

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université 20 Août 1955 Skikda

Faculté des Sciences

Département des Sciences Agronomiques



Filière : Sciences Agronomiques

Mémoire de fin d'études :

En vue de l'obtention du diplôme de Master II en Amélioration des plantes

Thème :

Etude des activités bio-insecticides, antibactériennes et antioxydantes des extraits de l'*Artemisia herba alba* Asso

Présenté par :

- Mr. MAHSAR Haithem
- Mr. RAMOUL Abdelhakim
- Mr. REMITA Amir

Membres de Jury:

Mme : OUDJANE Faiza	(MCA)	Présidente	Université du 20 Août 1955 -Skikda
Mr : HAFSI Zakaria	(MCB)	Examineur	Université du 20 Août 1955 – Skikda
Mme : SOUILAH Nabila	(MCA)	Promotrice	Université du 20 Août 1955 – Skikda
Mr : AOUZEL Badis	(Doctorant)	Co-Promoteur	Université du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire : 2023-2024

Remerciements

Nous tenons à remercier, tout d'abord, Dieu qui nous a donné la force, la volonte et le courage pour réaliser ce modeste travail ainsi pour pouvoir suivre nos études avec succès.

Nous remercions notre encadrant Mme Souilah Nabila pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigoureuse scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance qu'elle nous a accordé et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail.

Nous remercions Dr. Oudjane Faiza pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire

Nous remercions également Dr. Hafsi Zakaria d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Un remerciement particulier à Mr. Aouzel Badis a son aide lorsqu'on est besoin.

A tous mes enseignants qui m'ont initié aux valeurs authentiques en signe d'un profond respect et d'un profond amour.

Nous tenons à remercier nos familles pour leurs soutiens et leurs encouragements.

Un grand merci particulier à nos collègues et nos amies pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble, on les remercie pour leur confiance, leur disponibilité et leur fidélité.

Finalement, nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés et soutenue de près ou loin pour que ce travail.





Dédicace

في كل مرة هدمتني فيها الحياة كان الله هو من يبينني من جديد، وفي كل مرة استصعبت فيها المواقف كان الله هو من يهونها عليّ، وفي كل مرة زارني فيها القلق كان الله هو من يبيت في قلبي الطمأنينة، وفي كل مرة شعرت فيها بالوحدة كان يُونسني بلطفه، وما زلت أقلق ويُطمئنني أنكسر ويجبرني، أحزن ويسعدني، أستصعب وييسر لي أطلب ولا يُؤخر عني، وفوق هذا كله أخطئ، وما زال يسترني، لقد كان الله معي دائماً وما زال. الحمد لله حياً وشكراً وامتناناً على البدء والختام وآخر دعواهم أن (الحمد لله رب العالمين)

الى نفسي الطموحة التي تابرت وكافحت واجتهدت رغم كل العثرات والصعوبات وكانت حريصة على ان تكون الأولى

فكان لها ما تمننت ووصلت الى القمة بامتياز

فأنا استحق كل التقدير والاحترام للشجاعة والتفاني الذي أظهرته طوال هذه الرحلة.

بعد مسيرة جامعية دامت خمس سنوات في سبيل الحلم والعلم حملت في طياتها امنيات القلب وسهر الليالي، الان أصبح تعبي اليوم قرة للعين، ها أنا اليوم أقف على باب تخرجي اقطف ثمار جدي واجتهادي وارفع قبعتي بكل فخر. فاللهم لك الحمد قبل أن ترضى ولك الحمد إذا رضيت ولك الحمد بعد الرضا لأنك وفقتني على اتمام هذا النجاح وتحقيق حلمي

إلى الذي زين اسمي بأجمل الألقاب، من دعمني بلا حدود واعطاني بلا مقابل إلى من علمني ان الدنيا كفاح وسلاحها العلم والمعرفة، داعمي الأول في مسيرتي وسندي وقوتي وملاذي بعد الله فخري واعتزازي ” ابي العزيز ”

إلى من جعل الله الجنة تحت اقدامها، واحتضني قلبها قبل يديها وسهلت لي الشدائد بدعائها، إلى القلب الحنون والشمعة التي كانت لي في الليالي المظلمات سر قوتي ونجاحي الى جنتي ” امي الغالية ”

إلى من شد الله به عضدي. والى ملائكة رزقتي الله بهن لأعرف من خلالهن طعم الحياة الجميلة، تلك الملائكة التي غيرن مفاهيم الحب والمسؤولية والكفاح في حياتي الى ”اخي واخواتي ”

Haithem



DÉDICACE

Grâce à Dieu voilà notre travail est terminé et il est temps pour moi de partager ma joie avec tous ceux qui m'ont soutenu et encouragé. Au plus profond de mon cœur je dédie ce modeste mémoire a tous ceux qui me sont chers

A mes parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect mon amour éternel et ma considération pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me porte depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne pour toujours que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés le fruit de votre innombrables sacrifices puissent Dieu le très haut vous accordent la santé, le bonheur et la longue vie à mes côtés.

A mon cher frère et ma sœur

Merci pour votre soutien, merci pour votre grand cœur de qualité. Ma vie ne serait pas aussi magique sans votre présence et votre amour.

À mes enseignants

Pour leurs conseils avisés, leurs patiences et leurs expertises ont grandement enrichi mon apprentissage. Leurs dévouements à l'enseignement et à la recherche a été une source d'inspiration continue.

À mes collègues de promotion

Merci pour les moments de collaboration Et de partage qui ont jalonné cette aventure académique. Leurs camaraderies et leurs soutiens ont contribué à créer un environnement d'apprentissage stimulant et solidaire.

A tous mes chères amies et amis
Qui m'ont soutenue dans ce travail.
Merci.

Abdelhakim



DÉDICACE

Je commence ma dédicace au nom de Dieu et le salut sur Mohamed le messager de Dieu.

Je dédie ce travail

À Mes chers parents

Pour tous leurs sacrifices, leurs soutiens 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.

A mes amis

Je tiens à remercier mes amis proches, qui m'ont apporté un soutien précieux tout au long de cette aventure académique. Votre amitié a été une source de joie et de réconfort, et vos encouragements m'ont aidé à rester sur la bonne voie. Les moments de détente, de rire et de partage ont été des bouffées d'air frais essentielles à ce voyage souvent intense. Votre soutien moral et pratique a été pour moi une pierre angulaire.

À mes professeurs et encadrants

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude à tous mes professeurs et, plus particulièrement, à ma directrice de mémoire. Merci pour votre guidance, vos conseils avisés et votre disponibilité. Votre expertise et votre patience ont été d'une aide inestimable dans la réalisation de ce mémoire. Vous avez su me guider avec rigueur et bienveillance, me poussant à donner le meilleur de moi-même. Votre soutien intellectuel et moral a été crucial pour la réussite de ce projet.

À mes collègues de promotion,

Merci pour votre camaraderie et votre solidarité. Ensemble, nous avons partagé les hauts et les bas de cette expérience académique. Votre soutien et vos conseils ont été précieux, et notre esprit d'équipe a rendu ce voyage plus agréable et plus enrichissant. Les discussions, les sessions d'étude communes, et les moments de partage ont été des éléments clés de cette réussite collective.

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à cette réalisation,

Je n'oublie pas toutes les personnes qui, à un moment ou à un autre, ont apporté leur pierre à l'édifice de ce mémoire. Que ce soit par un mot d'encouragement, une suggestion constructive, ou un simple sourire, chacun de vous a joué un rôle dans cette aventure. À toutes ces personnes, je dis merci.

Amir

Titre : Etude des activités bio-insecticides, antibactériennes et antioxydantes des extraits de l'*Artemisia herba alba* Asso

Résumé : L'*Artemisia herba alba* est une plante médicinale appartenant à la famille des *Astéracées*, cette espèce connue sous le nom de « Chih », est très répandue et connue dans le Sud Algérien pour ses nombreuses vertus thérapeutiques. L'objectif principal de cette étude est d'explorer les propriétés phytochimiques de la plante par : l'extraction de l'huile essentielle (HE) par hydro-distillateur et l'extraction d'un extrait hydroalcoolique contenant du Ethanol/Eau distillée (70%:30%, V/V), un screening phytochimique (Phénols totaux, flavonoïdes et tanins), une étude d'activité antioxydante (DPPH et Capacité Antioxydante Totale -CAT-), un bio-essai insecticide sur le ravageur des denrées stockées l'*Ephesia kuehniella* et une étude d'activité antibactérienne contre 3 souches bactériennes de GRAM - (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Salmonella enterica*). Les résultats obtenus montrent que le rendement en huile essentielle est de 0.27% avec des caractères organoleptiques similaires de l'AFNOR (1999) (aspect liquide mobile, couleur jaune clair, odeur rafraichissante et pénétrante et un goût naturel doux), le rendement en extrait éthanolique est de 13.75% avec des valeurs de 35.028±2.497 mg EAG/g des phénols totaux, 6.024±0.070 mg EQ/g des flavonoïdes et 0.307±0.155 mg EAT/g des tanins. Les tests de CAT et de DPPH de l'HE et de l'extrait éthanolique montrent une bonne activité antioxydante avec des valeurs de CAT de 40.603±0.113 et 25.921±0.603 mg/ml pour l'HE et l'extrait éthanolique respectivement, et des valeurs de DPPH de 0.133±0.001 et 0.170±0.001 mg/ml pour l'HE et l'extrait éthanolique respectivement. L'évaluation de l'activité bio-insecticide sur l'*Ephesia kuehniella* avec différentes concentrations d'extrait éthanolique (0.002, 0.01, 0.02, et 0.04 g/mL) et d'HE (0.3, 0.6, 1, 1.5 et 2.5 µL) appliquées par fumigation sur 10 adultes répliqués trois fois pendant 8 heures montre les doses létales suivantes : chez l'extrait éthanolique avec DL₁₀= 0.36µL, DL₂₅= 0.575µL, DL₅₀= 0.95µL et DL₉₀= 2.63µL et les doses létales d'HE avec DL₂₅= 0.00299 g/mL, DL₅₀= 0.0083 g/mL et DL₉₀= 0.0675 g/mL. L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique d'*Artemisia herba alba* a montré une activité très importante sur l'*Escherichia coli* (Très sensible ++ ; 17.5 mm), importante sur la *Salmonella enterica* (Sensible + ; 13 mm) et aucune activité sur la *Klebsiella pneumoniae* (Résistante - ; 7.5 mm). Par contre l'HE de la plante montre une activité très importante sur la *Klebsiella pneumoniae* (Très sensible ++ ; 15 mm), une activité importante sur la *Salmonella enterica* (Sensible + ; 13.5 mm), et aucune activité sur l'*Escherichia coli* (Résistante - ; 6.5 mm). Finalement, ces résultats suggèrent que l'extrait éthanolique et l'HE de l'*Artemisia herba alba* pourrait être utilisé comme une alternative naturelle et efficace aux produits chimiques couramment utilisés en agriculture pour le contrôle des ravageurs des denrées stockées, ainsi que des antioxydants synthétiques et des antibactériens spécifiques pour des applications médicales. Cette étude ouvre la voie à de futures recherches pour optimiser l'utilisation de cette plante dans divers domaines.

Mots clé : *Artemisia herba alba*, activité antibactérienne, bio-insecticide, antioxydante, extrait éthanolique, huile essentielle, *Ephesia kuehniella*.

Title: Study of the bio-insecticide, antibacterial and antioxidant activities of extracts of *Artemisia herba alba* Asso

Abstract: *Artemisia herba alba* is a medicinal plant belonging to the Asteraceae family, this species known under the name “Chih”, is very widespread and known in southern Algeria for its numerous therapeutic virtues. The main objective of this study is to explore the phytochemical properties of the plant by: extracting the essential oil (EO) by hydro-distiller and extracting a hydroalcoholic extract containing Ethanol/distilled water (70%:30%, V/V), a phytochemical screening (total phenols, flavonoids and tannins), an antioxidant activity study (DPPH and Total Antioxidant Capacity -TAC-), an insecticide bioassay on the food pest stored *Ephestia kuehniella*, and a study of antibacterial activity against 3 bacterial strains of GRAM - (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*). The results obtained show that the yield of essential oil is 0.27% with similar organoleptic characteristics from AFNOR (1999) (mobile liquid appearance, light yellow color, a refreshing and penetrating odor, natural sweet taste), the yield of ethanolic extract is 13.75% with values of 35.028 ± 2.497 mg EAG/g of total phenols, 6.024 ± 0.070 mg EQ/g of flavonoids and 0.307 ± 0.155 mg EAT/g of tannins. The TAC and DPPH tests of the EO and the ethanolic extract show good antioxidant activity with TAC values of 40.603 ± 0.113 and 25.921 ± 0.603 mg/ml for the EO and the ethanolic extract respectively, and DPPH values of 0.133 ± 0.001 and 0.170 ± 0.001 mg/ml for the EO and the ethanolic extract respectively. Evaluation of bioinsecticide activity on *Ephestia kuehniella* with different concentrations of ethanolic extract (0.002, 0.01, 0.02, and 0.04 g/mL) and EO (0.3, 0.6, 1, 1.5 and 2.5 μ L) applied by fumigation to 10 adults replicated three times for 8 hours shows the following lethal doses: in the ethanolic extract with $DL_{10} = 0.36 \mu$ L, $DL_{25} = 0.575 \mu$ L, $DL_{50} = 0.95 \mu$ L and $DL_{90} = 2.63 \mu$ L and the lethal doses of HE with $LD_{25} = 0.00299$ g/mL, $LD_{50} = 0.0083$ g/mL and $LD_{90} = 0.0675$ g/mL. The antibacterial activity of the ethanolic extract of *Artemisia herba alba* showed very significant activity on *Escherichia coli* (Very sensitive ++; 17.5 mm), significant activity on *Salmonella enterica* (Sensitive +; 13 mm) and no activity on *Klebsiella pneumoniae* (Resistant -; 7.5 mm). On the other hand, the EO of the plant shows very significant activity on *Klebsiella pneumoniae* (Very sensitive ++; 15 mm), significant activity on *Salmonella enterica* (Sensitive +; 13.5 mm), and no activity on *Escherichia coli* (Resistant - ; 6.5 mm). Finally, these results suggest that the ethanolic extract and EO of *Artemisia herba alba* could be used as a natural and effective alternative to chemicals commonly used in agriculture for the control of stored commodity pests, as well as synthetic antioxidants. and specific antibacterials for medical applications. This study paves the way for future research to optimize the use of this plant in various fields.

Key words: *Artemisia herba alba*, antibacterial activity, bio-insecticide, antioxidant, ethanolic extract, essential oil, *Ephestia kuehniella*.

