



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

UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES ET BIOLOGIQUE

MEMOIRE DE MASTER

Département : Biotechnologie

Laboratoire De Recherche Des Plantes Médicinales Et Aromatiques

Option : Biotechnologie et Valorisation des plantes

Thème :

**Etude de quelques activités thérapeutiques de l'huile
essentielle et de l'hydrolat des feuilles de laurier ;
Laurus nobilis L. provenant de trois régions
différentes d'Algérie**

Présenté par :

**HARCHI Norhane
ICHEBOUBENE Dyhia**

Soutenu le :
09/07/2019

Devant le jury composé de :

Mme. ALLAL L.	Prof, USD Blida 1	Président
Mme. BELGUNENDOUZ R.	M C A, USD Blida 1	Examinatrice
Mme. GHANAI R.	M A A, USD Blida 1	Promotrice

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2018_2019

REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont à priori, envers Allah qui nous a permis avec sa clémence et sa grâce de poursuivre à terme la réalisation de ce travail

*On voudrait dans un premier temps remercier et exprimer toute notre reconnaissance à notre promotrice « **M^{me} GHANAI R.** », Maitre d'Assistance (A) à la faculté de S.N.V à l'Université de Blida -1- pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses précieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion, qu'elle trouve ici notre profonde gratitude.*

On adresse nos plus sincères remerciements, respect et gratitude aux membres du jury :

*A « **M^{me} ALLAL L** » Professeur à la faculté de S.N.V à l'Université de Blida -1-, qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury.*

*A « **M^{me} BELGANOUZ R** » Maître de conférence (A) à la faculté de S.N.V à l'Université de Blida -1-, pour avoir bien voulu examiner ce travail.*

*Nous tenons à remercier toutes l'équipe du laboratoire CRD de Saida-Gué de Constantine (Alger) la responsable de l'animalerie « **M^{lle} BELKADI A.** » Docteur en vétérinaire, ainsi que « **M^r Moussa** » pour leurs précieuse aide.*

*Nous tenon à remercier également toutes l'équipe du laboratoire de microbiologie de Saida GDC de Gué de Constantine (Alger), surtout « **M^{me} CHADER.D** » chef de service microbiologie et « **M^{me} BELGUERA.S** » analyste senior, pour les conditions techniques mises à notre disposition et leur aides durant la réalisation de ce travail.*

*Que nos vifs remerciements aillent au « **M^{me} TOUATIS** » Ingénieur au centre de recherche physico-chimique CRAPC pour son aide à l'extraction des huiles essentielles et de nous avoir orienté et conseillé pendant toute la durée du travail.*

Enfin, à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cette étude on présente nos remerciements et gratitude.

DEDICACES

C'est avec un énorme plaisir et une immense joie, que je dédie ce travail à mes chers parents qui m'ont toujours soutenu et encouragé et pour la force qu'ils m'ont donnée durant toutes ces années d'études, que Dieu prolonge leur vie, et qu'il m'aide à rendre leur bien.

Je dédie ce travail aussi à :

A mes chers frères : Amir et Rayan,

A ma chère sœur : Lydia

*A ma binôme et amie **Norhane***

A mes collègues pour tous les moments uniques et très émouvants que nous avons passés ensemble durant ces années d'études.

DYHIA.

DEDICACE

D'un sentiment plein d'amour, de sincérité et fidélité, je dédie ce travail

A mes chers parents,

Tous les hommages ne pourront être à la hauteur de l'amour qu'ils ne cessent de me procurer, les prunelles de mes yeux, les meilleurs de tous, que dieu leur accorde bonne santé et longue vie.

A mon cher frère Djihad

Pour son encouragement permanent, son affection et son soutien moral.

A la mémoire de mes chers grands-pères maternel et paternel

Qui ont été toujours dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

A mon binôme et ma sœur de cœur Dyhia

A Lydia, Sabrina, Louiza, Ghanima, Lynda mes meilleures, mes vraies

A toute la famille HARCHI et ABOUNAKIRA

NORHANE.

RESUME

Afin de contribuer à la valorisation de la flore Algérienne, une étude a été menée dans le but d'évaluer quelques activités biologiques des huiles essentielles et des hydrolats des feuilles du laurier : *Laurus nobilis* provenant de trois régions d'Algérie : Birkhadem (sud d'Alger), Azzefoun (proche de la mer) et Attatba. L'extraction de l'huile essentielle et de l'hydrolat de feuilles sèches du *Laurus nobilis* a été accomplie par hydrodistillation. Le rendement en huile essentielle est de $0.84 \pm 0.20\%$ pour les plantes provenant de la région d'Attatba, et de $0.86 \pm 0.23\%$ pour les plantes provenant de la région de Birkhadem. Le plus faible rendement $0.25 \pm 0.07\%$ a été noté pour les plantes provenant de la région d'Azzefoun. Le screening phytochimique effectuées sur la poudre et l'infusé des feuilles de *Laurus nobilis* ont révélé la présence des flavonoïdes, des tanins galliques, des tanins catéchétiques, des anthocyanes et des glucides. Les hydrolats se caractérisent par la présence des tanins galliques et des flavonoïdes. L'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle a révélé une forte action inhibitrice sur la croissance des souches pathogènes testées (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*). L'hydrolat présente une légère activité inhibitrice sur *Aspergillus brasiliensis* avec une zone d'inhibition de 12 mm. Le pouvoir antioxydant a été évalué par le test de DPPH. Les résultats obtenus ont montré que les hydrolats des plants prélevés dans les trois régions (Attatba, Azzefoun, BirKhadem) présentent une activité antioxydant très importante avec des IC50 de $133 \mu\text{g/ml}$, $328 \mu\text{g/ml}$ et $368 \mu\text{g/ml}$ respectivement. L'huile essentielle présente une activité antioxydant plus ou moins importantes pour les échantillons prélevés dans les deux régions Attatba et Azzefoun avec des IC50 de $449.80 \mu\text{g/ml}$ et $400 \mu\text{g/ml}$ respectivement, et moins importantes pour les plantes collectées au niveau de BirKhadem avec des IC50 de $511 \mu\text{g/ml}$. Dans cette étude nous avons pu constater que l'hydrolat de *Laurus nobilis* a présenté une activité antioxydant plus élevée que celle de l'huile essentielle. L'étude de l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle et de l'hydrolat du laurier noble provenant des trois régions étudiées présente une grande potentialité anti-inflammatoire pour la dose 5%.

Mots clés : *Laurus nobilis*.L ; huile essentielle ; hydrolat ; screening phytochimique ; activité antimicrobienne ; antioxydant ; antiinflammatoire.

ملخص

من أجل المساهمة في تثمين النباتات الجزائرية، أجريت دراسة من أجل تقييم بعض الأنشطة البيولوجية لزيت الاساسي ومستخلص ماء التقطير لأوراق الغار المعروفة بالرند: (*Laurus nobilis*) القادمة من ثلاث مناطق مختلفة من الجزائر.

تم استخلاص الزيت الاساسي والماء المقطر من الأوراق الجافة (*Laurus nobilis*) بواسطة التقطير. تقدر نسبة الزيت الاساسي لنباتات لمنطقة حطاطبة ب 0.84% و 0.86% لنباتات منطقة بئر خادم. لوحظ أدنى إنتاج للزيت الاساسي للنباتات منطقة أزفون حيث قدر ب 0.25%.

كشفت الفحص الكيميائي النباتي الذي أجري على مسحوق وأوراق (*laurus nobilis*) عن وجود مركبات flavonoïdes، و tanin gallique، و tanin catchique، و anthocyanes، و glucide. يتميز ماء التقطير بوجود flavonoïdes و tanin gallique.

كشفت الدراسة المضادة للميكروبات من الزيوت الأساسية عن عمل مثبط كبير على نمو السلالات الممرضة التي تم اختبارها (*Bacillus subtilis*، و *Escherichia coli*، و *Staphylococcus aureus*، و *Candida albicans*، و *Aspergillus brasiliensis*). ماء التقطير لأوراق الرند لمنطقة بئر خادم لوحظ نشاط مثبط على *Aspergillus brasiliensis* ب 12 ملم.

تم تقييم فعالية مضادات الأكسدة عن طريق اختبار DPPH. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن ماء التقطير لنباتات المأخوذة في المناطق الثلاث (حطاطبة، أزفون، بئر خادم) تظهر نشاطاً مهماً للغاية في مجال مضادات الأكسدة حيث تبلغ قيمته 133.59 ميكروغرام / مل و 368.92 ميكروغرام / مل و 328.09 ميكروغرام / مل على التوالي. يحتوي الزيت العطري على نشاط مضاد للأكسدة أكثر أو أقل أهمية للعينات المأخوذة في المنطقتين حطاطبة و أزفون مع IC50 من 400 ميكروغرام / مل، وأقل أهمية بالنسبة للنباتات التي تم جمعها على مستوى وبئر خادم مع IC50 من 511 ميكروغرام / مل في هذه الدراسة، وجدنا أن ماء التقطير ل (*laurus nobilis*) كان له نشاط مضاد للأكسدة أعلى من الزيت العطري

إن دراسة النشاط المضاد للالتهابات ب الزيت وماء التقطير المستخلصة من نباتات الغار لثلاث مناطق خضعت للدراسة. تتميز بإمكانية عالية مضادة للالتهابات لجرعة 5 %.

الكلمات المفتاحية: *Laurus nobilis.L*؛ زيت أساسي؛ ماء التقطير، الفحص الكيميائي النباتي، نشاط مضادات الميكروبات، مضادات الأكسدة، مضادة للالتهاب.

ABSTRACT

In order to contribute to the enhancement of the Algerian flora, a study was carried out to evaluate some biological activities of essential oils and hydrolats of laurel leaves: *Laurus nobilis* from three regions of Algeria. The extraction of the essential oil and dry leaf hydrosol of *Laurus nobilis* was carried out by hydrodistillation. The essential oil yield is 0.84% for plants from the Attatba region, and 0.86% for plants from the Birkhadem region. The lowest yield was 0.25 for plants from the Azeffoun region. Phytochemical screening carried out on the powder and infused *Laurus nobilis* leaves revealed the presence of flavonoids, gallic tannins, catechetical tannins, anthocyanins and carbohydrates. Hydrolats are characterized by the presence of gallic tannins and flavonoids. The antimicrobial study of the essential oil revealed a strong inhibitory action on the growth of the pathogenic strains tested (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*). The hydrosol has inhibitory activity on *Aspergillus brasiliensis* with an inhibition zone of 12 mm. Antioxidant potency was evaluated by the HPPD test. The results obtained showed that the hydrolates of the plants collected in the three regions (Attatba, Azeffoun, BirKhadem) have a very high antioxidant activity with IC50s of 133µg/ml, 328µg/ml and 368µg/ml respectively. The essential oil has more or less important antioxidant activity for the samples taken in the two regions Attatba and Azeffoun with IC50s of 400 µg / ml, and less important for the plants collected at Birkhadem with IC50s of 511 µg / ml. In this study, we found that *Laurus nobilis* hydrosol had a higher antioxidant activity than essential oil. The study of the anti-inflammatory activity of the essential oil and hydrosol of the noble laurel from three regions studied shows a great anti-inflammatory potential for the 5% dose.

Keywords: *Laurus nobilis*.L; essential oil; hydrosol; phytochemical screening; antimicrobial activity; antioxidants; anti-inflammatory.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Feuilles et baies de <i>Laurus nobilis</i> L. (Miliani, 2012)	17
Figure 2 : Fleurs de <i>Laurus nobilis</i> L. (Miliani, 2012).....	17
Figure 3 : Les régions étudiées sur la carte	26
Figure 4 : les différentes localités des plantes étudiées	27
Figure 5 : Hydrodistillation de feuilles du <i>Laurus nobilis</i> (Dispositif Clevenger).....	30
Figure 6 : Teneur en eau des feuilles de laurier prélevées dans les différentes localités.....	40
Figure 7 : Rendement en huiles essentielles	41
Figure 8 : les huiles essentielles des plantes des différentes régions étudiées.....	43
Figure 9 : Action des huiles essentielles de <i>laurus nobilis</i> récolté en 2019 dans la région de BirKhadem sur les souches microbiennes.....	47
Figure 10 : Action des huiles essentielles de <i>laurus nobilis</i> récolté en 2019 dans la région d'Attatba sur les souches microbiennes.	48
Figure 11 : Action des huiles essentielles de <i>laurus nobilis</i> récolté en 2019 dans la région d'Azeffoun sur les souches microbiennes.....	49
Figure 12 : Action de l'hydrolat de <i>laurus nobilis</i> récolté en 2019 dans la région de BirKhadem sur la souche <i>Aspergillus brasiliensis</i>	49
Figure 13 : Test antioxydant de l'HE, Vita C des plantes des trois régions (Attatba, Azeffoun, Birkhadem).....	54
Figure 14 : Test antioxydant de l'HE	54
Figure 15 : Test antioxydant de l'HY, Vita C des plantes de trois régions (Attatba, Azeffoun, Birkhadem).....	55
Figure 16 : Test antioxydant de l'HY	55
Figure 17 : Pourcentage de réduction d'œdème chez des souris NMRI.....	57
Figure 18 : Pourcentage d'œdème chez les souris NMRI	57
Figure 19 : Pourcentage de réduction d'œdème de la patte gauche et la patte droite coupée chez des souris NMRI.	58
Figure 20 : Pourcentage d'œdème de la patte gauche et la patte droite coupée chez des souris NMRI.....	58
Figure 21 : l'appareillage	77
Figure 22 : Etapes de l'extraction.....	78
Figure 23 : test de screening phytochimique	79
Figure 24 : les étapes de l'activité antimicrobiennes.....	80
Figure 25 : Action de l'hydrolat de <i>laurus nobilis</i> récolté en 2019 dans trois régions différentes d'Algérie sur les souches microbiennes	82
Figure 26 : La CMI de l'HE de <i>Laurus nobilis</i> sur les souches microbiennes	82
Figure 27 : test de l'activité anti-oxydante	83
Figure 28 : les étapes de l'activité anti-inflammatoire	84
Figure 29 : Les diamètres des zones d'inhibition des souches testées pour l'huile essentielle pour les trois régions (Birkhadem, Azeffoun, Attatba).....	85
Figure 30 : Les diamètres des zones d'inhibition des souches testées pour l'hydrolat pour les trois régions (Birkhadem, Azeffoun, Attatba)	85

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Systématique de <i>Laurus nobilis</i>	15
Tableau 2 : Dénomination de <i>Laurus nobilis</i> L.....	16
Tableau 3 : situation géographique des stations de récoltes.....	28
Tableau 4 : propriétés organoleptique d'huile essentielle de trois régions d'Algérie	42
Tableau 5 : propriétés organoleptique d'hydrolats de trois régions d'Algérie	43
Tableau 6 : Le criblage phytochimique de <i>Laurus nobilis</i>	44
Tableau 7 : Les diamètres des zones d'inhibition des souches utilisées.....	45
Tableau 8 : résultats du test antibactérien des différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de laurier noble.	50
Tableau 9 : résultats du test antifongique des différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de laurier noble	51
Tableau 10 : Matériel non biologique et produit de laboratoire	76
Tableau 11 : Activité antioxydante (DPPH) pour l'huile essentielle, l'hydrolat, vitamine C	86
Tableau 12 : Lot (E1) : souris ayant reçu l'HE de la région d'Attataba à dose 5%	86
Tableau 13 : Lot (E2) : souris ayant reçu 0.5 ml d'HY de la région d'Attataba	86
Tableau 14 : Lot (T) : souris ayant reçu 0.5 ml d'eau distillé.	87
Tableau 15 : Lot (Réf) souris ayant reçu 0.5 ml d'Ibuprofène à 200 mg/kg.	87
Tableau 16 : Patte postérieures des souris.....	87
Tableau 17 : Patte postérieures des souris.....	88

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR : Association Française de normalisation

ATCC : American Type Culture Collection

CMI : Concentration minimale inhibitrice

DPPH : 1, 1 –Diphenyl-2-picrylhydrazyl

HY : Hydrolat

HE : Huile essentielle

IC50 : Concentration inhibitrice à 50%

NMRI: Naval Medical Research Institute

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	I
DEDICACES	II
RESUME.....	IV
ملخص.....	V
ABSTRACT	VI
LISTE DES FIGURES.....	VII
LISTE DES TABLEAUX	VIII
LISTE DES ABREVIATIONS.....	IX
INTRODUCTION.....	1
PARTIE 01 : Synthèse Bibliographique.....	4
CHAPITRE I : La Phytothérapie Et Les Plantes Médicinales	5
I.1.1. Généralités.....	6
I.1.2 Les plantes médicinales et aromatiques.....	6
I.1.3 Les substances actives des plantes médicinales	7
I.2. Les huiles essentielles :	9
I.2.1 Définition :	9
I.2.2. Répartitions et lieu de synthèse	9
I.2.3. Rôle des huiles essentielles chez les plantes	9
I.2.4. Méthodes d'extraction	10
I.2.5. Conservation :.....	11
I.2.6. Composition chimique :	11
I.2.7. Propriétés des huiles essentielles :.....	12
I.3. L'hydrolat.....	14
I.3.1 Définition.....	14
I.3.2 Composition chimiques	14
I.3.3 Conservation.....	14
I.4. Laurier noble : <i>Laurus Nobilis. L</i>	Erreur ! Signet non défini.
I.4.1. Généralité	15
I.4.2. Origine et répartition	15
I.4.3. Systématique de la plante et dénomination	15
I.4.4. Description botanique de la plante	16
I.4.5. Composition chimique.....	17
I.4.6. Utilisation	18
I.4.7. Propriétés pharmacologiques.....	19

Sommaire

PARTIE 02 : Etude Experimentale	24
CHAPITRE II : Matériel et méthodes	25
II.1. Matériels.....	26
II.1.1. Matériel biologique	26
II.1.2. Matériel non-biologique	29
II.2. Méthodes d'étude	29
II.2.1. Détermination de la teneur en eau	29
II.2.2. Extraction des huiles essentielles	30
II.2.3. Tests du Screening phytochimique.....	31
II.2.4. Etude de l'activité antimicrobienne de <i>Laurus nobilis</i> :.....	33
II.2.5. Étude de l'activité antioxydante :	35
II.2.6. Étude de l'activité anti-inflammatoire	37
CHAPITRE III : Résultats Et Discussion	39
III.1. Détermination de la teneur en eau	40
III.2. Rendement en huile essentielle	41
III.3. Caractéristiques organoleptiques.....	42
III.4. Screening phytochimique	44
III.5. Etude de l'activité antimicrobienne.....	45
III.6. Activité antioxydant de l'huile essentielle et de l'hydrolat :	54
III.7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	57
CONCLUSION.....	60
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	63
ANNEXES.....	75

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et elles possèdent un très large éventail d'activités biologiques. L'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études (**Lhuillier, 2007**).

La valorisation de la filière des plantes aromatiques et médicinales (PAM) est devenue indispensable dans un pays regorgeant d'une richesse très importante en flore. Selon les statistiques de l'Organisation Mondiale de la Santé (2003). 80% de la population mondiale a recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire des besoins en soins de santé primaire. D'ailleurs la pharmacopée humaine est riche d'un répertoire de pas moins de 20000 espèces dont 50% sont utilisées en industrie pharmaceutique (**Lhuillier, 2007**).

Les plantes renferment des composants chimiques qui se répartissent en de grands groupes : les protides, les glucides, les lipides et les acides nucléiques d'une part, les pigments, les tanins, les polymères, les hormones et les essences végétales dites huiles essentielles d'autre part. Les premiers sont les constituants du métabolisme primaire. Ils existent en permanence au sein de la plante. Les autres proviennent du métabolisme secondaire et ne sont pas toujours présents chez les végétaux (**Bouamer et al., 2005**). Un grand nombre de plantes, aromatiques, médicinales, des plantes épicées et autres, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvant applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture (**Mohamedi, 2006**).

En Algérie, la phytothérapie est une pratique très ancienne. Les connaissances empiriques se sont transmises verbalement à travers les générations et se sont enrichies grâce à la situation géographique stratégique bien connue de l'Algérie (**Guedouari ,2012**). Les végétaux les plus utilisées en phytothérapie sont très variées et utiles autant que plantes médicinales et aromatiques.

Parmi les plantes aromatiques utilisées en Algérie, *Laurus nobilis*, est une espèce de la famille de lauracées, particulièrement riche en huile essentielle. (**Sell et al., 2002**). C'est l'une des espèces végétales médicinales et aromatiques, qui connaît actuellement un regain d'intérêt pour

INTRODUCTION

son utilisation dans la médecine traditionnelle, les industries pharmaceutiques, agroalimentaires et cosmétiques. **(Hay et Synge, 1971)**.

L'extraction des huiles essentielles a pour but de capter les biomolécules les plus subtils et les plus fragiles élaborés par le végétal. Les hydrolats sont considérés, la plupart du temps, comme un déchet de l'hydrodistillation. Pourtant, certains hydrolats de plantes possèdent des propriétés thérapeutiques intéressantes et bien souvent différentes de celles de l'huile essentielle correspondante **(Catty, 2001; Price et al., 2004)**

A cet effet, et dans le cadre de la valorisation des plantes aromatiques utilisés traditionnellement, nous nous sommes intéressées à étudier les activités de l'huile essentielle et de l'hydrolat des feuilles de laurier : *Laurus nobilis*.

Les objectifs principaux, sont répartis en deux parties :

- ✓ La première partie est relative à l'étude bibliographique des plantes où nous présenterons des données de connaissances botaniques des Lauracées, en particulier l'espèce *Laurus nobilis* L. cette partie sera enrichie aussi par une documentation sur les huiles essentielles et sur les hydrolats.
- ✓ La deuxième partie représente la partie expérimentale où nous présenterons le matériel d'étude et les techniques utilisées qui se réalisent comme ce qui suit :
 - Extraction des huiles essentielles de *laurus nobilis* par hydrodistillation et récupération des hydrolats.
 - Analyse des feuilles de la plante étudiée par un screening phytochimique.
 - Le deuxième axe consiste à déterminer les effets : antimicrobien, antioxydant et anti-inflammatoire des deux extraits de (Huiles essentielles et Hydrolat).

Après présentation et discussion des résultats ce travail se termine par une conclusion et des perspectives.

PARTIE 01 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

**CHAPITRE I : *Laurus nobilis*, les huiles
essentiels, les hydrolats**

I.1. La phytothérapie et les plantes médicinales

I.1.1 Généralités

La phytothérapie s'intègre dans la thérapie moderne, elle fait partie de la médecine qui n'est pas considérée comme une thérapie douce (**Biauchini et Corbetta ,1975**).

Étymologiquement, la phytothérapie vient du grec phytos qui veut dire plantes et thérapia qui veut dire soins ou traitement.

La phytothérapie est donc l'art de se soigner par les plantes médicinales. Ce sont des plantes renfermant un plusieurs principes actifs, s'occupant du terrain ainsi que du symptôme, capable de prévenir, de soulager ou de guérir des maladies. (**Jean-Luc Salle, 1991**). On distingue deux sortes de phytothérapies :

1. **la phytothérapie classique**, De nos grands-mères : ce sont les préparations familiales (tisanes), sous forme d'infusion, de décoction, de macération.
2. **la phytothérapie moderne**, De nombreux laboratoire, ont mis au point différentes procédés d'utilisation des plantes avec un mode d'administration plus facile

I.1.2 Les plantes médicinales et aromatiques

Définition

Schawenberg et al (1997)., soulignent qu'une plante médicinale est toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Certaines plantes contenant toute une gamme de matières efficaces peuvent avoir des actions très différentes suivant leur préparation.

