

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Génétique moléculaire et amélioration des plantes

Présenté par :

Balach Chaimaa

Achir Sabrina

Bari Karima

Thème

**Contribution à l'étude du rendement en huile essentielle et d'activité
antibactérienne d'*Artemisia herba alba* Asso**

Soutenu publiquement le ...02/07/2024

Jury:

Président: Mlle. SOUALMI Nadia

Encadrant: Mr. MAGHNI Benchohra

Examineur : Mme. BOUHENNI Hassna

Grade

MAA (Univ.Tiaret)

MCA (Univ.Tiaret)

MAB (Univ.Tiaret)

Année universitaire 2023-2024



Remerciement:

Tout d'abord, nous remercions Allah le Tout-Puissant pour Son soutien et Son aide qui nous ont permis de terminer notre parcours universitaire avec force, patience et persévérance.

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre encadreur, Mr. Maghni Benchohra, pour son suivi et pour son énorme soutien, qu'il n'a cessé de nous prodiguer tout au long de la période du travail.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements aux membres du jury pour avoir bien voulu examiner et juger ce travail.

Nos remerciements vont aussi à :

Mr. Benhlima Ahmed , Mr. Houari, Mr. Maârof et Mme Saliha, pour leur soutien et leurs conseils.

Nos derniers remerciements vont aussi à tous ceux qui contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.



graduation





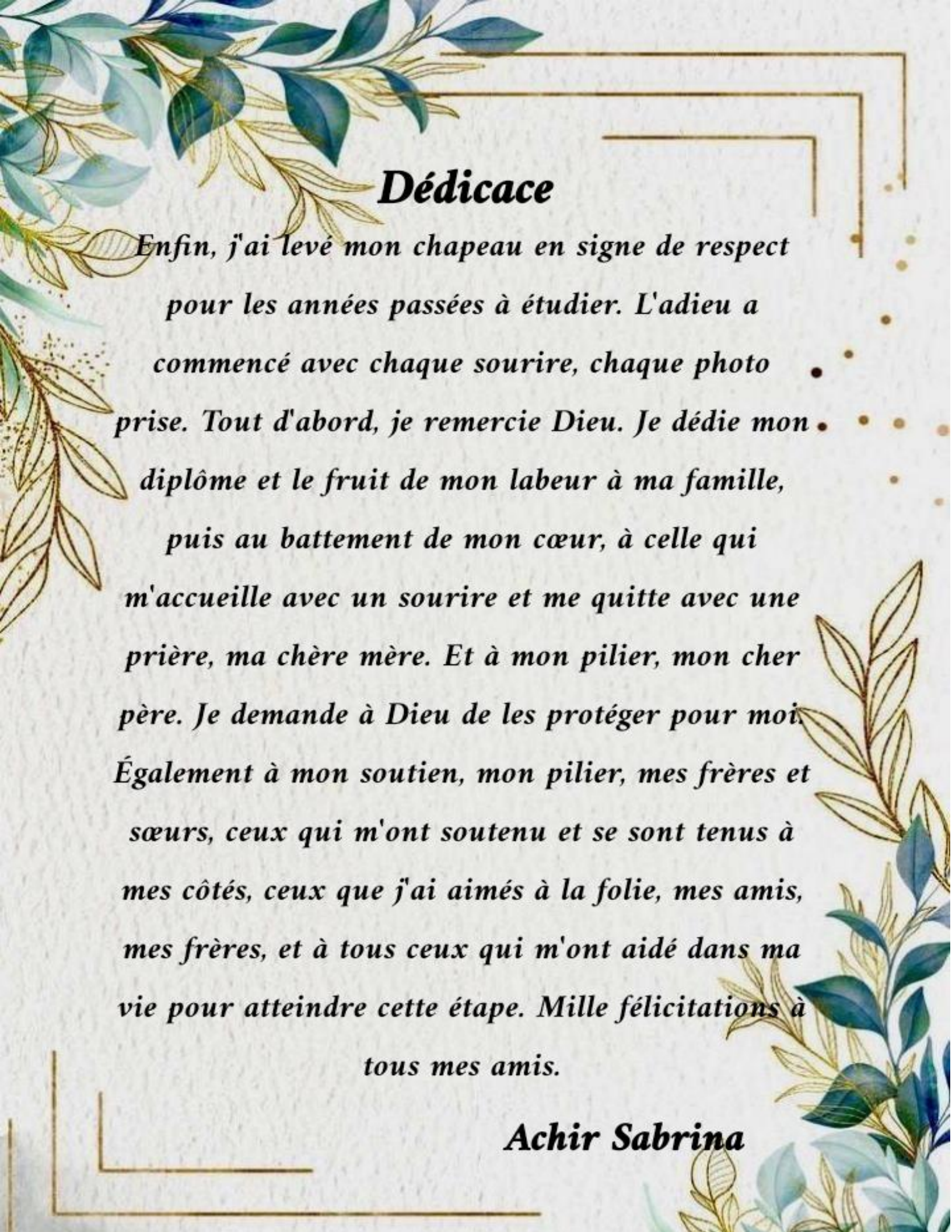
Dédicace

C'est avec des mots profonds et sincères que je dédie ce modeste travail de fin d'études à mes chers parents, qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite et ont éclairé mon chemin par leurs conseils judicieux. J'espère qu'un jour, je pourrai leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi. Que Dieu leur accorde bonheur et longue vie. Je dédie aussi ce travail à mes frères et sœurs, à ma famille, à tous les professeurs qui m'ont enseigné et à tous ceux qui m'ont soutenu.

Merci pour votre soutien.

Balach Chaimaa

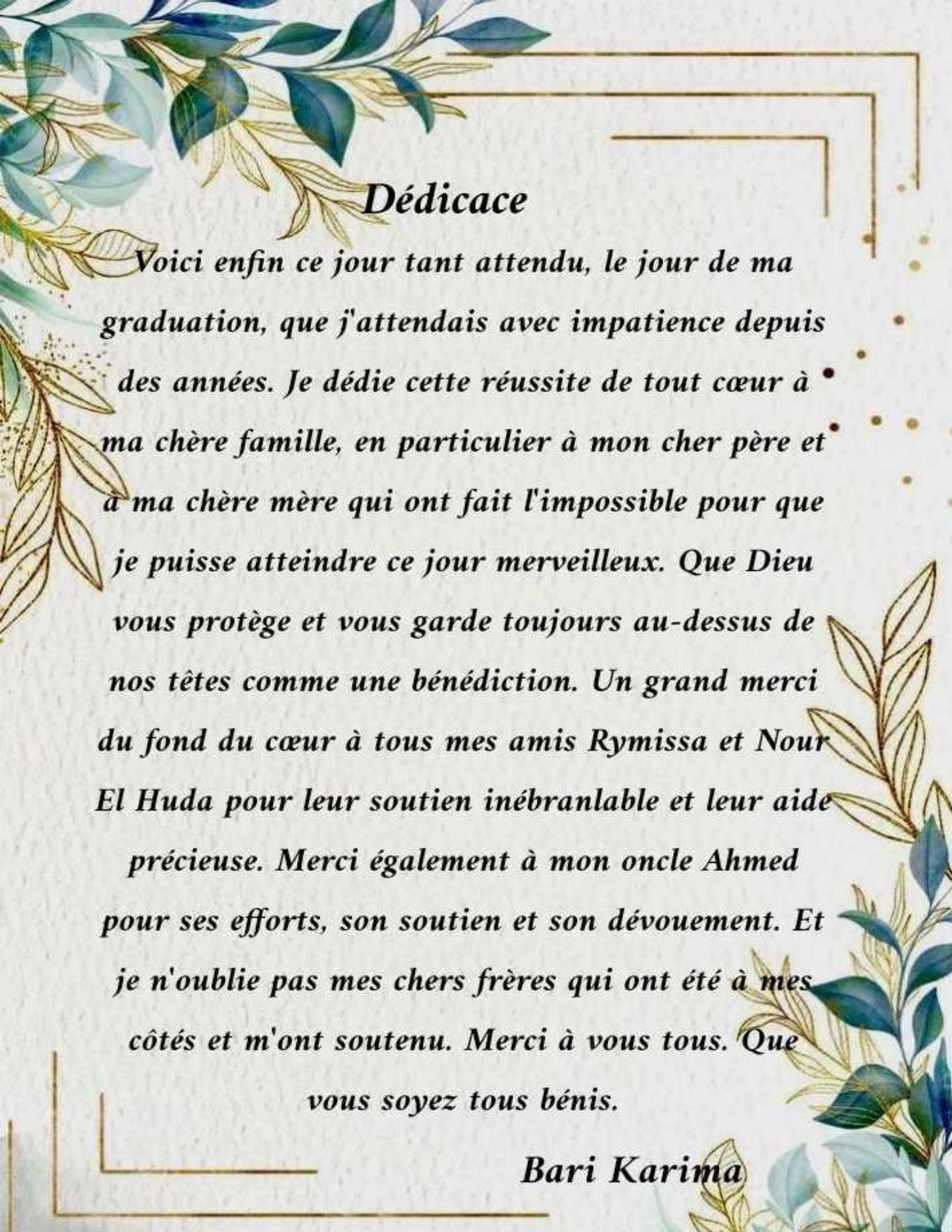




Dédicace

Enfin, j'ai levé mon chapeau en signe de respect pour les années passées à étudier. L'adieu a commencé avec chaque sourire, chaque photo prise. Tout d'abord, je remercie Dieu. Je dédie mon diplôme et le fruit de mon labeur à ma famille, puis au battement de mon cœur, à celle qui m'accueille avec un sourire et me quitte avec une prière, ma chère mère. Et à mon pilier, mon cher père. Je demande à Dieu de les protéger pour moi. Également à mon soutien, mon pilier, mes frères et sœurs, ceux qui m'ont soutenu et se sont tenus à mes côtés, ceux que j'ai aimés à la folie, mes amis, mes frères, et à tous ceux qui m'ont aidé dans ma vie pour atteindre cette étape. Mille félicitations à tous mes amis.

Achir Sabrina



Dédicace

Voici enfin ce jour tant attendu, le jour de ma graduation, que j'attendais avec impatience depuis des années. Je dédie cette réussite de tout cœur à ma chère famille, en particulier à mon cher père et à ma chère mère qui ont fait l'impossible pour que je puisse atteindre ce jour merveilleux. Que Dieu vous protège et vous garde toujours au-dessus de nos têtes comme une bénédiction. Un grand merci du fond du cœur à tous mes amis Rymissa et Nour El Huda pour leur soutien inébranlable et leur aide précieuse. Merci également à mon oncle Ahmed pour ses efforts, son soutien et son dévouement. Et je n'oublie pas mes chers frères qui ont été à mes côtés et m'ont soutenu. Merci à vous tous. Que vous soyez tous bénis.

Bari Karima

Résumé :

Ce travail s'intéresse à l'étude du pouvoir inhibiteur bactérien et de rendement en huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*, communément appelée Armoise blanche. Deux sites de collecte ont été sélectionnés: Ksar-Chellala et Djelfa. L'extraction par hydrodistillation a été employée pour obtenir les huiles essentielles.

L'Armoise blanche de site de Ksar-Chellala a fourni un rendement en huile essentielle plus élevé (0,9%) que celui de Djelfa (0,5%). Les huiles essentielles des deux sites ont montré une forte activité antibactérienne, particulièrement contre les bactéries à Gram⁺ que les bactéries Gram⁻.

Les huiles essentielles obtenus pour les deux sites d'étude, Ksar-Chellala et Djelfa ont présenté une efficacité antibactérienne supérieure, avec des zones d'inhibition de 21mm et 22 mm pour *Escherichia coli* ; 23,5mm et 35mm *Staphylococcus aureus*, respectivement.

Sur la base de leur sensibilité aux huiles essentielles, *E. coli* a été classée comme bactérie sensible ou intermédiaire, tandis que *S. aureus* a été classée comme extrêmement sensible.

Mots clés : *Artemisia herba alba*, hydrodistillation, rendement en huiles essentielles, activité antibactérienne

Abstract:

This work focuses on the study of the antibacterial inhibitory power and the yield of essential oils from *Artemisia herba alba*, commonly known as white wormwood. Two collection sites were selected: Ksar-Chellala and Djelfa. Hydrodistillation was used to obtain the essential oils.

The white wormwood from the Ksar-Chellala site provided a higher essential oil yield (0.9%) than that from Djelfa (0.5%). The essential oils from both sites showed remarkable antibacterial activity, particularly against Gram-positive bacteria compared to Gram-negative bacteria.

The essential oils obtained from the two study sites, Ksar-Chellala and Djelfa, demonstrated superior antibacterial effectiveness, with inhibition zones of 21 mm and 22 mm for *Escherichia coli*; and 23.5 mm and 35 mm for *Staphylococcus aureus*, respectively.

Based on their sensitivity to the essential oils, *E. coli* was classified as a sensitive or intermediate bacterium, while *S. aureus* was classified as extremely sensitive.

Keywords: *Artemisia herba alba*, hydrodistillation, essential oil yield, antibacterial activity.

ملخص :

هذا العمل يهتم بدراسة القدرة المثبطة للبكتيريا والعائد من الزيوت الأساسية لنبته الشيح الأبيض، المعروفة علمياً باسم *Artemisia herba alba* تم اختيار موقعين لجمع العينات: قصر الشلالة والجلفة. تم استخدام تقنية التقطير المائي لاستخلاص الزيوت الأساسية.

وفرت نبته الشيح الأبيض من موقع قصر الشلالة عائداً أعلى من الزيوت الأساسية (0.9%) مقارنة بموقع الجلفة (0.5%). أظهرت الزيوت الأساسية من كلا الموقعين نشاطاً مضاداً للبكتيريا ملحوظاً، خصوصاً ضد البكتيريا إيجابية الغرام مقارنة بالبكتيريا سالبة الغرام.

أظهرت الزيوت الأساسية المستخلصة من كلا الموقعين، قصر الشلالة والجلفة، فعالية مضادة للبكتيريا عالية، مع مناطق تثبيط تبلغ 21 ملم و 22 ملم لبكتيريا *Escherichia coli*؛ و 23.5 ملم و 35 ملم لبكتيريا *Staphylococcus aureus*، على التوالي.

بناءً على حساسيتهما للزيوت الأساسية، تم تصنيف بكتيريا *E. Coli* على أنها بكتيريا حساسة أو متوسطة الحساسية، بينما تم تصنيف بكتيريا *S. aureus* على أنها شديدة الحساسية.

الكلمات المفتاحية: *Artemisia herba alba* : التقطير المائي، عائد الزيوت الأساسية، النشاط المضاد للبكتيريا.

Liste des Abréviations

Liste des Abréviations

CL : Cellules chlorophylliennes

C.R : Cellules de réserves

V.C : Vaisseaux conducteurs

AFNOR : L'Association française de normalisation

E. COLI : Escherichia Coli

H.E : Huile essentielle

G-: Gram negative

G+: Gram positive

STAPH: Staphylococcus aureus

Liste des Figures

Liste des Figures

Figure.1: Touffe d'Armoise blanche	5
Figure.2: Répartition géographique d' <i>Artemisia herba-alba</i> en Algérie	7
Figure.3: Population d'armoise blanche de Tadmit (Djelfa)	8
Figure.4: Coupe anatomique au niveau de la feuille d' <i>Artemisia herba-alba</i> AssoC.CL Cellules Chlorophylliennes - C.R : Cellules de réserves - V .C : Vaisseaux conducteurs.	9
Figure.5: Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles	10
Figure.6: schéma de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau	24
Figure.7: Schéma de l'extraction par hydro distillation d'huiles essentielles	24
Figure.8: Schéma de l'extraction par solvant organique	25
Figure.9: Schéma de l'extraction par fluide à l'état supercritique hydro diffusion	26
Figure.10: Schéma de l'extraction assistée par micro-ondes	26
Figure.11: Schéma de l'extraction par les corps gras	27
Figure.12: Localisation géographique de Dejlfa (Tadmit)	31
Figure.13: Diagramme ombrothermique de contribution à une étude climatique comparative entre deux trentaines d'années (1913-1938) et (1975-2009) cas de la région de Djelfa.	33
Figure.14: Localisation géographique de Ksar-Chellala	34
Figure.15: Diagramme ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN de Tiaret (Mémoire de Master 2: La Wilaya de Tiaret Par Son Positionnement Géographique Ainsi Que Par L)	36
Figure.16: Touffe d'armoise blanche de site de Djelfa (Tadmit)	37
Figure.17: Touffe d'armoise blanche de site de Ksar-Chellala	37
Figure.18 : Broyage de la plante d'armoise blanche (feuilles,tiges)	38
Figure.19:Montage d'hydro distillation simple pour l'extraction de l'huile essentielle	39
Figure.20: Une ampoule a décanté pour la séparation d'une huile essentielle de l'armoise blanche (photos, Balach, Achir& Bari, 2024).	39
Figure.21: Rendement en H.E d' <i>Artémisia herba-alba</i> des deux régions Djelfa et Ksar- Chellala	43
Figure.22: Photo d'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> : A: écotype de Djelfa; B: de l'écotype Ksar-Chellala	46
Figure.23: Effet Inhibiteur bactérien d'HE d'Armoise blanche (Écotype de Djelfa)	47
Figure.24: Effet Inhibiteur bactérien d'HE d'Armoise blanche (Écotype de Ksar-Chellala)	47

