



République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère De L'enseignement Supérieur

ET De La Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR -KHENCHELA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT: BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

**MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**FILIERE: Biologie**

**OPTION: Microbiologie appliquée**

**Thème**

**Etudes de l'activité antibactérienne  
des composés phénoliques et d'huile essentielle  
*d'Artemesia herba alba***

**Présenté par:**

- GHEDIR Nour El Houda
- BOUDJEMAA Loubna

**Encadré par:**

Mr. BOUSSAA A.

**Soutenu le: 28/06/2017**

**Jury de Soutenance:**

**Encadreur:** M. BOUSSAA A.

(MAA)

Univ . Abbès Laghrour Khenchela

**Président:** Dr .ZERAIB A.

(MCB)

Univ. Abbès Laghrour Khenchela

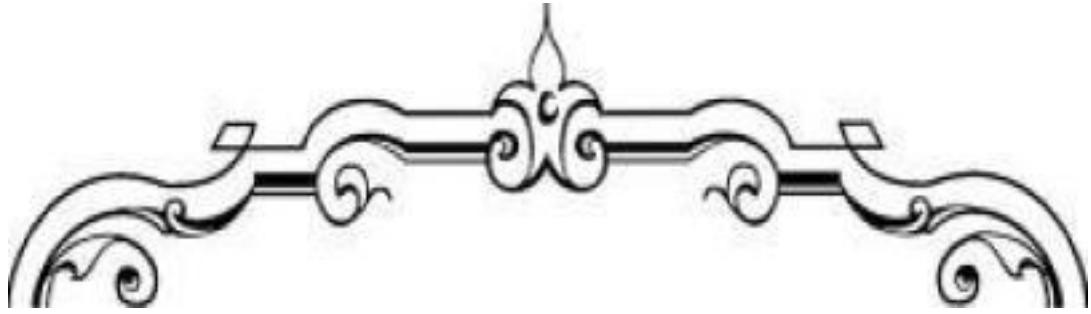
**Examineur:** M .ABAIDIA A.

(MAA)

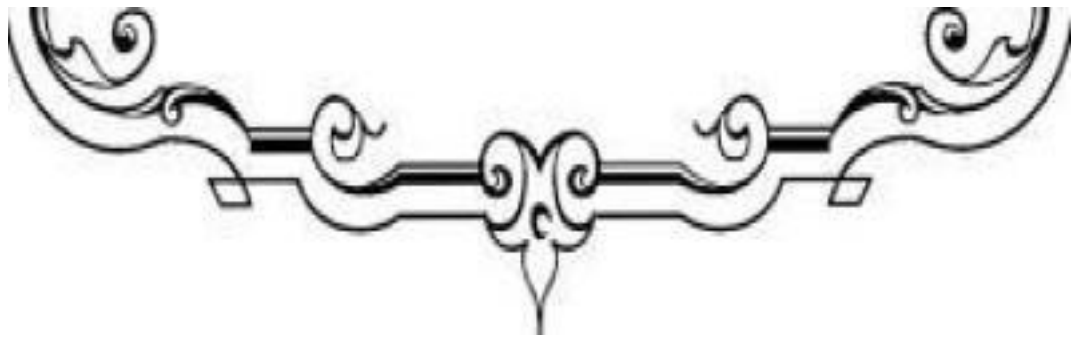
Univ. Abbès Laghrour Khenchela



Promotion : Juin2017



*Remerciements*



## *Remerciements*

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.*

*Ce mémoire n'aurait pas pu être réalisé sans la contribution de nombreuses personnes que nous tenons à remercier par ces quelques lignes*

*La première personne que nous tenons à remercier est notre promoteur **BOUSSAA ABD ELHALIM**, pour l'orientation, la confiance, la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité*

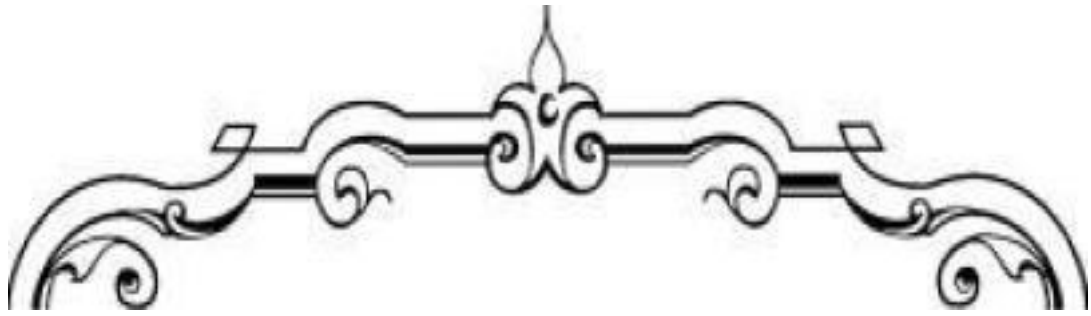
*Nous remercions aussi très vivement, **Dr. ZRAIB** vous nos faites le grand honneur de présider ce modeste travail. Nous vous prions de bien vouloir recevoir le témoignage de notre profond respect.*

*Un tout grand merci à, **M. AABAIDIA** Nous vous remercions de nos faire l'honneur de juger ce modeste travail, et Veuillez accepter nos chaleureux remerciements pour votre participation à ce jury*

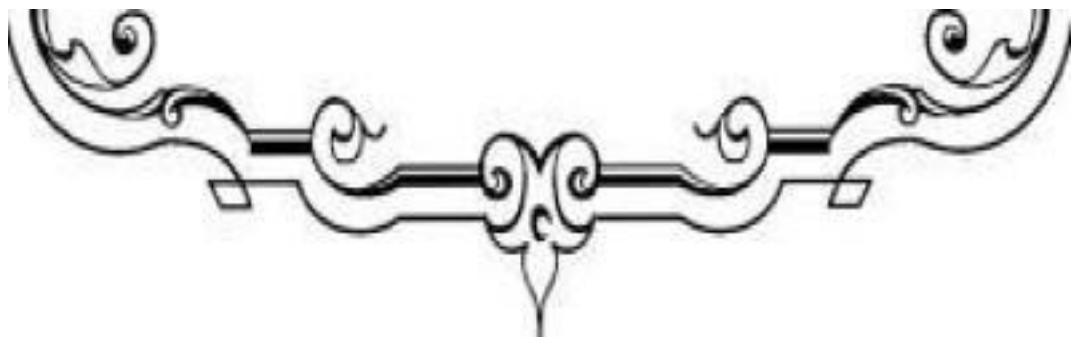
*Nous adressons notre profond remerciement aussi à **Ghedir K.** de son amitié sincère et de son aide pour réaliser ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements tout l'équipe du laboratoire de biologie **Abbas Laghrour Khenchela** surtout **SARA** et **SOUAAD** pour leurs aide et surtout leurs gentillesse*

*Merci à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre ont contribué à la réalisation de ce travail, et que nous ne pouvons citer individuellement.*



*Dédicaces*



## *Dédicaces*

«La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage »

### *Je dédie ce mémoire*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon père.*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon coeur, ma vie et mon bonheur ; **maman** que j'adore.*

*Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, Mes frères et soeurs qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité. ; **Abde-Eljalil, Howari, Ahmed ,Elkahina , Nawal, Ratiba, Hadil***

*A qui m'a donné toujours de l'espoir et à qui m'a poussé de faire mon mieux, à mon cher et tendre **mari BILAL** qui a su me soutenir et être toujours présent à mes cotés.*

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude, et frères de coeur,  
**Loubna ,Aïcha , Imen, Chahinaz , Doudou ,Safa ,Rabha, Somiya , Cherifa.***

*A tous ceux qui j'aime.*

*Nour El Houda*

## *Dédicaces*

*Avec mes sentiments les plus sincères et mes émotions les plus intenses, je dédie ce travail :*

*A Mes très chers parents*

*A ma mère tu as été toujours à mes cotés, merci pour tous les sacrifices.  
Que dieu le tout puissant te protège et te garde en bonne santé.*

*A mon père, tes conseils m'ont suivi et m'ont permis d'attendre le bout du chemin. Sois de moi aujourd'hui et vois ce travail mon amour sincère et ma gratitude profonde.*

*QUE DIEU LE PUISSANT.*

*A mes soeurs : Tefaha et Ahlem et leurs enfants Arij, Doudo  
,Nada ,roeya*

*Et une spéciale dédicace a mes frères : Adil et Hamza*

*A mes beaux-frères  
Kais et mourad*

*A ma petite sœur HIDAÏA qui je l'aime beaucoup dieu te garde ma belle*

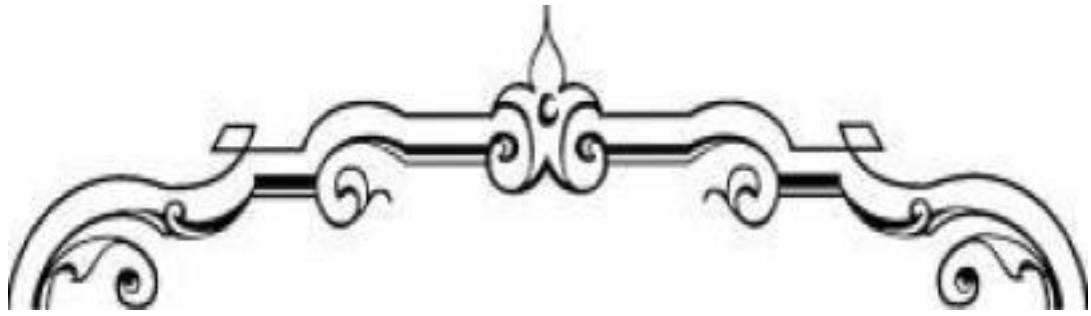
*A les plus belle chères sœurs chaïma et zineb pour les bons moments que nous avons partagés durant ces dernières années.*

*A celui qui m'ont toujours encourage et soutenu moralement mes très chers amis : chichou, Khaoula ,Nawel,Houba et Doudou*

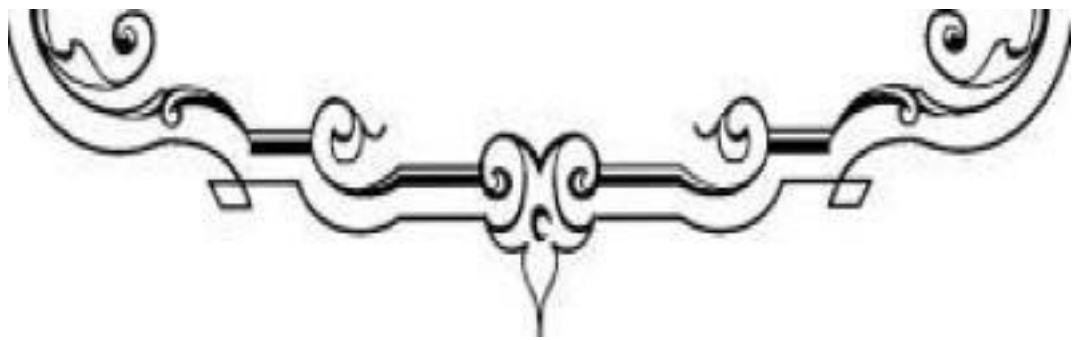
*Pour ma collègue et ma binôme qu'on a gardé  
des jolies souvenir ensemble durant notre  
travail : HOUDA*

*A tous les autres que je n'ai pas pu citer, mais qui se reconnaîtront, je ne les oublie pas...*

*LOUBNA*

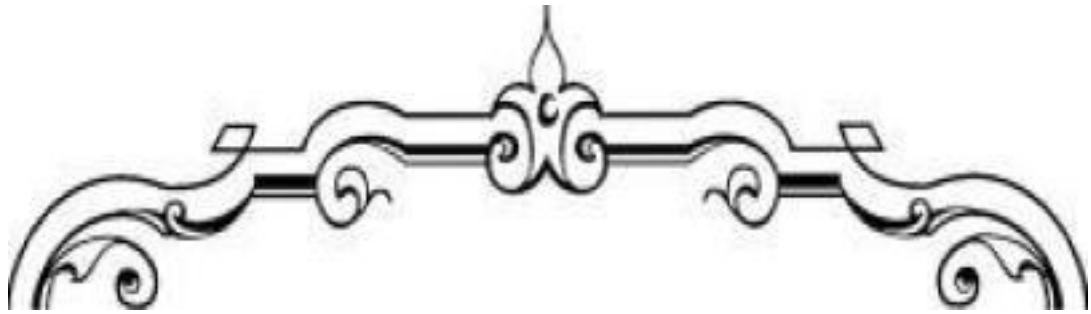


*Liste des abréviations*

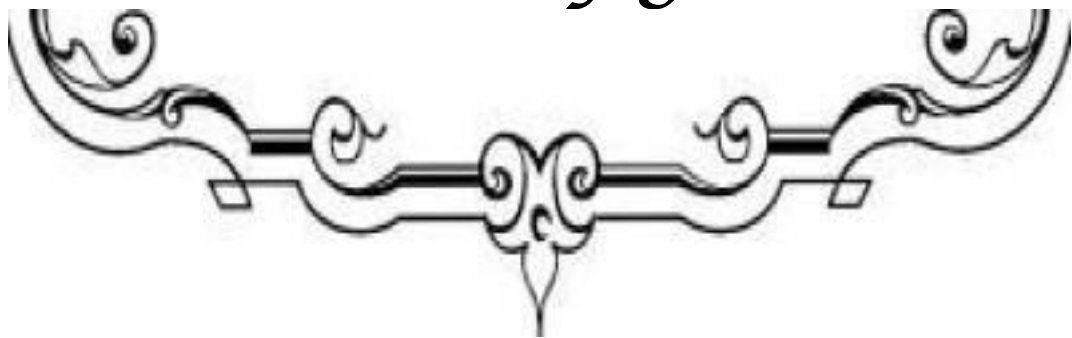


<b><i>A.baumannii</i></b> :	<i>Acinetobacter baumannii</i> .
<b>AFNOR</b> :	la norme de l'Association Française de Normalisation
<b>AG</b> :	Acide gallique
<b>AlCl<sub>3</sub></b> :	Chlorure d'aluminium
<b>ANOVA</b> :	Analysis of Variance
<b>ATCC</b> :	American Type Culture Collection
<b>C°</b> :	Degré Celsius
<b>CG</b> :	Chromatographie en phase gazeuse
<b>CG/SM</b> :	Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
<b>CMB</b> :	Concentration minimale bactéricide
<b>CMI</b> :	Concentration minimale inhibitrice
<b>CPs</b> :	Composés phénoliques
<b>D</b> :	diamètre des zones d'inhibition
<b>DMSO</b> :	Diméthyle Sulfoxyde
<b>E.AC</b> :	<i>Extrait acétonique</i>
<b><i>E. coli</i></b> :	<i>Escherichia Coli</i>
<b>E.D</b> :	Extrait obtenu par décoction
<b>E.Ec</b> :	Extrait avec l'eau chaude
<b>E.Et-OH</b> :	Extrait éthanolique
<b>E.MeOH</b> :	Extrait méthanolique
<b>GN</b> :	Gélose nutritive
<b>He</b> :	huile essentielle
<b>HPLC-MS</b> :	chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse
<b>HSD</b> :	Honestly significant Difference
<b><i>K.oxytoca</i></b> :	<i>Klebsiella oxytoca</i>
<b><i>L.monocytogenes</i></b> :	<i>Listeria monocytogenes</i>
<b>Mc Farland</b> :	Mack Farland
<b>mgEAG/gMS</b> :	milligramme équivalent acide gallique de la matière sèche
<b>mgEQ/g</b> :	milligramme équivalent de la quercétine / gramme.
<b>MH</b> :	Gélose Mueller Hinton
<b>Na<sub>2</sub> CO<sub>3</sub></b> :	Carbonat du sodium
<b>NaCl</b> :	Chlorure de sodium
<b>NaOH</b> :	hydroxyde de sodium

<b><i>P. mirabilis</i></b> :	<i>Proteus mirabilis</i>
<b><i>P.aeruginosa</i></b> :	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>pH</b> :	Potentiel d'hydrogène
<b><i>S.aureus</i></b> :	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>UFC</b> :	Unité Formant Colonie
<b>V/V</b> :	Volume par volume
<b>μl</b> :	Microlitre



*Liste des figures*



<b>Figure 01:</b> <i>Artemisia herba alba</i> au début de la saison de floraison et à la fin de la saison de floraison .....	04
<b>Figure 02:</b> partie de la steppe d' <i>artemisia herba alba</i> (Asso).....	05
<b>Figure 03 :</b> Distrubution géographiques d' <i>Artemisia herba alba</i> dans le monde.....	06
<b>Figure 04:</b> Structure Chimiques de quelques composés terpéniques.....	13
<b>Figure 05:</b> Structure Chimiques de quelques composés aromatiques.....	14
<b>Figure 06:</b> Montage d'extraction par Hydrodistillation.....	16
<b>Figure 07:</b> Montage d'extraction par hydrodiffusion .....	16
<b>Figure 08:</b> Technique d'extraction par solvants .....	17
<b>Figure 09:</b> Extraction assisté par micro-ondes.....	18
<b>Figure 10:</b> Structure de base des flavonoïdes .....	21
<b>Figure 11 :</b> la récolte de la plante <i>Aretimisia herba alba</i> .....	23
<b>Figure12 :</b> séchage de la plante à l'ombre.....	23
<b>Figure 13:</b> Broyat des feuilles d' <i>Artemisia herba alba</i> (Asso).....	23
<b>Figure14 :</b> Etapes d'extraction des composés phénoliques par macération.....	26
<b>Figure15 :</b> Etapes de filtration et évaporation des extraits.....	28
<b>Figure 16 :</b> Montage d'hydrodistillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i> .....	29
<b>Figure17 :</b> Dosage des poly phénols totaux des extraits obtenus d' <i>Artemisia herba alba</i> ...	31
<b>Figure 18 :</b> Test de l'activité antibactérienne d' <i>Artemisia herba alba</i> .....	33
<b>Figure 19 :</b> Détermination de la CMI.....	34
<b>Figure 20:</b> Détection des composés phénoliques par FeCl <sub>3</sub> .....	37

**Figure 21:** Les teneurs en composés phénoliques totaux des extraits obtenus d' *A. herb alba*.....41

**Figure 22:** Les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits obtenus d' *A. herba alba*.....43

**Figure 23:** L'effet inhibiteur d'extrait éthanolique d' *Aherba alba* vis-à-vis *A. listeria et B. E.coli*.....47

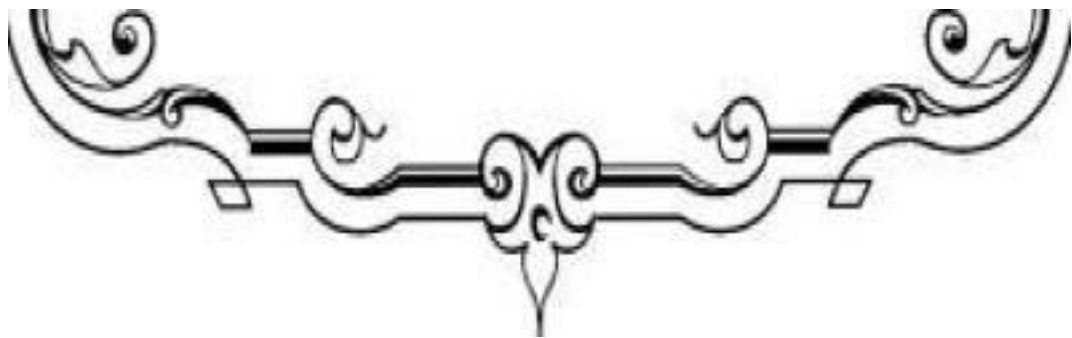
**Figure 24:** L'effet inhibiteur d'extrait acétonique d' *Aherba alba* vis-à-vis *S.aureus*.....49

**Figure 25 :** L'effet d'extrait obtenue par décoction d' *A.herba alba* vis-à-vis *P. mirabilis*...49

**Figure 26 :** Détermination du CMB d'huile d' *Aherba alba* vis-à-vis *E.coli*..... 51



*Liste des tableaux*



**Tableau I:** Classification de la plante *Artemisia herba-alba*.....07

**Tableau II :** Les flavonoïdes isolés à partir des feuilles de l'*Artemisia herba-alba*.....09

**Tableau III:**Les principales classes des composés phénoliques ..... 20

**Tableau IV:** Poids d'extrait sec et rendement correspondant des trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et d'huile à partir de la plante *Artemisia herba alba*.....36

**Tableau V :** Résultats de Tests de détection des composés phénoliques et des flavonoïdes dans la matière végétale d'*A.herba alba* (Asso).....39

**Tableau VI :** Diamètres des zones d'inhibition et les CMI de la croissance bactérienne induite par la plante *A.herba alba*.....45

**Tableau VII :** Résultat de la détermination des CMBS.....46

# Sommaire

## Remerciement

## Dédicace

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures.....	III
Liste des tableaux.....	V
Introduction.....	1

## Synthèse Bibliographique.

### Chapitre I : Description de la plante

I.1.Généralité sur la famille des <i>Asteraceae</i> .....	3
I.2.Artemisia <i>herba alba</i> Asso.....	3
I.2.1.Présentation de la plante.....	3
I.2.2.Appellation locales.....	4
I.2.3.Description botanique de la plante.....	4
I.2.4. Caractéristiques morphologiques de la plante.....	4
I.2.5.distribution géographique de la plante.....	5
I.2.6. Systématique de la plante.....	6
I.2.7. Composition chimique d' <i>Artemisia herba alba</i> .....	7
I.3. Utilisation et propriétés thérapeutiques de la plante.....	9
I.3.1. Capacité antioxydante.....	9
I.3.2. Activité antifongique.....	10
I.3.3. Activité antibactérienne.....	10

### Chapitre II : Les huiles essentielles

II.1.Introduction.....	12
II.2.Définition .....	12
II.3. Propriété physico-chimique.....	12
II.4. Composition des huiles essentielles.....	13
II. 4.1. Les composés terpéniques.....	13
II.4.1.1.Monoterpènes .....	14
II.4.1.2.Sesquiterpènes .....	14

II.4.2. Les composés aromatiques.....	14
II.4.3.Les composés d'origine diverses.....	14
II.5.Techniques d'extraction des huiles essentielles.....	15
II.5.1.Extraction par hydro-distillation .....	15
II.5.2.L'hydrodiffusion.....	16
II.5.3.L'expression à froid.....	17
II.5.4.Extraction par solvants.....	17
II.5.5.Extraction par micro-ondes .....	18

### **Chapitre III : les composés phénoliques**

III .1.Définition.....	19
III.2.La distribution des composés phénoliques.....	19
III.3.Classification des composées phénoliques .....	20
III.3.1.Les flavonoïdes.....	21
III.3.2.Les tanins .....	21
III.3.3.Les saponines.....	22
III.4. Rôle et intérêt des composés phénoliques.....	22
III.4.1.Chez les humains.....	22
III.4.2.Chez les végétaux .....	22

### **Etude Expérimentale**

#### **Chapitre I: Matériel et méthodes**

I. 1.Matériel.....	23
I .1.1.Matériel végétal.....	23
I .1.2.Matériel du test de l'activité antibactérienne.....	24
I .1.2.1.souches bactérienne testées.....	24
I .1.3.Matériel de laboratoire.....	24
I .1.3.1.les milieux de cultures.....	24
I .1.3.2. Produits chimiques.....	25
I .1.3.3.L'appareillage utilisé.....	25
I .2. Méthodes.....	25
I .2.1.Extraction des composés phénoliques.....	25
I .2.1.1. Extraction assiste par macération .....	25
I .2.1.2.Extraction avec de l'eau chaude.....	26
I .2.1.3.Extraction par décoction.....	27

I .2.2.Elimination de lipides.....	27
I .2.3.Filtration et évaporation.....	27
I .3.Extraction des huiles essentielles.....	28
I .4.Détermination du rendement.....	29
I .5.Analyses qualitatives des extraits.....	29
I .5 .1.Détection des composés phénoliques (Réaction au FeCl 3).....	29
I .5.2.Détection des flavonoïdes (Réaction à la cyanidine).....	30
I .6.Analyses quantitative.....	30
I .6.1.Dosage des phénols totaux.....	30
I .6.2.Dosage des flavonoïdes.....	31
I .7.Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits.....	31
I .7.1.Repiquage des espèces bactériennes.....	32
I .7.2.Préparation de l'inoculum.....	32
I .7.3.Préparation des disques.....	32
I .7.4.Préparation des milieux de culture.....	32
I .7.5.Ensemencement et dépôt des disques.....	32
I .7.6.Lecture des résultats.....	33
I .8.Méthode des micro-dilutions en milieu liquide.....	33
I .9.Concentration minimale bactéricide (CMB) .....	34
I.10. Analyse statistique.....	34

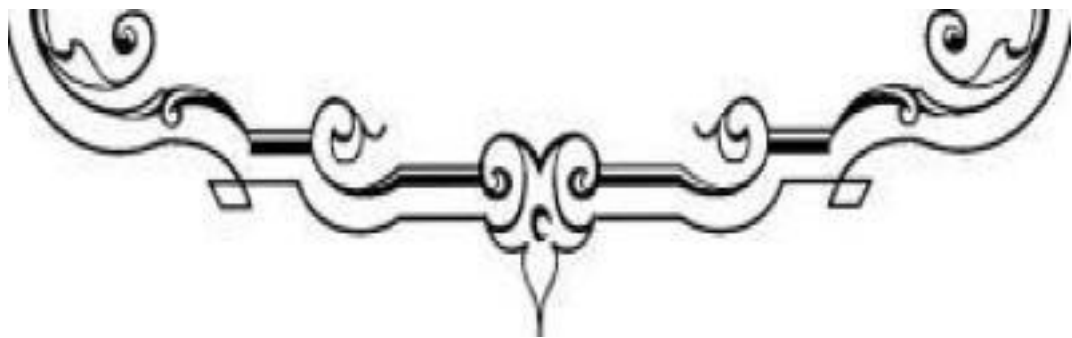
## **Chapitre II. Résultats et discussions**

II .1.Détermination du rendement.....	36
II .1.1.Rendement des extraits .....	36
II 1.2.Le rendement d'extraction d'huile essentiel.....	38
II .2.Tests de détection des composés phénoliques et flavonoïdes.....	38
II.3. Dosage des composés phénoliques et flavonoïdes totaux.....	40
II.3.1. Dosage des composés phénoliques totaux.....	40
II .3.2.Dosage des flavonoïdes .....	42
II .4.L'étude de l'activité antibactérienne.....	44
II .4.1. Activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique.....	47
II .4.2. Activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique.....	47
II .4.3. Activité antimicrobienne de l'extrait acétonique.....	48
II .4.4. Activité antimicrobienne de l'extrait obtenue par décoction .....	49

<b>II .4.5.</b> Activité antimicrobienne d'extrait avec l'eau chaude.....	<b>50</b>
<b>II. 4.6.</b> Activité antibactérienne d'huile essentielle <i>d'A.herba alba</i> .....	<b>50</b>
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	<b>54</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>57</b>
<b>Annexes</b> .....	<b>VI</b>
<b>Résumé</b>	
<b>Abstract</b>	



# *Introduction*



Depuis la nuit des temps, les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition contre les maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria (**Iserin, 2001**). Les connaissances empiriques accumulées ont permis aux différentes civilisations de prendre les plantes comme source essentielle de médicaments. Jusqu'au début du XXème siècle, presque tous les médicaments étaient d'origine végétale (**Guignard, 1994**).

