

Manuscrit reçu le 14 novembre 2012 et accepté le 28 décembre 2012

Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc.

Antimicrobial activity of the essential oil of an endemic plant in Morocco, *Artemisia mesatlantica*.

Hassania K. BENCHEQROUN^{*(1,2)}, Mohamed GHANMI⁽¹⁾, Badr SATRANI⁽¹⁾,
Abderrahman Aafi⁽¹⁾ et Abdelaziz CHAOUCH⁽²⁾

(1) Centre de Recherche Forestière, BP 763, Rabat Agdal, 10050, Maroc

(2) Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Qualité – UFR des génie des procédés,
Faculté des Sciences, Université Ibn-Tofail, BP 133, Kenitra, 14000, Maroc

RÉSUMÉ

Le rendement, la composition chimique et les propriétés antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle extraite de l'*Artemisia mesatlantica* de la région d'Ifrane Boulmane au Maroc ont été étudiés. La teneur moyenne en huile essentielle de cette espèce est 0,5% par rapport à la matière sèche. Soixante composés ont été identifiés par CG et CG/SM; La β -thujone (56,33%) constitue le principal composé identifié suivi du camphène (7,48%) et du camphre (4,17%). Une forte activité inhibitrice vis-à-vis des sept microorganismes étudiés a été enregistrée. Cette étude de la bioactivité de l'armoise de montagne est la première de son genre.

Mots-clés : activité antifongique et antibactérienne, huile essentielle, *Artemisia mesatlantica*, endémique.

ABSTRACT

Abstract: The purpose of this present work is to study the yield of the essential oil of an aromatic and endemic plant *Artemisia mesatlantica*. Additionally, we intend to determine the chemical composition of the essential oil stemming from this species, as well as the determination of its antibacterial and antifungal activity towards seven microorganisms. Our samples result from oriental Morocco, mainly from region between Ifrane and Boulmane. Sixty constituents were identified by chromatographic analysis (GC and GC/MS) in essential oil of this plant among which 3 are preponderant: β -thujone, camphene and camphor. The yield in essential oil of the *Artemisia mesatlantica* is in the order of 0.5% (mg/100g). The

* Auteure correspondante. Adresse pour le courrier électronique : hassania@gmail.com

essential oil of *Artemisia mesatlantica* showed a significant antimicrobial activity against all three tested fungi and four species of bacteria. To the best of our knowledge, this work is the first of its kind.

Keywords: *Artemisia mesatlantica*, essential oil, chemical composition, antifungal and antibacterial activities, endemic.

1. INTRODUCTION

Dans le souci constant de se préserver des maladies ou de trouver des méthodes afin de se soulager des douleurs, les humains ont cherché à extraire de leur biotope des substances que ce soit pour les transformer ou les utiliser en l'état (Croix, 2004).

Depuis deux décennies, des études ont été menées sur l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles. De nouvelles applications ont été développées dans le domaine de conservation alimentaire, d'industrie des parfums, des cosmétiques, de la pharmacie et de l'agroalimentaire.

Le secteur des Plantes Aromatiques et Médicinales (PAM) représente une importante activité commerciale au Maroc. Le Maroc exporte l'équivalent de 250 millions de dirhams en PAM vers les USA et l'Union Européenne (USAID, 2005). Les huiles essentielles rapportent à elle seules environ 165 millions de dirhams et on estime que ce potentiel peut doubler (USAID, 2005). Pour les régions de l'oriental, l'armoise et le romarin sont les deux espèces qui dominent le paysage aromatique et médicinal et qui font l'objet de transactions commerciales importantes (USAID, 2005.)

L'armoise ou le genre *Artemisia* comprend quelques 400 espèces, réparties sur les cinq continents (Vlatka Vajs, 2004). Au Maroc, il est représenté par douze espèces. L'huile essentielle contenue dans les feuilles des *Artemisia* dénommée 'Chih', est connue pour ses propriétés régulatrices du cycle menstruel. On l'utilise aussi pour soigner les infections urinaires. D'ailleurs, le nom de son genre vient du nom latin de la déesse Artémis et qui avait pour rôle de protéger les femmes malades (Croix, 2004). Le nom anglais Wormwood (attribué à toutes les armoises) fait allusion à son pouvoir vermifuge bénéfique pour l'homme et le bétail. En médecine chinoise, on l'utilise pour faire des moxas : bâtonnets d'armoise séchée que l'on fait brûler à proximité des points des méridiens pour les chauffer. Ce principe est utilisé en moxibustion et est une alternative à l'acupuncture et à l'acupression (Croix, 2004). L'huile essentielle, neurotoxique et abortive, est interdite pendant la grossesse et aussi chez le bébé et l'enfant.