Les plantes médicinales ou pharmaceutiques interviennent dans la préparation des médicaments. En médecine, les remèdes préparés à partir des plantes sont appelés galéniques (du nom de Galien, médecin du premier siècle). (**Ramawat et Merillon, 2008**).

Les plantes aromatiques sont constituées par des organes apportant une odeur et une saveur destinées à améliorer le bien-être. Il peut s'agir soit d'une plante entière ou d'un organe (feuilles, fleurs, fruits, bourgeons, graines, rhizomes ou bulbes) (**Teuscher et Lobstein, 2005**). Une plante aromatique se différencie des autres plantes par ces principes odoriférants et parfumés appelés huiles essentielles (**Willem, 2005**)

I.1.3 Les substances actives des plantes médicinales

La plante médicinale contient un certain nombre de substances dont la plupart agissent sur l'organisme humain. C'est la phytochimie qui se charge d'étudier, ces substances actives, leur structure, leur distribution dans la plante, leur modification et les processus de transformation qui se produisent au cours de la vie de la plante, de la préparation du remède végétale, puis durant son stockage (**Iserin, 1996**).

Ces substances sont :

- **Alcaloïdes** : sont des composés azotés complexes, présentant généralement de puissants effets physiologiques. Ce sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique (**Volack et al., 1983**)

- **Glucosides** : Un glucoside est constitué de deux composantes, une partie aglycone et une partie de sucre. La partie aglycone comprend les métabolites secondaires tels que les coumarines, flavonoïdes, hydroxy-anthracène. Les glucosides jouent un grand rôle dans le stockage des réserves nutritives et de défense de la plante. Le cyanure glycosides, (par exemple amygdalin de l'abricot), sort le cyanure hydrogène toxique quand les cellules sont endommagées et agissent comme un système de défense (**Barnes et al., 2007**) . Les glucosides cardiaques comme la digitoxine, ont une action directe et puissante sur le cœur, Ils l'aident à maintenir le rythme cardiaque en cas d'affaiblissement (**Iserin et al., 2001**).

- **Saponines** : sont très communes dans les plantes médicinales. Elles ont une autre propriété caractéristique : celle d'hémolyser les globules rouges, (érythrocytes) et de libérer ainsi leur hémoglobine, ce qui explique l'effet toxique de certaines d'entre elles. En l'occurrence, elles sont inconsommables (**Iserin et al., 2001**).

-**Tanins** : sont des mélanges complexes de polyphénols. Le principe actif est un phénol qui se combine avec des sucres. Il existe des tanins galliques (dont le motif structural de base est l'acide gallique) et des tanins catéchiques (oligomères et polymères d'aglycones poly phénoliques) (**Wichtl et Anton, 2003 ; Murphy, 1999**). Les tanins étaient autrefois utilisés pour le tannage de peaux. Ils ont la propriété de coaguler certaines protéines des muqueuses et des tissus en créant une couche isolante et protectrice qui a pour effet d'apaiser la douleur et de réduire les saignements (**Grünwald et Jäniche, 2006**)

- **Flavonoïdes** : sont des substances généralement colorées, en particulier, jaune et orange très répandues chez les végétaux (**Guignard., 1996**). Les flavonoïdes exercent plusieurs fonctions, notamment la protection contre les champignons et les insectes, ainsi que le contrôle des processus de croissance. Beaucoup de ces substances ont des propriétés proches de celles des œstrogènes. Chez l'homme, la majorité des flavonoïdes inhibent le processus inflammatoire et sont aussi des antioxydants (**Grünwald et Jäniche, 2006**).

-**Anthocyanes** : Les anthocyanes sont des pigments végétaux hydrosolubles de couleur rouge, violette ou bleue (**Iserin et al., 2001 ; Arnal-Schnebel et al.,2007 ; Ghestem et al ., 2001**). Ils sont issus de l'hydrolyse des anthocyanidines (dérivés poly phénoliques) (**Daayf et Lattanzio., 2008**). Ces pigments sont très répandus dans le règne végétal. Ils sont proches des flavonoïdes sur le plan de l'origine, de la structure et des propriétés pharmacologiques (**William et Hopkins., 2003**). Ils diminuent la perméabilité des capillaires et augmentent leurs résistances. Ils ont aussi une action anti- œdémateuse. Ce sont aussi des colorants végétaux autorisés (**Hagerman., 2002**).

-**Mucilages** : Ce sont des polysaccharides qui forment de véritables mosaïques moléculaires. Cette structure chimique leur confère la propriété remarquable de gonfler au contact de l'eau avec la formation de masses plastiques ou de solutions visqueuses. Ils agissent par action mécanique d'où l'effet laxatif. Le mucilage forme une couche protectrice sur la muqueuse intestinale contre les substances irritantes (**Fluck., 1977 ; Verdrager., 1978**). Elle peut être utilisée pour protéger les tissus enflammés et calmer la douleur (**Nowitz et Bottet., 2000**). Un effet hypoglycémiant a été observé avec le fenugrec et le tamarin, éventuellement par ralentissement de la résorption des sucres induit par les mucilages (**Teuscher et al., 2005**).

- **Huiles essentielles** : Ce sont des substances volatiles et odorantes obtenues par la distillation des plantes aromatiques. L'huile essentielle est présente dans les feuilles, les fleurs et l'écorce de certains végétaux. Dix pour cent seulement parmi les huit cent mille espèces du monde végétal sont capables de synthétiser une essence (**Willem., 2009**). Les huiles essentielles ont des propriétés pharmacologiques très différentes les unes des autres en raison de l'hétérogénéité de leur composition chimique (**Fabrocini et Fabrocini., 1999**).

I.2. Les huiles essentielles :

I.2.1. Définition :

Une plante aromatique se différencie des autres plantes médicinales par ces principes odoriférants et parfumés appelés huiles essentielles.

L'aromathérapie met en œuvre des essences et des huiles essentielles pures extraites de différentes plantes aromatiques appréciées pour leurs propriétés thérapeutiques (**Schawenberg et Paris., 1997**).

Les huiles essentielles ce sont des substances volatiles et odorantes obtenues par la distillation des plantes aromatiques ; Peu ou non grasse on l'appel << huile >> car elle ne se mélange pas avec l'eau. Comme l'essence, elle s'enflamme. On trouve ces substances dans de nombreuses parties des plantes : les fruits, les écorces, les feuilles, les graines et les racines. Cependant, la quantité d'huile produite est très variable selon les espèces.

Il s'agit de mélanges de composés lipophiles, volatiles et souvent liquides, extraits de la plante grâce à des procédés physiques. Les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante (**Bruneton, 1999**). Elles sont largement utilisées en parfumerie.

I.2.2. Répartitions et lieu de synthèse

Les huiles essentielles, produites par les végétaux supérieurs, sont élaborées par des sites sécréteurs botaniques qui se retrouvent sur presque toutes les parties de la plante (tige, feuilles, fleurs ou graine) (**Bruneton, 1993**). Leur biosynthèse est liée à des cellules spécialisées, rarement isolées (feuille de laurier, gingembre...) le plus souvent regroupée en poches (Rutacées, myrtacées...) ou en canaux sécréteurs (Apiacées, astéracées...) (**Guignard ,2000**).

Elles sont sécrétées au sein du cytoplasme de certaines cellules où elles se rassemblent sous forme de petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles. Ensuite elles sont stockées dans des cavités résultant de la fusion de plusieurs cellules (**El Abed et Kambouche, 2003**).

I.2.3. Rôle des huiles essentielles chez les plantes

Les huiles essentielles protègent la plante contre les parasites, les insectes ou les herbivores. Elles peuvent aussi favoriser la fécondation en attirant certains insectes (**Milpied, 2009**).

Toutefois, la fonction des huiles essentielles au sein de la plante reste encore un phénomène assez obscur. Les effets d'attraction, de répulsion et de dégagement observés sont dus à la complexité et la variété structurale des substances présentes dans l'essence (**El Abed et Kambouche, 2003**).

Les fonctions possibles des huiles essentielles sont multiples : protection contre les prédateurs de la plante, attraction des insectes pollinisateurs, inhibitions de la germination et de la croissance, inhibitions de la multiplication des bactéries et des champignons. (**GERHARD, 1993**).

I.2.4. Méthodes d'extraction

L'extraction des huiles essentielles est une opération capitale qui doit permettre d'obtenir des produits volatils, particulièrement fragile, sans en altérer la qualité (**Roux et al., 2008**).

Le choix de la technique dépend de la localisation histologique de l'essence dans le végétale (**El Abed et Kambouche., 2003**).

L'extraction peut se faire selon de multiples procédés. La meilleure technique reste l'extraction par entraînement à la vapeur, technique qui préserve à l'huile essentielle toutes ses qualités physico-chimiques et thérapeutique (**Bernalet et al., 1985**).

La méthode la plus employées est celle de :

❖ Hydrodistillation :

Elle représente 80% de la récupération des huiles essentielles (**Salle, 1991**).

La plante aromatique (entière ou broyée) placée dans un alambic est immergée dans l'eau. Portée à ébullition, l'eau à l'état vapeur en passant à travers le matériel végétal entraîne l'huile essentielle ; elle est refroidie et condensée dans un serpent. L'huile essentielle est séparée de l'eau par différence de densité dans un vase florentin. L'eau obtenue est une eau florale ou hydrolat aromatique (**Raynaud, 2006**).

L'extraction peut également s'effectuer par les procédés suivants :

- ❖ Entraînement à la vapeur d'eau**
- ❖ Extraction par solvants**
- ❖ Expression à froid**

I.2.5. Conservation :

La conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables si l'on veut éviter leur oxydation et leur dépolymérisation. Aussi il convient d'utiliser des flacons de verre colorés ou opaques, bien bouchés, pour les préserver de l'air et de la lumière, principaux agents de leur dégradation (**Bardeau, 2009**).

Les huiles essentielles se conservent entre 12 et 18 mois après leur fabrication. Avec le temps leurs propriétés diminuent et deviennent alors inactives (**Salle, 1991**).

I.2.6. Composition chimique :

La composition chimique des huiles essentielles est généralement très complexe d'un double point de vue, à la fois par le nombre élevé de constituants présents et surtout par la diversité considérable de leurs structures.

En effet, elles comprennent deux classes de composés caractérisés par des origines biogénétiques bien distinctes : **le groupe des terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane**.

Il existe également d'autres corps qui entrent en faible proportion dans la constitution de certaines huiles essentielles (acides organiques, les esters et d'autres composés). (**El Abed et Kambouche ., 2003**)

a) Les terpènes :

Dans le cas des huiles essentielles, seuls les terpènes les plus volatils sont rencontrés, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : mono- et sesquiterpènes. Les carbures peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques et porteurs de groupements fonctionnels variés à savoir : alcools (géraniol, menthol, bornéol), cétones (camphres, thuyones), esters (acétate d'isobornyl) et les phénols (thymol) (**Telephon et al ., 2008**).

D'après **Judd et al (2002)**, les terpènes sont des hydrocarbures non cycliques et volatile de formule $C_{10}H_{16}$, composés d'unités isoprènes, les mêmes auteurs confirment que ce sont des polymères formés par la réunion d'unités isoprènes à 5 carbones : $C_5 H_8$, d'où le nom d'isoprénoides sous lesquels les terpénoïdes sont parfois désignés.

Ces auteurs déclarent que l'isoprène est donc le constituant de base à partir duquel se fait la polymérisation.

Selon **Gaucher et al (2001)**, les dérivés des terpènes sont :

Les monoterpènes : $C_{10} H_{16}$, les sesquiterpènes : $C_{15} H_{24}$, les diterpènes : $C_{20} H_{32}$, les triterpènes : $C_{30} H_{48}$, les polyterpènes : $C_{50} H_{80}$.

b) Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane :

Les dérivés du phénylpropane (C_6-C_3), ou composés phénoliques s'agissant le plus fréquemment d'allyl ou propénylphébols, et ou aldéhydes. La biosynthèse par voie phenylpropanoïdes débute par des aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine, Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle. Egalement, la synthèse de ces constituants nécessite une série d'acides dont l'acide shikimique et l'acide cinnamique. Les phénylpropanoïdes sont moins répondu dans l'HE que les terpènes, néanmoins elles sont caractéristiques dans certaines huiles essentielles d'Apiaceae (anis, fenouil, persil, cannelles (eugénole, myristicine, asarones, cinnamaldéhyde)) (**Bruneton, 1999**).

I.2.7. Propriétés des huiles essentielles :

a) propriétés physiques :

Les huiles essentielles sont des liquides à température ordinaire, l'odeur aromatique très prononcée, généralement incolores ou jaune pâle. Leur densité en générale inférieure à celle de l'eau et sont entraînable à la vapeur de l'eau. Elle possèdent un indice de réfraction souvent élevé et la plupart devient la lumière polarisé, sont douées de pouvoir rotatoire (**Duraffourd et al., 1990 ; Baser et Buchbauer, 2010**)

Les huiles essentielles s'évaporent et se volatilisent à température ambiante. Elles sont très peu solubles dans l'eau à laquelle elles communiquent leurs odeurs. Cette eau est dite eau distillée florale. Sont soluble dans les alcools, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organique (**Bruneton, 1999 ; Abou Zeid, 2000 ; Ghestem et al ., 2001**).

Sont sensibles à l'oxydation. Elles ont tendance à se polymériser en donnant lieu à la formation des produit résineux ce qui induit à la perte de ses propriétés. (**Seguin et al ., 2001**)

b) Propriétés chimiques :

Les huiles essentielles peuvent contenir une centaine de composées différentes appartenant à deux groupes caractérisés par des origines biogénétique spécifiques : les terpènes et les dérivés du phénylpropane biosynthétisé essentiellement à partir de l'acide shikimique (**Bruneton, 1993**).

c) Propriétés pharmacologique :

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de constituants en proportion souvent variable, d'où la difficulté de mener des études pharmacologique rigoureuses. Quelque propriété principale peut cependant être dégagée. Un grand nombre d'huiles essentielles présentent des propriétés digestives ou des propriétés antispasmodiques, sédatives, irritantes (**Seguin et al, 2001**). Les propriétés antimicrobiennes sont les plus connues et les plus citées par les auteurs, en effet les plantes n'ont pas un système immunitaire proprement dit qui peut identifier une infection spécifique, leurs propriétés antimicrobienne sont généralement efficaces contre une large gamme de microorganisme, ces propriétés sont utiles pour les infections chez humaines (**Remmal, 1993 ; Chami, 2005 ; caillet et al., 2009**). Le pouvoir antifongique des huiles essentielles des plantes médicinales a été mis en évidence par les nombreux chercheurs contre les champignons pathogènes et opportunistes (**De Bellerbeck, 2002**).

I.3. L'hydrolat

I.3.1. Définition

Le terme hydrolat est issu de l'appellation latine « hydro », qui signifie « eau » et du français « lat » ou « lait » car cette substance présente une apparence laiteuse dans les quelques minutes qui suivent la distillation (**Bosson et Dietz ., 2005 ; Sommerad ., 2008**).

L'hydrolat est une forme de thérapie particulièrement douce. Elle ne présente pas de phénomènes d'accoutumance ou d'interactions médicamenteuses. Elle est alors très indiquée pour les personnes sensibles, comme les enfants en bas âges, les femmes enceintes ou les personnes âgées (**Bosson et Dietz ., 2005**).

Lors du processus d'obtention des huiles essentielles par entraînement à la vapeur, un sous-produit se forme à partir de l'eau ayant servi à l'extraction des molécules odorantes. Ce produit est l'hydrolat. Au cours de la distillation, la vapeur d'eau traverse la matière végétale puis se condense au contact des parois froides d'un réfrigérant (**Sommerad., 2008**). L'eau se dissocie alors spontanément de l'huile essentielle du fait de leur non miscibilité tout en conservant une petite portion des composés volatils de l'huile essentielle dont la teneur varie de 1 à 5% (**Price et Price ., 2004**).

L'hydrolathérapie, ou thérapie par les hydrolats, est une branche de l'aromathérapie, elle-même issue de l'ensemble le plus vaste de la phytothérapie. C'est une thérapie holistique, elle met en relation entité : Corps-Esprit (**Bosson et Dietz ., 2005**).

I.3.2. Composition chimiques

Les hydrolats contiennent en petite quantité des composés volatils semblables à ceux présents dans l'huile essentielle, néanmoins un certain nombre d'éléments peuvent être absents. Ainsi, la composition des hydrolats s'éloigne donc de celle des huiles (**Price et Price., 2004**). Pour pouvoir effectuer l'analyse de la composition chimique des hydrolats par GC-MS, il est nécessaire de « concentrer » l'hydrolat avant l'injection, en procédant à une extraction liquide-liquide avec un solvant organique tel que le chloroforme (**Jeannot et al ., 2003**).

I.3.3. Conservation

Les hydrolats sont plus sensibles que les HE aux conditions de conservation. Ils se conservent 1 à 2 ans et doivent être utilisés dans les 2 mois après ouverture du bidon. (**Heitz, 2017°**)

I.4. Laurier noble : *Laurus Nobilis*

1.4.1. Généralité

Laurus nobilis L, appartient à la famille des lauracées qui renferme 32 genres et environ de 2000 à 2500 espèces (Barla et al., 2007).

Laurus, nom latin, signifie toujours vert » allusion au feuillage persistant de la plante (Pariente., 2001).

Les feuilles sont largement appliquées et connues comme herbe médicinale de puis la période antique gréco-romaine (Demir et al., 2004). Il est intéressant de noter que cette herbe qui était pendant longtemps employée dans la nourriture comme condiment et en médecine traditionnelle, possède en fait, des propriétés qui peuvent suggérer de nouvelles applications (Ferreira et al., 2006).

1.4.2. Origine et répartition

Le laurier est la seule espèce représentant la famille lauracées dans la région méditerranéenne d'où elle est originaire. Actuellement, la plante est largement cultivée comme plante ornementale et pour la production commerciale dans beaucoup de pays tels que l'Algérie, la Turquie, la France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les Etats-Unis Méridionaux (Demir et al., 2004; Barla et al., 2007).

1.4.3. Systématique de la plante et dénomination

La classification botanique de la plante d'après (Delille ., 2007) est la suivante :

Tableau 1 : Systématique de *Laurus nobilis*

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

Du fait qu'il soit très répandu dans le monde, le *Laurus nobilis* L, présente divers appellations selon les pays (tableau 2). On ne confondra pas ce laurier noble avec d'autres espèces ligneuses fâcheusement appelées lauriers notamment : le laurier Cerise (*Prunus laurocerasus*), le laurier Tin, le laurier rose (*Nerium oleander*), le laurier des Alpes (*Rhododendron ferrugineum*) et le laurier de Saint Antoine (**Depoërs et al., 2008**) ; **Boullard., 2001**).

Tableau 2 : Dénomination de *Laurus nobilis* L.

La nomination	<i>Laurus nobilis</i> L.
Nom commun Français	Laurier d'Apollon, laurier commun, laurier noble, laurier sauce, laurier franc, laurier à jambon (Delille., 2007).
Nom vernaculaire arabe et targui	Rend, erend, habb'ra'r (le fruit), tasselt (Beloued., 2001).
Nom celtique	Blaur signifie toujours vert (Beloued., 2001)
Nom allemand	Lorbeer, lorbeerbaum, gewürzlorbeer (Iserin., 2001).
Nom anglais	Bay, sweet bay, bay laurel, true laurel (Iserin., 2001).

I.4.4. Description botanique de la plante

Le laurier noble est un arbre généralement dioïque, de 2 à 10 m de hauteur. Les branches sont dirigées dressées, de couleur verte. (**Hamrouni et al., 2011** ; **Kilic et Altuntas., 2006** ; **Deysson, 1979** ; **Marzouki et al., 2009** ; **Yahya et al., 2008** ; **Santoyo et al., 2006**).

Les feuilles sont alternes, coriaces, persistantes, longues de 16 cm sur 8 cm large, atténuées en court pétiole, penninervées, entières et à bordures crénelées (Figure 1) (**Beloued., 2005**) Elles sont elliptiques, lancéolées, dégagent une forte odeur aromatique si on les froisse. C'est la conséquence de l'existence de grosses cellules sécrétrices éparses dans la mésophylle des limbes. (**Boullard, 2001**).

Les fleurs sont petites et dioïques (fleurs mâles et femelles sur des pieds séparés). Elles apparaissent en mars avril, jaune verdâtre ou vert blanchâtre. Elles sont odorantes et groupées à l'aisselle des feuilles en petits bouquets en forme d'ombelles axillaires pédonculées et involuquées. (Figure 2) (**Iserin et al., 2001** ; **Beloued., 2005** ; **Boullard., 2001**).

Le fruit est une baie globuleuse, d'un noir profond à maturité, atteignant 2 cm de long, sa pulpe est verte, grasse et parfumée. (Figure 1) (**Iserin et al., 2001**).



Figure 1 : Feuilles et baies de *Laurus nobilis* L. (Miliani, 2012)



Figure 2 : Fleurs de *Laurus nobilis* L. (Miliani, 2012)

I.4.5. Composition chimique

De nombreuses études ont été réalisées pour la détermination de la composition chimique des feuilles de *Laurus nobilis*. Elles ont montré leur richesse en substances actives. Par distillation les feuilles fournissent environ 10 à 30 ml /kg (1- 3 %) d'huile essentielle (Brunton, 2009). Cette huile essentielle est complexe et riche de 270 composants actuellement connus, couvrant une grande gamme de molécules aromatiques qui sont :

- Les oxydes monoterpéniques (36%) sous la forme de cineole, puissamment actifs sur la fonction respiratoire (Depoërs et al, 2008).
- Les monoterpénols (18%) en majorité linalol. Ceux sont des antibiotiques et immunostimulants.
- Les monoterpènes (23%) surtout pinènes et sabinènes, ce sont des puissants toniques généraux mais également antalgiques et légèrement immunostimulants.

- Les esters (15 à 20%) et les phénols méthyl-éthers (4%), permettent une action antispasmodique majeure.
- Les sesquiterpènes (5%), ce sont des composés à 15 carbones, doués d'activités anti-inflammatoire et antivirale.
- Les lactones sesquiterpéniques (costénolide et artémorine) anciennement dénommés principes amers, substances hautement réactives, elles sont responsables des vertus digestives des plantes qui les synthétisent. Ces lactones sesquiterpéniques comprennent un groupe réactif, en l'occurrence : α -méthylène- γ butyrolactone. Ce groupe joue un rôle important dans le pouvoir allergisant (**Depoërs et al, 2008**).

Les feuilles de *Laurus nobilis* contiennent aussi des flavonoïdes polaires (dérivées glycosylées de quercétine, kaempferol et de catéchine) et apolaires (quatre dérivés acylés de kaempferol) (**Fiorini et al. 1998 ; Kivçak et Mert, 2002**), des alcaloïdes isoquinoléiques (réticuline, aporphinoïdes) (**Brunton, 2009**)

I.4.6. Utilisation

Les feuilles de *Laurus nobilis* sont parmi les assaisonnements les plus connus dans tous les pays. Elles sont généralement utilisées comme épice valable en culinaires (en potages, ragoûts et sauce) et aromatisant en industrie alimentaire. Cette plante a aussi des applications importantes en médecine traditionnelle et représente récemment un sujet de recherche scientifique intéressant (**Simie et al., 2003**). Le laurier est principalement utilisé, par voie orale, dans le traitement symptomatique des troubles de l'appareil digestif supérieur tels que le ballonnement épigastrique, lenteur de la digestion, éructations et flatulence (**Iserin.,2001**).