Ni le hasard, ni la religion et ni la superstition qui a guidé la médecine traditionnelle à employer une plante plutôt qu'une autre. Certainement, c'est l'expérience où les gents apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes (**Iserin, 2001**).

A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes (**Iserin, 2001**). Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours aux propriétés curatives des plantes et que les traitements à base de ces dernières reviennent au premier lieu car l'efficacité des médicaments décroît vue leurs effets secondaires sur la santé publique (**Hota,2007**).

*L'Artemisia herba alba* (Asso) est une plante herbacée vivace. Elle appartient à l'un des genres les plus répons de la famille des *Asteraceae*. Elle a une valeur thérapeutique très importante en raison des métabolites secondaires qu'elle renferme, notamment les huiles essentielles, les polyphénols et les flavonoïdes (**Telli et al.,2010**)

Cette plante est très utilisée, aussi bien pour ses vertus médicinales que cosmétiques. Elle est utilisée dans la médecine traditionnelle ainsi que dans la médecine moderne pour traiter plusieurs maladies dont les infections urinaires, le diabète, l'hypertension artérielle, les troubles gastrique tels que la diarrhée et les douleurs abdominales, la cicatrisation des plaies externes, la bronchite, l'abcès et comme vermifuge (**Djebaili et al., 1989**).

En Algérie, les steppes d'armoise (*Artemisia herba-alba*) recouvrent 3 millions d'hectares et sont situées dans les étages arides et semi-arides frais, avec des précipitations variant de 100 à 300 mm (**Djebaili et al., 1989**).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des antibactériens naturels en évaluant les propriétés antibactériens des polyphénols et d'huile essentielle de la plante *Artemesia herba alba* .

Dans la première partie et en premier chapitre de ce manuscrit, nous avons commencé par une étude bibliographique sur la plante étudiée ; la description (les caractères botaniques et la systématique), la Composition chimique et l'intérêt biologique.

Le deuxième chapitre portera sur l'étude des huiles essentielles, ceci est suivi par un rappel sur leur composition chimique et quelques méthodes les plus utilisées pour l'extraction d'huile.

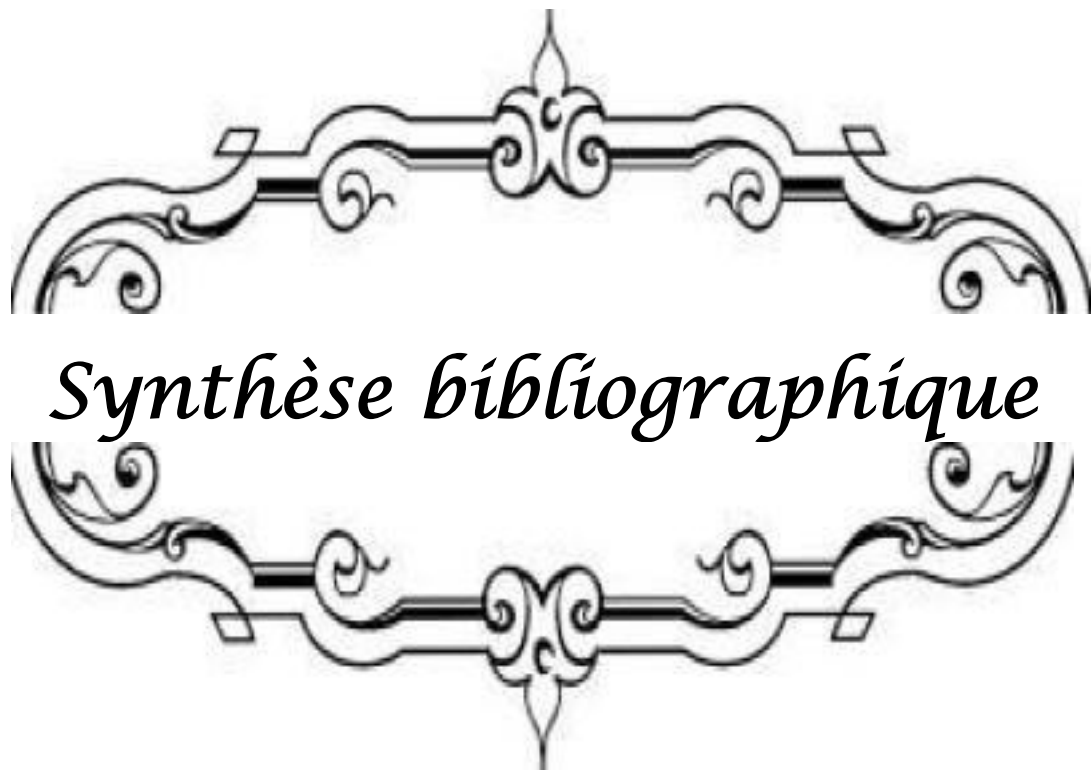
Dans le troisième chapitre, nous rappelons des composés phénoliques, leur biosynthèse et quelques activités biologiques attribués à différentes familles de ces composés.

Dans la deuxième partie, nous avons envisagé la partie expérimentale qui se déroule en trois axes

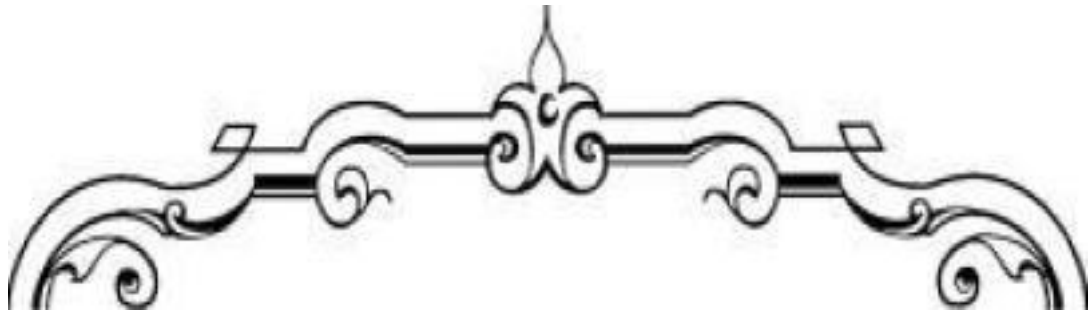
Dans le premier axe, nous avons réalisé l'extraction, la détection et la détermination des teneurs en composés phénoliques (phénols totaux et flavonoïdes).

Dans le deuxième axe, nous nous sommes intéressés à évaluer le pouvoir antibactérienne des extraits et d'huile essentielle de la plante suivi par la détermination de la CMI et CMB.

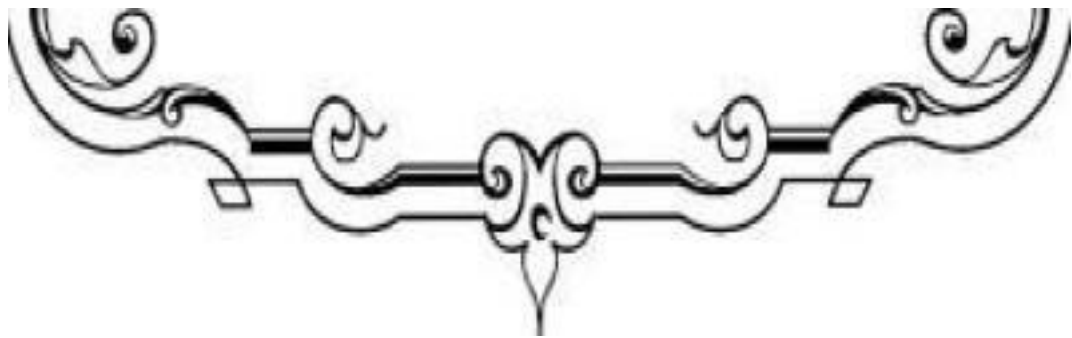
Enfin, dans la troisième partie, nous avons rapporté les résultats obtenus entre autre les rendements, les teneurs des composés phénoliques et l'étude de l'activité antibactérienne des extraits.



*Synthèse bibliographique*



*Chapitre I*  
*Artemisia herba alba*



## I.1. Généralité sur la famille des Asteracea

La famille des *Asteraceae* représente l'une des taxons les plus importants du règne végétale. Elles sont des plantes angiospermes dicotylédones appartenant aux sous classes des gamopétales ou astérides (*Asteridae*) et à l'ordre des *Asterales*. La famille des *Asteraceae* avec près de 1500 genres et pas loin de 26000 espèces. Elle est présente dans toutes les régions du monde principalement dans les régions tempérées et à l'exception des pôles. Les astéracées peuvent être annuelles, bisannuelles ou vivaces. On y trouve surtout des plantes vivaces et à feuilles alternes. Dans la grande majorité des cas, les astéracées sont des plantes herbacées mais elles sont également représentées par des arbres, des arbustes ou des lianes, certaines sont également succulentes (**Barkely et al., 2006**).

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

## I.2. *Artemisia herba alba* Asso

### I.2.1. Présentation de la plante

*Artemisia herba alba* Asso (Armoise blanche) est une espèce de la famille des *Asteraceae* de l'Afrique du Nord (**Debuigne, 1984**). Elle est très répandue sur les hauts plateaux dans l'étage bioclimatique semi-aride frais. (**Battandier, 1900 ; Djebaili, 1984 ; Ozenda, 1983 ; Quezel et Santa, 1962-1963**).

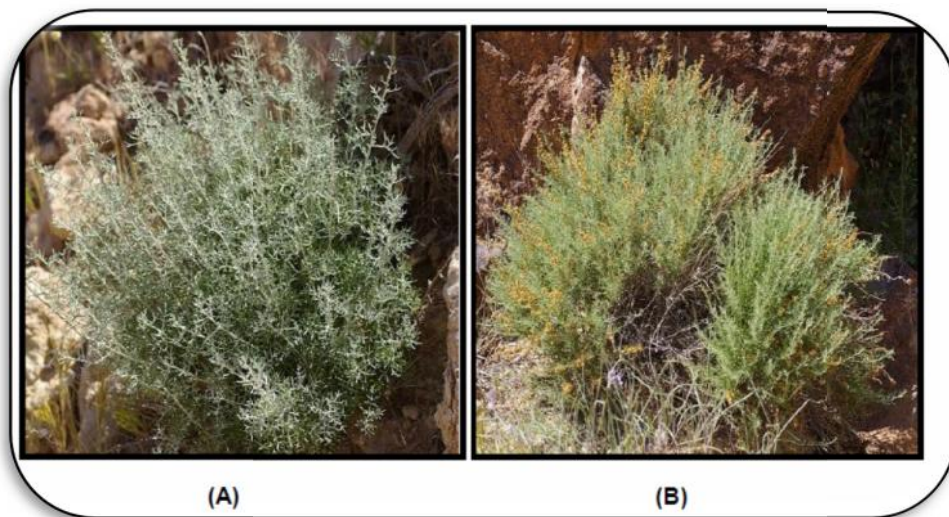
Dans les steppes, principales zones de parcours de l'élevage ovin nomade, *A. herba alba* alterne avec des formations à Alfa et occupe environ trois millions d'hectares et représente une importante ressource fourragère (**Aidoud, 1983 ; Battandier, 1900 ; Bourbouze et Donadieu, 1987 ; Djebaili, 1987**). D'après des éleveurs, cette espèce est souvent préconisée dans l'alimentation des ovins comme vermifuge. Elle est aussi utilisée dans la médecine traditionnelle pour faciliter la digestion, calmer les douleurs abdominales et celles du foie, dans le traitement du diabète et comme vermifuge. (**Baba Aissa, 2000 ; Belakhdar, 1997**).

### I.2.2. Appellation locales

D'autres noms vernaculaires lui sont attribués comme : Alala, Chih, Abelbel, Toumgalle, Zen, lfsi, et Odessir (Ozenda, 1985)

### I.2.3. Description botanique de la plante

L'armoise blanche est une plante des climats arides et semi-arides qui pousse dans les hautes plaines steppiques, les déserts du Moyen-Orient et de l'Afrique du Nord. C'est une plante herbacée à tiges ligneuses, ramifiées et tomenteuses de 30 à 50 cm de long qui caractérisé par une odeur de thymol. Les feuilles sont courtes, sessiles, pubescentes et argentées. Les capitules sont groupés en panicules de petite taille de 1,5 à 3 mm allongés et étroits contenant de 3 à 6 des fleurs jaunâtres. Les bractées externes de l'involucre sont orbiculaires et pubescentes (figure 01) (Nawwar *et al.*, 1989).



**Figure 01:** *Artemisia herba alba*: (A) la plante au début de la saison de floraison,

(B) la plante à la fin de la saison de floraison (Messai, 2011)

### I.2.4. Caractéristiques morphologiques de la plante

L'*A. herba-alba* est une plante ligneuse basse et toujours verte, ces caractéristiques morphologiques et physiologiques font d'elle une espèce bien adaptée aux conditions climatiques arides. Le dimorphisme saisonnier de son feuillage lui permet de réduire la surface transpirante et d'éviter ainsi les pertes d'eau. Grâce à son système racinaire très dense à la surface, l'*A. herba-alba* est capable de valoriser toute humidité superficielle occasionnée

par des petites pluies. Cette espèce est également capable d'exploiter l'humidité du sol jusqu'à 50 cm de profondeur et peut profiter des fractures de la croûte, pour atteindre les poches d'humidité, notamment dans les sols à encroûtement calcaire, la tige principale se divise en « branches » physiologiquement indépendantes les unes des autres et susceptibles de mourir sans entraîner la mort de la plante entière. La floraison de cette espèce débute le plus souvent en juin mais les fleurs se développent essentiellement à la fin de l'été. Lors des années pluvieuses et dans les sols qui lui conviennent, l'*A. herba-alba* présente une forte production de graines et un pouvoir de régénération élevé (Matteucci, 2008).

La **figure 02** montre une partie de la steppe d'*A. herba alba* (Asso) .



**Figure 02:** *Artemisia herba alba* (Asso)  
(Mohamed *et al.*, 2010).

### I.2.5. Distribution géographique de la plante

*L'A. herba alba* est une plante spontanée largement répandue depuis les îles Canaries et le Sud-Est de l'Espagne jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan) et à travers l'Afrique du Nord, l'Arabie et le Proche-Orient (désert du Negev, et désert du Sinaï, Egypte) (**figure 03**) (Messai, 2011).

En Afrique du nord, cette espèce couvre d'immenses territoires, elle pousse dans les zones limitrophes de la bande pré-désertique. C'est une espèce très répandue dans le sud du bassin méditerranéen, où elle affectionne les climats sec et chaud (**Benjilali et Richard, 1980**).

En Algérie, *A. herba alba* Asso est très présente dans les hauts plateaux, les zones steppiques et au Sahara centrale, dont le taux de recouvrement est estimé entre 10 et 60 %. On la trouve également dans des zones proches du littoral .Elle constitue un moyen de lutte contre l'érosion et la désertification (**Bendahou 2007 ; Ayad et al., 2014**).



**Figure 03 :** Distrubution géographiques d'*Artemisia herba alba* dans le monde (**Mohamed et al., 2010**).

### I.2.6. Systématique de la plante

La classification classique de l'espèce *A. herba-alba* est représentée dans le tableau 01.

**Tableau I:** Classification de la plante *Artemisia herba-alba*.  
(Vallès et Mc Arthur, 2001 ; Mohamed *et al.*, 2010)

<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Sous-règne</b>	<i>Tracheobionta</i>
<b>Superdivision</b>	<i>Spermatophyta</i>
<b>Division</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Asteridae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Asterales</i>
<b>Famille</b>	<i>Asteraceae</i>
<b>Sous-famille</b>	<i>Asteroideae</i>
<b>la tribu</b>	<i>Anthemideae</i>
<b>Sous-tribu</b>	<i>Artemisiinae</i>
<b>Genre</b>	<i>Artemisia L.</i>
<b>sous-genre</b>	<i>Seriphidium</i>
<b>Espèces</b>	<i>Artemisia herba-alba Asso</i>

### I.2.7. Composition chimique d'*Artemisia herba alba*

L'*Artemisia* est l'un des genres les plus grands et les plus répons dans la tribu *Anthemideae* de la famille des *Asteraceae*. Elle constitue une source très importante pour le cheptel. La biomasse de cette plante steppique constitue un aliment de substitution pour l'élevage du bétail en période de disette. (Mohamed *et al.*, 2010).

La composition chimique de cette plante est complètement dépourvue d'alcaloïdes, elle est riche en composés polyphénoliques, qui sont les meilleurs antioxydants, flavonoïdes et tanins. Elle contient aussi des anthocyanes, des acides phénoliques et d'autres substances. Les études phytochimiques ont montrés que l'ivette contient aussi des ecdystéroïdes, des diterpénoides, des iridoïdes et des saponosides acides (Boudjelal,2013G ;seryra, 2011 ).

Des travaux précédents au Maroc qui montre l'armoise herbe blanche constitue un fourrage particulièrement intéressant. En effet, la plante présente un taux de cellulose beaucoup moins élevé que ne laisse préjuger son aspect (17 à 33 %). La matière sèche (MS) apporte entre 6 et 11 % de matière protéique brute dont 72 % est constituée d'acides aminés. Le taux de  $\beta$ -carotène varie entre 1,3 et 7 mg/kg selon les saisons (Ayed *et al.*, 2014).

La valeur énergétique de l'armoise herbe blanche, très faible en hiver (0,2 à 0,4 UF/kg MS), augmente rapidement au printemps (0,92 UF/kg MS) pour diminuer de nouveau en été (0,6 UF/kg MS). En automne, les pluies de septembre provoquent une nouvelle période de croissance et la valeur énergétique augmente de nouveau (0,8 UF/kg MS) (Aidoud, 1989). Les plantes de la famille des *Asteraceae*, à laquelle appartient l'armoise herbe blanche, ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques par intérêt économique surtout pour leurs huiles essentielles. Les molécules identifiées sont les sesquiterpènes lactones, les coumarines et les hydrocarbures acétyléniques (Da Silvaja, 2004).

Historiquement, l'armoise a été un genre productif dans la recherche de nouveaux composés biologiquement actifs. Les investigations phytochimiques ont montré que ce genre est riche en sesquiterpène, monoterpène, flavonoïdes, et coumarines (Khiredine, 2013). Les principaux mono terpènes identifiés dans le « Chih » sont: Le thuyone, le 1,8-cinéol et le thymol. Le thuyone est certainement l'un des constituants terpéniques les plus bioactifs de l'armoise. Les principaux flavonoïdes isolés à partir de l'armoise herbe blanche sont: l'hispiduline, la cirsimaritrine. Des flavones glycosidiques comme la 3- rutinoside, quercitine et l'isovitexine sont aussi mis en évidence (tableau II) (Aouadhi, 2010).

**Tableau II :** Les flavonoïdes isolés à partir des feuilles de l'*Artemisia herba-alba* (Saleh *et al.*, 1987)

Composé	Quantité relative
Quercetin 3-glucoside	+
Quercetin 3-rutinoside	+
Patuletin 3-glucoside	+
Patuletin 3-rutinoside	+++
Isovitexin	+
Schaftoside	+
Isoschaftoside	+
apigenin	+
hispidulin	+
cirsimaritin	++
luteolin	+
jaceosidin	+
cirsilineol	++

### I.3. Utilisations et propriétés thérapeutiques de la plante

En générale, le genre *Artemisia* a été très utilisé dans la médecine traditionnelle ainsi que dans la médecine moderne pour traiter plusieurs maladies telles que les infections urinaires, le diabète, l'hypertension artérielle, les troubles gastriques tels que la diarrhée et les douleurs abdominales, la cicatrisation des plaies externes, la bronchite, l'abcès et comme vermifuge (Gharabi *et al.*, 2008 ; Bouldjadj, 2009 ; Mohamed *et al.*, 2010 ; Seddik, 2010; Bencheqroun *et al.*, 2012).

#### I.3.1. Capacité antioxydante

Beaucoup de plantes médicinales contiennent de grandes quantités de composés antioxydants qui pourraient être isolés et utilisés comme anti-oxydants pour la prévention et le traitement des troubles liés aux radicaux libres. Dans une étude réalisée par Djeridane *et al.* (2006) dont l'objectif était l'évaluation par un procédé chimique de la capacité antioxydante des composés phénoliques dans certaines plantes médicinales algériennes, y compris *A. herba-alba*, une forte activité antioxydante et une teneur en composés phénoliques plus importante

que les plantes alimentaires courantes ont été enregistrées. Il a été également noté dans cette étude que ces plantes algériens sont de forts piègeurs de radicaux libres et peuvent être considérés comme une bonne source d'antioxydants naturels à des fins médicinales et commerciale (Djeridane *et al.*, 2006).

### I.3.2. Activité antifongique

En 1993 Tantaoui *et al.*, rapportent que l'huile essentielle d'*A. herba alba* inhibe la reproduction asexuée du *Aspergillus niger*, *Penicillium italicum*, et *Zygorhynchus*.

L'activité antifongique de l'Armoise blanche a été trouvée à être associée à deux grands composés volatiles isolés à partir des feuilles fraîches de la plante, le carvone et le pipéritone, ces composés ont été isolés et identifiés par GC / MS, GC / IR et spectroscopie RMN. L'activité antifongique a été mesurée contre *Penicillium citrinum* (ATCC 10499) et *rouxii Mucora* (ATCC 24905). (Saleh *et Chittka*, 2006). L'extrait aqueux d'*A. herba-alba* possédait une faible activité antibactérienne et pratiquement peu ou pas d'activité inhibitrice contre la levure *Saccharomyces cerevisiae* (Marrif *et al.*, 1995).

### I.3.3. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'Armoise blanche recueillie près de Sde Boker-(désert du Néguev), a été étudiée. Seul l'huile essentielle est révélée être active contre certaines bactéries Gram-positives (*Streptococcus hemolyticus* et *Staphylococcus aureus*) et les bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Shigella sonnei* et *Salmonella typhosa*,). L'huile essentielle a été fractionnée par chromatographie sur colonne, et ces fractions ont été testées pour leur activité antibactérienne. Le composant principal de la fraction la plus active a été l'alcool santoline (Mohamed *et al.*, 2010).

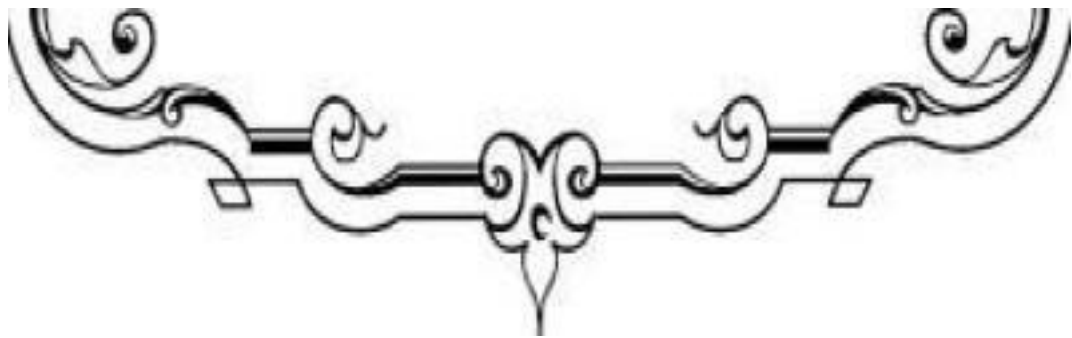
Toutes les huiles légères ont une activité antibactérienne dans la marge de concentration de 2.1 mg / ml. Les huiles étaient actives contre les bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhosa*, *Serratia marcescens* et *Pseudomonas aeruginosa*) et contre les bactéries Gram positives (*Bacillus subtilis*, *Streptococcus hemolyticus* et *Staphylococcus aureus*). L'effet antibactérien peut expliquer l'utilisation extensive de *A. herba-alba* la médecine populaire (Sherif *et al.*, 1987). En outre, l'activité antibactérienne *in vitro* de l'huile essentielle d'*A. herba-alba* a été évalué sur les microorganismes, l'huile a montré une action très forte contre *Staphylococcus*, l'inhibition des

huiles était faible par rapport au entérobactéries (**Charchari et al., 1996**). L'activité antibactérienne d'*A. herba-alba* testée contre *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli* n'ont pas montré une activité significative contre les deux espèces (**Hifnawy et al., 2001**).