العنوان: دراسة النشاط الحيوي للمبيدات الحشرية والمضادة للبكتيريا ومضادات الأكسدة لمستخلصات نبات *Artemisia herba alba* Asso

الملخص: نبات الشبوح هو نبات طبي ينتمي إلى الفصيلة النجمية، وهذا النوع المعروف باسم "شبوح" منتشر على نطاق واسع ومعروف في جنوب الجزائر بفضائله العلاجية العديدة. الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو استكشاف الخواص الكيميائية النباتية للنبات عن طريق استخلاص الزيت العطري عن طريق التقطير المائي والحصول على مستخلص كحولي مائي يحتوي على إيثانول/ماء مقطر (30%:70%)، (V/V)، فحص كيميائي نباتي (إجمالي الفينولات والفلافونويدات والعفص)، ودراسة نشاط مضادات الأكسدة DPPH وإجمالي قدرة مضادات الأكسدة (CAT)، واختبار حيوي للمبيدات الحشرية على الآفات الغذائية المخزنة *Ephestia kuehniella* ودراسة النشاط المضاد للبكتيريا ضد 3 سلالات بكتيرية من - GRAM (الكليسيلا الرئوية والإشريشيا القولونية والسالمونيلا المعوية). أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن محصول الزيت العطري هو 0.27% مع خصائص حسية مماثلة ل (AFNOR (1999) (مظهر سائل متحرك، لون أصفر فاتح يميل إلى الشفافية، رائحة طازجة وطعم حلو طبيعي مع لمسة مرورية)، محصول المستخلص الإيثانولي هو 13.75% مع القيم 35.028 ± 2.497 ملغم مكافئ من حمض الغاليك / غ من إجمالي الفينولات، 6.024 ± 0.070 ملغم مكافئ من الكارستين/ غ من الفلافونويد و 0.307 ± 0.155 ملغم مكافئ من حمض الثانيك / غ من العفص. تُظهر اختبارات CAT و DPPH للزيت العطري والمستخلص الإيثانولي نشاطاً جيداً مضاداً للأكسدة مع قيم CAT تبلغ 40.603 ± 0.113 و 25.921 ± 0.603 ملغم / مل لـ EO والمستخلص الإيثانولي على التوالي، وقيم DPPH تبلغ 0.133 ± 0.001 و 0.170 ± 0.001 مل لـ زيت العطري والمستخلص الإيثانولي على التوالي. تقييم نشاط المبيدات الحيوية على *Ephestia kuehniella* بتركيزات مختلفة من المستخلص الإيثانولي (0.002، 0.01، 0.02، 0.04 جم / مل) و الزيت العطري (0.3، 0.6، 1، 1.5 و 2.5 ميكرو لتر) المطبق عن طريق التبخير على 10 حشرات بالغين بتكرار ثلاث مرات لمدة 8 ساعات، حيث تظهر الجرعات القاتلة التالية (الميكرو لتر): في المستخلص الإيثانولي مع $DL_{10} = 0.36$ ، $DL_{25} = 0.575$ ، $DL_{50} = 0.95$ و $DL_{90} = 2.63$ والجرعات المميتة من الزيت العطري (جم/مل) مع $LD_{25} = 0.00299$ ، $LD_{50} = 0.0083$ و $LD_{90} = 0.0675$. أظهر النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص الإيثانولي لنبات *Artemisia herba alba* نشاطاً كبيراً جداً على *Echerichia coli* (حساسية جداً ++؛ 17.5 مم)، ونشاطاً كبيراً على *Salmonella enterica* (حساسية +؛ 13 مم) ولا يوجد نشاط على *Klebsiella pneumoniae* (مقاوم -؛ 7.5 ملم). من ناحية أخرى، يظهر الزيت العطري للنبات نشاطاً كبيراً جداً على *Klebsiella pneumoniae* (حساس جداً ++؛ 15 ملم)، ونشاطاً كبيراً على *Salmonella enterica* (حساس +؛ 13.5 ملم)، ولا يوجد نشاط على *Echerichia coli* (مقاومة -؛ 6.5 ملم). أخيراً، تشير هذه النتائج إلى أنه يمكن استخدام المستخلص الإيثانولي والزيت العطري من *Artemisia herba alba* كبديل طبيعي وفعال للمواد الكيميائية المستخدمة عادة في الزراعة لمكافحة آفات السلع المخزنة، بالإضافة إلى مضادات الأكسدة الاصطناعية ومضادات البكتيريا المحددة للتطبيقات الطبية. وتمهد هذه الدراسة الطريق لأبحاث مستقبلية لتحسين استخدام هذا النبات في مختلف المجالات.

الكلمات المفتاحية: *Artemisia herba alba*، مبيد حشري حيوي، نشاط مضاد للبكتيريا، مضاد للأكسدة، مستخلص إيثانولي، زيت عطري، *Ephestia kuehniella*.

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
Tableau 1.	Caractères organoleptiques des huiles essentielles de l' <i>Artemisia herba alba</i>	22
Tableau 2.	Contenu de l'extrait éthanolique de la plante en phénols totaux, flavonoïde et tanin.....	24
Tableau 3.	Résultats de DPPH et du CAT de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle (HE) d' <i>Artemisia herba alba</i>	25
Tableau 4.	Effets de l'HE de l'Armoise, appliquée par fumigation à différentes doses (μ l) le jour de l'émergence adulte d' <i>E. kuehniella</i> : mortalité observée (%) des adultes ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions de 10 individus chacune).....	28
Tableau 5.	Effets de l'HE de l'Armoise appliquée par fumigation aux adultes nouvellement émergées d' <i>Ephestia kuehniella</i> à différentes doses (μ L) : Détermination des doses d'inhibition de la mue adulte (DI en μ L) et leurs intervalles de confiance à 95%.....	29
Tableau 6.	Effets de l'extrait éthanolique du l' <i>Artemisia herba alba</i> appliquée par fumigation à différentes doses (g/mL) le jour de l'émergence adulte d' <i>E. kuehniella</i> : mortalité observée (%) des adultes. ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions de 10 individus chacune).....	30
Tableau 7.	Effets de l'extrait éthanolique de l' <i>Armoise herba alba</i> appliqué par fumigation aux adultes nouvellement émergées d' <i>Ephestia kuehniella</i> à différentes doses (g/mL): Détermination des doses d'inhibition de la mue adulte (DI en g/mL) et leurs intervalles de confiance à 95%.....	30
Tableau 8.	Effet de l'extrait éthanolique et de l'huile essentiel d' <i>Artemisia herba alba</i> sur les trois souches bactériennes des Gram négatives testées.....	31

Liste de figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	: Farine infestée par <i>Ephestia kuehniella</i>	03
Figure 2	: L' <i>Ephestia kuhniella</i>	03
Figure 3	: Cycle de développement d' <i>E. kuehniella</i> à 27°C.....	04
Figure 4	: Morphologie de l' <i>Artemisia herba alba</i>	05
Figure 5	: Préparation des plantes séché d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso.....	06
Figure 6	: Bactéries <i>Escherichia coli</i> en microscopie électronique à balayage...	07
Figure 7	: Bactéries <i>Salmonella enterica</i> en microscopie à balayage	07
Figure 8	: <i>Klebsiella pneumoniae</i> en microscopie à balayage.....	08
Figure 9	: Dispositif d'hydro distillateur de type Clevenger (à gauche) et préparation du matériel végétal dans le ballon en verre pour l'extraction de l'huile essentielle (à droite)	09
Figure 10	: Séchage de l'extrait de la plante par le Rota-vaporateur.....	10
Figure 11	: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour dosage des phénols totaux	43
Figure 12	: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour dosage des flavonoïdes	43
Figure 13	: Courbe d'étalonnage de l'acide tannique pour dosage de tanin	43
Figure 14	: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le CAT	44
Figure 15	: Elevage des larves d' <i>Ephestia kuehniella</i>	13
Figure 16	: Étuve Memmert.....	14
Figure 17	: Application des doses des HE sur les insectes.....	14
Figure 18	: Etapes de préparation de la solution Mueller-Hinton.....	17
Figure 29	: Méthode l'application de l'activité antibactérienne.....	18
Figure 20	: Huile essentielle de l' <i>Artemisia herba alba</i> Asso.....	22
Figure 21	: Extrait brut de l' <i>Artemisia herba alba</i>	22
Figure 22	: Elevage d' <i>Ephestia kuehniella</i>	26
Figure 23	: Application des doses des extrait brute sur les insectes.....	27
Figure 24	: Effet de l'HE de l' <i>Artemisia herba alba</i> (µL) appliqué, par fumigation aux adultes nouvellement émergées d' <i>Ephestia kuehniella</i> sur la mortalité des adultes (%) ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 adultes ; les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différent par le test HSD à $p < 0.0001$)	28

Figure 25	: Effet de l'extrait éthanolique de l' <i>Artemisia herba alba</i> appliqué par fumigation aux adultes nouvellement émergées d' <i>Ephestia kuehniella</i> sur la mortalité des adultes (%) ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 adultes ; les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différent par le test HSD à $p < 0.0001$)	30
Figure 26	: Développement de l' <i>Escherichia coli</i> sur l'extrait éthanolique	31
Figure 27	: Développement de la <i>Klebsiella pneumoniae</i> sur l'extrait éthanolique.	31
Figure 28	: Développement de la <i>Salmonella enterica</i> sur l'extrait éthanolique ...	31
Figure 29	: Développement de l' <i>Escherichia coli</i> sur l'HE	31
Figure 30	: Développement de la <i>Klebsiella pneumoniae</i> sur l'HE	31
Figure 31	: Développement de la <i>Salmonella enterica</i> sur l'HE	31

Liste des abréviations

AG	: Acide gallique
CA-SFM	: Campylobacter agar Selective for Fastidious Microorganisms (Milieu de culture Campylobacter sélectif pour les micro-organismes exigeants)
DPPH	: 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (1,1-Diphényl-2picrylhydrazyle)
DO	: Densité optique
EAA	: Equivalent d'acide ascorbique
EAG	: Equivalent d'acide gallique
EAT	: Equivalent d'acide tannique
EQ	: Equivalent de quercétine ⁶
FC-R	: Folin-Ciocalteu Reagent (Réactif de Folin-Ciocalteu)
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture)
GN	: Gélose nutritive
HE	: Huile essentielle
HSD	: Honest Significant Difference (Différence significative honnête)
IC₅₀	: Inhibitrice Concentration 50
MH	: Gélose Mueller Hinton
MHE	: Masse de l'huile essentielle
MS	: Masse de la matière végétale
Mo5+	: Molybdenum (V) (Molybdène (V))
Mo6+	: Molybdenum (VI) (Molybdène (VI))
µl	: Microlitre
mL	: Millilitre
mm	: Millimètre
Pp	: Poids de la poudre
PP	: Polyphénols
PPT	: Polyphénols totaux
Ps	: Poids de l'extrait sec en gramme
R	: Rendement de l'extraction
RHE	: Rendement en huile essentielle
R2	: Coefficient de corrélation
Tf	: Teneur en flavonoïdes
Tpt	: Teneur en polyphénols totaux
UV	: Ultraviolet
CMB	: Concentration Minimale Bactéricide
CMI	: Concentration Minimale Inhibitrice
V/V	: Rapport volume par volume

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Résumés en trois langues	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	

Sommaire

I. Introduction	01
II. Matériels et Méthodes	03
II.1. Matériels biologiques	03
II.1.1. Présentation de la farine	03
II.1.2. Présentation d' <i>Ephestia kuehniella</i>	03
II.1.2.1. Biologie et classification	04
II.1.2.2. Cycle biologique	04
II.1.3. Présentation de l' <i>Artemisia herba-alba</i> Asso	05
II.1.3.1. Biologie et classification	05
II.1.3.2. Lieu de récolte	06
II.1.4. Présentation des Bactéries Utilisées	07
II.1.4.1. <i>Escherichia coli</i>	07
II.1.4.2. <i>Salmonella enterica</i>	07
II.1.4.3. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	08
II.2. Méthodes d'étude	09
II.2.1. Extraction de l'huile essentielle (HE)	09
II.2.2. Calcul du rendement de l'huile essentielle	10
II.2.3. Détermination des caractères organoleptiques de l'huile essentielle.....	10
II.2.4. Extraction des composés phénoliques de l'extrait éthanolique.....	10
II.2.5. Calcul du rendement des composés phénoliques de l'extrait éthanolique.....	11
II.2.6. Contenu en composés phénoliques de l'extrait éthanolique et l'huile essentielle.	11
II.2.6.1. Phénols totaux	11
II.2.6.2. Flavonoïdes	11
II.2.7. Contenu en tanins de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle	12
II.2.8. Activités antioxydantes de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle	12

II.2.8.1. Test de piégeage des radicaux libres DPPH	12
II.2.8.2. Test d'activité antioxydante totale	13
II.2.9. Elevage d' <i>Ephestia kuehniella</i> en laboratoire	13
II.2.10. Bio-essai de l'activité insecticide par fumigation	14
II.2.10.1. Activité insecticide de l'huile essentielle	14
II.2.10.2. Activité insecticide de l'extrait brut	15
II.2.11. Activité antibactérienne	15
II.2.11.1. Activité antibactérienne de l'huile essentielle	16
II. 2.11.2. Activité antibactérienne de l'extrait brut	20
II.3. Analyse statistique.....	20
III. Résultats et discussion	21
III.1. Huile essentielle	21
III.1.1. Calcul du rendement	21
III.1.2. Détermination des caractères organoleptiques.....	21
III.2. Composés phénoliques de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle.....	22
III.2.1. Calcul du rendement de l'extrait éthanolique.....	22
III.2.2. Dosage des phénols totaux	23
III.2.3. Flavonoïdes	24
III.2.4. Dosage des tanins de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle	24
III.3. Activités antioxydantes de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle.....	25
III.3.1. Test de piégeage des radicaux libres DPPH	25
III.3.2. Test d'activité antioxydante totale	25
III.4. Elevage d' <i>Ephestia kuehniella</i> en laboratoire.....	26
III.5. Activité bio-insecticide.....	27
III.5.1. Toxicité de l'huile essentielle par fumigation sur les adultes d' <i>Ephestia kuehniella</i>	27
III.5.2. Toxicité de l'extrait éthanolique par fumigation sur les adultes d' <i>Ephestia kuehniella</i>	29
III.6. Activité antibactérienne	31
IV. Conclusion	32
V. Références bibliographiques	36
VI. Annexes	43

I. INTRODUCTION

I. Introduction

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales ont été utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques, grâce à la présence de métabolites secondaires. Ces composés bioactifs sont responsables de diverses activités pharmacologiques, faisant des plantes médicinales la forme la plus ancienne et répandue de médication (**Halberstein, 2005**).

Les espèces du genre *Artemisia*, appartenant à la famille des Astéracées, sont largement utilisées en médecine traditionnelle. *Artemisia herba alba*, par exemple, est réputée pour ses propriétés bénéfiques dans le traitement des troubles digestifs, des ulcères, des brûlures et de la diarrhée (**De Pascual et al., 1984 ; Rauter et al., 1989 ; Joao et al., 1998 ; Akrouit et al., 2001 ; Memmi et al., 2007 ; Sefi et al., 2010 ; Akrouit et al., 2011**).

Des études ont démontré que les plantes médicinales algériennes, y compris *Artemisia herba alba*, possèdent une activité antioxydant élevée et une teneur en composés phénoliques plus importante que les plantes alimentaires courantes. Ces plantes sont également efficaces dans la neutralisation des radicaux libres, ce qui en fait une source prometteuse d'antioxydants naturels à des fins médicinales et commerciales (**Mansour, 2015**).

Artemisia herba alba est largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne pour traiter diverses affections telles que les troubles inflammatoires, les maladies infectieuses et le diabète. De nombreuses études ont confirmé son efficacité en tant qu'agent antidiabétique, antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, anti-malarien, antipyrétique, antispasmodique et antihémorragique (**Boudjelal, 2013 ; Abu-Darwish et al., 2015**).

L'utilisation des antibiotiques conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes. Cette résistance est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons, intégrons). Ces résistances ont conduit à chercher de nouveaux agents antimicrobiens possédant une efficacité plus importante que les drogues synthétiques d'une part et bien acceptés par l'organisme d'autre part (sans exercer des effets délétères sur la santé humaine) (**García-Ruiz et al., 2008 ; Kempf et Zeitouni, 2009**).

Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales, ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus (**Jürgen et al., 2009**). D'autres groupes de chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industrie pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle (**Huang et al., 2008**). L'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*A. herba alba*, cultivée dans le Sud de la Tunisie est évaluée sur des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Les résultats ont montré que toutes les huiles examinées ont une importante activité antimicrobienne vis-à-vis des souches testées (**Mighri et al., 2010**).

Les huiles essentielles de l'armoise blanche sont testées sur six souches bactériennes (**Zouari et al., 2010**). Les résultats montrent que cette huile a une activité variable contre toutes

les souches testées avec des zones d'inhibitions variables de 8-23 mm. La plus sensible des espèces bactériennes est *Bacillus cereus* (Zouari *et al.*, 2010). Ainsi que *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus* sp. Cependant, l'huile n'est pas totalement active sur *Pseudomonas saeruginosa* seules les souches de *Staphylococcus aureus* se révèlent les plus résistantes (Goudjil, 2016).

Les dégâts causés aux denrées stockées par les insectes sont significatifs. Selon la FAO (2011), entre 20 et 40% des récoltes mondiales de céréales et de légumineuses sont endommagées par les insectes nuisibles pendant leur entreposage. En Algérie, le taux d'attaque des céréales stockées par les insectes nuisibles s'est élevé en moyenne à 15.02% au cours de l'année 2003/2004 (Mebarkia & Guchi, 2004).

