

République Algérienne Démocratique Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة ابن خلدون - تيارت
Université Ibn Khaldoun – Tiaret



Faculté des Sciences de la Matière
كلية علوم المادة
Département de Chimie
قسم الكيمياء

Mémoire de fin d'étude

Présenté par :

Melle BENEMARA WASSILA
Melle RAIS HALIMA

Pour l'obtention du diplôme de

Master

Filière : Chimie

Spécialité: Chimie organique

Sujet :

Extraction, caractérisation et étude microbiologique de l'huile essentielle de *laurier noble* (*Laurus nobilis* L)

Soutenu le : 25/06/2018

Devant le jury:

Mme. S. DAHANE	Examinatrice (M.C.B)	UNIV -Tiaret
Mme. Ch.BENHAOUA	Présidente (M.C.B)	UNIV -Tiaret
Mme. H.BALEH	Encadreur (M.A.A)	UNIV -Tiaret

Année Universitaire : 2017/2018



Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mes très chers parents pour leurs sacrifices et leurs encouragements durant toutes mes études

Mes frères : Mohammed et Ahmed

Mes sœurs : Malika, Alia, nessrine, rahmouna

Ma tante Fatema , tonton abd eldjbare et toute la famille

Mes petites nièces Férial, chiffae, Malak

Mes amies Naima, Souad, Marieme, Samira, Amal Karima et mon binôme wassila

ainsi qu'à

tous les étudiants de ma promotion surtout promo Co chacun son nom.

R. Halima

Merci à tous



*A cœur vaillant rien d'impossible
A conscience tranquille tout est accessible*

*Quand il y a la soif d'apprendre
Tout vient à point à qui sait attendre*

*Quand il y a le souci de réaliser un dessein
Tout devient facile pour arriver à nos fins*

*Malgré les obstacles qui s'opposent
En dépit des difficultés qui s'interposent*

*Les études sont avant tout
Notre unique et seul atout*

*Ils représentent la lumière de notre existence
L'étoile brillante de notre réjouissance*

*Comme un vol de gerfauts hors du charnier natal
Nous partons ivres d'un rêve héroïque et brutal*

*Espérant des lendemains épiques
Un avenir glorieux et magique*

*Souhaitant que le fruit de nos efforts fournis
Jour et nuit, nous mènera vers le bonheur fleuri*

*Aujourd'hui, ici rassemblés auprès des jurys,
Nous prions dieu que cette soutenance
Fera signe de persévérance
Et que nous serions enchantés
Par notre travail honoré*

♥ *Je dédie ce modeste travail*

♥ *A mon cher et inoubliable papa qui vient de nous quitter et qui j'aurais aimé qu'il voit sa petite fille réussir.*

♥ *A mon cher et inoubliable petit frère Nassim qui vient de nous quitter.*

♥ *A mon défunt papi.*

♥ *A mes deux chères mamies.*

♥ *A ma très chère maman*

♥ *Pour tes mains qui ont tant travaillé,*

♥ *Pour ton cœur qui m'a tant donné,*

♥ *Pour ton sourire qui m'a tant réchauffé,*

♥ *Pour tes yeux qui furent parfois mouillés,*

♥ *Pour toi qui m'as tant aimé.*

♥ *A ma Très chère sœur Sara qui a toujours été mon modèle et ma meilleure amie.*

♥ *A son mari Nadir d'être un frère pour moi.*

♥ *A mon Oncle Youcef, Mes Tantes Djamilia, Malika et Yamina, et leurs petite famille, pour leur amour et soutien.*

♥ *A mon Binôme Halima.*

♥ *A mes amies d'enfance Zohra et Imane qui m'ont aidée dans les moments les plus douloureux de ma vie.*

♥ *A un être très précieux que je n'oublierai jamais et qui m'a tendu la main quand personne ne l'a fait « Mohamed. ».*

♥ *Benamara Wassila*

Remerciements

C'est avec une grande joie qu'a débuté cette thèse et un léger pincement au cœur que j'en arrive aujourd'hui à écrire ces remerciements car ils sont la conclusion de toutes ces années de travail. Ainsi une page importante de ma vie se tourne.

- ♥ *Nos remerciements s'adressent tout d'abord à DIEU, le tout puissant qui nous a tracé le chemin de nos vies et accordé la volonté et la patience nécessaire à la réalisation de ce mémoire* **فَاَللّٰهُمَّ ذِكْ اِلْحَمْدُ كَمَا يَنْبَغِيْ لِجَلَالِ وَجْهِكَ وَعَظِيْمِ سُلْطٰتِكَ**
- ♥ *Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à notre promotrice **Mme Baleh**, pour nous avoir encadré et dirigé ce travail et pour sa disponibilité, ses conseils et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer.*
- ♥ *Nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements aux membres de jury.*
- ♥ *Merci à la Présidente **Mme Benhaoua**, d'avoir fait l'honneur de présider le jury. Que l'Examinatrice **Mme Dahane**, trouve ici l'expression de nos Plus hautes considérations et de notre sincère reconnaissance pour avoir accepté de juger ce travail.*
- ♥ *Merci pour les remarques, suggestions et critiques que vous allez apporter, qui vont, sans doute, nous permettre d'enrichir le contenu de ce travail. Un grand merci s'adresse à **Mme Bennabi** de m'avoir réconforté et prêté son aide précieuse*
- ♥ *Nous remercions tous nos enseignants qui nous ont suivis le long de nos études. Veuillez agréer, nos professeurs l'expression de nos sentiments très respectueusement dévoués.*
- ♥ *Un immense merci pour **Mr Bahloul** qui nous a accueillies à cœur ouvert dans le laboratoire de microbiologie à l'hôpital Hirech Maâmar de Sougueur.*
- ♥ *Je remercie également **Mme Imisaoudane** pour sa disponibilité, sa gentillesse, son aide précieuse, et pour les moyens techniques mis à notre disposition afin de réaliser la partie de l'activité antibactérienne.*
- ♥ *Je ne manque pas l'occasion de remercier **Mr Lâarbi AËK**,*

Resumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude de la composition chimique, l'activité antibactérienne, des plantes aromatiques et médicinales de la flore algérienne, dans le but de rechercher de nouveaux produits bioactifs d'origine naturels jouissantes d'activités biologiques notamment les activités antimicrobiennes. une plante aromatique provenant de la région de Melakou, Laurus nobilis a fait l'objet d'un décryptage phytochimique et biologique de son huile essentielle.

Nous avons étudié l'influence du séchage à l'ombre sur les feuilles des plantes, ce qui nous a permis d'évaluer la teneur des huiles essentielles extraites pour une meilleure maîtrise de la qualité des plantes et une bonne exploitation industrielle.

L'huile essentielle extraite par hydrodistillation a été analysée par chromatographie sur couche mince. Ça nous a permis d'identifier 3 constituants pour HE de laurier dont le cinéol .

L'étude antibactérienne des huiles essentielles a révélé une grande action inhibitrice sur la croissance des germes testés. Escherichia coli est le plus sensible à l'huile de Laurus nobilis avec une zone d'inhibition de 25 mm.

Mots clés : Huiles essentielle ; Laurus nobilis ;Activité antibactérienne

المخلص

يندرج هذا العمل في اطار التركيب الكيميائي الفعالية المضادة للبكتيريا من اجل البحث على منتجات جديدة نشطة بيولوجيا من اصل طبيعي بما في ذلك النشاط المضاد للجراثيم لهذا فان نبتة Laurus nobilis كانت موضوع للتحليل الكيميائي النباتي و البيولوجي لزيته الاساسي .

فيما يخص دراسة تاثير التجفيف في الظل على اوراق النباتات سمجت لنا بتقييم محتولا الزيت الاساسي المستخرج لتحسين مراقبة نوعية النباتات

*الزيت الاساسي تم الحصول عليه عن طريق التقطير المائي تم تحليلها من قبل صفيحة الكروماتوغرافي الفحص سمح بفصل 3 مكونات زيت ورق الغار (الرنند) والمتمثلة فيما يلي cineole و l oxydepheno
سجلت دراسة المضادة للبكتيريا للزيوت الاساسية العطرية اكبر عملية لنمو الجراثيم التي تم اختبارها بالبكتيريا Staphylococcus , omonasdeusP و E. coli*

الكلمات المفتاحية: الزيوت الاساسية ورق الغار(الرنند) الفعالية المضادة للبكتيري

Abstract

This work is part of study of the chemical composition, antibacterial, of aromatic and medicinal plants of the Algerian flora, in order to find new bioactive products of natural source which are characterized by a biological activities specially antimicrobial . one aromatic plant from region have been the subject of a phytochemical and biological decryption to their essential oils.

We studied the influence of drying in the shade on the leaves of plants, which enabled us to evaluate the content of essential oils extracted for better control on the quality of the plants and for best industrial exploitation.

The essential oils obtained by steam distillation were analyzed using thin-layer chromatography The screening CCM identified 3 components for HE of laurel whose cineole finally Our results indicate that the oil Laurus nobilis showed the highest antibacterien activity against Scherichia Coli

Keywords: Essential oils; Laurus nobilis;; Antibacterial activity

Listes des tableaux

N°	NOM	PAGE
Tableau 1	Composition des huiles essentielles	6
Tableau 2	Autres espèces du laurier noble	13
Tableau 3	La position systématique de <i>Laurus nobilis</i>	15
Tableau4	la coloration GRAM	22
Tableau5	Maladies causées par des agents infectieux	26
Tableau6	contrôle qualité de la matière première	44
Tableau 7	Criblage phytochimique de laurier noble sec	46-47
Tableau 8	L'évaluation de volume d'HE en fonction de temps	48
Tableau 9	Indices physico-chimiques de l'HE de Laurier	49
Tableau 10	Diamètre des zones d'inhibition en mm des ATB et des solutions testés après 24h	50
Tableau 11	Diamètre des zones d'inhibition en mm des ATB et des solutions testés après 48h	50

Liste des figures

N°	Nom	Page
Figure 1	Quelques organes sécréteurs d'huiles essentielles	5
Figure 2	(A): Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles, poil sécréteur (B): illustration schématique du développement de la glande productrice d'huile essentielle	5
Figure 3	Schéma de la distillation par entraînement à la vapeur d'eau.	7
Figure 4	Presse hydraulique utilisée dans l'expression à froid	9
Figure 5	Hydrodistillation par micro-ondes sous vide pulsé (VMHD)	10
Figure 6	Distribution des Lauracées à travers le monde	12
Figure 7	Arbre de Laurier en fleurs	13
Figure 8	Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i> L	14
Figure 9	Cellule bactérienne	20
Figure 10	Mycoplasme	21
Figure 11	Les différentes formes des bactéries	21
Figure 12	La coloration GRAM	22
Figure 13	Structure moléculaire d'un virus	24
Figure 14	Rota virus	25
Figure 15	Antibiogramme	28
Figure 16	étapes de la réalisation expérimentale	30
Figure 17	Feuilles fraîche de <i>Laurus nobilis</i> (Melakou-TIARET)	31
Figure 18	Feuilles séchées de <i>Laurus nobilis</i>	31
Figure 19	La plante broyée	32
Figure 20	feuilles séchées	36
Figure 21	Feuilles coupées	36

Figure 22	feuilles broyées	36
Figure 23	Montage d'hydro distillation	37
Figure 24	Séparation des phases	37
Figure 25	flacons d'HE Couvert d'aluminium	37
Figure 26	plaque CCM	38
Figure 27	L'éluant	39
Figure 28	Immersion dans une solution de permanganate de potassium	39
Figure 29	Lampe (rayonnements ultraviolets)	39
Figure 30	Apparition des taches	39
Figure 31	Activité antibacterienne	42
Figure 32	L'évaluation du volume de l'HE en fonction du temps	48
Figure 33	Four a moufle	62
Figure 34	Réfractomètre	67
Figure 35	Réglage de la zone éclairée à la croisée des réticules	68
Figure 36	Four à moufle de laboratoire.	68
Figure 37	<i>Escherichi coli</i> Grossissement	71
Figure 38	<i>Staphylocoque doré</i>	71
Figure 39	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> au microscope électronique à balayage	72
Figure 40	Ethanol absolu	72
Figure 41	Gélose (MH)	72
Figure 42	HE extraite	72
Figure 43	Etuve « Memmert »	72
Figure 44	Disques d'ATB	72
Figure 45	Boites pétri	72
Figure 46	Disques en Papier buva	72
Figure 47	eau physiologique	73
Figure 48	Bain marie	73
Figure 49	écouvillon	73
Figure 50	Bec bunsen	73

Figure 51	Huile essentielle de Laurier Achetée	73
Figure 52	Boites pétri coulée en milieu de culture(MH)	73
Figure 53	préparation de l'inoculum	73
Figure 54	Dépôt des disques	74
Figure 55	Incubation 24H à 37°C	74
Figure 56	Résultats de l'aromatogramme des huiles essentielles	74
Figure 57	Résultats de l'antibiogramme des ATB	74

Liste des abréviations

CCM	chromatographie couche mince
HE	huile essentielle.
Hd	Huile diluée
Eth	Ethanol absolu
HA	Huile essentielle de Laurier (achetée)
staph	staphylococcus aureus
E. coli	Escherichia coli
pseudo	pseudomonas aeruginosa
AFNOR	Association française de normalisation
ISO	Organization International de Standardization
VMHD	Hydro distillation par micro-ondes sous vide pulsé.
ATB	Antibiotiques
Gent	Gentamicine
Amp	Ampicilline
Amox	Amoxicilline
MH	Gélose Muller-Hinton
D	Diamètre
Rf	Rapport frontale
Ir	Indice de refraction
R %	Rendement

Table des matières

Dédicace	
REMERCIEMENTS	
RESUME	
LISTE DES TABLEAUX, DES FIGURES ET ABREVIATIONS	
INTRODUCTION GENERALE.....	1

PREMIERE PARTIE : Partie Bibliographie

Chapitre I : Les huiles essentielles

I.1.Introduction.....	4
I.1.1.Definition	4
I.1.2. Localisation des huiles essentielles dans la plante.....	4
I.1.3.La Composition chimique des huiles essentielles.....	5
I.1.4.Techniques d'extraction des huiles essentielles	7
I.1.4.1.Entraînement par la vapeur d'eau (hydro distillation).....	7
I.1.4.2. La distillation sèche.....	8
I.1.4.3. L'expression à froid ou Expression mécanique.....	8
I.1.4.4. Autres méthodes.....	9
I.1.5. Facteurs variant la composition des huiles essentielles	10

Chapitre II : Le Laurier Noble

II.1.Introduction	12
II.1.1.Definition.....	12
II.1.2.Les autre lauriers	13
II.1.3.Identification.....	14
II.1.4.Classification botanique	15
II.1.5.Composition.....	15
II .1.6.Utilisation	16
II .1.6.1. Alimentaire.....	16
II .1.6.2.Ornementale	16
II .1.6.3.Médicinale.....	16
II .1.6.4.Comme répulsif	16

II .1.7. Effets thérapeutiques	17
II .1.8. Effet antibactérien de l'HE de laurier	18

Chapitre III : l'effet antimicrobien

III.1. Antimicrobien.....	20
III.1.2. Les bactéries.....	20
III.1.2.1. Définition	20
III.1.2.2. Classification des bactéries	21
III.1.2.3. La composition bactérienne.....	22
III.2. Les champignons	22
III.2.1. Définition.....	22
III.2.2. Classification.....	23
III.2.3. LES DIFFÉRENTS CHAMPIGNONS	23
III.3. Les Virus	24
III.3.1. Définition	24
III.3.2. Caractéristiques.....	25
III.4. LES PARASITES.....	25
III.5. Les maladies bactériennes.....	25
III.5.1. Définition.....	25
III.5.1. Bactéries responsables des infections les plus communes.....	27
III.6. L'antibiogramme	27
III.6.1. Définition.....	27
III.6.1. Principe.....	27

Chapitre IV : Matériels et Méthodes

IV .1. Materiel végétale.....	26
IV .1.2. Matériel technique et appareillage.....	27
IV .2. Materiel bactérien	28.
IV.3. Contrôle de qualité de la matière première.....	28
IV .3.1. Description.....	28
IV .3.2. Stockage	28
IV.4. Contrôle chimique.....	28
IV.4.1. Etude phytochimique.....	28
IV.4.1.1. Recherche des Alcaloïdes	29
IV.4.1.2. les composés poly-phénoliques.....	29
IV.4.1.3. Les tanins.....	29
IV.4.1.3.1. Les tanins catchiques.....	29
IV.4.1.3.2. Les tanins galliques.....	29.
IV.4.1.4. Recherche des flavonoïdes.....	29
IV.4.1.4.1. Les cyanhydriques.....	29
IV.4.1.5. Recherche des quinones	29
IV.4.1.5.1. Anthracéniques libres.....	29
IV.4.1.5.2. Anthracéniques combinés.....	30
IV.4.1.6. Recherche des glucosides.....	30
IV.4.1.7. Rechercher des saponines.....	30
IV.4.1.8. Recherche des hétérosides cardiotoniques.....	30
IV.4.1.9. Recherche des composés réducteurs.....	31
IV.4.1.10. Recherche des mucilages.....	31
IV.4.1.11. Recherche de l'amidon.....	31
IV.5. Extraction de l'huile essentielle.....	31

IV.5.1. Caractérisation de l'HE.....	32
IV.5.1.1. Mesure de pH.....	33
IV.5.1.2. Indice de réfraction.....	33
IV.5.1.3. Chromatographie sur couche mince(CCM)	33
a)préparation de la cuve élution.....	33
b) réparation de la plaque à chromatographie.....	33
c)L'élution.....	34
d)) Révélation et exploitation du chromatogramme	34
IV.6. Activité antibactérienne.....	35
IV.6. Milieu de culture.....	35
IV.6. Obtention des suspensions bactériennes.....	35
IV.6. Méthode de diffusion sur disques.....	35
IV.6.1 Modes Opératoires	35
IV.6.1.1. Préparation de l'inoculum.....	35
IV.6.1.2. Ensemencement et application des disques.....	35
IV.6.1.3. Incubation et lecture.....	36
Chapitre V : Resultats et discussion	37
Conclusion	
Références	
Annexes	

INTRODUCTION GENERALE

Pendant de nombreuses années, une variété des composés chimiques a été utilisée comme des agents antimicrobiens dans les aliments pour inhiber les microorganismes pathogènes [1] Cependant, la généralisation d'utilisation des conservateurs chimiques a conduit à un certain nombre de problèmes écologiques et médicaux. De ce fait il est nécessaire d'adopter des stratégies simples dans leur application, et non toxiques pour l'Homme et l'environnement [1].


Les herbes aromatiques ont été utilisées depuis l'antiquité pour leurs parfums et leurs saveurs. Et utilisées comme conservateurs dans une variété de produits à usages médicaux et cosmétiques [2]. Cependant, de nos jours il y a un renouvellement d'intérêt scientifique à l'utilisation de ces antimicrobiens naturels pour la conservation des aliments. Cela est dû à la forte demande des consommateurs pour plus d'aliments naturels avec une longue durée de vie [3].

Pour cet intérêt, les huiles essentielles considérées comme des substances naturelles bioactives occupent un bon choix dans la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques, et attirent l'intérêt de plusieurs recherches vue le nombre de leurs propriétés biologiques dénombrables. Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des molécules d'origines végétales jouissantes d'activités biologiques notamment l'activité antibactérienne, Dans le but de poursuivre ces activités, une étude photochimique est faite sur une plante médicinale « *Laurus nobilis* L » qui appartient à la famille des lauracées. Elle se considère parmi les familles de plantes les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à qualité médicale intéressante.

Notre travail est réparti en deux parties :

- La première partie est relative à l'étude bibliographique de plante la et des huiles essentielles.
- La deuxième partie représente la partie expérimentale où nous présenterons les techniques utilisées :
 - ✓ Extraction de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L, par l'hydro distillation.
 - ✓ Détermination de quelques caractéristiques physico-chimiques, Et de la composition chimique d'huile essentielle, par méthode chromatographique.
 - ✓ -La troisième partie consiste à déterminer l'effet : antibactérien de l'huile essentielle.

