

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليدجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم علوم المادة
DEPARTEMENT SCIENCES DE LA MATIERE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Option : Chimie organique

Par :

M^{lle}. OUAHEB Fatima Zohra

M^{lle}. NOUGBA Afaf

THEME

Contribution à l'étude chimique des composés phénoliques et de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*

Soutenu publiquement devant le jury composé de :

Mr. GHOBSSI Abdelkader

M.A.A

Président

Mr. KORIBA Bakhti

M.A.A

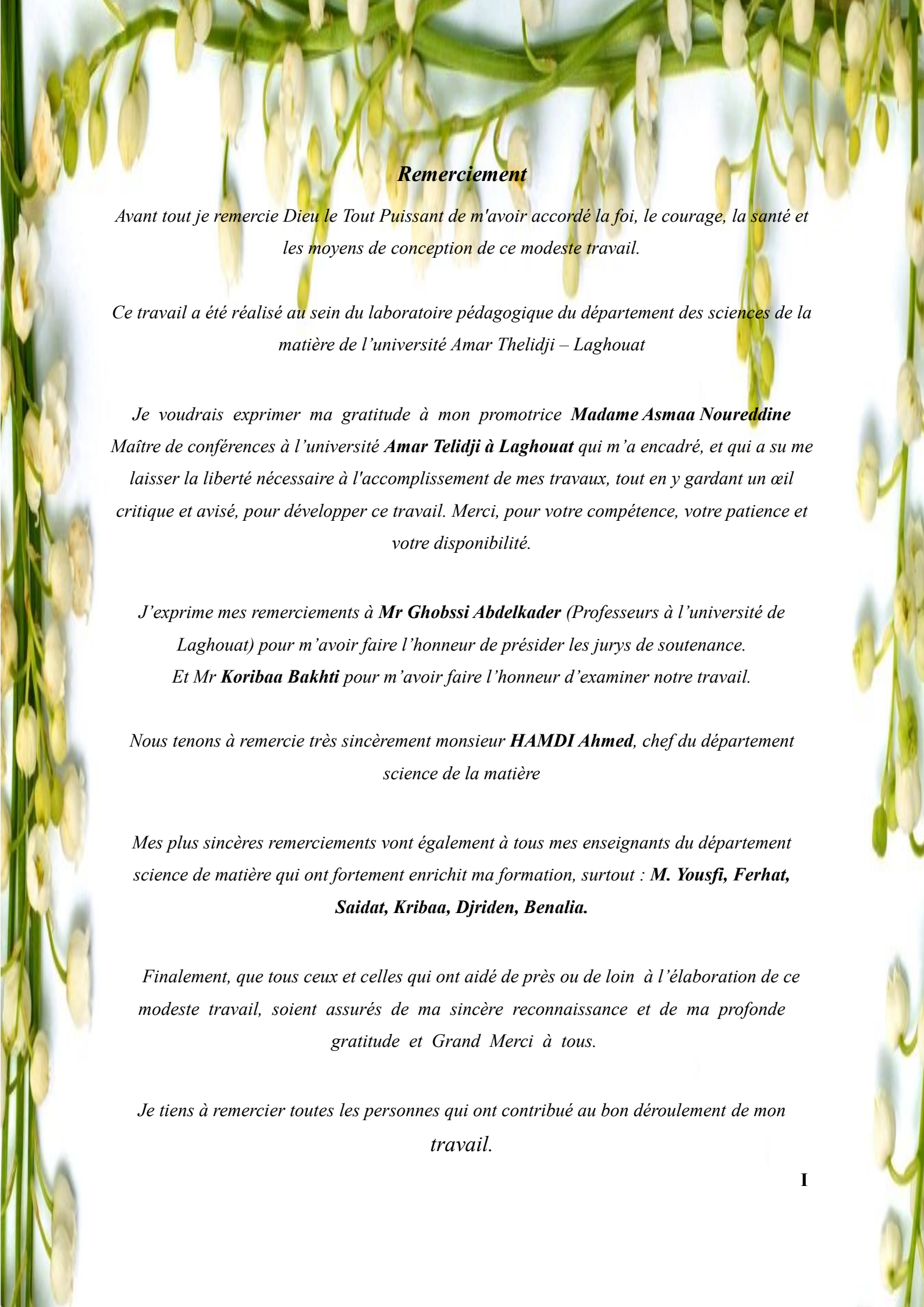
Examineur

M^{me}. NOUREDDINE Asmaa

M.C.B

Promotrice

Année Universitaire : 2020- 2021



Remerciement

Avant tout je remercie Dieu le Tout Puissant de m'avoir accordé la foi, le courage, la santé et les moyens de conception de ce modeste travail.

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique du département des sciences de la matière de l'université Amar Thelidji – Laghouat

*Je voudrais exprimer ma gratitude à mon promotrice **Madame Asmaa Noureddine** Maître de conférences à l'université **Amar Telidji à Laghouat** qui m'a encadré, et qui a su me laisser la liberté nécessaire à l'accomplissement de mes travaux, tout en y gardant un œil critique et avisé, pour développer ce travail. Merci, pour votre compétence, votre patience et votre disponibilité.*

*J'exprime mes remerciements à **Mr Ghobssi Abdelkader** (Professeurs à l'université de Laghouat) pour m'avoir fait l'honneur de présider les jurys de soutenance.
Et **Mr Koribaa Bakhti** pour m'avoir fait l'honneur d'examiner notre travail.*

*Nous tenons à remercier très sincèrement monsieur **HAMDI Ahmed**, chef du département science de la matière*

*Mes plus sincères remerciements vont également à tous mes enseignants du département science de matière qui ont fortement enrichi ma formation, surtout : **M. Yousfi, Ferhat, Saidat, Kribaa, Djriden, Benalia.***

Finalement, que tous ceux et celles qui ont aidé de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail, soient assurés de ma sincère reconnaissance et de ma profonde gratitude et Grand Merci à tous.

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué au bon déroulement de mon travail.



Dedicace

*C'est avec un infiniment plaisir que je dédie ce mémoire aux êtres qui me sont très chers dans
Cette vie.*

*Aux deux être le plus chers au monde, qui ont souffert nuit et jour
Pour nous couvrir de leur amour, mes parents.*

*A **mon père** pour son patient avec moi et son encouragement.*

*A ma source de bonheur, la prunelle de mes yeux, **ma mère***

Que le bon ALLAH vous garde en bonne santé.

Je dédie aussi ce modeste travail :

*A mes très chers frères : **Saleh** et **Amine** pour leur appui et leur encouragement*

*A mes très chers sœurs : **Dalila** et **Amel** pour ses encouragements permanents, et son soutien
moral.*

*Je tiens tout particulièrement a dédié ce travail à mon **potion d'espoir mon amant** qui
encouragement moi tout le long de mon travail.*

*A mon chère amie et binôme : **Nougba Afaf***

*Ainsi que pour mes amies : **Fadhila** et **Maissa***

A tous ceux que j'aime et que je respecte.

Fatima Zohra

Dédicace

Je dédie ce travail accompagné d'un profond amour à mon support dans ma vie, qui n'appris m'a supporté et ma dirigé

vers la gloire et qui a été mon ombre

durant toutes les années des études,

mes parents .

*A mes chers frère Messoud Arbi Boulafaa, **Mohamed**, A mes sœur Zarga Fatima Saida Sara*

A mes amies qui m'ont encouragé et soutenu dans mes moments les plus difficiles

Fadhila Maissa

A ma chère amie et binôme

Fatima

A mes sœurs dans la cité

Nacira, Soumia, Khadra, fatima, Yassmine

*A mes chers amie : **Zahra, Karima, Nacira.***

*A tous mes famllies **Nougba.**et tous les gens d'**El Ghicha***

*A ma belle amie **FATIMA Ouahab***

A tous les petites enfant dans ma familles

Soumicha Yassine Mohammed Amira Fatna Wisseme Razane Marama Arzake Sadjia Louei

*Ames chér amis au cour étude universitaire **ABDELLAH.***

Je tiens à remercier particulièrement tous les personnes qui mon encouragent dans ma vie

Afaf

III

Liste des abréviations

A. Herba Alba : *Artemisia Herba Alba*

Abs: Absorbance

BHA : Butyl Hydroxy Anisole

DPPH : 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

EtOH : Ethanol

FRAP : Feric Reducing Antioxydant Power assay (Pouvoir réducteur des ions ferriques)

g : Gramme

g /mol : Gramme par mol

h : Heure

HCl : Acide chlorhydrique

HD : Hydrodistillation

HE : Huile essentielle

I : Inhibition

IC50 : Concentration inhibitrice à50%

Min : Minute

M à e : Miscibilité à l'éthanol

Mg : Milligramme

Mg /ml : Milligramme /Millilitre

Mg EAG/g : Milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait

ml : Millilitre

Nm : Nanomètre

s : Seconde

PI% : Pourcentage d'inhibition

R : Rendement

Rmoy: Rendement Moyen

C° : Degré Celsius

µl : Micro litre

% : Pourcentage

Liste des figures

Figure II.1.	<i>A.herba alba</i> après séchage.	3
Figure II.2.	Classification des composés phénoliques.	6
Figure II.3.	Structure générale des flavonoïdes.	7
Figure III.1.	Montage d'extraction par Hydrodistillation	10
Figure III.2.	Réduction du radical libre DPPH.	18
Figure III.3.	Protocole de piégeage du radical libre DPPH.	18
Figure IV.1.	L'HE d' <i>A.herba alba</i> extraite par l'HD.	21
Figure IV.2.	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	24
Figure IV.3.	Courbe d'étalonnage de la Quercetine.	25

Liste des tableaux

Tableau II.1.	Classification botanique d' <i>A. herba alba</i>	4
Tableau IV.1.	Rendement en huile essentielle d' <i>A.herba alba</i>	20
Tableau IV.2.	Caractéristiques organoleptiques de l'HE d' <i>A.herba alba</i> .	21
Tableau IV.3.	Caractéristiques physico-chimiques de l'HE d' <i>A.herba alba</i> .	22
Tableau IV.4.	Propriétés de quelques HEs d' <i>Artemisia herba alba</i> d'origine algérienne	23
Tableau IV.5.	Rendement de l'extrait d' <i>A.herba alba</i> .	23
Tableau IV.6.	Teneur en phénols totaux des extraits d' <i>A.Herba alba</i> .	24
Tableau IV.7.	Teneur en flavonoïdes de plante <i>A.herba alba</i> .	26
Tableau IV.8.	Les valeurs d'IC50 des différents extraits phénoliques et de l'huile essentielle de l' <i>A. Herba Alba</i> mesuré par le test de DPPH	27
Tableau IV.9.	Les valeurs d'IC50 des différents extraits phénoliques et de l'huile essentielle de l' <i>A. Herba Alba</i> mesuré par le test de FRAP.	28

SOMMAIRE

Remerciement	I
Liste des abréviations	IV
Liste des figures.....	V
Liste des tableaux.....	V
I. Introduction	1
II.Généralité	
II.1. Aperçu sur la plante étudiée.....	3
II.1.1. Nomenclature et taxonomie	3
II.1.2. Habitat	4
II.1.3. Composition chimique.....	4
II.1.4.Toxicité.....	5
II.1.5 Domaine alimentaire.....	5
II.1.6. L'effet thérapeutique de la plante.....	5
II.2. Agents antioxydants	5
II.3. Composés phénoliques.....	5
II. 3.1. Les flavonoïdes.....	6
II.4. Huile essentielle.....	7
II.4.1. Les principaux composés chimiques des huiles essentielles.....	7
II.4.2. Les terpénoïdes.....	7
II.4.3. Les composés aromatiques.....	8
II.4.4. Les composés d'origines diverses.....	8
II.4.5. Les principales propriétés des huiles essentielles.....	8
III Matériels et méthodes	
III.1. Préparation de la plante.....	10
III.2. Extraction des huiles essentielles.....	10
III.2.1. Rendement de l'huile essentielle.....	11
III.2.2. Les propriétés physico-chimiques.....	11
III.3. Extraction des polyphénols.....	15
III.3.1. Extraction par Macération.....	15
III.3.2. Extraction assistée aux ultrasons (Sonication).....	16
III.3.3. Dosage des polyphénols.....	16
III.3.4. Dosage des flavonoïdes.....	16

III.4. Etude de l'activité antioxydante.....	17
III.4.5.1. Test de piégeage du radical libre DPPH.....	17
III.4.5.2. Test de la réduction du fer FRAP.....	19

IV Résultats et discussions

IV.1. Etude analytique de l'huile essentielle d' <i>A. Herba alba</i>	20
IV.1.1. Détermination du rendement d'extraction d'HE.....	20
IV.1.2. Caractères organoleptiques.....	20
IV.1.3. Propriétés physico-chimiques de l'HE.....	21
IV.2. Etude des polyphénols.....	23
IV.2.1. Rendement de macération.....	23
IV.2.2. Teneur en polyphénols totaux.....	24
IV.2.3. Teneur des flavonoïdes.....	25
IV.3. Etude de l'activité antioxydante.....	26
IV.3.1. Test de piégeage du radical libre DPPH.....	27
IV.3.2. Test de la réduction fer FRAP	28

Conclusion générale

Conclusion.....	30
Références bibliographiques.....	VI
Annexe 1	XIII
Annexe 2.....	XV
Résumé	

I. Introduction

Introduction

Les plantes représentent une source immense de molécules chimiques complexes qui exploité dans l'industrie des parfums, agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique.