Artemisia mesatlantica appartient au genre des Compositae, à la famille des Astéracées. Elle a été classée, selon l'UICN (Union Internationale pour la Conservation de la Nature en Afrique du Nord), comme une espèce endémique du Maroc, rare et en danger (Inventaire de la biodiversité, 2005). Elle se localise en Haut Atlas, Moyen Atlas et l'Anti Atlas. L'étagement de l'*A.mesatlantica* apparaît en Haut Atlas sur un sol limoneux pauvre et caillouteux. À 1900m d'altitude, *Artemisia herba-alba* abonde avec *A. mesatlantica* jusqu'à 2000m d'altitude où l'*A.mesatlantica* forme un peuplement piqueté de genévrier rouge (Ouyahya, 1982).

Cette étude a pour objet, la détermination de la composition chimique des huiles essentielles d'*A.mesatlantica* ainsi que son activité antimicrobienne vis-à-vis de quatre souches bactériennes et de trois espèces fongiques pour pouvoir valoriser cette espèce comme produit de bioconservation. À notre connaissance, cette armoise n'a jamais fait l'objet d'une étude antimicrobienne mis à part quelques rares travaux sur sa composition chimique.

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1. Matériel végétal

Les échantillons de la partie aérienne (tiges, feuilles et fleurs) d'*Artemisia mesatlantica* ont été récoltés au mois de Mars 2010, dans la région entre Ifrane et Boulmane. L'espèce a été identifiée par Pr. Aafi A., botaniste au Centre de Recherche Forestière, Rabat, Maroc.

2.2. Méthodes

Hydrodistillation.

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (Clevenger, 1928). Trois distillations ont été réalisées par ébullition pendant deux heures de 200 g de matériel végétal frais avec 1 litre d'eau dans un ballon de 2 litres surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant. Le rendement en huile essentielle a été déterminé par rapport à la matière sèche, évaluée à partir de 3 échantillons de 30 g séchés jusqu'au poids constant pendant 48 heures à l'étuve à 60 °C.

L'HE a été stockée à 4 °C à l'obscurité en présence de sulfate de sodium anhydre. Ensuite, elle est diluée dans du méthanol (1 % v/v) avant de procéder aux opérations d'analyses par CG et CG/SM selon la norme (Afnor, 2000).

Analyse chromatographique.

Les analyses chromatographiques de l'HE d'*Artemisia mesatlantica* ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse à régulation électronique de pression de type Hewlett Packard (série HP6890), équipé d'une colonne capillaire HP-5 (5 % diphényl, 95 % diméthylpolysiloxane) (30 m x 0,25 mm) avec une épaisseur du film de 0,25 µm, d'un détecteur FID réglé à 260 °C et alimenté par un mélange de gaz H₂/Air et un injecteur split-splitless réglé à 275 °C. Le volume injecté est de 1 µl. Le mode d'injection est split (rapport de fuite: 1/50 débit: 66 ml/min). Le gaz utilisé est l'azote avec un débit de 1,7 ml/min. La température de la colonne est programmée de 50 à 250 °C à raison d'une montée de 4 °C/min et un palier de 5 minutes à la température finale. La limite de détection est inférieure à 1 ppm. L'appareil est piloté par un système informatique de type « *HP ChemStation* », gérant le fonctionnement de l'appareil et permettant de suivre l'évolution des analyses chromatographiques.

L'identification des constituants a été réalisée en se basant sur leurs indices de Kováts (IK) (Jalali, 2007) et sur la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse à impact électronique (CPG-SMIE) (Kovats, 1965). Cette dernière est réalisée sur un chromatographe en phase gazeuse de type Hewlett-Packard (série HP6890) couplé avec un spectromètre de masse (série HP5973). La fragmentation est effectuée par impact électronique à 70 eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire HP-5 (5 % phényl méthyl siloxane, (30 m x 0,25 mm), l'épaisseur du film est de 0,25 µm. La température de la colonne est programmée de 50 à 250 °C à raison de 4 °C min⁻¹. Le gaz vecteur est l'hélium dont le débit est fixé à 1,5 ml/min. Le mode d'injection est du mode split (rapport de fuite : 1/70). L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectres de masse NIST 98. En effet, le système d'indice est basé sur une notion de rétention relative. Il compare la rétention d'un produit quelconque à celle d'un alcane linéaire. Ce système est applicable en chromatographie en phase gazeuse à tout composé sur toute colonne. Par définition, il attribue un indice de 800 à l'alcane linéaire en C₈ (n-octane), 1 000 à l'alcane linéaire en C₁₀ (n-décane), et ce, quel que soit la phase stationnaire, la longueur de la colonne, la température ou le débit.

Les IK sont déterminés en injectant un mélange des alcanes de C₉ à C₂₄ dans les mêmes conditions opératoires (Jalali, 2007). En général, la technique des IK est largement employée pour identifier les composés habituels des HE, mais elle est insuffisante pour déterminer la

composition chimique totale. Des tables d'IK spécifiques à chaque produit sont proposées dans la littérature. Elles ont été élaborées en utilisant des analyses sur différents types de colonnes. Ces indices de références sont comparés à ceux calculés à partir de nos échantillons.

