



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi -Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie Appliquée



Mémoire pour l'obtention de diplôme MASTER.

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences biologiques

Option: Biochimie Appliquée

Thème:

Screening phytochimique et activités biologiques de l'*Artemisia absinthium*

Présenté par:

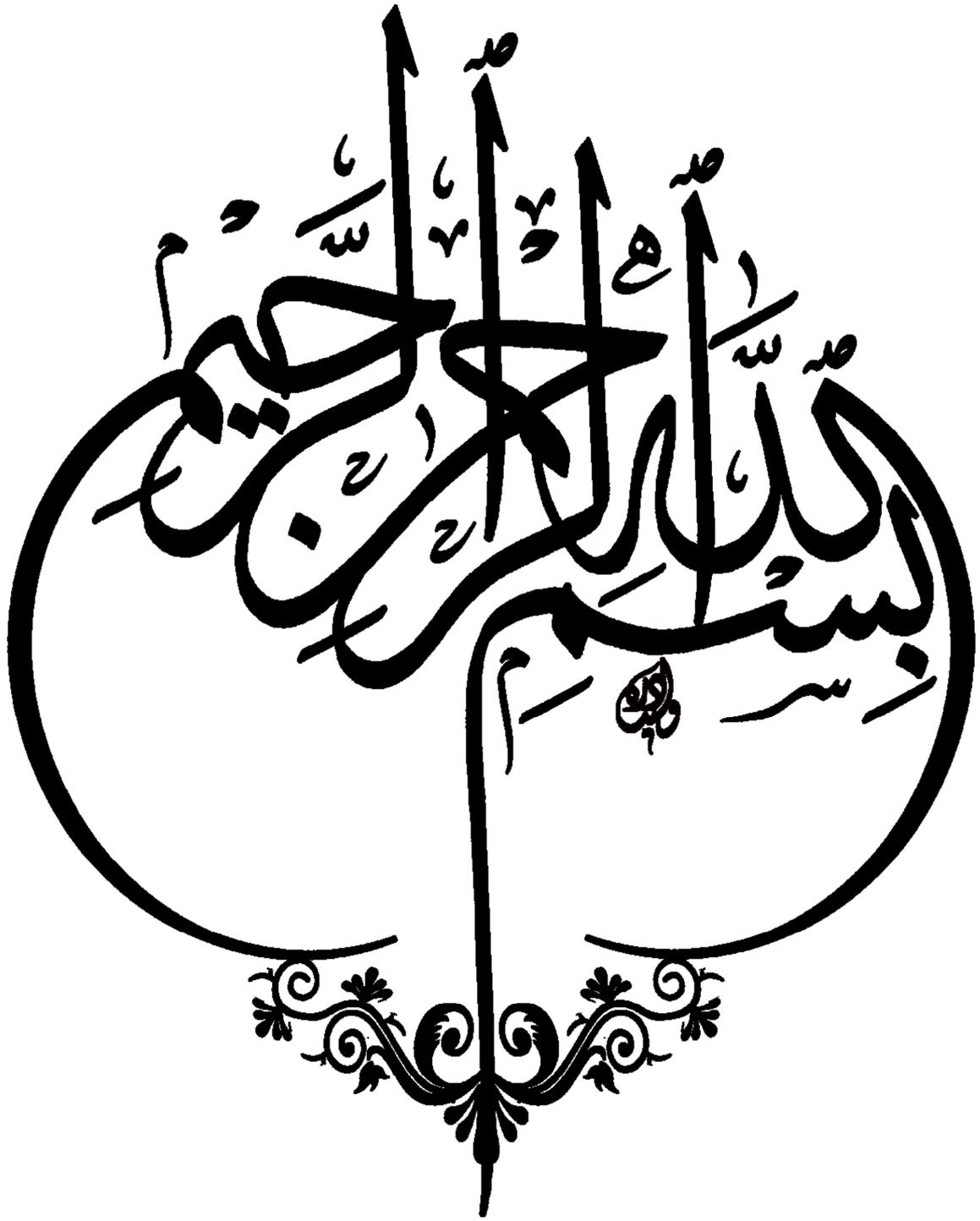
BELHOUCHE Tasma

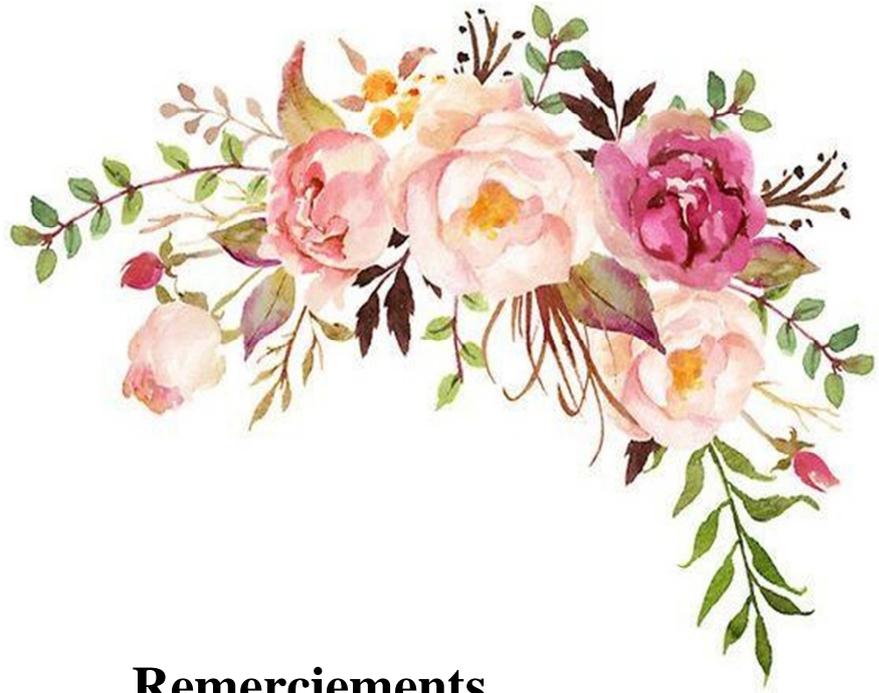
BELGACEM Rabie

Devant le jury composé de:

Nom et prénom	Grade	Université	Statut
Mr .DJABRI Belgacem	PR	Larbi TEBESSI-Tébessa	Président
Mr. MENACER Fouad	MCA	Larbi TEBESSI-Tébessa	Examineur
Mme. BOUSSEKINE Samira	MCA	Larbi TEBESSI-Tébessa	Promotrice

2020/2021





Remerciements

Avant toutes chose je remercie mon dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force, la patience et la volanté d'archiver ce travail

J'adresse mes remerciement à madame Boussekine Samira, docteur à l'université de Tébessa notre directrice de mémoire, pour son encouragement et ses conseils qui nous aidé de rédiger ce travail

Je remercie bien monsieur Belgacem Djabri, professeur de l'université de Tébessa d'avoir accepté de présider le jury

J'exprime ma profonde gratitude monsieur Menacer Fouaad docteur de l'université de Tébessa d'avoir acceptée d'examiner ce travail

Nos remerciements vont à toute l'équipe de laboratoire de l'université de Tébessa





Dédicace

Je dédie ce travail à

Mes parents qui tiennent une place immense dans mon cœur et qui sont toujours là pour moi merci pour votre soutien toute le long de mes études

Ma sœur, mes frères, ma famille, mes proches amies qui m'ont toujours encouragé et qui je souhaite plus de succès

junkyd.com

A ce qui m'a donné sans rien en retour

Que ce travail soit une part de la reconnaissance

Asma



Dédicace



Je dédie ce travail à

Mes parents

Belgacem Ali et Rahhal Alyamna

Mes frères

khaled, Ramzi, Al Hadi

Mon grand- père

Alhadj Zine

Mes amis

Saddam, Yahia, Nacere, Faicel, Ihabe et Chokri

Mes Oncles

Mohammed, Al Aiche, Attaieb et Lekhmissi

junkyd.com

Rabie



ملخص

الغرض من هذا العمل هو دراسة وتقييم التركيب الكيميائي والنشاط البيولوجي للمستخلص الإيثانولي والزيت الأساسي من الجزء الهوائي من *Artemisia absinthium* التي تم جمعها في شهر افريل من ولاية تبسة. وقد تم إعداد المستخلص الإيثانولي الذي أسفر عن حصيد قدرها 4.86%، في حين تم استخراج الزيت الأساسي من النبتة والذي أسفر عن حصيد قدرها 0.70%. أظهر تقييم النشاط المضاد للفطريات أن التراكيز المختلفة للزيت الأساسي (10 ميكرو لتر، 20 ميكرو لتر و30 ميكرو لتر) لها نشاط مرتفع على السلالتين اللتين تمت دراستهما (*Piniciliumexpansum* و *Alternaria alternata*) وخاصة أعلى تركيز (30 ميكرو لتر) وقد أظهر النشاط المضاد للبكتريا ل *E. Coli* و *S. aureus* و *Salmonella* نشاطا متوسطا وأكثر السلالات حساسية هي *S. aureus*. وكشف الفحص الكيميائي النباتي النوعي للمستخلص عن وجود جزيئات نشطة بيولوجيا مثل *alcaloïdes, tanins, composé réducteurs, stérols, terpène* و *terpenoides*، مع غياب *coumarine, saponoside, mucilage*، وهذه النتائج تؤكدها تبارات التلوين. أما فيما يتعلق بنتائج الفحص الكمي فهي تبين بوضوح أن مستخلص الإيثانول يحتوي على نسبة عالية من *phénols, flavonoides* مع مستويات من 0,056 197 ملغ/غرام و 10,64 0,41 MS ملغ/مل. وأظهر النشاط المضاد للجذور الحرة لي DPPH أن نبتتنا لديها نشاط متوسط مقارنة بالمعيار (حمض الأسكوربيك) مع IC50 من مستخلص الإيثانول (2.405 ملغ/مل). واستنادا إلى هذه الدراسات، يمكن استنتاج أن *Artemisiaabsinthium* يمكن أن تستخدم كمصدر للجزيئات النشطة أحيائيا ذات الخصائص العلاجية بسبب نشاطها البيولوجي.

الكلمات المفتاحية: *Artemisiaabsinthium*, الزيوت الأساسية, مستخلص الإيثانول, الفحص الكيميائي النباتي,

النشاط المضاد للجذور الحرة, النشاط المضاد للفطريات و النشاط المضاد للبكتريا.

Abstract

The purpose of this work is to study and evaluate the chemical composition and biological activity of the ethanolic extract and essential oil from the aerial part of the *Artemisia absinthium* collected at Tébessa. The ethanolic extract yielded a yield of 4.86%, while the extraction of the essential oil from the plant yielded a yield of 0.70%. The evaluation of the antifungal activity that the different concentrations of the essential oil (10 µL, 20 µL and 30 µL) have a high activity on the two strains studied (*Alternaria alternata* and *Penicillium expansum*) especially the highest concentration (30 µL). The anti bacterial activity vis-à-vis *E.coli*, *S. Aureus* and *salmonella* showed an average activity and the most sensitive strain is, *S. aureus*. Phytochemical screening of the extract revealed the presence of bioactive molecules such as alkaloids, tannins, reductive compounds, sterols, terpenes and terpenoids, with absence of mucilages, coumarins and Saponosides these results are confirmed by staining tests, As for the results of the assay, they clearly show that the ethanolic extract has the best contents of polyphenols and flavonoids with respective levels of: 197 0.056 mg EAG/g and of MS, 10.64 0.41 mg/ml. DPPH's antiradical activity has shown that our plant has an average activity compared to the standard (ascorbic acid) with IC₅₀ of ethanolic extract (2,05 mg /ml). Based on this studies it can be said that *Artemisia absinthium* can be used as a source of bio active molecules with therapeutic properties due to their biological activity.

Key words: *Artemisia absinthium*, essential oil, ethanolic extract, phytochemical screening, antioxidant activity, antifungal activity and anti bacterial activity.

Résumé

Le but de ce travail est d'étudier et d'évaluer la composition chimique et l'activité biologique de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle de la partie aérienne de l'*Artemisia absinthium* collecté à Tébessa. L'extrait éthanolique a donné un rendement de 4,86%, alors que l'extraction de l'huile essentielle de la plante a donné un rendement de 0,70%. L'évaluation de l'activité antifongique montre que les différentes concentrations de l'huile essentielle (10µL, 20µL et 30 µL) ont une forte activité sur les deux souches étudiées (*Alternaria alternata* et *Penicillium expansum*) surtout la concentration la plus élevée (30µL). L'activité antibactérienne vis-à-vis d'*E. Coli*, *S. aureus* et *salmonella* montre une moyenne activité et la souche la plus sensible est, *S. aureus*. Le screening phytochimique de l'extrait a révélé la présence de molécules bioactives telles que les alcaloïdes, les Tanins, les composés réducteurs, les Stérols, les terpènes et les terpenoïdes, avec absence des Mucilages, coumarines et Saponosides ces résultats sont confirmés par des tests de coloration, Quant aux résultats du dosage, ils montrent clairement que l'extrait éthanolique présente les meilleures teneurs en polyphénols et en flavonoïdes avec des taux respectifs de : $197 \pm 0,056$ mg EAG/g et de MS, $10,64 \pm 0,41$ mg /ml. L'activité anti radicalaire du DPPH a montré que notre plante possède une activité moyenne par rapport au standard (acide ascorbique) avec IC50 d'extrait éthanolique (2,405 mg/ml). D'après ces études on peut conclure que l'*Artemisia absinthium* peut être utilisée comme source de molécules bioactives ayant des propriétés thérapeutiques en raison de leur activité biologique.

Mots clés : *Artemisia absinthium*, les huiles essentielles, l'extrait éthanolique, screening phytochimique, activité antioxydante, l'activité antifongique et activité antibactérienne.

LISTE DES ABREVIATIONS

%	Pourcentage
MI	Microliter
HE	Huile essentielle
UV	Ultra violet
I%	Pourcentage d'inhibition.
IC50	Concentration inhibitrice à 50
HCL	Acide chlorhydrique..
C°	Degré Celsius
DPPH	1,1-DiPhenyl-2-PicrylHydrazyl
Mg	Microgramme
pH	Potentiel d'Hydrogène
T°	Température
MI	Milliliter
AlCl3	Chlorure d'Aluminium
Nm	Nanometer
H₂O	Eau
R	Rendement
<i>A. herba-alba</i>	Artemisia herba-alba.