Dans une autre étude réalisée sur les mycoplasmes qui sont un des plus petits micro-organismes vivant en liberté et qui contrairement à d'autres bactéries n'ont pas de paroi cellulaire, par conséquent, ils ne sont pas sensibles à la pénicilline et d'autres antibiotiques qui agissent sur la structure, l'Armoise blanche, était parmi les six extraits méthanoliques des plantes médicinales traditionnelles jordaniennes qui étaient testés sur 32 isolats d'espèces de *Mycoplasma* et dont l'extrait était le plus efficace *in vitro* contre toutes les espèces de *Mycoplasmes* avec des valeurs MIC de 3,125 à 6,25. mg / ml. Par conséquent, cette plante peut être considérée comme une solution de rechange facilement disponibles pour des médicaments tels que la fluoroquinolones, la tétracyclines, les macrolides et les chloramphénicols qui sont actuellement utilisés dans le traitement de *Mycoplasmes* (**Al Momani et al., 2007**)



*Chapitre II*  
*Les huiles essentielles*



## II.1.Introduction

Parmi les espèces végétales (800 000 à 1 500 000 selon les botanistes) 10 % seulement sont dites « aromatiques », c'est-à-dire qu'elles synthétisent et sécrètent des infimes quantités d'essence aromatique par l'intermédiaire de poils, poches ou canaux sécréteurs. Les genres capables d'élaborer les constituants des huiles essentielles sont répartis dans un nombre de familles limité ; *Myrtacée*, *Lauracée*, *Rutacée*, *Lamiacée*, *Asteraceae*, *Cupressacée*, *Poacée*, *Zingiberacée* et *Piperacée* (Bruneton, 1999).

## II.2.Définition des huiles essentielles

La définition retenue des huiles essentielles, très proche de celle de la norme ISO 9235, est celle adoptée par la commission de la pharmacopée européenne : « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage (Afnor, 1986 )

## II.3. Propriété physico-chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont généralement liquides à la température ambiante, d'odeurs aromatiques. Leur densité est plus souvent inférieure à celle de l'eau. Elles ont un indice de réfraction élevé et, le plus souvent, sont doués d'un pouvoir rotatoire. Elles sont volatiles et entraînaient par la vapeur d'eau, elles transmettent leurs odeurs. Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther et la plupart de solvants organiques (Bruneton, 2009).

Les huiles essentielles généralement sont incolores sauf dans quelque cas où on trouve des huiles en jaune, en bleu (huiles essentielle de camomille), en vert (huile d'absinthe) et en rouge (huile volatil de cannelle). Cette observation est lié à une substance particulière qui est l'azulène C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>, pour ceci on distingue quatre classes (Bruneton, 1993) :

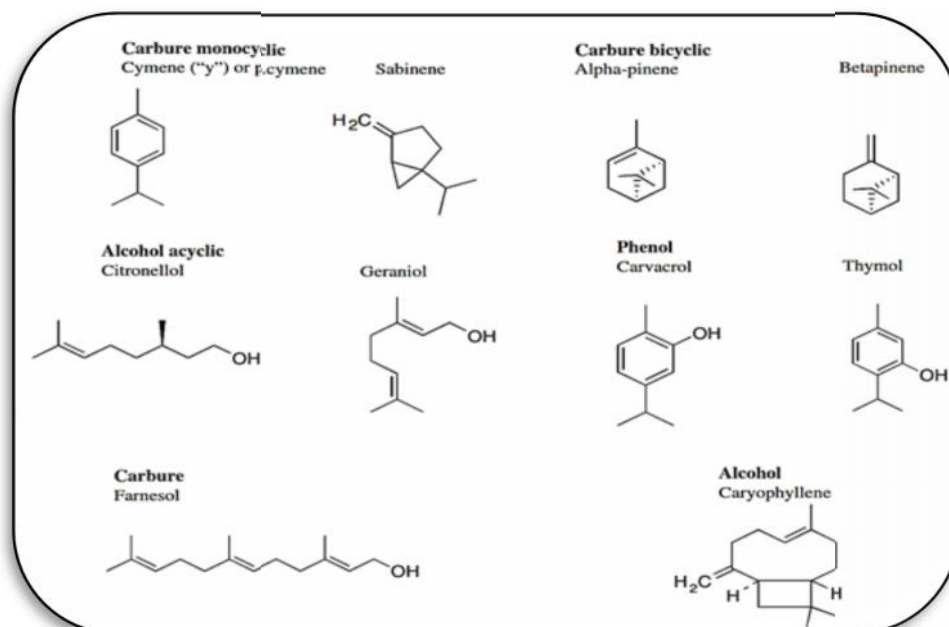
- Huile incolore : sans azulène ni résine ;
- Huile jaune : avec résine seulement ;
- Huile bleu : avec azulène ;
- Huile verte brune ou jaune verte : contenant de l'azulène en proportion variable.

## II.4. Composition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes, peuvent comporter plus de soixante composés différents. Les composants principaux peuvent constituer jusqu'à 85% de l'huile, tandis que d'autres composants sont présents seulement comme traces (**Burt, 2004 ; Bakkali, 2008**). Elles sont constituées de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes (les composés terpénique) (**Figure 04**) et le groupe des composés aromatiques dérivés du propylbenzène (**Figure 05**) et les terpénoïdes.

### II.4.1. Les composés terpéniques

Les composés terpéniques généralement les plus volatils dont la masse moléculaire n'est pas élevée. Ces constituants proviennent de l'isoprène répondant à la formule générale  $(C_5 H_8)_n$ , ils sont également nommés isoprénoïdes ou terpénoïdes (**Baser ,2010**). Les terpénoïdes sont classés selon le nombre d'unité isopène en une série de structure homologue : hémiterpènes  $(C_5 H_8)$ , les monoterpènes  $(C_5 H_8)_2$ , les sesquiterpènes  $(C_5 H_8)_3$ , et moins fréquemment les diterpènes  $(C_5 H_8)_4$ , les triterpènes  $(C_5 H_8)_6$  et les tétraterpènes  $(C_5 H_8)$  (**figure 04**).



**Figure 04:** Structure Chimiques de quelques composés terpéniques.

(**Piochon ,2008**)

### II.4.1.1. Monoterpènes

Les monoterpènes sont volatils entrainables à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des HE, parfois plus de 90%. Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocymène), monocyclique (terpinène, p-cimène) ou bicyclique (pinène, sabinène). A ces terpènes se rattachent un certain nombre de substances à fonction chimique : Alcools (géraniol, menthol), aldéhydes (géranial, citronellal, sinensal), cétones (carvone, menthone,  $\beta$ -vétinone), et des esters (acétate de géranyle, acétate de linalyle, acétate de cédryle, acétate  $\alpha$ -terpinyle) (Bruneton, 1999 ; Hernandez Ochoa, 2005) (Figure 04).

### II.4.1.2. Sesquiterpènes:

Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Elle contient plus de 3000 molécules comme par exemple :  $\beta$ -caryophyllène,  $\beta$ -bisabolène,  $\alpha$ -humulène, abisabolol, farnesol (Bruneton, 1999 ; Hernandez Ochoa, 2005).

### II.4.2. Les composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpénoïdes (Figure 05). Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont plus fréquents dans les HE d'*Apiaceae* (anis, fenouil, cannelle, basilic) (Bruneton, 1999).

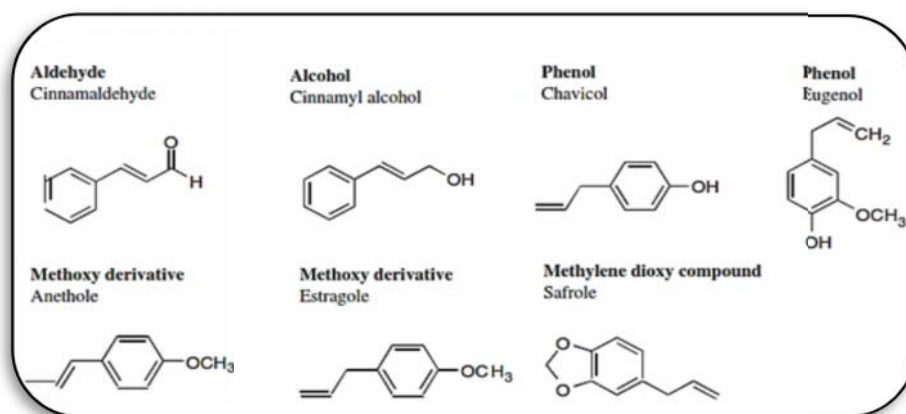


Figure 05: Structure Chimiques de quelques composés aromatiques.

(Bakkali, 2008)

### II.4.3. Les composés d'origine diverses

Il existe un nombre non négligeable de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles issues soit de la dégradation des terpènes non volatils qui proviennent

de l'auto oxydation par exemple des carotènes ou des acides gras comme les acides linoléique et  $\alpha$ -linoléique en (3-cis hexanol, decanal,  $\beta$ -ionone) (Piochon, 2008).

## II.5. Techniques d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales, cette diversité est due à la variété des matières et à la sensibilité considérable de leurs certains constituants. Le choix de méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire et de l'usage de l'extrait (Lucchesi, 2005).

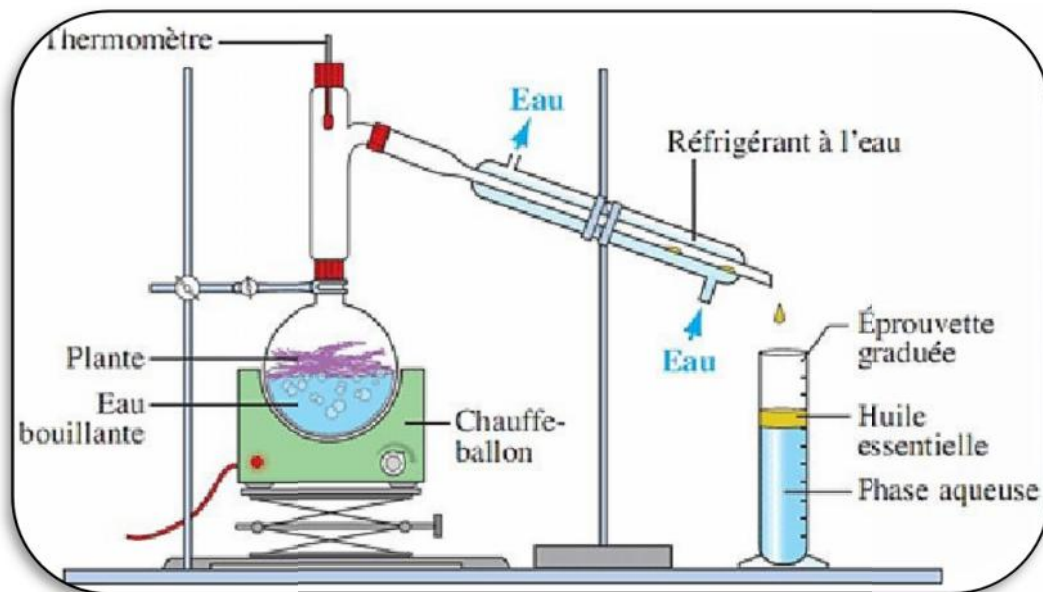
Les principales méthodes d'extraction sont :

- Hydrodistillation
- L'Entraînement à la vapeur d'eau
- L'hydrodiffusion
- L'expression à froid
- Extraction par solvants
- Extraction par micro- ondes

Quel que soit le type d'extraction utilisé, les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origine végétale restent identiques. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation (Lucchesi, 2005).

### I.5.1. Extraction par hydro-distillation

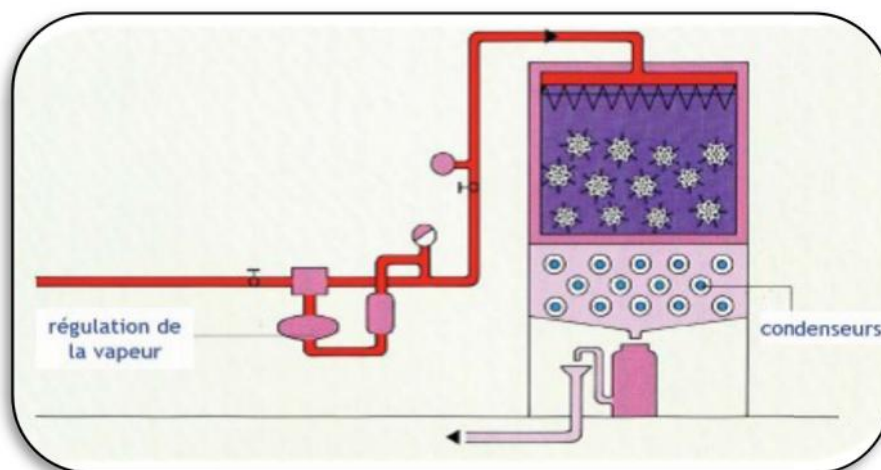
Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat (figure 06) (Piochon, 2008).



**Figure 06:** Montage d'extraction par Hydrodistillation (Piochon, 2008).

### II.5.2. L'hydrodiffusion

Elle consiste à pulvériser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie de temps, de vapeur et d'énergie (figure 07) (Bassereau *et al.*, 2007).



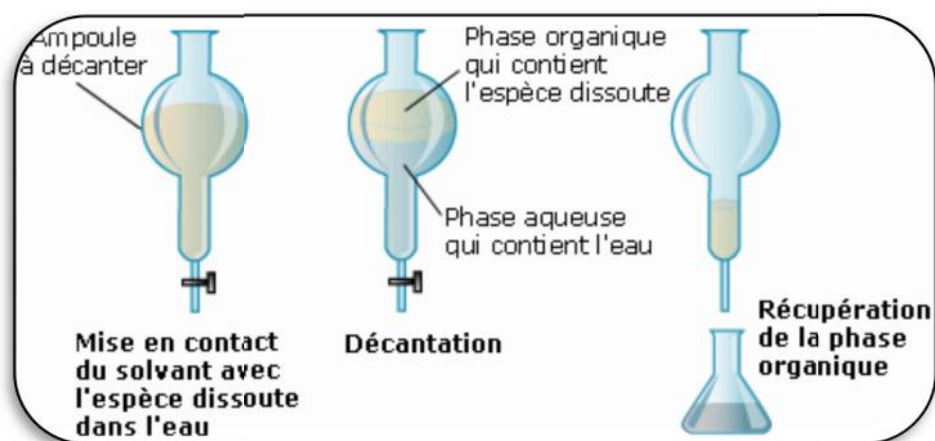
**Figure 07:** Montage d'extraction par hydrodiffusion (Wijesekara *et al.*, 1997).

### II.5.3. L'expression à froid

L'extraction par expression à froid, est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes comme le citron, l'orange, la mandarine, etc. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation. D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau (Chaintreau *et al.*, 2003).

### II.5.4. Extraction par solvants

Cette méthode est utilisée pour les organes végétaux présentant une concentration en essence relativement faible ou pour les essences que l'on ne peut extraire par distillation. Elle est basée sur le pouvoir qu'ont certains solvants organiques à dissoudre les composants des huiles essentielles (Mebarka, 2007). La technique d'extraction par solvant consiste à la mise en contact dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va dissoudre et extraire les constituants solubles contenus dans la plante avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé «concrète». Le traitement de cette concrète par l'alcool absolu conduit à «l'absolue» (figure 08)(Belaïche, 1979 ; Mebarka, 2007).

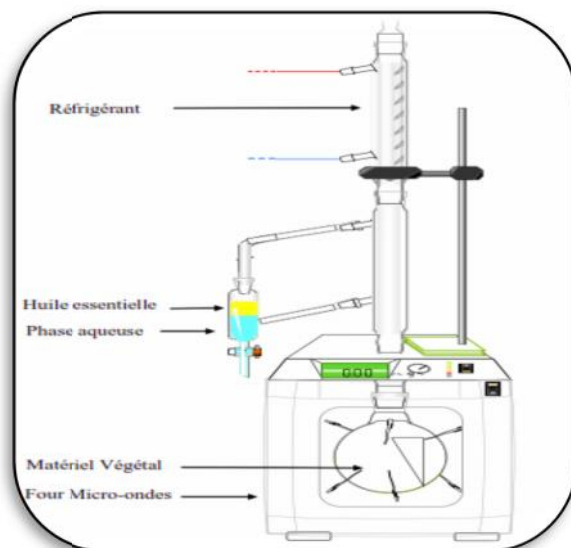


**Figure 08:** Technique d'extraction par solvants  
(Belaïche, 1979 )

### II.5.5. Extraction par micro-ondes

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelée « Solvent Free Microwave Extraction » ou « SFME » consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide (**Lucchesi *et al.* , 2004**) .

L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes a été conçue pour des applications en laboratoire pour l'extraction d'huiles essentielles de plantes aromatiques. Cette technologie est une combinaison de chauffage micro-ondes et d'une distillation à la pression atmosphérique (**Figure 09**). Basée sur un principe relativement simple, cette méthode consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes, sans ajout de solvant organique ou d'eau. Le chauffage de l'eau contenue dans la plante, permet la rupture des glandes renfermant l'huile essentielle. Cette étape libère l'huile essentielle qui est ensuite entraînée par la vapeur d'eau produite par le végétal. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, par la suite facilement séparable par simple décantation. D'un point de vue qualitatif et quantitatif, le procédé SFME semble être plus compétitif et économique que les méthodes classiques telles que l'hydro-distillation ou l'entraînement à la vapeur (**figure 09**) (**Lucchesi *et al.* , 2004**) .



**Figure 09:** Extraction assisté par micro-ondes  
( **Lucchesi *et al.* , 2004**).



*Chapitre III*  
*Les composés phénoliques*



### III.1. Définition

Le terme «*polyphénols*» est utilisé fréquemment pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux. En fait, il devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols. Donc la désignation générale «composés phénoliques» est plus correcte et précise, elle concerne à la fois les mono et les polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques. (Macheix *et al.*, 2005).

Les composés phénoliques sont des substances présentes dans tous les végétaux et dans tous les organes de la plante, ils possèdent un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (Naczk et Shahidi, 2003 ; Barboni, 2006 ; Sun *et al.*, 2011). Leur présence dans les tissus animaux est généralement due à l'ingestion d'aliments d'origine végétale (Naczk et Shahidi, 2003).

Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans la structure et la protection des plantes (Naczk et Shahidi, 2003 ; Stalikas, 2007). Ils offrent également, pour la santé humaine, une protection contre certaines maladies impliquant un stress oxydatif, comme les cancers et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Sun *et al.*, 2011).

Le terme "composés phénoliques végétaux» englobe les phénols simples, les acides phénoliques, les coumarines, les flavonoïdes, les stilbènes, les tannins, les lignines et les lignanes (Stalikas, 2007).

Les composés phénoliques constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu dans le règne végétal. Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement identifiées. Ils sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques : la voie shikimate et la voie d'acétate (Macheix *et al.*, 2005).

### III.2. La distribution des composés phénoliques

Les CPs sont largement rencontrés dans le règne végétal. Chez l'homme, l'alimentation est la principale source des composés phénoliques, on les trouve principalement dans les agrumes: citrons, orange, pamplemousses et dans une moindre mesure: abricots, cerises, mûres, raisins, papayes, tomates et sarrasin. On en trouve également dans les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les graines oléagineuses et les légumineuses secs (Edea, 2007; Macheix *et al.*, 2005).

### III.3. Classification des composés phénoliques

Les CPs sont répartis en différents groupes, définis en fonction :

- de la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées) - du degré de modification du squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation) (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**)
- des liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules glucidiques, lipidiques ou protéiques (**Herbert, 1989; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

Les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins et les lignanes sont considérés comme les principales classes des composés phénoliques (**Merghem, 2009; Muanda, 2010**).

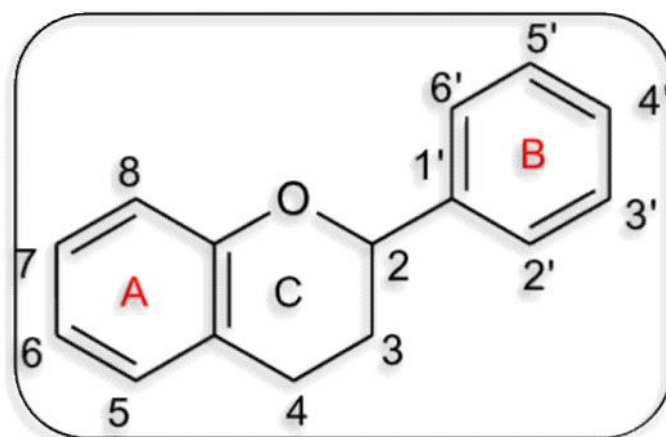
**Tableau III:** Les principales classes des composés phénoliques (**Merghem, 2009**)

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C6	Phénols simple	Catéchol	
C6-C3	Acide hydroxybenzoïque	p-hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C6-C3	Acide hydroxycinnamique Coumarine	Acide caféique, acide férulique Scopolétine, esculétine	Pomme de terre Pomme Citrus
C6-C2-C6	Silènes	Resvératrol	Vigne
C6-C3-C6	Flavonoïdes -Isoflavonols -Flavanones -Anthocyanes -Flavonols	Kamphérol, quercétine Cyanidine, pré-larçonidine Naringénine Daidzéine	Fruits, légumes, fleur Fleur, fruits rouges Citrus Soja
(C6-C3) <sub>2</sub>	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C6-C3) <sub>n</sub>	Lignines		Bois, noyau de fruits
(C15) <sub>n</sub>	Tanins		Raisin rouge, kaki

### III .3.1. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme des composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**Bruneton, 1999 ; Ghestem et al., 2001; Seyoum et al., 2006**). Du point de vue structurale, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées (**Heim et al., 2002**).

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-γ-pyrane (**Skerget et al., 2005**). Leur structure de base est celle d'un diphényle propane à 15 atomes de carbone (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C (figure 10) (**Dacosta, 2003**).



**Figure10:** Structure de base des flavonoïdes (**Dicarlog et al., 1999**).

### III.3.2. Les tanins

Les tanins sont des composés polyphénolique, hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000, ayant la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Cette propriété est liée à leur aptitude à se combiner à des macromolécules (protéines, polysaccharides....) (**Gazengel et Orecchioni, 2012**).

Tous les organes végétaux peuvent en renfermer (racines, écorces, feuilles...), les tanins sont classés en deux groupes selon leur structure chimique : tanins hydrolysables et les tanins cathéchiques (**Charnay et Tourmeau, 2007**). La plupart des propriétés des tanins découlent de leur capacité à former des complexes avec les molécules, en particulier les

protéines. Les tanins présentent des propriétés astringentes, antidiarrhéiques, antibactérienne, antifongiques (Teetes *et al.*, 1980).

### III.3.3. Les saponines

Les saponines constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquent chez les végétaux. C'est un groupe comprenant divers métabolites végétaux secondaires de faible poids moléculaire largement répandus dans le règne végétal. La structure chimique des saponines est constituée d'un groupe aglycone de nature triterpénoïdique ou stéroïdique et d'une ou plusieurs chaînes saccharidiques (glycosides) (Charpentier *et al.*, 2008 ; Bruneton, 2009).

Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensio-actives et douée de propriété hémolytique marqué (Audigie et Zonszain, 1991). Beaucoup de plantes à saponines sont utilisées traditionnellement pour leurs propriétés antitussives, analgésiques, immunomodulatrices ou cytoprotectrices (Charpentier *et al.*, 2008 ; Bruneton, 2009).

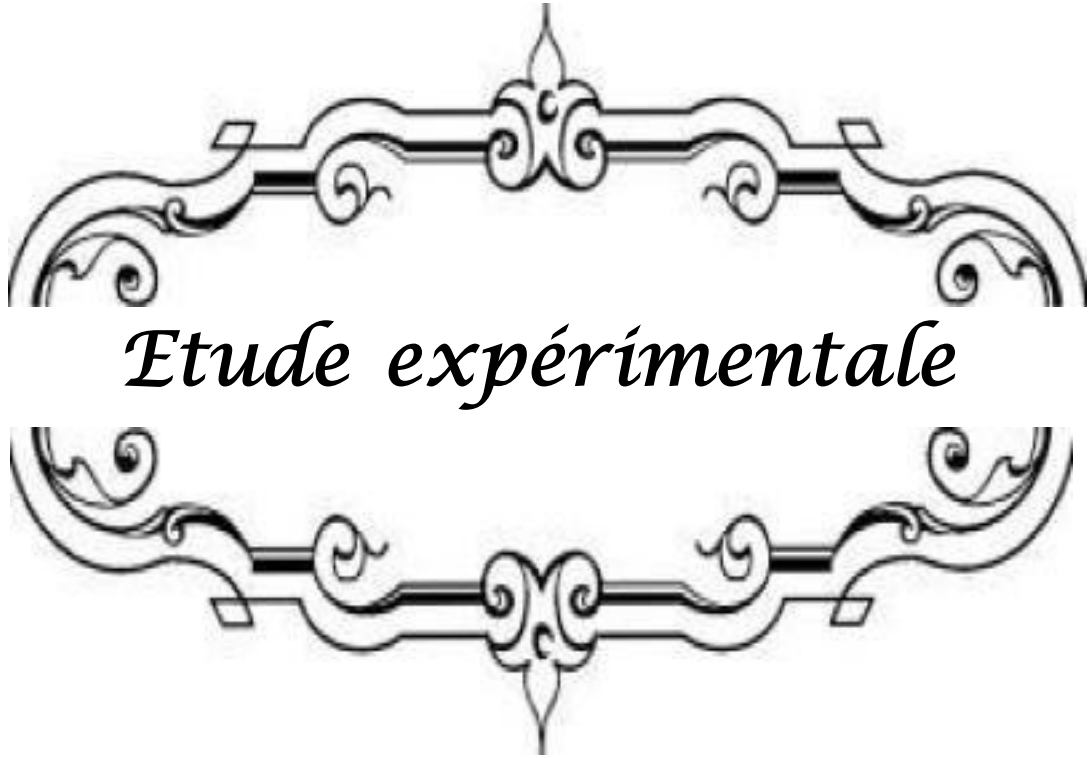
## III.4. Rôle et intérêt des composés phénoliques

### III.4.1. Chez les humains

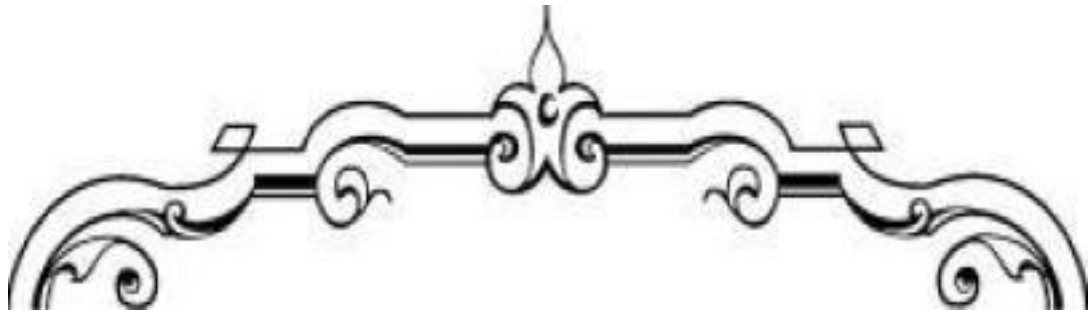
Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydante (Paganga *et al.*, 1999).