Les végétaux renferment des huiles essentielles ; ils sont appelés «plantes aromatiques». Ces huiles essentielles se trouvent dans de nombreuses parties de la plante : le bois, les feuilles, les fruits, les écorces, les graines et les racines. Les huiles essentielles (HE) sont classées usuellement selon la nature chimique des principes actifs majeurs, plus rarement sur le mode d'extraction, ou les effets biologiques (**Georges S, 1979**).

Ce sont des mélanges complexes constitués de composés, principalement des terpènes et de composés aromatiques. (**Robert, 2000**).

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. Ils sont caractérisés, comme l'indique le nom, par la présence d'au moins deux groupes phénoliques associés en structures plus ou moins complexes. Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé (**Stanley et al 2003**)

Les polyphénols présentant des propriétés antioxydantes bien établies et en lien avec l'inhibition de l'oxydation aussi bien dans le domaine alimentaire (oxydation des lipides) que physiologique (stress oxydant). Il peut constituer une alternative à l'utilisation d'additifs alimentaires de synthèse ayant montré des effets indésirables, tels que le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT), (**Hynes M.J. et al., 2001**).

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées, il y a plus de 300 espèces de ce genre se trouvent principalement dans les zones arides et semi arides dans le monde (**Nikolova M, et al 2010**). Les espèces les plus connues se trouvent *Artemisia Herba Alba*. Qu'est une plante utilisée par la population algérienne dans la médecine traditionnelle. La valeur thérapeutique de cette plante est due à ses métabolites secondaires, notamment les huiles essentielles et les composés phénoliques. La concentration de ces molécules peut varier d'un organe à l'autre du même plant.. L'extraction de principes actifs de ces métabolites est une étape très importante dans leur isolement, aussi bien que dans leur identification (**Mahmoudi S, et al 2013**).

A travers de ce travail, nous nous intéressons dans un premier temps à donner quelques connaissances bibliographiques sur l'*Artemisia Herba Alba*, et généralité sur les agents antioxydants, les huiles essentielles ainsi que les composés phénoliques.

La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale qui décrivant ;

- Les différents protocoles expérimentaux utilisés pour la préparation des extraits phénoliques et les huiles essentielles d'*Artemisia Herba Alba*.
- La caractérisation physico-chimique de l'huile essentielle issue de l'*Artemisia Herba Alba*.
- Etude du pouvoir antioxydant de la plante par la mesure du pourcentage d'inhibition du radical (DPPH), et le pouvoir réducteur par le test de (FRAP).

Ensuite, nous nous occuperons d'analyser les résultats obtenus et de les discuter en relation avec les données de la littérature.

Enfin, nous terminerons le manuscrit par une conclusion générale qui permettra de tirer quelques perspectives de prolongement à ce travail.

II. Généralité

II. Généralité

II.1. Aperçu sur la plante étudiée

L'*A.herba Alba* c'est une espèce connue sous le nom de « chih », mensuelle et très répandu dans les zones arides à semi-aride, peut mesurer de 30cm à 50cm de haut. Ses tiges sont florifères et élancées, un peu velues et ses feuilles sont oblongues, découpées en segments de couleur vert foncé sur la face et blanc cotonneux sur leur partie inférieure, elle possède aussi des petites fleurs tubuleuses jaunes ; elle dégage une odeur très forte, parfois désagréable (**Ozenda, 1983 ; Baba Aissa, 2000**).



Figure II.1. *A.herba-alba* après séchage.

La période de floraison est de juillet à octobre, ses fruits sont des akènes ovoïdes (**Pottier, 1981**). Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* possèdent des propriétés thérapeutiques, et non seulement elles utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (**Mirjalili et al ,2007**). Les parties de la plante utilisées en phytothérapie sont notamment les feuilles et les sommités fleuries (**Mucciarelli et Maffei., 2002**).

II.1.1. Nomenclature et taxonomie

Artemisia est le nom de genre d'*Artemisia*, il provient de celui de la déesse grecque de la chasse Artémis ; *herba-alba* signifie herbe blanche (**Nabli, 1989**).

Comme elle est connue sous plusieurs noms : *A.herba-alba* Asso, *Artemisia inculta* Del. *Seriphidium herba-alba* (Asso) Soják (**Belhattabet al, 2014**).

Tableau II.1. Classification botanique d'*A.herba alba*.

Règne	Plante
Phylum	Angiospermeae.
Sous Phylum	Dicotylédones
Ordre	Gampanulatae
Famille	Asteraceae.
Sous-famille	Asterioideae.
Tribu	Anthemideae.
Sous-tribu	Artemisiinae.
Genre	Artemisia.
Espèce	<i>Artemisia Herba-alba</i> .

II.1.2. Habitat

L'Armoise est largement répandue depuis les îles Canaries et le sud-Est de l'Espagne jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan) et à travers l'Afrique du Nord, l'Arabie et le Proche-Orient. En Afrique du nord, cette espèce couvre d'immenses territoires évalués à plus de dix millions d'hectares, *A.herba alba* est absente des zones littorales nord et se raréfie dans l'extrême sud (**Nabli, 1989**). En Algérie, *A.herba alba* Asso est très présente dans les hauts plateaux, les zones steppiques et au Sahara centrale dont le taux de recouvrement est estimé entre 10 et 60 %. On la trouve également dans des zones proches du littoral (**Bendahou, M, 2007**).

II.1.3.Composition chimique

La partie aérienne d'*A.herba alba* possède des activités antioxydants significatives. En effet cette partie de la plante est riche en composés doués d'activité antioxydants tels que : les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins, ces différents constituants exercent ses actions antioxydants en inhibant la production de l'anion su peroxyde, l'hydroxyle, comme ils inhibent la peroxydation lipidique au niveau des microsomes (**Bruneton, 1999**).

II.1.4.Toxicité

A forte dose, l'armoise est abortive, neurotoxique et hémorragique. La thuyone constitue la substance toxique et bioactive dans l'armoise et la forme la plus toxique est l'alpha-thuyone. Elle a des effets convulsivantes (**Aouadhi, 2010**).

II.1.5 Domaine alimentaire

En alimentation, l'*A.herba alba* peut être utilisé pour aromatiser certaines boissons comme le café dans le sud des pays du Maghreb. Toutefois, son utilisation en industrie alimentaire reste limitée à cause de la toxicité de la β -thujone.

Le code des bons usages pour l'industrie des arômes préconise que le taux de la thujone ne doit pas dépasser 5 mg/kg dans les aliments et les boissons (**Benjilali et al, 1984**).

II.1.6. L'effet thérapeutique de la plante

L'*A.herba alba* est très utilisée en médecine traditionnelle lors d'un désordre gastrique tel que la diarrhée et les douleurs abdominales. Elle est aussi utilisée en tant que remède de l'inflammation du tractus gastro-intestinal (**Ghrabi et Sand, 2008**). Plusieurs études scientifiques ont également prouvées l'efficacité de l'armoise blanche en tant qu'agent antidiabétique (**Tastekin et al, 2006**) leishmanicide (**Hatimi et al, 2001**), antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, anti malarien, antipyrétique, antispasmodique et antihémorragique (**Yin et al, 2008**).

II.2.Agents antioxydants

Les antioxydants sont défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou inhiber la génération d'un oxydant toxique, d'arrêter ceux qui sont déjà produits et de les inactiver, bloqué de ce fait la réaction en chaines de propagation produite par ces oxydants (**Tang et Halliwell., 2010**) et selon (**Valko et al, 2006**), un antioxydant devrait à la fois :

- Agir spécifiquement sur les radicaux libres.
- Chélates les métaux de transition.
- Agir en synergie avec d'autres antioxydants pour se régénérer.
- Agir à des concentrations physiologiques relativement faibles.

II.3. Composés phénoliques

Les polyphénols regroupent plusieurs catégories de composés chimiques faiblement acides, contiennent au moins un groupe hydroxy phénolique relié directement au composé aromatique à anneau phénolique à base de carbone. La figure (II.2.) suivante résume les principales classes des composés phénoliques.

Les polyphénols sont facilement oxydés en quinones par les espèces oxydées radicalaires, propriété qui leur confère leur capacité à piéger les radicaux libres. Les polyphénols ont différentes fonctions chez les plantes. Le plus important polyphénol des plantes, sur le plan du volume, est la lignine (**Charles M, 2005**). Lorsque la plante meurt, les composés phénoliques peuvent perdurer pendant des semaines et avoir une incidence sur la décomposition, ils ont également une incidence sur la durée de conservation des fruits et légumes après la récolte.

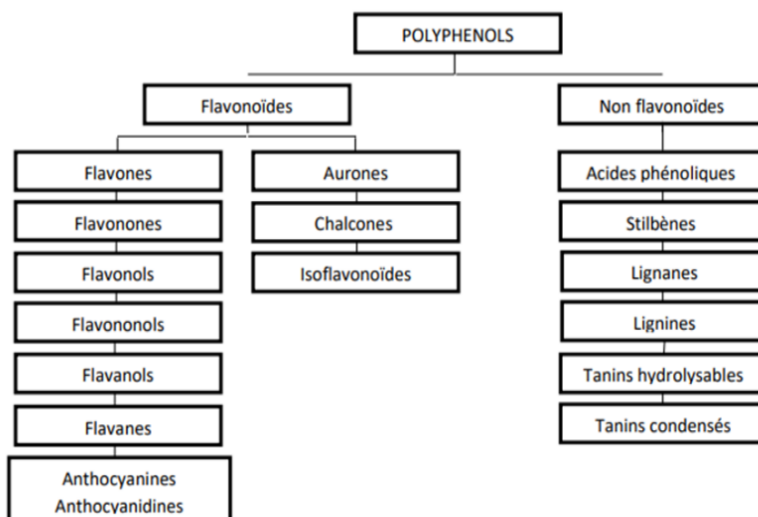


Figure II.2. Classification des composés phénoliques (**Péroumal, 2014**).

II.3.1. Les flavonoïdes

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

identifiées (**Harborne et Williams., 2000**). Ils partagent tous une même structure de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones : $C_6-C_3-C_6$, chaîne souvent fermée en un hétérocycle oxygéné hexa- ou pentagonal (**Joseph H. Hulse, 1980**).

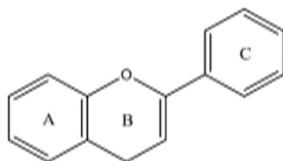


Figure II.3. Structure générale des flavonoïdes (**Bessaoud, 2015**).

II.4. Huile essentielle

La définition retenue, très proche de celle de la norme ISO 9235, est celle adoptée par la commission de la pharmacopée européenne : « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (**Afnor, 1986 ; Afssaps, 2008**).

II.4.1. Les principaux composés chimiques des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles est généralement très complexe d'un double point de vue, à la fois par le nombre élevé de constituants présents et surtout par la diversité considérable de leurs structures. En effet, elles comprennent deux classes de composés caractérisés par des origines biogénétiques bien distinctes (**Duquenois, 1982**).

Le groupe des terpénoïdes, d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part. IL existe également d'autres corps qui entrent en faible proportion dans la constitution de certaines huiles essentielles (acides organiques, esters et autres...) (**Rahili, 2002 ; El Abed et Kambouche, 2003**).

II.4.2. Les terpénoïdes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est $(C_5H_X)_n$ dont le "x" est variable en fonction du degré

d'insaturation de la molécule et ``n'' peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc) **(Piochon, 2008)**.

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires (avec les flavonoïdes et les alcaloïdes). Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène : hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (20), sesterpènes (25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et les polyterpènes **(Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012)**.

On y trouve en plus de terpènes, des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et **autres (Malecky, 2008. Robinson, 1991)**.

II.4.3. Les composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles **(Teisseire, 1991)**.

II.4.4. Les composés d'origines diverses

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation. Ces produits peuvent être azotés ou soufrés **(Teisseire, 1991)**.