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Page
Figure 01	La partie aérienne <i>d'Artemesia absinthium</i>	4
Figure 02	L'arbre de <i>l'Artemesia absinthium</i> (photo personnelle)	5
Figure 03	Fleur <i>d'Artemesia absinthium</i>	5
Figure 04	Feuille <i>d'Artemesia absinthium</i>	5
Figure 05	Squelette de base des flavonoïdes	11
Figure 06	Structures chimiques de : a-tanins hydrolysable, b-tanins condensée	12
Figure 07	Structure de base de l'isoprène	13
Figure 08	La formule chimique de la coumarine (C ₉ H ₆ O ₂)	14
Figure 09	Localisation de région de récolte (1Tébessa ville)	16
Figure 10	La partie aérienne de <i>l'Artemisia absinthium</i>	17
Figure 11	Dispositif d'extraction essentielle de type Clevenger	18
Figure 12	Représentant un appareil rotavapeur	19
Figure 13	Représentant un broyeur	19
Figure 14	L'extrait éthanolique de <i>l'absinthe</i>	19
Figure 15	L'extrait de malt	24
Figure 16	L'étape de repiquage des souches fongiques	25
Figure 17	L'étape d'application d'HE	25
Figure 18	La gélose de Muller Hinton	26
Figure 19	L'étape de coulage de milieu	26
Figure 20	Flacons d'huile essentielle de <i>l'absinthe</i>	28
Figure 21	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	30
Figure 22	Courbe d'étalonnage de la Quercétine	30
Figure 23	Courbe représente le pourcentage d'inhibition de radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait de <i>l'Artémisia absintium</i>	32
Figure 24	% d'inhibition a la dose 30µl	33
Figure 25	% d'inhibition a la dose 20 µl	33
Figure 26	Témoin positif	34

Figure 27	Zone d'inhibition de <i>Salmonella</i>	35
Figure 28	Zone d'inhibition d' <i>E.Coli</i>	35
Figure 29	Zone d'inhibition de <i>S .aureus</i>	35

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Dénominations vernaculaires internationales de <i>l'Artemisia</i>	3
Tableau 2	Classification classique de <i>l'Artémisia absinthium</i>	6
Tableau 3	Les principaux constituants chimiques d' <i>Artemisia absinthium</i>	9
Tableau 4	Rendement d'extraction de l'huile essentielle de <i>l'Artemisia absinthium</i>	28
Tableau 5	Familles de composés chimiques issues de la partie aérienne de <i>l'absinthe</i>	29
Tableau 6	Teneurs en polyphénols et flavonoïdes d'extrait éthanolique de <i>l'absinthe</i>	31
Tableau 7	Capacité antioxydant de extrait éthanolique et d'acide ascorbique	31
Tableau 8	Pourcentage d'inhibition a la dose X de la souche fongique <i>Alternaria alternata</i>	33
Tableau 9	Pourcentage d'inhibition a la dose X de la souche fongique <i>Pinicilium expansum</i>	34
Tableau 10	Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle contre trois souches microbiennes	34
Tableau 11	Transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés d'huile	36

TABLES DES MATIERES

	Pages
Titres	
Remerciements	
Dédicace	
□ لخص	
Abstract	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figure	
Liste des tableaux	
Introduction	1
Chapitre 1 : Etude bibliographique	
1. Les plantes médicinales	3
1.1. Définition	2
1.2. L'utilisation des plantes médicinales	2
2. Présentation de la plante <i>Artemisia absinthim L</i>	2
2.1. Généralité sur <i>Artemisia absinthium L</i>	2
2.2. Nomenclature	3
2.3. Description botanique	4
2.4. Classification	6
2.5. Distribution géographique et habitat	6
2.6. Exigence écologique	6
2.6.1. Climatique	6
2.6.2. Edaphique	7
2.7. Importance médicinale de <i>l'Artemisiaabsinthium</i>	7
2.8. Contre-indication	8
2.9. Compositions chimiques	8
2.9.1. Métabolites secondaires	10
2.9.2. Composés phénoliques	10
2.9.3. Classification des composés Phénoliques	10
2.9.3.1. Acides phénols	10

2.9.3.2. Flavonoïdes	11
2.9.3.3. Structure générale	11
2.9.3.4. Tanins	11
2.9.3.5. Tannins condensés	12
2.9.3.6. Tannins hydrolysables	12
2.9.4. Alcaloïdes	12
2.9.5. Terpènes et terpénoïdes	13
2.9.6. Saponine	13
2.9.7. Coumarines	14
2.10. Les huiles essentielles	14
2.10.1. Conservation des huiles essentielles	15

Chapitre 2 : Etude expérimentale

1. Matériel et méthode

1.1. Présentation de la région de récolte	16
1.2. Matériel végétal	16
1.2.1. Extraction de l'huile essentielle	17
1.2.1.1. Principe de l'hydro distillation	17
1.2.1.2. Mode opératoire	17
1.2.2. Extraction hydro éthanolique	18
1.2.2.1. Mode opératoire	18
1.3. Etude phytochimique de la plante	19
1.3.1. Préparation de l'extrait	20
1.3.2. Recherche des alcaloïdes	20
1.3.3. Recherche des Tanins	20
1.3.4. Recherche des Saponosides	20
1.3.5. Recherche des stérolset tri terpène	20
1. 3.6. Recherche des Composés réducteurs	21
1.3.7. Recherche des coumarines	21

1.3.8. Recherche des Mucilage	21
1.3.9. Recherche des Terpenoides	21
1.4. Dosage des poly phénols	21
1.4.1. Principe	21
1.4.2. Mode opératoire	22
1.5. Dosage de flavonoïdes	22
1.5.1. Principe	22
1.5.2. Mode opératoire	22
1.6. Evaluation de l'activité antioxydante	22
1.6.1. Principe	22
1.6.2. Mode opératoire	23
1.7. L'évaluation de l'activité antifongique	23
1.7.1. Méthode de micro atmosphère	23
1.7.2. Mode opératoire	24
1.7.2.1. Préparation de milieu de culture	24
1.7.2.2. Application de test anti fongique	24
1.8. L'évaluation de l'activité antibactérienne	25
1.8.1. Méthode de l'aromatogramme	25
1.8.2. Mode opératoire	26
1.8.2.1. Préparation de milieu de culture	26
1.8.2.2. Application de test anti bactérien	26
2. Résultats	28
2.1. Rendement de l'huile essentielle	28
2.2. Rendement d'extraction hydro éthanolique	28
2.3 Screening phytochimique	29
2.4. Résultats de l'analyse quantitative des constituants de l'extrait	30
2.4.1. Dosage des polyphénols	30

2.4.2. Dosage des flavonoïdes	30
2.5. Résultat d'activité antioxydant	31
2.6. Résultat l'activité antimicrobienne	32
2.6.1. Test anti fongique	33
2.6.2. Test anti bactérien	34
3. Discussion	37
3.1. Rendement de l'huile	37
3.2. Rendement d'extrait éthanolique	37
3.3. Screening phytochimique	37
3.4. Polyphénols et flavonoïdes	38
3.5. Activité anti oxydante	39
3.6. Activité anti fongique	40
3.7. Activité anti bactérienne	41
4. Conclusion générale	43
Référence bibliographique	44

Introduction

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'homme utilise les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (**Mansour, 2015**). Près de 80% de la population mondiale a recours aux plantes médicinales par manque d'accès aux médicaments prescrits. Mais aussi parce que les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité (**Benaïssa et al., 2011**). Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, déjà environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de la plante que nous étudions sous le nom *l'Artemisia absinthium*, Le genre *Artemisia* est un des plus importants de la famille des astéracées (**Saihi et al., 2011**).

Artemisia absinthium mieux connu comme le principal ingrédient dans la tristement célèbre boisson absinthe, a été utilisée en médecine depuis l'époque de Grèce antique, et dans les systèmes d'Europe occidentale de la médecine traditionnelle (**Chabane et al., 2016**). Les métabolites secondaires de *l'Artemisia absinthium* est réputé depuis fort longtemps pour leurs propriétés phytothérapeutiques et depuis quelques années l'homme s'intéresse également à leurs activités biologiques et antioxydantes. Ces métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches *in vivo* et *in vitro* notamment la vulgarisation de nouveaux constituants naturels (**Bouchenak et al., 2018**).

Cette espèce a été utilisée depuis l'antiquité dans la médecine populaire (Hose et al., 2002). De nombreuses études sur la caractérisation chimique et les activités biologiques ont été menées sur cette espèce. L'huile essentielle a été largement utilisée principalement pour ses propriétés antifongiques, antimicrobiennes (**Bouchenak et al., 2018**). L'extrait éthanolique a été largement utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante (**Atmani, 2009**).

L'objectif principal de ce travail est de déterminer la composition chimique de la plante et leurs activités antioxydantes et antimicrobiennes. Notre travail de mémoire est structuré en deux grandes parties dont:

- La première partie est une recherche bibliographique sur les plantes médicinales et *l'Artemisia absinthium* L.
- La deuxième partie est consacrée à l'étude pratique de la plante (les compositions chimiques, les activités antioxydantes et antimicrobiennes) et se termine par une discussion des résultats trouvés et conclusion générale.

Etude bibliographie

1. Les plantes médicinales

1.1. Définition

Pendant des siècles, les plantes ont non seulement fourni de la nourriture et des vêtements, mais ont également été utilisés pour le traitement de différentes maladies (Alexander *et al.*, 2020). Le terme « plantes médicinales » désigne toutes les plantes qui peuvent être utilisées comme médicaments ou suppléments alimentaires et qui jouent un rôle important dans la santé humaine. Les médicaments traditionnels, les thés et les suppléments à base de plantes constituent ensemble une composante importante du marché commercial de la biodiversité (Jieyuet *al.*, 2021). En Algérie, la collecte de plantes médicinales et aromatiques pour extraire, après distillation des huiles essentielles utilisé pour la fabrication de cosmétiques, de produits pharmaceutiques ainsi que des arômes pour les produits alimentaires, est un champ vierge. La distillation des plantes est suffisamment connue, mais reste largement inexploitée, malgré la disponibilité en Algérie de grandes étendues de forêts et de champs, dont le territoire (Reguieg, 2011).

1.2.

L'utilisation des plantes médicinales

Ils sont traditionnellement utilisées pendant très longtemps pour traiter des maladies courantes et plus graves. Leurs actions proviennent de leurs composés chimiques : métabolites primaires et secondaires, et sans doute de la synergie entre les différents composés présents. Depuis des siècles, en Algérie comme dans tous les pays du Maghreb, les plantes médicinales et aromatiques sont principalement utilisées dans les zones rurales par les personnes âgées qui connaissent encore quelques recettes de tisanes. Dans le Hoggar (Grand Désert) et en l'absence de médecins dans certaines régions isolées, le Touareg peut être traité avec des plantes médicinales et aromatiques qu'ils connaissent (Reguieg, 2011).

2. Présentation de la plante *Artemisia absinthium* L

2.1. Généralité sur *Artemisia absinthium* L

Le nom "*Artemisia*" est dérivé de la déesse Artémis qui avait découvert les effets de la plante, alors que le mot "absinthe" signifie imbuvable à cause du goût très amer de la centrale (Yildizet *al.*, 2011). *L'Artemisia* appartient à La famille des Astéracées qui représente l'une des taxons les plus importants du règne végétale. Elles sont des plantes angiospermes dicotylédones appartenant aux sous classes des gamopétales ou astérides (Astéride) et à l'ordre

des Astérales. La famille des astéracées avec près de 1500 genres et pas loin de 26000 espèces. Elle est présente dans toutes les régions du monde principalement dans les régions tempérées et à l'exception des pôles. Les astéracées peuvent être annuelles, bisannuelles ou vivaces. On y trouve surtout des plantes vivaces et à feuilles alternes. Dans la grande majorité des cas, les astéracées sont des plantes herbacées mais elles sont également représentées par des arbres, des arbustes ou des lianes, certaines sont également succulentes (**Barkelyet al., 2006**).

2.2. Nomenclature

Tableau 1 : Dénominations vernaculaires internationales de l'*Artemisia* (**Ghédira et Goetz, 2016**).

Français :	<i>Absinthe, grande absinthe, herbe sainte, absinthe suisse, alvine, armoise amère</i>
Anglais :	<i>Absinth, wormwood, warmot, mugwort, absinth sagewort, common sagewort</i>
Arabe :	<i>أفسنتين – شحابنسينا - الدمشية</i>
En Algérie :	<i>Chedjret Meriem, chaibet el adjouz, chihquoraçani</i>

2.3. Description botanique

Description botanique d'*Artemisia absinthium* dans la figure suivante:



Figure 1 : La partie aérienne d'*Artemisia absinthium* (Ozturk et Rehman, 2019).

L'*Artemisia absinthium* est une plante aromatique, herbacée qui mesure entre 0.50 et 1 mètre. La racine est vivace, et d'elle naissent des tiges ramifiées, fermes, feuillues, presque ligneuses à la base. La tige est blanchâtre, étroitement couverte de poils fins et soyeux. Les feuilles, qui sont également blanchâtres des deux côtés de la même raison, sont coupées en profondeur et de façon répétée, les segments étant étroits et émoussés. Les pétioles sont légèrement ailés à la marge. Les petites fleurs, presque globuleuses, sont disposées en panicule dressée et feuillue, les feuilles des tiges étant réduites à trois ou même un segment linéaire, et les petites fleurs elles-mêmes étant pendantes et d'une teinte jaune verdâtre. Les feuilles et les fleurs sont très amères avec une odeur caractéristique, ressemblant à celle de la thujone. La racine a un goût chaud et aromatique. Les fleurs de l'absinthe sont jaune pâle, tubulaires et regroupées en capitules sphériques courbés, qui sont à leur tour regroupés en panicules feuillues et ramifiées (Chu, 2017). La saison de floraison commence au début de l'été au début de l'automne et possède un type de pollinisation anémophile. Le fruit est un petit akène; la dispersion des graines est par gravité (Masoudi et Saiedi, 2017). Les figures (2, 3 et 4) représentent la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*.



Figure 2 : l'arbre de *l'Artemesia absinthium* (photo personnelle).



Figure 3 : fleurs d'Aabsinthe.



Figure 4 : feuille d'Absinthe.

2.4. Classification

Tableau 2: classification classique de *l'Artémisia absinthium* (Riahi et al.,2013).

Règne	<i>Plantae</i>
Sous règne	<i>Trahiobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous classe	<i>Arteridae</i>
Ordre	<i>Aastérales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Genre	<i>Aartemisia</i>
Espèce	<i>Artemisia absinthium</i>

2.5. Distribution géographique et habitat

L'Artémisia absinthium est une plante originaire des régions continentales à climat tempéré d'Europe, d'Asie et d'Afrique du Nord (Sharopov et al., 2012). On la trouve aussi sur la côte est des États-Unis. Elle y pousse sur les terrains incultes et arides, sur les pentes rocheuses, au bord des chemins et des champs (Iserin, 2001).

2.6. Exigence écologique

2.6.1. Climatique

La plantation de *l'absinthe* exige des endroits bien ensoleillés, une terre souple, légère, aime les sols riches en azote, elle peut pousser dans les régions à faible pluviosité et sa culture est possible également dans les zones arides et sèches (Skiredjet et al., 2002).

2.6.2. Edaphique

L'absinthe n'est pas exigeante en sol, elle pousse dans les plaines, montagnes, pentes, régions secs et arides, terrain rocheux et le bord des routes, elle réussit sur les sols acides et les sols argileux calcaires, cette plante est disséminée également dans les régions incultes, elle est même indiquée pour mettre en valeur les terrains pauvres et inaptes à la culture (**Skiredjet al., 2002**).

2.7. Importance médicinale de *l'Artemisia absinthium*

Le genre *Artemisia* a été très utilisé dans la médecine traditionnelle ainsi que dans la médecine moderne pour traiter plusieurs maladies (**Benchegroun et al., 2012**). *L'absinthe* était connue plus tôt pour repousser les mites des tissus et d'autres ravageurs tels que le rat de bibliothèque, punaises de lit et même rats. Huiles essentielles de la plante en générale ont un large spectre de bio activité, grâce à la présence de plusieurs principes actifs qui fonctionnent à travers différents modes d'action ils ont plusieurs propriétés médicinales telles que hépatoprotectrice, antidépresseur, carminatif (analgésique), cholagogue (favorise la circulation de la bile), emménagogue (favorise le flux menstruel), diurétique, cholérétique, hypnotique, conservateur, stimulant tonique, balsamique et dépuratif, anthelminthique, anti inflammatoire, antiseptique, antispasmodique, anti tumorale, neuroprotecteur, antifongique, insecticide, antibactérien, effets acaricides, antipaludique ou antiprotozoaires (**Msaada et al., 2015**).