Souches bactériennes et fongiques étudiées

Pour la détermination de l'activité antimicrobienne d'huiles essentielles d'*A.mesatlantica*, quatre souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Micrococcus luteus*) et trois moisissures (*Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium expansum*) ont été choisies. Ces bactéries sont pathogènes et sont connues pour leur forte antibiorésistance et leur pouvoir invasif et toxique chez l'Homme. Elles sont fréquemment rencontrées dans de nombreuses infections au Maroc et posent un problème clinique et thérapeutique. Les moisissures choisies sont toxiques et pathogènes. Ce sont des agents de pourriture fréquente des denrées alimentaires et des fruits et peuvent être toxiques pour l'Homme et les animaux.

Les souches bactériennes sont des lots de «American Type Culture Collection » (ATCC), elles sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance pendant 24 h à l'obscurité à 37 °C.

Les trois moisissures appartiennent à la collection de la mycothèque du Laboratoire de Microbiologie du Centre de Recherche Forestière, Rabat, Maroc. Elles sont cultivées par repiquage sur le milieu nutritif PDA (*Potato Dextrose Agar*) pendant 7j à l'obscurité à 25 °C.

2.3. Procédure microbiologique

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles essentielles ont été déterminées selon la méthode rapportée par Remmal *et al.* (1993) et Satrani *et al.* (2001). Du fait de la non miscibilité des huiles essentielles à l'eau et donc au milieu de culture, la mise en émulsion a été réalisée grâce à une solution d'agar à 0,2 % afin de favoriser le contact germe/composé. Des dilutions sont préparées au 1/10^e, 1/25^e, 1/50^e, 1/100^e, 1/200^e, 1/300^e et 1/500^e dans cette solution d'agar. Dans des tubes à essais contenant chacun 9 ml de milieu gélosé de TSA (Tryptic Soja Agar) pour les bactéries et de malt (2 %) pour les moisissures, stérilisés à l'autoclave (20 min à 121 °C) et refroidis à 45 °C, on ajoute 1 ml de chacune des dilutions de façon à obtenir les concentrations finales de 1/100, 1/250, 1/500, 1/1000, 1/2000, 1/3000 et 1/5000 (v/v). Puis on agite convenablement les tubes avant de les verser dans des boîtes de

Pétri. Des témoins, contenant le milieu de culture et la solution d'agar à 0,2 % seule, sont également préparés.

L'ensemencement se fait par stries à l'aide d'une anse de platine calibrée afin de prélever le même volume d'inoculum. Ce dernier se présente sous forme de bouillon de culture de 24 h pour les bactéries et sous forme d'une suspension dans l'eau physiologique de spores provenant d'une culture de 7 j dans le malt pour les moisissures. L'incubation se fait à 37°C à l'obscurité pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 7 j pour les champignons. Chaque essai est répété trois fois afin de minimiser l'erreur expérimentale.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1. Rendement et composition chimique

Le rendement

Le rendement moyen en huile essentielle a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. Le rendement en huile essentielle d'*Artemisia mesatlantica* a fourni un taux de 0,5 %.

Ce rendement peut être considéré comme moyen par rapport à certaines plantes qui sont exploitées industriellement comme source d'huiles essentielles. Il est plus élevé que celui de la rose (0,1-0,35 %) et plus faible que celui de la menthe poivrée (0,5-1 %), le néroli (0,5-1 %), l'anise (1-3 %), la lavande (0,8-2,8 %), le romarin (1-2,5 %) et le thym (2-2,75 %) (Edward *et al.* 1987).

Pour l'espèce d'armoise, notre rendement est faible comparativement à celui de 18 provenances d'armoise blanche en Tunisie (0,68 %-1,93 %) (Houari, 2009). La même variation infraspécifique du rendement d'armoise blanche a été notée en Espagne (0,41 % - 2,30 %) pour 16 échantillons de 4 provenances (Salido, 2004).

Au Maroc, corrélativement à une étude antérieure faite par notre équipe, notre rendement est équivoque à celui d'*Artemisia herba alba* de la région de Guercif au mois de septembre (0,56 %). Toutefois, il est moins élevé que celui de la cueillette du mois de Mars (0,86 %) et

du mois de juin (1,23 %) de la même plante (Ghanmi, 2010). On remarque une variabilité du rendement dans la même espèce. Même variation infraspécifique a été notée en Italie, le rendement d'*Artemisia verlotiorum* a enregistré un maximum au mois d'avril (0,6 %) et un minimum de 0,1 % au mois de janvier (Silvio Chericoni, 2004). Notre rendement reste moyen relativement à ces 2 espèces d'armoise.