L'huile essentielle est utilisée dans les bains antirhumatismaux ainsi qu'en frictions pour les foulures, abcès, ulcères, gale, pelade, pédiculose, psoriasis et mycoses. Il est utilisé aussi contre la chute des cheveux (**Iserin., 2001 ; Bardeau., 1976**).

En outre, l'huile essentielle est utilisée par l'industrie cosmétique, et en parfumerie (**Demir et al ,2004 ; Beloued ,2005**).

L'extrait aqueux est utilisé dans la médecine traditionnelle turque comme anti hémorroïdal, antirhumatismal, diurétiques et pour le traitement du mal d'estomac. Il peut être utilisé aussi comme antidote lors des morsures de serpent (**Kivçaket., 2002**).

Dans la médecine traditionnelle iranienne, les feuilles de cette plante ont été utilisées pour traiter l'épilepsie et la maladie de Parkinson (**Aqili ., 1992**). En Maroc, les feuilles sont prises oralement pour traiter le désordre du foie et pour l'hygiène dentaire (**van., 2001**).

La concrète et le beurre de laurier étaient utilisés dans la médecine vétérinaire ancienne en frictions contre les douleurs diverses dont la fourbure, la goutte des volailles. Elles servaient aussi à préserver l'animal des mouches et des poux. De nos jours, l'huile de *Laurus nobilis* entre dans la composition du végébon vétérinaire pour les affections de la peau et de la mamelle **(Cabaret, 1967)**.

Bien que les feuilles de laurier noble soient principalement extraites pour produire les huiles essentielles qui sont utilisées en pharmacie et en cosmétique, la pyrolyse des résidus d'extraction de laurier ont une grande importance comme source d'énergie renouvelable **(Ertaset ., 2010)**.

La matière végétale de laurier noble épuisée après la distillation pourrait être considérée comme alimentation fibreuse ayant de bonnes valeurs énergétiques et de digestibilité pour les ruminants **(Di Leo Lira et al 2009)**.

L'hydrolat de laurier noble combat les germes et la douleur, pour tous les problèmes de bouche (aphtes et douleurs dentaires). On l'utilise aussi pour purifier la peau. L'hydrolat est aussi recommandé pour aider les individus à améliorer la communication avec les autres et avec soi-même **(Géraultet ., 2009)**

I.4.7. Propriétés pharmacologiques

Laurus nobilis est une plante d'importance industrielle utilisée comme matières premières dans de nombreux domaines, y compris les parfums, cosmétiques, aromathérapie, phytothérapie et de la nutrition **(Buchbauer, 2000)**. En raison d'utilisation large des feuilles, des baies et leurs huiles essentielles, ils ont été largement étudiés **(Careda et al. 2002 ; Kilic et al. 2004)**.

❖ Effet antimicrobien :

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle des feuilles du *Laurus nobilis* a été étudié par divers chercheurs contre plusieurs souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Klebsiella pneumoniae*...). Et les résultats ont montré une activité bactéricide très efficace. **(Santoyo et al., 2006 ; Derwich et al., 2009 ; Verdian-rizi., 2008 ; Ahmed chaudhry et Tariq ., 2006)**. Dans la recherche de **Lawrence et Palombo (2009)** l'huile essentielle du laurier noble a été étudiée pour identifier l'activité contre les spores *Bacillus subtilis* (ATCC 6051). Les résultats ont indiqué que l'huile exposée présente un certain niveau d'activité sporicide après 24 h. Toutefois, pour déterminer si l'acidité d'huiles essentielle a été responsable de leurs activités, le pH de l'huile a été déterminé, indiquant que le caractère acide de l'huile essentielle n'était pas responsable de l'effet sporicide.

24 extraits aqueux, d'éthanol, de butanol, d'hexane, de chloroforme et de méthanol des feuilles, écorces, fruits et fleurs de *Laurus nobilis* ont été testés pour leur activités anti bactériennes . L'activité supérieure était celle de l'extrait d'écorce aqueuse contre *Staphylococcus aureus* résistant (25 mm) par rapport à la pénicilline G (33 mm). Une activité modérée anti-bactérienne des fleurs, des fruits et des extraits de feuilles contre *Klebsiella pneumoniae* (Gram négatif) et *Salmonella typhimurium* a été également enregistrée. Les valeurs des CMI pour les bactéries étaient relativement élevées, ce qui est compréhensible puisque nous traitons avec des extraits bruts. Les résultats d'une étude semblable montrent que les extraits éthanolique des feuilles de laurier noble, par exemple, présentent un large spectre d'activité antibactérienne contre *P. aeruginosa* (17 mm de zone d'inhibition) par rapport à la tétracycline (15 mm).

L'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* extraites par une technique du dioxyde de carbone supercritique représente un potentiel agent antifongique qui pourrait être employé en tant que fongicide naturelle pour la protection des pêches et des kiwis stockés contre le *Botrytis cinerea*, *Monilinia laxa* (Caroto et al., 2010)

❖ Effets antioxydants

L'activité antioxydant des extraits méthanolique (bruts et dégraissés) des feuilles, d'écorces et des fruits de *Laurus nobilis* ont été étudiés au niveau de la peroxydation de lipide (LP) dans les liposomes, induite par le système Fe⁺²/ascorbate et mesuré spectrophotométriquement à 533 nm. Les résultats ont montré que tous les extraits de recherche possédaient une activité antioxydant .L'extrait dégraissé des feuilles montre une inhibition plus élevée du LP que l'extrait brut et le maximum de son activité (68.4%) a été atteint avec une plus petite quantité (2.0mg) (Simié et al., 2003).

Ferreira et al. 2006 ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits (huile essentielle, extrait éthanolique et décoction) de dix espèces de plantes médicinales dont *Laurus nobilis*, cette espèce a montré des valeurs élevées pour l'activité antioxydante pour chacun des trois extraits et elle est plus haute pour les extraits polaires .Dans le laurier noble, l'isoquercitrin et les glycosides flavonol peuvent expliquer l'activité exhibée.

Dans une autre étude, Demo et al (1998) ont démontré la présence des tocophérols (vitamine E), principalement la γ - tocophérol, dans les feuilles de *Laurus nobilis* obtenue dans la fraction apolaire par extraction hexane. Dans cette étude on rapporte que le contenu tocophérol est strictement corrélé avec l'activité antioxydante de l'extrait hexane des feuilles.

Ces résultats préliminaires ont confirmé que l'utilisation traditionnelle des feuilles du laurier noble dans l'industrie alimentaire est reliée non seulement à l'odeur et à l'arôme plaisant, mais probablement aussi à des possibilités préservatives des substances présentes dans les feuilles et d'autres organes de cette plante.

❖ Effet anti-inflammatoire :

L'extrait éthanolique (80%) des feuilles de laurier séchées, administré par intubation gastrique à des rats à une dose de 100,0 mg / kg, a entraîné une inhibition de 19% de l'œdème induit.

L'acétate d'éthyle et l'extraits d'hexane des feuilles, appliquée extérieurement [(TPA)-inflammation de l'oreille] sur des souris à une dose de 20,0 microlitres /animal, étaient actifs comparativement au tétradécanoyl acétate de phorbol. (Ivan et Ross., 2001) .

L'huile essentielle des feuilles du *Laurus nobilis* a été évaluée pour les activités antinociceptifs et anti-inflammatoires chez les souris et les rats par un équipe iranien .L'effet analgésique et anti inflammatoire de l'huile essentielle a été comparable aux antalgiques de référence et aux anti inflammatoires : la morphine et le piroxicam. Les résultats Présentés font l'huile essentielle digne d'investigations complémentaires. (Sayyah et al., 2003).

❖ Effet d'inhibiteur :

L'extrait méthanolique des feuilles de *Laurus nobilis* a efficacement empêché l'élévation du taux d'éthanol dans le sang chez un rat chargé d'éthanol. Selon Matsuda et al.,1999 ; Yoshikawa et al.,2000) Sept sesquiterpènes actifs ont été isolés en tant qu'inhibiteur d'absorption d'alcool. La partie active dans ces sesquiterpènes s'est avéré la partie α méthylène γ butyrolactone qui était essentielle pour montrer la suppression de l'absorption d'éthanol.

D'après, Ferreira et al (2006) La fraction éthanolique des feuilles de *Laurus nobilis* a montré une valeur élevée d'inhibition de l'acétylcholinestérase(AChE) de 64% (1mg/ml), qui catalyse l'hydrolyse de l'acétylcholine donnant la choline et l'acétyle. Donc la plante peut aider à traité ou soulager des patients souffrant de la maladie d'Alzheimer.

De plus, selon (Khalil et al., 2007). L'huile essentielle obtenue à partir des feuilles de *Laurus nobilis* a montré une inhibition presque complète de la formation du 3-nitrotyrosine (91% à 300 μ g/ML) dont la nitration de tyrosine en 3- nitrotyrosine est généralement considérée comme un biomarqueur de phénomènes inflammatoire.

❖ Effet anticonvulsif

L'huile essentielle de *Laurus nobilis* a été évaluée pour l'activité anticonvulsif contre des crises expérimentales, l'huile a protégé des souris contre des convulsions toniques, induites par électrochoc maximal et particulièrement par pentylènetétrazol. Aux doses anticonvulsives, l'huile essentielle a produit la sédation et relâchement du cœur. Les composants responsables de cet effet peuvent être le cinéol, eugénol et le méthyle eugénol (**Sayyah et al. 2002**)

❖ Effet cytotoxique

Les extraits *n*-hexane, éthanol et aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* ont été testés pour leurs propriétés cytotoxiques en utilisant l'essai biologique de crevette de saumure (*Artemia salina*). Seul l'extrait *n*-hexane exhibe une activité cytotoxique contre la crevette de saumure même si on l'avait moins active que l'umbelliférone et la colchicine. Dans le criblage phytochimique tous les extraits ont donné des résultats positifs pour les sesquiterpènes, les extraits éthanol et aqueux pour les alcaloïdes mais seulement l'extrait *n*-hexane était positif pour les flavonoïdes et la vitamine E. En conclusion, les glycosides flavonol pourraient être des principes actifs responsables de l'activité cytotoxique observée (**Kivçaket Mert, 2002**).

D'autres études ont réalisé l'isolement et l'identification des composés des feuilles et des fruits de *Laurus nobilis* supposés être cytotoxique. Ils ont isolés six lactones sesquiterpéniques connues et un nouveau sesquiterpène le lauroxépine, ces substances actives se sont avérées fortement cytotoxiques contre la lignée cellulaire ovarienne cancéreuse A2780 (**Barla et al., 2007**).

Une étude a montré que l'extrait méthanolique de *Laurus nobilis* présente une activité inhibitrice contre NF- κ B (nuclear factor-kappa B) dont l'activation de NF κ B a été impliquée dans le cancer et dans beaucoup de maladies inflammatoires chroniques humaines, telles que l'asthme, l'arthrite, et la maladie inflammatoire d'entrailles (**Kaileh et al., 2007**)

Les lactones sesquiterpéniques reynosin et santa marine isolées de feuille de laurier noble présente une activité cytotoxique contre la lignée de cellule humaine GLC4 de carcinome de poumon et la lignée cellulaire colorectale COLO320 de cancer (IC₅₀ 124 millimètres) (**Fang et al., 2005**)

❖ **Effet hypoglycémiant**

L'activité hypoglycémiant des extraits de feuille de laurier a été également rapporté (**Papachristos et Stamopoulos., 2002**) .Les feuilles de laurier noble ont renforcé l'action de l'insuline dans le métabolisme de glucose (**Alkanova et al., 1984**) L'administration des doses de 200 et 600 mg/kg de l'extrait éthanolique des feuilles de *Laurus nobilis* a produit une diminution significative des niveaux de glucose sanguin chez des lapins diabétiques (**Khan et al., 1990**)

❖ **Effet gastro protectif**

Une étude a été réalisée par **Gürbüz et al. (2002)** où cinq plantes aromatiques dont *Laurus nobilis*, sont employées traditionnellement en Turquie pour traiter le mal d'estomac. Ils ont été choisis pour déterminer leur pouvoir anti-ulcère. Une décoction et un extrait méthanol ont été préparés à partir des fruits de laurier pour déterminer leurs effets sur un modèle d'ulcère gastrique induit par l'éthanol chez des rats. Les expériences pharmacologiques et les techniques histopathologique sont clairement montrés que ces extraits donnés oralement ont significativement protégé l'estomac contre ce modèle d'ulcère. Cette étude doit être continue pour l'isolement des constituants actifs et pour révéler leur mode d'action. (**Yanardag et Can ., 1994**)

❖ **Effet curatif de blessures :**

L'effet curatif de blessures de l'huile de feuille de *Laurus nobilis* a été examiné par **Khalil et al (2007)**. Une blessure profonde a été faite dans le secteur dorsal des souris *Mus musculus*.. Les blessures ont été traitées quatre fois avec la préparation d'huile avec 12 h d'intervalle pendant deux jours successifs. Après 16 jours, les blessures ont été visuellement observées, et le secteur de blessure a été mesuré.

Après le 16ème jour, les animaux ont été sacrifiés et l'histologie du secteur de blessure est examinée. L'huile de *Laurus nobilis* a montré une bonne activité curative de blessures. (**Yoshikawa et al., 2000**)

PARTIE 02 : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

Nos essais expérimentaux qui ont duré 5 mois (du mois de février au mois de juin 2019), ont été réalisés au niveau des structures suivantes :

- Centre de recherche physico-chimique CRAPC pour l'extraction des huiles essentielles.
- Laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques de la Faculté SNV, université Saad Dahleb de Blida1 ; pour l'étude pytochimique (screening) et l'activité antioxydant de l'HE et l'HY du laurier noble
- Laboratoires de microbiologie de SAIDAL GDC, pour déterminer l'activité antimicrobienne de l'HE et l'HY du laurier noble.
- Laboratoire de pharma-toxicologie SAIDAL CRD, pour déterminer l'activité anti-inflammatoire de l'HE et l'HY du laurier noble.

II.1. Matériels

II.1.1. Matériel biologique

II.1.1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est composé des feuilles de laurier noble. Les feuilles ont été récoltées durant le mois de janvier 2019 au niveau de trois régions d'Algérie. (Figure3).



Figure 3 : Les régions étudiées sur la carte géographique

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

- **La région d’Azeffoun** : ville côtière de la mer méditerranée, située à 70 km au nord-est de Tizi Ouzou et à 95 km à l’ouest de Béjaïa. (Figure4).
- **La région de Birkhadem** : commune de la wilaya d’Alger, située à environ à 12 km au sud du centre-ville d’Alger. (Figure 4).
- **La région d’Attatba** : Le territoire de la commune d’Attatba est situé au nord-est de la wilaya de Tipaza, à environ 25 km à l’est de Tipaza, 16 km au nord-ouest de Blida. (Figure 4).



a



b



c

Figure 4 : les différentes localités des plantes étudiées

a : Azeffoun; b : BirKhadem ; c : Attatba

Les caractéristiques de trois sites de récoltes sont montrés dans le tableau 3.

Tableau 3 : situation géographique des stations de récoltes.

Région	Altitude	Latitude	Longitude	Etage bioclimatique
Azeffoune	708 m	36° 53' 21.09" N	4° 25' 27.77" E	Humide
Birkhadem	186 m	36°42'54" N	3°02'32" E	Sub-humide
Attatba	677 m	36° 33' 30" N	2° 38' 19" E	Sub-humide

Les feuilles, fraîchement récoltes, (**2 kg pour chaque région**) sont nettoyées et laissées sécher à l'abri de la lumière, à une température ambiante. Le séchage a duré de 10 à 15 jours.

II.1.1.2. Matériel animal

Pour l'étude de l'effet anti-inflammatoire, 4 lots de 5 souris ont été utilisés. Ces derniers ont les caractéristiques suivantes :

Genre : *Mus*.

Espèce : *Mus musculus*.

Race : albinos.

Souche : NMRI (Naval Medical Research Institute, Bethesda, Maryland, USA).

Sexe : male

Poids : 25 g

II.1.1.3. Matériel bactériologique :

Les souches utilisées sont au nombre de cinq (5). Elles proviennent du laboratoire de microbiologie du SAIDAL GDC. Ce sont des souches microbiennes référencées ATCC. Ces souches ont été choisies pour leurs fréquences élevées dans les contaminations humaine et animal.

Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *Laurus nobilis* sont les suivants :

- trois souches bactériennes : *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
- une levure de références à savoir *Candida albicans* ATCC 10231
- une souche fongique utilisée appartenant aux genres de moisissures : *Asppergillus brasiliensis* ATCC 16404

II.1.2. Matériel non-biologique

• Milieux de cultures et produits actifs

Deux milieux de culture ont été utilisés :

- Muller –Hinton pour les bactéries ;
- Sabouraud pour les moisissures et levures

Les verreries et l'appareillage, les réactifs ainsi que le solvant utilisés au cours de la réalisation de ce travail sont mentionnées dans l'annexe 1

II.2. Méthodes d'étude

II.2.1. Détermination de la teneur en eau

Un échantillon frais des feuilles (**20g**), est pesé. Après séchage à l'étuve à 60°C pendant 24h, l'échantillon est pesé de nouveau pour déterminer la teneur en eau. (**Audigie et al., 1980**)

La teneur en eau est calculée selon la formule suivante :

$$T\% = [(poids F - poids S) / poids F] \times 100$$

F → Poids de l'échantillon « plante fraîche ».

S → Poids de l'échantillon « plante sèche ».

T% → La teneur en eau exprime en pourcentage.

II.2.2. Extraction des huiles essentielles

Afin d'étudier les activités biologiques, pharmacologiques et les caractéristiques physico-chimiques, il est nécessaire de récupérer une grande quantité d'HE. En vue d'obtenir la fraction volatile des plantes étudiées, nous avons utilisé le procédé d'hydrodistillation.

❖ Principe

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. Cette méthode peut facilement être reproduite en laboratoire et ne nécessite pas beaucoup de matériel. La partie de la plante contenant la molécule à extraire est placée dans un ballon avec de l'eau. En chauffant, l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatiques. En passant dans un réfrigérant, l'eau se condense. Elle est ensuite récupérée dans un erlenmeyer ou il est possible de distinguer deux phases bien distinctes : l'huile essentielle et au-dessous, l'eau aromatique (ou hydrolat) (Rivera, 2006)

❖ Mode opératoire :

L'hydrodistillation des feuilles de *Laurus nobilis* est réalisée à l'aide d'un dispositif de type clevenger. Le montage utilisé est présenté dans la figure 6 :

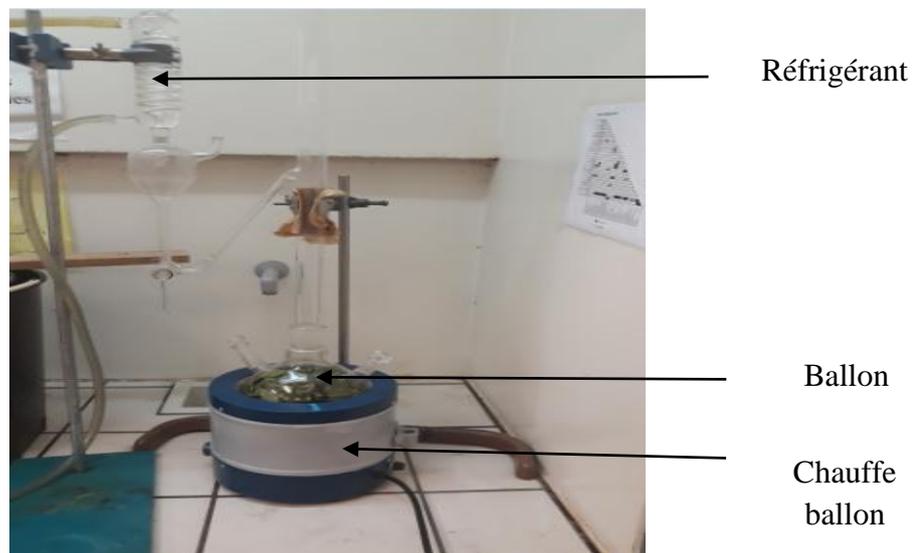


Figure 5 : Hydrodistillation de feuilles du *Laurus nobilis*
(Dispositif Clevenger)

Mettre 50 g des feuilles séchées dans un ballon rond de 1000 ml, et introduire dans le même ballon 700 ml d'eau distillée, l'ensemble est porté à ébullition pendant 2 heures. La vapeur d'eau traverse la matière végétale. Cette vapeur chargée d'huile essentielle, migre vers le réfrigérant, elle passe alors dans un alambic où circule l'eau froide en continu à l'aide d'un système de circuit fermé, la température se situe entre 12°C à 13°C. Ainsi, les vapeurs chargées d'huile essentielle, se condensent en liquide. Le distilla obtenu est transféré dans une ampoule à décanter et extraire l'huile essentielle à raison de NaCl et Diethyl éther, dans le but de chasser toute l'huile essentielle extraite. Agiter, dégazifier et laisser décanter le temps d'obtenir deux phases : la phase supérieure qui est la phase organique (Diethyl éther + huile essentielle) et la phase inférieure constituée d'eau (hydrolat). Récupérer l'huile essentielle et conserver là à une température de 4° C, à l'abri de la lumière dans des flacons en verre teintés pour éviter sa dégradation.

II.2.2.1. Détermination du rendement en huile essentielle

Le rendement en huiles essentielles (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle (MHE) obtenue après l'extraction et la masse de matière végétale traitée (MS) (Boutekedjiret et al., 2003)

Il est exprimé en pourcentage et donne par la relation suivante :

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

MHE : Masse d'huile essentielle récupérée(g) ;

Ms : Masse de la matière végétale sèche (g) ;

R : Rendement en huile essentielle (%).

II.2.2.2. Caractère physique (HE et HY)

Les différentes caractéristiques physiques (aspect, couleur et odeur) de l'huile essentielle et de l'eau aromatique ont été notées.

II.2.3. Tests du Screening phytochimique

C'est une technique qui permet de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence ou l'absence des substances chimiques. Ils sont réalisés soit sur la poudre de *Laurus nobilis*, soit sur un infusé.

❖ **Préparation de l'infusé**

A 10 g de poudre végétale, sont ajoutés 100 ml d'eau distillée bouillante, laissé infuser pendant 15 min avec agitation de temps en temps, après filtrer. (Bouyer, 1996)

❖ **Identification de quelques métabolites secondaires**

✓ **Les anthocyanes**

A 5 ml d'infusé, sont ajoutés quelques gouttes d'ammoniaque ½. L'apparition d'une couleur rouge, indique la présence des anthocyanes.

✓ **Les tanins**

A 5 ml d'infusé, sont ajoutés quelques gouttes d'une solution de FeCl₃ à 5% La réaction donne une coloration bleu noir en présence des tanins

• **Les tanins catéchiques**

15 ml d'infusé, sont additionnées à 7 ml de réactive de Stiasny (10 ml de formol a 40% et 5 ml d'HCL concentré).

La réaction donne une coloration rouge en présence des tanins catéchiques.

• **Les tanins galliques**

A 5 ml d'infusé, sont ajoutés 2g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl₃.

La réaction donne une coloration bleu foncée en la présence des tanins galliques.

✓ **Les flavonoïdes**

A 5 ml d'infusé, sont additionnées 5 ml d'HCL, un copeau de Mg et 1 ml d'alcool isoamylique.

La réaction donne une coloration rouge orangée en présence des flavonoïdes.

✓ **Les alcaloïdes**

Introduire 1 g de poudre végétale dans un tube à essai, ajouter 10 ml d'acide sulfurique (10%)

Agiter énergiquement pendant 2 mn et filtrer, ajouter 2 gouttes du réactif de Dragendorff.