Les dommages infligés par les insectes aux denrées stockées varient considérablement. Ces insectes se développent et se nourrissent des aliments stockés, entraînant des pertes tant quantitatives que qualitatives (Ndiaye, 1999). En plus de consommer une quantité importante de nourriture, ils contaminent les denrées avec leurs excréments, des odeurs, des toiles d'araignées, des cadavres et des exuvies, ce qui peut parfois provoquer des réactions chez les consommateurs. Leur présence peut également favoriser une humidité propice au développement de microorganismes. Pour éviter ces pertes, les agriculteurs ont souvent recours à des méthodes de lutte chimique, mais plusieurs études ont lié l'utilisation de pesticides à des problèmes de santé humaine et environnementaux (Isman, 2005 ; Carlos, 2006). Ainsi, de nombreux chercheurs se tournent vers des méthodes naturelles et l'utilisation d'insecticides d'origine végétale, moins nocifs pour la santé humaine. Ces méthodes naturelles de contrôle représentent des perspectives prometteuses pour la lutte contre les insectes nuisibles (Camara, 2009).

Des recherches ont également mis en évidence l'effet insecticide de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* sur les ravageurs des denrées stockées, tels que *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera). Les résultats ont montré que cette huile présente un effet insecticide sur ces ravageurs, à des doses spécifiques, par application topique ou par saturation du milieu avec les substances volatiles émises par l'huile (Delimi *et al.*, 2013).

Notre étude de recherche est basée sur la valorisation d'une plante médicinale prometteuse « *Artemisia herba alba* » qui possède des propriétés biologiques importantes qui peuvent être exploitées pour développer des alternatives naturelles efficaces. L'objectif de notre recherche est basé pour évaluer ces activités biologiques : bio-insecticides, antibactériennes et antioxydantes d'*Artemisia herba alba*. Aussi d'évaluer son potentiel d'utilisation comme source naturelle à pouvoir thérapeutiques et bio-insecticides dans les domaines médicaux et de conservation des denrées stockées alimentaire contre un ravageur crucial « *Ephestia kuehniella* » qui cause des dégâts.

II. MATÉRIELS ET MÉTHODES

II. MATRERIELS ET METHODES

II.1. Matériels biologiques

II.1.1. Présentation de la farine

La farine est le produit obtenu à partir des grains de blé tendre de *Triticum aestivum* L., Ce sous-secteur constitue l'une des bases de l'industrie agro-alimentaire en Algérie. La collecte de la farine infestée par l'*Ephestia kuehniella* (Zeller 1879) s'est déroulée au sein des installations du Moulin AGRODIV d'El Harrouch, le processus de collecte de la farine a été minutieusement orchestré, avec une attention particulière portée aux coins et recoins de l'entrepôt, Au terme de cette opération on a collecté un total de 10 kilogrammes de farine altérée (**Figure 1**).



Figure 1. Farine infestée par *Ephestia kuehniella*

II.1.2. Présentation d'*Ephestia kuehniella*

II.1.2.1. Biologie et classification

L'*Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) est une espèce de papillon de nuit de la famille des Pyralidae (**Figure 2**). Plus communément connue sous le nom de la « Teigne de la farine », cette espèce est souvent considérée comme un ravageur des denrées alimentaires stockées, en particulier des produits à base de céréales comme la farine, les céréales, les graines et les fruits secs (**Delimi et al., 2013**). Elle est aussi une source allergique qui provoque l'asthme et les rhinites (**Bendjedid, 2022**).



Figure 2. L'*Ephestia kuhniella*

Selon le **Centre National d'Information sur la Biotechnologie (NCBI) (2018)**, l'*Ephestia kuhniella* (Zeller, 1879) est appartient à la classification suivante :

- **Règne** : Animalia
- **Sous-règne** : Metazoa
- **Embranchement** : Arthropoda
- **Sous Embranchement** : Hexapoda
- **Classe** : Insecta
- **Sous Classe** : Pterygota
- **Ordre** : Lepidoptera
- **Famille** : Pyralidae
- **Genre** : *Ephestia*
- **Espèce** : *Ephestia kuhniella* (Zeller, 1879)

II.1.2.2. Cycle biologique

La durée totale du cycle biologique de l'*Ephestia kuehniella* varie de 200 à 250 jours et le passage d'un cycle à l'autre constitue métamorphose. Le cycle de vie des lépidoptères est appelé holométabole, il passe par stade œufs, larve, chrysalide et adultes (**Figure 3**) (**Zekri, 2016**).

- Les œufs sont petits, généralement blancs ou jaunâtres, et sont pondus en groupes sur les denrées alimentaires stockées (**Gullan,2014**).
- Les larves sont de couleur blanc-crème avec une tête plus foncée. Elles peuvent atteindre jusqu'à 15 millimètres de longueur à maturité. Elles ont une forme de ver et sont dotées de mandibules puissantes pour mâcher les aliments (**Gullan,2014**).

II. MATRERIELS ET METHODES

- La nymphe est le stade de développement entre la larve et l'adulte. Elle se forme dans un cocon soyeux tissé par la larve, généralement à l'intérieur des produits alimentaires ou dans les fissures et les crevasses des zones de stockage (**Hodges,1983**).
- Les adultes ont une envergure d'environ 15 à 25 millimètres. Leurs ailes antérieures sont généralement de couleur gris-brun, parfois avec des marques plus foncées ou plus claires. Les ailes postérieures sont plus claires et souvent plus pâles. Le corps est mince et couvert d'écailles (**Hodges,1983**).

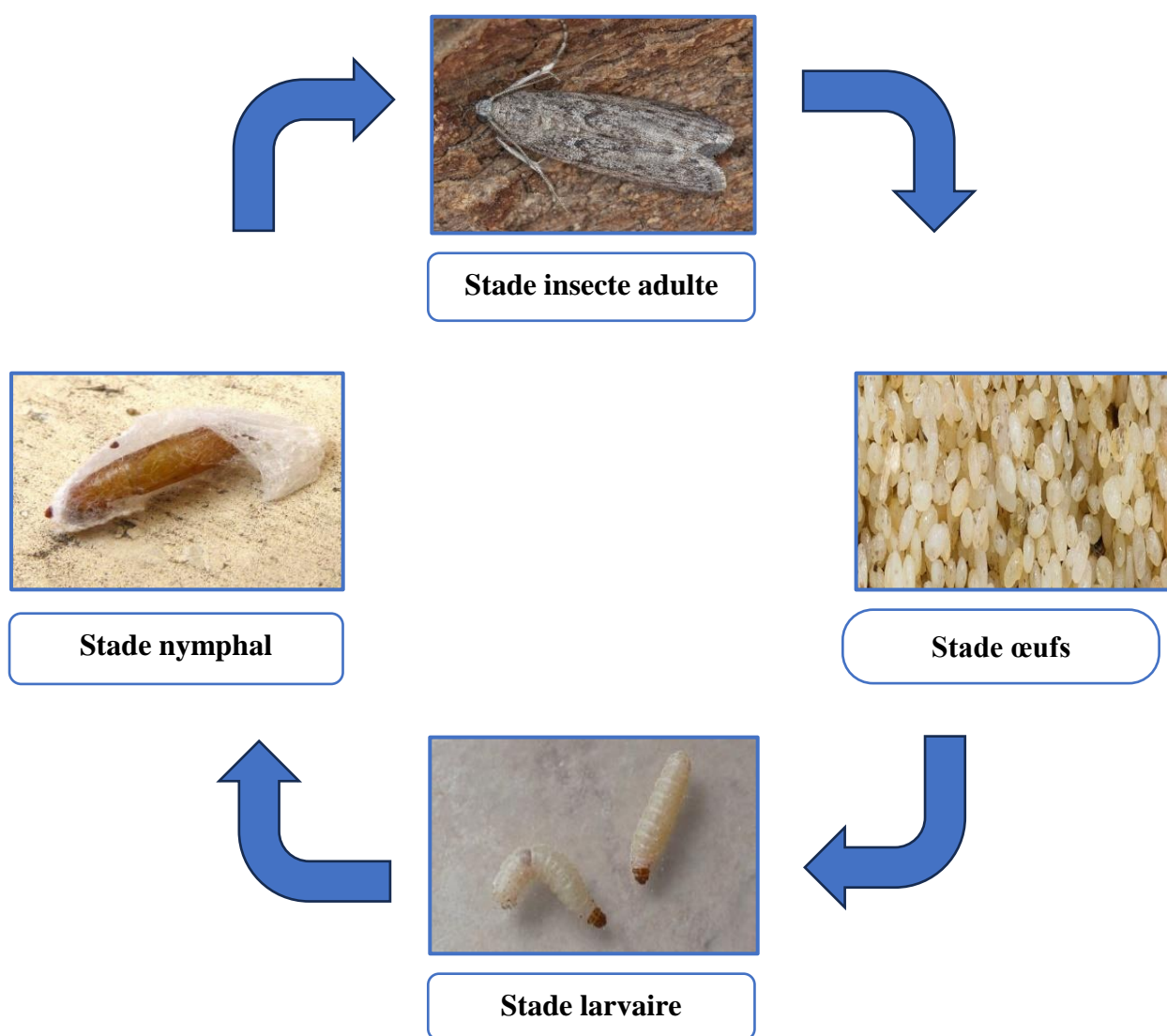


Figure 3. Cycle de développement d'*E. kuehniella* à 27°C.

II.1.3. Présentation de l'*Artemisia herba-alba* Asso

L'*Artemisia herba-alba* Asso, également connue sous le nom d'armoise blanche, est une plante herbacée aromatique appartenant à la famille des Astéracées. L'*Artemisia herba alba*, est un arbuste largement réparti dans les zones semi-arides à arides autour du bassin méditerranéen, les steppes de la région irano-touranienne, de la péninsule-ibérique, l'Afrique du Nord (Algérie, Maroc et Tunisie) et le Moyen-Orient. En Algérie, elle est abondante dans les larges steppes des hauts plateaux et le désert du Sahara (Bertella, 2019).

II.1.3.1. Biologie et classification

L'*Artemisia herba-alba* est une plante vivace qui pousse sous forme de buisson, atteignant généralement une hauteur de 30 à 60 cm (Figure 4). Elle possède des feuilles finement divisées, de couleur argentée ou grisâtre, avec un aspect velouté, ce qui lui donne un aspect distinctif. Les tiges sont ligneuses à la base et portent des inflorescences en forme de panicules de petites fleurs jaune-verdâtre (Benkhniq et al., 2020).



Figure 4. Morphologie de l'*Artemisia herba alba*

Selon Maberley (2017), l'*Artemisia herba-alba* est appartient à la classification suivante :

- **Règne** : Plantae
- **Division** : Magnoliophyta
- **Classe** : Magnoliopsida
- **Ordre** : Asterales

II. MATRERIELS ET METHODES

- **Famille :** Asteraceae
- **Genre :** *Artemisia*
- **Espèce:** *Artemisia herba alba* Asso.

II.1.3.2. Lieu de récolte

La plante de l'espèce « *Artemisia herba alba* Asso » a été récolté dans la région d'Oued-Souf. La partie aérienne de la plante (feuilles, fleurs et tiges) est ensuite lavé puis séché à l'air libre et à l'ombre. Lorsque la plante est devenue sèche, la partie aérienne est moulue, stockée dans des bocaux fermés hermétiquement et placée dans un endroit à l'abri de la lumière et de la chaleur avant son utilisation. (**Figure 5**)



Figure 5. Préparation des plantes séché d'*Artemisia herba alba* Asso. (**Photo personnelle**)

II.1.4. Présentation des bactéries utilisées

II.1.4.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli est une bactérie en forme de bâtonnet qui fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle est présente naturellement dans le système digestif de nombreux mammifères, y compris les humains, où elle joue un rôle essentiel dans la digestion en synthétisant certaines vitamines et en compétitionnant avec d'autres micro-organismes pour occuper l'espace intestinal. Cependant, certaines souches d'*E. coli* peuvent être pathogènes et provoquer diverses maladies chez l'homme, allant de gastro-entérites bénignes à des infections plus graves telles que les infections urinaires, les méningites, ou encore des infections sévères du sang. Ces souches pathogènes possèdent généralement des facteurs de virulence qui leur permettent de coloniser et de causer des dommages aux tissus de l'hôte (**Kaper et al., 2004**).



Figure 6. *Escherichia coli* en microscopie électronique à balayage (Institut Pasteur, 2012)

II.1.4.2 *Salmonella enterica*

Salmonella enterica est une bactérie qui comprend de nombreuses souches différentes, dont certaines peuvent provoquer des maladies chez les humains et les animaux (**Figure 7**). C'est une cause fréquente d'intoxication alimentaire, souvent associée à la volaille, aux œufs, à la viande et au lait ou jus non pasteurisés contaminés. Les symptômes de l'infection à salmonelle comprennent généralement la diarrhée, des crampes abdominales, de la fièvre et parfois des vomissements. Bien que la plupart des infections à salmonelles se résolvent d'elles-mêmes, les cas graves peuvent nécessiter des soins médicaux. Des mesures préventives telles qu'une manipulation appropriée des aliments, une bonne cuisson des aliments et une bonne hygiène peuvent contribuer à réduire le risque d'infection à la salmonelle. (OMS, 2018).



Figure 7. Bactérie *Salmonella enterica* en microscopie à balayage (Institut Pasteur, 2017)

II.1.4.3. *Klebsiella pneumoniae*

II. MATRERIELS ET METHODES

Klebsiella pneumoniae est un type de bactérie couramment présente dans l'environnement ainsi que dans le tube digestif humain (**Figure 8**). Bien qu'elle ne pose généralement pas de problème chez les individus en bonne santé, elle peut entraîner des infections, notamment dans les établissements de santé ou chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli. Elle est connue pour causer diverses infections, telles que la pneumonie, les infections des voies urinaires (IVU), les infections sanguines et les infections de plaies. *Klebsiella pneumoniae* est souvent résistante à plusieurs antibiotiques, ce qui peut rendre le traitement difficile (**Podschn et al., 1998**).



Figure 8. *Klebsiella pneumoniae* en microscopie à balayage (**Institut Pasteur, 2023**)

II.2. Méthodes d'étude

II.2.1. Extraction de l'huile essentielle (HE)

Les parties aériennes (feuilles, tiges et fleurs) de l'espèce *Artemisia herba alba* Asso., sont soumises à une hydrodistillation à l'aide d'un dispositif d'extraction type Clevenger selon la procédure décrite dans la pharmacopée européenne V édition (**Conseil d'Europe, 1997**). L'extraction est réalisée au niveau du Laboratoire de Chimie du Département des Sciences agronomiques à l'Université 20 Août 1955 Skikda (**Figure 9**). L'opération consiste à immerger une quantité de la masse végétale séchées et découpées en petits morceaux (40 g) dans un ballon en verre (d'un litre) contenant 700 ml d'eau distillée (**Figure 9**). Le mélange est porté à ébullition avec un chauffe ballon à une température avoisine de 40°C pendant 3 heures temps. Les vapeurs chargées de l'huile essentielle passant à travers le réfrigérant où aura lieu la condensation. Les gouttelettes d'huiles ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli au préalable d'eau distillée. En raison de la différence de densité, l'huile surnage à la surface de l'eau, récupérée, elle est séchée par un déshydratant (sulfate de sodium) pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenu

II. MATRERIELS ET METHODES

dans l'huile. L'hydrodistillation dure 3 heures. L'huile essentielle obtenue est conservée dans un flacon inactinique à l'abri de la lumière et à une température de 4 ° C.



Figure 9. Dispositif d'hydro distillateur de type Clevenger (à gauche) et préparation du matériel végétal dans le ballon en verre pour l'extraction de l'huile essentielle (à droite)

II.2.2. Calcul du rendement de l'huile essentielle

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse de l'HE et la masse du matériel végétal utilisé pour 100g de matière végétale sèche (AFNOR, 1986). Après récupération d'HE, le rendement est calculé par la méthode suivante :

$$\text{RHE (\%)} = (\text{MHE} / \text{MS}) * 100$$

Où :

- **RHE** : Rendement en huile essentielle en gramme pour 100g de la matière sèche.
- **MHE** : Masse de l'huile essentielle récupérées en gramme.
- **MS** : Masse de la matière végétale utilisée en gramme.

