

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou**  
**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques**  
**Département de Biochimie-Microbiologie**



## *Mémoire de fin d'étude*

*En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques*

*Option : Microbiologie Appliquée*

## **Thème**

*Screening phyto-chimique et étude des activités biologiques :  
anti-oxydante, antibactérienne et insecticide des polyphénols et  
de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* (armoise blanche),  
contribution à la caractérisation d'extrait aqueux par RP-HPLC*

**Présenté par :**

**HABERA Fatma et LAOUDI Kenza**

<b>Président :</b>	Mr HOUALI Karim	Professeur	UMMTO
<b>Promoteur :</b>	Mr SEBBANE Hillal	MACA	UMMTO
<b>Co-promotrice :</b>	Mlle LAOUDI Tinhinane	Doctorante en Biologie	UMMTO
<b>Examineurs :</b>	Mme HELLAL Zohra	MACA	UMMTO
	Mr MOUALEK Idir	MCB	UMMTO

**Année universitaire : 2018-2019**

## Remerciements

*Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant qui nous a donné l'envie et la force pour réaliser ce travail.*

*Nous tenons à remercier en particulier notre promoteur Mr. SEBBANE Hillal, maitre assistant classe A à l'UMMTO, ce fut à la fois un plaisir et une chance d'avoir bénéficié de son encadrement et ses conseils judicieux apportés tout au long de ce travail. Nous lui témoignons notre reconnaissance pour ce thème intéressant qui nous a permis de vivre une expérience inoubliable.*

*Nous adressons nos sincères remerciements et gratitude à notre co-promotrice Mlle. LAOUDI Tinhinane : Doctorante en biologie, pour avoir accordé de son précieux temps son aide et ses conseils afin de nous familiariser avec ce mystérieux monde des insectes.*

*Nos remerciements vont également à Mr. HOUALI Karim, le président du jury, professeur à l'UMMTO d'avoir accepté de nous honorer de sa présence, afin d'e présider notre travail et pour ses remarques pertinentes et son aide précieux.*

*Nos sincères remerciements vont également à Mme. HELLELAL Zohra, maitre assistante classe A à l'UMMTO, membre de jury pour avoir accordé de son précieux temps pour évaluer notre travail, qu'elle trouve ici, le témoignage de notre profond respect.*

*Nous tenons à remercier chaleureusement Mr. MOUALLEK Idir, pour avoir accordé de son précieux temps et ses conseils, et aussi pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce mémoire.*

*Nos remerciements les plus cordiaux s'adressent à Mme. LAHCENE Souad qui nous a fournis la plante sur laquelle nous avons fait notre expérimentation.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères gratitude à Mr. TITOUCHE Yacine, qui nous a fourni les souches qui ont fait l'objet de nos tests; Mr. BARIZ Karim et Mme. BEDOUHENE Samia qui nous ont mis à notre disposition les dispositifs d'extraction des huiles essentielles ;*

*Enfin, nos remerciements vont à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, en particulier nos enseignants et ingénieur du laboratoire LABAB, à l'élaboration de ce travail et de fait qu'ils ont pris la peine de nous aider et de nous prodiguer leurs précieux remarques et orientations malgré leurs occupations diverses.*

## Dédicaces

---

*Je dédie ce travail à mes chers parents, Sadia et Tahar, pour tous leurs sacrifices, leur soutien et leurs prières depuis mon enfance, Puisse Allah vous procure bonne santé, longue vie, faire en sorte que jamais je ne vous déçoive et que votre bénédiction m'accompagne toujours.*

*Mes dédicaces vont :*

- ☀ A mes sœurs Dalila et Naima.*
- ☀ A mes frères Said, Toufik et le petit Mohammed.*
- ☀ A mon frère Abdarazzak et son épouse Kahina.*
- ☀ A mes grands-parents maternelle Idir et Malha ; et à mon grand-père paternel Abdelhamid. Source de savoir et sagesse que j'aime beaucoup en vous, je vous souhaite bonne santé et longue vie.*
- ☀ A la mémoire de ma grand-mère paternelle, Madjida qui a toujours attendu ma réussite, j'oublierais jamais tes conseils, que Dieu le plus puissant t'accueille en son vaste paradis.*
- ☀ A ma très chère tante Ouarda et mes oncles.*
- ☀ A ma chère Kenza, ce fut un immense plaisir de travailler avec toi tout au long de cette année et je te souhaite du bonheur et de la réussite. Sans oublier tes parents et ta famille que Dieu te les protège.*
- ☀ A mes profs du sport Ghilasse et Mastanabale, merci pour tous les moments inoubliables que nous avons passé ensemble.*
- ☀ A toutes mes amies en particulier Nadjiba, Taous, Imen, Fazia.*
- ☀ A tous mes camarades de la promotion microbiologie appliquée 2018/2019.*

*Fatma*

## *Dédicaces*

---

*Ce modeste travail est dédié à tous ceux que j'aime :*

- ✿ Aux êtres les plus chers au monde qui se sont sacrifiés pour m'offrir un climat idéal de travail, qui m'ont apporté leur soutien et encouragements depuis toujours, mes très chers parents, merci pour tout.*
- ✿ A mes très chères sœurs et beaux-frères qui m'ont offert un entourage particulier, pour leur présence, leurs encouragements, sans oublier mon petit frère,*
- ✿ A mon grand frère et à ma belle sœur,*
- ✿ Aux prunelles de mes yeux mes nièces et mes neveux,*
- ✿ A ma grand-mère et à Khalti Chabha,*
- ✿ A ma très chère Fatma avec qui j'ai partagé une expérience particulière,*
- ✿ A tous les enseignants qui m'ont suivi au long de mon cursus,*
- ✿ A tous mes amis,*
- ✿ A mes camarades de la promotion microbiologie appliquée 2018/2019.*

*Kenza*

## Résumé

Le but de ce travail est la valorisation de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba* collectée à Tamanrasset. Les rendements des polyphénols des extraits éthanoliques (96%) et aqueux sont de  $30.03 \pm 2.07$  % et  $15.68 \pm 0.40$  % respectivement. Le rendement de l'huile essentielle est de 0.18 %. Le screening phytochimique des deux extraits a révélé la présence de quelques molécules bioactives telles que les flavonoïdes et les phénols, ces résultats sont confirmés par RP-HPLC. Quant aux résultats du dosage, ils montrent clairement que l'extrait aqueux présente les meilleures teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins avec des taux respectifs de :  $97.17 \pm 1.06$  mg EAG/g de MS,  $35.61 \pm 0.39$  mg EQ/g de MS et  $46.58 \pm 0.91$  mg EAT/g de MS. L'activité antiradicalaire du DPPH a montré que notre plante a une faible activité par rapport au standard avec des  $IC_{50}$  des extraits et de l'HE de : 0.735, 2.02 et 1.088 mg/mL respectivement. Par contre, l'HE a un pouvoir réducteur du fer similaire à celui du standard avec un  $Pr_{0.5}$  de 0.030 mg/mL contrairement aux extraits qui ont un faible pouvoir. L'évaluation de l'activité antibactérienne vis-à-vis d'*E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus* et *E. faecalis* par la méthode des puits indique que l'HE a une faible activité vis-à-vis des 4 souches. *B. cereus* a présenté une sensibilité plus élevée pour LEA avec une CMI de 0.05 mg/mL et *E. faecalis* est la souche la plus sensible à LEE avec une CMI de 0.12 mg/mL. L'évaluation de l'activité insecticide de l'hydrolat et de l'HE sur *T. confusum* est réalisée par la méthode d'inhalation. Les résultats montrent que la toxicité de l'hydrolat est très faible par rapport à celle de l'HE qui atteint 50 % de mortalité à la dose 20  $\mu$ L. De ce fait, cette plante peut être utilisée comme source de molécules bioactives ayant des propriétés thérapeutiques et insecticides.

**Mots clés :** *Artemisia herba alba*, screening phytochimique, RP-HPLC, activité antioxydante, activité antibactérienne, insecticide, hydrolat, huile essentielle.

## Abstract

The purpose of this work is to valorize the *Artemisia herba alba* collected in Tamanrasset's era. The polyphenol yields of ethanol extracts (96 %) and aqueous extracts are  $30.03 \pm 2.07$  % and  $15.68 \pm 0.40$  % respectively. The production of the essential oil is 0.18 %. Phytochemical screening of the two extracts revealed some bioactive molecules such as flavonoids and phenols, it's confirmed by RP-HPLC. As for the assay results, they clearly show that the aqueous extract has the best levels of polyphenols, flavonoids and tannins with respective levels of :  $97.17 \pm 1.06$  mg EAG/g of MS,  $35.61 \pm 0.39$  mg EQ/g of MS and  $46.58 \pm 0.91$  mg EAT/g of MS. The antiradical activity of DPPH has shown that our plant has a low activity compared to the standard with  $IC_{50}$  extracts and HE of 0.735, 2.02 and 1.088 mg/mL respectively. On the other side, EO has an iron reducing power similar to that of the standard with a  $Pr_{0.5}$  of 0.030 mg/mL unlike extracts which have a low power. The evaluation of antibacterial activity against *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus* and *E. faecalis* by the well method indicates that EH has low activity against all 4 strains. *B. cereus* showed a higher sensitivity for LEA with a MIC of 0.05 mg/mL and *E. faecalis* is the most sensitive strain to LEE with a MIC of 0.12 mg/mL. The evaluation of the insecticidal activity of hydrolate and EH on *T. confusum* is carried out by the inhalation method. The results show that the toxicity of the hydrolate is very low compared to that of the EO which reaches 50 % mortality at the 20  $\mu$ L dose. As a result, this plant can be used as a source of bioactive molecules with therapeutic and insecticidal properties.

**Key words :** *Artemisia herba alba*, phytochemical screening, RP-HPLC, antioxidant activity, antibacterial activity, insecticide, hydrolat, essential oil.

# SOMMAIRE

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction .....	01

## Première partie : Synthèse bibliographique

### Chapitre I : Présentation et description de l'armoise blanche

1. Historique et origine.....	03
1.1. Historique.....	03
1.2. Origine.....	03
2. Description botanique de l'armoise blanche.....	03
3. Systématique et appellations vernaculaires.....	04
3.1. Systématique.....	04
3.2. Appellations.....	05
4. Répartition géographique.....	05
5. Utilisation thérapeutique.....	05
6. Composition chimique.....	06

### Chapitre II : Métabolites secondaires

1. Généralités sur les métabolites secondaires.....	07
1.1. Composés phénoliques.....	07
1.1.1. Flavonoïdes.....	08
1.1.2. Tanins.....	09
1.1.2.1. Tanins hydrolysables.....	10
1.1.2.2. Tanins condensés ou tanins catéchiqes.....	10
1.2. Alcaloïdes.....	11
1.3. Terpènes (Huiles essentielles).....	12
1.3.1. Propriétés physiques des HE.....	13
1.3.2. Propriétés biologiques des HE.....	13
1.3.3. Procédés d'extraction des HE.....	14
2. Hydrolat.....	17

### Chapitre III : Activités biologiques

1. Activité antioxydante.....	18
1.1. Stress oxydatif.....	18
1.2. Radicaux libres.....	18
1.3. Antioxydants.....	19
2. Activité antibactérienne.....	20
2.1. Activité antibactérienne des plantes.....	20
2.2. Caractéristiques des souches bactériennes.....	20
3. Activité insecticide .....	22
3.1. Description du <i>Tribolium confusum</i> .....	22

3.2. Origine et répartition géographique.....	23
3.3. Systématique.....	23
3.4. Méthode de lutte contre les insectes ravageurs des denrées stockées.....	23

## Deuxième partie : Expérimentation

### Chapitre IV: Matériel et méthodes

1. Matériel.....	26
1.1. Matériel biologique .....	26
1.1.1. Matériel végétal.....	26
1.1.2. Souches bactériennes.....	26
1.1.3. Insecte.....	26
1.2. Produits chimiques et milieux de culture.....	26
1.3. Antibiotiques.....	28
2. Méthodes.....	28
2.1. Préparation des différents extraits de l'armoise blanche.....	28
2.1.1. Préparation de l'extrait aqueux.....	29
2.1.2. Préparation de l'extrait éthanolique.....	29
2.2. Détermination du rendement de l'extraction.....	29
2.3. Détermination de la concentration maximale des extraits.....	31
2.4. Analyses qualitatives des extraits.....	31
2.4.1. Screening phytochimique.....	31
2.4.2. Chromatographie en phase liquide à haut performance en phase inverse (RP-HPLC).....	33
2.5. Analyses quantitatives des extraits.....	34
2.5.1. Dosage des polyphénols totaux.....	34
2.5.2. Dosage des flavonoïdes.....	35
2.5.3. Dosage des tanins condensés.....	38
2.6. Huile essentielle.....	39
2.6.1. Procédés d'extraction de l'HE.....	39
2.6.2. Rendement en HE.....	40
2.7. Tests des activités biologiques.....	41
2.7.1. Test de l'activité antioxydante.....	41
2.7.1.1. Test de piégeage des radicaux libres DPPH.....	41
2.7.1.2. Test de la réduction du fer FRAP.....	44
2.7.2. Test de l'activité antibactérienne.....	46
2.7.2.1. Revivification et contrôle de la pureté des souches.....	46
2.7.2.2. Préparation de l'inoculum et standardisation .....	46
2.7.2.3. Antibiogramme des souches cible.....	47
2.7.2.4. Activité antibactérienne des extraits et de l'HE (technique d'aromatogramme).....	48
2.7.2.5. Détermination de la CMI.....	49
2.7.3. Test de l'activité insecticide.....	51
2.7.3.1. Préparation du substrat.....	51
2.7.3.2. Valorisation de l'hydrolat et étude de l'activité insecticide de l'HE d' <i>A. herba alba</i> .....	51
2.7.3.3. Analyse des données.....	52

## Chapitre V: Résultats et discussions

1. Rendement des extraits secs et de l'HE.....	53
2. Résultats de l'analyse qualitative .....	54
2.1. Screening phytochimique.....	54
2.2. Résultats de RP-HPLC.....	55
3. Résultats de l'analyse quantitative des extraits (Dosages).....	56
3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	56
3.2. Dosage des flavonoïdes.....	59
3.3. Dosage des tanins condensés.....	61
4. Résultats des tests des activités biologiques.....	62
4.1. Test de l'activité antioxydante .....	62
4.1.1. Test du piégeage des radicaux libres DPPH .....	62
4.1.2. Test de la réduction du fer FRAP.....	64
4.2. Test de l'activité antibactérienne.....	66
4.2.1. Vérification de la pureté des souches.....	66
4.2.2. Résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne.....	66
4.2.2.1. Sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme) .....	66
4.2.2.2. Evaluation du pouvoir antibactérienne.....	67
4.2.2.3. Détermination de la CMI pour les extraits et l'HE.....	73
4.3. Test de l'activité insecticide.....	75
4.3.1. Evaluation de l'effet par inhalation de l'hydrolat d' <i>A. herba alba</i> sur <i>T. confusum</i> .....	75
4.3.2. Evaluation de l'effet par inhalation de l'HE d' <i>A. herba alba</i> sur <i>T. confusum</i> .....	76
Conclusion .....	79
Références bibliographiques.....	81
Annexes	

## Liste des abréviations

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**AFNOR** : Association française de normalisation

**BHIB** : Bouillon cœur-cervelle

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**DO** : Densité optique

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

**EAG** : Equivalent d'acide gallique

**EAT** : Equivalent d'acide tannique

**EQ** : Equivalent quercétine

**ER** : Equivalent rutine

**FRAP** : Ferric Reducing Antioxidant Power

**GABA** : Gamma-aminobutyric acid. Acide  $\gamma$ -aminobutyrique

**H** : Heure

**HE** : Huile essentielle

**ISO** : International Organization for Standardization (Organisation internationale de normalisation)

**LEA** : Lyophilisat de l'extrait aqueux.

**LEE** : Lyophilisat de l'extrait éthanolique.

**MH** : Milieu Mueller-Hinton

**O<sub>2</sub><sup>•-</sup>** : Radical super oxyde

**OH<sup>•</sup>** : Radical hydroxyle

**P** : Pression

**UF** : Unité fourragère

**UFC** : Unité formant de colonie

**UV** : Ultra violet

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b>	classification d' <i>A. herba alba</i> .....	04
<b>Tableau II :</b>	structure des tanins hydrolysables et condensés.....	10
<b>Tableau III :</b>	classes et structures des terpènes.....	12
<b>Tableau IV :</b>	classification du tribolium brin de la farine.....	23
<b>Tableau V :</b>	différents produits chimiques.....	27
<b>Tableau VI :</b>	différents milieux de culture utilisés.....	28
<b>Tableau VII :</b>	antibiotiques utilisés pour l'activité antibactérienne.....	28
<b>Tableau VIII :</b>	résultats du test des saponines en fonction de l'épaisseur.....	32
<b>Tableau IX :</b>	préparation de la gamme des dilutions de l'acide gallique.....	35
<b>Tableau X :</b>	préparation de la gamme des dilutions de la quercétine.....	37
<b>Tableau XI :</b>	préparation de la gamme de dilution de l'acide tannique.....	43
<b>Tableau XII :</b>	préparation de la gamme de dilution de l'acide ascorbique pour le DPPH.....	43
<b>Tableau XIII :</b>	préparation de la gamme des dilutions de l'acide ascorbique pour la FRAP.....	44
<b>Tableau XIV :</b>	aspect, couleur, rendement et concentration maximal de saturation des lyophilisats (aqueux et éthanolique) et de l'HE d' <i>A. herba alba</i> ....	53
<b>Tableau XV :</b>	résultats du screening phytochimique d' <i>A. herba alba</i> .....	54
<b>Tableau XVI :</b>	liste des métabolites identifiés dans l'extrait d' <i>A. herba alba</i> par RP-HPLC.....	56
<b>Tableau XVII :</b>	résultats d'IC <sub>50</sub> des différents échantillons de l'armoise blanche et du standard.....	63
<b>Tableau XVIII :</b>	concentration efficace de la réduction du fer à une absorbance de 0.5 nm pour les extraits, l'HE et l'acide ascorbique.....	65
<b>Tableau XIX :</b>	résultats de la coloration de Gram et de la catalase.....	66
<b>Tableau XX :</b>	les antibiotiques utilisés comme témoin positif sur les différentes souches étudiées.....	67
<b>Tableau XXI :</b>	résultats de l'aromatogramme pour l'évaluation de l'activité antibactérienne de différents extraits et de l'HE.....	67
<b>Tableau XXII :</b>	résultats de la CMI des extraits aqueux et éthanolique et de l'HE d' <i>A. herba alba</i> sur les quatre souches testées.....	74

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b>	armoïse blanche et ses différentes parties.....	04
<b>Figure 2 :</b>	différents types de flavonoïdes à partir de l'élément structural de base.....	09
<b>Figure 3 :</b>	schéma du principe de la technique d'hydrodistillation.....	14
<b>Figure 4 :</b>	schéma du principe de la technique d'entraînement à la vapeur et l'hydrodiffusion.....	15
<b>Figure 5 :</b>	extraction assisté par micro-ondes.....	16
<b>Figure 6 :</b>	montage d'extraction par solvant.....	16
<b>Figure 7 :</b>	schéma du principe de la technique d'extraction par CO <sub>2</sub> supercritique...	17
<b>Figure 8 :</b>	schéma illustrant le protocole d'extraction aqueuse et éthanolique.....	30
<b>Figure 9 :</b>	protocole du dosage des polyphénols totaux.....	36
<b>Figure 10 :</b>	protocole du dosage des flavonoïdes.....	37
<b>Figure 11 :</b>	protocole de dosage des tanins condensés.....	39
<b>Figure 12 :</b>	procédé d'extraction de l'HE par entraînement à la vapeur d'eau saturée.....	41
<b>Figure 13 :</b>	forme libre et réduite du DPPH.....	42
<b>Figure 14 :</b>	protocole de piégeage du radical libre DPPH.....	43
<b>Figure 15 :</b>	protocole du test de la réduction du fer.....	45
<b>Figure 16 :</b>	revivification et vérification de la pureté des souches.....	46
<b>Figure 17 :</b>	technique d'antibiogramme.....	47
<b>Figure 18 :</b>	schéma représentatif de l'activité antibactérienne avec les différents échantillons.....	49
<b>Figure 19 :</b>	détermination de la CMI en milieu solide.....	50
<b>Figure 20 :</b>	évaluation de l'activité insecticide de l'HE et de l'hydrolat par le test d'inhalation.....	52
<b>Figure 21 :</b>	courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	57
<b>Figure 22 :</b>	taux des polyphénols totaux dans les extraits aqueux et éthanolique.....	57
<b>Figure 23 :</b>	courbe d'étalonnage de la quercitrine.....	59
<b>Figure 24 :</b>	taux des flavonoïdes dans les extraits aqueux et éthanolique.....	60
<b>Figure 25 :</b>	tourbe d'étalonnage de l'acide tannique.....	61
<b>Figure 26 :</b>	taux des tanins condensés dans les extraits aqueux et éthanolique.....	61
<b>Figure 27 :</b>	courbe comparative du pourcentage d'inhibition des extraits et de l'HE avec l'acide ascorbique.....	63
<b>Figure 28 :</b>	courbe comparative de la réduction du fer des extraits, d'acide ascorbique et de l'HE.....	65
<b>Figure 29 :</b>	diamètre d'inhibition des différents échantillons sur <i>S. aureus</i> .....	68
<b>Figure 30 :</b>	diamètre d'inhibition des différents échantillons sur <i>E. coli</i> .....	69
<b>Figure 31 :</b>	diamètre d'inhibition des différents échantillons sur <i>B.cereus</i> .....	70
<b>Figure 32 :</b>	diamètre d'inhibition des différents échantillons sur <i>E. faecalis</i> .....	71
<b>Figure 33 :</b>	taux moyen de mortalité en (%) des adultes de <i>T. confusum</i> traités par l'hydrolat en fonction des doses et de la durée d'exposition.....	75
<b>Figure 34 :</b>	taux moyen de mortalité en (%) des adultes de <i>T. confusum</i> traités par l'HE d' <i>A. herba alba</i> en fonction des doses et de la durée d'exposition...	76

Depuis l'Antiquité, l'Homme utilisa les plantes trouvées dans la nature comme remède pour traiter et soigner certaines pathologies (Sanago, 2006). Leur utilisation est rapportée dans les littératures antiques: arabe, chinoise, égyptienne, hindou, grecque et romaine. Le pouvoir thérapeutique des plantes était connu par nos ancêtres de façon empirique (Nacoulma-Ouédraogo, 1996).

Le reflet des effets controversés des additifs alimentaires de synthèse et les effets secondaires des médicaments sur la santé, ont conduit le consommateur à utiliser des produits naturels qui présentent une alternative incontournable pour minimiser l'utilisation de ces produits de synthèse qui menacent la santé humaine et l'environnement (Paradiso *et al.*, 2009).

Pour cet intérêt, les huiles essentielles (HE) et les composés phénoliques, sont considérés comme des substances naturelles bioactives occupant un bon choix dans la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques, qui attirent l'intérêt de plusieurs chercheurs vu la panoplie de leurs propriétés biologiques. Elles font l'objet de plusieurs études pour démontrer leur éventuelle utilisation comme alternative des produits de synthèse dans le traitement des maladies infectieuses et dans diverses pathologies. Elles sont largement exploitées par les industries agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique (Nkhili, 2009 ; Goudjil, 2016).

L'utilisation des insecticides dans la lutte chimique contre les insectes a pris de l'ampleur et devenue l'arme la plus rapide et la plus efficace. Cependant, les inconvénients qu'entraînent l'utilisation de ces produits sont connus et redoutés, comme le développement du phénomène de résistance et l'accumulation des résidus dans les denrées stockées. Face à ces problèmes, la nécessité de développer de nouvelles stratégies de lutte s'impose. Des recherches s'orientent vers les plantes aromatiques contenant des HE qui agissent comme des biopesticides. L'activité insecticide des HE a été démontrée par de nombreux chercheurs (Tapondjou *et al.*, 2003; Kellouche, 2005; Ndomo *et al.*, 2009; Hedjal-Chebheb, 2014; Bouchikhi-Tani *et al.*, 2018).

Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal en Algérie, se trouve le genre *Artemisia*, ce dernier est largement distribué surtout dans les régions semi-arides. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées parce qu'elles renferment plusieurs molécules

douées d'activités thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues *Artemisia herba alba*. Cette plante est largement utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères, les brûlures, la diarrhée, *etc.* Elle a constitué le sujet de plusieurs études qui ont déterminé sa composition chimique, ainsi que ses propriétés biologiques (Fenardji *et al.*, 1974; Segal *et al.*, 1980; Segal *et al.*, 1985; Aidoud, 1989; Duke, 1992; Luttge *et al.*, 1992; Teixeira Da Silva, 2004).

C'est dans ce contexte que s'inscrit cette étude, dont l'objectif est l'étude phytochimique et biologique (activité antioxydante, antibactérienne et insecticide) des extraits à polarité différente (aqueux et éthanolique 96 %) et de l'HE d'*A. herba alba* afin de valoriser les ressources de cette plante.

Ce présent travail est scindé en deux parties :

- la première est consacrée à l'étude bibliographique, relative à la plante étudiée, aux métabolites secondaires et aux différentes activités biologiques ;
- la deuxième est expérimentale, elle est consacrée à l'évaluation de l'activité antioxydante, antibactérienne des extraits et l'activité insecticide de l'HE d'*A. herba alba*, basée sur :
  - l'extraction des composés phénoliques de la plante et de son l'HE ;
  - le screening phytochimique de ses principes actifs ;
  - l'RP-HPLC qualitative ;
  - le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés des extraits ;
  - l'évaluation de l'effet anti-radicalaire et du pouvoir réducteur du fer des extraits et de l'HE;
  - l'étude de l'activité antibactérienne des extraits et de l'HE ;
  - l'étude de l'activité insecticide de l'HE et de l'hydrolat.
- la discussion des résultats obtenus;

Et enfin, on termine par une conclusion et quelques perspectives.



*Partie I*

*Synthèse bibliographique*

# Chapitre I

## Présentation et description de l'armoise blanche

## 1. Historique et origine

### 1.1. Historique

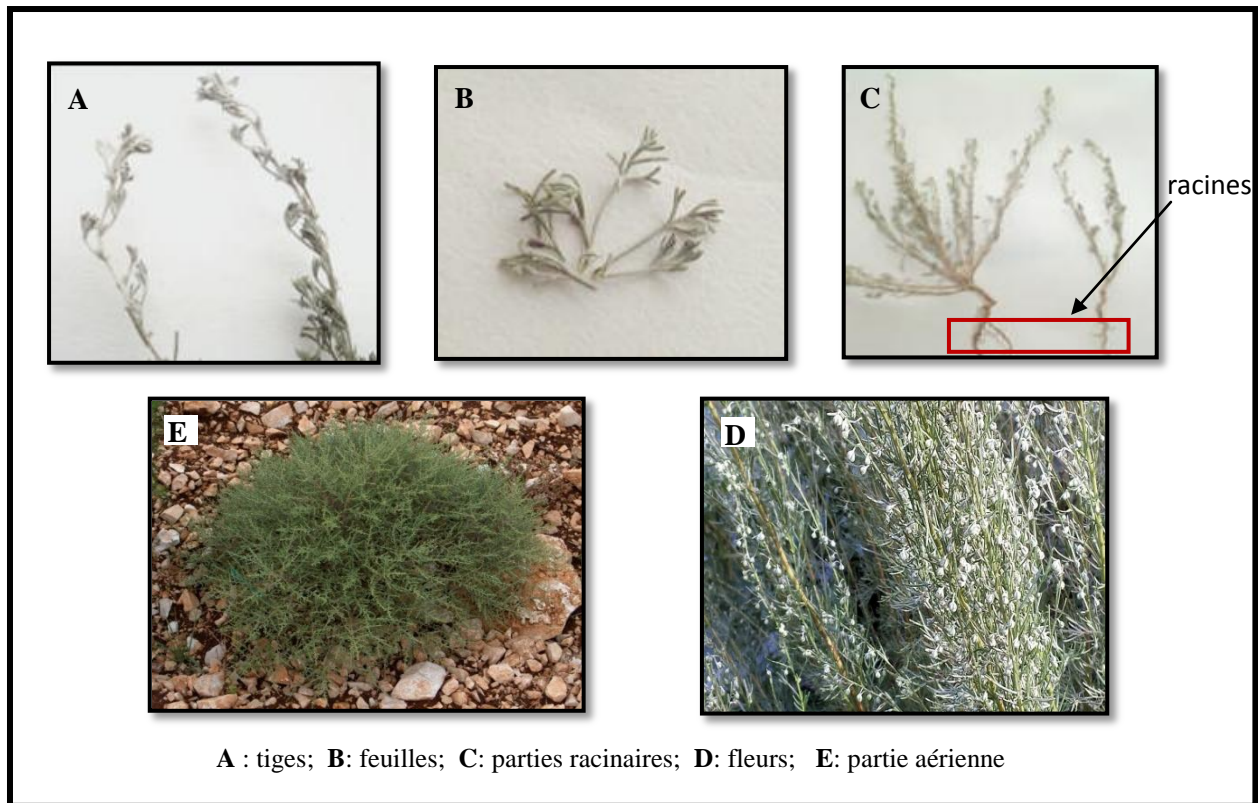
Connue depuis des millénaires ; l'armoise blanche a été décrite par l'historien Grec Xénophon au début du IV<sup>ème</sup> siècle avant J-C dans les steppes de la Mésopotamie (Joannès, 2001). Elle a été ensuite répertoriée en 1779 par le botaniste Espagnol Ignacio Claudio de Asso y Del Rio (Anonyme, 2014). C'est une plante essentiellement fourragère, très appréciée par le bétail, elle présente une odeur caractéristique d'huile de thymol et un goût amer d'où son caractère astringent (Nabli, 1989).

### 1.2. Origine

Le nom latin d'*Artemisia* aurait deux origines possibles : soit du nom grec de Diane, Artemis, qui secourait les femmes malades, soit du nom de la femme de Mausole, roi de Carie (Gardon, 1913 *in* Gast, 2019).

## 2. Description botanique de l'armoise blanche

*A. herba alba* ; en Français l'Armoise herbe blanche est une plante annuelle très répandue dans les zones arides à semi-aride. C'est une espèce du genre *Artemisia* qui appartient à la famille des astéracées. Elle peut atteindre 30 ou 50 cm de haut (Ozenda, 1983; Baba Aissa, 2000). Les tiges sont très feuillées avec une couche épaisse et des touffes plus importantes selon la pluviométrie (Ozenda, 1977) (Figure 1). Les feuilles sont courtes, alternées, très divisées, laineuses, blanches, pubescentes et pennatipartites; diminuent de taille au fur et à mesure que les rameaux s'allongent. Cette diminution de taille entraîne une réduction considérable de la surface transpirante ce qui permet à la plante de résister à la sécheresse (Pourrat, 1975). Les fleurs sont petites, tubuleuses, jaunes et hermaphrodites. Elles dégagent une odeur très forte, parfois désagréable. La période de floraison est comprise entre juillet et octobre. Les fruits sont des akènes ovoïdes (Pottier-Alapalette et Ozenda, 1981; Messai, 2011). Les parties de la plante utilisées en phytothérapie sont les feuilles et les sommités fleuries (Mucciarelli et Maffei, 2002).



**Figure 1** : armoise blanche et ses différentes parties  
(Bekka, 2009; Trudel, 2016; Anonyme, 2019)

### 3. Systématique et appellations vernaculaires

#### 3.1. Systématique

La classification classique d'*A. herba alba* selon Quezel et Santa (1963) est représentée dans le tableau ci-dessous.

**Tableau I**: classification d'*A. herba alba* (Quezel et Santa, 1963).

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Sous règne</b>	Plantes vasculaires
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Ordre</b>	Asterales
<b>Famille</b>	Asteraceae
<b>Genre</b>	<i>Artemisia</i>
<b>Espèce</b>	<i>A. herba alba.</i>

### 3.2. Appellations

D'après Lucienne (2010), plusieurs noms sont attribués à l'armoise blanche :

**Noms communs :** Thym des steppes, Absinthe du désert, Semen contra de Barbarie.

**Noms vernaculaires :** en Afrique du nord et en Moyen Orient, on l'appelle « Shih » ou « Chih ». Chih-labyadh, Chiha, Alala, Ifsi, Seri, Abelbel, Azzere, Zezzeri.

### 4. Répartition géographique

*A. herba alba*, est une espèce dont l'aire de répartition méditerranéenne s'étend de l'Espagne, des Iles Canaries à l'Égypte et à l'Asie occidentale (Ait Youssef, 2006).

Au Maroc, l'armoise blanche se rencontre à l'état spontané, dans des zones de plusieurs dizaines de kilomètres de rayon ou seule. Elle règne dans un paysage quasi-désertique. Le Maroc attache beaucoup d'importance à cette plante qui constitue un excellent moyen naturel de lutte contre l'érosion et la désertification (Bendjilali et Richard, 1980).

En Algérie, *A. herba alba*, affectionne les climats secs et chauds, elle forme des peuplements importants dans les zones désertiques. Elle se présente sous forme de buissons blancs, laineux et espacés (Benmansour, 2001). Elle est extrêmement répandue sur les Hauts Plateaux et au nord du Sahara; par contre, elle est assez rare dans la zone littorale et l'Atlas tellien de l'Oranais, dans le Tell du Constantinois et dans le Sahara central. Elle pousse surtout dans les steppes argileuses et les pâturages rocaillieux (Ait Youssef, 2006).

### 5. Utilisation thérapeutique

Le genre *Artemisia* a été très utilisé dans la médecine traditionnelle ainsi que dans la médecine moderne pour traiter plusieurs maladies telles que les infections urinaires (Bencheqroun *et al.*, 2012).

L'armoise blanche est anti-diarrhéique, antispasmodique, emménagogue, sédatif nerveux, stomachique, syndromes prémenstruels, puissant vermifuge, étonne de la soif, ouvre l'appétit, est aussi toléré par les diabétiques (Lucienne, 2010).

L'extrait aqueux d'*A. herba alba* est utilisé traditionnellement en Jordanie comme un antidote contre les venins de plusieurs types de serpents et de scorpions (Twaij et Al-Badr, 1988).

Le « chih ou shih » est toujours présent dans les foyers algériens. C'est un remède très populaire, auquel on a recours à chaque fois qu'un trouble gastrique ou hépatique se fait sentir. Il est surtout recommandé après un repas copieux et gras (Baba Aissa, 1990).

## 6. Composition chimique

Les plantes de la famille des astéracées, auquel appartient *A. herba alba*, ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques par intérêt économique surtout pour leurs HE (Teixeira Da Silva, 2004).

Au Maghreb, *A. herba alba* constitue un fourrage particulièrement intéressant. En effet, la plante présente un taux de cellulose compris entre 17 et 33%. La matière sèche (MS) apporte entre 6 et 11% de matière protéique brute dont 72% est constituée d'acides aminés. La valeur énergétique de l'armoise herbe blanche est très faible en hiver (0.2 à 0.4 UF/kg MS), augmente rapidement au printemps (0.92 UF/kg MS) pour diminuer de nouveau en été (0,6 UF/kg MS). En automne, les pluies de septembre provoquent une nouvelle période de croissance et la valeur énergétique augmente de nouveau (0.8 UF/kg MS) (Mansour, 2015).

*A. herba alba* est une plante riche en métabolites secondaires tels que les tanins, les anthocyanes, les acides phénoliques et d'autres substances, qui offrent leur vertus médicinales (Gseyra, 2011). Parmi ces métabolites on trouve des constituants volatiles tel que les HE, des constituants non volatiles tel que les flavonoïdes et les sesquiterpènes lactones (Chaabna, 2014).

Les flavonoïdes de l'armoise blanche montrent une diversité structurale, allant des flavonoïdes communs (flavones glycosides et favonols) aux flavonoïdes méthylés qui sont très rares (Saleh *et al.*, 1985; Saleh *et al.*, 1987).

Son HE est diversifiée qualitativement et quantitativement. Selon Mohamed *et al.* (2010), l'armoise blanche a des composants majeurs comme le camphre,  $\alpha$  et  $\beta$ -Thujone, 1,8-cinéole. L'équipe de Segal (1980) a mis en évidence la présence des monoterpènes alcooliques. Des sesquiterpènes et des sesquiterpènes lactones sont également identifiés dans plusieurs chémotypes du Moyen-Orient (Segal *et al.*, 1985).

# Chapitre II

## Métabolites secondaires

Les plantes renferment une grande partie de composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques dans l'organisme, dont lequel on trouve les métabolites qui sont; des molécules issues du métabolisme des végétaux ou d'animaux. On distingue deux classes de métabolites : primaire et secondaire (Hartmann, 2007).