### III.4.2. Chez les végétaux

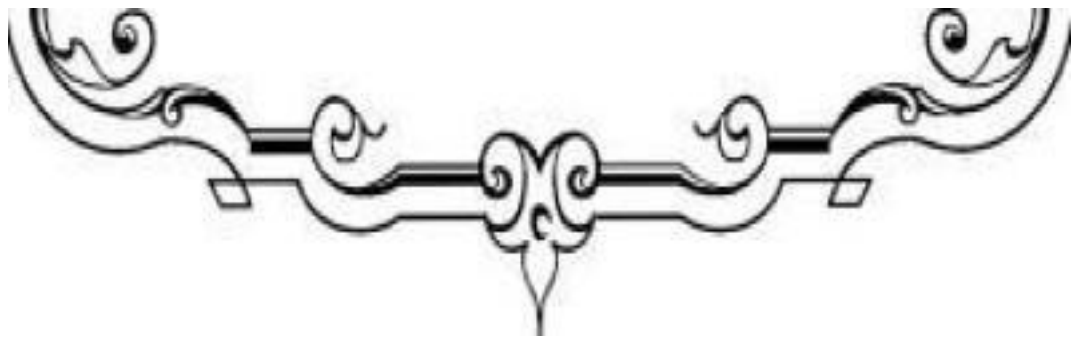
Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV); soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux; dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par la transformation; dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini (Paganga *et al.*, 1999).



*Etude expérimentale*



*Chapitre I*  
*Matériel et méthodes*



## 1. Matériel

### 1.1. Matériel végétal

Dans cette étude, les échantillons de la partie aérienne (tiges, feuilles et fleurs) d'*Artemisia herba alba* ont été récoltés au mois de mars 2017 dans la région de djehfa de la wilaya de kenchela (**figure11**). Cette plante a été identifiée par le botaniste Zraib université Abbes Laghrour Khenchela .

Après la récolte, on étale sur du papier et on laisse sécher à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à température ambiante (**figure12**). La durée de séchage est de 15 jours en moyenne pour notre plante, puis nous les conservons dans les sacs en papier jusqu'à l'utilisation.



**Figure11** : la récolte de la plante

*Artemisia herba alba*



**Figure12** : séchage de la plante

à l'ombre

Les feuilles sèches ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique et le broyat obtenu (**figure 13**) a été conservé dans des sachets en papier à température ambiante, dans un endroit sec et à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à son utilisation.



**Figure 13:** Broyat des feuilles d'*Artemisia herba alba* (Asso).

## **1.2. Matériel du test de l'activité antibactérienne**

### **1.2.1. Souches bactérienne testées**

Les souches bactériennes utilisées sont des souches de référence obtenues de l'American Type Culture Collection (ATCC) :

- *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923);
- *Escherichia coli* (ATCC 25922) ;
- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) ;
- *Salmonella sp* ;
- *Klebsiella oxytoca* (ATCC 25922) ;
- *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606);
- *Listeria monocytogenes* (ATCC 25922) ;

En plus d'une souche isolée,

- *Proteus mirabilis*.

Toutes ces souches sont aimablement fournies par le laboratoire de microbiologie, université Abbes Laghrour Khenchela.

Les souches ont été conservée à 4 °C sur gélose inclinée jusqu'à son utilisation .

## **1.3. Matériel de laboratoire**

### **1.3.1. Les milieux de cultures**

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

- **Gélose nutritif(GN) (Annexe N°1):** pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes.
- **Gélose Muller Hinton (MH) (Annexe N°1):** pour l'étude de la sensibilité des bactéries à l'extrait des plantes.
- **Bouillon Muller Hinton(BMH) (Annexe N°1) :**pour la détermination de CMI et CMB

### 1.3.2. Produits chimiques

Les réactifs chimiques utilisés dans cette étude sont : Méthanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) ; Éthanol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ) ; Magnésium (Mg) ; Acétone ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ ) ; Ether de pétrole:  $\text{CH}_3\text{-(CH}_2)_n\text{-CH}_3$ ); Acide gallique ( $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ ); Trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) ; Chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) ; Réactif de Folin-Ciocalteu ; Carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ );nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) ; hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ ) ; Chlorure de sodium( $\text{NaCl}$ ) ; acide chlorhydrique ( $\text{HCl}$ ) ; eau physiologique ; eau distillée.

### 1.3.3. L'appareillage

L'appareillage utilisé dans notre étude est le suivant :

- ✓ Etuve et four pasteur (**memmert**)
- ✓ Autoclave (**VAPOUR-Line**)
- ✓ Rotavapeur (**HAHNVAPOR**)
- ✓ Réfrigérateur (**LIEBHERR**)
- ✓ Spectrophotométrie UV-visible (**Perkin Elmer**)
- ✓ Plaque chauffante (**Hotplate Stirrer**)
- ✓ Vortex
- ✓ Clivinger ;
- ✓ Bain Marie (**MEMMERT**)
- ✓ Balance électrique (**KERN PCB**)

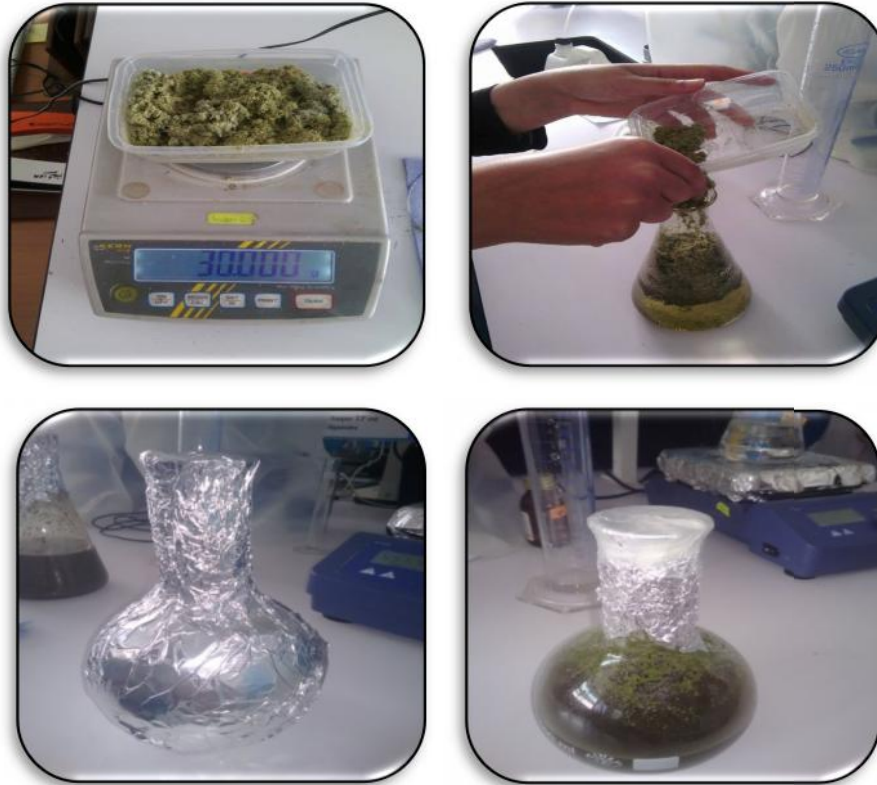
## I.2. Méthodes

### I.2.1. Extraction des composés phénoliques

#### I.2.1.1. Extraction assistée par macération

Pour extraire les polyphénols de différentes parties d'*Artemisia herba alba* par macération, nous avons opté pour le protocole décrit par **Romani et al.2006** en y apportant quelques modifications :

30 g de la poudre d'*Artemisia herba alba* sont macérés à température ambiante pendant trois jours avec 300 ml de solutions aqueuses des solvants : éthanol, acétone, méthanol à 70 % v/v, avec renouvellement du solvant chaque 24 heures (300 ml x 3) pour le méthanol (**figure 14**).



**Figure 14** : macération d'*Artemisia herba alba*

#### **I.2.1.2. Extraction avec de l'eau chaude**

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **Nshimiyimana et He, 2010** en y apportant quelques modifications :

Une prise d'essai de 30g de poudre été ajouté dans 300 ml d'eau distillée avec agitation manuelle. Le mélange est porté à chauffage dans un bain Marie durant 30 min à 77 °C puis filtré sur un tissu mousseline.

La procédure est répétée trois fois (fraction retenue par le filtre dans 300 ml eau distillée chaude).

### **I.2.1.3. Extraction par décoction**

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **Konkon *et al.*, 2006** en y apportant quelques modifications :

30g des feuilles séchées été ajoutées dans 300 ml d'eau distillée avec agitation manuelle .le mélange est porté à chauffage dans un bain Marie durant 30 min à 77 °C puis filtré sur un tissu mousseline

La procédure est répétée trois fois (fraction retenue par le filtre dans 300 ml eau distillée chaude).

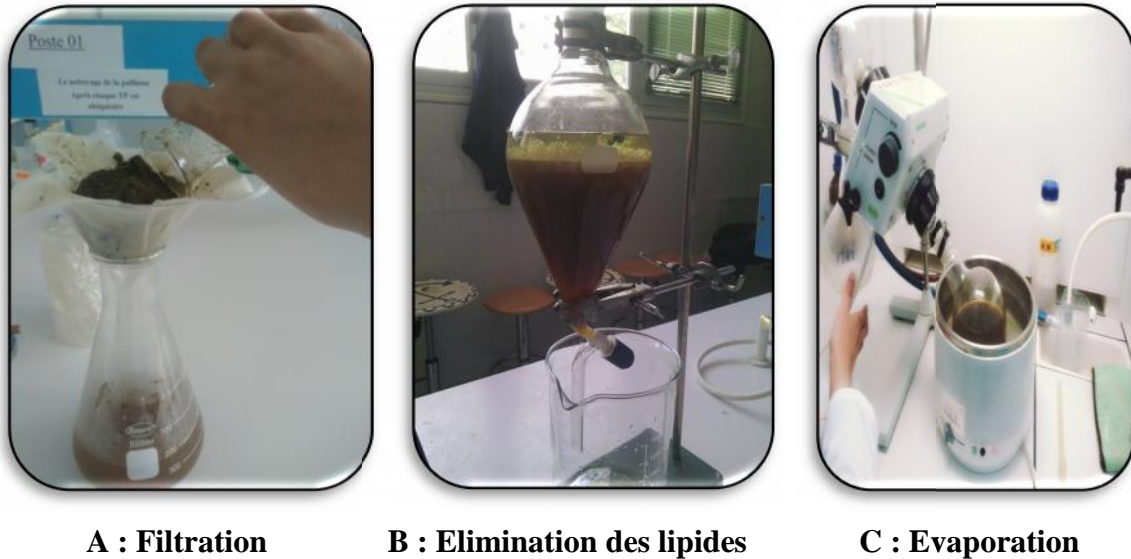
### **I.2.2. Filtration et élimination de lipides**

Les solutions obtenues sont réunies dans un même récipient pour subir une filtration afin d'obtenir une solution limpide. Après filtration sur un tissu mousseline, Le filtrat obtenu de est débarrassé des cires, des lipides et de la chlorophylle par trois lavages successifs avec l'éther de pétrole (v/v) pour donner une solution aqueuse (**Kebièche *et al.*, 2011**).

On a ajouté 1/3 volume d'éther de pétrole au volume de filtrat obtenu , puis l'agitation du mélange et on a laissé reposer, aux moins 20 minutes jusqu'à l'obtention de deux phases, une phase organique ou éther de pétrole (coté supérieur) et une phase aqueuse (coté inférieur), après on a récupéré la phase organique dans un récipient en verre et on a répété la procédure trois fois . La phase éther de pétrole est rejetée (**Kebièche *et al.*, 2011**).

### **I.2.3.Evaporation**

le solvant a été récupéré du filtrat par évaporation dans un rota-vapeur , à une température de 45°C pour l'extrait macérée et 65°C pour l'extrait avec l'eau chaud et décoction . Les extraits obtenu a été conservé au 4°C jusqu'à l'utilisation.



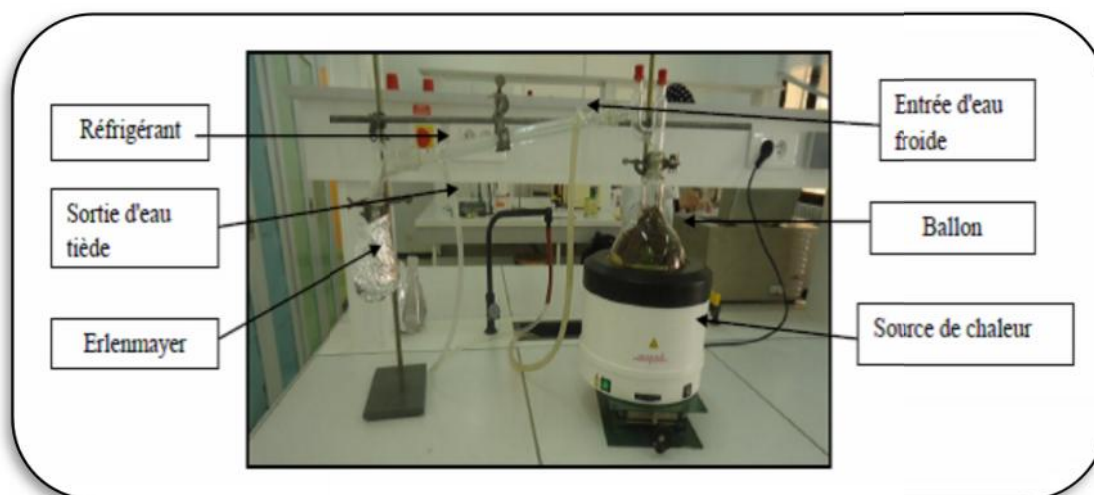
**Figure15 :** Filtration et évaporation des extraits obtenus

d'*Artemisia herba alba*

### I.3. Extraction des huiles essentielles

L'huile essentielle a été extraite à partir de la plante étudiée par hydro distillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger (**figure 16**). Cette méthode est basée sur un entrainement des constituants volatils de l'huile essentielle par la vapeur d'eau. Cette dernière chargée de principes volatils est condensés dans un réfrigérant pour séparer l'eau de l'huile essentielle après décantation (**Clevenger 1928**).

Le matériel végétal sec (100g) est placé dans un ballon (1L) rempli au 2/3 avec de l'eau distillée, puis porté à ébullition. On maintient le chauffage à température douce pendant 3 heures. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle et l'eau se séparent par différence de densité. Les huiles essentielles, étant moins denses que l'eau. L'huile essentielle obtenue est déshydratée par le sulfate de sodium anhydre puis stockée à basse température (4°C) et à l'obscurité avant son utilisation.



**Figure 16 :** Montage d'hydrodistillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*

#### I.4. Détermination du rendement

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation) (Mohammedi, 2006).

Le rendement qui est exprimé en pourcentage a été calculé par la formule suivante (Angelov et al., 2007):

$$R (\%) = \frac{m_{ex}}{m_{rm}} \cdot 100$$

$m_{ex}$  (extracted mass) = masse de l'extrait sec, déterminée par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation).

$m_{rm}$  (mass of the raw material) = masse du broyat frais (matière végétale utilisé, 30 g).

#### I.5. Analyses qualitatives des extraits

##### I.5.1. Détection des composés phénoliques (Réaction au FeCl<sub>3</sub>)

Le but de ces tests est la mise en évidence des composés phénoliques présents dans les solutions aqueuses obtenues.

##### a) Premier test (broyat)

400 mg de broyat de la plante est ajouté dans un tube à essai, contenant 4 ml de l'eau distillée et 12 ml d'acétone ; le tout est placé dans un bain marie à température 60°C pendant 5 min avec agitation de temps en temps. La solution est filtrée sur un papier-filtre « type Whatman n°3 », le filtrat obtenu est recueilli dans un tube à essai et puis l'ajout de 1 à 2

gouttes de  $\text{FeCl}_3$  10% (Bouquet et Fouret, 1975).

#### b) Deuxième test (solutions obtenues)

on a Placé 2 ml de chaque solution dans un tube à essai et ajouté quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  10% (Békro *et al.*, 2007) .

La présence des composés phénoliques dans les extraits est indiquée par l'apparition de la couleur vert noirâtre.

#### I.5.2.Détection des flavonoïdes (Réaction à la cyanidine)

Cette réaction a été effectuée selon le protocole décrit par (Békro *et al.*, 2007) en y apportant quelques modifications :

Le protocole expérimental pour tester la présence de flavonoïde est le suivant :

on a placé 2 ml de chaque solution aqueuse obtenue dans un tube à essai contenant de l'alcool chlorhydrique (4 ml éthanol + 1ml HCl concentré) , puis on a Ajouté 2 ou 3 morceaux de magnésium . La présence des différents types des flavonoïdes dans les trois solutions est indiquée par l'apparition des couleurs suivantes : Rose-orange ou violacée.

#### I.6.Analyses quantitative

##### I.6.1.Dosage des phénols totaux

La teneur en phénols totaux des extraits des plantes a été déterminée par la méthode de Singleton et Ross (1965) utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu.

Un volume de 200  $\mu\text{l}$  pour chaque extrait est introduit dans des tubes à essais, le mélange (1 ml de Folin Ciocalteu dilué 10 fois et 0.8 ml de carbonate de sodium à 7.5 %) est additionné. Les tubes sont agités et conservés durant 30 min. L'absorbance est mesurée à 765 nm en utilisant le spectrophotomètre (figure 17). Une courbe d'étalonnage à différente concentration d'acide gallique a été préparée. Les teneurs en phénols totaux dans les extraits sont exprimées en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme (g) du poids de la matière sèche (mg EAG/ g MS).

### I.6.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode colorimétrique adaptée par **Zhishen et al (1999)**.

Une quantité de 500 µl de solution méthanolique de catéchine à différentes concentrations ou de l'extrait méthanolique dilués est ajoutée à 1500 µl de l'eau distillée. Au temps zéro, 150 µl de nitrite de sodium (NaNO<sub>2</sub>) à 5 % est ajouté au mélange. Après 5 min, 150 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 10 % (m/v) est rajouté. Après l'incubation de 6 min à la température ambiante, 500 µl d'hydroxyde de sodium (NaOH) (1 M) est additionné. Immédiatement, le mélange est complètement agité. L'absorbance de la solution de couleursâtre est mesurée à 510 nm contre le blanc. La teneur en flavonoïdes totaux des extraits de plantes médicinales est exprimée en milligramme (mg) équivalents de quercétine par gramme (g) du poids de la matière sèche (EC)/g). Chaque échantillon est répété trois fois.



**Figure17** : Dosage des poly phénols totaux des extraits obtenus

d'*Artemisia herba alba*

### I.7. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des composés phénoliques et flavonoïdes présents dans les différents extraits obtenus et aussi l'activité d'huile essentielle.

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (**Athamena, 2009 ; Bassole et al., 2011**).

### **I.7.1.Repiquage des espèces bactériennes**

Les différentes espèces bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

### **I.7.2.Préparation de l'inoculum**

A partir d'une culture pure de 18-24h, des colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées, puis déchargées dans 5 ml d'eau physiologique stérile et bien homogénéisée. L'opacité de l'inoculum doit être équivalente à 0,5 Mc Farland (Annexe N°1). Ou à une densité optique de 0,08 à 0,10 à 625 nm (ce qui correspond à environ 10<sup>8</sup> UFC/ml)

### **I.7.3.Préparation des disques**

Des disques de papier Wathman n°3 de 6 mm de diamètre, stériles (stérilisation à 120°C pendant 15 min par autoclavage),

### **I.7.4.Préparation des milieux de culture**

La gélose de Muller Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétrie stériles de 90 mm de diamètre. L'épaisseur de la gélose est de 2 mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières doivent être séchées 30 min à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi.

### **I.7.5.Ensemencement et dépôt des disques**

Un écouvillon stérile est imbibé dans la suspension bactérienne diluée à 1/10, puis essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de décharger au maximum. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées. L'opération est répétée trois fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois et en le passant sur la périphérie de la gélose (**Benzeggouta, 2005**). Les disques préparés sont ensuite déposés délicatement à l'aide d'une pince stérile sur la surface des milieux Muller-Hinton préalablement ensemencés par les bactéries-testées, à l'aide d'une micropipette on a déposé 10 µl de chaque extrait et d'huile sur les disques. Les boîtes sont d'abord laissées à une température ambiante pendant une heure pour assurer une bonne diffusion, puis incubées à 37°C pendant 24 heures.



A : Ensemencement

B: Dépôt des disques

C: Préparation de l'inoculum

**Figure 18** : Test de l'activité antibactérienne d'*Artemisia herba alba*

### I.7.6. Lecture des résultats

L'activité antibactérienne est estimée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition. Après 24 heures d'incubation, mesurer à l'aide d'une règle graduée le diamètre d'inhibition des bactéries autour des disques. Le diamètre (mm) de la zone entourant le disque est proportionnel à la sensibilité du germe étudié. Une zone d'inhibition supérieure ou égale à 9 mm de diamètre est considérée comme un résultat positif (Djenane *et al.*, 2012).

### I.8. Détermination de la CMI par la méthode des micro-dilutions en milieu liquide

Les CMI ont été déterminées par la méthode de micro-dilution en milieu liquide, dans des plaques de 96 puits (Gachkar *et al.*, 2007). Cette méthode permet la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) à partir d'une gamme de concentrations d'extrait dans le milieu de culture. D'après la méthode Coyle, (2005) , une solution-mère de chaque extrait (d'une concentration finale de 100 mg/ml) est obtenue, puis une série de dilutions est réalisée extemporanément en à partir de la solution-mère ; la gamme de concentrations finales ainsi obtenue correspond à 1/2 – 1/4 – 1/8 – 1/16 – 1/32 – 1/64 – 1/132 et 1/146. 100 µl de chaque dilution sont alors incorporés à 90 µl de bouillon Mueller Hinton puis ensemencé par 10µl de l'inoculum bactérien (figure 08). Tous les essais sont répétés trois fois.

Après incubation à 37°C pendant 24heure. La CMI est définie comme la plus petite concentration d'extrait pour laquelle aucune croissance n'est visible (aucun trouble observé dans les puits) .



**Figure 19** : Détermination de la CMI

### **I.9-Concentration minimale bactéricide (CMB)**

La CMB testé a été déterminée comme étant la plus faible concentration à laquelle aucune croissance visible du micro-organisme n'avait eu lieu.

Pour estimer l'activité létale d'huile essentielle et des extraits aqueuses, les microorganismes sont transférés du bouillon liquide où aucune croissance n'a été observée (sur microplaque), et incubés dans des tubes à essai qui contiennent 3ml d'un nouveau milieu de bouillon MH.

La plus faible concentration d'huile essentielle et des extraits aqueuses entraînant l'inhibition de la croissance totale est reconnue comme la concentration minimale mortelle, CMB pour les bactéries (concentration minimale bactéricide) (CA-SFM,2012).

### **I.10. Analyse statistique**

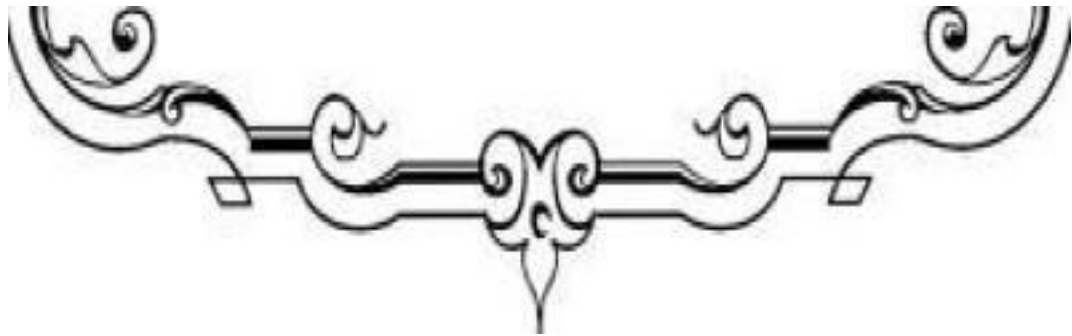
Les résultats de notre étude ont été analysés par le test ANOVA (Analyse de variance) suivi par les tests de comparaison multiple (test de la différence honnêtement significative HSD), en utilisant le logiciel XLSTAT, en prenant un risque de 5%.