Enfin les résultats obtenus des caractéristiques physico chimiques ; de la composition de l'huile essentielle et son activité antibactérienne, sont interprétés à la lumière de la littérature. Le travail est clôturé par une conclusion et des perspectives.

The image shows a collection of books. In the foreground, two books are open, resting on a wooden surface. The book on top has a red cover, and the one below it has a blue cover. The pages are yellowed with age. In the background, there are several stacks of books, some with green covers, arranged on shelves. The lighting is warm, creating a cozy atmosphere.

Première Partie
Partie
Bibliographique



Chapitre I

Les huiles essentielles

I.1. Introduction

Les huiles essentielles des plantes ont déjà trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la préservation des aliments. Leur utilisation est liée soit leurs larges spectres d'activités biologiques, soit des ciblage très spécifiques [4]

Plusieurs définitions sont disponibles des huiles essentielles. Les huiles essentielles sont généralement des mélanges des principes volatils contenus dans les végétaux [5]. La définition donnée par [6], est la suivante : << les huiles essentielles sont des produits obtenus à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche >>. Les huiles essentielles sont des extraits végétaux volatiles et odorants appelés également substances organiques aromatiques liquides, qu'on trouve naturellement dans diverses parties des arbres, des plantes et des épices, elles sont volatiles et sensibles à l'effet de la chaleur, elles ne contiennent pas de corps gras [7]

I.1.1. Définition

Les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal [8]. Pour la 8ème édition de la pharmacopée française (1965), les huiles essentielles sont: «des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenu dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation» [9]. Elles sont odorantes et très volatiles, c'est –à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air [8]. Généralement se sont des antiseptiques antibactériens vermifuges ou stomachiques. On dénombre environ 600 essences utilisées de nos jours en aromathérapie dont l'essor s'étend dans le domaine médical et touristique [10]. L'usage des HE en tant que répulsifs cutanés pour la protection personnelle contre les insectes est donc fortement déconseillé [8]. Il est important de faire une différence entre les huiles essentielles et les huiles végétales. Les huiles essentielles sont obtenues par expression (réservée aux agrumes) ou par distillation à la vapeur d'eau, Une huile végétale est obtenue par pression, et est constituée majoritairement de corps gras [11]

I.1.2. Localisation des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en générale dans des cellules glandulaires spécialisées. Ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles (Lauraceae), dans des poiles sécréteurs (Lamiaceae), dans des poches sécrétrices (Myrtacée), dans des canaux sécréteurs (Astraceae). Elles peuvent être stockées dans divers organes végétaux : les fleurs (bergamotier, rose,...) les feuilles (citronnelle, eucalyptus,...), les racines (vétiver), les rhizomes (curcuma, gingembre,...), les fruits (anis, badiane,...), le bois (bois de rose, santal,...), ou graines (muscade,...) [13]. Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation. [14]

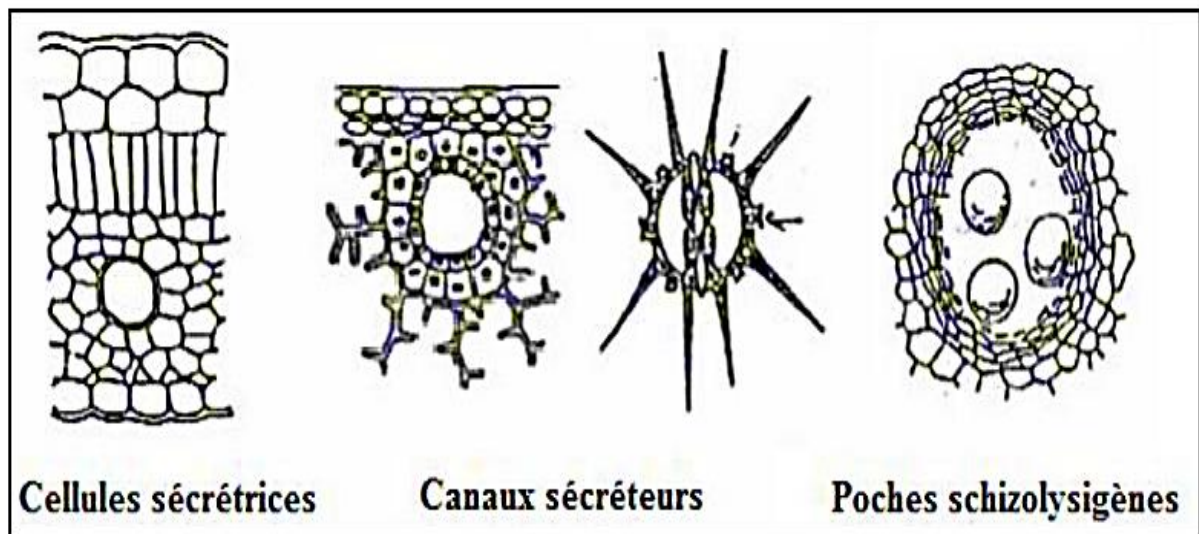


Figure 1 : Quelques organes sécréteurs d'huiles essentielles [15]

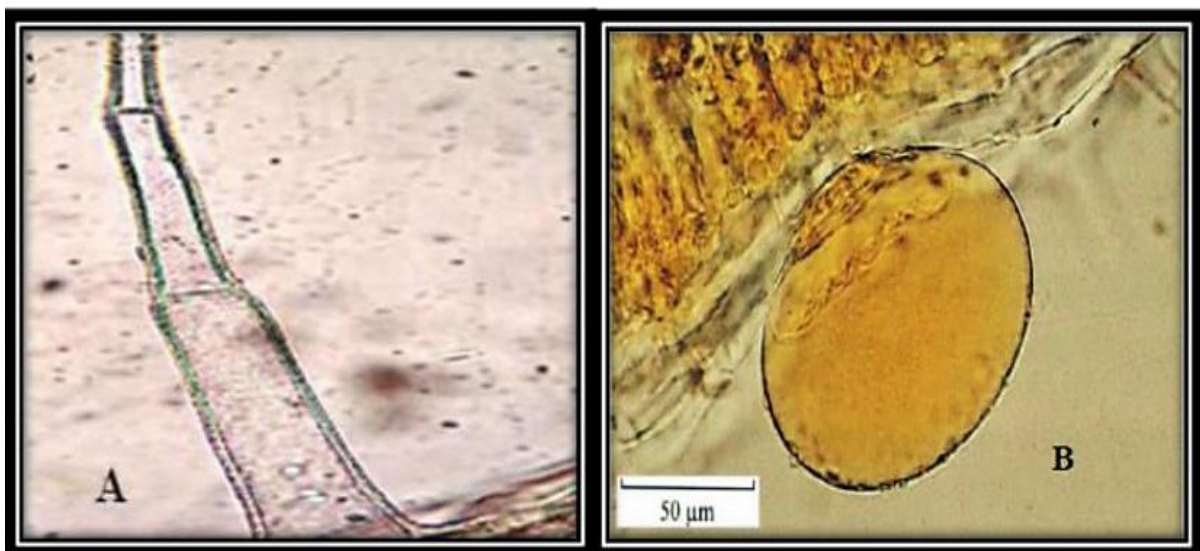


Figure 2 : (A) Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles, poil sécréteur[16]

(B) illustration schématique du développement de la glande productrice d'huile essentielle [17]

I.1.3. La Composition chimique des huiles essentielles:

Le tableau ci-dessus représente quelques compositions (**tableau1**) [18].

Tableau 1 : compositions des huiles essentielles

Familles	Exemples	Propriété
Hydrocarbures aliphatique mono terpène	Limonène (carvi, pin) α et β -pinène (sapain)	Fongistatique Bactériostatique Insecticide Nematicide Antimutagenique Herbicide Stimulation général
Sesquiterpène	Bisabolème, alpha humulème, beta caryophyllène (pin)	Calmants Anti-inflammatoires Antiallergiques Antibactériens et antifongiques
Phénols	Thymols (thym) Carvacrol (origan) Eugénol (clou de girofle)	Antioxydant Stimulantes Toniques Antiseptiques Bactéricides Fongicides Antivirales Antiparasitaires Irritantes
Alcool mono terpénique	Linalol (bois de rose), Géranol (palmarosa), Menthol (menthe poivrée), citronellol (citronelle)	Anti-inflammatoires Antiseptiques Bactéricides Fongicides Antivirales Antiallergiques Immunostimulantes Neurotoxiques
Alcool sesquiterpénique	Bisabolol (matricaire), viridiflorol (niaouli), cadrol (cypès)	Toniques et stimulante Généraux Décogestionnants Veineux et lymphatiques
Aldéhydes terpéniques	Citral (mélisse citronné), Citronellal (citronelle Eucalyptus citronne), Géraniale (verviene citronnée)	Antifongique Sporicidas Insecticide Anti hypertensif Anti-inflammatoire
Cétones	Carvone (cavi), Menthone (menthe poivrée), Camphre (romarin), Thuyone (saugé)	Calmantes Antivirales Antifongiques Neurotoxiques Antiépileptique Dépresseurs à dose élevées

I.1.4. Techniques d'extraction des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont obtenues selon trois principales techniques dont les deux premières utilisent la chaleur :

- l'entraînement à la vapeur ou hydrodistillation, la méthode la plus utilisée.
- la distillation sèche.
- l'expression à froid : réservée aux agrumes, se fait à température ambiante. [19]

Le choix de la technique dépend principalement de la matière première : son état originel et ses caractéristiques, sa nature proprement dite. Le rendement «HE/matière première végétale » peut être extrêmement variable selon les plantes : de 150 ppm à plus de 20%. Ce choix conditionne les caractéristiques de l'huile essentielle, en particulier : viscosité, couleur, solubilité, volatilité, enrichissement ou appauvrissement en certains constituants et utilisations et applications. [20]

I.1.4.1. Entraînement par la vapeur d'eau (hydro distillation) :

C'est le procédé (**Fig.3**) le plus ancien et le mieux adapté à l'extraction des essences des végétaux. C'est aussi la seule distillation préconisée par la pharmacopée française car elle minimise les altérations hydrolytiques (notamment des esters). L'appareil à distiller ou alambic sert à l'extraction quantitative et qualitative des huiles essentielles. D'anciens alambics ne dissociaient pas la plante de l'eau ce qui entraînait une cuisson de la plante et une huile essentielle à odeur de « brûlé ». Dans les alambics plus récents, l'eau et les plantes aromatiques sont soit séparées par une grille dans une même cuve, soit placées dans deux cuves différentes

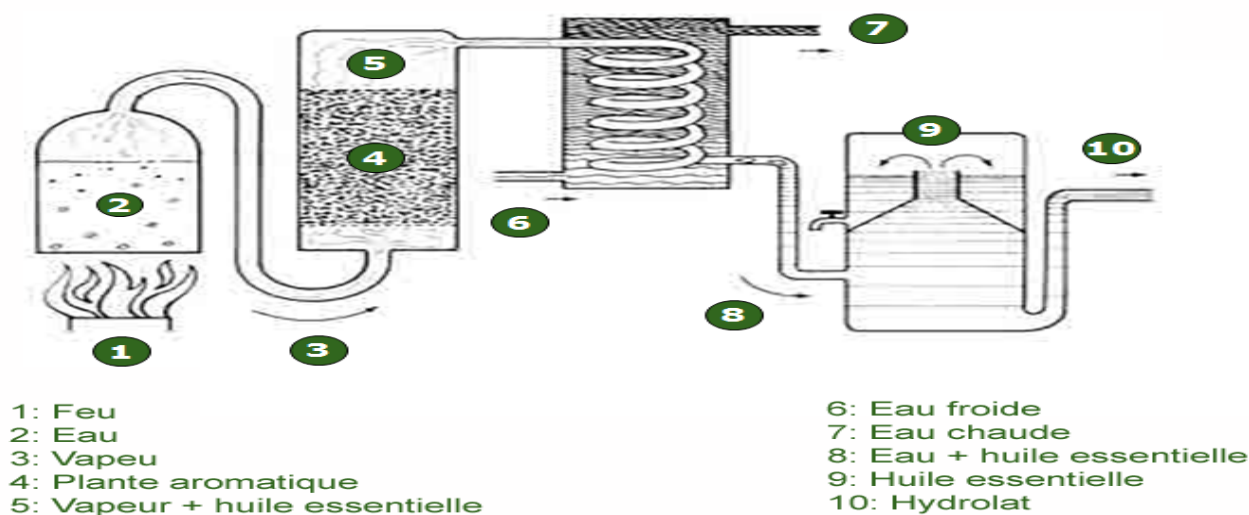


Figure 3 : Schéma de la distillation par entraînement à la vapeur d'eau

La vapeur générée par l'eau (la plus pure possible) en ébullition (2) imprègne et traverse la matière végétale (4), dissout et vaporise les molécules aromatiques puis les entraîne vers le réfrigérant. Il y a un échange thermique entre l'eau froide du réfrigérant entourant le serpentin et la vapeur d'eau

chargée d'essence circulant dans celui-ci. Progressivement il y a condensation et retour à l'état liquide de la vapeur d'eau et de l'essence extraite. A la sortie du réfrigérant (8).

Le produit de la distillation se partage en deux liquides distincts : l'hydrolat aromatique et l'huile essentielle. Cette séparation s'opère au sein d'un essencier (9) appelé également « vase florentin » : le plus souvent l'huile essentielle, de densité inférieure à l'eau, surnage au-dessus de l'hydrolat. Elle est recueillie et mise dans des flacons de verre afin qu'elle se stabilise (réajustement interne entre les diverses molécules). Ce repos est indispensable pour qu'elle adopte ses caractéristiques propres avant son utilisation thérapeutique. Le temps de repos minimum est en général d'un mois, comme pour la Lavande, mais pour une qualité optimum il est préférable d'attendre plus longtemps avant d'utiliser une huile essentielle : trois mois pour le Romarin et jusqu'à un an pour le Laurier. L'hydrolat aromatique est également conservé car il contient des molécules aromatiques en faible quantité (variable selon l'hydro solubilité des diverses molécules de l'huile essentielle), à l'état hydro-dispersé. L'hydrolat aromatique est un sous-produit naturel de la distillation dont les propriétés thérapeutiques sont complémentaires de celles de l'huile essentielle. La température et la pression de la distillation doivent être les plus faibles possible (environ 100°C et légèrement supérieure à la pression atmosphérique) afin de ne pas majorer les phénomènes d'oxydo-réduction inhérents à une huile essentielle de bonne qualité odoriférante. Le temps de distillation est presque toujours supérieur à une heure (1h15 pour Lavandou Vera, 3 heures pour Pinus sylvestris et plus de 100 heures pour Santalum album). Les rendements sont généralement faibles et se situent entre 0,02% (Rosa damascena) et 1%, sauf pour certaines plantes des contrées tropicales (environ 18% pour les clous de Giroflier et plus encore pour les résines exotiques). On étudie actuellement les possibilités d'améliorer la technique de distillation par hydro diffusion ou à l'aide de fluides à l'état supercritique. [20]. Toutefois l'hydrodistillation à la vapeur d'eau reste jusqu'à nouvel ordre la meilleure méthode de par son coût et son rendement.

I.1.4.2. La distillation sèche :

La distillation se réalise de préférence sur le bois ou les écorces. Elle n'utilise pas de vapeur d'eau contrairement à l'entraînement à la vapeur ou l'hydrodistillation. La distillation sèche donne un distillat ressemblant à un goudron. Ce mode de distillation est très peu utilisé car on suspecte une certaine cancérogénicité de ce goudron. Cela a conduit les industriels à raffiner l'huile par des distillations fractionnées afin d'éliminer les produits toxiques. L'extraction se fait de la même manière que lors de la distillation à la vapeur d'eau.

I.1.4.3. L'expression à froid ou Expression mécanique :

Ce procédé est réservé aux variétés de fruits ou plantes comme les agrumes (oranges, citrons, mandarines...). Les huiles essentielles de ces fruits sont contenues dans les petites glandes de leur écorce (zestes). Cette méthode se fait sans chauffage : elle consiste à soumettre la substance végétale à une forte pression à l'aide d'une presse hydraulique. (Fig4) Celle-ci est réalisée grâce à des machines perfectionnées [18]



Figure 4 : Presse hydraulique utilisée dans l'expression à froid

L'extraction par expression à froid des fruits entiers (c'est à dire le jus et la pulpe), consiste à trier les plantes selon leur taille, puis à les presser à froid, sans chauffage, afin de libérer l'huile essentielle du fruit. Celle-ci monte à la surface du jus, dont elle se sépare par centrifugation. L'extraction à partir de l'écorce consiste quant à elle à prélever les zestes et à les broyer, puis à les presser par frottement contre des ustensiles pourvus de pointes en métal, pour rompre les sacs oléifères qui contiennent les essences végétales. Le résultat est un mélange aqueux où l'huile essentielle finira par remonter à la surface.

I.1.4.4. Autres méthodes :

Les méthodes d'extractions n'échappent pas au développement des nouvelles technologies, en effet durant ces dernières années sont apparus de nouveaux procédés de distillation, et notamment l'hydrodistillation par micro-onde sous vide. Le procédé VMHD (**Fig.5**) a été élaboré et breveté, en 1994, par la société Archimex. Le VMHD [23] [24] consiste à chauffer la plante sélectivement par rayonnement microonde dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle. Par ce procédé l'huile est ainsi entraînée dans le mélange azéotropique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante utilisée. Très rapide et peu consommatrice d'énergie, le procédé livre un produit qui, le plus souvent, est de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation traditionnelle (Temps de travail divisé par 5 ou 10 et température plus basse). [20] [24]

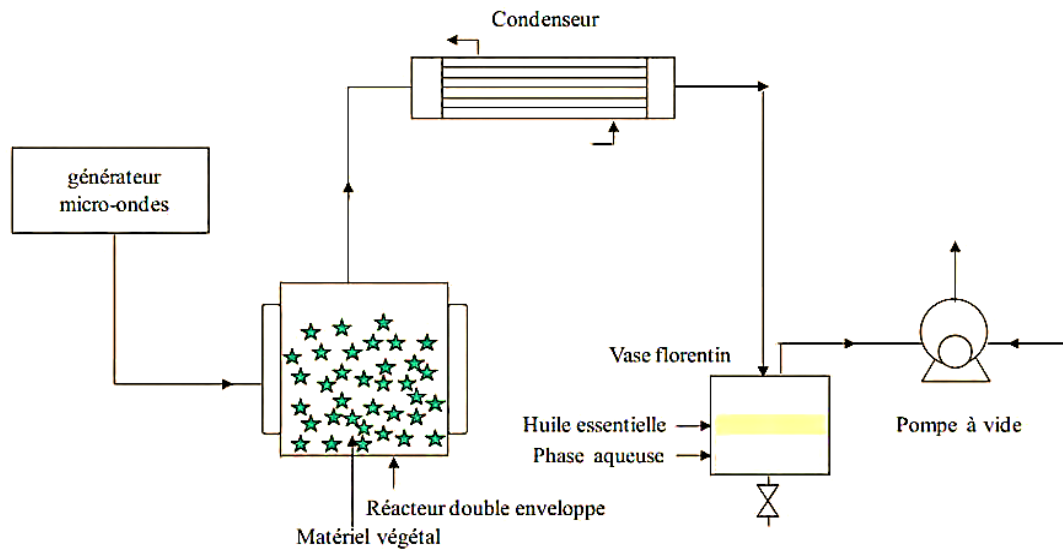


Figure 5 : Hydrodistillation par micro-ondes sous vide pulsé (VMHD)

I.1.4.5. Facteurs variant la composition des huiles essentielles

❖ **Des facteurs intrinsèques :**

- ✓ Les différentes parties de la plante.
- ✓ Le cycle de la plante (des poussées de biosynthèse engendrent une accumulation plus ou moins importante de certains constituants des chaînes métaboliques au cours des saisons, des mois, voire des journées.