- ✓ **Les métabolites primaires** : renferment les glucides, les lipides et les amino-acides. Ils sont caractérisés par leurs propriétés vitales et nécessaires à la survie de la cellule ou à celle de l'organisme (Diallo, 2000).
- ✓ **Les métabolites secondaires ou principes actifs** : sont répartis en trois grandes familles chimiques: les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpénoïdes (Badiaga, 2011). Ils sont des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes. Ils se trouvent dans toutes leurs parties mais sont distribués selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une plante à l'autre (Merghem, 2009).

## 1. Généralités sur les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont caractéristiques des plantes supérieures (arbres, plantes à fleurs, *etc.*). Ils interviennent dans leur structure (lignines et tanins) et ils exercent une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement. Beaucoup de métabolites  $\text{II}^{\text{aires}}$  sont toxiques, ils sont alors stockés dans des vésicules spécifiques ou dans la vacuole (Sandrine, 2004). La concentration des métabolites  $\text{II}^{\text{aires}}$  dans les différentes parties des plantes est influencée par plusieurs facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité, l'intensité lumineuse, l'eau, les sels minéraux et le  $\text{CO}_2$  (Ramakrishna et Ravishankar, 2011). Ils participent ainsi, d'une manière très efficace, dans la tolérance des végétaux à des stress variés: action anti-herbivore (comme la menthe), inhibition des attaques pathogènes des bactéries et des champignons, prédation d'insectes, défense contre la sécheresse et le rayonnement UV. Ils sont également des sources importantes pour les produits pharmaceutiques, les additifs alimentaires et les arômes (Harrar, 2012; Ramakrishna et Ravishankar, 2011).

### 1.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des substances présentes dans tous les végétaux et dans tous les organes de la plante. Ils représentent 2 à 3 % de la matière organique des plantes et dans certains cas jusqu'à 10 % (Remesy *et al.*, 1996). Ils possèdent un noyau aromatique

portant un ou plusieurs groupements hydroxyles libres (Shahidi et Naczk, 2003; Barboni, 2006; Sun *et al.*, 2011), ou engagé dans une autre fonction telle que: éther, ester, hétéroside, *etc.* (Bruneton, 1999; Lugasi *et al.*, 2003).

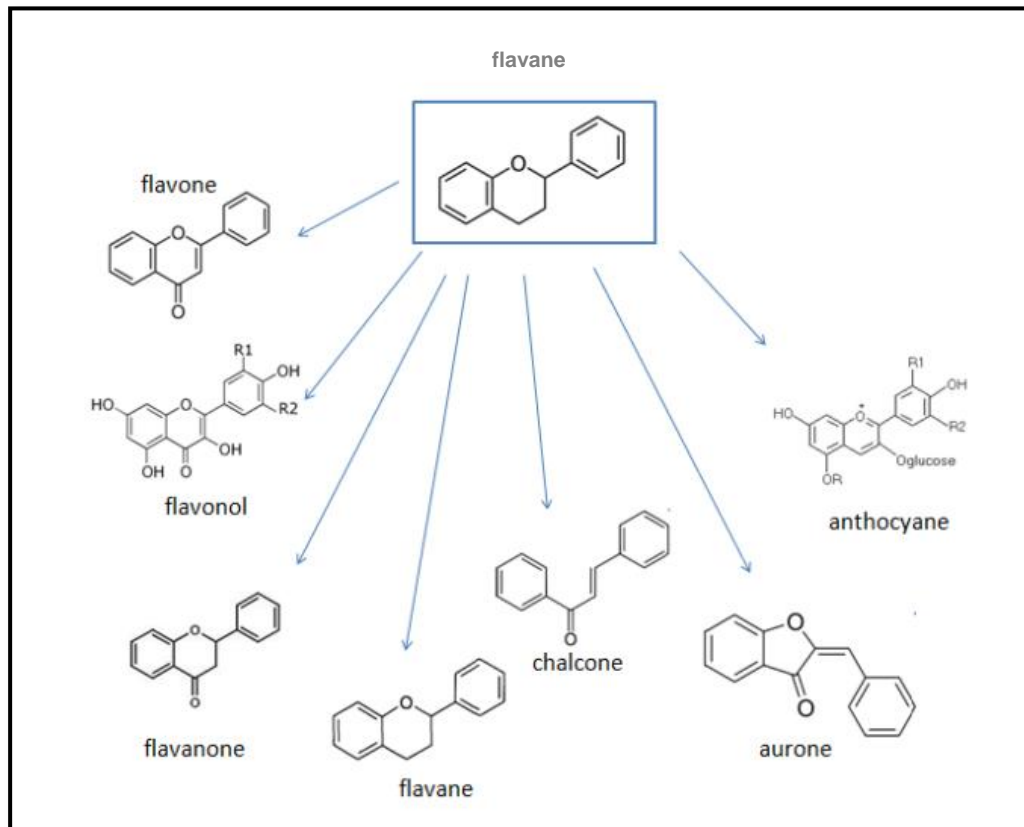
Plus de 8000 structures ont été identifiées (Urquiage et Leighton, 2000), allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins (Dai et Mumper, 2010). Le terme « composés phénoliques végétaux » englobe les phénols simples, les acides phénoliques, les coumarines, les flavonoïdes, les tanins, les lignines et les lignanes (Stalikas, 2007).

### 1.1.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des dérivés phénylpropanoïdes solubles dans l'eau (Gravot, 2009). Ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils jouent un rôle très important dans la croissance des plantes, la floraison, la fructification et la défense contre les maladies et les microorganismes. Ils sont impliqués dans le transport d'électrons lors de la photosynthèse et ils jouent un rôle de protection contre les effets néfastes des rayons UV en agissant comme antioxydant (Havsteen, 2002).

À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent, le plus souvent, sous forme d'hétérosides (Bruneton, 1999; Ebadi, 2001; Ghestem *et al.*, 2001; Ghedira, 2005). Ils sont formés à partir des acides aminés aromatiques phénylalanine et tyrosine. La structure de base de flavonoïde est le noyau flavane, qui se compose de 15 atomes de carbone disposés en trois cycles (C6-C3-C6) (Figure 2) (Stalikas, 2007).

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont: flavones, flavanols, flavanones, flavanes, aurones, chalcones, anthocyanins (Effendi *et al.*, 2006).



**Figure 2** : différents types de flavonoïdes à partir de l'élément structural de base (Kumar et Pandey, 2013).

### ➤ Propriétés biologiques des flavonoïdes

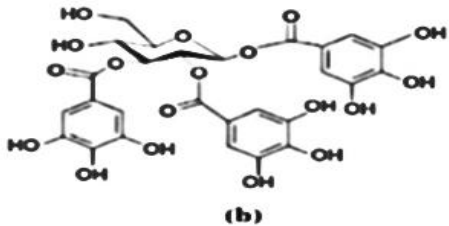
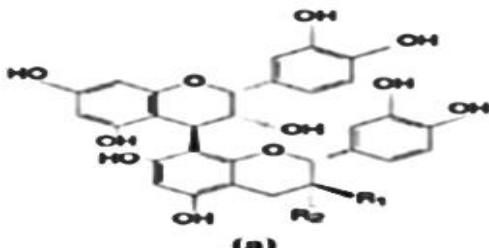
Les flavonoïdes ont un rôle très important pour la santé humaine. Ils sont efficaces pour lutter contre les inflammations chroniques, les maladies allergiques, les maladies coronariennes et le cancer (Ebadi, 2001; Ghedira, 2005). Certains flavonoïdes ont également démontré un potentiel d'agent vasodilatateur (Woodman et Chan, 2004). Ces composés sont des bons inhibiteurs d'enzymes et sont reconnus pour leurs propriétés antiseptiques et anti-inflammatoires (Massaux, 2012).

#### 1.1.2. Tanins

Les tanins sont des substances végétales de la famille des polyphénols, le plus souvent hydrosolubles, ils possèdent la capacité de précipiter les protéines, les alcaloïdes, et les polysaccharides. Ils sont utilisés par les plantes supérieures comme moyen de défense chimique contre les parasites et une protection contre les prédateurs (herbivores et insectes) (Paolini *et al.*, 2003; Bruneton, 2009; Ozcan *et al.*, 2014). Sur le plan structural, les tanins

sont divisés en deux groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Sereme *et al.*, 2008) (Tableau II).

**Tableau II** : structure des tanins hydrolysables et condensés (Ribereau-Gayon, 1968; Iserin *et al.*, 2001; Lamy *et al.*, 2011).

Tanins hydrolysables	Tanins condensés
 <p>(b)</p>	 <p>(a)</p>

### 1.1.2.1. Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol. Selon la nature de celui-ci on distingue: les tanins galliques et les tanins ellagiques (Paris et Hurabielle, 1981).

- Les tanins galliques (Gallo tanins) : ils donnent par hydrolyse, des oses et de l'acide gallique.
- Les tanins ellagiques (Ellagitanins) : ils sont scindés par les enzymes, en oses et en acide ellagique.

### 1.1.2.2. Tanins condensés ou tanins catéchiques

Ils se diffèrent fondamentalement des tanins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone. Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, gymnospermes et fougères (Bruneton, 1999).

### ➤ Propriétés biologiques des tanins

La propriété astringente des tanins est à la base d'autres propriétés (vulnérable, antidiarrhéique, *etc.*); elle permet la cicatrisation, l'imperméabilisation de la peau et des muqueuses, favorise la vasoconstriction des petits vaisseaux (Paolini *et al.*, 2003).

En outre, les tanins ont un très grand pouvoir antibactérien (Bassene *et al.*, 1995; Baba Moussa *et al.*, 1998; Kolodzie *et al.*, 1999), antiviral (Pousset *et al.*, 1993; Hong *et al.*, 2000), anti-inflammatoire (Mota *et al.*, 1985) et une activité antimutagène (Kaur *al.*, 2000). Les plantes riches en tanins sont utilisées dans les cas de rhume, de maux de gorge, les problèmes de sécrétions trop importantes, les infections internes ou externes, les blessures, les coupures et les brûlures (Bruneton, 1999).

## 1.2. Alcaloïdes

Les alcaloïdes représentent un ensemble de molécules qui renferment du carbone, de l'hydrogène et plus spécialement, de l'azote. D'après Poisson (2017), un alcaloïde doit répondre à cinq critères : rattachement aux molécules organiques, présence d'azotes, formation de sels, activité physiologique, obtention de dérivés insolubles avec certains réactifs dits « réactifs généraux des alcaloïdes ». A l'exception de caféine et de colchicine, non salifiables, qui sont assimilées aux alcaloïdes par la plupart des chimistes.

### ➤ Propriétés biologiques des alcaloïdes

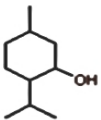
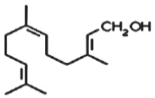
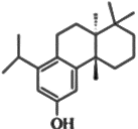
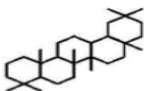
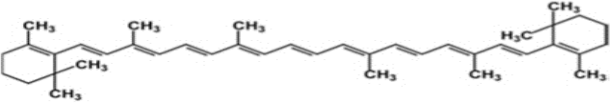
Les drogues à alcaloïdes ont une importance considérable et thérapeutique. Certaines agissent au niveau des propriétés anti-tumorales et antioxydantes. Elles agissent à faibles doses, mais peuvent même être très toxiques à très faible dose (Bouhadjera, 2005); plusieurs médicaments utilisés sont des alcaloïdes naturels, ils affectent chez l'Homme le système nerveux, particulièrement les transmetteurs chimiques tels que l'acétylcholine, l'acide γaminobutyrique (GABA), dopamine et la sérotonine, *etc.*

Les alcaloïdes présentent plusieurs activités pharmacologiques : anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (réserpine), antitussive (codéine), détressant cardiaque, stimulant centrale (caféine), diurétique, anesthésiant local (cocaïne), narcotique (morphine), anti-tumeur, sympathomimétique (éphédrine), *etc.* (Badiaga, 2011).

### 1.3. Terpènes (Huiles essentielles)

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte. Leur molécule de base est l'isoprène de formule  $C_5H_8$  (Hellal, 2011). Le nombre d'unités isopréniques engagées dans la formation d'un composé permet un classement de ces substances naturelles (Mebarki, 2010), comme l'indique le tableau suivant :

**Tableau III :** Classes et structures des terpènes (Guignard, 1996; Gravot, 2009; Coulerie, 2012; Betina-Bencharif, 2014).

Composé	Exemple	
Monoterpènes (C10)	Menthol	
Sesquiterpènes (C15)	Farnésol	
Diterpènes (C20)	Totarol	
Triterpènes (C30)	Oléanane	
Tétraterpènes (C40)	Bêta-carotène	

Les HE sont issues du métabolisme secondaire des plantes, dont les terpènes (principalement les monoterpènes) représentent la majeure partie (environ 90 %) de leurs composants (Hamdani, 2012). Elles ne participent pas directement à la croissance des plantes, mais elles sont impliquées dans leurs mécanismes de défense contre les attaques de microbes ou d'insectes (Guinoiseau, 2010). Les HE sont produites dans le cytoplasme des cellules

sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées (Brunetton, 1999).

D'après Smadja (2009), l'appellation « Huile » est due au caractère visqueux et hydrophobe, « Essentielle » est due au caractère principal typique de la fragrance.

### 1.3.1. Propriétés physiques des HE

Les HE possèdent des propriétés physiques proches les unes des autres avec quelques variantes en fonction de leur composition :

- à température ambiante, elles sont liquides mais à température plus faible certaines peuvent se cristalliser;
- elles sont généralement incolores. Cependant certaines peuvent être colorées comme : l'HE de cannelle de ceylan qui est rougeâtre, celle de l'absinthe (*Artemisia absinthium*) est verte et celle de camomille romaine est bleue;
- elles sont solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles végétales (lipophiles). En revanche, elles sont insolubles dans l'eau;
- contrairement aux huiles grasses dites « fixes », les HE sont volatiles, ceci explique leur caractère odorant et leur entraînement par la vapeur d'eau pour leur extraction;
- la plupart des HE ont une densité inférieure à celle de l'eau (Baudoux et Zhiri, 2003).
- elles sont très altérables, s'oxydent au contact de l'air et de la lumière (Charpentier *et al.*, 2008).

### 1.3.2. Propriétés biologiques des HE

Les HE peuvent être utilisées directement comme agents thérapeutiques (Bardeau, 2009; Hamid *et al.*, 2011) mais aussi comme matières premières pour la synthèse de principes actifs (Goetz, 2007). L'utilisation des HE dans différentes pathologies (digestives, infectieuses,...) fait appel à leurs propriétés: anti-infectieuse, antalgique, sédative, antispasmodique (Steflitsch et Steflitsch, 2008; Bardeau, 2009; Le Hir *et al.*, 2009), anti-Leishmania (Aloui *et al.*, 2016) et elles sont considérées comme agents antimicrobiens à large spectre (Randhawa et Alghamdi, 2011).

L'activité antioxydante des HE est exploitée dans la lutte contre le stress oxydatif qui est impliqué dans certaines maladies dégénératives comme les cancers, les accidents

vasculaires cérébraux, l'arthrose, les maladies d'alzheimer et de parkinson (Behl, 1999; Rezaie *et al.*, 2007).

Les HE sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires (Hart *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2006).

Elles sont aussi utilisées dans la lutte biologique contre les ravageurs (comme biopesticide) (Miresmailli *et al.*, 2006; Dubey *et al.*, 2008; Lubbe et Verpoorte, 2011).

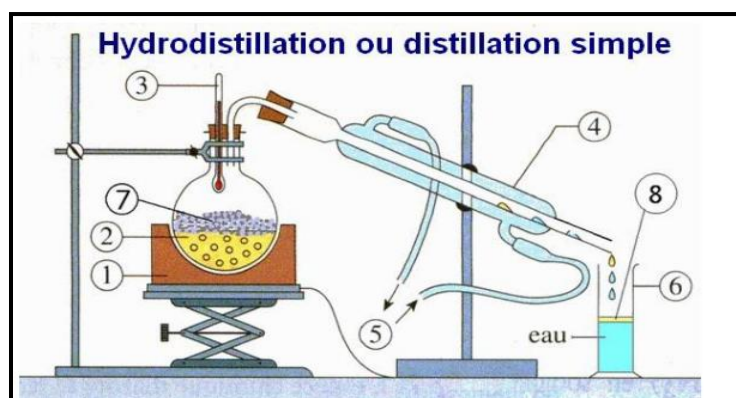
### 1.3.3. Procédés d'extraction des HE

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général le choix de la méthode d'extraction dépend de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles), du rendement en huile et la fragilité de certains constituants aux températures élevées (Hellal, 2011). Il existe plusieurs méthodes d'extraction :

#### 1.3.3.1. Hydrodistillation

C'est la méthode la plus simple et la plus anciennement utilisée. La matière végétale est immergée directement dans un ballon rempli d'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant (Figure 3).

Cependant, l'hydrodistillation possède des limites, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (Lucchesi, 2005).

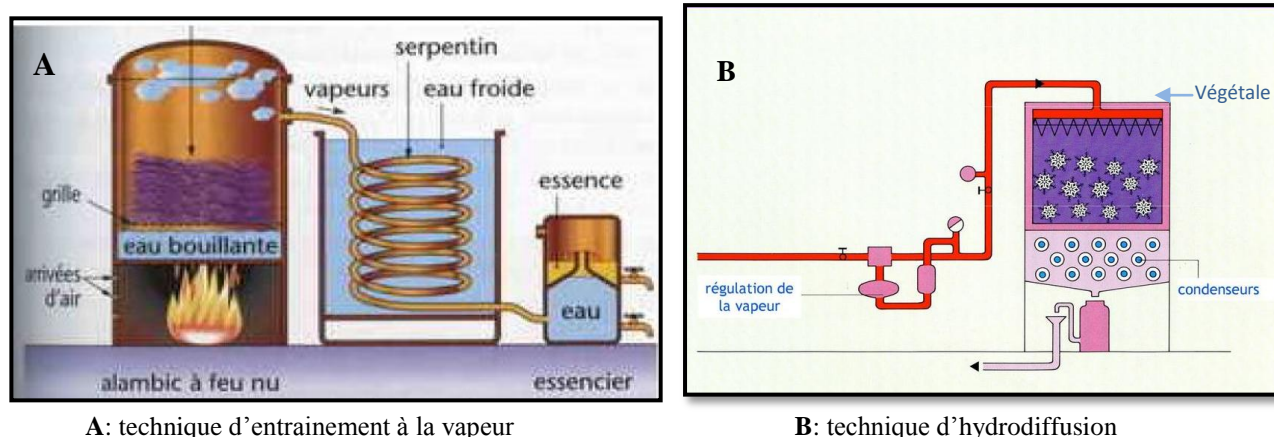


1-Chauffe ballon; 2- Ballon; 3-Thermomètre; 4-Réfrigérant; 5-Entrée et sortie d'eau; 6-Erlenmeyer; 7- Matière à extraire l'essence; 8- couche d'HE.

**Figure 3:** schéma du principe de la technique d'hydrodistillation (Lucchesi, 2005).

### 1.3.3.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Dans cette technique, le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant (Figure 4 A) (Lucchesi, 2005). L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative, en minimisant les altérations hydrolytiques et quantitative de l'huile récoltée, l'économie de temps, de vapeur et d'énergie (Bruneton, 1999; Bassereau *et al.*, 2007; Hellal, 2011).

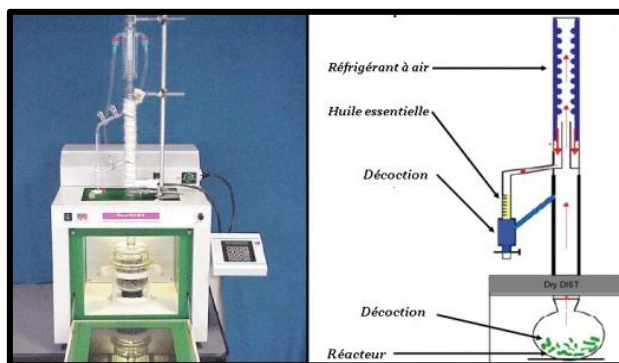


**Figure 4** : schéma du principe de la technique d'entraînement à la vapeur (Lucchesi, 2005) et l'hydrodiffusion (Goudjil, 2016).

Lorsque la vapeur d'eau est injectée du bas vers le haut dans une autre enceinte contenant la masse végétale avec une pression atmosphérique ou son voisinage, c'est la technique d'entraînement à la vapeur saturée (Bruneton, 1999). Par contre l'hydrodiffusion consiste à faire passer la vapeur d'eau du haut vers le bas, au travers la matière végétale comme il est schématisé dans la figure 4 B (Bassereau *et al.*, 2007).

### 1.3.3.3. Extraction assistée par micro-ondes

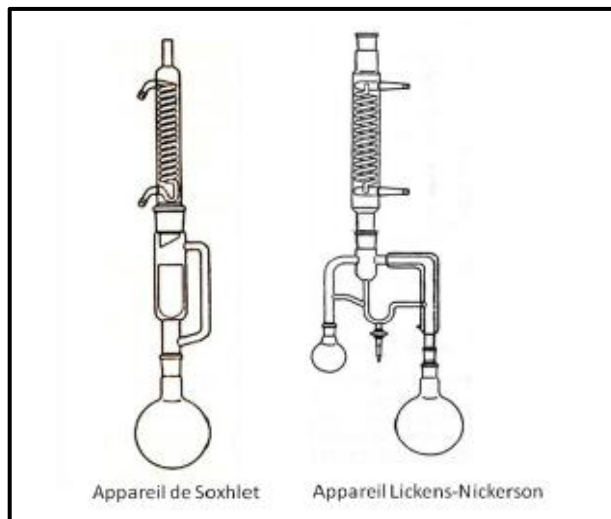
L'extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques : condensation, refroidissement et décantation (Figure 5) (Hemwimon *et al.*, 2007)



**Figure 5** : extraction assisté par micro-ondes (Goudjil, 2016).

### 1.3.3.4. Extraction par solvants volatils

La technique d'extraction par solvants volatils, consiste à placer dans un extracteur la matière végétale à traiter et un solvant volatil. Grâce à des lavages successifs, le solvant se charge en HE, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé sous pression atmosphérique. Les solvants les plus utilisés sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone (Kim *et al.*, 2002). L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lickens-Nickerson (Figure 6).

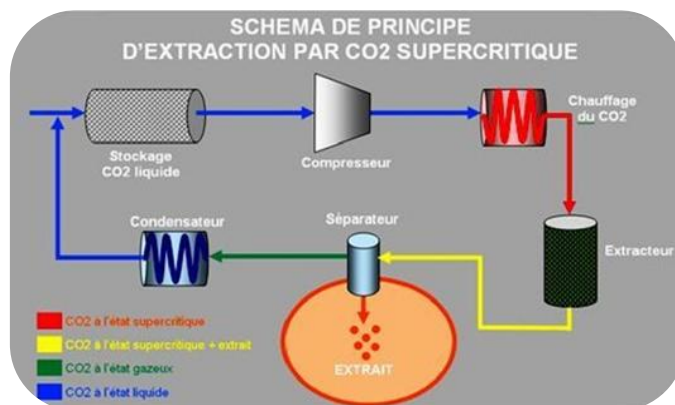


**Figure 6** : montage d'extraction par solvant (El Haib, 2011).

### 1.3.3.5. Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique

L'originalité de cette technique d'extraction réside dans le type de solvant employé: le CO<sub>2</sub> supercritique. Au-delà du point critique ( $P = 73.8$  bars et  $T = 31.1$  °C), le CO<sub>2</sub> possède des propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz, ce qui lui confère un

bon pouvoir d'extraction, qui est plus facilement modulable en jouant sur les conditions de température et de pression (Figure 7). Cette technique présente énormément d'avantages. Tout d'abord, le CO<sub>2</sub> supercritique est un solvant idéal puisqu'il est naturel, inerte chimiquement, ininflammable, non toxique, aisément disponible et peu coûteux. De plus, il s'élimine facilement de l'extrait sans laisser de résidus (Piochon, 2008).



**Figure 7** : schéma du principe de la technique d'extraction par CO<sub>2</sub> supercritique (Da Silva *et al.*, 2019).

## 2. Hydrolat

Les hydrolats sont des produits issus de la distillation de fleurs ou de plantes aromatiques. Ils sont également appelés «eaux florales» lorsqu'il s'agit de distillation de fleurs.

Selon AFNOR ISO 9235 (2014), l'hydrolat est un distillat aqueux qui subsiste après l'entraînement à la vapeur d'eau et la séparation de l'HE (lorsque c'est possible). Les hydrolats sont les coproduits de distillation des HE (Labadie, 2015).

Les hydrolats contiennent en petite quantité des composés volatils semblables à ceux présents dans l'HE ainsi que des composés solubles dans l'eau non retrouvés dans l'huile. La composition des hydrolats s'éloigne donc de celle des huiles: les molécules oxygénées hydrophiles s'y trouvent en grande quantité alors que les composés lipophiles comme les hydrocarbures terpéniques sont la plupart du temps quasi absents (Price et Price, 2004).

Malgré la faible proportion en principes actifs, les hydrolats présentent certaines activités pharmacologiques et biologiques intéressantes. Certains hydrolats sont utilisés depuis des siècles dans des préparations cosmétiques, thérapeutiques et culinaires (Piochon, 2008).

# Chapitre III

## Activités biologiques

L'utilisation abondante d'antibiotiques commerciaux et de pesticides synthétiques pour la protection des êtres humains et des cultures est nocive pour la santé, l'écosystème et l'environnement, dans cette optique de nombreuses recherches ne cessent de démontrer que les plantes médicinales renferment de nombreux principes chimiques biologiquement actifs qui exercent différentes activités pharmacologiques : activités antibactériennes, antifongiques, antioxydantes, anti-inflammatoires, analgésiques, antiviraux et activité insecticide (Candan *et al.*, 2003; Dasl *et al.*, 2009; Lagnika *et al.*, 2012; Dinzedi, 2015).

## **1. Activité antioxydante**

### **1.1. Stress oxydatif**

Le stress oxydatif est un déséquilibre profond de la balance entre les oxydants et les antioxydants (Pincemail *et al.*, 1999). Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants, ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (Kirschvink *et al.*, 2008). En effet, certains sont des intermédiaires de processus physiologiques normaux. Ce n'est que lorsque les systèmes de défense sont dépassés et ne suffisent plus à neutraliser la surproduction de ces espèces que la toxicité apparaît (Sies, 1997).

### **1.2. Radicaux libres**

L'oxygène est une molécule indispensable aux processus vitaux, à la respiration cellulaire et à la vie en général. Cette molécule peut entraîner des dommages cellulaires importants par la formation de dérivés oxygénés activés tels que les radicaux libres.

Les radicaux libres sont des composés chimiquement instables porteurs d'électrons non appariés et qui réagissent avec d'autres molécules, les déstabilisant à leur tour, et induisent ainsi une réaction en chaîne. Ils sont produits dans toutes les cellules, même si certaines en fabriquent des quantités plus importantes (comme les macrophages pendant la phagocytose). Ces composés chimiques sont dits oxydants responsables du phénomène d'oxydation des lipides, dénaturation des protéines, ils peuvent aussi causer des altérations au niveau d'ADN, augmentant les possibilités de mutation. Le radical hydroxyle (OH) et le radical super oxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) sont les radicaux les plus réactifs (Goudable et Favier, 1997; Hubert *et al.*, 1998).

### ➤ **Dommages oxydatives des radicaux libres**

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses pathologies. L'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponible (Rahman, 2002). Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés. Ainsi, ces altérations augmentent le risque de plus de 30 processus de différentes maladies, incluant l'obésité, le diabète, l'athérosclérose, le vieillissement, le cancer, l'alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Mohammedi, 2013).

Selon Favier (2003), la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux.

### **1.3. Antioxydants**

Un antioxydant est une substance qui en faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable retarde ou empêche l'oxydation de ce substrat (Mezouar, 2013). Halliwell (1991) indique que l'antioxydant peut agir en supprimant les espèces réactives de l'oxygène ou en empêchant leur formation ou encore en réparant les dommages causés par ceux-ci. Certains sont fabriqués par le corps ; ce sont des enzymes ou protéines antioxydantes (superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase) mais leur quantité diminue avec l'âge (Mika *et al.*, 2004). D'autres proviennent de l'alimentation, ces derniers ont une grande hétérogénéité comme les vitamines, les minéraux et les métabolites secondaires (composés phénoliques). Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité, ont également une capacité de lier les acides gras libres. Actuellement, il y a un regain d'intérêt pour les composés phytochimiques comme sources d'antioxydants naturels. L'objectif est de les utiliser dans les aliments et les préparations pharmaceutiques afin de remplacer les antioxydants de synthèse en raison de leur activité suspectée en tant que promoteurs de la carcinogenèse ainsi que d'un rejet général des consommateurs d'additifs alimentaires synthétiques (Koechlin-Ramonatxo, 2006; Sanaa *et al.*, 2011). Un bon antioxydant devra respecter quelques critères selon Valko *et al.* (2004):

- être capable de piéger directement et spécifiquement les radicaux libres;
- interagir avec d'autres antioxydants et dans la mesure du possible les régénérer;
- avoir un effet positif sur l'expression génique;

- être rapidement absorbé;
- être efficace en milieu aqueux et/ou dans le milieu membranaire.

## 2. Activité antibactérienne

Ali-Shtayeh *et al.* (1998) affirment que le traitement des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. Mais, la consommation à grande échelle de ces « médicaments » a entraîné la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouveaux substituts, surtout les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration dans les recherches médicales.

### 2.1. Activité antibactérienne des plantes

Les plantes médicinales utilisent les principes actifs comme un moyen de défense naturel pour lutter contre les microorganismes indésirables. Aggarwal (2009) note que plus de 64 plantes sont dotées d'activités antibactériennes très importantes. Les agents antimicrobiens d'origine végétale peuvent être classés en plusieurs groupes : polyphénols, flavonoïdes, terpénoïdes et alcaloïdes (Daglia, 2011).

Des études ont été menées au cours de ces dernières années pour évaluer l'activité antibactérienne du genre *Artemisia*. Elles ont révélé que les HE de cette plante ont montré un potentiel antimicrobien contre une large gamme de bactéries Gram négatives, bactéries Gram positives et des champignons (Aftab *et al.*, 2014).

Mohamed *et al.*, (2010) ont signalé que parmi les HE testées, seule l'HE d'*A. herba alba* est active contre certaines bactéries Gram-positives (*Streptococcus hemolyticus* et *Staphylococcus aureus*) et bactéries Gram-négatives (*Escherichia coli*, *Shigella sonnei* et *Salmonella typhosa*). De même, les extraits méthanoliques de cette plante présentent une activité antibactérienne vis-à-vis de certaines bactéries.

### 2.2. Caractéristiques des souches bactériennes

#### ➤ *Staphylococcus aureus*

*S. aureus* sont des cocci à Gram positifs, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 µm. Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Ce type de bactéries sont immobiles, asporulés, habituellement sans capsule. De nombreuses souches de *S. aureus* produisent un pigment jaune doré (Patrick *et al.*, 1988).

C'est l'espèce prédominante chez l'Homme et autres mammifères, la cavité nasale de l'Homme est sa niche préférentielle. Les staphylocoques ont un pouvoir pathogène opportuniste extrêmement large qui s'exerce avec une grande fréquence en milieu hospitalier. Elle est, responsable des infections pyogènes de la peau et des muqueuses, mais aussi osseuses (ostéomyélite), digestives (entéocolites post-antibiotique) et septicémiques (Leclerc *et al.*, 1995).

### ➤ *Escherichia coli*

*E. coli* est une bacille à Gram négative (Patrick *et al.*, 1988), de forme non sporulée, du type aéro-anaérobie, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie entre 2 et 6  $\mu\text{m}$ , sa largeur entre 1.1 et 1.5  $\mu\text{m}$  (Percival *et al.*, 2004).

Les bactéries appartenant à l'espèce *E. coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'Homme et de nombreux animaux, habituellement des bactéries commensales. Elles peuvent devenir pathogènes si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elles acquièrent des facteurs de virulence particulière. Certaines souches sont capables de déclencher spécifiquement chez l'Homme ou chez certaines espèces animales des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encore des méningites néo-natales. D'autres souches appartiennent à la flore commensale peuvent être responsables des infections opportunistes variées, surtout chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies (Patrick *et al.*, 1988).

### ➤ *Bacillus cereus*

*B. cereus* est un bacille à Gram positif de 1.4  $\mu\text{m}$  de long, habituellement observé en paire ou en chaînette courte (Logan et Rodriguez-Diaz *in* Gillespie et Hawkey, 2006 ; Murray *et al.*, 2007). Cette bactérie est anaérobie facultatif, mobile et capable de former des endospores (Ray *in* Ryan *et al.*, 2004). Sa température optimale est d'environ 37 °C (Logan et Rodriguez-Diaz *in* Gillespie et Hawkey, 2006; Murray *et al.*, 2007). Le bacille peut produire six types de toxine, cinq entérotoxines et une toxine émétique, qui peuvent être thermostables ou thermolabiles, selon les souches (From *et al.*, 2005 ; Logan et Rodriguez-Diaz *in* Gillespie et Hawkey, 2006).

Il est responsable des intoxications alimentaires ainsi que d'infections opportunistes; il est aussi associé à certaines infections cliniques comme les infections oculaires (Le Scanff *et al.*, 2006).

Il peut aussi être responsable d'infections des plaies, de bactériémies, de septicémies, de méningites, de pneumonies, d'infections du système nerveux central, d'endocardites, de péricardites et d'infections respiratoire (Drobniewski, 1993; Logan et Rodriguez-Diaz *in* Gillespie et Hawkey, 2006). Chez les patients immunodéprimés, l'infection peut être mortelle (Le Scanff *et al.*, 2006).

### ➤ *Enterococcus faecalis*

*E. faecalis* est une bactérie à Gram positif, non sporulée, se présente sous forme de coque isolée ou arrangée en paire ou en chaînette (Isnard, 2017), C'est l'espèce la plus représentée dans la flore gastro-intestinale de l'Homme et présente une virulence et une pathogénicité largement plus importante que les autres espèces d'entérocoques. Elle cause de nombreuses infections humaines graves, notamment l'endocardite, la bactériémie, les infections de plaies, diverses infections nosocomiales, parmi lesquelles les infections des voies urinaires sont les plus courantes (Jett *et al.*, 1994; Castellanos et Tannock, 2002; Kayaoglu et Orstavik, 2004).

## 3. Activité insecticide

Les insectes ravageurs des denrées, majoritairement des coléoptères peuvent causer la perte totale d'un stock, parmi ces insectes les plus redoutables, le tribolium brun de la farine *Tribolium confusum*. Le moyen le plus courant pour limiter leurs activités est l'usage des pesticides dont les effets indésirables sont malheureusement très nombreux, l'intoxication humaine en est une principale. Au cours des deux dernières décennies, de nombreux travaux ont été menés dans le but de rechercher des méthodes de protection alternatives de la santé humaine et de l'environnement (Kellouche, 2005; Ngamo et Hance, 2007; Hedjal-Chebheb, 2014; Khelfane-Goucem, 2014).

### 3.1. Description du *Tribolium confusum*

L'adulte est de couleur brune rougeâtre, aplati et ovale, mesure 4 à 4.5 mm (Zohry, 2017).

C'est un insecte cosmopolite, l'un des plus nuisibles dans les céréales et les produits stockés. Il est considéré comme un ravageur secondaire, qui peut facilement infester les grains endommagés, il est particulièrement destructeur à la farine et autres produits céréaliers transformés (Vasudha *et al.*, 2013). En cas de forte infestation, l'adulte libère des substances quinoléiques qui confèrent à la denrée une odeur répulsive caractéristique (Seck, 2009).

### 3.2. Origine et répartition géographique

Le tribolium est d'origine Indo-Australienne (Smith et Whitman, 1992). Il se rencontre le plus souvent dans les pays chauds, il se trouve aussi dans les régions tempérées, où il survit en hiver dans des lieux protégés (Steffan, 1978).

### 3.3. Systématique

Selon Lapesme (1944), le tribolium brun de la farine appartient à la classification représentée dans le tableau suivant :

**Tableau IV:** classification du tribolium brun de la farine.

Embranchement :	Arthropoda
Classe :	Insecta
Ordre :	Coleoptera
Famille :	Tenebrionidae
Genre :	<i>Tribolium</i>
Espèce :	<i>T. confusum</i>

### 3.4. Méthode de lutte contre les insectes ravageurs des denrées stockées

Les insectes causent des pertes considérables aux denrées alimentaires lors de leur stockage. Pour cela, il est essentiel d'assurer des méthodes de lutte qui visent l'élimination des ravageurs dans les stocks (Giles et Ashman, 1971). Plusieurs moyens de lutte sont envisagés. La lutte physique, chimique et biologique.