II.2.3. Détermination des caractères organoleptiques de l'huile essentielle

Les caractéristiques organoleptiques reflètent des aspects distinctifs de la plante contribuant à déterminer sa qualité et ses propriétés, comme : couleur, odeur, goût et autres caractéristiques (Texture et état naturel).

II.2.4. Extraction des composés phénoliques de l'extrait éthanolique

II. MATRERIELS ET METHODES

Nous avons opté pour le protocole décrit par (Romani *et al.*, 2006) avec quelques modifications. Les parties aériennes (tiges, feuilles et fleurs) de *l'Artemisia herba alba* est mise à macérer pendant 24 heures dans un agitateur magnétique à vitesse d'agitation constante de 200 tour/min, à température ambiante dans un mélange de éthanol/eau, 70/30 (v/v) qui est porté à ébullition. La suspension est ensuite filtrée sur papier Whatman N 01. L'extraction est refaite trois fois avec renouvellement du solvant. Le solvant est éliminé du filtrat par évaporation rotative à basse pression à 40 ° C (Rota Vapor, Büchi R-200, Germany) (Figure 10).



Figure 10. Séchage de l'extrait de la plante par le Rota-vaporateur

II.2.5. Calcul du rendement des composés phénoliques de l'extrait éthanolique

Le rendement de l'extrait éthanolique est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la plante en poudre utilisée (Cheurfa *et al.*, 2013). Le rendement est exprimé en pourcentage, calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{R (\%) = P_s / P_p \times 100}$$

Où :

- **R** : rendement de l'extraction en pourcentage.
- **Ps** : Poids de l'extrait sec en gramme.
- **Pp** : poids de la poudre en gramme.

II.2.6. Contenu en composés phénoliques de l'extrait éthanolique

II.2.6.1. Phénols totaux

II. MATRERIELS ET METHODES

La teneur des phénols totaux est évaluée selon la méthode décrite par **Li *et al.* (2007)**. Elle consiste à prendre 300 µl de l'extrait (70% Ethanolique et HE) un volume de 1.5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu préalablement dilué dix fois avec l'eau distillée était ajouté. Après 4 minutes un volume de 1.2 ml de Carbonate de Sodium (Na_2CO_3) à 7.5% a été versé sur la solution. Les échantillons ont été placés à l'obscurité. Après 2 heures, les résultats étaient lus sur spectrophotomètre à 750 nm, la concentration des phénols totaux est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec de l'acide gallique et les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG / g) et en g EAG / kg de la matière sèche (g EAG / kg MS). (Le résultat de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique est répertorié dans la **Figure 11 dans l'Annexe 1**).

II.2.6.2. Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est déterminée selon la méthode décrite par **Djeridane *et al.*, (2006)**. Une quantité de 500 µl de l'extrait (70% Ethanolique et HE) est mélangé avec 500 µl de Chlorure d'Aluminium à 2%. L'absorbance du mélange est mesurée à 430 nm, après 10 minutes d'incubation. Les concentrations en flavonoïdes sont exprimées en mg équivalent en quercétine par g d'extrait (mg EQ / g) en se référant à une courbe d'étalonnage. (Les résultats de la courbe d'étalonnage de la quercétine sont répertoriés dans la **Figure 12 dans l'Annexe 1**).

II.2.7.2. Tanins

La teneur en tanin est déterminée selon la méthode décrite par **Price *et al.* (1978)**. Un milieu réactionnel de 6 ml a été préparé en mélangeant 1 ml d'échantillon, 2.5 ml de réactif A (solution de vanilline à 1% p/v dans le méthanol) et 2.5 ml de réactif B (solution d'HCl ou d' H_2SO_4 à 9N dans l'éthanol). La réaction a eu lieu à une température de 30°C pendant 15 minutes, puis l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 500 nm (A500).

Les résultats obtenus ont été exprimés en mg équivalent d'acide tannique par gramme d'extrait sec, en utilisant une courbe d'étalonnage d'acide tannique (Les résultats de la courbe d'étalonnage de sont répertoriés dans la **Figure 13 dans l'Annexe 1**).

II.2.8. Activités antioxydantes de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle

II.2.8.1. Test de piégeage des radicaux libres DPPH

Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette) en présence des molécules dites « antioxydantes » afin de mesurer leur capacité à réduire le radical DPPH. La forme réduite (de couleur jaune) n'absorbe plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons H⁺ (**Sanchez-Moreno, 2002**)

L'activité anti-radicalaire contre le DPPH a été mesurée par le test DPPH décrit par **Blois (1958)** avec une légère modification. Brièvement une solution de DPPH à 0,1 mM dans du méthanol a été préparée et 4 ml de cette solution ont été ajoutés à 1 ml de solutions d'échantillon dans du méthanol à différentes concentrations. Après 30 minutes d'incubation dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517 nm. Une absorbance plus faible du mélange réactionnel indiquait une plus grande activité de piégeage des radicaux libres.

L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition de radical DPPH, et calculée à partir de l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}} / A_{\text{contrôle}}] \times 100$$

La valeur d'IC₅₀, définie comme la concentration inhibitrice de l'extrait nécessaire pour diminuer la concentration initiale du radical DPPH à 50%, est calculée à partir du graphique de pourcentage de l'effet de piégeage des différentes concentrations de l'extrait (**Bertoncelj et al., 2007 ; Marxen et al., 2007 ; Fabri et al., 2009 et Scherer & Godoy, 2009**).

Nous pouvons déduire l'activité anti-radicalaire de nos extraits en calculant l'inverse des valeurs des IC₅₀ trouvées (**Maisuthisakul et al., 2007**), par la formule suivante :

$$\text{AAR} = 1/\text{IC}_{50}$$

La quercétine et le α -tocophérol ont été utilisés comme étalons antioxydants pour la comparaison de l'activité.

II.2.8.2. Test d'activité antioxydante totale

La capacité antioxydante totale de l'extrait a été évaluée par la méthode de phosphomolybdène de **Ramalakshmi et al. (2008)**. Cette technique est basée sur la réduction d'ions Mo⁶⁺ en ions Mo⁵⁺ par les antioxydants contenus dans l'extrait. Par conséquent, il y a

II. MATRERIELS ET METHODES

formation d'un complexe phosphate-Mo⁵⁺ de couleur verdâtre, en milieu acide, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en antioxydants (Veerapur *et al.*, 2009).

Il consiste à ajouter 1 ml du réactif de phosphomolybdate (0.6 M d'Acide Sulfurique, 28 mM de Phosphate de Sodium et 4 mM de Molybdate d'Ammonium) à 100 µl de chaque extrait. Après 90 minutes d'incubation dans le bain-marie à 95°C, l'absorbance est mesurée à 695 nm. La capacité antioxydante totale est exprimée en mg d'équivalent d'acide ascorbique/g de matière sèche (mg EAA/g MS) (Les résultats de la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique sont répertoriés dans la **Figure 14 dans l'Annexe 2**). La quercétine et l'acide ascorbique ont été utilisés comme étalons antioxydants pour la comparaison de l'activité.

II.2.9. Elevage d'*Ephestia kuehniella* au laboratoire

L'élevage est conduit au laboratoire dans une étuve sous des conditions optimales de développement, caractérisées par une température de 27°C, une humidité relative voisine à 70% selon les indications de Payne (1966) (Figure 15). La farine infestée provient des moulins AGRODIV d'El Harrouch. Les larves d'*Ephestia Kuehniella* sont déposés dans des boites en plastique contenant de la farine et du papier plissé pour qu'elles puissent se nymphoser (Figure 16). L'élevage est suivi quotidiennement et les adultes de 0 jour (Insecte) sont utilisées pour l'expérimentation.



Figure 15. Elevage des larves d'*Ephestia kuehniella*



Figure 16. Étuve (Memmert)

II.2.10. Bio-essai de l'activité insecticide par fumigation

II.2.10.1. Activité insecticide de l'huile essentielle par fumigation

L'évaluation de la toxicité de l'huile essentielle par l'effet de fumigation est réalisée par la saturation de l'environnement sur des adultes nouvellement exuviée d'*Ephestia kuehnielle*. Pour cela, cinq doses ont été considérées 0.8, 1, 1.5, 2 et 2.5 μl . L'essai pour chaque dose est conduit en utilisant 3 réplifications qui comportent Chacune 10 insectes. Ces insectes sont placés à l'intérieur des piluliers. Les différentes doses des H.E utilisées sont pulvérisées sur du papier buvard. Ensuite, les papiers traités par les différentes doses des huiles sont déposés sur face interne des couvercles des piluliers en plastique (**Figure 17**). Le comptage du nombre d'insectes morts se fait après 2, 4, 6 et 8 heures.



Figure 17. Application des doses des HE sur les insectes (**Photo personnelle**)

II. MATRERIELS ET METHODES

Les pourcentages d'inhibition observée des différentes séries ont été déterminés puis corrigés selon la formule d'**Abbott (1925)** pour éliminer la mortalité naturelle. Les pourcentages d'inhibitions corrigées subissent une transformation angulaire selon les tables de **Bliss (1938)**, cités par **Fisher et Yates (1957)** et font l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification qui permet le classement des doses par le test HSD de Tukey, afin d'évaluer l'effet de l'HE. Enfin, la régression non linéaire exprimant le pourcentage d'inhibition corrigée en fonction du logarithme de la dose a permis d'estimer, pour l'HE d'*Artemisia herba-alba* Asso, les doses d'inhibition de l'insecte adulte DI_{25} et DI_{50} (doses provoquant l'inhibition de l'émergence des adultes de 25% et 50% des insectes traités, respectivement) avec leurs intervalles de confiance (95% FL) et le Hill Slope.

II.2.10.2. Activité insecticide de l'extrait brut par fumigation

L'évaluation de la toxicité de l'extrait éthanolique par l'effet de fumigation est réalisée par la saturation de l'environnement sur des adultes nouvellement exuvée d'*Ephestia kuehnielle*. Pour cela, cinq doses ont été préparées par une dilution avec l'eau distillée pour obtenir des doses de 0.04 g/mL, 0.02 g/mL, 0.01 g/mL, et 0.002 g/mL. Les adultes témoins se reçoivent 0.002 mL d'eau distillée.

L'essai pour chaque dose est conduit en utilisant 3 répliques qui comportent Chacune 10 insectes. Ces insectes sont placés à l'intérieur des piluliers. Les différentes doses des solutions sont pulvérisées sur du papier buvard. Ensuite, les papiers traités par les différentes doses des solutions sont déposés sur face interne des couvercles des piluliers en plastique. Le comptage du nombre d'insectes morts se fait après 2, 4, 6 et 8 heures.

Les pourcentages d'inhibition observée des différentes séries ont été déterminés puis corrigés selon la formule d'**Abbott (1925)** pour éliminer la mortalité naturelle. Les pourcentages d'inhibitions corrigées subissent une transformation angulaire selon les tables de **Bliss (1938)**, cités par **Fisher et Yates (1957)** et font l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification qui permet le classement des doses par le test HSD de Tukey, afin d'évaluer l'effet de l'extrait éthanolique.

Enfin, la régression non linéaire exprimant le pourcentage d'inhibition corrigée en fonction du logarithme de la dose a permis d'estimer, pour l'extrait de l'*Artemisia herba alba* Asso, les doses d'inhibition de l'insecte adulte DI_{25} et DI_{50} (doses provoquant l'inhibition de l'émergence

II. MATRERIELS ET METHODES

des adultes de 25% et 50% des insectes traités, respectivement) avec leurs intervalles de confiance (95% FL) et le Hill Slope.

II.2.11. Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique

L'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de l'*Artemisia herba alba* Asso a été effectuée aux laboratoires de microbiologie de l'université 20 Août 1955 Skikda. L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique a été conduite contre trois souches bactériennes à Gram négatif, à savoir : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella enterica*.

II.2.11.1. Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique

- **Objectif**

L'objectif est de déterminer l'efficacité de l'extrait de plante contre les 3 souches bactériennes de Gram négative (*E. coli*, *Salmonella enterica* et *Klebsiella pneumoniae*) avec trois répétitions et connaître son effet et ses bienfaits en mesurant la zone d'inhibition.

- **Principe**

L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique était testée *in vitro* par la méthode de diffusion sur le milieu (Miller Hinton). A exactement le même principe que celui des tests d'antibiogramme. C'est-à-dire, l'application de patches imprégnés de principes actifs sur des milieux de cultureensemencés des microorganismes. L'activité antibactérienne, quand elle était présente, se manifestait alors par des zones d'inhibition autour des disques.

- **Préparation de milieu MH (Mueller-Hinton)**

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton préparé comme Suit: Dissoudre 38 g de la gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée, par Agitateur mélanger la solution T (100 C°) jusqu'à ébullition.

La solution de MH répartie dans du flacon en verre, stériliser les flacons en Autoclave (120°C) pendant 10 min, et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri stérile. **(Figure 18).**

II. MATRERIELS ET METHODES

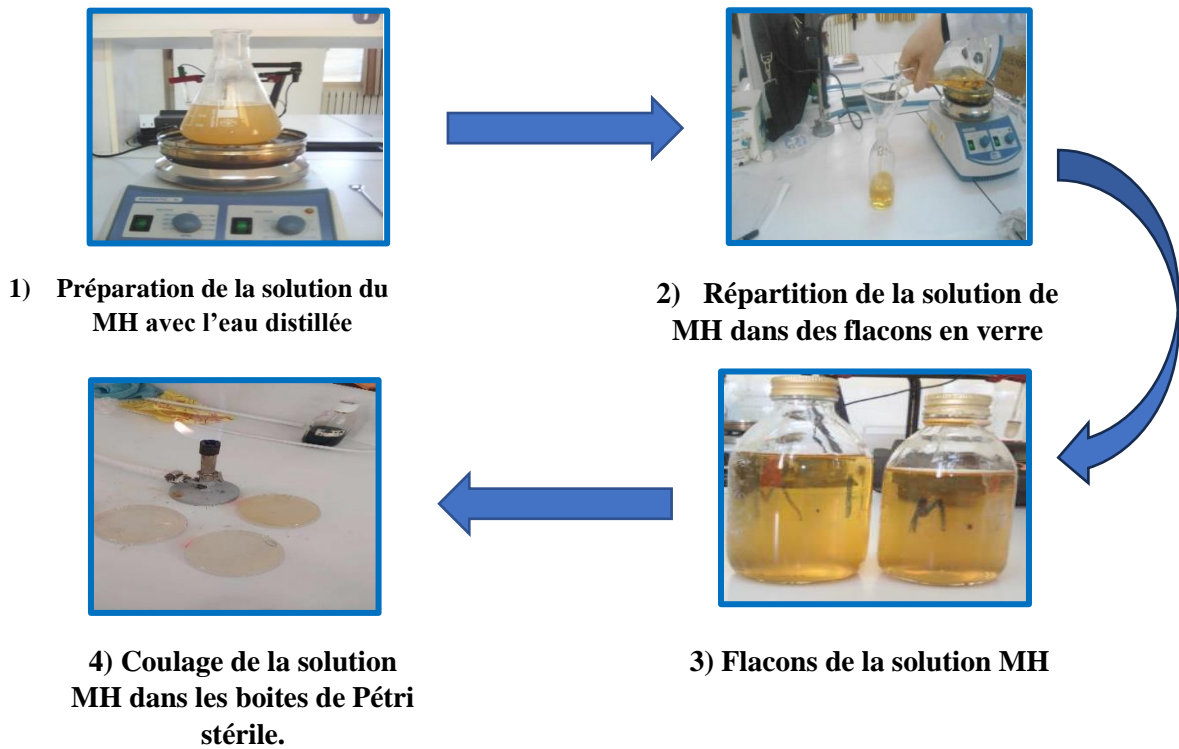


Figure 18. Etapes de préparation de la solution Mueller-Hinton

- *Préparation de milieu BN (Bouillon nutritif)*

Peser et dissoudre 20g de la solution BN dans 1L d'eau distillée, mélanger la solution par agitateur. La solution sera divisée dans des tubes en verre avec visse, afin de les stériles dans l'autoclave.

