



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun de Tiaret
Faculté des Sciences de la Nature et de la vie
Département des Sciences de la nature et de vie

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique
Domaine : Science de la nature et de vie
Filière : Biologique
Spécialité : Toxicologie et sécurité sanitaire des aliments

THEME :

**Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne des extraits de feuilles de
Laurus nobilis L.**

Présenté par :

CHEHBI Amina

CHAHMANI Hadja

BOULAKHRAS Amina

Membres du jury :

Président : M^f YEZLI W. MA (A)

Promotrice: M^{lle} Miliani A.

Examineur : M^f YAZIT S A. MA (A)

Année universitaire : 2016-2017

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier le Bon Dieu tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail, فاللهم لك الحمد كما ينبغي لجلال و جهك و عظيم سلطانك

Nous avons le plaisir de présenter notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre promotrice M^{elle} Miliani pour avoir encadrée et dirigée ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils et soutien tout au long de notre travail.

C'est un honneur pour nous que M^r YEZLI et M^r YAZIT aient accepté de bien vouloir juger la qualité de notre travail. Nous leurs présentons nos remerciements les plus respectueux.

Nos remerciements vont également au personnel des laboratoires de la faculté de sciences de la nature et de la vie pour leurs sincères collaborations scientifiques, leurs qualités humaines et leurs encouragements.

Nous tenons à exprimer notre vive gratitude à tous les enseignants qui ont participé de pré ou de loin à notre formation au cycle universitaire.

Nos remerciements également à tout ceux qui ont prêté main pour la mise au point de ce travail.

Dédicace :

Nous dédions affectueusement ce modeste travail :

A nos chers parents notre source de tendresse et de courage qui ont toujours été là pour nous, et qui nous ont donnés un magnifique modèle de labeur et de persévérance ; pour leur endurance et leur sacrifices sans limites. Nous espérons qu'ils trouveront dans ce travail toutes nos reconnaissances et tout notre amour, nous demandons à Dieu de les protéger et les réserver une long vie ;

A nos frères, sœurs, nièces et neveux, en témoignage de nos profonds respects et amour et de leurs soutien moral et encouragements permanents ;

A tous ceux qui ont contribué un jour à notre éducation. A tous ceux qui nos consacré temps, patience et conseils ont nous su guider vers la réussite ; surtout dans les moments difficiles.

A tous nos amies et tous ceux qui nos chers.

A la promotion du master 2 de toxicologie et sécurité sanitaire des aliments 2017.

A tous ceux qui nous ont aidées dans la réalisation de ce mémoire.

Amina, Hadja, Amina

Table de matière

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale	01
-----------------------------	----

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

1.1. Matériel.....	03
1.1.1. Instruments et réactifs.....	03
1.1.2. Matériel biologique.....	03
1.1.2.1. Matériel végétal.....	03
1.1.2.2. Matériel microbiologique	03
1.2. Méthodes	03
1.2.1. Détermination du taux d'humidité	04
1.2.2. Etude des composés volatiles	05
1.2.2.1. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation	05
1.2.2.2. Calcul du rendement en huile essentielle	06
1.2.3. Etude des composés non volatils	06
1.2.3.1. Extraction à froid par macération dans l'eau	06
1.2.3.2. Extraction à froid par macération dans l'éthanol.....	06
1.2.3.3. Détermination du rendement en extraits.....	06
1.2.4. Screening phytochimique des métabolites	07
1.2.4.1. Recherche des flavonoïdes.....	07
1.2.4.2. Recherche des alcaloïdes.....	07
1.2.4.3. Recherche des tanins.....	07
1.2.4.4. Recherche des saponosides.....	08
1.2.5. Evaluation du pouvoir antimicrobien des extraits	08
1.2.5.1. Souches microbiennes étudiées	08
1.2.5.2. Les milieux de culture utilisés	08
1.2.5.3. Technique en milieu solide (Méthode des aromatogrammes)	09
1.2.5.3.1. Principe	09
1.2.5.3.2. Mode opératoire	10

1.2.5.3.2.1. Préparation des disques	10
1.2.5.3.2.2. Préparation des précultures	10
1.2.5.3.2.3. Préparation des suspensions bactérienne	10
1.2.5.3.2.4. Ensemencement	10
1.2.6. Etude statistique.....	11

Chapitre 2 : Résultats et discussion

2.1. La teneur en eau	12
2.2. Etude des composés volatils	12
2.2.1. Extraction et rendement en huile essentielle.....	12
2.2.2. Extraction de l'huile essentielle dissoute dans l'hydrolat	13
2.2.3. Caractéristiques organoleptiques.....	13
2.3. Etude des composés non volatiles	13
2.3.1. Caractéristiques des extraits et rendement	13
2.4. Screening phytochimique	13
2.5. Etude de l'activité antimicrobienne de <i>Laurus nobilis</i>	14
2.5. 1. Etude de l'activité antibactérienne de <i>Laurus nobilis</i>	14
2.5. 2. Etude de l'activité antifongique de <i>Laurus nobilis</i>	16
Conclusion	21
Références bibliographiques.....	23

Annexes

Liste des figures

Figure 1.1 : Feuilles de <i>Laurus nobilis</i> L. (Originale).....	03
Figure 1.2 : Montage de l'hydrodistillation (Originale).....	05
Figure 1.3 : Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîte de Pétri [14].....	09
Figure 2.1 : Teneur en eau des feuilles sèches de <i>Laurus nobilis</i> L.....	12
Figure 2.2 : Activité antibactérienne de différents extraits de <i>Laurus nobilis</i> sur les différentes souches microbienne.....	15
Figure 2.3 : Pourcentage d'inhibition des extraits de <i>Laurus nobilis</i> sur <i>Aspergillus niger</i>	16
Figure 2.4 : Aromatogramme des HE, HY, ETH et EAQ sur <i>E.coli</i> (Originale).....	18
Figure 2.5 : Aromatogramme des HE, HY, ETH et EAQ sur <i>S.aureus</i> (Originale).....	19
Figure 2.6 : Aromatogramme des HE, HY, ETH et EAQ sur <i>P.aeruginosa</i> (Originale)....	20
Figure 2.7 : Aromatogramme des HE, HY, ETH et EAQ sur <i>A.niger</i> (Originale).....	21

Liste des Tableaux

Tableau 1.1 : Caractéristiques des souches microbiennes testées	08
Tableau 2.1: Propriétés organoleptiques d'huile essentielle et d'hydrolat.....	13
Tableau 2.2: Propriétés organoleptiques de l'extrait aqueux et l'extrait éthanoliques.....	13
Tableau 2.3: Criblage phytochimique de <i>Laurus nobilis</i> L.....	14

Liste des abréviations

ATCC : American type culture collection.

EAQ : extrait aqueux.

E c : *Escherichia coli*.

ETH : extrait éthanolique.

FeCl₃: Chlorure de fer.

GN : Gélose Nutritif.

Gram - : Gram négatif.

Gram +: Gram positif.

HCl : Acide chlorhydrique.

HE: huile essentielle.

HY: hydrolat.

MH: Muller Hinton.

mm: Millimètre.

MS : Milieu Sabouraud.

Ms : matière sèche.

Pa : *Pseudomonas aeruginosa*.

R: Rendement.

Sa : *Staphylococcus aureus*.

° C: Degré Celsius.

µl: microlitre.

%: Pourcentage.

Introduction

Introduction

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques a conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse [1].

En nous reposant exclusivement sur les antibiotiques chimiques, nous perdons le combat contre les maladies infectieuses. Pour éviter une catastrophe imminente nous devons nous tourner vers la phytothérapie et l'aromathérapie qui ont de nombreuses solutions à proposer.

Les plantes aromatiques, médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies chez les êtres vivants et en particulier l'homme.

En fait, leurs propriétés biologiques et thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs qui sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante [1].

Les plantes aromatiques ont l'aptitude à synthétiser de nombreux métabolites secondaires en réponse aux stress biotiques et abiotiques qu'ils peuvent subir. Ces métabolites secondaires posséder diverses propriétés biologiques. Les huiles essentielles ou essences, font partie de ce groupe de métabolite avec les alcaloïdes et les phénols [2].

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée [1]. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve la plante de *Laurus nobilis* L.

Ce travail vise à étudier l'activité antimicrobienne des extraits de feuilles de *Laurus nobilis* L. et la caractérisation phytochimique de ces extraits. *Laurus nobilis* appartient à la famille des lauracées. Elles sont parmi les familles de plantes les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à qualité médicale intéressante.

Notre manuscrit est scindé en deux chapitres :

- Chapitre 1 : Nous avons exposé la méthodologie et les protocoles expérimentaux suivis au cours de notre travail (la teneur en eau des feuilles, les extractions des feuilles, screening photochimique, et le teste antimicrobien).

- Chapitre 2 : nous avons présenté les résultats obtenus d'après notre recherche avec leurs interprétations.

Nous avons terminé notre mémoire par une conclusion générale dans laquelle nous avons fait le bilan de notre travail, des perspectives sont aussi exposées en vue de poursuivre et d'améliorer les travaux déjà réalisés.

Chapitre 1
Matériel et méthodes

1.1. Matériels

1.1.1. Instruments et réactifs : (Annexe A: Tableau A₁)

1.1.2. Matériel biologique

1.1.2.1. Matériel végétal

Notre étude a porté sur une plante aromatique *Laurus nobilis*, communément appelée laurier noble.