II.4.5. Les principales propriétés des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des liquides à température ordinaire, d'odeur aromatique très prononcée, généralement incolores ou jaune pâle à l'exception de quelques huiles essentielles telles que l'huile de l'Achillée et l'huile de la Matricaire. Ces dernières se caractérisent par une coloration bleu à bleu verdâtre, due à la présence de l'azulène et du chamazulène **(Abou Zeid, 2000)**.

La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et sont entraînable à la vapeur d'eau ; il existe, cependant, des exceptions telles que les huiles essentielles de Sassafras, de Girofle et de Cannelle dont la densité est supérieure à celle de l'eau. Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire **(Paris et Hurabeille, 1981 ; Duraffourd et al, 1990 ; Salle et Pelletier, 1991)**.

Les huiles essentielles s'évaporent et se volatilisent à température ambiante. Très peu solubles dans l'eau à laquelle elles communiquent leurs odeurs, cette eau est dite «eau distillée florale». Les huiles essentielles sont solubles dans les alcools, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques (**Paris et Hurabielle, 1981 ; Bruneton, 1999 ; Abou Zeid, 2000 ; Ghestem et al, 2001**). Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C et dépend de leurs poids moléculaires par exemple les points d'ébullition du caryophyllène, du géraniol, du citral et du α -pinène sont 260°, 230°, 228° et 156°C respectivement (**Abou Zeid, 2000**), mais d'après Valnet (1984), ce point varie de 160°C à 240°C (**Bruneton, 1987 ; El Abed et Kambouche, 2003, Catier et Roux, 2007**).

Les huiles essentielles s'oxydent facilement à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène, en même temps, leurs odeurs se modifient, leurs points d'ébullition augmentent et leurs solubilités diminuent. Elles absorbent le chlore, le brome et l'iode en dégageant de la chaleur (**Duraffourd et al, 1990 ; Padrini et Iucheroni, 2006**).

III. Matériels et méthodes

III. Matériel et méthodes

III.1. Préparation de la plante

La récolte de la plante « *A.herba alba* » a été effectuée dans la région de Tiaret West de l'Algérie durant le moins de avril 2020. L'échantillon (feuille, tiges) a été trié, puis séchée à l'air libre dans une température ambiante.

La plante *A.herba alba* été découpée puis broyée avec un broyeur électrique (SAVOMIX, HAND MIXER, SCG-638C), puis tamisés à l'aide de tamiseur ont été conservées dans des sachets en papier.

III.2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle à partir de la partie aérienne d'*A.herba alba* a été réalisée par hydrodistillation.

Après avoir pesé 100 g de matière végétale sèche est mises dans un ballon en verre pyrex, additionnées l'eau distillé, Le mélange eau distillée/plante doit occuper ($\frac{3}{4}$) du ballon utilisé (1000 ml), l'ensemble est porté à l'ébullition dans un chauffe- ballon pendant 3 heures le vapeur chargée de substances volatiles traversent le réfrigérant et se condensent.

Après condensation, on a récupéré dans une ampoule à décanter, laissé le mélange au repos quelque minutes, ce qui résulte l'apparition de deux phases, l'une est organique (huile essentielle) et l'autre est aqueuse en fin. Les huiles essentielles sont conservées dans un flacon en verre fermé dans un réfrigérateur (4°C) à l'abri de la lumière.



Figure III.1. Montage d'extraction par Hydrodistillation.

III.2.1. Rendement de l'huile essentielle

Selon la norme **Afnor (1986)**, le rendement en huile essentielle (Rd) est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rd} = (M'/M) \cdot 100$$

Rd : Rendement en huile essentielle exprimée en pourcentage (%).

M' : Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme (g).

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme (g).

III.2.2. Les propriétés physico-chimiques

La caractérisation d'une huile essentielle consiste à :

Vérifier ses caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur, saveur) et déterminer ses indices physico-chimiques (Rendement, densité, indice de réfraction...).

La connaissance d'indices physiques et chimiques est importante puisqu'elle permet de caractériser, voire d'identifier une huile essentielle.

III.2.2.1. Les propriétés physiques

III.2.2.1.1. Détermination de pH

Pour mesurer le pH de l'huile obtenue, on peut utiliser deux méthodes

Le pH ou « potentiel hydrogène » mesure l'activité chimique des ions hydrogènes H^+ en solution. Le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Cette méthode décrit l'acidité ionique du produit à analyser, son principe consiste à introduire l'électrode du pH-mètre dans le produit après le réglage de la température d'étalonnage. La lecture se fait directement sur le pH-mètre (**Pharmacopée Européenne, Tome 1, 1997. Didier, D AFNOR 2000**).

➤ Mode opératoire

On a mis quelques gouttes d'HE sur un bout de papier pH, après le changement de la couleur du papier on la compare avec une gamme de couleurs qui varient selon le pH. On a introduit l'électrode du pH-mètre dans le produit après le réglage de la température d'étalonnage. La lecture se fait directement sur le pH-mètre.

III.2.2.1.2. Densité relative

Elle constitue un point de repère important ; sa valeur permet d'avoir une idée sur la composition chimique de l'huile essentielle

La densité relative à 20°C d'une huile essentielle est définie comme étant le rapport de la masse d'un volume d'huile essentielle à 20°C, à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C.

➤ Mode opératoire

La détermination de la densité est réalisée à l'aide d'un petit flacon. Le volume prélevé est de 1 mL pour l'HE, ainsi que pour l'eau.

La densité relative est donnée par l'expression :

$$d = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

m_0 : la masse du flacon vide.

m_1 : la masse du flacon rempli d'eau distillée.

m_2 : la masse du flacon rempli d'HE.

III.2.2.1.3. Indice de réfraction

L'indice de réfraction est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante. La température de référence est de 20°C (Afnor1983).

L'indice de réfraction n_d^{20} à la température de référence est donné par la relation :

$$n_t^{D^{\circ}} = n_{t'}^D + 0,00045 (t' - t)$$

$n_t^{D^{\circ}}$: Indice de réfraction de référence.

$n_{t'}^D$: Indice de réfraction mesurée.

t : température de référence qui est à 20.

t' : température au moment de la mesure.

Il a été déterminé par la lecture directe à l'aide d'un réfractomètre **A.KRÜSS.OPTRONIC** en employant la lumière diffuse du jour à une température de 24,4°C.

III.2.2.1.4. Miscibilité à l'éthanol (m à e)

La miscibilité à l'éthanol est un moyen rapide d'évaluation de la qualité de l'huile essentielle falsifiée par des produits relativement insolubles affectant la solubilité. Une huile essentielle est dite miscible à l'éthanol à 70°, quand le mélange d'un volume d'huile essentielle avec V volume d'éthanol donne une solution limpide (Afnor 1982).

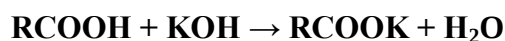
➤ Mode opératoire

Dans un tube à essai on a introduire 200µl d'HE et 200µl de EtOH. Le mélange est agité. Quand la solution devient limpide.

III.2.2.2. Les propriétés chimiques

III.2.2.2.1. Détermination de l'indice d'acide

Ce paramètre est une variable qui dépend essentiellement des conditions de conservation et surtout des conditions d'extraction. Il est défini comme étant le nombre en mg de KOH nécessaires à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huiles essentielles. La mesure de l'indice d'acide est réalisée par titrage où les acides libres sont neutralisés par une solution d'éthanol titrée de KOH (AFNOR, 2000) la réaction chimique de dosage est comme suit :



➤ Mode opératoire

Le mode opératoire consiste d'introduire 0,5 g d'huile essentielle dans une fiole où on ajoute 5 ml d'éthanol, et 5 gouttes de la solution de phénolphthaléine (indicateur coloré). Puis, on fait l'agitation et le titrage avec une solution éthanoïque d'hydroxyde de potassium titrée ([KOH]= 0.1 mol/l) La couleur jaune clair du liquide (la couleur de l'huile essentielle) vire à la neutralisation vers une couleur rose. Le volume de KOH qui a servi à la neutralisation est lu directement sur la burette. L'indice d'acide est exprimé par la formule :

$$I_A = \frac{(56,11 \times N \times V)}{m}$$

N : normalité de KOH

V : Volume en ml de la solution éthanoïque de KOH utilisée pour le titrage.

M : Masse en grammes de l'huile essentielle.

III.2.2.2.2. Indice d'ester

Indice d'ester (Ie) : est le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1g d'huile essentielle.

Le principe de cet indice est hydrolyse des esters par chauffage, dans des conditions définies, en présence d'une solution éthanolique titré d'hydroxyde de potassium, et dosage de l'excès d'alcali par une solution titré d'acide chlorhydrique (NF T 75-104).

➤ Mode opératoire

On introduit dans un ballon de 100 ml, 0,5g d'H.E et 12,5mL d'une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium (KOH) 0,5 M à l'aide d'une burette, ainsi que quelques pierres ponce.

L'ensemble est porté au reflux pendant 1h. Après refroidissement de la solution, on ajoute 10 ml d'eau distillée et 3 gouttes de phénolphthaléine.

L'excès de KOH est titré avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl) 0,5N jusqu'à la disparition de la couleur rose.

Une opération à blanc est réalisée dans les mêmes conditions que précédemment. L'indice d'ester (I_e) est calculé à l'aide de la relation suivante :

$$I_e = \frac{28,5}{m}(V_0 - V_1) - I_a$$

V_0 : Volume en ml de la solution d'HCl (0,1N) mesuré pour l'essai à blanc.

V_1 : Volume en ml de la solution d'HCl (0,1N) mesuré pour le calcul de I_e .

m : Masse en g de la prise d'essai.

I_a : Valeur d'indice d'acide.

III.2.2.2.3. Indice d'iode (I_i)

L'indice d'iode est la quantité d'iode susceptible d'être fixée par 100g de substance, par la rupture de la double liaison. Les deux atomes d'iode se fixent sur les deux carbones voisins (**Pharmacopée Européenne, Tome 1, 1997. Didier, D AFNOR 2000**).



➤ Mode opératoire

Des quantités de : 0,5g d'HE, 10mL de tétrachlorure de carbone (CCl_4) et 12,5mL de solution d'iode (1N) sont placés dans un erlenmeyer. Puis le mélange est laissé à l'abri de la lumière pendant 2 heures. A la fin de cette période, 10 mL de solution d'iodure de potassium (50 %) et 10 mL d'eau distillée sont ajoutés. Dans les mêmes conditions que précédemment, un essai à blanc est réalisé.

L'indice d'iode est calculé selon la relation ci-dessous :

$$I_i = N_T \frac{(V_0 - V_1)}{m}$$

N_T : Normalité de la solution de thiosulfate de sodium.

V₀ : Volume en mL de la solution de Na₂S₂O₃ utilisée pour l'essai à blanc.

V₁ : Volume en mL de la solution de Na₂S₂O₃ utilisée pour la détermination de I_i.

m : Masse en g de la prise d'essai.

III.3. Extraction des polyphénols

L'extraction des composés actifs de la plante a été effectuée par deux méthodes la première est une méthode classique conventionnelle : la macération et le seconde est sonication.

III.4.1. Extraction par Macération

Une prise d'essai de 2 g de poudre est mise en contact avec 200ml de solvant d'extraction (éthanol/ eau ; 80%/20%). Le mélange est soumis à une agitation à l'aide d'un agitateur magnétique et laissé pendant 24 heures, puis on filtre avec du papier filtre. Après filtration, le filtrat est évaporé sous pression réduite à 40°C par un rota vapeur.

L'éthanol récupéré est réutilisé pour un deuxième et une troisième macération. Les extraits éthanoliques obtenu après trois jours sont combinés pour vaporiser l'éthanol sous pression réduite à 40 °C, seule la phase aqueuse reste.

La phase aqueuse obtenu après chaque évaporation de solvant est traité quatre fois par l'hexane dans une ampoule à décanter, après la décantation les composés phénolique présent dans la phase aqueuse est extraite cinq fois par l'acétate d'éthyle qui s'évapore après sous pression réduite à 40°C pour obtenir l'extrait sec qu'est repris par 10ml éthanol dans un flacon. La phase aqueuse obtenue dans la dernière étape est aussi conservé pour l'analyse.

III.3.1.1. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction (**Mahmoudi et al. 2013**) est calculé selon l'équation suivante :

$$R (\%) = (M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}}) \times 100$$

R : est le rendement en %.

M_{ext} : est la masse de l'extrait après évaporation en g.

M_{éch} : est la masse de la matière sèche végétale en g.