- *Incubation des bactéries*

Après le nettoyage de la zone de travail, les trois souches sont réactivées dans le milieu BN stérile et incubées dans l'étuve à 37°C durant de 24 h. (**Figure 19**)

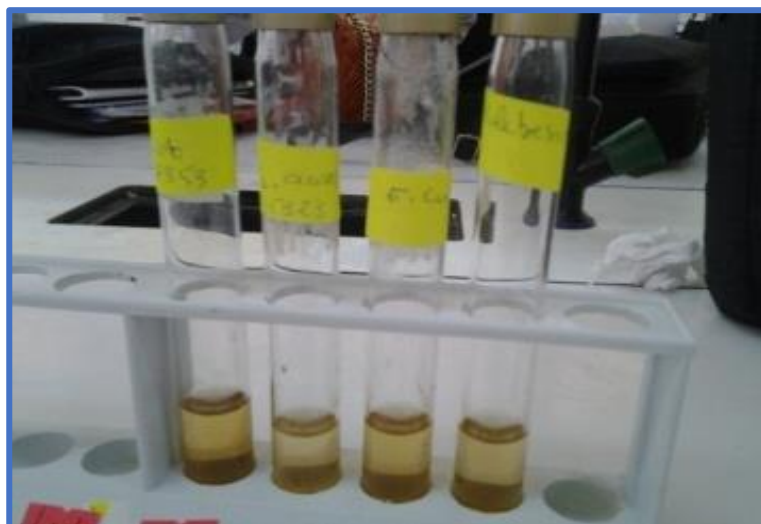


Figure 19. Incubation des bactéries dans le milieu BN.

- *Préparation des dilutions*

La méthode de dilution consiste à faire une série de dilution dans des tubes à essai stériles à partir d'une solution mère préparée par 50 ml d'eau distillé et 1 g d'extraite éthanolique avec une concentration de 20 mg/ml.

- La première solution fille on met dans un tube à essai 4.5 ml d'eau distillé et 0.5 ml de la solution mère (2 mg/ml).
- La deuxième solution fille on met 2.5 ml de la première solution fille avec 2.5 ml de l'eau distillé (1 mg/ml).
- La troisième solution fille on met 2.5 ml de la deuxième solution fille avec 2.5 ml d'eau distillé (0.5 mg/ml).
- La quatrième solution fille on met 2.5 ml de la troisième solution fille avec 2.5 ml d'eau distillé (0.25 mg/ml).

- *Préparation de l'inoculum*

Les tests antimicrobiens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de (18 à 24h) en phase de croissance exponentielle. Une suspension bactérienne a été préparée par le prélèvement de 2 à 3 colonies bactériennes à l'aide d'un écouvillon puis ensemencées dans un milieu liquide (bouillon nutritif) bien agités et incubés à 37°C pour les souches bactériennes pendant 24 h. Son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une égale à 0.08 à lue à la longueur d'onde de 625 nm qui correspond à 108 UFC/ml, si elle est trop fort on ajoute l'eau distillé stérile ou bien du

II. MATRERIELS ET METHODES

bouillon nutritif s'il est trop faible. Les conditions de stérilisation doivent être respectées, à savoir ne pas dépasser les 20 cm du bec bunsen et utiliser du matériel stérile (**Duraffourd et al., 1990**).

- *Ensemencement*



Figure 20. Méthodes d'application de l'activité antibactérienne.

Au moment de l'emploi, nous fondons la gélose Muller Hinton au bain-marie bouillant et les couler en boîtes de Petri en façon à ce que l'épaisseur des couches soit de 4 mm, et laissés solidifier 15 minutes sur le paillasse (**Figure 20**). L'inondation des boîtes entière avec l'inoculum déjà préparé et avec un écouvillon on fait de stries serrées sans oublier de faire passer l'écouvillon sur la périphérie de la gélose afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum. Puis l'élimination de l'excès de suspension.

Des disques de papier Wattman stériles de 6mm de diamètre imprégnés (10 μ l) de chaque dilution d'extrait déposés à l'aide d'une pince stérile sur la gélose. Des disques imprégnés de et de l'eau physiologie stérile sont également déposés sur la même boîte pour servir de témoins. Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à T° ambiante pendant 15min, puis incubées à 37C° pendant 24h.

- *Méthode des disques (Aromatogramme)*

L'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de l'aromatogramme. Elle permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance de l'extrait éthanolique. La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse ou une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches (**Choi et al., 2006**).

- Non sensible (-) : diamètre <8 mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 8 à 14 mm.

II. MATRERIELS ET METHODES

- Très sensible (++) : diamètre 15 à 20 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre >20 mm.

II.2.11.2. Activité antibactérienne de l'huile essentielle

La même méthode citée dans l'activité bactérienne de l'extrait éthanolique. La différence réside au niveau de la préparation de l'extrait. Des disques de papier Wattman stériles de 6mm de diamètre imprégné d'huile essentielle pure déposés à l'aide d'une pince stérile sur la gélose. L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits d'armoise blanche a été conduite contre trois souches bactériennes distinctes avec trois répétitions. Cette étude inclut les souches à Gram négatif, à savoir *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella enterica*.

II.3. Analyse statistique

Les valeurs ont été exprimées en moyenne \pm écart type (Moyenne \pm SD).

III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

III. RESULTATS ET DESCUSION

III.1. Huile essentielle

III.1.1. Calcule du rendement

L'huile essentielle extraite par hydrodistillation de la plante d'*Artemisia herba alba* est cruciale pour de nombreuses applications leur pureté et leur qualité sont garanties par un processus minutieux. Le rendement est calculé en fonction de la quantité précise de la matière végétale sèche et essentielle pour évaluer leur efficacité thérapeutique.

- **Masse de l'huile essentiel (MHE)** = 0.794 g
- **Masse de la matière végétale (MS)**= 420 g
- **Rendement en huile essentielle (RHE)**= 0.27%

$$\text{RHE (\%)} = (\text{MHE} / \text{MS}) * 100 = (0.794 / 420) * 100 = 0.27\%$$

L'échantillons d'*Artemisia herba-alba* Asso est représenté un faible rendement en huile essentielle de 0.27 %. Le rendement en huile d' *Artemisia herba halba* pour notre cas était moyen par rapport à celui trouvé précédemment par certains auteurs , ce rendement est étroitement proche à celui de **Ould mohamed et Chadli (2021)** dans la wilaya de Tiaret, qui était de 0.25% (m/m), une valeur de rendement élevée de 0.62% a était marquée par **Dahmani et Baaliouamer (2010)** suivi par celle obtenue à partir des échantillons prélevés de la région Builef à Batna qui est 0.64% (m/m) (**Anis Bertilla 2019**) et l'étude d'**Akrout (2004)** par un rendement de 0.65 %. Par contre la valeur de rendement la plus faible retrouvée était de 0.1 % et enregistré chez les populations d'*Artemisia herba alba* d'Espagne, de Palestine (Désert Judée) et d'Algérie (Biskra) (**Feuerstein et al., 1988 ; Fleisher et al., 2002 ; Dob et Benabdelkader, 2006**), alors que la teneur en huile essentielle la plus importante est de 3% trouvée pour la plante collectée dans la région de Boussaira au Sud de la Jordanie (**Abu –Darwish et al.,2015**) et 4.9 % pour la plante collectée dans la région d'EL kef en Tunisie (**Boukriche et al., 2010**).

III.1.2. Détermination des caractères organoleptique

Cette caractéristique organoleptique reflète des aspects distinctifs de la plante *Artemisia herba alba*, contribuant à déterminer sa qualité et ses propriétés. Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes **AFNOR (1999)** (**Figure 21**). Les paramètres organoleptiques de nos huiles essentielles aspect, couleur, odeur sont résumés dans le tableau suivant :

III. RESULTATS ET DESCUSION

Tableau 1. Caractères organoleptiques des huiles essentielles de l'*Artemisia herba alba*

HE	Selon les normes d'AFNOR (1999)
Armoise blanche	<ul style="list-style-type: none">➤ Aspect : Liquide mobile, limpide➤ Couleur : Une couleur jaune clair qui tend vers la transparence dans l'état naturel.➤ Odeur : Une odeur rafraichissante et pénétrante, légèrement prononcée.➤ Goût : Dans le cas où il est possible d'évaluer le goût, l'huile d'<i>Artemisia herba alba</i> se distingue par son goût naturel doux, avec une touche légèrement amère.



Figure 21. Huile essentielle de l'*Artemisia herba alba* Asso

III.2. Composés phénoliques

III.2. 1. Calcul du rendement



Figure 22. Extrait brut de l'*Artemisia herba alba*

III. RESULTATS ET DESCUSION

On a macéré 40g de la plante broyée avec 1L d’Ethanol/Eau distillée (70% :30%). Après 24 heures de macération répétée trois fois on a filtré la phase aqueuse obtenue et on a l’évaporé dans le Rota-évaporateur. Le rendement en extrait sec obtenu est de 5.5 g.

La détermination du rendement de l’extrait en pourcentage est de 13.75% et obtenue selon la formule suivante :

$$R (\%) = Ps / Pp \times 100 = (5.5 / 40) * 100 = 13.75\%$$

- **R** : rendement de l’extraction en pourcentage.
- **Ps** : Poids de l’extrait sec en gramme (5.5 g).
- **Pp** : poids de la poudre en gramme (40g).

Le rendement que nous avons enregistré pour l’extrait éthanologique est nettement supérieur (14.8%) à ceux obtenus par **Bezza et al. (2010)** dans la région de Biskra et de **Nia (2018)** dans la région de Takhemart (Tiaret) qui ont rapporté des rendements de 6.72% dans et 3.04%, respectivement. La différence en rendement peut être expliqué par la nature de la région d’étude et de la phase de récolte de la plante.

III.2.2. Dosage des phénols totaux

L’analyse quantitative des phénols totaux est déterminée à partir de l’équation de la régression linéaire de la courbe d’étalonnage exprimée en mg équivalent d’acide gallique/g d’extrait (mg EAG/g) (**Figure 11 dans l’Annexe 1**).

D’après le **Tableau 2** le dosage des phénols totaux est de 35.028 ± 2.497 mg EAG/g de poids sec de l’extrait, cette valeur est très faible comparant avec celle obtenue par **Khennouf et al. (2010)** sur l’*Artemisia herba alba* dans la région de Sétif avec une valeur de 133.43 mg EAG/g de poids sec de l’extrait. Dans étude faite par **Djeridane et al. (2006)** sur l’extrait éthanologique 70% (v/v) d’*Artemisia campestris* au niveau de la région d’El Aghouat ont trouvé que la teneur en phénols totaux est relativement faible avec 20.38 mg/EAG g de poids sec de l’extrait par rapport au notre résultat. Cette différence des valeurs peut être expliquer par l’influence des conditions pédoclimatiques des différentes régions des plantes collecter et par le stade de développement de chaque plante.

D’une manière plus générale, la solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Les matières végétales peuvent contenir des quantités variables d’acides phénoliques, phénylpropanoïdes,

III. RESULTATS ET DESCUSION

anthocyanines, et tanins (Garcia-Salas *et al.*, 2010). Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols (Koffi *et al.*, 2010).

Tableau 2. Contenu de l'extrait éthanolique de la plante en phénols totaux, flavonoïde et tanin

	Phénols totaux (mg EAG/g)	Flavonoïde (mg EQ/g)	Tanin (mg EAT/g)
Teneur	35.028±2.497	6.024±0.070	0.307±0.155

III.2.3. Flavonoïde

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃), la quercétine a été utilisé comme étalon. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 420 nm. L'analyse quantitative des flavonoïdes est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimée en mg équivalent de quercétine/g d'extrait (mg EQ/g) (Figure 12 dans l'Annexe 1).

D'après le **Tableau 2** la teneur des flavonoïdes est de 6.024±0.070 mg EQ/g de poids sec de l'extrait, cette valeur est faible par rapport à la valeur obtenue par **khannouf *et al.* (2010)** sur l'extrait méthanolique d'*Artemisia herba alba* 80% (v/v) avec 17.80 mg EQ/g de poids sec de l'extrait. Très peu de travaux sont réalisés sur notre plante, et lorsque on compare notre résultat avec d'autres plantes du même genre d'*Artemisia* étudiées par **Djeridane *et al.* (2006)**, on note que notre quantité des flavonoïdes obtenue est presque légèrement approche par rapport à l'*Artemisia campestris* dans deux extraits méthanoliques de 70% et 80% (v/v) au niveau de la région d'El Aghouat et au Sud de la Tunisie respectivement avec des valeurs de 7.4 et de 5 mg ER/g de poids sec de l'extrait. Alors que notre valeur obtenue est très faible par rapport à celles trouvés par **Saoudi *et al.*, (2010)**, avec une valeur de 131.89 mg EQ/g de poids sec de l'extrait des feuilles aqueux d'*Artemisia campestris*. Cette différence dans les teneurs peut être expliquée par les conditions environnementales, climatiques et période de collecte ainsi que par les facteurs génétiques et les conditions expérimentales.

III.2. 4. Dosage des tanins

Le dosage des tanins a été réalisé selon la méthode colorimétrique de Folin Denis. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 760 nm. L'analyse quantitative des tanins est

III. RESULTATS ET DESCUSION

déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimée en mg équivalent d'acide tannique /g d'extrait (mg EAT/g) (**Figure 13 dans l'Annexe 1**).

D'après le **Tableau 2** on remarque que la teneur en tanins dans notre extrait d'*Artemisia herba alba* est de 0.307 ± 0.155 mg EAT/g. Cette valeur obtenue, est un peu élevée par rapport à la même espèce obtenu par **kheirddine (2013)** avec une valeur de 0.175 mg EC/g.

III.3. Activités antioxydants

Les résultats des activités antioxydantes par le test de piégeage des radicaux libres DPPH et le test d'activité antioxydante totale (CAT) sont répertoriés dans le tableau suivant :

Tableau 3. Résultats de DPPH et du CAT de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle (HE) d'*Artemisia herba alba*

	DPPH IC ₅₀ (mg/mL)	CAT IC ₅₀ (mg/mL)
Extrait Ethanolique	0.133±0.001	25.921±0.603
HE	0.170±0.001	40.603±0.113
α-Tocophérol	7.31 ± 0.17	/
Quercétine	2.07 ± 0.10	250.09 ± 0.87
Acide ascorbique	NT	7936.48 ± 0.07

III.3.1. Test de piégeage des radicaux libres DPPH

L'activité antioxydante exprime la capacité de réduction des radicaux libres. Pour nos extraits, nous avons employé la méthode au DPPH, ce radical libre présente une coloration violet sombre, lorsqu'il est piégé par des substances antioxydantes, la forme réduite confère à la solution une coloration jaune pâle, cette coloration dépend de la puissance de la substance anti radicalaire. La méthode de piégeage du radical libre (DPPH) a été retenue pour évaluer l'activité antioxydant de notre extrait est reconnue comme étant simple, rapide et efficace en raison de la grande stabilité du radical (**Bozin et al., 2008**).

D'après le **Tableau 3** l'extrait éthanolique et l'huile essentielle (HE) d'*Artemisia herba alba* possèdent des IC₅₀ (0.133 et 0.170 mg/mL respectivement) très importants comparant avec les deux standards utilisés (quercétine avec 2.07 mg/mL et α-Tocophérol avec 7.31 mg/mL). Ces deux valeurs faibles d'IC₅₀ indiquent une activité antioxydante forte de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle de notre plante étudiées (**Khennouf et al., 2010**). D'après **Khebir (2011)**,

III. RESULTATS ET DESCUSION

l'activité anti radicalaire de l'huile essentielle de la même espèce a donné un pourcentage de 37% pour une concentration de 1mg/mL, cette même concentration d'acide ascorbique un pourcentage supérieur à 80%.

III.3.2. Test d'activité antioxydant totale

L'analyse de molybdate de phosphate ou d'activité antioxydante totale est un essai direct utilisé principalement pour mesurer la possibilité et la puissance des antioxydants non enzymatique. La comparaison entre les IC₅₀ des différentes activités antioxydantes de nos extraits avec celle de l'acide ascorbique est présentée dans le **Tableau 3**.