Les feuilles de *Laurus nobilis* L. ont été récoltées dans la région d'ouest de la wilaya de Sétif. Les échantillons séchés sont broyés dans un broyeur électrique puis mis dans des bocaux hermétiques et conservés à température ambiante.



Figure1.1: Feuilles de *Laurus nobilis* L. (Originale)

1.1.2.2. Matériel microbiologique

Les souches utilisées pour l'évaluation du pouvoir antimicrobien regroupent trois souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) et un champignon filamenteux (*Aspergillus niger*)

Les souches utilisées proviennent du laboratoire de microbiologie de l'université Ibn Khaldoun -TIARET- .

1.2. Méthodes

Nos essais expérimentaux se sont étalés sur une durée de deux mois et demi (15 février 2017 à 30 avril 2017). Ils ont été réalisés au niveau des laboratoires de microbiologie, de Biochimie, de Technologie alimentaire et d'amélioration des plantes, du département des Science de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

1.2.1. Détermination du taux d'humidité

Le taux d'humidité a été déterminé par le procédé de dessiccation à une température de 105° C dans une étuve isotherme ventilée à la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'un poids constant [3].

$$T\% = (X - Y / X) .100$$

X : Poids de l'échantillon ;

Y : Poids de l'échantillon après déshydratation ;

T% : Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

Pour plusieurs mesures, on calcule l'humidité moyenne :

$$T\%_{\text{Moy}} = (T_1 \% + T_2 \% + \dots + T_n \%) / n$$

n : Nombre totale d'échantillon ;

Moy. : Moyenne ;

T₁% : Humidité de l'échantillon N° 1;

T_n% : Humidité de l'échantillon N°2.

1.2.2. Etude des composés volatiles

1.2.2.1. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

L'extraction de l'huile essentielle de la partie aérienne de la plante (feuilles sèches) a été effectuée par hydrodistillation .Le montage utilisé est présenté dans la figure 2.1.

La procédure d'extraction se résume à porter à ébullition une quantité de 100 g de matériel végétal frais pendant 3 h avec 700 ml d'eau distillée dans un ballon de 1 litre.

La vapeur condensée obtenue conduit à deux phases :

- Une phase organique (huile essentielle) qui est séparée de l'eau par simple décantation. La quantité d'HE obtenue est pesée pour le calcul du rendement.
- Une phase aqueuse (eau aromatique ou hydrolat) qui contient une quantité non négligeable d'essence sous forme solubilisée. La récupération de cette huile est réalisée par extraction liquide-liquide avec un solvant organique (éther diéthylique).

L'utilisation d'un évaporateur rotatif permet d'éliminer l'éther et d'obtenir ainsi l'HE dissoute dans l'hydrolat.



Figure 1.2 : Montage de l'hydrodistillation (Originale).

1.2.2.2. Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement de l'huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée [4].

Le rendement, exprimé en pourcentage, est calculé par la formule:

$$\text{RHE} = (\text{MHE} / \text{MMV}) \times 100$$

RHE : Rendement de l'huile essentielle en pourcentage ;

MHE : Masse de l'huile essentielle en gramme ;

MMV : Masse de la matière végétale en gramme.

1.2.3. Etude des composés non volatils

1.2.3.1. Extraction à froid par macération dans l'eau

➤ Mode opératoire

La poudre de feuilles (200 g) est mise à macérer à température ambiante dans l'eau distillée (2 L) pendant 24 heures. Après décantation du mélange, l'extrait hydrique est récupéré par filtration sur papier Wattman. Le filtrat obtenu est immédiatement congelé à - 4° C puis séché à l'étuve.

Les résidus ont été récupérés dans des flacons en verre hermétiquement fermé et conservé à - 4°C jusqu'à leur utilisation où ils sont reconstitué avec de l'eau distillée aux concentrations voulues [5].

1.2.3.2. Extraction à froid par macération dans l'éthanol

➤ Mode opératoire

100g de la poudre végétale sont agités vigoureusement à l'agitateur dans 1,5 L d'éthanol 70%, filtrés sur coton hydrophile. Ce filtrat subit une décantation pendant 24h, la phase hydro alcoolique est isolée du dépôt résiduel filtrée sur papier filtre wattman N°1 et séché à l'étuve à 40°C. La poudre Obtenue est l'extrait hydro alcoolique ou extrait éthanolique 70% [6].

1.2.3.3. Détermination du rendement en extraits

Le rendement de l'extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé via l'équation :

$$R(\%) = (Me / Mv) \times 100$$

R(%) : Rendement en % ;

Me :Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant ;

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction [7].

1.2.4. Screening phytochimique des extraits

Dans le but de caractériser les extraits préparés à partir des feuilles de *Laurus nobilis* L., des analyses qualitatives ont été effectuées .Cette étude permet de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques (Les tanins, alcaloïdes, flavonoïdes, les saponosides) dans nos extraits.

Nous avons caractérisé les différents groupes chimiques en nous référant aux techniques décrites dans les travaux de de Ronchetti et Russo (1971), Hegnauer (1973), Wagner (1983), Békro et al. (2007) [07] [08][09][10].

1.2.4.1. Recherche des flavonoïdes

Dans un tube à essai, introduire 5 ml d'infusé et ajouter 5 ml d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95%, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volume) puis quelques copeaux de zinc ou de magnésium et 1 ml d'alcool isoamylique.

L'apparition d'une coloration : rose orangée (flavones), rose violacé (flavonones) ou rouge (flavonols, flavanonols) rassemblé dans la couche surnageant d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavonoïques, négative avec les chalcones, les dihydrochalcones , les aurones , les catéchines et les isoflavones [11].

1.2.4.2. Recherche des alcaloïdes

Introduire 6 ml de filtrat dans un tube à essais .Le résidu est repris par 6 ml d'alcool à 60°C. L'addition de 2 gouttes du réactif de Dragendorff (réactif à l'iodo-bismuthate de potassium) sur la solution alcoolique. En présence d'alcaloïde, le réactif de dragendorff , donne un précipité rouge-orange [12].

1.2.4.3. Recherche des tanins

La recherche des tanins s'est réalisée à partir du réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40% plus 5 ml de HCL concentré). 5 ml de l'extrait a été évaporé à sec. Après ajout de 15 ml du réactif de Stiasny au résidu, le mélange a été maintenu au bain-marie à 80°C pendant 30 min. L'observation d'un précipité en gros flocons a caractérisé les tanins [12].

1.2.4.4. Recherche des saponosides

Dans un tube à essais, introduire 10 ml de l'extrait total aqueux. Le tube était agité pendant 15 seconde puis laissé au repos durant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indiquait la présence de saponosides [12].

1.2.5. Evaluation du pouvoir antimicrobien des extraits

1.2.5.1. Souches microbiennes étudiées

Trois bactéries (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) et un champignon (*Aspergillus niger*) ont été choisis pour leurs fréquences élevées dans les contaminations humaines. Des souches microbiennes référencées ATCC (American Type Culture Collection) ont été utilisées (Tableau 1.1).

Tableau 1.1 : Caractéristiques des souches microbiennes testées

Souches de références	Gram	ATCC
<i>Escherichia coli</i>	-	25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	27853
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	25923
<i>Aspergillus niger</i>	/	BDB5

1.2.5.2. Les milieux de culture utilisés

La gélose nutritive et la gélose Mueller Hinton sont employées pour tester l'activité antibactérienne des souches sélectionnées. Le milieu Sabouraud est utilisé pour le champignon filamenteux.

1.2.5.3. Technique en milieu solide : Méthode des aromatogrammes

1.2.5.3.1. Principe

La méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobienne en milieu solide dans un boîte de pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition [13] (Figure 1.3).

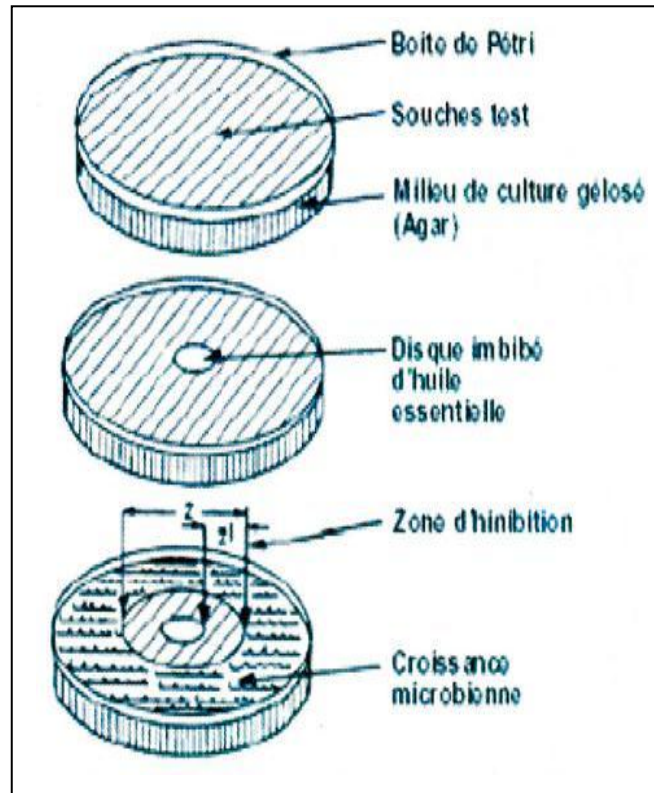


Figure 1.3: Illustration de la méthode des aromatochromes sur boîte de Pétri [14].

Ils ont classé le pouvoir antimicrobien, en fonction des diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne en 04 classes :

- ✓ Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm ;
- ✓ Sensible (+): diamètre entre 9 à 14mm ;
- ✓ Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm ;
- ✓ Extrêmement sensible (+++): diamètre >20mm [15].