Le plus haut pourcentage d'huile essentielle est enregistré chez *Artemisia cana* (1,3 %) et *Artemisia frigida* (1,5 %). Par contre, le rendement de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*, *Artemisia biennis*, *Artemisia dracuncululus*, *Artemisia longifolia* et *Artemisia ludoviciana*, compris entre (0,3 % et 0,5 %) (Lopes-Lutz, 2008), est inférieur à celui d'*Artemisia mesatlantica*.

Cette différence en rendement entre les armoises peut être attribué à de nombreux facteurs : stade de croissance, conditions pédoclimatiques et édaphiques de la région, technique d'extraction, etc (Fellah, 2006).

Composition chimique

Les analyses chromatographiques des HE d'*Artemisia mesatlantica* de la région d'Ifrane Boulmane ont révélé la présence de soixante composés volatils. Ces constituants représentent environ 99,77 % de l'huile essentielle de la plante.

La combinaison en composés volatils de cette espèce est variable, en terme de diversité et de concentration. L'huile essentielle d'*Artemisia mesatlantica* (tableau I) comprend des esters terpéniques avec l'acétate de terpinyle, des alcools terpéniques comme l' α -terpinéol et des monoterpènes tel que le camphène, le myrcène, le tricyclène et le limonène. Il y a également des oxydes avec le 1,8 cinéole, des cétones sesquiterpènes dont essentiellement la pipéritone et les sesquiterpènes comprenant l' α -muurolène, et le Δ -cadinène.

Tableau I : Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *l'Artemisia mesatlantica* récoltées au Maroc en Mars 2010 entre Ifrane et Boulmane

N*	IK	IK	Constituant	Aire %
	Biblio- graphie			
1	926	922	Tricyclène	0,09
2	931	928	α -thujène	0,83
3	939	943	α -Pinène	0,87
4	953	968	Camphène	7,48
5	976	972	Sabinène	0,25
6	980	975	β -pinène	0,08
7	991	986	Myrcène	0,19
8	1011	1016	Δ -3-carène	0,22
9	1018	1024	α -terpinène	0,47
10	1031	1027	Limonène	0,15
11	1033	1031	1,8-cinéole	2,63
12	1062	1055	cétone d'artemisia	0,50
13	1062	1064	δ -terpinène	0,88
14	1083	1083	Alcool d'Artemisia	0,08
15	1095	1095	α -oxide de pinène	0,52
16	1102	1101	α-thujone	1,38
17	1114	1114	β-thujone	56,33
18	1119	1118	Trans-pinan-2-ol	0,10
19	1133	1130	iso-3-thujanol	0,24
20	1136	1135	Cis- β -dihydro-terpinéol	1,93
21	1143	1140	Camphre	4,17
22	1158	1157	Trans- β -dihydro-terpinéol	0,30
23	1163	1161	Trans- β -Terpinéol	0,63
24	1177	1173	Terpin-4-ol	0,80
25	1181	1181	Thuj-3-en-10-al	0,09
26	1189	1187	α -terpinéol	0,26
27	1193	1193	Cis-pipéritol	0,61
28	1204	1204	Verbénone	0,16
29	1229	1224	Nordavanone	0,30
30	1258	1256	Trans myrtanol	0,77

31	1287	1287	δ -terpinène-7- al	0,23
32	1350	1350	α -acétate de terpinyl	0,17
33	1373	1368	longicyclène	0,11
34	1387	1372	Iso-longifolène	0,26
35	1398	1406	β -longipinène	0,12
36	1418	1412	E-Caryophyllène	0,61
37	1467	1465	9 -épi- E -caryophyllène	0,44
38	1480	1481	D -germacrène	2,29
39	1499	1497	α -muurolène	0,66
40	1503	1502	A -germacrène	0,27
41	1514	1514	Cubébol	0,30
42	1524	1522	Δ - cadinène	0,17
43	1549	1551	Elémol	0,16
44	1581	1573	Oxyde de caryophyllène	0,89
45	1586	1580	Davanone	1,23
46	1595	1587	Cis alcool d'artenuuique	0,31
47	1600	1599	Trans - β -élémodione	0,51
48	1606	1603	Epoxide II d' Humulène	0,92
49	1614	1612	1,10 -di- épi- cubénol	0,46
50	1627	1625	1- épi- cubénol	2,16
51	1637	1631	3 - iso - thujopsanone	0,18
52	1640	1636	Epi - α - cadinol	0,19
53	1649	1648	β -Eudesmol	0,30
54	1653	1655	α -cadinol	0,71
55	1674	1676	cadalène	0,56
56	1693	1684	Germacrone	0,30
57	1726	1723	Iso-longifolol	0,13
58	1741	1740	8- α - 11- élemodiol	1,39
59	1764	1769	14-oxy- α -muurolène	0,31
60	1814	1816	Iso-acétate de longifolol	0,12

IK = indices de Kováts

La classification des composants identifiés basée sur les groupements fonctionnels montre la dominance des monoterpènes oxygénés chez l'*A.mesatlantica*. Sa distribution est relativement élevée (71,61%). La β -thujone est le constituant principal (56,33%) suivi du camphène

