concentrations en huile essentielle et en vitamine C, en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH initiale de 50 %.

1. Rendements :

Les rendements en huiles essentielles obtenues sont exprimés en pourcentage par rapport à la matière végétale sèche. Les résultats sont montrés dans la figure 19 :

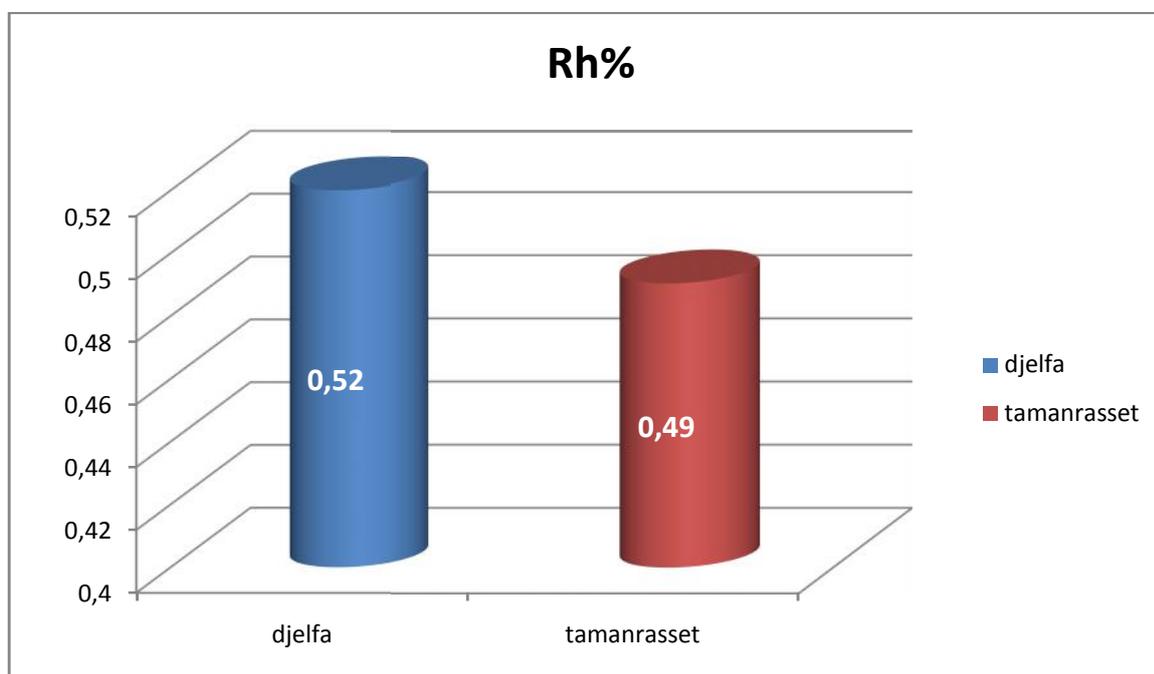


Figure 19 : Rendement moyenne en huiles essentielles par rapport à la matière sèche

Le rendement des huiles essentielles des échantillons récoltés à Djelfa est légèrement plus élevé (0.52%) que celui des échantillons provenant de Tamanrasset (0.49%).

-**Dob et al (2005)**, en analysant les huiles essentielles de l'*Artemisia campestris* récolté dans la région de M'sila au mois d'octobre ont obtenu un rendement de (0.1%), ce rendement est plus faible en comparant a nos résultats.

Le rendement des huiles essentielles de l'*Artemisia campestris* récolté a la Willaya Naama en novembre est de 0.3% (**Gherib, 2009**). Ce taux est inférieur par rapport au rendement des notre échantillons provenant de Tamanrasset. Cela est dû probablement à la différence d'altitude entre les deux régions.

-**Chier et al., (2002)**, en étudiant l'impacte de séchage sur la composition de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* récolté en France, ont obtenu un rendement variant entre (0.3% à 0.7%).

-**Chalchat et al., (2006)**, en étudiant la composition de l'huile essentielle d'*Artemisia capmestris* de la Serbie, ont obtenu un rendement inférieur par rapport aux nos rendement, cela peut être dû a la différence du climat entre les deux pays (Algérie et Serbie).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

-En Tunisie, **Akrout et al., (2001)**, en valorisant les huiles essentielles de l'*Artemisia campestris*, ont obtenu un rendement de (0.65%). Ce résultat est supérieur à celui de notre travail.

2. Détermination des indices physicochimiques :

2.1. Propriétés organoleptiques :

Les propriétés organoleptiques des huiles essentielles des échantillons provenant de Djelfa et de Tamanrasset sont indiquées dans le tableau 3

Tableau 3: propriétés organoleptiques des HE

	Aspect	Odeur	Couleur
HE de Tamanrasset	Liquid (mobile)	Trés forte odeur caractéristique	 Jaune
HE de Djelfa	Liquid (mobile)	Tres forte odeur caractéristique	 Jaune-vert
Normes selon Garnero, (1996)	Liquid (mobile)	Odeur caractéristique thuyanique	Jaune-vert

2.2. Indice de réfraction : les valeurs obtenues pour les indices de réfraction sont :

IR de l'huile essentielle des échantillons récolté à Djelfa : 1,4825

IR de l'huile essentielle des échantillons provenant de Tamanrasset : 1.4920

Selon **Garnero, (1996)** la norme de l'IR est : 1,4727

2.3. Densité relative :

La densité relative d'une huile est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C.

La densité trouvée pour l'huile essentielle de l'*Artemesea campestris* de Djelfa est : 0.921

RESULTATS ET DISCUSSIONS

La densité trouvée pour l'huile essentielle de l'*Artemisia campestris* de Tamanrasset est : 0.879

D'après **Garnero, (1996)** la norme de la densité relative de l'huile essentielle de l'*Artemisia campestris* est : 0,945

2.4. L'indice d'acide et l'acidité :

Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau (04) :

Tableau 4 : résultats d'indice d'acide et d'acidité des HE des deux régions

	Indice d'acide (mg)	Acidité (%)
Tamanrasset	6	0.6
Djelfa	8	0.8

D'après le tableau ci-dessus : on distingue que l'indice d'acide de HE des échantillons de Djelfa (8mg) est supérieur à celui de Tamanrasset (6mg) ce qui donne une acidité de 0.8 et 0.6 respectivement.

3. Le screening phytochimique :

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la partie étudiée de la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composé.

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur l'extrait aqueux et la poudre de la partie aérienne de l'*Artemisia campestris* sont regroupés dans le tableau (5) :

Tableau 5 : Résultats des différentes réactions du screening phytochimique

Métabolites secondaires	Résultats
Glucosides	+
Alcaloïdes	+
Anthocyanes	-
Flavonoïdes	-
Tanins	+
Tanins catechiques	+
Tanins galliques	-
Mucilage	+
+ présence / - absence	

- Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur l'extrait aqueux et la poudre de la partie aérienne de l'armoise rouge montrent la présence des Glucosides,

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Alcaloïdes, tanins catechiques et Mucilage avec l'absence des Anthocyanes, Tanins galliques et Flavonoïdes.

4. L'analyse D'HE par la GC/MS :

L'analyse des huiles essentielles par CG-SM a permis d'identifier 79 composés pour les échantillons de Tamanrasset et 107 composés pour les échantillons de Djelfa.

Les composés les plus importants sont mentionnés dans le tableau (6) et Le chromatogramme figures (26), (27) de l'annexe 3.