#### 3.4.1. Lutte physique

La lutte physique est la destruction des insectes par la modification des conditions environnementales (Fields, 1992). Ce moyen de lutte fait appel à la chaleur, au froid et aux radiations ionisantes (Fleurat - Lessard, 1987).

Les insectes sont sensibles aux températures élevées, il suffit de les exposer à une température de 55 °C durant une heure pour détruire à la fois les œufs, les larves et les adultes (Shahein, 1991). D'après Lee *et al.* (1993), les insectes présentent des perturbations physiologiques suivies d'une mort certaine sous l'action d'un courant d'air frais, les cellules sont progressivement déshydratées et le métabolisme est abaissé. Selon Benkhellat (2002), les insectes ne se développent pas et ne se nourrissent pas aux températures inférieures à 10 °C, ils finissent par mourir.

Deux sortes de radiation ionisante sont utilisées (les rayons gamma et les rayonnements non ionisantes) pour la lutte contre les insectes. D'après Gwinner *et al.* (1996), la radiosensibilité des ravageurs varie selon les espèces ; les stades les plus sensibles sont les œufs et les larves. Ce moyen de lutte exige un personnel qualifié et des structures de stockage adaptées, pour éviter d'exposer les opérateurs et les consommateurs au danger (Kellouche, 2005).

### 3.4.2. Lutte chimique

D'une manière générale, les produits chimiques de lutte contre les insectes peuvent se classer en deux grands groupes. On distingue d'une part ceux à action immédiate, d'autre part ceux qui persistent sur la denrée et agissent au cours d'une période plus ou moins prolongée. La première classe regroupe les fumigants et la seconde les insecticides de contact (Seck, 2009).

Cependant, des nuisances sont associées à l'utilisation des pesticides, sélection des souches résistantes, pollution de l'environnement et intoxications. De ce fait, la recherche d'alternatives s'impose (Guèye *et al.*, 2011).

### 3.4.3. Lutte biologique

Elle consiste à l'utilisation des ennemis naturels de ce ravageur tels que les prédateurs et les parasites ou des agents pathogènes (bactéries, champignons...) ainsi que des produits naturels d'origine végétale comme les huiles végétales et les HE (Seck, 1991).

Selon l'hypothèse coévolutive de Enreich et Raven (1964) *in* Tiaiba (2007), les végétaux possèdent des systèmes de défense en produisant des composés secondaires ayant une activité insecticide, répulsive ou inhibitrice vis-à-vis des ravageurs. Ces biopesticides présentent un avantage par rapport aux produits phytosanitaires qui comportent des risques

pour la santé humaine et pour l'environnement. Ils sont caractérisés par leur faible rémanence, leur faible toxicité pour l'Homme et par leur mode d'action sur les ravageurs. Ils affectent leur croissance, leur mue, leur fécondité et leur développement (Miresmailli *et al.*, 2006; Dubey *et al.*, 2008; Lubbe et Verpoorte, 2011).





*Partie II*  
*Expérimentation*

# Chapitre IV

## Matériel et méthodes

Cette partie expérimentale est consacrée à la valorisation de l'armoise blanche et à l'étude de ses activités biologiques, notamment l'activité antioxydante, antibactérienne et insecticide par un ensemble de méthodes et de techniques.

## 1. Matériel

### 1.1. Matériel biologique

#### 1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est l'armoise blanche, *A. herba alba* collecté le 22 décembre 2017, dans la région d'Assekrem, la wilaya de Tamanrasset (Algérie) à 2710 m d'altitude [Annexe 1]. Cette plante est conservée à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité.

#### 1.1.2. Souches bactériennes

Les bactéries qui ont fait l'objet de notre expérimentation sont des souches de référence de deux types :

- ATCC (American Type Culture Collection), il s'agit de : *Escherichia coli* 25922, *Staphylococcus aureus* 25923 et *Bacillus cereus* 14579.
- Et WDCM (World Data Centre for Microorganisms), il s'agit de : *Enterococcus faecalis* 009.

Ces souches appartiennent à la collection du laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'UMMTO.

Le choix de ces bactéries est basé sur le fait qu'elles sont pathogènes, antibiorésistantes, toxiques et pour leurs pouvoirs invasif chez l'Homme.

#### 1.1.3. Insecte

Pour la valorisation de l'hydrolat et l'évaluation de l'effet insecticide de l'HE d'*A. herba alba*, le tribolium brun de la farine, *Tribolium confusum* est utilisé. Cet insecte provient du laboratoire d'Entomologie Appliquée de la FSBSA de TO [Annexe 24].

## 1.2. Produits chimiques et milieux de culture

### 1.2.1. Produits chimiques

Les différents produits chimiques utilisés dans ce travail sont cités dans le tableau V et l'annexe 9, les autres verreries et appareillages dans l'annexe 7.

**Tableau V** : différents produits chimiques.

	<b>Produit</b>	<b>Utilisation</b>
<b>Solvants</b>	Ethanol CH <sub>3</sub> .CH <sub>2</sub> -OH (96 %)	Extrait éthanolique
	Méthanol CH <sub>3</sub> OH	Dosage des flavonoïdes
	Acétone C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	Homogénéisation de l'HE
	Dimethylsulfoxyde DMSO C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> OS	Dilution de l'HE pour l'activité antibactérienne
<b>Réactifs</b>	Réactif de Mayer	Révélation des alcaloïdes
	Acide chlorhydrique HCl	Screening phytochimique
	Réactif de Stiasny	Révélation des tanins catéchiques
	Acétate de sodium C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> NaO <sub>2</sub>	Révélation des tanins galliques
	Chloroforme CHCl <sub>3</sub>	Révélation des quinones libres
	Acide sulfurique H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Révélation des glucosides
	Ammoniaque NH <sub>4</sub> OH	Révélation des anthocyanes
	Chlorure ferrique FeCl <sub>3</sub>	Révélation des tanins totaux
	Liqueur de Fehling	Révélation des composés réducteurs
	Coupeau de magnésium Mg	Révélation des flavonoïdes
	Solution éthanolique de chlorure ferrique	Révélation des phénols
	Anhydrique acétique C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	Révélation des terpénoïdes
	Quercetine C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	Dosage des flavonoïdes
	Acétate de potassium CH <sub>3</sub> COOK	
	Trichlorure d'aluminium AlCl <sub>3</sub>	
	Réactif de Folin Denis	Dosage des tanins catéchiques
	Acide tannique C <sub>76</sub> H <sub>52</sub> O <sub>46</sub>	
	Acide gallique C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	Dosage des polyphénols totaux
	Folin-Ciocalteu	
	2,2-diphényl-1picrylhydrazyl DPPH C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub>	Activité antioxydante
	Acide ascorbique C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	
	Tompon phosphate (pH 6.6)	
Ferrocyanure de potassium K <sub>3</sub> F <sub>e</sub> (CN) <sub>6</sub>		
Acide trichloracétique TCA C <sub>2</sub> HCl <sub>3</sub> O <sub>2</sub>		
<b>Sels</b>	Solution saturée de carbonate de sodium CO <sub>3</sub> Na <sub>2</sub>	Dosage des tanins
	Chlorure de sodium NaCl	Préparation de l'eau physiologique

### 1.2.2. Milieux de culture

Pour la partie antibactérienne, les milieux de culture utilisés sont portés dans le tableau ci-dessous [Annexe 8].

**Tableau VI:** différents milieux de culture utilisés.

Milieu de culture	Utilisation
Bouillon nutritif BHIB	Repiquage des souches
Milieu Mueller-Hinton (MH) à différente concentration	Repiquage des souches, antibiogramme et aromatogramme

### 1.3. Antibiotiques

Afin de sélectionner des témoins positifs à utilisés dans les tests ultérieurs, un antibiogramme est effectué avec les antibiotiques disponibles comme le montre le tableau VII.

**Tableau VII:** antibiotiques utilisés pour l'activité antibactérienne.

Antibiotique	Famille	Abréviation	Concentration
Mecillinam	Bêta-lactamine	Mec	10 µg
Cefepime	Bêta-lactamine	FEP	30 µg
Cephalothin	Bêta-lactamine	KF	30 µg
Pefloxacin	Quinolone	PEF	5 µg
Cloxacillin	Bêta-lactamine	Cx	5 µg
Neomycin	Aminoside	N	30 µg
Ceftazidim	Bêta-lactamine	Caz	30 µg
Ceftriaxon	Bêta-lactamine	CRO	30 µg

## 2. Méthodes

### 2.1. Préparation des différents extraits de l'armoise blanche

Après la récolte de la plante, sa partie aérienne est séchée à l'aire libre, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Une partie est utilisée pour l'extraction de l'HE, l'autre est broyée à l'aide d'un moulin électrique. Le broya est stocké dans des boucaux en verres fermés hermétiquement et placés à l'abri de la lumière et de la chaleur. Cette poudre est utilisée pour deux extractions : aqueuse et éthanolique [Annexe 2].

### 2.1.1. Préparation de l'extrait aqueux

10 g de poudre végétale est mise dans une fiole et ajustée jusqu'à un volume de 100 mL d'eau distillée (afin d'avoir une concentration de 10 %) (Salhi, 2011). Le tout est macéré à température ambiante et sous agitation pendant 24 H. Après une double filtration ; une grossière avec une passoire et une autre avec du coton, un extrait de couleur brunâtre est obtenu. Cet extrait est considéré comme étant l'extrait brut qui a subi une congélation à -40 °C qui va subir une lyophilisation [Annexe 3 et 4].

### 2.1.2. Préparation de l'extrait éthanolique

Le protocole d'extraction éthanolique est le même que celui d'extraction aqueuse mais avec quelques modifications. L'eau distillée est remplacée par l'éthanol 96 %, ce dernier est éliminé du filtrat par évaporation dans un rotavapor à 60 °C et sous vide [Annexe 4]; permettant ainsi d'obtenir un extrait brut d'une couleur vert foncé. Cet extrait est récupéré dans 5 mL de DMSO 10 % puis congelé et lyophilisé comme le montre la figure 8.

## 2.2. Détermination du rendement de l'extraction

Le rendement, est la quantité d'extrait obtenu à partir de la poudre végétale. C'est le rapport de la masse de l'extrait sec sur la masse de la poudre multiplié par 100. Il est exprimé en pourcentage (Djeneb *et al.*, 2016).

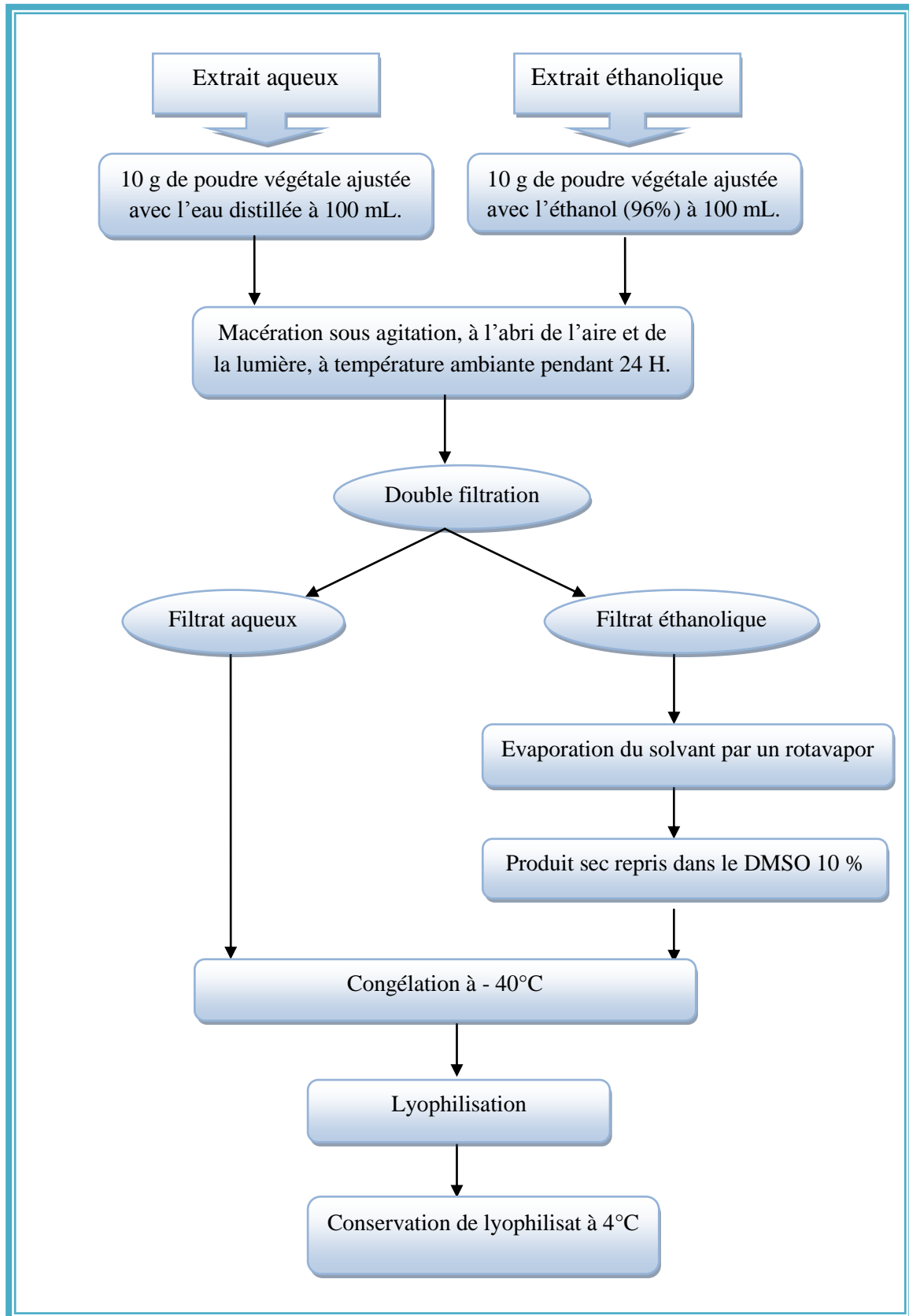
$$R(\%) = (M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}}) \times 100$$

**R:** Rendement d'extraction (%);

**M<sub>ext</sub>:** Masse de l'extrait sec après lyophilisation/ évaporation (g);

**M<sub>éch</sub>:** Masse de la matière végétale sèche utilisée (g).

Pour l'extrait éthanolique, la masse de l'extrait après évaporation est déterminée par la différence entre le poids du ballon plein avant et après évaporation (Mohammedi, 2006).



**Figure 8:** schéma illustrant le protocole d'extraction aqueuse et éthanolique.

### 2.3. Détermination de la concentration maximale des extraits

Afin de travailler dans des conditions optimales, le seuil de saturation est déterminé en ajoutant une quantité donnée de lyophilisat à 1 mL d'eau distillée ou DMSO 10 % jusqu'à avoir une solution avec un aspect pateux. Cette concentration est utilisée pour les tests microbiologiques.

### 2.4. Analyses qualitatives des extraits

#### 2.4.1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique effectué sur les extraits aqueux et éthanolique est basé sur des réactions de précipitation ou des réactions colorimétrique, mettant en évidence la présence ou l'absence des principes actifs.

Les méthodes utilisées dans cette étude est un emplet de travaux de plusieurs auteurs : Girre (1980); Trease et Evans (1989) et Bruneton (1999).

##### 2.4.1.1. Révélation des alcaloïdes

Une quantité de 0.3 g de la poudre végétale est macérée dans 3 mL d'HCl à 5 % pendant 30 min. Après filtration, trois gouttes de réactif de Mayer sont ajoutées à 1 mL du filtrat. La formation d'un précipité ou d'un trouble blanc indique la présence des alcaloïdes.

##### 2.4.1.2. Révélation des tanins

1 mL d'extrait est dilué dans 1 mL d'eau distillée, puis deux gouttes de  $\text{FeCl}_3$  (2 %) sont ajoutées. L'apparition d'une couleur vert foncé ou bleu vert indique la présence des tanins.

##### a. Révélation des tanins catéchiques

Ajouter 7 mL de réactif de Stiasny à 15 mL d'extrait. Après chauffage au bain-marie à 90 °C pendant 15 min; une coloration rouge apparaît indiquant la présence des tanins catéchiques.

## b. Révélation des tanins galliques

Un volume de 5 mL d'extrait est mélangé avec 2 g d'acétate de sodium. L'ajout de trois gouttes de  $\text{FeCl}_3$  (1 %) révèle la présence des tanins galliques par la formation d'une couleur bleue foncé.

### 2.4.1.3. Révélation des quinones libres

20 mL de chloroforme sont ajoutés à 2 g de poudre végétale humectée par 2 mL d'HCl (1N). Après 3 H, le mélange est filtré. Une coloration rouge indique la présence des quinones libres qui sont révélées en ajoutant 5 mL d'ammoniaque (1M) au filtrat.

### 2.4.1.4. Révélation des saponines

Les saponines sont révélées par un indice de mousse. Le test consiste à ajouter 1 mL d'eau distillée à 2 mL d'extrait. Après agitation, le mélange est décanté pendant 20 min. La teneur en saponines est évaluée par la mesure de l'épaisseur (en centimètre) de la couche de mousse persistante (Tableau VIII).

**Tableau VIII:** résultats du test des saponines en fonction de l'épaisseur.

	<b>Epaisseur</b>	<b>Résultat</b>
<b>Test</b>	Pas de mousse	Test négatif -
	Mousse inférieure à 1 cm	Test faiblement positif +
	Mousse entre 1 et 2 cm	Test positif ++
	Mousse supérieure à 2 cm	Test très positif +++

### 2.4.1.5. Révélation des anthocyanes

Un volume de 2 mL d'HCl (2 N) est versé dans 2 mL d'extrait. Après l'ajout de 2 gouttes d'ammoniaque, une coloration rouge ou rose qui vire au bleu violacé révèle la présence des anthocyanes.

### 2.4.1.6. Révélation des composés réducteurs

1 mL d'eau distillée et 20 gouttes de liqueur de Fehling sont ajoutés à 1 mL d'extrait. Le tout est incubé à 80 °C. Un test positif est révélé par l'apparition d'un précipité rouge brique.

#### **2.4.1.7. Révélation des glucosides**

Trois gouttes d'acide sulfurique (1 M) sont ajoutées à 2 g de poudre végétale, le tout est agité. L'apparition d'une couleur rouge brique, indique la présence des glucosides .

#### **2.4.1.8. Révélation des flavonoïdes**

1 mL d'HCl concentré est mélangé avec 0.5 g de copeau de magnésium et 5 mL d'extrait. La présence des flavonoïdes est indiquée par l'apparition d'une couleur rose ou rouge.

#### **2.4.1.9. Révélation des phénols**

Une goutte d'une solution éthanolique de chlorure ferrique (2 %) est ajoutée à 2 mL d'extrait. L'apparition d'une couleur bleue noirâtre ou vert foncé révèle la présence des phénols.

#### **2.4.1.10. Révélation des terpénoïdes**

Un mL d'anhydrique acétique et 2 mL d'acide sulfurique concentré sont ajoutés à 1 mL d'extrait. Une coloration brune rougeâtre indique la présence des terpénoïdes.

### **2.4.2. Chromatographie en phase liquide à haut performance en phase inverse (RP-HPLC)**

#### **➤ Principe**

La technique de séparation la plus appréciée en analyse phytochimique est la chromatographie liquide à haute performance, abrégée HPLC (CLHP en français) (Kahlouche-Riachi, 2014). Cette méthode repose sur la séparation des différents constituants d'un extrait selon leur force de migration dans la phase mobile (Ekoumou, 2003; Debete Judith, 2005) qui est en générale un mélange de solvant; adapté au type de séparation recherché (Ferrari, 2002), et leur affinité vis-à-vis de la phase stationnaire. Elle permet de détecter les principes actifs de l'extrait. L'immense avantage de l'HPLC réside dans l'amélioration sensible des paramètres de seuil de détection et de résolution de séparation, ainsi que dans les possibilités d'automatisation du procédé (Braithwaite et Smith, 1999). L'emploi d'un détecteur permet l'enregistrement électronique du message qui se traduit par des pics (Chenni, 2010).

### ➤ **Mode opératoire**

L'extrait à analyser est préparé en ajoutant 500  $\mu\text{L}$  d' $\text{H}_2\text{O}$  à 500  $\mu\text{g}$  de lyophilisat, après les avoirs bien mélangés 1000  $\mu\text{L}$  de méthanol est ajouté. Le tout est filtré à l'aide d'un microfiltre de diamètre 0.22  $\mu\text{m}$ .

L'HPLC est réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase liquide de marque AGILENT série 1100, équipé d'un détecteur à barrette à diodes (DAD) avec plusieurs longueurs d'ondes maximales choisis en fonction des absorbances maximales des molécules recherchées, et d'une pompe quaternaire, dégazeur on-line et injecteur automatique. Le chromatographe est muni d'une colonne Hypersil BDS-C 18.5  $\mu\text{m}$ , 250 X 4.6 à température de 30 °C. La phase mobile correspond à l'eau acidifiée à 0.2 % par l'acide acétique à pH de 3.1 et de l'acétonitrile en gradient d'élution linéaire pendant 30 minutes à 1.5 mL/mn, en commençant par 95 % d' $\text{H}_2\text{O}$  et en terminant par 100 % d'acétonitrille. Le volume injecté correspond à 5  $\mu\text{L}$  de l'extrait dilué dans du méthanol.

Le pourcentage de chaque composé chimique de l'extrait est déterminé à partir des aires des pics obtenus. L'identification des différents composés est réalisée par comparaison des temps de rétentions des différents standards analysés selon le même mode opératoire.

## **2.5. Analyses quantitatives des extraits**

### **2.5.1. Dosage des polyphénols totaux**

#### ➤ **Principe**

Les polyphénols sont déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965). Ce réactif de couleur jaune est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent ce dernier en un complexe de couleur bleue à 760 nm, constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux des polyphénols oxydés (Boizot et Charpentier, 2006).

#### ➤ **Mode opératoire**

Le taux des polyphénols totaux contenu dans les extraits est déterminé en se référant à la courbe d'étalonnage, obtenue à différentes concentrations en acide gallique à partir de la solution mère (SM) de 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Tableau IX). Pour chaque extrait un blanc est réalisé dans

les mêmes conditions décrites dans la figure 9, en remplaçant l'échantillon par l'eau distillée dans le cas de l'extrait aqueux et par l'éthanol dans le cas de l'extrait éthanolique. Pour chaque extrait 3 répétitions sont réalisées. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/g MS) en appliquant la formule suivante :

$$T_{pt} = (C \times V) / M$$

**T<sub>pt</sub>**: Teneur en phénols totaux (mg d'acide gallique/g de matière sèche);

**C**: Concentration de l'acide gallique établie à partir de la courbe d'étalonnage (mg/mL);

**V**: Volume de l'extrait éthanolique ou aqueux (mL);

**M**: Poids de la matière sèche (g).

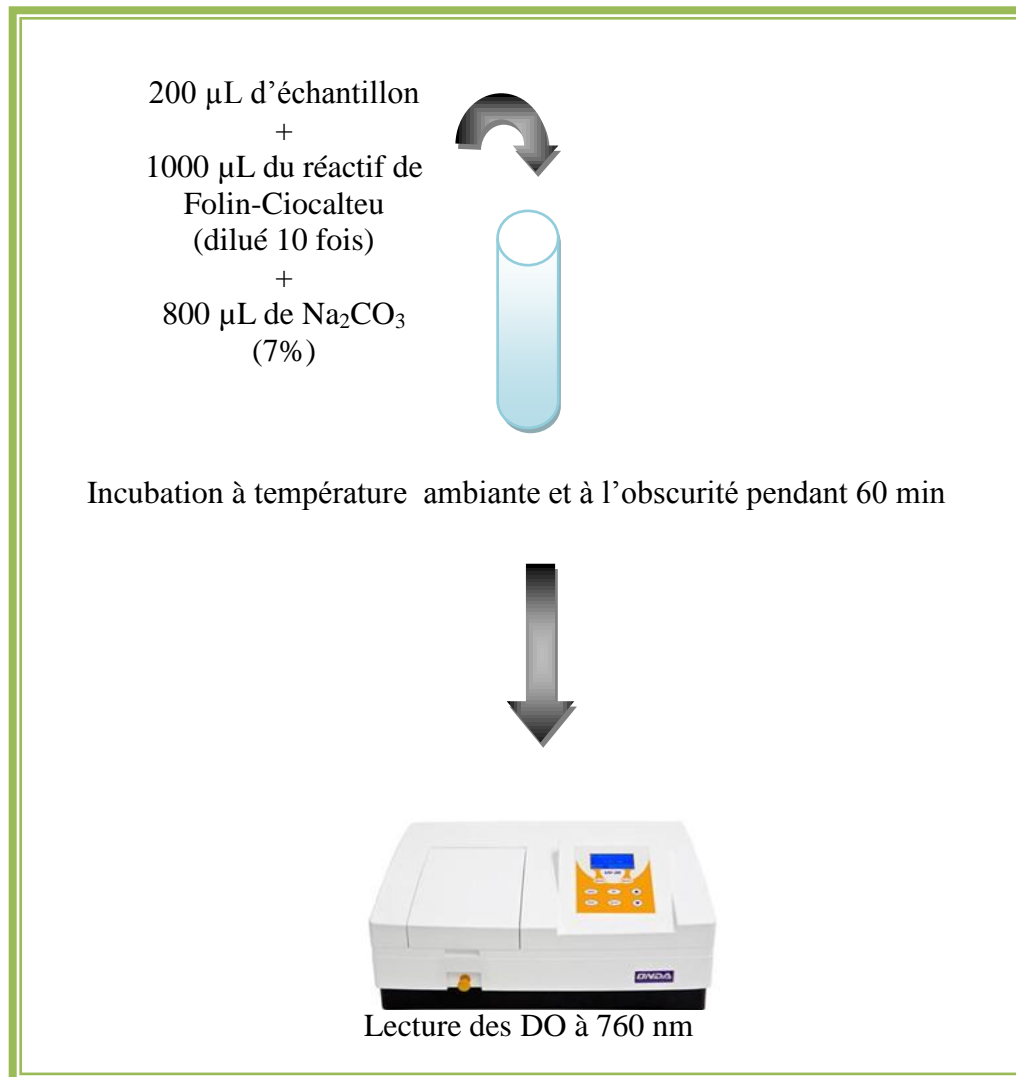
**Tableau IX:** préparation de la gamme des dilutions de l'acide gallique.

Concentration (µg/mL)	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Volume SM (µL)	0	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
Volume d'eau distillée (µL)	1000	900	800	700	600	500	400	300	200	100	0

## 2.5.2. Dosage des flavonoïdes

### ➤ Principe

La quantification des flavonoïdes est effectuée par une méthode colorimétrique adoptée par Yun *et al.* (2009). La formation d'un complexe jaunâtre qui absorbe à 420 nm, lors de l'ajout du trichlorure d'aluminium, est due à la fixation des ions Al<sup>3+</sup> sur les atomes d'oxygènes présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Bahorun *et al.*, 1996).



**Figure 9:** protocole du dosage des polyphénols totaux (Singleton et Rossi, 1965).

### ➤ Mode opératoire

La quantification des flavonoïdes est réalisée à l'aide d'une courbe linéaire d'étalonnage en utilisant la quercétine à différentes concentrations comme standard (Tableau X), à partir d'une solution mère (SM) de 0.2 mg/mL de méthanol, dans les mêmes conditions que l'échantillon.

Pour chaque extrait un blanc est réalisé. Dans le cas de l'extrait aqueux, l'échantillon est remplacé par l'eau distillée, dans le cas de l'extrait éthanolique, il est remplacé par l'éthanol (Figure 10). Pour chaque extrait 3 répétitions sont réalisées.

Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g), selon l'équation suivante :

$$T_f = C \times V/M$$

**T<sub>f</sub>**: Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g d'extrait sec de la plante);

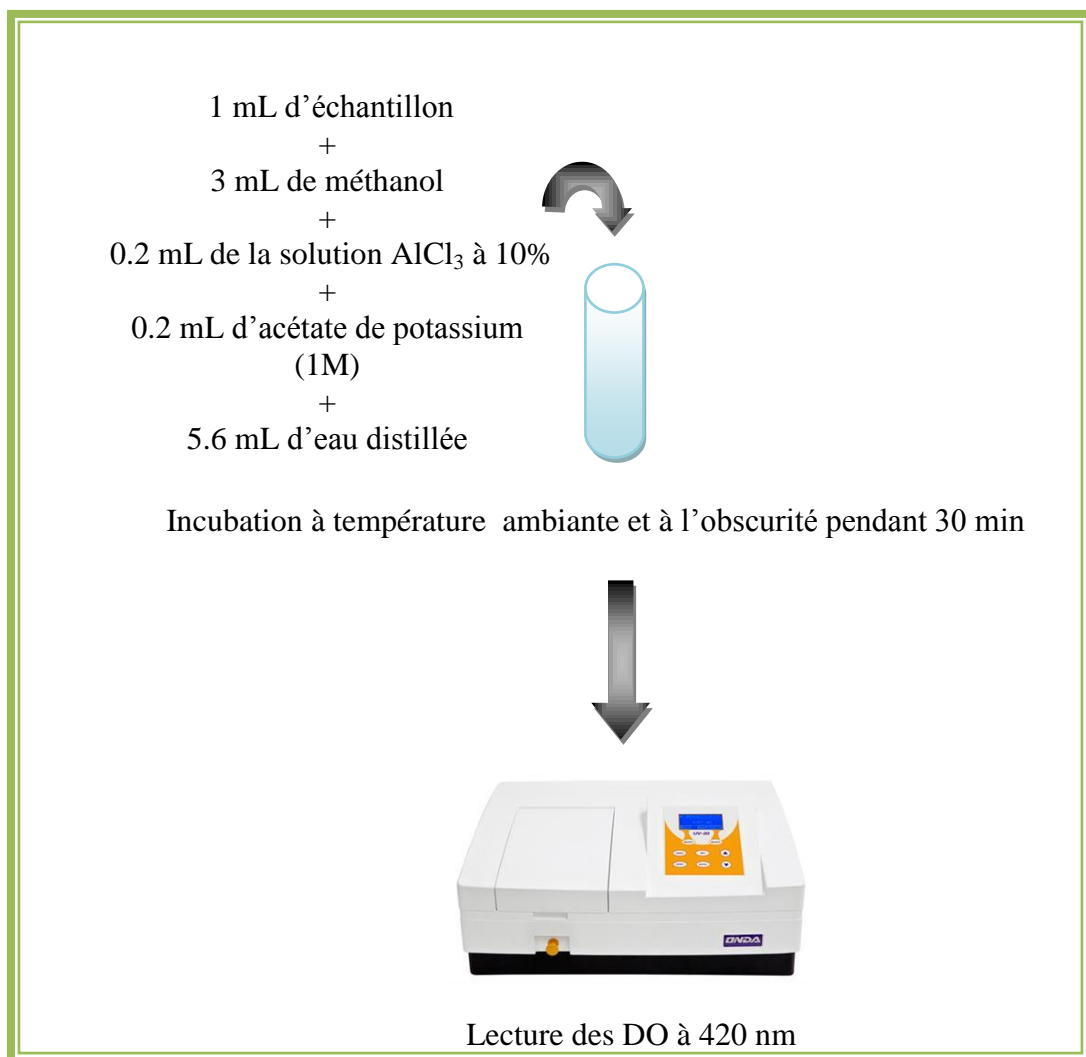
**C**: Concentration de l'extrait équivalent à la quercétine, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/mL);

**V**: Volume de l'extrait (mL);

**M**: Poids sec de l'extrait de la plante (g).

**Tableau X**: préparation de la gamme des dilutions de la quercétine.

Concentration mg/mL	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1	0.12
Volume SM (μL)	0	200	400	600	800	1000	1200
Volume de méthanol (μL)	2000	1800	1600	1400	1200	1000	800



**Figure 10**: protocole du dosage des flavonoïdes (Yun *et al.*, 2009).

### 2.5.3. Dosage des tanins condensés

#### ➤ Principe

Les tanins condensés sont dosés selon la méthode colorimétrique de Folin-Denis décrite par Joslyn (1970) (Figure 11). La réduction de l'acide phosphomolybdique et tungstique (dans un milieu alcalin) en présence des tanins donne une coloration bleue dont l'intensité est mesurée à 760 nm.

#### ➤ Mode opératoire

La concentration en tanins condensés contenue dans les différents extraits, est calculée par référence à une courbe d'étalonnage, en utilisant l'acide tannique comme standard. À partir de la solution mère (SM) de 1 mg/mL d'eau distillée, on prépare une gamme de dilution selon le tableau XI.

Pour chaque extrait un blanc est réalisé en remplaçant l'échantillon par l'eau distillée dans le cas de l'extrait aqueux, et par l'éthanol dans le cas de l'extrait éthanolique. 3 répétitions sont réalisées pour les différents extraits (Figure 11). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide tannique par gramme de matière sèche (mg EAT/g MS) selon l'équation suivante :

$$T_f = C \times V/M$$

**T<sub>f</sub>**: Teneur en tanins condensés (mg EAT/g MS);

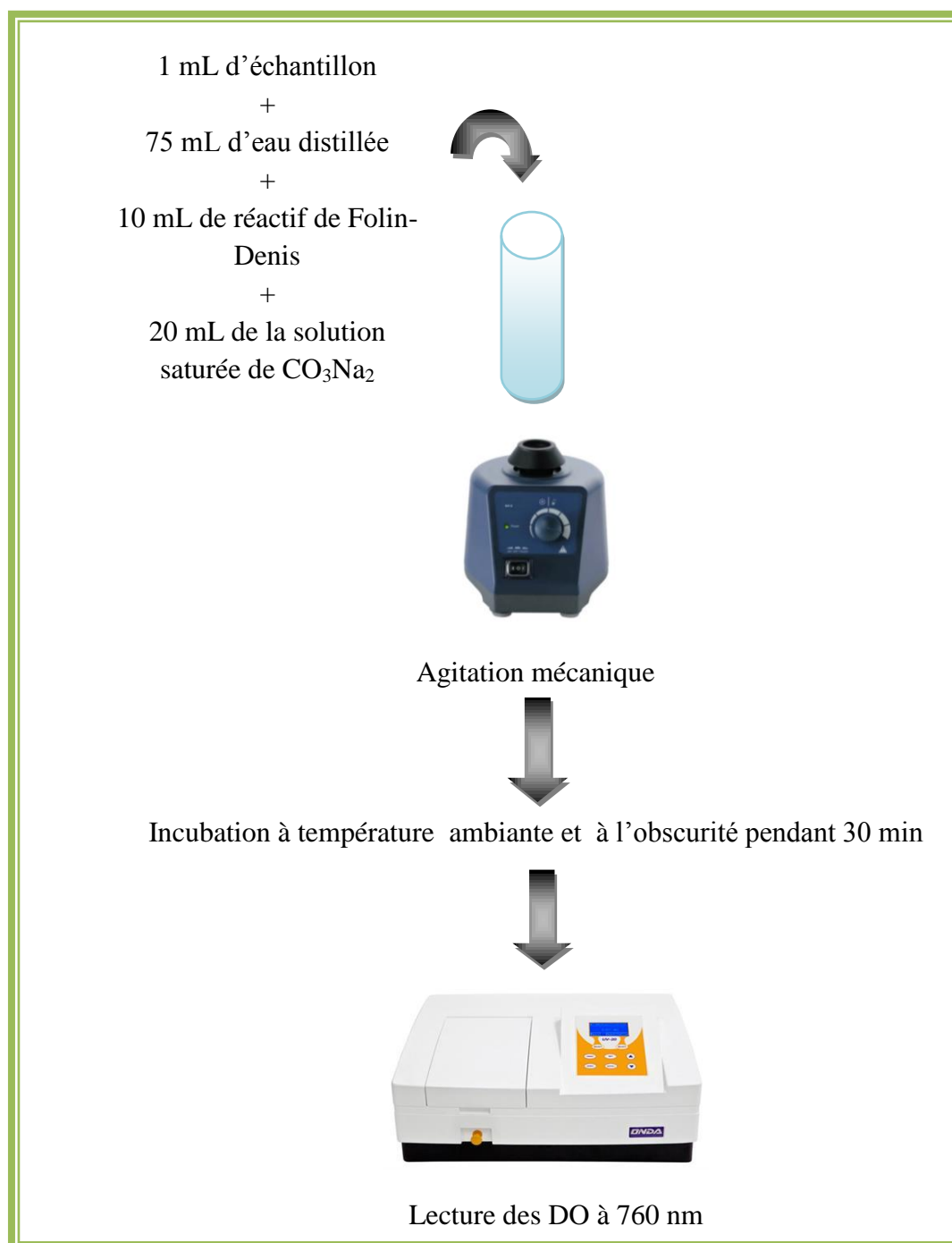
**C**: Concentration de l'extrait équivalent à l'acide tannique, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/mL);

**V**: Volume de l'extrait (mL);

**M**: Poids sec de l'extrait de la plante (g).

**Tableau XI:** préparation de la gamme de dilution de l'acide tannique.

Concentration (mg/mL)	0	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5
Volume SM (μL)	0	2000	1800	1600	1400	1200	1000
Volume en eau distillée (μL)	2000	0	200	400	600	800	1000



**Figure 11:** protocole du dosage des tanins condensés (Joslyn, 1970).

## 2.6. Huile essentielle

### 2.6.1. Procédés d'extraction de l'HE

Pour l'extraction de l'HE de l'armoise blanche, deux techniques sont utilisées : l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur saturée.