Liste des Figures

Figure.25 : Diamètres des zones d'inhibitions de <i>Escherichia coli</i> (Gram-); A: Effet d'HE d' <i>Artémisia herba-alba</i> (quantité de 50ml) de Site Ksar-Chellala; B: de Site Djelfa	48
Figure.26: Diamètres des zones d'inhibitions de <i>Escherichia coli</i> (Gram-) ; A: Effet d'HE d' <i>Artémisia herba-alba</i> (quantité de 75ml) de Site Djelfa; B: de Site Ksar-Chellala	48
Figure.27: Diamètres des zones d'inhibitions de <i>Staphylococcus aureus</i> (Gram+); A: Effet d'HE d' <i>Artémisia herba-alba</i> (quantité 50ml) de Site Ksar-Chellala; B: de Site Djelfa	48
Figure.28: Diamètres des zones d'inhibitions de <i>Staphylococcus aureus</i> (Gram+); A: Effet d'HE d' <i>Artémisia herba-alba</i> (quantité 75ml) de Site Ksar-Chellala; B: de Site Djelfa	49

Liste des Tableaux

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Classification classique d' <i>Artemisia herba-alba</i>	5
Tableau 02 : Classification APG III d' <i>Artemisia herba-alba</i>	6
Tableau 03 : Propriétés physiques des huiles essentielles	17
Tableau 04 : Quelques composés présentant une certaine toxicité	19
Tableau 05 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles obtenues	45

Sommaire

Dédicace

Dédicace

Dédicace

Résumé

List des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale 1

Chapitre I : Généralités sur l'armoise blanche

I.1 Nomenclature :	5
I.2 Systématique :	5
I.3 Répartition géographique :	6
I.4 Caractéristiques botaniques :	8
I.5 Caractéristiques écologiques :	8
I.6 Caractéristiques anatomiques :	9
I.7 Composition chimique des huiles essentielles d'Armoise blanche :	9
I.8 Intérêt et Utilisations de l'Armoise blanche :	10
I.8.1 Utilisation médecine traditionnelle :	10
I.8.1.1 Traitement des troubles digestifs :	10
I.8.1.2 Propriétés antiparasitaires :	10
I.8.1.3 Traitement des affections respiratoires :	11
I.8.1.4 Effets anti-inflammatoires :	11
I.8.2 Utilisation alimentaire :	11
I.8.2.1 Épice dans la cuisine :	11
I.8.2.2 Usage dans les boissons :	11
I.8.3 Utilisation en cosmétique :	11
I.8.3.1 Propriétés anti-inflammatoires et apaisantes :	11
I.8.3.2 Propriétés anti-oxydantes :	11
I.8.3.3 Propriétés antibactériennes et antifongiques :	12
I.8.4 Utilisation dans produits capillaires :	12
I.8.5 Utilisation pastorale :	12
I.8.5.1 Propriétés médicinales pour le bétail :	12
I.8.5.2 Utilisation comme fourrage :	12
I.8.5.3 Protection contre les parasites externes :	12
I.8.6 Utilisations en agriculture :	12
I.8.7 Utilisations artisanales :	13
I.8.8 Utilisations dans la fabrication de produits naturels :	13
I.8.9 Utilisation thérapeutique :	13
I.8.9.1 Antispasmodique :	13

I.8.9.2 Antiviral :	13
I.8.9.3 Analgésique :	13
I.8.9.4 Anticancéreux :	13
Chapitre II : Aperçu bibliographique sur les huiles essentielles	
II.1 Définition d’huile essentielle :	16
II.2 Localisation des huiles essentielles :	16
II.3 Propriétés physiques :	16
II.4 Composition chimique :	18
II.5 Toxicité des huiles essentielles :	18
II.5.1 Toxicité par ingestion :	19
II.5.2 Toxicité dermique :	19
II.5.3 Toxicité selon la composition :	19
II.5.4 Toxicité sur des cellules animales ou humaines (cytotoxicité) :	20
II.6 Classification des huiles essentielles :	20
II.7 Le rôle des huiles essentielles au niveau de la plante :	20
II.7.1 Défense contre les pathogènes :	20
II.7.2 Attraction des pollinisateurs :	20
II.7.3 Régulation de la croissance et du développement :	20
II.7.4 Adaptation environnementale :	21
II.7.5 Communication intercellulaire :	21
II.8 propriétés et activités biologiques des huiles essentielles :	21
II.8.1 Activité antimicrobienne :	21
II.8.2 Activité anti-inflammatoire :	21
II.8.3 Activité antioxydante :	21
II.8.4 Activité anxiolytique et relaxante :	21
II.8.5 Activité analgésique :	22
II.9 Domaine d’application des huiles essentielles :	22
II.9.1 En Alimentation et boissons :	22
II.9.2 En Parfumerie et Cosmétologie :	22
II.9.3 En Thérapeutique :	22
II.9.4 En Médecine alternative :	22
II.9.5 Médecine vétérinaire :	22
II.9.6 En Agriculture et Horticulture :	22
II.9.7 En Hygiène et Entretien ménager :	23
II.9.8 En Bien-être et relaxation :	23
II.9.9 En pharmacologiques :	23
II.9.9.1 Support dans le traitement des troubles gastro-intestinaux :	23
II.9.9.2 Soutien dans la gestion de la douleur :	23
II.9.9.3 Soutien émotionnel et psychologique :	23
II.10 Méthodes d’extraction des huiles essentielles :	23

Sommaire

II.10.1 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau :	23
II.10.2 Extraction par hydro distillation d'huiles essentielles :	24
II.10.3 Extraction par solvant organique :	25
II.10.4 Extraction par fluide à l'état supercritique hydro diffusion :	25
II.10.5 Extraction assistée par micro-ondes :	26
II.10.6 Extraction par les corps gras :	27
II.11 Conservation des huiles essentielles :	27
II.11.1 Stockage :	27
II.11.2 Température :	28
II.11.3 Humidité :	28
II.11.4 Air :	28
II.11.5 Durée de conservation :	28
Chapitre III : Matériels et Méthodes	
III.1. Présentation des sites d'étude	31
III.1.1 Localisation géographique Tadmit–Djelfa :	31
III.2 Caractéristique édaphiques et topographiques (Djelfa) :	31
III.2.1Caractéristiques édaphiques :	31
III.2.2Caractéristiques topographiques :	31
III.2.2.1 Altitude :	31
III.2.2.2 Relief :	32
III.2.2.3 Drainage :	31
III.2.2.4 Érosion :	31
III.3 Caractéristiques climatiques :	32
III.3.1 Les précipitations :	32
III.3.2 Températures :	32
III.3.3 Les hivers :	32
III.3.4Humidité :	32
III.3.5Vent :	33
III.4. Diagramme des ombrothermique et la période sèche :	33
III.5 Présentation de site d'étude :	33
III.5.1 Localisation géographique (Ksar Chellala) :	33
III.5.2 Caractéristiques édaphiques et topographiques (Ksar-Chellala) :	34
III.5.2.1 Caractéristiques édaphiques :	34
III.5.2.2 Caractéristiques topographique :	35
III.5.3 Caractéristiques climatiques :	35
III.5.3.1 Températures :	35
III.5.3.2 Précipitations :	35
III.5.3.3 Ensoleillement :	35
III.5.3.4Vent :	35
III.6 Diagramme ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN :	36

Sommaire

III.7 Méthodologie d'extraction des huiles essentielles :	36
III.7.1 Matériel végétale :	36
III.7.2 Méthode d'extraction des huiles essentielles :	36
III.7.3 Détermination du rendement en huile essentielle :	36
III.7.4 Étude de l'activité antibactérienne :	40
Chapitre IV : Résultats et discussions	
IV.1 Rendement en huile essentielle	43
IV.1.1 Rendement en huile essentielle d'Artemisia herba alba de la région 01 de Djelfa :	43
IV.1.2. Rendement en huile essentielle d'Artémisia herba alba de la région 02 de Ksar-Chellala :	43
IV.2 Caractéristiques organoleptiques :	45
IV.3 L'activité antibactérienne des huiles essentielles :	46
IV.4 Sensibilité des souches bactérienne :	50
Conclusion générale	52
Référence bibliographique	55



Introduction générale :

L'Algérie, par la richesse et la diversité de sa flore, constitue un véritable réservoir phylogénétique, avec environ 4000 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires (Dobignard & al., 2013). Cependant, la flore médicinale algérienne reste méconnue jusqu'à nos jours, car sur les quelques milliers d'espèces végétales, seules 146 sont dénombrées comme médicinales (Baba Aissa, 1999).

Les plantes médicinales ont toujours été des ressources précieuses pour l'humanité, offrant un éventail de remèdes naturels pour une variété de maux. Leur utilisation remonte à des millénaires, et elles continuent d'être une composante essentielle de la médecine traditionnelle dans de nombreuses cultures à travers le monde. Les plantes médicinales abritent une diversité de composés bioactifs, tels que des alcaloïdes, des flavonoïdes, des terpènes et des tanins, qui confèrent à chacune des propriétés thérapeutiques uniques. (Boudjelal & al., 2013 ; Smerigli & al., 2016 ; Russo2011 ; Cavanagh & al., 2002).

Parmi ces plantes, l'*Artemisia herba alba*, également connue sous le nom d'armoise blanche, se distingue par ses nombreuses applications médicinales. Originaire des régions méditerranéennes et d'Afrique du Nord, cette plante aromatique est appréciée depuis des siècles pour ses propriétés antiparasitaires, anti-inflammatoires et antispasmodiques. Ses feuilles argentées et son parfum caractéristique en font une plante facilement reconnaissable. (Boudjelal & al., 2013 ; Smeriglio & al., 2016 ; Russo2011 ; Cavanagh & al., 2002).

Les études sur l'*Artemisia herba alba* ont mis en évidence sa richesse en composés actifs, tels que les flavonoïdes, les terpènes et les composés phénoliques, qui contribuent à ses effets bénéfiques sur la santé. Ses applications médicinales traditionnelles incluent le traitement des troubles gastro-intestinaux, des affections respiratoires et des infections parasitaires. (Boudjelal & al., 2013 ; Smeriglio & al., 2016 ; Russo2011 ; Cavanagh & al., 2002).

En parallèle, les huiles essentielles ont gagné en popularité pour leurs propriétés thérapeutiques et leur utilisation polyvalente. Ces extraits concentrés de plantes sont obtenus par distillation à la vapeur d'eau ou par pression à froid, préservant ainsi les composés volatils et aromatiques des plantes d'origine. Les huiles essentielles sont utilisées en aromathérapie, en massage, en diffusion atmosphérique et en application topique après dilution dans une huile porteuse. (Boudjelal & al., 2013 ; Smeriglio & al., 2016 ; Russo2011 ; Cavanagh & al., 2002).

Introduction générale

Chaque huile essentielle possède ses propres propriétés thérapeutiques, en fonction des composés spécifiques présents dans la plante d'origine. Par exemple, l'huile essentielle de lavande est réputée pour ses effets relaxants et apaisants, tandis que l'huile essentielle de menthe poivrée est connue pour ses propriétés rafraîchissantes et stimulantes. (Boudjelal & al., 2013 ; Smeriglio & al., 2016 ; Russo, 2011 ; Cavanagh & al., 2002).

Des études scientifiques continuent de documenter les effets des plantes médicinales et des huiles essentielles sur la santé humaine, contribuant ainsi à valider et à comprendre les connaissances traditionnelles transmises depuis des générations. (Boudjelal & al., 2013 ; Smeriglio & al., 2016 ; Russo, 2011 ; Cavanagh & al., 2002).

Notre recherche vise à évaluer la production d'huile essentielle d'Armoise blanche et à évaluer son effet inhibiteur sur les bactéries. Afin d'accomplir cette tâche, nous avons pris en compte deux aspects, dont le premier est lié à l'ordre.

L'étude phytochimique se concentre sur l'extraction des huiles essentielles de deux écotypes de cette espèce, à savoir Djelfa (Tadmit) et ksar-Chellala. Le deuxième aspect permet d'évaluer comparativement l'activité antimicrobienne de ces huiles essentielles extraites en laboratoire.

Partie bibliographique



Chapitre I
Généralités sur l'armoise blanche

Chapitre I : Généralités sur l'armoise blanche

I.1 Nomenclature :

L'armoise blanche également connue sous le nom d'*Artemisia herba-alba* est une plante herbacée aromatique appartenant à la famille des *Asteraceae*. Originaires d'Afrique du Nord, cette plante est réputée pour ses feuilles argentées et son parfum distinctif.

Nom scientifique : *Artemisia herba-alba* Asso, 1779.

Noms vernaculaires :

- ❖ **Français** : Armoise herbe blanche, Thym des steppes, Absinthe du désert.
- ❖ **Anglais** : White wormwood, Desert wormwood.
- ❖ **Arabe** : شيح أبيض (Shihabyad).



Figure.1: Touffe d'Armoise blanche (Photo, Balach, Achir& Bari, 2024).

I.2 Systématique :

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées (composées), avec plus de 350 espèces différentes qui se trouvent principalement dans les zones arides et semi-arides d'Europe, d'Amérique, d'Afrique du nord et d'Asie. Les espèces d'*Artemisia* sont largement utilisées comme plantes médicinales en médecine (Nikolova, 2010). L'armoise blanche est classée comme suit :

Tableau 01 : Classification classique d'*Artemisia herba-alba* :

Règne	Plantae (Haeckel, 1866)
Sous –Règne	Viridaeplantae
Infra-Règne	Streptophyta (John, Williamson & Guiry, 2011).

Embranchement	Tracheophyta.
Classe	Magnoliopsida .
Sous-Classe	Magnoliidae (Novak ex Takht, 1967).
Super-ordre	Asteranae (Takht, 1967).
Ordre	Asterales (Link, 1829).
Famille	Asteraceae (Bercht.&Jpresl, 1820).
Sous-famille	Asteroideae (Lindl, 1829).
Tribu	Anthemideae (Cass, 1819).
Sous-tribu	Artemisiinae (Less, 1830).
Genre	Artemisia.
Espèce	Artemisia herba-alba (Asso, 1779).
Sous-espèces	<i>Artemisia herba-alba</i> subsp. <i>Saharae</i> (Quézel& Santa)Greuter, 1973.

Tableau02 : Classification APG III d'*Artemisia herba-alba* (Mark & al, 2009).

Régne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Sous – famille	Asteroideae
Tribu	Anthemideae
Sous – tribu	Artemisiinae
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèces	<i>Artemisia herba alba</i> (Asso)

I.3 Répartition géographique :

Artemisia herba-alba est une plante largement répandue sur le continent, se trouvant dans une variété d'habitats, notamment les prairies, les plaines, les collines et les zones perturbées.

(Quézel & Santa, 1963).

- **Afrique du Nord** : Maroc, Algérie, Tunisie, Libye et Egypte.
- **Moyen-Orient** : Jordanie, Syrie, Liban, Turquie, Iran, Iraq et Arabie saoudite.
- **Europe** : Espagne, Espagne ; Espagne, Grèce, Malte et Chypre.
- **Asie** : Pakistan, Inde, Afghanistan, Turkménistan, Ouzbékistan, Tadjikistan, Kazakhstan et Chine.

En Algérie, *Artemisia herba-alba* est largement répandue dans les zones steppiques et présahariennes. On la trouve plus précisément dans les régions suivantes :

❖ **Hauts plateaux :**

Sud-ouest : Saida, Tiaret, M'sila, Djelfa, Laghouat et Médéa

Nord-est : Sétif, Batna, Khenchela et Oum el Bouaghi

❖ **Sahara :**

Nord : Adrar, Tamanrasset et Tindouf

Sud : Ghardaia et El Meniaa

❖ **Zones présahariennes :**

Biskra, Ouargla et El Oued

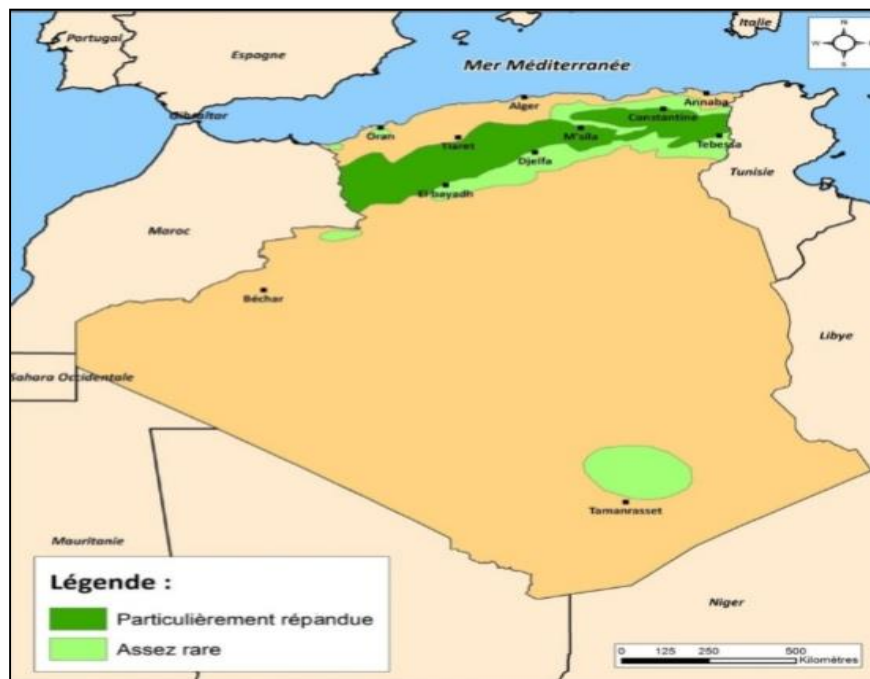


Figure.2 : Répartition géographique d'*Artemisia herba-alba* en Algérie (Bouzidi, 2016).