(7,48%) et du camphre (4,17%). Ils sont accompagnés d'autres constituants minoritaires qui ne sont pas dénués d'importance: 1,8-cinéole (2,63%), D-germacrène (2,29%), 1-épi cubénol (2,16%), α -thujone (1,53 %) et davanone (1,23%). Ce qui concorde avec une étude antérieure de Holeman qui a démontré que, par hydrodistillation, la β -thujone constitue 60% de la plante d'*Artemisia mesatlantica* d'Ifrane Boulmane (Holeman, 1990). Il est frappant de noter que la distillation à la vapeur d'*A. mesatlantica* marocaine de la même région entre Ifrane et Boulmane et de la même année 1990 a révélé un chimiotype composé majoritairement de β -thujone et du camphre (34 et 32% respectivement) (Ouyahya, 1990). Cette distinction qualitative et quantitative peut être révélatrice de l'influence de la technique d'extraction sur la composition chimique d'huile essentielle.

L'HE d'*Artemisia mesatlantica* est comparable dans sa composition chimique à l'*Artemisia herba alba* (Astéracées) sauf pour la chrysanthénone, qui est inexistante chez la *mesatlantica*. Communément, l'huile essentielle d'armoise blanche est connue par sa composition en monoterpénoïdes, surtout oxygénés, comme le 1,8 cinéole, chrysanthénone, chrysanthénol, α/β thujones, davanone et le camphre comme composants majoritaires (Lawrence, 1981, 1989 – Ghanmi, 2010). La chrysanthénone est ainsi présente comme constituant majeur (47,71%) (Ghanmi 2010) chez la plupart des armoises. Cette différence de composition chimique peut être un indicateur pour différencier entre deux espèces voisines qui abondent à la même hauteur altitudinale (Ouyahya, 1990).

De ce fait, ce qui caractérise particulièrement la famille des Astéracées, c'est le polymorphisme chimique surtout chez les *Artemisia*. Cette variation ou chimiovariété peut se présenter d'un peuplement à l'autre ou même d'un individu à l'autre et peut être due à des facteurs exogènes comme l'ensoleillement, la nature et les composants du sol, la température, l'altitude, etc. et aux facteurs endogènes tel que le patrimoine génétique des individus. Ces facteurs constituent autant de paramètres qui influencent à la fois le rendement et la qualité chimique de l'huile essentielle (Garneau).

3.2. Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont reconnues par leurs composants naturels, comme les monoterpènes, diterpènes et les hydrocarbures avec des groupes fonctionnels divers. Dans les années 1990, Muanza et ses collaborateurs ont recherché des extraits de plantes potentiellement bioactifs contre les bactéries et les moisissures (Muanza, 1994 et Muanza,

1995). Depuis, beaucoup d'autres chercheurs ont rapporté l'effet antimicrobien (Sivropoulou *et al.* 1995, Sivropoulou *et al.* 1997, Cowan, 1999, Mau, 2001, Hoffman, 2004) et antifongique (Muller-Riebau *et al.* 1995; Adam *et al.* 1998; Moretti *et al.* 1998; Deferera *et al.* 2000, Sridhar *et al.* 2003; Rakotonirainy and Lavedrine, 2005) des huiles essentielles dans l'application agroalimentaire, la recherche pharmaceutique et dans d'autres domaines. Plusieurs composés sont souvent cités comme responsable des propriétés antiseptiques des huiles essentielles: le thymol, le carvacrol, le cinnamaldéhyde, l'eugénol, le 1,8-cinéole, le camphre et les thujones (Hubert, 2008).

Pour les huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, les résultats de l'activité antibactérienne et antifongique sont résumés dans le tableau II.

Tableau II : Activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle de
Artemisia mesatlantica
Collectées au Maroc au mois de Mars 2010 dans la région d'Ifrane Boulmane

	Dilutions v/v							Témoin
	1/100	1/250	1/500	1/1000	1/2000	1/3000	1/5000	
Bactéries								
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	+	+	+
Moisissures								
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillium expansum</i>	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillium digitatum</i>	-	+	+	+	+	+	+	+

(-) inhibition ; (+) croissance/développement

En général, Les germes pathogènes utilisés dans ce biotest ont été sensibles à l'huile essentielle de l'*A.mesatlantica*. Les seuils d'activité antibactérienne se situent entre 1/1000 et 1/3000 v/v. Ceux de l'activité antifongique sont entre 1/100 et 1/250 v/v. Les bactéries étaient donc plus vulnérables à l'essence de l'armoise de montagne que les champignons.

L'HE d'*A.mesatlantica* montre une activité fongitoxique contre toutes les moisissures testées. *Aspergillus niger* et *Penicillium expansum* ont manifesté le même degré d'inhibition (1/250 v/v), tandis que *Penicillium digitatum* était la plus résistante des moisissures étudiées avec la concentration d'inhibition de 1/100 v/v.