- ❖ **Hydrodistillation** : dans un alambic, 100 g de la plante est immergée dans 2 L d'eau distillée et portée à l'ébullition. Le mélange de la vapeur d'eau et de l'HE est refroidi dans un réfrigérant, puis condensé et transformé en gouttelettes d'eau et d'HE. Ces dernières sont récupérées dans une ampoule à décantation à l'abri de la lumière [Annexe 5].

Le faible rendement de cette technique en HE, nous a amené à valoriser son hydrolat dans l'activité insecticide. Pour avoir un meilleur rendement en l'HE, une deuxième technique est utilisée (l'entraînement à la vapeur d'eau saturée).

- ❖ **L'entraînement à la vapeur saturée** : une enceinte contenant 6 L d'eau distillée est portée à l'ébullition. Lorsque la température atteint 100 °C et la pression 3 bar, un robinet de régulation de la vapeur est ouvert pour permettre à ce dernier de traverser une enceinte d'entraînement à la vapeur contenant 500 g de plante. La vapeur saturée permet l'éclatement des cellules végétales et la libération de l'HE. Le mélange d'eau et de l'HE est entraîné vers un refroidisseur connecté à l'essencier. Deux couches sont ainsi formées, l'une fine et moins dense flotte à la surface constitue l'HE, l'autre plus dense c'est l'hydrolat mélangé avec l'eau distillée (Figure 12).

L'HE est récupérée à l'aide d'une micropipette et conservée dans un flacon en verre ombré à basse température (+4 °C) afin d'éviter sa dénaturation.

### 2.6.2. Rendement en HE

Le rendement en HE est estimé par le rapport de masse de l'HE et de la matière végétale sèche. Il est exprimé en pourcentage (%) (Bousbia, 2011).

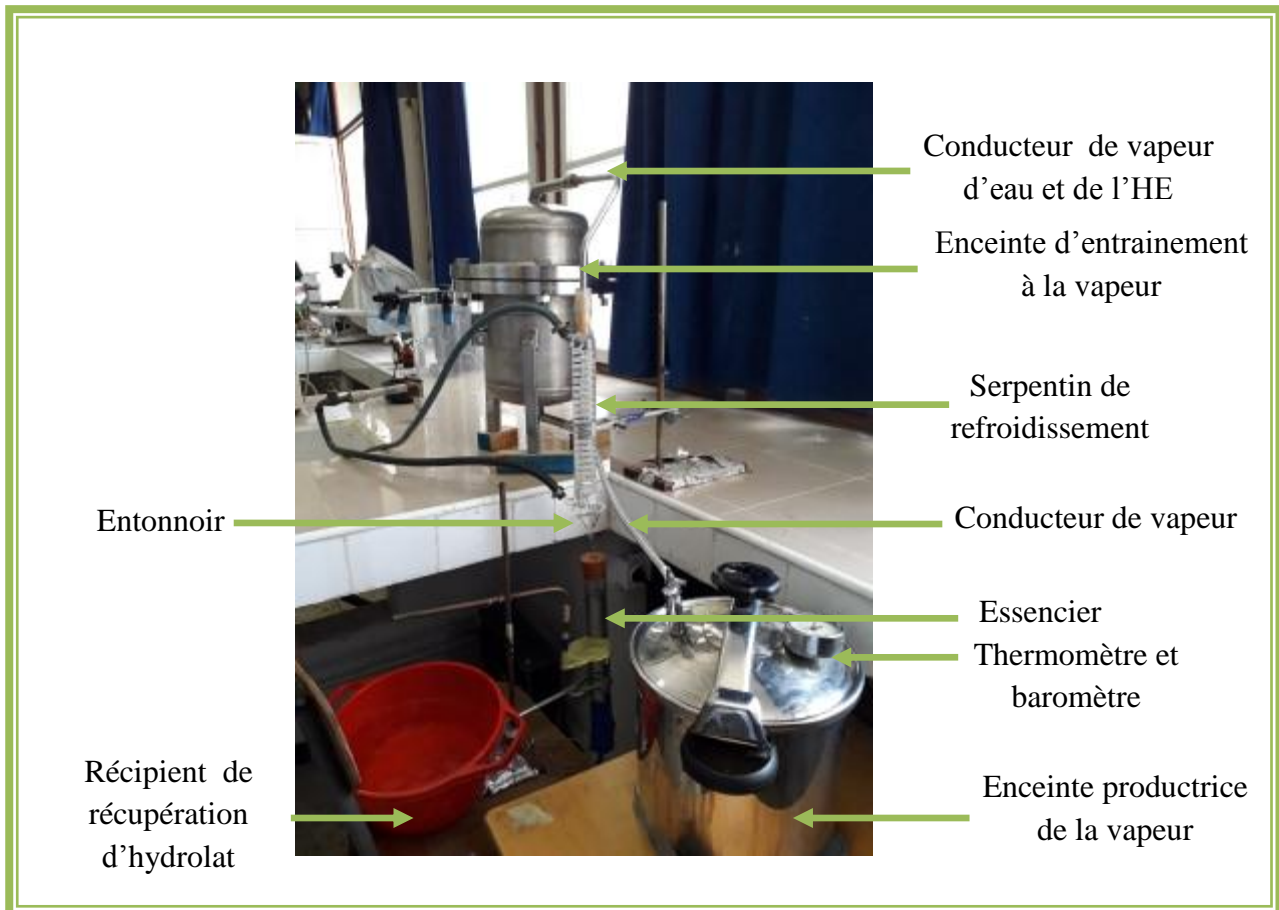
Où :

$$R_{dtHE} = M_{HE} / M_{VS} \times 100$$

**R<sub>dtHE</sub>**: Rendement en huile essentielle (%);

**M<sub>HE</sub>**: Masse de l'huile essentielle (g);

**M<sub>VS</sub>**: Masse de la matière végétale sèche (g).



**Figure 12:** procédé d'extraction de l'HE par entraînement à la vapeur d'eau saturée.

## 2.7. Tests des activités biologiques

### 2.7.1. Test de l'activité antioxydante

#### 2.7.1.1. Test de piégeage des radicaux libres DPPH

##### ➤ Principe

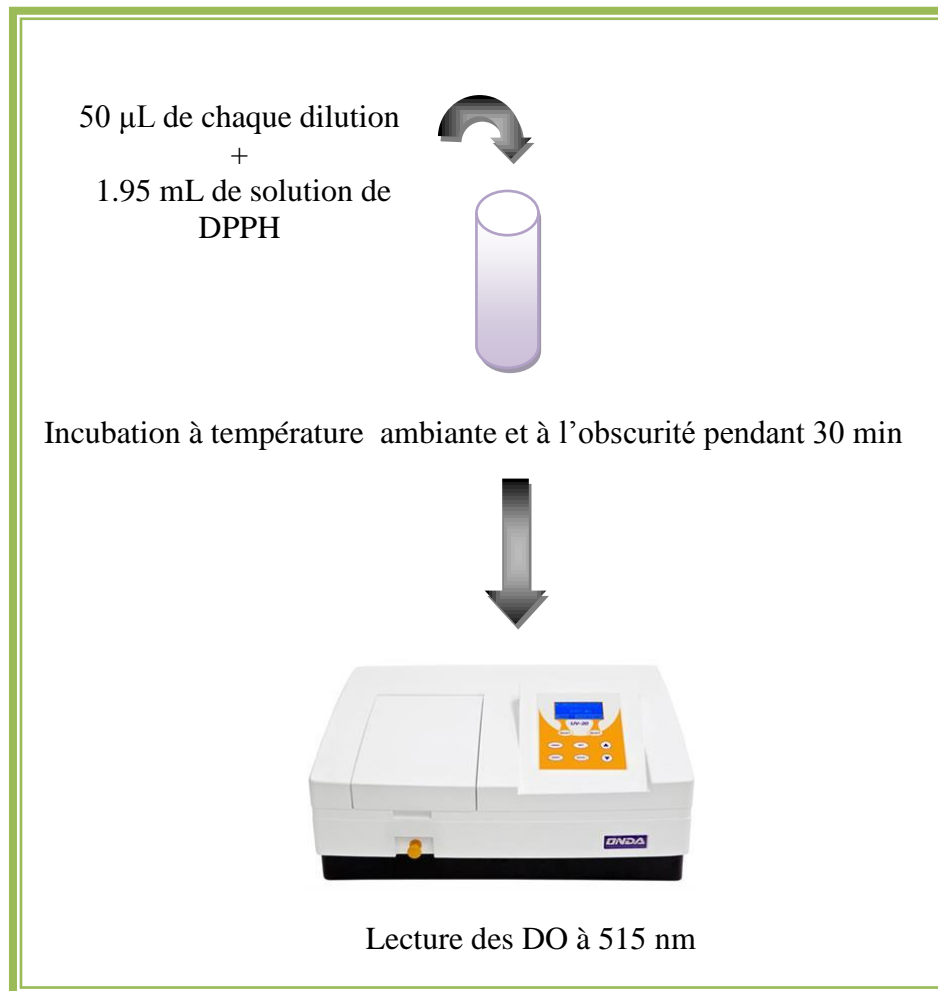
L'activité antiradicalaire, est étudiée en utilisant la méthode du DPPH selon le protocole décrit par Sanchez-Moreno *et al.* (1998) (Figure 14).

Dans ce test les antioxydants réduisent le diphenyl picryl-hydrazyl de couleur violet en un composé jaune (Figure 13), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons.



**Tableau XII:** préparation de la gamme de dilution de l'acide ascorbique pour le DPPH.

Concentration (mg/mL)	0.0	0.01	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1
Quantité en vitamine C ( $\mu\text{L}$ )	0	10	20	40	60	80	100
Quantité en eau distillée ( $\mu\text{L}$ )	1000	990	980	960	940	920	900

**Figure 14:** protocole de piégeage du radical libre DPPH (Sanchez-Moreno *et al.*, 1998).

### 2.7.1.2. Test de la réduction du fer FRAP

#### ➤ Principe

L'activité réductrice du fer des échantillons est déterminée selon la méthode décrite par (Oyaizu, 1986) (Figure 15).

La méthode de FRAP est basée sur la réaction de réduction du fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) présent dans le complexe  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) par un antioxydant. La réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) à la couleur bleu-vert du fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ). L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotomètre à 760 nm (Chung *et al.*, 2002).

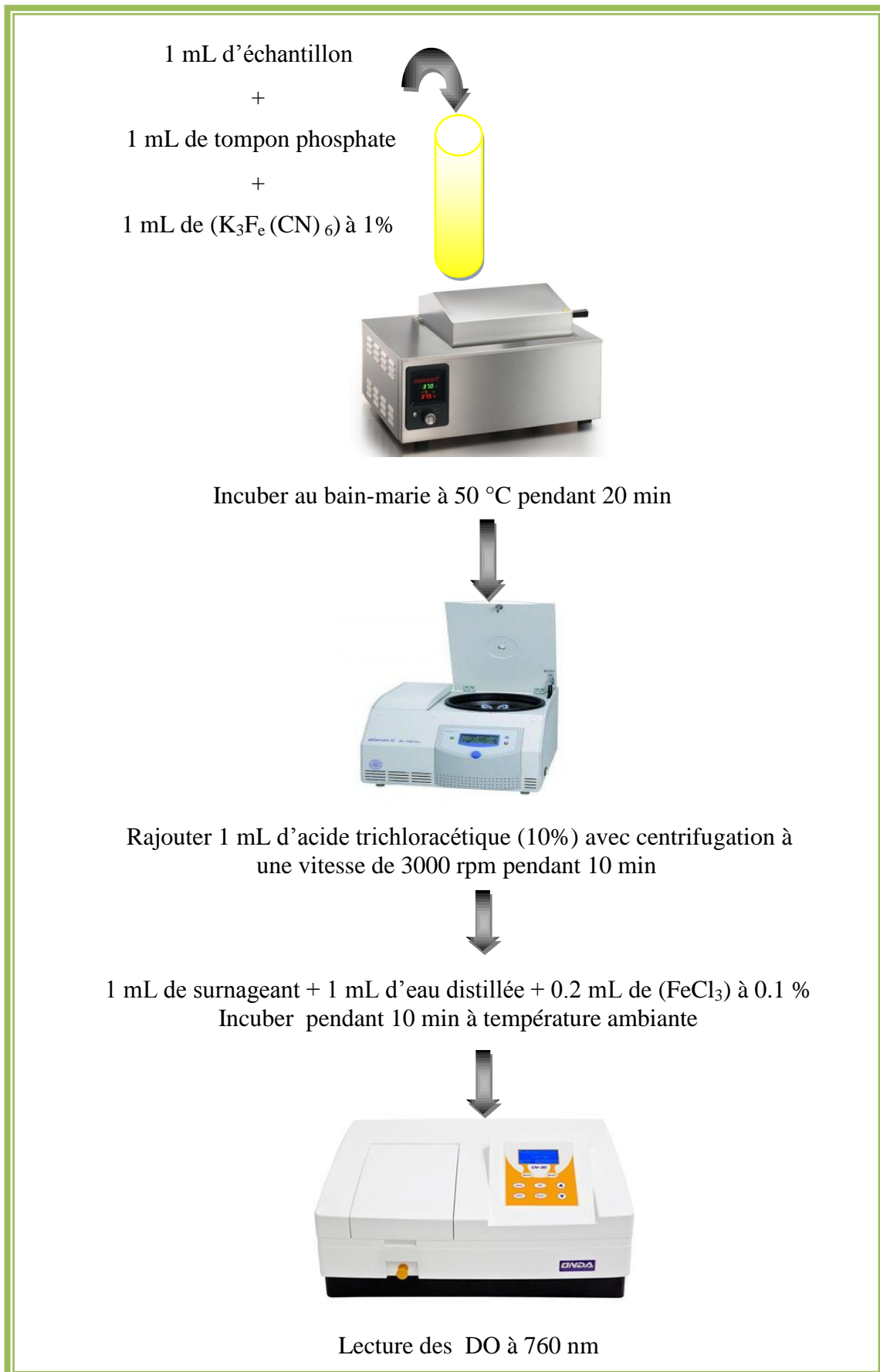
#### ➤ Mode opératoire

Les dilutions des échantillons sont préparées, ainsi que le standard (acide ascorbique) dans l'eau distillée, à partir d'une solution mère 0.1 mg/mL (Tableau XIII).

Les résultats permettent de calculer le pouvoir réducteur  $\text{Pr}_{0.5}$ ; qui est la concentration de l'extrait à une DO de 0.5 à 760 nm, obtenu à partir des courbes de régression linéaire. L'activité des échantillons est comparée à celle du standard. L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de la réduction du fer.

**Tableau XIII:** préparation de la gamme des dilutions de l'acide ascorbique pour la FRAP.

Concentration (mg/mL)	0	0.01	0.025	0.05	0.075	0.1
Quantité en vitamine C ( $\mu\text{L}$ )	0	100	250	500	750	1000
Quantité en eau distillée ( $\mu\text{L}$ )	1000	900	750	500	250	0



**Figure 15:** protocole du test de la réduction du fer (Oyaizu, 1986).

## 2.7.2. Test de l'activité antibactérienne

### 2.7.2.1. Revivification et contrôle de la pureté des souches

Des souches conservées dans des cryo-tubes à -40 °C sont revivifiées en les incubant à 37° C pendant 3 H, puis leur contenu est versé dans 9 mL de bouillon BHI et réincubé à 37 °C pendant 24 H. Un repiquage bouillon-bouillon est réalisé après 24 H. Le 3<sup>ème</sup> jour un repiquage BHIB /gélose MH (1.5% d'agar) est effectué (Figure 16). La pureté des souches (*S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus* et *E. faecalis*) est vérifiée par la coloration de Gram, le test de catalase et l'aspect des colonies isolées. Une fois la pureté est assurée, une copie est conservée à -40 °C dans des cryo-tubes contenant 50 % de BHIB et 50 % de glycérol. Une autre copie est ensemencée sur la gélose MH puis conservée à 4 °C pour une utilisation ultérieure.

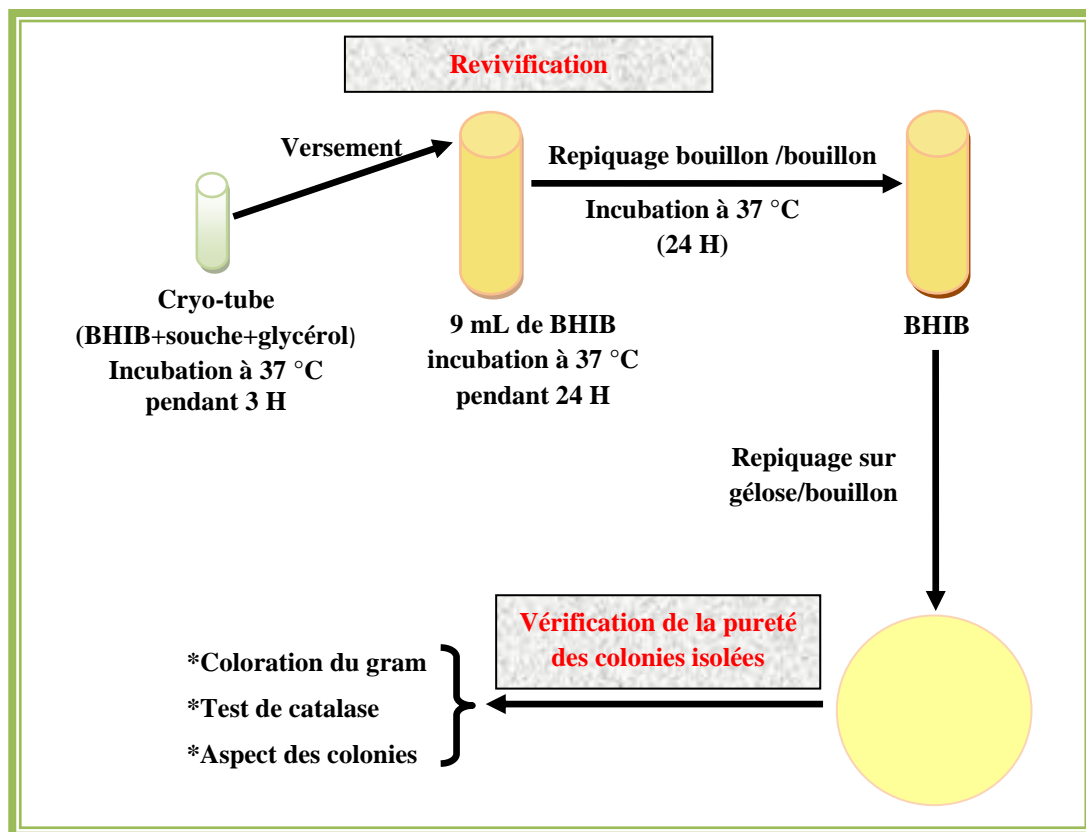


Figure 16: revivification et vérification de la pureté des souches.

### 2.7.2.2. Préparation de l'inoculum et standardisation

Le test antibactérien est réalisé à partir des cultures pures et jeunes de 24 H. Ces souches sont entretenues par repiquage sur gélose MH, qui est favorable à leur croissance.

Afin d'obtenir une suspension bactérienne standardisée, des colonies jeunes sont dissoutes dans 9 mL (9 %) d'eau physiologique stérile. La standardisation est effectuée à une longueur d'onde de 620 nm jusqu'à avoir une DO de 0.08 à 0.1 nm, c'est l'équivalent d'une charge bactérienne de  $10^8$  UFC/mL.

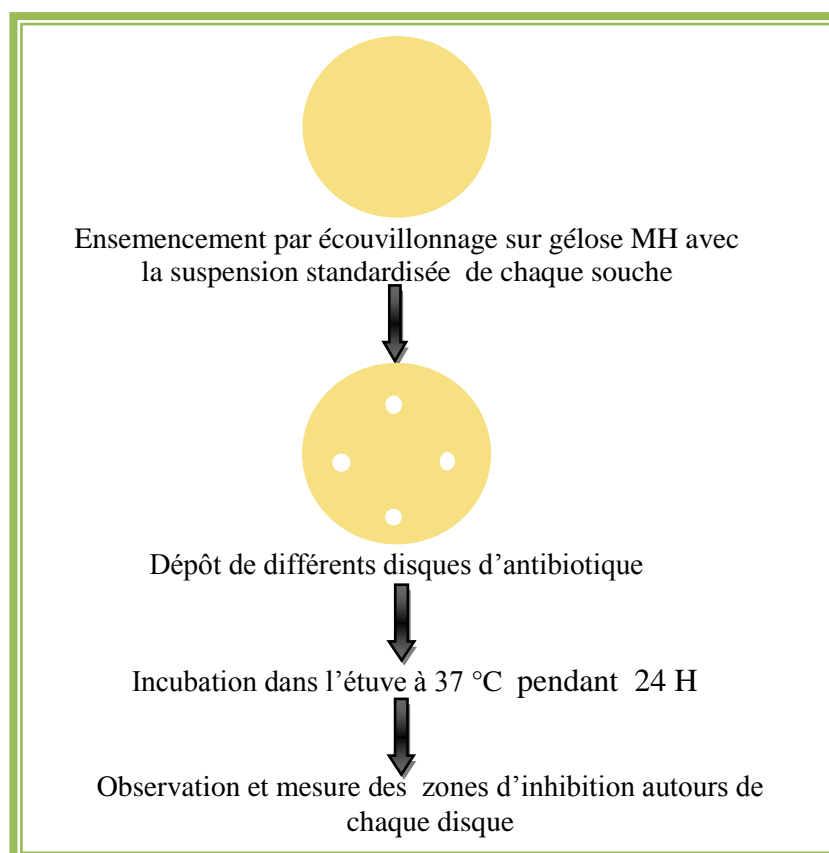
L'inoculum peut être ajusté en ajoutant de la culture si la DO est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile si elle est trop forte (Aboun *et al.*, 2008; Abi-Ayad, 2009).

### 2.7.2.3. Antibiogramme des souches cibles

Ce test est réalisé afin de déterminer l'antibiotique à utiliser comme témoin positif par la liste des antibiotiques disponible dans le laboratoire.

#### ➤ Mode opératoire

L'antibiogramme sur milieu solide, consiste à réaliser un tapis bactérien par écouvillonnage sur milieu MH (1 % d'agare), avec une suspension bactérienne standardisée (Figure 17). Différents disques d'antibiotiques sont placés sur la gélose. La lecture des zones d'inhibition se fait après incubation à 37 °C pendant 24 H.



**Figure 17** : technique d'antibiogramme.

#### 2.7.2.4. Activité antibactérienne des extraits et de l'HE (technique d'aromatogramme)

Le test d'aromatogramme des extraits et de l'HE est réalisé selon la méthode des puits sur les souches bactériennes (Prescott *et al.*, 2003).

##### ➤ Principe

Cet examen se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques, préalablement sélectionnées. Cette technique datée de 1950 est perfectionnée (Koroch *et al.*, in Berger, 2007).

##### ➤ Mode opératoire

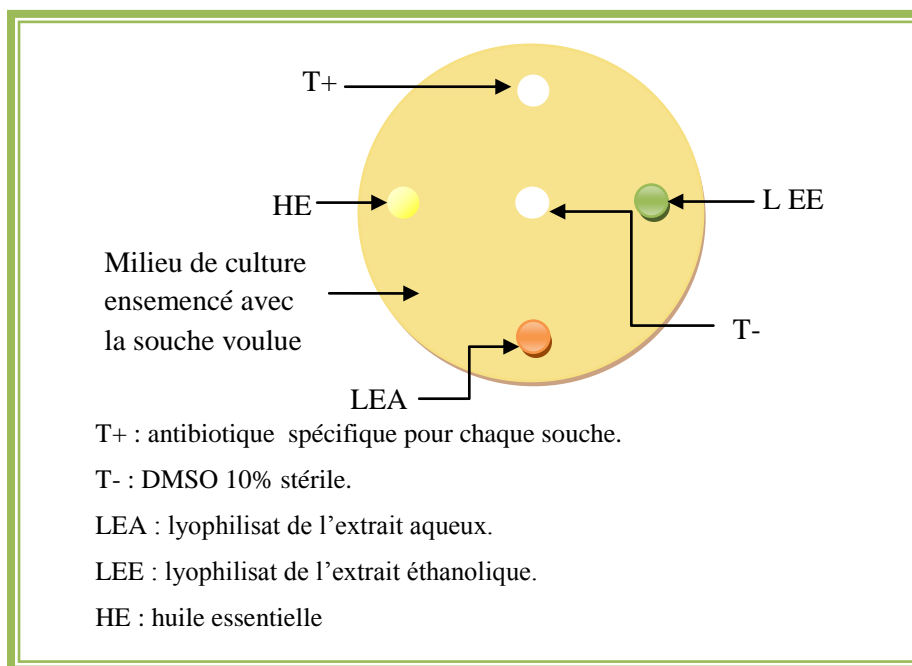
1 mL de la suspension bactérienne de chaque souche préalablement standardisée, est mise séparément dans des tubes contenant 9 mL de gélose MH liquéfiée et refroidie à 45 °C. Après agitation (sans création des bulles d'air), les milieuxensemencés sont coulés sur des boîtes de Pétri stérile, après leur solidification, des puits de 6 mm de diamètre sont réalisés avec des pipettes Pasteures stériles, une goutte de gélose MH liquéfiée est utilisée afin d'obstruer chaque puits, ce dernier va recevoir 20 µL d'extrait stérile (aqueux et éthanolique par l'UV) d'une concentration de 1.5 g/mL et de l'HE. Pour chaque échantillon 2 répétitions sont réalisées (Figure 18).

Les boîtes de Pétri sont placées à +4 °C pendant 15 à 30 mn, pour permettre aux extraits et à l'HE de se diffuser dans la gélose avant la multiplication des bactéries. Les boîtes sont retirées du réfrigérateur et placées dans l'étuve à 37 °C pendant 24 H.

##### ➤ Lecture des résultats

La lecture se fait par la mesure du diamètre, en mm, de la zone d'inhibition (zone claire) autour de chaque puits à l'aide d'une règle. Ils peuvent être symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de nos extraits et de l'HE.

- Non sensible (-) ou résistante: diamètre < 8 mm;
- Sensible(+): diamètre compris entre 9 et 14 mm;
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 et 19 mm;
- Extrêmement sensible (+++): diamètre > 20 (Ponce *et al.*, 2003).



**Figure 18:** schéma représentatif de l'activité antibactérienne avec les différents échantillons.

### 2.7.2.5. Détermination de la CMI

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la plus faible concentration des extraits ou de l'HE capable d'inhiber toute croissance visible du germe. Elle mesure un effet bactériostatique et ne renseigne pas sur l'état de la population bactérienne, ne permettant notamment pas de préciser si elle a été tuée en partie ou totalement ou si elle a seulement cessé de se multiplier (Bergogne-Bérézin et Dellamonica, 1999).

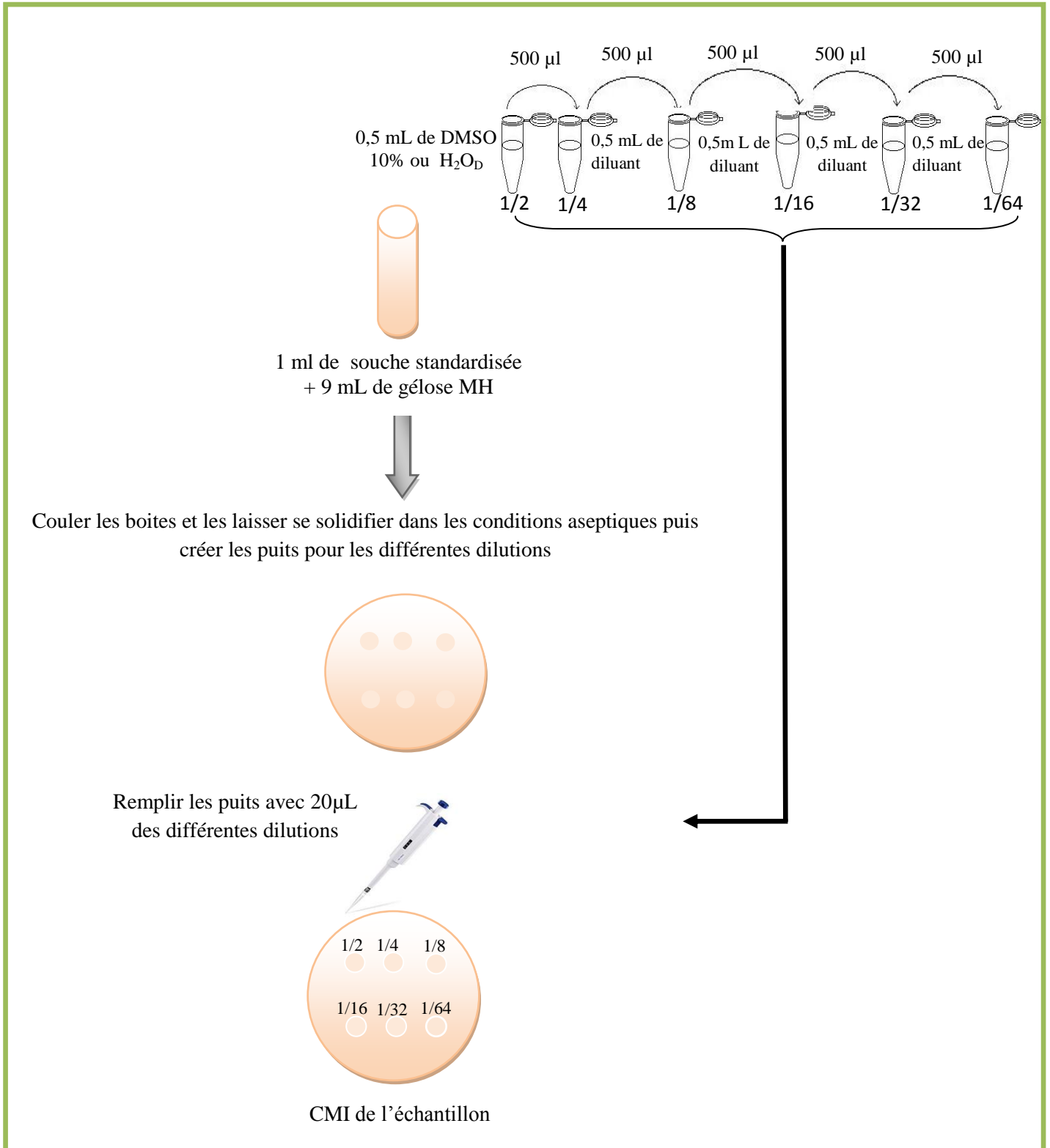
#### ➤ Mode opératoire

Les gammes de concentration, de l'HE et de lyophilisat des extraits, sont préparées dans 18 tubes Eppendorfs. Les 12 premiers sont remplis de 500  $\mu$ L de DMSO 10 %, dont 6 tubes sont utilisés pour diluer l'HE et les 6 autres pour diluer l'extrait éthanolique. Les tubes restants sont utilisés pour diluer l'extrait aqueux avec 500  $\mu$ L d'eau distillée.

A partir des différentes solutions mères des extraits (1.5 g/mL) et de l'HE, des dilutions demi en demi sont réalisées, jusqu'à avoir une concentration de 1/64.

Chaque boîte est ensemencée en masse avec 1 mL de différentes suspensions bactériennes standardisées, 6 puits sont réalisés à l'aide d'une pipette Paster. Dans chaque puits, on introduit 20  $\mu$ L de dilution des différents échantillons (Figure 19). Pour chaque échantillon 2 répétitions sont réalisées. Les boîtes sont placées à + 4 °C pendant 15 à 30 mn,

afin de permettre aux échantillons de se diffuser, elles sont incubées dans l'étuve à 37 °C pendant 24 H. La détermination de la CMI se fait par l'apparition de la zone claire à la plus faible concentration des échantillons.



**Figure 19** : détermination de la CMI en milieu solide.

### 2.7.3. Test de l'activité insecticide

#### 2.7.3.1. Préparation du substrat

La farine d'avoine (*Avena sativa*) utilisée comme substrat pour les tests de toxicité de l'HE d'*A. herba alba* vis-à-vis du tribolium provient du marché local. Elle est soumise à une température de 60° C pendant 30 minutes et conservée dans un réfrigérateur afin d'éviter toute contamination par d'autres insectes ravageurs.

#### 2.7.3.2. Valorisation de l'hydrolat et étude de l'activité insecticide de l'HE d'*A. herba alba*.

La méthode adoptée pour la valorisation de l'hydrolat et pour l'étude de l'activité insecticide de l'HE d'*A. herba alba* sur les adultes de *T. confusum* est l'inhalation. Cette méthode est décrite par Papachristos et Stamopoulos (2002). Son principe est basé sur la surveillance de la mortalité des insectes suite à l'inhalation des principes actifs de l'HE et de l'hydrolat testé.

##### ➤ Mode opératoire

#### a. Pour l'hydrolat

Dans des bocaux en verre de 100 mL contenant 20 mg de la farine d'avoine, une dose d'hydrolat est déposée sur un disque de papier Whatman de 2.5 cm fixé à l'aide d'un fil au centre de la face interne de leurs couvercles. Les doses testées sont : 50 et 100 µL. Parallèlement, un témoin est réalisé (papier Whatman sans hydrolat). Dix individus de *T. confusum* sont mis rapidement dans les bocaux aussitôt fermés. Quatre répétitions sont effectuées pour chaque dose et pour le témoin (Figure 20).

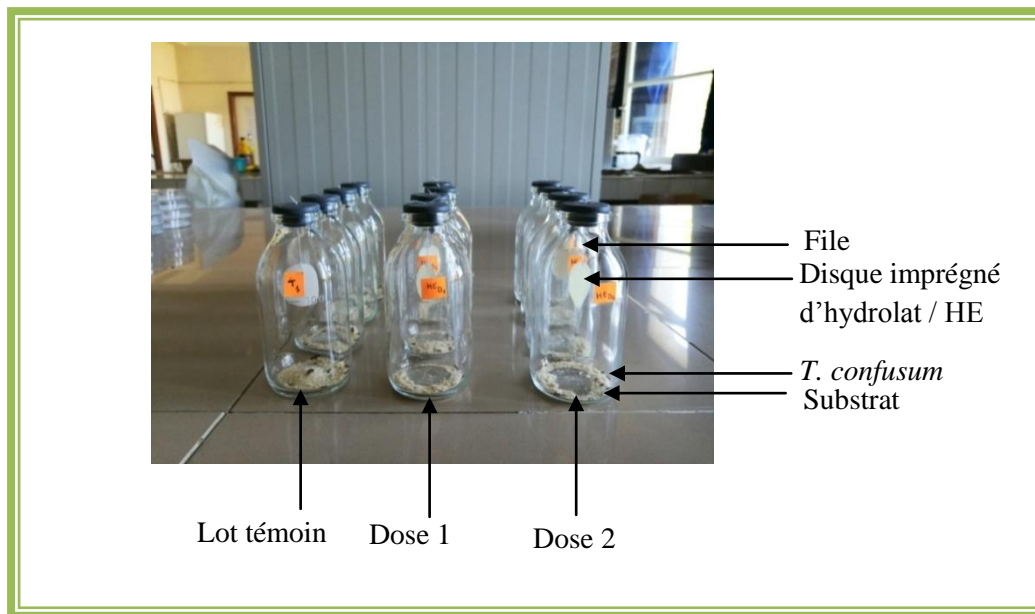
Le dénombrement des individus morts dans chaque bocal est effectué après des temps d'exposition variables : 24, 48, 72 et 96 H.

#### b. Pour l'huile essentielle

Des doses de 10 et 20 µL sont déposées sur les disques en même temps que de l'acétone (50 µL) dans le but d'une bonne répartition de l'HE. Un témoin est également réalisé uniquement avec l'acétone.

Dix individus de *T. confusum* d'une population homogène sont introduits dans des bocaux fermés hermétiquement. Quatre répétitions sont effectuées pour chaque dose et pour le témoin, comme le montre la figure 20.

Le dénombrement des individus morts dans chaque bocal est effectué après des temps d'exposition variables : 24, 48, 72 et 96 H.



**Figure 20:** évaluation de l'activité insecticide de l'HE et de l'hydrolat par le test d'inhalation.

### 2.7.3.3. Analyse des données

Les résultats des différentes expériences sont soumis au test de l'analyse de la variance Kruskal Wallis selon plusieurs critères de classification en utilisant le logiciel R version i386.