I.4 Caractéristiques botaniques :

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. 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 (Quezel & al., 1962).

I.5 Caractéristiques écologiques :

L'*Artemisia herba-alba* existe dans des bioclimats allant du semi-aride jusqu'au saharien (entre les isohyètes de 150 à 500 mm). Elle semble indifférente aux altitudes et peut vivre dans des régions d'hiver chaud à frais. Par ailleurs, cette espèce est abondante dans le centre sur des sols, à texture fine, assez bien drainées (marnes, marno-calcaires en pente). Dans le sud, elle pousse sur des sols bruns steppiques de texture moyenne et en extrême sud sur des sols sableux. L'armoise résiste à la sécheresse, supporte le gypse et des niveaux de salinité modérément élevés. Dans un biome steppique type, les groupements d'*Artemisia herba-alba* sont marqués par deux strates : une strate de ligneux bas (environ 40cm du sol) et une autre constituée d'herbacées annuelles (hauteur moyenne de 20cm) (Nabli, 1989).



Figure.3 : Population d'armoise blanche, Tadmit Djelfa (Balach, Achir& Bari, 2024).

I.6 Caractéristiques anatomiques :

L'analyse histologique des feuilles qui ont un emploi en thérapeutique est aujourd'hui moins avancée que l'étude des écorces, des racines, des rhizomes médicinaux. Les naturalistes qui ont consacré une partie de leurs recherches à l'examen histologique des feuilles, n'ont tenu compte que d'une portion des tissus de cet organe. Et par conséquent, une insuffisance des documents, relatifs à la constitution anatomique des feuilles médicinales, notamment qui concerne l'armoise blanche. Seule une étude qui a été faite sur l'anatomie de la feuille d'Armoise absinthe (*Artemisia absinthium*), analogue au Armoise blanche par Lemairie (1882) dont l'objectif était de distinguer les différentes feuilles à l'état où elles se trouvent en droguerie ou en pharmacie. Les coupes histologiques pratiquées au niveau de la feuille de l'armoise blanche montrent la présence d'un parenchyme central au niveau de la structure du limbe qui serait qualifié d'un parenchyme de réserves hydriques (Maghni, 2013).

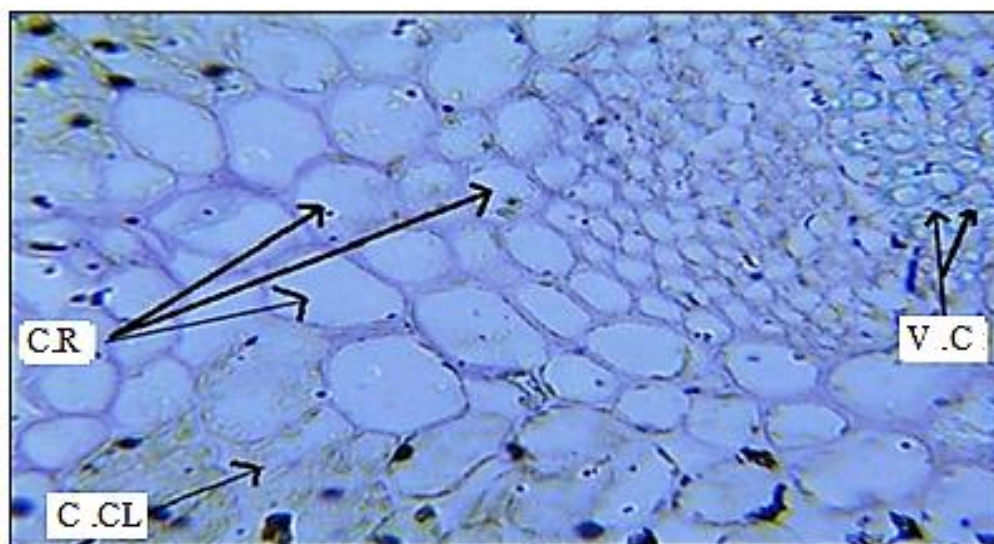


Figure.4 : Coupe anatomique au niveau de la feuille d'*Artemisia herba alba* .Asso (Maghni, 2013). C .CL : Cellules Chlorophylliennes – C.R : Cellules de réserves – V .C : Vaisseaux conducteurs.

I.7 Composition chimique des huiles essentielles d'Armoise blanche :

Plusieurs métabolites secondaire sont été isolés et identifiés de l'*Artemisia herba alba* dont les plus importants sont les sesquiterpènes lactones tels que les eudesmanolides et les germacranolides. Les flavonoïdes détectés dans l'armoise montrent aussi une diversité structurale allant des flavonoïdes communs (flavones glycosides et flavonols) jusqu'aux flavonoïdes

méthyles qui sont très inhabituel. Les flavonoïdes glycosides comprennent les O- glycosides tels que quercitine-3-glucoside et des flavonesC-glycosides qui sont rares dans le genre *Artemisia*, ainsi que dans l'ensemble des *Astéracée* (Toth, 2007). En plus des sesquiterpènes lactones et des flavonoïdes l'analyse phytochimique a montré que la composition des huiles essentielles de l'*Artemisia herba-alba* Asso est riche en monoterpènes, triterpènespenta cycliques, santonines, coumarines et tanins (Mohamed & al ,2010).

=

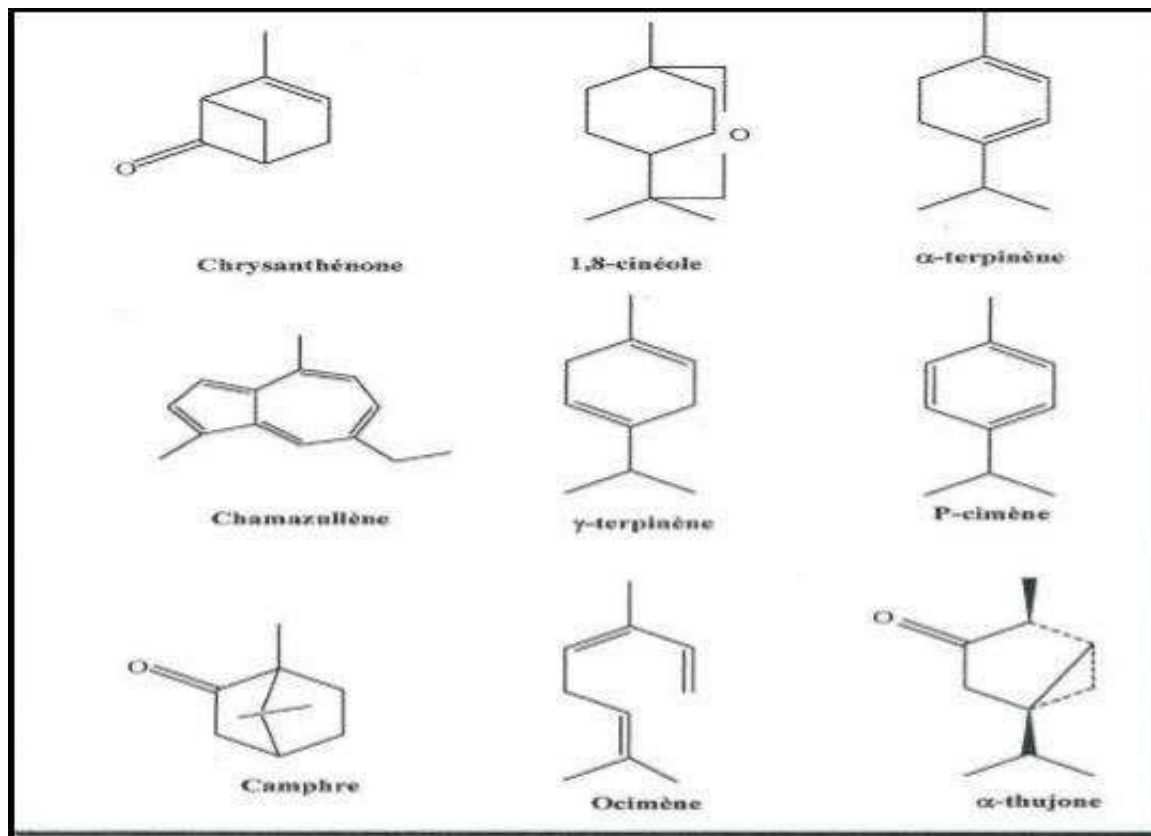


Figure.5 : Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles
(Khebri, 2011)

I.8 Intérêt et Utilisations de l'Armoise blanche :

I.8.1 Utilisation médecine traditionnelle :

I.8.1.1 Propriétés antiparasitaires :

Dans certaines cultures, l'Armoise blanche est utilisée traditionnellement pour traiter les infections parasitaires telles que la giardiose et la malaria. Des études ont montré que certains composés présents dans l'Armoise blanche ont une activité antiparasitaire contre certains parasites intestinaux et le paludisme (Jaafari & al, 2014).

I.8.1.2 Traitement des affections respiratoires :

L'Armoise blanche est utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter les affections respiratoires telles que la toux, le rhume, la bronchite et l'asthme. Certains composés de l'Armoise blanche, tels que le cinéole, présentent des propriétés expectorantes et décongestionnantes (Wannes & al, 2009).

I.8.1.3 Effets anti-inflammatoires :

L'Armoise blanche a été utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter les affections inflammatoires telles que l'arthrite et les douleurs musculaires. Certains composés présents dans l'Armoise blanche ont montré des activités anti-inflammatoires dans des études préliminaires (Kachkoul & al, 2014).

I.8.2 Utilisation alimentaire :**I.8.2.1 Épice dans la cuisine :**

Les feuilles séchées de l'Armoise blanche sont parfois utilisées comme épice pour aromatiser certains plats. Son arôme distinct et sa saveur légèrement amère en font un ajout intéressant à diverses recettes, notamment dans la cuisine méditerranéenne et nord-africaine (Lamiri & al, 2001).

I.8.2.2 Usage dans les boissons :

L'Armoise blanche est parfois utilisée pour aromatiser les boissons traditionnelles telles que le thé et le café. En ajoutant quelques feuilles séchées dans une infusion, on peut obtenir une boisson avec des notes herbacées et aromatiques (Lhloui & al, 2001).

I.8.3 Utilisation en cosmétique :**I.8.3.1 Propriétés anti-inflammatoires et apaisantes :**

En raison de ses propriétés anti-inflammatoires, l'extrait d'*Armoise blanche* peut être utilisé dans les produits de soins de la peau pour apaiser les irritations cutanées et les rougeurs. Les composés actifs de l'Armoise blanche peuvent aider à réduire les symptômes de certaines affections cutanées inflammatoires telles que l'eczéma et le psoriasis (Benjilali & al, 2001).

I.8.3.2 Propriétés anti-oxydantes :

Les extraits d'Armoise blanche sont riches en antioxydants, ce qui peut aider à protéger la peau contre les dommages causés par les radicaux libres et à prévenir le vieillissement prématuré de la peau. Ils peuvent être utilisés dans les produits anti-âges pour favoriser une peau plus ferme, plus lisse et plus jeune (Bendif & al, 2019).

I.8.3.3 Propriétés antibactériennes et antifongiques :

Certains composés de l'Armoise blanche ont montré des activités antibactériennes et antifongiques, ce qui en fait un ingrédient bénéfique pour les produits de soins de la peau destinés à lutter contre les infections cutanées et l'acné. Ils peuvent aider à nettoyer la peau en profondeur et à prévenir les éruptions cutanées (Bouzabata & al, 2019).

I.8.4 Utilisation dans produits capillaires :

L'Armoise blanche peut également être ajoutée aux produits capillaires, tels que les shampooings et les après-shampooings, pour apaiser le cuir chevelu irrité et traiter les pellicules.

Ses propriétés anti-oxydantes peuvent également aider à renforcer les cheveux et à prévenir les dommages causés par les radicaux libres (Jaafari & al., 2014).

I.8.5 Utilisation pastorale :**I.8.5.1 Propriétés médicinales pour le bétail :**

Dans certaines cultures pastorales, l'Armoise blanche est utilisée pour ses propriétés médicinales pour le bétail.

Des études ont montré que certains composés présents dans l'Armoise blanche ont des propriétés antiparasitaires et peuvent être efficaces pour traiter les parasites intestinaux chez le bétail (El Amrani & al., 2014).

I.8.5.2 Utilisation comme fourrage :

L'Armoise blanche peut être utilisée comme source de fourrage pour le bétail dans les régions où elle pousse abondamment.

Elle est parfois consommée par les animaux pour son contenu nutritionnel et ses propriétés digestives (Bousselmane & al., 2016).

I.8.5.3 Protection contre les parasites externes :

En plus de ses propriétés médicinales internes, l'Armoise blanche peut être utilisée en tant que plante répulsive pour les parasites externes chez le bétail.

Des études ont montré que les extraits d'Armoise blanche peuvent être utilisés comme répulsif naturel contre les tiques et les mouches chez les animaux (Pavela & al., 2018).

I.8.6 Utilisations en agriculture :

L'Armoise blanche peut être utilisée dans l'agriculture comme plante de couverture pour aider à réduire l'érosion du sol et à améliorer sa structure.

Ses racines profondes contribuent à la fixation de l'azote dans le sol, ce qui peut bénéficier à d'autres cultures en favorisant la fertilité du sol (El-Beltagi & al., 2014).

I.8.7 Utilisations artisanales :

Les tiges flexibles de l'Armoise blanche peuvent être utilisées dans la vannerie traditionnelle pour la fabrication de paniers, de chapeaux et d'autres objets artisanaux.

Les feuilles séchées peuvent également être utilisées comme matériau de remplissage ou d'emballage dans certaines applications artisanales (Groom, 2014).

I.8.8 Utilisations dans la fabrication de produits naturels :

Les extraits d'Armoise blanche peuvent être utilisés dans la fabrication de produits de nettoyage naturels en raison de leurs propriétés antibactériennes et antifongiques.

Ils peuvent être ajoutés à des solutions de nettoyage pour désinfecter les surfaces et éliminer les germes et les moisissures (Lamiri & al., 2001).

I.8.9 Utilisation thérapeutique :

I.8.9.1 Antispasmodique :

L'huile essentielle d'armoise blanche est parfois utilisée pour soulager les spasmes musculaires et digestifs. Une étude sur des rats a montré que l'extrait d'armoise blanche avait des effets antispasmodiques significatifs sur les contractions du muscle lisse, soutenant son utilisation traditionnelle pour les troubles gastro-intestinaux (Heshmati & al., 2013).

I.8.9.2 Antiviral :

Certaines recherches suggèrent que l'huile essentielle d'*armoise blanche* pourrait avoir une activité antivirale contre certains virus. Une étude in vitro a montré que l'extrait d'armoise blanche avait une activité antivirale contre le virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1) (Benbacer & al., 2016).

I.8.9.3 Analgésique :

L'huile essentielle d'armoise blanche peut également avoir des propriétés analgésiques, ce qui en fait un choix potentiel pour soulager la douleur. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour confirmer cet effet et déterminer les mécanismes d'action (Bora & al., 2011).

I.8.9.4 Anticancéreux :

Certaines études préliminaires suggèrent que l'huile essentielle d'armoise blanche pourrait avoir un potentiel anticancéreux en raison de ses composés bioactifs. Cependant, des recherches

supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces effets et déterminer les mécanismes d'action (Sharma & al, 2011).



Chapitre II
Aperçu bibliographique sur
l'armoise blanche

Chapitre II : Aperçu bibliographique sur les huiles essentielles**II.1 Définition d'huile essentielle :**

Les huiles essentielles sont des substances odorantes concentrées, obtenues à partir de Plantes par entraînement à la vapeur d'eau, hydrodistillation ou expression (pression à froid). Le terme huile essentielle a été inventé au 16^{ième} siècle par le médecin suisse Paracelse von Hohenheim afin de désigner le composé actif d'un remède naturel. Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles essentielles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums (Essawi & al., 2000).

La norme AFNOR NF T 75-006 définit l'huile essentielle comme : « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydro distillation.

L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques. La majorité des huiles essentielles sont des liquides très peu colorés, volatils à température ambiante.

Les huiles essentielles dégagent une odeur caractéristique et sont, en général plus légères que l'eau tout en possédant des caractéristiques hydrophobes.

II.2 Localisation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont largement réparties dans le règne végétal. Certaines familles en sont particulièrement riches : Conifères, Myrtacées, Umbellifères, Labiées, Composées (Sauvage, 1974 ; Boulos, 1983). Elles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux : sommités fleuries, écorce, racines, rhizomes, fruit, bois,...etc. Dans une même plante, elles peuvent être présentes dans différents organes. La composition des huiles essentielles peut alors varier d'un organe à l'autre (Paris & al, 1981).

II.3 Propriétés physiques :

Les huiles essentielles sont entraînables à la vapeur d'eau (Bruneton, 1999). Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels (Valnet, 2005). Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques.