Les résultats obtenus des deux extraits éthanoliques et des huiles essentielles montrent une activité antioxydante totale meilleure et plus active que l'acide ascorbique (7936.48 ± 0.07 mg/mL) avec des valeurs de 25.921 ± 0.603 mg/mL et 40.603 ± 0.113 mg/mL, respectivement. Cette activité peut être due à la teneur élevée en composés phénoliques des deux extraits étudiés qui sont connus pour jouer un rôle important comme antioxydant à travers différents mécanismes d'action, tels que: le piégeage des radicaux libres, la trempe des espèces réactives de l'oxygène, l'inhibition des enzymes d'oxydation, la chélation des métaux de transition (**Chirinos *et al.*, 2008**).

III.4. Elevage d'*Ephestia kuehniella* en laboratoire



Figure 22. Production d'*Ephestia kuehniella* (Photo personnelle)

Les insectes utilisés dans cette étude ont été collectés aux Moulin el Harrouch Agro Div. Leur élevage s'est déroulé au laboratoire dans une étuve, où les conditions optimales de développement étaient maintenues : une température de 27°C, une humidité relative d'environ 70% et une obscurité totale. Les adultes étaient placés dans des jarres en verre et/ou plastique contenant de la farine, recouvertes d'un morceau de tulle maintenu par un élastique. Chaque jour, un suivi

III. RESULTATS ET DESCUSION

minutieux de l'élevage était effectué afin de prélever les larves mâles ou femelles des boîtes remplies de farine et de papier plissé, ce qui permettait aux larves de passer au stade nymphose.

Nous avons collecté environ 700 spécimens de vers, que nous avons ensuite soumis à une incubation contrôlée. Après une période de 8 jours, nous avons réussi à obtenir une population d'environ 300 papillons (**Figure 22**).

III.5. Activité bio-insecticide

III.5.1. Toxicité de l'huile essentielle par fumigation sur les adultes d'*Ephestia kuehniella*



Figure 23. Application des doses des extrait brute sur les insectes (**Photo personnelle**)

L'efficacité de l'HE de l'Armoise a été testée, par fumigation, chez des adultes nouvellement émergées d'*Ephestia kuehniella* Zeller, La mortalité a été relevée et les doses correspondant à 25 et 50 % de mortalité des adultes (DI₂₅ et DI₅₀), caractérisant la toxicité de l'HE, ont été déterminées

L'HE appliquée par fumigation à différentes doses (0.3, 0.6, 1, 1.5 et 2.5 µL) le jour de l'émergence adulte d'*E. kuehniella*, a induit une mortalité des adultes dont les pourcentages sont précisés dans le **Tableau 4** et la **Figure 23**. Aucune mortalité n'a été enregistrée chez les témoins (mort naturelle), la mortalité augmente, chez les séries traitées significativement avec une relation dose réponse.

En effet, les résultats révèlent que les pourcentages de mortalité corrigée des adultes variaient est de l'ordre de 16.66 ± 3.92 % pour la dose la plus faible (0.3µL) est augmentent graduellement et sont de 96.66 ± 2.04 % pour la dose testée la plus élevée (2.5µL) (**Figure 24**).

III. RESULTATS ET DESCUSION

Tableau 4. Effets de l'HE de l'Armoise, appliquée par fumigation à différentes doses (μl) le jour de l'émergence adulte d'*E. kuehniella*: mortalité observée (%) des adultes ($m \pm \text{SD}$; $n = 3$ répétitions de 10 individus chacune).

Répétition	Doses de l'huile essentielles (μL)					Témoins
	0.3	0.6	1.5	2	2.5	
R1	10	30	50	60	90	00
R2	20	20	60	80	100	00
R3	20	30	50	70	100	00
m\pmSD	16.66 \pm 3.92	26.66 \pm 3.77	53.30 \pm 2.51	70.56 \pm 6.34	96.66 \pm 2.04	00

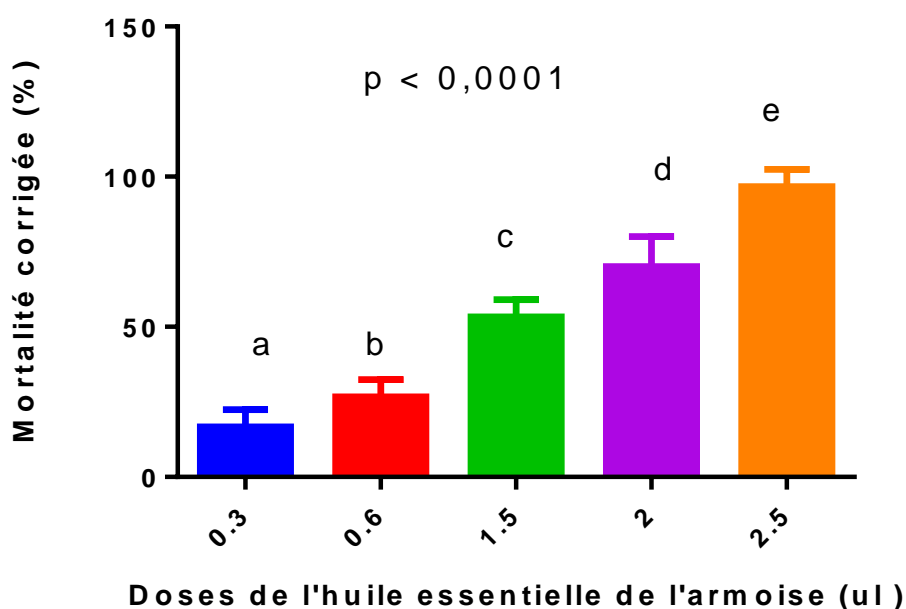


Figure 24. Effet de l'HE de l'*Artemisia herba alba* (μL) appliqué, par fumigation aux adultes nouvellement émergées d'*Ephestia kuehniella* sur la mortalité des adultes (%) ($m \pm \text{SD}$; $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 adultes ; les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différent par le test HSD à $p < 0.0001$).

L'analyse statistique révèle un effet dose significatif ($F_{4, 10} = 609.6$; $p < 0.0001$) et le test HSD de Tukey a montré une augmentation significative de la mortalité avec des doses croissantes, différentes lettres minuscules indiquaient une différence significative entre l'inhibition corrigée ($p < 0.0001$) Les doses de mortalité (DL) et la pente de Hill enregistrée avec leurs limites de référence (95 %) ont été répertoriées dans le **Tableau 5**.

III. RESULTATS ET DESCUSION

Tableau 5. Effets de l'HE de l'Armoise appliquée par fumigation aux adultes nouvellement émergées d'*Ephestia kuehniella* à différentes doses (μL) : Détermination des doses d'inhibition de la mue adulte (DI en μL) et leurs intervalles de confiance à 95%.

Doses	Valeurs (μl)	Intervalles de confiance (95%)	R ²
DL₁₀	0.36	[0.197 – 0.608]	0.97
DL₂₅	0.575	[0.405 – 0.815]	
DL₅₀	0.95	[0.764 – 1.194]	
DL₉₀	2.63	[1.558 – 4.45]	
Hill Slope	0.33	[1.10 – 2.20]	

III.5.2. Toxicité de l'extrait éthanolique par fumigation sur les adultes d'*Ephestia kuehniella*

L'efficacité de l'extrait éthanolique de l'*Artemisia herba alba* a été testée, par fumigation, chez des adultes nouvellement émergées d'*Ephestia kuehniella* Zeller, La mortalité a été relevée et les doses correspondant à 25 et 50 % de mortalité des adultes (DI₂₅ et DI₅₀), caractérisant la toxicité de l'extrait hydroalcoolique, ont été déterminées.

L'extrait appliqué par fumigation à différentes doses (0.002, 0.01, 0.02, et 0.04 g/mL) le jour de l'émergence adulte d'*E. kuehniella*, a induit une mortalité des adultes dont les pourcentages sont précisés dans le **Tableau 6** et la **Figure 25**. Aucune mortalité n'a été enregistrée chez les témoins (mort naturelle), la mortalité augmente, chez les séries traitées significativement avec une relation dose réponse.

En effet, les résultats révèlent que les pourcentages de mortalité corrigée des adultes variaient est de l'ordre de 40±00 % pour la dose la plus faible (0.002 g/mL) est augmentent graduellement et sont de 100±00 % pour la dose testée la plus élevée (0.04 g/mL).

Tableau 6. Effets de l'extrait éthanolique du l'*Artemisia herba alba* appliquée par fumigation à différentes doses (g/mL) le jour de l'émergence adulte d'*E. kuehniella*: mortalité observée (%) des adultes. (m ± SD ; n = 3 répétitions de 10 individus chacune).

Répétition	Doses de l'extrait éthanolique (g/mL)				Témoins
	0.002	0.01	0.02	0.04	
R1	40	50	70	100	00
R2	40	50	70	100	00
R3	40	50	70	100	00
m±SD	40±00	50±00	70±00	100±00	00

III. RESULTATS ET DESCUSION

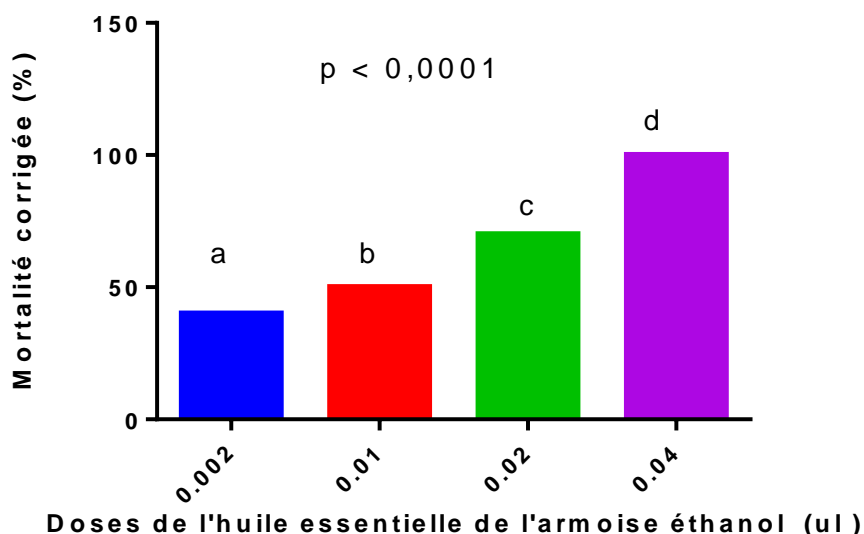


Figure 25. Effet de l'extrait éthanolique de l'*Artemisia herba alba* appliqué par fumigation aux adultes nouvellement émergées d'*Ephestia kuehniella* sur la mortalité des adultes (%) ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 adultes ; les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différent par le test HSD à $p < 0.0001$).

L'analyse statistique révèle un effet dose significatif ($F_{4,10} = 609.6$; $p < 0.0001$) et le test HSD de Tukey a montré une augmentation significative de la mortalité avec des doses croissantes, différentes lettres minuscules indiquaient une différence significative entre l'inhibition corrigée ($p < 0.0001$) Les doses de mortalité (DL) et la pente de Hill enregistrée avec leurs limites de référence (95 %) ont été répertoriées dans le **Tableau 7**.

Tableau 7. Effets de l'extrait éthanolique de l'*Armoise herba alba* appliqué par fumigation aux adultes nouvellement émergées d'*Ephestia kuehniella* à différentes doses (g/mL): Détermination des doses d'inhibition de la mue adulte (DI en g/mL) et leurs intervalles de confiance à 95%.


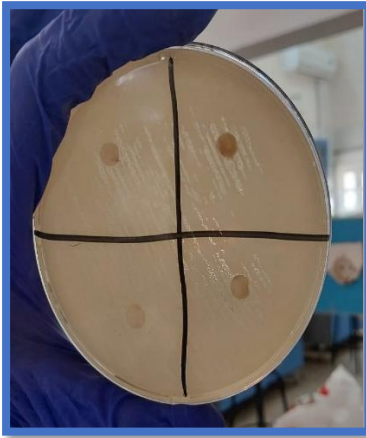
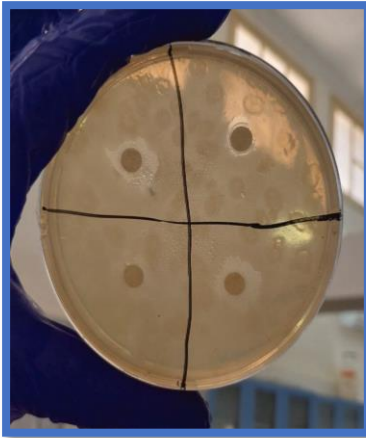
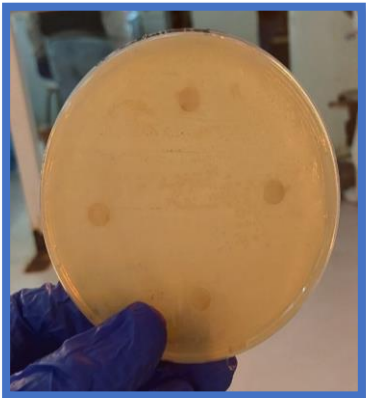
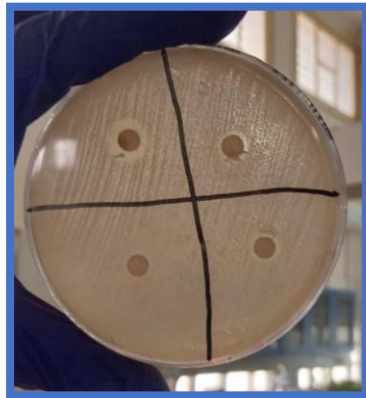
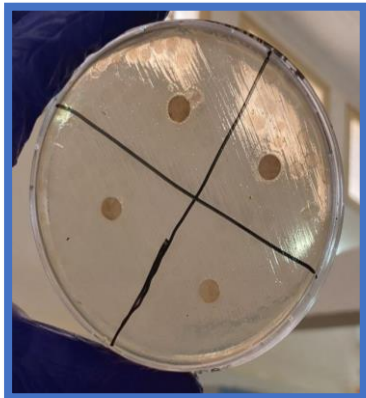
Doses	Valeurs (g / mL)	Intervalles de confiance (95%)	R ²
DL₂₅	0.00299	[0.0971 - 0.4151]	0.97
DL₅₀	0.0083	[-0.0011- 0.0627]	
DL₉₀	0.0675	[0.00091 - 4.99]	
Hill Slope	0.5298	[-1.2281 - 3.33]	

III. RESULTATS ET DESCUSION

III.6. Activité Antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* est déterminée par la mesure de diamètre des zones d'inhibitions pour les trois souches bactériennes testées (**Figure 26, 27, 28, 29, 30 et 31**), comme les montres dans le tableau ci-dessous :

Tableau 8. Effet de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* sur les trois souches bactériennes des Gram négatives testées

Test de l'extrait éthanolique		
Figure 26. Développement de l' <i>Escherichia coli</i> sur l'extrait éthanolique	Figure 27. Développement de la <i>Klebsiella pneumoniae</i> sur l'extrait éthanolique	Figure 28. Développement de la <i>Salmonella enterica</i> sur l'extrait éthanolique
		
Moyenne des diamètres des zones d'inhibitions = 17.5 mm	Moyenne des diamètres des zones d'inhibitions = 7.5 mm	Moyenne des diamètres des zones d'inhibitions = 13 mm
Très sensible (++)	Non sensible (-)	Sensible (+)
Test de l'huile essentielle		
Figure 29. Développement de l' <i>Escherichia coli</i> sur l'HE	Figure 30. Développement de la <i>Klebsiella pneumoniae</i> sur l'HE	Figure 31. Développement de la <i>Salmonella enterica</i> sur l'HE
		
Moyenne des diamètres des zones d'inhibitions = 6.5 mm	Moyenne des diamètres des zones d'inhibitions = 15 mm	Moyenne des diamètres des zones d'inhibitions = 13.5 mm
Non sensible (-)	Très sensible (++)	Sensible (+)

III. RESULTATS ET DESCUSION

D'après les résultats obtenus dans le **Tableau 8**, l'extrait éthanolique d'*Artemisia herba alba* a démontré une activité antibactérienne notable sur deux souches bactériennes testées.