Tableau 6 : Principaux composants chimique des huiles essentielles d'*Artemisia. campestris* par GC/MS

Num	Composé	Teneur	
		DJ	TM
1	Alpha phellandrene	0.13%	----
2	Alpha pinéne	6.79%	8.83%
3	Camphene	0.08%	0.10%
4	Beta pinéne	26.62%	28.94%
5	Beta-myrcere	4.12%	4.16%
6	Alpha -terpinéne	0.06%	0.11%
7	Ocyméne	15.27%	13.35%
8	Alpha-limonene	8.12%	8.51%
9	Beta-ocyméne	1.70%	0.83%
10	Gamma-Tirpinéne	1.08%	1.59%
11	Thujanol	0.03%	0.05%
12	Alpha-tirpénolene	0.17%	0.18%
13	Toluene	0.03%	---
14	Pulegon	0.07%	---
15	ALPHA-thujone	0.31%	0.18%
16	Beta-thujone	0.36%	0.67%
17	Nopinon	0.11%	0.08%
18	Pinocarveol	0.62%	0.35
19	Camphor	0.90%	0.86%
20	Pinocarvone	0.48%	----
21	Terpineol	1.13%	1.26%
22	Isolimonéne	0.93%	0.95%
23	CARVEOL	0.06%	0.06%
24	CARVONE	0.07%	0.06%
25	Lemonol	0.09	----
26	alpha.-Copaene	0.20%	0.19%
27	Geraniol	0.92%	1%
28	Beta-silinene	0.11%	0.11%

RESULTATS ET DISCUSSIONS

29	BETA-farnesene	0.15%	---
30	Germacrene	1.74%	2.28%
31	Alpha curcumen	1.12%	1.05%
32	Beta.Spathulenol	4.88%	4.70%
33	Geranyl	3.37%	3.28%
34	beta.-Eudesmol	6.67%	6.35%
35	alpha.-Farnesene	0.04%	0.37%
36	alpha.-cedrene	1.39%	----
37	Alpha-campholéne	----	0.12%
38	Pinocarvone	----	1.10%
39	Alpha-amorphe	----	0.65%

D'après les résultats obtenus nous distinguons :

Le composant majoritaire des deux régions est le Beta pinéne (26.62 % pour HE Djelfa et 28.94% pour HE Tamanrasset. les composants Ocyméne (15.27% pour HE Djelfa 13.35 % pour HE Tamanrasset), Alpha-limonene (8.12% pour HE Djelfa 8.51 pour HE Tamanrasset), Alpha pinéne (6.79% pour HE Djelfa et 8.83% pour HE Tamanrasset), beta.-Eudesmol (6.76% pour HE de Djelfa et 6.35% pour HE de Tamanrasset) Beta-myrcere (4.12% pour HE Djelfa, 4.16% pour HE Tamanrasset) et Beta.Spathulenol (4.88% pour HE Djelfa 4.70% pour HE Tamanrasset) présente des pourcentage important par rapport a l'ensemble.

Malgré que l'HE des deux régions présente les mêmes composants majoritaires mais on observe une différence dans les pourcentages de ces composants.

Belhatab et al., (2011), en analysant l'HE d'*Artemisa campestris* provenant de Bousaada ont trouvé les composants majoritaires suivants : Alpha tirpinéne (18.8%), Alpha pinéne (18.4%), alors qu'il y avait que 10.8% de Gamma tirpinéne. Ces résultats sont différents par rapport a HE des échantillons provenant de Djelfa, notant que les deux régions ont le même climat (semi-aride), cette différence est probablement du a la période de récolte ou peut être a la composition chimique de sol de site d'échantillonnage dans le type du sol.

Akrout et al., (2003), ont déterminé la composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris*, originaire de la Tunisie. Selon ces auteurs Les composants majoritaires sont -pinéne (25.2%), le P-cymène (20.7%) le spathuléol (7.1%). Ces résultats concordent aux nos résultats avec une différence dans les pourcentages des composants majoritaire.

Par ailleurs, il existe une différence remarquable entre la composition de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* analysé et de celle originaire de la Turquie. Les principaux

RESULTATS ET DISCUSSIONS

composants de cette dernier est : thujol (15%), géraniol (13 %), thuyone (4%) (**Guven, 1963**). Cela est du peut être à la différence de climat entre l'Algérie et la Turquie

5. L'activité antimicrobienne :

Selon le diamètre d'inhibition (ZI), la sensibilité des souches aux huiles essentielles est class e comme suit: (**Moreira et al., 2005**)

D<8mm : souche résistante.

8mm < D <14mm : souche sensible.

15mm < D < 19mm : souche très sensible.

D > 20 : souche extrêmement sensible.

Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau 7 et dans les figures (20), (21) :

Tableau 7 : Diamètres des zones d'inhibitions des huiles essentielles

Souches	Huile essentielle d'A.C de Tamanraset		Huile essentielle d'A.C de Djelfa	
	Diamètre(Mm)	Interprétation	Diamètre(Mm)	Interprétation
<i>E.coli</i> (gram-)	<8	-	<8	-
<i>Pseudo.aero</i> (gram-)	<8	-	<8	-
<i>Staph.aureus</i> S (gram+)	14	+	13	+
<i>Staph.aureus</i> R (gram+)	<8	-	<8	-
<i>Strepto.pneumo</i> (gram+)	17	+	16	+
<i>Entero facuim</i> vanco R (gram+)	26	+	12	+
<i>Entero.facilis</i> (gram+)	09	+	8	-
<i>Candidat albicans</i>	<6	-	<6	-