❖ **Des facteurs extrinsèques, dont les plus importants sont :**

- ✓ La nature du sol
- ✓ La température
- ✓ L'humidité

Ces facteurs expliquent les différences de composition en fonction du terrain dans lequel sont cultivées les plantes.

La fonction de ces huiles essentielles dans la plante reste obscure. On pense qu'elles ont un rôle écologique. Leur rôle d'inhibiteur de la germination a été prouvé expérimentalement ainsi que leur rôle dans la protection contre les prédateurs et l'attraction des pollinisateurs

A bundle of fresh laurel leaves, tied with natural twine, is shown against a dark wooden background. The leaves are vibrant green and have a distinct pinnate structure. The twine is wrapped around the stems, creating a rustic, natural look. The lighting is warm, highlighting the texture of the leaves and the wood.

Chapitre II
Le Laurier Noble

II.1.Introduction

Au Moyen Âge, on couronnait de laurier les savants distingués dans les universités. Dans les écoles de médecine, la couronne dont on entourait la tête des jeunes docteurs était faite de rameaux feuillés de laurier avec des baies, d'où le nom « baccalauréat » (baccalauréat : baie de laurier) donné encore de nos jours en France au diplôme qui sanctionne la fin des études secondaires. Autrefois on pensait que le tubercule de l'arum tacheté enveloppé dans une feuille de laurier d'Apollon favorisait les entreprises juridiques [25]. L'Arum maculatum était considéré dans les temps reculés comme une plante magique associée à la magie blanche. Le laurier est encore un symbole de paix.

II.1.1.Définition

Laurus nobilis, le Laurier vrai, Laurier-sauce ou simplement Laurier, est une espèce d'arbustes à feuillage persistant de la famille des Lauracées. Il est originaire du bassin méditerranéen. Il est parfois appelé Laurier d'Apollon ou Laurier noble [26].

La famille des Lauracées est une famille de plantes angiospermes comprenant de 2500 à 3000 espèces distribuées de par le monde. Celles-ci sont réparties en 54 genres dans les zones tropicales et subtropicales comme indiqué sur la (Fig.6). Cette famille est peu représentée en Afrique mais très fréquente sur le continent américain ou asiatique, en Australie et à Madagascar [27]. Le laurier, ayant le nom scientifique de *Laurus nobilis* L. Est un arbuste de la famille des Lauracée, à feuilles persistantes et coriaces, originaire des pourtours de la méditerranée, son nom d'arabe: rand ou warkat moussa [28]

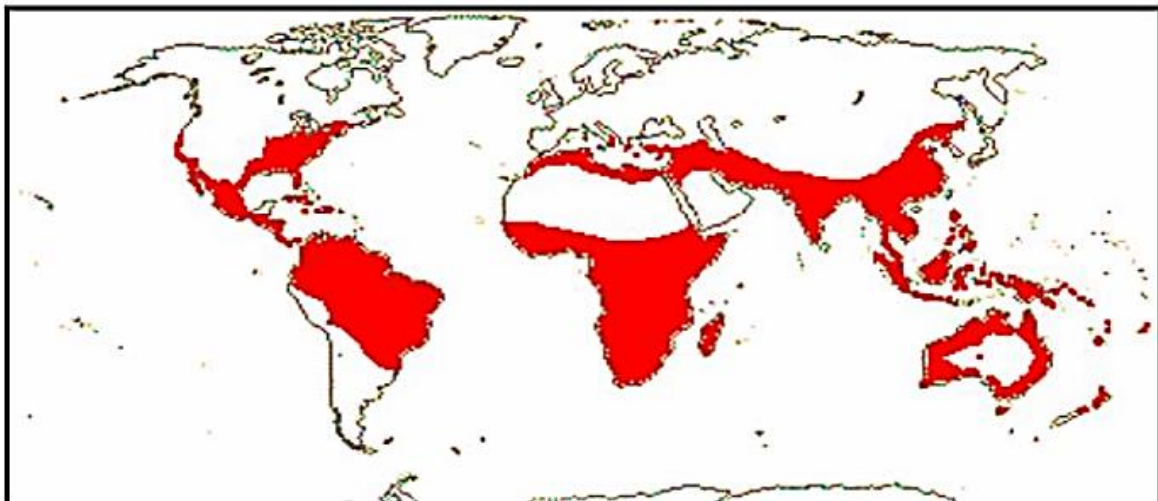


Figure 6: Distribution des Lauracées à travers le monde

La famille des Lauracées est composée d'arbres et arbustes aromatiques à feuilles persistantes pour la plupart des espèces [29]



Figure 7: Arbre de Laurier en fleurs [30].

II.1.2. Les autres lauriers :

Il serait dangereux de confondre le laurier rose avec le Laurier. Quand on parle de laurier à fleurs, il s'agit en fait de laurier rose. Celui-ci n'est pas utilisé en cuisine, car il est toxique. Beaucoup d'autres plantes sont également appelées lauriers, mais n'appartiennent ni au genre *Laurus*, ni même, pour la plupart, à la famille des Lauracées. On peut citer (Tableau 2) :

Tableau 2: Autres espèces du laurier noble (*Laurus nobilis*) [31].

Nom Vernaculaire	Nom Scientifique	Famille
Larier-amande	<i>Prunus laurocerasus L</i>	Rosacées
Laurier-benzoin	<i>Lindera benzoin L</i>	Lauracées
Laurier-cerise	<i>Prunus laurocerasus L</i>	Rosacées
Laurier-d 'Alexandrie	<i>Danae recemosa</i>	Liliacées
Laurier-Californie	<i>Umbellularia californisa</i>	Lauracées
Laurier des bois	<i>Daphnolaureola L</i>	Thyméléacées
Laurier des Iroquois	<i>Sassafras albidum</i>	Lauracées
Laurier du Portugal	<i>Prunus lusitanica L</i>	Rosacées
Laurier rose	<i>Nerium oleander L</i>	Apocynacées
Laurier tin	<i>Viburnum tinus L</i>	Caprifoliacées
Laurier sassafras	<i>Sassafras officinalis Nees</i>	Lauracées

Parmi tous les lauriers, le laurier rose est une des plantes les plus dangereuses et toutes ses parties sont toxiques. L'ingestion d'une simple feuille peut s'avérer mortelle pour un adulte, en raison des troubles cardiaques provoqués. Cet arbre vivace possède d'élégantes fleurs parfumées qui peuvent être blanches, rouge-rose, orangées ou rouge-orangé.

II.1.3. Identification :

- ❖ **Nom latin** : *Laurus Nobilis*
- ❖ **Famille** : Lauracées
- ❖ **Origine** : Europe
- ❖ **Période de floraison** : printemps
- ❖ **Couleur des fleurs** : crème
- ❖ **Type de plante** : arbuste
- ❖ **Type de végétation** : vivace :
- ❖ **Type de feuillage** : persistant
- ❖ **Hauteur** : jusqu'à 12m

Arbre de 2 à 10 m, aromatique glabre, très rameuse à rameaux dressés, feuilles alternes, coriaces persistantes, elliptiques, lancéolées, longues de 16 cm sur 8 cm de large, atténuées en court pétiole, entières, ondulées aux bords, fleurs dioïques blanchâtres, odorantes, en petites ombelles axillaires pédonculées et involuquées [32]. Le fruit est une petite baie ovoïde de 2 cm de longueur sur 1cm de largeur, noir vernissé à maturité [33]. Cultivé dans les jardins comme ornement et pour ses feuilles condimentaires. C'est un arbre dioïque (**Fig.8**). Les jeunes rameaux, flexibles et de couleur vert, portent des feuilles alternes, coriaces, ovales lancéolées à bord ondulé [30].

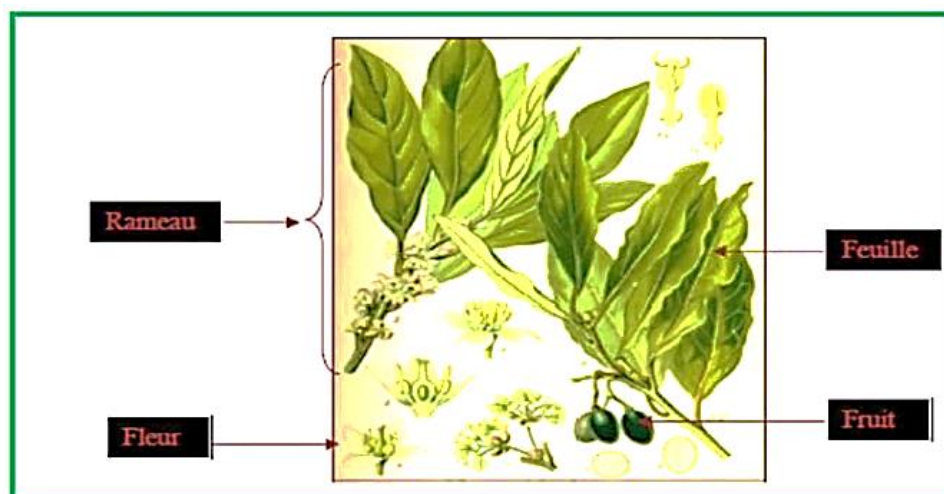


Figure 8: Aspect morphologique de *Laurus nobilis* L[34].

II .1.4.Classification botanique :

Tableau 3: La position systématique de *Laurus nobilis* L[35]

Régne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées
Genre	Laurus
Espèce	<i>Laurus nobilis</i> L

II .1.5.Composition :

Les feuilles du Laurier-sauce contiennent une huile essentielle représentant 1 à 3 % du poids sec. Cette huile renferme 30 à 70 % de **cinéol**, ainsi que plusieurs composés terpéniques : linalol, géraniol, eugénol, pinène, terpinène , phellandrène. En plus de cette huile essentielle, et est exprimée en pourcentage de divers composés des familles des oxydes terpéniques, des monoterpénols, des phénols des monoterpènes, des sesquiterpènes et des esters terpéniques [36].

- Oxydes terpéniques: 1,8-cinéole (calébtol) (48.38%).
- Monoterpénols: linalol(3.50%),terpinén-4-ol (2.84%),alpha-terpinéol (2.46%) -Phénols: méthyl-eugénol (2.22%), eugénol (0.08%).
- Mono terpènes: sabinène (9.46%), bêta-pinène (4.99%), alpha-pinène (5.77%), limonène (4.10%), para-cymène (2.38%), gamma-terpinène (2.12%), myrcène (0.64%), camphène (0.32%), alpha-phellandrène (0.24%), alpha-terpinène (0.28%).
- Esters terpéniques : acétate d'alpha-terpényle (8.52%), acétate de bornyle (0.16%).

les feuilles du Laurier-sauce contiennent également des alcaloïdes aporphiniques, comme la cryptodrine ou l'actinodaphnine qui sont responsables d'une activité cytotoxique (in vitro), des lactones sesquiterpéniques, ainsi que 18 flavonoïdes dont certains dérivés du kaempférol.

Les fleurs du Laurier-sauce renferment également une huile essentielle contenant les composés suivants : β -caryophyllène, viridiflorène, β -élémane, germacradiénol, germacrène D. De même, les racines contiennent une huile essentielle constituée de divers mono terpènes et sesquiterpènes, oxygénés ou non.

II .1.6.Utilisation :

II .1.6.1.Alimentaire

Ses feuilles sont utilisées en cuisine pour leur arôme. En condiment, elles sont habituellement sèches et entrent dans la composition du bouquet garni, pour infusion ou cuisson dans la sauce. En Saintonge, la feuille est employée fraîche pour les courts-bouillons, matelotes ou ragoûts. Les Bédouins l'utilisent pour parfumer le café.

Les fleurs de Laurier-sauce séchées peuvent aussi être employées en infusion avec une cuillère de miel, et les baies séchées ont les mêmes propriétés culinaires que les feuilles ; elles sont préparées avec une râpe, de la même manière que la noix de muscade. Il est préférable d'en user avec modération, car la présence de lactones et d'alcaloïdes peut procurer un goût amer.

En Inde, plusieurs espèces différentes, au parfum plus ou moins proche du Laurier nobilis, sont utilisées en cuisine, sous le nom de laurier, souvent sans distinction entre elles. Il s'agit le plus souvent de *Cinnamomum tamala*. Le *L. nobilis* n'est jamais utilisé en cuisine traditionnelle, mais parfois dans des plats occidentaux ou adaptés.

II .1.6.2.Ornementale

Cet arbuste est aussi très cultivé pour l'ornementation, notamment pour l'art topiaire : la Belgique est connue pour ses pépinières spécialisées dans la culture de laurier noble. Hors des régions de climat méditerranéen, il peut être sensible au gel, et est souvent cultivé en bacs ; cependant certaines variétés, un *dulata* notamment, se révèlent rustiques, et sont marcescentes ou repartent à partir de leur souche après une période de gel importante. La branche de laurier-sauce était appréciée aussi comme ornement par les Romains qui confectionnaient des couronnes pour les vainqueurs : les « lauréats ».

II .1.6.3.Médicinale

La feuille de laurier-sauce s'emploie également pour traiter les crampes abdominales en infusion. Le savon d'Alep est traditionnellement fabriqué avec de l'huile de baies ou de feuilles de laurier.

II .1.6.4.Comme répulsif

Au Maroc et en Tunisie, on frictionne les chevaux avec des feuilles fraîches afin d'en éloigner les mouches. On utilise également la feuille broyée en poudre pour lutter contre les fortes migraines : la poudre est alors prisée. Les feuilles du laurier-sauce contiennent du benzaldéhyde, de la pipéridine et du géraniol à une concentration de 50 ppm ; ces molécules sont toutes trois connues pour leurs qualités de répulsion des insectes [37].

II.1.7.Effets thérapeutiques

- Application cutanée (bain, compresse froide, massage) : Abscesses, acné, affections digestives et intestinales, angoisse, anxiété, aphte, bronchite, chute de cheveux, cheveux gras, concentration difficile, contracture et douleur musculaire, déprime latente, douleur articulaire, douleur dentaire, escarre, fatigue générale, furoncle, gingivite, grippe, infection bactérienne, infection virale, inflammation articulaire, inflammation ganglionnaire, mycose, panaris, psoriasis, rhumatisme, sinusite.
- Voie interne (orale, rectale, vaginale) : Affection digestive, affection intestinale, bronchite, grippe, infection intestinale, maladie dégénérative.
- Voie respiratoire (diffusion, inhalation, olfaction) : Angoisse, anxiété, bronchite, fatigue, grippe, infection bactérienne, infection virale, maladie dégénérative, manque de confiance en soi, de courage ou de mémoire, mucosités, sinusite [38].

Leurs propriétés pharmacologiques leur confèrent une utilisation médicale. Les huiles essentielles ont :

- ✓ Un pouvoir antiseptique: contre des bactéries variées ainsi que des champignons et levures.
- ✓ Des propriétés spasmolytiques et sédatives: certaines drogues à huiles essentielles sont réputées efficaces pour diminuer les spasmes gastro-intestinaux. L'amélioration de certaines insomnies et de troubles psychosomatiques divers est également notée. [39]
- ✓ Des propriétés irritantes: de nombreuses crèmes, pommades à base d'huiles essentielles, sont destinées à soulager entorses, courbatures ou claquages musculaires en augmentant la microcirculation, induisent une sensation de chaleur et dans certains cas une légère anesthésie locale [39].

Ces huiles essentielles constituent également le support de l'aromathérapie : traitement des maladies par essences de plantes. Signalons ici les différences entre phytothérapie, homéopathie et aromathérapie. Souvent, ces trois disciplines sont confondues par le grand public car elles font toutes trois, appel à des produits naturels, et sont sources d'accidents pour cette raison.

La Phytothérapie utilise des plantes médicinales en l'état. Des préparations galéniques qui en résultent et des médicaments à base de plantes

L'homéopathie trouve son origine dans l'utilisation des plantes fraîches servant à la préparation des teintures mères par macération dans l'alcool et constituant des souches homéopathiques. Des dilutions progressives de ces souches conduisent à la préparation du médicament homéopathie.

L'aromathérapie utilise les huiles essentielles provenant de plantes dites «aromatiques».avec elles, nous sommes loin des extraits habituels de plantes. Elle peut être définie comme un traitement utilisant des odeurs, dont l'inhalation peut avoir des effets bénéfiques à travers leur action sur le système limbique dans le cerveau. [40].

II .1.8.Effet antibactérien de l'HE de laurier

Il est connu depuis l'antiquité que les huiles essentielles présentent une activité antiseptique non négligeable. Elles sont utilisées dans le nombreux domaine: pharmacie ; cosmétique ; agro-alimentaire...etc. à la fin du XIX^e et au début du XX^e siècle, plusieurs travaux scientifique relataient l'action antiseptique de plusieurs huiles essentielles [41].

En phytothérapie ; les huiles essentielles sont utilisées pour leur propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuse d'origine bactérienne ; comme les bactéries endocanaliaires ou la microflore vaginale ; et d'origine fongique ; comme les dermatophytes les moisissures allergisantes ou les champignons opportunistes. Elles présentent également des propriété cytotoxique qui les rapproches donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre [42].

Des études récentes ont prouvé que les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures et que leurs activités antimicrobiennes est principalement fonction de leurs composition chimique et en particulier de la nature de leurs composés volatiles majeurs [42] [12].



Chapitre III
Effet antimicrobien

III.1. Antimicrobien

Le terme antimicrobien fait référence à un ensemble de composés qui ont la capacité d'éliminer ou de réduire la prolifération de microbes. Les microbes visés par un antimicrobien peuvent être des bactéries, des virus, des mycètes ou des parasites. Les traitements antibiotiques font partie également des antimicrobiens. Ils ciblent les champignons ou les bactéries. Certaines plantes, comme le cumin noir, ont des propriétés antimicrobiennes. Les antimicrobiens peuvent être utilisés sur l'homme, les produits alimentaires, ou pour assainir un environnement [44].

III.1.2. LES BACTÉRIES :

III.1.2.1. Définition

- Être vivant, unicellulaire, de petite taille (généralement 1 micro de diamètre et quelques microns de longueur).
- Cellule procaryote (dépourvue d'un véritable noyau) : absence de membrane nucléaire, chromosome unique en général.
- Paroi rigide faite d'un constituant spécifique : peptidoglycane ou muréine.

Concernant les structures obligatoires, on trouve le cytoplasme, généralement constitué d'un hyaloplasme où baignent essentiellement des ribosomes et parfois des éléments supplémentaires comme les substances de réserve. Dans le cytoplasme, on trouve l'appareil nucléaire diffus non entouré par une membrane. La membranocytoplasmique qui entoure le cytoplasme possède deux feuilletts phospholipidiques contenant des protéines. Au dessus de la membrane cytoplasmique, on trouve la paroi (sauf chez les mycoplasmes) qui forme une enveloppe rigide.

Les structures facultatives, quant à elles, peuvent être des polymères de surface comme la capsule, des appendices comme les flagelles et les pilius des structures génétiques comme les plasmides (molécules d'ADN extra chromosomiques). Les endospores caractérisent quelques genres bactériens (*Bacillus* et *Clostridium*); elles ne sont élaborées que lorsque les conditions de vie deviennent défavorables [43].