1.2.5.3.2. Mode opératoire

1.2.5.3.2.1. Préparation des disques

Les disques sont préparées à partir du papier filtre de 6 mm de diamètre, ensuite elles sont mises dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave 15 minutes à 120°C, puis stockés à une température ambiante dans des tubes à essai hermétiquement fermés.

1.2.5.3.2.2. Préparation des précultures

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive et incubées pendant 24 h à 37°C afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées ou à 30°C pendant 24-48h pour les champignons.

1.2.5.3.2.3. Préparation des suspensions bactérienne

A l'aide d'une pipette pasteur nous avons prélevés quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ; et sont été mises dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% de sel (NaCl) ; pour obtenir une densité optique de 0.5 Mc Farland pour chaque microorganisme. La suspension bactérienne est bien homogénéisée et laisser sur la paillasse pendant 30 minute [16].

1.2.5.3.2.4. Ensemencement

- **Test antibactérien**

15 ml de la gélose (Mueller Hinton) est coulé dans des boîtes de Pétri. Après le refroidissement et solidification du milieu de culture sur la paillasse, 300µl de suspension bactérienne à tester sont étalés en surface de gélose pour chaque boîte par la méthode de versement d'une tapis puis on laisse sur la paillasse pendant 30 minute.

A l'aide d'une pince stérile, nous prélevons un disque stérile, nous l'imbibons avec 10µl des différents solutions des extraits du *Laurus nobilis* (**ETH : 10%, EAQ : 10%, HE et HY : pure**). Nous déposons le disque sur la surface de la gélose (1disque/boîte), puis nous laissons diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes. Nous incubons à 37°C pendant 18 heures. Le témoin est réalisé dans les mêmes conditions sans extraits [17].

- **Test antifongique**

Une quantité de (500 µl de l'huile essentielle ,500µl de l'hydrolat,5 ml de l'extrait éthanolique à 10%et 5ml de l'extrait aqueux à 10%) est incorporée séparément dans des boîtes de Pétri contenant 15 ml du milieu Sabouroud. Un disque mycélien de 5 mm de diamètre prélève de la culture jeune du mycète a été inoculé. La lecture des résultats a été effectuées après 72 h d'incubation à (28±2) °C par mesure du diamètre de la zone de croissance. Parallèlement, nous avons déterminé le diamètre de la zone de croissance de cette même souche fongique en absence d'extrait [17].

L'effet antimicrobien des extraits sur la croissance des souches filamenteuses est déterminé par la mesure du taux d'inhibition de la croissance en utilisant la formule d'Ebbot :

$$T = (D_k - D_0) / D_k \times 100$$

D_k : Diamètre de la colonie fongique du témoin (en mm) ;

D_0 : Diamètre de la colonie fongique en présence de l'extrait (en mm) ;

T : Taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage.

1.2.6. Etude statistique

Pour mieux valoriser nos résultats, nous avons procédé à l'analyse de la variance ANOVA. Cette méthode statistique permet de comparer les moyennes de plusieurs échantillons supposés indépendants à l'aide du logiciel SPSS 19. L'analyse de la variance est suivie par le teste NEWMAN et KEULS qui permet de distinguer les groupes homogènes en comparant les probabilités de la manière suivante :

Si $p > 0.05$: résultat non significatif.

Si $p < 0.05$: résultat significatif.

Chapitre 2

Résultats et Discussion

2.1. Taux d'humidité

Les végétaux sont riches en eau, les plantes fraîches renferment 60 à 80 % d'eau. Pour assurer une bonne conservation, la teneur en eau doit être inférieure ou égale à 10 % [18].

Dans notre travail nous avons utilisé la méthode pondérale pour déterminer la teneur en eau dans la poudre des feuilles sèches de la plante *laurus nobilis L.* C'est la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve. Les résultats de cette analyse ont révélé un taux d'humidité $5,29\% \pm 0,415$; inférieure à 10% qui confère à notre poudre une meilleure conservation à long terme.

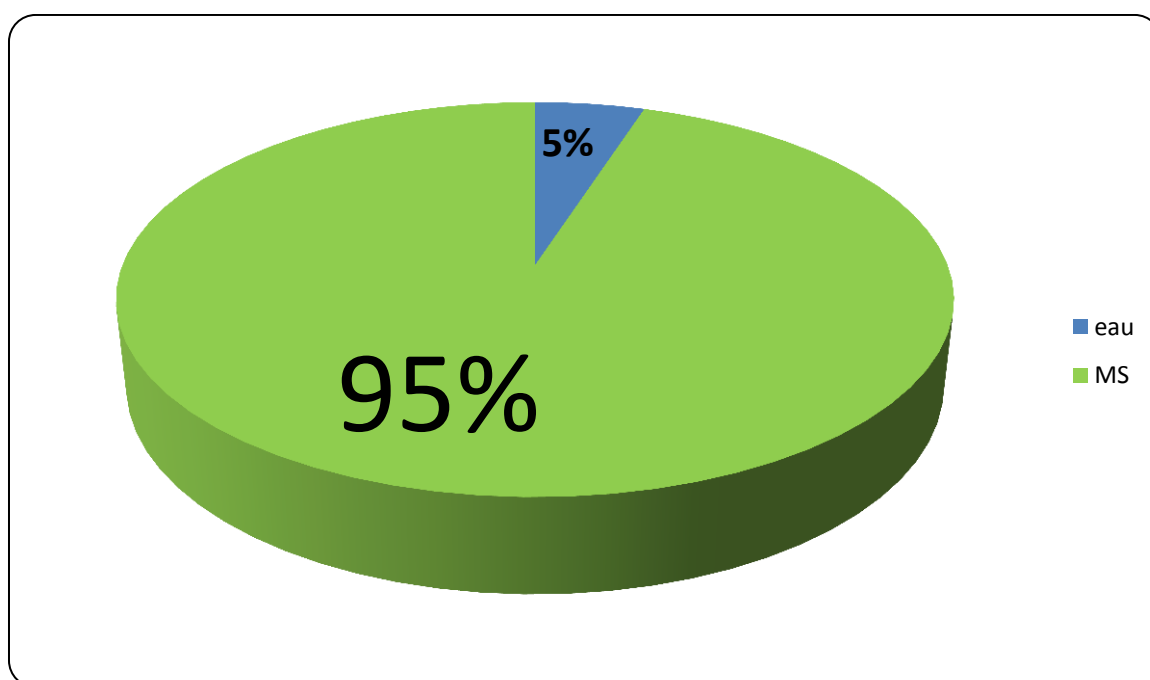


Figure 2.1: Teneur en eau des feuilles sèches de *Laurus nobilis L.*

2.2. Etude des composés volatils

2.2.1. Extraction et rendement en huile essentielle

Le rendement d'huile essentielle de feuilles sèches de *Laurus nobilis* est de 0.60 %. Ce rendement en HE est relativement inférieur à ceux observés par OUIBRAHIM A (2015) ; HADOUCHI F (2007) et KAHOU LI I (2010) [2] [19] [20].

Ces fluctuations de rendements peuvent s'expliquer par la différence des lieux et des saisons de récolte du matériel végétal utilisé [21].

2.2.2. Extraction de l'huile essentielle dissoute dans l'hydrolat (HY)

Les hydrolats sont les eaux récoltées lors de la distillation des plantes pour en faire de l'huile essentielle. Ils contiennent des infimes proportions d'huile essentielle en plus de nombreux extraits hydrosolubles de la plante, qu'on ne retrouve pas dans l'huile.

A partir d'un litre d'eau aromatique (hydrolat), nous avons récupéré une quantité de 3.4 g d'huile essentielle, ce qui correspond rendement de 0.34%.

2.2.3. Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques d'HE et d'HY sont résumées dans le tableau 2.1

Tableau 2.1: Propriétés organoleptiques d'huile essentielle et d'hydrolat.

Extraits	HE	HY
Aspect	Liquide limpide	Liquide
Couleur	jaune très pâle à jaune	incolore à jaune pâle
Odeur	Aromatique, épicée	Aromatique, fraîche

2.3. Etude des composés non volatiles

2.3.1. Caractéristiques des extraits et rendement

Les caractéristiques organoleptiques d'EAQ et d'ETH sont résumées dans le tableau 2.2.

Tableau 2.2: Propriétés organoleptiques de l'extrait aqueux et l'extrait éthanoliques.

Extraits	EAQ	ETH
Aspect	Pate collante	Pate collante
Couleur	Marron jaunâtre	Vert foncée
Rendement	12,8%	13,6%

L'extrait éthanolique de *Laurus nobilis* représente le rendement le plus élevé (13.6 %) en comparaison avec l'extrait aqueux (12,8%). Il est difficile de comparer les résultats avec ceux de la bibliographie, le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée. La méthode d'extraction affecte également tout le contenu total en phénols et flavonoïdes et l'activité antioxydante [22].

2.4. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante par des réactions qualitatives de caractérisation en tube.

Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques.

Les résultats de ce criblage phytochimique sont reportés dans le Tableau 2.3, il révèle la présence ou l'absence d'un groupe de métabolites secondaires par des signes la présence (+), l'absence(-).

Tableau 2.3: Criblage phytochimique de *Laurus nobilis* L.

Métabolites secondaires	Résultats des réactions en tubes
Flavonoïdes	+
Tanins	+
Saponosides	+
Alcaloïdes	+

Le test phytochimique réalisé sur la partie aérienne de *Laurus nobilis* L., a révélé la présence des alcaloïdes, les saponosides, des flavonoïdes et tanins. Les résultats obtenus à l'issue du criblage phytochimique corroborent avec ceux de GUEDOUARI R (2012) [21].