III.3.2. Extraction assistée aux ultrasons (Sonication)

Dans un erlenmeyer, une quantité de 2g de poudre sec du plante a été mélangée avec 20ml (EtOH/ED ; 80%/20%) et 2ml HCl (1%). Le traitement ultrasonique a été exécuté dans un bain ultrason, ce mélange a été soniqué à différent intervalles de temps [20, 30, 40minutes] et laissé pendant 24 heures. Un jour après le mélange a été soniqué pour la deuxième fois dans les mêmes conditions. Ensuite, les extraits a été centrifugé et le surnageant de chaque extraits a été recueilli dans un flacon en verre et conservés, jusqu'à leur utilisation pour les analyses.

III.3.3. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué dans un milieu basique et en présence des composés phénoliques, le mélange phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) est réduit en bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}) lors de l'oxydation des polyphénols. La couleur bleue est proportionnelle à la teneur en polyphénols méthode du Folin-Ciocalteu (**George et al, 2005**).

➤ Mode opératoire

Dans un tube en verre on ajoute un volume de 0,2ml de chaque extrait dilué à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10%) et 0,8ml de solution de carbonate de sodium (7.5%). Le mélange a été incubé dans l'obscurité à la température ambiante pendant 30min et l'absorbance a été mesurée à 765nm. L'acide gallique a été utilisé dans les mêmes conditions de l'essai qu'un standard pour la courbe d'étalonnage. Toutes les expériences ont été effectuées en triple.

La concentration en composés phénoliques des extraits exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (Eq AG/g MS),

III.3.4. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes totaux par la méthode colorimétrique est réalisé selon la méthode adaptée par (**Bahorun et al.1996**). En utilisant le trichlorure d'aluminium $AlCl_3$. Le principe de cette méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium qui forme un complexe jaune avec les flavonoïdes absorbée dans le visible à 430nm.

➤ Mode opératoire

On prendre un volume de 1 ml de chaque extrait dilué dans un tube à essai et on ajoute 1ml de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à (2%). Les tubes sont agités et incubés pendant 15

minutes à la température ambiante. Les absorbances sont lues par un spectrophotomètre UV-visible dont la longueur d'onde est de 430nm. Le blanc est représenté par l'éthanol additionné à l' AlCl_3 .

Nous effectuons la même opération pour un flavonoïde standard « la quercétine » à différentes concentrations en introduisant 1ml de ces dernières dans une série de tubes contenant chacun 1 ml d' AlCl_3 à (2%).

La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par la quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de poids sec de la plante (mg EQ/g Ps).

III.4. Etude de l'activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle a été testé en employant deux méthodes :

- Test du piégeage du radical libre DPPH qui est fréquemment utilisée pour mesurer le pouvoir antioxydant des produits naturels et synthétiques (**Obame et al., 2007**).
- Test du réducteur FRAP qui est souvent employée pour étudier la capacité d'une substance à donner des électrons. Cette propriété constitue un important mécanisme de l'action antioxydante (**Ebrahimzadeh et al., 2008**).

III.4.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

➤ Principe

Le principe est fondé sur le pouvoir des antioxydants qui jouent le rôle de piégeurs de radicaux libres, en présence de ces derniers qui peuvent être synthétiques ou naturels, le radical libre DPPH (2,2 diphényl 1 picryl hydrazyl), caractérisé par sa couleur violette, se réduit en 2,2 diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (**Maataoui et al., 2006**).

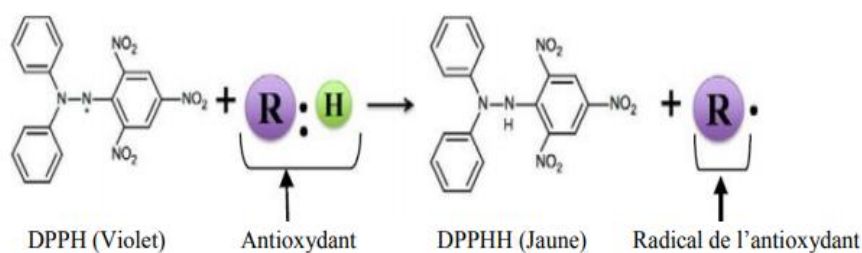


Figure III.2. Réduction du radical libre DPPH.

➤ Mode opératoire

50µl de différentes concentrations de chaque extrait préparé (huile essentielle et polyphénol) sont mélangé avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH (70µM) ($C_{18}H_{12}N_5O_6$). La lecture de l'absorbance est faite à 517 nm contre un blanc préparé en remplace l'extrait par le éthanol, après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante.

Le protocole suivi est représenté dans la figure ci-dessous :

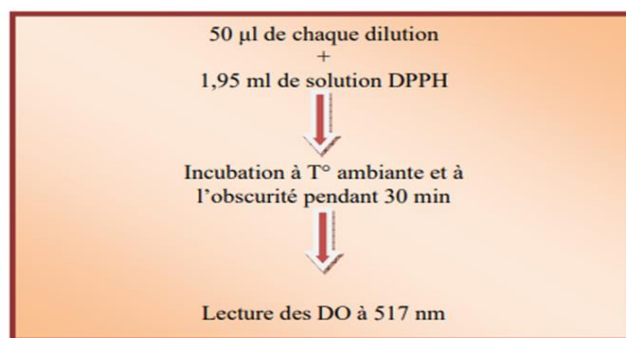


Figure III.3. Protocole de piégeage du radical libre DPPH (Sanchez-Moreno et al., 1998).

Pour comparer les activités antioxydant de nos extraits, des gammes de concentrations est préparée par des antioxydants standard ; l'acide gallique .Tous le test est répété 3fois.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I %) en appliquant la loi suivante :

$$I \% = [(Abs_{\text{contrôle}} - Abs_{\text{échantillon}}) / Abs_{\text{contrôle}}] \times 100$$

Abs_{contrôle} : Absorbance du contrôle négatif à 517 nm.

Abs_{échantillon} : Absorbance de l'échantillon à 517 nm.

III.4.2. Test de la réduction du fer FRAP

➤ Principe

Le pouvoir réducteur est basé sur la transformation de Fe^{3+} présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en Fe^{2+} en présence d'un antioxydant qui a le pouvoir de céder des électrons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des composés testés.

➤ Mode opératoire

Dans des tubes à essai contenant 25µl de chaque échantillon dilué a de différentes concentrations, on a ajouté 0,5 ml de tampon phosphate ([0.2]M ; pH 6.6) et 0,5 ml

d'hexacyanoferrate de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) (1%). Les tubes sont chauffés à 50°C pendant 20 min dans un bain marie.

Un volume de 0,5 ml d'acide trichloracétique (TCA) (10%) est ajouté au mélange avec 1,5 ml d'eau distillée (ED) et 0.5 ml de chlorure ferrique ($FeCl_3$) (0,1 %). Un contrôle sans échantillon est préparé dans les mêmes conditions. La lecture est mesurée à 700 nm (**Bouhdid et al, 2008 ; Arulpriya et al, 2010**).

Pour comparer les activités antioxydant de nos extraits, des gammes de concentrations est préparée par des antioxydants standard ; l'acide gallique et le (BHA) .Tous le test est répété 3fois.

IV. Résultats et discussions

IV. Résultats et discussions

IV.1. Etude analytique de l'huile essentielle d'*A. Herba alba*

Les propriétés physico-chimiques et la composition chimique de l'HE constituent un moyen de vérification et de contrôle de qualité des huiles essentielles. Mais certaines propriétés organoleptiques comme la couleur, l'odeur et la viscosité peuvent aussi être pertinentes pour juger la qualité d'une huile.

IV.1.1. Détermination du rendement d'extraction d'HE

Notre étude est basée sur trois extractions pour un même échantillon. Le rendement obtenu est représentés dans le tableau (IV.1) suivant :

Tableau IV.1. Rendement en huile essentielle d'*A.Herba alba*

Poids de la charge (g)	Rendement moy (%)
100	0.6878

Le rendement en huile essentielle d'*A.herba alba* est 0.68 %. Ce rendement peut être considéré comme importante par rapport à certaines plantes qui sont exploitées industriellement comme source d'huiles essentielles. Au vu de ces résultats, il apparaît que le rendement moyen en HE obtenue par hydrodistillation est dans l'intervalle [0.3-1.6%] cités dans la bibliographie (**Lattaoui ; 1989**).

En comparaison avec d'autres travaux de recherche ce taux considéré que proche à celui de l'huile essentielle extraite de la même espèce, récoltée dans la chaîne montagneuse des Matmata en Tunisie (0.65%) (**Akrout, 2004**).

Il faut noter que le rendement et la composition chimique des HEs dépendent de plusieurs facteurs à savoir l'espèce, Facteurs naturels tels que le climat, la qualité du sol...etc. le milieu de récolte, la période de récolte.

IV.1.2. Caractères organoleptiques

Selon **AFNOR (2000)**, les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont plus ou moins colorées et leur densité est en général inférieure à celle de l'eau.



Figure IV.1. L'HE d'*A.herba alba* extraite par l'HD.

Les caractéristiques organoleptiques de l'HE extraite sont représentées dans le tableau (IV.2) ci-dessous :

Tableau IV.2. Caractéristiques organoleptiques de l'HE d'*A.herba alba*.

	Aspect	Couleur	Odeur
HE	liquide	Jaune claire	forte

L'HE d'*A.herba alba* est de couleur jaune claire et un aspect liquide et une odeur forte caractéristique de la plante. Ces propriétés sont liées aux conditions climatiques, édaphiques, la région de récolte et de l'état de la plante (**Bouzidi, 2016**).

IV.1.3. Propriété physico-chimiques de l'HE

Les propriétés physico-chimiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle (**Afssaps, 2008**). Ces essais sont déterminés selon un protocole précis et obéissent à des normes édictées par l'association française de normalisation (**A.F.N.O.R**) (**Afnor, 1989**).

Les résultats de calcul des propriétés physico-chimiques de l'HE de l'*A.Heba Alba* obtenue par hydrodistillation sont évalués et enregistrés dans le tableau (IV.3) ci-dessous.

Tableau IV.3. Caractéristiques physico-chimiques de l'HE d'*A.herba alba*.

Les propriétés	HE	Normes Afnor (1980- 1982) Pharmacopée française 1993
propriétés physiques		
pH	6.1(àT=20)	
Densité	0.8975	0,900 – 1.000
IR (n_D^{20})	1.4669	1,4555-1.4788
m à e	(200/200) μ L	
Propriétés chimiques		
Ia	$8,7.10^{-3}$	
Ie	$7,11.10^{-2}$	
Ii	$0,42.10^{-3}$	

- Le pH obtenu indique que notre huile extraite est acide.
- La densité est parmi les caractéristiques physiques généralement utilisées dans la classification des huiles essentielles. Mais elle ne peut pas être utilisée seule pour l'identification des huiles. Le résultat obtenu est conforme à la norme AFNOR.
- La densité relative à 20° C de notre huile essentielle est de 0.8975 cette valeur est conforme à la norme AFNOR. C'est un paramètre physique utilisé dans la classification des huiles essentielles, Mais ces données sont insuffisantes pour la classification des huiles.
 - Si la densité est inférieure à 0.9, les essences des plantes végétales sont riches en terpènes.
 - Dans le cas où elle est supérieure à 1, les essences des plantes végétales contiennent des produits de la série aromatique, des sulfures et des nitrites.
 - Enfin si la densité est comprise entre 0.9 et 1, les essences ont une composition encore plus complexe. **(Elenkova N, 1983), (Afnor 82).**
- L'indices de réfraction mesuré est conforme à la norme AFNOR est de : 1.4669. Cet indice dépend de la composition chimique qui augmente en fonction des longueurs des chaînes d'acides, de leurs degrés d'insaturation et de la température, il varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé **(Goudjil Mohamed Bilal, 2016).**
- Notre huile essentielle a fourni un indice d'acide très faible de $8,7.10^{-3}$. Un indice d'acide inférieur à deux, est une preuve de bonne conservation de l'huile. En effet, une huile fraîche ne contient que très peu d'acides libres. C'est pendant la période de stockage que l'huile peut subir des dégradations telle l'hydrolyse des esters **(MOUCHEM .M.F,2015)**

constatent des variations des indices d'acide et d'ester au cours du temps et en fonction de la température.

A titre indicatif, nous avons de même relevé les propriétés de quelques HEs d'*Artemisia herba alba* d'origine algérienne tableau IV.4.

Les résultats obtenus des analyses physicochimiques indiquent que l'échantillon analysé se trouve dans les fourchettes de référence établies par les normes AFNOR, et ne présente pas de grandes différences vis-à-vis leurs propriétés physico-chimiques avec des autre huile prise comme référence (**Kambouche. N, 2000**).