RESULTATS ET DISCUSSIONS

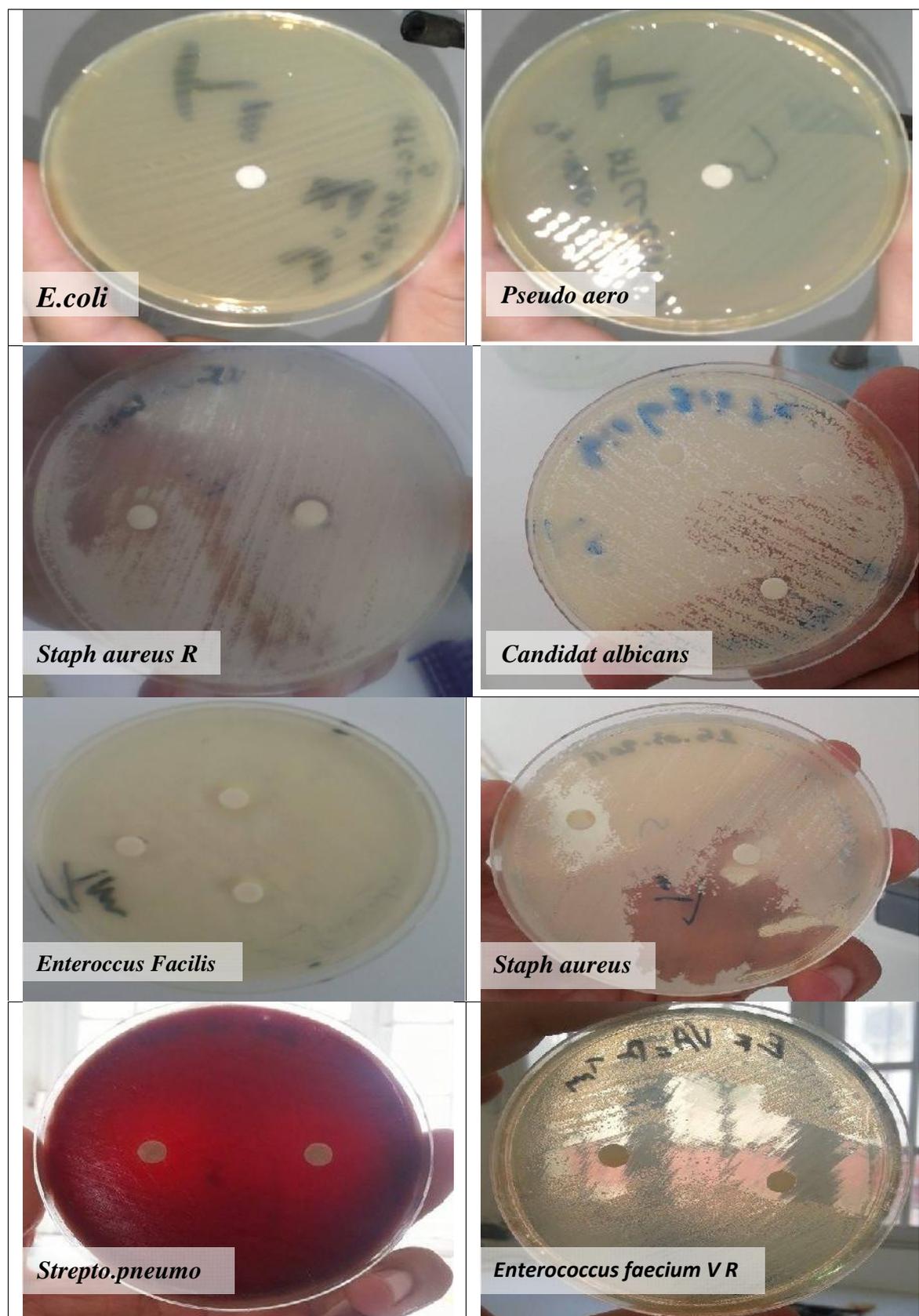


Figure20 : Action des huiles essentielles de l'*Artemisia campestris* récolté en 2015 dans la région de Tamarrasset sur les souches microbienne.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

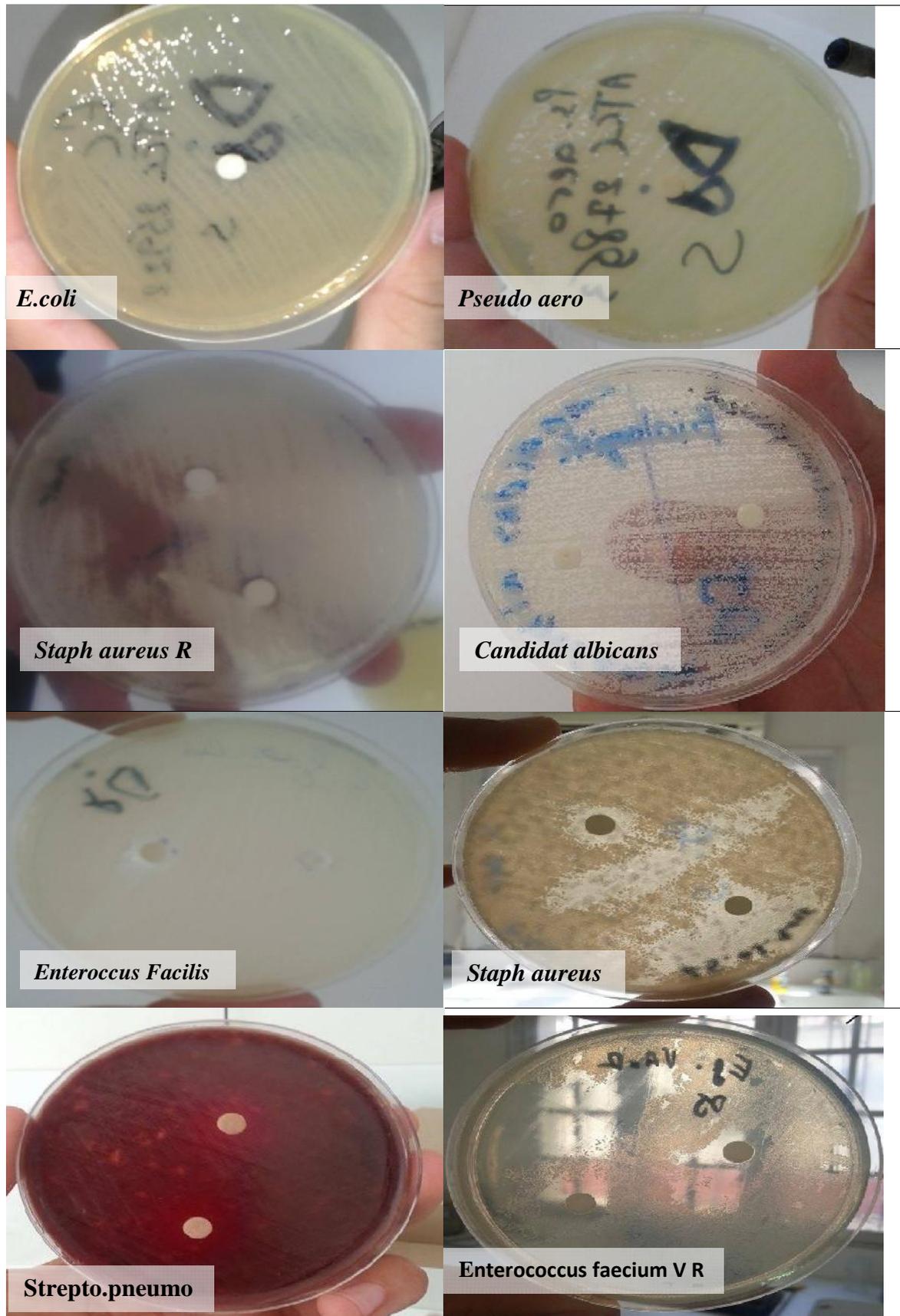


Figure 21 Action des huiles essentielles de *l'Artemisia campestris* récolté en 2014 dans la région de Djelfa sur les souches microbiennes.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

D'après le tableau et les figures ci-dessus nous distinguons ce qui suit :

- Les souches *E.coli* ; *Pseudo aero*, *Staph aureus R* et *Candidat albicans* sont des souches résistantes aux HE des deux régions, ($D < 8\text{mm}$)
- La souche *Entero facilis* est résistante à l'HE d'échantillon de Djelfa ($< 8\text{mm}$) et sensible a celle de Tamanrasset (9mm).
- *Staph aureus S* est sensible au HE des plantes deux régions ; (14mm) pour Tamanrasset et (13mm) pour Djelfa.
- La souche *Strepto pneumo* est très sensible au HE d'échantillons des deux régions ; (17mm) pour Tamanrasset et (16mm) pour Djelfa.
- La souche *Entero.facium R* est sensible à l'HE de Djelfa (12 mm), alors qu'elle présente une sensibilité extrême envers l'HE de Tamanrasset (26mm) Cette activité peut être attribuée à la présence de certains composés majoritaires. (Ngassapa et al., 2003).
- L'huile essentielle de la région de Djelfa et celle de la région de Tamanrasset présentent a peut prés les mêmes diamètres des zones d'inhibitions sur les souches testés.
- Les huiles essentiels ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées ce qui confirme que la plante d'*Artemisia campestris* est douée de propriétés antimicrobiennes.

Selon **Dorman et Deans (2008)** les bactéries Gram- sont plus résistantes que les Gram+ grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram- est plus riche en lipo-polysaccharides et en protéines que ceux de la Gram+ qui les rendent plus hydrophiles, ce qui empêché les terpènes hydrophobes a d'y adhérer. Dans notre étude cette affirmation a été montrée. Nous remarquons que les bactéries Gram+ sont plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries à Gram – qui réagissent différemment aux huiles essentielles. Cependant, **Zaika (1988)**, et **Hussein (1990)** ont indiqué que les bactéries à Gram positif sont plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries à gram négatif, ce qui est contraire aux résultats que nous avons trouvés.