2.5. Etude de l'activité antimicrobienne de *Laurus nobilis*

2.5. 1. Etude de l'activité antibactérienne de *Laurus nobilis*

L'évaluation de l'activité antibactériennes de différents extraits de feuilles de *Laurus nobilis* L. a été effectuée par la méthode de diffusion sur gélose (Figure 2.2 ; 2.4 ; 2.5 et 2.6)

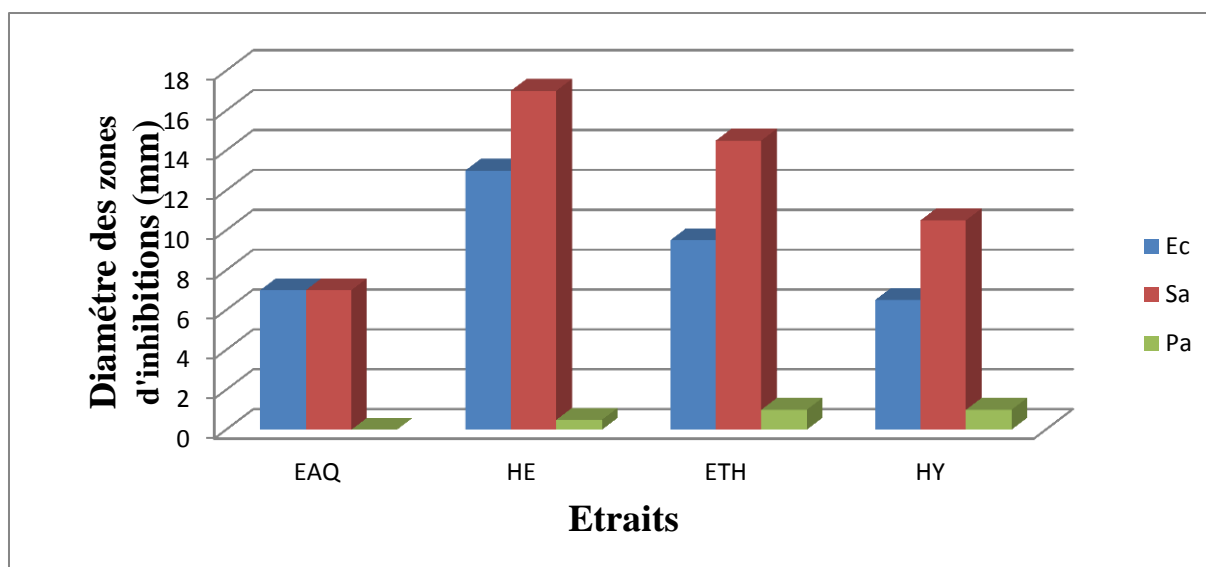


Figure 2.2 : Activité antibactérienne de différents extraits de *Laurus nobilis* sur les différentes souches microbienne

L'effet antibactérien se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné de l'extrait étudié. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une souche à une autre et d'un extrait à un autre.

L'interprétation de nos résultats s'est faite par la comparaison avec ceux de l'échelle de mesure mises en place par PONCE et *al.*, (2003) [15].

Au regard de ces résultats, nous constatons que *Staphylococcus aureus* apparait la souche la plus sensible vis-à-vis des quatre extraits testés, ce qui est confirmé par le travail de YAKHLEF (2010) qui a montré que la souche de *Staphylococcus aureus* à gram positif est plus sensible que les autres souches bactériennes testées à gram négatif vis-à-vis des extraits de *Laurus nobilis* [05].

En ce qui concerne la souche *E. coli* a été sensible vis-à-vis de l'huile essentielle et de l'extrait éthanolique avec des diamètres d'inhibition respectivement de 13 mm et 9.5 mm.

Plusieurs études ont eu pour objet la détermination du pouvoir antimicrobien de certaines extraits de *Laurus nobilis*, on cite celles de YAKHLEF (2010), HADDOUCHI *et al.*, (2008), GOUMNI et SALHI (2013) qui ont tous révélé une importante activité de ces extraits surtout les huiles essentielles [05][02][17].

Les extraits de *Laurus nobilis* montrent une activité antimicrobienne sur toutes les souches testées. Toutefois aucun effet n'a été observé sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Par contre l'étude faite par GUEDOUARI R (2012) montre que la souche de *P.aeruginosa* est légèrement résistante à l'égard d'huile essentielles de feuilles de *Laurus nobilis* avec une zone d'inhibition de 12 mm [21].

La résistance de *Pseudomonas aeruginosa* est due a sa capacité de former une organisation complexe, composée de différentes strates appelés biofilm. Il est établi que le traitement de telles bactéries nécessite des concentrations élevées d'agents antimicrobiens [23].

L'analyse statistique (Annexe D) montre que l'interaction des variables étudiées (nature de l'extrait et souche bactérienne) ont un effet significatif sur la zone d'inhibition. Le test de Nweman Keys nous a permis de classer ces variables selon leurs pouvoirs antimicrobiens comme suit :

- Nature des extraits testées HE > ETH > EAQ= HY
- Souche bactérienne Sa > Ec > Pa

L'activité antibactérienne des extraits de *Laurus nobilis* L. pourrait être expliquée par la présence de différents constituants chimiques notamment les huiles essentielles, les flavonoïdes et les triterpénoïdes ainsi que les alcaloïdes, qui sont classifiés comme composés antibiotiques très actifs [24] [25].

2.5. 2.Etude de l'activité antifongique de *Laurus nobilis*

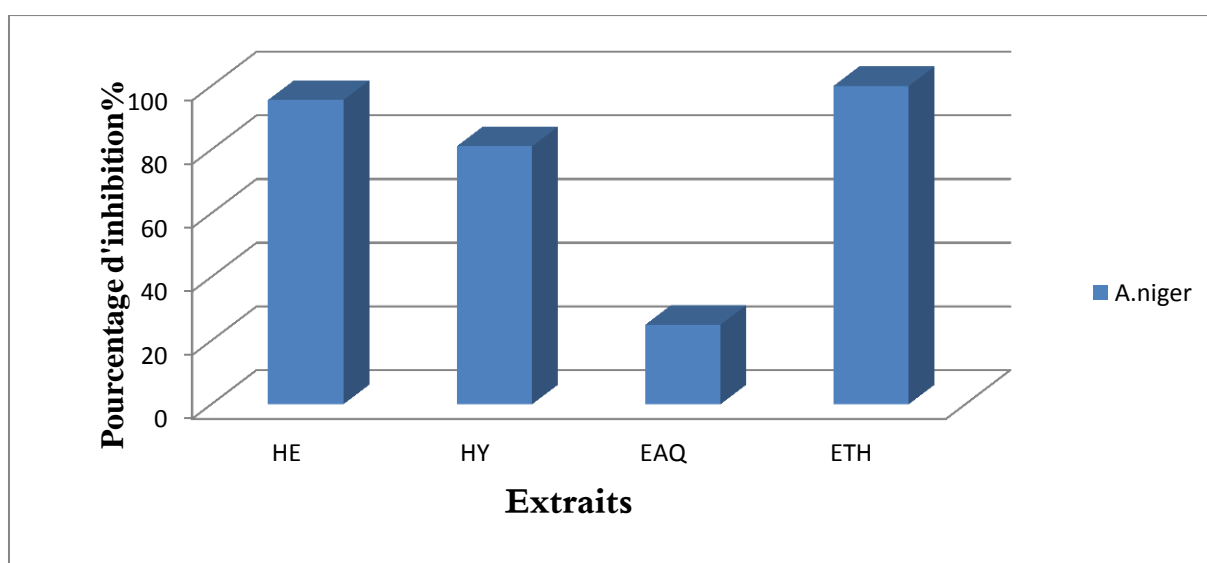


Figure 2.3 : Pourcentage d'inhibition des extraits de *Laurus nobilis* sur *Aspergillus niger*

L'étude de l'activité antifongique des extraits de feuilles du *Laurus nobilis* L. a été réalisée sur une souche d'*Aspergillus niger* par la méthode de contact direct en milieu gélosé (Sabouraud).

L'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne. Le test de l'analyse de Variance (Annexe D) montre que l'effet de différents extraits a une différence significative ($P \leq 0.005$) sur la croissance mycélienne du *Aspergillus niger*.

Les résultats du pourcentage d'inhibition des extraits de *Laurus nobilis*, déterminés à partir des diamètres des zones d'inhibition (figure 2.3), montrent que l'hydrolat, l'huile essentielle et l'extrait éthanolique exercent une activité inhibitrice sur la souche *Aspergillus niger* testée avec un pourcentage d'inhibition respectivement de 81,03%, 95,57 % et 100%.

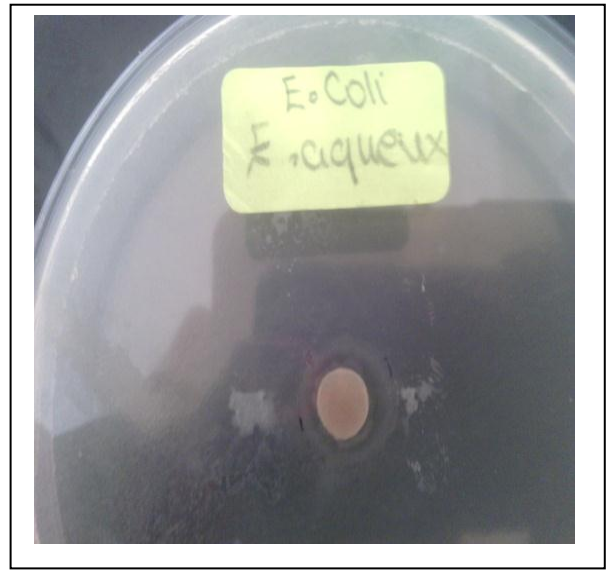
L'utilisation de l'éthanol comme témoin nous a permis de déduire que l'effet inhibiteur est dû à l'éthanol et non pas à l'extrait éthanolique.