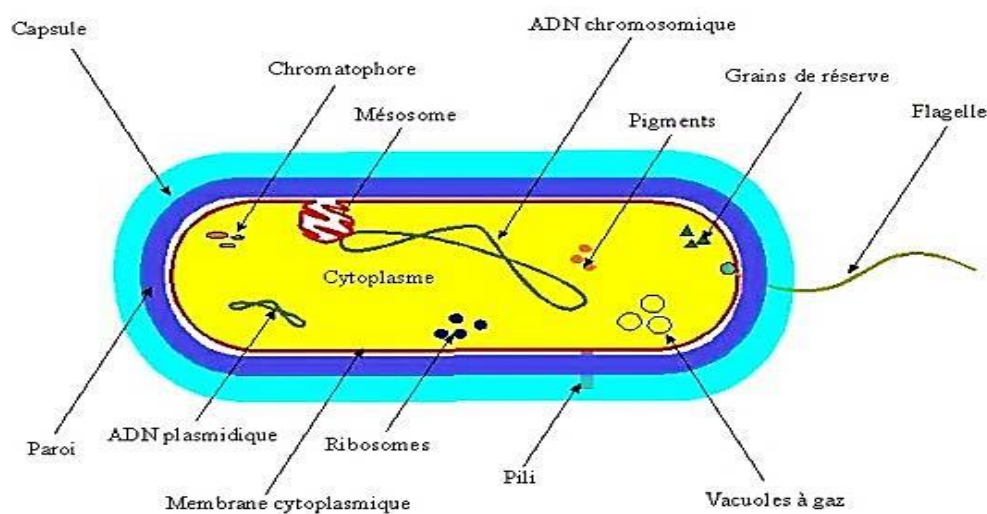


Figure 9 : Cellule bactérienne [45]



Figure 10: Mycoplasme [45]

III.1.2.2. Classification des bactéries :

- ✓ **Classification fondée sur les caractères**
 - morphologiques.
 - tinctoriaux.
 - biochimiques.
 - antigéniques.
 - génétiques.

- ✓ **Classification selon leur forme**
 - arrondie : les cocci
 - allongée : les bacilles
 - les vibrions
 - spiralée

Les différentes formes de bactéries sont représentées dans la figure suivante :

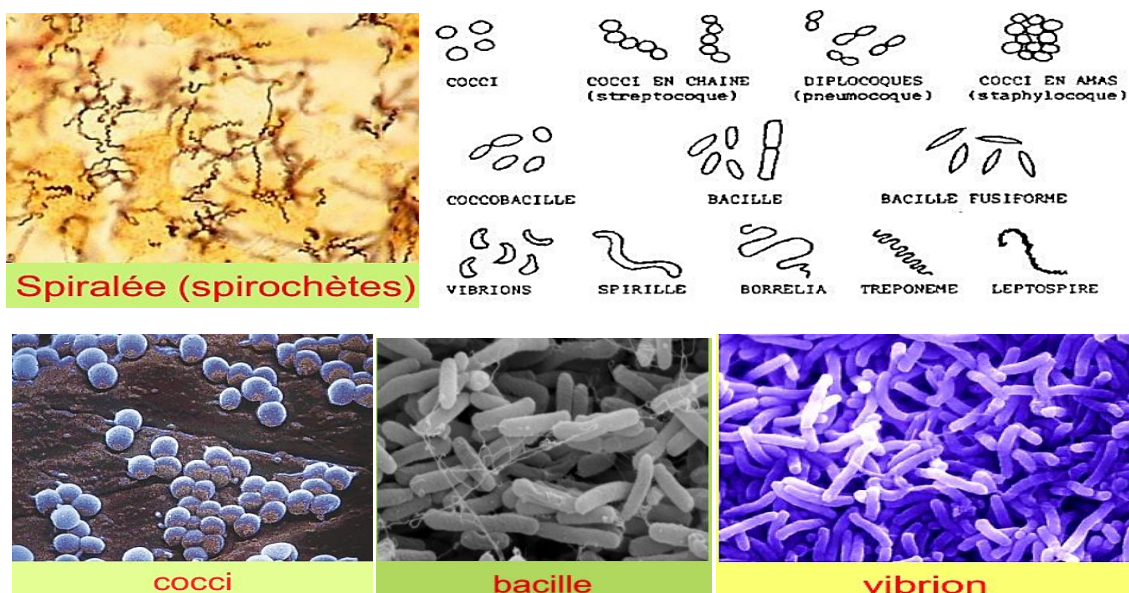


Figure 11: Les différentes formes des bactéries [45]

Le tableau 4 et la figure 12 représentent les résultats de la coloration GRAM

Tableau 4: La coloration GRAM

Coloration	colorée en violet	colorée en rose	pas de réaction
Résultat	GRAM +	GRAM –	

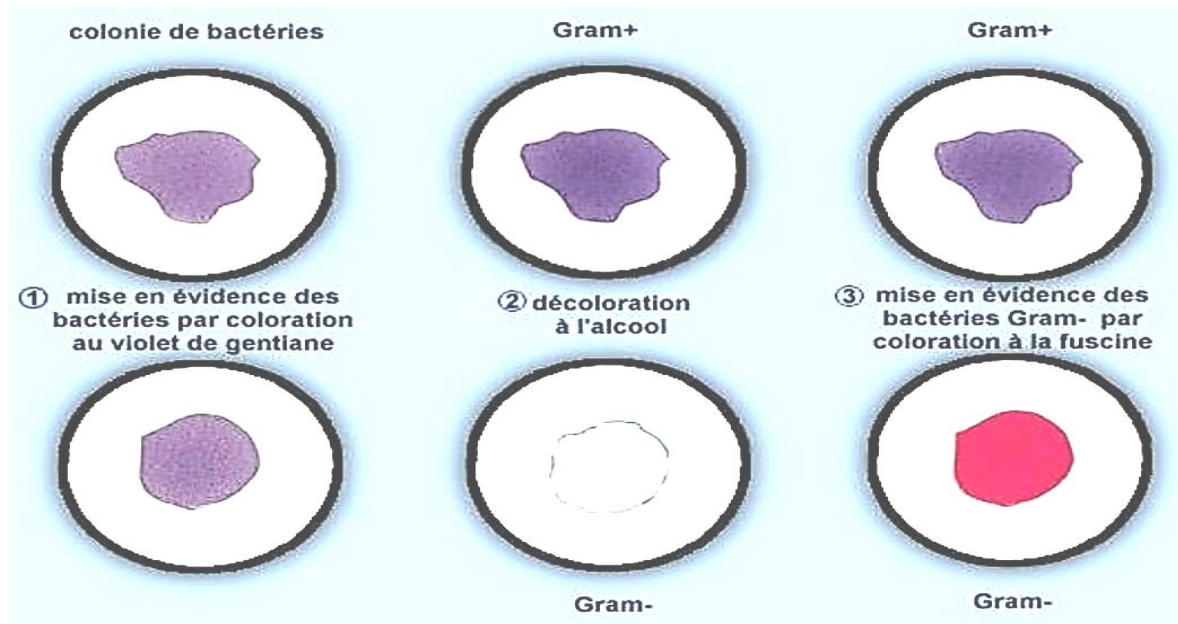


Figure 12: la coloration GRAM[45]

III.1.2.3.La composition bactérienne :

- ❖ Le principal composant est l'eau, elle représente environ 80% du poids de la bactérie.
- ❖ L'analyse sur un poids sec donne les résultats suivants :
 - Carbone 50%
 - Azote 15%
 - Hydrogène 10%
 - Oxygène 20%
 - Phosphore 3%
 - Soufre
 - Mg⁺⁺, Mn⁺⁺, Zn⁺⁺, Cr, Na⁺, K⁺... etc.

III.2.Les champignon :

III.2.1.Définition :

Le champignon est Comme tout végétal, il se reproduit. Mais les champignons ont un développement particulier et ont la particularité d'être très résistants. On les classe selon leur forme en levures, en champignons dimorphes et en moisissures. De fait, cela n'influe pas trop sur leur développement qui est toujours le même : ils attendent que les conditions soient favorables pour se développer, exactement comme les champignons des forêts.

Ils restent incrustés grâce à une sorte de réseau, le mycélium, et lorsque l'humidité et la température sont suffisants ou que les défenses immunitaires sont affaiblies, ils se développent. Une fois développé, le champignon va émettre des spores qui vont donner naissance à de nouveaux champignons.

C'est pourquoi dans certaines mycoses comme les mycoses vaginales, il faut redonner le traitement quelques jours plus tard, de façon à éliminer les spores. La plupart vivent à l'état normal dans les muqueuses : c'est le cas du *Candida albicans*, qu'on peut retrouver sur la peau ou dans la muqueuse vaginale. Il suffit d'une hygiène insuffisante voire excessive, inappropriée ou d'un traitement antibiotique à large spectre qui déstabilise la flore normale pour que certains champignons trouvent des conditions favorables à leur développement. C'est le cas des mycoses cutané-muqueuses.

Mais parfois c'est l'organisme lui-même qui présente une immunité déficiente. Dans ce cas, les mycoses vont se développer plus profondément : mycoses digestives ou pulmonaires. Elles sont généralement plus graves [46].

III.2.2. Classification :

La classification des champignons a été totalement revue :

- ✓ Le sous-règne des Eumycota rassemble les Ascomycota, les Basidiomycota, les Zygomycota et les Chytridiomycota (les Deuteromycota, un groupe qui rassemblait les champignons sans stade de reproduction sexuelle connue, n'existe plus et ces champignons sont aujourd'hui pour la plupart classés parmi les Ascomycota). Ce sont des opisthokontes, comme les animaux dont ils sont phylogénétiquement les plus proches parents .
- ✓ Les Microsporidias sont aussi des opisthokontes mais différentes des Eumycota. Les Oomycota (dont le Mildiou), les Labyrinthulomycetes et les Hyphochytriomycetes sont des hétérokontés, plus proches de divers groupes d'unicellulaires et d'algues brunes que des autres champignons.
- ✓ Les Mycetozoas (anciennement appelés : Mycétozoaires) sont classés dans les Amoebozoa [47].

III.2.3. LES DIFFÉRENTS CHAMPIGNONS

Leur liste est impressionnante : on en connaît environ 100.000 espèces. Impossible donc de tous les répertorier ici. Parmi toutes ces espèces une centaine seulement est pathogène pour l'homme. Il existe 2 formes particulières de champignons :

- Les cellules isolées qui se développent par bourgeonnement et qu'on appelle les levures.
- les champignons constitués par des filaments, le mycélium. Les uns comme les autres s'appellent des "mycoses" [48].

III.3. Les virus :

III.3.1. Définition:

Un virus est un agent infectieux nécessitant un hôte, souvent une cellule, dont il utilise le métabolisme et ses constituants pour se répliquer. On le considère de plus en plus comme faisant partie des acaryotes.

Les virus existent sous une forme extracellulaire (unité matérielle indépendante appelée virion lorsqu'il y a une capsidie ou, pour quelques formes, viroïde) ou intracellulaire (virus intégré sous forme dormante ou détournant activement la machinerie cellulaire au profit de sa répllication).

Sous la forme intracellulaire (à l'intérieur de la cellule hôte), les virus sont des éléments génétiques qui peuvent se répliquer en parasitant tout ou partie du métabolisme de la cellule hôte, que ce soit intégré à un chromosome du génome hôte (on parle alors de provirus) ou parallèlement à lui (cas par exemple des usines à virions).

Sous la forme extracellulaire, les virus sont des objets particuliers, infectieux, constitué, au minimum d'un acide nucléique souvent englobé dans une capsidie de protéines

Le débat sur la nature des virus (vivants ou pas) repose sur des notions complexes et reste aujourd'hui ouvert. Cependant, selon de nombreuses définitions du vivant (entité matérielle réalisant les fonctions de relation, nutrition, reproduction), les virus ne seraient pas des êtres vivants [49].

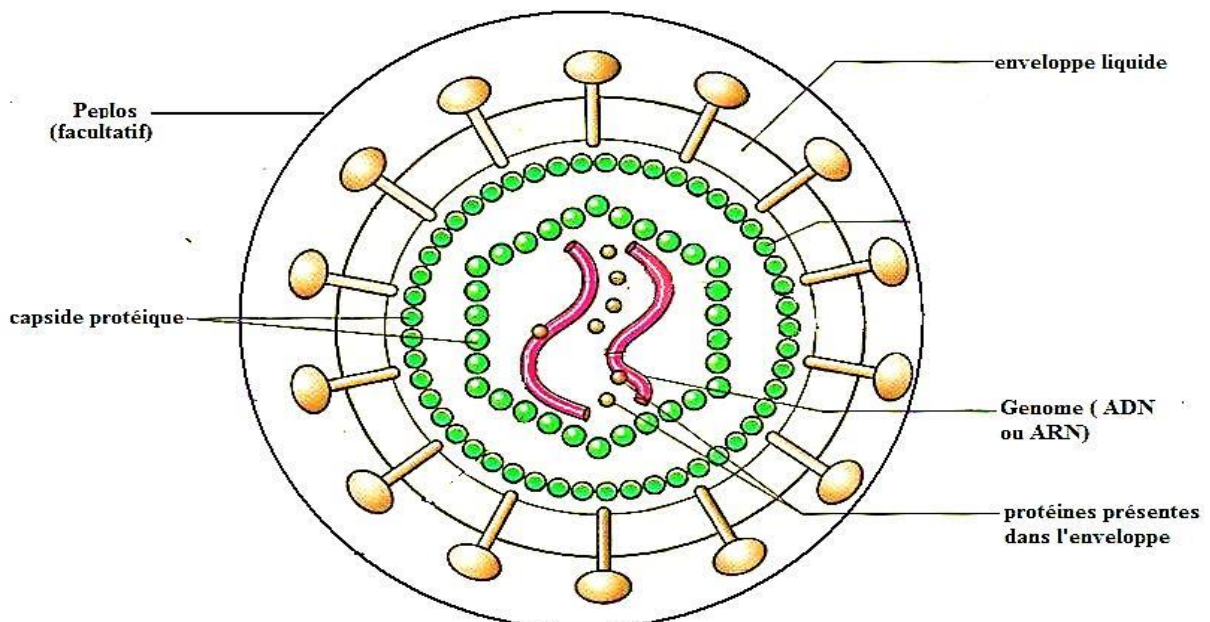


Figure 13 : Structure moléculaire d'un virus

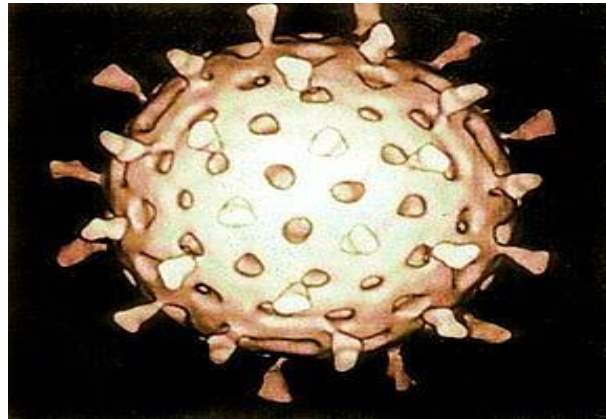


Figure 14:Rota virus

III.3.2.Caractéristiques :

On caractérise un virus par son incapacité à se reproduire par mitose, par scissiparité ou par méiose. Pour répliquer son acide nucléique, il dépend d'une cellule hôte qu'il doit infecter pour détourner et utiliser son métabolisme : un virus est un parasite intracellulaire obligatoire. Il est composé d'une ou plusieurs molécules d'acide nucléique (soit d'ADN, soit d'ARN, simple ou double brin), éventuellement entourées d'une coque protéique appelée capsid, voire d'une lipidique (ex: l'Ebola virus est un virus enveloppé.).

Parfois certaines capsides contiennent quelques enzymes (ex: transcriptase inverse du VIH) mais aucune pouvant produire de l'énergie [49].

III .4. LES PARASITES :

Les parasites sont des micro-organismes plus ou moins agressifs..Ils envahissent le corps en tout ou en partie. D'autres, comme le ver solitaire, les oxyures, sont des parasites moins agressifs qui se logent uniquement dans le tube digestif.

III .5.Les maladies bactériennes:

III .5.1.Définition:

Une maladie bactérienne (ou bactériose) est une maladie infectieuse causée par une bactérie. Les maladies bactériennes sont très nombreuses en pathologie humaine et vétérinaire. Chez les végétaux, les maladies à bactéries sont du ressort de la phytopathologie

Le tableau ci-dessus représente les principales maladies bactériennes causées par des agents infectieux

Tableau 5 : Maladies causées par des agents infectieux

Maladies causées par des BACTERIES	Maladies causées par des VIRUS	Maladies causées par des CHAMPIGNONS	Maladies causées par des PARASITES
La coqueluche	Les hépatites	Le pied d'athlète	La gale
La diphtérie	Les mollusca	Les teignes	La pédiculose
Le tétanos	La poliomyélite		L'infection par le ver solitaire
La fièvre typhoïde	Certaines gastro-entérites		L'oxyurose
Certaines gastro-entérites	La rougeole		Certaines gastro-entérites
L'impétigo	Certaines méningites		
Ceratines méningites	La rubéole		
La tuberculose	Le sida		
Les infections à Streptocoques Béta Hémolysants du groupe A (y compris la scarlatine)	La varicelle		
La maladie de Lyme	La 5 ^{ème} maladie		
	Les verrues		
	Le zona		
	La mononucléose		

III .5.2.Bactéries responsables des infections les plus communes

- *Streptococcus pneumoniae* – le « pneumocoque » – :se trouve habituellement dans le nez et le pharynx de très nombreuses personnes, il peut provoquer de dangereuses infections du sang ou des méninges) et plusieurs milliers de pneumonies. Mais il est également responsable de nombreuses infections qui peuvent guérir d'elles-mêmes, telles certaines otites et bronchites.
- *Staphylococcus aureus* –« le staphylocoque doré » — : fait partie de la flore microbienne de la peau d'environ un tiers de la population peut provoquer des infections de la peau, des tissus mous, du sang ou même des os.
- *Escherichia coli* : appartient à la famille des entérobactéries peut causer des infections lorsqu'elle est présente dans d'autres parties du corps (infections urinaires, intra abdominales et méningites).
- *Klebsiellapneumoniae* : est aussi une entérobactérie qui colonise normalement le tube digestif de l'Homme et des animaux. C'est pourtant l'une de bactéries qui provoque le plus grand nombre d'infections nosocomiales (liées aux soins), et d'infections des voies urinaires ou respiratoires, en particulier de pneumonie grave. Chez les nouveau-nés, *Klebsiellapneumoniae* peut provoquer des infections du sang, associées à des taux élevés de mortalité. Cette bactérie a aussi la particularité d'acquérir facilement de multiples formes de résistance aux antibiotiques.On peut encore citer.
- *Acinetobacterbaumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*, deux bactéries qui provoquent principalement des infections dans les établissements de santé.

III .6.L'antibiogramme :

III .6.1.Deffinition :

L'antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus.

III .6.2.Principe :

Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence d'un ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. On peut par exemple placer plusieurs pastilles imbibées d'antibiotiques sur une souche bactérienne déposée dans une boîte de Pétri

Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible, intermédiaire ou résistante.

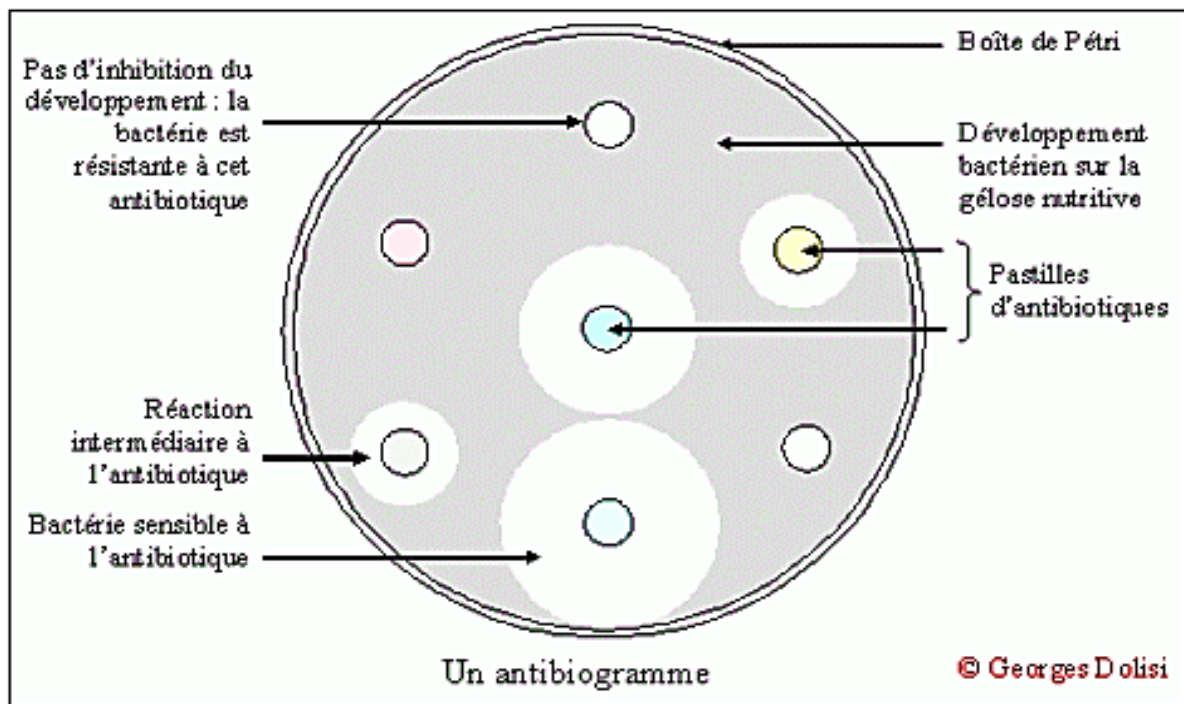


Figure 15: Antibiogramme

A photograph of various laboratory glassware. On the left, a beaker holds three test tubes with orange, blue, and yellow liquids. In the center, a round-bottom flask contains a blue liquid. To its right, a graduated cylinder is filled with an orange liquid. On the far right, an Erlenmeyer flask contains a yellow liquid. The glassware is arranged on a reflective surface, and the background is a plain, light color.