Tableau 03 : Propriétés physiques des huiles essentielles :

Propriétés physiques	
Odeur	Très odorante. Dépend souvent de l'altération que l'air leur fait subir (Wurtz, 1874)
Couleur	Incolores ou jaunes pâles (Paris & Hurabielle, 1981). Il existe cependant quelques exceptions dont la majorité de ces huiles colorées sont des essences ou des absolues (Bergamote et absinthe : vertes, jasmin ; brun rougeâtre, cannelle : rougeâtre) (Davis, 2006).
Consistance	Généralement fluides mais il en est de solides (Valnet, 2005).
Solubilité	Solubles dans les solvants organiques usuels. Liposolubles. Très peu solubles Dans l'eau (Bruneton, 1999).
Densité	Inférieure à celle de l'eau (varie de 0.759 à 0.99) (Bruneton, 1999). Quand le contraire a lieu, cela indique une plus forte proportion d'oxygène Dans l'un des constituants (Wurtz, 1874).
Point d'ébullition	Varie entre 160° et 240°C (Wurtz, 1874).
Indice e réfraction	Elevé (Bruneton, 1999).
Indice e polarisation	La plupart dévient la lumière polarisée (Bruneton, 1999).
Aléatoire	Très altérables, sensibles à l'oxydation. Elles ont tendance à se polymériser en donnant lieu à la formation de produits résineux (Paris, Hurabielle, 1981). Par une longue exposition à l'air, elles s'épaississent, deviennent visqueuses et souvent acides (Wurtz, 1874).
Conservation	Limitée (Paris, Hurabielle, 1981).

II.4 Composition chimique :

Diverses études relatives à la composition chimique des huiles essentielles de l'espèce *Artemisia herba alba*, ont été décrites (Salido & al., 2004 ; Haouari & al., 2009). Ces travaux mettent en évidence une grande variabilité chimique. A titre d'exemple une étude concernant la composition chimique pour les échantillons des huiles essentielles originaire de l'Espagne (plusieurs sites de récolte) a révélé l'existence de plusieurs chemotypes (Salido & al., 2004).

Une huile essentielle riche en p-cymène (19.9 %), elle renferme aussi l'pinène (17.2%), myrcène (10.9%), 1,8-cinéole (8.6%) et le camphre (8.5%). Un deuxième chémotype caractérisé par la prédominance du cis-chrysanthénol (28.8%), elle renferme également le 1,8-cinéole, p-cymène, et le camphre. Un autre échantillon est dominé par le 1,8-cinéole (18.8%), camphre (10.2%), et p-cymène (6.7%). Une huile essentielle renfermant la davanone (29.1%), le p-cymène (9.2- 18.4%), le B-terpinène, et le myrcène.

Le 1,8-cinéole (50%) est le produit majoritaire de l'échantillon provenant du désert Palestinien. Cet échantillon renferme aussi les thujones et (27%) et d'autres monoterpènes oxygénés ; terpinène-4-ol (3.3%), le camphre (3%), et le bornéol (3%) (Feuerstein & al., 1986). Une étude montre la richesse de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* originaire de la Jordanie en B-thujone (16.2 %) et (8.5%) respectivement, cette essence renferme aussi l'alcool santolina (13%), et la cétone d'artémisia (12.4%). Elle renferme également des traces du 1,8-cinéole, du camphre, et l'acétate du chrysanthénol (Hudaib & al., 2006). Une autre étude a montré que le cis B-terpinéol est le composant majoritaire (11.3%) de l'échantillon provenant d'Iran. Le camphre, sabinène, et camphène, étant présents avec des teneurs appréciables (16.11, 5.18, 4.8%) (Nezhadali & al., 2008).

L'huile essentielle d'*A. herba alba* Tunisienne est riche en B-thujone (43-85%), transacétate de sabinyle (17-46%), et la B-thujone (10.10%), elle renferme également : le 1,8- cinéole (3.3%) et la chrysanthénone (2.32%) en faible quantité. Ce profil chimique est différent par rapport au profil chimique d'échantillons Algériens (provenant de différentes régions : Boussaâda, Batna, Djelfa et Khenchela) qui renferment une forte quantité de camphre (19.4%) (Haouari & al, 2009 ; Dob & al, 2006).

II.5 Toxicité des huiles essentielles :

La grande majorité des huiles essentielles ne sont pas toxiques et sont absolument sans danger lorsqu'elles sont utilisées de manière judicieuse, autrement dit, en petites quantités et aux

faibles concentrations indiquées par des thérapeutes responsables. Toutefois certaines sont hautement toxiques, même en petites quantités, et d'autres peuvent le devenir si elles sont utilisées sur une longue période.

Il existe des huiles que l'on pourrait qualifier de « limite », car elles présentent certains risques et sont malgré tout assez aisément disponibles ; c'est peut-être pour ce groupe que la plus grande prudence est de rigueur.

Les huiles les plus toxiques, tout comme les huiles douteuses utilisées sur une trop longue période, ont généralement pour effet de détériorer les reins et/ou le foie (Davis, 2006).

II.5.1 Toxicité par ingestion :

En règle générale, les huiles essentielles d'usage commun ont une toxicité par voie orale faible ou très faible avec des DL50 supérieure à 5 g/kg. En ce qui concerne la Sarriette et l'Origan la toxicité est un peu plus élevée autour des 1.4 g/kg (données observées chez l'animal) (Bruneton, 1999).

II.5.2 Toxicité dermique :

Le Thym, l'Origan, la Sarriette sont connues pour leur pouvoir irritant, l'Angélique et la Bergamote sont photo sensibilisantes, la Cannelle est dermocaustique et allergisante pour les terrains sensibles (Pibiri, 2006).

II.5.3 Toxicité selon la composition :

Certains auteurs (Franchomme & al., 1990) ;(Mailhebiau, 1994) se basent sur la composition des huiles essentielles et les toxicités relatives des familles biochimiques auxquelles elles appartiennent.

Tableau 04 : Quelques composés présentant une certaine toxicité (Richard, 1992) :

Composés	Toxicité
(Z)- anéthole, Thujones	Neurotoxiques
Apiole, Myristicine	Psychotropes
Asarones,Safrole	Cancérigènes
Bergaptène,Xanthotoxine	Mutagènes
Capsaïcine, Pipérine	Inflammation
1,8-cinéole	Brûlure (gorge)
Cinnamaldéhyde	Allergie
Coumarines,Psoraléne	Photoxiques

Estragole, Pulégone	Hérpatotoxiques
---------------------	-----------------

II.5.4 Toxicité sur des cellules animales ou humaines (cytotoxicité) :

Les huiles essentielles de Thym et de Lavande selon la phase dans laquelle elles sont mises en contact (la toxicité du Thym est augmentée par contact en phase liquide et réduite en phase gazeuse, alors que c'est l'inverse pour la Lavande (Inouye, 2003), sont cytotoxiques pour des cellules de hamster chinois). Par ailleurs, des huiles essentielles de différentes variétés d'Origan ont montré une forte cytotoxicité sur des cellules humaines dérivées de cancers (Sivropoulou & al, 1996).

II.6 .Classification des huiles essentielles :

Selon le pouvoir spécifique sur les germes microbiens et grâce à l'indice aromatique obtenu par des aromatogrammes, les huiles essentielles sont classées en groupes.

- Les huiles majeures • Les huiles médiums • Les huiles terrains (Chakou & al., 2007).

II.7. Le rôle des huiles essentielles au niveau de la plante :

Les huiles essentielles jouent un rôle crucial dans la vie des plantes, agissant comme des métabolites secondaires qui leur confèrent diverses fonctions biologiques. Voici quelques-unes des fonctions les plus importantes des huiles essentielles dans le règne végétal :

II.7.1 Défense contre les pathogènes :

Les huiles essentielles sont souvent produites par les plantes comme mécanisme de défense contre les pathogènes, tels que les bactéries, les champignons et les insectes. Elles peuvent avoir des propriétés antimicrobiennes et insectifuges qui aident à protéger la plante contre les attaques extérieures (Bakkali & al., 2008).

II.7.2 Attraction des pollinisateurs :

Certaines huiles essentielles ont des arômes agréables qui attirent les insectes pollinisateurs, tels que les abeilles et les papillons. Cela favorise la pollinisation des fleurs et contribue à la reproduction de la plante (Knudsen & al., 1993).

II.7.3 Régulation de la croissance et du développement :

Les huiles essentielles peuvent influencer la croissance et le développement des plantes en agissant comme des régulateurs de croissance. Elles peuvent favoriser la germination des graines, stimuler la croissance des racines ou des tiges, et réguler la floraison (Dudareva & al., 2006).

II.7.4 Adaptation environnementale :

Les huiles essentielles peuvent aider les plantes à s'adapter à leur environnement en réponse à des facteurs tels que la température, l'humidité, et la disponibilité des nutriments. Elles peuvent protéger les plantes contre le stress environnemental en régulant leur métabolisme et en favorisant leur survie (Sharifi-Rad & al., 2017).

II.7.5 Communication intercellulaire :

Les huiles essentielles peuvent servir de signaux de communication entre les cellules et les tissus au sein de la plante. Elles peuvent réguler l'expression des gènes et coordonner divers processus physiologiques (Pichersky & al., 2002).

II.8 propriétés et activités biologiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des substances volatiles extraites de plantes, souvent utilisées en aromathérapie pour leurs propriétés thérapeutiques. Leurs activités biologiques sont diverses et dépendent de la composition chimique spécifique de chaque huile. Voici quelques propriétés et activités biologiques des huiles essentielles les plus couramment étudiées :

II.8.1 Activité antimicrobienne :

Les huiles essentielles sont souvent étudiées pour leur activité antimicrobienne contre les bactéries, les champignons et les virus. Par exemple, l'huile essentielle de teatree (*Melaleuca alternifolia*) est connue pour ses propriétés antimicrobiennes (Carson & al., 2006).

II.8.2 Activité anti-inflammatoire :

Certaines huiles essentielles ont démontré des propriétés anti-inflammatoires, utiles dans le traitement des affections inflammatoires cutanées ou des douleurs articulaires. Par exemple, l'huile essentielle de lavande (*Lavandula angustifolia*) présente une activité anti-inflammatoire (Man & al., 2018).

II.8.3 Activité antioxydante :

Les huiles essentielles peuvent agir comme antioxydants en neutralisant les radicaux libres responsables du stress oxydatif dans l'organisme. Par exemple, l'huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis*) est connue pour son activité antioxydante. (Gulcin & al., 2007).

II.8.4 Activité anxiolytique et relaxante :

Certaines huiles essentielles ont des effets calmants sur le système nerveux, aidant à réduire l'anxiété et le stress. Par exemple, l'huile essentielle de bergamote (*Citrus bergamia*) est utilisée pour ses effets relaxants (Saiyudthong & al., 2011).

II.8.5 Activité analgésique :

Certaines huiles essentielles ont des propriétés analgésiques, pouvant soulager la douleur. Par exemple, l'huile essentielle de menthe poivrée (*Mentha × piperita*) est connue pour son effet analgésique (McKay & al., 2006).

II.9 Domaine d'application des huiles essentielles :**II.9.1 En Alimentation et boissons :**

Certaines huiles essentielles sont utilisées comme additifs alimentaires pour leur arôme et leurs propriétés conservatrices. Elles peuvent être ajoutées à des produits alimentaires tels que les bonbons, les boissons, et les condiments pour améliorer la saveur et prolonger la durée de conservation (Burt, 2004).

II.9.2 En Parfumerie et Cosmétologie :

Les huiles essentielles sont des ingrédients couramment utilisés dans l'industrie des parfums et des cosmétiques en raison de leurs arômes naturels et de leurs propriétés bénéfiques pour la peau et les cheveux (Reuter & al., 2010).

II.9.3 En Thérapeutique :

Les huiles essentielles sont largement utilisées en aromathérapie pour leurs propriétés thérapeutiques, y compris leurs effets relaxants, anti-inflammatoires, analgésiques et antimicrobiens (Ali & al., 2015).

II.9.4 En Médecine alternative :

En plus de l'aromathérapie, les huiles essentielles sont utilisées dans diverses pratiques de médecine alternative pour traiter une variété de troubles de santé, y compris les troubles digestifs, les problèmes de sommeil, et les infections (Al-Wabel & al., 2015).

II.9.5 Médecine vétérinaire :

Les huiles essentielles sont également utilisées en médecine vétérinaire pour traiter diverses affections chez les animaux domestiques, notamment les infections cutanées et les problèmes respiratoires (Tisserand & al., 2013).

II.9.6 En Agriculture et Horticulture :

Les huiles essentielles peuvent être utilisées comme alternatives naturelles aux pesticides synthétiques dans la protection des cultures et la lutte contre les ravageurs (Isman, 2000).

II.9.7 En Hygiène et Entretien ménager :

Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles en font des ingrédients utiles dans la fabrication de produits de nettoyage domestiques et de désinfectants naturels (Carson, Mee & Riley, 2002).

II.9.8 En Bien-être et relaxation :

Les huiles essentielles sont souvent utilisées dans les spas et les centres de bien-être pour favoriser la relaxation, le soulagement du stress et l'amélioration de l'humeur (Hongratanaworakit, 2009).

II.9.9 En pharmacologiques :**II.9.9.1 Support dans le traitement des troubles gastro-intestinaux :**

Certaines huiles essentielles ont montré des propriétés bénéfiques dans le traitement des troubles gastro-intestinaux tels que les nausées, les crampes et les problèmes de digestion (Shams & al., 2015).

II.9.9.2 Soutien dans la gestion de la douleur :

Certaines huiles essentielles ont des propriétés analgésiques et peuvent être utilisées pour soulager la douleur associée à des conditions telles que les maux de tête, les douleurs musculaires et les douleurs articulaires (Peana & al., 2002).

II.9.9.3 Soutien émotionnel et psychologique :

Les huiles essentielles sont utilisées en aromathérapie pour soutenir le bien-être émotionnel et psychologique, notamment pour aider à réduire le stress, l'anxiété et la dépression (Setzer, 2009).

II.10 Méthodes d'extraction des huiles essentielles :**II.10.1 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau :**

La vapeur d'eau chauffe les matières végétales, ce qui provoque l'éclatement des glandes d'huile et la libération des huiles essentielles.

Les vapeurs d'eau et d'huile essentielle sont ensuite dirigées vers un condenseur où elles sont refroidies et liquéfiées. Le mélange d'huile essentielle et d'eau est recueilli dans un séparateur où les deux phases sont séparées. L'huile essentielle, qui est insoluble dans l'eau, flotte à la surface et peut être récupérée (Baser & al, 2015 ; Lawless, 2013 ; Lis-Balchin, 2006).

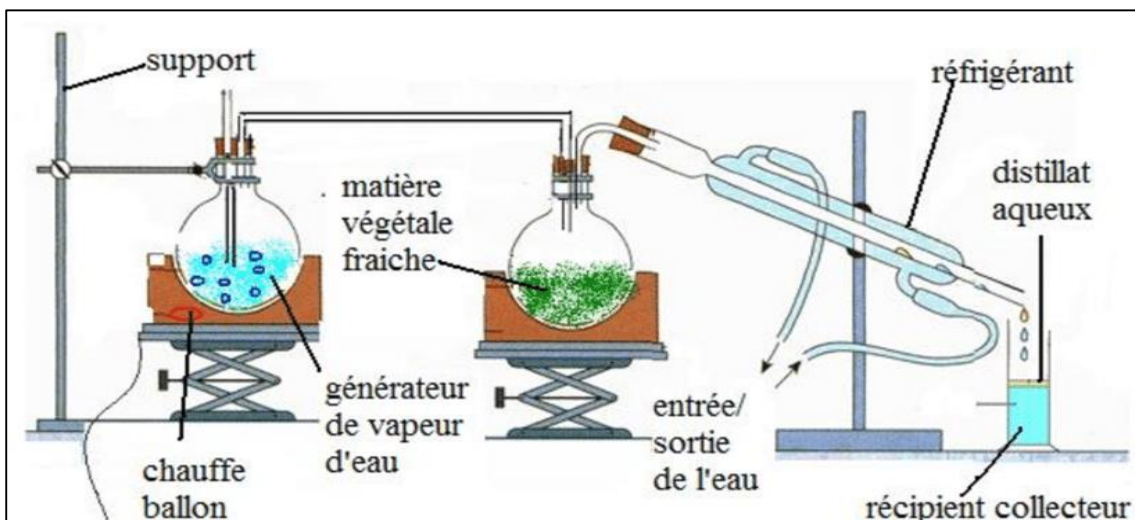


Figure.6 : schéma de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (Baser & al, 2015)

II.10.2 Extraction par hydro distillation d'huiles essentielles :

Les matières végétales sont placées dans un alambic ou un récipient spécialisé contenant de l'eau.

L'eau est chauffée, ce qui crée de la vapeur d'eau qui traverse les matières végétales et extrait les huiles essentielles.

Les vapeurs d'eau chargées en huiles essentielles sont ensuite refroidies dans un serpentin ou un condenseur, où elles se liquéfient à nouveau.

Le mélange d'huile essentielle et d'eau est recueilli dans un séparateur où les deux phases sont séparées.

L'huile essentielle, qui est insoluble dans l'eau, flotte à la surface et peut être récupérée (Baser & al, 2015 ; Lawless, 2013 ; Lis-Balchin, 2006).