Au regard de ces résultats, nous constatons que les extraits volatils sont plus actifs que les extraits non volatils. Cette différence peut être à l'origine de la composition chimique différente entre les différents extraits.

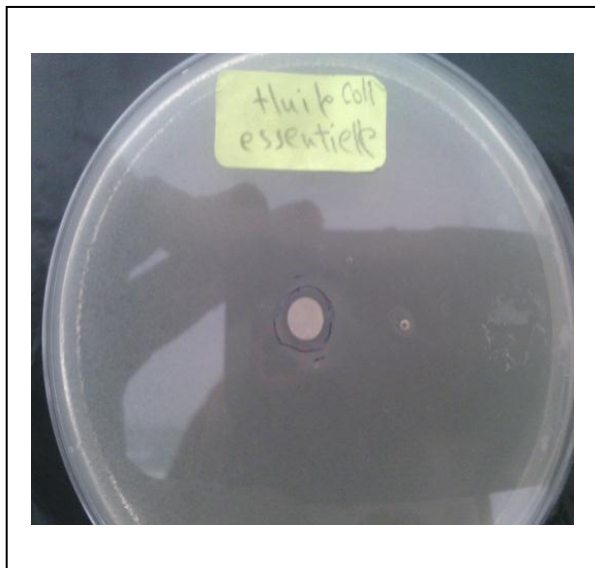
Pour cela nous pouvons conclure que l'activité antimicrobienne des extraits dépend non seulement des composés phénoliques mais, aussi de la présence de différents métabolites secondaires à effet antifongique tels que les stéroïdes, les saponosides et les huiles essentielles qui ont par ailleurs déjà été signalés par plusieurs auteurs [26] [27] [28].



ETH



EAQ



HE

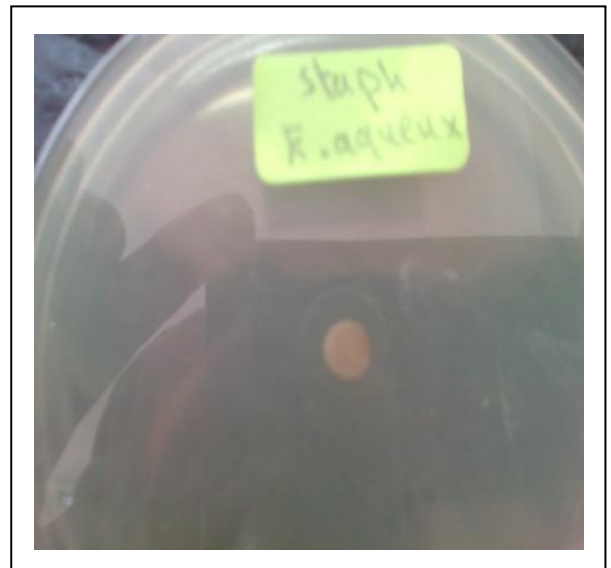


HY

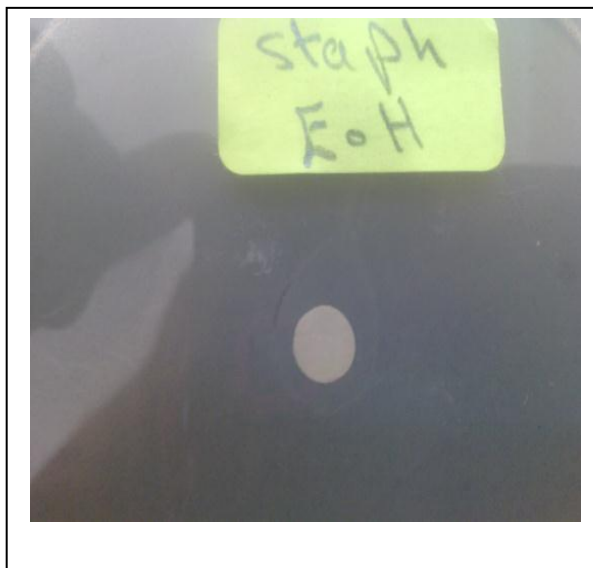
Figure 2.4 : Aromatogramme des HE, HY, ETH et EAQ sur *E. coli*
(Originale)



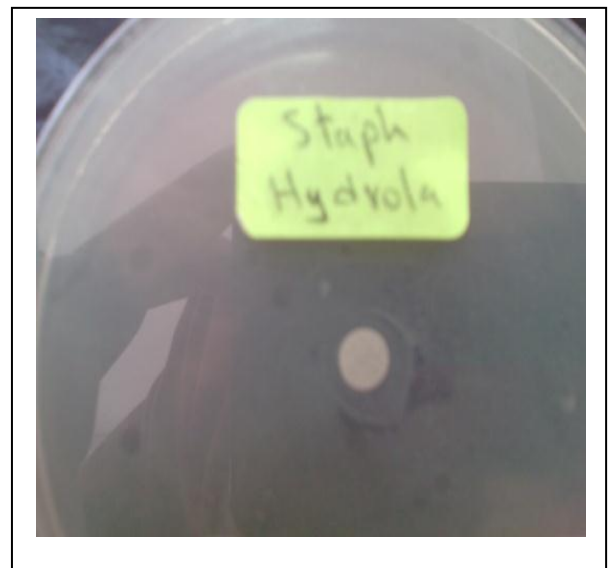
ETH



EAQ



HE



HY

Figure 2.5 : Aromatogramme des HE, HY, ETH et EAQ sur *S.aureus*

(Originale)