Résultats : apparition d'un précipité rouge orangé.

✓ **Les glucosides**

A 2 g de poudre végétale, sont ajoutées quelques gouttes d'acide sulfurique.

La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides.

✓ **Les mucilages**

On introduit 1 ml de l'infusé dans un tube et on lui ajoute 5 ml d'éthanol absolu, l'obtention d'une précipitation floconneux indique la présence des mucilages.

L'ensemble des résultats obtenus seront évalué qualitativement selon l'échelle suivant :

- Réaction franchement positive : + + +
- Réaction moyennement positive : + +
- Réaction positive : +
- Réaction difficile à interpréter : ±
- Réaction négative : - . (Négué Diarra., 2003)

II.2.4. Etude de l'activité antimicrobienne de *Laurus nobilis* :

II.2.4.1. Évaluation par la méthode de l'aromatogramme :

❖ **Principe :**

La technique consiste à utiliser des disques de papier absorbants stériles (9 mm de diamètre) imprégnés des différents produits à tester. Les disques sont déposés à la surface de la gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. La diffusion des produits testés à partir du disque placé en surface sur la gélose détermine un gradient de concentration. Les micro-organismes croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration du produit tester suffisante pour inhiber leur croissance. Après incubation autour des disques, nous observons une zone circulaire claire indemne de colonies, c'est la zone d'inhibition. . Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante (Davis., 1994 ; Fauchère et Avril., 2002 ; Franchomme ., 1981). Cette méthode est tirée du principe du titrage des antibiotiques « Pharmacopée Européenne 2002 », et son application pour les huiles essentielles a été validée par le département de microbiologie du C.R.D Saidal. Elle a été aussi utilisée par plusieurs auteurs (Dean et Ritchie., 1987 ; Zaika., 1988 ; Pattnaik et al, 1995 ; Sivropoulou et al, 1996 ; Smith-Palmeret al, 1998 ; Lis-Balchin et al, 2000 ; Burt et Reinders., 2003 ; Okogun et al, 2003 ; Faleiro et al, 2005)

❖ **Protocole expérimental :**

1. Préparation de l'inoculum

Les suspensions bactériennes ont été effectuées en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques d'une culture jeune de 18 h pour les bactéries et 48 h pour les levures, les mettre ensuite dans 9 ml d'eau physiologique stérile, puis agiter au vortex pendant quelques secondes.

2. Préparation des milieux de culture

Verser aseptiquement les milieux gélosés déjà liquéfiée dans un bain Marie (Muller-Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les levures) sur des boites de Pétri à raison de 10 ml par boîte. Laisser solidifier sur la paillasse.

3. Ensemencement

Tremper un écouvillon stérile dans la suspension microbienne, l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube puis le frotter sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées. Cette dernière opération a été répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois.

4. Dépôt des disques

Les disques en cellulose stérile, imbibées d'une quantité de produit à tester, sont déposés sur la surface de la gélose, puis laisser diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes. L'incubation s'effectue à 37°C pendant 24h pour les bactéries et 25°C pendant 48h pour les levures.

5. Lecture

La mesure du diamètre des zones claires autour des disques (zone d'inhibition) se fait à l'aide d'un pied à coulisse

II.2.4.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

❖ **Principe**

Cette méthode a comme principe d'effectuer des dilutions de l'huile essentielle dans le milieu gélose solide MH pour les bactéries et SAB pour les levures, puis inoculer ce milieu avec les souches testées. Ces différentes dilutions nous permettent de définir la plus faible concentration qui inhibera la croissance microbienne. (**Smânia et al.**)

❖ Protocole expérimental

1. Préparation de l'inoculum :

A partir de jeunes cultures, nous réalisons des suspensions de 10^7 – 10^8 UFC/ml Selon l'AFNOR de la série (NF T 72_152) pour chaque souche testée. Réaliser une série de dilution allant de 10^{-1} à 10^{-9} .

2. Préparation des dilutions

Diluer les huiles essentielles par Tween80 a des concentrations de : 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, et agiter à l'aide d'un vortex.

3. Réalisation de l'aromatogramme

- Verser 10ml de l'un des milieux de culture dans les boites de pétri et laisser sécher avant l'emploi
- A l'aide d'un écouvillon,ensemencer les suspensions microbiennes étudiées dans les milieux appropriés.
- Imprégner les disques de papier par l'huile essentielle teste, à différentes concentration (30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%), et déposer les a la surface de la gélose.
- Mettre les boites à l'étuve :
 - ❖ Pour les bactéries, nous les mettons à l'étuve 35°C pendant 18 à 24h.
 - ❖ Pour moisissure et levure, nous les mettons à l'étuve 25°C pendant 48h

Après la période d'incubation, mesure le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse

II.2.5. Étude de l'activité antioxydante :

❖ Principe

La mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits de *Laurus nobilis* testé a été réalisée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

Le DPPH (2,2 -diphényl -1- picrylhydrazyl) est un radical libre stable possédant un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Cette délocalisation empêche la polymérisation du composé, qui reste sous forme monomère relativement stable à température ambiante. Ainsi, cet état induit l'apparition d'une couleur violet foncée bien caractéristique de la solution DPPH. Cette couleur disparaît en présence d'antioxydant lorsque le DPPH est réduit, passant au jaune pâle du groupe picryl, et l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno ., 2002). Le

suivi de la délocalisation est réalisé par spectrophotométrie à 517 nm (Gulcin et al., 2003 ; Molyneux, 2004 ; Roginsky et Lissi ., 2005).

❖ Mode opératoire

Le test utilisant le DPPH a été réalisé en suivant la méthode décrite par **Burits et Bucar (2000)**, où 50µl de chacune des solutions méthanoliques de l'huile essentielle testées à différentes concentrations (200, 400, 600, 800 et 1000 µg/ml) sont mélangées avec 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004 %). Après une période d'incubation de 30 minutes à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm. L'inhibition du radical libre DPPH par la vitamine C a été également analysée à la même concentration pour comparaison. On détermine la cinétique de la réaction et les paramètres de calcul de l'activité antioxydant pour la vitamine C et pour l'huile essentielle (Pourcentage d'inhibition, l'index IC50).

❖ Détermination du pourcentage d'inhibition et l'IC50 :

Selon **Sharififar et al.** L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) est calculée de la manière suivante :

$$I\% = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{blanc}}}$$

Avec :

A blanc : Absorbance du blanc (metanol)

A échantillon : Absorbance du composé d'essai.

La cinétique des réactions de l'huile essentielle et de la vitamine C avec le DPPH• a été inscrite à chaque concentration examinée. Les concentrations en huile essentielle et en vitamine C, en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH• initiale de 50 %.

II.2.6. Étude de l'activité anti-inflammatoire

La méthode utilisée pour déterminer l'effet anti-inflammatoire de notre huile essentielle et l'hydrolat provenant de la région d'Attatba est celle de **Winter et al** (1963) et **Gerhard** (2008).

❖ Principe

Le principe de ce test consiste à évaluer l'effet anti-inflammatoire de notre huile essentielle et de l'hydrolat, chez les souris, en provoquant l'inflammation sur l'œdème des pattes gauches par une injection de carraghénine.

L'injection de la carraghénine sous l'aponévrose plantaire des pattes gauches des souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par notre l'huile essentielle et l'hydrolat. Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration du produit anti-inflammatoire à tester et du produit de référence correspondant.

❖ Choix de dose

Nous avons utilisé une dose de 5% pour ce test. Cette dose a été choisie car elle représente la meilleure concentration pour le test anti-inflammatoire de l'huile essentielle du laurier (**Rebzani et Hanniche, 2013**). La préparation a été réalisée en diluant l'huile essentielle dans l'eau physiologique. Pour une meilleure dissolution de l'huile essentielle ajouter quelque goutte du tween 80 à 1%

❖ Mode opératoire

- Constituer 4 lots de 5 souris chacun :
 - □ Un lot témoin, (T)
 - □ Un lot essai 1, (HE)
 - □ Un lot essai 2, (HY)
 - □ Un lot référence (Ibuprofène), (Réf : 200 mg/kg).
- Les souris ont été mises à jeun 18h avant le test

✓ Au temps T₀ :

Administrer aux quatre lots les suspensions suivantes,

- Lot (T) : chaque souris reçoit 0.5 ml d'eau distillé ;
- Lot (E₁) : chaque souris reçoit 0.5 ml d'HE de *laurus nobilis* à dose de 5%

- Lot (E2) : chaque souris reçoit 0.5 ml d'HY1 ;
- Un lot (Réf) : chaque souris reçoit 0.5 ml d'Ibuprofène à 200 mg/kg

✓ **Au temps T = 30 minutes :**

Tous les animaux reçoivent une injection de 0.1 ml de carraghénine au niveau de l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche sous un volume de 0.025 ml pour chaque souris.

✓ **Au temps = 4 heures :**

Toutes les souris sont sacrifiées par dislocation cervicale. Les pattes postérieures gauches et droites sont coupées à la hauteur de l'articulation, et sont pesées sur une balance analytique.

❖ **Lecture de résultats**

- ✓ Calcul des moyennes arithmétiques des poids de la patte gauche et la patte droite pour chaque lot.
- ✓ Calcul du pourcentage d'augmentation de l'œdème :
Il permet de mettre en évidence la formation de l'œdème, il est défini par :

$$\% \text{ œdème} = (P_1 - P_0) / P_0 \cdot 100$$

P₀ : poids de la patte postérieure droite ;

P₁ : poids de la patte postérieure gauche.

- ✓ Calcul du pourcentage d'inhibition

Il permet la mise en évidence de l'activité anti-inflammatoire :

$$\% \text{ réduction} = (X \text{ témoin} - X \text{ essai}) / X \text{ témoin} \cdot 100$$

X témoins : moyenne de l'œdème pour le témoin ;

X essais : moyenne de l'œdème pour l'essai.

CHAPITRE III : Résultats Et Discussion

III.1. Détermination de la teneur en eau

Les résultats de la teneur en eau des feuilles de laurier noble sont illustrés par les figures suivantes :

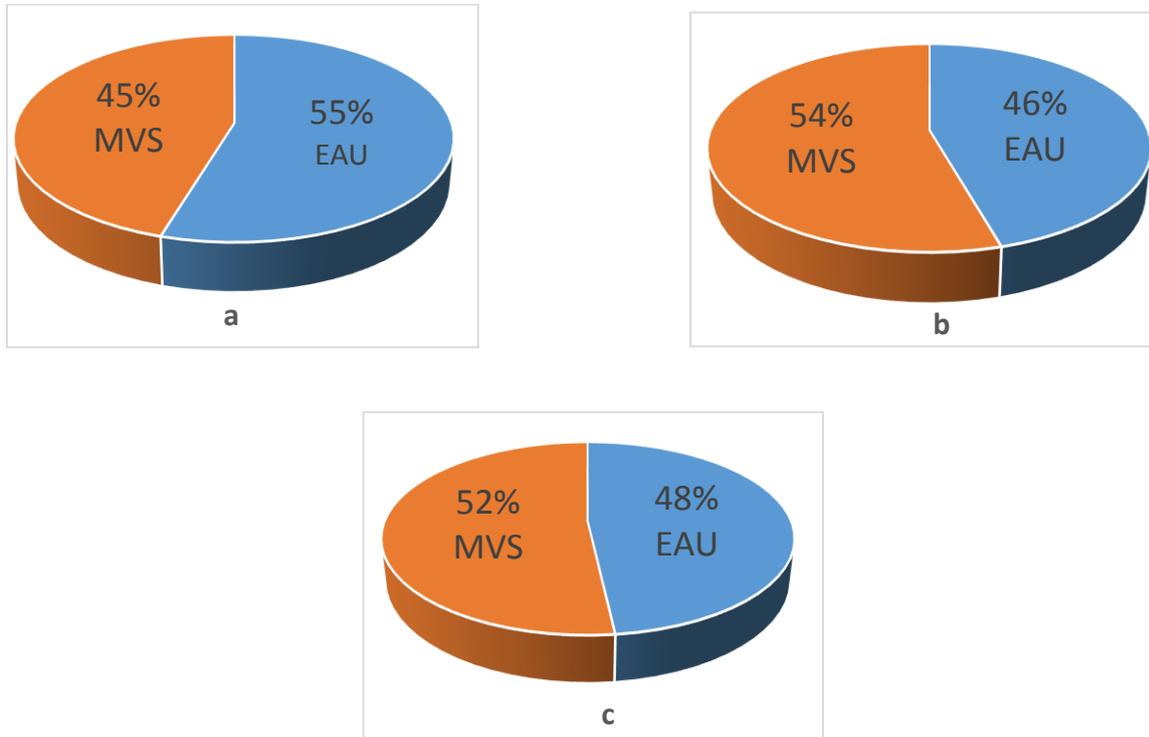


Figure 6 : Teneur en eau des feuilles de laurier prélevées dans les différentes localités

a: Bir khadem, b: Azeffoun, c: Attatba

Les résultats obtenus ont montré que les feuilles de laurier noble provenant de trois régions contiennent 55% d'eau pour la région de Bir khadem, 46% d'eau pour la région d'Azeffoun, et 48% d'eau pour la région d'Attatba.

La teneur en eau a été calculée dans le but d'une appréciation des rendements d'HE dans la matière fraîche.

Selon **Hamoudi et al., 2012**, la différence marquée entre les teneurs en eau peut être expliquée par l'âge de la plante, la saison et la région de récolte. Les plantes cultivées dans les régions tempérées comme le sud Algérien ont une teneur en eau plus faible par rapport aux plantes cultivées dans le nord.

III.2. Rendement en huile essentielle

Les résultats du rendement en huiles essentielles des échantillons prélevés dans les trois régions sont montrés dans la figure suivante :

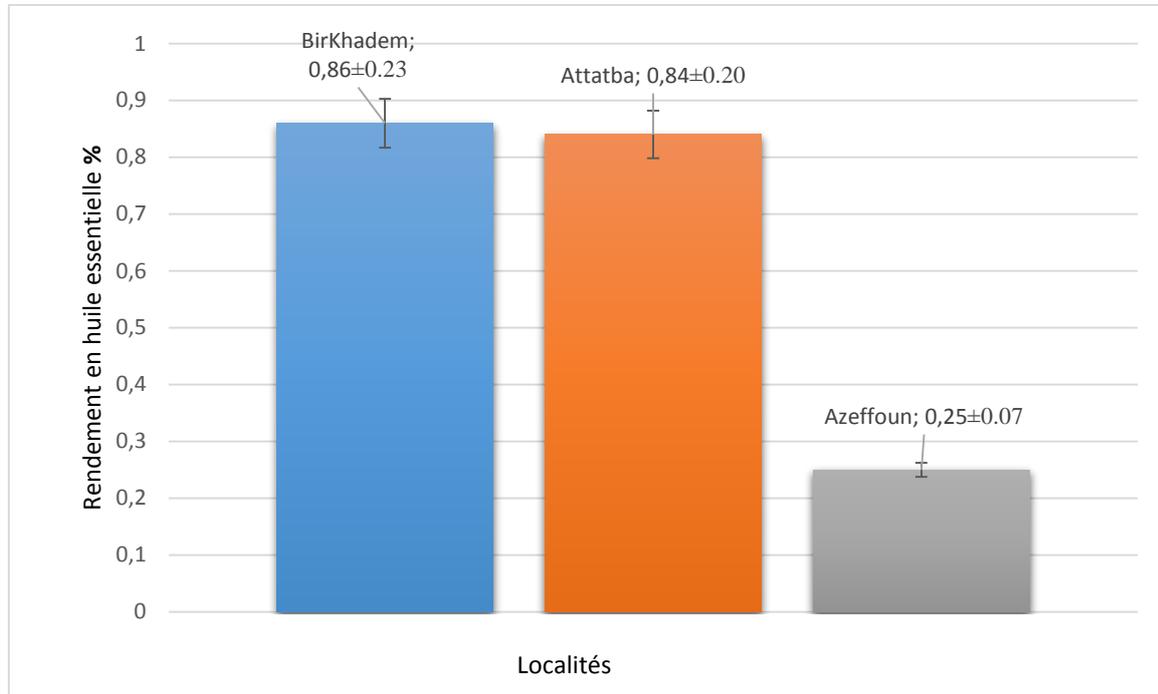


Figure 7 : Rendement en huile essentielles

D'après les résultats montrés dans la figure 8, nous notons que le rendement varie selon la localité. Les feuilles de laurier noble de la région de BirKhadem donnent un rendement plus élevé ($0.86 \pm 0.23\%$), suivie de la région d'Attatba avec un rendement de ($0.84 \pm 0.20\%$). Le plus faible rendement a été obtenu par les plantes d'Azeffoun ($0.25 \pm 0.07\%$).

Ces rendements, notamment pour les plants des deux régions Attatba et BirKhadem sont plus élevés par rapport à ceux obtenus par **Marzouki et al (2009)**, Ces derniers auteurs, en travaillant sur les huiles essentielles (obtenus par hydrodistillation) des feuilles du *laurus nobilis* d'Algérie ont obtenu un pourcentage de $0.5 \pm 0.2 \%$.

Rebzani (2014) en étudiant les activités biologiques des H.E de laurier noble récoltée à Chréa en janvier 2013 a obtenu un rendement de 1.5%. Ce taux est supérieur par rapport au rendement de nos échantillons. Cela peut être expliqué par la différence d'altitude.

Nos résultats en rendement en HE pour les plants des deux régions : Attatba et BirKhadem, sont relativement comparable à ceux obtenus pour la même plante originaire de Turquie (0,86%) (**Baghdadi et al., 1992**). Ils sont plus élevés que celui qui a été noté chez la plante originaire d'Egypte (0,68%).

Nous distinguons, d'autre part, que le rendement en huile essentielle des plants de la région d'Azeffoun ($0.25 \pm 0.07\%$) est nettement inférieur par rapport à l'ensemble. Ce faible taux peut-être due à la forte humidité qui caractérise La région. Il est connu que les rendements maximaux sont obtenus par temps sec. (**Baghdadi et al., 1992**)

Le rendement en HE de feuilles de *Laurus nobilis* peut varier d'une région à l'autre selon les facteurs pédoclimatiques. Une étude a rapporté des taux de 0,63 ; 0,65 et 0,79% en HE extraite des plantes cultivées dans 3 origines différentes respectivement Tizi-Ouzou, M'sila, Larba (**Guedouari., 2012**). Ainsi, certaines études confirment que les fluctuations observées dans le rendement en HE peuvent être attribuées non seulement à l'origine de la plante mais également à des facteurs biotiques et abiotiques (**Lis-balchin., 2002 ; Saxenaa et al., 2008 ; Rodolfo et al., 2006**).

Selon **Vekiari et al (2002)**, cette différence en rendement peut être due à deux facteurs majeurs : la sécrétion des enzymes de la plante, et son environnement (le sol, les cultures pratiques, l'altitude et le climat).

Ces différences sont justifiées selon **Kelen et Tepe (2008)** par la période de récolte, le climat, la zone géographique, l'organe de la plante utilisé, la période de séchage, l'âge du matériel végétal et la technique d'extraction

Selon **Biauchini et Corbetta (1975)** l'espèce de *laurus nobilis L.* s'adapte bien au climat méditerranéen, et elle peut envahir tout le bassin méditerranéen qui se caractérise par les précipitations concentrées pendant la période hivernale et c'est le cas pour le sahel algérois.

Cela peut être dû aux différents facteurs qui rentrent en jeu .Parmi eux on cite la nature du sol, la période de la récolte, la durée de séchage, le mode d'extraction.

III.3. Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques d'HE et d'HY des plants de trois régions sont résumées dans les tableaux (4et5) et dans la figure 9

Tableau 4 : propriétés organoleptique d'huile essentielle de trois régions d'Algérie

Régions caractéristique	Attatba	Azeffoun	Birkhadem
Aspect	liquide mobile limpide	liquide mobile limpide	liquide mobile limpide
couleur	jaune pâle	jaune très pâle	jaune
odeur	Très forte, aromatique, épicées	Forte, aromatique, épicées	Très forte, aromatique, épicées

Tableau 5 : propriétés organoleptique d'hydrolats de trois régions d'Algérie

Régions caractéristiques	Attatba	Azeffoun	Birkhadem
Aspect	Liquide limpide		
Couleur	incolore à jaune pâle		
Odeur	Fraîche, aromatique		

Les paramètres organoleptiques d'HE et d'HY de *Laurus nobilis* n'ont pas fait l'objet de normalisation par AFNOR.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Rebzani (2014)** qui a travaillé sur le laurier noble de la région de Chrea récolté au mois de mars 2014. Selon les résultats obtenus par cet auteur, l'HE de l'espèce présente un aspect liquide limpide mobile, une couleur jaune et une odeur caractéristique. Il est de même en accord avec les résultats trouvés par **Ould Yerou et al (2016)** exception faite pour la couleur (incolore).

Selon **Bardeau (2009)**, l'essence de feuilles de laurier est une liquide pale, d'une odeur agréable semblable à celle du cajepout, mais plus douceâtre et de saveur un peu acre.



a

b

c

Figure 8 : les huiles essentielles des plantes des différentes régions étudiées

a: Bir khadem, b: Azeffoun, c: Attatba

III.4. Screening phytochimique

Les résultats de la composition phytochimique de la poudre, l'infusé et hydrolat des feuilles de *Laurus nobilis* par screening chimique sont repris dans le tableau :

Tableau 6 : Le criblage phytochimique de *Laurus nobilis*

Groupes chimiques	Résultats des réactions en tubes	
	l'extrait aqueux	hydrolat
Tanins catéchétiques	+	-
Tanins galliques	+++	+
Tanins	+++	-
Flavonoïdes	+++	+
Anthocyanes	+	-
Alcaloïdes	-	-
Mucilages	+	-
glucides	+	-

+++ : forte présence ; + : faible présence ; - : absence

D'après les résultats montres dans le tableau nous distinguons que les essais phytochimiques effectués sur la poudre et l'infusé des feuilles de *Laurus nobilis* ont révélé la présence des flavonoïdes et des tanins galliques autant que composés majoritaires, nous notons cependant l'absence des alcaloïdes. Les tanins catéchétiques, les anthocyanes, les glucides sont aussi présents mais avec des teneurs plus faibles.

Les hydrolats de *Laurus nobilis* sont caractérisés par la présence, avec une teneur plus faible, des tanins galliques et des flavonoïdes et par l'absence des autres composés recherchés.

Les résultats obtenus à l'issu du criblage phytochimique corroborent avec ceux de certains auteurs (**Thurzova et al., 1981 ; Conforti et al., 2006 ; Christel et Fourast., 1996**)

Cette étude a révélé la richesse des feuilles de *Laurus nobilis* en composants actifs reconnus pour leurs propriétés biologiques et thérapeutiques intéressantes.

III.5. Etude de l'activité antimicrobienne

III.5.1. Évaluation par la méthode de l'aromatogramme

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE et de l'HY de *Laurus nobilis* provenant de trois régions sont consignés dans le tableau 7 et dans les figures (10, 11, 12,13)

Tableau 7 : Les diamètres des zones d'inhibition des souches utilisées

Extrait testés Germes testés	HE			HY		
	Birkhadem	Azeffoun	Attatba	Birkhadem	Azeffoun	Attatba
<i>Staphylococcus aureus</i>	32±2.82mm	56±3.29mm	65±0mm	<9	<9	<9
<i>Bacillus subtilis</i>	38±6.54mm	51±10.2mm	53±2.94mm	<9	<9	<9
<i>Escherichia coli</i>	14±1.69mm	13±1.69mm	17±2.94mm	<9	<9	<9
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	32±0mm	15±3.74mm	<9	12±0.81mm	<9	<9
<i>Candida albicans</i>	27±0mm	36±11.14mm	<9	<9	<9	<9

● : Souche sensible ou très sensible

● : Souche peu sensible

Nous rappelons que la sensibilité aux différents extraits a été évaluée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit : non sensible pour le diamètre moins de 9 mm, légèrement sensible pour un diamètre entre 9-12 mm, modérément sensible pour un diamètre entre 13-18 mm et extrêmement sensible pour le diamètre supérieur à 18 mm (**Junior et Zani, 2000**).