# Chapitre V

## Résultats et discussions

## 1. Rendement des extraits secs et de l'HE

La préparation des extraits de la partie aérienne d'*A. herba alba* est effectuée par des solvants à polarité croissante, il s'agit de l'éthanol 96 % et de l'eau distillée. L'extraction de l'HE est effectuée par l'entraînement à la vapeur saturée. Ces extractions ont des rendements différents, des aspects et des couleurs caractéristiques (Tableau XIV) [Annexe 6].

**Tableau XIV:** aspect, couleur, rendement et concentration maximal de saturation des lyophilisats (aqueux et éthanolique) et de l'HE d'*A. herba alba*.

	Aspect	Couleur	Rendement %	Concentration maximal de saturation (g/mL H <sub>2</sub> O <sub>D</sub> ou DMSO 10 %)
Lyophilisat de l'extrait aqueux	Poudre	Marron clair	15.68 ± 0.40	1.5
Lyophilisat de l'extrait éthanolique	Pâteux	Vert foncé	30.03 ± 2.07	1.5
Huile essentielle	Fluide	Jaune vif	0.18	/

L'extrait éthanolique donne clairement le meilleur rendement, 30.03± 2.07 %, suivi de l'extrait aqueux avec 15.68 ± 0.40 %, le rendement le plus faible est celui de l'HE avec 0.18 %.

Nia (2018) a signalé aussi un meilleur rendement de l'extrait éthanolique d'*A. herba alba* (13.14 %) par rapport à d'autres solvants, celui de l'extrait aqueux est de 12.49 %. Caia *et al.* (2003) ont montré que l'éthanol est le meilleur solvant d'extraction de certaines plantes de la famille des astéracées (*A. annua*, *A. argyi* et *A. capillaris*).

Notre rendement en l'HE est faible comparativement à celui obtenu par la même plante dans différentes régions d'Algérie (de 0.2 à 0.95 %) (Bezza *et al.*, 2010; Belhattab *et al.*, 2012), et à celui de la Tunisie (de 0.68 à 1.93 %) pour 18 provenances (Mohsen et Ferchichi, 2009). Celui de l'Espagne, est de 0.41 à 2.30 % pour 4 provenances (Salido *et al.*, 2004) et celui de la Jordanie est 1.3 % (Hudaib et Aburjai, 2006).

Pour le genre *Artemisia*, le plus haut pourcentage de l'HE est enregistré pour *A. cana* (1.3 %) et *A. frigida* (1.5 %). Par contre, le rendement le plus faible est enregistré pour *A. absinthium*, *A. biennis*, *A. dracunculus*, *A. longifolia* et *A. ludoviciana* avec des rendements allant de 0.3 à 0.5 % (Lopes-Lutz *et al.*, 2008).

D'après Bruneton (1999), les variations des rendements peuvent être attribuées non seulement à l'origine géographique de la plante, mais également aux nombreux facteurs comme : le stade de croissance, les conditions pédoclimatiques, le lieu de production, l'état de fraîcheur du végétal, *etc.* Plusieurs études ont montré l'influence du cycle végétatif et la technique d'extraction sur le rendement et la qualité de l'HE (Fellah *et al.*, 2006; Bendahou, 2007). Zahalka (2010) suggère que pour bénéficier du potentiel maximal offert par les plantes aromatiques, il faudrait récolter la plante pendant le stade végétatif où elle est plus riche en essence. L'équipe d'Abad (2012), affirme que le rendement et la qualité des HE des espèces du genre *Artemisia* sont influencés par le pH des sols.

## 2. Résultats de l'analyse qualitative

### 2.1. Screening phytochimique

Avant d'estimer la quantité des métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes et polyphénols), on doit d'abord vérifier leur présence au sein des échantillons.

On utilise des tests physico-chimiques simples avec deux solvants de polarités différentes : l'eau et l'éthanol. On affirme la présence ou l'absence de différentes familles des métabolites secondaire d'*A. herba alba* avec l'apparition d'une coloration ou précipitation. Les résultats sont portés dans le tableau XV [Annexe 10].

**Tableau XV** : résultats du screening phytochimique d'*A. herba alba*.

Screening		Extrait ou poudre végétale	
Composés recherchés	Résultats	Aqueux	Ethanolique
<b>Alcaloïdes</b>	Précipité ou trouble blanc	-	
<b>Anthocyanes</b>	Coloration bleu violacée	-	-
<b>Tanins</b>	Coloration vert foncé ou bleu vert	+	+
<b>Tanins catéchiques</b>	Coloration rouge	+	+
<b>Tanins galliques</b>	Coloration bleu foncé	+	+
<b>Quinones libres</b>	Coloration rouge	-	
<b>Glucosides</b>	Coloration rouge brique	-	
<b>Saponines</b>	Couche de mousse persistante	-	-
<b>Composés réducteurs</b>	Précipité rouge brique	+	+
<b>Flavonoïdes</b>	Coloration rouge ou rose	+	+
<b>Phénols</b>	Coloration bleu noirâtre ou vert foncé	+	+
<b>Terpenoïdes</b>	Coloration brune rougeâtre	+	+

**Cellules fusionnées** : tests faits avec la poudre végétale.

+ : présence du groupe de composés chimiques, - : réaction négative.

Le résultat du screening phytochimique a permis la révélation des composants présents dans les extraits et/ou la poudre d'*A. herba alba* : les flavonoïdes, les phénols, les terpénoïdes, les tanins et les composés réducteurs. Ces résultats sont similaires à ceux de Kahlouche-Riachi (2014) qui a indiqué la présence des flavonoïdes, des tanins et des terpénoïdes dans l'extrait hydroalcoolique d'*A. herba alba*, et l'absence des alcaloïdes et des saponines. En revanche, Nia (2018) confirme la présence des saponines dans l'extrait aqueux de la même plante.

Kahlouche-Riachi (2014) attribue la non-concordance des résultats au choix du solvant et au mode d'extraction.

Des études chimiques sur le genre *Artemisia* affirment que toutes les classes de composés sont présentes dans ce genre particulièrement les terpènes et les flavonoïdes (Wright, 2002).

## 2.2. Résultats de RP-HPLC

Le besoin de savoir les profils et d'identifier les composés individuels dans les échantillons exige le remplacement des méthodes traditionnelles par des techniques séparatives. Selon Gomez-Caravaca *et al.* (2006), l'HPLC est la technique analytique la plus utile pour caractériser les composés polyphénoliques.

Les résultats d'RP-HPLC, selon les standards utilisés, montrent la présence de certains composés qui appartiennent aux flavonoïdes tel que : la cathéchine et l'apigénine. Et d'autres appartiennent à l'acide phénolique comme : l'acide caféique et l'acide ferulique. Ils montrent aussi la présence d'acide ascorbique (Tableau XVI). La présence d'apigénine est confirmée par les travaux de Boudjelal (2013) sur les extraits d'*A. herba alba*.

Nos résultats concordent aussi avec ceux de Talbi (2015) qui a trouvé après l'analyse qualitative des extraits d'*Artemisia campestris* par HPLC la présence de la rutine, l'acide caféique et l'acide ascorbique.

**Tableau XVI :** liste des métabolites identifiées dans l'extrait aqueux d'*A. herba alba* par RP-HPLC.

Appartenance	Composé chimique	Temps de rétention (min)	Aire du pic (%)
	Acide ascorbique	1.646	4.362
<b>Flavonoïde (flavanol)</b>	Cathéchine	5.865	1.302
<b>A. phénolique</b>	Acide caféique	7.155	13.268
<b>A. phénolique</b>	Acide p-OH benzoïque	6.423	3.846
<b>Flavonoïde</b>	Rutine	8.284	6.209
<b>A. phénolique</b>	Acide ferulique	9.360	3.754
	Acide 3 hydroxy 4 Méthoxycinamique	9.738	7.295
<b>Flavonoïde (flavone)</b>	Lutheoline	13.087	2.662
<b>Flavonoïde (flavone)</b>	Apigénine	14.714	1.183
<b>Flavonoïde (flavanol)</b>	Isoraménitine	15.064	3.011

Le potentiel d'une plante médicinale est attribué à l'action de ses constituants phytochimiques. Ils sont produits comme métabolites II<sup>aires</sup>, en réponse au stress environnemental ou comme un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux (Mohammedi, 2013).

En effet, les polyphénols ont un rôle essentiel dans le métabolisme des végétaux, qui consistent à contrôler la croissance et le développement des plantes, en interagissant avec les hormones végétales spécialisées (Bouziane, 2015). En parallèle, les flavonoïdes jouent un rôle important dans la coloration (Alilou *et al.*, 2014), la protection des végétaux contre le stress hydrique et leurs tolérances aux métaux lourds présent dans les sols. Les flavonoïdes possèdent aussi plusieurs effets pharmacologiques (Makhloufi, 2010).

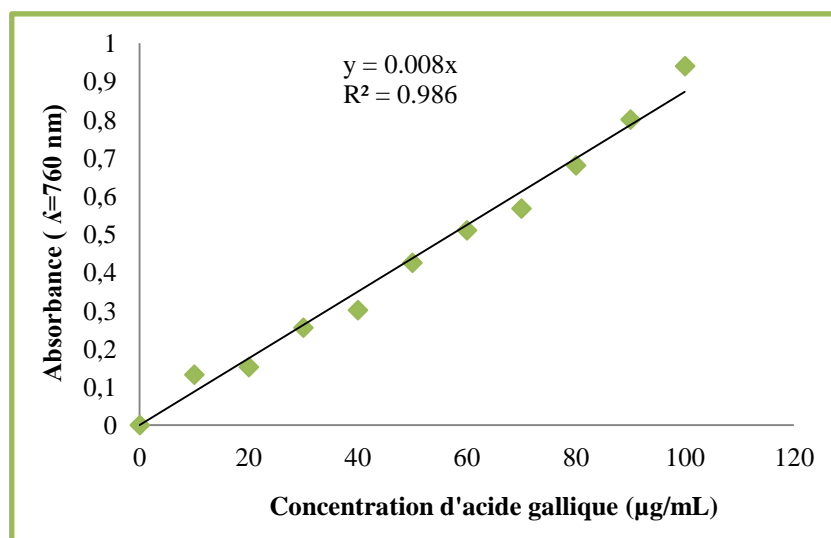
### 3. Résultats de l'analyse quantitative des extraits (Dosages)

La raison principale pour le choix de la recherche et du dosage de ces métabolites (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés) est basée sur leurs propriétés biologiques.

#### 3.1. Dosage des polyphénols totaux

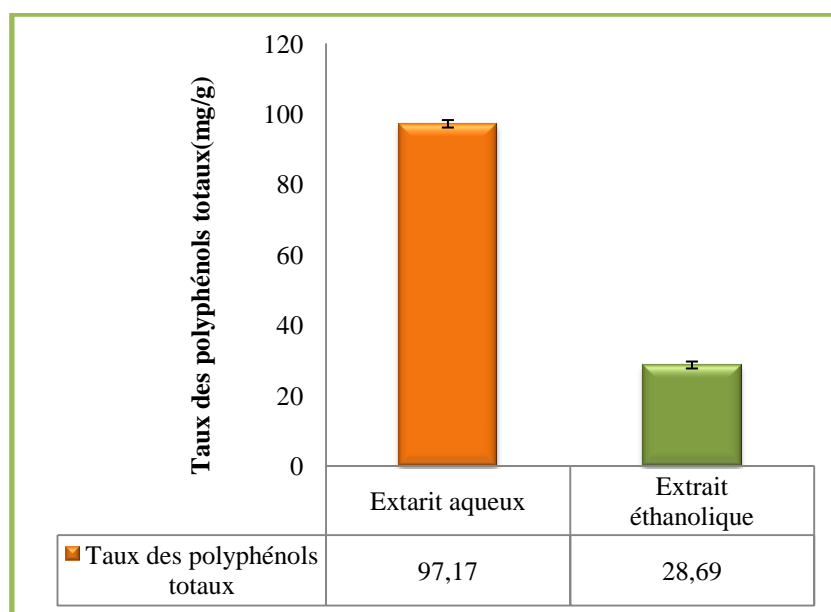
La teneur en phénols totaux est estimée par la méthode de Follin-Ciocalteu pour chaque extrait. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de matière sèche (mg EAG/g MS). Cette méthode de dosage présente une bonne productibilité

puisque l'absorbance est étroitement corrélée avec la concentration de l'acide gallique utilisé dans la gamme d'étalon ( $R^2 = 0.986$ ) (Figure 21).



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

Les teneurs en polyphénols totaux dans les extraits d'*A. herba alba* varient selon le solvant d'extraction. La figure 22 montre les résultats du dosage des polyphénols totaux, qui indiquent clairement que la meilleure teneur en polyphénols est obtenue avec de l'eau distillée ( $97.17 \pm 1.06$  mg EAG/g de MS), tandis que l'extrait éthanolique présente la teneur la plus faible ( $28.69 \pm 0.99$  mg EAG/g de MS).



**Figure 22 :** taux des polyphénols totaux dans les extraits aqueux et éthanolique.

Nos teneurs en composés phénoliques des extraits aqueux sont inférieurs par rapport à ceux obtenus par Seddik *et al.* (2010) (133.43 mg EAG/g de MS) dans les extraits aqueux de la même espèce.

Tawaha *et al.* (2007), ont obtenu des teneurs en composés phénoliques des extraits méthanoliques (3.46 g EAG/g de MS) et aqueux (2.35 g EAG/g de MS) d'*A. herba alba* très élevées par rapport à nos résultats.

Les taux en polyphénols pour l'extrait éthanolique sont de l'ordre de 28.69 mg EAG/g de MS. Ces teneurs sont intermédiaires aux résultats obtenus par Caia *et al.* (2003) qui ont constaté que l'éthanol est le meilleur solvant d'extraction avec des teneurs en composés phénoliques comprises entre 1.94 et 3.74 g EAG /100 g pour certaines plantes de la famille des astéracées (*Arctium lappa*, *A. annua*, *A. argyi* et *A. capillaris*).

Djeridane *et al.* (2006) ont déterminé la teneur en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique 70 % (V/V) de la partie aérienne d'*A. campestris*; qui est égale à 20.38 mg EAG/g MS, cette valeur est faible par rapport à la nôtre. Dans une autre étude, Djeridane *et al.* (2007) ont dosé les polyphénols totaux d'un extrait éthanolique (80 %) de la même plante, le résultat était 5 fois supérieur au précédent (103.4 mg EAG/g MS). Cette teneur peut atteindre plus de 450 mg EAG/g d'extrait lorsque l'extraction est réalisée avec une solution alcoolique à 50 % (Akrouit *et al.*, 2011).

Cette différence dans les teneurs peut être expliquée par la nature du solvant utilisé, les conditions expérimentales, environnementales, climatiques ainsi que les conditions de stockage, la période de collecte, la maturité et les facteurs génétiques (Falleh *et al.*, 2008).

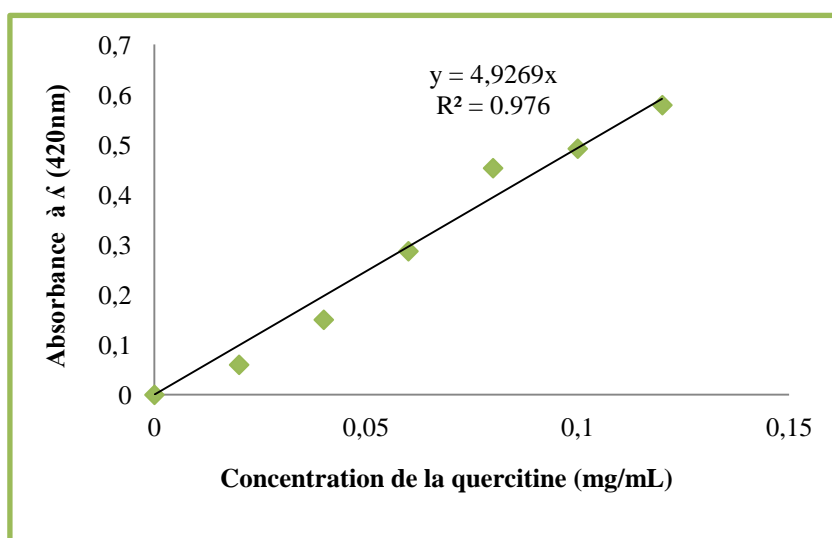
D'après Cazes (2005), les substances moins polaires (dérivés d'acides phénoliques) ne sont pas isolées quantitativement en utilisant l'eau pure comme solvant d'extraction. Chirinos *et al.* (2007) affirment que l'extraction par l'eau pure mène à un extrait ayant une teneur élevée en impuretés (acides organiques, glucides, protéines solubles) qui peuvent interférer dans le dosage des composés phénoliques.

Les acides phénoliques très polaires (acides benzoïques et cinnamiques) ne peuvent pas être extraits complètement avec des solvants organiques purs, donc les mélanges alcool-eau sont recommandés. L'utilisation de l'eau en combinaison avec des solvants organiques contribue à la création d'un milieu modérément polaire qui assure l'extraction des composés phénoliques (Lapornik *et al.*, 2005; Liyana-Pathirana et Shahidi, 2005).

La solubilité des composés phénoliques est influencée par le type de solvant utilisé et le degré de leurs polymérisations (Naczki et Shahidi, 2004). Cependant, ces derniers sont le plus souvent combinés à d'autres substances (protéines, polysaccharides, terpènes, chlorophylle, lipides, composés inorganiques, *etc.*) (Mompon *et al.*, 1996).

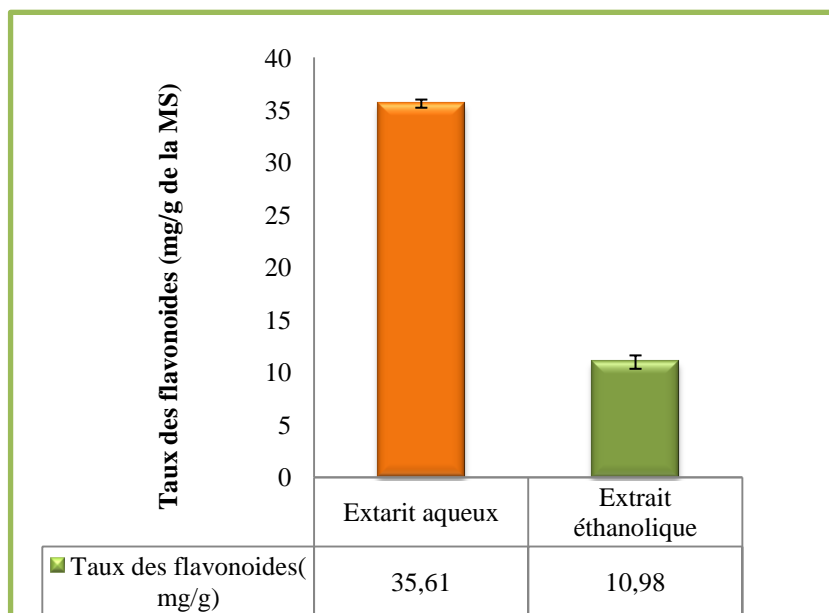
### 3.2. Dosage des flavonoïdes

La détermination quantitative des flavonoïdes s'effectue par la méthode de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), elle se base sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium ayant une absorbance maximale à 420 nm. La quercétine est utilisée comme standard. Les résultats de ce dosage sont exprimés en mg équivalent de la quercétine à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 23)[Annexe 11].



**Figure 23:** courbe d'étalonnage de la quercétine.

Les teneurs en flavonoïdes des extraits d'*A. herba alba* varient selon le solvant d'extraction. Les résultats des dosages sont présentés dans la figure 24.



**Figure 24 :** taux des flavonoïdes dans les extraits aqueux et éthanolique.

L'extrait aqueux présente la plus grande teneur en flavonoïdes dont la valeur est de  $35.61 \pm 0.39$  mg EQ/g de MS, alors que l'extrait éthanolique présente la teneur la plus faible ( $10.98 \pm 0.64$  mg EQ/g de MS).

Nos résultats par rapport aux teneurs en flavonoïdes d'extrait éthanolique sont supérieurs à ceux obtenus par Djeridane *et al.* (2006), qui ont noté une teneur de 0,32 g EQ/100g pour *A. arboresens* en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction. Djeridane *et al.* (2006) et (2007), ont déterminé la concentration des flavonoïdes dans deux extraits éthanoliques 70 % et 80 % (V/V) d'*A. campestris*, ces teneurs sont estimées à 7.46 et 5 mg EQ/g MS dans les deux extraits respectivement. Alors qu'Akrouit *et al.* (2011) ont enregistré une valeur de 56.31mg ER/g d'extrait alcoolique à 50 %.

Nos résultats relatifs à l'extrait aqueux sont inférieurs par rapport à ceux obtenus par Saoudi *et al.* (2010) qui ont trouvé une teneur de 131.89 mg EQ/g d'extrait aqueux d'*A. campestris*.

Le dosage est basé sur la solubilisation des composés dans les solvants. D'après Lapronik *et al.* (2005), la solubilité des flavonoïdes dépend du nombre, du type et de la position de la liaison des glucides avec les flavonoïdes.

La teneur en composés phénoliques peut être déterminée par plusieurs facteurs. Des études ont montré que les facteurs extrinsèques, tels que les facteurs géographiques et

climatiques, les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence (Aganga et Mosase, 2001).

### 3.3. Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés est réalisé selon la méthode colorimétrique de Folin-Denis. L'étalon est l'acide tannique, l'absorbance est lue dans une longueur d'onde de 760 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans la courbe d'étalonnage (Figure 25).

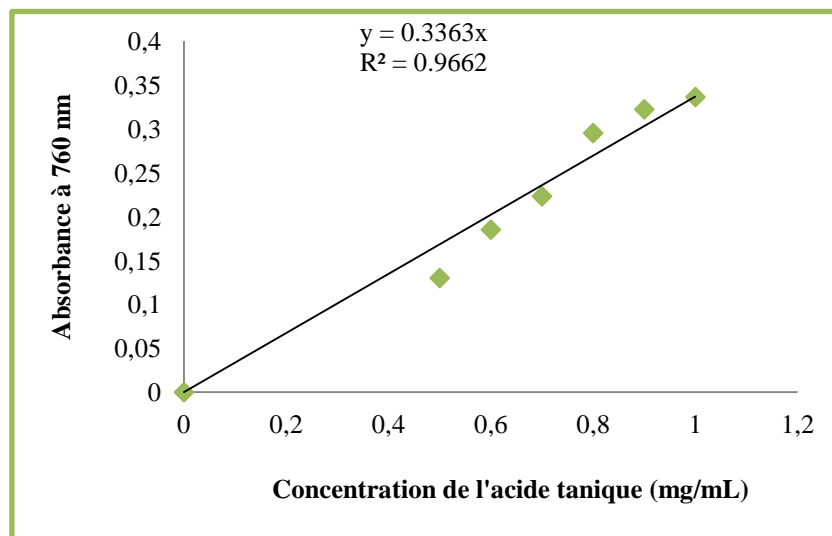


Figure 25: courbe d'étalonnage de l'acide tannique.

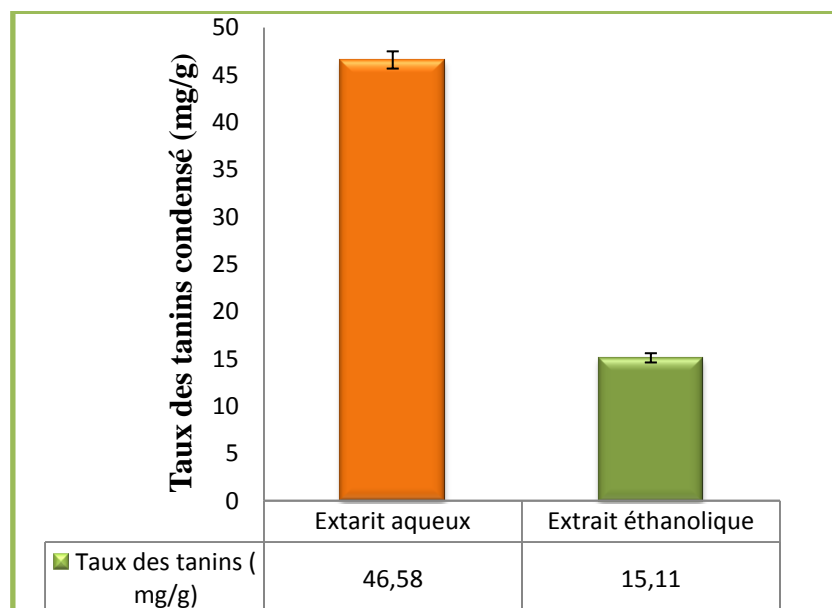


Figure 26: taux des tanins condensés dans les extraits aqueux et éthanolique.

D'après la figure 26, la teneur la plus importante en tanins est marquée par l'extrait aqueux ( $46.58 \pm 0.91$  mg EAT/g de MS), alors qu'une valeur de  $15.11 \pm 0.49$  mg EAT/g de MS est estimée pour l'extrait éthanolique.

Nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Khirdine (2013) qui a enregistré une concentration de 0.175 mg EAT/g MS pour la même espèce.

Les tanins condensés sont généralement amorphes, solubles dans l'eau et insolubles dans les solvants organiques apolaires (Quettier-Deleu *et al.*, 2000).

## 4. Résultats des tests des activités biologiques

### 4.1. Test de l'activité antioxydante

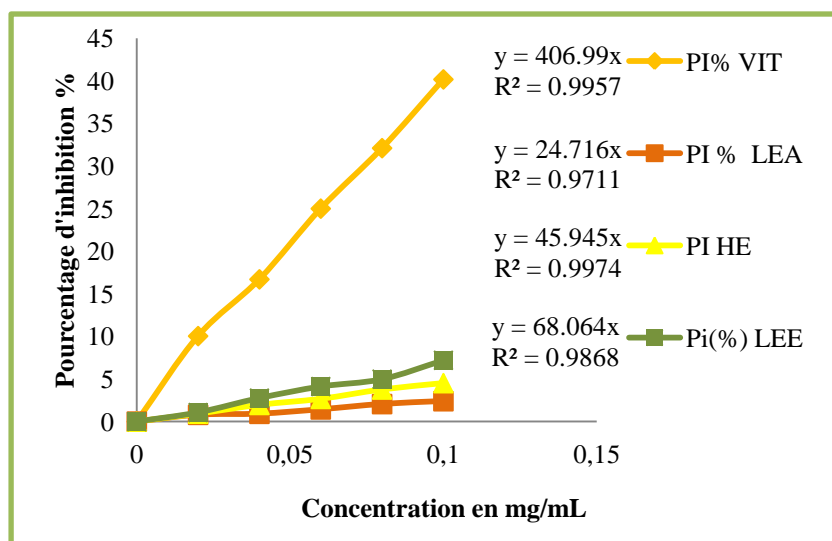
Pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* de l'armoise blanche, deux méthodes sont utilisées à savoir le DPPH et la FRAP.

#### 4.1.1. Test du piégeage des radicaux libres DPPH

La méthode DPPH est choisie, en raison de sa simplicité, sa rapidité, sa sensibilité et sa reproductibilité (Boudjelal, 2013).

L'efficacité d'un antioxydant peut être définie comme sa capacité à fixer les radicaux libres, donc à arrêter la propagation de la réaction en chaîne. Afin d'évaluer cette efficacité, on utilise la méthode au diphényl-picrylhydrazyl. Le degré de décoloration indique le potentiel piègeur des antioxydants présents dans les extraits (Molyneux, 2004) [Annexe 13]. Les résultats obtenus lors du test de mesure du pourcentage d'inhibition du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) pour les échantillons et le standard sont portés dans la figure 27) [Annexe 12, 14, 15 et 16].

La figure montre que l'activité antiradicalaire augmente avec la concentration du standard et des échantillons d'*A. herba alba*. Les pourcentages d'inhibition des radicaux libres pour l'HE, LEE et LEA sont largement inférieurs à ceux du standard (la vitamine C). Pour une concentration de 0.1 mg/mL, les pourcentages d'inhibition sont les suivants ; 40.17 % pour le standard, 7.2, 4.52 et 2.4 % pour LEE, HE et LEA respectivement.



**Figure 27** : courbe comparative du pourcentage d'inhibition des extraits et de l'HE avec l'acide ascorbique.

La capacité antioxydante des échantillons est déterminée à partir de leurs  $IC_{50}$ ; qu'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % de radical libre DPPH. Plus la valeur d' $IC_{50}$  est basse plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Hebi et Eddouks, 2016).

Le tableau XVII, montre que les  $IC_{50}$  d'échantillons testés : les extraits (éthanolique et aqueux) et l'HE, en comparaison à celui du standard (0.123 mg/mL), possèdent des valeurs de l'ordre de 0.735, 2.02 et 1.088 mg/mL respectivement. De ce fait, nous confirmons que nos échantillons sont moins actifs que le standard. L'extrait éthanolique est le plus actif, suivie de l'HE puis de l'extrait aqueux.

**Tableau XVII:** résultats d' $IC_{50}$  des différents échantillons de l'armoise blanche et du standard.

	Acide ascorbique	HE	LEA	LEE
$IC_{50}$ (mg/mL)	0.123	1.088	2.02	0.735

Les feuilles d'*A. herba alba* ont fait l'objet de nombreux travaux dont les résultats sont variables. Ceux obtenus par Craciunescu *et al.* (2012); Paudel *et al.* (2014); Bakchiche et Gherib (2014); Tuekaew *et al.* (2014); Djidel et khennouf (2014) concernant l' $IC_{50}$  des feuilles d'*A. herba alba* sont de l'ordre de : 0.57, 0.82, 0.039, 462.52 et 0.006 mg/mL respectivement. Cette variabilité est due à l'impact des facteurs environnementaux ainsi qu'à la composition chimique de l'extrait.

Des études montrent que l'activité anti-radicalaire est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes médicinales (Mariod *et al.*, 2009; Halmi, 2015).

Malgré la richesse d'*A. herba alba* en polyphénols, elle n'a pas donné un meilleur résultat de l'activité antioxydante. D'après Wu *et al.* (2004), ceci peut être dû à la méthode du dosage des polyphénols totaux choisies qui ne donne pas une teneur exacte de l'extrait.

Bien que le test au DPPH soit considéré comme une méthode simple, rapide et facile à réaliser, les expériences ont montré certaines difficultés de la mesure de l'état de réduction, un phénomène dynamique à faible concentration (traces d'antioxydant) est accompagné de nombreux composés formés, dans certains cas, instables.

De plus, il existe une hétérogénéité structurale au sein des composés phénoliques qui se traduit par des propriétés différentes. Le test au DPPH n'est pas quantitatif, il permet de comparer différents extraits entre eux selon leur capacité à piéger le DPPH et ainsi, d'apprécier les variations qualitatives des composés phénoliques.

L'absorbance du DPPH à 515-520 nm diminue sous l'action de la lumière, de l'oxygène, en fonction du pH et le type du solvant additionné à l'antioxydant.

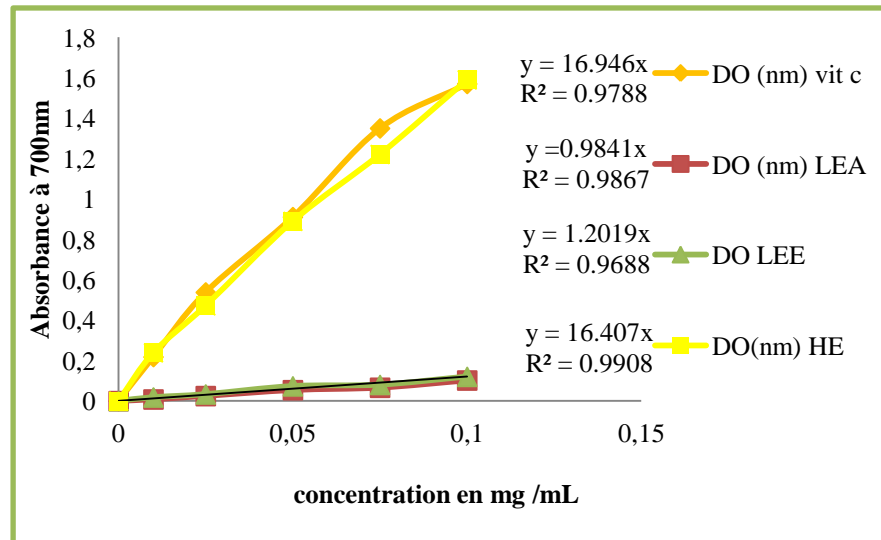
La structure chimique et la polarité de l'antioxydant sont déterminantes pour sa capacité à piéger les radicaux libres. Des effets synergiques mais aussi antagonistes sont observés dans des solutions modèles qui contiennent plusieurs composés fonctionnels à activité anti-radicalaire (Popovici *et al.*, 2009).

#### **4.1.2. Test de la réduction du fer FRAP**

Le pouvoir réducteur est la capacité d'un extrait à donner un électron et à réduire le fer. De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme indicateur significatif de son pouvoir antioxydant (Jeong *et al.*, 2004; Tepe *et al.*, 2005; Kumaran et Karunakaran, 2007; Liu *et al.*, 2013).

L'évaluation du pouvoir réducteur, est réalisée par la méthode du FRAP sur les échantillons d'*A. herba alba* et du standard (acide ascorbique) à une concentration de 100 µg/mL.

Les résultats obtenus (Figure 28) montrent que l'augmentation de la réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de l'acide ascorbique et des échantillons. L'HE présente un pouvoir réducteur élevé, contrairement aux extraits aqueux et éthanolique qui sont faible [Annexes 17-21].



**Figure 28** : courbe comparative de la réduction du fer des extraits, d'acide ascorbique et de l'HE.

À la DO 0.5 nm, les extraits (aqueux et éthanolique) montrent qu'ils ont un faible pouvoir réducteur (Pr) (Tableau XVIII) par rapport au standard, contrairement à l'HE (0.030 mg/mL) qui possède quasiment la même activité que le standard (0.029 mg/mL). Goudjil (2016) a aussi constaté que le Pr<sub>0.5</sub> de l'HE d'*A. herba alba*, qui est de 12.53 µg/mL, est supérieur à son standard (l'acide ascorbique) qui est de 66.73 µg/mL.

Nos résultats concordent avec ceux d'Oliveira *et al.* (2009), qui ont constaté que la capacité réductrice de l'extrait éthanolique est plus élevée que celle de l'extrait aqueux des feuilles d'*Arbutus unedo*.

**Tableau XVIII**: concentration efficace de la réduction du fer à une absorbance de 0.5 nm pour les extraits, l'HE et l'acide ascorbique.

	Acide ascorbique	HE	LEA	LEE
Pr <sub>0.5</sub> (mg/mL)	0.029	0.030	0.508	0.416

D'après Goudjil (2016), il est difficile d'attribuer l'effet antioxydant des HE à un ou à certains composés, car du point de vue chimique, une HE est un mélange de plusieurs dizaines de composés, cette complexité rend souvent difficile l'explication du mode d'activité des HE.

En effet, des études menées par certains chercheurs ont montré que l'activité antioxydante des HE peut être supérieure à celle des composés majoritaires testés séparément (Tepe *et al.*, 2005; Bakkali *et al.*, 2008). Cette dominance d'activité des essences sur celle d'un composant majoritaire confirme bien l'effet de synergie que pourrait apporter les composants minoritaires à l'activité des HE (Tepe *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2008).

Selon Hinneburg *et al.* (2006), le pouvoir réducteur d'un extrait peut être lié à la capacité des substances à transférer des électrons dans le milieu réactionnel.

La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de  $Fe^{3+}$ /ferricyanure en  $Fe^{2+}$ . Par conséquent,  $Fe^{2+}$  peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung *et al.*, 2002). En d'autre terme, le système  $FeCl_3/K_3Fe(CN)_6$  confère à la méthode la sensibilité pour la détermination « semi-quantitative » des concentrations des polyphénols, qui participent à la réaction rédox (Amarowicz *et al.*, 2004).

## 4.2. Test de l'activité antibactérienne

### 4.2.1. Vérification de la pureté des souches

#### ➤ Coloration de Gram et test de la catalase

Les résultats obtenus concernant la coloration de Gram et le test de la catalase sont représentés dans le tableau XIX [Annexe 22].

**Tableau XIX** : résultats de la coloration de Gram et de la catalase.

Souches bactériennes	Forme	Gram	Catalase
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Cocci	+	+
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Bacilles	-	+
<i>B. cereus</i> ATCC 14579	Bacilles	+	+
<i>E. feacalis</i> WDCM 009	Cocci	+	-

### 4.2.2. Résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne

#### 4.2.2.1. Sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme)

L'antibiogramme consiste à chercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques, le tableau ci-dessous rapporte les valeurs en mm des zones d'inhibitions

manifestées par les antibiotiques utilisés comme témoins positifs sur les différentes souches étudiées.