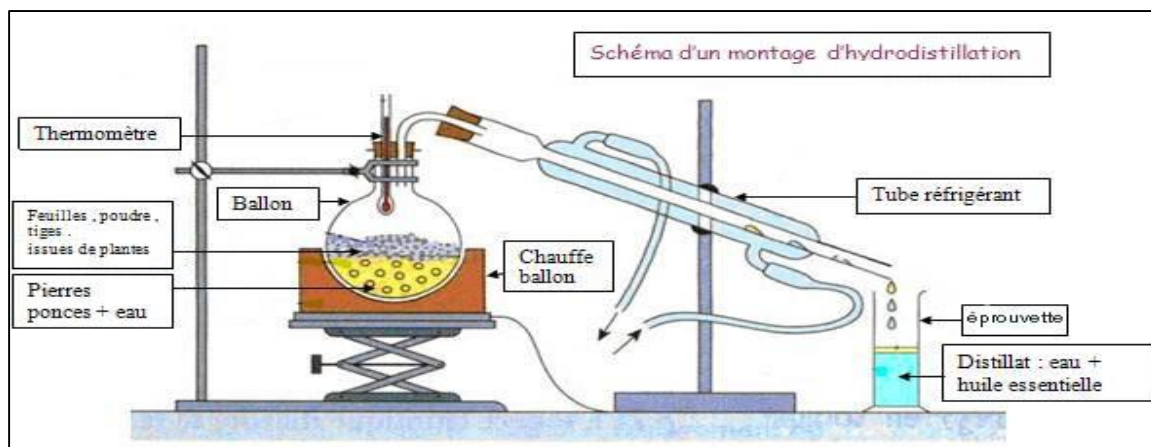


Figure.7 : Schéma de l'extraction par hydro distillation d'huiles essentielles (Luechesi, 2005).

II.10.3 Extraction par solvant organique :

Les matières végétales sont broyées et placées dans un récipient, puis recouvertes du Solvant organique choisi.

Le mélange est agité ou chauffé pour permettre une meilleure extraction des huiles essentielles.

Les composés aromatiques se dissolvent dans le solvant, formant une solution appelée extrait.

L'extrait est ensuite filtré pour éliminer les matières végétales insolubles, laissant derrière lui une solution contenant les huiles essentielles (Guenther, 1950 ; Lawless, 2013 ; Lis-Balchin, 2006).

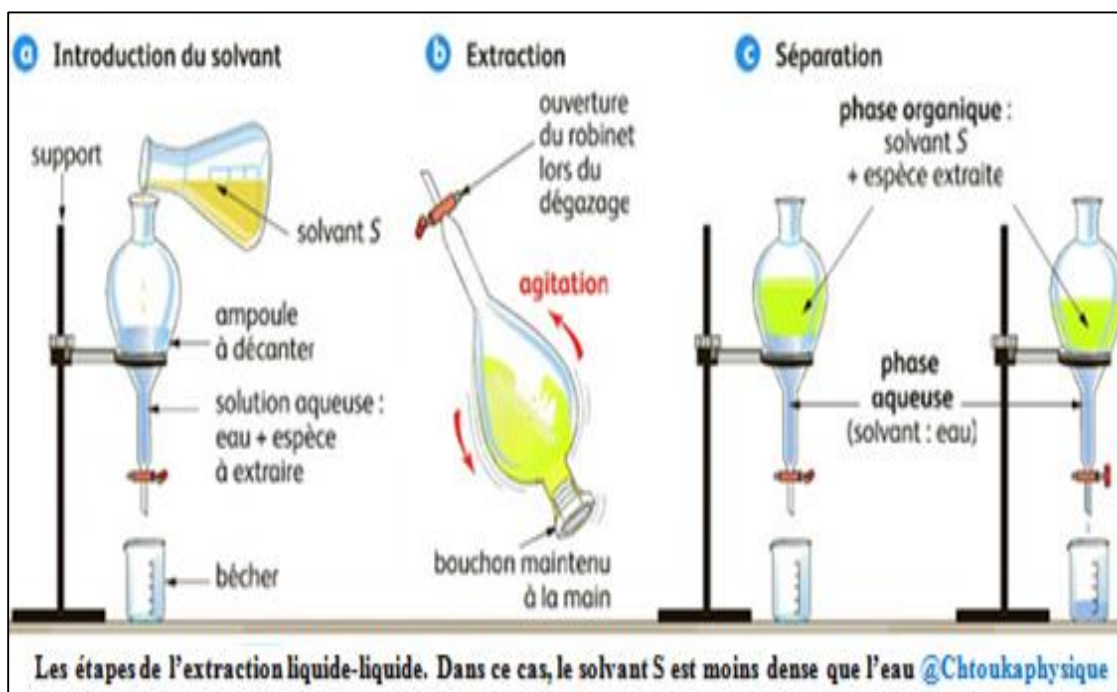


Figure.8 : Schéma de l'extraction par solvant organique (Lawless, 2013).

II.10.4 Extraction par fluide à l'état supercritique hydro diffusion :

Les matières végétales sont placées dans une chambre d'extraction spéciale et le CO₂ est comprimé jusqu'à atteindre un état supercritique.

Le fluide supercritique est ensuite introduit dans la chambre d'extraction, où il agit comme solvant pour extraire les composés aromatiques des plantes.

Le mélange CO₂/huiles essentielles est ensuite dirigé vers un séparateur, où la pression est relâchée, permettant au CO₂ de retourner à l'état gazeux et laissant derrière lui les huiles essentielles pures (Smith & al, 2012).

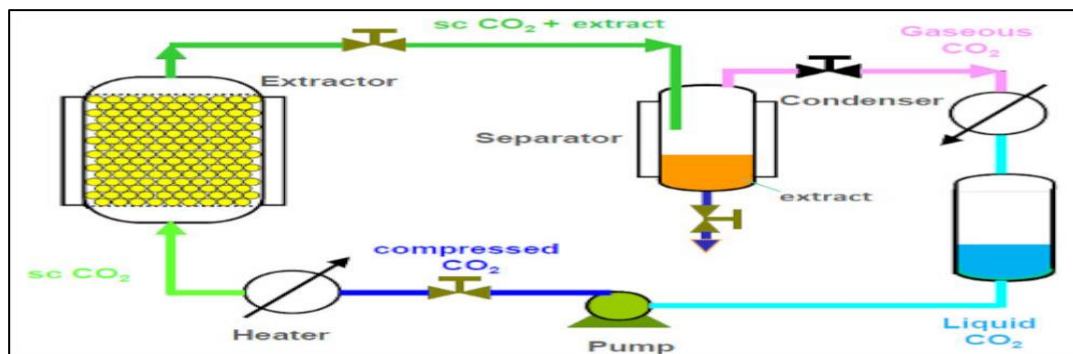


Figure.9 : Schéma de l'extraction par fluide à l'état supercritique hydro diffusion (Smith & al., 2012).

II.10.5 Extraction assistée par micro-ondes :

Les matières végétales sont placées dans un récipient approprié et immergées dans un solvant, tel que l'eau ou un mélange eau-alcool, qui permettra d'extraire les huiles essentielles.

Le récipient est ensuite exposé à des micro-ondes, qui chauffent rapidement le solvant et les matières végétales.

La chaleur générée par les micro-ondes favorise la libération des huiles essentielles des plantes, accélérant ainsi le processus d'extraction.

Une fois l'extraction terminée, le mélange solvant/huiles essentielles est filtré pour éliminer les matières végétales, laissant derrière lui les huiles essentielles (Munekata & al, 2018 ; Zulfiqar Ali Raza & al, 2017).

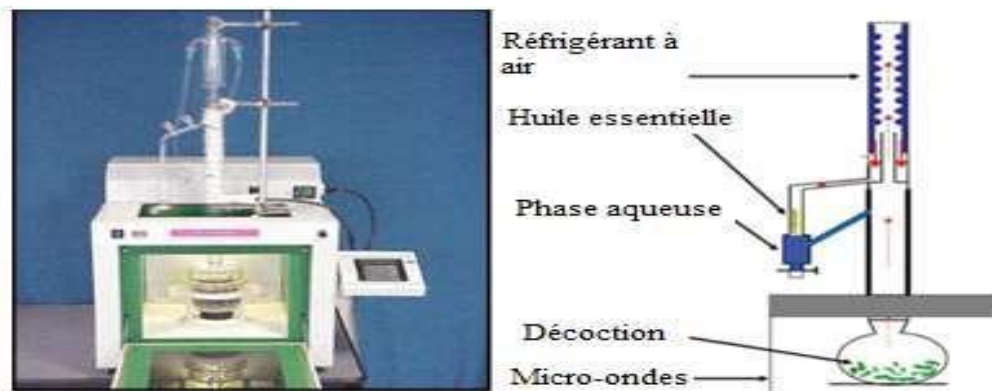


Figure. 10: Schéma de l'extraction assistée par micro-ondes (Bali & al, 2014).

II.10.6 Extraction par les corps gras :

Les fleurs fraîches sont disposées sur des plaques de verre recouvertes de graisse, formant une couche de pétales.

Au fil du temps, les huiles essentielles des fleurs sont absorbées par la graisse, laissant les pétales dépourvus d'arôme.

Cette opération est répétée plusieurs fois avec des fleurs fraîches jusqu'à ce que la graisse soit saturée en huiles essentielles.

Ensuite, la graisse imprégnée d'huiles essentielles est lavée avec de l'alcool pour dissoudre les huiles essentielles, formant un extrait parfumé (Franchomme & al, 2001 ; Grieve, 1971).

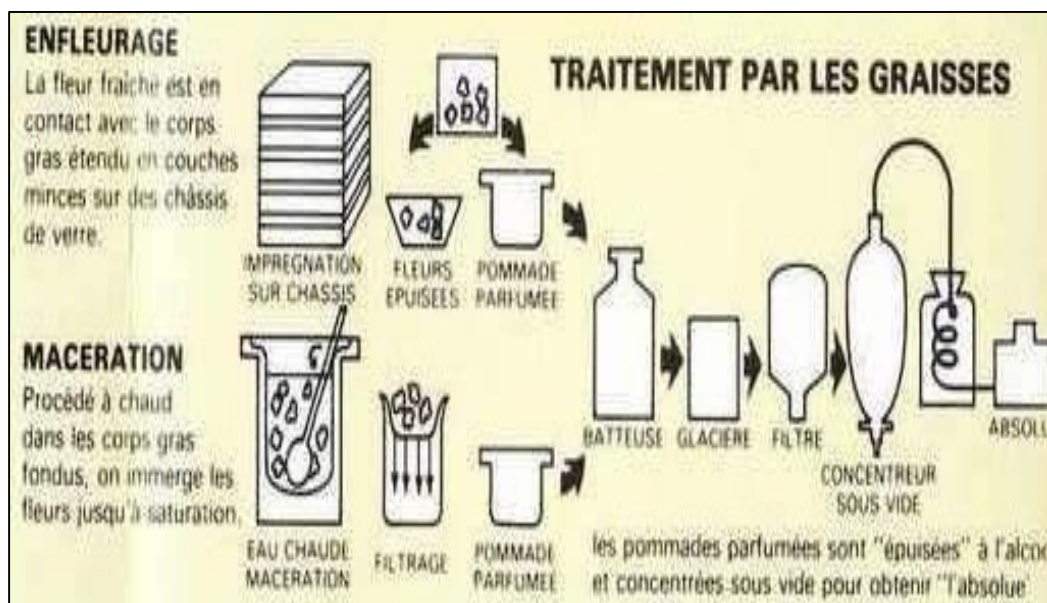


Figure.11: Schéma de l'extraction par les corps gras (Franchomme & al., 2001 ; Grieve, 1971).

II.11 Conservation des huiles essentielles :

La conservation des huiles essentielles est cruciale pour préserver leur qualité, leur efficacité et leur longévité. Voici une explication détaillée des meilleures pratiques de conservation.

II.11.1 Stockage :

Conservez les huiles essentielles dans des flacons en verre teinté ou en aluminium de couleur sombre pour protéger les composés volatils de la lumière. La lumière directe du soleil peut altérer la composition chimique des huiles essentielles et réduire leur efficacité.

Utilisez des bouchons bien ajustés pour éviter les fuites et prévenir l'oxydation des huiles essentielles (Tisserand & al., 2013 ; Schnaubelt, 2011).

II.11.2 Température :

Stockez les huiles essentielles dans un endroit frais, sec et sombre, à l'abri de la chaleur et des fluctuations de température. Les températures élevées peuvent accélérer le processus de décomposition des huiles essentielles et altérer leur arôme et leurs propriétés thérapeutiques (Young & al, 2013 ; Schnaubelt, 2011).

II.11.3 Humidité :

Évitez l'exposition des huiles essentielles à l'humidité, car l'eau peut provoquer la dégradation des composés volatils. Assurez-vous que les flacons sont correctement scellés pour empêcher l'humidité de pénétrer (Lawless & al., 2013 ; Schnaubelt, 2011).

II.11.4 Air :

Conservez les flacons d'huiles essentielles hermétiquement fermés pour empêcher l'oxydation et la perte de volatilité des composés aromatiques. L'exposition à l'air peut altérer la qualité des huiles essentielles au fil du temps (Tisserand & al, 2013 ; Schnaubelt, 2011).

II.11.5 Durée de conservation :

Les huiles essentielles de haute qualité et correctement conservées peuvent généralement être utilisées pendant plusieurs années. Cependant, la durée de conservation peut varier en fonction de la stabilité spécifique des composés présents dans chaque huile. Certains composés volatils peuvent s'évaporer lentement au fil du temps, ce qui peut entraîner une diminution de l'arôme et de l'efficacité des huiles essentielles (Young & al 2013 ; Schnaubelt, 2011).

Partie expérimentale



Chapitre III : Matériels et Méthodes

III.1. Présentation des sites d'étude

III.1.1 Localisation géographique de Tadmit -Djelfa :

La commune de Tadmit est située dans la partie Sud-Ouest de la wilaya de Djelfa, à la limite de la wilaya de Laghouat. Elle couvre une superficie de 788,58 km² (repr. 2,44% de la Wilaya), et fait partie du territoire de l'Atlas Saharien. Elle fait partie de la Daïra de Ain El Ibel qui compte quatre communes (Ain el Ibel, Zaccar, Moudjebara, et Tadmit) (fig.12).

Coordonnées géographiques :

- **Latitude :** 34.6667° N
- **Longitude :** 3.2500° E



Figure.12 : Localisation géographique de Tadmit- Dejlfa (GoogleMap)

III.2 Caractéristique édaphiques et topographiques(Djelfa):

III.2.1 Caractéristiques édaphiques :

Les sols de Tadmit principalement des sols calcaires, pauvres en matière organique et en éléments nutritifs. Ils sont généralement **sableux** ou **limoneux**, et leur texture est souvent grossière.

III.2.2 Caractéristiques topographiques :

III.2.2.1 Altitude:

Djelfa se trouve à environ 1049mètres d'altitude, avec des variations altitudinales

influençant le climat et les activités humaines.

III.2.2.2 Relief :

Le relief de Djelfa est caractérisé par des terrains relativement plats à légèrement vallonnés, avec quelques collines dispersées. Les reliefs sont généralement doux et modérés, sans présence de montagnes abruptes ou de vallées profondes. Cette topographie relativement plane facilite l'agriculture et d'autres activités humaines dans la région (Boughedaoui & al, 2016).

III.2.2.3 Drainage :

Le drainage dans la région de Djelfa est principalement influencé par la topographie et la géologie locale. Les eaux de pluie s'écoulent généralement vers les plaines et les vallées, formant des réseaux hydrographiques saisonniers. Cependant, en raison du climat aride, les cours d'eau sont souvent intermittents et peuvent sécher pendant les périodes de faibles précipitations (Benhamiche & al, 2019).

III.2.2.4 Érosion :

Bien que la topographie de Djelfa soit généralement douce, elle est sujette à l'érosion éolienne et hydrique en raison du climat semi-aride de la région. Les vents forts peuvent déplacer les sols et former des dunes de sable dans les zones les plus exposées, tandis que les précipitations irrégulières peuvent entraîner une érosion des sols et des ravins dans les pentes plus raides (Boughedaoui & al, 2016).

III.3 Caractéristiques climatiques:

Djelfa, présente un climat semi arides avec des étés chauds et secs, et de hivers froids.

III.3.1 Les précipitations, sont rares et irrégulières, souvent inférieures à 300mm par an.

III.3.2 Températures : les étés atteignent souvent plus de 35°C, voire 40°C.

III.3.3 Les hivers peuvent descendre en dessous de 0°C, entraînant des gelées nocturnes.

III.3.4 Humidité :

Djelfa, avec son climat semi-aride, connaît des conditions météorologiques marquées par des précipitations limitées et des taux d'humidité relativement bas. Les étés sont chauds et secs, tandis que les hivers peuvent être froids et légèrement plus humides, bien que les précipitations restent modestes. Les taux d'humidité sont souvent bas, descendant même en dessous de 20% ou 30% pendant les mois chauds de l'été. Les vents, notamment ceux venant du désert, contribuent à maintenir des taux d'humidité bas en été, bien que les vents plus frais du nord puissent apporter un peu plus d'humidité en hiver. Ces observations locales sont cruciales pour comprendre les

impacts du climat sur divers aspects de la vie dans la région, allant de l'agriculture à la santé humaine (Benhamiche & al., 2019).