En contre partie, pour les bactéries, la concentration de 1/3000 v/v a été suffisante pour arrêter la croissance de *Bacillus subtilis* (Gram +) qui s'est montré le plus vulnérable à cette HE, suivi du *Staphylococcus aureus* (Gram +) et d'*Escherichia coli* (Gram -) qui ont été inhibé à partir de la concentration minimale de 1/2000 v/v. Par contre, *Micrococcus luteus* (Gram +) a été inhibé à la concentration en huile essentielle de 1/1000 v/v.

La présence d'une teneur importante de monoterpènes oxygénés (thujones, camphène, camphre et 1,8-cinéole) dans l'huile essentielle d'*Artemisia mesatlantica* peut être responsable de son activité prononcée contre *Staphylococcus aureus* et sa haute activité contre *Bacillus subtilis*. En effet. Il a été démontré que le *Staphylococcus aureus* est le plus affecté par les monoterpènes cétones comme les thujones (Dorman, 2000, Oussalah, 2007). À l'inverse, une armoise *A.campestris* qui est composée essentiellement de monoterpènes hydrocarbonés, a révélé une activité antimicrobienne faible contre les germes pathogènes comme *E. coli* et *S. aureus* (Akrou, 2010). Ce qui indique que la présence d'une fonction oxygène dans la structure augmente les propriétés bactériostatique et fongistatique des terpénoïdes.

Des études antécédentes ont démontré que la majorité des HE testées pour leur propriétés antibactériennes ont un effet plus prononcé contre les Gram +. La résistance des Gram – est attribuée à leur membrane externe hydrophile qui peut bloquer la pénétration de composés hydrophobes dans la membrane cellulaire cible (Wan, 1998). L'action relative des thujones et de l'eucalyptol (ou 1,8-cinéole) a été associée à leur basse hydrosolubilité et la capacité de former des liaisons hydrogènes, ce qui limite leur entrée dans les Gram – qui possèdent des voies hydrophobes inopérants dans la membrane externe (Faleiro, 2003).

En outre, la stéréochimie influence l'activité antibactérienne. Il a été observé que les α -isomères sont moins actifs relativement aux β -isomères (Dorman, 2000). Du moment que la β -thujone, est le composé majoritaire (56,33%) de l'huile d'*Artemisia mesatlantica* du Maroc, elle lui confère une forte propriété antiseptique en plus d'autres caractéristiques physiologiques; elle est abortive, antibactérienne, emménagogue, insecticide et larvicide (Duke, 1998).

En complément à cela, d'autres composés de cette huile ont des activités biologiques intéressantes. Le camphre, par exemple, présente une activité antibactérienne, antidysentérique et aussi fongicide (Tantaoui-Elaraki, 1993). Le pourcentage du camphre est de 4,17%. Ce qui pourrait être potentiellement une raison de l'hypersensibilité microbienne envers l'HE d'*A. mesatlantica* (Tabanca, 2001).

Cette activité antibactérienne des HE pourrait être expliquée par l'interaction moléculaire des groupements fonctionnels des composants des HE avec la paroi des bactéries ce qui provoque de profondes lésions. On peut conclure donc que cette activité peut être le résultat d'un effet synergique entre plusieurs composés de cette HE (Felice et al, 2004).

4. CONCLUSION

Le présent travail est consacré à la détermination du rendement, de la composition chimique et des propriétés antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle extraite de l'armoise de montagne *Artemisia mesatlantica* récoltée dans la région entre Ifrane et Boulmane (Maroc) en Mars 2010. Le rendement moyen en huile essentielle est 0,5 %. Les analyses chimiques, par CG et CG/SM, ont permis d'identifier environ 99,77 % des produits volatiles totaux de cette essence. La β -thujone (56,33 %) constitue le principal composé identifié parmi les soixante caractérisés suivi du camphène (7,48 %) et du camphre (4,17 %). Les résultats obtenus, dans cette étude, montrent que l'huile essentielle d'*Artemisia mesatlantica* présente, *in vitro*, une activité inhibitrice importante sur les quatre bactéries et trois champignons testés. Les composants majeurs comme la β -thujone, le camphre et le 1,8 cinéole peuvent être responsable de la différenciation de l'activité antimicrobienne. D'ailleurs, tous ces composés sont bien connus pour leurs propriétés antimicrobiennes. Les performances antibactérienne et

antifongique mises en évidence méritent d'être étudiées avec plus de détails afin d'envisager des perspectives d'application de cette essence comme agent de bioconservation.