Selon les résultats montrés dans le tableau 7 et dans la figure (10, 11, 12,13), nous remarquons que les huiles essentielles de *Laurus nobilis* des trois régions possèdent une activité antimicrobienne plus ou moins importante sur toutes les souches testées sauf sur les souches fongique vis-à-vis HE des plants de Attatba.

E. coli est la souche la moins sensible à l'HE des plants des trois régions avec des diamètres d'inhibition variant entre 13 ± 1.69 mm et 17 ± 2.94 mm.

Bacillus subtilis est la souche la plus sensible à l'HE des plants des trois régions montrant de diamètre d'inhibition de 38 ± 6.54 mm pour les plantes de Birkhadem, de diamètre d'nhibition de 51 ± 10.2 mm pour les plantes Azeffoun et de diamètre d'nhibition de 53 ± 2.94 mm pour les plantes d'Attatba.

Staphylococcus aureus montre aussi une forte sensibilité à HE des plants des trois régions, avec des diamètres d'nhibition de 32 ± 2.82 mm pour les plantes Birkhadem et de diamètre d'nhibition de 56 ± 3.29 mm pour les plantes d'Azeffoun, de diamètre d'inhibition de 65 ± 0 mm pour les plantes d'Attatba.

L'huile essentielle de *Laurus nobilis* a exercé une activité antifongique modérée vis-à-vis d'*Aspergillus brasiliensis* et *Candida albicans* avec des diamètres d'inhibition variant entre 15 ± 3.74 mm et 36 ± 11.14 mm.

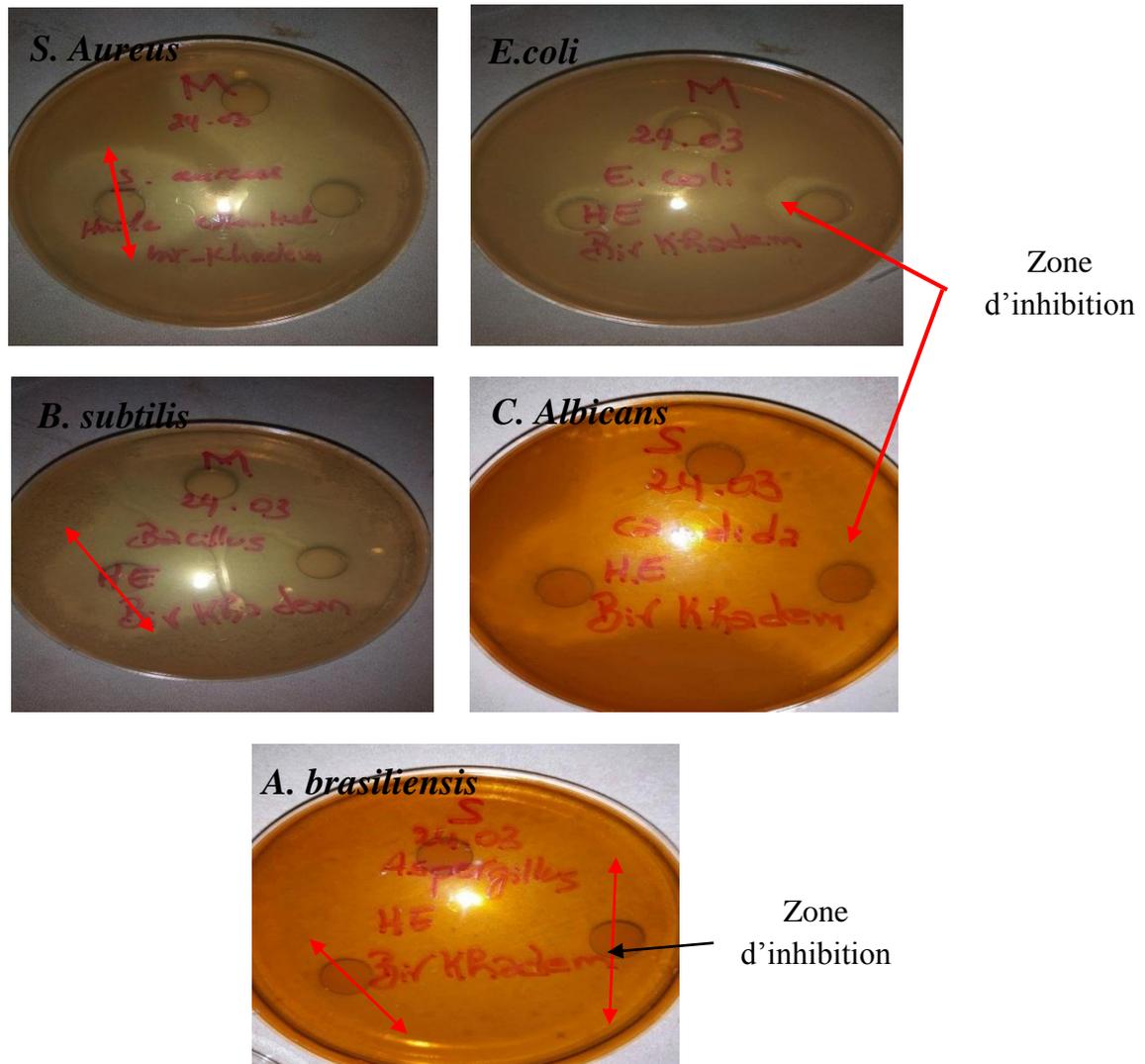
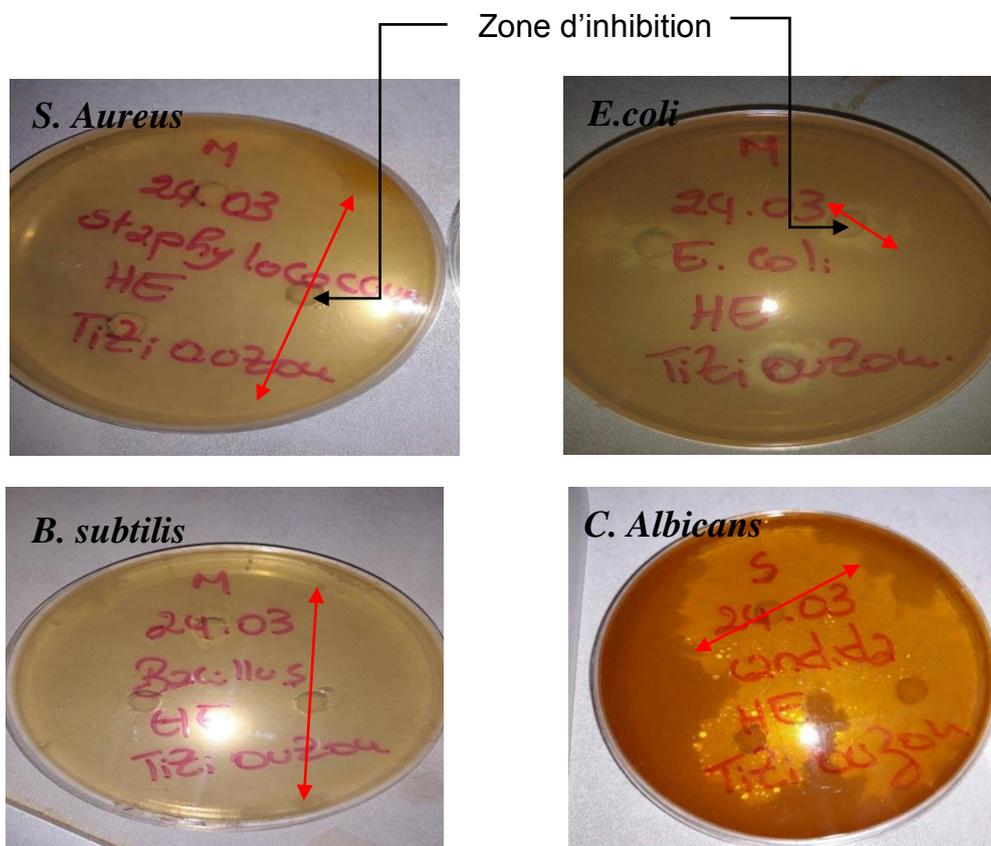


Figure 9 : Action des huiles essentielles de *laurus nobilis* récolté en 2019 dans la région de BirKhadem sur les souches microbiennes





Figure 10 : Action des huiles essentielles de *laurus nobilis* récolté en 2019 dans la région d'Attatba sur les souches microbiennes.



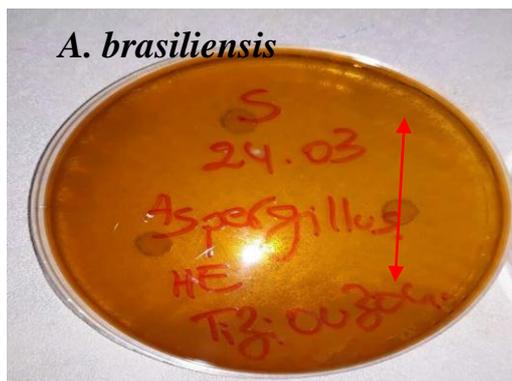


Figure 11 : Action des huiles essentielles de *laurus nobilis* récolté en 2019 dans la région d’Azeffoun sur les souches microbiennes.

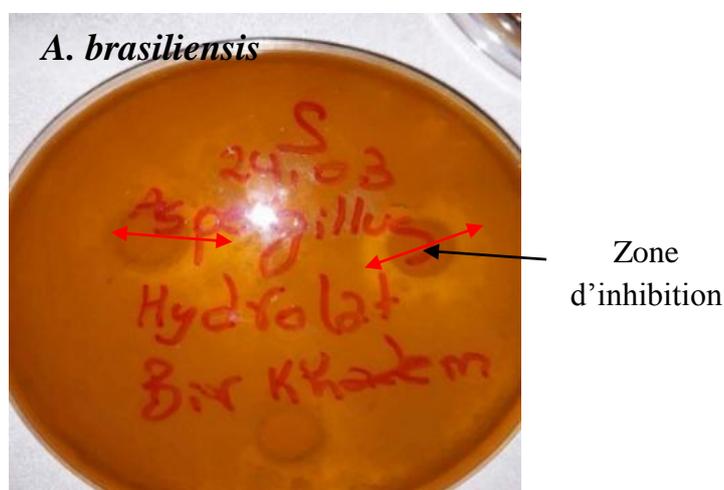


Figure 12 : Action de l’hydrolat de *laurus nobilis* récolté en 2019 dans la région de BirKhadem sur la souche *Aspergillus brasiliensis*.

III.5.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Vu les résultats obtenus montrant des zones d’inhibition importantes, nous avons pensé à l’évaluation de la CMI dans le but d’utiliser une huile essentielle diluée pour éviter sa toxicité, si elle existe, d’une part et pour un gain économique d’autre part. Les résultats obtenus sont montrés dans les tableaux suivants :

❖ **Activité antibactérienne :**

Tableau 8 : résultats du test antibactérien des différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de laurier noble.

		Diamètres des zones d'inhibition en (mm)								
		Bactérie à gram -			Bactérie à gram +					
		E. coli			B. Subtilis			Staphylococcus.A		
Régions HE (%)	Bir	Aze	At	Bir	Aze	At	Bir	Aze	At	
100%	14	13	17	38	51	53	32	56	65	
90%	9	9	10	36	34	49	19	20	37	
80%	<9	<9	9	10	20	33	14	<9	41	
70%	<9	<9	<9	11	19	<9	10	<9	34	
60%	<9	<9	<9	13	14	<9	9	<9	<9	
50%	<9	<9	<9	<9	11	<9	<9	<9	<9	
40%	<9	<9	<9	<9	<9	<9	<9	<9	<9	
30%	<9	<9	<9	<9	<9	<9	<9	<9	<9	
20%	<9	<9	<9	<9	<9	<9	<9	<9	<9	

Non sensible ≤ 9 mm, 9 \geq légèrement sensible ≥ 12 mm, 13 \geq modérément sensible ≥ 18 mm et extrêmement sensible, ≥ 18 mm). (Junior et Zanil, 2000). **Bir:** BirKhadem; **Aze:** Azeffoun; **At:** Attatba

● : Souche sensible ou très sensible

● : Souche peu sensible

D'après le tableau 8, L'HE de *Laurus nobilis* montre une activité antibactérienne sur toutes les souches testées en présentant des diamètres d'inhibition variant de 65-6mm

L'HE des plantes prélevée à Azeffoun est extrêmement actif sur les bactéries à gram(+) (*Bacillus subtilis*, et *Staphylococcus aureus*) avec des diamètres d'inhibitions variants de 11 à 20 mm pour la concentration minimale de 40% et 80% respectivement. Au contraire, elle est légèrement active vis-à-vis *E. coli* (diamètre d'inhibition ≤ 10 mm pour une concentration minimale de 90%).

L'HE de Birkhadem est extrêmement actif sur *Bacillus subtilis* avec un diamètre d'inhibition de 13 mm pour la concentration minimale de 50%, suivi par *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition ≤ 10 mm pour la concentration minimale de 60% et légèrement active

vis-à-vis la souche *E. coli* avec un diamètre d'inhibition ≤ 10 mm pour la concentration minimale de 90%.

L'HE d'Attatba est extrêmement actif sur *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition de 34 mm pour la concentration minimale de 60% après *Bacillus subtilis* avec un diamètre d'inhibition 33 mm pour la concentration minimale de 70% et légèrement active vis-à-vis *E. coli* avec un diamètre d'inhibition ≤ 10 mm pour la concentration minimale de 80%

❖ **Activité antifongique**

Tableau 9 : résultats du test antifongique des différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de laurier noble

Régions HE (%)	Diamètres des zones d'inhibition en mm					
	Candida albicans			Aspergillus brasiliensis		
	Birkhadem	Azeffoun	Attatba	Birkhadem	Azeffoun	Attatba
100%	27	36	-	32	15	<9
90%	19	11	23	26	11	16
80%	9	16	27	9	<9	16
70%	9	9	32	9	<9	14
60%	9	14	24	<9	<9	18
50%	<9	9	9	<9	<9	12
40%	<9	<9	10	<9	<9	10
30%	<9	<9	9	<9	<9	<9
20%	<9	<9	<9	<9	<9	<9

Non sensible ≤ 9 mm, 9 \geq légèrement sensible ≥ 12 mm, 13 \geq modérément sensible ≥ 18 mm et extrêmement sensible, ≥ 18 mm). (Junior et Zani, 2000)

● : Souche sensible ou très sensible

● : Souche peu sensible

Selon les résultats obtenus. L'huile essentielle de laurier noble présente une bonne activité inhibitrice sur la croissance des deux souches *C.albicans* et *Aspergillus*.

Candida albicans est considéré comme un germe résistant à partir d'une concentration minimale de 60% pour l'huile essentielle des plantes de la région de Birkhadem, et à partir de la concentration minimale de 50% pour l'HE des plantes de la région d'Azeffoun, et 30% pour l'HE des plantes de la région d'Attatba. Avec des diamètres d'inhibition ≤ 10 mm.

Aspergillus brasiliensis est considéré comme un germe sensible à partir d'une concentration de 70% avec un diamètre d'inhibition ≤ 9 mm pour l'huile essentielle des plantes de la région de

Birkhadem, et à partir de 30% pour l'HE d'Attatba avec un diamètre d'inhibition ≤ 10 mm. Concernant l'HE des plants récoltés à Azeffoun, nous notons une résistance de cette souche à la concentration 80% ce qui explique que l'huile de ces échantillons ne prends pas d'activité à l'état pure, présente une activité uniquement à l'état dilué.

L'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des plants des trois régions a montré que les trois souches bactériennes testées : *E. coli*, *B. subtilis*, *Staphylococcus* sont sensibles à notre huile essentielle. Ce résultat est en concordance avec celui trouvé par **(Maccioni et al., 2010)** qui, en utilisant la même technique (diffusion sur gélose), ont montré que l'huile essentielle de laurier noble récolté à chrea et cherchel inhibe la germination de ces trois souches (*E. coli*, *B. subtilis*, *Staphylococcus*). **Elharas et al (2013)** ont noté un diamètre d'inhibition plus faible (2.5mm) pour *Escherichia coli*.

L'huile essentielle de *L. nobilis* d'une autre région de l'Est algérien, plus précisément de Bejaia a également été étudiée pour son action sur les souches bactériennes : *S.aureus* et *E. coli*, **(Kheyer et al.,2014)**. Les résultats obtenus ont montré une efficacité sur la totalité des micro-organismes testés, notant des diamètres d'inhibitions nettement supérieurs par rapport à nos résultats, soit 29.5 mm pour *S. aureus* et inférieur à 29.5mm pour *E. coli*

Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram(+) par rapport aux Gram(-). Ceci peut s'attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries Gram(-) et Gram(+) **(Inouye, et al., 2001 ; Lopez et al., 2005 ; Bozin., 2006 ; Billerbeck., 2002 ; Sivropoulou., 1995 cités par Miliani, 2012)**.

Selon **Ali-shtayeh et al (1998)**. La paroi cellulaire des bactéries Gram (+) est constituée par une seule couche alors que la paroi cellulaire des Gram(-) a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe. Les bactéries Gram (+) sont plus rapidement inhibées que les bactéries Gram(-). Chez les bactérie gram (-) la membrane externe constitue une barrière de perméabilité efficace ; riche en lipopolysaccharide dont les charges négatives de surface empêchent la diffusion des molécules hydrophobes (**Nikaido et al., 2003**).

Le pouvoir antifongique d'huile essentielle du *Laurus nobilis L* pourrait être attribué à la présence de composants antifongique classé dans la liste des constituants à l'activité antifongique de **(Duke., 2009)** tels que : le myristicine, le curcumène, le pinène, le terpinène à différentes proportion.

L'activité antifongique de l'huile essentielle, peut être expliquée par l'effet synergique entre les différents composés d'huile essentielle. En effet, les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antifongique de cette huile essentielle **(Giordani et al., 2008)**.

L'action antifongique d'huile essentielle de *Laurus nobilis* vis-à-vis *Candida albicans* est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure (**Cox et al., 2000**)

Concernant les tests antimicrobiens menés sur l'hydrolat, les résultats obtenus se sont révélés négatifs exception faite pour la souche *Aspergillus brasiliensis* qui a montré une légère sensibilité vis-à-vis l'HE des plants de la région Birkhadem avec un diamètre d'inhibition de 12mm ; de ce fait nous pouvons dire que l'hydrolat n'exerce aucun effet antimicrobien.

L'évaluation de l'effet antimicrobien de l'hydrolat de *Laurus nobilis* a permis d'affirmer les résultats obtenus par **Sagduc et Ozcan (2003)**, où l'hydrolat s'est avéré inefficace vis à vis les microorganismes suivants : *B.subtilis*, *E.coli*, *Staphylococcus aureus*.

III.6. Activité antioxydant de l'huile essentielle et de l'hydrolat :

Les résultats de l'activité antioxydant de l'huile essentielle et de l'hydrolat du *Laurus nobilis* sont donnés dans les figures (14, 15, 16,17) :

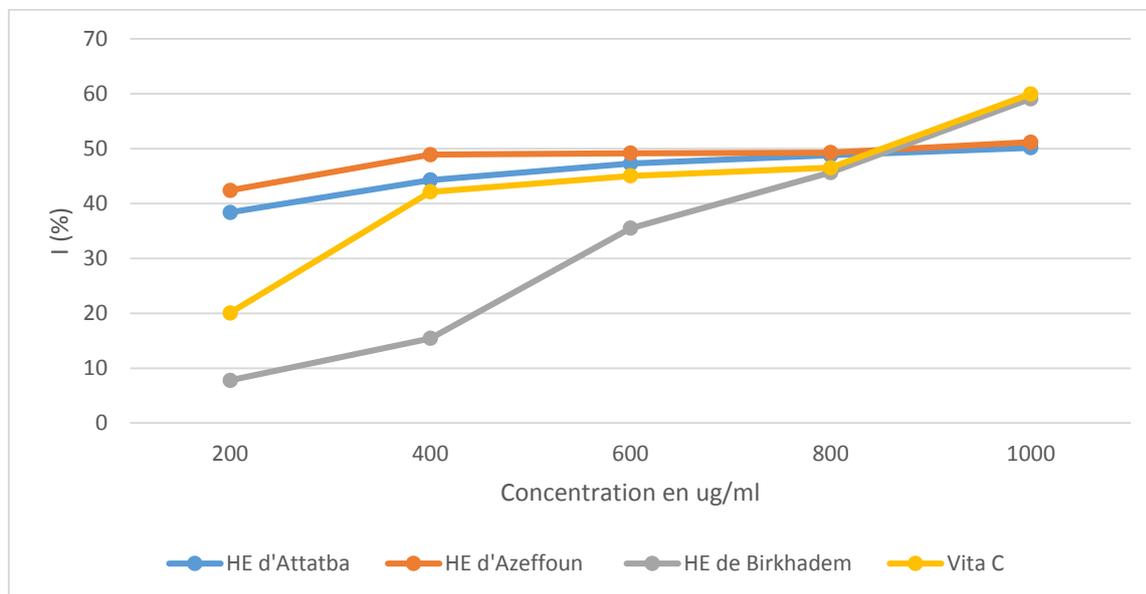


Figure 13 : Test antioxydant de l'HE, Vita C des plantes des trois régions (Attatba, Azeffoun, Birkhadem)

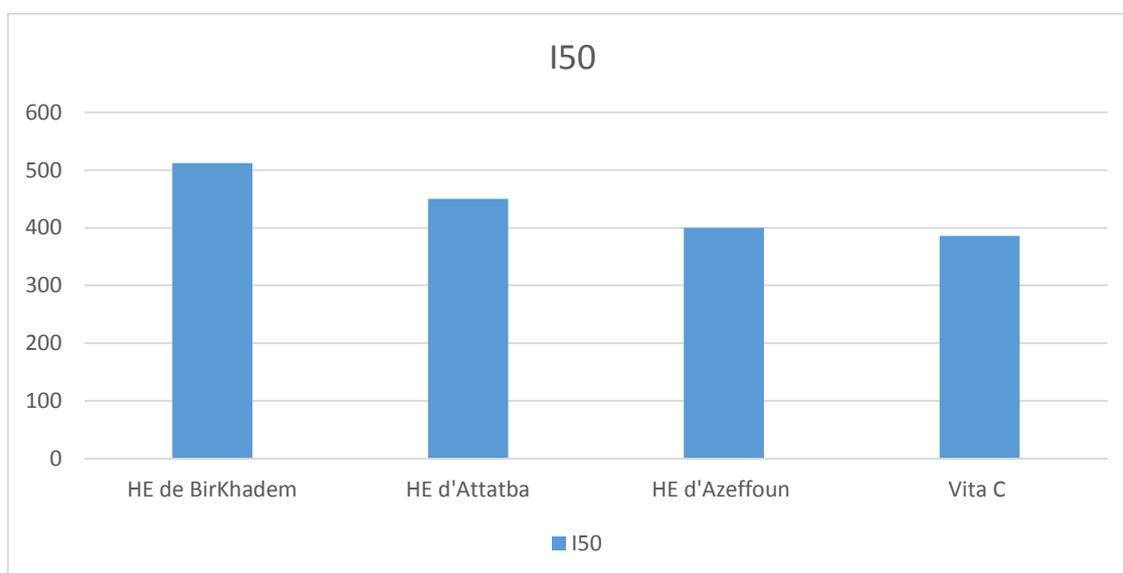


Figure 14 : Test antioxydant de l'HE

La figure illustre l'efficacité des extraits volatils et des antioxydants de références à piéger le radical DPPH, traduite par le taux d'inhibition en fonction des différentes concentrations.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

L'huile essentielle de *laurus nobilis* pouvait ramener le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) au diphenyl-picrylhydrazine jaune-coloré avec un IC₅₀ de 400 µg/ml (HE d'Azeffoun), un IC₅₀ de 449.80 µg/ml (HE d'Attatba), et un IC₅₀ de 511.87 µg/ml (HE de BirKhadem), montrant une activité antioxydante inférieure à celle de la vitamine C. Il semble d'après ces résultats que la vitamine C est l'antioxydant le plus efficace avec un IC₅₀ de 386.06 µg/ml par rapport aux huiles essentielles étudiées.