III.3.5 Vent :

Les vents peuvent jouer un rôle important dans le climat de Djelfa, en particulier pendant les mois d'été. Les vents chauds et secs en provenance du désert peuvent augmenter les températures et aggraver les conditions de chaleur, tandis que les vents plus frais en provenance des régions nordiques peuvent apporter un soulagement pendant les mois d'hiver (Benhamiche & al, 2019).

III.4 Diagramme des ombrothermique et la période sèche:

La durée de la saison sèche est de sept mois soit de mars à novembre.

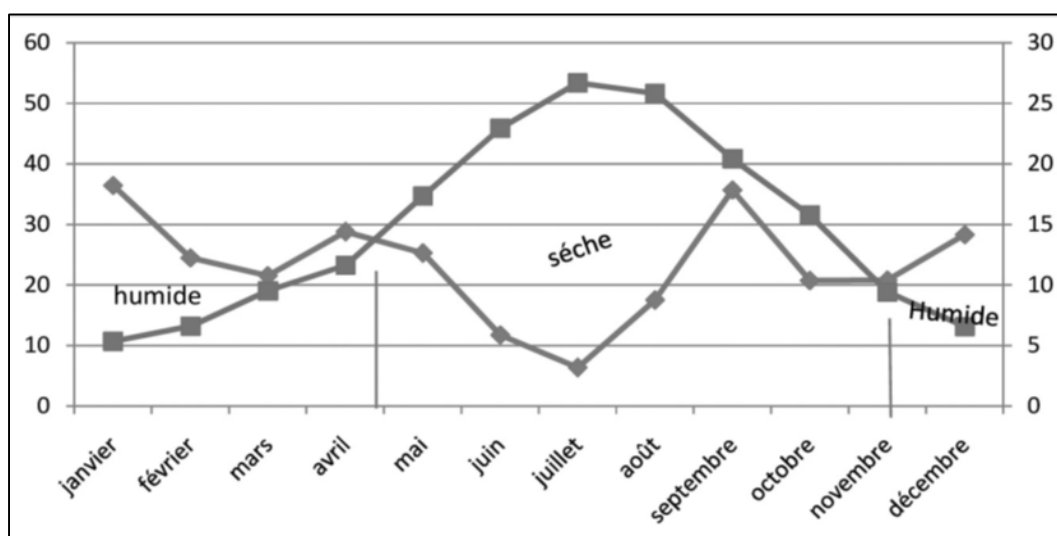


Figure.13: Diagramme ombrothermique de Bagnouls & Gaussen (1995-2009). (Boussaid & al, 2012). Contribution à une étude climatique comparative entre deux trentaines d'années (1913-1938) et (1975-2009) cas de la région de Djelfa.

III.5 Présentation de site d'étude(Ksar Chellala):

III.5.1 Localisation géographique :

Ksar Chellala est une commune de la wilaya de Tiaret, située dans le nord-ouest de l'Algérie. Géographiquement, elle se trouve à environ 100 km à l'est de la ville de Tiaret et à environ 300 km au sud-ouest de la capitale, Alger. Ksar Chellala est située sur les Hauts Plateaux, une région caractérisée par un climat semi-aride.

Coordonnées géographiques :

- **Latitude :** 35.2125° N
- **Longitude :** 2.3189° E



Figure.14: Localisation géographique de Ksar-Chellala (Google Map)

III.5.2 Caractéristiques édaphiques et topographiques (Ksar-Chellala)

III.5.2.1 Caractéristiques édaphiques :

III.5.2.1.1 Type de sols :

Sols bruns calcaires : peu profonds, riches en calcium et magnésium, mais pauvres en matières organiques.

III.5.2.1.2 Texture du sol :

La texture de sols varie, mais en général, les sols de Ksar-Chellala sont de texture moyenne à fine. Cela signifie qu'ils peuvent également être sujets à la compaction.

III.5.2.1.3 Composition chimique :

Les sols de Ksar-Chellala sont également riches en calcium et en magnésium en raison de la présence de roches calcaires dans la région. Cependant, comme Tiaret, ils peuvent être pauvres en matière organique, ce qui peut limiter leur fertilité. (Bouguern & al., 2013; Nouri & al., 2011).

III.5.2.1.4 Utilisation agricole :

Malgré ces limitations, les sols de Ksar-Chellala sont utilisés pour la culture des céréales, des légumineuses et des olives. Des pratiques agricoles durables sont importantes pour préserver la fertilité des sols dans la région. (Aziza & al., 2013; Nouri & al., 2011).

III.5.2.2 Caractéristiques topographiques :**III.5.2.2.1 Altitude :**

Environ 800 mètres, avec des variations dues au relief accidenté.

III.5.2.2.2 Relief:

La région est caractérisée par un relief montagneux, avec les collines et des vallées. Les montagnes de l'atlas tellin influencent le relief de la région, créant des paysages variés et souvent spectaculaires (Abdi & al., 2017).

III.5.2.2.3 Hydrographie:

Ksar-Chellala est traversée par plusieurs oueds (cours d'eau saisonniers) qui prennent leur source dans les montagnes environnantes. Ces oueds peuvent être sujets à des crues soudaines pendant les périodes de fortes pluies (Belkacem & al., 2017).

III.5.2.2.4 Utilisation du sol :

En raison du relief accidenté, une grande partie de la région Ksar-Chellala est peu propice à l'agriculture. Cependant, les vallées et les plaines alluviales sont souvent utilisées pour la culture des céréales et des olives. (Adnani & al., 2017).

III.5.3 Caractéristiques climatiques:**III.5.3.1 Températures:**

- **Étés chauds:** Températures moyennes de 25 à 30°C.
- **Hivers doux :** Températures moyennes de 10 à 15°C, avec des températures plus basses en altitude.

III.5.3.2 Précipitations:

- **Moyenne annuelle :** 400 à 600 mm.
- Précipitations plus abondantes en hivers, étés généralement secs.

III.5.3.3 Ensoleillement:

Ksar-Chellala bénéficie d'un ensoleillement important tout au long de l'année en raison de sa position géographique. Cela contribue à des étés chauds et secs (Bessedik & al., 2018; Guessoum & al., 2016).

III.5.3.4 Vent:

Sont généralement modérés, avec parfois des rafales plus fortes, en particulier pendant les périodes de transition entre les saisons (Bessedik & al., 2018; Guessoum & al., 2016).

III.6 Diagramme ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN :

Le diagramme ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN permet de calculer la durée de la saison sèche sur un seul graphe. Pour cela, ils ont imaginé de confronter des courbes de pluies (courbes ombriques) et températures (courbes thermiques), il en est résulté les diagrammes ombrothermiques. (WEBMASTER 02)

L'échelle de pluviométrie est double de la température : l'une humide et l'autre sèche. On parle de saison sèche lorsque la courbe des pluies passe en dessous de celle des températures autrement dit lorsque $P \leq 2T$. (WEBMASTER 02).

L'examen des diagrammes ombrothermiques (Fig.15) montre que notre zone d'étude présente 5 mois de sécheresse; généralement de Mai au début d'Octobre pour les deux périodes.

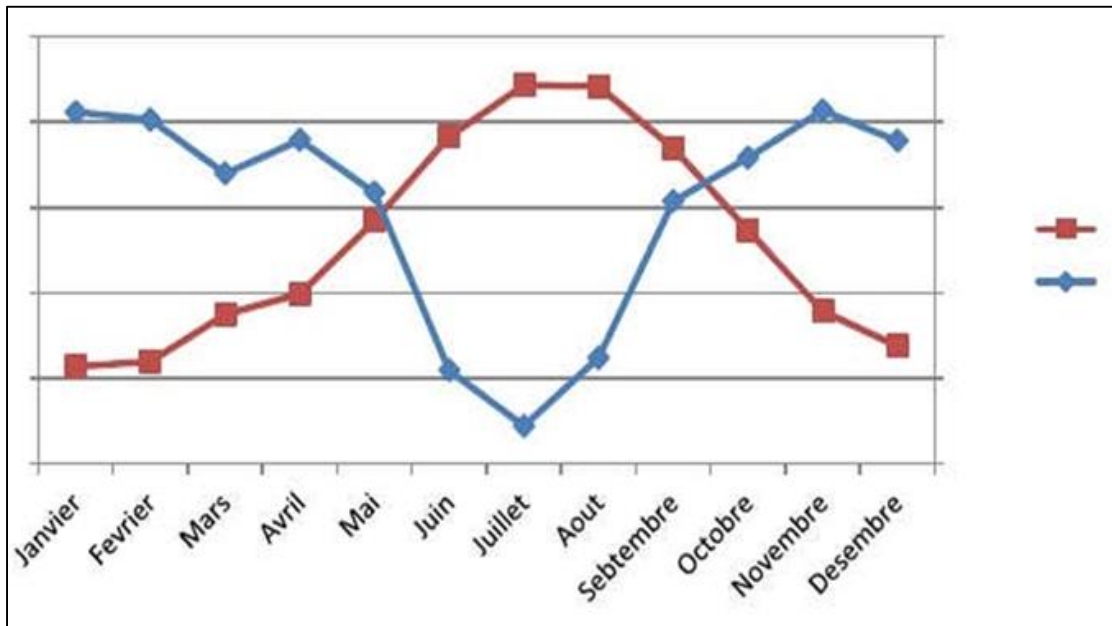


Figure.15: Diagramme ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN de Tiaret (Mémoire de Master 2 : La Wilaya de Tiaret Par Son Positionnement Géographique Ainsi Que Par L).

III.7 Méthodologie d'extraction des huiles essentielles :

III.7.1 Matériel végétale :

Les échantillons de l'armoise blanche ont été prélevés à partir deux régions, Djelfa (Tadmit) et Ksar-Chellalaen mois de décembre 2023 qui accompagne la période de floraison pour la région de Djelfa (fig.16) et la période de fructification pour la région de Ksar-Chellala (fig.17).

Le matériel végétal récolte, a été débarrassé des mauvaises herbes et séché à l'abri de la lumière dans un endroit aéré pendant 15 jours.



Figure.16 : Touffe d'armoise blanche de site de Djelfa (Tadmit) (photo, Ahir, Balach & Bari, 2023).



Figure.17 : Touffe d'armoise blanche de site de Ksar-Chellala (photo, Ahir, Balach & Bari, 2023).

III.7.2 Méthode d'extraction des huiles essentielles:

a-Broyage matière sèche:

Pour avoir une grande surface de contact avec l'eau nous avons procédé d'abord au broyage et tamisage de la plante (feuilles et tiges) (Fig.18).



Figure.18 : Broyage de la plante d'armoise blanche (feuilles, tiges).

a- Extraction par hydrodistillation :

L'extraction est effectuée au niveau de laboratoire de sciences alimentaires et protection des végétaux de la faculté de sciences de la nature et de la vie à l'université IBN KHALDOUN de Tiaret.

La méthode d'extraction suivie est celle de l'hydro distillation. L'extraction s'est fait à l'aide d'un montage à distillation simple (Fig.19).

Nous avons immergé 130 grammes de feuilles d'armoise blanche séchées et broyées dans un ballon d'un litre. Ensuite, nous avons ajouté 600 ml d'eau distillée et chauffé le mélange à ébullition à l'aide d'un chauffe-ballon. Le ballon était équipé d'un coude en verre connecté à un réfrigérant pour condenser la vapeur d'eau résultant de l'huile essentielle extraite. Après 2 à 3 heures jusqu'à ce qu'il sèche, nous avons ajouté 200 ml d'eau distillée pendant une heure à une heure et demie. Après la fin de l'expérience, l'extrait a été recueilli dans une ampoule à décantée.



Figure.19: Montage d'hydro distillation simple pour l'extraction de l'huile essentielle (Balach, Achir & Bari, 2024).

b- Décantation:

La décantation est réalisée dans une ampoule à décantée de 500 ml, où nous ajoutons 15 g de NaCl au distillat, puis nous l'enveloppons dans du papier aluminium pendant 24 heures.

Pendant cette période, les huiles extraites se séparent en deux phases non miscibles (Fig.20). La phase organique reste en haut au niveau du flacon de décantation, et la phase aqueuse est recueillie dans un verre doseur. Ensuite, l'huile essentielle qui apparaît à la surface de la phase organique est récupérée dans une Eppendorf.



Figure.20: Une ampoule a décanté pour la séparation d'une huile essentielle de l'armoise blanche (photos, Balach, Achir & Bari, 2024).

III.7.3 Détermination du rendement en huile essentielle

Selon les normes AFNOR(1982), Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal traité. Ainsi, nous avons calculé le rendement en huile essentielle de nos échantillons selon la formule suivante :

$$R = m/m_0 \times 100$$

R: rendement en huile essentielle (%).

m: masse en gramme de l'huile essentielle.

m₀: masse en gramme de matière végétale sèche.

III.7.4 Étude de l'activité antibactérienne :

III.7.4.1 Les souches bactérienne et conditions de culture :

L'activité antimicrobienne des extraits d'*Artemisia herba alba* a été testée contre: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*. Elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes, d'infections potentiellement mortelles (patient immunodéprimé, prothèses cardiaques). *S.aureus* se présente comme une coque en amas (grappes de raisin), Gram positif et catalase positif.

Escherichia coli est une bactérie à Gram négatif connue pour sa forte antibiorésistance et son pouvoir invasif et toxique chez l'homme (Bencheqroun & al, 2012). Cette bactérie, a étéensemencée juste avant le test antibactérien dans un bouillon nutritif et incubé à 37 °C pendant 24 h.

Les souches bactériennes identifiées, ont été obtenues à partir du laboratoire de microbiologie, de l'université d'Ibn khaldoun Tiaret

III.7.4.2 Préparation de l'inoculum :

À partir des boîtes contenant des bactéries, telles que *staphylococcus aureus* ou *Escherichia coli*, des suspensions microbiennes ont été préparées individuellement pour chaque espèce. En utilisant une pipette pasteur, deux ou trois colonies pures et bien isolées sont prélevées aseptiquement et déposées dans un tube contenant 5 ml de milieu macfarland.

III.7.4.3 Principe de la méthode de diffusion en milieu gélosé :

La méthode de diffusion est très utilisée en microbiologie (antibiogramme), repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition (Broadsky & al, 1976).

III.7.4.4 Contact bactérie - huile essentielle d'Armoise blanche :

Sur des boîtes de pétri contenant le milieu gélosé (Muller Hinton), on introduit 100ul de l'inoculum pour obtenir, un étalement uniforme en nappe après ensemencement à l'aide d'une pipette de pasteur (forme L). Cette étape est réalisée sur des boîtes de pétri pour les deux bactéries étudiées.

L'une des boîtes de pétri est un témoin, trois autres boîtes feront l'objet de contact bactérie et huile essentielle d'Armoise blanche (de la région 01 ou de la région 02) qui consiste à déposer aseptiquement dans chaque boîte deux disques en papier wattman stérile (de 4mm de diamètre) et imbibé en huile essentielle (50ul, 75ul et 100ul) sur le tapis bactérienne en cours de développement. L'ensemble des boîtes seront incubées à 37°C pendant 24 h.

III.7.4.5 Mesure de la zone d'inhibition et expression des résultats :

Les halos d'inhibitions apparus sur la gélose sont mesurés en mm à l'aide d'une règle et la sensibilité des bactéries cibles envers les différents extraits est classée selon les diamètres des halos d'inhibition déterminés par (Ponce ,2003).

- $\emptyset < 8$ mm: bactérie non sensible ou résistante;
- $9 < \emptyset < 14$ mm: bactérie sensible ou intermédiaire;
- $15 < \emptyset < 19$ mm: bactérie très sensible ;
- $\emptyset > 20$ mm: bactérie extrêmement sensible.



Chapitre IV
Résultats & Discussions

Chapitre IV : Résultats et discussions**IV.1 Rendement en huile essentielle****IV.1.1 Rendement en huile essentielle d'*Artemisia herba alba* de la région 01 de Djelfa**

Le rendement en huile essentielle a été calculé selon la formule suivante :

- $R(A) = m/m_0 \times 100$.
- $m = 0,875$
- $m_0 = 175g$
- $R = 0,875/175 \times 100$
- $R = 0,5\%$

IV.1.2. Rendement en huile essentielle d'*Artémisia herba alba* de la région 02 de Ksar-Chellala :

- $R(B) = m/m_0 \times 100$
- $R(B) = m/m_0 \times 100$
- $m = 1.575$
- $m_0 = 175g$
- $R = 1.575 / \text{Rendement } 175 \times 100$
- $R = 0,9\%$

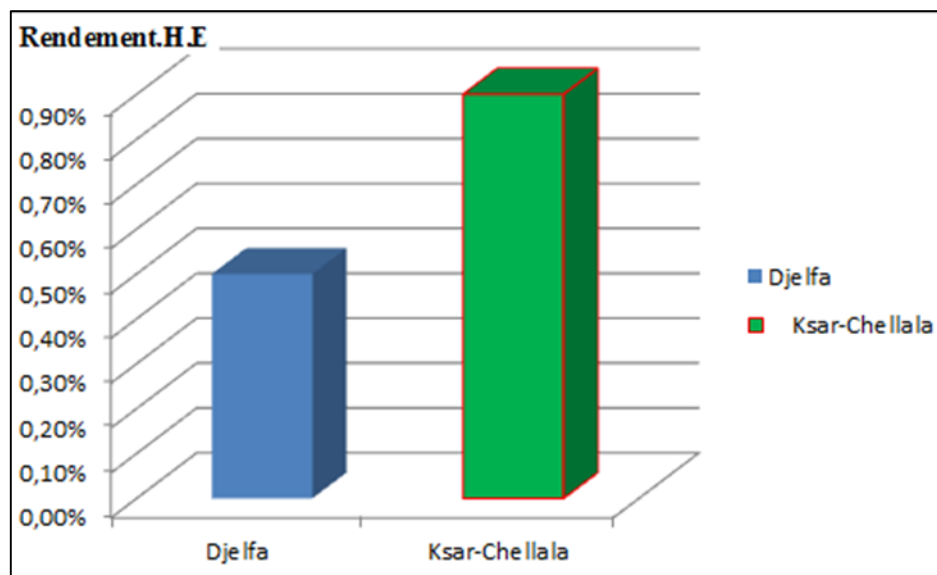


Figure.21:Rendement en H.E d'*Artémisia herba alba* des deux régions Djelfa et Ksar-Chellala.