D'autres part **Eulgayer et al., (2001)** donnent un autre avis et notent qu'il est très difficile de faire de telles généralisations, parce que chaque huile essentielle est unique dans sa composition et chaque bactérie diffère considérablement en structure et en fonctionnalité y compris en pouvoir pathogène.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les souches à gram- possèdent une résistance contre les huiles essentielles de *l'Artemisia campestris* par contre les souches à gram+ sont sensibles, nos résultats concordent a celle trouvés par **Naili et al., (2010)**. D'après ces derniers l'HE de cette espèce présente une activité antibactérienne plus accentué contre les bactéries grams positives (*Staphylococcus aureus*) et aucun effet sur les grams négatifs (*Escherichia coli*).

Ghorab et al., (2013), en étudiant l'activité antibactérienne d'*Artemisia campestris* récolté en juillet 2012 à Khenchla, ont trouvé des effets sur les souches ; *E.coli* et *Pseudo aero* (17mm et 23mm respectivement).ces résultats sont contradictoire aux nos résultats. Cela est dû probablement à la différence dans les compositions chimiques qui peut être du a la période de récolte.

Le travail réalisé par **Saihi, (2011)** dans le but de connaitre l'effet de Huile essentielle de *l'Artimesia campestris* récolté en mois d'avril à Djelfa sur des souches bactériennes, a montre un effet positive sur *Staph.aureus*(13mm) *Entro.facilis* (12mm) .ces résultats sont semblables à nos résultats.

Enfin, bien que l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle est attribuée principalement à son composé majoritaire, l'effet synergique ou antagoniste de chacun de ces constituants présents en faible teneur est également considéré (**Chang et al., 2001 ; Daferera et aL., 2003**).

6. Activité antioxydante

Les résultats obtenus lors du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont enregistrés dans le tableau 1 (voire l'annexe 4)

6.1 (Détermination d'IC50)

- L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %.

Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande, nos résultats sont présentés dans les Figures (22), (23), (24), (25).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