Escherichia coli a montré une sensibilité marquée (Très sensible (++)) avec une zone d'inhibition mesurant 17.5 mm, tandis que *Salmonella enterica* a montré une sensibilité assez prononcée (Sensible (+)) avec une zone d'inhibition de 13 mm. En revanche, *Klebsiella pneumoniae* n'a montré aucune sensibilité (-), avec seulement 7.5 mm de zone d'inhibition.

Alors que les travaux portés par **Boudjelal. (2013)**, l'extrait méthanolique d'*Artemisia herba alba* a donné des diamètres de : 13 ± 0.6 pour *Escherichia coli* respectivement.

Ces résultats se montrent plus importants que celle de notre étude et ce là peut être dû au solvant utilisé.

D'autre part, l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a également révélé une activité significative contre *Klebsiella pneumoniae*, montrant une sensibilité élevée (Très sensible (++)) avec une zone d'inhibition de 15 mm. Cette même huile essentielle a présenté une sensibilité similaire envers *Salmonella enterica* (Sensible (+)) avec une zone d'inhibition de 13.5 mm. En revanche, *Escherichia coli* n'a pas montré de sensibilité, avec une faible zone d'inhibition mesurant seulement 6.5 mm.

Ces résultats corroborent les conclusions d'études antérieures qui ont souligné l'efficacité des extraits et de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* contre diverses souches bactériennes et levures (**Ramezania et al., 2004 ; Zouari et al., 2010**), renforçant ainsi la validité des résultats obtenus lors de notre propre étude."

IV. CONCLUSION

Conclusion

De nos jours, un grand nombre de plantes médicinales possèdent des propriétés pharmaco-biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, nutrition et agriculture.

Notre étude est menée sur une plante médicinale connue pour ses vertus thérapeutiques depuis longtemps et se développe dans le Sud de l'Algérie, connu sous le nom vernaculaire de « Chih » et scientifiquement appelé l'*Artemisia herba alba* Asso (Astéracées).

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'activité antioxydante, bio-insecticide et antibactérienne *in vivo* et *in vitro* de l'extrait éthanolique (Ethanol et Eau distillée ; 70% : 30% ; V/V) et de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* Asso. Afin d'évaluer ses propriétés phytochimiques et biologiques nous avons étudiés les paramètres suivants : l'extraction de l'huile essentielle (HE) par un hydro-distillateur, la macération et l'extraction d'un extrait hydroalcoolique contenant du Ethanol/Eau distillée (70%:30%, V/V), le screening phytochimique pour mesurer les phénols totaux, les flavonoïdes et les tanins, l'étude de l'activité antioxydante avec deux méthode du DPPH et du Capacité Antioxydante Totale (CAT), le bio-essai insecticide contre le ravageur des denrées stockés alimentaires l'*Ephestia kuehniella* et l'étude d'activité antibactérienne contre 3 souches bactériennes de GRAM - (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Salmonella enterica*).

L'extraction de l'huile essentielle par l'hydro-distillateur montre un bon rendement en huile essentielle (HE) de 0.27% avec des caractères organoleptique similaire de l'AFNOR (1999) possédant un aspect liquide mobile, couleur jaune clair, odeur rafraichissante et pénétrante et un goût naturel doux. La macération hydroalcoolique montre un rendement de l'extrait éthanolique avec 13.75% de la matière sèche de la plante.

Le screening phytochimique des composés phénoliques présente des valeurs de 35.028 ± 2.497 mg EAG/g des phénols totaux, 6.024 ± 0.070 mg EQ/g des flavonoïdes et 0.307 ± 0.155 mg EAT/g des tanins.

Les tests des activités antioxydantes du CAT et du DPPH de l'HE et de l'extrait éthanolique montrent une bonne activité antioxydante avec des valeurs de CAT de 40.603 ± 0.113 et 25.921 ± 0.603 mg/ml pour l'HE et l'extrait éthanolique respectivement, et des

CONCLUSION

valeurs de DPPH de 0.133 ± 0.001 et 0.170 ± 0.001 mg/ml pour l'HE et l'extrait éthanolique respectivement.

Concernant l'évaluation de l'activité bio-insecticide sur *Ephestia kuehniella* avec différentes concentrations d'extrait éthanolique (0.002, 0.01, 0.02, et 0.04 g/mL) et d'HE (0.3, 0.6, 1, 1.5 et 2.5 μ L) appliquées par fumigation sur 10 insectes adultes répliqués trois fois pendant 8 heures, montre les doses létales suivantes : pour l'extrait éthanolique avec un DL₁₀ équivalent de 0.36 μ L, un DL₂₅ équivalent de 0.575 μ L, un DL₅₀ équivalent de 0.95 μ L et un DL₉₀ équivalent de 2.63 μ L et pour l'HE avec un DL₂₅ équivalent de 0.00299 g/mL, un DL₅₀ équivalent de 0.0083 g/mL et un DL₉₀ équivalent de 0.0675 g/mL.

Le résultat de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé de l'extrait éthanolique d'*Artemisia herba alba* a montré une activité très importante sur *Escherichia coli* (Très sensible ++ ; avec une zone d'inhibition de 17.5 mm), une activité importante sur la *Salmonella enterica* (Sensible + ; avec une zone d'inhibition de 13 mm) et aucune activité sur la *Klebsiella pneumoniae* (Résistante - ; avec une zone d'inhibition de 7.5 mm). Par contre l'HE a montré une activité très importante sur la *Klebsiella pneumoniae* (Très sensible ++ ; avec une zone d'inhibition de 15 mm), une activité importante sur la *Salmonella enterica* (Sensible + ; avec une zone d'inhibition de 13.5 mm), et aucune activité sur *Escherichia coli* (Résistante - ; avec une zone d'inhibition de 6.5 mm).

Selon les résultats obtenus dans cette étude, on peut conclure que l'extrait éthanolique et l'HE de la plante étudiée a révélé une capacité antioxydante, bio-insecticide et antimicrobienne potentielle et pourrait être utilisé comme une alternative naturelle et efficace aux produits chimiques couramment utilisés en agriculture pour le contrôle des ravageurs des denrées stockés, ainsi que des antioxydants synthétiques et des antibactériens spécifiques pour des applications médicales.

Cette étude ouvre la voie à des futures recherches pour optimiser l'utilisation de cette plante dans divers domaines pour son potentiel dans la lutte contre les virus, les champignons et d'autres pathogènes qui pourrait ouvrir des perspectives importantes dans le domaine médical, notamment pour développer de nouveaux traitements contre des infections virales émergentes ou résistantes. Parallèlement, élargir les études sur son spectre d'action antimicrobienne pour inclure une évaluation contre une plus grande diversité de micro-organismes pathogènes permettrait de déterminer sa polyvalence et son potentiel thérapeutique.

CONCLUSION

Enfin, encourager les recherches sur les applications biotechnologiques de l'*Artemisia herba alba*, telles que l'ingénierie génétique pour augmenter la production de métabolites bioactifs ou l'amélioration de ses propriétés bio pesticides, ouvrirait de nouvelles voies pour une exploitation durable et innovante de cette plante précieuse.

V. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. **Abbot W.S. (1925).** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18 : 265-267.
2. **Abu-Darwish M. S., Abouelhamd H. M., M. El-Sayed, M. F Hegazy, Soleiman, Cabral C., Gonçalves MJ., Cavaleiro C., Cruz MT., Efferth T., Salgueiro L., (2015).** Huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* de Buseirah (South Jordan): Caractérisation chimique et évaluation des doses antifongiques et anti inflammatoires *Ethnopharmacol* ; 174: 153-60.
3. **AFNOR. (1999).** Recueil des Normes françaises – huiles essentielles-, AFNOR. Paris. 57p.
4. **Akrouf A. (2004).** Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). In : *Ferchichi A. (comp.), Ferchichi A. (collab.).* Réhabilitation des pâturages et des parcours en milieux méditerranéens. Zaragoza : CIHEAM, 2004. p. 289-292 (Cahiers Options Méditerranéennes ; n. 62) sci, tech, Houari Boumediène, Alger.
5. **Akrouf A., Chemli R.C., Chrief., and Hammami M. (2001).** Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *J. Flavour Fragr.* 16: 337–339
6. **Akrouf A., Gonzalez L.A., El Jani H.J., and Madrid P.C., (2011).** Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern of Tunisia. *J. Food. Chem. Tox.* 49: 342–347. antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *J. Food. Chem. Toxicol.* 48: 1986– 1993. *Artemisia herba-alba* Asso Grown in Algeria. *Journal of Essential Oil Research.* 18(6); p 685-690.
7. **Aneja K R., Joshi R. (2010).** Antimicrobial activity of *Syzygium aromaticum* and its bud oil against dental cares causing microorganisms. *Ethnobotanical Leaflets*, 14, 960-975.
8. **ANIS BERTELLA (2019).** Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris* et *Rosmarinus officinalis*
9. **Benkhighe, O., Baâtour, O., Boussaid, M., & Neffati, M. (2020).** Morphological and anatomical leaf traits variation of *Artemisia herba-alba* populations in the arid regions of Tunisia. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 154(5), 739-748.
10. **Bertella, A. (2019).** Étude de l'activité antimicrobienne et antioxydant des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris* et *Rosmarinus tournefortii*. Thèse de Doctorat en Biologie Spécialité : Microbiologie Appliquée. Université Ahmed Ben Bella Oran. 4-5.

V. Références Bibliographiques

11. **Bezza L., Mannarino A., Fattarsi K., Mikail C., Abou L., Hadji-Minaglou F., Kaloustian J. (2010).** Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). *Phytothérapie.*, 8 : 277-281.
12. **Bliss C.I., (1938).** The transformation of percentages for use in the analysis of variance. *Ohio J. Sci.* 38: 9-12.
13. **Blois, M.S. 1958.** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181: 1199-1200.
14. **Boudjelal Amel, (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., 61p.
15. **Bozin B., Mimica-Dukic N. et Samojlik I. (2008).** Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., *Alliaceae*). *Food Chemistry.*, 111:925–929.
16. **Camara A, (2009).** Lutte contre *Sitophilus oryzae* L. (*coleoptera: curculionidae*) et *Tribolium castaneum* herbst (*coleoptera: Tenebrionidae*) dans les stocks de riz par la technique d'étuvage traditionnelle pratiquée en basse-guinée et l'utilisation des huiles essentielles végétales. Thèse. Doctorat., Univ., Québec, Montréal., 154 p.
17. **Carlos J.S. (2006).** Exposition humaine aux pesticides-Un facteur de risque pour le suicide au Brésil. Ed. Vertigo., Rev.science de l'environ, Brésil., 18p.
18. **Cheurfa M., Allem R., Sebahia M., Belhireche S. (2013).** Effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites. *Phytothérapie*, 11(3), 154-160.
19. **Chirinos J., Leal A. and Montilla J. (2006)** Use Alternative Biological Inputs for Sustainable Agriculture in the South of Anzoategui state. *Applied and Interdisciplinary Sciences, Biotechnology. Digital Magazine Ceniap Today*, 11, 1-7.
20. **Choi Y.M., Noh D.O., Cho S.Y., Suh H.J., Kim K.M., and Kim J.M., (2006).** Antioxidant and antimicrobial activities of *Propolis* from several regions of Korea. *LWT*.39:pp756-761.
21. **Dahmani-Hamzani N., Baaliouamer A. (2005).** Chemical composition of the Algerian essential oil of *Artemisia herba-alba* native to Dejelfa. *Riv. Ital. EPPOS.*, 40 : 7-13.
22. **De Pascual J.T., Gonzalez M.S., Muriel M.R and Bellid I.S. (1984).** Phenolic derivatives from *Artemisia campestris* Subsp *glutinosa*. *Phytochemistry*. 23 (8): 1819- 1821.
23. **Delimi A., Taibi F., Fissah A., Gherib S., Bouhkari M. et Cheffrou A. (2013).** Bio-activité des huiles essentielles de l'Armoise blanche (*Artemisia herba alba*) : effet sur la

V. Références Bibliographiques

- reproduction et la mortalité des adultes d'un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera). *Afrique Science* 09(3) : P.82-9
24. **Delimi A, Taibi F, Fissah A, Gherib S, Bouhkari M, and Cheffrou A. (2013).** Bio-activité des huiles essentielles de l'Armoise blanche *Artemisia herba alba*: effet sur la reproduction et la mortalité des adultes d'un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera). *Numéros*. 10(1).
 25. **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stoker., Vidai N. (2005).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry* 97 p 654-660
 26. **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stoker, P., Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*, 97: 654-660.
 27. **Dob T., Dahmane D., Berramdane T., and Chelghoum C. (2005).** Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia campestris* L. from Algeria. *J. Pharm. Bio.* 43(6): 512–514.
 28. **Duraffourd C., D'Hervicourt L. et Lapraz J. C. (1990).** Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galéniques. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris.
 29. **Ebrahimzadeh M.A., Pourmorad F. and Hafezi S. (2008).** Antioxidante Activities of Iranian Corn Silk. *Turk. J.Biol.*, 32, 1-7.
 30. **Fisher RA. & Yates F., (1957).** *Statistical tables for biological agricultural and medical research*. 5ème édition, Olivier et Boyd. London: 64-66.
 31. **Garcia-Ruiz A., Bartolomé B., Martinez-Rodriguez A.J., Pueyo E., Martin-Alvarez P.J., and Moreno-Arribas M.V. (2008).** Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*. **19**: 835–841.
 32. **Garcia-Salas P., Morales-Soto A, Segura-Carretero A. et Fernández-Gutiérrez A. (2010).** Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. 59 pages
 33. **Goudjil M.B. (2016).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. Thèse de Doctorat. Université Kasdi Merbah, Ouargla.
 34. **Gullan, P. J., & Cranston, P. S. (2014).** *The Insects: An Outline of Entomology* (5th ed.). John Wiley & Sons.
 35. **Halberstein R.A., Epidemiol A, (2005).** Medicinal plants: historical and cross-cultural usage patterns.

V. Références Bibliographiques

36. **Hodges, R. W. et al. (1983).** Check List of the Lepidoptera of America North of Mexico: Including Greenland. E. W. Classey Ltd.
37. **Huang Guangrong., Jiang Jiaxin.,and Dai Dehui. (2008).** Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala* S. Moore. *African Journal of Biotechnol.*7 (9): 1335-1338.
38. **Isman M.B (2005).** Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol*, N° 51, pp. 45- 66.
39. **Joa O.M., Vasconcelos. Artur M.S.S and Jose A.S.C. (1998).** Chromones and flavones from *Artemisia campestris*SubspMaritima. *Phytochemistry*. 49 (5): 1421- 1424
40. **Jürgen R., Paul .S., Ulrike S., and Reinhard S. (2009).** Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties– an Overview: *Forsch Komplementmed.*16: 79–90.
41. **Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004).** Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 123-140.
42. **Kempf S. Zeitouni. (2009).** Coût biologique de la résistance aux antibiotiques: analyse et conséquences *Pathologie Biologie : article in press.*
43. **Khebir S. (2011).** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de trois *Artemisia*. Mémoire pour l'obtention du diplôme magister. Batna
44. **Kheirddine H. (2013).** Comprimés de poudre de dattes comme support universelle des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie. Mémoire pour l'obtention du diplôme magister. Boumerdes.
45. **Khennouf S., Iratni N., Baghiani A., Harzallah D., Talbi M., Ainane T., Boriky D., Bennani L., Blaghen M. and Arrar L. (2010).** Laboratory of Phytotherapy Applied to Chronic Diseases, laboratory of Applied Biochemistry, laboratory of Applied Microbiology, Department of Biology, Faculty of Science, University Ferhat Abbas, Sétif, 19000, Algeria.
46. **Koffi ,E., Sea ., Dodehe Y. Soro S. (2010).** Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 2010. Vol. 5, Issue 3: 550- 558.
47. **Li Y, et al. (2007).** An enzyme-coupled assay for amido-transferase activity of glucosamine-6-phosphate synthase. *Anal Biochem* 370(2):142-6.
48. **Mabberley, D. J. (2017).** Mabberley's Plant-Book: A Portable Dictionary of Plants, Their Classification and Uses (4th ed.). Cambridge University Press.