NS: Différence non significative  $P > 0,05$

- Différence significative  $P < 0,05$
- Différence hautement significative  $P < 0,01$
- Différence très hautement significative  $P < 0,001$



*Chapitre II*  
*Résultats et discussion*



Dans ce travail, nous avons utilisé trois méthodes d'extraction : Extraction par macération (méthanol aqueux, acétone et éthanol à 70 %), extraction avec de l'eau chaude (77°C, 30 min) et extraction par la méthode préconisée en médecine traditionnelle (eau bouillante, 30 min).

A la fin de cette manipulation, les cinq extraits secs obtenus ont été recueillis dans des quantités suffisantes de DMSO afin d'obtenir une concentration final de 100mg/ml.

L'étude comparative des ces trois méthodes d'extraction et d'huile se porte normalement sur :

- Le rendement d'extraction des composés phénoliques.
- Le dosage quantitatif des composés phénoliques et flavonoïdes totaux.
- L'activité antibactérienne.
- La détermination de la CMI et CMB.

## II.1.Détermination du rendement

### II .1.1.Rendement des extraits

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation). Les résultats de cette manipulation sont représentés dans le **tableau V**.

**Tableau V:** Poids d'extrait sec et rendement correspondant des trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et d'huile à partir de la plante *Artemisia herba alba*.

Méthode d'extraction		Poids d'extrait sec (g)	Rendement (%)
Par macération	méthanol	11.492	38.30%
	Ethanol	15.09	50.30%
	Acétone	11.76	39.20%
Par eau chaude	Eau chaude	12	40 %
Par eau décoction	Eau distillée	9.19	30%
Hydro-distillation	Huile essentielle	0.932	0.932%

D'après ces résultats, nous pouvons déduire que l'extraction, par macération en utilisant l'éthanol comme solvant, a donné le meilleur rendement de 50.30%, suivie par la méthode

d'extraction par l'eau chaude et celle par macération avec l'acétone et avec le méthanol par un rendement de 40%, 39.2 % et 38,30% respectivement, enfin, l'extraction par décoction a donné le plus faible rendement de 30%.

L'analyse statistique en utilisant le test ANOVA n'a montré aucune différence significative entre les différents extraits avec  $p > 0.50$ .

Le taux de l'extrait éthanolique (50.30%) est relativement supérieur à celui obtenue par **Boudjouref (2011)** avec un rendement plus faible (0.48%) et par **Hamia et al, 2014** qui ont trouvés un rendement de 15.38 % obtenu après l'extraction de toute la partie aérienne dans l'éthanol/eau 70% pendant 2x24 heures. Tandis que, ce rendement est inférieur celui trouvé par **Awad et al. (2012)** (60.13%).

La technique d'extraction est une étape très importante dans l'isolement et la récupération des composés phytochimiques existants dans le matériel végétal (**Quy Diem Do et al., 2014**). Elle est influencée par sa nature chimique, la méthode utilisée, la taille d'échantillon étudié, ainsi que la présence de substances interférentes (**Stalikas, 2005**).

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il est dépend de plusieurs paramètres tels que: le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (**Quy Diem Do et al., 2014**).

D'après **Quy Diem Do et al. (2014)**, l'utilisation combinée de l'eau et du solvant organique peut faciliter l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et / ou dans le solvant organique. Dans ce contexte, l'extrait sec ne renferme pas uniquement des polyphénols et des flavonoïdes, il contient également d'autres substances naturelles (**Békro et al., 2007 ; Kebièche et al., 2011**).

Le rendement d'extraction peut être influencé par le temps d'extraction qui est généralement très long dans le cas de la macération avec méthanol (3jours) par rapport aux autres méthodes (30 min) pour l'extraction avec l'eau chaude et la macération avec l'éthanol et l'acétone (24h). En effet, **Zeghad.(2009)**, démontre que la progression de temps d'extraction peut diminuer le rendement de l'extrait et cela peut être dû à la dégradation de certaines substances naturelles comme les poly phénols.

## II .1.2.Le rendement d'extraction d'huile essentiel

Le rendement moyen obtenu des huiles essentielles extraites de la plante *A.herba-alba* étudiée est de l'ordre de 0.932%. Ce taux est relativement supérieur à celui des HE extraites de la même espèce récoltée dans la région de Matmata en Tunisie (0,65%). Il est sensiblement inférieur à celui de la Jordanie (1,3%) (Akrouf, 2004 ; Dob et Benabdelkader, 2006 ; Hudaiba et Aburjai, 2006 ; Bezza *et al.*, 2010), de Biskra (0,95%) et de M'sila (1,02%) en Algérie. Par contre, dans la région du Guerçif au Maroc, le taux de rendement de HE de l'espèce *A. herba-alba* varie en fonction de la période de récolte entre 0,56% et 1,23%; en Espagne, il varie selon les provenances de 0,41% à 2,30% (Ghanmi *et al.*, 2010 ; Salido *et al.*, 2004).

Nous pouvons aussi dire que le rendement obtenu représente une valeur moyenne par rapport à d'autres plantes qui sont exploitées industriellement comme source d'huile essentielle. Il est plus élevé que celui de la rose (0.1-0.35%) et plus faible que celui du thym (2.2.5%) (Bencheqroun *et al.*, 2012).

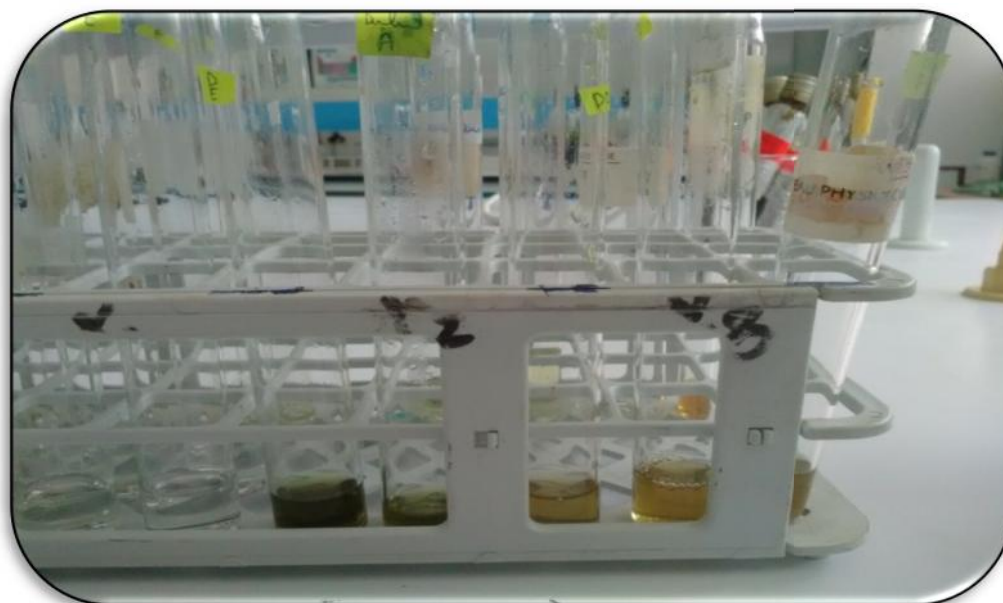
Le rendement et la qualité des huiles essentielles des espèces du genre *Artemisia* sont influencées par le pH des sols, En effet, les sols de la zone d'étude sont caractérisés par une texture sablo-limoneuse, pH basique et une faible qualité chimique (Bouzidi, 2001 ; Abad *et al.*, 2012).

## II .2.Tests de détection des composés phénoliques et des flavonoïdes

La présence des composés phénoliques et des flavonoïdes dans la matière végétale étudiée *A. herba alba* (Asso), a été vérifiée par trois tests phytochimiques (réactions qualitatives) : deux tests (**Réaction au FeCl<sub>3</sub>**) pour la mise en évidence des composés phénoliques et un test (**Réaction à la cyanidine**) pour la mise en évidence des flavonoïdes.

Les cinq solutions montrent une présence des composés phénoliques plus importante que celle des flavonoïdes. Ceci peut être attribué à la différence du degré de polarité ou à la diversité des poly phénols (**Figure20**) . La réaction au FeCl<sub>3</sub> est très positive (+++) dans le broyat et dans toutes les solutions obtenues, ce qui indique que la matière végétale de la plante utilisée dans cette étude renferme des composés phénoliques en abondance. Ces tests, ont donné les résultats que nous présentons dans le **tableauVI**

La présence des composés phénoliques et des flavonoïdes a été confirmée par l'apparition d'une coloration vert-noirâtre et orange, respectivement. Ce résultat est en accord avec celui de **Bouquet et Fouret (1975)**.



**Figure 20:** Détection des composés phénoliques par  $\text{FeCl}_3$ .

**Tableau VI :** Résultats de Tests de la détection des composés phénoliques et des Flavonoïdes dans la matière végétale d'*A.herba alba* (Asso).

	Composés phénoliques		Flavonoïdes	
	Couleur	Quantité relative	Couleur	Quantité relative
<b>Broyat</b>	Vert noirâtre	+++	Orange	++
<b>EM</b>	Vert noirâtre	+++	Orange	++
<b>EE</b>	Vert noirâtre	+++	Orange	++
<b>EA</b>	Vert noirâtre	+++	Orange	++
<b>ECH</b>	Vert noirâtre	+++	Orange	+
<b>ED</b>	Vert noirâtre	++	Orange	+
+++ : Présence en forte quantité, ++ : Présence en quantité moyenne + : Présence en quantité faible				

Des études chimiques sur les espèces d'*Artémisia* indiquent que toutes les classes de composés sont présentes dans le genre avec une référence particulière aux terpènes et flavonoïdes (Wright, 2002). Nous y avons décelé la présence de flavonoïdes et des acides phénoliques. En revanche Sellami et al. (2010) confirment la présence des flavonoïdes.

Moufid (2012) rapporte que les études phytochimiques ont clairement démontré que les principaux constituants d'*A. herba alba* sont les sesquiterpènes, lactones, les acides phénoliques, les flavonoïdes et les huiles essentielles avec une variabilité spécifique de ces constituants en fonction de la zone géographique.

### II.3. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes totaux

#### II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux présents dans les extraits des cinq solutions aqueuses obtenues a été effectué par la méthode spectrophotométrique de Folin- Ciocalteu. Le principe de cette méthode est basé sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) du réactif de Folin par les groupements réducteurs des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de couleur bleue (Boizot et Charpentier, 2006 ; Clémentine et al., 2012; Mahmoudi et al., 2013).

Nous avons calculé la concentration moyenne des composés phénoliques présents dans les extraits en "mg équivalent acide gallique/g de matière végétale sèche" en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Annexe 02). La courbe d'étalonnage est une droite de pente égale à **0.013** et d'intersection à l'origine égale à **0.013**. L'absorbance varie donc linéairement avec la concentration.

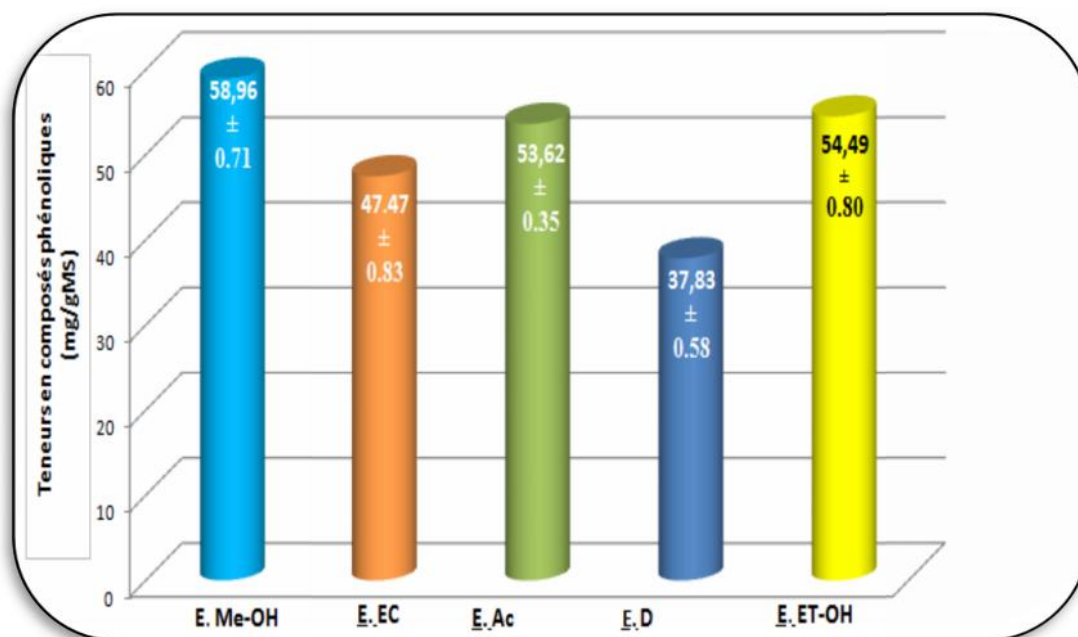
$$Y = 0.013x - 0.013 \text{ avec } R^2 = 0,997$$

Où :

**x** est la concentration de la solution d'acide gallique (mg / ml).

**y** est l'absorbance à 760 nm.

**R<sup>2</sup>** est le Coefficient de corrélation. **R<sup>2</sup> = 0,997** étant proche de 1, on peut affirmer qu'il y a une corrélation linéaire significative entre x et y. Les résultats obtenus sont représentés dans la **figure 21**.



**Figure 21:** Les teneurs en composés phénoliques totaux des extraits obtenus d'*A. herba alba*.

Les teneurs en polyphénols totaux obtenus par les deux méthodes d'extraction, présentées dans la **figure 21**, révèlent une différence très hautement significative ( $p < 0,0001$ ); toutefois, la macération semble être la meilleure méthode d'extraction des polyphénols totaux soit en moyenne de 58.96 et 54.49 mg EAG/g MS pour l'extrait méthanolique et éthanolique respectivement contre 37.83 mg EAG/g MS pour la méthode de décoction.

L'extraction des polyphénols par macération, bien que généralement longue et exige des solvants organiques qui sont chers et dangereux pour la santé, reste la seule méthode utilisable dans le cas de l'extraction d'un ensemble de molécules fragiles (**Ben Amor, 2008 ; Garcia-Salas et al ., 2010**).

Par ailleurs, la teneur la plus élevée en polyphénols totaux a été enregistrée pour l'extrait méthanolique (58,96 mg EAG/g MS) suivis par l'extraits éthanolique , acétonique , et celui de l'eau chaude, qui contiennent des teneurs proches estimées respectivement à 54.49 et 53.62 et 47.47 mg EAG/g MS. On outre, la plus faible teneur en polyphénols (37.83 mg EAG/g MS) a été enregistrée avec la méthode de décoction.

Les travaux conduits par **Katalinic et al. (2010) ; Mulinacci et al. (2004)** et **Koffi et al. (2010)**, confirment nos résultats en indiquant que le méthanol en combinaison avec l'eau permet une meilleure extraction des polyphénols totaux. En effet, l'addition de l'eau aux

solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols par modulation de la polarité du solvant organique (Sripad *et al.*, 1982 ; Mohammedi et Atik , 2011).

L'extraction des polyphénols à partir d'une matière naturelle en utilisant les solvants est une étape importante pour caractérisés les systèmes naturels riche en polyphénols (Mutlib et Abbott, 1992) .

Cette augmentation est peut être due à l'affaiblissement des liaisons d'hydrogène dans les solutions aqueuses. Elle pourrait également être due à l'augmentation de la basicité et de l'ionisation des polyphénols dans de telles solutions (Sripad *et al.*, 1982). En plus, la solubilité des polyphénols dépend principalement du nombre de groupements hydroxyles, de poids moléculaire et de la longueur de la chaîne carbonique de squelette de base (Mohammedi et Atik , 2011).

Le solvant d'extraction emporte des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique (Djeridane *et al.*, 2006).

### II .3.2.Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes dans les extraits ont été estimées par la méthode utilisant l'AICl<sub>3</sub>.

La spectrophotométrie a permis de quantifier les flavonoïdes dans les extraits de la plante étudiée. La courbe d'étalonnage est tracée en utilisant les différentes concentrations de la quercétine, un flavonoïde très connu de la famille des falvonols.

La raison principale pour la quelle on a choisi cette classe de polyphénols, réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006).

Nous avons calculé la concentration moyenne des flavonoïdes présents dans les extraits en "mg équivalent de quercétine /g de matière végétale sèche" en se référant à la courbe d'étalonnage de quercétine (Annexe02). La courbe d'étalonnage est une droite de pente égale à **0.031** et d'intersection à l'origine égale à **0.100**. L'absorbance varie donc linéairement avec la concentration.

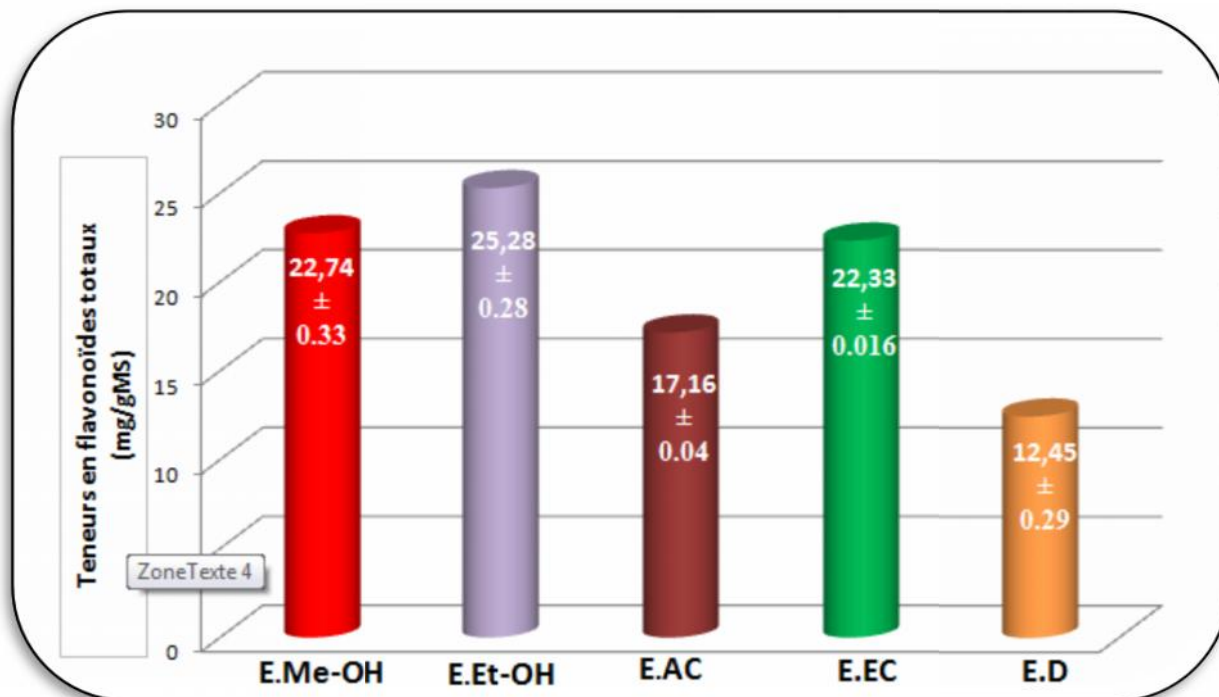
$$Y = 0.031x + 0.100 \text{ avec } R^2 = 0,995$$

Où ;

x : La concentration de la solution de quercétine (µg / ml).

y : L'absorbance à 510 nm.

$R^2$  est le Coefficient de corrélation.  $R^2 = 0,995$  étant proche de 1, on peut affirmer qu'il y a une corrélation linéaire significative entre x et y. Les résultats obtenus sont représentés par la figure 22.



**Figure 22:** Les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits obtenus

d'*A. herba alba*

Les résultats de la teneur en flavonoïdes des décoctés et des macérâts de la partie aériens de la plante *A.herba alba* par les différents solvants (**figure 22**) montrent que la macération est préférable pour extraire les flavonoïdes avec une moyenne de 25.28 et 22.74 et 22.33 mg EQ/g pour les extraits éthanolique , méthanolique et acétonique successivement contre 17.16 et 12.45 mg EQ/g en moyenne pour l'extrait avec l'eau chaude et celui obtenu par décoction.

Statistiquement, la différence entre les teneurs en flavonoïdes en fonction de la méthode d'extraction et le solvant utilisé est très hautement significative ( $p < 0,0001$ ).

Comme on le constate, l'Armoise est très riche en flavonoïdes (12.45 -22.74 mg d'EQ/g), ce résultat est assemblable a celui de **khireddine (2012)** (20,610 mg d'EQ/g MS) ce qui explique son effet antibactérien (**saleh et al., 1985 ; saleh et al.,1987**) .

La teneur la plus élevée est celle des macérâtes hydro-alcooliques. Cette observation est soutenue par plusieurs travaux dont ceux de **Moroh (2013)**, qui a montré que l'extrait hydro-alcoolique permet une meilleure concentration des principes actifs, tandis que la teneur la plus basse a été obtenue avec l'extrait de la phase aqueuse.

**Maisuthisakul et al. (2008)** ont constaté que la teneur totale des flavonoïdes des extraits éthanoliques de 28 plantes, est liée à la teneur des composés phénoliques totaux.

D'un autre côté, **Macheix et al. (2005)** ont démontré une corrélation négative ( $R = -0.26$ ) entre la teneur des polyphénols totaux de sept espèces de *Stachys taxa* et celle des flavonoïdes. De même nous avons trouvé que la teneur des flavonoïdes des extraits n'est pas corrélée significativement avec la teneur des polyphénols ( $R = 0.193$ ).

#### II .4.L'étude de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits obtenus et d'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* est testée vis-à-vis de huit souches bactériennes par la méthode de diffusion des disques.

Les résultats de nos tests de sensibilité bactérienne sont regroupés dans le **Tableau 06**. Les valeurs indiquées sont les moyennes de trois mesures. L'action inhibitrice se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brut étudié. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre. Comme a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait possède une action bactériostatique ou bactéricide si son diamètre d'inhibition est supérieur ou égale à 9 mm **Tableau VI (Djenane et al., 2012)**.

Après l'aromatogramme, on a procédé à la détermination de la CMI par la méthode de micro dilution en utilisant des micro plaques (**tableau VI**) suivie par la détermination de CMB par des subcultures réalisées suite à l'obtention des CMI (**tableau VII**).

**Tableau VI : Diamètres des zones d'inhibition et les CMI de la croissance bactérienne induite par la plante *A.herba alba***

Souches bactériennes	Gram	Me-OH		D		EC		AC		Et-OH		HE	
		D (mm)	CMI mg/ml	D (mm)	CMI mg/ml	D (mm)	CMI mg/ml	D (mm)	CMI mg/ml	D. (mm)	CMI mg/ml	D (mm)	CMI mg/ml
<i>E. coli</i>	-	12,33 ± 0.57	25	11,66 ± 0.5	6.25	9,33 ± 0.57	25	11,66 ± 1.52	12.5	15 ± 1	3.12	11,33 ± 0.57	1/32
<i>S. aureus</i>	+	13,66 ± 0.57	12.5	9,33 ± 0.57	6.25	9,66 ± 1.15	25	9,66 ± 0.57	6.25	14 ± 1	6.25	12,66 ± 0.57	1/32
<i>Listeria</i>	+	9,66 ± 1	12.5	8,66 ± 0.57	/	9,66 ± 2.08	25	9,66 ± 0.57	6.25	12,66 ± 0.57	6.25	12,33 ± 0.57	1/16
<i>A. baumannii</i>	-	10,33 ± 0.57	25	9,66 ± 1.15	6.25	9,33 ± 0.57	25	9,33 ± 0.57	3.12	11,33 ± 1.15	6.25	13,33 ± 0.57	1/32
<i>P. mirabilis</i>	-	9,33 ± 0.57	25	8,33 ± 0.57	/	11 ± 1.73	12.5	9,33 ± 0.57	6.25	13,33 ± 0.57	3.12	8,66 ± 0.57	/
<i>P. aeruginosa</i>	-	9,33 ± 0.57	6.25	8,66 ± 1.15	/	12,66 ± 1.52	25	9 ± 0	12.5	13,66 ± 0.57	6.25	12,66 ± 1.15	1/128
<i>Salmonella sp.</i>	-	10,66 ± 0.57	6.25	9 ± 0	12.5	9,33 ± 0.5	12.5	12 ± 1	25	10,66 ± 0.57	6.25	12,33 ± 0.57	1/32
<i>k. oxytoca</i>	-	11,33 ± .57	12.5	7,33 ± 0.57	/	12,33 ± 1.52	12.5	8 ± 0	/	12,33 ± 0.57	12.5	15,33 ± 0.57	1/64

Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais (n= 3) avec ± l'écartype, **D** :diamètre des zones d'inhibition mm, **CMI** :mg/ml



Tableau VII: Résultat de la détermination des CMBs.

	CMB mg/ml					
	E.Me-OH	E.D	E.EC	E.AC	E.Et-OH	HE
<i>E.coli</i>	25	12.5	50	25	25	1/4
<i>S.aureus</i>	25	25	50	25	25	1/4
<i>Listeria</i>	25	/	50	25	50	1/4
<i>A.baumannii</i>	50	25	25	12.5	50	1/4
<i>P.mirabilis</i>	25	/	25	25	25	/
<i>P.aeruginosa</i>	25	/	25	25	50	1/64
<i>Salmonella</i>	25	50	25	25	50	1/32
<i>K.oxytoca</i>	25	/	25	/	50	1/32

Il est clair d'après les résultats obtenus que les cinq extraits et aussi l'huile essentielle d'*A.herba alba* exercent une activité inhibitrice sur au moins une des souches bactériennes testées. Cependant, celles-ci varient d'un extrait à l'autre et d'un germe à l'autre.