Tableaux IV.4 : Propriétés de quelques HEs d'*Artemisia herba alba* d'origine algérienne

(HE) de (<i>Artemisia herba-alba</i>)	Miscibilité à l'éthanol	Indice d'acide	pH	d_{20}^T	n_D^{20}	α_D^{20}
Notre HE de la Tiaret	1v /1v	$8,7.10^{-3}$	6.1(à T= 20)	0.897	1.466	0
HE de la station de Sebdou (Telemcen) Kambouche. N,2000	ND	ND	ND	0.85/0.99	1.47/1.49	-29/-39
HE de la station de Ras El Ma (Telemcen) (MOUCHEM .M.F,2015)	1v /3v	0,5	6,80 (à 18.9°C)	0.9	ND	ND
HE de la station d'El Aricha (Telemcen) (MOUCHEM .M.F,2015)	1v /3v	0,5	6,80 (à 18.9°C)	0.84	ND	ND
HE de la station de Mecheria (Naâma) (MOUCHEM .M.F,2015)	1v /3v	0,48	6,80 (à 18.9°C)	0.88	ND	ND

IV.2. Etude des polyphénols

IV.2.1. Rendement de macération

L'extrait éthanolique d'*A.herba alba* obtenus par macération est de couleur verdâtre foncé leur rendement est représenté dans le tableau (IV.5.) qu'est de l'ordre de 22.66%

Tableau IV.5. Rendement de l'extrait d'*A.herba alba*.

La plante	Rendement en %
<i>A.herba helba</i>	22.66%

Le rendement de notre extrait éthanolique est supérieur au celle obtenu par l'extrait éthanolique d'*A.herba alba* de la région de El-kantara (**Dalal Mehdi et Oumhani Salem, 2019**) qui est de 15.64%.

Par contre elle est inférieure au résultat obtenu par **Chaabna (2014)** ou l'extrait éthanolique d'*A herba alba* montre un rendement de (27.47%), et au résultat obtenu par extrait éthanolique d'*A.herba alba* qui est avec un rendement de (34.8%) obtenu après une percolation de la poudre de la partie aérienne **Awad et al. (2009)**.

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

IV.2.2. Teneur en polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux des extraits d'*A.herba alba* est évaluée par la procédure basée sur la méthode de Folin-Ciocalteu, dont l'acide gallique est utilisé comme un standard (Figure IV.2).

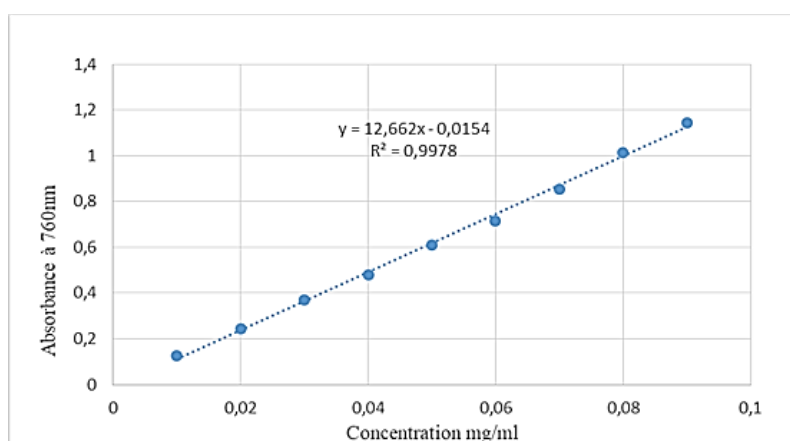


Figure IV.2. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de l'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EQ/g MS) et sont représentés dans le tableau (IV.6).

Tableau IV.6. Teneur en phénols totaux des extraits d'*A.Herba alba*.

Les méthodes d'extraction	Les extraits	Teneur en Phénols totaux (mg EQ/g MS)
Macération	Phase organique	7,224 ±0,198
	Phase aqueuse	3,497 ±0,269
Sonication	20min	22,855 ±2,026
	30min	22,829 ±1,805

	40min	29,121 ±2,494
--	-------	---------------

D'après les résultats obtenus, Les teneur en polyphénols totaux sont différents dans les extraits de la macération et de la sonication ou l'extrait de la sonication montre le teneur le plus élevé

Dans cette dernière méthode, les résultats indiquent qu'il y a une amélioration de la teneur en polyphénols totaux quand le temps de la sonication augmente de 20 min à 40 min. Les valeurs vont de (22,855 ±2,026) à (29,121 ±2,494) mg EQ/g.

Dans la méthode de macération, la teneur en polyphénols totaux montre que la phase organique est plus riche que la phase aqueuse avec des valeurs varié entre (7,224 ±0,198 mg EQ/g Ps) et (3,497 ±0,269 mg EQ/g Ps), Cette variabilité en teneur entre les deux phases peut être expliquée par la présence des composés phénoliques plus soluble dans l'éthanol que dans l'eau.

IV.2.3. Teneur des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3), la quercétine a été utilisé comme étalon Figure (IV.2).

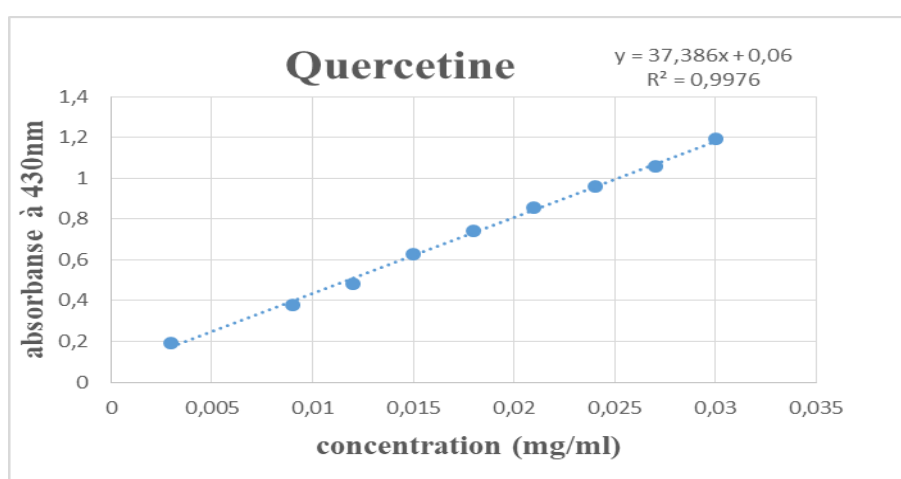


Figure IV.3. Courbe d'étalonnage de la Quercétine.

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en milligramme d'équivalent de la quercétine par gramme de poids sec de l'extrait (mg EQ/g Ps) qui sont représentés dans le Tableau (IV.7).

Tableau IV.7. Teneur en flavonoïdes de plante *A.herba alba*.

Les méthodes d'extraction	Les extraits	Teneur en flavonoïdes (mg
---------------------------	--------------	---------------------------

		EQ/g MS)
Macération	Phase organique	1,494 ±0,103
	Phase aqueuse	0,638 ±0,098
Sonication	20min	11,223 ±0,680
	30min	14,311 ±2,222
	40min	14,224 ±0,153

D'après les résultats décrits dans le tableau on remarque que les valeurs les plus élevées sont celles obtenues par la méthode de sonication, dans laquelle il y a une augmentation de la teneur en flavonoïdes avec l'augmentation du temps de la sonication. Les valeurs enregistrées entre 30 et 40 min de sonication restent voisines par rapport aux 20 minutes de sonication qui donne une valeur un peu moins.

Pour la méthode de macération les teneurs en flavonoïdes montrent que la phase organique est plus riche que la phase aqueuse avec des valeurs variées entre (1.494 mg EQ/g Ps) et (0,638 ± 0,098 mg EQ/g Ps). Ces valeurs sont considérées comme faibles par rapport au contenu enregistré par la sonication de (14,224 ± 0,153 mg EQ/g Ps).

On peut dire à partir des résultats obtenus qu'il y a un effet significatif de la méthode d'extraction sur la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes. La méthode de sonication dans notre cas améliore l'extraction des composés phénoliques d'*A.herba alba*.

Si l'on compare nos résultats avec les travaux de **Boudjelal (2012)**, l'extrait éthanolique d'*A. herba alba* lui a montré une quantité de (25,34 ± 0,69 mg EQ/g Ps), cette valeur est similaire à nos résultats obtenus par sonication.

Une valeur proche de notre résultat des flavonoïdes a été trouvée par **Younsi et al. (2016)** atteinte le (13.96 ± 0.07 mg EQ/g Ps) dans leur extrait éthanolique l'*A herba alba*.

IV.3. Etude de l'activité antioxydante

Pour étudier l'activité antioxydante, notre choix s'est porté sur l'utilisation de deux tests chimiques qui sont : le piégeage radicalaire de DPPH et le pouvoir antioxydant réducteur ferrique ou nommé test de FRAP.

Les extraits soumis aux ces deux tests sont l'extrait de l'huile essentielle, les extraits issus de la méthode de macération (phase organique et phase aqueuse) et l'extrait résultant de la sonication de (40 min) qui présentait le meilleur contenu en polyphénol.

IV.3.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydant exprime la capacité de réduction des radicaux libres. Pour nos extraits, nous avons employé la méthode au DPPH, ce radical libre présente une coloration violet, lorsqu'il est piégé par des substances antioxydantes, la forme réduite confère à la solution une coloration jaune, cette coloration dépend de la puissance de la substance anti radicalaire. L'activité antiradicalaire est exprimée en IC₅₀, la concentration en antioxydant nécessaire pour réduire 50% la concentration initiale en DPPH de la forme radicalaire à la forme non radicalaire (S.Khoudali, et al 2014). Cette valeur est extraite à partir des courbes représentant la variation de l'inhibition en fonction de déférente concentration de chaque extrait (**Annexe 2**). Il faut rappeler qu'une meilleure activité est indiquée par une faible valeur d'IC₅₀.

Les résultats sont représentés dans le Tableau (IV.8) suivante :

Tableau IV.8. Les valeurs d'IC₅₀ des différents extraits phénoliques et de l'huile essentielle de l'A. *Herba Alba* mesuré par le test de DPPH.

Les méthodes d'extraction	Les extraits	IC ₅₀ (mg/ml)
Macération	Phase organique	0.037 ±0.0006
	Phase aqueux	0.086 ±0.001
Sonication	40 min	0.212 ±0.283
Hydrodistilltion	HE	0,488 ±0,148
	Acide gallique	0.001 ± 4.4 E-05

D'après les résultats obtenus par le test de DPPH, On remarque que les différents extraits présentent une forte capacité à piéger le radical DPPH avec des valeurs d'IC₅₀ allant de 0.037 à 0.488 mg/ml. Nous pouvons voir que l'extrait de la phase organique obtenue par la méthode de macération a montré une activité antiradicalaire plus importante que l'extrait de la phase aqueuse. Ces activités sont moins fortes comparées à l'antioxydant standard de l'acide gallique.

En outre, les extraits phénoliques obtenus par la méthode de sonication et l'extrait de l'HE obtenu par l'hydrodistillation ont montré des activités anti-radicalaires très faibles comparées à l'antioxydant standard de l'acide gallique.

IV.3.2. Test de la réduction fer FRAP

L'essai du pouvoir réducteur est utilisé pour tester la capacité de notre extraits à convertir le ferricyanure de potassium (Fe³⁺) en ferrocyanure de potassium (Fe²⁺) qui réagit ensuite avec

le chlorure ferrique pour former des complexes ferreux. Cette propriété constitue un important mécanisme de l'action antioxydante. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Singleton V.L, et al 1965**). Les résultats obtenus sont représentés dans le Tableau (IV.9).

Tableau IV.9. Les valeurs d'IC50 des différents extraits phénoliques et de l'huile essentielle de l'A. *Herba Alba* mesuré par le test de FRAP.

Les méthodes d'extraction	Les extraits	IC50 (mg/ml)
Macération	Phase organique	0.015 ±0.0008
	Phase aqueux	0.007 ±0.022
Sonication	40 min	0.066 ±0.004
Hydrodistillation	HE	0,655 ±0,189
	Acide gallique	0.0007 ±0.0001
	BHA	0,003 ±0,0001

Tous les extraits de l'A. *Herba Alba* ont un potentiel réducteur ferrique, qui augmente avec l'augmentation de la concentration (**Annexe 2**).

En effet, l'activité réductrice varie de 0.007 à 0.65 mg/ml, avec une meilleure activité enregistrée au niveau de l'extrait de la phase aqueuse obtenu par macération suivi par la phase organique. Alors que l'HE à une activité très faible par rapport aux autres extraits d'une part et au standard (acide gallique et BHA) d'autre part.

