

République Algérienne Démocratique et Populaire
Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem
Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie
Département de Biologie



Mémoire
 Présenté pour l'obtention du diplôme de
MASTER EN SCIENCE BIOLOGIQUE
Spécialité : MICROBIOLOGIE APPLIQUÉE

Par
GUELLADRES Khayra
 &
TOUMI Chahinez

Thème :

*Etude de l'activité biologique de l'extrait des feuilles de **Laurus nobilis** L.
 récoltée dans deux régions différentes*

Soutenue le 12/06/2024 devant le jury composé de :

Président	Mr.CHIBANI Abdelwaheb	Pr	Université de Mostaganem
Encadreur	Mr.MEKHALDI Abdelkader	Pr	Université de Mostaganem
Examineur	Mr.BOUZNAD Ahcen	MCB	Université de Mostaganem
Co-encadreur	Mr.HAMOUM Hakim	MCB	Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2023/2024

Dédicaces



*Avant tout nous adressons
nous remerciments à ELLAH,
le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience
qu'il nous a donné durant toutes ces longues années d'études
et pour la réalisation de ce travail que nous espérons être utile.*

*Je dédie ce modeste travail à : l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral
et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir
Mon père Mostapha
la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de Mon coeur, ma vie et mon
bonheur,
Maman KHEDIM Cherifa*

*A mes chers frères : Mohamed et Bilal
A mes chères sœurs : Nawel, Amina, Imane, Nesrine et Assil
A mes chères amies Chahinez, Z.Rania, Ikram, Hafsa, Lamia et D.Rania
pour leur amour et soutien, avec elles j'ai passé
les plus beaux
et les plus vrais souvenirs et partagé les sentiments
les plus profonds
que dieux nous garde si tendre si aimante
l'une envers l'autre.*

GUELLADRES Khayra

Dédicaces



*Avant tout nous adressons
nous remerciments à ELLAH,
le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience
qu'il nous a donné durant toutes ces longues année d'études
et pour la réalisation de ce travail que nous espérons être utile.*

*Je dédie ce modeste travail à : l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral
et Source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir Réussir*

Mon père Ahmed

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de Mon coeur, ma vie et mon
bonheur,*

Maman BETTAHRAT Fatma

A mon frere Mohammed Abd Elwahab A mes chères sœurs : Hadjer, Meriem, Ritadje

A' mes chères amies Khayra, Z.Rania, Ikram, Hafsa, et D.Rania

pour leur amour et soutien, avec elles j'ai passé

les plus beaux

et les plus vrais souvenirs et partagé les sentiments

les plus profonds

que dieux nous garde si tendre si aimante

l'une envers l'autre.

TOUMI Chahinez

Remerciements

*Grâce à Dieu, nous avons terminé ce modeste travail. Nous remercions également **Mr. Mekhaldi Abdelkader** et **Mr. Hamoum Hakim** pour leur précieux encadrement.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude aux membres du jury, **Mr. Chibani Abdelwaheb** et **Mr. Bouznad Ahcen**, pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*Enfin, je remercie l'ensemble du personnel du laboratoire, en particulier **Tahlaiti Amina**, pour leur aide, leurs encouragements et l'esprit de travail qu'ils nous ont accordé.*

C'est avec un grand plaisir que nous écrivons ces lignes comme signe de remerciement et de reconnaissance à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à élaborer ce travail.



Résumé

Les extraits de Laurier noble, communément connu sous le nom de *Laurus nobilis*, sont largement étudiés pour leurs diverses propriétés biologiques. Cette étude vise à évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de la partie aérienne de *Laurus nobilis*, collectée dans les régions de Mostaganem-Sidi Ali et de Tissemsilt -Lardjem. Les feuilles ont été collectées dans les deux régions et soumises à une extraction phénolique ainsi qu'à une hydrodistillation pour obtenir les huiles essentielles. Les rendements d'extraction par hydrodistillation 0,4 % pour *Laurus nobilis* de Mostaganem et 0,8 % pour *Laurus nobilis* de Tissemsilt, tandis que les extraits phénoliques présentent des rendements de 11 % pour *Laurus nobilis* de Mostaganem et 16 % pour *Laurus nobilis* de Tissemsilt. Concernant le dosage quantitatif des polyphénols totaux (par la méthode de Folin-Ciocalteu) et des flavonoïdes (par la méthode au trichlorure d'aluminium), les quantités mesurées dans l'extrait de feuilles de *Laurus nobilis* sont les suivantes : pour l'échantillon de Mostaganem, 6,79 mg EAG/g et 44 mg EQ/g de polyphénols totaux et de flavonoïdes respectivement ; pour l'échantillon de Tissemsilt, 6,18 mg EAG/g et 31,02 mg EQ/g d'extrait pour les polyphénols totaux et les flavonoïdes respectivement. L'évaluation de l'activité antibactérienne a démontré que les huiles essentielles et les extraits phénoliques de *Laurus nobilis* de Mostaganem et de Tissemsilt ont des effets antimicrobiens similaires contre les souches étudiées. Les résultats indiquent que les huiles essentielles et les extraits phénoliques des échantillons végétaux étudiés ont des propriétés biologiques similaires, avec la possibilité de les utiliser comme antioxydants et agents antimicrobiens.

Mots-clés: *Laurus nobilis*, Huiles essentielles, Polyphénol, Flavonoïdes, Potentiel antioxydant, Activité antibactérienne.

Abstract

Extracts of *Laurier noble*, commonly known as *Laurus nobilis*, are widely studied for their diverse biological properties. This study aims to evaluate the antioxidant and antimicrobial activity of extracts from the aerial parts of *Laurus nobilis*, collected in the regions of Mostaganem-Sidi Ali and Tissemsilt-Lardjem. Leaves were collected in both regions and subjected to phenolic extraction as well as hydrodistillation to obtain essential oils. The extraction yields by hydrodistillation were 0.4% for *Laurus nobilis* from Mostaganem and 0.8% for *Laurus nobilis* from Tissemsilt, while the phenolic extracts showed yields of 11% for *Laurus nobilis* from Mostaganem and 16% for *Laurus nobilis* from Tissemsilt. Regarding the quantitative determination of total polyphenols (by the Folin-Ciocalteu method) and flavonoids (by the aluminum trichloride method), the measured amounts in the leaf extract of *Laurus nobilis* were as follows: for the Mostaganem sample, 6.79 mg GAE/g and 44 mg EQ/g of total polyphenols and flavonoids, respectively; for the Tissemsilt sample, 6.18 mg GAE/g and 31.02 mg EQ/g of extract for total polyphenols and flavonoids, respectively. The evaluation of antibacterial activity demonstrated that the essential oils and phenolic extracts of *Laurus nobilis* from Mostaganem and Tissemsilt have similar antimicrobial effects against the tested strains. The results suggest that the essential oils and phenolic extracts of the studied plant samples have similar biological properties, with the potential for use as antioxidants and antimicrobial agents.

Key words: *Laurus nobilis*, Essential oils, Polyphenol, Flavonoids, Antioxidant potential, Antibacterial activity.

ملخص

تُدرس مستخلصات نبات الغار، المعروف علمياً باسم *Laurus nobilis* على نطاق واسع لخصائصها البيولوجية المتنوعة. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للأوكسدة والمضاد للميكروبات للمستخلصات من الأجزاء الجوية لشجرة الغار النبيل، التي تم جمعها في مناطق مستغانم-سيدي علي وتيسمسيلت-لرجام. تم جمع الأوراق في كلتا المنطقتين وتعرضها لاستخراج فينولي بالإضافة إلى التقطير بالبخار للحصول على الزيوت الطيارة. كانت نسب استخراج الزيوت الطيارة بالتقطير بالبخار 0.4% لشجرة الغار النبيل من مستغانم و 0.8% لشجرة الغار النبيل من تيسمسيلت، بينما أظهرت المستخلصات الفينولية نسب استخراج بنسبة 11% لشجرة الغار النبيل من مستغانم و 16% لشجرة الغار النبيل من تيسمسيلت. أوضحت نتائج التقدير الكمي لكل من: المركبات الفينولية المتعددة و التي تم استخلاصها باستعمال طريقة (Folin-Ciocalteu) و الفلافونيدات المستخلصة بطريقة ثلاثي كلوريد الألمنيوم (AlCl₃) أن مستخلص أوراق نبات الغار يحتوي على 6.79 ملغم من EAG/غرام و 44 ملغم من EQ/غرام على التوالي لعينة مستغانم، و 6.18 ملغم من EAG/غرام و 31.02 ملغم من EQ/غرام لمستخلص عينة تيسمسيلت. أظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا أن الزيوت الأساسية والمستخلصات الفينولية لشجرة الغار النبيل من مستغانم وتيسمسيلت لها تأثيرات مضادة للميكروبات متشابهة ضد السلالات المختبرة. تشير النتائج إلى أن الزيوت الأساسية والمستخلصات الفينولية للعينات النباتية المدروسة لها خصائص بيولوجية متشابهة، مع إمكانية استخدامها كمضادات للأوكسدة ومضادات للميكروبات.

الكلمات المفتاحية: نبات الغار، زيوت اساسية، بوليفينول، فلافونويد، مضادات الأوكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا.

Liste des figures

Figure 1 : Partie aérienne de <i>Laurier noble</i> .	5
Figure 2: Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i> .	7
Figure 3 : Répartition géographique mondiale de <i>Laurus nobilis</i> .	8
Figure 4 : Structure chimique des polyphénols.	12
Figure 5 : Squelette carboné des flavonoïdes.	13
Figure 6 : Structures de bases des six principales sous classes de flavonoïdes.	13
Figure 7 : Composition chimique des tanins.	14
Figure 8 : Dispositif d'extraction par solvant.	15
Figure 9 : Coordonnées de la zone de récolte.	23
Figure 10 : Dispositif d'extraction par Hydrodistillation.	24
Figure 11: Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant.	27
Figure 12 : Réactivation des souches.	28
Figure 13 : Dispositif d'une microplaque 96 puits pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI.	31
Figure 14: Préparation des solutions mères (inoculum) et détermination de CMB.	32
Figure 15 : Taux d'humidité des feuilles sèches de <i>Laurus nobilis</i> pour les deux zones	35
Figure 16: Résultats d'extraction par solvant.	37
Figure 17 : Courbe d'étalonnage des polyphénols et flavonoïdes.	38
Figure 18 : Radical DPPH changement de couleur.	39
Figure 19: Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.	40
Figure 20 : Courbes test DPPH des huiles essentielles et des extraits phénoliques de <i>Laurus nobilis</i> .	40
Figure 21 : Témoin DMSO (résultat négatif).	42
Figure 22 : Activité antibactérienne des huiles essentielles <i>Laurus nobilis</i> Mostaganem avec huit souches bactériennes.	44
Figure 23 : Activité antibactérienne des huiles essentielles <i>Laurus nobilis</i> Tissemsilt avec huit souches.	45
Figure 24 : Représentation graphique de l'activité antibactérienne des huiles essentielles <i>Laurus nobilis</i> de Tissemsilt réalisée par la méthode de diffusion sur disque.	46
Figure 25 : Représentation graphique de l'activité antibactérienne des huiles essentielles <i>Laurus nobilis</i> de Mostaganem réalisée par la méthode de diffusion sur disque.	25
Figure 26 : Présentation graphique de l'activité antimicrobienne d'extrait <i>Laurus nobilis</i> Mostaganem la méthode de diffusion en puits à différentes concentrations.	46
Figure 27: Présentation graphique de l'activité antimicrobienne d'extrait <i>Laurus nobilis</i> Tissemsilt la méthode de diffusion en puits à différentes concentrations.	49
Figure 28 : Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur puits extrait de Mostaganem.	49
Figure 29 : Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur puits extrait de Tissemsilt.	51
	51