2.8. Contre-indication

L'utilisation régulière de l'absinthe peut devenir adductif. La plante contient de la glycoside, connue pour être toxique, et l'huile volatile est un dépresseur du système nerveux central. Une utilisation à long terme (plus de quatre semaines) ou par absorption de quantités supérieures à celles recommandées peut causer des nausées, des vomissements, l'insomnie, l'agitation, des vertiges, des tremblements et des convulsions. La sur utilisation de l'absinthe peut initier la nervosité, la stupeur, des convulsions et la mort. L'absinthe est connue pour être allergénique et peut causer une dermatite de contact. Une utilisation à court terme (deux à quatre semaines) d'un thé d'absinthe ou de la teinture n'a pas donné lieu à des rapports d'effets secondaires importants. (**Encyclopédie -Azarius**).

2.9 Compositions chimiques

L'espèce *Artemisia absinthium* fait l'objet de plusieurs investigations chimiques, signalant la présence de nombreux types de métabolites, certaines études rapportent qu'en plus de l'artémisinine, le genre *Artemisia* est une source riche de différents composés chimiques (**Jillet al., 2011**).

Tableau 3. Les principaux constituants chimiques de *Artemisia absinthium* sont consignés dans le tableau suivant (Ghédira et Goetz ,. 2016).

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

2.9.1. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires végétaux peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, par opposition aux métabolites primaires (protéines, lipides et glucides). Ces métabolites secondaires interviennent dans la structure des plantes (lignines et tannins) mais également, elles exercent une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement (**Mansour., 2009**) et permettent de se défendre contre les pathogènes ou des prédateurs (**Jean et al., 2012**).

2.9.2. Composés phénoliques

Peuvent être également estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides (Les composés phénolique ou les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandues dans le règne végétal étant trouvé dans tous les fruits et les légumes. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées (**Waksmundzka et al., 2011**), sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique, elles (**Max et Robert., 2003**). Ainsi sont des molécules aromatiques, dont le motif de base est un groupement phénol (C6) lié à un hydroxyle (OH). La plupart de polyphénol dérive de la phénylalanine et de la tyrosine (**Meyer et al., 2008**).

2.9.3. Classification des composés Phénoliques

Il existe différentes classes de polyphénols, notamment les acides phénoliques, flavonoïdes, tanins, stilbènes, lignanes, saponines, phytostérols ou bien phytostanols, les plus importants sont: les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins (**Bessas., 2008**).

2.9.3.1. Acides phénols

Les acides phénoliques sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont répartis en deux grandes classes: il y'a d'une part les acides benzoïques en C7 : (C6-C1) et d'autre part les acides cinnamiques en C9 : (C6-C3) (**Markaoui., 2010**). Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque (C6-C1): très présent dans le règne végétal soit sous forme libre ou sous forme combinée à l'état d'ester ou d'hétéroside, ex : Acide p-hydroxy benzoïque, Acide salicylique. Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique (C6-C3): ils présentent une distribution très large dans le règne végétal, le plus souvent estérifiés, ex : acide caféique (**Sahraoui., 2009**).

2.9.3.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des produits largement distribués dans le règne végétal et sont couramment consommés quotidiennement sous forme de fruits, légumes et boissons telles que le vin et le thé. Ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, suggérant qu'ils pourraient exercer une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes, vasculoprotectrices, antihépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires, antiulcéreuses et même antitumorales significatives (Ghedira., 2005).

2.9.3.3. Structure générale

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux unités aromatiques, de cycle en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 (Bruneton ., 1999), La structure chimique dans la (figure 5).

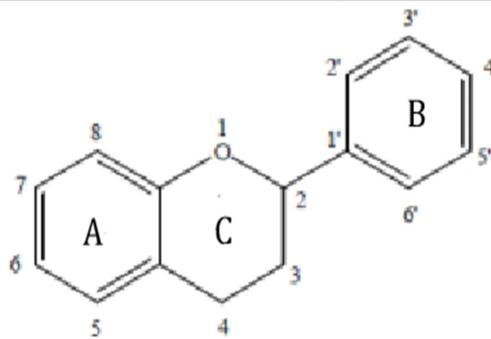


Figure5 : Squelette de base des flavonoïdes (Bruneton., 1999).

2.9.3.4. Tanins

Sont des métabolites secondaires poly phénoliques hydrosolubles, leur poids moléculaire varie entre 500 à 3000D (Marouf et Reynaud, 2007), on distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes de tanins différents par leur structure: les tanins hydrolysables et les tanins condensés, ils sont largement distribués chez les plantes supérieures dans les vacuoles, le cytoplasme et parfois dans les parois cellulaires (Charpeutier et al., 2008).

2.9.3.5. Tannins condensés

les tannins condensés ou proanthocyanidines, sont des polyphénols de masse molaire élevées. Ils résultent de la polymérisation auto-oxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi proanthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de types A (Wollgast., 2000, Dykes., 2006).

2.9.3.6. Tannins hydrolysables

Ces tannins sont des dimères d'acide gallique condensés sur un dérivé glycosyle, Ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique. Comme leur nom l'indique, ces tannins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude (1998, Marouf et Reynaud, 2007, Charpeutier et al., 2008). La structure Chimique fig (6).

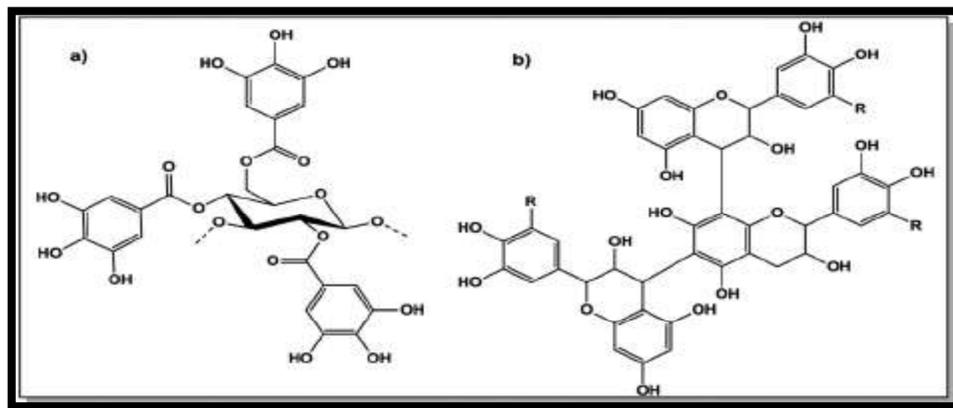


Figure6 : structures chimiques de : a-tannins hydrolysable, b-tannins condensée.

2.9.4. Alcaloïdes

Les alcaloïdes constituent la majorité des principes actifs des plantes médicinales à partir des acides aminés, ils sont constitués d'un hétérocycle ; cycle pyridine dans la nicotine (*nicotiana tabacum*), cycle purine dans la caféine, la théophylline et la théobromine, cycle indolique dans la vinblastine et l'ajmalicine (*catharanthus roseus*), isoquinolique dans la quinine (*chinona ledgeriana*). Ceci fait d'eux l'un des groupes les plus importants de substances naturelles d'intérêt thérapeutique. C'est un générique azoté à propriétés basiques, extraites de nombreux végétaux, et de manière spéciale de certaines familles ou de genres (Marouf et Reynaud, 2007). Synthétisés à tropanique dans l'hyoscyamine, la scopolamine et l'atropine

(*datura innoxia*), et présentent des propriétés hydrophiles et alcalines (Meyer *et al.*, 2008, Jean *et al.*, 2012). Les alcaloïdes sont doués d'une activité physiologique généralement prononcée à très faibles doses, et à plus forte dose, sont responsables d'effets toxiques sur l'homme et les animaux (Marouf et Reynaud., 2007).

2.9.5. Terpènes et terpénoïdes

Les terpénoïdes constituent la plus grande famille de métabolites secondaires dont la très grande majorité est spécifique du règne végétal, Ce sont des substances généralement insolubles dans l'eau (Marouf et Reynaud.,2007) et sont des lipides synthétisés à partir de l'acétyl-CoA par la voie de l'acide mévalonique. On en connaît environ 20000, tous sont construits à partir d'un motif de base, l'isoprène, molécule insaturée à cinq carbones (fig 7)(Meyer *et al.*, 2008).

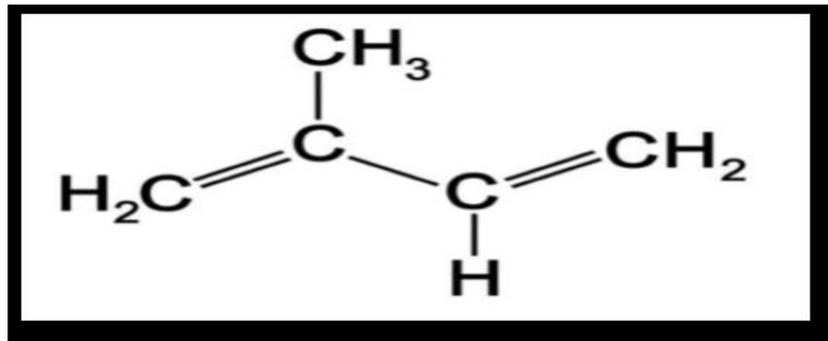


Figure 7: structure de base de l'isoprène (Khenaka., 2011).

2.9.6. Saponine

Les saponines, encore appelée saponines sont des métabolites hétérosidiques de poids moléculaire élevé (Marouf et Reynaud, 2007). Il existe deux groupes différents de saponines : les saponines tri-terpènes et les saponines stéroïdes. Ces dernières ont une ressemblance structurelle avec les hormones stéroïdes du corps humain et ont donc parfois une activité hormonale lorsqu'on les utilise. Les saponines tri-terpènes sont souvent des expectorants très puissants, c'est-à-dire des substances qui facilitent l'évacuation des sécrétions des voies respiratoires et des bronches (Jean *et al.*, 2012).

2.9.7. Coumarines

La **coumarine** est un composé chimique organique appartenant à la famille des benzopyrones dans son état normal (standard), elle est caractérisée par une structure cristalline et incolore. Différents résidus peuvent être ajoutés à ce squelette formant la famille des coumarines. Les coumarines sont considérées comme un groupe de métabolite secondaire des plantes. On les trouve dans les téguments des graines, des fruits, des fleurs, des racines, des feuilles et des tiges, bien que la plus grande concentration se trouve généralement dans les fruits et les fleurs. En outre elle fonctionne comme défenseur de la plante. En outre, elle a des propriétés antimicrobiennes, des capteurs de rayonnement UV et des inhibiteurs de germination (**Harbone, 1998**), la formule chimique **fig(8)**.

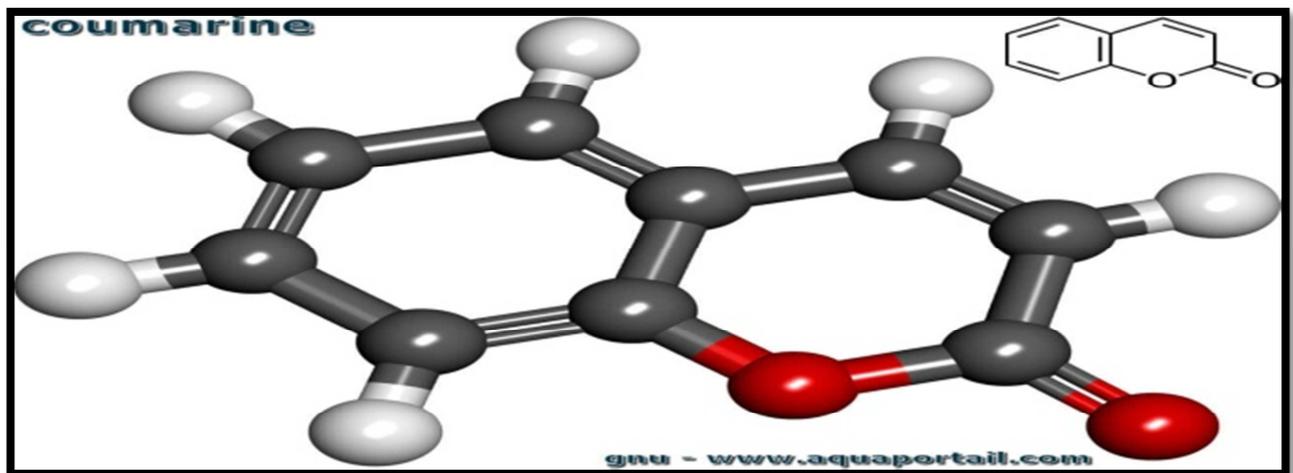


Figure8 : la formule chimique de la coumarine (C₉H₆O₂).

2.10. Les huiles essentielles

L'huile essentielle se définit selon la pharmacopée comme un produit de composition complexe renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux. Leur densité inférieure à celle de l'eau, les HEs peuvent être synthétisés par tout organe végétal (fleurs, bourgeons, graines, feuilles, brindilles, écorces, herbes, bois, fruits et racines) et stockés dans des cellules sécrétoires, des cavités, des canaux, des cellules épidermiques ou des trichomes glandulaires (**Labiou, 2016**).

2.10.1. Conservation des huiles essentielles

Il existe des normes spécifiques sur l’emballage, le conditionnement et le stockage des huiles. La conservation des huiles essentielles nécessite un respect obligatoire de certaines règles à savoir :

Les huiles essentielles se conservent bien à condition de ne pas les exposer à la lumière, c’est pourquoi il est recommandé de les stocker dans des flacons en aluminium ou en verre teinté (brun, vert, ou bleu) et de les garder à l’abri de la lumière à une température ambiante jusqu’à vingt degrés. Il faut les tenir loin des sources de chaleur et bien refermer les flacons après usage, car les huiles essentielles sont volatiles, par conséquent elles s’évaporent dans l’atmosphère et perdent progressivement leurs propriétés et leur arôme. Les flacons doivent être stockés en position verticale, car en position horizontale il y a un risque que le bouchon soit attaqué par l’huile (les huiles essentielles ont une action corrosive sur le plastique) **(Echchaou, 2018)**.

Etude Expérimentale

1. Matériel et méthode

1.1. Présentation de la région de récolte

La récolte de la plante *Artemisia absinthium* (**figure 10**) au mois de mars (2021), dans la région de Tébessa ville à (l'Université de Science Économique et Commerciale).