Deuxième partie
Partie expérimentale

❖ But de travail

Le travail réalisé, a permis l'extraction d'HE du Laurier noble et la détermination de l'activité antimicrobienne.

Les principales étapes de sa réalisation sont :

- ✓ L'évaluation qualitative et quantitative de la qualité des feuilles de Laurier noble.
- ✓ L'extraction de l'HE.
- ✓ La caractérisation et l'analyse de l'HE.
- ✓ La détermination de l'activité antimicrobienne.

La méthodologie générale suivie est représentée ci-dessous (fig16)

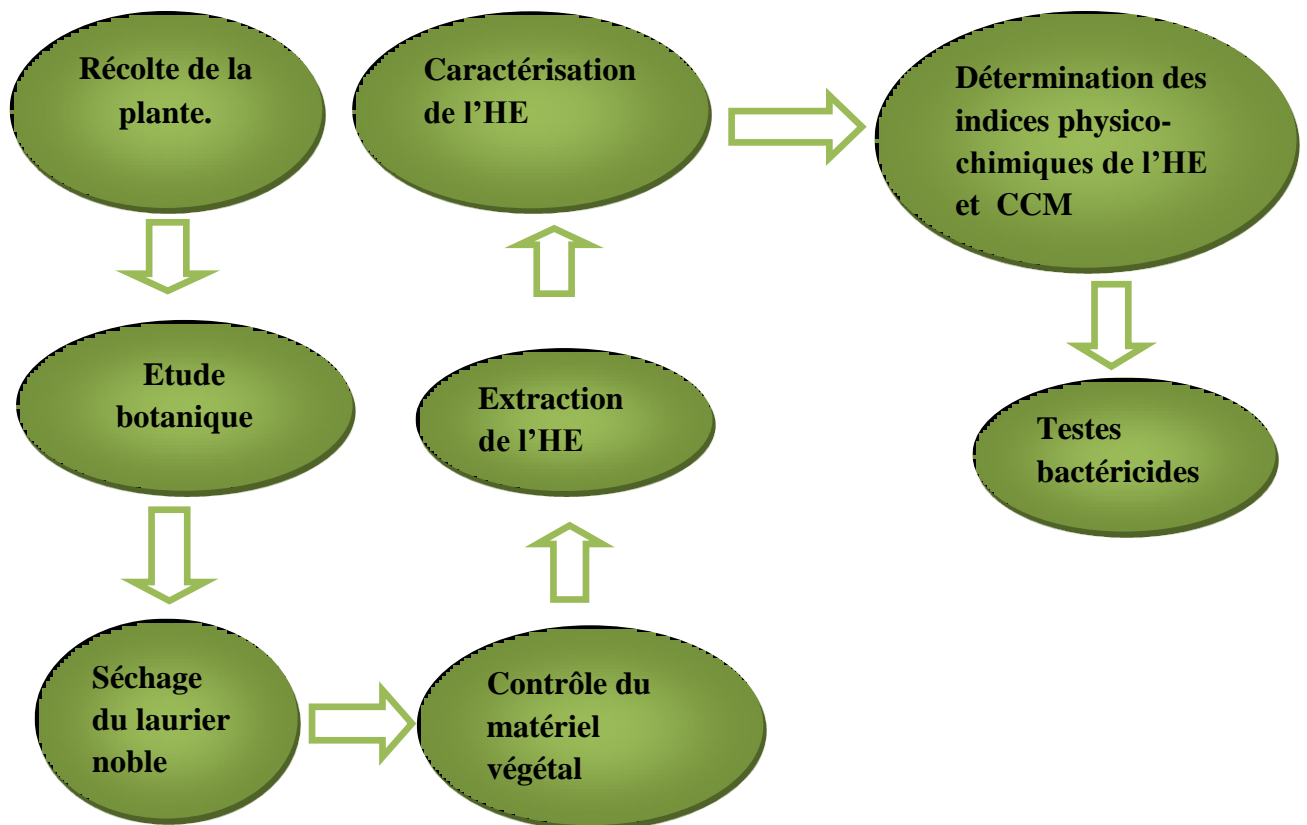


Fig.16:étapes de la réalisation expérimentale

IV. Matériels et les Méthodes

IV .1. Matériel végétale

La matière végétale utilisée dans cette étude est représentée par des feuilles de Laurier noble récoltées dans les hauteurs Collines (Melakou-Tiaret), Algérie entre le 15 Février et le 12 Mars dans une meilleure condition de la germination (figure17).



Figure 17 : Feuilles fraîches de *Laurus nobilis*, (Melakou-TIARET)

Les expériences de séchage sont réalisées à l'air libre à l'abri du soleil (température ambiante 15°C) pendant 1 mois et 15 jours (fig 18)



Figure 18: Feuilles séchées de *Laurus nobilis*

Pour contrôler la qualité et la quantité des feuilles, la plante doit être bien broyée (f 19)

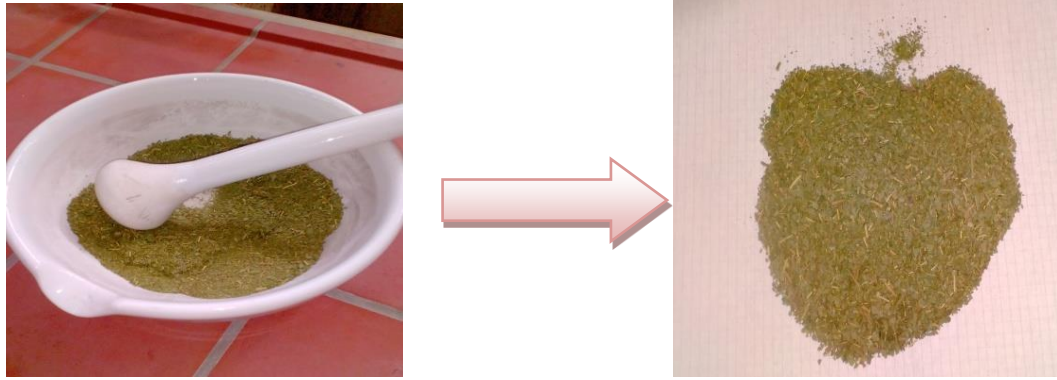


Figure 19 : la plante broyée

IV.1.2 Matériel technique et appareillage:

Balance analytique	E42S-B
Réfractomètre	RL 2 (Nr 4667) (Voir Annexe II)
Four à moufle	type MR 170 E ; B-Nr ; Nenntemp1000°C ;(voir Annexe II)
Etuve d'incubation	KOTTERMANN®2712
Plaque CCM	chromatographie sur couche mince
Lampe	(rayonnement ultraviolet) VILBER LOURMAT

STERILISATEUR

Bain marie

Une gélose Mueller-Hinton en boîte de Pétri

Boîte de Pétri

Disques d'antibiotique.

Disques

Un râteau ou un écouvillon

Une pipette 1 ml

Tube à hémolyse

Pipette pasteur

Eau physiologique stérile

Ballon 1000ml

Chauffe ballon

Bécher

Erlenmeyer

Réfrigérant (Voir annexe III)

IV.2. Matériel bactérien

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de la plante étudiée dans le cadre de cette étude a été réalisée en accord avec des méthodes officielles.

Les souches pathogènes cibles sont (Voir annexe III):

* *Escherichia coli*.

* *Staphylococcus aureus*.

* *Pseudomonas aeruginosa*.

IV .3. Contrôle de qualité de la matière première:

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées
Genre	Laurus
Espèce	Laurus nobilis L.
Nom arabe	الرنند; ورق الغار

IV .3.1. Description:

Le laurier est un arbuste mesurant de 2 à 6 m et jusqu'à 15 à 20 de haut, à tige droite et grise dans sa partie basse, verte dans le haut. Odeur : aromatique quand on les froisse.

IV .3.2. Stockage :

Les feuilles de laurier ont été stockées à une température ambiante entre 15 à 20°C à l'abri du soleil et de l'humidité.

IV.4. Contrôle chimique:

Le contrôle qualité de la matière première sera noté par la méthode de calcination (les cendres) (voir l'annexe I) (four à moufle)[50,51].

IV.4.1. Etude photochimique:

C'est l'ensemble de tests qui servent à identifier les substances biologiques actives dans la partie aérienne de la plante. [52, 53, 54]

IV.4.1.1. Recherche des Alcaloïdes:

Pesez 10g de la plante, versez dans un erlenmeyer de 250ml avec 50ml de H₂SO₄ à 10%. Agiter et laisser 24h à une température ambiante. Filtrer sur papier filtre et laver par l'eau jusqu'à obtention de 50ml de filtrat.

➤ **Réalisation des tests:**

✓ **Réaction avec le réactif de Dragen-Dorff:**

Prendre 5ml de l'extrait et ajouter deux gouttes du réactif de Dragen-Dorff.

IV.4.1.2. les composés poly-phénoliques:

➤ **Extraction:**

Mettre 10g de poudre végétale dans 100ml d'eau distillée dans un erlenmeyer, fermer par un verre de montre, faire bouillir pendant 15min puis filtrer sur papier filtre et rincer le résidu avec un peu d'eau distillée chaude de manière à obtenir 100ml de filtrat.

IV.4.1.3. Les tanins:

➤ **Caractérisation**

Dans un tube à essai verser 5ml de l'infusé et 1ml d'une solution aqueuse diluée de FeCl₃ à 1%.

IV.4.1.3.1. Les tanins catéchiques:

Prendre 5ml de l'infusé, ajouter 1ml d'HCl concentré et porter à ébullition pendant 15min.

IV.4.1.3.2. Les tanins galliques:

Prendre 30ml de l'extrait et 15ml de stiasany ; chauffer sur bain marie à 90°C pendant 15 min, dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux puis filtrer, après ajouter 2g de Pb(CH₃COO)₂ et 1ml FeCl₃ à 1%.

IV.4.1.4. Recherche des flavonoïdes:

A 5ml de l'infusé ajouter 5ml de H₂SO₄ concentré puis 5ml de NH₄OH.

IV.4.1.4.1. Les cyanhydriques:

A 5ml de l'infusé, ajouter 5ml d'alcool chlorhydrique (éthanol 90%, eau distillée, HCl concentrée à parties égales en volume) puis quelques copeaux de Zinc métallique et 1ml d'alcool isoamylique.

IV.4.1.5. Recherche des quinones (Dérivés anthracéniques):

IV.4.1.5.1. Anthracéniques libres:

Dans un bécher verser 1g de poudre végétale, ajouter 10ml d'eau distillée et chauffer pendant 3min puis filtrer à chaud et compléter à 10ml si nécessaire.

- **Caractérisation (réaction de borntager):**

Agiter 1ml de l'extrait chloroformique obtenu et 1mlNH₄OH diluée.

IV.4.1.5.2.Anthracéniques combinés:

1.O-Hétérosides:

Prendre 5ml de l'hydrolysate et traiter tout en agitant avec 5ml de chloroforme , soutirer la phase organique, ajouter 1ml de NH₄OH dilué et agiter. Si la réaction est négative ou faiblement positive, on cherche les O-Hétérosides à génine réduite.

2.O-Hétérosides à génine réduite :

Prélever 5ml d'hydrolysate et ajouter 3à4 gouttes de FeCl₃, chauffer pendant 5min sur bain marie .Refroidir ,et agiter avec 5ml de chloroforme. Soutirer la phase chloroformique et introduire dans un tube à essai en conservant la phase aqueuse. Ajouter 1ml NH₄OH dilué et agiter.

3. O-Hétérosides:

Prendre la phase aqueuse qui à été conservée par 10ml d'eau et ajouter 1ml de FeCl₃ à 10%.Chauffer au bain marie bouillant pendant 30min, refroidir et agiter avec 10ml de chloroforme. Soutirez la phase chloroformique, ajouter 1ml de NH₄OH dilué et agiter

IV.4.1.6.Recherche des glucosides:

➤ **Réaction avec l'acide sulfurique:**

Mettre deux gouttes de l'acide sulfurique sur une masse de la poudre végétale

IV.4.1.7.Rechercher des saponines:

➤ **Extraction:**

Porter à ébullition pendant 15min ; 5g de drogue végétale dans 50ml d'eau distillée après refroidissement puis filtrer et ajuster le volume de la solution à 50ml d'eau distillée.

➤ **Caractérisation:**

Introduire dans un tube à essai 10ml de décocté précédemment préparé .Agiter le tube pendant 15seconde. Laisser reposer pendant 15min.

IV.4.1.8.Recherche des hétérosides cardiotoniques:

➤ **Extraction:**

Ajouter à 1g de poudre 10ml d'éthanol à 60% et 1ml d'acétate de plomb à 10%chauffersur bain marie pendant 10min puis filtrer. Agiter le filtrat avec 10ml chloroforme. Laisser décanter puis soutirer la phase chloroformique et évaporer à sec puis prendre le résidu avec 2ml d'isopropanol

• Réaction de Libermann Burchard:

A 1ml de l'extrait ajouter 1/5 du volume d'anhydride acétique puis goutte à goutte de l'acide sulfurique concentré.

IV.4.1.9. Recherche des composés réducteurs:**➤ Caractérisation:**

A 1ml de l'infusé ajouter 1ml AgNO_3 , puis 1ml NH_4OH .

IV.4.1.10. Recherche des mucilages:**➤ Caractérisation:**

Introduire 1ml de décocté aqueux à 10% dans un tube à essai et ajouter 5ml d'alcool absolu .attendre 10min

IV.4.1.11. Recherche de l'amidon :

A 1g de poudre végétale ajouter 1ml d'une solution d'iode ($\text{I}_2 + \text{KI}$).

IV.4.1.12. Recherche des iridoïdes:

Faire une décoction de 1g de poudre de plante dans 5ml d'eau distillée. Faire une filtration et ajouter 1ml d'HCl. Laisser reposer pendant 10min ou 15min.

IV.5. Extraction de l'huile essentielle

L'huile essentielle des feuilles fraîches et sèches de *Laurus nobilis* a été extraite par hydro distillation (figures 20,21,22). Tout d'abord la plante a été fraîchement récolté.. Les feuilles sont ensuite séparées puis séchées à l'air libre, à l'abri de la lumière et l'humidité (pendant 1mois et 15 jours). Celles-ci ont été ensuite pesées, broyées en petits morceaux et récupérées dans des sacs afin de les conserver jusqu'au moment de l'expérience.

**Figure 20:**feuilles séchées**Figure21 :**Feuilles coupées**Figure22 :** feuilles broyées

- **L'hydro distillation:**

Un mélange de 80g de matériel végétal sec avec 500ml d'eau distillée est porté à ébullition dans un ballon à 3 cols relié à un réfrigérant. Les vapeurs chargées d'huile et qui traversent le réfrigérant, se condensent et chutent dans un erlenmeyer. L'eau et l'huile se séparent par différence de densité dans une ampoule à décanter. L'huile essentielle a été récupéré au maximum en présence d'éther diéthylique. L'éther a été ensuite évaporé à température ambiante et l'huile essentielle de *Laurus nobilis* sera par la suite récupérée et stockée dans un flacon en verre fumé et couvert d'une feuille d'aluminium pour la préserver de l'air et de la lumière. La quantité d'essence obtenue est pesée pour le calcul du rendement.



Figure 23: Montage d'hydrodistillation

Figure 24: Séparation de phases



Figure 25 : flacons d'HE Couverts d'aluminium

Le rendement en huile essentielle a été estimé en utilisant l'équation (1)[50,51] suivante:

$$R\% = (m/m_0) * 100\%$$

R%: Rendement en l'huile essentielle en (%).

m : la masse d'HE en (g)

m₀ : la masse de feuille sèche en (g)

IV.5.1. Caractérisation de l'HE:

Pour obtenir des données sur la composition et le degré de la pureté de l'huile essentielle, pour l'identifier on procède à l'étude de ses propriétés physiques et chimiques. Dans cette étude, les méthodes d'analyses physico-chimiques sont le pH, l'indice de réfraction) [55].

IV.5.1.1.Mesure de pH:

pH est l'abréviation de potentiel d'hydrogène il mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (H^+) (appelés aussi couramment protons) en solution. Cette mesure a été effectuée à l'aide d'un papier pH.[55]

➤ **Mode opératoire:**

Verser un volume d'HE dans un bécher, introduire le papier pH et laisser l'huile monter jusqu'à ce qu'elle couvre tout le papier. Puis comparer la coloration avec celles présentes sur la boîte de papier pH pour lire la valeur.

IV.5.1.2.Indice de réfraction:

L'indice de réfraction de l'HE a été mesuré à l'aide d'un réfractomètre (voir l'annexe II).

IV.5.1.3.Chromatographie sur couche mince(CCM) :

La réalisation de cette identification a été faite par CCM (fig26). L'éluant est un mélange de 20% d'acétate d'éthyle à 80% de cyclohexane. Le Révélateur est une solution de permanganate de potassium à 0,02 mole /l



Figure 26: plaque CCM

➤ **Mode opératoire :**

a) Préparation de la cuve à élution :

Verser une hauteur d'environ **5 mm** d'éluant dans la cuve à élution. Renfermer le flacon. Recouvrir la cuve avec le couvercle et attendre environ 10 minutes [56].

b) Préparation de la plaque à chromatographie :

Tracer à la règle et au crayon à papier, et sans appuyer, une ligne fine à environ **1 cm** du bord inférieur de la plaque. A l'aide de traits fins, repérer les positions des dépôts à effectuer. A l'aide d'une micropipette déposer une goutte de l'HE, sur chaque trait (**3 à 4** dépôts). Les taches doivent être de **2 mm** de diamètre. Sécher la plaque à l'aide d'un sèche-cheveux [56].

c) L'élution :

Oter le couvercle de la cuve à élution. Introduire la plaque dans la cuve à élution sans toucher les bords. Recouvrir la cuve avec le couvercle, et laisser l'élution s'effectuer jusqu'à ce que le front du solvant se situe à environ 6 cm du sommet de la plaque [56].

d) Révélation et exploitation du chromatogramme :

Sortir le chromatogramme de la cuve et repérer le front du solvant à l'aide d'un trait horizontal.

Si les taches restent invisibles, utiliser un moyen de révélation adapté :

- Immersion dans une solution de permanganate de potassium
- Exposition aux vapeurs de diode
- Exposition aux rayonnements ultraviolets
- Repérer les taches situées à la même distance de la ligne de dépôt, et identifier les espèces chimiques contenues dans l'HE de laurier noble [56].