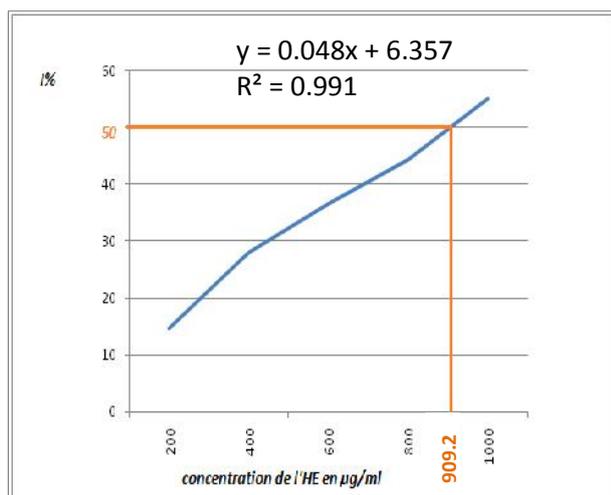


Figure 22 : Résultat du test antioxydant de l'HE de Tamanrasset au DPPH

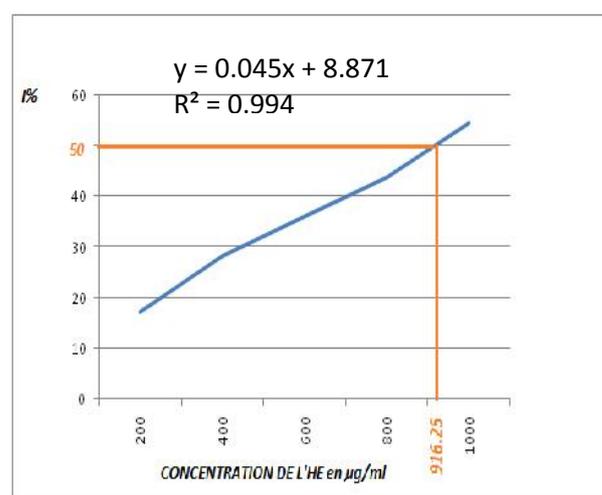


Figure 23: Résultat du test antioxydant de l'HE de Djelfa au DPPH

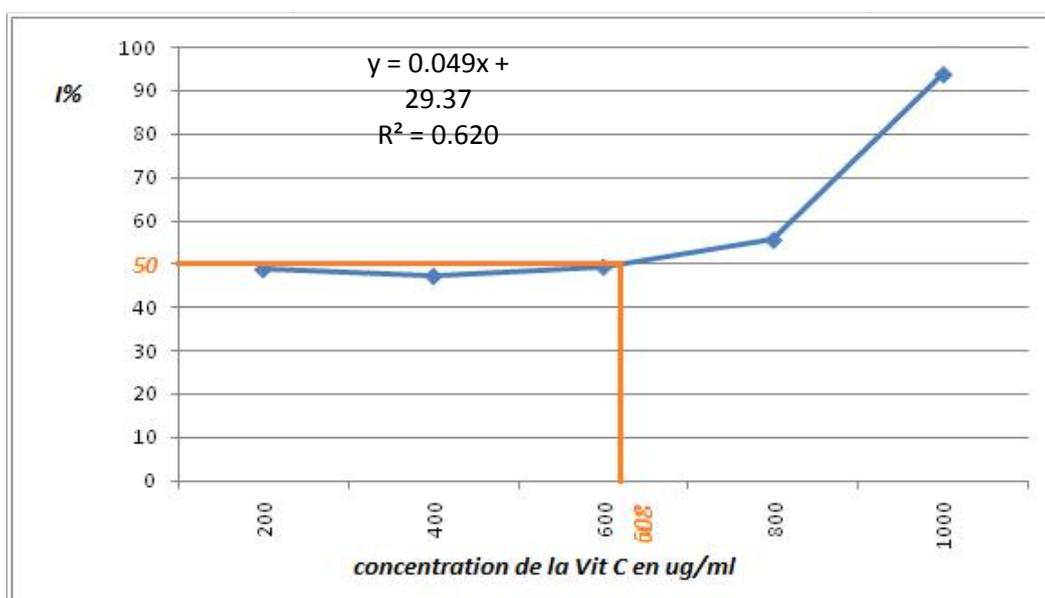


Figure 24: Résultat du test antioxydant de la Vit C au DPPH

RESULTATS ET DISCUSSIONS

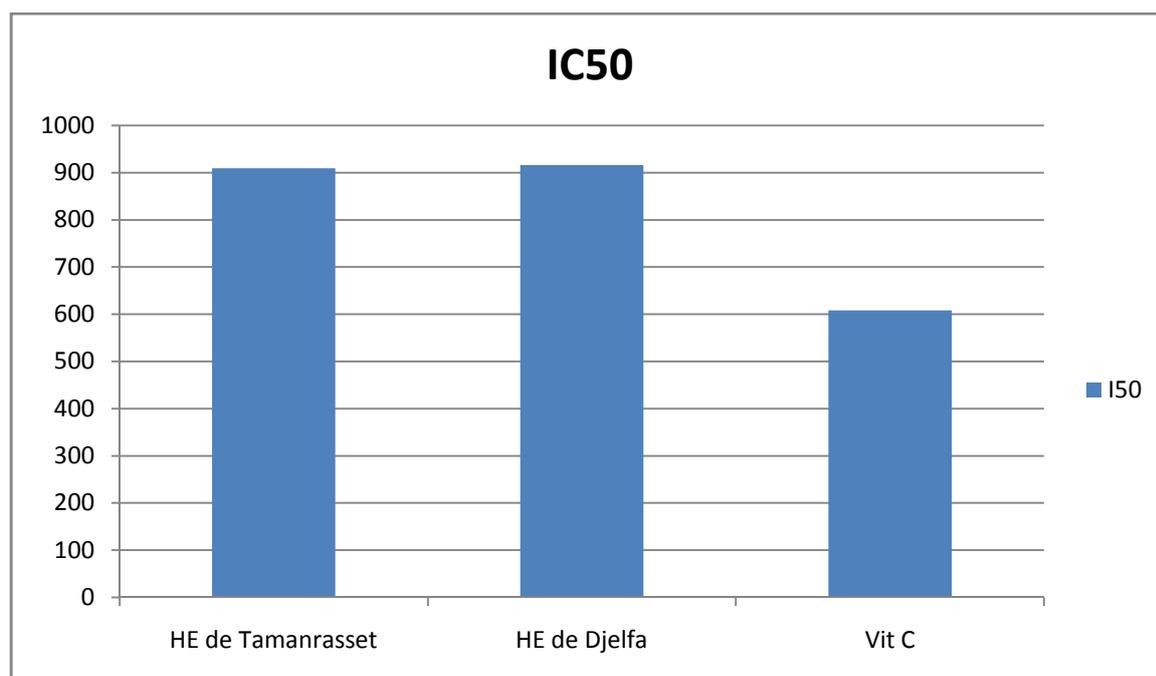


Figure 25 : valeurs d'IC50 des HE et la Vit C

Nous constatons que l'huile essentielle de l'*Artemisia campestris* pouvait ramener le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) au diphenyl-picrylhydrazine jaune-coloré avec un IC50 de 909.22 µg/ml (HE de tamanrasset), et un IC50 de 913.97 µg/ml (HE de djelfa), montrant une activité antioxydante inférieure à celle de la vitamine C. Il semble d'après ces résultats que la vitamine C est l'antioxydant le plus efficace avec un IC50 de 608 µg/ml par rapport aux huiles essentielles étudiées.

Akrouf et al (2010) ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* de la Tunisie, en utilisant trois méthodes différentes: la méthode de DPPH, ils ont trouvé que l'huile d'*Artemisia campestris* possède une faible activité antioxydante (18%). ce résultat est inférieur par rapport à notre résultat (55% de Tamanrasset et 54% de Djelfa)

D'autre part **Lopes-Lutz et al, (2008)** ont confirmé dans une étude faite sur quelques espèces d'*Artemisia* que l'activité antioxydante de ces plantes est faible.

L'évaluation de l'activité antioxydante d'*Artemisia absinthium* faite par **Lopes-Lutz**, par deux techniques ; DPPH et β -carotène a montré que ces activités sont relatives de 15%.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Gherib, (2009) en étudiant l'activité anti-oxydante de trois artemesia provenant de Naama, a confirmé que l'artemesia campestris a une faible activité par rapport aux autres, il a trouvé un IC50 de 800.7 µg/ml, ce résultat est légèrement inférieur à nos IC50 (916.25 µg/ml pour Djelfa et 909.2 µg/ml de Tamanrasset) cela veut dire que l'HE de Naama a une activité antioxydante un peu plus importante que HE étudiés.

Le travail fait par **Khebri, (2011)**, sur l'activité anti oxydante de l'huile essentiel de quelques artemesia récoltés en mois de mai dans la région de Batna, par le test de DPPH, a donné les résultats d'inhibition suivant : *A.absinthuim*(80%), *A. herba alba* (37%).et L'huile essentielle d'*A.compestris* est dotée de l'activité anti-radicalaire la plus faible (18%), en comparant à nos résultats on distingue que nos huiles essentielles ont des activités plus importante par rapport aux huiles de l'*Artemisia campestris* et *Artemisia herba alba*, et moins importante par rapport à celle de *Artemisia absinthuim* .

L'étude comparative faite par **Jukié et al., (2005)** sur la capacité de réduction du DPPH par des produits différents a prouvé que les composés phénoliques montrent des capacités antioxydantes supérieures au produits non phénoliques.

CONCLUSION

CONCLUSION :

Notre travail rentre dans le cadre de valorisation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie

L'*Artemisia campestris* est une plante médicinale rependue dans le Sahara et les régions semi arides d'Algérie, elle présente des vertus thérapeutiques très intéressantes

L'extraction des huiles essentielles par hydro-distillation, à partir de la partie aérienne des échantillons récoltés à Djelfa a donné un rendement légèrement plus élevé (0.52%) par rapport à huiles essentielles de Tamanrasset (0.49%).

Les indices physicochimiques de nos huiles essentielles sont conformes aux normes internationales notamment les propriétés organoleptiques, les indices de réfraction et d'acidité ainsi que la densité relative.

Le screening phytochimique effectués sur l'extrait aqueux et la poudre de la partie aérienne de l'*Artemisia campestris* a prouvé la présence des Glucosides, Alcaloïdes, tanins catéchiques et Mucilage, et l'absence des Anthocyanes, Tanins galliques et Flavonoïdes.

L'analyse des composants de l'huile essentielle par CG-SM a permis d'identifier le composant majeur (beta-pinène) d'autres composés présente aussi des pourcentages plus ou moins élevés Ocymène, Alpha-limonène, Alpha pinène, beta-Eudesmol, Beta-myrcène et Beta.Spathulenol.

L'étude de l'activité antimicrobienne a montré que nos huiles essentielles présentent un effet antibactérien important sur les souches : *Staph.aureus* R, *Entero facium*, *Strepto.pneumo* et cette activité est plus ou moins faible sur la souche *Entero.facilis*

L'étude de l'activité antioxydante nous a permis de constater que les huiles essentielles de l'*Artemisia campestris* provenant des deux sites d'échantillonnage, possèdent des activités antiradicalaires plus ou moins importantes

En perspective, il est intéressant de compléter notre travail par :

- Une analyse de sites d'échantillonnages
- Étudier d'autres activités thérapeutiques de l'espèce (anti-inflammatoire, cicatrisante, hypoglycémisante etc...)
- Une analyse chimique des huiles essentielles extraites à partir des échantillons récoltés aux différents stades de cycle végétatif
- Tester les activités biologiques en utilisant les extraits méthanoliques ou extraits aqueux
- Pour l'étude antimicrobienne, il serait intéressant d'élargir la gamme des souches microbiennes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Akrout, A., Chemli, R., Simmonds, M., Kite, G., Hammami, M., Chreif, I., (2003),** Seasonal variation of the essential oil of *Artemisia campestris* L. J. Essent. Oil Res. 15, 333–336
- Akrout, A., El Jani, H., Amouri, S., Neffati, M., (2010),** Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia helba Alba Asso*, and *Thymus capitatus Hoff. Et Link*. Growing wild in the southern of Tunisia. Recent Res. Sci. Technol. 2 (1), 29–39.
- Akrout, A.; Gonzalez, L. A.; El Jani, H.; Madrid, P.C., (2011),** Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia, *Food and Chemical Toxicology*, 49, 342-347.
- Akrout, A., Neffati M., Chemli R., Aouni M., Jerraya R., Dammak M., Dar A. (2007),** Composition chimique et activité biologiques de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L. Revue des régions arides. pp 231-240
- .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.
- ANONYME, (1991).** La filière : plantes. Extraits, huiles essentielles. L'échiquier des années 90.Ed. Octobre. Conseil. Toulouse. 5-10
- Archambaud, M et Clave, D, (2007),** FICHE TECHNIQUE : *Enterococcus faecalis* , Laboratoire de Bactériologie Hygiène CHU Toulouse Rangueil. (online) 21 06 2015 [http://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques/Enterococcus%20faecalis%20\(Edition%202007\).pdf](http://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques/Enterococcus%20faecalis%20(Edition%202007).pdf)
- Bachelot, C., Blaise, A., Corbel, T. et Le Guernic A., 2006.** Les huiles essentielles : extraction et comparaison. U.C.O Bretagne : 1-18
- Bakhti, D., (2011),** Contribution a l'évaluation de la charge pastorale dans parcours (stipa tenacissima, Mémoire d'ingénieur d'état en agropastoralisme Djelfa. Algérie
- Belhattab, R., Boudjouref, M., Barroso, J.G., LP., Figueirido, A.C., (2011),.** Essential oil composition from *Artemisia campestris* grow in Algeria”, Advances in environmental biology, V. 5 n°2, 429-432.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Benchelah, A-C, Hildegard, B., Marie, M et Colette, O., (2000), Fleurs du Sahara. Voyage ethnobotanique avec les Touaregs du Tassili. Préface de Théodore Monod. Paris: Ibis Press, 255 p.