**Tableau XX:** les antibiotiques utilisés comme témoin positif sur les différentes souches étudiées.

Souches	Antibiotique	Diamètre d'inhibition
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Mecillinam (Mec)	20 mm
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Mecillinam (Mec)	20 mm
<i>B. cereus</i> ATCC 14579	Pefloxacin (PEF)	20 mm
<i>E. feacalis</i> WDCM 009	Cephalothin (KF)	39 mm

#### 4.2.2.2. Evaluation du pouvoir antibactérienne

Le test d'aromatogramme pour l'évaluation de l'activité antibactérienne de différents extraits et de l'HE, contre les bactéries : *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* ATCC 14579 et *E. feacalis* WDCM 009 est estimé par la mesure des zones d'inhibition autour des puits. Cette méthode permet d'obtenir les résultats mentionnés dans le tableau ci-dessous et l'annexe 23.

**Tableau XXI:** résultats de l'aromatogramme pour l'évaluation de l'activité antibactérienne de différents extraits et de l'HE.

Bactérie	LEA	LEE	HE
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	10 ± 0	10 ± 1.41	7.5 ± 0.70
<i>E. coli</i> ATCC 25922	12 ± 1.41	11,5 ± 0.7	7 ± 1.41
<i>B. cereus</i> ATCC 14579	17 ± 2.82	15 ± 0.7	9 ± 0.7
<i>E. feacalis</i> WDCM 009	20.5 ± 3.53	11.5 ± 0.7	6.5 ± 0.7

D'après les résultats des figures : 29, 30, 31 et 32, le diamètre des zones d'inhibition diffère d'un échantillon à un autre et d'une souche bactérienne à une autre. Cette variation de l'activité antibactérienne explique la diversité en compositions chimiques des différents échantillons testés.

Le DMSO à 10 % et l'eau distillée qui sont utilisés en tant que contrôles négatifs, ne montrent aucun effet inhibiteur sur la croissance bactérienne.

Les trois (3) antibiotiques utilisés comme témoins positifs sont choisis à base de la sensibilité des souches contre elles.

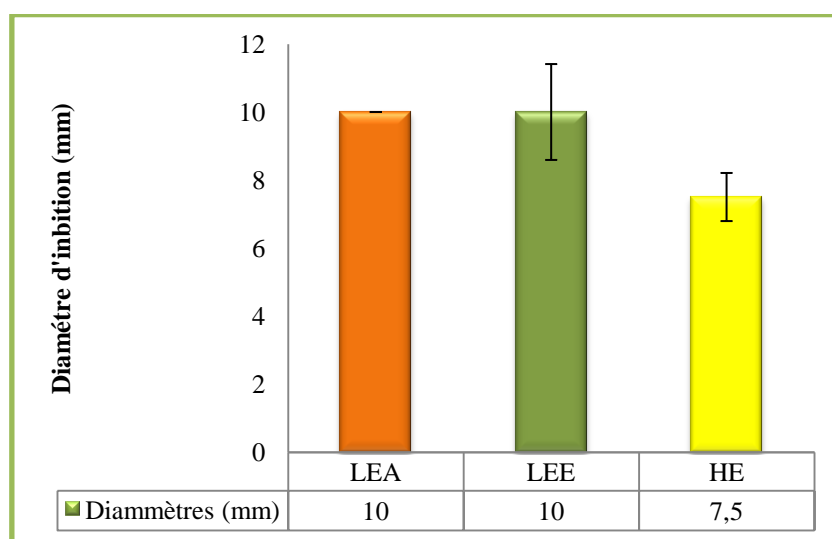
### ➤ *S. aureus*

L'histogramme (Figure 29) montre que le plus grand diamètre d'inhibition est observé dans le cas de l'extrait éthanolique ( $10 \pm 1.41$  mm) et l'extrait aqueux ( $10 \pm 0$  mm) par rapport à l'HE ( $7.5 \pm 0.70$  mm). Ces résultats diffèrent de ceux de Seddik *et al.* (2010), qui ont montré que la solution aqueuse (lyophilisée) d'*A. herba alba* ne donne pas de zone d'inhibition.

Dans notre travail la zone d'inhibition est moins de 8 mm, donc notre souche est considérée non sensible à l'HE de notre plante.

Ce résultat ne concorde pas avec celui de Ponce *et al.* (2003), qui ont signalé que l'HE des feuilles d'*A. herba alba* a un effet très important sur *S. aureus*. De même, Goudjil (2016) a mentionné que *Staphylococcus* est très sensible à l'HE d'*A. herba alba* avec une zone d'inhibition de 23.10 mm.

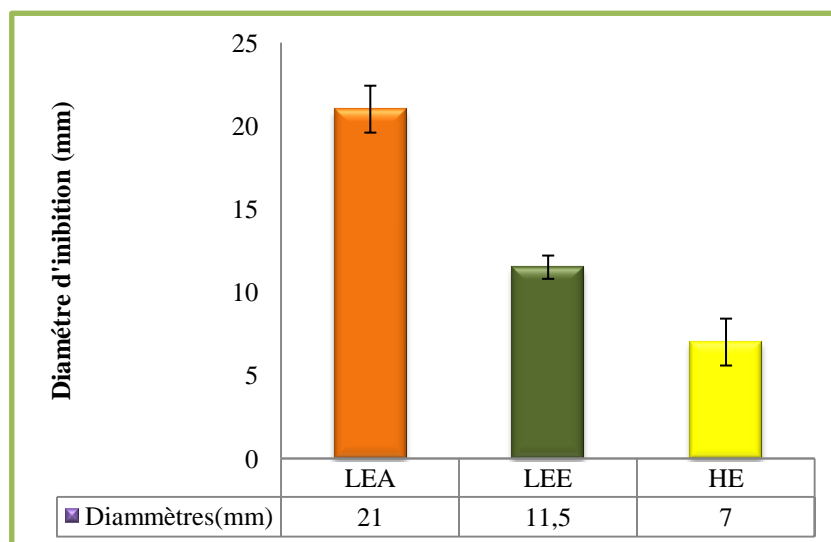
Cette variation de l'activité antimicrobienne explique la diversité en compositions chimiques des différents échantillons testés.



**Figure 29:** diamètre d'inhibition des différents échantillons sur *S. aureus*.

### ➤ *E. coli*

Le plus grand diamètre d'inhibition est observé pour l'extrait aqueux ( $21 \pm 0.41$  mm) suivi de l'extrait éthanolique ( $11.5 \pm 0.7$  mm) et de l'HE ( $7 \pm 1.41$  mm) (Figure 30).



**Figure 30:** diamètre d'inhibition des différents échantillons sur *E. coli*.

D'après les résultats obtenus, nous constatons que l'extrait aqueux de l'armoise blanche présente une activité antibactérienne intéressante contre *E. coli*.

Selon Ponce *et al.* (2003), *E. coli* est extrêmement sensible (+++) à LEA car le diamètre de l'halo d'inhibition est supérieur à 20 mm. Elle est sensible (+) à LEE puisque le diamètre d'inhibition varie entre 8 et 14 mm, et non sensible à l'HE (diamètre moins de 8 mm).

Ces résultats sont semblables comparativement à ceux de Boudjelal (2013), qui a montré que *E. coli* ATCC 25922 a une sensibilité à l'extrait méthanolique d'*A. herba alba* avec une zone d'inhibition de  $13 \pm 0.6$  mm.

*E. coli* montre une résistance vis-à-vis de l'HE d'*A. herba alba* avec un diamètre d'inhibition faible (7 mm), ce qui correspond aux résultats attribués par Benouda *et al.* (1988) sur trois chémotypes d'armoise blanche : armoise à  $\alpha$  et  $\beta$ -thuyone, et à camphre, qui ont révélé des valeurs de zones d'inhibition inférieures à 10 mm pour les deux souches d'*E. coli*.

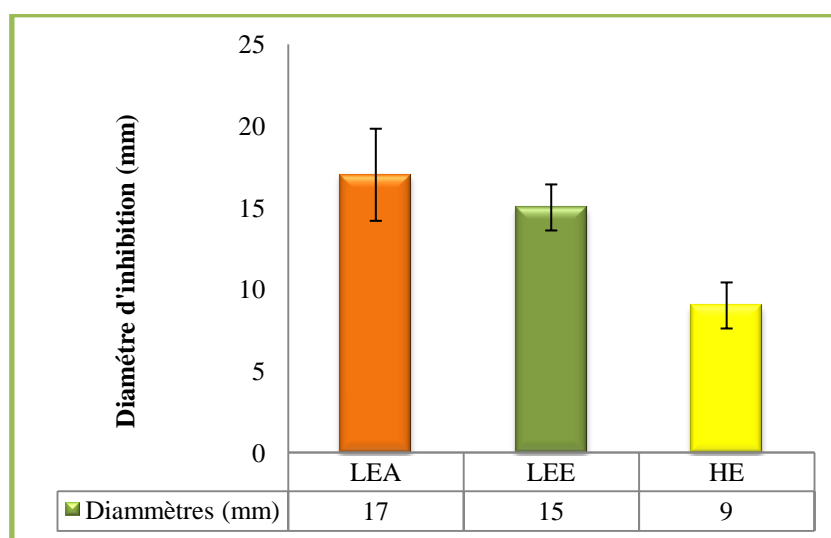
Différemment aux travaux de Goudjil (2016), qui a enregistré un diamètre d'inhibition de l'HE d'*A. herba alba* de 12.2 mm.

La comparaison des résultats est assez difficile pour diverses raisons : variation des souches bactériennes, les méthodes adoptées, la quantité des échantillons utilisés. Notant les travaux réalisés par Benouda *et al.* (1988) dans des conditions expérimentales différentes des nôtres (méthode de disque et quantité en HE de 6  $\mu$ L).

Les travaux de Naili *et al.* (2010) sur l'activité antibactérienne de l'extrait des feuilles d'*A. herba alba* sur plusieurs souches dont *S. aureus* et *E. coli* ont démontré que cet extrait a un effet antibactérien sur les deux bactéries.

### ➤ *B. cereus*

D'après la figure 31, les diamètres des zones d'inhibition diffèrent selon l'échantillon étudié. La plus grande zone d'inhibition est enregistrée pour l'extrait aqueux ( $17 \pm 2.82$  mm) suivi de l'extrait éthanolique ( $15 \pm 0.7$  mm) puis de l'HE ( $9 \pm 0.70$  mm).



**Figure 31:** diamètre d'inhibition des différents échantillons sur *B. cereus*.

Selon Ponce *et al.* (2003), *B. cereus* est considérée comme une souche très sensible (++) à LEA et à LEE, sensible (+) à l'HE d'*A. herba alba*.

Les résultats obtenus montrent que l'activité antibactérienne de l'HE est variable sur chaque souche testée avec des zones d'inhibitions différentes.

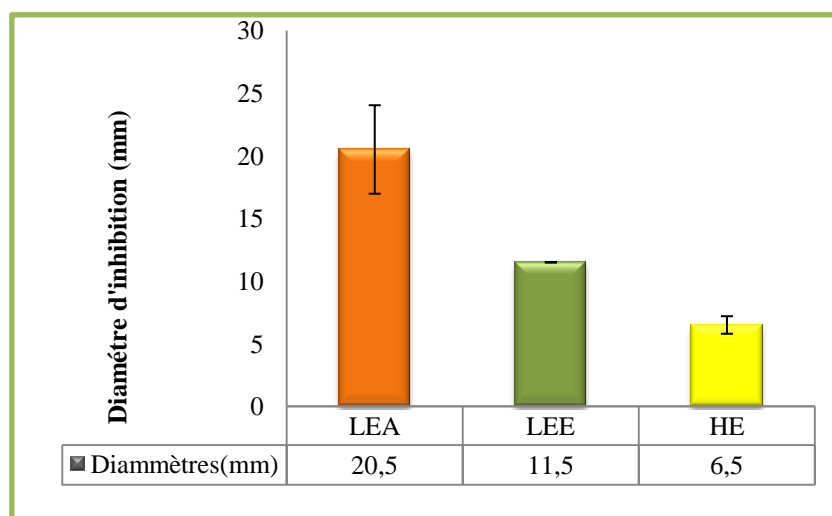
L'activité antibactérienne de quatre types d'HE extraites par hydrodistillation de la partie aérienne d'*A. herba alba* cultivée dans le Sud de la Tunisie sont évaluées sur des bactéries à Gram positif (*S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* ATCC 11778, *E. faecalis* ATCC 29212) et négatif (*E. coli* ATCC 35218). Les résultats montrent que tous les types d'huiles examinés ont une importante activité antibactérienne vis-à-vis des souches testées (Mighri *et al.*, 2010).

Par ailleurs, Zouari (2010) et ses collaborateurs ont testé les HE de l'armoise blanche sur 6 souches bactériennes dont *E. coli* ATCC 25922, *B. cereus* ATCC 11778 et *E. faecalis*

ATCC 29212. Les résultats ont montré que cette huile a une activité variable contre toutes les souches testées avec des zones d'inhibition qui varient entre 8 et 23 mm ; la plus sensible est *B. cereus*.

### ➤ *E. faecalis*

La figure 32 montre que les diamètres des zones d'inhibition diffèrent selon l'échantillon étudié. La plus grande zone d'inhibition est enregistrée pour l'extrait aqueux ( $20.5 \pm 3.53$  mm) suivi de l'extrait éthanolique ( $11.5 \pm 0.7$  mm) puis de l'HE ( $6.5 \pm 0.70$  mm).



**Figure 32:** diamètre d'inhibition des différents échantillons sur *E. faecalis*.

Selon Ponce *et al.* (2003), *E. faecalis* est extrêmement sensible (+++) à LEA car le diamètre de l'halo d'inhibition est de 20.5 mm, sensible (+) à LEE puisque le diamètre d'inhibition est de 11.5 mm et non sensible à l'HE du fait que le diamètre de la zone d'inhibition est de 6.5 mm.

Très peu de travaux sont réalisés sur l'activité antibactérienne de l'HE d'*A. herba alba* sur *E. faecalis*.

Nos résultats montrent qu'*E. faecalis* est résistante à l'HE d'*A. herba alba* contrairement aux travaux de Benmansour (2016) qui a constaté que *E. faecalis* ATCC 29212 est très sensible à l'HE d'*Artemisia judaica* avec une zone d'inhibition de 30 mm.

La faible activité antibactérienne de notre HE peut être liée à la durée du stockage de la plante.

Selon Oussalah *et al.* (2007), l'activité biologique d'une HE est en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, aldéhydes) et les effets synergiques entre les composants.

D'après Oussou *et al.* (2004), l'action combinée de différents composés peut expliquer la variation des résultats entre même espèce de différente région du monde. Ces molécules agissent le plus souvent par une action synergique, soit seule ou avec les composés mineurs qui peuvent contribuer significativement à l'activité des HE (Lahlou, 2004).

La plupart des travaux qui ont pour objet l'étude du mécanisme d'action des composés des HE actifs préconisent que leur principal site d'action est la membrane plasmique bactérienne (Shunying *et al.*, 2005). Ils sont aptes à désintégrer la paroi cellulaire des bactéries (Silva et Ferandes Junior, 2010). La membrane perd sa structure et devient plus perméable aux ions. La lésion de la membrane cellulaire peut également permettre la dissipation du gradient pH et la diminution du potentiel membranaire (Lambert *et al.*, 2001).

Plusieurs recherches scientifiques ont prouvé l'efficacité de l'extrait ou de l'HE d'*A. herba alba* aussi bien sur des bactéries que sur des levures (Ramezania *et al.*, 2004; Zouari *et al.*, 2010).

Pour une meilleure exploitation industrielle, il convient d'extraire l'HE d'*A. herba alba* entre le 5<sup>ème</sup> et le 9<sup>ème</sup> jours du séchage après leurs récoltes, parce que la teneur en HE est à son maximum. Au-delà de cette période, elles perdent qualitativement et quantitativement leurs HE.

Les caractéristiques des HE sont attribuées aux dérivés terpénoïdes et phénylpropanoïdes dont elles sont constituées. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées (Guinoiseau, 2010).

Les terpènes ainsi que les flavonoïdes peuvent pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne et induire sa rupture. Le contenu cytoplasmique est déchargé à l'extérieur de la cellule impliquant sa destruction (Wendakoon et Sakaguphi, 1995; Tsuchiya *et al.*, 1996). Une perturbation chémo-osmotique et une fuite de potassium intra-cytoplasmique peuvent subvenir, suivi de la libération d'acides nucléiques, de l'ATP, et du phosphate inorganique (Tsuchiya *et al.*, 1996; Daroui-Mokaddem, 2012).

D'une manière générale, l'action des HE se déroule en trois phases :

- ✓ attaque de la paroi bactérienne par l'HE, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires;
- ✓ acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure;
- ✓ destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

#### 4.2.2.3. Détermination de la CMI pour les extraits et l'HE

Les concentrations minimales inhibitrices des extraits et de l'HE sur les quatre souches bactériennes testées sont mentionnées dans le tableau XXII.

Les résultats montrent que le taux d'inhibition augmente avec la concentration des échantillons, et que la concentration minimale inhibitrice est inversement proportionnelle avec l'efficacité antibactérienne des échantillons.

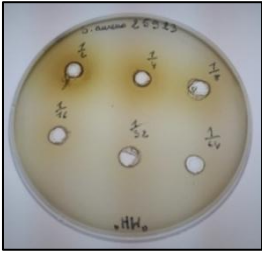
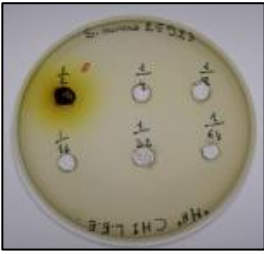

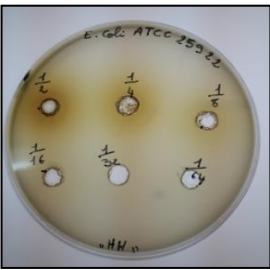




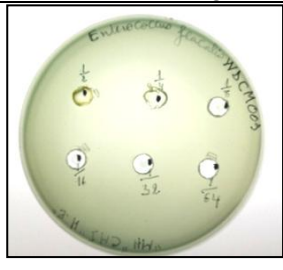
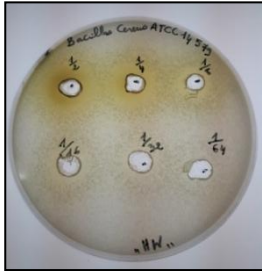
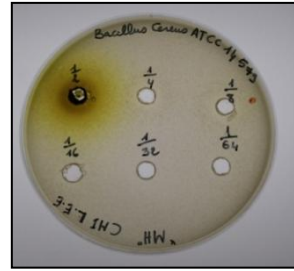

La CMI de LEA d'*A. herba alba* est de : 0.38, 0.29 et 0.12 mg/mL pour *E. coli*, *S. aureus* et *E. faecalis* respectivement. La souche la plus sensible est *B. cereus* avec la concentration la plus faible (0.05 mg/mL).

Pour la CMI de LEE d'*A. herba alba*, elle est de 0.75 mg/mL pour *E. coli* et *S. aureus*, 0.29 mg/mL pour *B. cereus*. La souche la plus sensible est *E. faecalis* avec la concentration la plus faible de 0.12 mg/mL.

Les valeurs de la CMI de l'HE d'*A. herba alba* est de 0.45 mg/mL pour *E. coli*, *S. aureus* et *E. faecalis*. La plus faible concentration est marquée pour *B. cereus* avec une concentration de 0.05 mg/mL, donc c'est la souche la plus sensible à l'HE.

Nos résultats semblent être plus importants que ceux apportés par Boudjouref (2011), qui a signalé qu'*E. coli* ATCC 25922 est la plus sensible aux extraits organiques d'*A. compestris* avec une CMI de 0.5 mg/mL. Une CMI de 1.8 mg/mL pour *S. aureus* ATCC 25923.

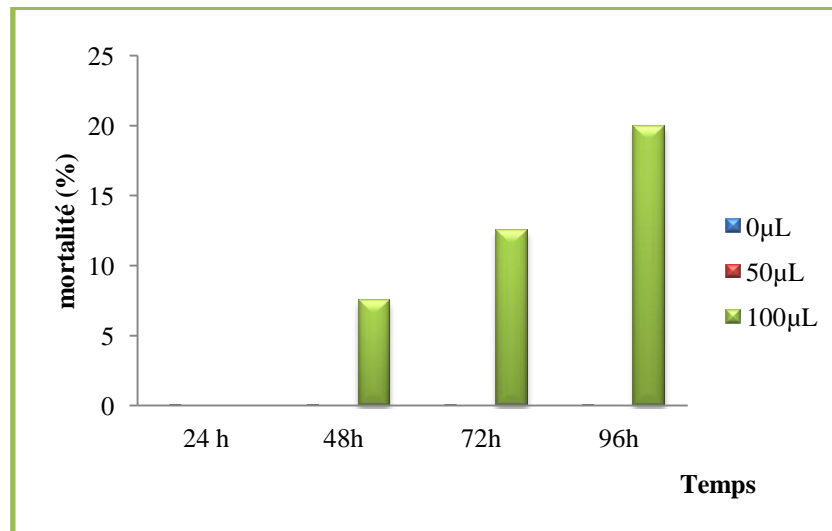
**Tableau XXII:** résultats de la CMI des extraits aqueux et éthanolique et de l'HE d'*A. herba alba* sur les quatre souches testées.

Échantillons Souches	LEA	LEE	HE
<i>S. aureus</i>			
	CMI : $0.29 \pm 0.13$ g/mL	CMI : $0.75 \pm 0$ g/mL	CMI : $0.46 \pm 0$ g/mL
<i>E. coli</i>			
	CMI : $0.38 \pm 0$ g/mL	CMI : $0.46 \pm 0$ g/mL	CMI : $0.75 \pm 0$ g/mL
<i>E. faecalis</i>			
	CMI : $0.12 \pm 0$ g/mL	CMI : $0.12 \pm 0$ g/mL	CMI : $0.46 \pm 0$ g/mL
<i>B. cereus</i>			
	CMI : $0.05 \pm 0$ g/mL	CMI : $0.29 \pm 0.13$ g/mL	CMI : $0.05 \pm 0.02$ g/mL

### 4.3. Test de l'activité insecticide

#### 4.3.1. Evaluation de l'effet par inhalation de l'hydrolat d'*A. herba alba* sur *T. confusum*

Les résultats obtenus montrent que le taux de mortalité des adultes de *T. confusum* évolue proportionnellement avec la durée d'exposition à l'hydrolat par inhalation (Figure 33).



**Figure 33 :** taux moyen de mortalité en (%) des adultes de *T. confusum* traités par l'hydrolat en fonction des doses et de la durée d'exposition.

La figure montre que la mortalité moyenne de *T. confusum* est nulle dans le lot témoin et à la dose de 50 μL tout le long de l'expérience. La toxicité de l'hydrolat se manifeste à la dose de 100 μL à partir de 48 H, elle augmente avec le temps pour atteindre un taux maximal de 20 % à 96 H.

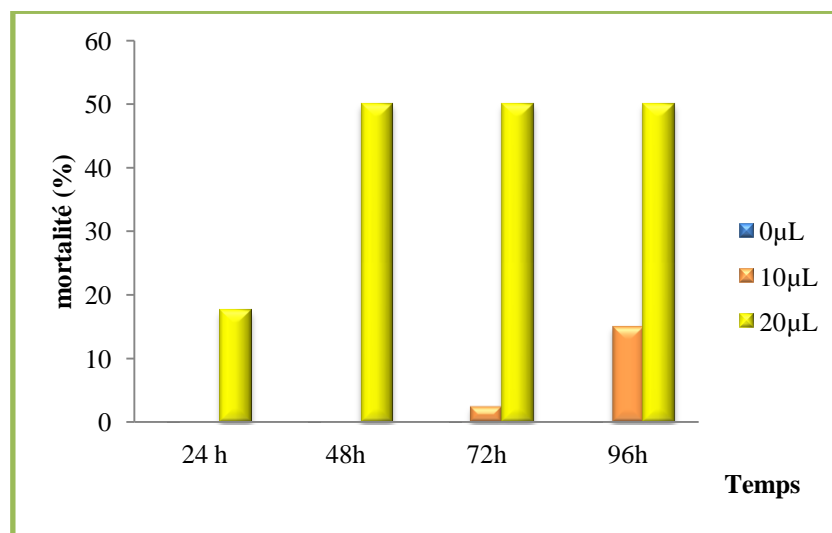
Le test statistique d'indépendance de Kruskal Wallis, au seuil de 5 %, montre qu'il y a une différence significative pour le facteur dose ( $P=0.014$ ), mais pas pour le facteur temps d'exposition ( $P=0.545$ ). Pour l'interaction (dose, temps), aucune différence significative n'est enregistrée ( $P=0.186$ ). Par conséquent, la mortalité de l'insecte est influencée par la dose utilisée [Annexes 25 et 26].

D'après ces résultats, on peut déduire que l'hydrolat a un effet insecticide très faible vis-à-vis de *T. confusum*.

D'après Piochon (2008), les hydrolats contiennent en petite quantité des composés volatils, semblables à ceux présents dans l'HE ainsi que des composés solubles dans l'eau non retrouvés dans l'huile. C'est pour cette raison qu'ils présentent certaines activités biologiques intéressantes, malgré ça, ils sont délaissés par la communauté scientifique à l'instar des HE qui, elles sont beaucoup plus étudiées à travers le monde.

#### 4.3.2. Evaluation de l'effet par inhalation de l'HE d'*A. herba alba* sur *T. confusum*

Les résultats obtenus montrent que le taux de mortalité des adultes de *T. confusum* évolue proportionnellement avec la durée d'exposition et les doses de l'HE par inhalation soit 10 et 20  $\mu\text{L}$  (Figure 34).



**Figure 34** : taux moyen de mortalité en (%) des adultes de *T. confusum* traités par l'HE d'*A. herba alba* en fonction des doses et de la durée d'exposition.

La mortalité moyenne des adultes de *T. confusum* augmente en fonction de la dose de l'HE et de la durée d'exposition. La mortalité moyenne dans le lot témoin est nulle tout le long de l'expérience. Dès la plus faible dose 10  $\mu\text{L}$ , l'HE montre un effet toxique qui s'exprime avec une mortalité de 2.5 % après 72 H d'exposition. La mortalité subit une légère augmentation (15 %) à 96 H. A la dose 20  $\mu\text{L}$ , une mortalité de 17.5 % est enregistrée au bout de 24 H d'exposition, elle augmente jusqu'à un taux maximal de 50 % à 48 H d'exposition pour se stabiliser.

Les résultats du test statistique d'indépendance de Kruskal Wallis, au seuil de 5 %, montre qu'il y a une différence significative pour le facteur dose ( $P=0.003$ ), mais pas pour le

facteur temps d'exposition ( $P=0.679$ ) et l'interaction entre les deux facteurs : dose et temps d'exposition ( $P=0.208$ ) [Annexe 25 et 27].

Nos résultats à la dose de 20  $\mu\text{L}$  sont similaires à ceux obtenus par Boukra *et al.* (2019) pour la même plante sur *T. castaneum*, cet auteur a enregistré 50% de mortalité à la dose de  $14 \pm 0.02 \mu\text{L}$ .

Bouchikhi-Tani *et al.* (2018) signale qu'à la dose de 5.92  $\mu\text{L}$ , l'HE d'*A. herba alba* exerce une toxicité de 50 % vis-à-vis des larves de *Tineolabis selliella*. A la dose 1.25  $\mu\text{L}$ , cette HE tue 50 % des adultes et à la dose 5  $\mu\text{L}$ , elle inhibe complètement la ponte des femelles (Bouchikhi-Tani, 2011).

Selon Ngamo et Hance (2007); Bouchikhi-Tani (2011), une HE n'exerce pas forcément la même activité aux différents stades du cycle biologique d'un insecte, comme il existe une grande variation dans la sensibilité des espèces d'insectes pour une même HE.

Plusieurs études ont montrées que l'efficacité insecticide des substances naturelles appliquées dans les tests de toxicité par fumigation (inhalation) contre les ravageurs des denrées stockées serait due à leur richesse en composés monoterpéniques (Regnault-Roger et Hamraoui, 1995; Lee *et al.*, 2001; Tapondjou *et al.*, 2002; Kellouche, 2005; Hedjal-Chebheb, 2014; Khelfane-Goucem, 2014; Taleb-Toudert, 2015).

La toxicité des HE sur les insectes est induite par l'action de leurs composés majoritaires (Seri-Kouassi *et al.*, 2004). Les composés majoritaires des HE ont des efficacités insecticides soit singulière ou lorsqu'elles sont mises ensemble (Ngamo et Hance, 2007). Selon Asawalam *et al.* (2008), l'action toxique combinée des composants majoritaires d'une HE est plus remarquable que l'action individuelle de ses composants. D'après Ojimelukwe et Adler (1999),  $\alpha$ -pinène a révélé un effet insecticide intéressant contre le ténébrion brun de la farine, des effets similaires ont été également notés avec monène (Prates *et al.*, 1998).

Les mécanismes d'action des HE sont méconnus (Isman, 2000). D'après Bostanian *et al.* (2005), les HE agissent directement sur la cuticule des insectes et acariens à corps mou, elles sont moins efficace avec des insectes à carapace dure tels que les coléoptères et les hyménoptères adultes.

Les travaux de Ngamo et Hance (2007) et ceux d'Isman et Machial (2016) ont montré que les monoterpènes agissent au niveau des récepteurs de l'acétyl-cholinestérase des

jonctions neuromusculaires. En effet, d'après les travaux d'Obeng-Ofori *et al.* (1997), le 1,8-cinéole au contact des insectes bloque la synthèse de l'hormone juvénile, il inhibe l'acétylcholin estérase en occupant le site hydrophobique de cet enzyme qui est très actif. En général, les HE sont connues comme des neurotoxines (Ngamo et Hance, 2007).

Les plantes médicinales restent toujours la source des principes actifs qui sont dotés de propriétés thérapeutiques. Avec l'apparition des microorganismes pathogènes résistants aux antibiotiques, des insectes résistants aux insecticides et la toxicité des antioxydants synthétiques, le recours aux molécules naturelles comme moyen alternatif s'avère nécessaire. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail qui vise, la valorisation d'une plante largement distribuée en Algérie appartenant à la famille des astéracées : *A. herba alba*. Le choix de cette plante est basé sur la fréquence de son utilisation par la population locale.

Plusieurs aspects de cette plante sont étudiés : les rendements des extraits (aqueux et éthanolique) et de l'HE, l'analyse qualitative (par screening phytochimique et RP-HPLC) et quantitative des extraits, l'activité antioxydante et antibactérienne de l'HE et des extraits, l'évaluation de l'activité insecticide de l'hydrolat et de l'HE sur tribolium brun de la farine.

Les résultats ont montré que les rendements des extraits diffèrent en fonction du solvant utilisé : avec un rendement estimé de  $30.03 \pm 2.07$  % pour l'éthanol 96 % et  $15.68 \pm 0.40$  % pour l'eau distillée. Néanmoins, ils sont élevés par rapport à ceux de certaines plantes. Par contre, le rendement en HE obtenu à partir d'une distillation à la vapeur saturée est faible (0.18 %).

Le screening phytochimique des extraits a révélé la présence de plusieurs groupements actifs à l'instar des phénols, des flavonoïdes, des terpénoïdes, des composés réducteurs, des tanins totaux ainsi que des tanins galliques et condensés. Ces composants jouent un rôle important dans la défense de la plante contre les agressions qui engendrent des maladies. La technique de RP-HPLC confirme la présence des phénols et des flavonoïdes révélés par le screening phytochimique.

D'un point de vue quantitatif, nos résultats montrent clairement que l'extrait aqueux présente les meilleures teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins condensés avec 97.17 mg EAG/g de MS,  $35.61 \pm 0.39$  mg EQ/g de MS et  $46.58 \pm 0.91$  mg EAT/g de MS respectivement, par rapport à l'extrait éthanolique.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode du pouvoir de piégeage des radicaux libres (DPPH) a montré que les extraits et l'HE ont un faible pouvoir par rapport au standard (l'acide ascorbique). Pour le pouvoir réducteur du fer (FRAP), les résultats indiquent que les extraits ont un faible pouvoir par rapport au standard, contrairement à l'HE qui possède quasiment la même activité que le standard : 0.03 et 0.029 mg/mL respectivement.

Le test de l'activité antibactérienne par la méthode des puits, sur les quatre souches utilisées : *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* ATCC 14579 et *E. faecalis* WDCM 009, indique que l'HE a une faible activité vis-à-vis de ces quatre souches, contrairement aux extraits qui montrent une activité variable selon l'extrait et la souche bactérienne utilisée, signalant que la souche la plus sensible vis-à-vis de LEA est *B. cereus* et la souche la plus sensible à LEE est *E. faecalis*.

L'évaluation de l'activité insecticide de l'hydrolat et de l'HE d'*A. herba alba* sur *T. confusum* par la méthode d'inhalation, a présenté un taux de mortalité de l'ordre de 20 % à la dose 100 µL pour l'hydrolat contre 50 % de mortalité à la dose de 20 µL pour l'HE.

À la lumière de ces résultats, on peut conclure qu'*A. herba alba* présente une source naturelle et prometteuse de molécules chimiques qui possèdent des activités biologiques importantes, de substances antioxydantes, antibactériennes et insecticide non négligeable.

Ce travail peut-être considéré comme un point de départ pour d'autres travaux de recherches sur les bienfaits d'*A. herba alba*, il serait intéressant de pousser cette étude, et comme perspectives :

- optimiser les méthodes d'extraction pour les extraits et l'HE ;
- tester l'activité biologiques de la partie racinaire ;
- identifier les principes actifs, responsables des différentes activités, par une étude quantitative des extraits (HPLC) et la caractérisation de l'HE par CG /MS;
- étudier l'activité biologique des composés majoritaires fractionnés ainsi que la synergie entre eux;
- exploiter l'hydrolat dans d'autres activités biologiques tel que l'activité antibactérienne et antioxydante ;
- valoriser l'hydrolat à l'échelle industrielle comme moyen de lutte naturel contre les insectes ravageurs ;
- vérifier la toxicité de la plante sur l'Homme, par des essais sur un modèle animal.
- étudier d'autres propriétés biologiques de cette plante, à savoir les propriétés anti-inflammatoires, antivirales, antimittotique et antipaludique ;
- étudier l'activité antibactérienne de nos échantillons sur d'autres souches comme les bactéries multi-résistantes.
- étudier le mécanisme d'action des extraits et de l'HE sur les différentes bactéries.
- utiliser les extraits et l'HE dans la bio conservation des aliments à titre préventif.

**Abad M.J., Bedoya L.M., Apaza L. et Bermejo P., 2012.** The Artemisia L. Genus: a review of bioactive essential oil. *Molecules*. **17**(3): 2542-2566.

**Abi-Ayad F. Z., 2009.** Analyse de l'huile essentielle du thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata*) de la région de Tlemcen et de son activité antimicrobienne. Mémoire de magister. Université Abou-Bakr Belkaïd. Tlemcen, Algérie. 104p.

**Aboun A., Ammari H., Belazouz T., Benslimani A., Rahal K. et Tali M.H., 2008.** Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale. Selon les recommandations de l'OMS. Ministère de l'Agriculture et du développement rural, Ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière. 4<sup>ème</sup> Ed. Algérie. 98p.

**Aftab H., Risstad H., Sovik T. T., Bernklev T., Hewitt S., Kristinsson J.A. et Mala T., 2014.** Five-year outcome after gastric bypass for morbid obesity in a Norwegian cohort. *Surgery For Obesity and Related Diseases*.**10**(1):71-78.

**Aganga A.A. et Mosase K.W., 2001.** Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of Lonchocarpus capussa, Ziziphus mucropata, Sclerocarya birrea, Kirkia acuminata and Rhus lancea seeds. *Animal Feed Science and Technology*. **91**(1-2):107-113.

**Aggarwal S., 2009.** Advances in Medicinal Plants. Ed. Oxford Book Company. Jaipur, India. 311p.

**Aidoud A., 1989.** Les écosystèmes armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso.). II: Phytomasse et productivité primaire. *Biocénoses*. **2**(1) : 70-90.

**Ait Youssef M., 2006.** Plantes médicinales de Kabylie. Ed. Ibis Press. Paris, France. 350p.

**Akrout A., Gonzalez L.A., El Jani H. et Madrid P.C., 2011.** Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern of Tunisia. *Food and Chemical Toxicology*. **49**(2): 342–347.

**Alilou H., Bencharki B., Hassani L.M.I., Barka N., 2014.** Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscus graveolens subsp.* Olorus. *Afrique science*. **10**(3): 316-328.

**Ali-Shtayeh M.S., Yaghmour R.M.R., Faidi Y.R., Salem K. et Al-Nuri M.A., 1998.** Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology*. **60**: 265-271.