5. RÉFÉRENCES

- 1- K. Adam, A. Sivropoulou, S. Kokkini, T. Lanaras and M. Arsenakis, 'Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *Hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia* and *Salvia fruticosa* essential oil against human pathogenic fungi," *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46** (1998), 1739–1745.
- 2- Afnor (2000) Huiles essentielles. Échantillonnage et méthodes d'analyse (tome 1) – Monographies relatives aux huiles essentielles (tome 2. volumes 1 et 2) mars.
- 3- Ahmed Akrouf, Hajer El Jani, Sondes Amouri, Mohamed Neffati *Recent Research in Science and Technology 2010* Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba alba* Asso, & *thymus capitatus* Hoff. et Link. Growing wild in the southern of Tunisia *Rec Res Sci Tech* **2** (2010) 29-39.
- 4- Silvio Chericoni, Guido Flamini, Elisabetta Campeol, Pier Luigi Cioni and Ivano Morelli, *Biochemical Systematics and Ecology* Volume **32** (4), (2004) 423-429: "GC-MS analyses of the essential oil from the aerial parts of *Artemisia verlotiorum*: variability during the year".
- 5- Edward P. Claus., Varro E.T., Lynn R. B. (1987). *Pharmacognosy*, sixth edition. LEA et Febriger (ed):184-187.
- 6- Clevenger JF (1928) Apparatus for volatile oil determination: description of New Type Clevenger. *Am Perf Ess Oil Review* 467–503
- 7- L. Coassini Lokar, V. Maurich G. Mellerior, M. Moneghini And L. Poldini. *Biochemical Systematics and Ecology*, **15** (3), 327-333, (1987). "Variation in Terpene Composition of *Artemisia alba* in Relation to Environmental Conditions.
- 8- M.M. Cowan, Plant products as antimicrobial agents, *Clinical Microbiology Reviews* **12** (1999), 564–582.
- 9- Serge Ville Croix (2004) « Guide pratique des moxas: Organes et zones douloureuses tome I ». AMBRE EDITIONS.
- 10- Serge Ville Croix (Genève 2004) « Guide pratique des moxas Traitement des maladies ».

- 11- D.J. Deferera, B.N. Ziogas and M.G. Polissiou, “GC-MS Analysis of essential oil from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48** (2000), 2576–2581.
- 12- Dorman, H.J.D., Deans, S.G. 2000. “Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, **88**, 308-316.
- 13- Duke J.A. 1998. USDA – ARS – NGRl (ed), Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland. ‘Phytochemical Database’.
- 14- Faleiro, M.L., Miguel, M.G., Ladeiro, F., Vanancio, F., Tavares, R., Brito, J.C., Figueirido, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G. (2003). Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of *Thymus*. *Lett. App. Microbiol.*, **36**, 35-40.
- 15- S. Fellah, M. Romdhane, M. Abderraba, (2006). « Extraction et étude des huiles essentielles de *la Salvia officinalis*.l cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie » *J.soc.alger.chim.*, 2006, **16**(2), 193-202. journal de la société algérienne de chimie.
- 16- Felice S. , N. Francesco, A.A. Nelly, B. Maurezio & H. Werner, 2004 – Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea falcata* L. *Flav. Fragr. J.*, **20** (3), 291 – 294.
- 17- François-Xavier Garneau, corporation :LASEVE-UQAC, Chicoutimi (Québec) G7H 2B1 *Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation – Manuel pratique* « le matériel végétal et les huiles essentielles ».
- 18- Ghanmi M., B. Satrani, A. Aafi, M.R. Isamili, H. Houti, H. El Monfalouti, K.H. Bencheqroun, M. Aberchane, L. Harki,A. Boukir, A. Chaouch, Z. Charrouf. *Phytothérapie* (2010) **8**, 295 – 301 : « Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l’armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guercif (Maroc oriental). »
- 19- Haouari Mohsen - Ferchichi Ali. *Molecules* 2009, **14**, 1585-1594: « Essential Oil Composition of *Artemisia herba-alba* from Southern Tunisia”.
- 20- B.R. Hoffman, H. DelasAlas, R.E. Wiederhold and L. William, “Screening of antibacterial and antifungal activities of ten medicinal plants from Ghana” *Pharmaceutical Biology* **42** (2004) (1), 13–17.
- 21- M. Holeman, A. Idrissi, M. Berrada, 1991: « Flavonoids and Sesquiterpene Lactones of *Artemisia mesatlantica* ». *Planta Med* Apr; **57** (2), 198-9.