Benjilali, B., (1986)., *Sur trois plantes aromatiques et médicinales du Maroc : armoises, thym et origans. Chimie de leurs huiles essentielles, chimiotaxinoie et propriétés antimicrobiennes*, thèse de doctorat ès-sciences agronomiques, Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, Maroc, 1986.

Ben Sassi, A., Harzallah-Skhiri, F., et Aouni M. (2007)., Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *J. Pharmaco. Bio.* **45 (5)**: 421–428.

Burt, S., (2004)., Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, **94**, 223-253

Boonchild, C. et Flegel, T. (1982)., In vitro antifungal activity of eugenol and vanillin against candida albicans and Cryptococcus Neoformans. *Canadian journal of Microbiology* **28**, 1235-1241

Brada, M., Bezzina, M., Marlier, M., Carlier, A., Lognay, G., (2007)., Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie», *Base* [En ligne], Numéro 1, Volume 11, 3-7 URL : <http://popups.ulg.ac.be/1780-4507/index.php?id=322>.

Bruneton, J., (1999) Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème édition, Ed. Tec & doc, p. 483-560., ISBN : 2-7430-0315-4.

Burits, M et Bucar, F. (2000), Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. *Phytotherapy Research*, **14**, 323-328.

Clave, D., (1998), FICHE TECHNIQUE : ENTEROCOCCUS FAECIUM, Bactériologie RANGUEIL Mai 1998 (online) <http://www.ftlpo.net/dossiers/2002/ecbu/enterocoq.htm>

Clave, D., (2011), FICHE TECHNIQUE : *Pseudomonas aeruginosa*, Laboratoire de Bactériologie Hygiène CHU de Toulouse - Institut Fédératif de Biologie, (online), [http://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques/Pseudomonas%20aeruginosa%20\(Edition%202011\).pdf](http://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques/Pseudomonas%20aeruginosa%20(Edition%202011).pdf)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Clave, D., (2013)**, FICHE TECHNIQUE : *Staphylococcus aureus*, Laboratoire de Bactériologie Hygiène CHU de Toulouse - Institut Fédératif de Biologie, (online) [http://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques/Staphylococcus%20aureus%20\(Edition%202013\).pdf](http://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques/Staphylococcus%20aureus%20(Edition%202013).pdf)
- Chalchat, J.C., Cabassu, P., Petrvic, S.D., Maksimovic, Z.A., Gorunovic, M.S., (2006)**, composition de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L, de la Serbie ». Journal of essential Oil Research, Chimie des huiles essentielles. Université Blaise Pascal de Clermont. Campus des cézeaux, 63177 Aubiere Cedex. France.
- Cavalli, J.-F., (2002)**, Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar", thèse de doctorat, Université de Corse Pascal Paoli. France.
- Chaumont, J.P.; Léger, D., (1989)**, *Plantes médicinales et Phytothérapie*, 2, 124-128.
- Charfi, M, 2012, journal officiel de la république Algérienne N68
- Chier, A., Juteau, F., Bessière, J.-M., Masoti, V., Viano, J., (2002)**, Impact de séchage sur la composition de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* var. *glutinosa* » société française de chimie, section PACA. 15^e journée de la chimie -18-19 avril 2002.
- 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).
- Dob, T., Dahmane, D., Berramdane, T et Chelghoum, C., (2005)**., Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia campestris* L. from Algeria *Pharmaceutical Biology* (Formerly *International Journal of Pharmacognosy*) Volume 43, Number 6 / January-February 2005 / Pages: 512 – 514.
- Dorman, J.A, et Deans S.G., (2000)**, Antimicrobial agents from plant, antibacterial activity of plant volatile oils, *Journal of Applied Microbiology*. Ed: Elsevier Masson, p308-316-1162
- DPTA., (2003)**, Monographie de la Wilaya de Djelfa. Direction de la Planification et de l'Aménagement du Territoire (DPTA). pp.6-22.
- Falmini, G., Tebano, M., Ciano, P. L., Ceccarini, L., Ricci, S. A., Longo, I., (2007)**, Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

L. and a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven, *Journal of Chromatography A*, 1143, 36-40.////

Gaspar, F., Santos, S., King, M.B.. (2000)., Extraction of Essential Oils and Cuticular Waxes with Compressed CO₂: Effect of Matrix Pretreatment, School of Chemical Engineering, University of Birmingham, Edgbaston, Birmingham, B15 2TT, U.K. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 39 (12), pp 4603–4608.

Edris, A. E., (2007)., Pharmaceutical and therapeutic Potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review, *Phytotherapy Research* Volume 21, Issue 4, pages 308–323.

Eulgayer, F.A., Goldes, J., et Mount J., (2001)., composition chimique et activites antioxidant, antimicrobienne et insecticides de l'huile essentielle *juniperus phoenicea*. *J.food prot*, n16, p125.

Ferchichi, L., Merza, j., Landreau, A., Marie Le Ray, A., Legseir, B., Richomme, P. (2006)., Occurrence of isocoumarinic and phenolic derivatives in *Artemisia campestris* L. *Biochemica Systematics and Ecology* 34, 829-832.

Franchomme, P., (1981)., L'aromatologie à visée anti-infectieuse. *Phyтомédecine*, 1-2, 25-47

Garnero, J., (1996)., Huiles essentielles, Techniques de l'Ingénieur, traité Constantes physico-chimiques, **K 345** – 15

Garnier, M et Delamarre, V., (2002)., Dictionnaire des termes de médecine, , 27 Ed. Maloine, Paris.