La figure.21 montre que le rendement en huile essentielle obtenu par hydro distillation à partir des feuilles de l'armoise blanche de la région de Ksar-Chellala est de 0.9%. Ce rendement est supérieur que celui de la région de Djelfa (0.5%).

La différence des rendements en huile essentielle (fig.21), ainsi que des caractères organoleptiques (tableau.5) est fortement liée à la différence des déférents facteurs écologiques des deux sites d'étude. Ainsi, la région de Ksar-Chellala à une altitude moyenne d'environ 800 mètres par contre la région de Djelfa est située à une hauteur de 1049m. On considère aussi la différence de période de sécheresse qui s'étale pendant 5 mois dans la région de Chellala et elle est de 7 mois pour la région de Djelfa (Maghni & al., 2024).

On a constaté une variabilité intra-spécifique du rendement en huile essentielle au sein d'une même espèce (*Artémisia herba alba*). Cette variabilité peut être due aux dissemblances de facteurs écologiques exogènes (topographiques, climatiques et édaphiques) mais aussi à des facteurs endogènes comme le polymorphisme génétique des personnes. Ces facteurs sont autant de paramètres qui influencent à la fois le rendement et la qualité chimique de l'huile essentielle.

Notre résultat du rendement en huile essentielle de Ksar-Chellala (0.9%) est plus proche à celui en Tunisie (0.68% à 1.93%) (Mohsen et Ferchichi, 2009) et en Jordanie (1.3%) (Hudaib et Aburjai, 2006). Le rendement de l'huile essentielle d'Armoise blanche de la chaîne montagneuse des Matmata en Tunisie (0.65%) (Akrouf, 2004) est analogue de celui obtenu de la région de Djelfa (0.5%).

Par rapport aux rendements des autres espèces aromatiques et médicinales (Bencheqroun & al, 2012) ont signalé que le rendement en huile essentielle d'Armoise blanche plus élevé que celui de la rose (0.1-0.35%) et plus faible que celui du thym (2.5%).

Il est constaté aussi que la période de récolte des feuilles pour l'extraction d'huile essentielle fait la différence de rendement. Ainsi, Au Maroc, corrélativement à une étude antérieure faite par (Ghanmi & al 2010). Le rendement en huile essentielle d'Armoise blanche obtenus de la région de Guerçif du mois de juin est de 1.23% et qu'est supérieur aux rendements obtenus de mois septembre (0,56%) et du mois de Mars (0,86 %) .

Ces variations peuvent être dues à des facteurs abiotiques, tels que le climat spécifique des régions, d'origine des échantillons, des facteurs géographiques comme l'altitude, le type de sol et la saison des cueillettes (Ismaili & al, 2016).

L'huile essentielle d'armoise blanche est connue par sa composition en monoterpénoides,

surtout oxygénés, comme le 1,8 cinéole, chrysanthénone, chrysanthénol, α/β thujones, davanone et le camphre comme composants majoritaires. La chrysanthénone est ainsi présente comme constituant majeur (47,71%) chez la plupart des armoises.

Les constituants majeurs et leurs proportions dans la constitution d'huile essentielle d'armoise blanche sont variables d'une région à l'autre. Cette variation ou chimio vari été peut-être due à des facteurs endogènes notamment le polymorphisme génétique caractérisant cette espèce. Ce polymorphisme génétique démontré par l'utilisation des marqueurs moléculaires ISSR pour l'analyse du matériel génétique, réalisée sur un échantillon de 12 individus provenant du site el Feidja de sud-est de la wilaya de Tiaret, cette analyse génétique a démontré que l'*Artemisia herba alba* est caractérisée par un polymorphisme génétique très marqué, prouvé par un peuplement d'amplifias de 37 bandes de tailles différentes dont 78.4% de ces bandes étaient polymorphes (Maghni & al, 2016).

IV.2 Caractéristiques organoleptiques :

Les caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle d'armoise blanche de chaque site à savoir l'aspect, la couleur (fig.22) et l'odeur sont représentées en comparaison avec les normes AFNOR au niveau du tableau

Tableau 05 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles obtenues :

	Aspect	Couleur	Odeur
AFNOR	Liquide mobile, Limpide	Presque incolore à jaune pâle	Caractéristique fraîche, plus ou moins camphrée selon l'origine
H.E d'armoise blanche région de Djelfa	Liquide mobile	Jaune	Très Camphrée
H.E d'armoise blanche région de Ksar-Chellala	Liquide	Jaune foncée	Camphrée

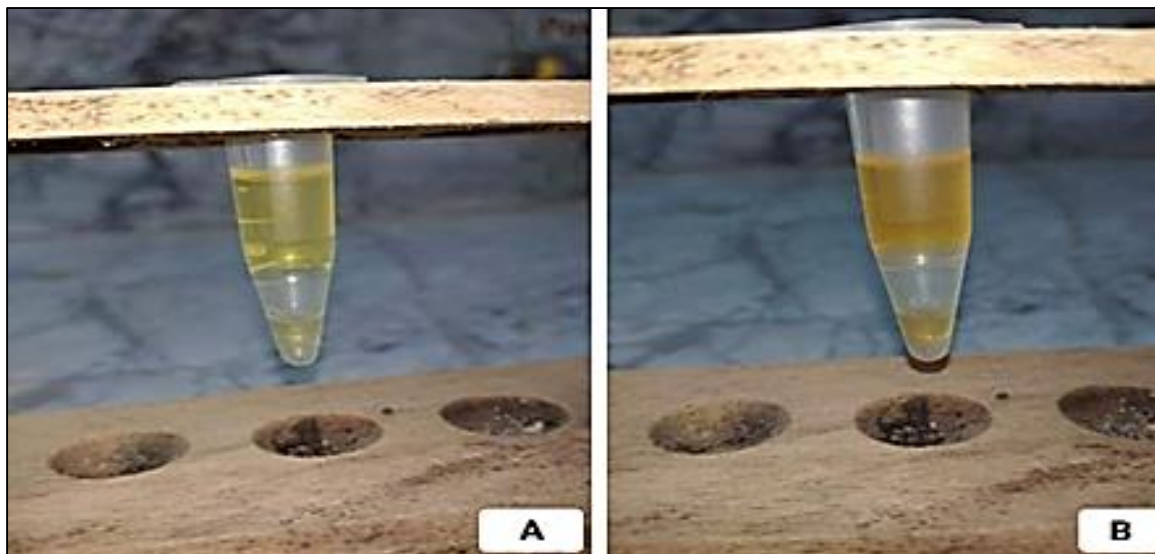


Figure.22: Photo d'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*:

A: Ecotype de Djelfa; **B:** Écotype de Ksar-Chellala

(Photo, Achir, Bari & Balach, 2024).

IV.3 L'activité antibactérienne des huiles essentielles :

L'analyse des résultats obtenus indique que l'activité antimicrobienne produite par l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* de la région de Ksar-Chellala est plus élevée que celle de la région de Djelfa. Les diamètres des halos d'inhibition des deux souches bactériennes testées par 75ul d'huile essentielle étaient respectivement 21mm et 22mm de *Escherichia coli*, 22.5mm et 35mm *Staphylococcus aureus* (fig.23, 24)

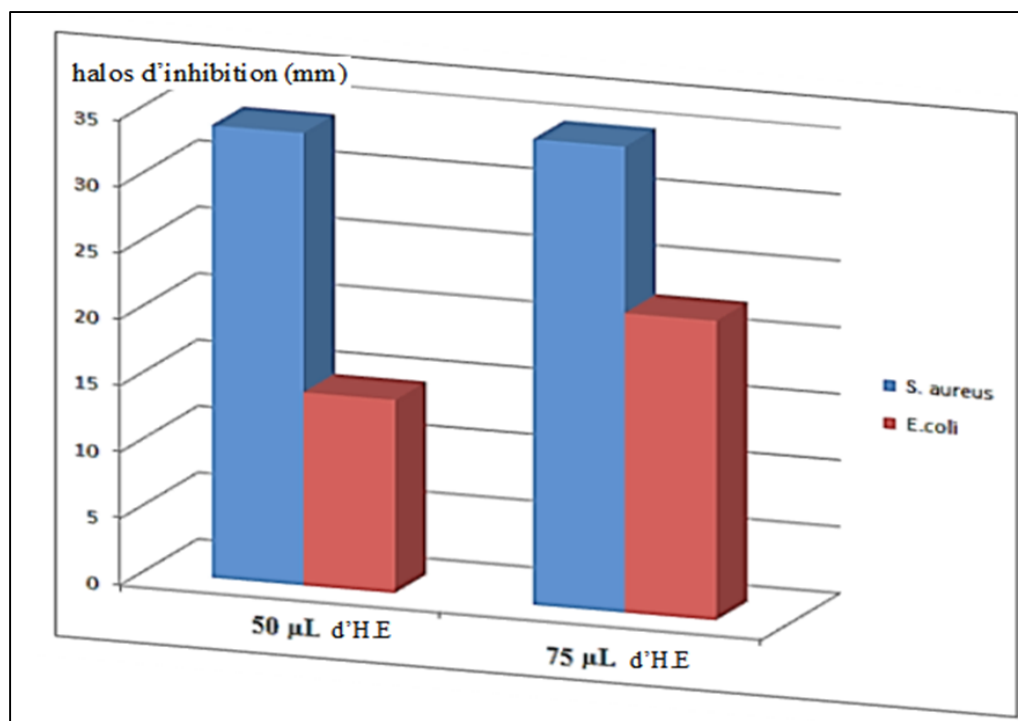


Figure.23: Effet Inhibiteur bactérien d'HE d'Armoise blanche (Écotype de Djelfa).

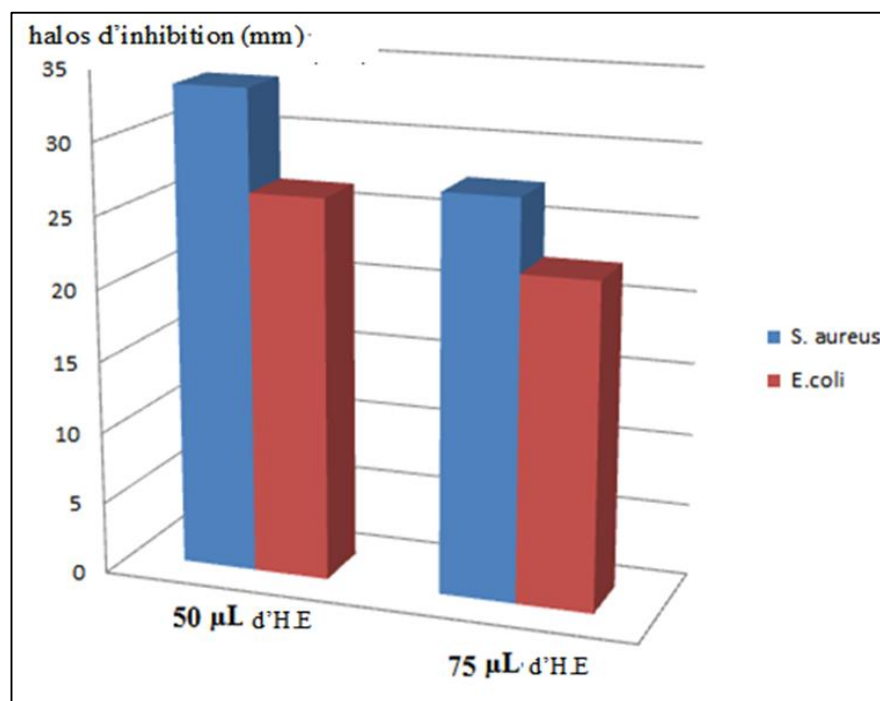


Figure.24: Effet Inhibiteur bactérien d'HE d'Armoise blanche (Écotype de Ksar-Chellala).

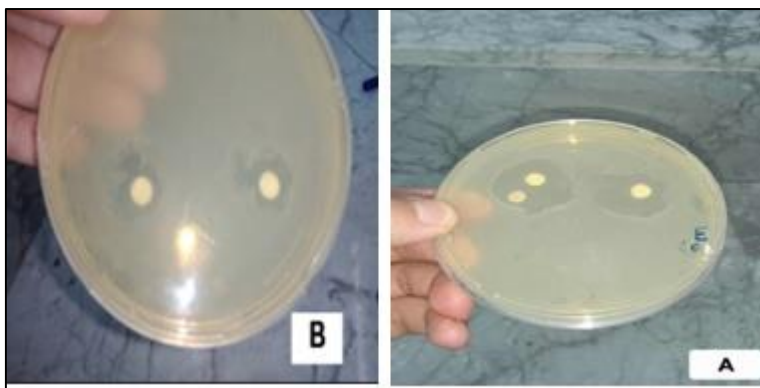


Figure.25: Diamètres des zones d'inhibitions de *Escherichia coli* (Gram-);
A: Effet d'huile essentielle d'*Artémisia herba alba* (quantité de 50ml) de Site Ksar-Chellala;
B: de Site Djelfa (Photo, Balach, Achir & Bari, 2024).

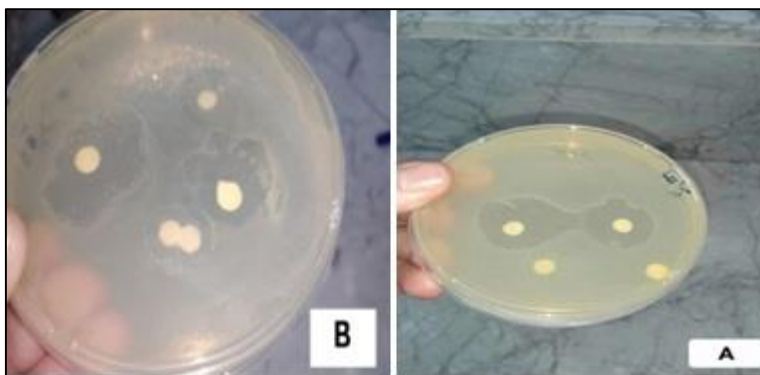


Figure.26: Diamètres des zones d'inhibitions de *Escherichia coli* (Gram-);
A: Effet d'huile essentielle d'*Artémisia herba alba* (quantité de 75ml) de Site Djelfa;
B: de Site Ksar-Chellala (Photo, Balach, Achir & Bari, 2024).

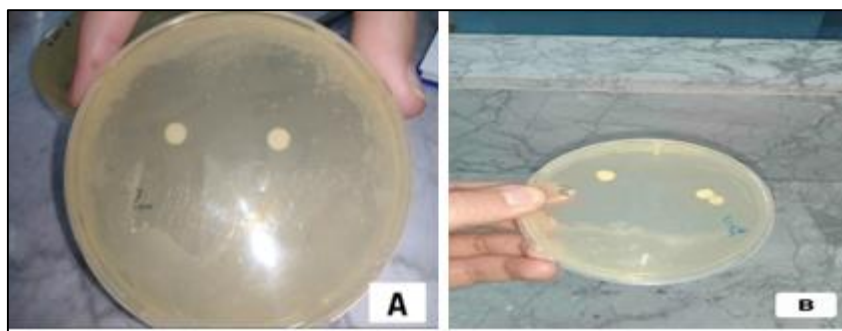


Figure.27: Diamètres des zones d'inhibitions de *Staphylococcus aureus* (Gram+);
A: Effet d'huile essentielle d'*Artémisia herba alba* (quantité 50ml) de Site Ksar-Chellala;
B: de Site Djelfa (Photo, Balach, Achir & Bari, 2024).

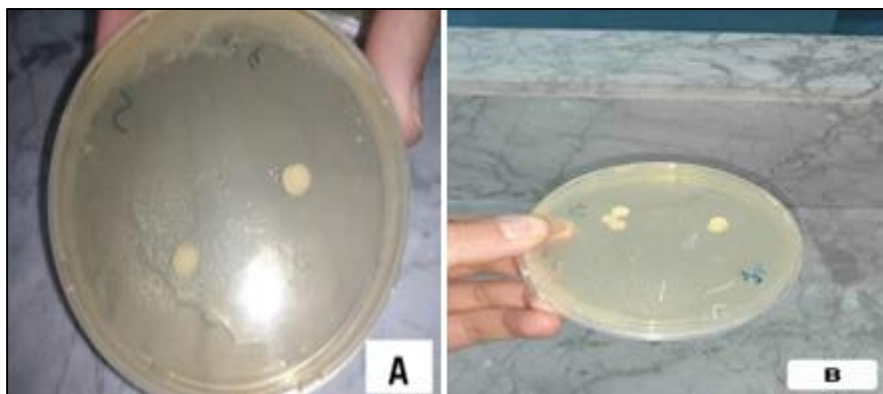


Figure.28: Diamètres des zones d'inhibitions de *Staphylococcus aureus* (Gram+);

A: Effet d'huile essentielle d'*Artémisia herba alba* (quantité 75ml) de Site Ksar-Chellala;

B: de Site Djelfa (Photo, Balach, Achir & Bari, 2024).