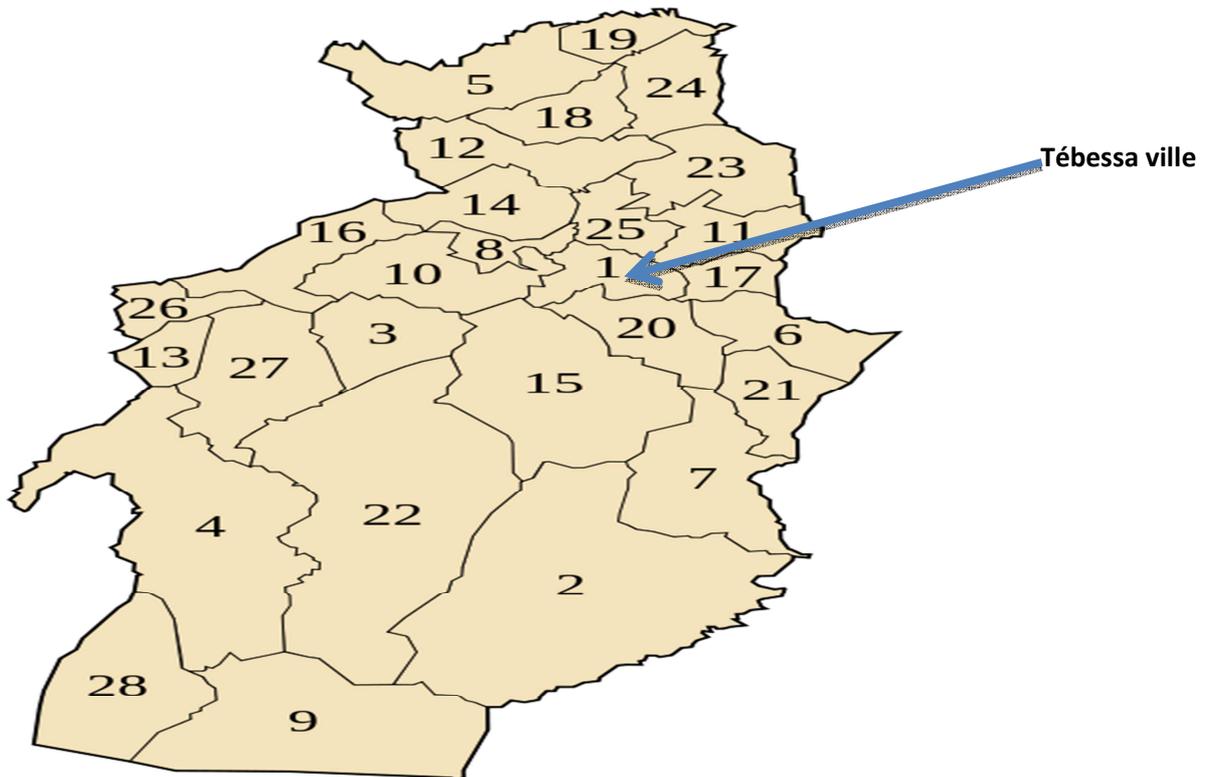


Figure 9 : localisation de région de récolte (Tébessa ville).

1.2. Matériel végétal

Notre espèce *Artemisia absinthium* (**fig 10**) a été récoltée dans la région de Tébessa durant le mois d'Avril 2021, elle a été identifiée par madame Hayoun dans le laboratoire de botanique de l'université de Tébessa, la plante est apporté au laboratoire de la faculté et débarrassé de tous éléments étrangère pour éviter la contamination durant l'extraction éthanolique et l'extraction d'huile essentielle, la plante est montrée dans **la figure (10)**.



Figure 10 : la partie aérienne de *l'Artemisia absinthium* (photo personnelle).

1.2.1. Extraction de l'huile essentielle

1.2.1.1. Principe de l'hydro distillation

Le principe consiste à porter à ébullition dans un ballon un mélange d'eau et de plante dont on souhaite extraire l'huile essentielle. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont alors entraînées par la vapeur d'eau créée. Elles passent par un réfrigérant à eau où elles sont condensées, puis sont récupérées dans un récipient (**Bruneton, 1999**).

1.2.1.2. Mode opératoire

L'extraction a été réalisée par hydro distillation à l'aide d'un dispositif de type clewenger, l'appareil a été nettoyé à l'acétone pour éliminer les poussières et éviter toute contamination de l'huile au cours de l'extraction. Nous mettons 150 g de matériel végétal frais dans le ballon qui contient 1,5 litre d'eau distillé est reliée à un réfrigérant, l'ensemble est ensuite porté à l'ébullition dans le chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile traversent le réfrigérant se condensent et goutent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité. L'extraction a duré de 2 à 3 heures. Nous avons effectué le processus d'extraction 2 fois, selon le protocole (**benchegrounet al., 2012**). La calcul de rendement d'huile essentielle, selon la formule suivante (**Daouda, 2015**). l'appareille est montrée dans **la figure (10)**.

$$\text{RDT HE} = \text{VHE} / \text{MVF}$$

RDT HE: Rendement en huile essentielle (ml/g)

VHE : Volume d'huile essentielle (ml)

MVF: Masse de matériel végétal frais (g)

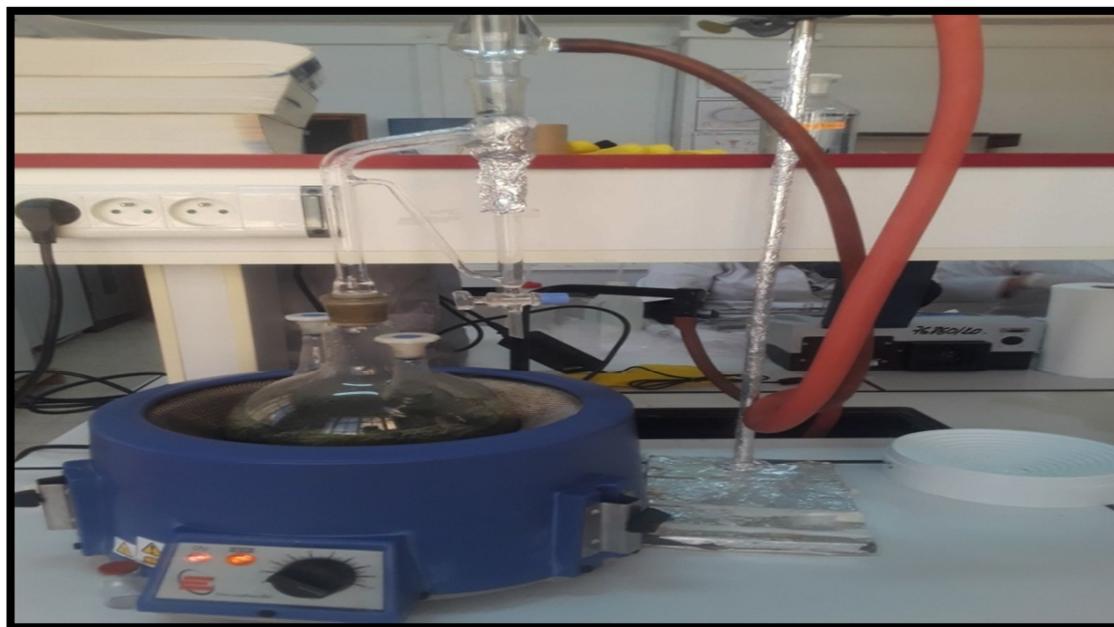


Figure 11 : Dispositif d'extraction essentielle de type Clevenger utilisé pour L'extraction des huiles essentielles (**photo personnel**).

1.2.2. Extraction hydro éthanolique

1.2.2.1. Mode opératoire

La matière végétale a été récoltée dans la région de Tébessa dans le mois de Mars 2021 et séchée à l'air libre pendant 15 jours, puis broyée avec un broyeur électrique jusqu'à obtenir un poudre.

Pour la première macération on ajoute 100 g de la poudre végétale est mis dans un bichre avec (400 ml éthanol +100 ml eau distillée) le mélange est agité dans un agitateur magnétique pendant 40 min à 45 degrés puis filtré par un papier filtre. On obtient un filtrat, il est conservé dans un flacon au réfrigérateur pour la 2ème macération on prend le poudre filtré est mis dans un bichre avec (400 ml éthanol +100 ml eau distillée) pendant 24 heures, après la 2ème filtration on mélange les deux filtrats et pour éliminer l'éthanol le filtrat est soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un rotavapeur, à une température de 40°C. Après la récupération de l'extrait on met dans l'étuve pendant 24 heures et mesure le poids de récipient pour déterminer le rendement de notre extrait (**Markhan., 1982**). Le rendement d'extrait éthanolique est calculé selon le rapport suivant (**Markhan, 1982**).

$$\text{Rdt}\% = (\text{P1} - \text{P2}) / \text{P3} \times 100$$

P1: Poids du ballon après évaporation.

P2: Poids du ballon avant évaporation (ballon vide).

P3: Poids de la matière végétale de départ.

Les rendements sont calculés par rapport à 100 g de la matière végétale sèche

Les figure (12, 13, 14) représentent les appareilles et outils utilisée pour extraire d'éthanol.



Figure12: représentent un appareil Rotavapeur (Photopersonnelle).



figure 13 : représentent un broyeur (photo personnelle).



Figure14 : l'extrait éthanolique de l'absinthe (photo personnelle).

1.3. Etude phytochimique de la plante

Les tests phytochimique sont effectués sur une solution de notre extrait hydro éthanolique, ces tests consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante (alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, saponosides, stérol et terpènes, les coumarines, Mucilages, et composés réducteurs) par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces

réactions sont basées sur un changement de couleur visible ou la formation d'un précipité a été pris en considération pour la présence (+) ou l'absence (-) de composants actifs particulier (Kholkhalet *al.*, 2013).

1.3. 1.Préparation de l'extrait

Après avoir récupéré l'extrait de l'étuve en dissout 30 mg de notre extrait dans 30 ml de méthanol pour étudier les tests photochimique selon le protocole de (Treas et Evans (1983).

1.3.2. Recherche des alcaloïdes

Evaporer 4mL de l'extrait de la plante à sec, Ajouter 1ml d'HCL'2N et chauffer dans bain marie filtrer le mélange et réaliser le test avec le réactif de Mayer, introduire 1ml de filtrat dans un tube, ajouter 5gouttes de réactif de Mayer. la présence d'alcaloïdes est indiquée par la présence de précipiter blanc jaunâtre (Treas et Evans.,1983).

1.3. 3.Recherche des Tanins

2ml de la solution à tester (l'extrait) + 2ml d'eau distillé avec agitation, ajouter 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ à 2°/°, la présence d'Tanins est indiquée par la présence de Coloration bleue noir ou verdâtre.(Treas et Evans.,1983).

1.3.4. Recherche des Saponosides

1 ml de la solution à analyser + 2 ml d'eau distillé agiter pendant 2 minute la formation d'une mousse persistante pendant 15 minute traduit la présence de saponosides. (Treas et Evans, 1983).

1.3.5. Recherche des Stérols et tri terpènes

1ml de l'extrait + 1 ml d'anhydride acétique + chloroforme et 200 microlitre acide sulfurique (H₂SO₄) concentré sur la paroi de bécher sans agitation , laisser reposer 20 minutes la formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contacte de deux liquides et une coloration violette de la couches de surnageant révèlent la présence des stérols et tri terpènes. (Treas et Evans, 1983).

1.3.6. Recherche des Composés réducteurs

Dans un tube à essai mettre 1ml de liqueur de Fehling (0,5 solution A + 0,5 solution B) + 1 ml de l'extrait à analyser, incuber pendant 8 minutes dans un bain marie, l'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs. (Treas et Evans, 1983).

1.3.7. Recherche des coumarines

1 ml de l'extrait + 0,5 de NH₄OH à 25 °°, mélanger et observer sous UV à 366 nm une fluorescence intense indique la présence de coumarines. (Treas et Evans, 1983).

1.3.8. Recherche des Mucilage

Introduire 1 ml d'extrait dans un tube à essai +5 ml méthanol absolu après une dizaine de minute l'apparition d'un précipité floconneux par mélange, indique la présence de mucilage. (Treas et Evans, 1983).

1.3.9. Recherche des Terpenoides

2ml de l'extrait + 2ml de chloroforme + 2ml d'acide sulfurique concentré, la formation d'un anneau marron rouge à l'interphase indique la présence des terpenoides. (Treas et Evans, 1983).

1.4. Dosage des polyphénol

1.4.1. Principe

L'ensemble des composés phénoliques est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier, est de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) l'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀) qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxyde bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968). La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques, et possède une absorbance maximale à environ 765 nm (Ojeil et al., 2010). La réaction d'oxydation est accélérée en milieu alcalin (dans notre cas, par un ajout de carbonate de sodium) et pour réaliser les courbes d'étalonnages, l'acide gallique est souvent pris comme référence (Collin et al., 2011). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de matière sèche (mg EAG/g MS).

1.4.2. Mode opératoire

1ml de réactif de Folin (dilué fois 10) +200 microlitre d'échantillon préparé dans le méthanol avec les dilutions convenable (4 mg/ml, 2mg/ml 1mg/ml 0,5mg/ml, 0,25mg/ml, 0,12mg/ml, 0,6mg/ml après 4 minutes en ajout 800 microlitre d'une solution de carbonate de sodium (0,75° /°) ensuite incubé deux heures à température ambiante et la lecture de DO à 765 nm, préparation d'une Courbe d'étalonnage d'acide gallique (0 -200 microgramme) est souvent pris comme standard, selon le protocole de (George *et al.*, 2005).

1 .5.Dosage de flavonoïdes

1.5.1. Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement (CO), un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Après l'ajout de la solution de chlorure d'aluminium($AlCl_3$), une couleur jaunâtre se forme. Cette coloration est due à la formation du complexe entre le chlorure d'aluminium et les flavonoïdes ; ceci se traduit par le fait que le métal (Al) a perdu deux électrons pour s'unir à deux oxygènes de la molécule phénolique agissant comme donneurs d'électrons (Ribéreau-Gayon, 1968). Le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) entraîne la formation d'un complexe jaune avec les Flavonoïdes. Ce dernier présente une absorption maximale à 430 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes présents dans l'échantillon.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de la Quercétine par g de matière sèche (mg EAG/g MS).

1.5.2. Mode opératoire

Dissoudre 1 mg d'extrait dans 1ml de méthanol est ajouté à 1ml de la solution d' $AlCl_3$ à 2% dans le méthanol, après 10 minutes lire la DO 430 nm, préparation d'une gamme d'étalonnage avec la quercitrine (0- 40microg/ml)est souvent pris comme standard. (Bahorunet *al.*, 1996).

1.6. Evaluation de l'activitéantioxydant

1.6.1. Principe

La méthode de DPPH. Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (capteur de proton) est un radical libre, stable au cours du temps et largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante d'un composé quelconque le radical DPPH en solution est coloré en violet. En présence d'antioxydant (donneurs de proton); le radical DPPH est réduit en formant une liaison

moléculaire stable. Le produit réduit présente une coloration qui tire vers le jaune. On mesure à l'aide d'un spectromètre UV à 517 nm, la diminution de coloration de la solution qui est proportionnelle à la quantité d'antioxydant. L'activité antioxydante de l'extrait est comparée à celle d'un antioxydant de référence en termes d'équivalence ou en termes d'inhibition (Tour, 2015).

1.6.2. Mode opératoire

Le test antioxydant a été réalisé avec la méthode au DPPH. Nous avons préparé plusieurs dilutions à différentes concentrations (4mg/ml, 2mg/ml, 1 mg/ml, 0,5mg/ml et 0,25mg/ml, 0,12mg/ml, 0,6mg/ml). Chaque 25µl de l'extrait de concentrations différentes sont ajoutés au 975µl DPPH préparé. Préparation de contrôle négatif : 25µl de méthanol+975µl de DPPH et préparation de contrôle positif par un antioxydant standard, l'acide ascorbique ensuite incubation à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif est mesurée à 517nm. Les essais ont été effectués en double, les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) (Sanchez-morino, 2002).

$$I\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Abs contrôle : absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai)

Abs test : absorbance d'extrait.

Abs test : absorbance d'extrait.