Gherib, M., (2009)., Etude des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielle *et des flavonoides d'Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* .L. ssp. *sahariensis*; *Artemisia campestris* L; *Herniaria mauritanica* Murb et *Warionia saharae* Benth. et Coll, Mémoire de Magister, Université Abou Bekr Belkaid —Tlemcen, Algérie

Ghorab, H., Laggoune, S., Kabouche, A., Semra, Z et Kabouche, Z., (2013)., Essential oil composition and antibacterial activity of *Artemisia campestris* L.from Khenchela (Algeria), *Der Pharmacia Lettre*, 2013, 5 (2):189-192

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Guezlane-Tebibel, N., Bouras, N., Mokrane, S., Benayad, T., Mathieu, F., (2012),** Aβatoxigenic strains of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from marketed peanuts (*Arachis hypogaea*) in Algiers (Algeria). *Ann Microbiol* 62:1-11.
- Guinnard J.L; (2000)** , *Biochimie végétale*. 2meed .Dunod .Paris., P257
- Guyen, C., (1963),** enquêtes avec des espèces d'*Artemisia* turc. 2. *Artemisia campestris*, *Folia Farmac*, n°5, 585-591.
- Hadjadj, F, (2012),** Caractérisation des populations et des huiles essentielles d'*Artemisia campestris* de la région de Tébessa » mémoire pour l'obtention du diplôme de master, Blida
- Hamdine, O., (2001),** Conservation du Guépard (*Acinonyx jubatus* Schreber, 1776) de la région de l'Ahaggar et du Tassili n'Adjjer en Algérie- Programme U.I.C.N. pour l'Afrique du Nord, Tamanrasset, 50 p
- Hussein A., (1990),** Antibacterial and antifungal activity of some Libyan aromatic plants..*planta medica*, p56 .
- Juteau, F.; Masoti, V.; Bessière, J.-M.; Viano, J., (2002),** Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris* var. *glutinosa*, *Biochemical Systematic and Ecology*, , 30, 1065-1070.
- John T et Kartesz., (2006)** : le biote du programme de l'Amérique du Nord.....la suite (edition , pays nombre de pagesetc.)
- Juteau,F., Jerkovfc, I., Masotti, V., Mitas, M., Mastelle, J., Besslerer, J.M., Viano, J.,** Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Artemisia absinthium* from Croatia and France, *Planta Med.*, 2003, 69, 158-161
- Hazen, K. C., et Howell, S. A. (2007),** *Candida, Cryptococcus*, and Other Yeasts of Medical Importance. In P. R. Murray (Ed.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 1762-1788). Washington D.C.: ASM Press
- Hitchcock, J.P., Shertt G.W., Gobble J.L., Haziatt V.E, (1971),** Effect of lactation feeding level of the sow on performance and subsequent reproduction *J.Anim Sci.*,33,30-34 .

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Khalilov, M.L., Paramonov, E.A., Khalilova, A.Z.; Odinkov, N.V.; Muldashev, A.A.; Baltaev, U.A.; Dzhemilev, (2001)**, Identification and Biological Activity of Volatile Organic Compounds Emitted by Plants and Insects. IV. Composition of Vapor Isolated from Certain Species of Artemisia Plants, U.M., *Chemistry of Natural Compounds*, 37(4), 399-342.
- Khebri, S., (2011)**, Etude chimique et biologique des huiles essentielles de trois *Artemisia* mémoire de magister, Batna, Algérie.
- Kundan, S., et Anupam, S., (2010)**., The Genus *Artemisia*: A Comprehensive Review. *J.Pharm. Biol.* pp:1-9.
- Koffi, M.K. , Kanko, K., Ramiarantsoa, H., Figueredo, G., Chalchat, J.-C., Bessière, J.-M., Koukoua, G., N'Guessan, Y. T., (2004)**., *C. R. Chimie*, 7, 997-1002.
- Kurita, N. et Koike, S., (1982)**., Synergistic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils components. *Agric. Biol. Chem.*, 46: 159-165
- Lamendin, H., Toscano, G., R equirand, P., (2004)**., Phytothérapie et aromathérapie buccodentaires, *EMC-Dentisterie*, 1, 179-192.
- Lardy, J., Haberkorne, V., Kinesither, (2007)**, L'aromathérapie et les huiles essentielles *Rev*, 61, 14-7.
- Lee, KH., Huang, ES., Piantadosi, C., Pagano, JS, Geissman, TA.**, Cytotoxicity of sesquiterpene lactones. *Cancer Res.* 1971 Nov;31(11):1649–1654.
- Lopes-Lutz D., Alviano D., Alviono C. S. and Kolodziejczyk P.P. (2008)**. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*. 69:1732-1738.
- Lucienne, D., (2007)**, Les Plantes Médicinales de l'Algérie, Berti. Alger. P
- 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
- Martini, M.-C., (2006)**., Cosmétologie et Dermatologie esthétiques, 1-6 [Article 50-120-E-10].

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Messal L., (2011)., Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est algérien (*artemisia herba alba*).thèse de doctorat. Université mentouri de Constantine, faculté des sciences exactes, département de chimie, Algérie, 104 p.

Mirjalili. M.H., Tabatabaei S.M.F., Hadian J., Nejad S.E.,and Sonboli. A., (2007). Phenological Variation of the essential oil of *Artemisia scoparia* from Iran. *J. Essent. Oil Res.* **19** : 326–329.

Montes-Belmont, R., Carvajal, M., (1998)., control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components *Journal of food Protection*, 61, 616-619.

Moreira, M.R., Ponc, e A.G., de Valle, C.E., Roura S.I. (2005): Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie-LWT*, 38: 565–570.

Mucciarelli, M., Caramiello, R., Maffei, M., (1995), Essential oils from some *Artemisia* species growing spontaneously in North-West Italy, *Flavour and Fragrance Journal.*, 10, 25-32.

Naili M.B., Alghazeer O.A., Saleh N.A., Al-Najjar A.Y. (2010). Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab. J. Chem.* 3: 79–84.

Ngassapa, O., Runyoro, D.K.B., Harvala, E., Chinou, I.B., (2003)., Composition and antimicrobial activity of essential oils of two populations of Tanzanian *Lippia javanica* (Burm.F.) Spreng (Verbenaceae). *Flavour and Fragrance Journal* 18, 221–224.

Ozenda. P., (1977), Flore du sahara, ED : du C. N. R. S, Paris, 622 pages

Quezel, P., Santa, S., (1963), Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales , , Vol. 2. Ed CNRS, Paris.

Pibiri, M. C. (2006) - Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse Doctorat, EPFL Lausanne, p.161.

Rhayour, K., (2002), Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*, thèse de doctorat, Université de Mohamed Ben Abdallah Fès.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Rouessac F. & A., (1992), “Analyse chimique, méthodes et techniques instrumentales modernes”. Ed. Masson, Paris, pp 5-19

Saihi, R., (2011)., étude phytochimique extraction des produits actif de la plante d'*Artemisia campestris* de la region de Djelfa, mémoire de magister, université d'Oran.Algérie

Saoudi M., Allagui M.S., Abdelmouleh A., Jamoussi K., and El Feki A. (2010). Protective effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* against puffer fish *Lagocephalus lagocephalus* extract-induced oxidative damage in rats. *Exp.Tox.Pathol.***62**: 601–605.

Sefi M., Fetoui H., MakniM., et Najiba Zeghal N., (2010)., Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *J. Food. Chem.Toxicol.***48**: 1986–1993.

Seltzer P., 1946 – Le climat de l'Algérie. IMPGA. Alger, 218 p.

Smallfield, B., (2001)., Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and eulinary purposes. Crop & Food Research. Number 45, 4p.

Svoboda K. P., Deans S. G. (1995)., Biological activities of essential oils from selected aromatic plants. *Acta E-forticuft***390**: 203-20.

Svoboda, K. P. Hampson, J.B.(1999)., Bioactivité of essential oils of selected. Temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatoiy and other related pharmacological activies. Plant biology department. SAC auchincruive. Ayr. Scotiand, UK. 56, KA 65 HW.

Wannissorn, T S., Jarikasem, B., Siritwangchai, S., (2005)., Thubthimthed, Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants *Fitoterapia* 2005 Vol 76 (233-236)

Zaika L., (1988)., spicer and herbs, their antibacterial activity and its determination. J . foodsaf edition Octaédre , Toulouse, p10 .