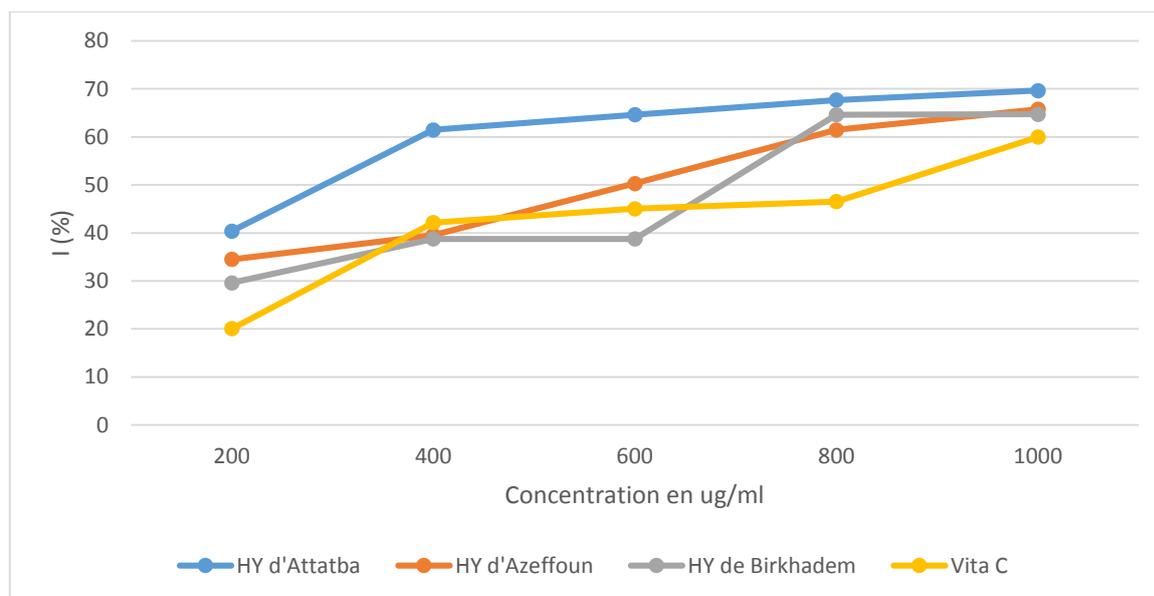


Figure 15 : Test antioxydant de l'HY, Vita C des plantes de trois régions (Attatba, Azeffoun, Birkhadem)

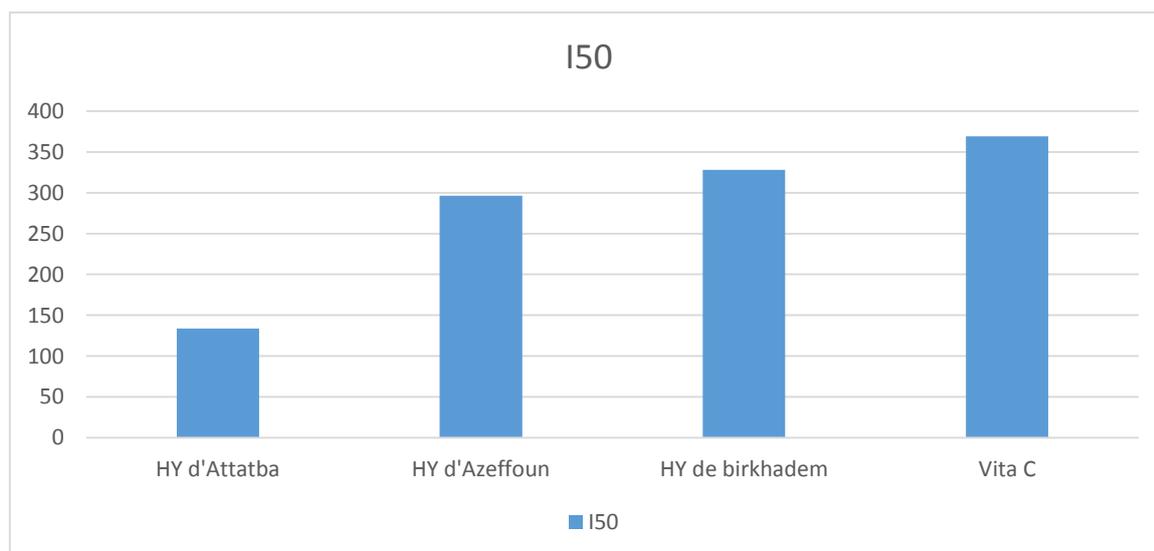


Figure 16 : Test antioxydant de l'HY

Les résultats obtenus montrent que les HY de *Laurus nobilis* des deux régions (Azeffoun et Attatba) présentent des activités antioxydants très importantes, avec des IC50 de 296.32 µg/ml et 133.59 µg/ml respectivement et moins importantes pour l'HY de plante de la région de BirKhadem avec des IC50 de 328.09 µg/ml, ces activités sont supérieures à celles de Vita C pris comme antioxydant de référence (IC= 368.92 µg/ml), ce qui indique une activité antioxydant forte.

Les résultats obtenus ont montré que les HY et HE provenant de différentes régions présentent un pouvoir d'inhibition d'HY relativement forte par rapport à HE et à celle de la vitamine C (témoin positif).

Nous constatons que l'HY de *Laurus nobilis* a présenté une activité antioxydante plus élevée que l'HE. Cette activité est tributaire de la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle des composés phénoliques de l'huile essentielle. En présence d'un radical libre DPPH•, l'atome H est transféré sur ce dernier alors transformé en une molécule stable DPPH. Ainsi, on observe une diminution de la concentration du radical libre et également l'absorbance au cours du temps de réaction jusqu'à l'épuisement de la capacité de l'antioxydant donneur d'hydrogène (Villano et al., 2007)

Ferreira et al (2006) ont montré que l'activité antioxydante de l'huile essentielle, l'extrait éthanolique et la décoction de *Laurus nobilis*, montrent des valeurs élevées en activité antioxydante par rapport aux extraits polaires.

III.7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

La réaction inflammatoire au niveau des pattes postérieures gauches de toutes les souris, se manifeste par l'apparition d'un œdème plantaire exprimé en pourcentage dans les figures :

Nos résultats sont présentés dans les figures (18, 19,20, 21) :

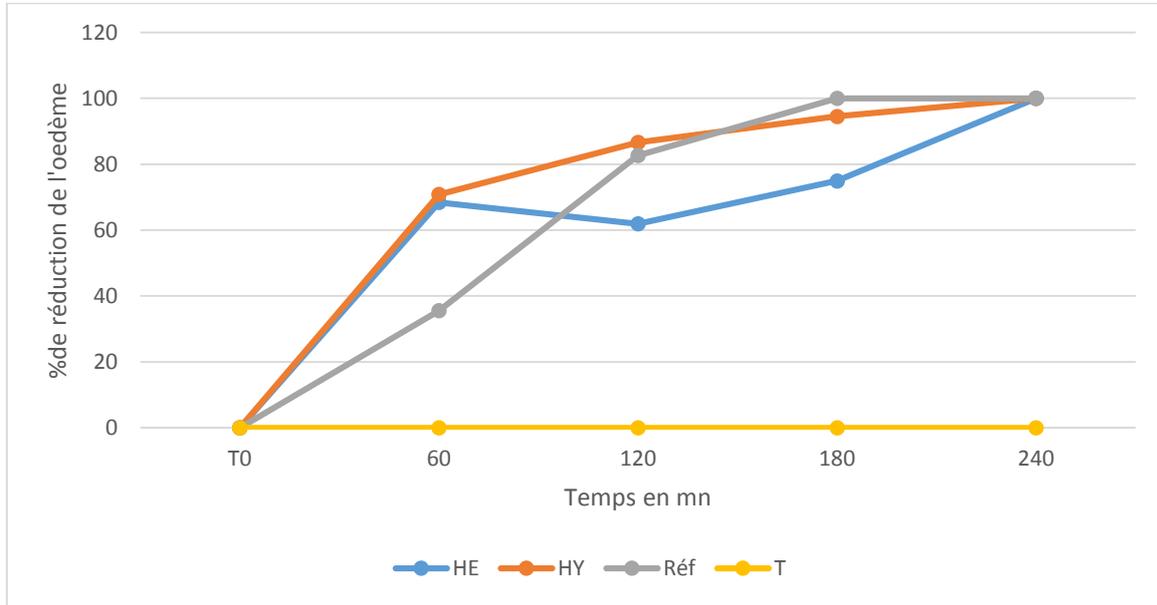


Figure 17 : Pourcentage de réduction d'œdème chez des souris NMRI.

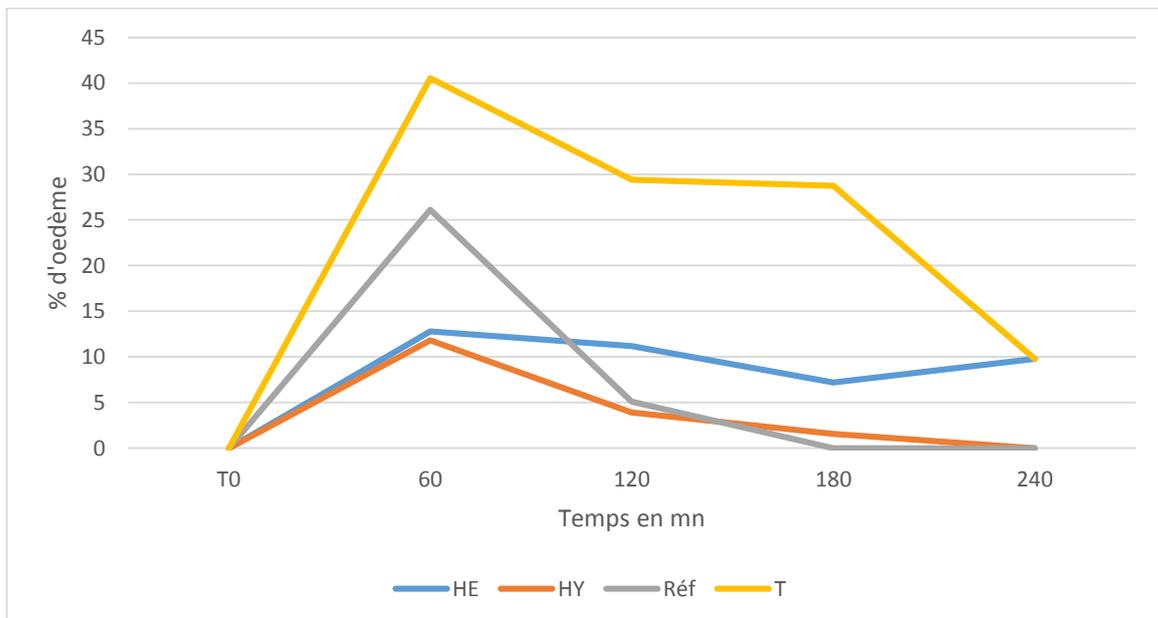


Figure 18 : Pourcentage d'œdème chez les souris NMRI

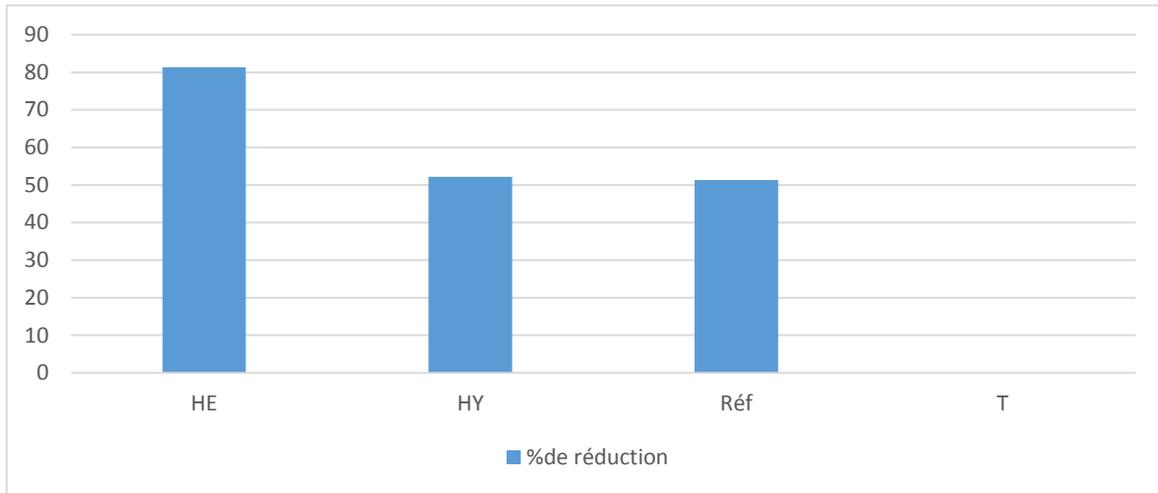


Figure 19 : Pourcentage de réduction d'œdème de la patte gauche et la patte droite coupée chez des souris NMRI.

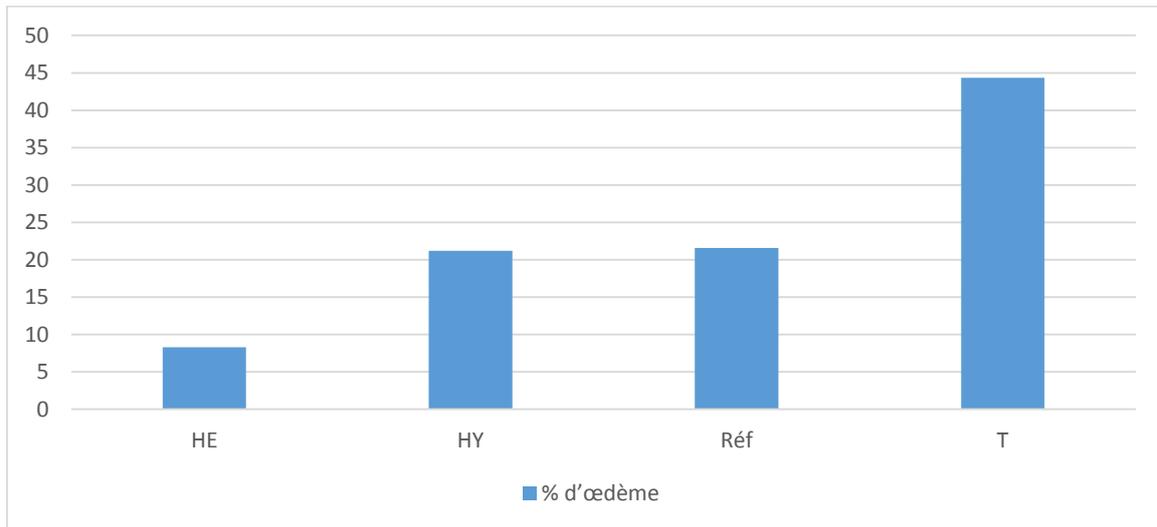


Figure 20 : Pourcentage d'œdème de la patte gauche et la patte droite coupée chez des souris NMRI.

D'après les figures, nous notons une augmentation de l'épaisseur de l'œdème des pattes gauches des souris témoins en fonction du temps. Pour le lot de référence, nous remarquons nettement qu'il existe une augmentation de l'œdème à cause de l'injection de carraghénine suivie par une diminution et une disparition totale de l'inflammation à partir de 90min.

Les souris traitées par les différents extraits (HE, HY) de *Laurus nobilis* présentent un pourcentage d'œdèmes réduit (Figure). Après 2 heures du début de l'application du traitement, nous observons que la dose 5% de l'HE et l'HY originaire d'Attatba a induit une réduction de l'œdème de (61.91%, 86.63%) suivie par une disparition totale de l'inflammation. Cette disparition est observée à partir de 4 heures.

Ces taux sont comparables à ceux traités par Ibuprofène (produit de référence). Ce dernier a induit une réduction quasi-totale de l'œdème. Donc il semble que l'HE et l'HY présentent une activité anti-inflammatoire presque identique à celui de l'Ibuprofène.

A la lumière de ces résultats, il apparaît que l'HE est dotée d'une activité anti inflammatoire importante. L 'HY présente aussi une bonne activité mais plus inférieure par rapport à celle de l'hydrolat.

La réaction inflammatoire au niveau des pattes postérieures gauches de toutes les souris, se manifeste par l'apparition d'un œdème plantaire.

Selon **Mary Kaileh et al (2007)** , l'injection par voie intrapéritonéale de 0.5 microlite de l'HE des feuilles de laurier noble provoque une réduction de l'œdème des pattes gauches des souris. Ce pouvoir est dû principalement à ces composés majoritaires (1,8- cineol, eugenol).

CONCLUSION

CONCLUSION

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressées à l'étude des activités antimicrobiennes, antioxydants et antiinflammatoires des huiles essentielles et des hydrolats des feuilles de laurier noble, à partir des plants provenant de trois régions différents d'Algérie : Birkhadem, Attatba, Azeffoun.

L'extraction de l'HE de feuilles de *Laurus nobilis*, a été effectuée par hydrodistillation. La détermination du rendement en huile essentielle a donné une valeur plus élevée ($0.86\pm 0.23\%$) pour les plantes provenant de la région de BirKhadem, suivie des plantes de la région d'Attatba avec un rendement de $0.84\pm 0.20\%$. Le plus faible rendement a été obtenu par les plantes d'Azeffoun ($0.25\pm 0.07\%$). Les caractères organoleptiques des huiles essentielles et des hydrolats étudiés ont montré qu'il existe des différences pour la couleur et pour l'odeur.

Les essais phytochimiques effectuées sur la poudre et l'infusé des feuilles de *Laurus nobilis* ont révélé la présence des flavonoïdes, des tanins galliques, des tanins catéchétiques, des anthocyanes et des glucides. Les hydrolats sont caractérisés par la présence, des tanins galliques et des flavonoïdes.

Les deux extraits (HE et HY) de *Laurus nobilis* ont été testés in vitro, par la méthode d'aromatogramme pour leur pouvoir inhibiteur contre un ensemble de souches pathogènes. Les tests antimicrobiens menés sur l'hydrolat se sont révélés négatifs. Ces composés n'ont donc aucun effet antimicrobien. Une exception faite pour l'hydrolat des plants provenant de la région de Bir Khadem qui a signalé une légère sensibilité pour la souche *Aspergillus brasiliensis*.

Nos huiles essentielles sont efficaces contre le développement des trois souches bactériennes testés : *E.coli*, *B.subtilis*, *S. aureus*, et contre les deux souches fongiques *C.albicans* et *A.brasiliensis*.

L'estimation de l'activité antioxydante des deux extraits de *Laurus nobilis* a été évaluée par l'étude de leur pouvoir à piéger 50 % du radical DPPH (IC50), Les résultats indiquent que l'hydrolat des feuilles de *Laurus nobilis* présente la meilleure activité antioxydante pour les plantes des trois régions (Attatba, Azeffoun, Bir Khadem), elle est plus importante par rapport à celle de l'antioxydants de référence (Vita C)

L'étude de l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle et de l'hydrolat testé a montré que cette activité est aussi appréciable que celle du produit de référence (Ibuprofène). Il apparaît que l'HE est doté d'une activité anti inflammatoire plus importante. Elle est suivie de celle de l'HY pour la dose 5%, administrés aux souris contre les inflammations causées par la carraghénine.

CONCLUSION

Il serait intéressant de compléter cette étude par une caractérisation des huiles essentielles par CG/MS et HPLC dans le but de connaître les molécules responsables des différentes activités.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

A

Ahmed Chaudhry N, Tariq P., 2006: -Bactericidal activity of black pepper, bay leaf, aniseed and coriander against oral isolates- Pak.J.Pharm.Sci. Vol.19 (3).pp.214-218, Pakistan.

Ali Shtayeh M.S., Yaghmour R.M.R., Faidi Y.R., Salem K., Al Nuri M.A., 1998: antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the palestinian area: journal of ethno pharmacology. 60: 265-271.

Alkanova. Ashaeva , L.A., Anchkova, L.I., et Buzue, V.V.V., 1984: “The study of sugar decreasing action of *Laurus nobilis* leaves “, Farmatisya, V. 33.

Aqili Khorasani, M.S., 1992:“Collection of drugs”, Educational Organization, Tahrán, 624 630.

Arnal-Schnebelen, B., Goetz, P. et Paris, M., 2007 : «Santé référence : Phytothérapie : La santé par les plantes», Selection du reader’s Digest.Vidal, Canada, pp: 215, 428.

Audigie CL., Figarelle J., Zons Zani F., 1980 : Manipulation d'analyses biochimiques ED.Doin.Paris page 88_97

B

Baghdadi, H.H., Ahmed, S.S., Fournier, G. et Refaat, A.M., 1992:«On the Essential oil of *Laurus nobilis* Grown Egypt», Egypt.J.Hort, V.19, no1, 93-97.

Bardeau F., 2009 : Les huiles essentielles. Découvrir les bienfaits et les vertus d’une médecine ancestrale. Edit LANOR. Paris : 333p.

Bardeau, F., 1976 :“La mémoire par les fleurs ”, Robert Laffont, Paris, 310p.

Barla, A., Topçu, G., Öksüz, S., Tümen, G. et Kingsto D.G.I., 2007:“ Identification of cytotoxic sesquiterpènes from *Laurus nobilis*” ,International Food chemistry ,v.104, 1487-1484.

Barnes, J., 2007:Anderson, L.A. et Phillipson, J.D., «Herbal Medicines», Pharmaceutical Press (Ph .P), Third édition, London, Chicago USA, pp: 16-576.

Bärtels, A., 1998 : “ Guide des plantes du bassin méditerranéen”, Eugen Ulmer, Paris, 38p.

Baser KHC. and Buchbauer G., 2010. Handbook of Essential oils : Science, Technology and Applications. CRC Press. UK.

Beloued, A., 2001 :“Plantes médicinales d’Algérie ”, Office des publications universitaires, Alger, 124p.

Beloued, A., 2005 : «Plantes médicinales d’Algérie »,5ème édition, Ben Aknoun (Alger), (2005), pp:124-125.

Bernalet M., Dr Binet C., Dr Doclone D., 1985: Guide des médecines douces. Edit: N Nathan.