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification botanique de <i>Laurier noble</i> .	6
Tableau 2 : Souches bactériennes utilisées.	28
Tableau 3 : Rendements d'extraction pour l'extrait de <i>Laurus nobilis</i> .	36
Tableau 4: Propriétés physiques des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> Mostaganem et de Tissemsilt.	37
Tableau 5: Propriétés physiques des extraits du <i>Laurus nobilis</i> de Mostaganem et Tissemsilt.	37
Tableau 6 : Teneur de polyphénol.	38
Tableau 7 : Teneur de flavonoides.	39
Tableau 8: Coloration de Gram (Observation microscopique).	42
Tableau 9 : Activité antibactérienne des huiles essentielles <i>Laurus nobilis</i> Mostaganem et Tissemsilt réalisé par la méthode de diffusion sur disque	43
Tableau 10 : Activité antibactérienne des huiles essentielles <i>Laurus nobilis</i> Mostaganem réalisé par la méthode de diffusion par puits.	48
Tableau 11 : Activité antibactérienne des huiles essentielles <i>Laurus nobilis</i> Tissemsilt réalisé par la méthode de diffusion par puits.	48
Tableau 12 : Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) HE Mostaganem.	53
Tableau 13 : Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) HE Tissemsilt.	53
Tableau 14 : Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) Extrait Mostaganem.	54
Tableau 15: Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) extrait Tissemsilt.	54
Tableau 16 : Détermination de la CMI et CMB pour les huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> .	55
Tableau 17 : Détermination de la CMI et CMB pour l'extrait de <i>Laurus nobilis</i>	55

Liste des abréviations

- BN** : Bouillon nutritif.
- CMB** : Concentration Minimale Bactéricide.
- CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice.
- EAG** : Equivalent acide gallique.
- EQ** : Equivalent quercitine.
- GN** : Gélose nutritive.
- HE** : Huiles essentielles.
- mg** : Milligramme.
- MH** : Mueller-Hinton.
- mL** : Millilitre.
- mm** : Millimètre.
- µl** : Microlitre.
- DPPH** : 2,2-Diphényl 1-Picrylhydrazyle.
- RE** : Rendement d'extraction.
- CTT** : Chlorure de Triphényltétrazolium.

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
ملخص	
Résumé	
Abstract	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations et des symboles	
Introduction	1
Etude bibliographique	3
Chapitre I : Présentation de la plante étudiée	4
1. <i>Laurus nobilis</i> .L	5
1.2. Famille des Lauracées	5
1.3. Genre laurus	6
1.4. Espèce (<i>Laurus nobilis</i> L)	6
2. Classification Botanique	6
3. Nom vernaculaire de <i>Laurus nobilis</i>	7
4. Description botanique	7
5. Habitat	8
6. Répartition géographique	8
7. Utilisation des feuilles de <i>Laurus nobilis</i>	9
8. Composition chimique de <i>Laurus nobilis</i>	9
Chapitre II : Métabolites secondaires	10
1. Généralité sur les métabolites	11
2. Polyphénols	12
2.1. Activités biologiques des polyphénols	12
3. Flavonoïdes	12
3.1. Activités biologiques des flavonoïdes	13
4. Tanins	14
4.1. Activités biologiques des tanins	14
5. Techniques d'extraction	14
6. Activités antioxydantes	15
6.1. Stress oxydatif	15
7. Huiles essentielles	16
7.1. Activité biologique des huiles essentielles	17
7.2. Technique d'extraction des huiles essentielles	17
8. Activités Antimicrobiennes	18
8.1. Généralités sur les souches bactériennes étudiées	19
9. Effet toxicologique de <i>Laurus nobilis</i>	20
Partie expérimentale	
Chapitre III : Matériel et méthodes	22
1. Matériel végétal	23

1.1. Détermination du taux d'humidité	23
1.2. Extraction des huiles essentielles	24
1.3 Extraction des composés phénoliques	25
2. Dosage des composés phénoliques	25
2.1. Dosage des polyphénols totaux	25
2.2. Dosage des flavonoïdes	26
3. Détermination de l'activité antioxydante	27
3.1. Test de DPPH	27
4. Détermination de l'activité antimicrobienne	28
4.1. Technique de diffusion en milieu solide	29
4.2. Méthode de diffusion en disques	29
4.3. Méthode de diffusion en puits	29
4.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB)	29
4.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	30
4.6. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	31
5. Analyse statistique	33
Chapitre V : Résultats et discussion	34
1. Détermination du Taux d'humidité	36
2. Détermination du rendement d'extraction	36
2.1. Rendement d'extraction des huiles essentielles	36
2.2. Rendement d'extraction des extraits phénoliques	36
3. Propriétés physiques des extraits et des huiles essentielles	36
3.1. Les huiles essentielles	36
3.2. Extraits phénoliques	37
4. Dosage des composés phénoliques	38
4.1. Dosage des polyphénols totaux	38
4.2. Dosage des flavonoïdes	39
5. Activité antioxydante	39
6. Activité antibactérienne des huiles essentielles et des extraits phénoliques	41
6.1. Évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque	42
6.2. Évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur puits	47
6.3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)	52
6.4. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	54
Conclusion	59
Références bibliographiques	61
Annexes	70

Introduction

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales ont été utilisées en phytothérapie comme remède contre plusieurs maladies, vu leur richesse en centaines, voire en milliers de composants ayant des vertus thérapeutiques (**Franchomme et al., 2001**). Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**). Elles sont impliquées dans ces différents secteurs sous formes de principes actifs, des huiles, des extraits, des solutions aqueuses ou organiques (**Selles, 2012**).

Laurus nobilis, membre de la famille des lauracées qui renferme 32 genres et environ 2000-2500 espèces (**Barla et al., 2007**). Actuellement, la plante est largement cultivée dans beaucoup de pays comme plante ornementale et pour la production commerciale tels que la Turquie, l'Algérie, la France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les Etats-Unis Méridionaux (**Demir et al., 2004; Barla et al., 2007**).

Il est bien établi que le laurier *Laurus nobilis* est une plante médicinale utilisée en raison de ses propriétés pharmacologiques et ses avantages potentiels pour la santé liés à plusieurs composés présents dans la plante dont huiles essentielles (**Bruneton 1999, Demir et al., 2004**), ayant un effet antimicrobien avéré contre de nombreux microorganismes pathogènes tels, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*...etc (**Bouchaale et Zouaoui, 2015**)

L'extrait de *Laurus nobilis* apparaît comme un ingrédient important, étant une source d'une classe de composé appelés polyphénols (**Ivanović et al., 2009**), qui lui confèrent des propriétés thérapeutiques (ex: antioxydant, antimicrobien) (**Chaumun et al., 2020**). L'évaluation des effets biologiques des plantes reste un processus très précieux et très utile.

L'objectif de ce présent travail est de faire une synthèse de certains travaux de recherches étudiant à la fois la composition chimique et l'effet biologique de plantes aromatiques et médicinales *Laurus nobilis* L.

Ce travail est divisé en trois parties :

1. Une recherche bibliographique comprenant une description de la plante *Laurus nobilis* L, sa classification botanique, ses composants et quelques-uns de ses effets biologiques.

2. Une synthèse des différentes expérimentations et techniques de dosage. Dans cette partie, nous traiterons des articles scientifiques pour mettre en évidence les méthodes d'extraction, ainsi que l'étude des activités antibactérienne, antifongique et antioxydante de *Laurus nobilis*.
3. Les résultats et la discussion des différents auteurs. Enfin, une conclusion générale rassemblant l'essentiel des résultats des travaux et leurs perspectives.

Etude bibliographique

Chapitre I :
Présentation de la plante
étudiée

1. *Laurus nobilis*.L

Depuis les temps les plus reculés, l'homme a utilisé des plantes, d'abord pour se nourrir, puis pour se soigner. Il a appris, petit à petit, à reconnaître les plantes comestibles et les plantes toxiques, utilisant certaines d'entre elles à des fins guerrières, criminelles, magiques ou pour faciliter la pêche ou la chasse. Ces connaissances, d'abord transmises oralement, l'ont été ensuite dans des écrits, ce qui nous a permis de retrouver des traces de l'utilisation de plantes dans les plus anciennes civilisations des différentes parties du monde (Sumérienne, Babylonienne, Égyptienne, Chinoise, Hindoue, Aztèque, Inca, ...) (Callery, 1998).

Le *laurier noble*, appartient à la famille des Lauracées et se caractérise par son feuillage persistant. Il est bien connu pour son utilisation traditionnelle en cuisine et en médecine populaire. De nombreuses études ont été menées sur sa composition chimique et son potentiel pharmacologique. Il a été rapporté qu'il possède des propriétés antioxydantes, antibactériennes, antifongiques, ce qui en fait une plante d'une grande importance clinique. (Awada *et al.*, 2023).

Les feuilles de *laurier* ont été largement utilisées comme assaisonnement et plante médicinale depuis l'Antiquité grecque et romaine (Figure 1) (Demir *et al.*, 2004).



Figure 1 : Partie aérienne de *Laurier noble*.

1.2. Famille des Lauracées

Lauracées sont des arbres ou arbustes souvent aromatiques, d'un bois très-dur et d'une odeur très-agréable leurs feuilles sont isolées, rarement opposées, ordinairement persistantes et coriaces, parfois avec des glandes à la base des nervures (Perrot, 1891). La famille des Lauracées, par le nombre des espèces qui la représentent et par la taille que ses représentants peuvent atteindre, compte parmi les plus importantes de la flore de l'Amérique tropicale (Benoist, 1928). Comprennent 32 genres et environ 2000-2500 espèces (Ozcan, 2010). Certains membres peuvent atteindre des hauteurs impressionnantes et vivre pendant des siècles (Benoist, 1928). Le laurier noble représente non seulement un élément crucial de la biodiversité, mais aussi un symbole puissant de la relation complexe entre l'homme et la

nature, reliant passé et présent à travers ses multiples dimensions écologiques, esthétiques et culturelles.

1.3. Genre *Laurus*

Le genre *Laurus* comprend trois espèces : *Laurus azorica*, *Laurus nobilis* et *L.novocanariensis*. La première espèce se trouve dans les forêts des îles des Açores, la seconde dans l'ensemble du bassin méditerranéen, tandis que la troisième est présente sur l'île de Madère, aux Canaries et au Maroc .En outre, *Laurus nobilis* est largement cultivé dans de nombreuses régions du monde pour ses feuilles aromatiques utilisées en cuisine et en médecine traditionnelle. (Ballabio et Goetz, 2010).

1.4. Espèce (*Laurus nobilis* L)

Laurus, nom latin d'origine celte qui veut dire « toujours vert », caractérise le feuillage persistant de la plante (Pariante, 2001). Appartenant à la famille des lauracées, (Barla et al., 2007). Cette plante médicinale aromatique abondante bénéficie de propriétés thérapeutiques attribuées par la médecine traditionnelle, ainsi que de diverses propriétés anti-inflammatoires et antiseptiques grâce à ses composants (Bouchaale et al., 2015). Les feuilles de *Laurus nobilis* sont largement utilisées et connues comme assaisonnement et herbe médicinale depuis les périodes antiques grecque et romaine (Demir et al., 2004)(Tableau 1)

2. Classification Botanique

La classification des *Lauriers*, représentée de manière instructive dans le tableau ci-dessous (Tableau 1) offre une vue d'ensemble structurée de la diversité fascinante de ces plantes.

Tableau 1 : Classification botanique de Laurier noble (Quezel et Santa, 1962).

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

3. Nom vernaculaire de *Laurus nobilis*

D'une région à une autre à travers le monde, *Laurus nobilis* est désigné par une variété de noms, reflétant la richesse de sa présence et de son importance culturelle. Cette diversité linguistique.

Français : Laurier d'Apollon, Laurier commun, Laurier franc, Laurier noble.

Allemand : Lorbeer.

Anglais : Laurel, noble Laurel.

Italien : alloro.

Portugais : Louro.

Arabe : نبات الغار **En Algérie** : الرند (Ballabio, 2010).

4. Description botanique

Laurus nobilis est un arbuste ou arbre aromatique de 2 à 10m de hauteur à croissance lente, et au tronc droit ramifié dès la base avec un sommet conique, et s'arrondissent en fil du temps (Quezel et Santa, 1963) (Figure 2).