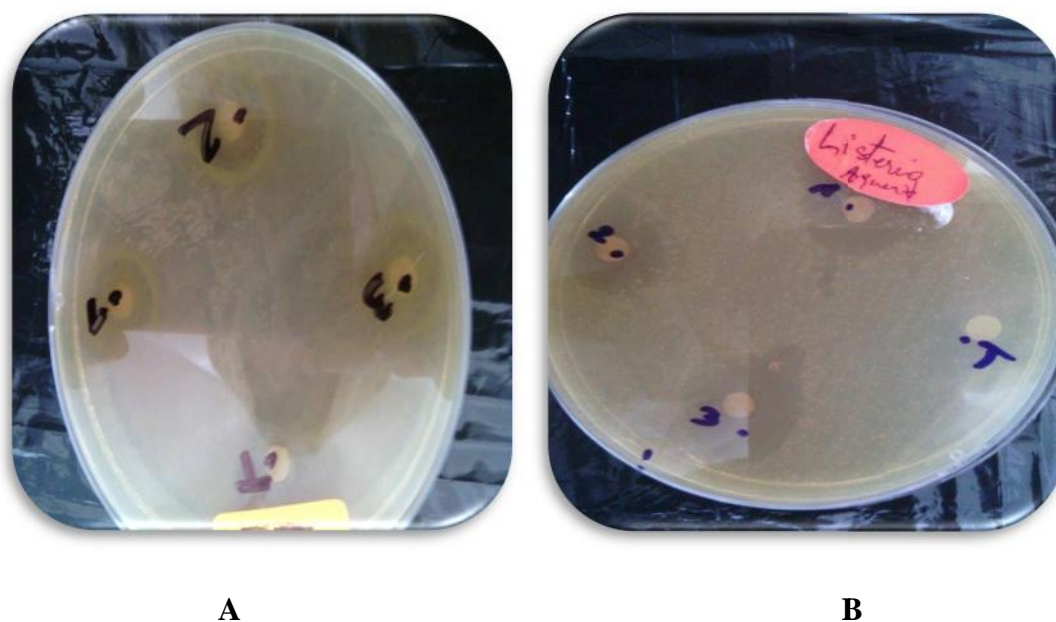
La présence des zones d'inhibition est le résultat d'un antagonisme exercé par les substances bioactives présents dans les extraits. Les diamètres des zones d'inhibition étaient compris entre 9.33mm et 13.66mm pour l'extrait méthanolique, entre 7.33mm et 11.66 mm pour l'extrait obtenue par décoction, entre 9.33 mm et 12.66 mm pour celui de l'eau chaude, entre 08mm et 11.66mm pour l'extrait acétonique, entre 10.66mm et 15mm pour l'extrait ethanolique et entre 8.66mm et 15.33mm pour l'huile essentielle.

La méthode utilisée pour la mise en évidence de l'activité antibactérienne est la diffusion sur gélose Mueller-Hinton. Grâce à sa spécificité et à sa composition, cette dernière, souvent rencontré dans la littérature, permet une bonne croissance aux bactéries-tests tout en offrant des résultats clairs. L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage afin d'assurer une distribution uniforme de l'inoculum sur la gélose et faciliter la diffusion des molécules actives dans une fine couche de surface (Horikawa et al., 1999).

#### II .4.1. Activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique

Les composés actifs d'extrait éthanolique, ont montré un grand pouvoir antibactérien dont le diamètre d'inhibition le plus élevé est de (15±1mm), observé pour *E.coli* qui est considérée comme fortement sensible suivi par (14±1mm) pour *Staphylococcus aureus* qui est considérée sensible à cet extrait. C'est le même cas pour les souches *A. baumannii* et *K. oxytoca* dont le diamètre d'inhibition est de (11.33±1.15mm) et (12.33±0.57mm) respectivement. *Salmonella sp.* présente une sensibilité modérée avec l'extrait éthanolique (10.66±0.57), dont la croissance a été arrêtée à concentration minimale inhibitrice de 6.25mg/ml (**tableau VI**) et avec une concentration minimale bactéricide de 50mg/ml. (**TableauVII**) .

L'analyse des résultats par le test ANOVA était très hautement significative (**p 0.001**), et la souche la plus sensible *E.coli* a été montré par le test HSD (**p 0.001**)



**Figure 23:** L'effet inhibiteur d'extrait éthanolique d' *Aherba alba* vis-à-vis ;**A. listeria** et **B. E.coli**

#### II 4. 2. Activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique

Concernant l'extrait méthanolique, il s'avère que la meilleure activité inhibitrice est enregistrée vis-à-vis *S. aureus* (Gram+) avec un diamètre d'inhibition de 13.66mm et une CMI de 12.5mg/ml suivi par *E.coli* (Gram-) avec un diamètre d'inhibition de 12.33mm et une CMI de 25mg/ml.

D'une manière générale, l'extrait méthanolique étudié ne présente pas le même spectre d'action vis-à-vis des souches cibles où nous avons remarqué que l'effet inhibiteur de cet extrait a été plus prononcé sur *S. aureus* (13.66mm) (**tableau VI**). En revanche, nous avons constaté que plusieurs souches bactériennes telles que *P. aeruginosa* et *P. mirabilis* étaient les souches les plus résistantes à l'effet inhibiteur de cet extrait (9.33 mm, 9.33 mm), CMI (6.25 mg/ml, 25mg/ml) respectivement.

L'analyse des résultats par le test ANOVA été très hautement significative (**p 0.001**), et la souche la plus sensible *S. aureus* a été montrer par le test HSD (**p 0.001**)

#### II. 4.3. Activité antimicrobienne de l'extrait acétonique

D'après les résultats obtenues on constate que l'extrait acétonique exerce un effet antibactérien appréciable et variable sur tous les Gram + testés avec des zones d'inhibition de 9.66 mm. Pour *E.coli* ; *salmonella sp* et *Acinetobacter baumannii* (Gram -) des diamètres d'inhibitions de (11.66 mm ; 12 mm; 9.33mm) et des CMI de (12.5 mg/ml; 25 mg/ml ; 3.12 mg/ml) ont été enregistrés respectivement (**figure24**). Concernant *S. aureus*, la concentration minimale inhibitrice de cet extrait est de 6.25mg/ml.

En outre l'extrait acétonique n'a pas un effet inhibiteur contre *K. oxytoca* (diamètre d'inhibition est de 8 mm).

L'extrait AC d'*A.herba alba* présenté, une activité bactéricide pour les souches Gram+, à savoir *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* avec des CMB de (25 mg/ml). De même pour les souches à Gram-, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acenetobacter baumannii*, *salmonella sp* et *Proteus mirabilis* avec des CMB de (50 mg/ml; 25 mg/ml ;12.5 mg/ml ;25 mg/ml ;25mg/ml) respectivement.

L'analyse des résultats par le test ANOVA a montre que les valeurs des zones d'inhibition varient d'une manière très hautement significative selon les souches (**p 0.001**), et la souche la plus résistante était *P. aeruginosa* (**p>0.05**)



**Figure 24:** L'effet inhibiteur d'extrait acétonique d' *Aherba alba* vis-à-vis *S. aureus*

#### II 4.4. Activité antimicrobienne de l'extrait obtenue par décoction

Les résultats présentés dans la **figure 25** et consignés dans le **tableau VI** montrent que l'extrait obtenue par décoction de la plante *A.herba alba* n'a pas eu une bonne activité inhibitrice sur les souches bactériennes utilisées avec des zones d'inhibition ne dépassant pas un diamètre de 9.66 mm observé contre *Acenitobacter baumannii* , à l'exception de la souche *E.coli* dont la zone d'inhibition était de 11.66mm à la concentration de 100 mg/ml. Ainsi sa croissance a été arrêtée à concentration minimale inhibitrice et concentration minimale bactéricide de 6.25 mg/ml et 50 mg/ml respectivement.

La différence à partir du test ANOVA a été très hautement significative (**p 0.001**), et la souche la plus résistante *K.oxytoca* a été montrer par le teste HSD



**Figure 25 :** L'effet d'extrait obtenue par décoction d'*A.herba alba* vis-à-vis *P. mirabilis*.

#### II 4.5. Activité antimicrobienne d'extrait avec l'eau chaude

D'après les résultats obtenus, on remarque que l'extrait obtenu avec l'eau chaude a réagi positivement sur toutes les souches bactériennes testées, avec des diamètres qui se varient de 9.33 mm à 12.66 mm (**tableau VI**). Une activité considérable a été marquée contre *P. aeruginosa* qui se traduit par 12.66mm de diamètre de la zone d'inhibition avec CMB de 25mg/ml. D'autre part les souches les plus résistantes ont été *E.coli* ; *A. baumannii* ; *Salmonella sp.*, où nous avons enregistré un diamètre d'inhibition de 9.33 mm , et des CMI de (6.5 ; 6.25 ;12.5) mg/ml respectivement.

De plus, les résultats de détermination des concentrations minimales bactéricides ont montré que les valeurs de la CMB varié entre 25mg/ml et 50 mg/ml pour toutes les bactéries testées.

L'analyse des résultats par le test ANOVA était hautement significative (**p 0.05**), et les souches les plus résistantes sont *E.coli* ; *A.baumannii* ; *Salmoella* avec (**p 0.05**),

#### II 4.6. Activité antibactérienne d'huile essentielle d'*A.herba alba*

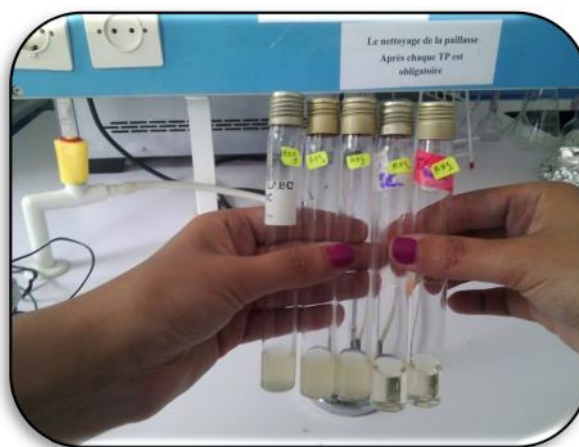
L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* Asso a montré un important effet inhibiteur contre tout les microorganismes étudiés à l'exception de *Proteus mirabilis*.

Les micro-organismes les plus sensibles à cette huile essentielle étaient *Klebsiella oxytoca*, *Acenetobacter baumannii*, et *Pseudomonas aeruginosa* (Gram négative) et *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes* (Gram positive) dont la croissance a été arrêtée aux concentrations minimales inhibitrices de (1/64, 1/32, 1/128,1/32 et 1/16 )mg/ml respectivement et avec diamètres d'inhibitions de (15.33, 13.33, 12.66, 12.66 et 12.33) mm respectivement.

Suite à ces résultats, l'huile essentielle est jugée modérément active contre *Escherichia coli*, avec un diamètre d'inhibition de 11.33 mm, une concentration minimale inhibitrice de 1/32 mg/ml et une concentration minimale bactéricide de 1 / 4mg /ml (**Figure26** ).

Seule la souche de *Proteus mirabilis* se révèle la plus résistante, cela peut justifier que la composition de notre huile essentielle ne possède aucun pouvoir sur ce type des souches microbiennes.

L'analyse des résultats par le test ANOVA était très hautement significative ( $p$  0.001), et la souche la plus résistante *proteus mirabilis* a été montrée par le test HSD avec ( $p$  0.001).



**Figure 26** : Détermination du CMB d'huile d' *Aherba alba* vis-à-vis *E.coli*

La comparaison des résultats du test de l'évaluation de l'activité antibactérienne sur chaque souche montre que les souches testées ; *E.coli*, *A. baumannii*, *Salmonella sp.* , étaient sensibles à l'action de tous nos extraits, ainsi que celle d'huile essentielle notant que l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique vis-à-vis *E.coli* et celle d'huile vis-à-vis *A. baumannii* et *Salmonella sp.* , était supérieure à celle des autres extraits, avec un diamètre d'inhibition de 15 mm; 13.33 mm et 12.33mm respectivement.

Tous les souches bactérienne étaient résistante a l'extrait obtenu par décoction, avec un diamètre d'inhibition variée entre 7.33mm-9.33mm à l'exception d'*E.coli* et *Salmonella sp.*, qui ont été résistante à l'extrait de l'eau chaude, avec un diamètre d'inhibition de 9.33mm.

L'analyse comparative de l'effet des extraits et d'huile sur toutes les souches a été très hautement significative ( $p < 0,001$ ) (Annexe03).

D'après les résultats obtenus, une variabilité dans les valeurs de diamètres d'inhibition, de CMI et de CMB a été observée, cette variabilité dépend en premier temps de la nature de la souche testée et en deuxième temps de la composition chimique de l'extrait étudié.

Il apparaît que les extraits hydroalcooliques (éthanolique et méthanolique) permet une meilleure concentration des principes actifs (phénols totaux et flavonoïde), tandis que la teneur la plus basse a été obtenue avec l'extrait de la phase aqueuse ce qui donne à l'extrait hydroalcoolique ainsi qu' à l'huile essentielle leur meilleur effet antibactérienne sur toutes les

souches testées. Cette observation est en accord avec celle rapportée par **Aljebouri (2005) ; Seddik et al., (2010) ; et Jouda (2013)**).

Les bactéries *P. mirabilis* et *P. aeruginosa* ont une forte résistance pour tous les extraits. Par contre *S. aureus* est la plus sensible aux extraits méthanolique et éthanolique. Cela confirme la notion de corrélation entre la teneur en composés phénoliques et flavonoïde d'une plante et son effet antimicrobien.

L'activité des agents antimicrobiens sur les bactéries Gram positif peut s'expliquer par l'accessibilité directe de ces molécules aux peptidoglycanes constituant la paroi, provoquant ainsi la dissolution complète de cette dernière. Les bactéries perdent alors leur rigidité et se lysent sous l'effet de leur pression osmotique interne qui rompt leur membrane cytoplasmique d'une part, d'une autre part la configuration spatiale des molécules l'empêchent de traverser les protéines de transport (porines) de la membrane externe des bactéries Gram négatif, et ne peuvent pas donc atteindre le peptidoglycane de la paroi bactérienne (**Bousseboua, 2001**).

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* et *P. mirabilis* se révèlent les plus résistantes, cela est lié à leurs grandes capacités à développer des résistances à de nombreux agents antimicrobiens, d'où leurs implications sont fréquentes dans les infections hospitalières (**Mann et al., 2000**). Nos résultats sont concordants avec ceux obtenus par de nombreux auteurs qui rapportent la faible sensibilité de ces souches (**Biondi et al., 1993 ; Yilmaz et al., 2013 ; Millezi et al., 2012**).

L'hypersensibilité de la souche *Staphylococcus aureus* peut s'expliquer par la probabilité de sensibilité des bactéries Gram (+) aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH et les extraits naturels dus à l'absence de la membrane externe (**Assous et al., 1999**).

L'activité antibactérienne des extraits de plantes est due aux différents agents chimiques présents dans ces extraits, les flavonoïdes et les triterpénoïdes ainsi que d'autres composés de nature phénolique qui sont classifiés comme composés antibiotiques très actifs (**Rojas et al., 1992 ; Marjorie, 1999**).

La sensibilité de *S. aureus* aux extraits éthanolique et méthanolique peut s'expliquer par le fait que les flavonoïdes de la plante exercent une inhibition de la croissance via plusieurs mécanismes: inhibition de la biosynthèse des protéines et des phospholipides membranaires, ainsi que de leur acide nucléique (**Hassan et al., 2006**).

Les flavonoïdes ont une activité antibactérienne très vaste et très diversifiée. En effet, ils s'attaquent à un grand nombre de bactéries avec une intensité différente selon le microorganisme et l'écosystème dans lequel il se trouve : les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries à savoir *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (Babayi *et al.*, 2004 ; Ulanowska *et al.*, 2006). Cette activité est due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes (Ulanowska *et al.*, 2006).

Parmi les principaux mécanismes d'action des composés phénoliques sur les microorganismes, on peut citer leur forte dénaturation des protéines, l'inhibition de la synthèse d'acide nucléique, l'altération des fonctions de la membrane cytoplasmique et l'inhibition du métabolisme énergétique microbien (Macheix *et al.*, 2005).

Il faut également signaler que le pH d'une substance peut affecter son activité antimicrobienne. A faible pH, les molécules peuvent se dissoudre plus facilement dans la phase lipidique de la membrane bactérienne, ce qui justifie le grand pouvoir inhibiteur des acides phénoliques (Ribereau-Gayon, 1996). L'aspect lipophile des polyphénols (flavonoïdes et les quinones) leur permet aussi d'interagir avec les lipides membranaires en neutralisent leur potentiel électrique (Ghedira, 2005).

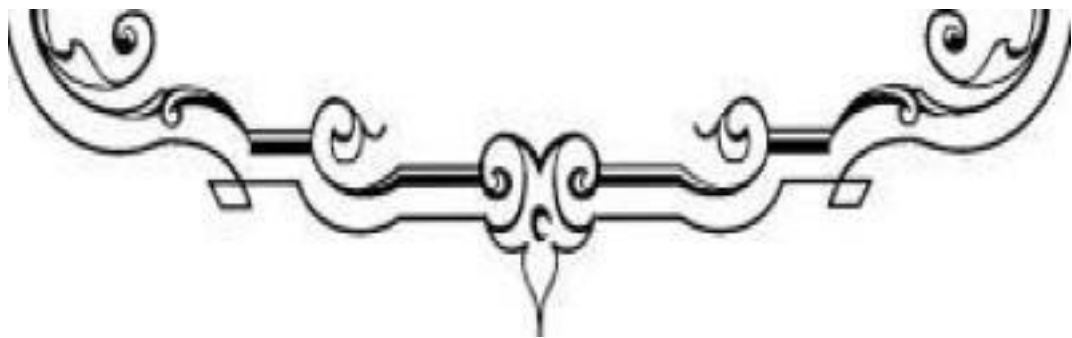
L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle peut être attribuée principalement à son constituant majoritaire à savoir les alcools terpéniques qui sont particulièrement actifs contre les cellules microbiennes car ils sont solubles dans les milieux aqueux et ils provoquent d'importants dégâts sur les parois cellulaires des microorganismes. De plus, les alcools possèdent une activité bactéricide plutôt que bactériostatique (Hogg *et al.*, 1972 ; Benkeblia 2004).

L'action antibactérienne de notre huile d'*A. herba alba* peut être attribuée par sa richesse en trois composés principaux (Davanone, Camphor et Thujone) qui ont rapporté pour leurs pouvoirs antibactériens contre plusieurs souches bactériennes testés (Longaray Delamare *et al.*, 2007 ; Lopes-Lutz *et al.*, 2008). L'action combinée (synergie) de différents composés à l'origine de cet extrait peut expliquer la variation des résultats entre même espèce de différente région du monde. D'après Oussou *et al.* (2004), ces molécules agiraient le plus souvent par une action synergique, soit seules ou avec les composés mineurs qui peuvent contribuer significativement à l'activité des huiles essentielles (Lahlou, 2004 ; Kordali *et al.*, 2005) .





## *Conclusion*



De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

De plus la recherche des nouvelles substances antibiotiques a devenue un préoccupation mondiale vu la dissémination de résistance aux antibiotiques à travers le monde entier.

Les extraits naturels issus des plantes contiennent une extrême variété de composés phénoliques et d'huiles essentielles auxquelles on attribue un pouvoir inhibiteur des microorganismes.

Ce travail avait pour objectifs d'extraire et de quantifier les composés phénoliques et d'huiles essentielles à partir de la plante *Artemisia herba alba*. Ensuite, nous avons accentué notre étude sur la mise en évidence de l'effet antibactérien des extraits et d'huiles obtenus sur huit souches bactériennes pathogènes.

L'échantillon étudié provient de la région de l'extrême Est algérien, Khenchela. Du point de vue phytochimique, cette plante médicinale s'est révélée riche en composés phénoliques et en flavonoïdes, comme en témoigne l'apparition de colorations vert noirâtre et orange, par addition de  $\text{FeCl}_3$  et de cyanidine, respectivement.

Les dosages des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits ont été effectués selon la méthode de Folin-Ciocalteu et  $\text{AlCl}_3$  en utilisant l'acide gallique et quercétine comme référence. Les résultats obtenus indiquent des teneurs relativement élevées en polyphénols et flavonoïdes notamment dans les extraits éthanolique et méthanolique.

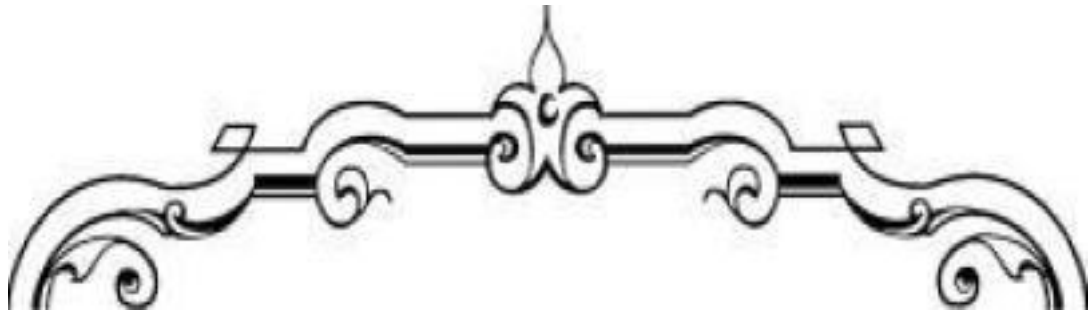
Les extraits ont révélé des activités antibactériennes variables contre les différentes souches microbiennes testées. Le spectre d'activité varie en fonction de solvant utilisé et la méthode d'extraction, de leurs compositions chimiques et du Gram des bactéries.

Ainsi, l'extrait éthanolique présente une activité inhibitrice bactéricide plus importante par rapport aux autres extraits, en accord avec son teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux. Suivi par l'huile essentielle.

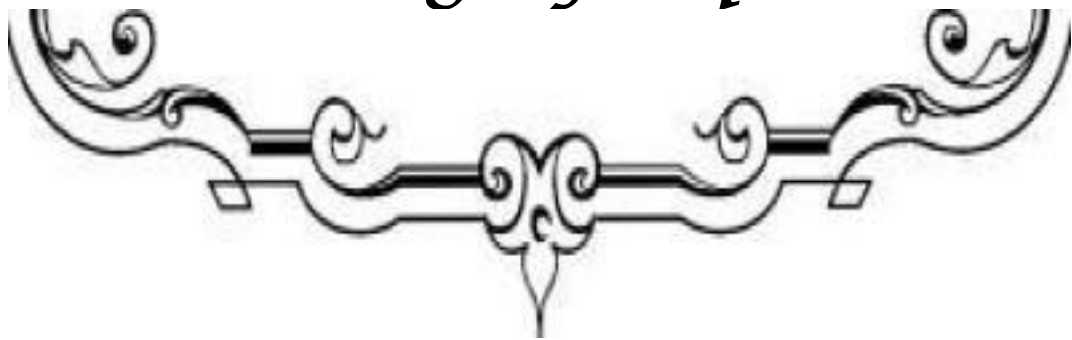
Les souches à Gram positif étaient plus sensibles aux effets des extraits polyphénoliques par rapport aux souches à Gram négatif qui sont révélées relativement résistantes.

Toutefois, dans l'intérêt d'apporter un apport complémentaire à cette étude, il serait intéressant d'effectuer d'autres analyses telles que :

- L'identification des différents constituants des composés phénoliques des extraits, par HPLC-MS.
- L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis d'autres bactéries et champignons pathogènes et définir leur mode d'action,
- La confirmation de l'activité antibactérienne mise en évidence *in vivo*,
- Et enfin, tester l'aptitude de ces extraits à développer d'autres activités biologiques en utilisant différentes techniques.



*Références  
bibliographiques*



A

**Abad M.J., Bedoya L.M., Apaza L. et Bermejo P.(2012)** -The *Artemisia L.* Genus: A review of bioactive essential oil. *Molecule*.Vol. 17: Pp.2542-2566.

**AFNOR, (1986)** - Huiles essentielles. Recueil de normes françaises. Edition Tec&Doc Lavoisier. 2e édition.

**Aidoud A. (1983)** - Contribution a l'étude des écosystèmes steppiques du Sud Oranais : phytomasse, productivité primaire et applications pastorales. Thèse de Doctoral de 3e Cycle, USTHB, Alger, 245 p.

**Aidoud A. (1989)** - Les écosystèmes à Armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso.). II: Phytomasse et productivité primaire, Biocénoses, Bulletin d'écologie terrestre,vol. 4,no (1-2) : Pp.70-90.

**Akrout A., El-Janil H., Amouri S. et Neffati M. (2010)** - Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris L.*, *Artemisia herba alba* Asso, & *thymus capitatus Hoff.* and Link Growing wild in the southern of Tunisia. *Rec Res Sci Tech*.Vol. 2: Pp.29-39.

**Aljebouri Huda S. , Thamer M., Nadya I.et Al-madany j. ( 2005)** -Antibacterial activity of extracts from *Artemisia herba alba* College of Pharmacy , Tikrit University , Tikrit , Iraq Tikrit Journal of Phamaceuticsl Sciences.vol. 1. no 1 :Pp.71-74.

**Al-Momani, W., Abu-Basha, E., Janakat, S., Nicholas, R. A., & Ayling, R. D. (2007)** - In vitro antimycoplasmal activity of six Jordanian medicinal plants against three Mycoplasma species. *Tropical animal health and production*, vol.39, no7 : Pp.515-519.