Biauchini F. et Corbetta F., 1975 : Atlas des plantes médicinales, Edit Frenand Nathan , Paris, 243p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Billerebeck, V.G., Roques, C., Vaniere, P. et Marquier, P., 2002 : «Activité antibacterienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles», *Revue Hygienes*, volume X, no 3, pp: 248 – 251.

Bosson, L. et Dietz, G., 2005 :“ L'hydrolathérapie : Thérapie des eaux florales”, Amyris SPRL, Bruxelles, 10-22.

Bouamer A., Bellaghit M., Moulay O., 2005 : Etude comparative entre les huiles essentielles de la menthe verte (*Mentha spicata* L) et de la menthe poivrée (*Mentha piperita* L) dans la région de Ouargla. Etude supérieures en biologie université université de Kasdi Merbah Ouargla , p41

Boullard, B., 2001 : “ Plantes médicinales du monde : réalités et croyances”, ESTEM, Paris, 306p.

Boutekedjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R. and Bessiere, J.M., 2003:«Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation », *Flavour Fragr. J*, 18: 481-484.

Bouyer T., 1996 : Description d'une nouvelle espèce de *Maltagorea* Bouyer, (Lepidoptera, Satumiidae). *Bulletin et Annales de la Société royale belge d'Entomologie*, 132 : 3-5.

Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N. et Anackov, G., 2006:« Characterization of the volatile composition of essential oil of some lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils», *J. Agric. Food Chem*, 54: 1822-1828.

Bruneton j., 1993 : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Edition Lavoisier paris : 960p.

Bruneton J., 1999 : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Edition Lavoisier paris : 960p.

Brunton, J., 2009 :“ Pharmacognosie,Phytochimie,plantes médicinales”, Tec et Doc, Paris, 483-560.

Burits, M. and Bucar, F., 2000: «Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil», *Phytotherapy Research*, 14, 323–328.

Burt, A.S. et Reinders, R.D., 2003: «Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157: H7», *Lett. Applied Microbiol*, V.36, 162-167.

C

Cabaret, J., 1967 : “Plante pour soigner les animaux”, *Poins Vétérinaire*, Paris, 192p.

Catier O., Roux D., 2007 : “Cahier du préparateur en pharmacie –botaniquepharmacognosie –phytothérapie”, 3ième édition Edition wolter kluwer, Paris, 141 p.

Catty, S., 2001: **Hydrosois, the next aromatherapy.** Healing Arts Press. Rochester. 290 p.

Chami F., 2005 : Evaluation in vitro de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires in vivo application dans la prophylaxie et le traitement de la Candidose Vaginale sur des modèles de rat et de souris immunodéprimés. Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, p266.

Christel, F. et Fourast, I., 1996 :“Contribution to the phytochemical study of *Laurus nobilis* L.(Lauraceae) ” , Thèse de doctorat , Institut national polytechnique de Toulouse, France.

Conforti, F., Statti, G., Uzunov, D. et Menichini, F., 2006: “Comparative chemical composition and antioxidant activities of wild and cultivated *Laurus nobilis* L. leaves and *Foeniculum vulgare* subsp. piperitum (Ucria) coutinho seeds”, Biol Pharm Bull, V.29, n o 10, (oct, 2056-64.

Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R. And Wyllie S.G., 2000: The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). Journal of Applied Microbiology , 88 :pp170-175. •

Crozier A, clifford M.N. and Ashihara h., 2006: “plant secondary Blackwell publishing, UK ,372 p.

D

Daayf, F. et Lattanzio, V., 2008: «Recent Advances in Polyphenol Research », Blackwell Publishing Ltd, United Kingdom and USA, V.1, 1- 2.

Davis, J., 1994: «Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes», Science, 246:375 – 382.

De Billerbeck V.G., Roques C., Vaniere P. et Marquier P., 2002 : Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d’huiles essentielles. Revue hygiene, 10(3):pp248- 254.

Dean, S.G. et Ritchie, G., 1987: «Antibacterial properties of plant essential oils», International Journal Food Microbiology, V. 5, 165-180.

Delille. L., “ Plantes médicinales d’Algérie”, BERTI, Alger, (2007) ,141p.

Demir, V., Guhan, T., Yagcioglu, A.K. et Ddegirmencioglu, A., 2004: “ Mathematical modeling and the determination of some quality parameters of air-dried bay leaves”, Biosystems Engineering ,v.88, no3, 325-335.

Demo, A., Petrakis, C., Kefalas, P. et Bosliou, D., 1998: “Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plants leaves”, Food Research international, V. 31, no 5, 351-354.

Depoërs, P., Ledoux, F. et Meurin, P., 2008 : “ De la lumière à la guérison : La phytothérapie entre science et tradition”, Amyris, Bruxelles, 181-182.

Derwich E, Benziane Z, Boukir A., 2009: Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from morocco- Australian journal of basic and applied sciences. Vol.3(4). pp.3818-3824, Morocco.

Derwiche E., Zineb B., Abdellatif B., 2009: Chemical Composition and Antibacterial Activity of Leaves Essential Oil of *Laurus nobilis* from Morocco. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 3(4): 3818-3824

Deysson, G., 1979: « General Botany course, Fourth section: organization and classification of vascular plants, second part systematic», CDU et SEDES, Paris, 262p.

Di Leo Lira, P., Retta, D., Tkacik, E., Ringuet, J., Coussio, J.D., Van Baren, C. et Bandoni, A. L., 2009: “Essential oil and by-products of distillation of bay leaves (*Laurus nobilis*) from Argentina”, Industrial Crops and Products, V. 30, 259-264.

Duke a.j., 2009: Phytochemical and ethnobotanical database. Usdaars-Ngri, Beltsville Agricultural research center.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Duraffourd C., Lapraz J.C., 2002 : Traité de phytothérapie Clinique , médecine et endobiogenie. Edit Masson. Paris : 827p.

E

El Abed, D. et Kambouche, N., 2003 :“ Les huiles essentielles” , El Gharb, Oran, 11-55.

Erler, F., Ulug, I. et Yalan Kaya, B.,2006: “Repellent activity of five essential oils against *Cubx pipiens*”, *Fitoterapia* , V.77, 491-494.

Ertas, M. et Hakki Alma, M., 2010: “Pyrolysis of Laurel (*Laurus nobilis*) extraction residues in fixed-bed reactor: Characterization of bio-oil and bio-char”, *J.Anal.Appl.Pyrolysis*, V. 88, 22-29.

F

Fabrocini, V. et Fabrocini, C., 1999 : “Comment se soigner avec l’aromathérapie” , DeVecchi S.A ,Paris, 8-9.

Faleiro, L., Miguel, G., Gomes, S., Costa, L., Venâncio, F., Teixeira A., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., et Pedro, L.G., 2005: «Antibacterial and antioxidant activities of essential oils isolated from *Thymbra capitata* L, (Cav.) and *Origanum vulgare* L», *Journ. Agri. Food Chem.* V.53, 8162-8168.

Fang, F., Sang ,S.Y., Chen , K., Goss Lau, A., Tang Ho, C.T.et Rosen, R., 2005: “Isolation and identification of cytotoxic compounds from bay leaf (*Laurus nobilis*)”, *Food Chemistry*, V. 93, 497-501.

Fauchère, J.L. and Avril, J.L., 2002:«General and medical bacteriology».Ellipses Editions, Paris, 365p.

Ferreira, A., Proença , C., Serralheiro, M. L. M. et Araújo, M. E. M., 2006:«The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of the medicinal plant from Portugal», *J.Ethnopharmacology*, V.108, 31-37.

Fiorini, C., David, B., Fourastét, I. et Vercauteren J., 1998: “Acylated Kaempferol glycosides from *Laurus nobilis* leaves”, *J.Phytochemistry*, V. 47, no 5, 821-824.

Fluck, H., 1977 :«Petit guide panoramique des herbes médicinales : Description simple avec des indications sur leurs principes actifs, leur action, leur emploi, leur récolte et leur culture », Edition Delachaux et Niestlé S.A., Neuchâtel, Paris, 3ème édition, 165p.

Franchomme P., Penoel D., 1990 : L’aromathérapie exactement. Encyclopédie de l’utilisation des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges : 445p.

Franchomme, P., 1981 : «L’aromatologie à visée anti infectieuse », *Phytomédecine*, V.1, 25-47.

G

Geraharde R., 1993 : Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie. Edition Française: 526p.

Gérault, G. et Mary, R., 2009 : “Le guide de l’aromathérapie”, Albin Michel, Paris, pp : 1, 114,139.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Ghestem, A., Seguin, E., Paris, A. et Orecchioni, A-M., 2001 :** « Le préparateur en pharmacie: Botanique-Pharmacognosie-Phytothérapie-Homéopathie. Dossier 2», Tech & Doc, paris, pp: 100-194.
- Gómez-Coronado, D.J.M., Ibañez., Javier. et Rupërez.Barbas C., 2004:** “Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin”, Journal of Chromatography A, V.1045, 227-233.
- Guedouari, R., 2014 :** Etude Comparative De La Pharmacognosie Des Differentes Parties Du Laurus Nobilis L. Essais De Formulations Thérapeutiques. Mémoire de Magister en Génie des Procédés Chimiques et Pharmaceutiques. Université M'hamed Bougara-Boumerdes
- Goumni Z., Salhi A., 2013 :** Eetude de l'activite antimicrobienne de l'huile essentielle extrait de la plante *Laurus Nobilis L.* Mémoire de Master Academique. Faculté SNV en Bitechologie Végétale. Université Ouargla.
- Grúnwald, J. et Jäniche, C., 2006 :** “ Le guide de la phytothérapie”, Le grand livre du mois ,Paris, 59-60.
- Guedouari, R.,** « Etude comparative de la pharmacognosie des différentes parties du Laurus nobilis L. essais de formulations thérapeutiques »Mémoire de Magister (Option : Industrie
- Guignard, J.L., 1996 :**“ Biochimie végétale ”, Masson , Paris, 187-241.
- Guignord j l., 2000 :**Biocimie végétale. Edit Dunod, paris : 138p.
- Gulcin I., Mshvildadze V., Gepdiremen A. and Elias R., 2003:** «Antioxidant activityof saponins isolated from ivy: alpha-hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-E and hederacolchiside-F », Planta Med, 70: 561-563.
- Gürbüz, İ., Üstün, O., Yeşilada, E., Sezik, E. et Akyürek, N., 2002:** “In vivo gastro protective effects of five Turkish folk remedies against ethanolinduced lesions”, Journal of Ethnopharmacology, V.83, 241-244.

H

- Hagerman, Ann.E., 2002:** «Tannin Chemistry », Department of Chemistry and Biochemistry, Miami.
- Hamoudi N., 2012 :** Caractéristiques des huiles essentielles et son application antimicrobienne de la plante *Ocimum basilicum* ; mémoire DEUA. Univ. Khemis Miliana.
- Hamrouni, I.,Aidiwannes, W., Bettaib, I., Berrima, S. et Chahed, T., 2011:** «Qualitative and quantitative changes in the essential oil of laurus nobilisL. leaves as affected by different drying methods», Food Chemistry, Tunisia ,V.126,691-697.
- Hay R et Synge P.M., 2000:**Fleurs, plantes et arbustes en couleur. Edition oyez. Lille, France. 1971.
- Heitz, F., 2017 :**“Aromathérapie pour les ruminants ”. Edit France Agricole, Paris, 149p.

I

- Iserin p., 2001 :** Encyclopédie des plantes médicinales 2 ème Edit. Larousse. Londres. Pp : 143 et 225-226.

Iserin P., Masson m., Restellini J.P., 1996: Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation, soin, Larousse-Bordas

Iserin, P., 2001 : “ Larousse encyclopédie des plantes médicinales”, Larousse, Paris, 12p.

Iserin, P., Masson, M ., Restellini, J-P., Ybert, E., de La Roque. R., Vican. P. et Ybert. E., 2001 : «Larousse. Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation et soins», 2ème Edition, Edition Larousse, Paris.

Ivan A. Ross., 2001: medicinal plants of the world, chemical constituents, traditional and modern medicinal uses - HUMANA PRESS. Volume 2. Pp.261-264, United States of America.

J

Jeannot, V., Chahboun, J., Russel, D. et Casabianca, H., 2003:“*Origanum compactum* Benthams: Composition of the hydrolat aromatic fraction, comparison with the essential oil and its interest in aromatherapy”, Int.J.Aromather, v.13, 90-94.

Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A. et Stevens, P., 2002 :«Botanique Systématique : une perspective phylogénétique», Ed 1 : Deboeck, 84-336.

Junior, A. et Zani, C., 2000:“Biological screening of Brazilian medicinal plants”, Braz.J.Sci, V.95, 367-373.

K

Kaileh, M., Vanden Berghe, W., Boone, E., Essawi, T. et Hageman G., 2007: “Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti-inflammatory and cytotoxic activity”, Journal of Ethno pharmacology, V.113, 510-516.

Kamal Elharas, Abdelmoula Daagare, A Mesifiou, Mohammed Ouhssine., 2013: Afrique Science : Revue Internationale Des Sciences et Technologie 9(2), 134-141.

Kamal Elharas, Abdelmoula Daagare, A Mesifiou, Mohammed Ouhssine., 2013 : Afrique Science : Revue Internationale Des Sciences et Technologie 9(2), 134-141.

Kelen. M. Tepe. B., 2008 : Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora; Bioresource Technology; 99,4096-4104.

Khalil, E. A., Afifi, F.U. et Al-Hussaini, M., 2007: “Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (*Mus musculus*) “, Journal of Ethnopharmacology, V. 109, 104-112.

Khan, A., Bryden, N.A., Polansky, M.M. et Anderson, R.A., 1990:“Insulin potentiating factor and chromium content of selected foods and spices”, Biol Trace ElemRes, 24(3), 183-8.

Kheyar, N., Meridja, D., Belhamel, K., 2014: Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. Algerian Journal of Natural Products, 2(1), 18-26.

Kilic, A. et Altuntas, E., 2006: «Wood and bark volatile compounds of *Laurus nobilis* L. », Holz als Roh und Werkstoff, Turkey, V.64, 317-320.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Kivçak, B. et Mert, T., 2002: “Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* leaf extracts”, *Fitoterapia*, V. 73, 242-243.

Kivçak, B. et Mert, T., 2002:“Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* leaf extracts”, *Fitoterapia*, V. 73, 242-243.

L

Lhuillier a., 2007: Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: *Agauria salicifolia* Hoof. f ex Olivier, *Agauria polyphylla* Baker (*Ericaceae*), *Tambourissa trichophylla* Baker (*Monimiaceae*) et *Embelia concinna* Baker (*Myrsinaceae*). Thèse de doctorat. Toulouse.

Lis-balchin, M., 2002: « Geranium and pelargonium: the genera Geranium and Pelargonium », CRC Press, Taylor & Francis, London, pp: 116- 131, 147-165, 184-217.

Lis-Balchin, M., Hart, S.L. et Deans, S.G., 2000:«Pharmacological and antimicrobial studies on different tea-tree oils (*Melaleuca alternifolia* , *Leptospermum scoparium* or Manuka and *Kunzea ericoides* or Kanuka), originating in Australia and New Zealand», *J Phytother Res*, V.14, 623-629.

Lopez, P., Sanchez C., Battle, R. et Nerin C., 2005: «Solid and vapor phase antimicrobial activities of six essential oils: Susceptibility of selected food borne bacterial and fungal strains » *J. Agric. Food Chem*, 53: 6939- 6946.

Luc Sallé, J., 1991 : “ Le totum en phytothérapie ”, Frisson –Roche, Paris, 35-43.

M

Maccioni o., trupo m., giuseppe d s., 2010: Use of essential oils of *laurus nobilis* obtained by means of a supercritical carbon dioxide technique against post-harvest spoilage fungi. *Crop Protection* 29: 142-147.

Mary Kaileh., Win Vander Bergue., Elke Boone., Tamer Essaw., Gry Haegeman., 2007: screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti-inflammatory and cytotoxic activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 113: 510-516.

Marzouki, H. et al., 2009: «Biological activity evaluation of Tunisia and Algeria extracted by supercritical carbon dioxide», *Natural Product Research*, 23, 230-237.

Matsuda, H., Shimoda, H., Uemura, T. et Yoshikawa, M., 1999: “Preventive effect of sesquiterpenes from bay leaf on blood ethanol elevation in ethanol-loaded rat”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, V. 9, 212-216.

Miliani A., 2012 :Extraction des huiles essentielles chez *laurus nobilis*. Mémoire de Magistère. Faculté des Sciences Agro – vétérinaire et Biologiques. Université Blida Algérie.

Milpied, H., 2009 : “ Progrès en dermato-allergologie”, John Libbey Eurotext, France, 128p.

Mohammedi Z., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïde de quelques plantes de la région de Tlemcen, magistère Université Abou Bakar Bel Kaid Tlemcen, p105.

Murphy Cowan, M., 1999: «Plant products as antimicrobial agents», *Clinical Microbiology Reviews*, American Society for microbiology, V.12 (4), 564-582.

N

Négué Diarra, M., 2003 : « Etude phytochimique d'une plante antipaludique utilisée au Mali : *Spilanthus oleracea* Jacq. (Asteraceae)», Université de Bamako, Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie, Mali, Thèse de Doctorat d'état en Pharmacie, pp: 42- 48 ,78.

Nikaido, H., 2003: «Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited», *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4): 593-656.

Nowitz, T. et Bottet, J., 2000 :« Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation,soins»,Edition Larousse.

O

Okogun, G.R.A., Bethran, E.B., Anthony, N., Okere Jude, C. et Anegebe, C., 2003:«Epidemiological Implications of Preferences of Breeding Sitesof Mosquito species in Midwestern Nigeria», *Ann. Agric. Environ. Med*, V.10, 217-222.

Ouibrahim A, Tlili –Ait Kaki Y, Bennadja S, Mansouri R, Ait Kaki S, Khbizi S, Djbar M-R., 2015 : Activité antioxydant et anti-candidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* Provenant de la région d'El Kala (Nord-Est Algérien). *Algerian Journal of Natural Products*, 3(3), 209.

P

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

Pariante L., 2001: Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique 2em Ed. Académie National de Pharmacie. Paris .p:1643

Pattnaik, S., Subramanyam, V.R., Kole, C.R. et al, 1995 :« Antibacterial activity of essential oils from *Cymbopogon*: inter-and intraspecific différences» *Microbios*,V.84, 239-245.

Pierre M. Et Lys M. 2007 : Secret de plantes pour se soigner naturellement. Edit Artemis : 464p.

Price, L. et Price, S., 2004: “Understanding hydrolats: The specific hydrosols for aromatherapy”, Churchill Livingstone, New York, 294p.

Q

Quezel, P. et Santa, S., 1963 :“Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales”, Edition C.N.R.S,Paris, 977p.

R

Ramawat, K.G. et Merillon, J-M., 2008 : « Bioactive Molecules and Medicinal Plants», Springer-Verlag Berlin Heidelberg, German, 379 p.

- Reynoud J., 2006 :** Prescription et conseil en Aromathérapie. Edit Lavoisier. France. 247p.
- Rivera L., 2006 :** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe, thèse de doctorat, institut national polytechnique de Toulouse, spécialité : Sciences des Agroressources.broyeur.
- Rebzani F., 2014 :** Contribution a une étude ethnobotanique phytochimique , et thérapeutique de l'extrait aqueux des feuilles de laurier noble. Mémoire de master en biologie : Phytothérapie et Santé Université Blida Algérie.
- Rodolfo, J., Koroch, A., Simon, J. and Hitimana N., 2006:** « Quality of geranium oils: case studies in southern and eastern Africa », Journal of essential oil research (JEOR), 12.
- Roginsky, V. and Lissi, E.A., 2005:** «Review of method to determine chainbreaking antioxidant activity in food », Food chemistry, 92: 235-254.
- Roux D. Chaumont J.P., Cieur C., Millet J., Morel J.M. Tallec D., 2008 :** Conseil en aromathérapie. 2ème Edit : Pro-Officina. France : 362p.
- Rozman, V., Kalinovic, I. et Korunic, K., 2007:** “Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored –product insects”,Journal of Stored Products Research, V . 43, 349-355.
- S**
- Sağdıç, O. et Özcan, M., 2003:** “Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols” , Food control, V.14, 141-143.
- Sağdıç, O., Karahan, A.G., Özcan, M. et Özcan, G., 2003:**“Effect of some spice extracts on bacterial inhibition” , Food Science and Technology International ,V. 9 , 353.
- Salle J L., 1991 :** Les huiles essentielles. Synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Edit Frison- Roche. Paris : 167p.
- Sanchez-Moreno C., 2002:** «Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems», International Journal of Food Science and Technology, 8: 121-137.
- Santoyo S, Loria R, Jaime L, Ibanez E., 2006:** Supercritical fluid extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from *Laurus nobilis* L. Chemical and functional characterization- Eur Food Res Technol.Vol.222.pp.565-571.
- Santoyo S., Lioria R., Jaime L., Ibanez E., Senorans FJ. and Reglero G., 2006:** Supercritical fluid extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from *Laurus nobilis* L. Chemical and functional characterization. European Food Res. Technol. 224: 75–81.
- Saxenaa, G., Rahmanb, L., Vermac, P.C., Banerjeed, S. and Kumara, S., 2008:** « Field performance of somaclones of rose scented geranium (*Pelargonium graveolens*) for evaluation of their essential oil yield and composition », Industrial crops and products, 27, 86-90.
- Sayyah M, Saroukhani G, Peirovi A, Kamalinejad M., 2003:** Analgesic and anti-inflammatory activity of the leaf essential oil of *laurus nobilis* Linn.- Phytotherapy Research. Vol.17(7).pp.733- 736,Iran.\$

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Schawenberg, P. et Paris, F., 1997 : « Guide des plantes médicinales : analyse, description et utilisation de 400 plantes », Delachaux et Niestlé, 3^{ème} édition, Paris, 396 p.

Sell y., benezra c., guerin b., 2002: Plantes et reactions cutanées. Edit Jonh Libbey and Capany lid. London : 96p.

Serguin E., Axel G., Michel P et Orecchioni A., 2001 : Le préparateur en pharmacie dossier 2. France : 143-206.

Sharififar, F., Moshafi, M.H., Mansouri, S.H., Khodashenas, M. and Khoshnoodi, M., 2007: «In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss », *Food Control*, 18, 800-805.

Simić, M., Kundaković ,T. et Kovačević, N., 2003:“ Preliminary assay on the antioxidant activity *Laurus nobilis* extracts ”. *Fitoterapia*, V.74, 613- 616.

Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T. et Arsenakis, M., 1995:« Antimicrobial activity of mint essential oils », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 2384 – 2388.

Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T. et Arsenakis, M., 1996: «Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils», *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V.44, no5, 1202-1205.

Smânia, A., Monache, F.D., Smânia, E.F., Gil, M.L., Benchetrit, L.C. and Cruz, F.S., « Antibacterial activity of substance produced by the fungus *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) Murr. », *J Ethnopharmacol.* 45(3):177-81.

Smith-Palmer, A., Stewart, J. et Fyfe, L., 1998:«Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens», *Letters in Food Microbiology*, V. 26, 118-122.

Sommerad, J.C., 2008 : “ Parfums de confidences l’aromathérapie sensorielle”, *Terre D’homme*, France, pp : 44-45,56.

T

Telephon T., 2008 : ”ABC des huiles essentielles”, GRANCHER, Paris , 399 p.

Teuscher, E., Anton, R. et Lobstein A., 2005 : « Les plantes aromatiques : Epices, aromates condiments et huiles essentielles », Lavoisier, technique et documentation, pp : 3, 480.

Thurzova, L., Sabrier, D. et Devroye, C., 1981 :“ Les plantes –santé qui poussent autour de nous ”, Bordas, Bruxelles, 17-27.