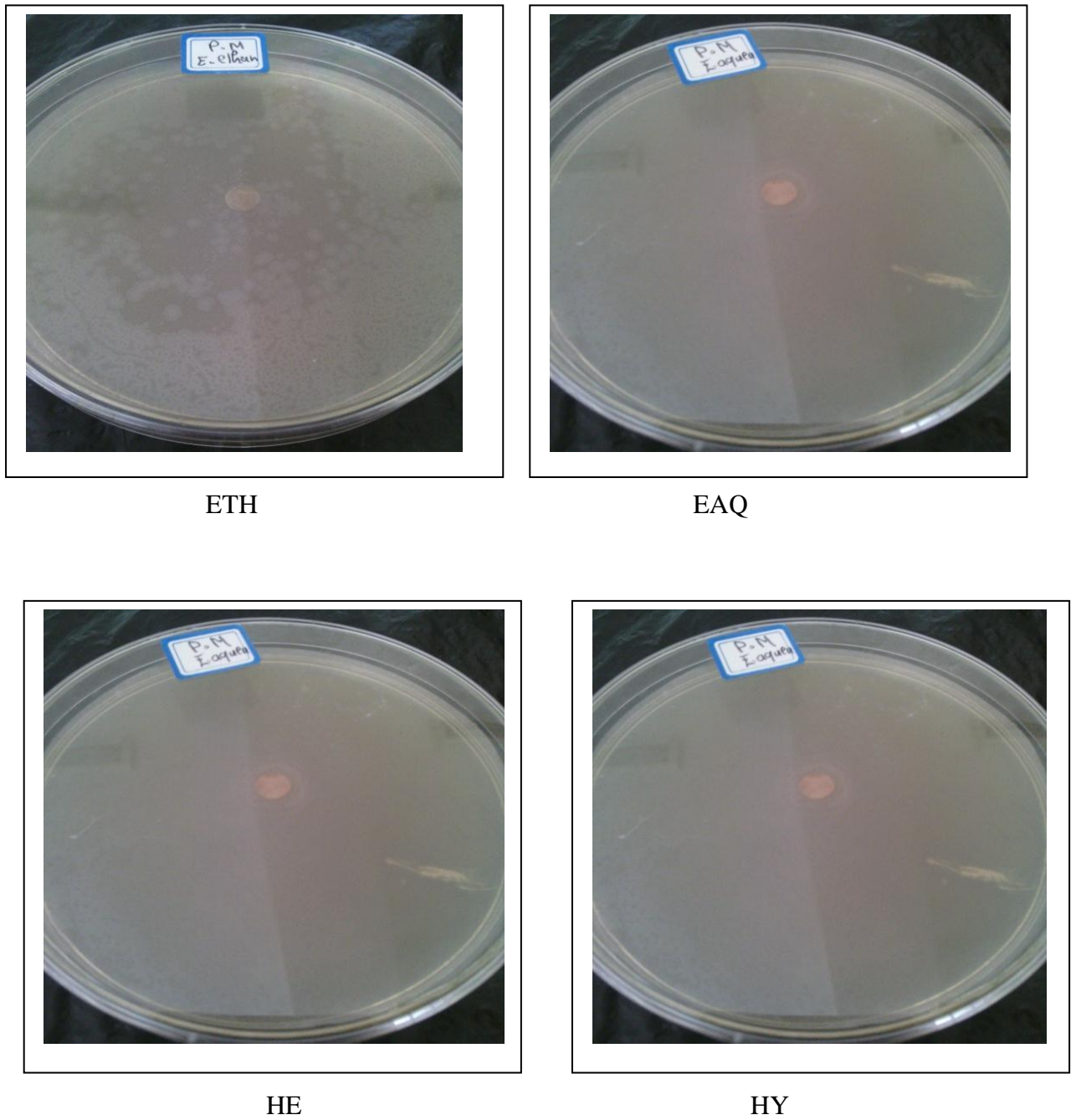


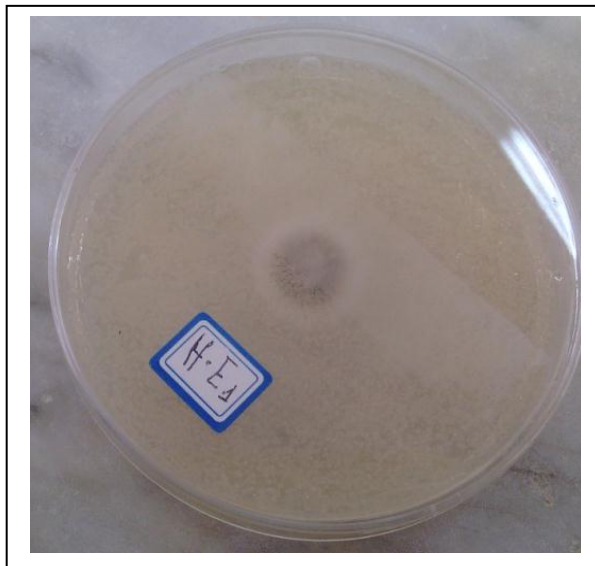
Figure 2.6 : Aromatogramme des HE, HY, ETH et EAQ sur *P.aeruginosa*
(Originale)



ETH



EAQ



HE



HY

Figure 2.7 : Aromatogramme des HE, HY, ETH et EAQ sur *A.niger*
(Originale)

Conclusion

Conclusion

Les substances naturelles occupent de plus en plus une place de choix en thérapeutique. En effet, les plantes médicinales constituent de véritables usines chimiques dont il faut tirer le maximum de profit.

Le présent travail a porté sur l'étude phytochimique et l'activité antimicrobienne des extraits préparés par différentes méthodes d'extraction (macération, hydrodistillation) d'une espèce médicinale *Laurus nobilis* L. de la famille des Lauraceae .

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires constituant une plante, nous permet d'avoir une bonne idée sur ses activités pharmacologiques. Les réactions de caractérisation phytochimiques ont permis de mettre en évidence plusieurs groupes chimiques : des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins, et des Saponosides.

L'extraction de la partie aérienne de la plante a permis d'obtenir des extraits qui sont différentes en fonction des méthodes d'extraction utilisés et par leur composition chimique.

L'extraction par hydrodistillation des huiles essentielles a fourni des rendements peu rentables à l'échelle industrielle (0.62%). L'essence aromatique dissoute dans l'hydrolat (0,05%) a été récupérée par condensation de l'eau aromatique avec un solvant organique (éther diéthylique).

La détermination des rendements en extraits bruts a montré une rentabilité importante en extraits polaires (ETH et EAQ) chez la plante avec des valeurs respectivement 13.6 % et de 12.8 %.

L'évaluation du pouvoir antibactérien des extraits de *Laurus nobilis* par la méthode de diffusion sur gélose a révélé que ces derniers possèdent une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, avec une zone d'inhibition de 6.67 à 17.33mm, alors qu'aucune activité n'a été enregistrée contre *Pseudomonas aeruginosa*.

La méthode de contact direct nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique d'huile essentielle et de l'hydrolat du *Laurus nobilis* L vis-à-vis de la souche *Aspergillus niger*.

Il ressort que *Laurus nobilis* L pourrait être valorisée d'avantage particulièrement dans la lutte contre de nombreuses espèces microbiennes responsables des différentes formes phytopathogènes. L'efficacité in vitro pourrait être expliquée par la richesse de cette plante en composés aromatique.

Ces résultats préliminaires peuvent être complétés par d'autres études plus approfondies (détermination de la concentration minimale inhibitrice des souches bactériennes, mode d'application, essai sur d'autres souches microbiennes, etc.) afin d'exploiter les propriétés antibactériennes et antifongiques.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

- 1. BOUDJOUREF M.2011. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire de Magister. Université Ferhat Abbas, Sétif.
- 2. HADDOUCHI F.2007. Contribution à l'étude des huiles essentielle de *Thymus fontanesii* (zaâteur) de la région de Telemcen (Nadroma). Activités antibactériennes et antifongiques en fonction de leur conservation. Mémoire de Magister. Université ABOUBAKR BELKAID –TELEMCEN- .
- 3. LINDEN G., LORIENT D. (1994) Biochimie agro-indusrielle. *Ed. Masson, Paris.*360 p.
- 4. KAID SIIMANE, I.L. 2004. Contribution à l'étude de la composition chimique du pouvoir antibactérien des huiles essentielles de *Cistus ladaniferus* da la région de Tlemcen. Thèse d'ingénieur en biologie. Université ABOUBAKR BELKAID - TELEMCEN- . 117p.
- 5. YAKHLEF G. 2010. Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L.et *Laurus nobilis* L. Mémoire de Magister. Université EL HADJ LAKHDAR –BATNA–.
- 6. ZIRIHI G., KRA A.K.M., and GUEDE-GUINA F.2003. Évaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck) O.Kantze (Asteracée) « PYMI » sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*, *Revue de Médecine et pharmacie Afrique.*17p.
- 7. RONECHTTI F. & RUSSO G., 1971. A new alkaloid from *rauwolfia vomitoria*. *Phytochemistry*, Vol. 10 1385 1388.
- 8. HEGNAUER R., 1973. *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Bikhäuser Verlag, Basel, Suttgart, 6, 761 p.
- 9. WAGNER H., 1983. *DROGEN analyse, Dünnschicht chromatographische Analyse von Arzneidrogen*. Springer Verlag Berlin Heidelberg New York, 522 p.

- 10. BEKRO Y. A., BEKRO J. A. M., BOUA B. B., TRA B. F. H. & Ehilé E. E., 2007. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae). Rev. Sci. Nat. Vol. 4 (2) : 217-225.
- 11. SOULEY AMADOU B. 2005. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Combretum glutinosum* Perr. Ex DC (Combretaceae)- thèse de doctorat. Université de BAMAKO. MALI.
- 12. Koffi N'GUESSAN, BEUGRE KADJA, GUEDE N. ZIRIHI, DOSSAHOUA TRAORÉ & LAURENT AKÉ-ASSI. 2009. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). Vol. 6 N°1. 4,5 p.
- 13. HELLAL Z., 2011. Des propriétés antibactériennes et antioxydants de certaines huiles essentielles extraites des Citrus Application sur la sardine (*Sardina Pilchardus*). Mémoire Magistère, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 45 p.
- 14. ZAIKA, L., 1988-. "Spices and Herbs - Their Antimicrobial Activity and Its determination" Journal of Food Safety, 97 p.
- 15. PONCE A.G., FRITZ R., DE LVALLE C. ET ROURA S.I., 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensm.-Wiss.u.-Technol, 36 :679-684p.
- 16. Recommandation d'OMS, 2005. Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. 4ème édition, ALGER. ins. Pas, p 95.
- 17. GOUMNI Z. et SALHI A., 2013. Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite de la plante *Laurus nobilis* L. Mémoire master académique. Université KASDI MERBAH OUARGLA. 21, 21 p.
- 18. PARIS R. et MOYSE M. (1965). Précis de matière médicale. Edit. Masson. Paris. 412 p.
- 19. OUIBRAHIM A. 2015. Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien. Obtention d'un diplôme de Doctorat. UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA. 32p.
- 20. KAHOULI I., 2010. Effet antioxydant d'extrait de plantes (*Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Oléa Europea* L.) dans l'huile de canola chauffée. Mémoire pour l'obtention du grade de Maître ès sciences. UNIVERSITÉ LAVAL QUÉBEC. 62p.

- 21. GUEDOUARI R.2012. Etude comparative de la pharmacognosie des différentes parties du *Laurus nobilis* L. essais de formulations thérapeutiques. Mémoire de Magister. Université M'HAMED BOUGARA-BOUMERDES.
- 22. LEE S.-J., UMANO K., SHIBAMOTO T., LEE K. G. (2005) Identification of volatile components in basil(*Ocimum basilium* L.) and thym leaves (*Thymus vulgaris*) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*. 91: 131-137.
- 23. BILLERBECK VG., ROQUES C., VANIERE P., MARQUIER P., 2002. Activité antibactérienne et antifongique des produits à base d'huiles essentielles. *Hygiène X-n°3*: 248-251.
- 24. ROJAS A., HERNANDEZ L., PEREDA-MIRANDA R., MATA R. 1992. Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacology*.
- 25. MARJORIE M. C. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*.
- 26. MORRIS, J.A., KHETTRY, A. and SEITZ,E.W. 1997- Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils.*J. Am. OilChem. Soc.*; 56: pp. 595-603.
- 27. YOUSEF, R.T. and TAWIL, G.G. 1980-Antimicrobial activity of volatile oils.*Die Pharm.*; 35: pp. 698- 701.
- 28. BAJPAI, V.K., RAHMAN, A. and KANG, S.C. 2007- Chemical composition and anti-fungal properties of the essentialoil and crude extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu.Ind. *Crop.Prod.*; 26: pp. 28- 35.