Les Feuilles : Le feuillage est persistant avec des feuilles aromatiques, simples, alternes et coriaces dont le pétiole mesure de 2 à 5 cm, longues de 5 à 12 cm et large de 2 à 6 cm. Elles sont lancéolées, légèrement ondulées et entaillées au bord; de couleur vertes foncées, brillantes sur la face supérieure et verte clair au-dessous avec des nervures latérales pennées et rougeâtres (Quezel et Santa, 1963)

Le fruit : est une baie ovoïde, soutenue par le tube périthaïque peu dilaté. De 2 cm de longueur à 1cm de largeur, le fruit est noir vernissé renfermant une seule graine libre (Figure 2) (Beloued, 2005).

Les fleurs : Les fleurs sont dioïques (petites fleurs mâles et femelles sur des pieds séparés), jaunes, groupées par 4 à 5 en petites ombelles (Beloued, 2005).

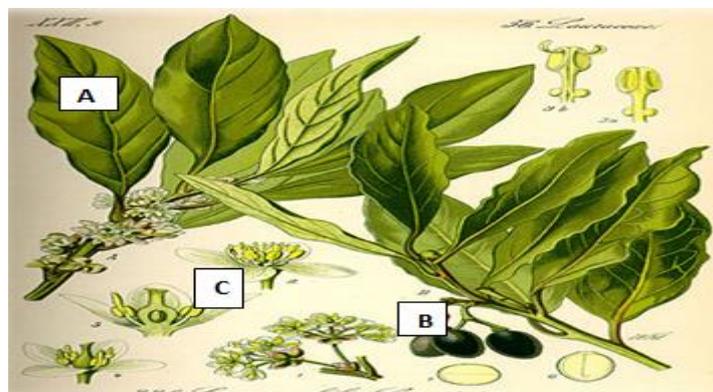


Figure 2: Aspect morphologique de *Laurus nobilis* A: feuille B: fruit C: fleurs (Beloued, 2005)

5. Habitat

Laurus nobilis est une plante à développement lent, présente naturellement dans des milieux humides et ombragés, ainsi que dans les jardins où elle est cultivée à des fins culinaires ou ornementales. Il s'agit d'une espèce pionnière qui se régénère facilement dans les vieux jardins, particulièrement en sous-bois, et qui préfère les sols relativement riches et bien drainés (Iserin, 2001).

6. Répartition géographique

Laurus nobilis est originaire de la région méditerranéenne. Les anciens Grecs et Romains l'utilisaient comme condiment et médicament. Dans la mythologie grecque, elle était considérée comme sacrée, c'est pourquoi dans la Grèce antique, recevoir une couronne de feuilles de laurier était considéré comme un honneur. Les vainqueurs olympiques, les poètes, les vainqueurs et les héros recevaient cette couronne à porter sur la tête. Cette habitude était également acceptée par les Romains (Ballabio et Goetz, 2010).

En Algérie Dans les forêts et ravins humides. Commun dans le tell algérois et constantinois. Fluorisation: Mars Avril (Beloud, 2001). Cette plante emblématique est également largement cultivée pour la commercialisation de ses feuilles aromatiques dans divers pays, notamment en Turquie, au Maroc, au Portugal, en Espagne, en Italie, en France, en Grèce et au Mexique (Bendjarsia *et al.*, 2016 ; Maatallah *et al.*, 2016). Au-delà de son aire d'origine, le laurier noble connaît une popularité mondiale en raison de ses multiples utilisations en cuisine et en médecine traditionnelle (Figure 3).



Figure 3 : Répartition géographique mondiale de *Laurus nobilis* (GBIF).

7. Utilisation des feuilles de *Laurus nobilis*

Traditionnellement, *Laurus nobilis* est également utilisé par voie orale pour traiter divers troubles du système digestif supérieur, tels que le ballonnement épigastrique, la lenteur de la digestion. (Iserin, 2001). Il est principalement utilisé pour soigner les troubles de l'appareil digestif supérieur et les douleurs arthritiques, en outre, il stimule l'appétit et la sécrétion des sucs gastriques (Iserin, 1997).

L'extrait est utilisé dans la médecine traditionnelle turque en tant qu'anti hémorroïdal, antirhumatismal, diurétique et comme un antidote dans des morsures de serpent et pour le traitement du mal d'estomac (Kivçak et Mert, 2002).

L'huile essentielle extraite des feuilles est utilisée pour soulager les hémorroïdes et les douleurs rhumatismales (Sayyah *et al.*, 2002), et trouve également des applications dans l'industrie cosmétique, notamment en parfumerie et dans la fabrication de savons. Ses propriétés insectifuges en font un moyen efficace de repousser les insectes indésirables (Demir *et al.*, 2004 ; Beloued, 2005).

8. Composition chimique de *Laurus nobilis*

La composition chimique du *Laurus nobilis* est riche et variée. Les feuilles contiennent du tanin, un principe amer, du mucilage, des matières résineuses et pectiques, et des huiles essentielles aromatiques incolores ou jaune pâle, à saveur chaude, constituées d'un mélange de 45% de cinéol, de méthylchavicol, de pinène, d'eugénoïl, de linalol, d'éthers des acides acétiques isobutyrique et valérianique. Les baies renferment 17 à 25% d'huile de Laurier, 23% d'amidon, 2% de sucre, 0,85% de principes amers, une résine, du mucilage, de la bassorine, et 1 à 3% d'huiles essentielles. Les huiles essentielles de cette plante sont composées d'un mélange d'oxydes terpéniques, avec notamment le 1,8-cinéole représentant environ 45% de leur composition. On y retrouve également des monoterpénols tels que le linalol, le terpinen-4-ol et l'alpha-terpinéol, des monoterpènes comme la sabinène, le bêta-pinène, l'alpha-pinène, le limonène, le para-cymène et le gamma-terpinène, ainsi que des phénols tels que le méthyl-eugénoïl et l'eugénoïl. De plus, on y trouve des esters terpéniques tels que l'acétate d'alpha-terpényle et l'acétate de bornyle, ainsi que des éthers des acides acétiques isobutyrique et valérianique (Beloued, 2009).

Chapitre II :
Métabolites secondaires

1. Généralités sur les métabolites

Métabolisme

Le métabolisme est l'ensemble des réactions chimiques qui se déroulent au sein d'un être vivant pour lui permettre notamment de se maintenir en vie, de se reproduire, de se développer et de répondre au stimulus de son environnement. Certaines de ces réactions chimiques se déroulent en dehors des cellules de l'organisme, comme la digestion ou le transport de substances entre cellules. Cependant, la plupart de ces réactions ont lieu dans les cellules elles-mêmes et constituent le métabolisme intermédiaire (**Chaib, 2020**).

Métabolites Primaires

Un métabolite primaire est un type de métabolite qui est directement impliqué dans la croissance, le développement et la reproduction normale d'un organisme ou d'une cellule. Ce composé a généralement une fonction physiologique dans cet organisme, c'est-à-dire une fonction intrinsèque. Les métabolites primaires rassemblent les acides aminés, les lipides, les carbohydrates et les acides nucléiques. Inversement, un métabolite secondaire n'est pas directement impliqué dans ces processus physiologiques fondamentaux (indispensables) d'un organisme, mais possède typiquement une fonction écologique importante (c'est-à-dire une fonction relationnelle) (**Chaib, 2020**).

Métabolites Secondaires

Les métabolites secondaires sont des composés qui ne jouent aucun rôle fondamental dans le maintien des processus vitaux des plantes, mais ils sont importants pour que la plante interagisse avec son environnement (**Seigler, 1998**). Les plantes se protègent en produisant des métabolites secondaires qui défendent la plante contre une variété d'herbivores et de microorganismes pathogènes, ainsi que contre divers types de stress environnementaux (**Mazid et al., 2011**). Parmi ces métabolites secondaires, on trouve les composés phénoliques, qui sont des molécules organiques très représentées dans le règne végétal. Ces composés sont caractérisés par des structures aromatiques portant un groupe hydroxyle, comme les phénols simples, ou plusieurs groupes hydroxyles, comme les polyphénols. Les acides polyphénoliques, les flavonoïdes et les tanins font partie de la famille des composés polyphénoliques (**King et Young, 1999**).

2. Polyphénols

Les polyphénols représentent une classe de métabolites secondaires largement répandue dans le règne végétal. Ils s'accumulent principalement dans l'épiderme des feuilles et la peau des fruits, et sont impliqués dans une grande diversité de fonctions comme la protection contre les rayonnements UV, contre les virus, bactéries ou moisissures ou la tolérance aux stress abiotiques. Ils jouent également un rôle dans la pollinisation (**Lattanzio *et al.*, 2006; Samanta *et al.*, 2011**) (Figure 4).



Figure 4 : Structure chimique des polyphénols (**Samanta *et al.*, 2011**).

2.1. Activités biologiques des polyphénols

Les polyphénols ont plusieurs activités biologiques telles que les activités antioxydantes, antivirales (**Ulomskiy *et al.*, 2020**), antibactériennes (**Abudunia *et al.*, 2017**), antidiabétiques (**Ren *et al.*, 2020**), anticancéreuses (**Yang *et al.*, 2020**), anti-inflammatoire (**Javed *et al.*, 2020**), cardioprotectrices, neuroprotectrices, antiasthmatiques, antiseptiques, protection cérébrovasculaire, hypocholestérolémiantes, antifongique, anti thrombotiques, (**Ali *et al.*, 2007**), antiallergiques (**Falleh *et al.*, 2008**).

3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont stockés dans les tissus des plantes et sont conjugués principalement à des sucres, ou des acides organiques (**Falcone Ferreyra *et al.*, 2012**). Les flavonoïdes regroupent une large gamme de composés naturels polyphénoliques présentant un squelette carboné commun en C₆-C₃-C₆ (squelette diphenylpropane) et présentant de nombreux substituants (**Crozier *et al.*, 2009**). Structuellement les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones, les anthocyanes et les tanins. Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. Ils se trouvent, en général, dans toutes les plantes

vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes tel que les racines, les tiges, le bois, les feuilles, fleurs et fruits et dans le miel (Benguerba, 2008) (Figure 5-6).

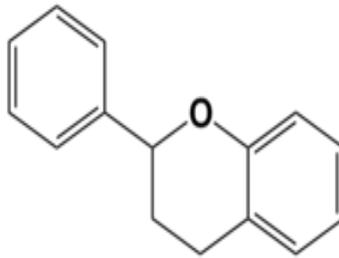


Figure 5 : Squelette carboné des flavonoïdes (Crozier *et al.* , 2009).

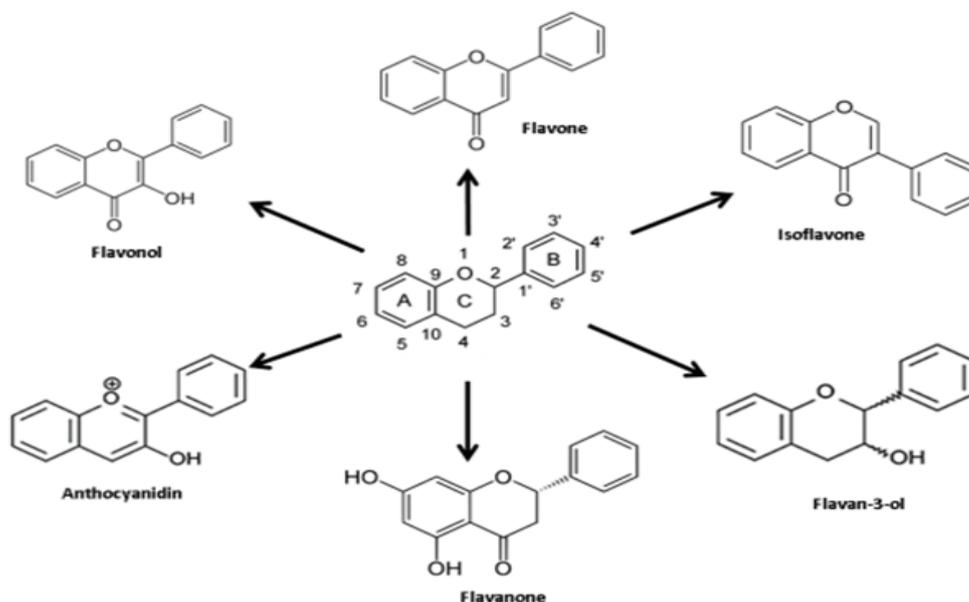


Figure 6 : Structures de bases des six principales sous classes de flavonoïdes (Benguerba, 2008).