V. Références Bibliographiques

- 49. Maisuthisakul P., Suttajit M., Pongsawatmmit R. (2007).** Assessment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some thai indigenous plants. *Food Chemistry*,100: 1409-1418.
- 50. Mansour Sadia, (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 doctorat. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf.
- 51. Mebarkia A. & Guechi A. (2004).** Protection Phytosanitaire Contre les Ravageurs des Céréales Stockées. Laboratoire de Microbiologie et de phytopathologie, Faculté des Sciences, UFA-Sétif.
- 52. Memmi A., Sansa G., Rjeibi I., El ayeb M., Srairi-Abid N., Bellasfer Z.,and Fekhih A. (2007).** Use of medicinal plants against scorpionic and ophidianvenoms. *Arch. Inst. Pasteur. Tunis.* 84 (1-4): 49-55.
- 53. Mighri H., Hajlaoui H., Akrouf A., Najjaa H., and Neffati M. (2010).** Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes Rendus Chimie*, 13(3): p380-386.
- 54. OMS, 2018 (Organisation mondiale de la santé).** L'OMS fournit des informations sur les maladies infectieuses dans le monde entier, y compris sur *Salmonella enterica* et ses implications pour la santé publique : [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))
- 55. Ould mohamed et chadli 2021.** Extraction et Activité biologique des huiles essentielles d'*Artemisia herba Alba* Asso et *Artemisia campestris* dans la Région de Tiaret. Université Ibn Khaldoun –Tiaret .Algérie ,p80.84.
- 56. Payne ND., 1966.** The differential effects of environmental factors Upon Mici bracon hebetor and its most *Ephestia kuehniella*. *Bull. Mar. Biol. Lab.*
- 57. Podschun, R., & Ullmann, U. (1998).** Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(4), 589-603.
- 58. Ramalakshmi K., Rahath Kubra I. et Jagan Mohan Rao L. (2008).** Antioxidant potential of low-grade coffee beans. *Food Research International.* 41: 96–103.
- 59. Ramezania, M., Fazli-Bazzaza B.S., Saghafi-Khademb F. and Dabaghiana A. (2004).** Antimicrobial activity of four *Artemisia* species of Iran. *Fitoterapia.* 75 : 201–203.

V. Références Bibliographiques

- 60. Rauter A.P., Branco I., TostaoZ ., Pais M.S., Gonzalez A.G et Bermejo J.B. (1989).** Flavonoids from *Artemisia campestris* Subsp Maritima. *Phytochemistry*. 28 (8): 2173-2175.
- 61. Romani A, et al. (2006).** Analysis of condensed and hydrolysable tannins from commercial plant extracts. *J Pharm Biomed Anal* 41(2):415-20.
- 62. Sanchez-Moreno, C. (2002).** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Food Sci Tech Int*, 8(3): 121-137.
- 63. Saoudi M., Allagui M.S., Abdelmouleh A., Jamoussi K., and El Feki A. (2010).** Protective effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* against puffer fish *Lagocephalus lagocephalus* extract-induced oxidative damage in rats. *Exp.Tox.Pathol.*62:601–605.
- 64. Scherer R. and Godoy H.T. (2009).** Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, vol. 112, no. 3, pp. 654-658. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.026>.
- 65. Sefi M., Fetoui H., Makni M., Najiba Zeghal N. (2010).** Mitigating effects properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Journal Of Food and Chemical Toxicology*, vol 48 : 1986-1993.
- 66. Veerapur V.P., Prabhakar K.R., Parihar V.P., Kandadi M.R., Rama-krishana S., Mishra B., Satish R., Srinivasan K.K., Priyadarsini K.I., Unnikrishnan M.K. (2009).** *Ficus racemosa* stem bark extract: A potent antioxidant and a probable natural radio protector. *Evid Based Compl Alter Med*. 2009; 6: 317-24.
- 67. Zekri, F. (2016).** Contribution à l'étude Des propriétés insecticides du Laurier Noble, *Laurus Nobilis* L. (Lauraceae), sur un insecte ravageur de denrées stockées, *Ephestia Kuchniella* (Lepidoptera, Pyralidae). Mémoire de master. Université de Les frères Mentouri. Constantine.
- 68. Zeller PC., 1879.** Lepidopterologische Bemerkungen. *Entomologische Zeitung* herausgegeben von dementomologischen vereine zu Stettin. 40 : 462-473.
- 69. Zouari S, Zouari N, Fakhfakh N, Bougatef A, Ayadi M.A, and 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*. Vol. 4(10); p 871-880.

Webographie

70. <https://phototheque.pasteur.fr/zoom/00000000001/34745.bro>
71. <https://phototheque.pasteur.fr/zoom/00000000003/37485.bro>
72. <https://www.medical-actu.com/cours/bacteriologie/klebsiella-enterobacter-serratia/>

VI. ANNEXES

ANNEXE 1

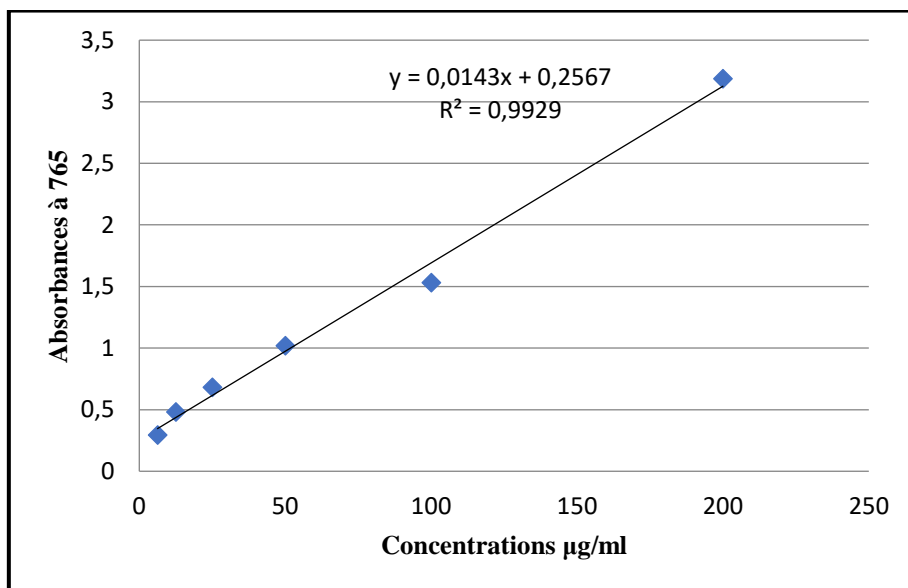


Figure 11. Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour dosage des phénols totaux

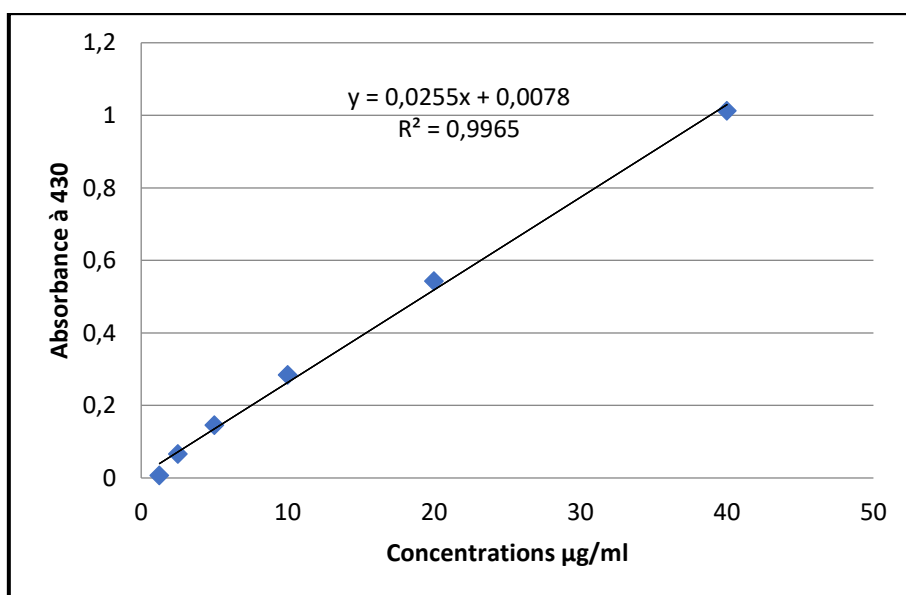


Figure 12. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour dosage des flavonoïdes.

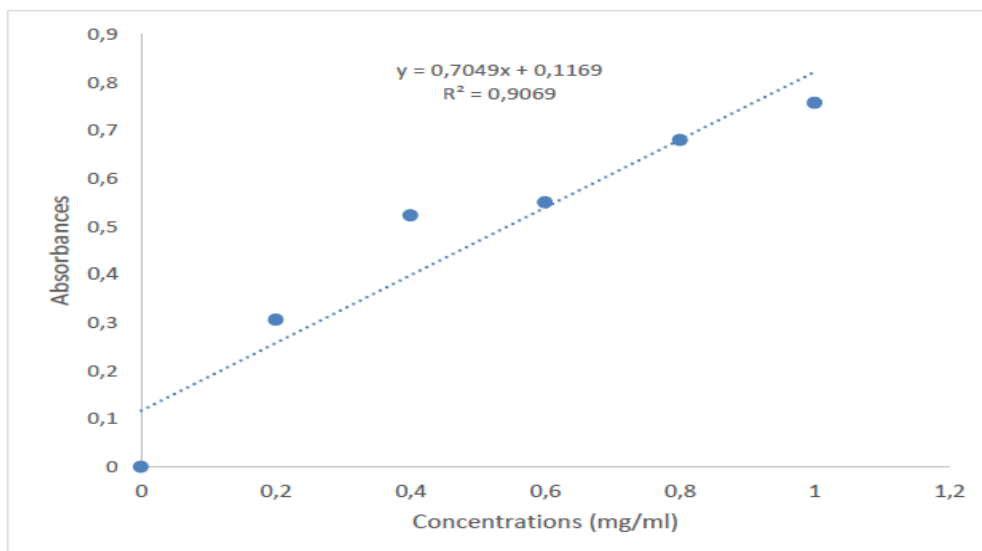


Figure 13. Courbe d'étalonnage de l'acide tannique pour dosage de tanin.

ANNEXE 2

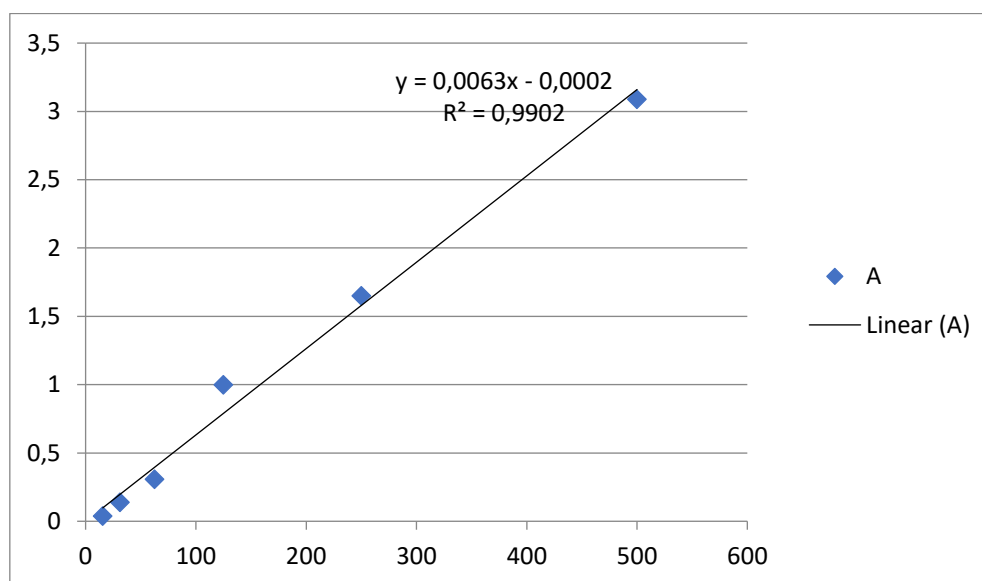


Figure 14. Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le CAT

Nom et prénom : MAHSAR Haithem

Nom et prénom : RAMOUL Abdelhakim

Nom et prénom : REMITA Amir

Titre : Etude des activités bio-insecticides, antibactériennes et antioxydantes des extraits de l'*Artemisia herba alba* Asso

Résumé : L'*Artemisia herba alba* est une plante médicinale appartenant à la famille des *Astéracées*, cette espèce connue sous le nom de « Chih », est très répandue et connue dans le Sud Algérien pour ses nombreuses vertus thérapeutiques. L'objectif principal de cette étude est d'explorer les propriétés phytochimiques de la plante par : l'extraction de l'huile essentielle (HE) par hydro-distillateur et l'extraction d'un extrait hydroalcoolique contenant du Ethanol/Eau distillée (70%:30%, V/V), un screening phytochimique (Phénols totaux, flavonoïdes et tanins), une étude d'activité antioxydante (DPPH et Capacité Antioxydante Totale -CAT-), un bio-essai insecticide sur le ravageur des denrées stockées l'*Ephestia kuehniella* et une étude d'activité antibactérienne contre 3 souches bactériennes de GRAM - (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Salmonella enterica*). Les résultats obtenus montrent que le rendement en huile essentielle est de 0.27% avec des caractères organoleptiques similaires de l'AFNOR (1999) (aspect liquide mobile, couleur jaune clair, odeur rafraîchissante et pénétrante et un goût naturel doux), le rendement en extrait éthanolique est de 13.75% avec des valeurs de 35.028±2.497 mg EAG/g des phénols totaux, 6.024±0.070 mg EQ/g des flavonoïdes et 0.307±0.155 mg EAT/g des tanins. Les tests de CAT et de DPPH de l'HE et de l'extrait éthanolique montrent une bonne activité antioxydante avec des valeurs de CAT de 40.603±0.113 et 25.921±0.603 mg/ml pour l'HE et l'extrait éthanolique respectivement, et des valeurs de DPPH de 0.133±0.001 et 0.170±0.001 mg/ml pour l'HE et l'extrait éthanolique respectivement. L'évaluation de l'activité bio-insecticide sur l'*Ephestia kuehniella* avec différentes concentrations d'extrait éthanolique (0.002, 0.01, 0.02, et 0.04 g/mL) et d'HE (0.3, 0.6, 1, 1.5 et 2.5 µL) appliquées par fumigation sur 10 adultes répliqués trois fois pendant 8 heures montre les doses létales suivantes : chez l'extrait éthanolique avec DL₁₀= 0.36µL, DL₂₅= 0.575µL, DL₅₀= 0.95µL et DL₉₀= 2.63µL et les doses létales d'HE avec DL₂₅= 0.00299 g/mL, DL₅₀= 0.0083 g/mL et DL₉₀= 0.0675 g/mL. L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique d'*Artemisia herba alba* a montré une activité très importante sur l'*Escherichia coli* (Très sensible ++ ; 17.5 mm), importante sur la *Salmonella enterica* (Sensible + ; 13 mm) et aucune activité sur la *Klebsiella pneumoniae* (Résistante - ; 7.5 mm). Par contre l'HE de la plante montre une activité très importante sur la *Klebsiella pneumoniae* (Très sensible ++ ; 15 mm), une activité importante sur la *Salmonella enterica* (Sensible + ; 13.5 mm), et aucune activité sur l'*Escherichia coli* (Résistante - ; 6.5 mm). Finalement, ces résultats suggèrent que l'extrait éthanolique et l'HE de l'*Artemisia herba alba* pourrait être utilisé comme une alternative naturelle et efficace aux produits chimiques couramment utilisés en agriculture pour le contrôle des ravageurs des denrées stockées, ainsi que des antioxydants synthétiques et des antibactériens spécifiques pour des applications médicales. Cette étude ouvre la voie à de futures recherches pour optimiser l'utilisation de cette plante dans divers domaines.

Mots clé : *Artemisia herba alba*, activité antibactérienne, bio-insecticide, antioxydante, extrait éthanolique, huile essentielle, *Ephestia kuehniella*.