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Annexe 1 :

matériels et réactifs utilisés dans notre étude

Anse de platine

Agitateur Vortex

Ballon de 500 ml

Bain Marie

Bec bunsen

Boîte de pétrie

Becher

Barreau magnétique

Crayon marqueur

Disque de papier Watman 6mm

Ecouvillon

Ependorf

Etiquettes

Erlenmeyer

Gants

Hydro distillateur

Incubateur

Papier aluminium

Papier buvard

Papier filtre

Plaque chauffante

Pince

Pipette pasteur

Portoir

Règle double décimètre

Seringue

Tube à essai,

Réactifs :

Acide sulfurique 10%

Ammoniaque

Dragondorf

DPPH

Eau distillé

Eau physiologique à 0.9%

Ethanol

Formol

FeCl₃

HCl

Hydroxyde de sodium

Méthanol

Tween 20

Annexe 2 :

Milieux de cultures

Pour les cultures bactériennes deux milieux de cultures ont été utilisés :

- Milieu Muller Hinton :

Extrait de viande de bœuf.....	300g
Infusion de viande de bœuf.....	17.5g
Hydrolysate de caséine.....	1.5g
Gélose.....	10g

Ph=7.4

- Gélose sabouraud :

Peptone	10g
Glucose	20g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml

Ph=6.3

Annexe 3 :

les chromatogrammes

Abundance

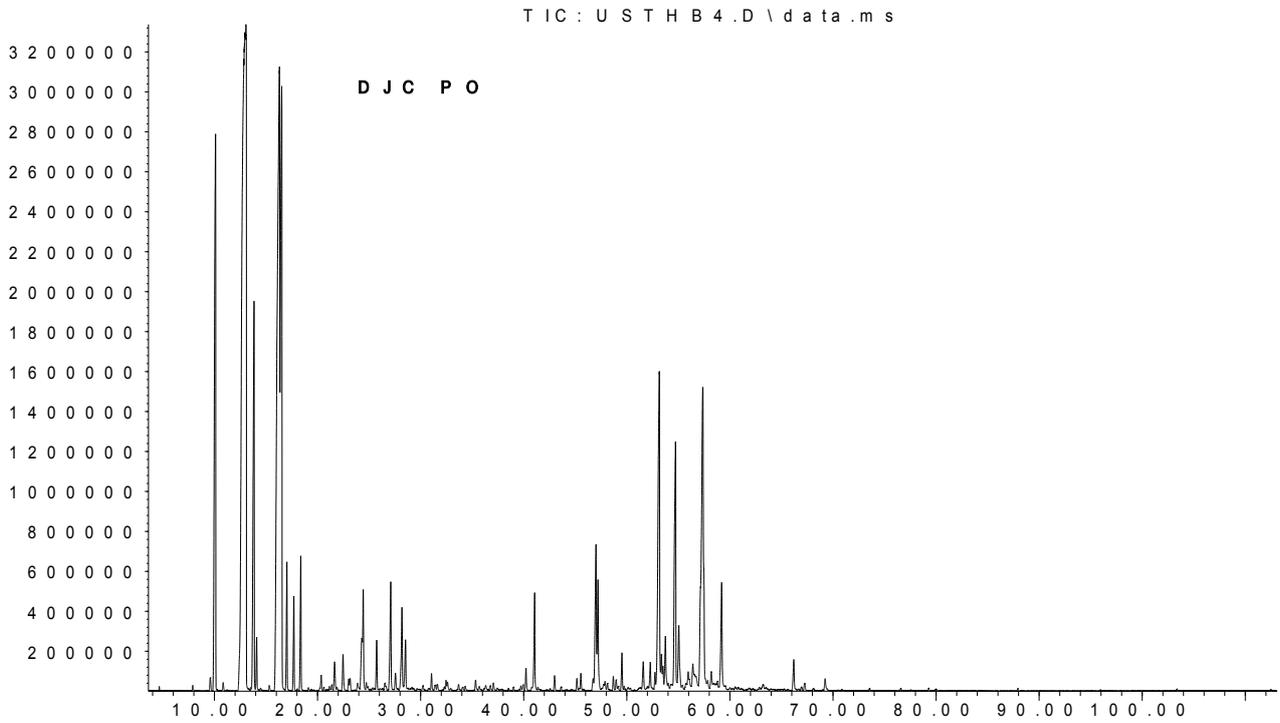
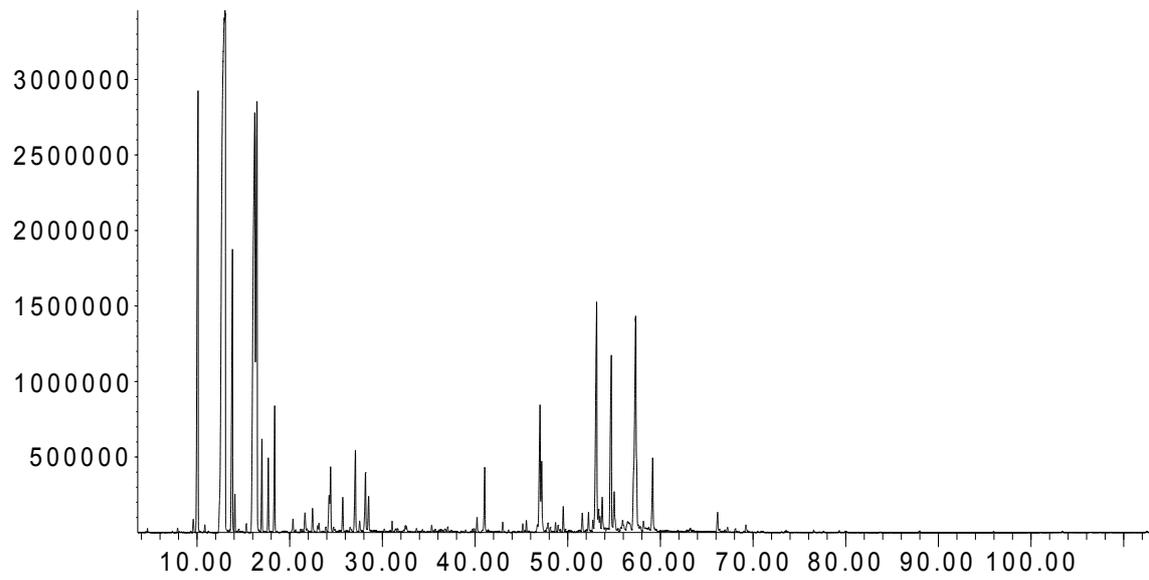


Figure 28 : chromatogramme de l'HE des échantillons de Djelfa

Abundance



Time-->

Figure 28: chromatogramme de l'HE des échantillons de Tamarassat

Annexe 4 :

Tableau8 : résultats du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH

	200ug/ml		400 ug/ml		600 ug/ml		800 ug/ml		1000 ug/ml	
	Do	%I	Do	%I	Do	%I	Do	%I	Do	%I
Tm	1.689	14.56 %	1.426	27.87%	1.256	36.46%	1.098	44.46%	0.886	55.18%
Dj	1.638	17.14%	1.418	28.27%	1.263	36.11%	1.113	43.70%	0.898	54.57%
Vit C	1.017	48.75%	1.044	47.19%	1.002	49.31%	0.879	55.53%	0.12	93.82%
T-	1.977									

Annexe : 5



Figure 15 : les suspensions microbiennes



Figure 16 : ensemencement



Figure 17 : Imbiber les disques avec l'HE

Matériel
et
méthodes

Introduction

Etude
Bibliographique

Résultats et discussions

*Références
bibliographique*

Annexes

Conclusion

Et

perspective

CHAPITRE I :

*(LES HUILES
ESSENTIELLES)*

CHAPITRE II :
(L'ARMOISE ROUGE)

PARTIE

EXPERIMENTALE :