**Angelov G., Penchev P., Condoret J. S., (2007)** - Optimization of operational conditions of ethanol extraction of rosmarinic acid from lemon balm (*Melissa officinalis L.*) scientific papers.vol. 35:Pp.143-176.

**Aouadhi S.( 2010)** -Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. étude de 57 plantes recommandées par les herboristes,thèse magistère , toxicologie. TUNIS,Faculté de médecine,196p .

**Assous M-V., Guérineau A-L-B., Bourly H., Dhote R., Paugam A. (1999)** - Microbiologie et pathologie infectieuse. Edition américaine. 32p.

**Athamena S. (2009)** - Etude quantitative des flavonoïdes des grains de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique, Thèse de magister, Université Batna.Pp.143-187.

**Audigin C., Zonszain F. (2005)** - Biochimie structurale.Ed.doin,France,258p.

**Avril J.L., Dabernat H., Denis F., Monteil H.( 1992)** - Bacteriologie clinique. 2ème Ed.,Ellipses.511p.

**Awad N.E., A.A. Seida, Z. Nermeen Shaffie et Abd El-Aziz A.M.(2012)** - Hypoglycemic Activity of *Artemisia herba-alba (Asso.)* used in Egyptian Traditional Medicine as Hypoglycemic Remedy. JAPS.vol 2 , no 03:Pp. 30-39.

**Ayad N., Hellal B., Hellal T., Rahmani A. et Bensmira Z. (2014)** – Qualités nutritionnelles de l'armoise blanche des parcours steppiques du sud de la préfecture de Tlemcen. Revue Ecologie-Environnement vol.10 :Pp. 71-74

## **B**

**Baba Aissa F.( 2000)** - Encyclopédie des plantes utiles. Ed. Librairie moderne, Rouïba, 368 p.

**Babayi H., Kolo I. et Okogum JI. (2004)** -The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. Biochemistri,vol. 16 .no 2 : Pp.102-5.

**Bakkali F., Averbek S. et Idaomar M. (2008)** -Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology,vol .46 ,no2 :Pp. 446-475.

**Barboni T. (2006)** - Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie . Thèse de doctorat, Université de Corse Pascal Paoli.Pp.123-176.

**Barkely T M., Brouillet L., Strother J L. (2006)** - Flora of North America Asteraceae. Oxford University Press, New York, 193 P.

**Baser K.H.C. et Buchbauer G. (2010)** -Handbook of Essential Oils: Science. Technology, and Applications, ISBN- 1420063154.

**Bassereau M., Chaintreau A., Duperrex S., Joulain D., Leijs H., Loesing G., Owen N., Sherlock A., Schippa C. et Thorel P-J.,(2007)** - GC-MS Quantification of suspected volatile allergens in fragrances, 2. Data treatment strategies and method performances, Journal of agricultural and food chemistry,vol, 55, no 1 :Pp. 25-31.

**Bassole H.N., kabore Z.I., Traore A.S. 2001** - Etude des profils bactériostatiques et bactéricides d'extraits végétaux vis-à-vis de germes pathogènes impliqués dans la contamination des denrées alimentaires d'origine animale, Pharm Méd Trad .Pp. 113-122.

**Battandier J. (1900)** - Plantes médicinales. Ed. Girald, Alger, 61 p.

**Békro Y., Janat A., békro M., Boua B., trabi B.F.H. et Éhilé E. (2007)** - Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia pulcherrima*(baill.) herend et zarucchi (Caesalpinaceae). Sciences & nature. Vol.4, no 2 : Pp.217 – 225.

**Belâche P.(1979)** -*Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie*. Maloine.

**Belakhdar J. (1997)**- La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires, Ed. Ibis press, Rabat,89p.

**Ben Amor B. (2008)** -Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs ; texturation par détente instantanée contrôlée DIC. Thèse de doctorat en Génie des Procédés Industriels. Université de la Rochelle. France. 187p.

**Bencheqroun H.K., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A. et Chaouch A. (2012 )**- Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège VOL. 81 :Pp. 4-21.

**Bencheqroun H.K., Ghanmi.M.,Satrani B.,Aafi A et Chaouch A. (2012)** –Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc.Antimicrobial activity of the essential oil of an endemic plant in Morocco, *Artemisia mesatlantica* ,Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, vol.81: Pp.4 - 21.

**Bendahou M. (2007)** -Composition chimique et propriétés biologiques des extraits de quelques plantes aromatique et médicinales de l'ouest algérien. Thèse de Doctorat, Université Aboubekr Belkaid,Tlemcen, 45p.

**Benjilali B., et Richard H. (1980)** - Etude de quelques peuplements d'Armoise blanche du Maroc *Artemisia herba alba*. Rivista Italiana E.P.P.O.S., Pp. 69 - 74.

**Benkeblia N. (2004)** - Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie.vol.37 : Pp.263-268.

**Benzeggouta N., 2005** - Thèse Présentée en vue de l'Obtention du Diplôme de Magister en Pharmacochimie , Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Infusées de Quatre Plantes. Pp.42-59 .

**Bergogne-Berezin E., Joly-Guillou M.L., Towner K.J.(1996)** - *Acinetobacter*: microbiology,epidemiology, infections, management. Boca Raton, CRC Press.Pp.13-36.

**Bergogne-Berezin E.et Towner K.J.( 1996)** - *Acinetobacter spp.* as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. clinical microbiology reviews .vol. 9:Pp. 148-165.

**Bezza L., Mannarino A., Fattarsi K., Mikail C., Abou L., Hadji-Minaglou F.et Kaloustian J. (2010)** -Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). Phytothérapie.vol.8,no: Pp. 277-281.

**Biondi D., Cianci P., Geraci C., Ruberto G., et Piattelli M.(1993)** - Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from *sicilian* aromatic plants. Flavour and Fragrance Journal. Vol. 8 , no 6 : Pp. 331-337.

**Boizot N.et Charpentier J. P. (2006)** - Méthode rapide d'évaluation du contenu en

**Botineau M. (2013)** - Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed. Tec&Doc Lavoisier, Pp. 1143-1193.

**Boudjelal A. ( 2013)** - Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajugaiva, Artemisia herba alba et Marrubium*

*vulgare*)de la région de M'Sila, Algérie,thèse doctorat ,Biochimie Appliquée,Annaba , Université Badji Mokhtar,61p.

**Boudjouref M. (2011)** - Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia herba alba*. Thèse magister Biochimie appliquée. Université Ferhat Abbas. Sétif.64p.

**Bouldjadj R. (2009)** - Étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine. Thèse de magister,Université Mentour Constantine,65p.

**Bouquet, A.et Fouret, A. (1975)** -Recherches chimiques préliminaires sur les plantes médicinales du Congo-Brazzaville. Fitoterapia.vol. 46 :Pp. 175-191

**Bourbouze A. et Donadieu F. (1987)** - L'élevage sur parcours en régions méditerranéennes. Série B: Etudes et recherches, Ed. CIHEAM, 104p.

**Bousseboua H. (2001)**. Eléments de microbiologie générale. Pp. 32, 160-167.

**Bouzidi N. ( 2001)** - Essai d'intégration des données de l'inventaire écologique et pastoral dans une base de données en zone semi-aride du Nord-Ouest de l'Algérie. Cas de la région de Saida, Mémoire de Magister, Centre universitaire de Mascara,50p.

**Bruneton J (2009)** -Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, Paris; Cachan, Éd. Tec et Doc ; Éditions médicales internationales.

**Bruneton J.(1993)** - Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales.

**Bruneton J.(1999)**-Pharmacognosie, Phytochimie , Plantes médicinales ,3ème Ed. Tec et Doc, Paris.494, 279p.

**Burt S. (2004)** - Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review, International journal of food microbiology, vol.94, no 3,Pp. 223-253.

## C

**Chaintreau A., Joulain D., Marin C., Schmidt C.-O.et. Vey M.(2003)** - GC-MS quantitation of fragrance compounds suspected to cause skin reactions, 1. Journal of agricultural and food chemistry, vol.51,no 22 :Pp. 6398-6403.

**Chambers H.F.( 1997)** - Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *clinical microbiology reviews*, vol. 10:Pp. 781-791.

**Charchari S., Dahoun A., Bachi, F. et Benslimani A. (1996)**- Antimicrobial activity in vitro of essential oils of *Artemisia herba-alba* Asso and *Artemisia judaica* L., from Algeria, Rivista Italiana E.P.P.O.S , vol.18,no3 :54p .

**Charnay P., Tourmeau J. (2007)** - Le Petit Futé Guide pratique de la Dégustation .Ed .PGA ,Paris.235p.

**Charpentier B., Hamon-Lorleac'h F., Harlay A., et idoux L. (2008)**-Guide Du Préparateur En Pharmacie .3ème Ed. Masson,Paris, 1127p.

**Clementine B.,Mathieu S., Elena V.e Ilonka S. (2012)** - Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'*arachide* *Arachishypogaea*L.Revue de Génie industriel. 37p.

**Clevenger F.( 1928)** - Apparatus for the determination of volatile oil. J. Am. Pharm. Asso., vol.17 : 346p.

**Coyle, M. B. (2005)** -Manual of antimicrobial susceptibility testing. American Society for Microbiology.Pp.56-62.

## **D**

**Da Silva J A. (2004)** - Mining the essential oils of the Anthemideae. African Journal of Biotechnology ,Vol. 3 no 12 :Pp. 706-720 .

**Dacosta Y.(2003)**-Les phytonutriments bioactifs. Ed .Yves Dacosta, Paris, 317p.

**Debuigne G. (1984)** - Larousse des plantes qui guérissent. Ed. Larousse, Paris, 254 p.

**Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., et Capasso, F.(1999)** -Flavonoids old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life. Sci.,vol .65 no 4:Pp .337-53.

**Djebaili S. ( 1984)** - Steppe algérienne: phytosociologie et écologie. Ed. OPU, Alger, 140 p.

**Djebaili S.( 1987)** - Rapport phyto-écologique et pastoral (Wilaya de Djelfa). Unité de recherche sur les ressources biologique terrestres, 159 p.

**Djebaili.S, Djellouli. Y,Daget. P. (1989** - Les steppes pâturées des Hauts Plateaux Algériens. Fourrages. Vol.120:Pp. 393-400.

**Djenane D., Yangüela J., Derriche F., Bouarab L et Roncales P. (2012)** - Utilisation des Médicinales Connues Comme Aliments. Vol.110 :Pp 95-98.

**Djenane D., Yangüela J., Derriche F., Bouarab L., Roncales P.(2012)** -The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids, *Free Rad. Res.*vol.22: Pp.375-383

**Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. et Vidal, N. (2006)** - Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds.*Food Chem.* Vol.97: Pp.654-660.

**Dob T. et Benabdelkader T. (2006)** -Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia herba-alba* Asso Grown in Algeria. *Journal of Essential Oil Research.*vol.18, no6: p . 685-690.

### **E**

**Edeas M. (2007)** - Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*,vol .5:Pp. 264-270.

### **G**

**Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I. (2007)** - Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils, *Food Chemistry.* Vol.102 NO 3:Pp.898-904.

**Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A. et Fernández A (2010)** - Gutiérrez. Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules.* Vol. 15 : Pp. 8813- 8826.

**Gazengel J. M., et Orecchioni A. M. (2012)** - Le préparateur en pharmacie , Guide théorique et pratique,2eme Ed.Lavoisiere,Paris.1705p.

**Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Ismaili M.R., Houtia H., Manfalouti H., Benchakroun K., Abarchane M., Harki L., Boukir A, Chaouch A. et Charrouf Z. (2010)** - Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles

essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guercif (Maroc oriental). *Phytothérapie*.vol. 8,no 5 :Pp. 295-301.

**Ghedira k. (2005)** Les flavonoïdes: Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*.vol. **3**, no **4**:Pp. 162-169.

**Ghestem A., Seguin E., Paris M., et Orecchioni A. M. (2001)** -Le préparateur en pharmacie dossier 2èmeEd .TEC et DOC, Paris, 275p.

**Ghrabi Z. S. and R. L. (2008)** - *Artemisia herba alba* Asso. A Guide to Medicinal Plants in North Africa, Pp. 49 - 49.

**Gomez-Caravaca A.M., Gomez-Romero M., Arraez-Roman D., Segura-Carretero A. et Fernandez-Gutierrez A. (2006)**. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Vol. **41** :Pp. 1220-1234.

**Govan J.R.W. (1992)** - Microbiology of lung infection in cystic fibrosis. *British Medical Bulletin*,vol.48: Pp. 912-930.

**Gseyra N.( 2011)** - Étude Phytochimiques de Deux Espèces Pastorales. Ed. EUE, France, 160p.

**Guignard J.I., (1994)**. Abrégé de botanique, 9eme édition, éditeur Masson. 276 p.

## H

**Hamia C., Guergab A., Rennane N., Birache M., Haddad M., Saidi M et yousfi M. (2014)** -Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits de dix plantes médicinales. *Annales des sciences et technologie*. Vol **6**. N° **1**.

**Hart T.et Shears P. (1997)** - Atlas de poche de microbiologie. Edit. Médecine-Sciences, Flammarion , 313p.

**Hassan S.W., Umar R.A., Lawal M., Biblis L.S., Muhammed B.Y.et Dabai Y.U (2006)** - Evaluation of antibacterial activity and phyto chemical analysis of root extracts of *Boxia angustifolia*. *African Journal of Biotechnology*.vol. **5** , no18 :Pp .1602-07.

**Heim K. E., Tagliaferro A. R., et Bobilya D. J.(2002)** -Flavonoid antioxidants , chemistry , metabolism and structure, activity relationships. The Journal of Nutritional Biochemistry.Vol. 13: Pp. 572-584.

**Herbert R.B. (1989)**- The biosynthesis of secondary métabolite, Chapman and Halle,vol. 2: Pp.111-115.

**Hernandez Ochoa L.R.(2005)** -Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combiné «solvant/actif» d'origine végétale. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique De Toulouse.

**Hifnawy, M. S., Rashwan, O. A., & Rabeh, M. A. (2001)** - Comparative chemical and biological investigations of certain essential oils belonging to families Asteraceae . Lamiaceae and Graminae, Bull Fac Pharm Cairo University, vol.39 : Pp.35-53.

**Hogg JW., Terhune SJ , et Pichitakul N.( 1972)** - Essential oils and their constituents. IX. The oils of *Ocimumsanctum* and *Ocimumbasilicum* fromThailand. FlavorInd., Jan.vol. 3 :Pp. 47-49.

**Horikawa M., Nora T.et Kamei Y. (1999)** - In vitro antimethicillin.resistant *Staphylococcus aureus* activity found in extract of marine algae in digenous to the costline of Japan. J. Antibiot. Vol :52, Pp .186-89.

**Hota D. (2007)** - bioactive medicinal plants. Gene-Tech Books New Delhi 11002.

**Hudaiba M. et Aburjai T. (2006)** - Composition of the essential oil from *Artemisia herba-alba* grown in Jordan. *J. Essential Oil Res* vol.18,no 3 :Pp. 301-304.

**I**

**Iserin P. (2001)**. Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparations, soins. 2nd edition, Dorling Kindersiey Limited, Londres.

**J**

**Jouda M. M. (2013)** -The Antibacterial Effect of Some Medicinal Plant Extract and their Synergistic Effect with Antibiotic and Non-antibiotic Drugs By Islamic University-Gaza Deanship of Graduate Studies Faculty of Science Biological Sciences Master Program .102p.

**K**

**Kaismoune N. ( 2009) -** *Listeria monocytogenes* et les produits alimentaires.

**Katalinic V., Mozina S., Skroza D., Generalic I., Abramovic H., Milos M., Ljubenkovic I., Piskernik S., Pezo I., Terpin P. et Boban M. (2010) -** Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *J. Food. Chem.* Vol. 119 : Pp. 715-723.

**Kebièche M., Lakroun Z., Mraïhi Z et Soulimani R. (2011) -** Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Phytothérapie*, vol . **9**: Pp.274-282.

**kerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hraš A. R., Simoni M., et Knez Ž (2005) -** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their Antioxidant. Pp .245-321.

**Khireddine H. ( 2013) -** Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie. thèse Magistère : Technologie Alimentaire, WEPIERRE J, 1981- Abrégé de pharmacologie générale et moléculaire, Ed. Masson, Paris, 203.81p.

**Kitamura E., Myoug.H. et Kanei Y. (2002) -** An antifungal protein from the marine bacterium *Streptomyces* sp. Strain Ap77 is specific for *Pythium porphyrae*, a causative agent of red rot disease in *porphyra* SPP. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol .68. no 6 : Pp. 2665-75.

**Koffi E, Sea T., Dodehe Y. et Soro S. (2010) -** Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. *J. Animal & Plant Sci.* Vol. 5 : Pp. 550-558

**Konkon N G., Simaga D and Adjoungova A. (2006)-** Etude phytochimique de mitragyna inermis (willd.) o. ktze (rubiaceae), plante a feuille antidiabetique, *Pharm Méd Trad Afr.* Vol. 14 : Pp. 73-80.

**Kordali S., A. Cakir A., Mavi H., et Yildirim A.(2005) -** Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential oils from three Turkish *Artemisia* species. *Journal of agricultural and food chemistry.* vol.53, no 5: Pp. 1408-1416.

**L**

**Lahlou M. (2004 )** - Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research* . Vol 18, no 6: Pp. 435-448.

**Liaw S.J., Lai H.C., Ho S.W., Luh K.T., Wang W.B. (2001)** - Characterisation of p-nitrophenylglycerol- resistant *Proteus mirabilis* super-swarming mutants. *J. Med. Microbio*,vol. 50: Pp.1039-1048.

**Liu G.Y., Essex A., Buchanan J.T., Datta V., Hoffman H.M., Bastian J.F. et al. (2005)** - *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity. *The Journal of Experimental Medicine*,vol. 202:Pp. 209- 215.

**Longaray Delamare A.P., Moschen-Pistorello I.T., Artico L., Atti-Serafini L. et Echeverrigaray S. (2007)** -Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis L.* and *Salvia triloba L.* cultivated in South Brazil. *Food Chemistry*.vol 100, no 2: Pp. 603-608

**Lopes-Lutz D., Alviano D.S., Alviano C.S., et Kolodziejczyk P.P. (2008)** - Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*. Vol. **69** . no 8: Pp. 1732-1738.

**Lucchesi M.(2005)** - Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat, Université de la Réunion, 80p.

**Lucchesi M.E., Chemat F. et Smadja J.(2004)** -An original solvent free microwave extraction of essential oils from spices. *Flavour and Fragrance Journal*, vol .19, no2, Pp :134-138.

**Lucchesi M.E., Chemat F. et Smadja J.(2004)** - Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs. comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography*, vol,1034, no 2 : Pp. 323-327.

**M**

**Macheix J.J., Fleuriet A.,et Jay-Allemand C. ( 2005)** - Les composés phénoliques des végétaux:un exemple de métabolites secondaires d'importance économique . Ed. Presses polytechnologiques et universitaires romandes,pp . 4-5.

**Macheix J-J., Fleuriet A., Jay-Allemand C.(2005)** - Les composés phénoliques végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed .Presses polytechnologiques et universitaires romandes. Pp.4-5.

**Mahmoudi S., Khali M. et Mahmoudi N. (2013)** -Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus L.*). Nature & technologie. b- sciences agronomiques et biologiques, N° 09 : Pp.35-40.

**Maisuthisakul P., Pasuk S. et Ritthiruangdej P. (2008)** -Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. Journal of Food Composition and Analysis, Vol.21,no 3 :Pp. 229-240.

**Mann C.M., Cox S.D. et Markham J.L. (2000)** - The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). Letters in Applied Microbiology. Vol. 30, no 4: Pp. 294-297.

**Marjorie M. C. (1999)** - Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews.Pp : 564-582.

**Marrif, H. I., Ali, B. H., et Hassan, K. M. (1995)**- Some pharmacological studies on *Artemisia herba-alba* (Asso) in rabbits and mice. Journal of ethnopharmacology, vol.49, no 1 :Pp.51-55.

**Matteucci E. et Giampie L. (2008)** - Proposal open for discussion : defingared diagnostic procedures in experiment al diabetes research. JEtho Pharmacol,vol. 115 : Pp.163-72.

**Mebarka L. (2007)** - Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula*. Mémoire de Magister, Université Ferhat Abbas-Setif, 38p.

**Medjbar M., Bouyoucef A., Benayad T., Zerrouki K. ( 2008)** - Caractérisation des salmonelles dans les tueries avicole de la wilaya de Blida. Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie.Pp.158-161.

**Merghem R. (2009)**- Elément de biochimie végétale. Ed. Bahaeddine, 171p.

**Messai I. (2011)** - Etude phytochimique d'une plante medicinale de l'est algerien (*Artemisia Herba Alba*). Thèse de Doctorat, Université Mentouri Constantine, 60p.

**Millezi A.F., Caixeta D.S., Rossoni D.F., Cardoso M.d.G., et Piccoli R.H.(2012)** - In vitro antimicrobial properties of plant essential oils *thymus vulgaris*, *cymbopogon citratus* and *laurus nobilis* against five important foodborne pathogens. Food Science and Technology Campinas.vol .32: Pp. 167-172.

**Mohamed A., El-Sayed M., Hegazy M., Helaly S., Esmail A. et Mohamed M. (2010)** - Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba alba* . Revue Nat Prod. Vol.4:Pp.1-25.

**Mohammedi Z .et Atik F. (2011)** - Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) karst. Inter. J. Pharma. Bio. Sci. Vol. 2 :Pp. 609-615.

**Mohammedi Z. (2006)**- Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère , Université Abou Bakr Belkaïd, Tlemcen, 76p.

**Moroh J. L. A. (2013)** -Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides*, Thèse de doctorat, Brest.

**Moufid A. et Mohamed E.(2012)** - Faculty of Sciences and Techniques Errachidia, B.P., 21, Errachidia, 52000, Morocco Pakistan Journal of Biological Sciences vol.1, no 24 : Pp.1152-115.

**Muanda F.N. (2010)** -Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat, Université Paul Verlaine-metz., 239p.

**Mulinacci N., Prucher D., Peruzzi M., Romani A., Pinelli P., Giaccherini C.et Vincieri F.F.(2004)** - Commercial and laboratory extracts from artichoke leaves: estimation of caffeoyl esters and flavonoidic compound content. J. Pharm. and Biomed. Anal. Vol. 34 :Pp .349-357.

**Mutlib A E., Abbott F S., (1992)** -Isolation and characterization of carbinolamide and phenolic glucuronide conjugates of (+-)-N-methyl-N-(1-methyl-3, 3 diphenylpropyl)

formamide and Nformylmethamphetamine by FAB/MS, LC/MS/MS, and NMR. Drug Metabolism and Disposition. Vol.20,no3, Pp : 451-460

**N**

**Nacz M et Shahidi F. (2003)**- Phenolics in food and nutraceuticals. Boca Raton, FL: CRC Press.96p .

**Nataro J.P.et Kaper J. B.( 1998)** - Diarrheogenic *E. coli*. clinical microbiology reviews.vol.11 :Pp. 142-201.

**Nawwar M. A. M., El-Mousallamy A. M. D., Barakat H., Buddrus J.et LinscheidM. (1989)** - Flavonoid lactates from leaves of *Marrubium vulgare*. Phytochemistry ,28p. New York, Taylor et Francis, Pp. 81-86.

**Nshimiyimana D S and He Q. (2010)**- Radical Scavenging Capacity of Rwandan CTC Tea Polyphenols Extracted Using Microwave Assisted Extraction.Pakistan Journal of Nutrition,vol. 9, NO 6: Pp.589-593.

**O**

**Oussou K.R., Kanko C., Guessend N., Yolou S., Dosso M., N'Guessan Y.T., Figueredo G., Chalchat J.-C.et Koukoua G. (2004)** - Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire. Comptes Rendus Chimie. Vol. 7, no 10 : Pp. 1081-1086.

**Ozenda P. (1983)** - Flore du Sahara. Ed. CNRS, Paris, 622 p.

**Ozenda P.(1985)** - Flore du Sahara, 2ème éd .CNRS, France, 441p.

**P**

**Paganga G., Miller N., Rice-Evans C.A. (1999)**-The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. *Free Radic Res*.vol 30: Pp.62-153.

**Piochon M.(2008)** - Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse, ProQuest.

**Q**

**Quezel P. et S. Santa S. (1962-1963)** - Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. CNRS, Paris, 1 086 p.

**Quy Diem DO., Angkawijaya A. E., Tran-Nguyen P. L., Huynh L. H., Soetaredjo F. E., Ismadji S. et Ju, Y. H. (2014)** -Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. Journal of food and drug analysis. Vol .22, no 3 :Pp. 296-302.

**R**

**Ribereau-Gayon P. (1996)** - Les composés phénoliques des végétaux. Dun ond, Paris.

**Rojas A., Hernandez L., Pereda-Miranda R. et Mata R. (1992)** -Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacology*. Vol.35 :Pp. 275-283 .

**Romani A. Ieri F. Turchetti B. Mulinacci N. Vincieri F. F. et Buzzini, P.( 2006)** - Analysis of condensed and hydrolysable tannins from commercial plant extracts. *Journal of Pharmaceutical and Biomédical Analysis*: vol.41 : Pp. 415-420.

**Ryser E. T. (1999)** - Foodboren Listeriosis. *Listeria*, listeriosis, and food safety.

**S**

**Saleh N. A. M., El-Negoumy S. I. et Abou-Zaid M. M. (1987)** -Flavonoids of *Artemisia judaica*, *A. monosperma* et *A. herba-alba*. *Phytochemistry*, vol.26 :11p.

**Saleh N. et Chittka L.(2006)** -The importance of experience in the interpretation of conspecific chemical signals. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, vol.61,no2 :Pp. 215-220.