Figure 27 : L'éluant



Figure 28 : Immersion dans solution de De permanganate de potassium



Figure 29 : Lampe (rayonnements ultraviolets)



Figure 30 : Apparition des taches

IV.6. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion sur disques

✓ Milieu de culture:

le milieu gélose Muller Hinton.(voir annexe III)

✓ Obtention des suspensions bactériennes :

La remise en culture des souches a été effectuée par ensemencement d'une colonie isolée à partir des boîtes pétries. Le bouillon a ensuite été incubé 24 h à 37°C.

✓ Méthode de diffusion sur disques :

La méthode de diffusion sur disque est utilisée comme test pour une détermination qualitative de l'activité antibactérienne de l'H.E de *Laurus nobilis*. Après l'obtention des souches bactériennes de la suspension bactérienne, chaque souche d'intérêt a été inoculé à la surface d'une boîte de gélose de Muller Hinton à l'aide d'un étalier de façon à avoir une croissance répartie de façon homogène sur toute la boîte. Des disques stériles de papier filtre ont été imprégnés avec un imbibé du H.E et ensuite placés à l'aide d'une pince stérile à la surface des boîtes de Pétri de MH préalablement ensemencées avec les microorganismes. Les boîtes de Pétri ont été conservées à 4°C pendant 20min pour permettre la diffusion des huiles essentielles. Elles sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48 h sauf pour les boîtes inoculées. Les diamètres des zones d'inhibition résultants ont été mesurés en mm. Les tests ont été effectués en double. Les résultats sont exprimés en moyenne de deux déterminations (+/-) écart type.

IV.6.1 Modes Opératoires :

IV.6.1.1. Préparation de l'inoculum:

A partir d'une culture jeune de 24 heures sur milieu gélose nutritive, une suspension bactérienne a été préparée par le prélèvement de 2 à 3 colonies bactériennes à l'aide d'une pipette pasteur. Ces colonies ont été mises dans un tube de solution physiologique stérile avec agitation de façon à obtenir une densité optique de 0,08 à 0.1-625 nm.

IV.6.1.2. Ensemencement et application des disques

- L'ensemencement a été réalisé par écouvillonnage et, en procédant comme suit :
- Le milieu MH (Muller Hinton) a été coulé dans des boîtes de pétrie et laissé solidifier.
- Ensuite, un écouvillon stérile a été plongé dans la suspension bactérienne puis légèrement essoré.
- L'ensemencement a été fait à l'aide de cet écouvillon sur la surface de la gélose en tournant la boîte 3 fois de 60° afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum.
- Dans chaque boîte de pétrie, nous avons déposé trois disques de 6 mm imbibés de 10µl de chaque solution à tester.

IV.6.1.3. Incubation et lecture:

- L'incubation des boîtes a été faite à l'étuve à 37°C durant 24 heures.
- Le diamètre de la zone d'inhibition a été mesuré avec précision (à l'aide d'un pied à coulisse) pour chaque produit testé (diamètre du disque intégré dans la zone d'inhibition).
- L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne donnée par [57] a été suivie. Ces derniers ont classé la substance testée selon le diamètre de la zone d'inhibition (D) de la croissance microbienne en cinq classes :
 - Très fortement inhibitrice: $D \geq 30$ mm
 - Fortement inhibitrice: $21 \text{ mm} \leq D \leq 29$ mm
 - Modérément inhibitrice: $16 \text{ mm} \leq D \leq 20$ mm
 - Légèrement inhibitrice: $11 \text{ mm} \leq D \leq 16$ mm
 - Non inhibitrice: $D < 10$ mm

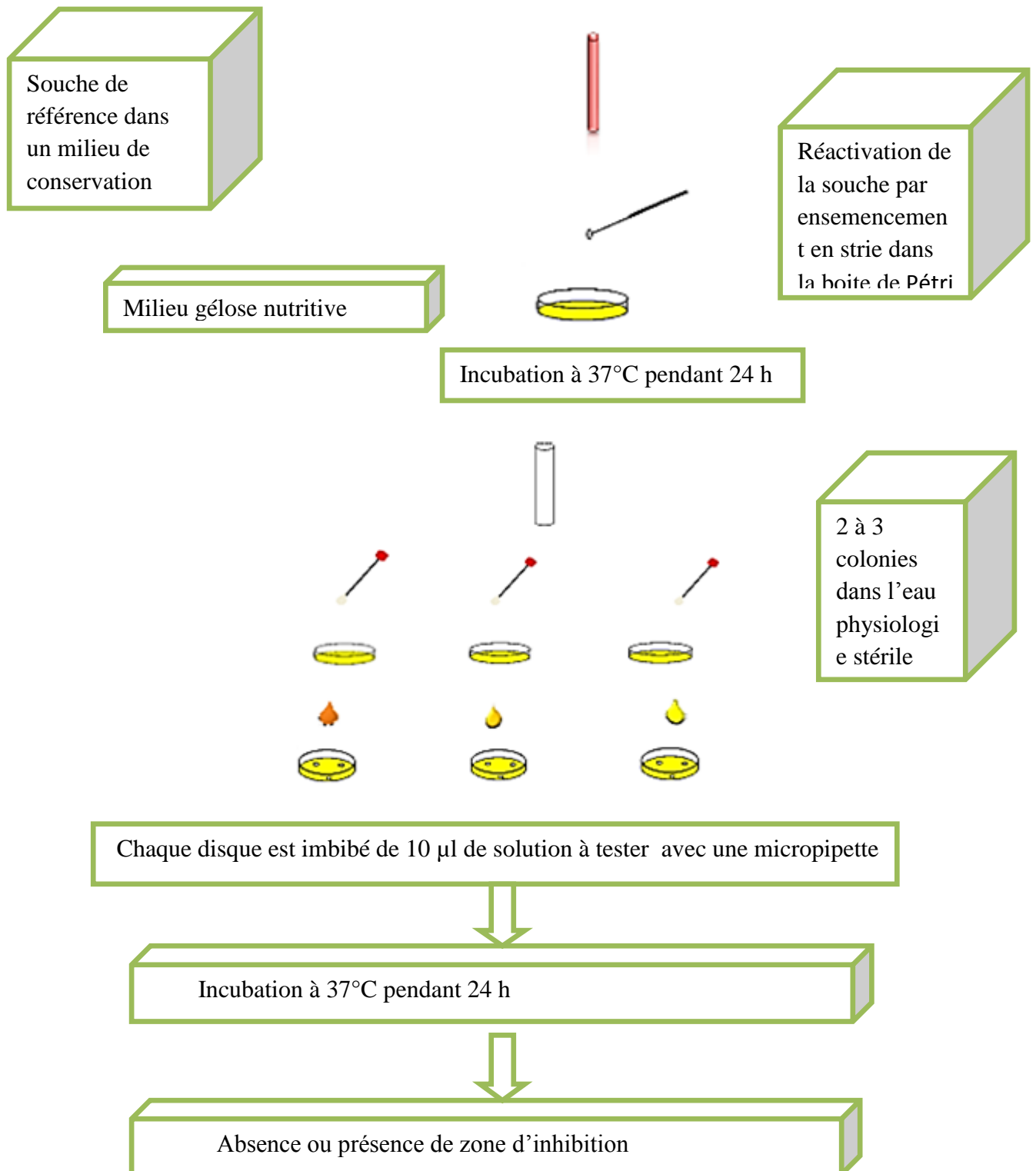


Figure 31: Activité antibacterienne



Résultats et Discussion

V. Contrôle qualité de la matière première:

• Résultats:

Les résultats du contrôle de la qualité de la matière première sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 6: contrôle qualité de la matière première.

Les paramètres	Laurier 2017-2018	Laurier 2010	Normes AFNOR 2000
Cendres totales (%)	18%	7,89%	9,0
Cendres sulfuriques(%)	10%	0,11%	0,1
Cendres chlorhydriques(%)	6%	0,26%	-
Pert à dessiccation(%)	7,5%	10,52%	-
Teneur en eau (%)	7,5%	8,5%	10
Indice gonflement(%)	10,5%	12 ,5%	10

• Discussion:

Les Résultats montrent que le taux de cendres totales, cendres sulfuriques et chlorhydriques sont de 18%,10%, et 6%. Ces résultats sont supérieurs à la norme. Cela peut s'expliquer par la contamination de la plante par des métaux. Celle- ci doit être lavée avant l'utilisation. L'indice de gonflement et la teneur en eau sont de 10,5 et 7 ,5%, ces résultats sont conformes aux normes AFNOR.

V.1.Etude phytochimique:

V.1.1.Recherche des Alcaloïdes:

• Réaction avec le réactif de Dragen- Dorff:

La réaction a donné un précipité rouge (rouge-orange).

V .1.2.les composés poly-phénoliques :

V.1.2.1.Les tanins:

Développement d'une coloration verdâtre (tanins catéchiques) et bleu noirâtre (tanins galliques).

V.1.2.2.Les tanins catéchiques:

La présence des tanins catéchique se confirme par la formation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool isoamylique.

V.1.2.3.Les tanins galliques:

L'apparition d'un précipité noir indique la présence des tanins catéchiques (tanins condensés), et le développement d'un teint bleu noirâtre indique la présence des tanins galliques (tanins hydrolysables).

V.1.3.Recherche des flavonoïdes:

Absence de coloration.

V.1.3.1 Les cyanhydrique:

L'apparition d'une coloration: rose orange (flavones) , rose violacé (flavonones) ou rouge (flavonols,flavanonols) rassemblées dans la couche surnageant d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine).

La coloration son mois intense avec les hétérosides flavonoïques, négative avec chalcones, les hydrochalcones les auronnes, les catéchines et les isoflavones.

V.1.4.Recherche des quinones (Dérivés anthracéniques):**V.1.4.1Anthracéniques libres (réaction de borntager):**

Apparition d'une coloration rouge qui indique la présence d'antraquinones libres.

V.1.4.2.Anthracénique combinées:**1. O-Hétérosides:**

L'obtention d'une coloration rouge plus ou moins intense confirme La présence d'antraquinones (génines des O-Hétérosides).

2. Hétérosides:

Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence des C-Hétérosides.

V.1.5.Recherche des glucosides (Réaction avec l'acide sulfurique):

La coloration de la masse en présence des glucosides en rouge brique, puis en violet confirme la présence des glucosides

V.1.6.Rechercher des saponines:

La présence de la mousse dans le tube à une hauteur de 0,5cm confirme la présence des saponines.

V.1.7.Recherche des hétérosides cardiotoniques (Réaction de Libermann Burchard):

L'Absence de coloration

V.1.8.Recherche des composés réducteurs:

La Formation d'un miroir d'argent sur les parois du tube confirme la présence de composés réducteurs

V.1.9.Recherche des mucilages:

L'obtention d'un précipité floconneux par mélange confirme la présence de mucilage.

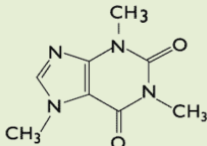
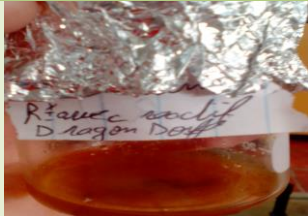
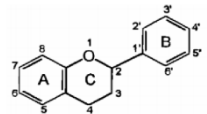
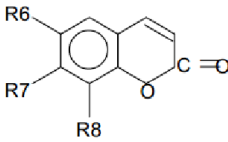

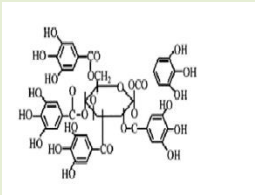

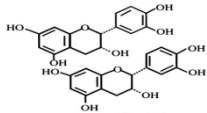

V.1.10.Recherche des iridoïdes:

L'obtention d'un précipité noir confirme la présence des iridoïdes.

- **Résultats**

Les résultats des tests phytochimiques de la plante étudiée sont regroupés dans le tableau ci-dessous (Tab7).

Tableau 7 : Criblage photochimique de *laurier noble* sec

Les substances biologiques actives	Les structures chimiques	Laurier noble 2017-2018	Résultat en image
Les alcaloïdes		+	
Les flavonoïdes		-	-
Les cyanhydrine		-	-
Les tanins		+	
Les tanins catéchiques		+	
Les tanins galliques		+	

Les quinones	+	
Les anthraquinones libres	+	
Les anthraquinones combinées O-hétérosides C-hétérosides	+	
Les saponines	+	
les hétérosides cardiotoniques	-	-
les composés réducteurs	+	
Les mucilages	+	
des iridoïdes	+	

• Discussions :

Le criblage phytochimique réalisé a permis de constater la présence de 8 groupes chimiques : les tanins, alcaloïdes, quinones, mucilages, composés réducteurs, iridoïdes, anthraquinones et les saponines. Cependant, les flavonoïdes, cyanhydrid et hétérosides cardiotonique sont absents dans notre plante.

V.2.Extractions de l'HE:

L'huile essentielle de *Laurus nobilis* a donné un rendement important en huile essentielle estimé à 0,57%. L'huile extraite est d'une couleur jaune pâle et d'odeur forte.

• **Calcule le rendement:**

$$R\% = V_{100g} * \rho \quad \text{avec : } V_{max} = 0,5$$

$$R\% = \frac{0,5 * 100}{80} * 0,9075$$

$$R\% = 0,57\%$$

ρ: la masse volumique.

V_{max}: volume maximale de l'HE.

m: la masse de l'HE.

R%: rendement d'HE.

• **Tableau 8 : L'évaluation de volume d'HE en fonction de temps:**

Temps en (min)	Evaluation d'HE obtenue en (ml)
30min	0,1
1h	0,2
1h30min	0,3
2h	0,4
2h30min	0,5
3h	0,5
3h30min	0,5

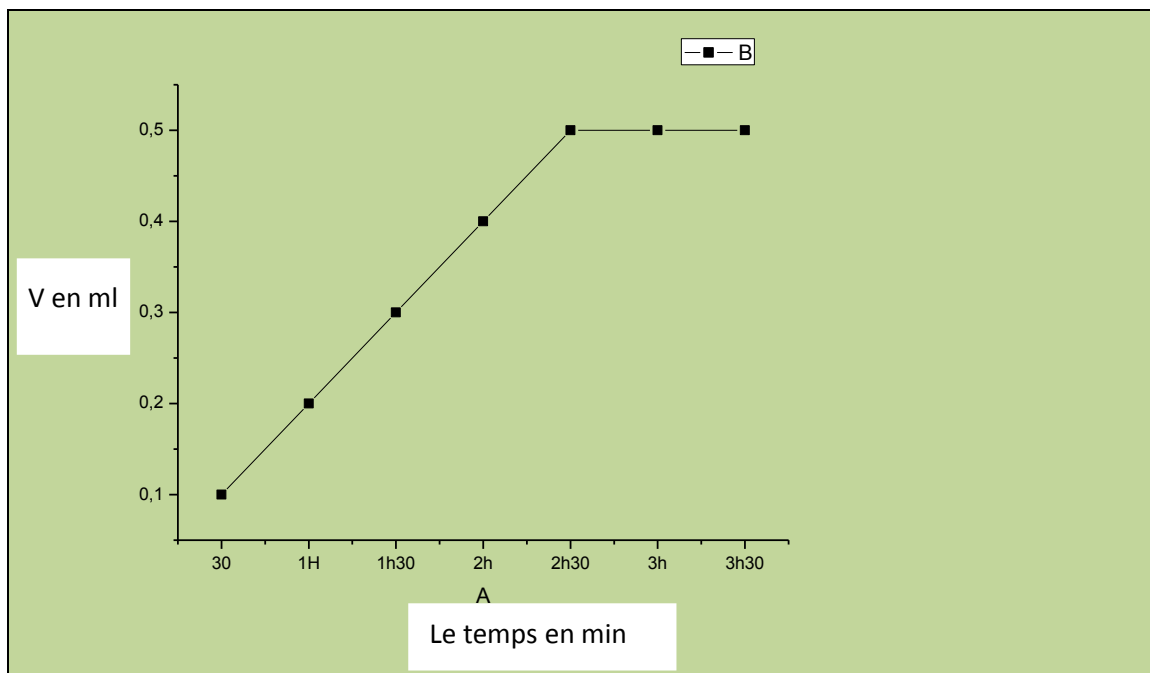


Figure 32: L'évaluation du volume d'HE en fonction du temps

- **Discussion:**

L'hydro distillation est une méthode très utilisée pour l'extraction des huiles essentielles cette méthode nous a permis d'extraire 0,63ml d'HE pour une masse de 100g de la plante qui est un rendement légèrement faible, c'est à cause des pertes dues à la volatilité des composants (température d'évaporation très faible) et aux conditions de travail.

V .3.Indices physico-chimiques de l'HE de laurier:

résultats:

Tableau 9: Indices physico-chimiques de l'HE de Laurier

	laurier	Référence AFNOR(2000)	Conformité
Indice de réfraction	1 ,4042	1,460 à 1,475	OUI
Densité relative à 20°C	0,9075	0,900 à 0,925	OUI
pH	6	5-6,8	OUI

- **Discussion:**

Les résultats du tableau indiquent que l'indice de réfraction de l'huile essentielle est de 1,4042, sa densité relative de 0,9075 et son pH de 6. Ces données sont conformes aux normes Selon **Afnor (2000)**. L'indice de réfraction est légèrement différent de la norme, cela peut être du à la méthode de conservation de la plante, sa durée de stockage, la composition chimique de son H.E, des éventuelles réactions phytochimiques lors de l'hydro distillation, ... etc. Ce sont des facteurs entre autres qui peuvent avoir des influences sur le comportement et les caractéristiques des H.E. En effet, un stockage de la plante pendant 24 heures suffit pour induire des changements sensibles de composition d'H.E [58]. Au cours de l'hydro distillation, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire à des réactions : d'hydrolyses, hydratations et cyclisations, mais aussi réarrangements, isomérisations, oxydations, ... etc. Et ce d'autant plus que la distillation est longue et le pH acide [59]. Toutes ces observations montrent les difficultés que l'on peut rencontrer lors de la préparation et de la conservation des huiles essentielles.

- **Chromatographie sur couche mince(CCM) :**

- **Résultats:**

$$R_f = X_1 / l$$

Rf : rapport frontal.

X₁: la distance entre les points.

L: la longueur de la couche mince.

L'analyse de la composition chimique par CCM a permis de déterminer trois constituants majoritaires : les phénols suivi ensuite par les Oxydes et le Cinéol [60].

V.4.L'activité anti bactérienne:

• Résultats :

Après une incubation de 24h et 48h, les diamètres d'inhibition des échantillons testés et ceux des antibiotiques sont résumés dans les tableaux 4 et 5 respectivement.

Tableau 10 : Diamètre des zones d'inhibition en mm des ATB et des solutions testés après 24h :

	Ech	HE	HA	HD	ETH	GENT	AMP	AMOXI
Zone d'inhibition (mm)	<i>E. coli</i>	9	7	10	13	25	6	6
	<i>Pseudo</i>	6	6	6	6	25	6	6
	<i>Staph</i>	9	10	12	6	23	11	15

Tableau 11: Diamètre des zones d'inhibition en mm des ATB et des solutions testés après 48h :

	HE	HA	HD	ETH	GENT	AMP	MOXI
Zone d'inhibition (mm)	<i>E. coli</i>	25	16	10	17	25	6
	<i>Pseudo</i>	6	6	6	6	25	6
	<i>Staph</i>	9	10	12	6	27	12

Discussion :

D'après nos résultats, nous avons remarqué que l'inhibition de la croissance microbienne varie selon l'espèce ou l'ATB utilisé.

L'antibiogramme avait pour but de rechercher la sensibilité de la souche vis-à-vis à l'antibiotique et de comparer son pouvoir inhibiteur à ceux des huiles essentielles étudiées.

Le choix des antibiotiques a été fait selon leur action bactéricide à l'*E.Coli*, Le *Pseudomonas aeruginosa*, et Le *Staphylococcus aureus*).

La croissance d'*Escherichia. Coli* à été inhibée par presque tous les produits testés avec des proportions variables (Tableau 4 et 5) sauf l'ampicilline et l'amoxicilline.

Par contre la croissance de *Staphylococcus aureus* a été inhibée par tous les ATB et les solutions testés.