1.7. Méthode d'évaluation de l'activité antifongique

1.7.1. Méthode de micro atmosphère

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles a été évalué par la méthode de micro atmosphère dans cette technique, une boîte de pétrie (90 mm) est coulé avec un milieu de gélose à l'extrait de malt est d'abordensemencé par une piqure centrale prélevée de la périphérie d'une culture fongique âgée de sept jours, ensuite un disque de papier wattman imbibé d'une quantité d'huile essentielle pure (10, 20, 30 micro litre) est déposée au centre de couvercle de la boîte de pétrie, la culture est ensuite incubée à l'obscurité, couvercle en bas, pendant 7 jours à 25°C chaque essai est répété trois fois, un témoin (négatif), est préparé dans les mêmes conditions dépourvu d'huile essentielle (Hmiriet al., 2011).

1.7.2. Mode opératoire

1.7.2.1. Préparation de milieu de culture

Dans un bicher ajouter 34,2g d'extrait de malt + 45g d'Agar Agar +1800 ml d'eau distillé Le mélange est chauffé sur plaque chauffante avec agitation pendant 30 minutes ensuite répartie ce mélange dans des flacons stériles avec agitation manuel des flacons avant d'être autoclavé pendant (30 minutes) à 120°C.

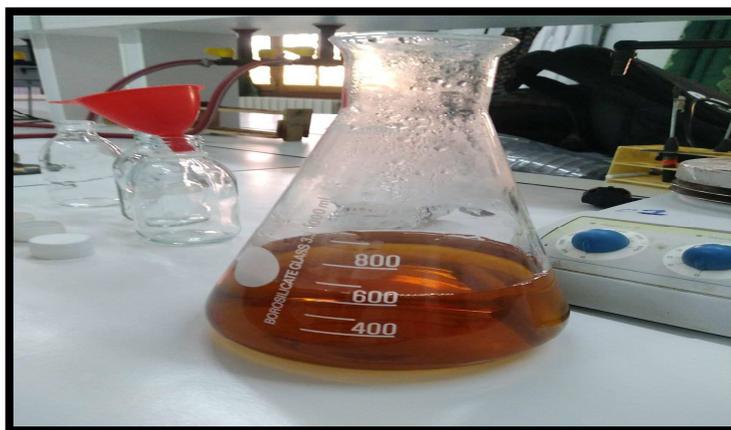


Figure 15: l'extrait de malt (photo personnelle).

1.7.2.2. Application de test anti fongique

Disposer les boites pétries autour des becs (la zone stérile), ajouter presque 25 ml d'extrait de malt dans les boites pétrie et à l'aide d'une anse stérile prélevé un fragment à la périphérie des cultures fongique (*d'Alternaria alternata et Pinicilium expensum*) âgée de sept jours et d'abordensemencé avec une piqure centrale sur la gélose , on à préparé 4 boites pour chaque souche , nous avons laissé les souches fongique 5 jours avant l'application d'huile pour confirmer que l'efficacité de l'huile n'est pas due au jeune âge des champignons ensuite un disque de papier wattman imbibé d'une quantité d'huile essentielle pure (10, 20, 30 micro litre) est déposé au centre du couvercle en bas, pendant sept jours à 25°C chaque essaie est répété 3 fois , un témoin dépourvu d'huile essentielle est préparé dans les mêmes conditions.

Après sept jours la lecture des résultats par la mesure des diamètres des thalles .La comparaison des dimensions obtenues avec celles des témoins de chaque espèce permet de Calculer le pourcentage d'inhibition selon la formule suivante:

$$\% \text{ d'inhibition à la dose X} = 100 - (D_{\text{test}} / D_{\text{témoin}}) \times 100$$

D_{test} = diamètre du thalle teste

$D_{\text{témoin}}$ = diamètre du thalle témoin

Les figures (16 et 17) représentent l'application d'HE et le repiquage des souches.

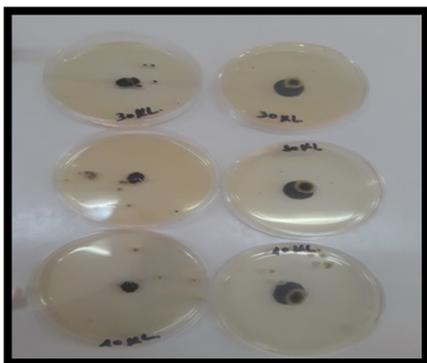


Figure 16 : application

d'HE sur la souche alternaria

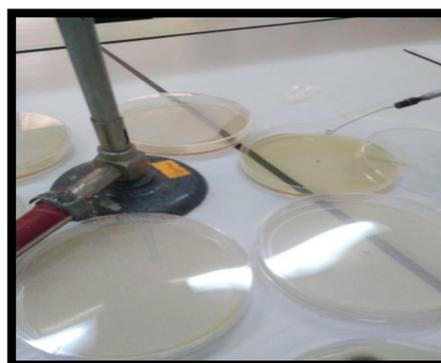


Figure 17 : repiquage des souches

fongique

1.8. Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne

1.8.1. Méthode de l'aromatogramme

L'activité antibactérienne est évaluée par la méthode d'aromatogramme qui permet de déterminer la sensibilité des différentes espèces bactériennes vis-à-vis de l'huile essentielle donnée. La méthode de l'aromatogramme consiste à utiliser des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé convenable, déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée. Des disques en papier buvard de 6mm de diamètre, préalablement imprégnés de quantités connues d'huile essentielle, sont alors placés en surface de la gélose. Généralement, les microorganismes seront classés susceptibles, intermédiaires ou résistants, selon le diamètre de la zone d'inhibition (Boutabia *et al.*, 2016).

1.8.2. Mode opératoire

1.8.2.1. Préparation de milieu de culture

Nous avons acheté le milieu de culture Muller Hinton préparé mais avant leur utilisation il faut le stériliser par l'autoclave pendant 30 minutes, ensuite il est coulé dans les boîtes de pétrie stériles, toutes ces étapes sont près du bec benzène (zone stérile)

Les figures (18 et 19) représentent la gélose de Muller Hinton et l'étape de coulage de milieu (photos personnel).



Figure 18 : la gélose de Muller Hinton

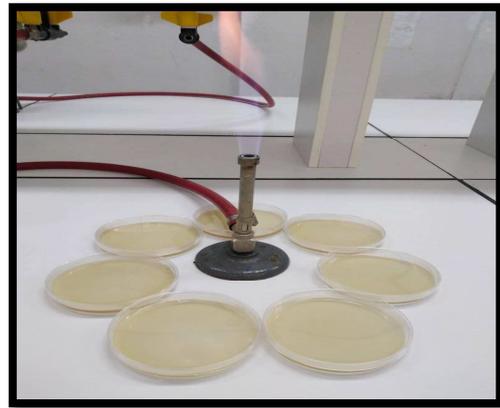


Figure 19: l'étape de coulage de milieu

1.8.2.2. Application de test anti bactérien

Disposer les boîtes pétries autour des becs (la zone stérile), ajouter presque 25 ml d'MH dans les boîtes pétries puis repiqué à l'aide d'une anse de platine stériles quelques colonies à partir des cultures bactériennes à tester (*E Coli*, *S. aureus*, *Salmonella*), décharger ces colonies dans des tubes contenant 5 ml eau physiologique stérile et homogénéiser les suspensions de façon à obtenir une opacité équivalente à 0,5 Mac Ferland ensuite introduire les écouvillons stériles dans les suspensions puis essorer doucement sur la paroi des tubes, l'ensemencement se fait par écouvillonnage sur les milieux de culture qui sont déjà préparés pendant les 15 minutes qui suivent la préparation de la suspension. Répéter l'ensemencement 3 fois en tournant chaque fois la boîte pétrie à 60° en disposant étroitement à l'aide d'une pince sur chaque boîte ensemencée des disques stériles ensuite à l'aide d'une micro pipette en ajoute 10 microlitres d'huile essentielle. Les boîtes témoin sont préparées dans les mêmes conditions avec un disque imprégné d'eau distillée en suite en incubent les boîtes pétries pendant 24 heures dans l'étuve à 37° enfin après 24 heures les résultats sont déterminés en mesurant à l'aide d'un pied à coulisse les diamètres des zones d'inhibition qui apparaissent autour des disques.

2. Résultats

2.1. Rendement de l'huile essentielle

La détermination de l'activité anti bactérienne et anti fongique de notre plante *Artemisia absinthium* ne nécessite pas une grande quantité d'huile pour cela nous avons effectué seulement deux extractions, les résultats de calcul de rendement obtenus lors de l'extraction de 100 g de la plante fraîche prélevé de la région de Tébessa par hydro distillation durant 2 heures sont représentés dans le tableau suivante :

Tableau 4 : Rendement d'extraction de l'huile essentielle de *l'Artemisia absinthium*.

1 ^{er} extraction	0,72%
2 ^{ème} extraction	0,69%
La moyenne des deux extractions	0,70±0,021%

La figure 20 représentent l'huile essentielle préparé.

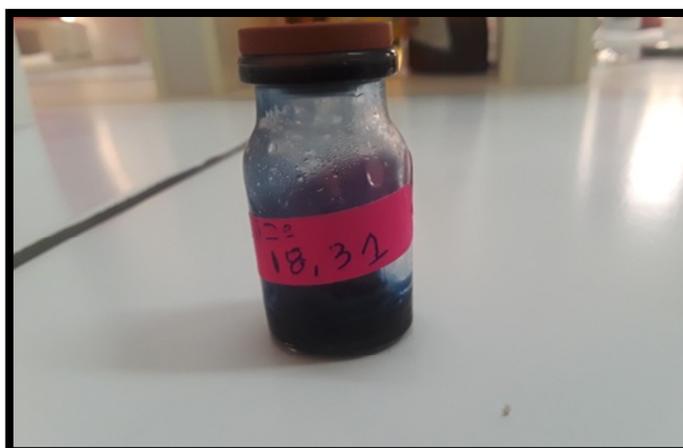


Figure 20 : Flacon d'huile essentielle de *l'absinthe* (photos personnelle).

2.2. Rendement d'extraction hydro éthanolique

Pour déterminer l'activité anti oxydante et la composition chimique de notre plante nous avons effectué une extraction hydro éthanolique, le résultat de calcul de rendement obtenu lors de l'extraction de 100 g de poudre de la plante sèche par le rotavapeur est de 4,86 %.

2.3. Screening phytochimique

Grâce à l'étude de screening phytochimiques de l'extrait d'*Artemisia absinthium* que nous avons récoltés de la région de Tébessa en mars et avril 2021, on a obtenu les résultats suivantes :

Tableau 5:Familles de composés chimiques issues de la partie aérienne.

<i>Artemisiaabsinthium</i>	Résultats obtenus
Alcaloïdes	++
Tanins	+++
composés réducteurs	++
Saponosides	-
Stérols et terpènes	++
les coumarines	-
Mucilages	-
Terpenoïdes	+++

(+) : Présence faible

(++) : Présence moyenne

(+++): Présence forte

(-) : Absence

2.4. Résultats de l'analyse quantitative des constituants de l'extrait

2.4.1. Dosage des polyphénols

La teneur en phénols totaux est estimée par la méthode de Follin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de matière sèche (mg EAG/g MS). Cette méthode de dosage présente une bonne productibilité puisque l'absorbance est étroitement corrélée avec la concentration de l'acide gallique utilisé dans la gamme d'étalonnage ($R^2 = 0,992$) (Figure 21).

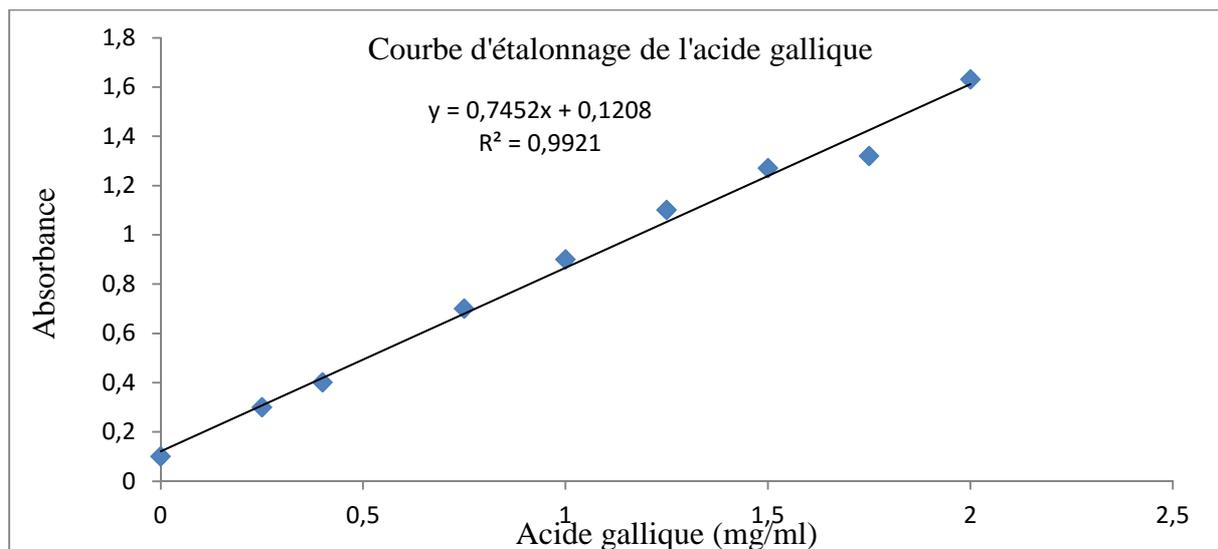


Figure 21: courbe d'étalonnage de l'acide gallique

2.4.2. Dosage des flavonoïdes

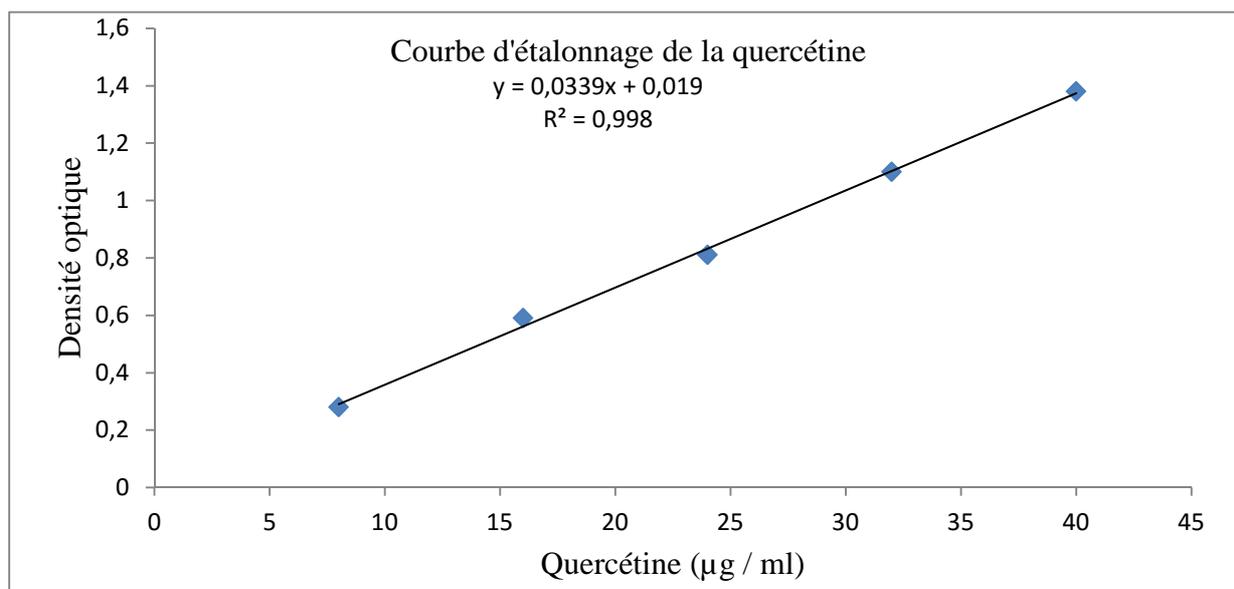


Figure 22: courbe d'étalonnage de la Quercétine.