De plus, il est à noter que l'extrait d'A. *Herba A* obtenu par sonication présente une activité de réduction des ions de fer (Fe^{+2}) supérieure à leur activité de piégeage des radicaux libres observée dans le test DPPH.

En vue de ces différents résultats obtenus par les tests de DPPH et le test de FRAP, L'effet de la technique d'extraction affecte de façon significative l'activité antioxydante totale de l'extrait.

Les extraits obtenus par macération apparaissent comme les plus doués d'activités antiradicalaire et capacité réductrice tout en étant riches au groupement hydroxyle. Par contre

les composés phénoliques obtenus par la sonication relèvent une faible activité malgré sa teneur en polyphénols plus élevé que les extraits de la macération. En effet, certains composés non phénoliques qui peuvent être extraits par la sonication peuvent réagir avec le réactif de Folin-Ciocalteu, mais ne sont pas aussi efficaces qu'un agent antioxydant. (**S. BOURGOU et al, 2016**).

L'HE de l'A. *Herba Alba* est dotée d'un pouvoir antioxydant mais reste d'une efficacité très distante aux standards, cette faible activité peut s'expliquer par le fait que notre HE est de faible effet pour donner un atome d'hydrogène ou un électron singulier (**A.Noureddine et al, 2019**).

Conclusion général

Conclusion

L'*A. herba alba* « l'armoise blanche » est une plante médicinale et aromatique, utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle algérienne. Dans notre travail nous avons étudié les huiles essentielles et les polyphénols de l'*Artemisia Heba Alba*.

Dans la première partie qui étudie l'huile essentielle de l'*Artemisia Heba Alba*, Nous avons extrait l'huile essentielles et étudier leur principales propriété physico-chimique.

Le rendement en huile obtenu par l'hydrodistillation était de 0.68 % cette valeur est considéré comme importante par rapport à certaines plantes qui sont exploitées industriellement comme source d'huiles essentielles.

La détermination des propriétés physico-chimiques (densité, indice de réfraction, indice d'acide,...) des essences recueillies de l'*Artemisia Heba Alba* sont en grande partie du même ordre que celles retrouvées dans la littérature.

Dans la deuxième partie, nous avons comparé deux méthodes d'extraction des polyphénols, la macération et la sonication, puis nous avons mesuré par les méthodes de Folin Ciocalteu et d' $AlCl_3$ les teneurs des extraits en polyphénols et en flavonoïdes. .

Les résultats obtenus ont montré que les contenus des composés phénoliques dépendaient de la méthode d'extraction utilisée, où l'extrait soniqué avait la teneur la plus élevée en composés phénoliques que l'extrait de la méthode de macération. Une amélioration de la teneur en polyphénols totaux est observée lorsque le temps de la sonication augmente de 20 min à 40 minutes.. De plus, la teneur en composé phénolique indiquée par la phase organique est plus riche que la phase aqueuse. Cette variabilité de teneur entre les deux phases obtenues par macération s'explique par la présence de composés phénoliques plus solubles dans l'éthanol que dans l'eau.

Dans la troisième partie nous avons étudié l'activité antioxydante des extraits de l'huile essentielle et les extraits phénolique de l'*Artemisia Heba* par deux tests chimiques qui sont : le test de DPPH et le test de FRAP, les résultats obtenus par les deux tests, révèlent que la technique d'extraction affecte de façon significative l'activité antioxydante totale de l'extrait.

Les extraits obtenus par macération apparaissent comme les plus doués d'activités antiradicalaire et capacité réductrice tout en étant riches au groupement hydroxyle. Alors que les composés phénoliques obtenus par la sonication relèvent une faible activité malgré sa teneur en polyphénols plus élevé que les extraits de la macération.

Comparé aux autres extraits d'une part et au standard (acide gallique et BHA) d'autre part. Une activité très faible est enregistré par HE vis-à-vis le test de DPPH et le test de FRAP

- Comme perspective, nous suggérons des études complémentaires afin de déterminer la composition de l'HE par des analyses chromatographique telles que GC-MS. et la composition des polyphenols par LC-MS
- Déterminer les activités biologiques des extraits de l'Artemisia HA in vitro et in vivo

Références bibliographiques

-A-

- **Afnor (1982).** Association Française de normalisation, déterminations physico-chimiques des huiles essentielles. p 45-60.
- **Afnor., (1983).** Association Française de normalisation, déterminations physico-chimiques des huiles essentielles.
- **AFNOR, (1986).** Association françaises de normalisation, Paris, 139-14.
- **Afnor., (1994).** NF T 75-104. Huiles essentielles, Tome 1 échantillonnage et méthodes d'analyse. p 51-53.
- **Afnor., (2000).** Association Française de normalisation, Recueil de normes Françaises. Les huiles essentielles.
- **AFNOR. (2000).** Huiles essentielles. Echantillonnage et méthodes d'analys Monographies relatives aux huiles essentielles. Tome 2 ed.
- **Afssaps (2008).** Recommandations relatifs aux critères de qualité des huiles essentielles. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé.
- **Akrout A. (2014).** Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata, Tunisie. Cahiers Options Méditerranéennes 62 :289-292.
- **A. Nouredine, G.Abdelaziz, B Boulanouar, Ángel A. Carbonell-Barrachina, Marina Cano-Lamadrid, and Luis Noguera-Artiaga (2019)** Chemical composition, mineral content and antioxidant capacity of phenolic extracts and essential oils of *Lavandula stoechas* L. Scientific Study & Research, Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry., 20 (3), pp. 423 – 437.
- **Aouadhi S., (2010)**-Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. thèse magistère : toxicologie. TUNIS : Faculté de médecine.196p
- **Arulpriya P., Lalith P. Et Hemalatha S (2010).** In vitro antioxidant testing of the extract of *Samanea saman* (Jacq.) Merr. Der Chemica Sinica. 1 (2) : 73-79.
- **Awad Wa., Ghareeb K., Abedl-Raheem S., Bohm J.(2009).** Effect of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. Veterinary 88(1)

-B-

- **Baba Aissa F. (2000)**- Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Edition librairie moderne. Rouiba.
- **Bahorun T., Grinier B., Trotin F., Brunet G., Pin T., Luncky M., Vasseur J., Cazin M., Cazin C. and Pinkas M. (1996)**. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46(11) : 1086-1089.
- **Belhattab R, Amor L, Barroso J.G, L.G. Pedro L.G and A. Cristina Figueiredo A. (2014)**. Essential oil from *Artemisia herba-alba* Asso grown wild in Algeria: Variability assessment and comparison with an updated literature survey. *Arabian Journal of Chemistry*. 7(2) : p 243-251.
- **Benjilali B., Richard et liddle P(1984)** .Congrès International du soc. Ital. Phyto.,131-156
- **Bernadet M (2000)**. Phyto-aromathérapie pratique. Plantes médicinales et huiles essentielles. Editions Dangles.
- **Bessaoud S (2015)**. Evaluation de quelques paramètres de la balance oxydants/antioxydants chez des rats diabétiques recevant de la quercétine.
- **Bouhdid S., Skali S.N., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Amensour M., et Abrini J (2008)**. Antibacterial and antioxidant activities of *Origanum compactum* essential oil .*African Journal of Biotechnology* Vol. 7 (10). ; pp. 1563-1570.
- **BOUZIDI N. (2016)**. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche « *Artemisia herba alba* Asso » Université Mustapha Stambouli de MASCARA.
- **Bruneton J (1987)**. Elément de phytochimie et pharmacognosie.Paris : Lavoisier - Tech. & doc. 584 p.
- **Bruneton J., (1999)**-Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales –3ème Ed Tec & Doc, Paris.494p.

-C-

- **Catier O., et Roux D (2007)**. Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3eme édition. Cahiers du préparateur en pharmacie. Ed. ISBN. Wolters Kluwer. Pp. 77- 79/81-82.
- **Chaabna N. (2014)**. Activité anticoccidienne des extraits d'*Artemisia herba alba*. Thèse de magistère, valorisation des ressources végétales 61 p.

- **Charles M. Benbrook. (2005).** « Accroître la teneur des antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire et biologiques », The Organic Center.

-D-

- **Dalal MEHDI et Oumhani SALEM (2019).** Etude de l'activité antibactérienne d '*Artemisia herba alba* de la région (El-kantara) en vue de son utilisation comme bioconservateur dans le lait cru de vache. P 26.
- **Didier, D. AFNOR (2000),** «Huiles Essentielles», Monographie relative aux huiles essentielles (A à G), 6ème Ed, Tome 2, Vol. 1, 180-219.
- **Duraffourd C., D'Hervicourt L., Et Lapraz J C (1990).** Cahiers de phytothérapie clinique 1. Examens de laboratoires galéniques. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd, Masson. Paris.
- **Duquenois P (1982).** Les médicaments aromatiques, leur caractère, leur contrôle, Phytothérapie.

-E-

- **Ebrahimzadeh M A., Pourmorad F., and Hafezi S (2008).** Antioxidant Activities of Iranian Corn Silk, Turk. J. Biol. 32, 1-7.
- **El Abed, N. Kambouche (2003).** Les huiles essentielles, 1ere Ed., Dar El Gharb,.
- **Elenkova N., (1983).** Chimie analytique et méthodes physiques d'analyse. Ed. Technika Sofia, Bulgarie. p 123 - 128.

-G-

- **Garnero J (1996).** Huiles essentielles. Dossier : K345. Base documentaire : Constantes physico-chimiques. Vol. Papier n° : K2,
- **George S, Brat P, Alte P ET Amiot M. J. (2005).** Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived Products. J Agric Food Chem., 53, 1370, 1373
- **Georges Sens-Olive (1979),** « Les huiles essentielles - généralités et définitions », dans Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, éd. Maloine, p. 141-142.
- **GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS M., ORECCHIONI A M., (2001)-**Le préparateur en Pharmacie dossier 2èmeEd TEC&DOC. Paris. pp275
- **Ghrabi Z. and Sand R.L. (2008).** *Artemisia herba alba* Asso. A Guide to Medicinal Plants in North Africa, 49 - 49.

- **Goudjil Mohamed Bilal. (2016).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. these du doctorat.universite kasdi merbah ouargla.

-H-

- **Harborne J B., Williams C A., (2000)-** Advances in flavonoid research since 1992 Phytochemistry. vol(55) : 481-504.
- **Hatimi S., Boudouma M., Bichichi M., Chaib N. and Guessous Idrissi N. (2001).** BSoc Pathol, 94: 29-31.
- **Hynes M.J., O’Coinceanainn M. (2001).** The kinetics and mechanisms of the reaction of iron(III) with gallic acid, gallic acid methyl ester and catechin. Journal of Inorganic Biochemistry. 85: 131–142.

-I-

- **Ismaili R., Lamiri K., Moustaid A. (2014).** Study of antibacterial activity of essential Oils of three aromatic and medicinal plants. International Journal of engineering research & technology 8: 1247- 1251.

-J-

- **Joseph H. Hulse (1980),** *Polyphenols in Cereals and Legumes*, International Development Research Centre, , p. 217

-K-

- **Kaloustian J., et Hadji-Minalou F (2013).** La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie. Paris ; 226p.
- **Kambouche. N (2000)** « Extraction, composition chimique de l’HE d’Ajowan (Nounkha) de la région d’Oran- mise en évidence son activité biologique ». Mémoire de Magister en chimie organique. Université d’Oran Es-sénia,
- **Kundan S., et Anupam S. (2010).** The Genus Artemisia : A Comprehensive Review. J. Pharm. Biol.pp :1-9.

-L-

- **Lattaoui N (1989).** Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de trois espèces de thym à profils chimiques différents. Thèse de Doctorat de 3ème cycle. Option Microbiologie, Ecole Nationale Supérieure, Rabat. Maroc.
- **Leung Albert Y (1980).** Encyclopedia of common natural ingredients used in food drugs and cosmetics. Wiley-Interscience Publication. New York.

-M-

- **Maataoui B S., Hmyene A., Hilali S (2006).** Lebanese Science Journal. ; p 7, 3-8.
- **Mahmoudi S., Khali M., et Mahmoudi N (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus L.*). Nature et Technologie. 09 : 35-40.
- **Malecky Mostefa (2008).**Thèse du DOCTORAT .Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (agroparistech).
- **Mirjalili. M.H., Tabatabaei S.M.F., Hadian J., NejadS.E.,andSonboli. A. (2007).**Phenological variation of the essential oil of *Artemisia scoparia*from Iran. Essent.oilRes.19 : 326–329
- **Molyneux P (2004).** Use of DPPH to estimate antioxidant activity. Songklanakarin J.Sci. Technol. 26(2) 212.
- **MOUCHEM METAHRI Fatima Zohra (2015).** Contribution à l'étude des huiles essentielles de l'armoise blanche de trois localités de l'ouest algérien (Ras Elma, El Aricha et Mécheria) et leurs effets antimicrobiens.These de doctorat. Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes Faculté des sciences de la nature et de la vie, département des sciences de L'environnement.
- **Mucciarelli M et MaffeiM. (2002).** Artemisia : Introduction to the Genus Vol. 18 Ed Colin W.W. in Taylor & Francis. Ed. London and New York. pp : 10-16.