Annexes

Annexe A

Tableau A₁ : Appareillage, milieu de culture, verrerie, consommable et réactifs

Matériel de laboratoire	Réactifs chimiques et solvants	Milieu de culture
<ul style="list-style-type: none"> • Spectrophotométrie • Bain marie • Etuve • Rotavapeur • Balance analytique • Agitateur • Autoclave • Plaque chauffante • Micropipette • Papier Filtre • Bec Benzène • Ans de platine • Ecouvillon stérile • Tube à essai • Pince stérilisée • Disques vide stériles • Réfrigérateur • Boîtes de pétries • dessiccateur • Hydrodistillateur • Vortex • Broyeur électrique • Réfrigérateur • Verreries • Papier wattman 	<ul style="list-style-type: none"> • Eau distillée • Eau physiologique • Ethanol • réactifs de Burchard • réactifs de Dragendorff • réactifs de Stiasny • alcool chlorhydrique • copeaux de zinc • alcool isoamylique 	<ul style="list-style-type: none"> • Gélose nutritive • Gélose Mueller Hinton • Milieu Sabouraud

Annexe B

➤ Photos de l'appareillage utilisés



Figure B₁ : Etuve



Figure B₂ : Bain marie

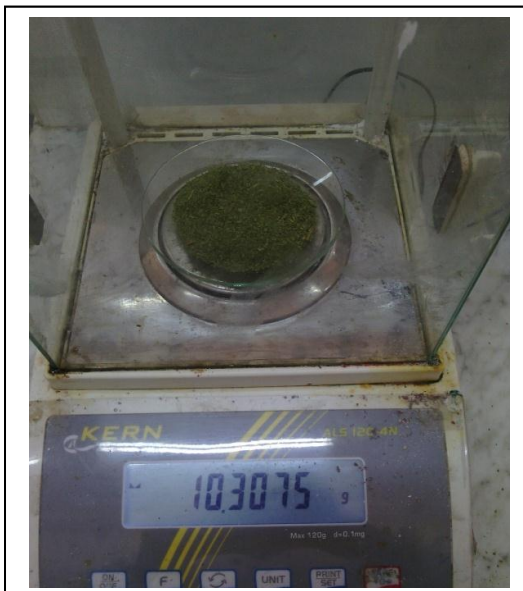


Figure B₃ : Balance analytique

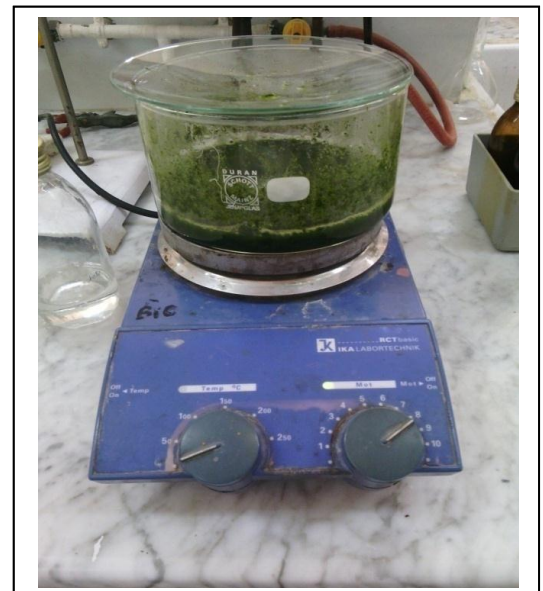


Figure B₄ : Plaque chauffante

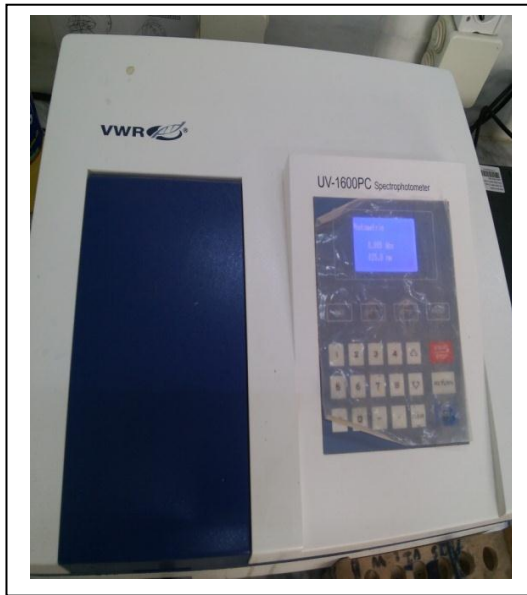


Figure B₅ : Spectrophotomètre



Figure B₆ : Rota vapeur



Figure B₇ : Vortex



Figure B₈ : Microscope optique



Figure B₉ : Autoclave



Figure B₁₀ : Dessiccateur



Figure B₁₁ : Micropipette

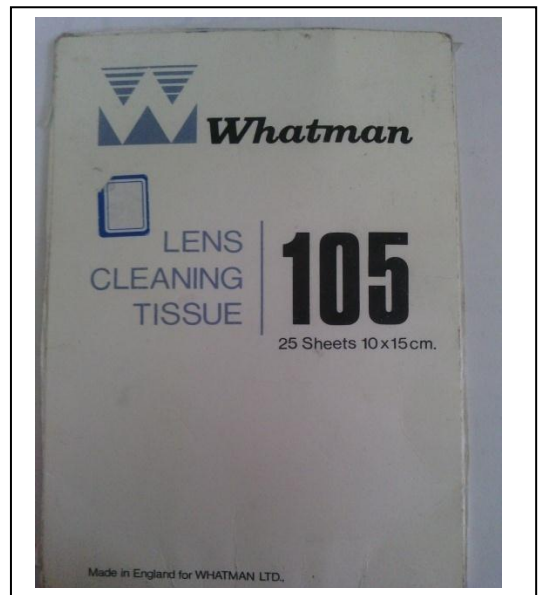


Figure B₁₂ : Papier Whatman

Annexe C

➤ Screening phytochimique de feuilles de *Laurus nobilis*



Figure C₁ : Détection chimique des flavonoïdes



Figure C₂ : Détection chimique des tanins



Figure C₃ : Détection chimique du saponosides



Figure C₄ : Détection chimique des alcaloïdes

Annexe D

- Photos de l'activité antimicrobienne
 - Coloration de Gram



Figure D₁ : Aspect microscopique d'*E. Coli*

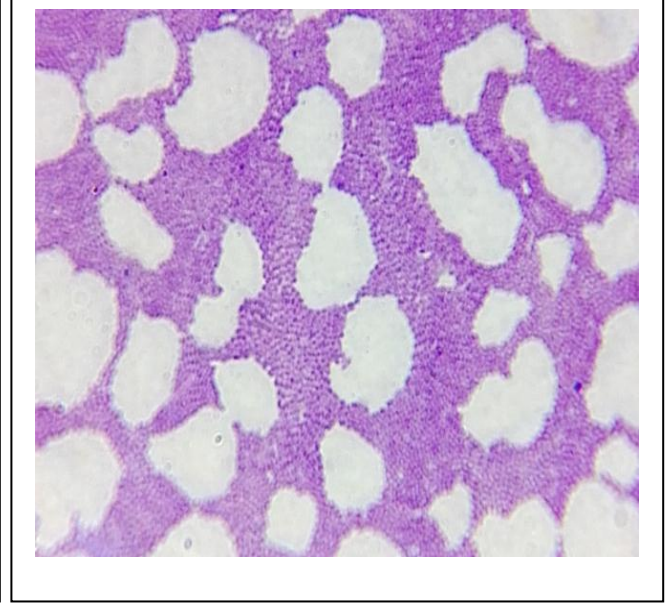


Figure D₂ : Aspect microscopique de
S. aureus

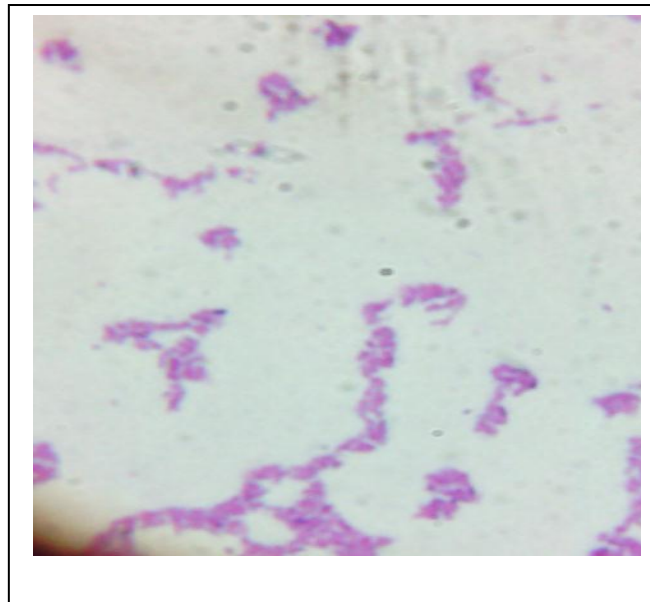


Figure D₃ : Aspect microscopique de *P. aeruginosa*

- **Préparation des précultures et ensemencement**



Figure D₄ : Repiquage d'*E. coli*

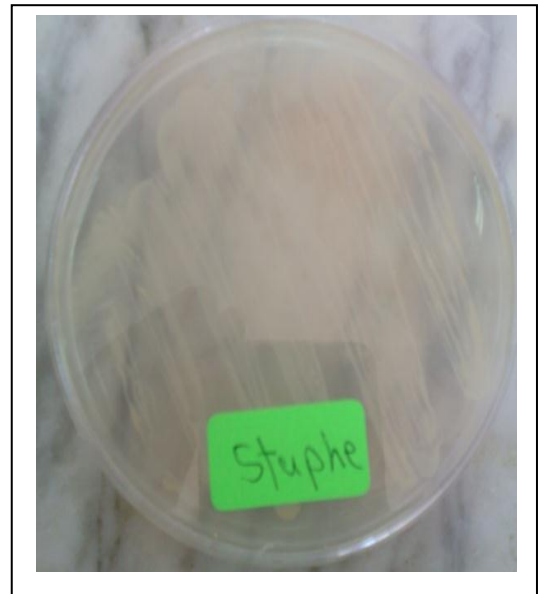


Figure D₅ : Repiquage de *S. aureus*



Figure D₆ : Repiquage de *P. aeruginosa*



Figure D₇ : Repiquage d'*A. niger*



Figure D₈ : Extraits de *Laurus nobilis* L. **Figure D₉** : Écoulement des boîtes de Pétri