Tableau 6 : Teneurs en polyphénols et flavonoïdes d'extrait éthanolique de *l'absinthe*.

Composant de la plante	Concentration
Flavonoïdes (mg / g)	10.64 ± 0.41
Polyphénols (mg EAG/ g de MS°)	197 ± 0.056

2.5. Résultat d'activité antioxydant

Le tests que nous avons utilisés pour évaluer l'activité antioxydant d'extrait de plante est : le radical DPPH .La capacité à piéger ces radicaux libres est proportionnelle à la concentration de la substance antioxydante (**Kholkhalet al., 2013**). L'activité anti radicalaire d'extrait d'*Artemisiaabsentium*et du témoin positif d'acide ascorbique ont été déterminée par la méthode au DPPH, les résultats obtenus sont représentés dans le tableau et la figure suivante :

Tableau 7: Capacité antioxydante de l'extrait éthanolique et d'acide ascorbique.

<i>A. absentium</i>	Concentrations (mg/mL)	Inhibition (%)	IC50 (mg/mL)
Extrait éthanolique	2 mg	54%	2 ,405
	4 mg	55%	
Acide ascorbique	2 mg	75 ,77%	
	4 mg	93 ,23%	

Valeur IC₅₀: Concentration qui inhibe 50% des radicaux DPPH.

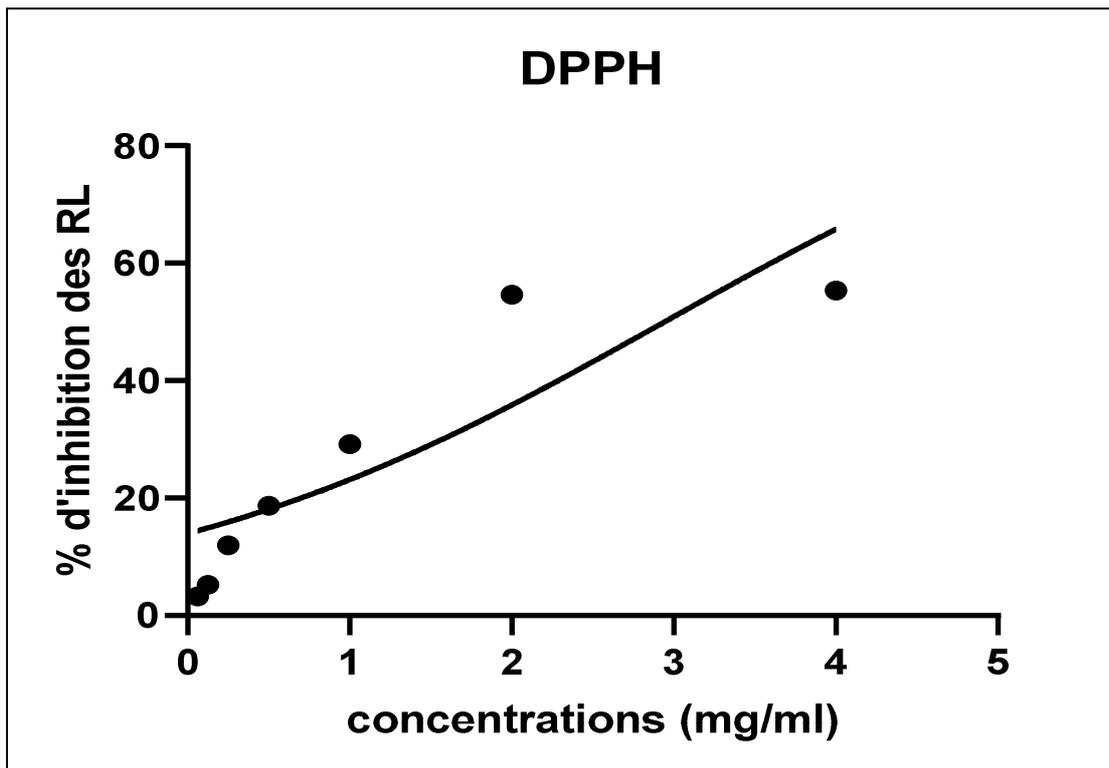


Figure 23 : Courbe représente le pourcentage d'inhibition de radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait de *l'Artemisiaabsinthium*.

2.6.Resultat del'activité antimicrobienne de *l'Artemisia absentium*

Lors de notre étude, le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de *l'Artemisiaabsinthium*, a été étudié vis- -vis deux souches fongiques et trois souches bactérienne, par la méthode de diffusion sur disques en milieux gélosés et d'aromatogramme (extrait de malt et MH). Ce pouvoir a été évalué par la détermination du diamètre de zone d'inhibition.

$$\% \text{ d'inhibition a la dose X} = 100 - (D_{\text{test}} / D_{\text{témoin}}) \times 100$$

D_{test} = diamètre du thalle teste

$D_{\text{témoin}}$ = diamètre du thalle témoin

2. 6.1. Test antifongique

Tableau 8: Pourcentage d'inhibition a la dose X de la souche fongique *Alternariaalternata*.

Dose appliqué	Diamètre du thalle mm (la moyenne de 3 répétitions)	% d'inhibition a la dose X
10 micros litre	23,15 ± 0,21	58,19
20 micros litre	18,5± 0,70	66,37
30 micros litre	15,5± 0,70	71,82
Témoin	55	00

Les figures (24,25) représentent la zone d'inhibition après l'application d'huile essentielle sur les souches fongiques (Photos personnel).



Figure 24 : % d'inhibition a la dose 30µl



Figure 25 :% d'inhibition a la dose20 µl



Figure 26: témoin positif

Tableau 9 : Pourcentage d'inhibition a la dose X de la souche fongique *Pinicilium expansum*.

Dose appliqué	Diamètre du thalle mm (la moyenne de 3 répétitions)	% d'inhibition a la dose X
10 micros litre	21± 1,41	57,15
20 micros litre	17±0,28	65 ,31
30 micros litre	14±0,14	71,43
Témoin	50	00

2.6.2 Test anti bactérien

Tableau 10: Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle contre trois souches microbiennes.

Souche testée	Moyenne de diamètre d'inhibition (mm)	Sensibilité
<i>E. Coli</i>	8,97	+
<i>Salmonella</i>	8,55	+
<i>S. aureus</i>	10,14	+

Les figures (27, 28, 29) représentent la zone d'inhibition après l'application de huile essentielle sur trois souches microbiennes (Photos personnel).

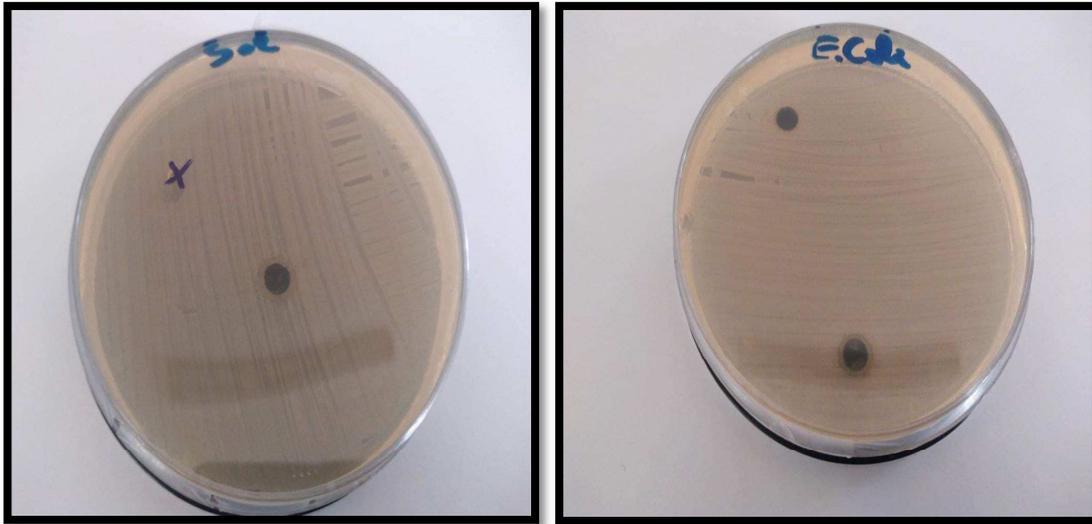


Figure 27: zone d'inhibition de *Salmonella*. **Figure 28 :** zone d'inhibition d'*E. Coli*.

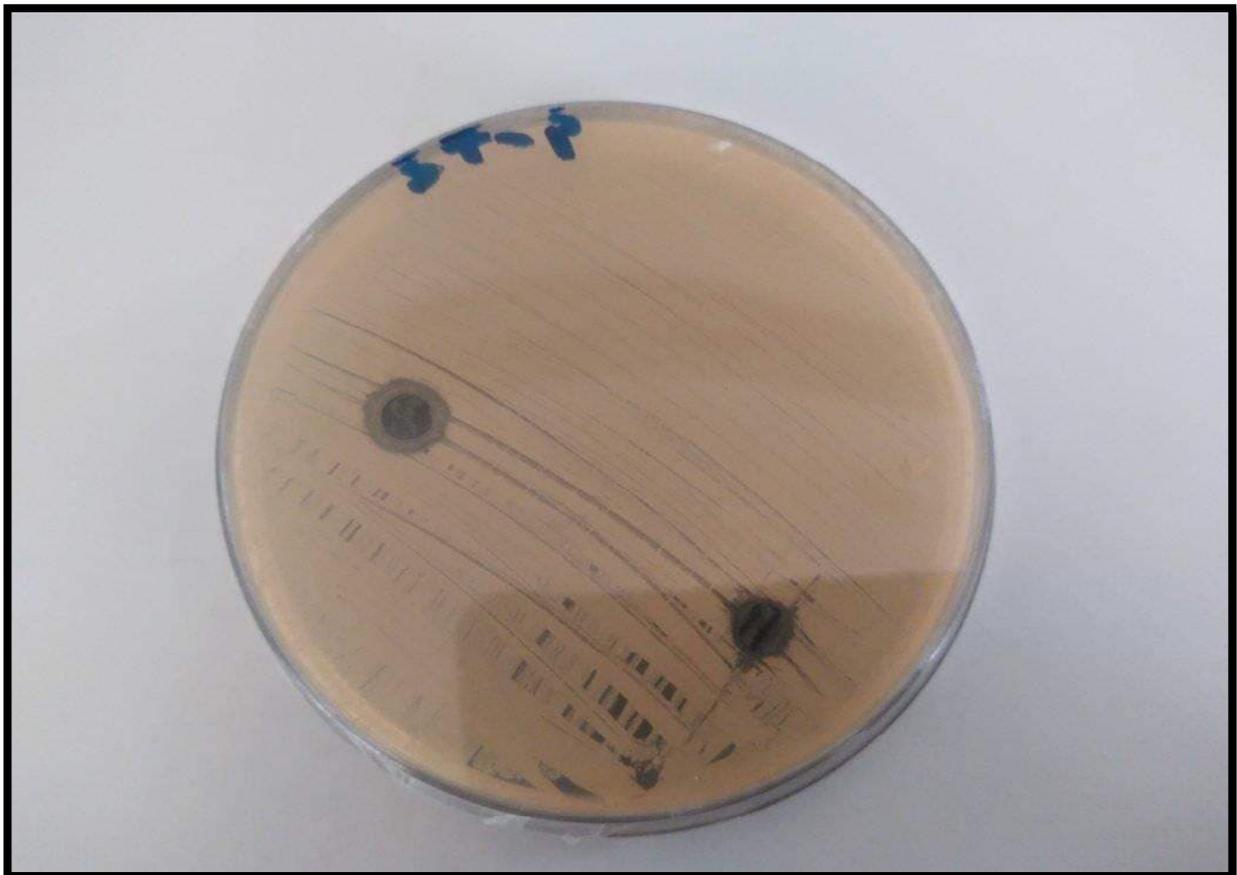


Figure 29 : zone d'inhibition de *S. aureus*.

Tableau 11 : Transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés de l'huile (**Ponce et al.,2003**).

Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Transcription	Sensibilité des germes
<8	-	Résistante
9-14	+	Sensible
15-19	++	Très sensible
>20	+++	Extrêmement sensible

3. Discussion

3.1. Rendement de l'huile

Nous avons trouvé un rendement de l'huile essentielle de 0,70% des deux extractions, ce résultat est raisonnable puisque il se rapproche d'autres résultats qui préconise un rendement entre 0,03% jusqu'à 1,5%.

Cette teneur paraît plus élevée comparée à celle rapportée par (**Bouchenak et al., 2018**) et (**Polina et al., 2006**) qui ont trouvé un rendement de 0,5% et 0,29% respectivement et inférieur aux résultats trouvés par (**Hanan et al., 2020**) qui ont trouvé 0,83% et on peut dire que notre rendement est moyen par rapport aux résultats trouvés par (**Msaada et al., 2015**) et (**Ghasemi et al., 2013**) qui ont étudiés le rendement d'huile d'*Artemisia* dans plusieurs régions différentes leurs résultats entre (0,03% - 1,46%) et (0,32% - 1,10%) respectivement. Ces différences entre les résultats peuvent être expliquées par des variations régionales, de variation saisonnière (le rendement de plante récoltée au stade de floraison est plus élevée que les plantes récoltées au stade de croissance végétative) aussi les techniques, la qualité des appareils, le temps d'extraction ...sont des facteurs entre autres qui peuvent avoir un impact direct sur les rendements en extraits.

3.2. Rendement d'extrait éthanolique

Le résultat relatif aux rendements d'extraction éthanolique de l'*Artemisia absintium* dans la région de Tébessa est égale 4,86%. Notre résultat obtenu est inférieur à celui signalé en Tizi-Ouzou (30,03 %) d'extrait éthanolique d'*A herba alba* par (**Habera et Laoudi., 2019**) et faible comparativement à le rendement éthanolique de l'*absinthe* obtenu dans la région de Djebel Messaad, Msila (24,37%) par (**Benaïssa et Fardjaoui, 2020**) et inférieur à celui signalé en Awlad Gasim, Ain M'Lila (14,77%) d'extrait méthanolique d'*A, herba alba* par (**Ababasa et boukaous, 2018**).

Cette variabilité de rendement dépend de plusieurs paramètres tels que: le solvant, le PH, la température, la nature d'extrait (éthanolique, méthanolique ou aqueux), le temps et la méthode d'extraction ainsi que le lieu et la période de la récolte de l'échantillon (**Zeragui et al., 2019**).

3.3. Screening phytochimique

Selon nos résultats expérimentaux que nous avons obtenus de screening phytochimique on note que :

- La présence de différentes classes de métabolites secondaires des alcaloïdes, tanins, composés réducteurs, stérol, terpène et terpénoïdes avec différentes concentrations de composant chimique de *l'Artemisia absentium*.
- L'absence de quelque métabolite secondaire tel que saponosides, coumarines et mucilages.