3.1. Activités biologiques des flavonoïdes

Activité anti-oxydante :

Les flavonoïdes sont des composés avec une activité antioxydante prononcée (Hodek *et al.*, 2002). Les flavonoïdes expriment les propriétés anti-oxydantes par : Le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO), La suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur Production, La protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (Liang, 2006).

Activité antibactérien :

Les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de plusieurs souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, etc...), avec une intensité différente selon le microorganisme et l'écosystème (Abdelkhalek *et al.*, 2020).

4. Tanins

Les tanins sont un nom général pour les composés phénoliques polymérisés, d'origine végétale et non azotée qu'on trouve dans de nombreux végétaux (Macheix *et al.*, 2005), capables de tanner le cuir ou de précipiter les protéines et la gélatine dans les solutions, et cet effet est connu sous le nom d'astringent ou de tanins (Berthod *et al.*, 1999). refaire à la plante une protection contre les prédateurs (insectes), les bactéries, les champignons, et les mammifères herbivores (Paolini *et al.*, 2012). Ce sont des molécules assez volumineuses avec un poids moléculaire généralement compris entre 500 et 3000 Da (Dangles O. *et al.*, 1992) (Figure 7).

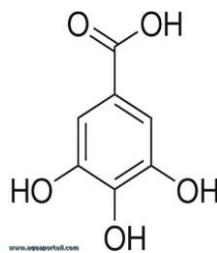


Figure 7 : Composition chimique des tanins (Paolini *et al.*, 2012).

4.1. Activités biologiques des tanins**Activité-antioxydante**

Les tanins ont la particularité d'inhiber la peroxydation des lipides en agissant comme donneur des protons et accepteur des radicaux libres, stoppant ainsi le mécanisme d'auto oxydation (Liang *et al.*, 2020) comme les procyanidines (Luo *et al.*, 2018). Les tanins hydrolysables et condensés sont 15 à 30 fois plus efficaces que les phénols simples (Peronny, 2005).

Activité antimicrobienne

Les tanins ont été rapportés comme bactériostatique ou bactéricide sur plusieurs souches bactériennes. L'acide tannique peut inhiber la croissance des bactéries des aliments et des bactéries intestinales humaines (Djahra *et al.*, 2013).

5. Techniques d'extraction

Un extrait végétal est un ensemble composé de molécules. Ces substances se trouvent dans les feuilles et les fleurs, mais également dans les graines, les racines et les écorces des

plantes (Bensaid, 2011). Il existe plusieurs techniques d'extraction, chacune adaptée à différents types de plantes et aux composés spécifiques que l'on souhaite extraire. Les méthodes les plus couramment utilisées comprennent la distillation à la vapeur d'eau (hydro-distillation), l'expression à froid, l'extraction par solvant et l'extraction au CO₂ supercritique. Ces méthodes permettent de cibler et de préserver les composés actifs des plantes, assurant ainsi leur efficacité dans les applications industrielles et thérapeutiques.

Extraction par solvant

L'extraction par solvant volatil est aujourd'hui la méthode la plus usitée, ce procédé est utilisé pour l'extraction des concrètes ou oléorésine de résinoïde et absolues, quand une partie de l'arôme ou du parfum n'est pas volatile ou peu entraînable par la vapeur d'eau. Son principe consiste à épuiser la matière végétale de ses constituants odorants généralement à température ambiante par un solvant volatil. Le mélange solvant-extrait, appelé miscella, est ensuite séparé du solvant par évaporation sous vide afin d'éviter la dégradation thermique des molécules odorantes (Leybros, 1990) (Figure 8).

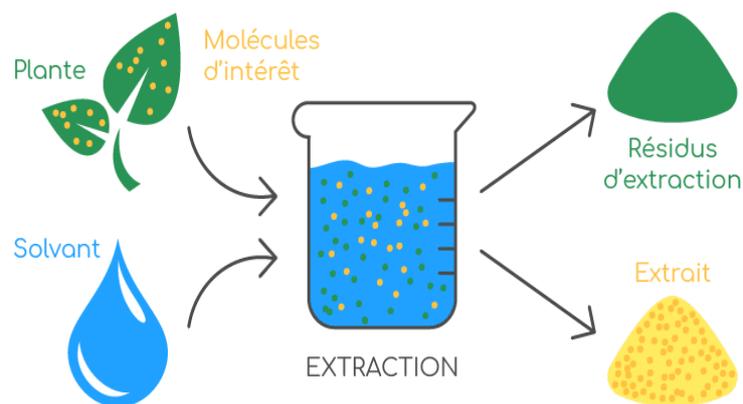


Figure 8 : Dispositif d'extraction par solvant (Leybros, 1990).

6. Activités antioxydantes

6.1. Stress oxydatif

Le concept global de "stress oxydatif" est défini comme "un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants en faveur des oxydants, entraînant une perturbation de la signalisation redox et du contrôle et/ou des dommages moléculaires". L'idée de base est que, dans le système métabolique ouvert, un équilibre redox à l'état stable est maintenu à un point de consigne donné, fournissant une tonalité redox de base, et qu'une déviation de cet équilibre redox à l'état stable est considérée comme un stress, initiant une réponse au stress (Sies, 2017).

Antioxydant

Un antioxydant est une substance qui, à faible concentration, prévient ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat (**Halliwell et al., 1990**). Ils interviennent pour prévenir la formation des radicaux libres, faciliter leur élimination ou réparer les dommages qu'ils causent.

Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, molécule ou atome, capable d'avoir une existence indépendante en contenant un ou plusieurs électrons célibataires. Le radical libre a la propriété d'être instable, très réactif avec une durée de vie très courte. Pour devenir stable, il aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron, par l'oxydation d'un autre composé (**Goudable et al., 1997**).

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes ROO• par les méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) (**Ricardo et al., 1991**) ; les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) (**Benzie et al., 1996**); ou les radicaux ABTS• (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonic) (**Re et al 1999**), ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH• (diphényl-picrylhydrazyle) (**Sharma et al., 2009**).

7. Huiles essentielles

Les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentés sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches et les bois, Elles sont présentes en petite quantités par rapport à la masse du végétal. Ce sont des substances odorantes et très volatiles, c'est-à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air (**Bekhechi et Abdelouahid, 2014**). Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, anti-oxydantes, et antiparasitaires (**Lahlou, 2004**).

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal et surtout chez les végétaux supérieurs, il y aurait 17500 espèces aromatiques. Les familles botaniques capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont réparties dans un nombre limité de familles: Myrtaceae (Girofle), Lauraceae (laurier), Rutaceae (citron), Lamiaceae (Menthe), Apiaceae (Coriandre), Zingiberaceae (Gingembre)... etc (**Benkada, 1990**)

7.1. Activité biologique des huiles essentielles

Les huiles possèdent une multitude d'activités biologiques comme antimicrobiennes, antioxydantes, anti-biofilm, anti-inflammatoires ...ect.

Activité antioxydante des huiles essentielles

Les propriétés antioxydantes des huiles essentielles sont depuis peu massivement étudiées. Les huiles essentielles possèdent de puissants composés antioxydants (**Edris, 2007**).

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (**Richard, 1992**). Le thymol et le carvacrol sont encore une fois les composés les plus actifs. Leur activité est en relation avec leur structure phénolique car les composés de ce type ont des propriétés oxydo-réductrices et jouent ainsi un rôle important en neutralisant les radicaux libres et en décomposant les peroxydes (**Braga et al., 2006**).

Activité antimicrobienne des huiles essentielles

En général, les différents microorganismes n'ont pas une sensibilité similaire vis à vis des huiles essentielles. Parmi les microorganismes, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* (Gram positif), *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Gram 16 négatif), *Candida albicans* (Levures) et *Aspergillus niger* (champignons) ont été les plus étudiés. Les champignons montrent généralement une sensibilité supérieure par rapport aux bactéries et parmi les bactéries, les Gram négatif apparaissent plus résistants que les Gram positif vis-à-vis des huiles essentielles (**Amaral et al., 1998; Cox et al., 2000**).

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été la plus étudiée. On distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur ces microorganismes : Effet bactéricide (bactéricide) exerçant une activité létale et Effet bactériostatique (bactériostase) entraînant une inhibition de la croissance. L'activité bactériostatique est souvent plus assimilable aux huiles essentielles que l'activité bactéricide. Cependant il a été démontré que certains constituants chimiques des huiles essentielles ont des propriétés bactéricides (**Kunle et al., 2003**).

7.2. Technique d'extraction des huiles essentielles

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière végétale dans un ballon contenant de l'eau pour éviter des réactions de dégradations de la plante. Le mélange est porté à ébullition. Sous l'effet de la chaleur, de la vapeur d'eau se forme et le mélange «eau - huile» distille selon le principe de distillation (**Fernandez & Casale., 2015**). Le mélange vapeur est

ensuite refroidi et condensé moyennant un condenseur et récupéré (Fernandez & Casale., 2015).

8. Activités Antimicrobiennes

Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. (Haddouche, 2008).

l'activité antimicrobienne des huiles et des extraits de plantes ont formé la base de beaucoup d'applications, y compris, pharmaceutiques, médecine, thérapie naturelle et la conservation des aliments (Sagdic *et al.*, 2002).

Activité microbienne

L'ensemble des processus et des réactions biochimiques qui sont effectués par les micro-organismes. Ces activités peuvent inclure la croissance, la reproduction, le métabolisme, la dégradation des substrats organiques, la synthèse de composés spécifiques, la résistance aux agents antimicrobiens, etc. (Tortora, 2019).

Un **antimicrobien** est une substance ou un agent qui détruit ou inhibe la croissance des micro-organismes tels que les bactéries, les virus, les champignons ou les parasites. (Tortora, 2019).

La sensibilité des microorganismes à l'action des plantes est un domaine d'étude fascinant en écologie et en microbiologie. Les plantes, en tant qu'organismes multicellulaires immobiles, ont développé une multitude de mécanismes de défense pour se protéger contre les microorganismes pathogènes et pour interagir avec ceux qui sont bénéfiques.

Certaines plantes produisent des métabolites secondaires spécifiques, tels que les phytoalexines, qui sont des substances chimiques produites en réponse à une infection microbienne. Ces métabolites peuvent avoir des effets antimicrobiens directs en inhibant la croissance des microorganismes pathogènes ou en interférant avec leur cycle de vie. (Stout *et al.*, 2003).

8.1. Généralités sur les souches bactériennes étudiées

1. *Bacillus* : (*Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis*)

Les bactéries du genre *Bacillus* sont des grands bacilles à Gram positif, groupés en chaînettes. La plupart sont des saprophytes du sol, de l'eau, de l'air et des plantes, comme *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis*. Certains sont pathogènes pour les insectes. *Bacillus cereus* peut se multiplier dans les aliments et y produire une entérotoxine qui provoque des diarrhées par un

mécanisme similaire à celui de l'entérotoxine d'*E.coli*. Mais ces bactéries ne produisent que rarement une infection chez l'homme (**Pierre et Marie, 2007**).

2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une cocci (coque) à Gram positif qui se trouve sous forme d'amas. C'est un germe ubiquitaire très résistant, il se trouve dans l'environnement ; dans l'air, l'eau, le sol et dans les aliments ; chez l'homme et les animaux : la peau et les muqueuses (nasale, périnée, oropharynx) (**Pierre et Marie, 2007**).