V

Van, A.R., 2001:“Medicinal plants of the word: Chemical constituents, Traditional and Modern uses” , Humana Press Inc, New Jersey, 262p.

Vekiari S ; protopapadakis E ;Papadopoulou P., 2002: Ga chromatography-Mass spectroscopy analysis of aromatic compounds of leaves and peel fro healthy and viroid-infected Citron plants. Fifteenth IOCV conference: 272-277.

Verdian-rizi M-Phenological., 2008: variation of *laurus nobilis* essential oil from Iran-EJEAFCh. Vol.7(11).pp.3321-3325, Iran.

Verdrager, J., 1978 :« Les plantes médicinales dans les traitements modernes », Edition Maloine S.A., Paris, 233 p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Villano, D., Fernandez-Pachon, M.S., Moya, M.L., Troncoso, A.M. and Garcia-Parrilla, M.C., 2007: « Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical », *Talanta*, 71 :230– 235.

Volack, J., Stotola, J. et Severa, F., 1983 : “Plantes médicinales ”, Gründ, Paris, 35-43.

W

Wichtl, M. et Anton, R., 2003 :« plantes thérapeutiques. Traditions, pratique officinale, science et thérapeutiques», Lavoisier (Tec et Doc) & Médicales internationales (EM inter), 2ème édition, Paris Cedex, p:18-31.

Willem, J.P., 2009 :“ 60 petits maux pour soignés par les huiles essentielles”, Albin Michel, Paris, 7-8.

Willem, J.P., 2005 : « Aroma famille : 100 petits maux de la vie quotidienne traités par les huiles essentielles», Albin Michel, Paris, 13p.

William, G.Hopkins., 2003 : «Physiologie végétale », De Boek Université,Bruxelles, 273-276.

Y

Yahya, F., Lu, T., Santos, R., Fryer, P.et Bakalis, S., 2008:« Supercritical carbon dioxide and solvent extraction of 2-acetyl-1-pyrroline From pandan leaf: The effect of pre-treatment », *The journal of supercritical fluids*.

Yanardag, S. et Can, S., 1994: “Effects of *Laurus nobilis* L. leaves and blood glucose levels in normal and alloxan-diabetic rabbits”, *Chemica Acta Turcica*, V. 22, 169-75.

Yoshikawa, M., Shimoda ,H., Uemura, T., Morikawa, T., Kawahara, Y. et Matsuda, H., 2000: “Alcohol absorption inhibitors from bay leaf (*Laurus nobils*): Structure –Requirements of Sesquiterpenes for the activity”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, V. 8, 2071-2077.

Z

Zaika, L.L., 1988: « Spices and herbs: Their antimicrobial activity and its determination », *J. Food Safety*, V.9, 97-118.

ANNEXES

ANNEXE 1

Tableau 10 : Matériel non biologique et produit de laboratoire

Appareillage	Verrerie	Solution et réactifs
-Dispositif d'extraction	-Bécher	- Muller Hinton
- Balance analytique	-Erlen Meyer	-Sabouraud
- Bec benzène	-Ampoules à décanter	- Tween80
- Bain marie	-Tubes à essai	- carraghénine
- Evaporateur rotatif	-Boîtes de pétri stériles	-Eau physiologique
- Etuve	-Disques d'antibiogramme	-Ammoniaque
- Plaque chauffante	stériles de 9 mm de diamètre	- Méthanol
- Chauffe ballon	-Seringues 5ml	-Ethanol
-support	-Micro pipette	- Paraffine
-hotte	-Entonnoir en verre	- Formol
	-Pipette graduée	-Eau de javel
	-Ependorff	- solution de FeCl ₃
	-Écouvillon	-Hcl
		-Acetate de sodium
		-Ethanol absolu
		-Mg
		-Dpph
		-Vitamine C
		-Alcool isoamylique
		-Acide sulfurique
		-Reactif de dragendorff

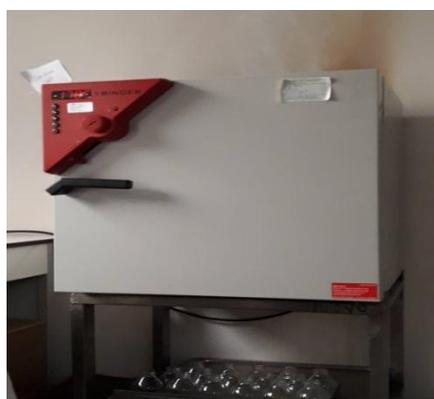
ANNEXE 2



Balance



Pied-colis



Etuve



La hotte



Broyeur électrique



Spectrophotomètre

Figure 21 : l'appareillage

ANNEXE 3

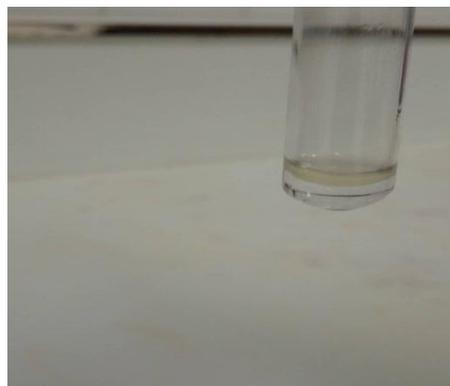
Les tests biologiques



Feuilles séchées de *laurus nobilis*



Hydrodistillateur



La décantation



Récupération de l'hydrolat



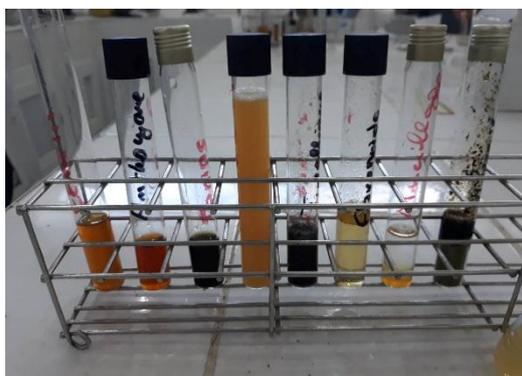
Séparation liquide-liquide

Figure 22 : Etapes de l'extraction

ANNEXE 3



Filtration



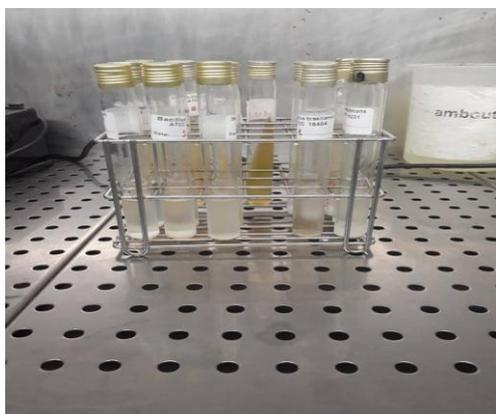
Résultats de screening pour HE



Résultats de screening pour HY

Figure 23 : test de screening phytochimique

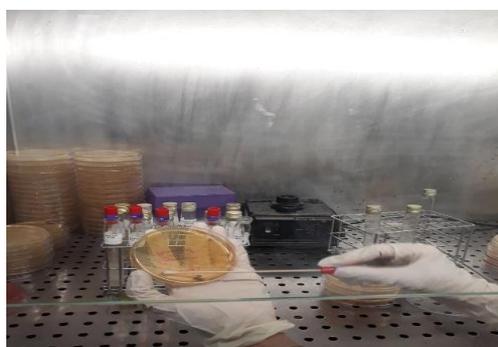
ANNEXE 3



Les souches microbiennes



Préparation des milieux de culture



Ensemencement



Imbiber les disques avec l'HE



Dépôt des disques stérilisé

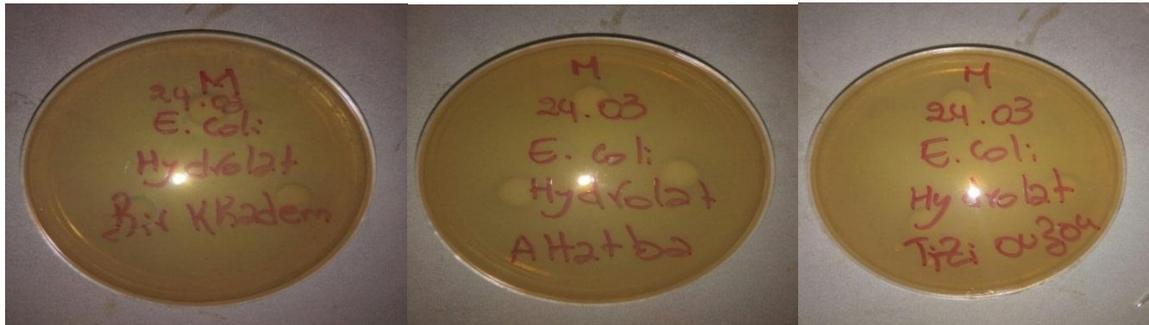


Incubation des boîtes pétries

Figure 24 : les étapes de l'activité antimicrobiennes



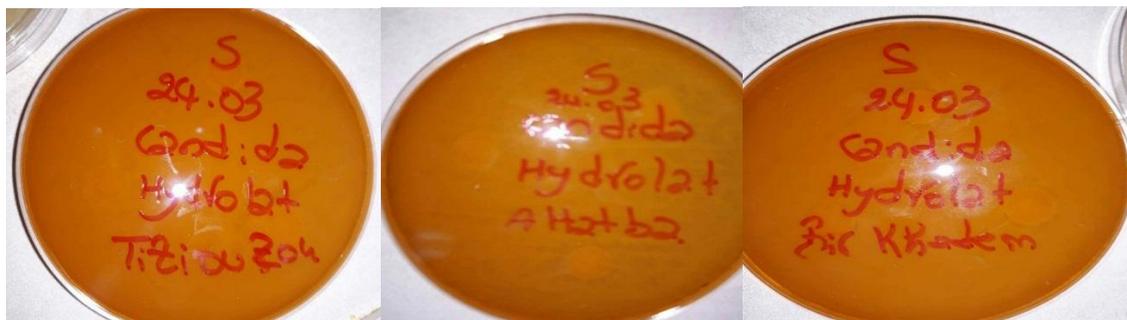
Aromatogramme de l'HY sur *Staphylococcus aureus*



Aromatogramme de l'HY sur *E.coli*



Aromatogramme de l'HY sur *Bacillus subtilis*



Aromatogramme de l'HY sur *Candida albicans*



Aromatogramme de l'HY sur *Aspergillus brasiliensis*

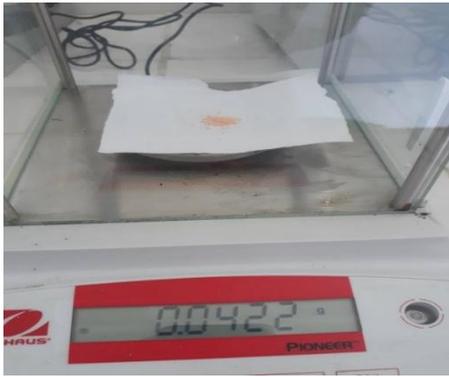
Figure 25 : Action de l'hydrolyt de *Laurus nobilis* récolté en 2019 dans trois régions différentes d'Algérie sur les souches microbiennes



La CMI de l'HE de *Laurus nobilis* sur *C. Albican*

La CMI de l'HE de *Laurus nobilis* sur *B. subtilus*

Figure 26 : La CMI de l'HE de *Laurus nobilis* sur les souches microbiennes



La pesée de vitamine C



la pesée de DDPH

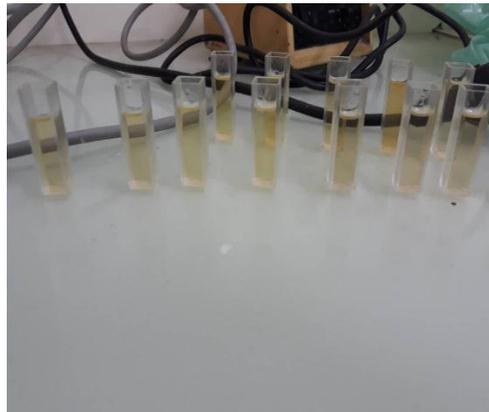


Figure 27 : test de l'activité anti-oxydante



Souris Albinos de race NMRI



Contention de la souris



Administration des suspensions (HE, HY)



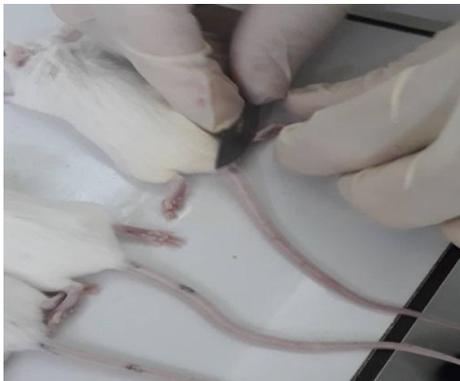
Injection de la carraghénine par voie sous-cutanée



Après l'injection de la carraghénine



Sacrifice de souris



Coupure des pattes postérieures



Les pattes coupées

Figure 28 : les étapes de l'activité anti-inflammatoire

ANNEXE

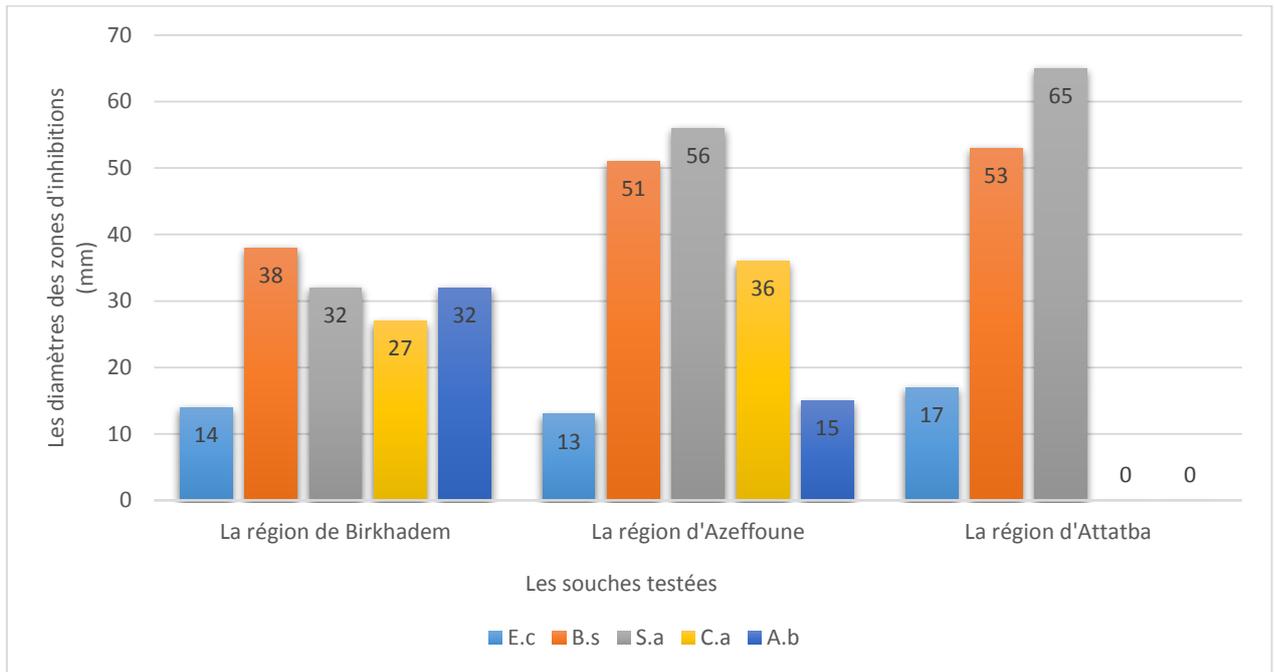


Figure 29 : Les diamètres des zones d'inhibition des souches testées pour l'huile essentielle pour les trois régions (Birkhadem, Azeffoun, Attatba)

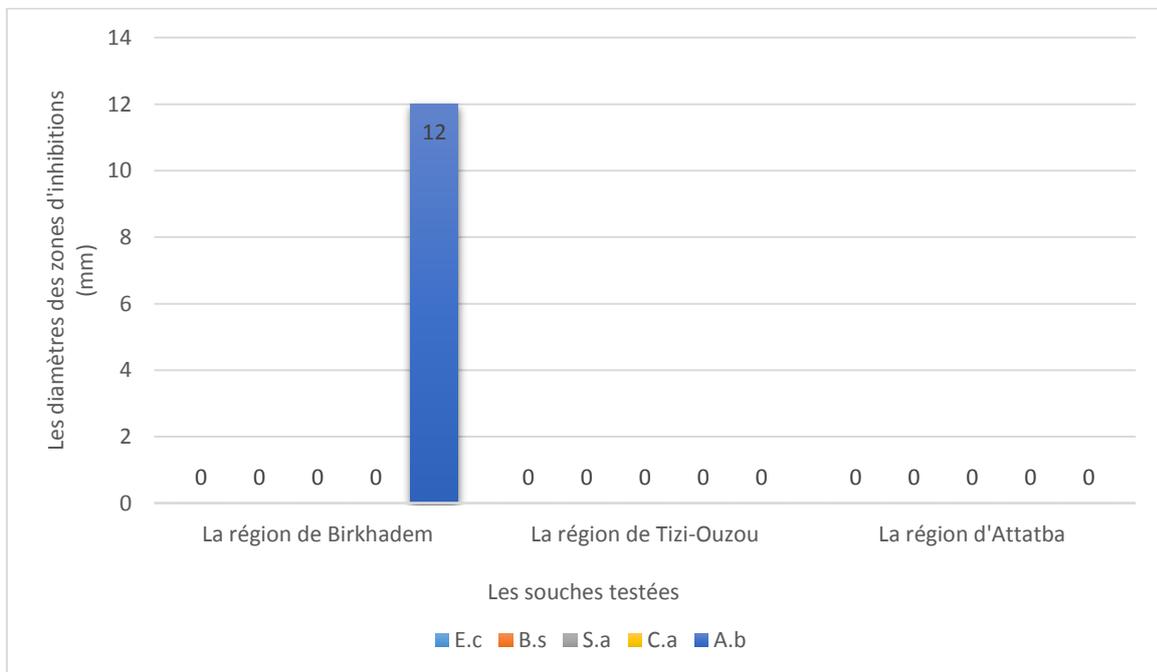


Figure 30 : Les diamètres des zones d'inhibition des souches testées pour l'hydrolat pour les trois régions (Birkhadem, Azeffoun, Attatba)

ANNEXE

Tableau 11 : Activité antioxydante (DPPH) pour l'huile essentielle, l'hydrolat, vitamine C

Concentration En ug/ml	Activité antioxydante							Témoin - 0,797
	Huiles essentielles			Hydrolats			Vita C	
	Attatba	Azeffoun	Bir khadem	Attatba	Azeffoun	Bir khadem		
200	0.491	0.459	0.735	0.457	0.522	0.561	0.637	
400	0.444	0.407	0.674	0.307	0.482	0.488	0.465	
600	0.420	0.405	0.514	0.282	0.396	0.488	0.438	
800	0.408	0.404	0.433	0.258	0.307	0.282	0.426	
1000	0.397	0.389	0.326	0.249	0.279	0.281	0.319	

Concentration En ug/ml	Activité antioxydante en %						
	Huiles essentielles			Hydrolats			Vita C
	Attatba	Azeffoun	Bir khadem	Attatba	Azeffoun	Bir khadem	
200	38.39	42.40	7.77	40.40	34.50	29.61	20.07
400	44.29	48.93	15.43	61.48	39.52	38.77	42.15
600	47.30	49.18	35.50	64.61	50.31	38.77	45.04
800	48.80	49.30	45.67	67.68	61.48	64.61	46.54
1000	50.18	51.19	59.09	69.63	65.74	64.74	59.97

Tableau 12 : Lot (E1) : souris ayant reçu l'HE de la région d'Attataba à dose 5%

N° des souris		1	2	3	4	5	M	% de l'œdème	% de réduction
Epaisseurs	Avant injection de carraghénine	1.24	1.22	1.24	1.27	1.30	1.25	-	-
	T= 1h	1.32	1.46	1.48	1.35	1.46	1.41	12.8	68.41
	T= 2h	1.39	1.32	1.40	1.30	1.57	1.39	11.2	61.91
	T= 3h	1.33	1.23	1.39	1.32	1.45	1.34	7.2	74.95
	T= 4h	1.23	1.16	1.14	1.22	1.36	1.22	-2.4	100

Tableau 13 : Lot (E2) : souris ayant reçu 0.5 ml d'HY de la région d'Attataba

N° des souris		1	2	3	4	5	M	% de l'œdème	% de réduction
Epaisseurs	Avant injection de carraghénine	1.25	1.28	1.30	1.26	1.29	1.27	-	-
	T= 1h	1.42	1.49	1.43	1.33	1.46	1.42	11.81	70.85
	T= 2h	1.39	1.39	1.21	1.33	1.32	1.32	3.93	86.63
	T= 3h	1.24	1.35	1.24	1.30	1.34	1.29	1.57	94.53
	T= 4h	1.25	1.24	1.11	1.30	1.11	1.20	-5.59	100

ANNEXE

Tableau 14 : Lot (T) : souris ayant reçu 0.5 ml d'eau distillé.

	N° des souris	1	2	3	4	5	M	% de l'œdème
Epaisseurs	Avant injection de carraghénine	1.15	1.97	1.27	1.67	1.59	1.53	-
	T= 1h	1.82	2.21	2	2.78	1.97	2.15	40.52
	T= 2h	1.74	2.14	1.71	2.64	1.69	1.98	29.41
	T= 3h	1.66	2.05	2.06	2.48	1.62	1.97	28.75
	T= 4h	1.59	1.65	1.75	1.91	1.52	1.68	9.80

Tableau 15 : Lot (Réf) souris ayant reçu 0.5 ml d'Ibuprofène à 200 mg/kg.

	N° des souris	1	2	3	4	5	M	% de l'œdème	% de réduction
Epaisseurs	Avant injection de carraghénine	1.61	1.81	1.09	1.95	1.43	1.57	-	-
	T= 1h	1.83	2.52	1.75	2.03	1.08	1.98	26.11	35.56
	T= 2h	1.26	2.01	1.61	1.73	1.58	1.65	5.09	82.69
	T= 3h	1.24	2.00	1.51	1.52	1.44	1.54	-1.91	100
	T= 4h	1.17	1.74	1.43	1.41	1.32	1.41	-10.19	100

Tableau 16 : Patte postérieures des souris

Patte postérieures des souris	HE		Hydrolat	
	Patte droite	Patte gauche	Patte droite	Patte gauche
S1	0.160	0.186	0.134	0.171
S2	0.159	0.192	0.128	0.167
S3	0.189	0.149	0.125	0.145
S4	0.107	0.134	0.128	0.156
S5	0.173	0.189	0.161	0.148
moyenne	0.157	0.17	0.132	0.16
% d'œdème	8,28		21,21	
% de réduction	81,32		52,15	

Tableau 17 : Patte postérieures des souris

Patte postérieures des souris	Témoin		Référence	
	Patte droite	Patte gauche	Patte droite	Patte gauche
S1	0.076	0.715	0.130	0.160
S2	0.062	0.109	0.120	0.160
S3	0.080	0.103	0.125	0.170
S4	0.084	0.125	0.150	0.20
S5	0.068	0.095	0.170	0.155
moyenne	0.0758	0.109	0.139	0.169
% d'œdème	44,33		21,58	
% de réduction	0		51.31	