Nous avons comparé nos résultats avec d'autres résultats réalisés sur le même genre *d'artimisia* et une espèce différente *d'Artemisia herba alba* que celui réalisé par **(Soltane et Saïdi, 2020)** dans la région de Biskra, grâce à cette comparaison nous avons observé :

- La concentration des alcaloïdes et tanins de notre plante est fortement positive que la concentration des alcaloïdes et tanins *d'Artemisia herba alba* de la région de Biskra. Il y a la même concentration des terpénoïdes dans les deux plantes.
- La présence des composés réducteurs et l'absence des saponosides, coumarines et mucilages dans notre extrait *d'Artemisia absentium* et on observe la présence des saponosides et l'absence des composés réducteurs dans la plante de *l'Artemisia herba alba* de la région de Biskra.

Ces résultats sont comparables à ceux obtenus au cours des travaux réalisés sur l'extrait hydro-éthanolique de *Artemisia campestris* menés par **(Ammari et Bentoumi, 2019)** dans la région de Msila qui ont confirmé la présence des tanins, alcaloïdes et coumarines avec des concentrations fortement positives que les concentrations des tanins, des alcaloïdes et des coumarines *d'Artemisia absentium* de la région de Tébessa et confirmé l'absence des saponosides et des mucilages, c'est le même résultat que nous avons obtenu.

Après cette comparaison nous avons également remarqué des changements qualitatifs entre les composants actifs, cette différence des résultats de la nature de l'espèce, le climat, la zone géographique soit des facteurs liés aux conditions expérimentales (procédé d'extraction, durée d'extraction, etc.) soit par le choix de la période de récolte, la méthode d'extraction employée **(Kelen et Tepe, 2008)**.

3.4. Polyphénols et flavonoïdes

L'étude quantitative des extraits bruts *d'Artemisia absinthium*, au moyen des dosages aux spectrophotométriques, avait pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux, des flavonoïdes, la raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait

que la majorité des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des plantes leur sont attribués (**Ouyahya et al., 1990**).

Notre résultats ($10,64 \pm 0,41$ mg/g) de flavonoïde paraît faible comparée à celle rapportée par (**Bouchenak et al.,2018**) qui ont trouvé un teneur de flavonoïde de ($12,86$ mg EAG/g MS) alors que notre teneur de polyphénols ($197 \pm 0,056$ mg EAG/g MS)et très élevée par rapport à leur teneur de ($24,8$ mg EAG/g).

Nos résultats sont élevé par rapport à celles dosées par (**Boudjelal, 2013**). dans des extraits éthanoliques d'*Artemisia campestris* (la teneur des polyphénols totaux est de (20.38 mg EAG/g Ps) et la teneur en flavonoïdes est de 7.46 mg EAG/g Ps), (**msaada et al.,2015**) ont trouvé que la teneur en polyphénol ce varie d'une région à une autre, la région la plus élevé à la région de Kairouan (99.89 ± 3.30 mg GAE/gDW), Bou Salem, Boukornine, et J'erissa 83.70 ± 1.31 , 72.05 ± 1.83 , et 49.39 ± 2.20 mg GAE/g DM, respectivement (**Habera et Laouadi, 2019**) trouvé que les teneurs en polyphénols totaux dans les extraits d'*A. herba alba* varient selon le solvant d'extraction, la teneur en polyphénols obtenue avec de l'eau distillée est (97.17 ± 1.06 mg EAG/g de MS), tandis que l'extrait éthanolique présente une teneur plus faible (28.69 ± 0.99 mg EAG/g de MS).

De ce fait, l'extrait d'*Artemisia absinthium* L. est riche en composés phénoliques et en flavonoïdes. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par différents chercheurs que les extraits d'absinthe sont riches en flavonoides, composés phénoliques et possèdent des activités antifongiques et anti bactérienne importantes.

3.5. Activité anti oxydante

Les résultats de l'activité anti oxydante montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de concentration d'extrait éthanolique de *l'Artemisia A* et l'acide ascorbique. On observe que pour la dose de 2mg/ml, le pourcentage d'inhibition du radical libre pour *l'absinthe* est inférieur à celui de l'acide ascorbique (*l'Artemisia absentium*: $54,64\%$ et Acide ascorbique : $75,77\%$) , pour la dose de 4mg/ml le pourcentage d'inhibition de *l'Artemisia absentium* de $55,35\%$ alors qu'il est de $93,23\%$ pour Acide ascorbique.

Ces résultats soulignent que le pouvoir antioxydant de l'acide ascorbique est beaucoup plus intense que celui de notre extrait éthanolique de *l'Artemisia absentium*. Selon le graphique de pourcentage d'inhibition de radical DPPH, nous avons déterminé la valeur IC50 ($2,405$ mg /ml), plus la valeur d'IC50 est basse plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

Nous avons comparé notre valeur de pourcentage d'inhibition de l'extrait éthanolique d'*Artimisia* avec d'auteur valeur menée par (Magraïu et Zahaf, 2018) sur l' HE d'*A. herba alba* dans la région de Djelfa , dans 2mg de *A. absinthium* de Tébessa il ya une valeur de pourcentage d'inhibition de 54 ,64% et pour la dose de 2,5 de *A herba alba* il ya une valeur de pourcentage d'inhibition de 18,84% .pour la dose de 4mg/ml le pourcentage d'inhibition de *A absinthium* est de 55, 35% alors qu'il est de 27 ,53,23% pour *A herba alba* .Ces résultats soulignent que le pouvoir antioxydant de l'extrait éthanolique de l' *Absinthe* est beaucoup plus fort que celui de leur extrait d'HE.

Concernant l'*Artimésia absinthium*, l'IC50 est de 2,405mg/ml qui montrent un pouvoir antioxydant très largement supérieur celui de l'*Artimisia herba alba* de Djelfa qui marque une valeur d'IC50 de 7,25mg/ml. Nos valeurs de de IC50 l'*A absinthium* paraissent inférieures à celles rapportées par (Msaada et al 2015). En effet, cet auteur rapporte une valeur de IC50 = 0 ,9mg/ml pour l'*A. absinthium* dans la région Bousalem (Tunis). L'extrait éthanolique d'*absinthe* est riche en flavonoides, composés phénoliques et possède un activité antioxydant importantes.

3.6. Activité anti fongique

Les résultats de l'activité anti fongique de notre plante étudiée montre que leur huile essentielle avaient une activité inhibitrice significative contre les deux souches étudiées *Pinicilium expencum* et *Alternaria alternata* et en comparaison avec autres résultats en note que (bouchenak et al., 2018) ont trouvé une zone d'inhibition très faible par rapport au notre résultats, contre l'*Alernaria sp* (12, 33%), *Helminthosporium sp* (17,2%) *Fusarium culmorum* (24 %) *Botrytis cinerea* (25,6 %). Aussi nos résultats sont plus élevées par rapport au (Msaada et al., 2015) ont trouvé des zones d'inhibition entre (23,61% et 25,69%) contre quatre souches différentes de nos souches *F. graminearum*, *F. culmorum*, and *F. oxysporum* et *Rhizoctoniasolani* ,Alors que (Juteau et al., 2003) trouvé que HE de *A absinthium* de France a inhibé la croissance de levures *Candida albicans* et *saccharomyces cerevisiae* et HE de l'absinthe de turc a été décrite comme fongicide contre 34 espèces de champignons alors que (Umpiérrez et al., 2012) montré que l'huile essentielle de *A. absinthium* de Uruguay contient une activité anti fongique contre *Alternaria sp* et *Botrytis cinerea*, (Amouri et al., 2016) étudiées l'activité antifongique d'huile essentielle de *A. Herba alba* à différentes concentrations (0.05%, 0.25%, 0,5%) sur quatre espèces de *Fusariumils* ont trouvé une bonne activité antifongique, permettant de limiter et même de stopper le développement de l'agent pathogène.(Benouaer et Madiha, 2016) étude l'effet antifongique de l'extrait aqueux herba-alba sur les champignons

mycotoxigéniques, leur résultats montrent que les différentes concentrations d'extrait aqueux (20,25 et 30%) ont des efficacités remarquable sur *Fusariumsolani* surtout à la plus élevée concentration (30%), et inhibition finale qui a été remarqué chez *Alternaria arborescens* dans la même concentration (30%). Alors que pour l'huile essentielle les résultats montrent que les concentrations appliquées (0.15, 0.175,0.20 et 0.250%) ont une efficacité contre *Alternaria arborescens* et *Fusarium solani* surtout à la haute concentration (0.250%). C'est vrai que nous avons pas trouver des travaux similaire à notre étude, qui ont appliqué les mêmes concentrations sur les mêmes souches ou la même méthodes mais on observe que toutes les méthodes montré une activité antifongique efficace contre plusieurs souches surtout a la haute concentration.

L'activité anti fongique de *l'Artemisia* peut être expliquée par l'effet synergique entre les différents composés d'huile essentielle, les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antifongique ainsi que les composés minoritaires qui peuvent contribuer significativement à cette activité. Certaines études ont trouvé que l'activité antimicrobienne des HE peut être supérieure à celle de leurs composés majoritaires testés séparément. Cette dominance d'activité des essences sur celle d'un composant majoritaire confirme bien l'effet de synergie que pourraient apporter les composants minoritaires à l'activité des HE. Par ailleurs, il existe une corrélation proportionnelle établie entre la présence des mono terpènes oxygénés et le pouvoir antimicrobien (bouchenak et al., 2018) .

3.7. Activité anti bactérienne

Face aux problèmes de la résistance bactérienne aux antibiotiques synthétiques, beaucoup de travaux ont été menés sur le pouvoir antimicrobien des extraits naturels des plantes. L'activité antibactérienne d'huile essentielle de la plante *Artemisia absinthium* est testée Contre trois souches bactériennes via la méthode d'aromatogramme. Les résultats sont exprimés et présentés par des diamètres des zones d'inhibition. En se basant sur nos résultats on observe que

- l'huile essentielle exerce un effet antibactérien contre les trois souches.
- L'activité la plus élevée a été observés contre la souche de staphylocoques aureus.

En observe que (Msaada et al., 2015) aussi ont trouvé que L'activité la plus élevée a été observés contre la souche de staphylocoques aureus mais leur résultats ne concorde pas avec nos résultats puisque ils sont trouvé des zones d'inhibition plus grandes (25mm) a la région de Kairouan, (20 mm) a la région de Bou Salem et (18mm) a Boukornine and Jérissa aussi les résultats de la région de canada qui ont trouvé par (Lopes-Lutz et al., 2008) ont montré que HE de *l'absinthe* à une forte activité anti bactérienne surtout contre *Staph aureus* qui était plus

élevée que le contrôle positif (methicillin activity 18 mm) alors que (Hanan et al., 2020) qui ont utilisé la méthode de micro dilution en calculant la concentration minimale inhibitrice ont trouvé que HE de *A. absinthium*, *A. sieberi*, *A. scoparia* a une activité bactérienne forte contre les bactérie gram+ alors que les bactérie gram négatif résiste contre les HE. (Ghasemi et al., 2013) trouvé que HE d'*A. Chamaemelifolia* collectées au stade végétatif et floraison à 50% ont démontré des activités inhibitrices relativement élevées contre les bactéries testées avec des concentration entre 31 à 125 µg / ml. (Habera et Laoudi, 2019) ont trouvé que HE de *l'Artemisia herba alba* ne montré pas une activité contre les souches d'*E Coli E et Staphylococcus aureus* avec des diamètres inhibition entre (7.5 et 7 mm) alors que le plus grand diamètre d'inhibition est observé dans le cas de l'extrait éthanolique (10 ± 1.41 mm) et l'extrait aqueux (10 ± 0 mm).

Les résultats de (Habera et Laoudi , 2019) ne concorde pas avec celui de (Ponce et al., 2003) qui ont signalé que l'HE des feuilles d'*A. Herba alba* a un effet très important sur *S. aureus*. De même, (Goudjil 2016) a mentionné que *Staphylococcus* est très sensible à l'HE d'*A. herba alba* avec une zone d'inhibition de 23.10 mm. Les résultats de (Lopes et al., 2008) ont trouvé que HE de l'absinthe montré une forte activité contre *Staphylococcus* (25mm) et ne montrée pas une activité contre *E. coli* (5mm).

Ces différences entre les résultats peuvent êtres expliqué par la différence entre les méthodes adaptées, la quantité des échantillons est les concentrations appliqué d'HE aussi liée à la qualité organoleptique de l'huile, qui à son tour dépend fortement de la région collecté du matériel végétale. Mais malgré ces différences des résultats presque toute recherches publiées montré que l'HE de *l'Artemisia absinthuim* a montré un large spectre d'activité anti bactérienne contres plusieurs souches bactérienne y compris nos souches étudiées.

Conclusion générale

4. Conclusion générale

Le présent travail vise à valoriser une plante médicinale et aromatique très répandue dans le monde et en Algérie (*Artemisia absinthium*). Notre étude a porté sur l'analyse phytochimique de leur extrait éthanolique. Ainsi que leur activité antioxydant et antimicrobienne in vitro.

Le screening phytochimique a mis en évidence diverses classes de métabolites secondaires dans les parties aériennes de la plante tels que les alcaloïdes, tanins, composés réducteurs, stérols, terpènes et terpenoïdes. Alors que Les résultats de l'activité antifongique ont révélé une forte activité contre les différentes souches fongiques testées. D'autre par notre plante montre une moyenne activité anti bactérienne et anti oxydante. L'huile et l'extrait éthanolique ont une bonne efficacité.

Ce pouvoir bioactif observé chez cette huile est attribué principalement par sa teneur élevée aux flavonoïdes et composés phénoliques trouvés dans les extraits. Ces résultats présentent un intérêt pour des applications phytosanitaires comme des procédés de lutte biologique basés sur des substances naturelles afin d'éradiquer les infections d'origine fongique et bactérienne en vue d'une utilisation dans le cadre d'une agriculture biologique.

*Références
bibliographiques*

Listes des Références bibliographiques

A

- **Abasa, N., Boukaous, H. k. (2018).** Etude phytochimique et activités biologiques de l'extrait méthanolique d'*Artemisia herba alba*, Diplôme de Master. Université des Frères Mentouri Constantine.
- **Alexander, N. S., Igor, A.N. Flisyuk, .E .V .VladimirG.Luzhanin Pozharitskaya, O ,N (2020).** Medicinal plants from the 14th edition of the Russian Pharmacopoeia, recent updates. Journal of ethnopharmacology, 268 : 113685.
- **Amraoui, K., Salhi, N., et Besati, S.(2016).** Contrôle de l'activité antifongique d'*Artemisia herba alba* sur quelques moisissures d'altération les graines des céréales. Université Ouargla, Algérie.
- **Atmani, D., (2009).** Antioxydant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants, *Food Chem*, vol.112, no 2, p. 303-309.

B

- **Barkely, T. M., Brouillet, L., et Strother, J. L.,(2006).** Flora of North America – Asteraceae. Oxford University Press New York. p193.
- **Bentoumi, T. Ammari, R. (2019).** Contribution à l'étude phytochimique et biologique de la plante *Artemisia Campestris* de la région de Ouiltem de Boussaâda, Du diplôme de Master, Boussaâda, Algérie. Vol :1-70.
- **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., et Lucur, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from natural products and pharmaceutical preparations *Arzneimittel- forschung*, 46 (11), 1086- 1089.
- **Bessas, A., (2008).** Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien, Ingénieur d'état en biologie option contrôle de qualité et analyses, Université Djillali Liabes, -Sidi Bel Abbes.
- **Benaïssa, W., Fardjaoui, A. (2020).** Evaluation de l'activité antivenimeuse in vivo d'*Artemisia campestris L*, Option: Biochimie Appliquée. Université Mohammed Boudiaf De M'sila, Master académique.
- **Benchegroun, H.K., Ghanmi, M., et Satrani, B.(2012).** Antimicrobial activity of the essential oil of endemic plant in Morocco, *Artemisia Mesatlantica*. 81 , 4-21.