-N-

- **Nabli M. A., (1989).** Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I. Ed. MAB (Faculté des sciences de Tunis) ; 186-188 p.

-O-

- **Obame L C., Koudou J., Chalchat J C., Bassolé I., Edou P., Ouattara S A., Traore S A (2007).** Scientific Research. ; 2(11) ,491-495.

- **Ozenda P. (1983).** Flore du Sahara Ed : éditions du centre nationale de la recherche Scientifique -Paris- 441p.

-P-

- **Padrini F., et Lucheroni M T (2006).** Huiles essentielles. Italie, 206p.
- **Paris M., et Hurabielle M (1981).** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome. Ed. Masson. ; p.339.
- **Péroumal A. (2014).** Caractérisation des fruits et de la pulpe de six accessions de *Mammea americana* : Aptitude à la transformation des fruits et caractérisation des composés phénoliques de la pulpe, Université des Antilles-et de la Guyane, 83 p.
- **Pharmacopée Européenne (1997),** 3ème édition, Tome 1, 57-62.
- **Piochon M (2008).** Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Mémoire présenté à l'université du québec à chicoutimi.
- **Pottier G(1981)** *Artemisia herba-alba*. Flore de la Tunisie : angiospermes–dicotylédones– gamopétales, p 1012.

-R-

- **Rahili G (2002).** Les huiles essentielles et leur intérêt. La forêt algérienne n°4. Institut national de la recherche forestière. Bainem Alger,
- **Robert G, (2000).** Les Sens du Parfum.Osman Eroylls Multimedia. Paris. 224 p
- **Robinson T (1991).** The organic constituents of higher plants. The chemistry and interrelationships. Cordus Press.MA. USA.

-S-

- **Salle J L., et Pelletier J (1991).** Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed. Frison-Roche. ; pp.19-45.
- **Sanchez-Moreno C., Larrauri J A., et Saura-calixto F (1998).** A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. Journal Science Technology International. 8, 121-137.
- **S. BOURGOU, R. SERAIRI BEJI , F. MEDINI , R. KSOURI (2016),** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les

potentialités antioxydantes d'Euphorbia helioscopia. Journal of NewSciences. Volume 28(12).

- **S. Khoudali, D. Benmessaoud left, A. Essaqui, M. Zertoubi, M. Azzi, M. Benaissa (2014).** Étude de l'activité Antioxydante et de l'action Anti Corrosion de l'extrait Méthanolique Des Feuilles Du Palmier Nain (Chamaerops Humilis L.) Du Maroc.J. Mater. Environ. Sci.: 5.3 887–898
- **Seyoum A., Asres K., El-fiky F K., (2006)-** Structure–radical scavenging activity Relationships of flavonoids. Phytochemistry. 67: 2058–2070.
- **Singleton V.L.et Rossi J.A. (1965)** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. American Journal of Technology and Viticulture. 16, 144-153.
- **Stanley et al (2003) ..,** « Antioxidants and the Free Radical Theory of Degenerative Disease », *Alternative Medicine and Rehabilitation*,

-T-

- **Tang S. Y. et Halliwell B. (2010).** Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and Caenorhabditis elegans studies? Biochemical and Biophysical Research Communications, 394:1-5.
- **Tastekin D., Atasever M., Adigüzel G., Keles M. and Tastekin A. (2006).** Hypoglycaemic effect of Artemisia herba-alba in experimental hyperglycaemic rats. Bull Vet Inst Pulawy, 50: 235-238.
- **Teisseire P J (1991).** Chimie des substances odorantes. Tec et Doc. Lavoisier. Paris, France ; 480 p.
- **Tenscher E., Anton R et Lobstein A., (2005) :** Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Edition Tec&doc. Pp3-50/121-124.

-V-

- **Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M. et Mazur M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer.Chemico-Biological Interactions. 160:1-40
- **Valnet J (1984).** Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes. Maloine S.A. éditeur. Paris ; p 544.

-Y-

- **Yin Y., Gong F.Y., XinWu X., Sun Y., Li Y., Chen T. and Xu Q. (2008).** Antiinflammatory and immunosuppressive effect of flavones isolated from *Artemisia vestita*. J Ethnopharmacol, 120: 1–6.
- **Younsi F., Trimech R., Boulila A., Ezzine O., Dhahri S., Boussaid M., Messaoud C. (2016).** Essential oil and phenolic compound of *Artemisia herba-alba* (Asso.): Composition, antioxidant, antiacetylcholinesterase, and antibacterial activities. International journal of food properties, 19(7) :1425-1438.

Annexes

Annexe 1

1. Appareillage

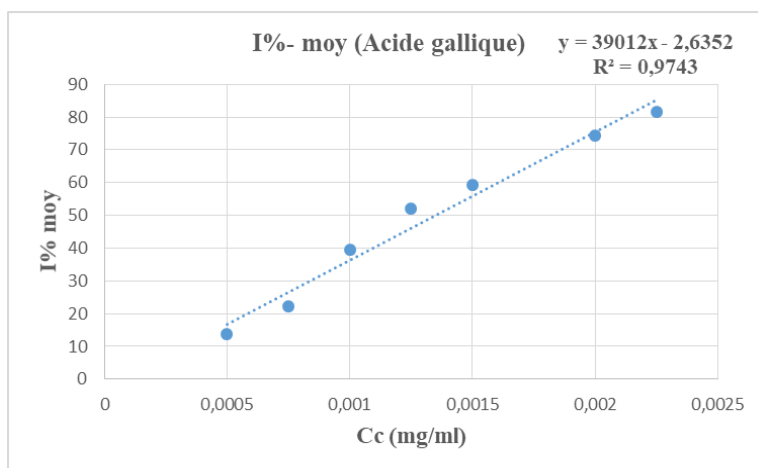
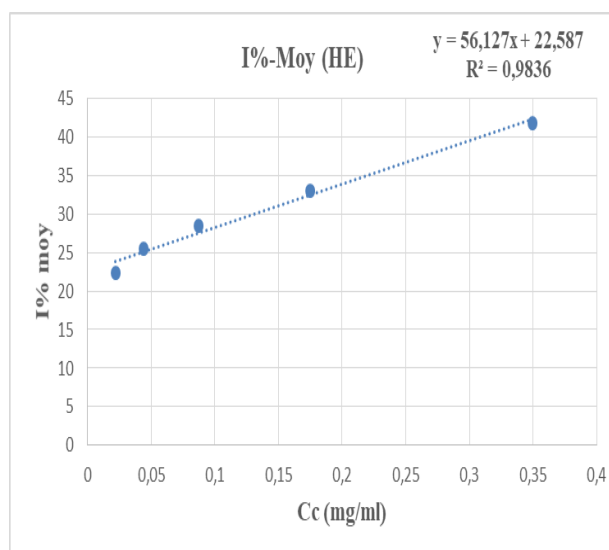
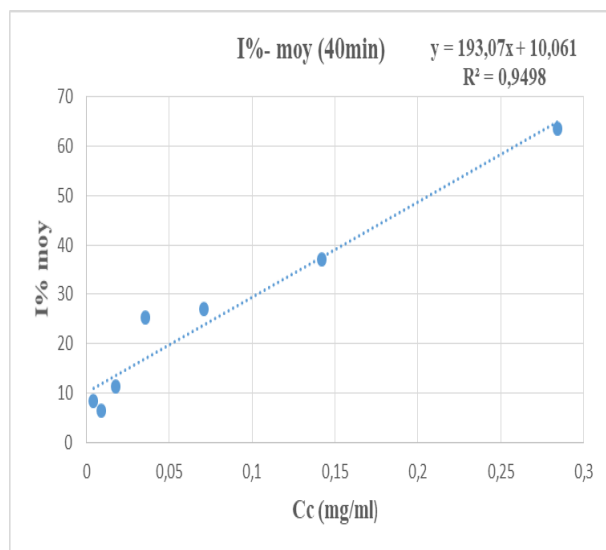
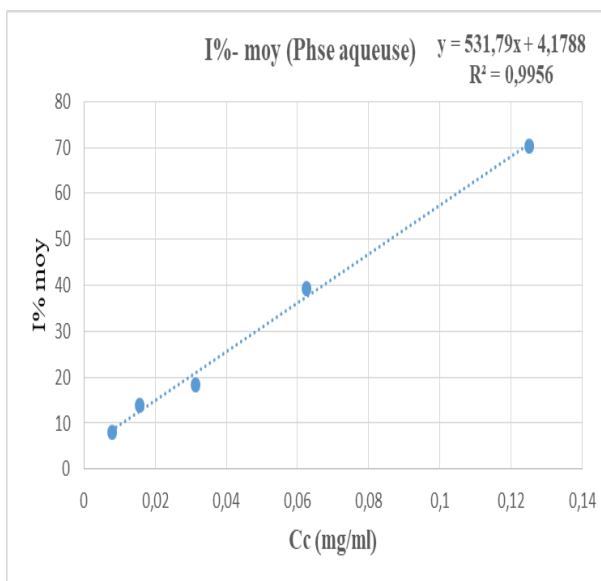
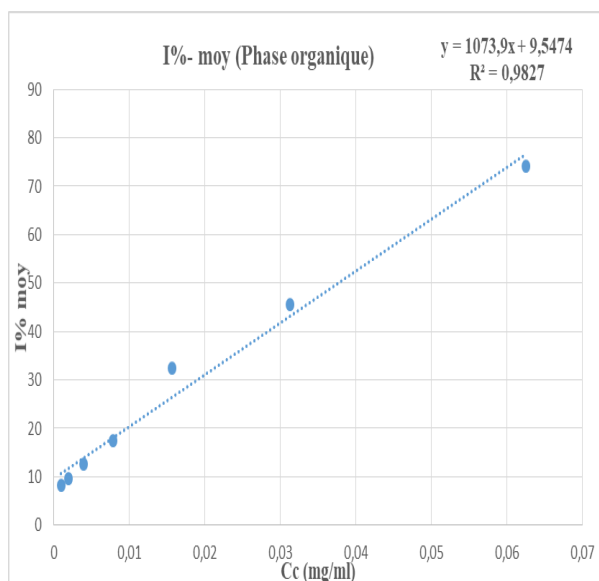
Appareils et matériels	Caractéristiques
-Agitateur automatique	WiseStir (MSH-20A)
- Ampoule à décanter	De (100mL et 250mL)
-Bain Marie	WiseBath
- Balance analytique	(OUAUS 0,01)
- Balance de précision	(OUAUS 0,001)
-Barreau magnétique	
- Ballon	De 1000mL
- Béchers	
- Broyeur électrique	(SAVOMIX, HAND MIXER, SCG-638C)
- Burette	De 25mL
-Centrifugeuse	« Sinal TD4A »
- Chauffe-Ballon	De 1000mL (ERS)
- Cuves	
- Etuve	
- Erlenmeyer	De 250mL
- Eprouvette	De 100mL
- Evaporateur rotatif	- Evaporateur rotatif
- Fiole	De (25mL et 50mL et 100mL et 200mL)
-Micropipette	(précision 10-100 et 100-1000)
-Papier aluminium.	
-Papier filtre.	
- Polarimètre	OPTACH TECHNOLOGY
- Potentiel d'Hydrogène-mètre (pH-mètre)	Adwa (AD1030)
-Pipette	De 10mL
- Réfrigérateur	
- Réfractomètre	A.KRÜSS.OPTRONIC
- Spectrophotomètre UV	(OPTIMA SP-3000 Nano)
- Spatule	
- Tamis.	
- Tubes	
-Ultrason	P/SELECTA
-Vortex	ISOLAB (laborgräte GmbH)