Figure D₁₀ : Dépôt du disque

Annexe E

➤ Etude statistique de l'activité antibactérienne

Tableau E₁: Statistiques descriptives de l'activité antibactérienne des extraits bruts

Bactéries	Extraits	Moyenne	Ecart-type
Ec	EAQ	7,33	1,155
	HE	13,33	1,155
	ETH	9,00	,000
	HY	6,67	,577
	Total	9,08	2,811
Sa	EAQ	7,67	,577
	HE	17,33	1,155
	ETH	14,00	,000
	HY	10,33	1,155
	Total	12,33	3,892
Pa	EAQ	,00	,000
	HE	,67	,577
	ETH	1,00	,000
	HY	,00	,000
	Total	,42	,515
Total	EAQ	5,00	3,808
	HE	10,44	7,585
	ETH	8,00	5,679
	HY	5,67	4,583
	Total	7,28	5,775

Tableau E₂: Analyse de la variance

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Bactéries	910,722	2	455,361	862,789	,000
Extraits	165,000	3	55,000	104,211	,000
Bactéries * Extraits	78,833	6	13,139	24,895	,000
Total corrigé	1167,222	35			

Tableau E₃ : Test de Newman-Keuls (souche bactérienne)

Bactéries	N	Sous-ensemble		
		1	2	3
Pa	12	,42		
Ec	12		9,08	
Sa	12			12,33
Sig.		1,000	1,000	1,000

Les moyennes des groupes dans des sous-ensembles homogènes sont affichées.

En fonction des moyennes observées.

Le terme d'erreur est Carré moyen(Erreur) = ,528.

a. Utilise un nombre d'échantillons des moyennes harmoniques = 12,000.

b. Alpha = ,05.

Tableau E₄ : Test de Newman-Keuls (nature de l'agent antibactérien)

Echantillons	N	Sous-ensemble		
		1	2	3
EAQ	9	5,00		
HY	9	5,67		
ETH	9		8,00	
HE	9			10,44
Sig.		,063	1,000	1,000

Les moyennes des groupes dans des sous-ensembles homogènes sont affichées.

En fonction des moyennes observées.

Le terme d'erreur est Carré moyen(Erreur) = ,528.

a. Utilise un nombre d'échantillons des moyennes harmoniques = 9,000.

b. Alpha = ,05.

➤ Etude statistique de l'activité antifongique

Tableau E₅: Statistiques descriptives de l'activité antibactérienne des extraits bruts

	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard	Intervalle de confiance à 95% pour la moyenne		Minimum	Maximum
				Borne inférieure	Borne supérieure		
HE	95,5750	1,06773	,75500	85,9818	105,1682	94,82	96,33
HY	81,0300	2,43245	1,72000	59,1753	102,8847	79,31	82,75
EAQ	24,9950	1,22329	,86500	14,0041	35,9859	24,13	25,86
ETH	100,0000	,00000	,00000	100,0000	100,0000	100,00	100,00
Total	75,4000	32,02155	11,32133	48,6293	102,1707	24,13	100,00

Tableau E₆: Analyse de la variance

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	7169,103	3	2389,701	1117,557	,000
Intra-groupes	8,553	4	2,138		
Total	7177,656	7			

Tableau E₇ : Test de Newmen-Keuls

Echantillons	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05			
		1	2	3	4
EAQ	2	24,9950			
HY	2		81,0300		
HE	2			95,5750	
ETH	2				100,0000
Signification		1,000	1,000	1,000	1,000

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 2,000.

Résumé

Notre travail porte sur l'étude de l'activité antimicrobienne et caractérisation phytochimique des extraits de feuilles de *Laurus nobilis* L.

Laurus nobilis L. est une plante aromatique, appartenant à la famille des Lauraceae, appelée communément par la population locale « rand ».

L'extraction de la fraction aromatique de feuilles sèches du *Laurus nobilis* a été accomplie par hydrodistillation. Le rendement en huile essentielle est de 0.6%. L'essence aromatique dissoute dans l'hydrolat (0,34%) a été récupérée par condensation de l'eau aromatique avec un solvant organique (éther diéthylique).

La détermination des rendements en extraits bruts a montré une rentabilité importante en extraits éthanolique et aqueux chez la plante avec des valeurs respectivement 13.6 % et de 12.8 %.

Le screening phytochimique de la plante nous a révélé la présence de plusieurs groupes chimiques : des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins, et des saponosides.

L'évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne des extraits sur trois souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) montre que l'huile essentielle du *Laurus nobilis* exerce une forte activité antibactérienne vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

L'extrait éthanolique présente une activité inhibitrice modérée sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

L'évaluation in vitro de l'activité antifongique des extraits sur une souche fongique (*Aspergillus niger*) montre que l'huile essentielle révèle une activité antifongique importante sur cette souche ; qui se manifeste par une inhibition de l'ordre de 95,57% suivi par l'hydrolat avec un pourcentage d'inhibition de 81,03%.

Mots clés: *Laurus nobilis* L, huile essentielle, hydrolat, activité antibactérienne, activité antifongique, extrait éthanolique, extrait aqueux, screening phytochimique.

Summary

Our work focuses on the study of antimicrobial activity and phytochemical characterization of extracts of *Laurus nobilis* L.

Laurus nobilis L. is an aromatic plant belonging to the family Lauraceae, commonly called by the local population "rand".

Extraction of the aromatic fraction from dry leaves of *Laurus nobilis* was accomplished by hydrodistillation. Furthermore, the oil dissolved in the hydrosol, which represents 0,34 %, was recovered by organic solvent (diethyl ether).

The determination of the yields of crude extracts showed a high profitability in extracts ethanolic and aqueous in plants with values of 13.6% and 12.8%, respectively.

The phytochemical screening of the plant revealed the presence of several chemical groups: alkaloids, flavonoids, tannins, and saponosides.

The antimicrobial activity test was carried on three bacterial strains (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), and a fungal strain (*Aspergillus niger*). The results show that the essential oil of *Laurus nobilis* exerts a strong antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

The ethanolic extract shows moderate inhibitory activity on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

In vitro evaluation of the antifungal activity of the extracts on a fungal strain (*Aspergillus niger*) shows that the essential oil reveals an important anti-fungal activity on this strain, which is manifested by an inhibition of the order of 95.57% followed by the hydrosol with a percentage inhibition of 81.03%.

Key words: *Laurus nobilis* L, essential oil, hydrosol, antibacterial activity, antifungal activity, extract ethanolic, extract aqueous, phytochemical screening.

ملخص

يركز عملنا على دراسة النشاط المضاد للميكروبات و الفحص الكيميائي لمستخلصات ورق نبات الغار *Laurus nobilis L.* الغار نبات عطري ينتمي الى عائلة Lauraceae يطلق عليه السكان المحليون اسم الرند. تم إستخراج الزيوت الأساسية من الأوراق الجافة لنبتة الغار بواسطة طريقة التقطير المائي حيث بلغ مردود العملية 0,6 % أما بالنسبة للماء العطري الناتج عن تلك العملية فقد تم تكثيفه بواسطة محلول عضوي من أجل إستخراج الزيوت المذابة فيه و التي قدرت نسبتها ب 0,34 % . ان المستخلصات الخامة الايتانولية والمائية للأوراق الجافة لنبتة الغار, أعطت مردودا قيم قدرت نسبته على التوالي ب 13.6% و 12.8%.

كشفت الفحص الكيميائي للنبتة وجود عدة مجموعات كيميائية: قلويدات، الفلافونويد والعفص والصابونين. ان دراسة التأثير المضاد للجراثيم لمستخلصات اوراق نبات الغار على ثلاث سلالات بكتيرية *Escherichia coli* , *Psanomodues asonigoriea* , *Staphylococcus aureus* , بينت الفعالية القوية للزيوت الأساسية في تثبيط نمو من كل *Staphylococcus aureus* , *Escherichia coli*.

أما بالنسبة للمستخلص الايتانولي للنبتة فقد بينت فعالية معتدلة في تثبيط نمو كل من *Staphylococcus aureus* , *Escherichia coli*,

كما ان دراسة التأثير المضاد للفطريات لمستخلصات اوراق نبات الغار على سلالة فطرية (*Aspergillus niger*). أظهرت أن الزيت العطري لهذه النبتة لديه نشاط مضاد قوي على هذه السلالة بنسبة تثبيط تقدر ب 95.57% يليها الماء العطري بنسبة تثبيط 81.03% .

الكلمات المفتاح :

Laurusnobilis L. , زيت عطري , الماء العطري , مضاد للجراثيم، مضاد للفطريات , المستخلص الإيثانولي، المستخلص المائي، فحص الكيميائي .