- 22- Hubert Richard : Avril 2008 « Épices et herbes aromatiques »©"Vie", *site ressource en Sciences de la Vie*.
- 23- Jalali HM, Sereshti H (2007) *J Chromatogr A* 1160(1 & 2): 81–9: "Determination of essential oil components of *Artemisia haussknechtii* Boiss. Using simultaneous hydrodistillation- static headspace liquid phase microextraction-gas chromatography mass spectrometry".
- 24- Kovàts E (1965) Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. *Adv Chromatogr* 7: 229–47.
- 25- Lamnaouer Driss. Octobre 2002: Programme de l'UICN en Afrique du Nord « Détermination des espèces en danger dans le Parc National de Toubkal ».
- 26- B. M. Lawrence (1989). **14**(3), 71-6, 78-80 'Progress in essential oils, perfume. & flavor.'
- 27- B. M. Lawrence (1981). **6**(1), 37-8, 43-6 "Progress in essential oils, perfume. & flavor."
- 28- Daíse Lopes-Lutz a, Daniela S. Alviano b, Celuta S. Alviano b, Paul P. Kolodziejczyk. *Phytochemistry*, **69** (2008) 1732–1738 Brazil: "Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils".
- 29- J.L. Mau, C.P. Chen and P.C. Hsieh: "Antimicrobial effect of extracts from Chinese chive, cinnamon and *Corni fructus*," *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49** (2001),183–188.
- 30- M.D. Moretti, A.T. Peana, A. Franceschini and C. Carta, *In vivo* activity of *Salvia officinalis* oil against *Botrytis cinerea*, *Journal of Essential Oil Research*, **10** (1998), 157–160.
- 31- Muanza et al., 1994 K. Muanza, B.W. Kim, K.L. Euler and L. William, Antibacterial and antifungal activities of nine medicinal plants from Zaire, *International Journal of Pharmacology* 32 (1994) 337–345.
- 32- Muanza et al., 1995 D.N. Muanza, K.L. Euler and L. William, 'Screening for antitumor and anti-HIV activities of nine medicinal plants from Zaire', *International Journal of Pharmacology* **33** (1995), pp. 98–106. Oussalah M., S. Caillet, L. SAUCIER and M. Lacroix. *Food Control*. **18** (5) (2007), 414-420.
- 33- F. Muller-Riebau, B. Berger and O. Yegen, "Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oil of selected aromatic plants growing wild in Turkey", *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **43** (1995), 2262–2266.

- 34- Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., Lacroix, M. (2007), "Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* *Thyphimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*". *Food Control*, **18**, 414-420.
- 35- Ouyahya, Aicha *Bulletin de l'Institut Scientifique*, Rabat, (1982), n 6, 89 - 103 « Étude d'une combinaison nouvelle d'armoise au Maroc *Artemisia negrei* ouyahya *A.mesatlantica* var. *Subsimplex* HUMBERT ET MAIRE ».
- 36- Ouyahya A., Negre R., Viano J., Lozano Y., Gaydou E.M., (1990), *Lebensmittelwissenschaft & technologie*, 23, 528-530 : "Essential oils from Moroccan *Artemisia negrei*, *A. mesatlantica* and *A. herba alba*."
- 37- M.S. Rakotonirainy and B. Lavedrine, "Screening for antifungal activity of essential oils and related compounds to control the biocontamination in libraries and archives storage areas", *International Biodeterioration and Biodegradation* **55** (2005), 141–147.
- 38- Remmal A, Tantaoui-Elaraki A, Bouchikhi T, *et al.* (1993) *J Ess Oil Res* **5**, 179–84 "Improved method for determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium."
- 39- Salido, S.; Valenzuela, L.R.; Altarejos, J.; Nogueras, M.; Sanchez, A.; Cano, E. *Biochem. Syst. Ecol.* 2004, **32**, 265-277: « Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain ».
- 40- Satrani B, Farah A, Fechtal M, *et al.* (2001) *Ann Fals Exp Chim* 94 (956), 241–50 « Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Saturja calamintha* et *Saturja alpina* du Maroc. »
- 41- Sivropoulou, S. Kokkini and T. Lanaras, "Antimicrobial activity of mint essential oil", *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **43** (1995), 2384–2388.
- 42- Sivropoulou, C. Nicolaou, E. Papanikolaou, S. Dokkini, T. Lanaras and M. Arsenakis, "Antimicrobial, cytotoxic and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oil", *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45** (1997), 3197–3201.
- 43- S.R. Sridhar, R.V. Rajagopal, R. Rajavel, S. Masiilamani and S. Narasimhan, "Antifungal activity of some essential oils", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **512** (2003), 7596–7599.
- 44- N. Tabanca, N. Kirimer, B. Demirci, F. Demirci and K.H.C. Baser, *J. Agric. Food Chem* **49** (2001), 4300

- 45- Tantaoui-Elaraki A., Ferhout H., Errifi A., (1993), *J. Essent. Oil Res.*, **5**, 535-545
“Inhibition of the fungal asexual reproduction stages by three Moroccan essential oils.”
- 46- USAID : Chemonics international, inc. Filière des Plantes Aromatiques et Médicinales
Submitted to: U.S. Agency for International Development (USAID)/Morocco mission
Septembre 2005
- 47- Wan, J., Wilcock, A., Coventry, M.J. 1998. “The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*.”, *J. Appl. Microbiol.*, **84**: 152-158.
- 48- « Inventaire de la biodiversité 2005 ». Projet d'aménagement et de protection des massifs forestiers de la province d'Ifrane - Parc National d'Ifrane.