3. *Escherichia coli*

Escherichia coli est un bacille Gram négatif sporulé, souvent mobile de la famille des Enterobacteriaceae. C'est un hôte normal ou pathologique de l'homme et des animaux, il est très résistant dans le milieu extérieur et c'est un indicateur de pollution fécale (**Pierre et Marie, 2007**).

4. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa Communément appelé bacille pyocyanique est un bacille à Gram négatif mobile. C'est une bactérie qui est répandue dans la nature, vivant dans l'eau et dans le sol, on les retrouve également dans les hôpitaux : dans les endroits humides, siphons de lavabos notamment. Elles font aussi partie de la flore de transit de l'homme (on les retrouve dans le tube digestif) (**Pierre et Marie, 2007**).

5. *Klebsiella pneumoniae*

Est le principal représentant du genre *Klebsiella*. Ce sont de gros bacilles à Gram négatif, en forme de bâtonnet court de 1 à 2µm sur 0,3, ils sont polymorphes, parfois cocciformes, immobiles, entourés d'une capsule et appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae (**Bugnicourt, 1995**).

6. *Proteus mirabilis*

Ce sont des bactéries Gram négatif très mobiles (pouvant envahir les milieux de culture) qui se distinguent facilement des autres entérobactéries par leurs caractères biochimiques (uréase +, tryptophane désaminase +) et leur résistance naturelle à la colistine. C'est un commensal du tube digestif. *Proteus mirabilis* vient au second rang, après *E.coli*, dans l'étiologie des infections urinaires de ville (10 % des cas). C'est une espèce bactérienne habituellement sensible aux antibiotiques. (**Pierre et Marie, 2007**).

7. *Candida albicans*

Candida albicans est l'espèce de levure la plus importante et la plus connue du genre *Candida*. Elle se présente sous forme de cellules ovales ou rondes de 3 à 5 µm de diamètre, non sporulées, bourgeonnantes, parois minces (**Bugnicourt, 1995**).

9. Effet toxicologique de *Laurus nobilis*

Les feuilles de laurier et les huiles essentielles qu'elles contiennent ne semblent pas avoir d'effets toxiques significatifs. Cependant, elles peuvent provoquer des réactions de sensibilisation (dermatite de contact allergique) car elles renferment des lactones sesquiterpéniques, dont le principal est le costunolide (**Bruneton, 2002**).

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde ou phototoxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines). D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique, les cétones comme l' α -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux (**Guba, 2001**).

Partie expérimentale

Chapitre III:
Matériel et méthodes

III. Matériel et méthodes

Lieu de l'expérimentation

Cette étude a été réalisée au sein du laboratoire de recherche de microbiologie et de biologie végétale à l'université « Abd Elhamid Ibn Badis- Faculté SNV » de Mostaganem.

1. Matériel végétal

Les échantillons de feuilles de *Laurus nobilis L.* ont été récoltés dans deux régions distinctes d'Algérie, notamment une zone côtière dans la wilaya de **Mostaganem**, spécifiquement à Sidi Ali, et une zone intérieure (Lardjem) dans la wilaya de **Tissemsilt**, au cours du mois de février 2024. Ces feuilles ont été acheminées au laboratoire pour être nettoyées des impuretés avec de l'eau distillée, puis séchées. Ensuite, elles ont été pesées et placées dans des sacs propres en vue d'études biologiques (**Figure 9**).



Figure 9 : Coordonnées de la zone de récolte « (A) Mostaganem, Sidi Ali » « (B) Tissemsilt, Lardjem » *Google map*.

1.1. Détermination du taux d'humidité

Afin de déterminer la teneur en eau (taux d'humidité) de deux zones de *Laurus nobilis* (Mostaganem et Tissemsilt), une quantité de feuilles fraîches de masse M_f (100 g) a été séchée dans une étuve de type Memmert à 45 °C pendant 5 jours (jusqu'à un poids constant). La masse des feuilles séchées (M_s) a été mesurée à l'aide d'une balance de précision (**Bourkhiss et al., 2009**). La teneur en eau est donnée par la formule ci-dessous:

$$T \text{ Eau } \% = (P_f - P_s / P_f) \times 100$$

T Eau % : Taux d'humidité.

Pf : Poids végétale fraîche (g).

Ps : Poids végétale sèche (g).

La teneur en matière sèche est calculée selon la relation suivante:

$$Ms \% = 100 - T \text{ Eau}\%.$$

1.2 Préparation des échantillons pour l'extraction:

Tous les essais qui suivent ont porté sur du matériel séché à l'air libre, à l'abri de la lumière. Le matériel végétal a été ensuite finement broyé à l'aide d'un moulin à couteaux ou à l'aide d'un broyeur à bille afin de permettre une bonne extraction. Les poudres des échantillons préparés sont ensuite, conservées dans des flacons à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation. La conservation se fait dans des flacons hermétiques au réfrigérateur. Toutes ces opérations permettent de pallier à la dégradation de certains constituants et contribuent à l'inhibition de toutes activités enzymatiques de leur dénaturation (Benamar, 2008).

1.3. Extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. a été réalisée par hydro-distillation simple. Le dispositif de l'hydro-distillation est représenté dans la (Figure 10).

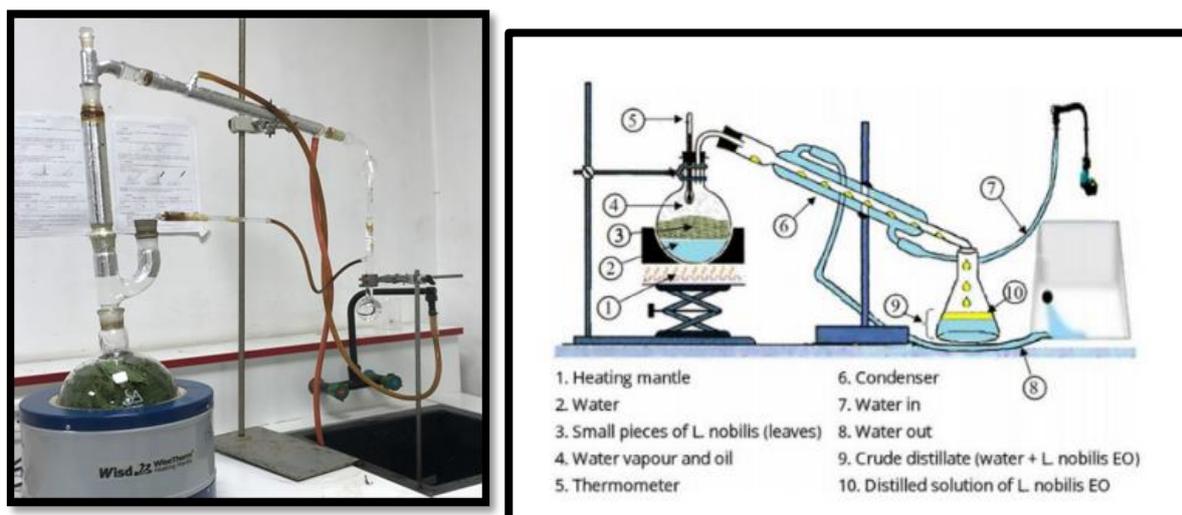


Figure 10 : Dispositif d'extraction par Hydrodistillation

L'hydrodistillation, selon le protocole décrit par Taarabt *et al.* (2017), l'extraction de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil à distiller de laboratoire à fonctionnement continu (Les feuilles fraîches ont été soumises à une hydrodistillation à l'aide d'un appareil *Clevenger* entièrement en verre).

Mode opératoire

300 g de feuilles de *Laurus nobilis* L. ont été pesés. Ces échantillons ont ensuite été placés dans un ballon de distillation. 1,5 L d'eau distillée ont été ajoutés au ballon pour immerger complètement les échantillons. Le système de refroidissement (condenseur) a été assemblé de manière à être connecté au ballon de distillation. Il a été vérifié que le réfrigérant

Clevenger (ou un système similaire) était prêt pour la collecte d'extraits volatils. Ensuite, le chauffage de l'eau dans le ballon de distillation a été initié à l'aide du chauffe-ballon, et le processus a été maintenu pendant une période de 3 heures.

1.3 Extraction des composés phénoliques

L'utilisation de composés bioactifs dans différents secteurs (pharmaceutique, alimentaire et chimique) nécessite une méthode plus appropriée pour extraire ces composants actifs des matières végétales. L'extraction consiste à séparer les parties bioactives de tissus végétaux des composants inactifs ou inertes en utilisant des solvants sélectifs dans les procédures d'extraction (**Handa, 2008**). Dans cette étude, l'eau distillée a été utilisée comme solvant.

Préparation d'extrait

L'extrait est préparé en suivant la méthode décrite par **Ljubuncic et al. (2009)** avec quelques modifications. Cet extrait est obtenu à partir de l'infusion de 100 g de poudre des feuilles dans 500 mL d'eau distillée sous agitation pendant 24 h. Ensuite une filtration par papier filtre a été effectuée. Le filtrat est placé dans l'étuve à 45 °C pendant 48h et, conservé par la suite à - 4 °C jusqu'à son utilisation.

1.4. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction (les huiles brutes, extrait brute) est défini comme étant le rapport entre la masse d'extraction (les huiles brutes, extrait brute) obtenue après l'extraction et la masse de la matière végétale traitée (**Boutekedjir et al., 2003**). Il est calculé selon la formule suivante (**Fadil et al., 2015**) :

$$RE = (PE / PMV) \times 100$$

RE : Rendement d'extrait (%)

PE : Poids de l'extrait (g)

PMV : Poids de matière végétale (g)

2. Dosage des composés phénoliques

2.1. Dosage des polyphénols totaux

Principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre en utilisant l'essai de Folin-Ciocalteu. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de folin-ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phospho-molybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) est réduit, lors de l'oxydation

des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et molybdène (MO_8O_{23}). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait végétal (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Mode opératoire

Un volume de 0,2 mL d'extrait a été mélangé avec 1 mL de Folin-Ciocalteu (5 %). Après 5 minutes, on ajoute 800 mL d'une solution de carbonate de sodium (3,75 %). Le mélange est incubé à température ambiante à l'obscurité pendant 30 min et l'absorbance est lue à 765 nm sur un spectrophotomètre. L'acide gallique est utilisé comme standard de référence. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec ($\mu\text{g EAA/g ES}$) (**Singleton et Rossi, 1965**) (Annexe 2).

L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans la méthode au Folin-Ciocalteu (**Maisuthisakul et al., 2008**). La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, cette dernière est établie avec le standard étalon d'acide gallique (0,01-0,1 mg/ mL), les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g).

2.2. Dosage des flavonoïdes

La formation d'un complexe jaunâtre, lors de l'ajout du chlorure d'aluminium, est due à la fixation des ions Al^{3+} sur les atomes d'oxygène, présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. La quantité de flavonoïdes dans un extrait devrait être déterminée selon le flavonoïde prédominant, cependant la quercétine est largement utilisée comme standard pour la détermination de la teneur des flavonoïdes dans un échantillon (**Bahorun et al., 1996**) (Annexe 2).

Mode opératoire

La méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) citée par Chang *et al.* (2002) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits. Le protocole du dosage consiste à mélanger, dans des tubes à essai, 1000 μL d'extrait dilué avec 1000 μL de solution d' $AlCl_3$ (2%). Après 10 mn d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, la lecture des absorbances est faite à 430 nm.

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par la quercétine à différentes concentrations (0,001-0,01mg/ mL) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g).

3. Détermination de l'activité antioxydante

3.1. Test de DPPH

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante, in vitro et in vivo des composés phénoliques purs ou d'extrait. Dans notre étude nous avons utilisé des tests chimiques qui mesurent la réduction du radical stable le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) (Sharma *et al.*, 2009 ; Bourkhiss *et al.*, 2010)(Figure 11).

Principe

Le DPPH (2,2-Diphényl 1-Picrylhydrazyle) (Figure 11) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 515nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune, les absorbances mesurées à 515 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir anti-radicalaire de l'échantillon (Molyneux, 2004).