2. Produits chimiques

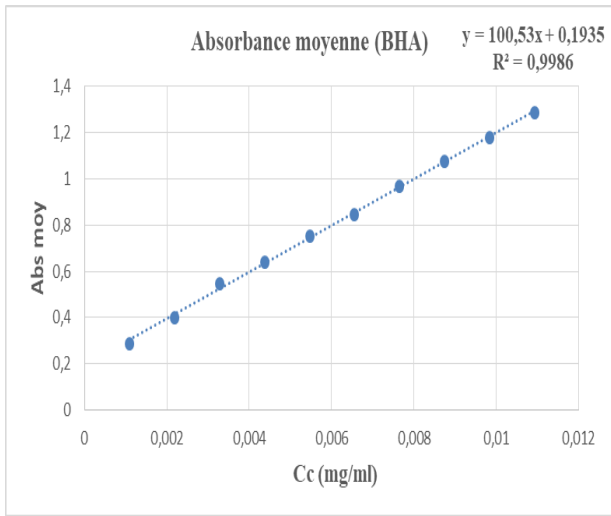
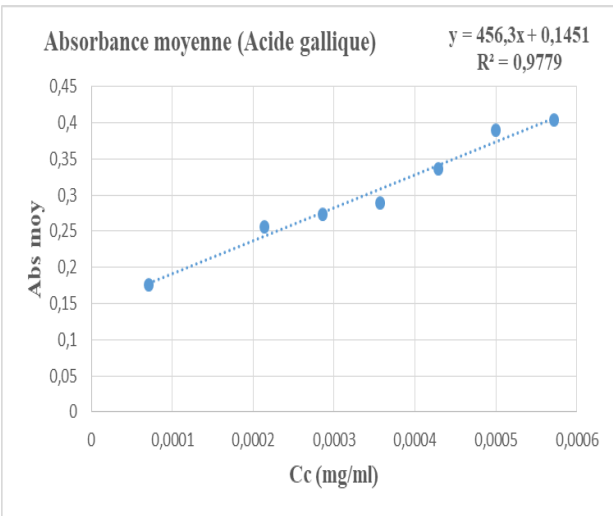
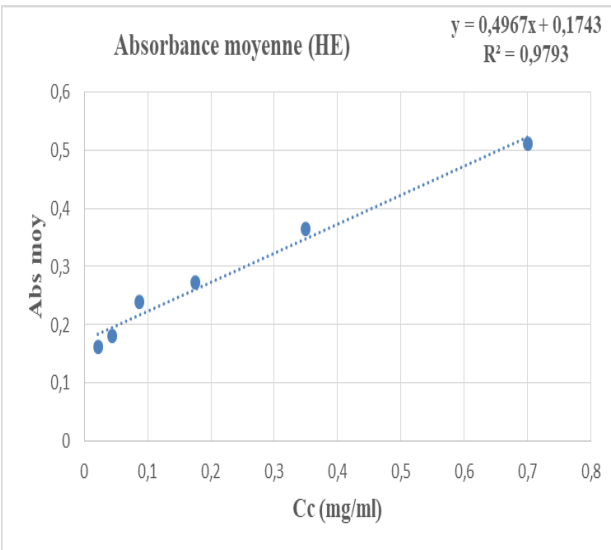
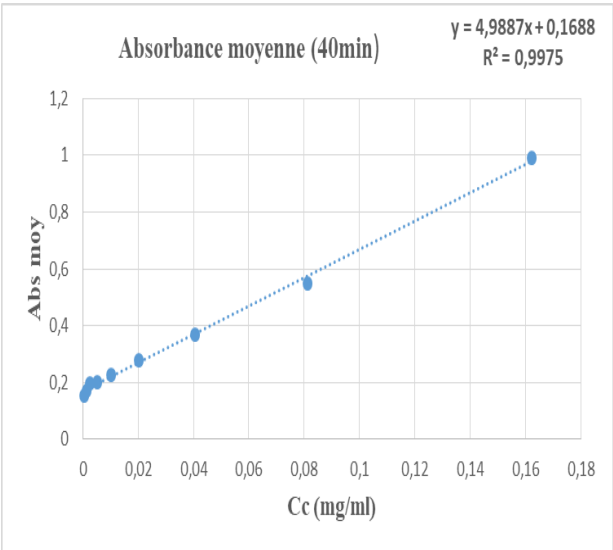
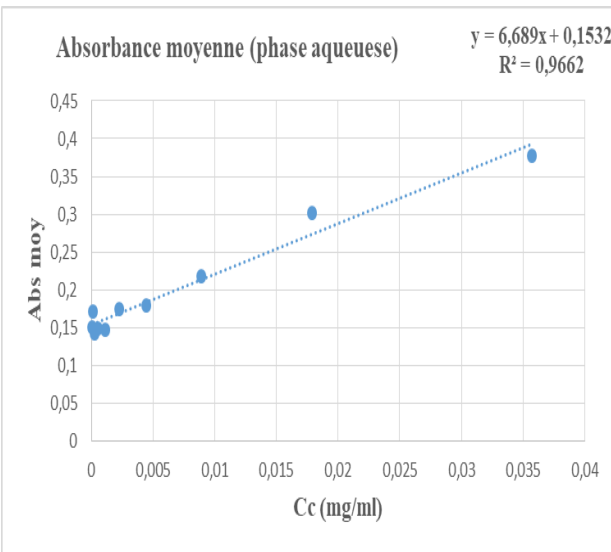
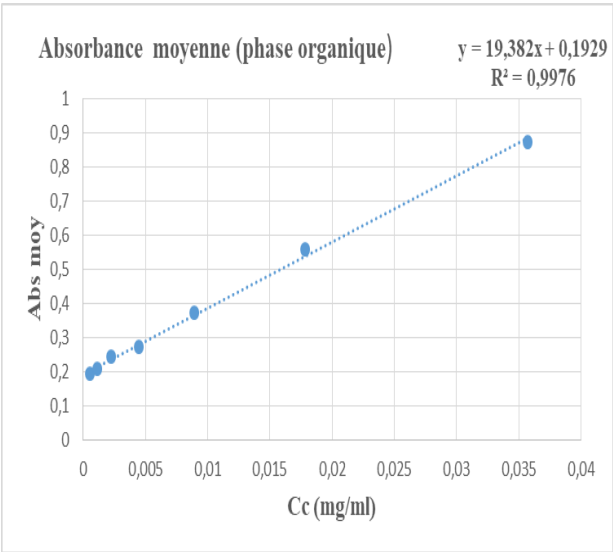
Produits	La formule chimique	Propriétés
- Butyl Hydroxy Anisole (BHA)	$C_{11}H_{16}O_2$	
- Eau distillé	H_2O	Ultra pure
-Acide trichloracétique(TCA)	$C_2HCl_3O_2$	PROLABO
-Chlorure de sodium	$NaCl$	VWR(BDH) PROLABO
- 2, 2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH)	$C_{18}H_{12}N_5O_6$	SIGMA-ALDRICH
- Hexacyanoferrate de potassium	$K_3Fe(CN)_6$	(BDH) laboratory reagents
- Ethanol	C_2H_6O	BIOCHEM Chemopharma
-Quercétine hydraté	$C_{15}H_{10}O_7 \cdot xH_2O$	ALDRICH Chemistry
-Folin Ciocalteu		SIGMA (Life Science)
- Hexane	C_6H_{12}	SIGMA-ALDRICH
- Acétate d'éthyle	$C_4H_8O_2$	VWR(BDH) PROLABO
- Chlorure d'aluminium	$AlCl_3$	VWR CHEMICALS
- Acide gallique	$C_7H_8O_5$	SIGMA (Life Science)
- Acide chlorhydrique	HCl	Honeywell Fluka
- sulfate de sodium	Na_2SO_4	SIGMA-ALDRICH / BIOCHEM Chemopharma
- sulfate de sodium hydraté	$Na_2S_2O_3$	Fluka
- Carbonate de sodium	Na_2CO_3	SIGMA-ALDRICH
- Dihydrogénophosphate de potassium	KH_2PO_4	Fluka.chemika
-Hydrogénophosphate de potassium	K_2HPO_4	Applichem Panreac
-Phénolphtaléine		
- Hydroxyde de potassium	KOH	PROLABO
-Chlorure de fer III hexahydraté	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	PROLABO
-Iodure de potassium	KI	SIGMA-ALDRICH
-Diode	I_2	SIGMA-ALDRICH

Annexe 2

1. Courbes représentant la variation des pourcentages de réduction moyenne en fonction des concentrations des extraits phénoliques de plante *A.herba alba* dans le test du DPPH.



2. Courbes représentant la variation de la concentration inhibitrice de réduction en fonction des concentrations des extraits phénoliques de plante *A.herba alba* dans le test du FRAP.



المخلص

أرتميسيا هيربا ألبا (الشيح) هو نبات طبي عطري يستخدم منذ فترة طويلة في الطب التقليدي الجزائري. هذه الدراسة هي مساهمة في الدراسة الكيميائية للمركبات الفينولية والزيت العطري لنبات الشيح حيث تم، تقييم نشاط مضادات الأكسدة للمركبات الفينولية والزيت العطري بواسطة اختبارات DPPH و FRAP يبلغ محصول الزيت العطري من نبات الشيح 0.68% وخواصه الفيزيائية والكيميائية هي على نطاق واسع من نفس الترتيب الموجود في المراجع. يعتمد محتوى المركبات الفينولية على طريقة الاستخراج المستخدمة؛ يحتوي المستخلص من الصوتنة على محتوى أعلى من المركبات الفينولية مقارنة بالمستخلص من طريقة النقع. أكدت النتائج التي تم الحصول عليها من اختبارات DPPH واختبار FRAP أن تقنية الاستخلاص تؤثر بشكل كبير على نشاط مضادات الأكسدة الكلية للمستخلص.

المستخلصات التي تم الحصول عليها عن طريق النقع أكثر نشاطاً من مستخلص الصوتنة وذلك لاحتمال غناها بمجموعة الهيدروكسيل. من ناحية أخرى، تظهر المركبات الفينولية التي تم الحصول عليها عن طريق الصوتنة نشاطاً منخفضاً على الرغم من محتواها العالي من البوليفينول. يتمتع الزيت العطري للشيح بقدرة مضادة للأكسدة ولكنه لا يزال بعيداً نوعاً ما عن المعايير

الكلمات الرئيسية: نبتة الشيح؛ استخلاص؛ زيت اساسي؛ بوليفينول. النشاط المضاد للأكسدة ؛ FRAP, DDPH.

Résumé

L'*Artemisia herba alba* est une plante médicinale est aromatique utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle algérienne. Cette étude est une contribution à l'étude chimique des composés phénoliques et de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*. La première partie de ce travail est pour l'étude analytique de l'huile essentielle d'A. Herba alba où la détermination du rendement et des propriétés physico-chimiques. La deuxième partie de ce travail concerne l'extraction des polyphénols par deux méthodes et la quantification spectrophotométrique des composés phénoliques. Enfin, l'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques et des HE par les tests DPPH et FRAP.

Le rendement en huile essentielle d'*Artemisia Herba Alba* est de 0,68% et leurs propriétés physico-chimiques sont largement du même ordre que celles trouvées dans la littérature. Le contenu des composés phénoliques dépendait de la méthode d'extraction utilisée, l'extract de la sonication avait la teneur la plus élevée en composés phénoliques que l'extract de la méthode de macération. Les résultats obtenus par les tests de DPPH et le test de FRAP, confirmait que la technique d'extraction affecte de façon significative l'activité antioxydante totale de l'extract. Les extraits obtenus par macération sont plus actif que l'extract de la sonication tout en étant riches au groupement hydroxyle. Par contre les composés phénoliques obtenus par la sonication relèvent une faible activité malgré sa teneur en polyphénols plus élevé. L'HE de l'A. *Herba Alba* est dotée d'un pouvoir antioxydant mais reste d'une efficacité faible par rapport aux standards

Mots clés : *Artemisia herba alba* ; Extraction ; L'huile essentielle ; polyphénols ; l'activité antioxydante ; DPPH ; FRAP.

Abstract

Artemisia herba alba is an aromatic medicinal plant that has long been used in traditional Algerian medicine. This study is a contribution to the chemical study of phenolic compounds and the essential oil of *Artemisia herba alba*. The second part of this work concerns the extraction of polyphenols by two methods and the spectrophotometric quantification of phenolic compounds. Finally, the evaluation of the antioxidant activity of phenolic compounds and EO by the DPPH and FRAP tests. The yield of essential oil of *Artemisia Herba Alba* is 0.68% and their physicochemical properties are broadly of the same order as those found in the literature. The content of phenolic compounds depended on the extraction method used; the extract from the sonication had the higher content of phenolic compounds than the extract from the maceration method the results obtained by the DPPH tests and the FRAP test, confirmed that the extraction technique significantly affects the total antioxidant activity of the extract.

The extracts obtained by maceration are more active than the sonication extract while being rich in the hydroxyl group. On the other hand, the phenolic compounds obtained by sonication show a low activity despite its higher polyphenol content. The essential oil of A. *Herba Alba* is endowed with an antioxidant power but remains an effectiveness very far from the standards.

Keywords: *Artemisia herba alba*; Extraction; Essential oil; polyphenols; antioxidant activity; DPPH; FRAP.