**Saleh N., El-Nougoumy S., Abd-Allah M., Abou-Zaid M., Dellmonica G. et Chopin J.(1985)** - *Phytochemistry* . Vol .24, no 1:Pp. 201- 203.

**Salido S., Valenzuela L.R., Altarejos J., Nogueras M., Sánchez A., et Cano E. (2004)** - Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain. *Biochemical Systematics and Ecology*. Vol .32, no 3: Pp. 265-277.

**Sarni-Manchado P., Cheynier V. (2006)**- Les polyphénols en agroalimentaire. , Ed. Lavoisier,Paris, 398p.

**Seddik K., Nadjet I., Abderrahmane B., Daoud Het Lekhmici A. (2010)** - Antioxydant and antibacterial activities of extracts from *Artemisia herba alba* Asso. leaves and some phenolic Compounds,Journal of Medicinal Plants Research, vol.4,no 13 :Pp 1273-280.

**Sellami H. Mohamed E., Magdi A., Soleiman E., Abeer M. et Naglaa S. (2010)** -Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba-alba* Rec. Nat. Prod.vol. 4:Pp. 1-25.

**Seyoum A., Asres K.,et El-Fiky F. K. (2006)** - Structure radical scavenging activity relationships of flavonoids. Phytochemistry,vol. 67:Pp. 2058–2070.

**Sherif, A., Hall, R. G., et El-Amamy, M. (1987)**- Drugs, insecticides and other agents from *Artemisia*. Medical Hypotheses, vol.23,no2, Pp.187-193.

**Singleton V.L.et Rossi, J. R. (1965)** - Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphothungstic acid. *Am. J. Enol. Vitic*, vol .16 : Pp.144–158.

**Sripad G., Prakash V. et Narasinga Rao M. S. (1982)** - Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents. *J. Biosci.* Vol. 4 : Pp. 145-152.

**Stalikas C D (2007)**- Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids And flavonoids. *J. Sep. Sci.*,vol. 30: Pp.3268–3295.

**Stalikas C. D. (2005)** - Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of separation science.* Vol. 30, no18 :Pp. 3268-3295.

**Sun L., Zhang J., Lu X., Zhang L and Zhang Y. (2011)**-Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food Chem Toxicol*,vol .49: Pp. 2689-2696

**T**

**Tantaoui-Elaraki A ., Ferhout F., Errifi A.(1993)** - Essent. Oil Res. Vol.5 :Pp. 535-545.

**Teetes G L.,Young W.R.,Jotwani M.G., Miller F.R. et Gilstrap F.E.(1980)**- Introduction à la lutte intégrée contre les ennemis du sorgho.Ed.FAO,Amiricane,164p.

**Telli A, Mahboub N., Boudjeneh S., Siboukeur O. E. K.et Moulti-mati F. (2010)** - Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de Datted lyophilisées (PhoenixdactyliferaL) varieteghars. Annales des Sciences et technologie. Vol. 2:Pp 107-114.

**U**

**Ulanowska K . (2006)** -Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DNA, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. Arch. Microbial. Vol .184, no 5: Pp.271-8.

**V**

**Vallès J.et Arthur Mc. (2001)** -*Artemisia* systematic and phylogeny. *USDA Forest Service* Procceding RMRS., 21p.

**W**

**Wijsekara R.O.B., Ratnatunga C.M. et Durbeck K. (1997)** - The distillation of essential oils. Manufacturing and plant Construction Handbook. Eschborn, Federal Republic of Germany, Protrade, Department of foodstuffs & Agriculturak Products.

**Wright CW.( 2002 ).** *Artemisia*. Taylor & Francis. New York.

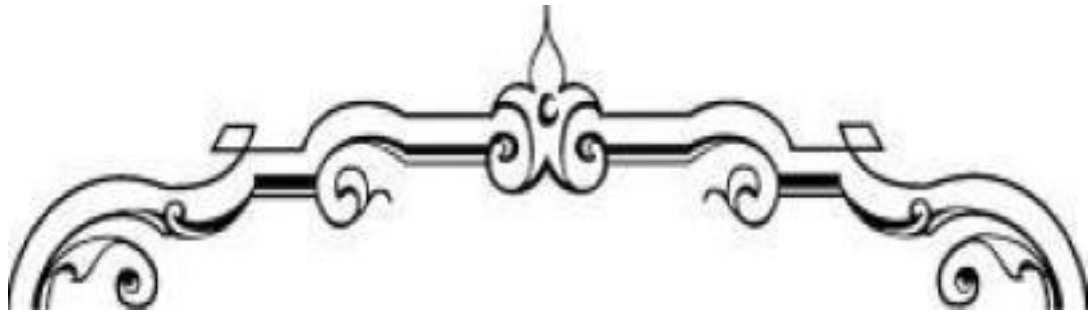
**Y**

**Yilmaz E.S., Timu M.et Aslim B. (2013)** - Antimicrobial, Antioxidant Activity of the Essential Oil of Bay Laurel from Hatay, Turkey. Journal of Essential Oil Bearing Plants. Vol. **16, no 1**: Pp. 108-116.

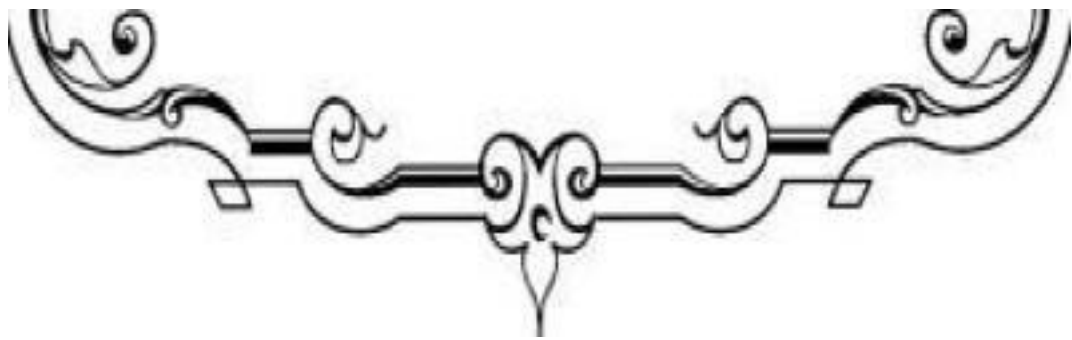
**Z**

**Zeghad N. (2009)** -Etude du contenu polyphénolique de 2 plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne . *Thèse de magister*. Université Mentouri Constantine.

**Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999)** - The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food Chem*.Vol 64 NO 4: Pp. 555– 559.



# *Annexes*



**Annexe N°01 : Composition des différents milieux utilisés**

**L'eau physiologie :**

Chlorure de sodium .....9 g  
Eau distillé .....1000 ml

**Mueller-Hinton :**

L'extrait de viande.....300 ml  
Peptone de Caséine .....17,5 g  
Amidon..... 1,5 g  
Agar .....17g  
Eau distillé .....1000 ml  
PH .....7.4

**Gélose nutritive**

L'extrait de viande..... 3 g  
Peptone .....5 g  
Agar .....15 g  
Eau distillé .....1000 ml  
PH .....7.4

## Annexe N°02 : les courbes d'étalonnage de dosage des polyphénols et des Flavonoïdes

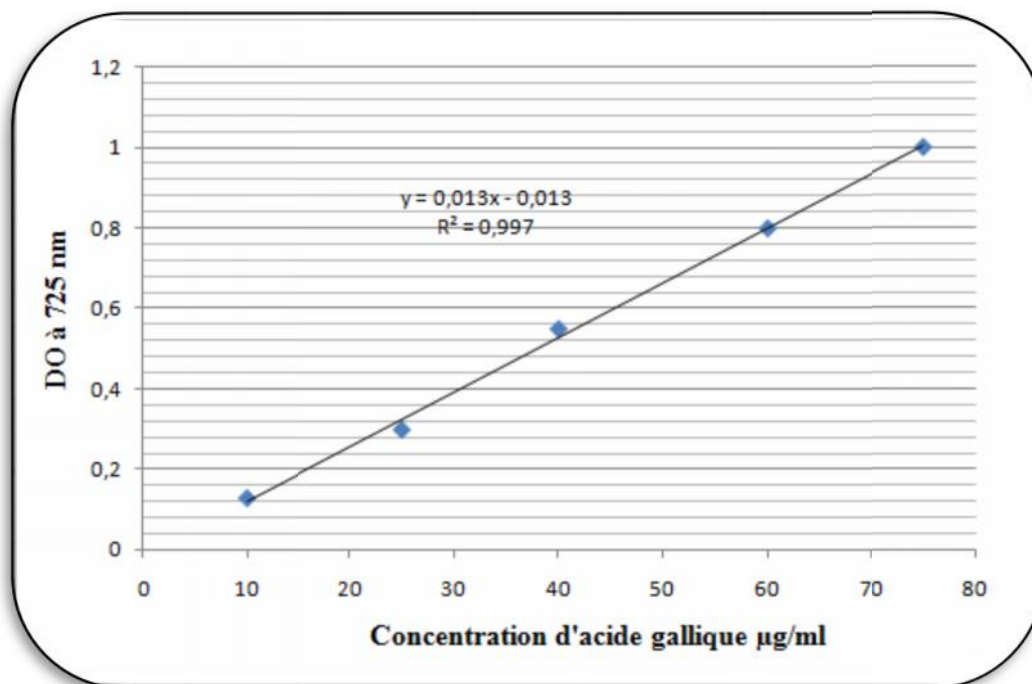


Figure16 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique

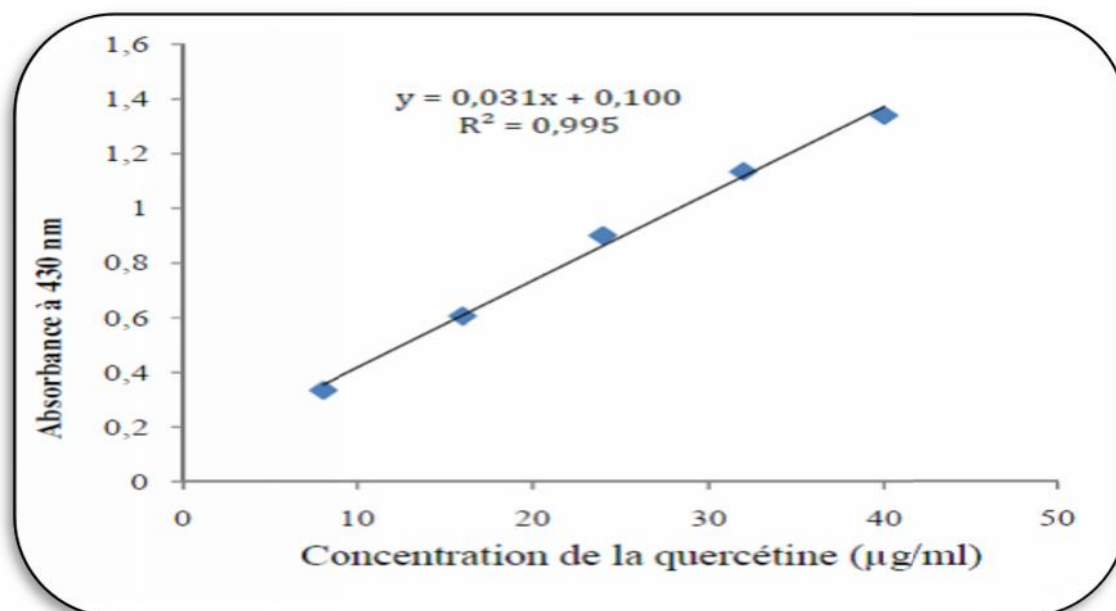


Figure 17: Droite d'étalonnage de la quercétine

## Annexe N°03 : Résultats de l'analyse statistique ANOVA

**Tableau VIII** : Classement et regroupements des Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par l'extrait éthanolique. HSD

Modalités	Moyenne	Regroupements			
E.coli	15,000	A			
S. aureus	14,000	A	B		
P.aeruginosa	13,667	A	B		
P.mirabilis	13,333	A	B	C	
k.oxytoca	12,667		B	C	D
L.monocytogenese					
.	12,667		B	C	D
A.baumanii	11,333			C	D
Salmonella sp.	10,667				D

**Tableau IX** : Classement et regroupements des Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par l'huile essentielle. HSD

Modalités	Moyenne	Regroupements			
k.oxytoca	15,333	A			
A.baumanii	13,333			B	
S. aureus	12,667			B	C
P.aeruginosa	12,667			B	C
Salmonella sp.	12,333			B	C
L.monocytogenese.	12,333			B	C
E.coli	11,333				C
P.mirabilis	8,667				D

**Tableau X** : Classement et regroupements des diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par l'extrait acétonique. HSD

Modalités	Moyenne	Regroupements			
Salmonella sp.	12,000	A			
E.coli	11,667	A	B		
L.monocytogenese.	9,667		B		C
S. aureus	9,667		B		C
P.mirabilis	9,333				C
A.baumanii	9,333				C
P.aeruginosa	9,000				C
k.oxytoca	8,000				C

**Tableau XI** : Classement et regroupements des diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par l'extrait de l'eau chaude. HSD

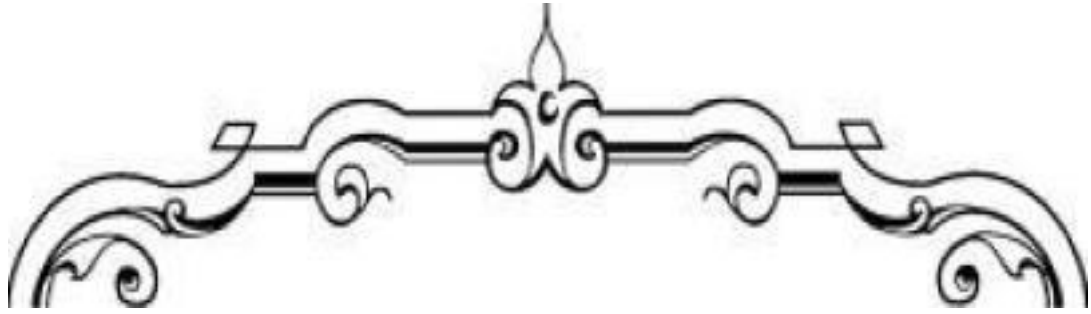
Modalités	Moyenne	Regroupements	
k.oxytoca	13,333	A	
P.aeruginosa	12,667	A	B
P.mirabilis	11,000	A	B
L.monocytogenese.	9,667		B
S. aureus	9,667		B
Salmonella sp.	9,333		B
A.baumannii	9,333		B
E.coli	9,333		B

**Tableau XII** : Classement et regroupements des diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par l'extrait obtenu par décoction . HSD

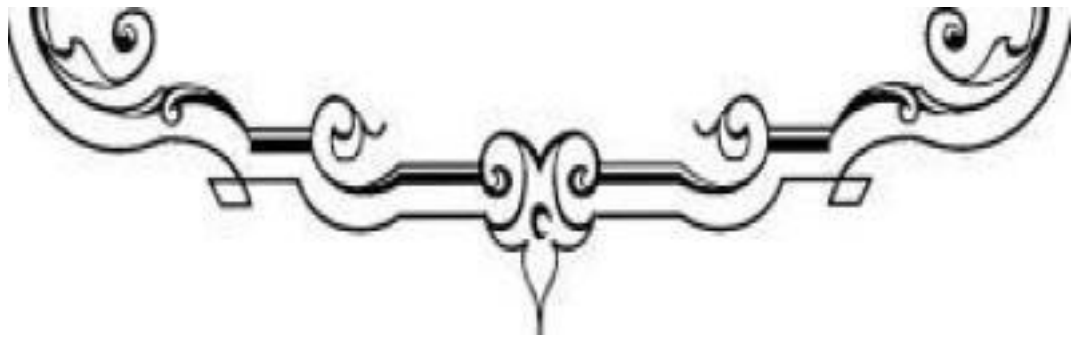
Modalités	Moyenne	Regroupements		
E.coli	11,667	A		
A.baumannii	9,667	A	B	
S. aureus	9,333		B	C
Salmonella sp.	9,000		B	C
L.monocytogenese.	8,667		B	C
P.aeruginosa	8,667		B	C
P.mirabilis	8,333		B	C
k.oxytoca	7,333			C

**Tableau XIII** : Classement et regroupements des diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par l'extrait méthanolique .HSD

Modalités	Moyenne	Regroupements		
S. aureus	13,667	A		
E.coli	12,333	A	B	
k.oxytoca	11,333		B	C
Salmonella sp.	10,667		B	C
A.baumannii	10,333		B	C
L.monocytogenese.	9,667			C
P.aeruginosa	9,333			C
P.mirabilis	9,333			C



# *Résumé*



Les plantes médicinales constituent une source immense de molécules bioactives, dotées de nombreuses activités. L'objectif de notre travail est de réaliser une étude de l'activité antibactérienne des extraits brutes et d'huile essentielle de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba*, appartenant à la famille des *Asteraceae*, l'une des plus importantes de la flore algérienne et les plus utilisées par les thérapeutes traditionnels.

Les résultats de dosage des extraits en polyphénols et flavonoïdes ont été déterminés par des méthodes spectrophotométriques en utilisant les réactifs Folin-Ciocalteu et d' $\text{AlCl}_3$ . Les teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes obtenus par les différentes méthodes d'extraction, révèlent une différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ); la teneur la plus élevée en polyphénols totaux et flavonoïde a été enregistrée pour l'extrait méthanolique (58,96 mg EAG/g ; 22,74 mg EQ/g) suivis par l'extraits éthanolique, acétonique et celui de l'eau chaude, qui contiennent des teneurs proches estimées respectivement à 54.49 et 53.62 et 47.47 mg EAG/g. On outre, la plus faible teneur en poly phénols et flavonoïdes (37.83 mg EAG/g ; 12.45 mg EQ/g) a été enregistrée avec la méthode de décoction.

Cette étude à été conçue aussi pour examiner les activités antibactérienne des Cinq extraits et d'huile essentielle. L'activité à été testée par la méthode de diffusion des disques pour déterminer des zones d'inhibitions, et on a utilisé la méthode du micro dilution pour la détermination des CMI.

Les résultats ont montré que l'huile essentielle et l'extrait éthanolique d'*Artemisia herba alba* ont une meilleur activité antibactérienne vis-à-vis des souches testées avec une zone d'inhibition atteindre jusqu'au 15 mm chez *E.coli* pour l'extrait éthanolique, et aussi l'analyse statistique montre une différence très hautement significatif  $p < 0,001$ .suivi par l'extrait méthanolique avec une zone d'inhibition important atteindre jusqu'a 12.33 mm .L'extrait obtenu par décoction n'a montré pas une activité remarquable avec diamètre varié entre (7.33-11.66mm).

**\*\* Les résultats ont été confirmés par l'analyse statistique d'ANOVA et par HSD\*\***

**Mot(s) clé(s) :** *Artemisia herba alba*, dosage, effet antibactérienne, extrait éthanolique ,huile essentielle,ANOVA

Medicinal plants constitute an immense source of bioactive molecules, endowed with numerous activities. The objective of our work is to carry out a study of the antibacterial activity of the crude extracts and essential oil of the aerial part of *Artemisia herba alba*, belonging to *Asteraceae*, one of the most important Algerian flora and most used by traditional therapists.

The assay of polyphenol and flavonoid content were determined by spectrophotometric methods using the Folin-Ciocalteu and  $AlCl_3$  reagents. The total polyphenol contents obtained and flavonoids by the various extraction methods reveal a very highly significant difference ( $p < 0.01$ ); The highest total polyphenol and flavonoid content was recorded for the methanol extract (58.96 mg EAG / g, 22.74 mg EQ / g) followed by the ethanolic, acetone extracts and that of water Which contain estimated concentrations of 54.49 and 53.62 and 47.47 mg EAG / g respectively. In addition, the lowest content of polyphenols and flavonoids (37.83 mg EAG / g; 12.45 mg EQ / g) was recorded with the decoction method.

This study was also designed to examine the antibacterial activities of five extracts and essential oil. The later was tested by the method of diffusion and determination of the inhibitions diameters, and micro dilution method was used to determine MICs. The results showed that the essential oil and the ethanolic extract of *Artemisia herba alba* have a better antibacterial activity with respect to the tested strains reaching up to 15 mm in *E. coli* for the ethanol extract, followed by the methanol extract with a large inhibition zone reaching up to 12.33 mm, also the statistical analysis shows a very highly significant deference ( $p < 0.001$ ). The extract obtained by decoction did not show remarkable activity with diameter varied between (7.33-11.66mm). The results were confirmed by the statistical analysis of ANOVA and HSD.

**Key words:** *Artemisia herba alba*, antibacterial effect, ethanol extract, essential oil. ANOVA.

تمثل النباتات ذات الاستعمال الطبي مصدر جد هام للجزيئات النشطة حيويًا , العديد من

الهدف من عملنا يتمثل في دراسة النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات الخامة و الزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبته الشيح ( *Artemisia herba alba* ) ( *Asteraceae* ) إحدى أهم أعشاب , لأكثر استعمالا في العلاجات التقليدية

معايرة المركبات الفينولية والفلافينويد المتحصل عليها ,  
قدير تركيزها بالطرق المطيافية ( الأشعة فوق البنفسجية ) باستعمال المتفاعلين : Folin-Ciocalteu وثلاثي كلوريد الالمنيوم  $AlCl_3$  حيث نلاحظ اختلاف جد كبير و مؤثر في تركيز المركبات الفينولية والفلافينويد باختلاف طريقة (  $p < 0,001$  ) . ولقد سجل أعلى تركيز للمركبات الفينولية والفلافينويد  
 (  $12.45 \text{ mg EQ/g}$  ;  $37.83 \text{ mg EAG/g}$  ) . متبوعة بالمستخلص الايثانولي , (  $54.49$  ) الاسيتوني , (  $53.62$  ) , بكميات متقاربة من بعضها . دون نسيان المستخلص المستعمل بكثرة في الطب القديم . Décoction. والذي سجل أقل قيمة (  $22,74 \text{ mg EQ/g}$ ;  $58,96 \text{ mg EAG/g}$  )

خصصت هذه أيضا لاختبار الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلصات الازيت الشيح, وهذا باستعمال طريقة الانتشار على الاقراص. مما يسمح بقياس قطر منطقة تثبيط نمو البكتيريا. طريقة المكرو ديليسيون من اجل تحديد أقل تركيز مثبط.

أظهرت ل عليها بان اكبر فعالية للنشاط البكتيري قد سجلت عند كل من الزيت والمستخلص الميثانولي وهذا ضد كل البكتيريا المجربة . وقد بلغ قطر التثبيط *E.coli* الاي متبوع بالمستخلص الميثانولي بقطر تثبيط مهم بلغت قيمته  $12.33$  . فيما يتعلق قيمة للنشاط المضاد تيريا المستخلص المستخدم بكثرة في الطب القديم بقطر تثبيط تتراوح قيمته من  $7.33$   $11.66$  \*\*  
متحصل عليه عن طريق الحسابي : ANOVA .HSD\*\*

الكلمات المفتاحية: *Artemisia herba alba* ( الشيح), المعايير, فعالية مضادة للبكتيريا, الايثانولي, الزيت الاساسي , ANOVA.

Noms et prénoms : BOUDJEMAA Loubna  
GHEDIR Nour El Houda

Dat de soutenance  
28-06-2017

**MASTER : Microbiologie appliquée**

**THEME**

Etudes de l'activité antibactérienne des composés phénoliques et d'huile essentielle  
*d'Artemisia herba alba*

Résumé

Les plantes médicinales constituent une source immense de molécules bioactives, dotées de nombreuses activités. L'objectif de notre travail est de réaliser une étude de l'activité antibactérienne des extraits brutes et d'huile essentielle de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba*, appartenant à la famille des *Asteraceae*, l'une des plus importantes de la flore algérienne et les plus utilisées par les thérapeutes traditionnels.

Les résultats de dosage des extraits en polyphénols et flavonoïdes ont été déterminés par des méthodes spectrophotométriques en utilisant les réactifs Folin-Ciocalteu et d' $AlCl_3$ . Les teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes obtenus par les différentes méthodes d'extraction, révèlent une différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ); la teneur la plus élevée en polyphénols totaux et flavonoïde a été enregistrée pour l'extrait méthanolique (58,96 mg EAG/g ; 22,74 mg EQ/g) suivis par l'extrait éthanolique, acétonique et celui de l'eau chaude, qui contiennent des teneurs proches estimées respectivement à 54.49 et 53.62 et 47.47 mg EAG/g. On outre, la plus faible teneur en polyphénols et flavonoïdes (37.83 mg EAG/g ; 12.45 mg EQ/g) a été enregistrée avec la méthode de décoction.

Cette étude a été conçue aussi pour examiner les activités antibactériennes des cinq extraits et d'huile essentielle. L'activité a été testée par la méthode de diffusion des disques pour déterminer des zones d'inhibitions, et on a utilisé la méthode de micro dilution pour la détermination des CMI.

Les résultats ont montré que l'huile essentielle et l'extrait éthanolique d'*Artemisia herba alba* ont une meilleure activité antibactérienne vis-à-vis des souches testées avec une zone d'inhibition atteinte jusqu'à 15 mm chez *E.coli* pour l'extrait éthanolique, et aussi l'analyse statistique montre une différence très hautement significative  $p < 0,001$  suivie par l'extrait méthanolique avec une zone d'inhibition importante atteinte jusqu'à 12.33 mm. L'extrait obtenu par décoction n'a montré pas une activité remarquable avec un diamètre varié entre (7.33-11.66mm).

**\*\* Les résultats ont été confirmés par l'analyse statistique d'ANOVA et par HSD\*\***

**Mot(s) clé(s) :** *Artemisia herba alba*, dosage, effet antibactérien, extrait éthanolique, huile essentielle, ANOVA.