Mode opératoire (DPPH)

La procédure décrite par **Thaiponga *et al.* (2006)** a été suivie pour évaluer l'effet de capture des radicaux libres des extraits de *Laurus nobilis* sur le radical DPPH. Des volumes de 150 μ L d'extraits à diverses dilutions ont été mélangés avec 2850 μ L de solution de travail de DPPH (24 mg/100 mL dans le méthanol a été dilué pour obtenir une absorbance de $1,1 \pm 0,02$ à 515 nm) pendant 30 minutes. L'absorbance a ensuite été enregistrée à 515 nm. L'acide ascorbique a été utilisé comme étalons dans les mêmes conditions. Le % d'inhibition des extraits a été calculé selon la formule suivante :

Les concentrations d'échantillons fournissant 50% de l'effet antioxydant (IC_{50}) ont été déterminées en utilisant les graphiques des pourcentages d'effet antioxydant par rapport aux concentrations d'échantillons (Ziani *et al.* , 2019).

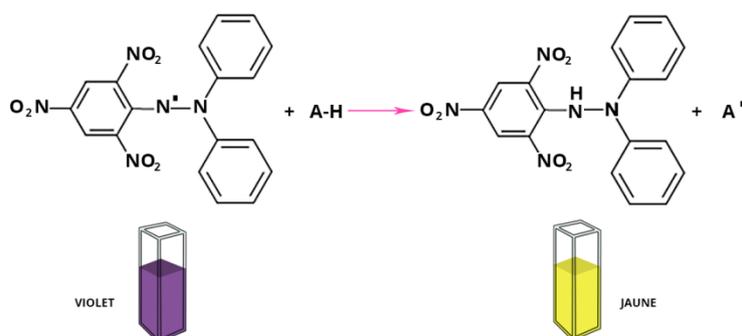


Figure 11: Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant (Cillard, 2006).

4. Détermination de l'activité antimicrobienne

L'étude de l'activité antimicrobienne de *Laurus nobilis* a été effectuée par les méthodes suivantes :

- **Technique de diffusion en puits et disques.**
- **Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB)**

Tableau 2 : Souches bactériennes utilisées

<i>Les souches</i>	<i>Code</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC7603
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC35659
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC10876
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC6633
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231

Réactivation et l'inoculum des souches bactériennes

Une colonie de chaque souche ont été inoculés dans 10 mL de bouillon nutritif (Figure 12). Après 24h d'incubation à 37 °C, les inoculums ont été ajustés à 0,5 MC Ferland (10^7 UFC/mL) soit à une DO qui s'étend de 0,08 à 0,10 à 525 nm (Institut Pasteur) (**Figure 12**).

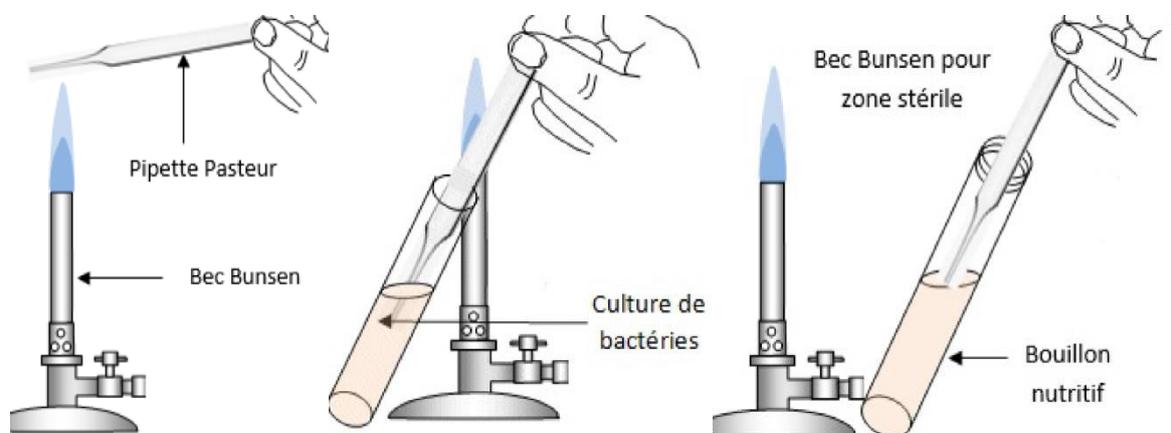


Figure 12 : Réactivation des souches (Institut Pasteur).

4.1. Technique de diffusion en milieu solide

La méthode de diffusion très utilisée en microbiologie (antibiogramme), repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu semi solide (gélose molle), l'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition la souche du microorganisme sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistance. Dans la technique de diffusion il y a compétition entre la croissance du microorganisme et la diffusion du produit testé (**Broadasky et al., 1976**).

4.2. Méthode de diffusion en disques

Un volume de suspension microbienne standardisée à 10^8 UFC/ mL (**Haddouchi et al., 2009**) a été ensemencé par étalement sur un milieu de culture gélosé *Mueller Hinton*. Des disques stériles ont été déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface du milieu. 5 µl d'huiles essentielles de *Laurus nobilis* ont été ajoutées sur chaque disque. Ensuite, les boîtes de Pétri ont été fermées et laissées à température ambiante pendant 15 minutes avant d'être incubées à 37 °C pendant 24 heures. La lecture des résultats a été effectuée en mesurant la zone d'inhibition, représentée par une auréole formée autour de chaque disque où aucune croissance n'est observée.

4.3. Méthode de diffusion en puits

15 mL de gélose MH ont été versés dans chaque boîte de Pétri. Après refroidissement et solidification du milieu de culture sur la paillasse, 100 µl de suspension bactérienne à tester ont été étalés en surface de la gélose pour chaque boîte. Les boîtes ont ensuite été laissées sur la paillasse pendant 30 minutes. Des puits de 6 mm de diamètre ont ensuite été créés à l'aide d'un embout stérile. Un volume de l'extrait dilué dans du DMSO à différentes concentrations (50, 100, 150 mg/ mL) a été ajouté dans les puits. Les boîtes de pétri ont été incubées à 37°C pendant 24h pour permettre la bonne diffusion de la substance antibactérienne (**Doumandji et al., 2010**). La présence de zone d'inhibition formée autour des puits est examinée après 18 à 24h d'incubation (**Hwanhlem et al., 2011**). La lecture des résultats se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition apparaissant.

4.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB)

Par méthode de microdilution, a pour but de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) d'une souche bactérienne.

Ces concentrations nous permettent de connaître la nature de l'activité antibactérienne des huiles essentielles et l'extrait de *Laurus nobilis*. La méthode de microdilution est effectuée en milieu liquide sur microplaque.

Le principe de la méthode repose sur la détermination de la plus faible concentration d'un agent antimicrobien, nécessaire pour inhiber la croissance d'un microorganisme (Derwich *et al.*, 2010). Consiste à ensemercer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en huile essentielle. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la concentration minimale inhibitrice (CMI) (Chebaibi *et al.*, 2016).

4.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Pour la détermination de la CMI individuelle de l'extrait et des huiles essentielles de *Laurus nobilis* contre les souches bactériennes, nous avons utilisé la méthode de microdilution. Les solutions mères des huiles essentielles et de l'extrait de *Laurus nobilis* ont été préparées en les dissolvant dans du diméthylsulfoxyde (DMSO). Les solutions mères sont ensuite diluées de manière géométrique pour obtenir les dilutions suivantes : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 et 1/128. Un volume final de 200 µl dans chaque puits de microplaque contenant 90 µl de MHB (Bouillon Mueller Hinton) et 10 µl de la suspension microbienne de 10⁸ UFC/ mL complété par 100 µl de chaque dilution de l'extrait ou des huiles essentielles. Les microplaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 h. La détection de la croissance des différents germes se fait par l'ajout d'un 40 µl d'une solution à 0,4 mg / mL de Triphényl Tétrazolium Chloride (TTC) (indicateur de croissance bactérienne) dans chaque puits est incubée à 37 °C pendant 30 min. Une couleur rose apparaît suite à la croissance bactérienne. (Sharma *et al.*, 2020) (Figure 13).

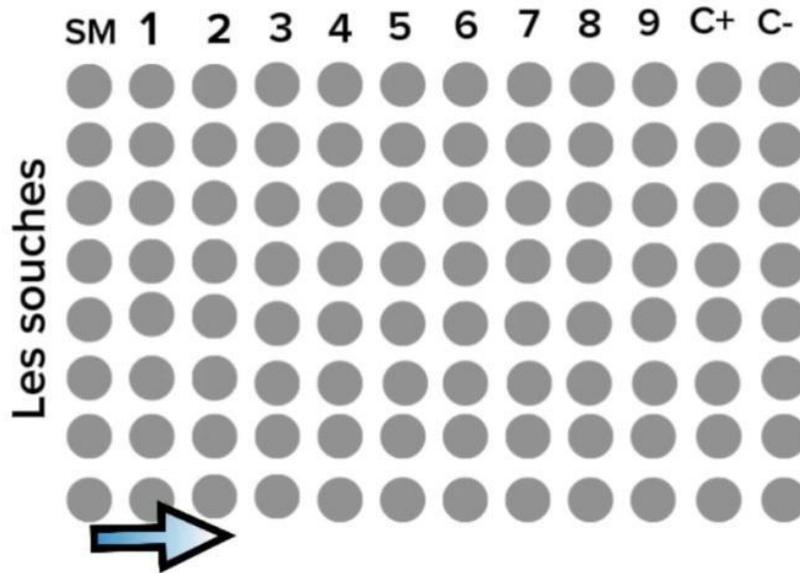
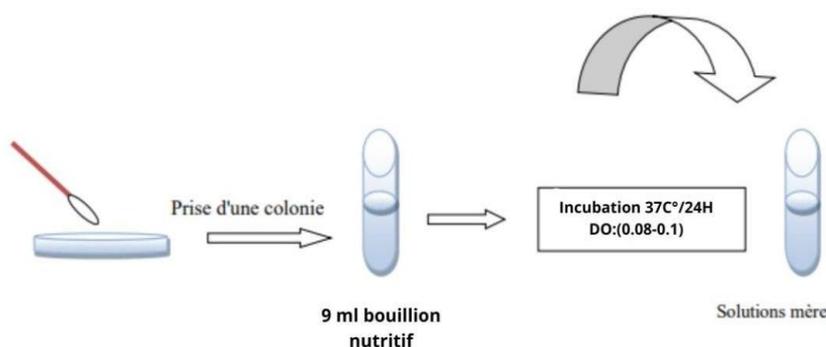


Figure 13 : Dispositif d'une microplaque 96 puits pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI SM : solution mère C+ : control positif C- : control négatif.

4.6. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) des huit souches étudiées a été réalisée en utilisant l'extrait et les huiles de la plante *Laurus nobilis*, conformément au protocole décrit par **Moroh et al. (2008)**, avec quelques modifications. Pour cette détermination, le tube témoin (inoculum) a été dilué dans de l'eau physiologique jusqu'à 10^{-4} , représentant 0,01% de survie du microorganisme. Ensuite, il a été ensemencé par strie de 5 cm sur une Gélose Mueller Hinton et incubé à 37°C pendant 24 heures. Le nombre de colonies bactériennes obtenues sur la strie de la dilution 10^{-4} a servi de référence une aliquote est prélevée à partir de cultures au niveau des puits ne présentant pas de turbidité visible, et ensemencée sur Gélose Mueller Hinton et incubé à 37°C pendant 24 heures (**Figure 14**).

Le rapport CMB/CMI a également été calculé pour mettre en évidence la nature de l'effet antibactérien des huiles essentielles et des extraits testés. Lorsque le rapport est inférieur à 4, les huiles essentielles et les extraits sont considérés comme bactéricides, et lorsque le rapport est supérieur à 4, ils sont considérés comme bactériostatiques (**Marmonier, 1990**).