E. coli est sensible a toutes les solutions testées, mais présente une très forte sensibilité a l'huile essentielle pure de *Laurus Nobilis L* avec un diamètre d'inhibition de 25mm (après 48h), et à la Gentamycine avec un diamètre de 25mm, et ne présente aucune sensibilité aux autres ATB.

Le *Pseudomonas aeruginosa*.

Ne présente aucune sensibilité a toutes les solutions testées ni après 24h ni après 48h, sauf à la Gentamycine avec un diamètre d'inhibition de 25mm.

Ces résultats nous aident à conclure que l'huile essentielle de laurier noble possède un effet bactéricide sur *E. Coli*, un effet bactériostatique sur *Staphylococcus aureus* et aucun effet antibactérienne sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Conclusion générale

Au cours de ce travail, nous nous sommes intéressées à l'extraction et à la récupération de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* par la l'hydrodistillation, à sa caractérisation physico-chimique, et enfin à l'étude de l'activité antibactérienne. Il a été procédé aussi au contrôle de la qualité de la matière première et à la détermination des substances bioactives contenant dans le Laurier.

La calcination de la plante dans un four un moufle à 600°C a donné la teneur en cendre totales, en cendre sulfurique et en cendre chlorhydrique de 18%, 10% et 6% respectivement. Ces valeur sont légèrement supérieures à la norme celui s'explique que la plante se trouvait dans un endroit plein de métaux. Cette dernière doit être lavée avant l'utilisation.

L'étude phytochimique de la plante a révélé la présence de plusieurs substances biologiques actives telles que : les tanins, les alcaloïdes, les quinones, les mucilages, composés réducteurs les iridoïdes , les anthraquinones et les saponines.

La cinétique d'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation a été étudiée, le rendement maximal était de 53% Pour un temps d'extraction de 3h30min.

Les analyses physico chimiques telles que la densité, le pH, l'indice de réfraction, de l'huile essentielle ont montré que les résultats sont conformes aux normes.

L'analyse par CCM a permis d'identifier 03composés de l'huile essentielle de *Laurus Nobilis L* dont les principaux constituants sont : les phénols, suivi ensuite par les oxydes et le Cinéol.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles, des solutions testées et des ATB, a été déterminée sur trois souches bactériennes *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* selon la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant le milieu Muller Hinton.

Cette technique a montré que toutes les solutions étudiées possèdent une activité bactériostatique ou bactéricide contre les souches testées. Nous avons constaté qu'*Escherichia Coli* est plus sensible à l'huile essentielle de *Laurus Nobilis* avec un diamètre d'inhibition de 25 mm. .

An open book with aged, yellowed pages is the central focus, resting on a dark wooden surface. The pages are filled with dense, small text. Above the book, several dried, pressed leaves are suspended by thin white threads. The background is a warm, golden-brown gradient, and numerous small, white and orange butterflies are scattered throughout the scene, creating a sense of movement and natural beauty.

Références

Bibliographiques

Références

- [1] Shukla, R, Kumar, A, Prasad, C. S, Srivastava, B, & Dubey, N. K , Antimycotic and antifungal toxicity of *Adenocalymma alliaceum* Miers. on fungi causing biodeterioration of food commodities and raw herbal drugs. *International Biodeterioration et Biodégradation*, 62, 348-351, 2008.
- [2] Bakkali, F, Averbeck, S, Averbeck, D, & Idaomar, M, Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475, 2008.
- [3] Tajkarimi, M. M, Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O, Antimicrobial herb and spice compound in food. *Food Control*, 21, 1199-1218, 2010.
- [4] Cimanga et al, Les huiles essentielles des plantes ont déjà trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la préservation des aliments. Leur utilisation est liée soit à leurs larges spectres d'activités biologiques, soit à des ciblage très spécifiques ,2002.
- [5] Bruneton J, *Pharmacognosie « Phytochimie Plantes » Médicinales* 3^{ème} Ed, P 484-540,1999, Paris.
- [6] Afnor, *Huiles essentielles .échantillonnage et méthodes d'analyse monographies relatives aux huiles essentielles (tome 2)*,2000.
- [7] YAHYAOUIN, *Extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de Menthe Spicata*,Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie, INA, 2005, El-Harrach.
- [8] PADRINI F ET LUCHERONI M.T, *le grand livre des huiles essentielles*, Page 115,1996.
- [9] BRUNETON J, *Pharmacognosie et Phytochimie, plantes médicinales*, 915p, 1993, Paris.
- [10] DELILLE A.L ,*les plantes médicinales d'Algérie*,p239 , p 488, 489, 490, 491, 510, 533, 536, 537, 538, 2010, Paris.
- [11] SMV et SFP, *Société de médecine des voyages et Société française de parasitologie*, 2010.

[12] BINET P. ET, BRUNEL J. P, Physiologie Végétale, p54,2000/CHAKER EL KALAMOUNNI, Thèse sur: Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, l'Institut National, 2010.

[13] Oussala M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M-antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a pseudomonas putida strain isolates from meat-meat science.73: 236-244, 2006.

[14] Belkou h, beyoud f.et taleb bahmedz. Approche de la composition biochimique de la menthe vert (Menthe spicata L) dans la région de ouargla, P 2-61,2005.

[15] TAYOUB G, SCHOWB I, MASOTTI V, RABIER J, RUZZIER M, VIANO J, Contribution de la microscopie électronique à balayage et photonique à la connaissance de l'anatomie et de la morphologie de *Styrax officinalis* L. C. R. Biologies, 329: p. 712-718,2006, United States of Tunis.

[16] KHENAKA K, Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin, p 81,2011, Constantine: Université Mentouri.

[17] GASPAR F. AND JEEKE G, Essential oil from *Origanum vulgare* L. ssp. *virens* (HOFFM. and LINK) I, J. Essent. Oil Res, 16, pp. 82-84,2004.

[18] Bekhechi C, Atik-Bekkara F, Abdelouahid D.E, Composition et activités antibacterienne des huiles essentielles d'organum glandulosum d'Algérie- phytothérapie.6 ,p 153-159,(2008) ,Algérie.

[19] Moreau F, Prat R , La Photosynthèse :généralités, (Université Pierre et Marie Curie, Paris).

[20] site internet de Mailhebiau P. <https://sites.google.com/a/nouvellearoma.com/philippemailhebiau/normes-nouvellesHEBBD-EOBBD/composants-biochimiques/structures-biochimiques/phenols>

[21] Entretien avec Mr B. Frabre (pharmacien à l'Institut Pierre Fabre, Toulouse)

[22] ANSM (Agence Nationale de sécurité du médicament), Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles, (2008)

[23] TPE sur les méthodes d'extractions des huiles essentielles, <http://tpe-huile-essentielle.e-monsite.com/pages/i-les-differents-procedes-d-extraction-d-une-huile-essentielle/6-extraction-par-expression-a-froid-ou-parpression-a-froid.html>

100

[24] Mengal P, Mompon B, Procédé et installation d'extraction sans solvant de produits naturels par micro-ondes, 1994.

- [25] Mengal P, Mompon B, Procédé et installation d'extraction sans solvant de produits naturels par micro-ondes, 1996.
- [26] guide de visite, les plantes magiques, du jardin des neuf carrés de l'abbaye de Royaumont
https://fr.wikipedia.org/wiki/Laurus_nobilis
- [27]<http://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/laurier.htm>.
- [28]WATSON L., M.J. DALLWITZ, The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval , 2010, Agiosperm Families. <http://delta-intkey.com>, 1992 /RICHTER H.G ,VAN DER WERFF H, Toward an improved classification of Lauraceae ,83: 409–418,1996 /MABBERLEY D.J, -*The plant-book*. Cambridge University Press,1997/STEVEN P.S, 2001.
- [29] RIVERA, D, OBON, C, The ethnopharmacology of Maderia and Porto Santo,1995
- [30] STEVEN P.S, Angiosperm Phylogeny Website ,2001.
- [31] MAURICE R, Livre Angiospermes Arbres et arbustes feuillus France,2014.
- [32] ANTON R, LOBSTEIN A, Plantes aromatiques, 2005, Paris (France).
- [33] BELOUED A,Plantes médicinales d'Algérie, p124. 2001, Alger.
- [34] YAKHLEF G, Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L et *Laurus nobilis*L, p78, 2010.
- [35] BELOUED A, Plantes médicinales d'Algérie, pp. 124-125, 2005.
- [36] QUEZEL P. ET SANTA S, Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, 565 p,1962.
- [37] FLAMINI G, TEBANO M, CIONI P.L, CECCARINI L, RICCI A.S, LONGO I. Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis* L. and a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven. J. Chromatogr. A 1143, 36-40,2007.
- [38]Compounds from leaves of bay (*Laurus nobilis* L) as repellents for *Tribolium castaneum* (Herbst) when added to wheat flour ,Nora Saim, Clifton E. Meloan ,Department of Chemistry, Kansas State University, Manhattan, U.S.A.
- [39]Maryline Hourlier, diplômée de la faculté de médecine Paris XIII en aromathérapie et en phytothérapie aromathérapie (www.plantes-bienetre.com)
- [40]J.Bruneton, pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales, 915, 1993, Paris.

[41] S.C.Rastogi, J. P. Lepoittevin, J. D. Johansen, P. J. Frosch, T. Menne, M. Buze, B. Dreier, K. E. Andersen, I. R. White, Contact Dermatitis, 39, 293-303, 1998.

[42] Kaloustain.J, Chevalier.J, Mikhail.C, Martino.M, Abou.L, Vergne.MF, Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne–phytothérapie, vol .6, pp 160 - 164, 2008.

[43] De billerbeck N-G, huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques Phytothérapie, Vol .5, pp 249-253, 2007.

[44] Bouaoum.D, Hilan.C, Grabeth.f, sfeir.R, Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'une plante sauvage prangos asperula Boiss –phytothérapie, vol.5 ; pp 129-134, 2007. / Dorman H,J,D et Dean S.G, Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils, journal of applied Microbiology, vol.88 ; N°2, pp 308-316, 2000. / Dougari J.H, Obidah J.S, in vitro antifungal activity of stem bark extracts of Leptadenia lancifolia, international journal of Integrative biolog, Vol.3 ; N°2, pp 111, 2008.

[45] Docteur Pierrick HORDÉ, Antimicrobienne, Réalisé en collaboration avec des professionnels de la santé et de la médecine, 2014.

[46] Kantari et al, LES BACTÉRIES, contrib Microbial, 2008.

[47] <http://www.docteurcllic.com/encyclopedie/champignons.aspx>

[48] Francis Martin, Tous les champignons portent-ils un chapeau, p. 41, 2014.

[49] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Virus>

[50] Pharmacopée européenne, 4^{ème} édition, 2000, France

[51] Pharmacopée européenne, 8^{ème} édition, 2008, France

[52] Paris R.R, Moyes H, précisez de matière médicale, 2-59, 1976, France.

[53] Adiaratou T, étude phytochimique et de l'activité antipaludique dz alchornea cordifolia Schmath (Euphorbiaceae), thèse de doctorat en pharmacie, 2002, Mali.

[54] F.M.Sandrine, étude phytochimique et de l'activité biologique de *Maerua Dc* (capparidaceae), thèse de doctorat en pharmacie, 2005, Mali.

[55] Benyagoub.Elh, Benyagoub.E, Rahmani.C, Benyoussef.L, Identification and study of the emergence of antibiotic resistance of microorganisms responsible for urinary tract infections, Journal de Science lib, 5: 1-13, 2013, Bechar (Alegria)

- [56] Ji Youn Lim, Jang W. Yoon and Carolyn J. Hovde, J Microbiol Biotechnol, Author manuscript, available in PMC, 2013, Published in final edited form as: J Microbiol Biotechnol, 20(1): 5–14, 2010.
- [57] Staphylococcus aureus golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity (archive) Journal of Experimental Medicine.
- [58] YETERIAN, 2010.
- [59] Collège National des Enseignants de Dermatologie, Université Médicale Virtuelle, 2010-2011, Francophone.
- [60] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Alcalo%C3%AFde>
- [61] Me SH data base, polyphénol, sur ncbi.nlm.nih.gov, 2015.
- [62] Bruneton. J, Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4^e éd, p1288, 2009, Paris.
- [63] T. Ozcan, A. Akpinar-Bayazit, L. Yilmaz-Ersan et B. Delikanli, International Journal of Chemical Engineering and Applications, Vol.5, No.5, p.2, 2014.
- [64] blog.laruedesartisans.com, 2017.
- [65] Commission of the European Communities, *Biomass for energy*, UK Section of the International Solar Energy Society, p. 73, 1979.
- [66] J.B. Harborne, *Methods in plant biochemistry*, Academic Press, p. 389-419, 1989.
- [67] Bruneton. J, Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4^e éd, 1288 p, 2009, Paris.
- [68] Tucarov J. Influence des facteurs exogènes sur les rendements et la qualité de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L, 7, 40, pp. 277-283, 1964, La France et ses parfums.
- [69] GRANGER R, et al, Les essences dites de " Marjolaine " Riv. Ital. Essenza Profumi Plante Officinal. Aromi. Saponi. Cosmetici. Aerosol, 57 pp. 199-208, 1975.
- [70] Norme ISO 11024-1 et 2 : Huiles essentielles- Directives générales concernant les profils chromatographiques- partie 1 : Elaboration des profils chromatographiques pour la présentation dans les normes. Partie 2 : Utilisation des profils chromatographiques des échantillons d'huiles essentielles, 1998.
- [71] JELLOULI Kaoutar, AKHRIF Ibtihal, État et lieu des plantes aromatiques et médicinales chez les herboristes du Nord du Maroc et caractérisation du *Laurus nobilis*, 2016.
- [72] TP n°3, Séparation par CCM de des constituants de l'huile essentielle de laurier noble. Promotion : 3^{ème} année chimie organique, 2017-2018.
- [73] Mutai, C, Bii, C, Vagias, C, Abatis, D, & Roussis, V, Antimicrobial activity of Acacia mellifera extracts and lupanetripenes. Journal of ethnopharmacology, 123(1), 143-148, 2009.

- [74]Moreira, M.R, A.G. Ponce, C.E. del Valle, and S.I. Roura, Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen., *LWT - Food Science and Technology*, 38(5): p. 565-570, 2005.
- [75]Lopes-Lutz, D, D.S. Alviano, C.S. Alviano, and P.P. Kolodziejczyk, Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils. *Phytochemistry*, 69(8): p. 1732-1738, 2008.
- [76]Longaray Delamare, A.P, I.T. Moschen-Pistorello, L. Artico, L. Atti-Serafini, and S. Echeverrigaray, Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chemistry*, 100(2): p. 603-608, 2007.
- [77]Oussou, K.R, C. Kanko, N. Guessend, S. Yolou, M. Dosso, Y.T. N'Guessan, G. Figueredo, J.-C. Chalchat, and G. Koukoua, Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire. *Comptes Rendus Chimie*, 7(10-11): p. 1081-1086, 2004.
- [78]Lahlou, M, Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18(6): p. 435-448, 2004.
- [79]Kordali, S, A. Cakir, A. Mavi, H. Kilic, and A. Yildirim, Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential oils from three Turkish Artemisia species, *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(5): p. 1408-1416, 2005.
- [80]Mann, C.M, S.D. Cox, and J.L. Markham, The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), *Letters in Applied Microbiology*, 30(4): p. 294-297, 2000.
- [81]Biondi, D, P. Cianci, C. Geraci, G. Ruberto, and M. Piattelli, Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. *Flavour and Fragrance Journal*, 8(6): p. 331-337, 1993.
- [82] Yilmaz, E.S, M. Timur, and B. Aslim, Antimicrobial, Antioxidant Activity of the Essential Oil of Bay Laurel from Hatay, Turkey. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(1): p. 108-116, 2013.
- [83]Millezi, A.F, D.S. Caixeta, D.F. Rossoni, M.d.G. Cardoso, and R.H. Piccoli, In vitro antimicrobial properties of plant essential oils *thymus vulgaris*, *cymbopogon citratus* and *laurus nobilis* against five important foodborne pathogens. *Food Science and Technology (Campinas)*, 32: p. 167-172, 2012.
- [84]Derwich, E, Z. Benziane, and A. Boukir, Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(4): p. 3818-3824, 2009.

[85] ELHARAS, K, A. DAAGARE, A. MESFIOUI, and M. Ouhssine, Activité antibactérienne de l'huile essentielle des inflorescences de *Laurus nobilis* et *Lavandula angustifolia*. *Afrique SCIENCE*, 9(2): p. 134-141,2013.

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

[87] Krüss Optronic (en) ,Refractometers, 2012.

[88] https://fr.wikipedia.org/wiki/Four_%C3%A0_calcination.

[89] Ji Youn Lim, Jang W. Yoon, and Carolyn J. Hovde *J Microbiol Biotechnol*, Author manuscript; available in PMC, Published in final edited form as: *J Microbiol Biotechnol*, 20(1):5–14, 2013.

[90] *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity, *Journal of Experimental Medicine*.

Annexe I

❖ Recherche des cendres:

Prendre deux creusets pesez vide et desséchez dans un four pendant 30min à une température **600°C**. Après continuez le contrôle qualité de la matière première.



Figure 33 : four à moufle.

➤ Cendre totales:

• Principe:

Elles caractérisent la qualité de substances résiduelles non volatilisées lors de la calcination complète de l'échantillon de la drogue végétale.

• Mode opératoire:

Chauffez au rouge un creuset de silice, en porcelaine ou en platine pendant 30min. Laissez refroidir dans un dessiccateur, puis pesez. Sauf indication contraire, introduisez dans le creuset 1g de substance ou de drogue pulvérisée. Distribuez uniformément la prise d'essai à l'intérieur du creuset. Desséchez pendant 30min, puis incinérez dans un four à moufle à une température de 600°C ; l'échantillon ne doit pas s'enflammer à aucun moment de l'opération. Continuez l'incinération jusqu'à masse constante. Après chaque incinération, laissez refroidir le creuset au dessiccateur. Si les cendres contiennent encore, des particules noires, après une incinération prolongée, les reprendre à l'eau chaude et filtrez avec un filtre sans cendres. Incinérez à nouveau le résidu avec le filtre. Réunir le filtrat et la cendre, évaporez prudemment à siccité et incinérez jusqu'à masse constante.

$$T = [(M - M') / E] * 100$$

M: masse final (creuset+cendres totales) (g).

M': masse de creuset vide (g).

E: prise d'essai de la matière (1g).

➤ Cendre sulfurique:

• Principe:

C'est une méthode d'évaluation des substances inorganiques de la drogue végétale. Les cendres sulfuriques sont obtenues après une attaque de la drogue par l'acide sulfurique. La teneur est déterminée par le dosage pondéral des sulfates non volatiles obtenues par calcination de la matière végétale préalablement traitée avec H₂SO₄ dilué à 50%. Les sulfates résultent de la conversion des sels inorganiques.

- **Mode opératoire:**

Chauffez au rouge un creuset silice ou de platine pendant 30min.laissez refroidir dans un dessiccateur, puis pesez, dans le creuset, introduisez la substance à examiner et ajoutez 2ml d'acide sulfurique dilué .Chauffez au bain marie, puis prudemment sur une flamme nue, en élevant progressivement la température jusqu'à 600°C environ (dans un four a moufle).Continuez l'incinération jusqu'à disparition des particules noires. Laissez refroidir, ajoutez quelques gouttes d'acide sulfurique dilué, puis chauffez et incinérez comme précédemment. Laissez refroidir, ajoutez quelques gouttes de carbonate d'ammonium, évaporez le liquide et incinérez prudemment. Laissez refroidir et pesez. Recommencez l'incinération par période de 15min jusqu'à masse constante.

La teneur en cendre = $(S*100)/P$

$$S=P'-T$$

S:masse des cendres sulfuriques de la prise d'essai(g).

T:tare du creuset (g).

P:masse de la prise d'essai(g).

P':masse de creuset après calcination(g).

- **Cendre chlorhydrique:**

- **Principe:**

Cette étude est réalise avec des végétaux ou il est contenu des impuretés insolubles dans l'acide chlorhydrique.