**Aloui Z., Messaoud C., Haoues M., Neffati N., Bassoumi Jamoussi I., Essafi-Benkhadir K., Boussaid M., Guizani I. et Karoui H., 2016 .** Asteraceae *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba* Essential Oils Trigger Apoptosis and Cell Cycle Arrest in *Leishmania infantum* Promastigotes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. **2016**: 1-15.

**Amarowicz R., Pegg R. B., Rahimi-Moghaddam P., Barl B. et Weil J.A., 2004.** Free-radical scavenging capacity antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*. **84**(4): 551-562.

**Anonyme, 2014.** IPNI. The International Plant Name Index.

**Anonyme, 2019.** Armoise blanche. Phyttonpathos Intérêt thérapeutique des plantes. <http://www.phytonpathos.net/plante/detail/226>.

**Asawalam E.F., Emosairue S. et Hassanali A., 2008.** Contribution of different constituents to the toxicity of the essential oil constituents of *Vernonia amygdalina* (Compositae) and *Xylopiya aetiopica* (Annonaceae) on maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *African Journal of Biotechnology*. **7**(16): 2957-2962.

**Baba Aissa F., 1990.** Les plantes médicinales en Algérie. Ed. Le monde pharmacien. Rouiba, Algérie.181p.

**Baba Aissa F., 2000.** Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed. librairie moderne. Rouiba, Algérie. 368p.

**Baba Moussa F., Akpagana K. et Bouchet P., 1998.** Comparaison de l'activité antifongique des feuilles et écorces de tronc de *Pteleopsis suberosa* G. Don (Combretaceae). *Acta Botanica Gallica*. **145** (3): 233-238.

**Badiaga M., 2011.** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de Docteur. Université de Bamako, Mali et Université Blaise Pascal – Clermont Ferrand II, France.137p.

**Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C et Pinkas M., 1996.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts

from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Journal of Arzneim-Forsch drug Research*. **46**: 1086-1108.

**Bakchiche B. et Gherib A., 2014.** Antioxidant activities of polyphenol extracts from medicinal plants in Algerian traditional pharmacopoeia. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. **9** (1): 167-172.

**Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. et Idaomar M., 2008.** Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. **46**(2): 446-475.

**Barboni T., 2006.** Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse de doctorat. Université de Corse Pascal Paoli. France. 292p.

**Bardeau F., 2009.** Les Huiles Essentielles: découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. Ed. Fernand Lanore. France. 318p.

**Bassene E., Mahamat B., Lo M., Boye C. S. et Faye B., 1995.** Comparaison de l'activité antibactérienne de trois Combretaceae : *C. micranthum*, *Guiera senegalensis* et *Terminalia avicennioides*. *Fitoterapia*. **66**(1): 86-87.

**Bassereau M., Chaintreau A., Duperrex S., Joulain D., Leijts H., Loesing G., Owen N., Sherlock A., Schippa C., Thorel P.J., Vey M., 2007.** GC-MS Quantification of suspected volatile allergens in fragrances. 2. Data treatment strategies and method performances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **55**(1): 25-31.

**Baudoux D. et Zhiri A., 2003.** Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française. Ed. Amyris. France. 290 p.

**Behl C., 1999.** Alzheimer's disease and oxidative stress: implications for novel therapeutic approaches. *Progress in Neurobiology*. **57**(3): 301-323.

**Bekka F., 2009.** Effet des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* Desf. et d'*Artemisia herba alba* Asso. sur des bactéries multirésistantes. Mémoire de Magister. Université Abderrahmane Mira. Béjaïa, Algérie. 82p.

**Belhattab R., Amor L., Barroso J.G., Pedro L.G. et Figueiredo A.C., 2012.** 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): 243-251.

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

**Bendahou M., 2007.** Composition chimique et propriétés biologiques des extraits de quelques plantes aromatique et médicinales de l'ouest algérien. Thèse de doctorat. Université Aboubekr Belkaid. Tlemcen, Algérie. 295p.

**Bendjilali B. et Richard H., 1980.** Etude de quelques peuplements d'armoise blanche du Maroc. *Artemisia herba alba. Rivista Italiana*. **62**(2): 69-74.

**Benkhellat O., 2002.** Contribution à l'étude des conditions de manutention du blé et de l'écologie des arthropodes dans les écosystèmes de stockage de la région de Bejaia et essai de lutte contre *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera : Bostichidae) à base de poudre de plantes. Mémoire de magister. Université Abdrrahmane Mira. Bejaia, Algérie. 102p.

**Benmansour N., 2016.** Etude des activités antioxydantes et antibactériennes d'*Artemisia judaica* L. par les composés du métabolisme secondaire. Thèse de doctorat. Université Abou-Bakr-Belkaïd. Tlemcen, Algérie. 209p.

**Benmansour N., 2001.** Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* provenant de différentes régions d'Algérie. Thèse de magister. Université des Sciences et de la Technologie Houari-Boumédiène. Alger, Algérie. 71p.

**Benouda A., Benjilali B. et Hassar M., 1988.** Les propriétés antiseptiques des huiles essentielles in vitro testées contre les germes pathogènes hospitaliers. *Fitoterapia*. **59**(2): 115-119.

**Berger R.G., 2007.** Flavors and fragrances: chemistry, bioprocessing, and sustainability. Ed. Springer. Basse-Saxe, Allemagne. 648p

**Bergogne-Bérézin E. et Dellamonica P., 1999.** Antibiothérapie en pratique clinique. 2<sup>ème</sup> Ed. Masson. Paris, France. 496p.

**Betina-Bencharif S., 2014.** Isolement et caractérisation de saponosides extraits de deux plantes médicinales *Cyclamen africanum*, *Zygophyllum cornutum* et évaluation de leur

activité anti-inflammatoire. Thèse de doctorat. Université de Constantine 1, Algérie et en pharmacognosie, université de Bourgogne, France. 203p.

**Bezza L., Mannarino A., Fattarsi K., Mikail C., Abou L., Hadj-Minaglon F. et Kaloustian J., 2010.** Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba alba* from the region of Biskra (Algeria). *Phytotherapy*. **8**(5): 277-281.

**Boizot N. et Charpentier J.P., 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Institut National de la Recherche Agronomique*. Pp: 79-82.

**Bostanian N.J., Akalach M. et Chiasson H., 2005.** Effects of a Chenopodium based botanical insecticide/acaricide on *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) and *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae). *Pest Management Science*. **61**(10): 979-984.

**Bouchikhi-Tani Z., 2011.** Lutte contre la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) et la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera: Tineidae) par des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaïd. Tlemcen, Algérie. 169p.

**Bouchikhi-Tani Z., Khelil M.A. et Bendahou M., 2018.** Evaluation des propriétés larvicides des huiles essentielles extraites de cinq plantes aromatiques d'Algérie: essai sur la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera: Tineidae). *Lebanese Science Journal*. **19**(2): 187-199.

**Boudjelal A., 2013.** Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar. Annaba, Algérie. 61p.

**Boudjouref M., 2011.** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire de magister. Université Ferhat Abbes. Sétif, Algérie. 99p.

**Bouhadjera K., 2005.** Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* R.Br. et *Aristida pungens* L. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen, Algérie. 143 p.

**Boukra N., Goudjil M.B. et Ladjel S., 2019.** Composition chimique des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques des Aurès contre *Tribolium castaneum*. Premier colloque

international sur la lutte biologique et intégrée en Algérie. Tenu du 4 au 6 février 2019. Université Mostafa Ben Boulaid (Batna 2). Batna, Algérie.

**Bousbia N., 2011.** Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, France et Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Algérie. 175p.

**Bouziane M., 2015.** Extraction et analyse de la composition chimique de plantes sahariennes d'intérêt médicinal. Thèse de doctorat. Université Kasdi Merbah-Ouargla. Ouargla, Algérie. 173p.

**Braithwaite A. et Smith F.J., 1999.** Chromatographic Methods. 5<sup>ème</sup> Ed. Kluwer Academic Publishers. London. 548 p.

**Bruneton J., 1987.** Eléments de phytochimie et de pharmacognosie. Ed. Lavoisier. Paris, France. 585p.

**Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> Ed. Technique et Documentation Lavoisier et éditions médicales internationales. Paris, France. 1120p.

**Bruneton J., 2009.** Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 4<sup>ème</sup> Ed. Technique et Documentation Lavoisier. Paris, France. 1269p.

**Caia Y., Luob Q., Sun M. et Corkea H., 2003.** Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*.74(17): 216-2161.

**Candan F., Unlu M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sökmen A. et Akpulat H. A., 2003.** Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium subsp. Millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 87 (2-3): 215-220.

**Castellanos F.X. et Tannock R., 2002.** Neuroscience of attention-deficit/hyperactivity disorder: The search for endophenotypes. *Nature Reviews Neuroscience*. 3(8): 617-628.

**Cazes J., 2005.** Encyclopedia of Chromatography. 2<sup>ème</sup> Ed. Taylor and Francis. USA. 1928p.

**Chaabna N., 2014.** Activité anticoccidienne des extraits d'*Artemisia herba alba*. Mémoire de magister. Université Ferhat Abbas. Sétif, Algérie. 91p.

**Charpentier B., Hamon-Lorleach F., Harlay A., Huard A., Ridoux L. et Chanselle S., 2008.** Guide du préparateur en pharmacie. 3<sup>ème</sup> Ed. Elsevier Masson. France. 1358p.

**Chenni M. 2010.** Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale : *Bryonia dioica* Jacq. Mémoire de magister. Université d'Oran Es-Senia. Oran, Algérie. 138p.

**Chirinos R., Rogez H., Campos D., Pedreschi R. et Larondelle Y., 2007.** Optimization of extraction condition of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pavon) Tubers. *Separation and Purification Technology*. **55**(2): 217-225.

**Chung Y.C., Chang C.T., Chao W.W., Lin C.F. et Chou S.T., 2002.** Antioxidant activity and safety of the 50 ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NKI. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **50**(8): 2454-2458.

**Coulerie P., 2012.** Etude phytochimique et pharmacologique de plantes de Nouvelle-Calédonie à potentialités anti-dengue. Thèse de doctorat. Université de la Nouvelle-Calédonie. Nouméa, France. 244p.

**Craciunescu O., Constantin D., Gaspar A., Toma L., Utoiu E. and Moldovan L., 2012.** Evaluation of antioxidant and cytoprotective activities of *Arnica montana* L. and *Artemisia Absinthium* L. Ethanolic extracts, *Chemistry Central Journal*. **6**(1): 97.

**Da Silva L.R., Auzanneau J. et Fleurenceau A.C., 2019.** Les plantes médicinales. Consulté en ligne le 12 Mai 2019. <http://tpelesplantesmedicinales.e-monsite.com/>

**Daglia M., 2011.** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*. **23**(2): 174-181.

**Dai J. et Mumper R- J., 2010.** Plant Phenolics : extraction, analysis and their antioxydant and anticancer propeties. *Molecules*. **15**(10): 7313-7352.

**Daroui-Mokaddem H., 2012.** Etude phytochimique et biologique des especes: *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniium olusatrum* (Apiaceae), *Asteriscus maritimus* et *Chrysanthemum trifurcatum* (Asterarceae). Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar. Annaba, Algérie. 193p.

- Dasl K., Tiwari R.K.S. et Shrivastava D.K., 2009.** Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *Journal Of Medecinal Plants Research*. **4** (2): 104-111.
- Debete Judith M., 2005.** Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans* Vahl (Caesalpiaceae) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad. Thèse de doctorat. Université de Bamako, Mali. 234p.
- Diallo D., 2000.** Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them : *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (Mimosaceae), *Trichilia emetica* (Meliaceae).Thèse de doctorat. Université de Lausanne. Lausanne, Suisse. 221p.
- Dinzedi MR., 2015.** Activités antibactériennes de l'extraits de *Terminalia catappa* et *Thonningia sanguinea* sur *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* multiresistantes d'origine humaine. Thèse de doctorat. Université Félix Houphouët- Boigny. Abidjan, Côte d'Ivoire. 133 p.
- Djeneb C., Kouadio B., Goueh G., N'guessan bra Y., Guede Noël Z., 2016.** Etude ethnobotanique, évaluation de l'activité antifongique sur *Candida albicans* et de la toxicité sur des cellules HFF de *Bersama Abyssinica* (Fresen.), une plante de la pharmacopée ivoirienne. *European Scientific Journal*. **12**(3):171-185.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. et Vidal N., 2006.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. **97**(4): 654–660.
- Djeridane A., Yousfi M., Najemi B., Vidal N., Lesgards J.F. et Stocker P., 2007.** Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic Compounds and their antioxidant activity. *European Food Research and Techenology*. **224**(6): 801-809.
- Djidjel S. et khennouf S., 2014.** Radical Scavenging, Reducing Power, Lipid Peroxidation Inhibition and Chelating Properties of Extracts from *Artemisia campestris* L. Aerial Parts. *Annual Research and Review in Biology*. **4**(10): 1691-1702.
- Drobniewski F. A., 1993.** *Bacillus cereus* and related species. *Clinical Microbiology Reviews*.**6**(4): 324-338.

- Dubey N., Srivastava B. et Kumar A. 2008.** Situation actuelle des produits végétaux en tant que pesticides botaniques entreposés dans la lutte antiparasitaire au stockage. *Journal of Biopesticide*. **1**(2): 182-186.
- Duke J.A., 1992.** Handbook of phytochemical constituents of gras herbs and other economic plants. Ed. Chemical Rubber Company Press. Boca Raton, USA. 654p.
- Ebadi M., 2001.** Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine. 1<sup>ère</sup> Ed. Chemical Rubber Company Press. Boca Raton, USA. 760p.
- Effendi L., Yajun Y. et Koffas M.A.G., 2006.** Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylatedflavonols in *Escherichia coli*. *Metabolic Engineering*. **8**(2): 172-181.
- Ekoumou C., 2003.** Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite Thèse de doctorat. Université de Bamako. Bamako, Mali. 158p.
- El Haib A., 2011.** Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Thèse de doctorat. Université Toulouse III - Paul Sabatier. Toulouse, France. 158p.
- Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. et Abdelly C., 2008.** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendu Biologies*. **331**(5): 372-379.
- Favier A., 2003.** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*. 108-115.
- Fellah S., Romdhane M. et Abderraba M., 2006.** Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* L. cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *Journal de la Société Algérienne de Chimie*. **16** (2) :193-202.
- Fenardji F., Klur M., Furlon C. et Ferrando R., 1974.** White Artemisia (*Artemisia herba-alba* L.). *Revue d'Elevage de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*. **27**(2): 203-206.
- Ferrari J., 2002.** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles: *Gnidia involucrata* Steud. ex A. Rich. Thèse de doctorat. Université de Lausanne. Lausanne, Suisse. 228p.

**Fields P. G., 1992.** The control of stored-product insects and mites with extreme temperatures. *Journal of Stored Products Research*. **28**(2): 89-118.

**Fleurat-Lessard, F., 1987.** Evolution des méthodes de détection et de protection des grains par des procédés physique. *Annales de L'Agence Nationale des Produits Pharmaceutiques*. Algérie. 458p.

**From C., Pukall R., Schumann P., Hormazabal V. et Granum P. E., 2005.** Toxin-producing ability among *Bacillus spp.* outside the *Bacillus cereus* group. *Applied and Environmental Microbiology*. **71**(3) : 1178-1183.

**Gast M., 2019.** Armoise. Encyclopédie berbère. 6 | Antilopes – Arzuges, Volume 6, 1989. <http://journals.openedition.org/encyclopedieberbere/2592>.

**Ghedira K., 2005.** Les flavonoïdes: Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. **3**(4): 162-169.

**Ghestem A., Seguin E., Paris M. et Orecchioni A .M., 2001.** Le préparateur en pharmacie dossier. 2<sup>ème</sup> Ed. Technique et Documentation. Paris, France. p275.

**Giles P.H. et Ashman F., 1971.** A study of pre-harvest infestation of maize by *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera : Curculionidae) in the Kenya Highlands. *Journal of Stored Products Research*. **7**(2): 69-72.

**Gillespie S. H. et Hawkey P. M., 2006.** Principles and Practice of Clinical Bacteriology. 2<sup>ème</sup> Ed. John Wiley and Sons Ltd. England, UK. 605p.

**Girre L., 1980.** Connaitre et reconnaitre les plantes médicinales. Ed. Ouest France, France. 332p.

**Goetz P., 2007.** Aromathérapie en pathologie digestive. *Phytothérapie*. **5**(1): 21-24.

**Gomez-Caravaca A. M., Gomez-Caravaca M., Arraez-Roman D., Segura-Carretero A., et Fernandez –Gutierrez A., 2006.** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **41**(4): 1220-1234.

**Goudable J. et Favier A., 1997.** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. **11**(2): 115-120.

**Goudjil M. B., 2016.** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. Thèse de doctorat. Université Kasdi Merbah. Ouargla, Algérie. 173p.

**Gravot A., 2009.** Introduction aux métabolismes secondaires chez les végétaux. Université de Rennes 1. France. 15p.

**Gseyra N., 2011.** Étude phytochimiques de deux espèces pastorales, étude de composition chimiques d'*Artemisia herba-alba* et *Peganum harmala* et de la toxicité de leurs stades de développement. Ed. Université Européenne. France.160p

**Guèye M.T. , Seck D., Ba S. , Hell K., Sembene M., Wathelet J.P. et Logna Y.G., 2011.** Insecticidal activity of *Boscia senegalensis* (Pers.) Lam ex Poir. on *Caryedon serratus* (Ol.) pest of stored groundnuts. *African Journal of Agricultural Research*. **6**(30): 6348-6353.

**Guignard J. L., 1996.** Biochimie Végétale. Ed. Masson. Paris, France.255p.

**Guinoiseau E., 2010.** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Université de Corse-Pasquale Paoli. Crose, France. 143p.

**Gwinner J., Harnisch R. et Mück, O., 1996.** Manuel sur la manutention et conservation des graines après récolte. Ed. Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit. Allemagne. 388p.

**Halliwell B., 1991.** Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *The American Journal of Medicine*. **91**(3): 14-22.

**Halmi S., 2015.** Etude botanique et phytochimique : approche biologique et pharmacologique d'*Opuntia ficus indica*. Thèse de doctorat. Université des frères Mentouri. Constantine, Algérie. 209p.

**Hamdani D., 2012.** Action des poudres et des huiles de quelques plantes aromatiques sur les paramètres biologiques de la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* Say. (Coleoptera : Bruchidae). Mémoire de magister. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie. 97p.

**Hamid A.A., Aiyelaagbe O.O. et Usman L.A., 2011.** Essential oils: Its medicinal and pharmacological uses. *International Journal of Current Research*. **3**(2): 086-098.

**Harrar A.E.N., 2012.** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de magister. Université Ferhat Abbas. Sétif, Algérie. 73p.

**Hart P.H., Brand C., Carson C.F., Riley T.V., Prager R.H. et Finlay-Jones J.J., 2000.** Terpinen-4-ol, composant principal de l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* (huile de théier), inhibe la production de médiateur inflammatoire par des monocytes humains activés. *Recherche sur l'inflammation*. **49**(11): 619-626.

**Hartmann T., 2007.** From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*. **68**(22-24): 2831–2846.

**Havsteen B. H., 2002.** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology and Therapeutics*. **96**(2-3): 67–202.

**Hebi M. et Eddouks M., 2016.** Évaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana*. *Phytothérapie*. **14**(1): 17-22.

**Hedjal-Chebheb M., 2014.** Identification des principes actifs des huiles essentielles de quelques résineux, plantes aromatiques de provenance algérienne et tunisienne : Etude de leurs activités biologiques à l'égard d'un insecte ravageur des graines stockées, *Callosobruchus maculatus* F. 17775 (Coleoptera: Bruchidae). Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie. 99p.

**Hellal Z., 2011.** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur la sardine (*Sardina Pilchardus*). Mémoire de magister. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie. 78p.

**Hemwimon S., Pavasant P. et Shotipruk A., 2007.** Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Separation and Purification Technology*. **54** (1): 44-50.

**Hinneburg I., Damien Dorman H. D., et Hiltunen R., 2006.** Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food chemistry*. **97** (1): 122-129.

**Hong X.Y., Wan M., Dong H., But P.P. et Foo L.Y., 2000.** Inhibitory activity of flavonoids and tannins against HIV-1 protease. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. **23** (9): 1072-1076.

**Hubert P., Servat E., Paturel J.E., Kouame B., Bendjoudi H., Carbonnel J.P. et Lubes-Niel H., 1998.** La procédure de segmentation, dix ans après. Communication à la Conférence Internationale ABIDJAN'98, Variabilité des ressources en eau au XXème siècle, Abidjan (Côte d'Ivoire). *IAHS Public.* **1998**(252): 267–273.

**Hudaib M.H. et Aburjai T.A., 2006.** Composition of the essential oil from *Artemisia herba alba* grown in Jordan. *Journal of Essential Oil Research.* **18**(3): 301- 304.

**Iserin P., Masson M., Restellini Jp., Ybert E., Moulard F., Zha E., De La Roque R., De La Roque O., Vican P., Deesalle-Feat T., et al., 2001.** Larousse des Plantes Médicinales : Identification, Préparation et Soins. 2<sup>ème</sup> Ed. Larousse, Londres. 335p.

**Isman M.B. et Machial C.M., 2016.** Pesticides based on plant essential oils. From traditional practice to commercialization. *Naturally Occuring Bioactive Compounds.* **3**(3002): 29-44.

**Isman M.B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection.* **19**(2000): 603-608.

**Isnard R., 2017.** Que retenir des dernières recommandations européennes sur l'insuffisance cardiaque ? *Archives des Maladies du Cœur et des Vaisseaux-Pratique.* **2017**(259): 1-2.

**Jeong S.M., Kim S.Y., Kim D.R., Jo S.C., Nam K.C., Ahn D.U. et Lee S.C., 2004.** Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* **52**(11): 3389-3393.

**Jett B.D., Huycke M.M., et Gilmore M.S., 1994.** Virulence of Enterococci. *Clinical Microbiology Reviews.* **7**(4): 462-478.

**Joannès F., 2001.** Dictionnaire de la civilisation Mésopotamienne. Ed. Robert Laffont. Paris. 974p.

**Joslyn M.A., 1970.** A serie of monographies. *Journal of Food and Sciences Technology.* 2<sup>ème</sup> Ed. Board.

**Kahlouche-Riachi F., 2014.** Evaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie. Thèse de doctorat. Université de Constantine 1. Constantine, Algérie. 128p.

**Kaur S.J., Grover I.S. et Kumar S., 2000.** Modulatory effects of tannin fraction isolated from *Terminalia arjuna* on the genotoxicity of mutagens in *Salmonella typhimurium*. *Food and Chemical Toxicology*. **38**(12): 1113-1119.

**Kayaoglu G. et Orstavik D., 2004.** Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. **15**(5): 308-320.

**Kellouche A., 2005.** Etude de la bruche du pois chiche, *Callosobruchus macculatus* (Coleoptera : Bruchidae) : Biologie, physiologie, Reproduction et lutte. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie. 215p.

**Khelfane-Goucem K., 2014.** Etude de l'activité insecticide des huiles essentielles et des poudres de quelques plantes à l'égard de la bruche du haricot *Acanthocelides obtectus* Say. (Coleoptera : Chrysomelidae : Bruchinae) et comportement de ce ravageur vis-à-vis des composés volatils de différentes variétés de la plante hôte (*Phaseolus vulgaris* L.). Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie. 144p.

**Khirdidine H., 2013.** Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes. Mémoire de magister. Université M'Hamed Bougara. Boumerdes, Algérie. 97p.

**Kim J.H., Kim H.K., Jeon S.B., Son K.H., Kim E.H., Kang S.K., Sung N.D. et Kwon B.M., 2002.** New sesquiterpene–monoterpene lactone, artemisolide, isolated from *Artemisia argyi*. *Tetrahedron Letters*. **43**(35): 6205-6208.

**Kirschvink N., De Moffarts B. et Lekeux P., 2008.** The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal*. **177**(2): 178-191.

**Koehlin-Ramonatxo C., 2006.** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique Métabolisme*. **20**(4): 165-177.

**Kolodzie J., Kayser O., Latte K. P., Ferreira D., 1999.** Evaluation of the antimicrobial potency of tannins and related compounds using the microdilution both method. *Planta Medica*. **65**(5): 444-446.

**Kumar S. et Pandey A. K., 2013.** Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Scientific World Journal*. **2013**:1-16.

**Kumaran A. et Karunakaran R. J. 2007.** In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie –Food Science and Technology*. **40**(2): 344-352.

**Labadie C., 2015.** Analyse fine et stabilisation des hydrolats de rose et de fleur d'oranger. Thèse de doctorat. Université de Montpellier. Montpellier, France. 222p.

**Lagnika L., Amoussa M., Adjovi Y. et Sanni A., 2012.** Antifungal, antibacterial and antioxidant properties of *Adansonia digitata* and *Vitex doniana* from Bénin pharmacopeia. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*. **4**(4): 44-52.

**Lahlou M., 2004.** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*. **18**(6): 435-448.

**Lambert R.J., Skandamis P.N., Coote P.J. et Nychas G.J., 2001.** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*. **91**(3): 453-462.

**Lamy E., Rawel H., Schweigert F.J., Silva F.C., Ferreira A., Costa A.R., Antunes C., Almeida A.M., Coelho A.V. et Sales-Baptista E., 2011.** The effect of tannins on mediterranean ruminant ingestive behavior : The role of the oral cavity. *Molecules*. **16**(4) : 2766-2784.

**Lapornik B., Prosek M. et Wondra A.G., 2005.** Comparaison of extracts prepared from plant by- products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*. **71**(2): 214-222.

**Le Hir A., Chaumeil J. C. et Brossard D., 2009.** Pharmacie galénique: bonnes pratiques de fabrication des médicaments. 9<sup>ème</sup> Ed. Masson. France. 382p.

**Le Scanff J., Mohammedi I., Thiebaut A., Martin O., Argaud L. et Robert D., 2006.** Necrotizing gastritis due to *Bacillus cereus* in an immunocompromised patient. *Infection*. **34**(2): 98-99.

**Leclerc H., Gaillard J.L. et Simonet M., 1995.** Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. 4<sup>ème</sup> Ed. Doin. Paris, France. 535p.

- Lee R.E., Lee M.R. et Strong-Gunderson J.M., 1993.** Insect cold-hardiness and ice nucleating active microorganisms including their potential use for biological control. *Journal of Insect Physiology*. **39**(1): 1-12.
- Lee S.E., Lee R.H., Choi W.S., Park B.S., Kim J.G. et Campbell B.C., 2001.** Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). *Pest Management Science*. **57**(6): 548-553.
- Lepesme P., 1944.** Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés. Ed. P. Lechevalier. Paris, France. 335p.
- Liang N. et Kitts D.D., 2014.** Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*. **19**(11): 19180-19208.
- Liu J., Jia L., Kan J. et Jin Ch., 2013.** In vitro and in vivo antioxidant activity of ethanolic extract of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food and Chemical Toxicology*. **51**: 310-316.
- Liyana-Pathirana C. M. et Shahidi F., 2005.** Antioxydant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. *Journal of Agriculture and Food chemistry*. **53** (7): 2433-2440.
- Lopes-Lutz D., Alviano D.S., Alviano C.S., Kolodziejczyk P.P., 2008.** Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*. **69** (8): 1732-1738.
- Lubbe A. et Verpoorte R., 2011.** Culture de plantes médicinales et aromatiques pour les matériaux industriels spécialisés. *Cultures et Produits Industriels*. **34** (1): 785-801.
- Lucchesi M.E., 2005.** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université de la Réunion. Saint-Denis, France. 143p.
- Lucienne A.D., 2010.** Les plantes médicinales d'Algérie. 2<sup>ème</sup> Ed. Berti. Algérie. 239p.
- Lugasi A., Hovari J., Sagi K., et Biro L., 2003.** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica szegediensis*. **47** (1-4):119-125.

**Luttge U., Kluge M. et Bauer G., 1992.** Botanique: traité fondamental (traduction française). 1<sup>ère</sup> Ed. Lavoisier. Paris, France. 574 p.

**Makhloufi A., 2010.** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* Desf. et *Rosmarinus officinalis* L.) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat. Université Aboubaker Belkaid. Tlemcen, Algérie. 136 p

**Mansour S., 2015.** Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium* L., *Artemisia herba alba* Asso. et *Hypericum scarboides* - Etude in vivo-. Thèse de doctorat. Université Mohamed Boudiaf. Oran, Algérie. 121p.

**Mariod A.A., Ibrahim R.M., Ismail M. et Ismail N., 2009.** Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chemistry*. **116**(1): 306-312.

**Massaux C., 2012.** Polyphénols : des alliés pour la santé. *Abeilles et Cie*. **4**(149): 1-4.

**Mebarki N., 2010.** Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne. Mémoire de magister. Université M'Hamed Bougara. Boumerdes, Algérie. 137p.

**Merghem R., 2009.** Eléments de biochimie végétale. Ed. Bahaeddine. Constantine, Algérie. 172p.

**Messai L., 2011.** Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est algérien (*Artemisia herba alba*). Thèse de doctorat. Université Mentouri. Constantine, Algérie. 94p.

**Mezouar D., 2013.** Recherche d'activités biologiques de *Berberis vulgaris*. Mémoire de magister. Université Abou Bekr Belkaïd. Tlemcen, Algérie. 121p.

**Mighri H., Hajlaoui H., Akrouf A., Najjaa H., et Neffati M., 2010.** Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes Rendus Chimie*. **13**(3): 380-386.

**Mika A., Minibayeva F., Beckett R. et Lüthje S., 2004.** Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochemistry Reviews*. **3**(1): 173-193.

**Miresmailli S., Bradbury R. et Isman M. B., 2006.** Toxicité comparative de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. et des mélanges de ses principaux constituants contre le *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) sur deux plantes hôtes différentes. *Pestmanagement Science*. **62**(4): 366-371.

**Mohamed A.H., El-Sayed M., Hegazy M.E.F., Helaly S.E., Esmail A.M. et Mohamed N.S., 2010.** Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba alba*. *Records of Natural Products*. **4**(1): 1-25.

**Mohammedi Z. 2006.** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de magister. Université Abou Bakr Belkaïd. Tlemcen, Algérie. 105p.

**Mohammedi Z., 2013.** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen, Algérie. 169p.

**Mohsen H. et Ferchichi A., 2009.** Essential Oil Composition of *Artemisia herba-alba* from Southern Tunisia. *Molecules*. **14**(4): 1585-1594.

**Molyneux P., 2004.** The use of the stable free radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin. Journal of Science and Technology*. **26**(2): 211-219.

**Mompon B., Lemaire B., Mengal P. et Surbled M., 1996.** Extraction des polyphénols du laboratoire à la production industrielle. Ed. INRA. Bordeaux, France. 267p.

**Mota M.L., Thomas G. et Barbosa Filho J.M., 1985.** Anti-inflammatory actions of tannins isolated from the bark of *Anacardium occidentale* L. *Journal of Ethnopharmacology*. **13**(3): 289-300.

**Mucciarelli M. et Maffei M., 2002.** *Artemisia*. Ed. Taylor and Francis. New York, USA. 50p.

**Murray P.R., Baron E.J., Jorgensen J.H., Landry M.L., et Pfaller M.A., 2007.** Manual of Clinical Microbiology. 9<sup>ème</sup> Ed. American Society of Microbiology Press. Washington, USA. 2488p.

**Nabli M.A., 1989.** Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, Volume 1. Ed. Faculté des Sciences de Tunis. Tunisie. 247 p.

**Nacoulma-Ouédraogo O., 1996.** Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso: cas du Plateau central. Thèse de doctorat. Université d'Ouagadougou. Ouagadougou, Burkina-Faso. 605 p.

**Nacz M., et Shahidi F., 2004.** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*. **1054**(1-2): 95-111.

**Naili M.B., Alghazeer O.R., Saleh N.A. et Al-Najjar A.Y., 2010.** Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arabian Journal of Chemistry*. **3**(2): 79-84.

**Ndomo A.F., Tapondjou L.A., Fernand T. et Tchouanguép, F.M., 2009.** Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* Say. (Coleoptera : Bruchidae). *Tropicultura*. **27**(3): 137-143.

**Ngamo L.S.T. et Hance T.H., 2007.** Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *Tropicultura*. **25**(5): 215-220.

**Nia B., 2018.** Effets des extraits phénoliques sur le potentiel biotique du puceron vert du pêcher (*Myzus persicae* Sulzer, 1776) (Homoptera: Aphididae). Université Mohamed Khider. Biskra, Algérie. 94p.

**Nkhili E.Z., 2009.** Polyphénols de l'alimentation : extraction, interaction avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. Thèse de doctorat. Université Cadi Ayyad Marrakech, Maroc, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. Montpellier, France. 327p.

**Obeng-Ofori D., Reichmuth C.H., Bekele J. et Hassanali A., 1997.** Biological activity of 1,8-cineole, a major component of essential oil of *Ocimum kenyense* (Ayobangira) against stored product beetles. *Journal of Applied Entomology*. **121**(1-5): 237-243.

**Ojimelukwe P.C. et Adler C. 1999.** Potential of Zimtadehyde, 4-allyl-anisol, linalool, terpeneol and other phytochemicals for the control of confused Flour Beetle *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Pesticides Science*. **72**(4):81-86.

**Oliveira I., Coelho V., Baltasar R., Pereira J.A. et Baptista P., 2009.** Scavenging capacity of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves on free radicals. *Food and Chemical Toxicology*. **47** (7): 1507-1511

**Oussalah M., Caillet S., Saucier L. et Lacroix M., 2007.** Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. **18**(5): 414-420.

**Oussou K.R., Kanko C., Guessend N., Yolou S., Dosso M., N'Guessan Y. T., Figueredo G., Chalchat J.C., et Koukoua G., 2004.** Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire. *Comptes Rendus Chimie*. **7**(10–11): 1081-1086.

**Oyaizu M., 1986.** Studies on Products of Browning Reactions: antioxidative activities of product of browning reaction prepared from glucosamine. *Japan Journal of Nutrition*. **44**(6): 307-315.

**Ozcan T., Akpınar-Bayazit A., Yılmaz-Ersan L., et Delikanlı B., 2014.** Phenolics in human health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. **5**(5): 393-396.

**Ozenda P., 1977.** Flore du Sahara. 2<sup>ème</sup> Ed. Centre national de la recherche scientifique. Paris, France. 622p.

**Ozenda P., 1983.** Flore du Sahara. 1<sup>ère</sup> Ed. Centre national de la recherche Scientifique. Paris, France. 441p.

**Paolini V., Bergeaud J.P., Grisez C., Prevot F., Dorchie Ph. et Hoste H., 2003.** Effects of condensed tannins on goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*. **113** (2003): 253–261.

**Papachristos D.P. et Stamopoulos D.C., 2002.** Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* Say. (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*. **38** (2002): 117–128.

**Paradiso B., Marconi P., Zucchini S., Berto E., Binaschi A., Bozac A., Buzzi A., Mazzuferi M., Magri E., Mora G.N. et al., 2009.** Localized delivery of fibroblast growth factor-2 and brain-derived neurotrophic factor reduces spontaneous seizures in an epilepsy

model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*. **106**(17): 7191–7196

**Paris M. et Hurabielle M., 1981.** Abrégé de matière médicale: Pharmacognosie. Tome 1. Ed. Masson. Paris, France. 182p.

**Patrick B., Jean-Louis G., et Michel S., 1988.** Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1<sup>ère</sup> Ed. Flammarion Medicine–Sciences. Paris, France. 660p.

**Paudel B., Bhattarai H.D., Kim I.C., Lee H., Sofronov R., Ivanova L., Poryadina L. and Yim J.H., 2014.** Estimation of antioxidant, antimicrobial activity and brine shrimp toxicity of plants collected from Oymyakon region of the Republic of Sakha (Yakutia), Russia. *Biological Research*. **47**(10): 10-47.

**Percival S., Chalmers R., Embrey M., Hunter P., Sellwood J. et Wyn-Jones P., 2004.** Microbiology of Waterborne Diseases. 1<sup>ère</sup> Ed. Academic Press. USA. 480p.

**Pincemail J., Meurisse M., Limet R. et Defraigne J.O., 1999.** Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme: importance en matière de prévention. *Cancérologie*. **95**: 1-4.

**Piochon M., 2008.** Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. Thèse de doctorat. Université du Québec. Chicoutimi, Canada. 213p.

**Poisson J.E., 2017.** Alcaloïdes. Encyclopaedia Universalis. <https://catalogue.univ-lehavre.fr>.

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

**Popovici C., Saykova I. et Tylkowski B., 2009.** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radicale libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*. **2009**(4): 25-39.

**Pottier-Alapalette G. et Ozenda P., 1981.** Flore de la Tunisie: angiospermes–dicotylédones. Ed. Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique et le Ministère de l'Agriculture. Tunisie. 1090p.

**Pourrat Y., 1975.** Propriétés éco-physiologiques associées à l'adaptation d'*Artémisia herba alba*, plante d'intérêt pastoral au milieu désertique. Thèse de doctorat. Université de Paris VI. Paris, France. 135p.