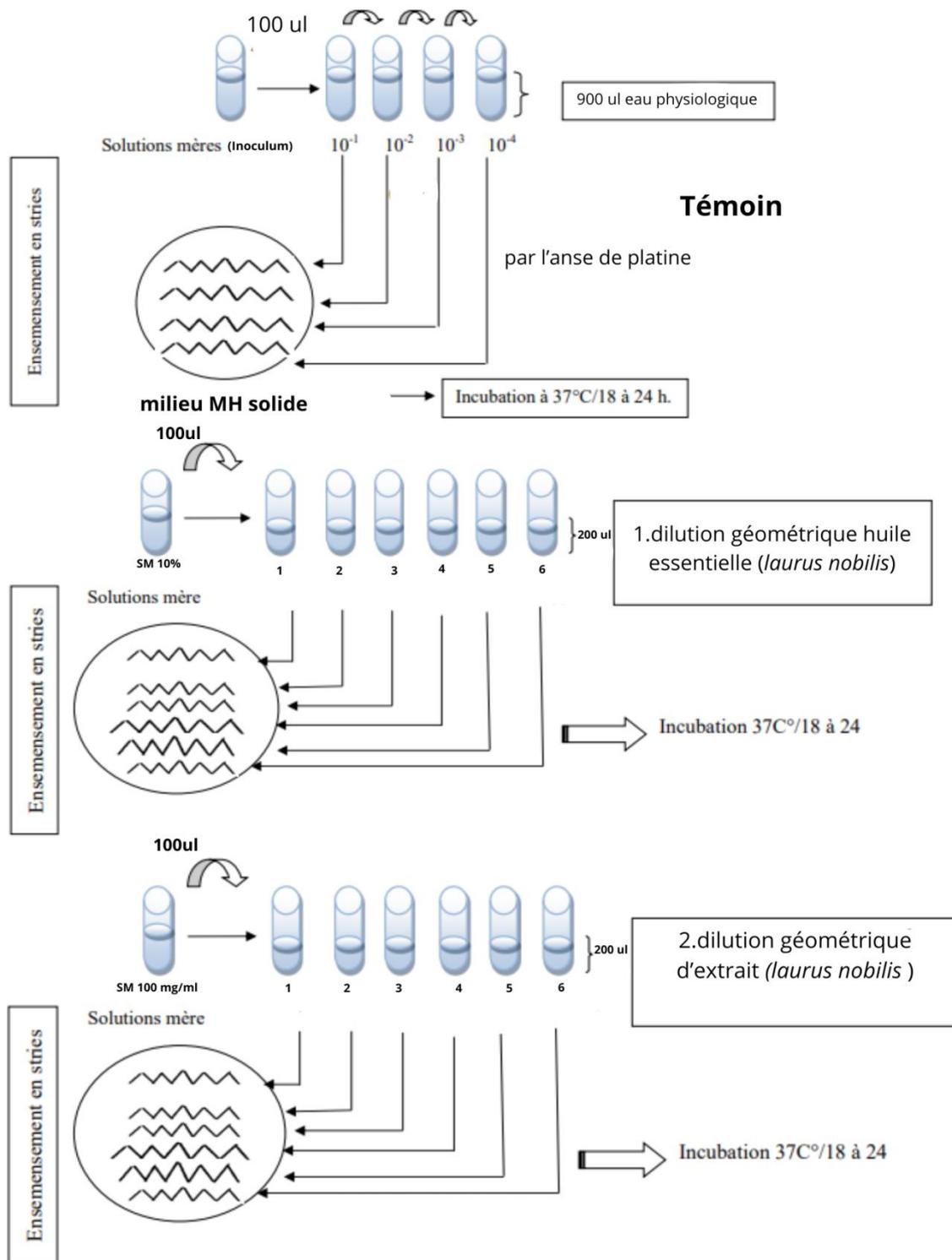


Figure 14: Préparation des solutions mères (inoculums) et détermination de CMB.

5. Analyse statistique

Les tests ont été exprimés par la moyenne de trois essais avec \pm l'écart type. L'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel Minitab.21, par l'analyse de la variance (ANOVA). Les valeurs de **P-value** <0.05 sont considérées comme significatives.

Chapitre V :
Résultats et discussion

V. Résultats et discussion

1. Détermination du Taux d'humidité

Le taux d'humidité est réalisé dans le but d'estimer la teneur en eau des plantes étudiées. Les résultats obtenus montrent que *Laurus nobilis* de Mostaganem et de Tissemsilt présentent des valeurs diminuées en eau. Toutefois, la valeur d'eau est presque la même pour les deux échantillons: *Laurus nobilis* de Mostaganem (45,55 %) et *Laurus nobilis* de Tissemsilt (47,67 %). Cela signifie que moins de la moitié du poids de la plante fraîche est constituée d'eau, tandis que le reste du poids de la plante correspond à la matière sèche (**Figure 15**).

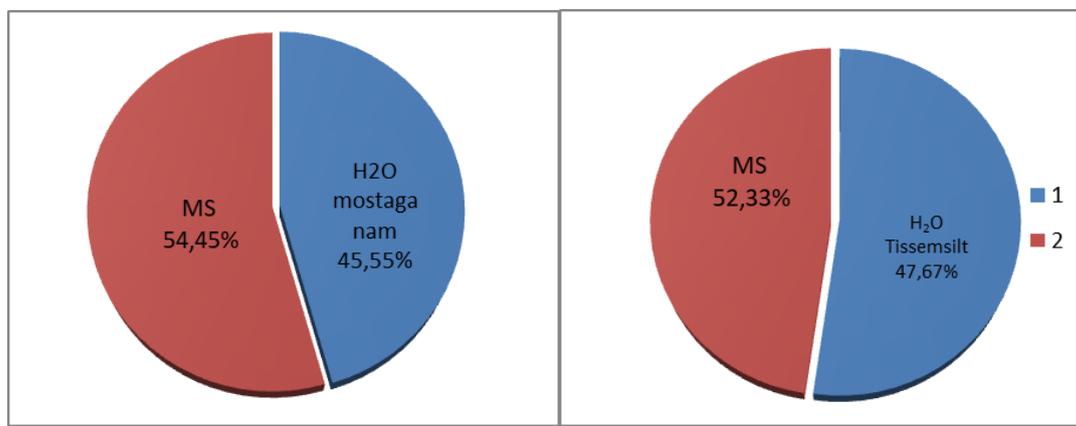


Figure 15 : Taux d'humidité des feuilles sèches de *Laurus nobilis* pour les deux zones

Les résultats obtenus pour les deux échantillons sont presque similaires. De manière analogue, **Barahmi et al. (2008)** ont trouvé un taux d'humidité élevé (47,1 %) pour le laurier de la région El-kala. Il est bien établi que le taux d'humidité dépend de plusieurs facteurs liés à la plante et/ou aux conditions environnementales (**Hopkins, 2003**).

2. Détermination du rendement d'extraction

2.1. Rendement d'extraction des huiles essentielles

Une extraction par hydrodistillation de 300 g de notre plante sèche dans 1800 mL d'eau distillée a été réalisée pour *Laurus nobilis* de Mostaganem avec un rendement de 0,4 % et pour Tissemsilt avec un rendement de **0,8 %** au mois de février. En comparaison avec d'autres régions différentes d'Algérie, notre résultat se rapproche de celui de l'étude de **Fekih (2014)** qui a été menée au niveau de la région de Tlemcen-Nedroma avec un rendement de 0,42 %. Le rendement d'extraction en huiles essentielles de *Laurus nobilis* à Béjaïa était de 0,53 % au mois de janvier (**Saidi, 2015**). Les rendements provenant de la région d'El Kala étaient de 0,71 % (**Ouibrahim, 2015**). Ces variations de rendement en huile essentielle de

Laurus nobilis illustrent que cette quantité peut varier en fonction de plusieurs facteurs tels que le génotype des espèces récoltées, le processus de séchage, la période de récolte, les facteurs édaphiques et climatiques, ou encore l'état physiopathologique de la plante. De plus, ces différences peuvent également être liées au type de technique d'extraction et aux étapes de la récupération (Wogiatzi *et al.*, 2011)

2.2. Rendement d'extraction des extraits phénoliques

À partir de la poudre de feuilles de *L.nobilis*, des extraits phénoliques ont été effectuées avec de l'eau distillée. En analysant les rendements en extraits bruts, des différences significatives ont été constatées entre *Laurus nobilis* de Mostaganem et de Tissemsilt pour l'extrait. Le rendement de l'extrait de Mostaganem était de 11 %, tandis que celui de Tissemsilt atteignait 16 % (Tableau 3).

Tableau 3 : Rendements d'extraction pour l'extrait de *Laurus nobilis*

Zone géographique	Matière première (g)	Rendement extrait (%)
<i>Laurus.n</i> Mostaganem	100	11
<i>Laurus.n</i> Tissemsilt	100	16

Le même rendement de l'extrait de *Laurus nobilis* de la région de Tissemsilt a été rapporté comme étant de 16,27% dans l'étude menée par Athmane et Azza (2023). Ceci est proche du rendement de 18,57% mentionné dans l'étude de Miliani (2018). D'autre part, le rendement de 12,52% indiqué par Boutoumou et Ziat (2020) se rapproche davantage de celui *Laurus nobilis* de Mostaganem. Ces différences de rendement peuvent être attribuées aux variations dans les composants des feuilles et aux conditions environnementales.

3. Propriétés physiques des extraits et des huiles essentielles

3.1. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles de laurier de Mostaganem et de Tissemsilt se caractérisent par leur apparence généralement transparente à jaune clair. Elles ont une texture liquide et fluide, et dégagent un parfum chaud et épicé avec des notes herbacées (Tableau 4).

Tableau 4: Propriétés physiques des huiles essentielles de *Laurus nobilis* Mostaganem et de Tissemsilt.

Zone géographique (HE)	Apparence	Texture	Odeur
HE Mostaganem	Transparent à jaune clair	Liquide et fluide	chaud épicé
HE Tissemsilt	Transparent à jaune clair	Liquide et fluide	chaud épicé

3.2. Extraits phénoliques

L'extrait phénolique de *Laurus nobilis* de Mostaganem se distingue par sa texture dense et visqueuse, d'une couleur brun foncé, avec une odeur d'épices prononcée. En revanche, l'extrait de Tissemsilt présente une texture visqueuse prononcée et moins dense, avec une couleur marron clair. L'odeur épicée caractéristique est présente dans les deux extraits, bien que légèrement plus douce dans celui de Tissemsilt. (Tableau 5) (Figure 16).

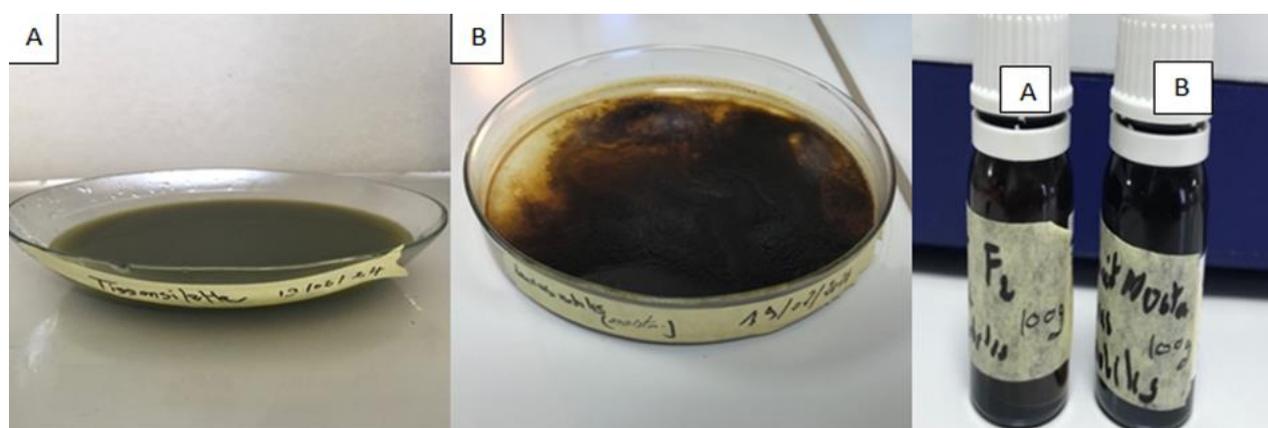


Figure 16: Résultats d'extraction par solvant (évaporation) (A) extrait Tissemsilt (B) extrait Mostaganem.