- **Bruneton, J.,(1999).**Pharmacognosie (photochimie, plante médicinales) Médicinales internationales, Paris, p. 233-783-1120.
- **Boudjelal, A. (2013).** Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajugaiva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubiumvulgare*) de la région de M'Sila, Diplôme de Doctorat en Sciences, Option Biochimie Appliquée, Université Annaba, Algérie.
- **Bouchenak, F., Degaichia, H., Lamgharbi, A., et Benrebebiha, F. (2018).**Évaluation in vitro du potentiel antifongique de l'huile essentielle et des extraits méthanoliques d'une asteraceae *Artemisia absintium* L. Revue Agrobiologia8(1): 886-895.
- **Bozin, B., Mimica-Dukic, N., et Bogavac, M. (2008).** Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of *Achilleacollina* Becker ex Heimerl s.l. and *A. pannonica* Scheele essential oils," *Molecules*, vol. 13, no. 9, pp 2058–2068.
- **Benouaer. M., Salhi, N. (2016).**l'activité anti fongique d'extraits aqueux et des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* sur des champignons potentiellement mycotoxicogéniques du blé dur. Université Ouargla, Algerie.
- **Boutabia, L., Telailia, S.,Bouguetof, I., Guenadil, F.,etChefrour,A. (2016).** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus L* de la région de Hammamet (Tébessa- Algérie).vol 85 p 174- 189.

C

- **Collin, S., Crouzet, J. (2011).**Polyphénols et procédés. Paris : Lavoisier. p 333.
- **Chabasse, D., Bouchara, J. P., Gentile, L., Brun, S., Cimon, B., et Penn, P. (2002).** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation, n : 25, Bioforma. p59.
- **Chabane, S., (2016).** Étude phytochimique et recherche d'effet hémolytique des extraits isolés de la partie aérienned'*Artemisiaabsinthium L* (chiba) (wilaya de Tlemcen). Mémoire de Master, Université de Tlemcen.
- **Chu, W., (2017).** Composition and morphology of cuticular wax in blueberry (*Vaccinium* spp.) fruits. *Food Chem* 219:436–442.
- **Charppetier, B., (2008).** Guide du préparateur en pharmacie. 3émeéditionp 580.

D

- **Daouda, T., (2015).** Etude chimique et biologique des huiles essentielle de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte D'Ivoire.Thèse.Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY en biologie humaine tropicale.

- **Diallo, A. A., (2013).***Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Thèse en vue de l'obtention du doctorat, université Toulouse III-Paul Sabatier, 2013, p13.
- **Dykes, L., Rooney, L. W. (2006).** Sorghum and millet phenols and antioxidants. Journal of cereal Sciences 44: 236 – 241.

E

- **Esskouri, Z., (2011).** Sensibilité des entérobactéries urinaire à la Fosfomycine a la Nitrofurantoïne à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat. Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie, université Mohammed V- Soussi, 2011, p 46.
- **Erichsen- Brown, C ., (1979).** Use of plants for the past 500 years. Breezy Creeks Press, Aurora, ON, p xxii, -illus. En Icones. General (KR, 198100065) p512.
- **Echchaou, M., (2018).** Pouvoir antibactérienne des huiles essentielles. [en ligne]. Thèse de doctorat : Pharmacie. Rabat : Université de Mohammed V , p 138.

F

- **Favier, A., (2003).** Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'Actualité chimique, p 108-115.
- **François, J., Gaudry, M., et Prat, R. (2012).** Biologie végétale croissance et développement métabolisme secondaire : quelques aspects 2^{ème} édition, p 217-218, 227.

G

- **Gabriele, P., Natasha, I., Mariapaola, C., Giovanni, P., Federica, M ., Vincenzo, A., Francesco, S., Domenica, A., et Alessandra, B. (2017).** Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health 1 Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Messina, Messina, Italy.
- **Ghasemi, M., Firoznejhad, L., et Craker, M. (2013).** Akbarzadeh Essential oil compositions, antibacterial and antioxidant activities of various populations of *Artemisia chamaemelifolia* at two phenological stages, Rev. bras. Farmacogn, vol. 23 no, 6.
- **Ghédira, k., Goetz, P. (2016).** *Artemisia absinthium L: absinthe* (Asteracée), Phytothérapie, vol. 14, no 2, p. 125-129.

- **Goudjil, M. B., (2016).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. Thèse de doctorat. Université KasdiMerbah. Ouargla, Algérie. p173.
- **George, S., et Vincent, S.(2005).** Comparative efficacy of Annonasquasalin and pongamiagalara vent to azadirachtaindica A, jussagainstmosquitoes.Jornal of vector borne diseases,42(4) 159.
- **Ghedira, K., (2005).**Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques,rôle prophylactique et emplois en thérapeutique Laboratoire de Pharmacognosie, Faculté de Pharmacie, rue Avicenne, 5000 Monastir, Tunisie.

H

- **Habera, F., Laoudi, K.(2019).** Screening phyto-chimique et étude des activités biologiques : anti-oxydante, antibactérienne et insecticide des polyphénols et de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* (armoise blanche), contribution à la caractérisation d'extrait aqueux par RP-HPLC Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Diplôme de Master en Sciences Biologique Option : Microbiologie Appliquée, p 53.
- **Hanan, H., Shagufta, P., Orfali, R., Areej, M., Sultan, A.,Wanner,J.,Khan, A., Mahmoud,R.(2020).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Artemisiaabsinthium*, *Artemisiascoparia*, and *Artemisiasieberi* grown in Saudi Arabia, Arabian journal of chemistry, vol.13. Pages 8209-8217.
- **Harbone, J.B., (1998).**Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis 3ème ed. Chapman and hill, p303.
- **Hose, S., (2002).** Der Wermut - *ArtemisiaabsinthiumL.* Zeitschrift Phytother23: p 187-194.
- **Hmiri, S., Rahouti, M., Habib, Z., Satrani, B., Ghanmi, M., et Ajjouri, M. (2011).** Evaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de Menthabulegium et d'eucalyptus camaldunasis dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation.VOL 80 p 824-836.

I

- **Iserin, P., (2001).** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales: Identification, préparations, soins. Ed Larousse, p 66, 292, 293, 295, 296, 298.

J

- **Jaenson, T.G ., Plsson, K., et Borg-Karlson, A. K.(2005).** Evaluation of extracts and oils of tick-repellent plants fromSweden. Med VetEntomol 19(4) , p 345-352.
- **Jean,F ., Morot, G., et Roger, P.(2012).**Biologie végétale croissance etdéveloppement métabolisme secondaire : quelques aspects 2éme édition P217- 218-227.
- **Jill, M.S., Jorge, F.S. Ferreirab, D. S. Lindsaya, Anne M. Zajaca.(2011).**Effects of *artemisinin* and *Artemisia*extracts on Haemonchuscontortusingerbils (*Merionesunguiculatus*). VeterinaryParasitology 175, p.103-108.
- **JieYu, X., Liu, C.,Newmaster, S.,Ragupathy, S., et JohnKress, W. (2021)** Progress in the use of DNA barcodes in the identification and classification of medicinal plants. Ecotoxicology and EnvironmentalSafety. 208, : 111691.
- **Juteau, F. Jerkovic, I., Masotti, M. (2003).**Composition and antimicrobialactivity of the essential oil of *Artemisiaabsinthium*fromCroatia and France,” *Planta Medica*, vol. 69, no. 2, p 158.

K

- **Kholkhal, F. Hamadi, A. L., BENDAHOU, M., Boublenza, I., Chabane, S., et Chaouch,T. (2013).** Étude phytochimique et évaluation de l’activité anti-oxydante de *ThymusCiliatusssp.* ColoratusAfrique SCIENCE 09(1) p 151-158. 151ISSN 1813-548.X, <http://www.afriquescience.info>
- **Kedzia, B., (1991).**Antimicroorganismsactivity of oil Chamomillae and its components,” *HerbaPolonica*, vol :37, no. 1, pp. 29–38.
- **Kelen, M., Tepe,B.(2008).**Chemical composition, antioxidant and antimicrobialproperties of the essential oils of three*Salvia*speciesfromTurkish flora99(10):4096-104.
- **Khenaka, K., (2011).** Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles surlaméthanogénèseruminale chez l’ovin, Diplôme de Magister En Microbiologie Appliquée,UniversitéMentouri Constantine. p19, 24.

L

- **Labiod, R.(2016).**Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Saturejacalamintha nepeta*: activité antibactérienne, activité antioxydant et activité fongicide. Thèse de Doctorat. Annaba. Université Badji Mokhtar.p115.
- **L’absinthe - Encyclopédie - Azarius (2018).** [En ligne]. Disponible sur:<https://azarius.fr/encyclopedia/19/Labsinthe/>.

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

M

- **Magraoui, S., et Zahaf, D. (2018).** Etude de l’extraction et l’activité biologique des huiles essentielles d’*Artemisia* «Chih» en Algérie *Microbiologie Appliquée* Mémoire pour l’obtention du diplôme de Master, Université de Miskimeliana, p70.
- **Mansour, S. (2015).** Evaluation de l’effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : *ArtemisiaabsinthiumL*, *Artemisia herba alba* et *Hypericumscarboides* Etude in vivo Thèse de Doctorat, Université des Sciences et de la Technologie D’Oran MohamedBoudiaf.
- **Mansour, A., (2009).** Investigation photochimique de l’extrait n- butanol de l’espèce *Centauria Africana*.
- **Marouf, A., Reynaud, j. (2007).** La Botanique de A à Z 1662 Définitions p 9- 114,-271-295- 298.
- **Masoudi, M., Saiedi, M. (2017).** A review study of ethnopharmacology, phytochemistry, and anti-inflammatory, antioxidant, and anti-microbial effect of *Artemisiaabsinthium*. *Der Pharmacia*, Lettre 9:155–162.
- **Mansour, S., (2015).** Evaluation de l’effet anti inflammatoire des trois plantes médicinales : *Artemisiaabsinthium L*, *Artemisia herba alba* et *Hypericumscarboides*- Etude in vivo- », Université des Sciences et de la Technologie d’Oran, Mohamed Boudiaf.
- **Markaoui, M., (2010).** Cours de biochimie alimentaire (oxydation des lipides, brunissement enzymatique et non enzymatique).
- **Max, W., Robert, A. (2003).** Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique 2^e édition.
- **Meyer, S., Reeb, C., et Bosdeveix, R. (2008).** Botanique Biologie et physiologie végétales 2^e édition p15.
- **Moreira, M., Ponce, A. (2005).** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food borne pathogen. *LWT-Food Science and Technology*. [En ligne].38(5),565 - 570.
- **Msaada, K., Salem, N., Bachrouch, O. (2015).** Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of wormwood (*Artemisiaabsinthium L.*) Essential Oils and Phenolics. *J Chem Article* ID 804658 DOI 10.1155/2015/804658 p12.

O

- **Ouyahya, A., Nègre, R., Viano, J., Lozano, Y.F. et Gaydou, E.M. (1990).** Essential oils from Moroccan *Artemisia mesatlantica* and *A. herba-alba*. *Artemisia Lebensm.-Wiss. u.-Technol*, 23: 528-530.
- **Ojeil, A., El Darra, N., El Hajj, Y., Bou Mouncef, P., Rizk, T. J. et Maroun, R. G. (2010).** Identification et caractérisation de Composés phénoliques extraits du Raisin château ksara. *Lebanese Science Journal*, 11,2.
- **Ozturk, M., Rahmen-Hakim, K.(2019).** Plant and human health Springer. Nature Switzerland, AG vol 3.

P

- **Ponce, A.G., Fritz, R., Del-Valle, C. et Roura, S. I. (2003).** Antimicrobial of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LebensmittelWissenschaft und Technologie*. 36(7): 679-684.

R

- **Reguieg, L.,(2011).** Using medicinal plants in Algeria . *American journal of food and nutrition*, 2157-0167, Online: ISSN 2157-1317, doi:10.5251/ajfn.2011.1.3.126.127 ScienceHub, <http://www.scihub.org/AJFN> Using medicinal plants in Algeria E.N.S.A., Phytotechnie, El-Harrach, 16200, Alegria.
- **Riahi, L. et al., (2013).** Variations in Tunisian wormwood essential oil profiles and phenolic contents between leaves and flowers and their effects on antioxidant activities. *Ind Crop Prod* 46:290-296.
- **Ribéreau, G. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod Paris, p 254.

S

- **Saihi, R.,(2011).** Etude phytochimique, Extraction des produits actifs de la plante *Artemisia campestris* de la région de Djelfa, Mise en évidence l'activité biologique. Mémoire de Magister, Université d'Oran, p :24.
- **Sahraoui, W.,(2009).** Les compositions phénoliques , Laboratoire de pharmacognosie.
- **Soltane, A., et Saidi, N. (2020).** Etude de l'effet de l'emballage sur les caractéristiques phytochimiques l'hydrodistillat de « *Artemisia Herba Alba* » Université Mohamed khider de Biskra, ALGER 1-60.
- **Su X-Z, Miller LH. (2015).** The discovery of *artemisinin* and the Nobel Prize in physiology or medicine. *Sci China Life Sci* 58(11):1175-1179.

- **Sharpov, F.S., Sulaimonova, V.A, et Setzer,W.N.(2012).**Composition of essential oil of *Artemisiaabsinthium*fromTajikistanRec Nat Prod. Sitte université, USDA, p 53-70.
- **Shikov, N. A., Narkevich,I.A., Flisyuk,E.V.,Luzhanin,V.G.,etPozharitskaya, O.N. (2020).**Médicinal plants from the 14th edition of the RussianPharmacopoeia, recent updates. Journal of ethnopharmacology 268 : 113685.

T

- **Trease, G. E., et Evans, W. C.(1983).**Textbook of Pharmacognosy (BalliereTmdall) London 57- 59.

U

- **Umpiérrez, M. L., Lagreca, M. E., Cabrera, R. Grille, G.et Rossini, C. (2012).**Essential oilsfromAsteraceae as potentialbiocontroltools for tomatopests and diseases, PhytochemistryReviews, vol. 11, no. 4, pp. 339–350.

W

- **Waksmundzka-Hajnos, M., Sherma, J. (2011).**High Performance LiquidChromatography in Phytochemicalience. Chromatographic Science Series, p477-478.
- **Wollgast, J., Anklam ,E. (2000).**Review on polyphenols in Theobromacacao: changes incompositionduring the manufacture of chocolate and methodology for identification andquantification. Food Research International (33): 423 – 447.

Y

- **Yıldız, K., Başalan, M., Duru, O., et Gokpınar, S. (2011).**AntiparasiticEfficiency of *Artemisiaabsinthium* on *Toxocara cati* in NaturallyInfected Cats. TurkiyeParazitolDerg,

Z

- **Zahria, H. (2017).** l'infection urinaire chez l'enfant au CHU de Marrakech : écologie microbienne et sensibilité aux antibiotiques. [En ligne]Thèse de Doctorat en Médecine, université Cadi Ayyad-Marrakec, p 26-27.
- **Zeragui, B., Hachem, K., Halla N., et Kahloula, K. (2019).** Essential Oilfrom*Artemisiajudaica L.*(ssp. sahariensis) Flowers as a Natural CosmeticPreservative: Chemical Composition, and Antioxidant and AntibacterialActivities. Journal of Essential OilBearing Plants 22(3): 685-69.