On peut expliquer l'activité antibactérienne des huiles essentielles par l'interaction moléculaire possible des groupements fonctionnels des composants des HE avec la paroi bactérienne ce qui provoque de profondes lésions. Ces dernières peuvent immobiliser ou détruire complètement la bactérie.

Les divers groupes fonctionnels des huiles essentielles se trouvent dans leurs composants naturels, comme les monoterpènes, diterpènes et les hydrocarbures. Plusieurs composés sont souvent cités comme responsable des propriétés antiseptiques des huiles essentielles: le thymol, le carvacrol, le cinnamaldéhyde, l'eugénol, le 1,8-cinéole, le camphre et les thujones (Hubert, 2008).

L'action relative des thujones et de l'eucalyptol (ou 1,8-cinéole) a été associée à leur basse hydrosolubilité et la capacité de former des liaisons hydrogènes, ce qui limite leur entrée dans les Gram – qui possèdent des voies hydrophobes inopérants dans la membrane externe (Faleiro 2003). Ainsi, (Wan, 1998) a relié la résistance des bactéries Gram – à leur membrane externe hydrophile qui peut bloquer la pénétration de composés hydrophobes dans la membrane cellulaire cible.

Les multiples activités biologiques d'huile essentielle d'*Artémisia herba alba*, lui confère une large utilisation dans de nombreux domaines agroalimentaire, pharmaceutique, cosmétique et même médicale. Ces HE peuvent être aussi à la base de la formation des pesticides et des insecticides.

IV.4 Sensibilité des souches bactérienne :

Les souches bactériennes utilisées, sont classées en fonction de leurs diamètres d'inhibition et selon leur sensibilité vis-à-vis l'effet inhibiteur d'huile essentielle d'armoise blanche. En effet, l'espèce bactérienne *Staphylococcus aureus* est classé comme bactérie extrêmement sensible par contre *Escherichia coli* est bactérie très sensible.



Conclusion :

Cette étude s'attache à comparer le pouvoir inhibiteur bactérien et le rendement en huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de deux sites: Djelfa et Ksar-Chellala.

L'extraction des huiles essentielles par hydro distillation a révélé un rendement significativement plus élevé pour les échantillons de Ksar-Chellala (0,9%) par rapport à ceux de Djelfa (0,5%). Cette différence de rendement met en évidence une variabilité intra spécifique notable dans la production d'huile essentielle. Cette variabilité peut être attribuée à une combinaison de facteurs exogènes (environnementaux) et endogènes (génétiques). Les facteurs exogènes incluent les conditions topographiques, climatiques et édaphiques, tandis que les facteurs endogènes englobent le polymorphisme génétique des individus. Ces facteurs influencent collectivement à la fois le rendement et la qualité chimique de l'huile essentielle.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* des deux zones d'étude a révélé une efficacité remarquable contre *Staphylococcus aureus* (bactérie Gram+). Les diamètres d'inhibition observés pour cette bactérie étaient significativement plus importants que ceux obtenus pour *Escherichia coli* (bactérie Gram-). Ces résultats démontrent une forte activité antibactérienne des huiles essentielles vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, tandis qu'*Escherichia coli* est classée comme bactérie modérément ou sensible à leur action inhibitrice.

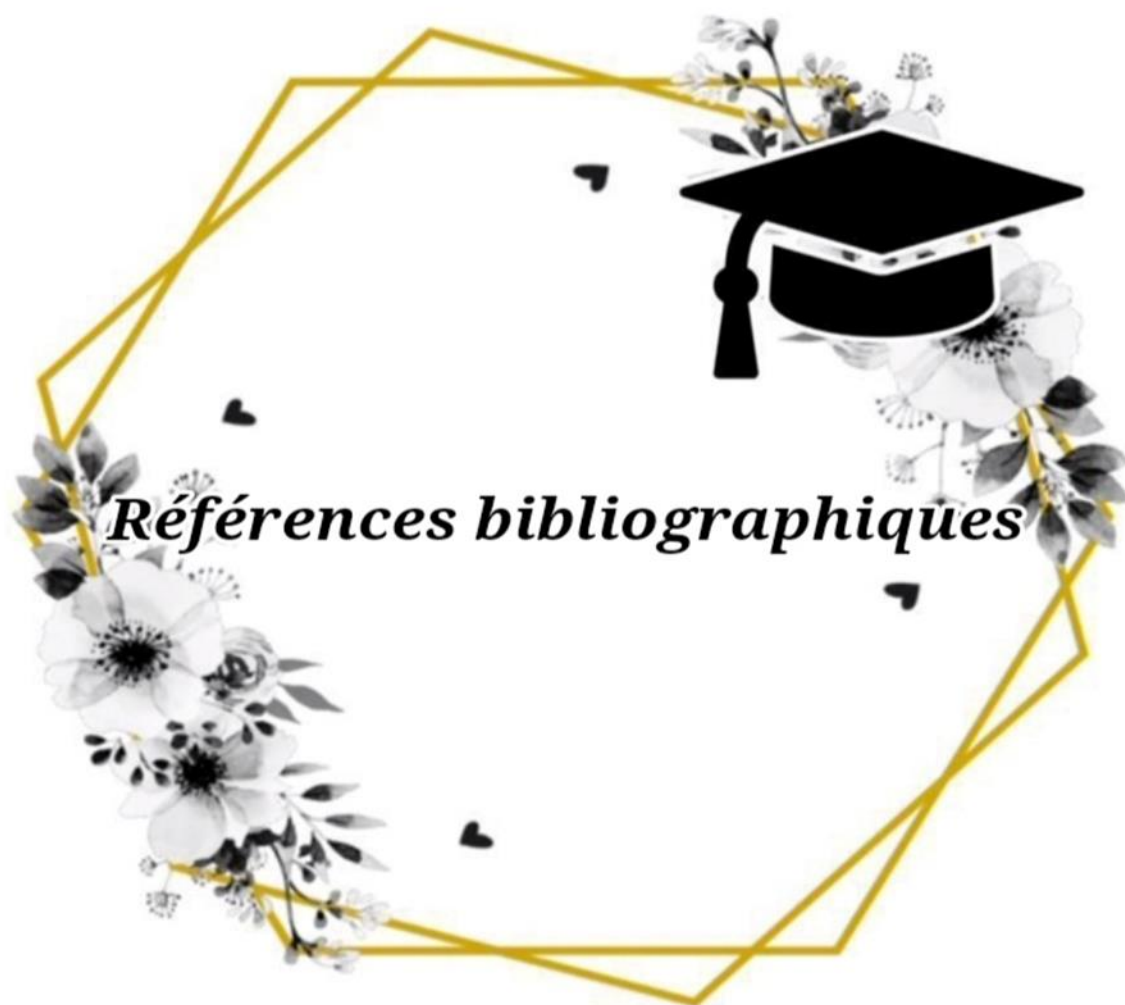
Plusieurs chercheurs attribuent l'effet antimicrobien des huiles essentielles à leur composant principal. Cependant, il est important de souligner que d'autres composés présents dans ces huiles peuvent également présenter des activités biologiques intéressantes. Parmi ces composés, on retrouve le thymol, le carvacrol, le cinnamaldéhyde, l'eugénol, le 1,8-cinéole, le camphre et les thujones. Cette activité antibactérienne synergique est attribuée à l'interaction de plusieurs composés présents dans les huiles essentielles.

L'analyse réalisée démontre le potentiel des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* comme agents antibactériens naturels. La variabilité observée dans le rendement et l'activité antibactérienne souligne l'importance de la sélection des sites de récolte et de l'optimisation des conditions de culture pour une production optimale d'huile essentielle de qualité.

La résistance relative des bactéries Gram- est liée à leur membrane externe hydrophile. Des recherches approfondies sont nécessaires pour identifier les composés responsables de l'activité antibactérienne, explorer les variations entre les échantillons et élargir le spectre d'action contre

Conclusion

d'autres bactéries pathogènes. Ces efforts permettront de valoriser pleinement les propriétés bénéfiques de ces huiles essentielles et de contribuer au développement de solutions antimicrobiennes naturelles prometteuses.



Références bibliographique:

1. Ali, B., Al-Wabel, N. A., Shams, S., Ahamad, A., Khan, S. A., & Anwar, F. (2015). Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(8), 601–611.
2. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils--a review. *Food Chem Toxicol*. 2008;46(2):446-475. doi:10.1016/j.fct.2007.09.106.
3. Baser, K.H.C., Buchbauer, G. *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications*. CRC Press, 2015.
4. Benhamiche, N., Belarbi, R., & Boubekri, A. (2019). Analyse de la variabilité climatique dans la région de Djelfa (Algérie) sur la période 1980-2014. *Larhyss Journal*, 38, 71-86.
5. Boudjelal A, Henchiri C, Sari M, Sarri D, Hendel N, Benkhalel A, Ruberto G. Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): an ethnopharmacology survey. *J Ethnopharmacol*. 2013 Mar 7;148(2):395-402. doi: 10.1016/j.jep.2013.03.003. Epub 2013 Mar 14. PMID: 23500785.
6. Boughedaoui, N., Benhouhou, S., & Boucheta, F. (2016). Composition floristique et diversité des steppes arides de la région de Djelfa (Algérie). *Revue d'écologie (Terre et Vie)*, 71(4), 381-395.
7. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.
8. Carson, C. F., Mee, B. J., & Riley, T. V. (2002). Mechanism of Action of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil on *Staphylococcus aureus* Determined by Time-Kill, Lysis, Leakage, and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(6), 1914–1920.
9. Carson, C.F., Hammer, K.A., & Riley, T.V. (2006). *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(1), 50-62.
10. Cavanagh HM, Wilkinson JM. Biological activities of lavender essential oil. *Phytother Res*. 2002 Jun;16(4):301-8. doi: 10.1002/ptr.1103. PMID: 12112282.
11. Diagramme ombrothermique de Bagnouls & Gaussen (1995-2009). (Boussaid & al, 2012). Contribution à une étude climatique comparative entre deux trentaines d'années (1913-1938) et (1975-2009) cas de la région de Djelfa.

Références bibliographiques

12. Dudareva N, Negre F, Nagegowda DA, Orlova I. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. *Crit Rev Plant Sci.* 2006;25(5):417-440. doi:10.1080/07352680600899973
13. El-Darier, S. M. (1984). Growth and water relations of *Artemisia herba-alba* Asso. *Bulletin of the Faculty of Agriculture, University of Cairo*, 35(1), 23-36.
14. Faleiro, M.L., Miguel, M.G., Ladeiro, F., Vanancio, F., Tavares, R., Brito, J.C., Figueirido, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G. (2003).
15. Flore d'Afrique du Nord: <https://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-6755>
16. Franchomme, P., Pénoël, D. *L'aromathérapie exactement: Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles.* Roger JolloisÉditeur, 2001.
17. Ghanmi M., B. Satrani, A. Aafi, M.R. Isamili, H. Houti, H. El Monfalouti, K.H. Bencheqroun, M. Aberchane, L. Harki, A. Boukir, A. Chaouch, Z. Charrouf. 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* (2010) 8, 295 – 301
18. Grieve, M. *A Modern Herbal: The Medicinal, Culinary, Cosmetic and Economic Properties, Cultivation and Folk-Lore of Herbs, Grasses, Fungi, Shrubs, & Trees.* Dover Publications, 1971.
19. Guenther, E. *The Essential Oils.* Krieger Publishing Company, 1950.
20. Gulcin, I., Elmastas, M., &Aboul-Enein, H.Y. (2007). Determination of antioxidant and radical scavenging activity of Basil (*Ocimum basilicum* L. Family Lamiaceae) assayed by different methodologies. *Phytotherapy Research*, 21(4), 354-361.
21. Hongratanaworakit, T. (2009). Simultaneous aromatherapy massage with rosemary oil on humans. *ScientiaPharmaceutica*, 77(2), 375–387.
22. <https://fr-ca.topographic-map.com/map-sdmfb3/ksar-chellala>
23. Hubert Richard : Avril 2008 . herbes aromatiques , site ressource en Sciences de la Vie .
24. Knudsen JT, Tollsten L, Bergström LG. Floral scents--a checklist of volatile compounds isolated by head-space techniques. *Phytochemistry*. 1993;33(2):253-280. doi:10.1016/0031-9422(93)85502-i.
25. Lawless, J. *The Encyclopedia of Essential Oils: The Complete Guide to the Use of Aromatic Oils in Aromatherapy, Herbalism, Health, and Well Being.* Conari Press, 2013.

Références bibliographiques

26. Lev-Yadun, S., & Ne'eman, G. (2002). Foliar diversity and herbivory in *artemisia herba-alba*. *Journal of Arid Environments*, 51(4), 623-634.
27. Lis-Balchin, M. *Aromatherapy Science: A Guide for Healthcare Professionals*. Pharmaceutical Press, 2006.
28. Maghni B, Bougoutaia Y, Abderrabi K, Adda A, Merah O .2016. Optimization of DNA Extraction and PCR Conditions for Genetic Diversity Study in *Artemisia Herba-Alba* from Algeria. *Scientific J Genetics Gen Ther* 2(1): 010-012.
29. Maghni benchohra, Benhalima ahmed, Said abdelkader, Aoualhouari and Reguioui bachir.2024.Comparative Study Of Four Ecotypes Of The Same Medicinal Plant(*Artemisia herba-Alba Asso*); Yield And Antibacterial Activity .*PERIODICO di MINERALOGIA*. Volume 93, No.1.
30. Man, A., Santacroce, L., Jacob, R., Mare, A., & Man, L. (2018). Antimicrobial activity of six essential oils against a group of human pathogens: a comparative study. *Pathogens*, 7(1), 15.
31. McKay, D.L., & Blumberg, J.B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research*, 20(8), 619-633.
32. Microwave-assisted extraction of essential oil from herbs: A review. Zulfiqar Ali Raza, Xinguo Wang, Hongwei Liu, et al. *Food Control*. Volume 79, 2017.
33. Microwave-assisted extraction of essential oils. M. Rosello-Soto, M. P. Cilla, A. Munekata, et al. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Volume 17, 2018.
34. Peana, A. T., D'Aquila, P. S., Panin, F., Serra, G., Pippia, P., & Moretti, M. D. L. (2002). Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*, 9(8), 721–726.
35. Pichersky E, Gershenzon J. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Curr Opin Plant Biol*. 2002;5(3):237-243. doi:10.1016/s1369-5266(02)00251-0.
36. Ponce .,2003. *Eléments d'écologie (écologie fondamentale)* .3ème édition, universitaire Paris P690
37. Quézel, P. & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Paris: Centre National de la Recherche Scientifique.
38. Reuter, J., Merfort, I., & Schempp, C. M. (2010). Botanicals in dermatology: an evidence-based review. *American Journal of Clinical Dermatology*, 11(4), 247–267.

39. Russo EB. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br J Pharmacol*. 2011 Aug;163(7):1344-64. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01238.x. PMID: 21749363; PMCID: PMC3165946.
40. Saiyudthong, S., & Marsden, C.A. (2011). Acute effects of bergamot oil on anxiety-related behaviour and corticosterone level in rats. *Phytotherapy Research*, 25(6), 858-862.
41. Schnaubelt, K. *The Healing Intelligence of Essential Oils: The Science of Advanced Aromatherapy*. Healing Arts Press, 2011.
42. Setzer, W. N. (2009). Essential oils and anxiolytic aromatherapy. *Natural Product Communications*, 4(9), 1305–1316.
43. Sharifi-Rad J, Sureda A, Tenore GC, et al. Biological Activities of Essential Oils: From Plant Chemoecology to Traditional Healing Systems. *Molecules*. 2017;22(1):70. Published 2017 Dec 24. doi:10.3390/molecules22010070.
44. Smeriglio A, Barreca D, Bellocco E, Trombetta D. Chemistry, Pharmacology and Health Benefits of Anthocyanins. *Phytother Res*. 2016 Mar;30(8):1265-86. doi: 10.1002/ptr.5655. Epub 2016 Apr 18. PMID: 27087420.
45. Supercritical Fluid Extraction of Essential Oils. Bruno M. M. de Carvalho, Maria da Graça Miguel. *Current Analytical Chemistry*. Volume 8, 2012.
46. Supercritical fluid extraction of plant flavors and fragrances. By Sze Ying Leong, Thomas J. Smith, Ying Zhao, Dejian Huang. *Molecules*. 2012.
47. Tisserand, R., & Young, R. (2013). *Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals* (2nd ed.). Churchill Livingstone.
48. Tisserand, R., Young, R. *Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals*. Churchill Livingstone, 2013.
49. Wan, J., Wilcock, A., Coventry, M.J. 1998. "The effect of essential oils of basil of the growth *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*.", *J. Appl. Microbiol.*,