- **Mode opératoire:**

Les cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique sont constituées par le résidu obtenu après l'extraction des cendres totales par l'acide chlorhydrique et rapporté à 100g de drogue.

Dans le creuset, ajoutez au résidu obtenu lors de la détermination des cendres sulfuriques ou totales 15ml d'eau et 10ml d'acide chlorhydrique . Recouvrir d'un verre de montre, faire bouillir doucement pendant 10min et laisser refroidir. Filtrez le résidu sur un filtre sans cendre et lavez à l'eau chaude jusqu'à ce que le filtrat soit neutre.Desséchez, incinérez jusqu'à rouge sombre, laissez refroidir au dessiccateur et pesez .Recommencez l'incinération jusqu'à ce que la différence entre 2 pesées consécutives n'existe pas 1mg.

$$T=\frac{M-M'}{E} * 100\%$$

M: masse final (creuset+cendres chlorhydriques)(g).

M': masse de creuset vide (g)

E: prise d'essai(g).

➤ **Perte à la dessiccation:**

• **Principe:**

La perte à la dessiccation est la masse exprimée en pourcentage m/m.

Cet essai permet de déterminer la proportion de tous les produits volatiles susceptibles d'être éliminés dans des conditions spécifiques, il peut s'agir.

- D'eau (le plus souvent).
- De corps volatils.

• **Mode opératoire:**

Placez la quantité prescrite de la substance à examiner dans un creuset en porcelaine, desséché lui-même au préalable dans les conditions précisées pour la substance à examiner. La dessiccation de la substance se fait jusqu'à masse constante. Le séchage a lieu dans une étuve spéciale dont la température peut être réglée, jusqu'à masse constante $T=100^{\circ}\text{C}$ pendant 4heures.

$$X = \frac{m - m_1}{m} * 100\%$$

➤ **Teneur en eau:**

• **Principe:**

Cet essai permet de déterminer spécifiquement la teneur en eau d'une substance.

Cette méthode est basée sur la détermination de l'eau distillée par entraînement azéotropique, à partir de la substance médicamenteuse étudiée.

Lors de la présence commune du solvant organique et l'eau, la distillation doit être réalisée à une température inférieure à celle de l'ébullition des deux composants. Cela s'explique par le fait que le mélange des vapeurs du solvant et de l'eau possède une tension de vapeur égale à la somme des tensions de leur vapeurs à la température donnée.

En qualité de solvant organique est utilisé le toluène.

• **Mode opératoire:**

Nettoyez le tube collecteur et le réfrigérant de l'appareil, les rincer soigneusement à l'eau, puis séchez.

Dans un ballon séché, introduire 200ml de toluène et 2ml d'eau environ, distillez pendant 2h, laissez refroidir pendant 30min environ et lire le volume d'eau à 0,05ml près introduire ensuite dans le ballon une prise d'essai de la substance à examiner, pesée à 1 pour cent près, susceptible de donner 2ml à 3ml d'eau environ. Si la substance est pâteuse, la peser dans une nacelle constituée par une feuille de métal. Chauffez doucement le ballon pendant 15min en présence d'une substance assurant une ébullition régulière. Lorsque le toluène commence l'ébullition, distillez à la vitesse de 2 gouttes environ par seconde jusqu'à ce que la plus grand partie de l'eau soit entraînée, puis augmentez la vitesse de la distillation jusqu'à 4 gouttes par seconde. Lorsque toute l'eau a été entraînée, rincez l'intérieur du tube réfrigérant au toluène. continuez la distillation pendant 5min, arrêtez le chauffage et laissez refroidir le tube collecteur à température ambiante. Faire tomber les gouttelettes d'eau adhérant encore à la paroi du tube. Lorsque l'eau et le toluène se sont séparés,

lire le volume d'eau et calculez en pourcentage la teneur en eau de la substance à examiner à l'aide de la relation:

- Le volume de toluène (200ml).
- La masse de la plante sèche(20).
- Le volume d'eau distillée (2ml).
- $T_{eau} = \frac{v^1 + v^2}{m} * 100\%$
- $v_2 = v' - v$
- avec:
- v_1 : volume d'eau récupéré après l'ajouter de la poudre végétal(ml).
- v_2 : volume d'eau contenu dans le toluène(ml).
- V : volume de l'eau introduire dans le ballon(ml).
- v' : volume de l'eau récupéré par entraînement azéotropique du mélange eau-toluène(ml).

➤ **Indice de gonflement:**

• **Principe:**

L'indice de gonflement est le volume en millilitres occupé par un gramme de drogue, y compris le mucilage qui y adhère, qui a été mis à gonfler dans un liquide aqueux pendant 4h.

• **Mode opératoire:**

Dans une éprouvette graduée de 25 ml bouchon rodé dont la graduation divisée en 0,5 ml occupe une hauteur de 125 ± 5 mm, introduire 1g de la drogue entière ou dans l'état de division prescrit dans la monographie. Sauf indication contraire, humecter la drogue avec 1ml d'alcool et ajouter 25ml d'eau, boucher l'éprouvette. Agiter énergiquement tous les 10min pendant 1h. Laisser reposer pendant 3h.

90min après le début de l'essai, éliminer par rotation autour de l'axe vertical la plus grande partie du liquide retenu au niveau de la drogue et les particules de celle-ci flottant à la surface du liquide. Mesurez le volume occupé par la drogue, y compris le mucilage qui y adhère effectuez 2 essais simultanément.

L'indice de gonflement est donné par 2 essais.

$$\text{Indice de gonflement} = \frac{v^1 + v_2}{2}$$

Annexe II

❖ Réfractométrie:

La **réfractométrie** est une technique qui vise à déterminer la partie réelle de l'indice de réfraction d'un matériau.

L'instrument de laboratoire ou de terrain utilisé est le **réfractomètre**. La plupart des modèles courants effectuent une mesure de l'angle limite de réfraction et déduisent ensuite l'indice de réfraction de l'échantillon. L'indice est calculé à partir de la loi de Snell-Descartes et peut aussi être estimé à partir de la composition de la matière à l'aide de la loi de Gladstone. Les réfractomètres modernes fournissent des résultats numériques qui permettent un traitement par ordinateur via une interface standard (Ethernet, USB, RS232)[87].

Après étalonnage, le réfractomètre permet de connaître la concentration d'un soluté dans un solvant connu. C'est le cas de la détermination du sucre dans le jus de raisin. De plus, avec les mesures de température d'ébullition et de fusion, la réfractométrie fait partie des tests les plus courants pour identifier les produits d'une synthèse organique.



Figure 34: Réfractomètre

❖ Utilisation:

Le dispositif de base n'est utilisable qu'avec une lumière monochromatique, car l'indice d'un matériau, surtout celui du verre flint, dépend de la longueur d'onde. En effet, les verres flint ont une forte dispersion (nombre d'Abbe inférieur à 50).

La raie D du sodium (longueur d'onde 589 nm) a été choisie historiquement car elle est proche de la zone de sensibilité maximale de l'œil (dans le vert, autour de 550 nm). Pour travailler en lumière blanche, deux autres prismes sont positionnés entre le verre flint et la lunette collimatrice de façon que les rayonnements de couleurs différentes convergent après leur traversée. Ce dispositif est appelé compensateur. Il permet ainsi d'avoir un système achromatique, utilisable en lumière blanche.

Les réfractomètres actuels fonctionnent en lumière naturelle ou avec l'éclairage d'une lampe blanche. La lumière arrive par une fenêtre sur une face d'entrée du prisme supérieur. La face inférieure de celui-ci est dépolie pour éviter les réflexions secondaires.

❖ Réglage et lecture de la mesure:

Le réglage du réfractomètre doit prendre en compte d'une part l'achromatisation et, d'autre part, la mise de la plage de lumière à la croisée des réticules.

Une opération de calibration se fait une fois pour toutes avec de l'eau distillée.

Le bouton qui permet d'amener la plage lumineuse à la croisée des réticules agit sur l'angle du miroir disposé en sortie du prisme de flint. Cet angle correspond à l'indice qui s'affiche sur l'échelle graduée en indice de réfraction, visible dans l'oculaire. Deux échelles sont disponibles. L'une donne directement l'indice de réfraction (entre 1,300 et 1,700). L'autre donne, entre 0 et 85 %, la teneur en matière sèche des jus sucrés .



Figure 35: Réglage de la zone éclairée à la croisée des réticules

★ Four à moufle ou bien four calcination:

Les **fours à calcination** sont des fours industriels employés dans la fabrication de la chaux, du ciment ou du plâtre. C'est aussi un appareil de laboratoire visant à réaliser les opérations de calcination[88].



Figure 36 : Four à moufle de laboratoire.

★ Utilisation:

La cuisson des différents liants (chaux, ciment ou plâtre) se fait en continu dans :

- des fours verticaux à chauffage direct : ce sont des fours à calcination par stratification dans lesquels les matières premières et le combustible sont placés par couches alternatives. La méthode a comme désavantage que la matière première est éventuellement corrompue par le contact du combustible ;

- des fours verticaux à chauffage indirect : ce sont des fours à calcination dans lesquels les matières premières sont dans un compartiment séparé du combustible. La méthode est énergivore et tend à être remplacée ;

- les fours rotatifs à chauffage direct, plus efficaces, sont des cylindres en acier légèrement inclinés dans lesquels les matières premières vont subir plusieurs transformations physiques : dessiccation, décarbonation et calcination, clinkerisation. La matière quitte le cylindre sous forme de gros grains arrondis, les clinkers. Le charbon est insufflé sous forme pulvérulente et chemine en sens inverse de la matière première ;

- les fours rotatifs à chauffage indirect, le même que le précédent mais le foyer est placé à l'extérieur et la chaleur insufflée dans le cylindre ;

- les fours électriques sont employés pour certains ciments comme le ciment alumineux.

Le laitier employé dans certains ciments est un sous-produit de la transformation de la fonte et est produit dans les hauts fourneaux.

Annexe III

Souches bactériennes utilisées :

❖ *Escherichia coli*:

Escherichia coli (*E. coli*) est une bactérie anaérobie facultative à Gram négatif, en forme de bâtonnet. Ce micro-organisme a été décrit pour la première fois par Theodor Escherich en 1885. La plupart des souches d'*E. coli* colonisent le tractus gastro-intestinal de l'homme et de l'animal comme une flore normale. Cependant, certaines souches ont évolué en *E. coli* pathogène en acquérant des facteurs de virulence à travers des plasmides, des transposons, des bactériophages et / ou des îlots de pathogénicité. Ces *E. coli* pathogènes peuvent être catégorisés en fonction des sérogroupes, des mécanismes de pathogénicité, des symptômes cliniques ou des facteurs de virulence [33, 47]. Parmi eux, *E. coli* entéro hémorragique (EHEC) est défini comme des souches pathogènes [89].

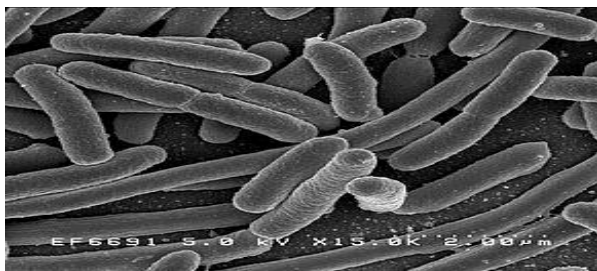


Figure 37: *Escherichia coli* Grossissement

❖ *Staphylococcus aureus*:

Est l'espèce la plus pathogène du genre *staphylococcus*. Elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes, d'infections potentiellement mortelles (patient immunodéprimé, prothèses cardiaques). *S. aureus* se présente comme une coque en amas (grappes de raisin), gram positif et catalase positif. Sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée à l'origine de son nom [90].

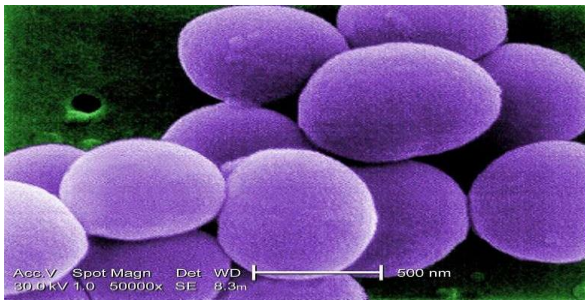


Figure 38: *Staphylocoque doré*

❖ *Pseudomonas aeruginosa*

Autrement connu sous le nom de bacille pyocyanique, est une bactérie versatile et ubiquitaire dans l'environnement. Elle est communément trouvée dans le sol et l'eau (eaux douces et marines) et sur les surfaces en contact avec ces milieux. Etymologiquement, le mot issu du grec *pseudo* (=simili ou imitation) et *monas* (=unité) désignait les germes du début de la microbiologie. Le mot *aeruginosa*, qui signifie vert de gris en latin, fait référence au pigment contenu par la

bactérie qui donne à la colonie sa couleur caractéristique. *Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce type de *Pseudomonas*, également composé de 12 autres membres [58].

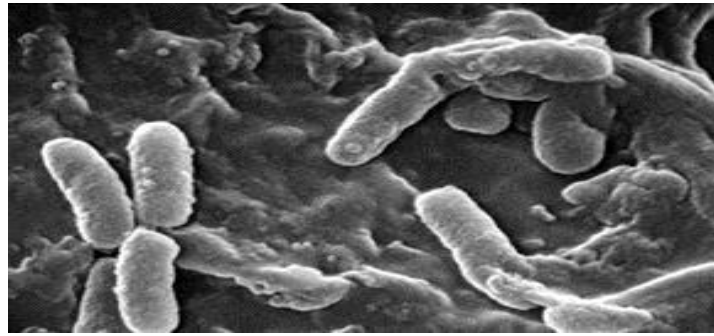


Figure 39 : *Pseudomonas aeruginosa* au microscope électronique à balayage.

❖ Matériels et produits utilisés :



Figure 40 : Ethanol absolu



Figure 41: Gélose (MH)

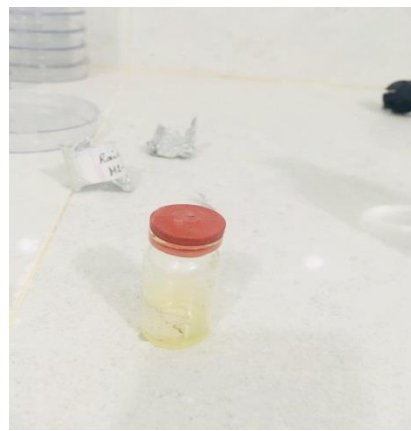


Figure 42: HE extraite

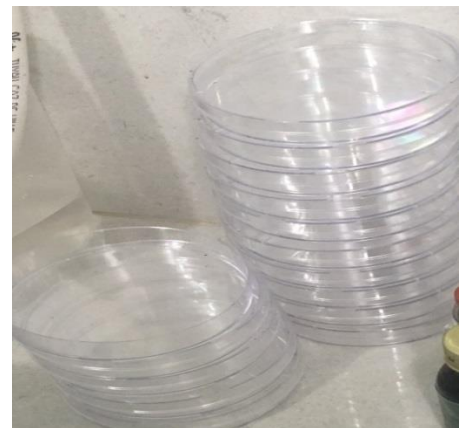


Figure 43 : Etuve « Memmert »

Figure 44: Disques d'ATB

Figure 45: Boîtes pétri

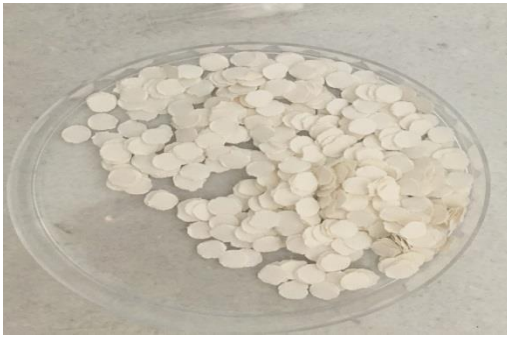


Figure 46: Disques en Papier buva

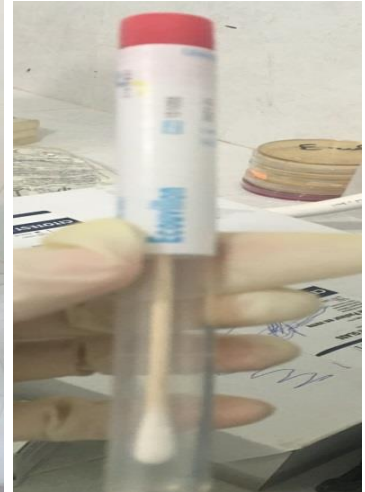
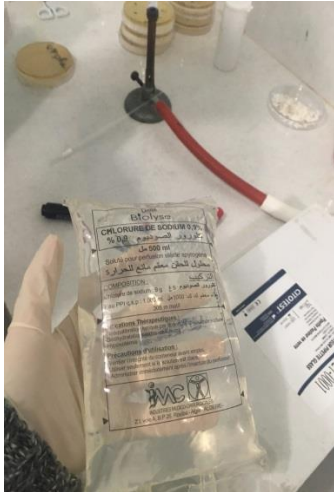


Figure 47 : Eau physiologique

Figure 48: Bain marie

Figure 49: écouvillon



Figure 50 : Bec bunsen

Figure 51: Huile essentielle de Laurier Achetée

Méthodes :



Figure 52: Boîtes pétri coulée en milieu de culture (MH)

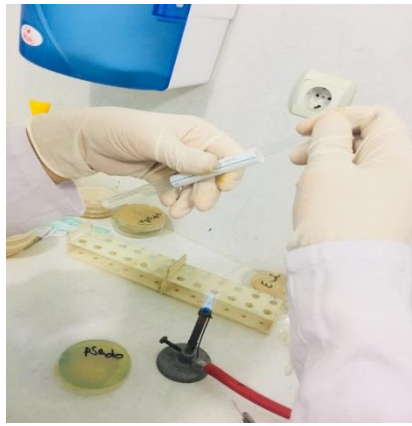


Figure 53: préparation de l'inoculum

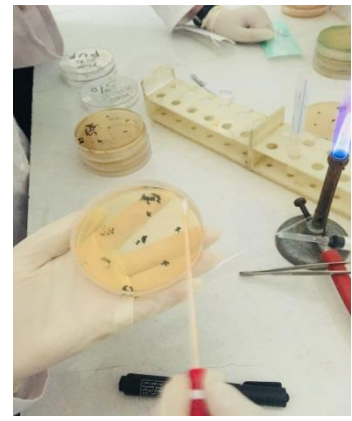


Figure 54 : Dépôt des disques



Figure 55: Incubation 24H à 37°C

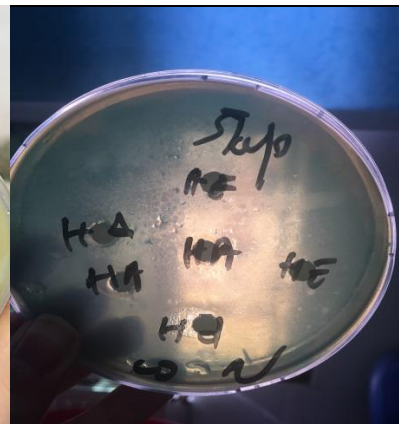
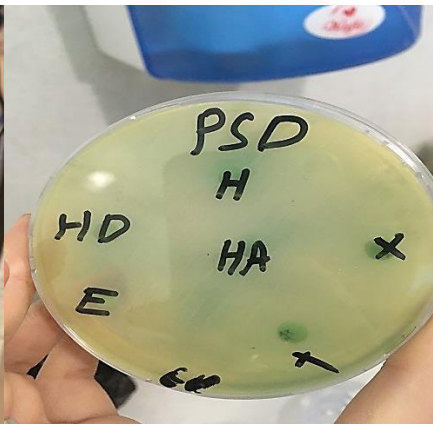


Figure 56 : Résultats de l'aromatogramme des huiles essentielles



Figure 57: Résultats de l'antibiogramme des ATB