**Pousset J.L., Rey J.P., Levesque J., Corsaget P., Galen F.X., 1993.** Hepatitis B surface antigen (HBs Ag) inactivation and angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibition in vitro by *Combretum glutinosum* perr. (Combretaceae), extracts. *Phytotherapy Research*. **7** (1): 101-102.

**Prates H.T., Santos J.P., Waquil J. M., Fabris, J.D., Oliveira A.B. et Foster J., 1998.** Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbst). *The Journal of Stored Products Research*. **34**(4): 243-249.

**Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A., 2003.** Microbiologie. 2<sup>ème</sup> Ed. De Boeck. Bruxelles, Belgique. 1137p.

**Price L. et Price S., 2004.** Understanding hydrolats: The specific hydrosols for aromatherapy. Ed. Churchill Livingstone. Londres, Royaume-Uni. 312 p.

**Quettier-Deleu C., Gressier B., Vasseur J., Dine T., Brunet C., Luyckx M., Cazin M., Cazin J. C., Bailleul F., et Trotin F., 2000.** Phenolic Compounds and Antioxidant Activities of Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) Hulls and Flour. *Journal of Ethnopharmacology*. **72** (1-2): 35-42.

**Quezel P. et Santa S., 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. Centre National de la Recherche Scientifique. Paris, France. 1170p.

**Rahman I., 2002.** Oxidative stress and gene transcription in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: antioxidant therapeutic targets. *Current Drug Targets-Inflammation and Allergy*. **1**(3): 291-315.

**Ramakrishna A. et Ravishankar G. A., 2011.** Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling and Behavior*. **6**(11):1720-1731.

**Ramezania M., Fazli-Bazzaza B. S., Saghafi-Khademb F. et Dabaghiana A., 2004.** Antimicrobial activity of four *Artemisia species* of Iran. *Fitoterapia*. **75** (2): 201-203.

**Randhawa M.A. et Alghamdi M.S., 2011.** Activité anticancéreuse de *Nigella sativa* (graine noire). *Le Journal Américaine de Médecine Chinoise*. **39**(6): 1075-1091.

- Regnault-Roger C. et Hamraoui A., 1995.** Fumigant toxic activity and reproduction inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), abruclid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Stored Products Research*. **31**(4): 291-299.
- Remesy C., Manach C., Demigne C. et Texier O., 1996.** Nutritional interest of flavonoids. *Institut National de la Recherche Agronomique*. **32**(1): 17-27.
- Rezaie A., Parker R. D. et Abdollahi M., 2007.** Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: an epiphenomenon or the cause ? *Digestive Diseases and Sciences*. **5**(29): 2015- 2021.
- Ribereau-Gayon P., 1968.** Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod. Paris, France. 254p.
- Ryan K.J., Ray C.G. et Sherris J.C., 2004.** Sherris medical microbiology. 4<sup>ème</sup> Ed. Mc. Graw Hill. USA. 979p.
- Saleh N.A.M., El-Negoumy S.I. et Abou-Zaid M.M., 1987.** Flavonoids of *Artemisia judaica*, *A. monosperma* and *A. herba-alba*. *Phytochemistry*. **26** (11): 3059-3064.
- Saleh N.A.M., El-Negoumy S.I., Abd-Alla M.F., Abou-Zaid M.M., Dellamonica G. et Chopin J. 1985.** Flavonoids glycosides of *Artemisia monosperma* and *A. herba-alba*. *Phytochemistry*. **24** (1): 201-203.
- Salhi N. 2011.** Allelochemicals from some medicinal and aromatic plants and their potential use as bioherbicides. Université Badji-Mokhtar. Annaba, Algérie. 210p.
- Salido S., Valenzuela L.R., Altarejos J., Nogueras M., Sanchez A. et Carro E., 2004.** Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba alba* from southern Spain. *Biochemical Systematics and Ecology*. **32**(3): 265-277.
- Samartha R.M., Samartha M., Kumar M., Soni A., Kumar M. et Kumar A., 2008.** Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activity of certain radioprotective plant extracts. *Food Chemistry*. **106**(2): 868-873.
- Sanaa S.M.M., Shalaby E.A. et El-Fayoumy E.A., 2011.** Enteromorpha compressa exhibits potent antioxidant activity. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. **2011**:1-11.

**Sanago R., 2006.** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Développement, environnement et santé 10<sup>ème</sup> école d'été de l'Institut de l'Energie et d'Environnement de la Francophonie et du Secrétariat International Francophone pour l'Evaluation Environnementale du 06 au 10 juin 2006. Université Bamako. Mali. 53p.

**Sanchez-Moreno C., Larrauri J.A. et Saura-Calixto F., 1998.** A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science Technology International*. **76(2)**: 270-276.

**Sandrine L., 2004.** Diversité structurale et d'activité biologique des Albumines entomotoxiques de type 1b des graines de Légumineuses. Thèse de doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon. Lyon, France. 260p.

**Saoudi M., Allagui M. S., Abdelmouleh A., Jamoussi K. et El Feki A., 2010.** Protective effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* against puffer fish *Lagocephalus lagocephalus* extract-induced oxidative damage in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*. **62(6)**: 601-605.

**Seck D. 2009.** Stockage, conservation et transformation des récoltes en zones tropicales. Notes de cours. 31p.

**Seck D., 1991.** Importance économique et développement d'une approche de lutte intégrée contre les insectes ravageurs des stocks de maïs, de mil et de niébé en milieu paysan. *Sahelpv*. **33**: 15-20.

**Seddik K., Nadjet I., Abderrahmane B., Daoud H. et Lekhmici A., 2010.** Antioxidant and antibacterial activities of extracts from *Artemisia herba alba* Asso. leaves and some phenolic compounds. *Journal of Medicinal Plant Research*. **4(13)**: 1273-1280.

**Segal R., Breuer A. et Feuerstein I., 1980.** Irregular monoterpene alcohols from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*. **19(12)**: 2761-2762.

**Segal R., Eden L., Danin A., Kaiser M., Duddeck H., 1985.** Sesquiterpene lactones from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*. **24(6)**: 1381-1382.

**Sereme A., Milogo-Rasolodimby J., Guinko S. et Nacro M., 2008.** Propriétés thérapeutiques des plantes à tanins du Burkina Faso. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*. **15**: 41-49.

**Seri-Kouassi B.P., Kanko C., Aboua L.R.N., Bekon A.K., Glitho A.I., Koukoua G. et Thomas Y., 2004.** Action des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de Côte d'Ivoire sur *Callosobruchus maculatus* F. du niébé. *Comptes Rendus Chimie*. **7**(10-11): 1043-1046.

**Shahein A., 1991.** Susceibility of some stored product insects to high and two temperatures. *Zagazig Journal Agricultural Research*. **18**(2): 577-584.

**Shahidi F. et Naczk M., 2003.** Phenolics in food and nutraceuticals. 2<sup>ème</sup> Ed. Chemical Rubber Company Press. Boca Raton, USA. 576p.

**Shunying Z., Yang Y., Huaidong Y., Yue Y., et Guolin Z., 2005.** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum*. *Journal of Ethnopharmacology*. **96**(1-2): 151-158.

**Sies H., 1997.** Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*. **82**(2): 291-295.

**Silva N., et Fernandes Junior A., 2010.** Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*. **16**(3): 402-413.

**Singleton V.L. et Rossi J.A., 1965.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungestic acid reagents. *American Journal of Technology and Viticulture*. **16**:144-153.

**Smadja J., 2009.** Les huiles essentielles. Colloque GP3A – Tananarive 2-3 juillet 2009. Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments (LCSNSA). Université de La Réunion. La Réunion, France. 50p

**Smith E.H. et Whitman R.C., 1992.** Field guide to structural pests. Ed. National Pest Management Association. Dunn Loring, USA. 800p.

**Stalikas C.D., 2007.** Extraction, separation and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*. **30**(18): 3268–3295.

**Steffan J.R., 1978.** Les insectes et les acariens des céréales stockées. Institut technique des céréales et des fromages. 1<sup>ère</sup> Ed. Aassociation Française de Normalisation –Institut Technique des Céréales et des Fourrages. Paris, France. 238p.

**Steflitsch W. et Steflitsch M., 2008.** Clinical Aromatherapy. *American Journal of Men's Health*. **5**(1): 74-85.

**Sun L., Zhang J., Lu X., Zhang L. et Zhang Y., 2011.** Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food and Chemical Toxicology*. **49**(10): 2689-2696.

**Talbi M., 2015.** Dosage des polyphénols de la plante d'*Artemisia compestris* L. par chromatographie HPLC. Mise en évidence de l'activité biologique. Mémoire de magister. Université d'Oran 1 Ahmed Benbella. Oran, Algérie. 104p.

**Taleb-Toudert K., 2015.** Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie. 134p.

**Tapondjou L.A., Adler C., Bouda H. et Fontem D.A., 2003.** Bioefficacité des poudres et des huiles essentielles des feuilles de *Chenopodium ambrosioides* et *Eucalyptus saligna* à l'égard de la bruche du niébé, *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera: Bruchidae). *Cahiers Agricultures*. **12**(6): 401-407.

**Tapondjou L.A., Adler C., Bouda H. et Fontem D.A., 2002.** Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. *Journal of Stored Products Research*. **38**(4): 395-402.

**Tawaha K., Alali F.Q., Gharaibeh M., Mohammad M. et El-Elimat T., 2007.** Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*. **104**(4): 1372-1378.

**Teixeira Da Silva J. A., 2004.** Mining the essential oils of the Anthemideae. *African Journal of Biotechnology*. **3**(12): 706-720.

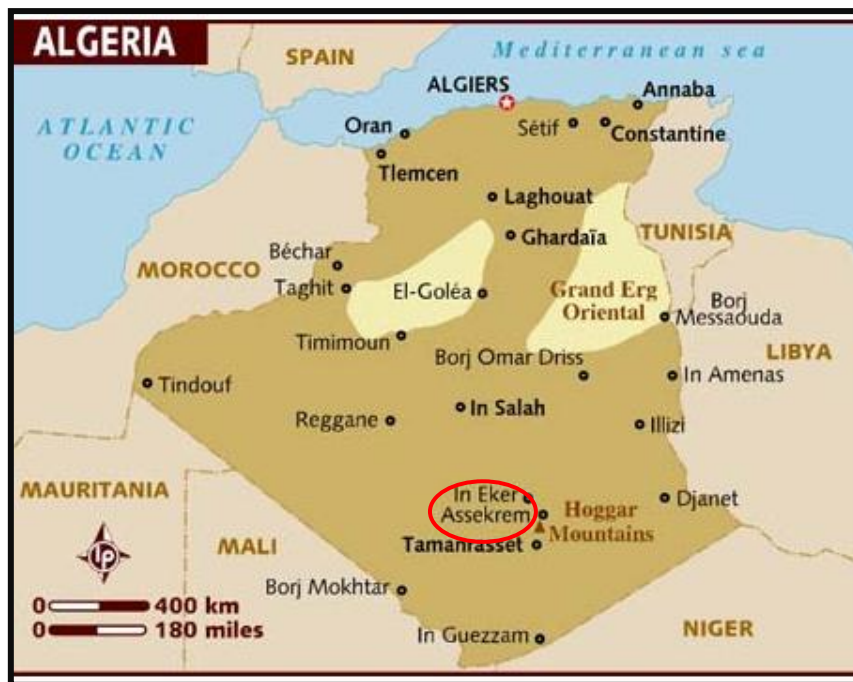
**Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M. et Polissiou M., 2005.** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*. **90**(3): 333-340.

- Tepe B., Sokmen M., Akpulat A. H., Daferera D., Polissiou M. et Sokmen M., 2005.** Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. and rosulans. *Journal of Food Engineering*. **66**(4): 447-454.
- Tiaiba A., 2007.** Activité insecticide des huiles essentielles de *Mentha spicata* L. et *Origanum glandulosum* Desf. Sur le potentiel biotique de *Callosobruchus maculatus* Fabricus. (Coleoptera: Bruchidae). Institut Nationale Agronomique El-Harrach. Alger. 77p.
- Trease E. et Evans W.C., 1989.** Trease and Evans' Pharmacognosie. 13<sup>ème</sup> Ed. Billiaire Tindall. London. 832p.
- Trudel C., 2016.** Armoise blanche (Camphore wormwood). Jardin botanique de Montréal. Consulté en ligne 2 août 2019. <http://monde.ccdmd.qc.ca/ressource/?id=105310>
- Tsuchiya H., Sato M., Miyazaki T., Fujiwara S., Tanigaki S., Ohyama M., Tanaka T., et Iinuma M., 1996.** Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*. **50**(1): 27-34.
- Tuekaew J., Siriwatanametanon N., Wongkrajang Y., Tamsiririrkkul R. et Jantan I., 2014.** Evaluation of the Antioxidant Activities of Ya-hom Intajak, a Thai Herbal Formulation, and its Component Plants, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* .**13** (9): 1477-1485.
- Twaij H.A.A. et Al-Badr A.A., 1988.** Hypoglycemic activity of *Artemisia herba alba*. *Journal of Ethnopharmacology*. **24** (2-3):123-126.
- Urquiaga I. et Leighton F., 2000.** Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*. **33**(2): 55- 64.
- Valko M., Izakovic M., Mazur M., Rhodes C.J. et Telser J., 2004.** Role of oxygenradicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*. **266** (1-2): 37-56.
- Vasudha Lingampally, Solanki V.R., Kaur A. et Sabita Raja S., 2013.** Effect of andrographolide on the protein content of *Tribolium confusum* (duval). *International Journal of Pure and Applied Zoology*. **1**(1): 70-79.

- Wang, W., Wu N., Zu Y.G. et Fu Y.J., 2008.** Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chemistry*. **108**(3): 1019-1022.
- Wendakoon C.N., et Sakaguchi M., 1995.** Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *Journal of Food Protection*. **58**(3): 280-283.
- Woodman O. et Chan E. C., 2004.** Vascular and anti-oxidant actions of flavonols and flavones. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. **31**(11): 786-790.
- Wright C.W., 2002.** Artemisia. Ed. Taylor and Francis. London, UK and New York, USA. 344p.
- Wu X., Beecher G.R., Holden J.M., Haytowitz D.B., Gebhardt S.E. et Prior R.L., 2004.** Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **52**(12): 4026-4037.
- Yun S., Liang J., Peng X., Yan L. et Jinsong B., 2009.** Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. *Journal of Cereal Science*. **49**(1): 106-111.
- Zahalka J.P., 2010.** Les huiles essentielles: 230 huiles essentielles, 170 maux traités. Ed. Dauphin. 367p.
- Zhang H., Chen F., Wang X. et Yao H.Y., 2006.** Évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de Persil (*Petroselinum Crispum*) et identification de ses constituants antioxydants. *Food Research International*. **39**(8): 833-839.
- Zohry N.M.H., 2017.** Scanning electron morphological studies of *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera : Tenebrionidae). *The Journal of Basic and Applied Zoology*. **78**:1-6.
- Zouari S., Zouari N., Fakhfakh N., Bougatef A., Ayadi M.A. et Neffat M., 2010.** Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian *Artemisia herba alba* Asso. *Journal of Medicinal Plants Research*. **4**(10): 871-880.

# *Annexes*

**Annexe 1:** carte d'Algérie, région d'Assekrem à Tamanrasset.



**Annexe 2:** poudre végétale d'*A. herba alba* (broyat).



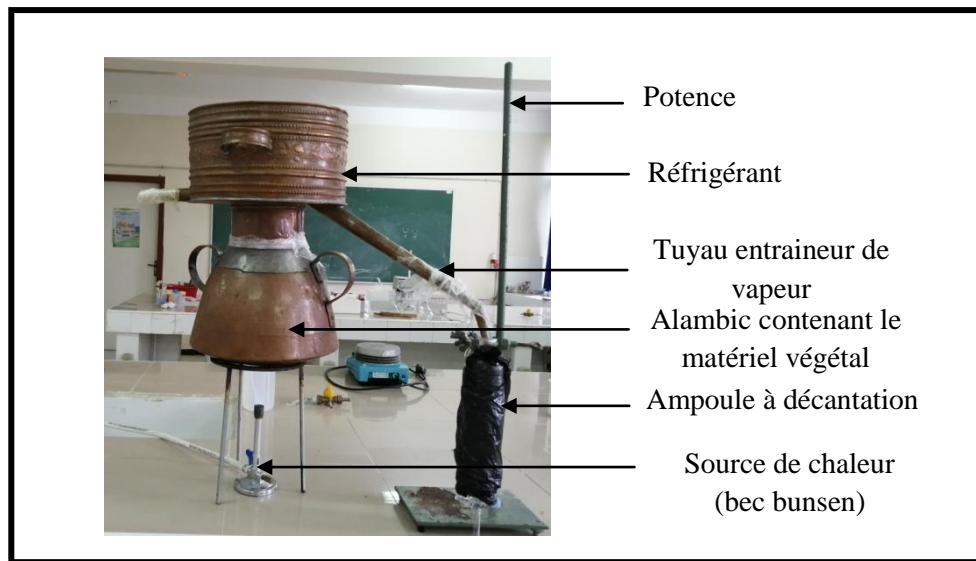
**Annexe 3:** lyophilisat d'extrait aqueux d'*A. herba alba*.



**Annexe 4:** lyophilisateur (à gauche) et rotavapor (à droite) .



**Annexe 5:** hydrodistillateur de type alambic.



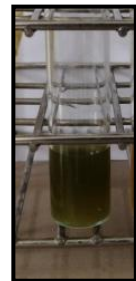
**Annexe 6:** aspects des extraits et de l'HE.



HE



Extrait aqueux



Extrait éthanolique

## Annexe 7: verreries et appareillage

Appareillage	Verrerie et autres matériel
<ul style="list-style-type: none"><li>- Agitateur ;</li><li>- Autoclave (PB INTERNATIONAL);</li><li>- Balance analytique ;</li><li>- Balance de précision 0.01 mg ;</li><li>- Etuve (MEMMERT);</li><li>- Broyeur électrique ;</li><li>- Bain Marie (MEMMERT);</li><li>- Centrifugeuse ;</li><li>- pH mètre ;</li><li>- Spectrophotomètre UV visible(SCHIMADZU) ;</li><li>- Réfrigérateur (ENIEM) ;</li><li>- Rotavapor.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Anse à boucle ;</li><li>- Boîtes de Pétri en plastique de 90 mm de diamètre ;</li><li>- Coton ;</li><li>- Ecouillons ;</li><li>- Entonnoir ;</li><li>- Erlenmeyer ;</li><li>- Epruvettes graduées ;</li><li>- Flacons stériles ;</li><li>- Micropipettes de 5 à 1000 µL ;</li><li>- Tubes à essais stériles ;</li><li>- Tubes ECBU ;</li><li>- Bêchers ;</li><li>- Cuve ;</li><li>- Papier aluminium ;</li><li>- Papier filtre Whatman ;</li><li>- Passoire ;</li><li>- Pipette Pasteur ;</li><li>- Barreau magnétique</li></ul>

## Annexe 8: composition des milieux de culture (pour 1 litre d'eau distillée)

### Gélose Mueller-Hinton (MH)

- Extrait de viande de bœuf déshydratée .....3 g/L
- Hydrolysate acide de caséine .....17,5 g/L
- Amidon .....1,5 g /L
- Agar .....1,5 g /L
- pH 7,4

### Bouillon cœur-cerveille (BHIB)

- Extrait cœur-cerveille.....17,5 g/L
- Peptone pancréatique de gélatine .....10,0 g/L
- Chlorure de sodium.....5,0 g/L
- Phosphate disodique .....2,5 g/L
- Glucose.....2,0 g/L
- pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.

## Annexe 9: composition des solutions utilisées

### ➤ Diluant (Eau physiologique stérile)

Chlorure de sodium .....9 g

Eau distillée .....1L

pH  $7,3 \pm 0,2$

➤ **Préparation de la solution de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )**

Dissoudre 7 g dans un volume de 100 mL d'eau distillée.

➤ **Préparation de la solution de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 10%**

Dissoudre 10 g dans un volume de 100mL d'eau distillée.

➤ **Préparation de la solution de chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) 0.1%**

Dissoudre 1 g dans un volume de 100mL d'eau distillée.

➤ **Préparation de l'acide trichloracétique (TCA) à 10 %**

Dissoudre 10 g dans un volume de 100 mL d'eau distillée.

➤ **Préparation de ferrocyanure  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1 %**

Dissoudre 1 g dans un volume de 100 mL d'eau distillée.

➤ **Préparation de la solution saturée de  $\text{CO}_3\text{Na}_2$**

Dissoudre 43.75 g dans un volume de 100 mL d'eau distillée chaude ( $70^\circ\text{C}$  à  $80^\circ\text{C}$ ), après refroidissement, la solution est filtrée puis ajustée à 100 mL d'eau distillée.

➤ **Préparation de la solution de Diméthylsulfoxyde DMSO  $\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$  à 10%**

Mélanger 10mL de DMSO avec 90 mL d'eau distillée, la solution est stockée à l'obscurité.

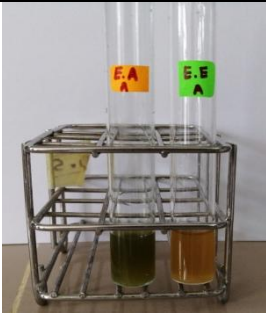

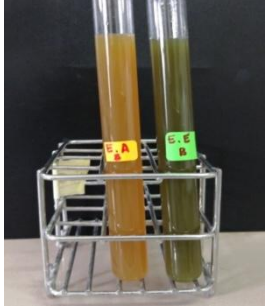

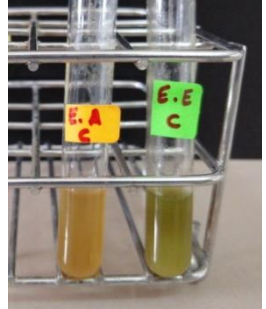

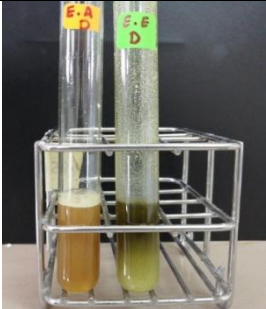



➤ **Préparation de la solution du DPPH**


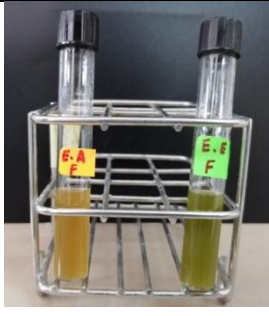
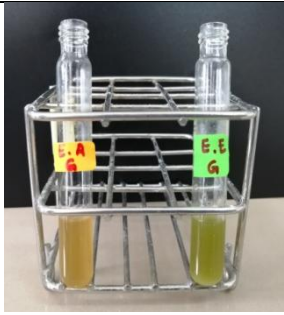


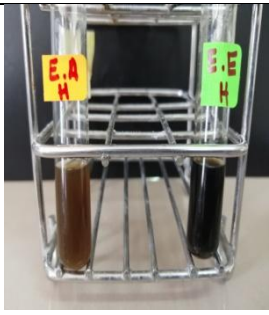
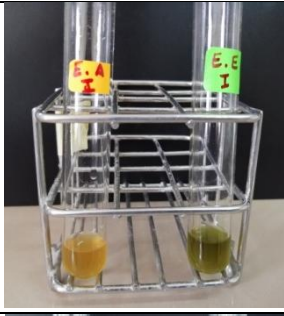



Dissoudre 2.5 g de DPPH dans un volume de 100 mL de méthanol, la solution est stockée dans le réfrigérateur et à l'obscurité.

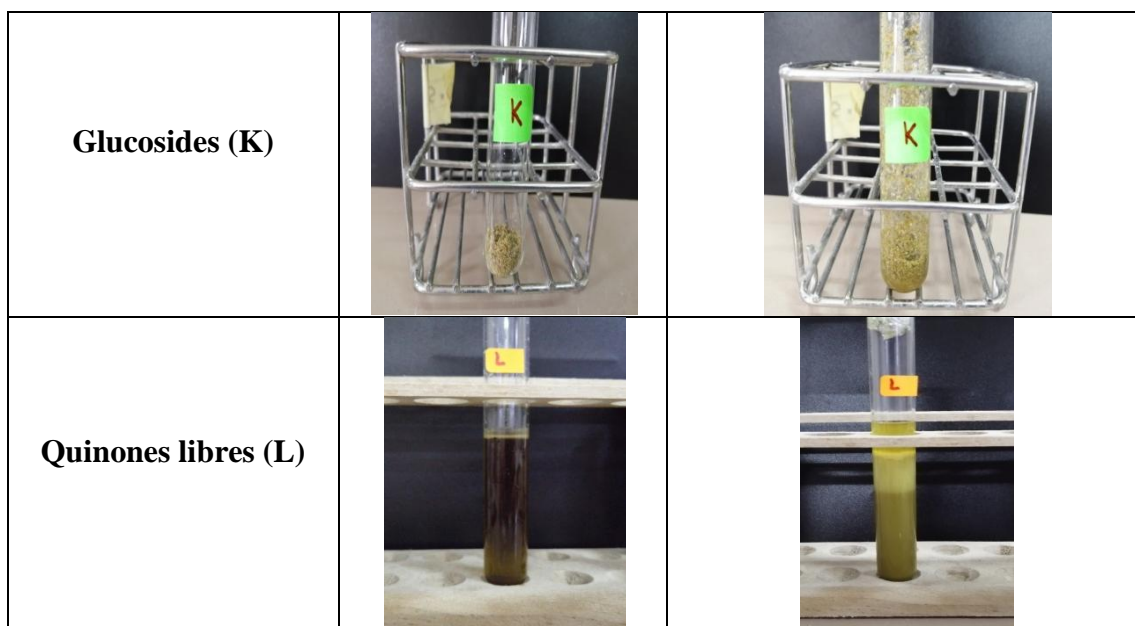
➤ **Préparation du tampon phosphate pH = 6.6**

Préparé par un mélange de (65 mL + 300  $\mu\text{L}$ ) de solution A + (34 mL + 700  $\mu\text{L}$ ) de solution B ou la solution A (0.9.73 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  dans 100mL d'eau distillée) et la solution B (0.5935 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dans 50 mL d'eau distillée)

**Annexe 10:** screening phytochimique.

<b>Screening</b>		
<b>Composés recherchés</b>	<b>Avant révélation</b>	<b>Après révélation</b>
<b>Anthocyanes (A)</b>		
<b>Tanins catéchiques (B)</b>		
<b>Tanins (C)</b>		
<b>Tanins galliques (D)</b>		
<b>Flavonoïdes (E)</b>		

<p><b>Saponines (F)</b></p>		
<p><b>Composés réducteurs (G)</b></p>		
<p><b>Phénols (H)</b></p>		
<p><b>Terpénoides (I)</b></p>		
<p><b>Alcaloïdes (J)</b></p>		



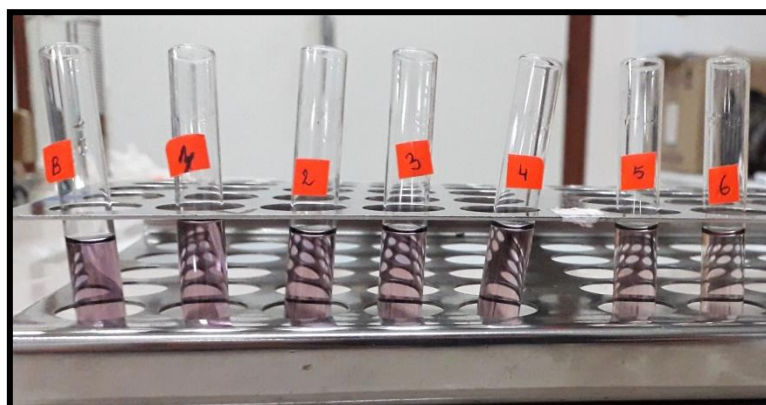
**Annexe 11:** dosage des flavonoïdes.



**Annexe 12:** courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

Concentration (mg/mL)	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1
DO	0.824	0.763	0.687	0.622	0.548
Pourcentage d'inhibition %	6.77	10.04	16.7	25	32.1

**Annexe 13:** test du pouvoir anti radicalaire DPPH du standard d'acide ascorbique.



**Annexe 14:** courbe d'étalonnage de lyophilisat d'extrait aqueux pour le DPPH.

Concentration (mg/mL)	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1
DO	0.874	0.867	0.866	0.879	0.856	1.07
Pourcentage d'inhibition %	0	0.8	0.92	1.436	2.06	2.4

**Annexe 15:** courbe d'étalonnage de lyophilisat d'extrait éthanolique pour le DPPH.

Concentration (mg/mL)	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1
DO	1.835	1.836	1.878	1.834	1.829	1.796
Pourcentage d'inhibition %	0	1.07	2.76	4.12	4.98	7.2

**Annexe 16:** courbe d'étalonnage de l'HE pour le DPPH.

Concentration (mg/mL)	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1
DO	0.664	0.651	0.649	0.639	0.634	0.792
Pourcentage d'inhibition %	0	0.93	1.96	2.67	3.77	4.52

**Annexe 17:** courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur du fer de la vitamine C.

concentration (mg/mL)	0	0.01	0.025	0.05	0.075	0.1
DO de la vit C	0	0.218	0.538	0.911	1.35	1.57

**Annexe 18:** courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur du fer de lyophilisat de l'extrait aqueux.

Concentration (mg/mL)	0	0.01	0.025	0.05	0.075	0.1
DO	0	0.008	0.0248	0.054	0.066	0.102

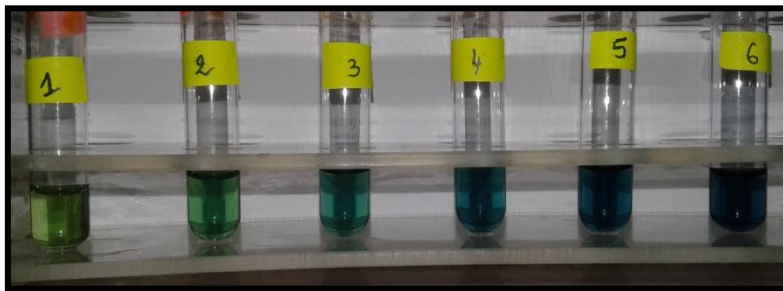
**Annexe 19:** courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur du fer de lyophilisat de l'extrait éthanolique.

Concentration	0	0.01	0.025	0.05	0.075	0.1
DO LEE	0	0.018	0.033	0.073	0.08	0.12

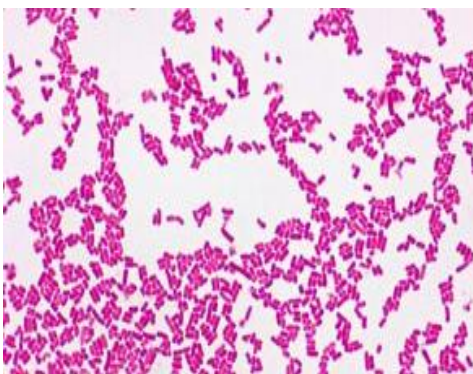
**Annexe 20:** courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur du fer de lyophilisat de l'HE.

Concentration (mg/mL)	0	0.01	0.025	0.05	0.075	0.1
DO de l'HE	0	0.239	0.472	0.89	1.221	1.59

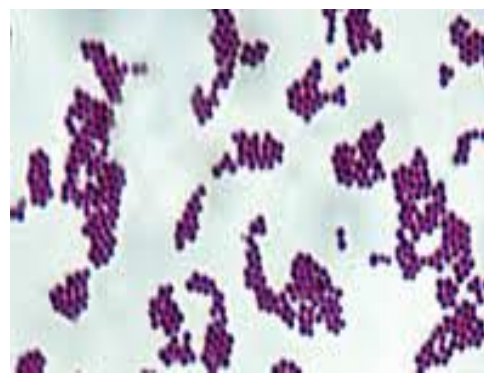
**Annexe 21:** test du pouvoir réducteur du fer.



**Annexe 22:** résultats de coloration de Gram.



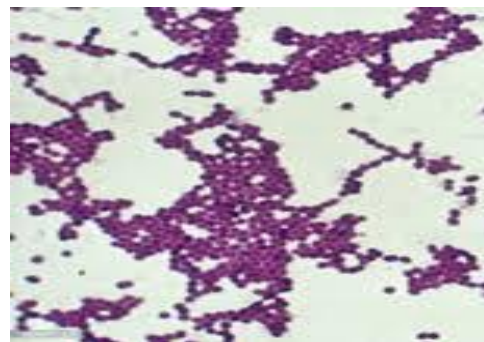
*E. coli*



*S. aureus*

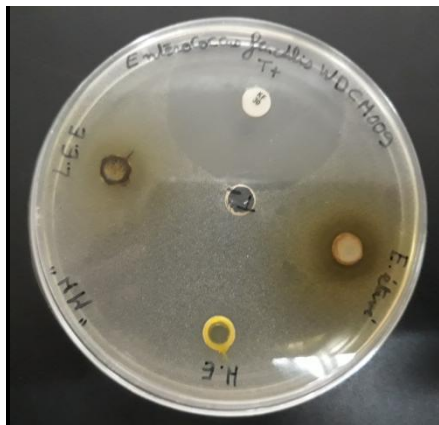


*B. cereus*

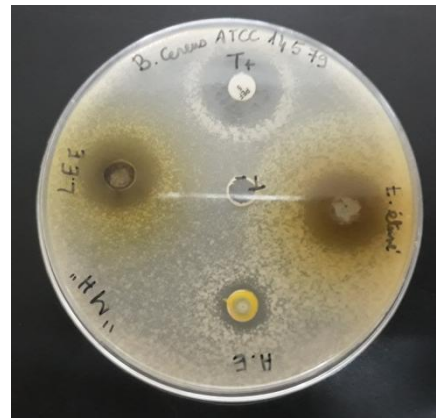


*E. faecalis*

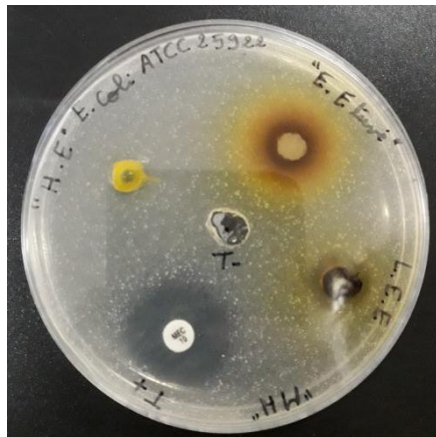
**Annexe 23:** résultats de l'aromatogramme des différents extraits et de l'HE



*E. faecalis* WDCM 009



*B. cereus* ATCC 14579



*E. coli* ATCC 25922



*S. aureus* ATCC 25923

**Annexe 24:** *Tribolium confusum* dans son substrat



**Annexe 25:** résultats du test de la normalité pour l'hydrolat et l'HE

```
> ks.test(mortali, pnorm, mean(mortali), sd(mortali))

One-sample Kolmogorov-Smirnov test

data: mortali
D = 0.5183, p-value = 1.258e-11
alternative hypothesis: two-sided
```

Résultats de la normalité pour l'hydrolat

```
> ks.test(morta, pnorm, mean(morta), sd(morta))

One-sample Kolmogorov-Smirnov test

data: morta
D = 0.4832, p-value = 3.674e-10
alternative hypothesis: two-sided
```

Résultats de la normalité pour l'HE

**Annexe 26:** analyse de la variance à deux critères de classification pour l'effet de l'hydrolat par inhalation sur *T. confusum*.

```
> kruskal.test(mortali~dose)

Kruskal-Wallis rank sum test

data: mortali by dose
Kruskal-Wallis chi-squared = 8.5253, df = 2, p-value = 0.01409

> kruskal.test(mortali~temps)

Kruskal-Wallis rank sum test

data: mortali by temps
Kruskal-Wallis chi-squared = 2.1322, df = 3, p-value = 0.5454

> kruskal.test(mortali~inter)

Kruskal-Wallis rank sum test

data: mortali by inter
Kruskal-Wallis chi-squared = 14.922, df = 11, p-value = 0.1861
```

**Annexe 27:** analyse de la variance à deux critères de classification pour l'effet de l'hydrolat par inhalation sur *T. confusum*.

```
> kruskal.test(morta~dos)

Kruskal-Wallis rank sum test

data: morta by dos
Kruskal-Wallis chi-squared = 11.5677, df = 2, p-value = 0.003077

> kruskal.test(morta~temp)

Kruskal-Wallis rank sum test

data: morta by temp
Kruskal-Wallis chi-squared = 1.5153, df = 3, p-value = 0.6787

> kruskal.test(morta~inter)

Kruskal-Wallis rank sum test

data: morta by inter
Kruskal-Wallis chi-squared = 14.4717, df = 11, p-value = 0.208
```