Tableau 5: Propriétés physiques des extraits du *Laurus nobilis* de Mostaganem et Tissemsilt.

Extrait	Texture	Couleur	Odeur
<i>Laurus nobilis</i> mostaganem	Dense et visqueuse prononcée	Marron foncé	Épices
<i>Laurus nobilis</i> Tissemsilt	moins dense et visqueuse prononcée	Marron clair	Épices

4. Dosage des composés phénoliques

Les quantités de Polyphénol et de Flavonoïdes sont déterminées à partir des équations de régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage, exprimées successivement en milligrammes équivalents d'acide gallique (mg EAG) et en milligrammes équivalents de Quercétine (mg EQ) par (g) d'extrait (**Figure 17**).

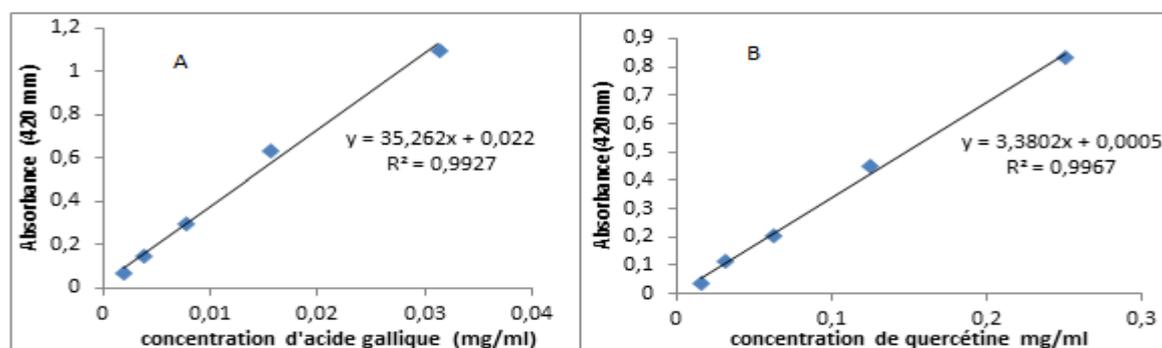


Figure 17 : A- Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux B -Courbe d'étalonnage des flavonoides.

4.1. Dosage des polyphénols totaux

Les teneurs des extraits de feuilles de *Laurus nobilis* (**Tableau 6**) ont été exprimées en équivalent d'acide gallique à partir de la courbe d'étalonnage réalisée. Les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Teneur de polyphénol en mg EAG/g

Extrait <i>Laurus nobilis</i> Mostaganem (mg EAG/g)	6.79
Extrait <i>Laurus nobilis</i> Tissemsilt (mg EAG/g)	6.18

Les résultats montrent que les teneurs moyennes en polyphénols totaux des extraits de *Laurus nobilis* des deux zones d'étude (Mostaganem et Tissemsilt) sont relativement proches. La moyenne des polyphénols totaux pour *Laurus nobilis* Mostaganem est de $6,79 \pm 0,940$ mg EAG/g, tandis que celle pour *Laurus nobilis* Tissemsilt est de $6,18 \pm 0,233$ mg EAG/g. La différence entre ces valeurs moyennes n'est pas statistiquement significative, comme l'indique la valeur de p de 0,340 (P-value > 0,05).

Dans une étude comparative, nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par **Biljana et Djendji (2019)**, ayant travaillé sur les extraits des feuilles de *Laurus nobilis* L avec la méthode de Folin Ciocalteu. Ils ont relevé des valeurs ($4,53 \pm 0,02$; $3,96 \pm 0,08$; $2,41 \pm 0,04$ mg EAG/g) respectivement, donc la teneur de notre plante est légèrement supérieur à celle rapportée par leur étude.

4.2. Dosage des flavonoïdes

Dans notre étude, l'évaluation des teneurs des extraits de feuilles de *Laurus nobilis* en flavonoïdes a été déduite de la courbe d'étalonnage réalisée avec la quercitrine et les valeurs sont exprimées en mg Eq quercitrine/g d'extrait. Les résultats sont représentés dans le tableau suivant (**Tableau 7**) :

Tableau 7 : Teneur de flavonoïdes en mg EQ/g.

Extrait Mostaganem <i>Laurus nobilis</i> (mgEQ/g)	44
Extrait Tissemsilet <i>Laurus nobilis</i> (mgEQ/g)	31,02

Les extraits de *Laurus nobilis* de Mostaganem présentent une teneur moyenne en flavonoïdes légèrement élevée ($44 \pm 9,76$ mg EQ/g) par rapport à ceux de *Laurus nobilis* Tissemsilet ($31,02 \pm 0,885$ mg EQ/g). Cependant, la différence n'est pas statistiquement significative (P-value = 0,083). Les différences de teneur en flavonoïdes entre les échantillons des deux zones pourraient être influencées par des facteurs environnementaux qui peuvent influencer la biosynthèse des flavonoïdes dans les plantes.

Dans une étude comparative, de **Bouloufa et Chetioui (2017)** l'extrait a enregistré une teneur importante de 37,85 mg Eq quercétine/g d'extrait. Ce résultat est proche de celui obtenu dans notre étude.

5. Activité antioxydante

Radical libre DPPH : L'activité antiradicalaire des extraits et les huiles de *Laurus nobilis* (laurier noble) a été évaluée en utilisant une méthode spectrophotométrique. Cette méthode consiste à mesurer la capacité des extraits et huiles à réduire le radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), un composé chimique violet qui devient jaune lorsqu'il est réduit. (**Figure 18**).



Figure 18 : Radical DPPH changement de couleur.

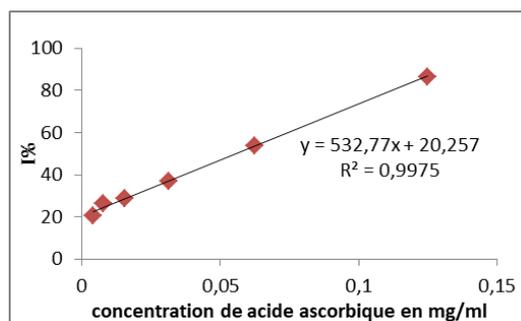


Figure 19 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.

Différentes concentrations ont été employées pour chaque huiles essentielles et extrait phénolique, et les pourcentages d'inhibition ont été calculées pour chaque concentration, les graphes représentant les pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration nous ont permis de déterminer les valeurs des IC_{50} ; Ces valeurs correspondent aux concentrations nécessaires en substrat (dans ce cas en huiles essentielles) pour piéger 50% du radical libre DPPH• (Molyneux, 2004).

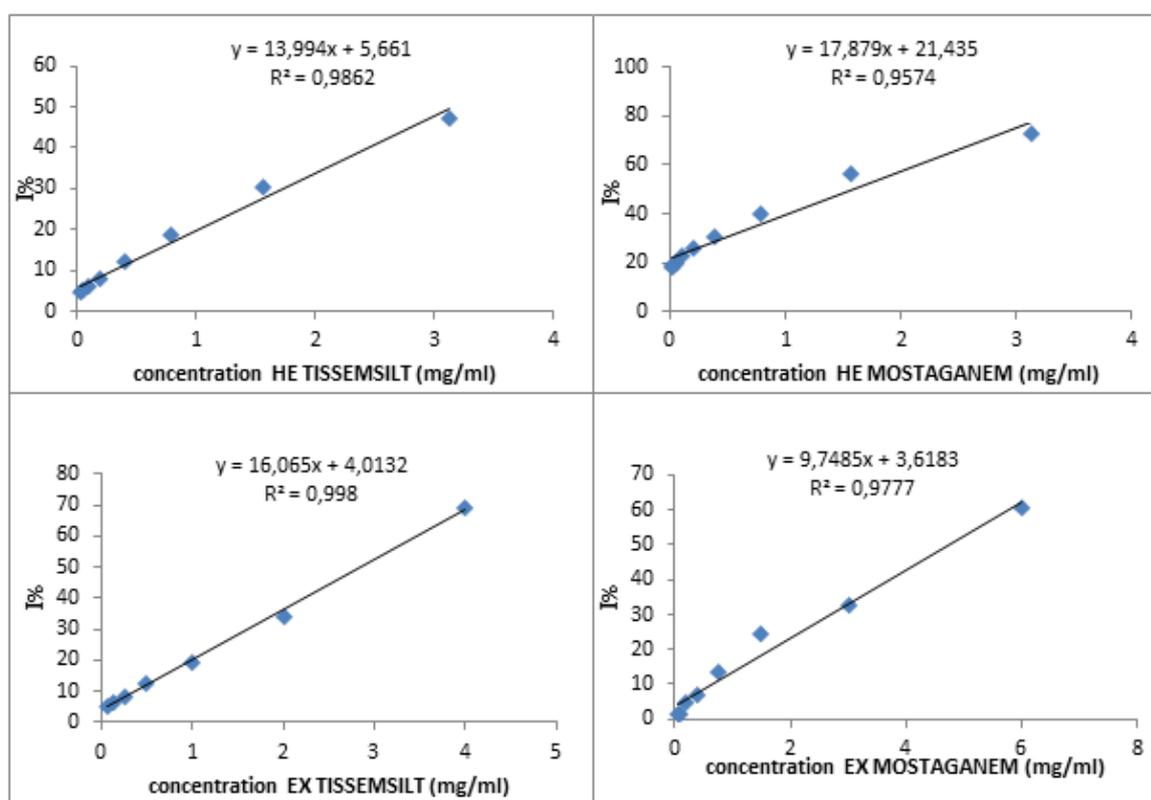


Figure 20 : Courbes test DPPH des huiles essentielles et des extraits phénoliques de *Laurus nobilis* (I%):taux d'inhibition EX : Extrait HE : huiles essentielles.

La détermination des valeurs d'IC₅₀ se fait graphiquement selon l'équation ($y=ax+b$), où l'abscisse représente la concentration de l'extrait et des huiles, et l'ordonnée représente l'activité antioxydante en pourcentage. La valeur de chaque IC₅₀ exprime la concentration de l'extrait nécessaire pour réduire de 50% le DPPH en solution.

Les Huiles essentielles de *Laurus nobilis* de Tissemsilt et de Mostaganem possèdent des propriétés antioxydantes significatives, bien que moins puissantes que celles de l'acide ascorbique (**Figure 19**). L'HE de Mostaganem, avec une IC₅₀ de **1,95±0,332 mg/ mL**, se rapproche davantage de l'activité de l'acide ascorbique que l'HE de *Laurus nobilis* Tissemsilt **2,70±0,727 mg/ml**. Les analyses statistiques confirment que ces différences sont significatives (**P-value < 0,05**), suggérant que les huiles essentielles de *Laurus nobilis* peuvent être de bons candidats pour des applications antioxydantes, bien que leur efficacité soit inférieure à celle de l'acide ascorbique.

Nos résultats concernant la concentration IC₅₀ pour l'activité de piégeage des radicaux DPPH des feuilles de *Laurus nobilis* L. sont en accord avec ceux obtenus par d'autres chercheurs. Par exemple, **Ouibrahim et al., (2013)** ont rapporté une valeur IC₅₀ de **1.5 mg/ mL** pour DPPH. De plus, **Miliani (2018)** a trouvé une valeur IC₅₀ de **1.34 mg/ mL** DPPH dans son étude phytochimique des feuilles de *Laurus nobilis* L.

Les Extraits de *Laurus nobilis* de Tissemsilt et de Mostaganem présentent des propriétés antioxydantes significatives, bien que moins puissantes que celles de l'acide ascorbique. L'extrait de *Laurus nobilis* Tissemsilt, avec une IC₅₀ de **2,618±0,305 mg/ml**, se rapproche davantage de l'activité de l'acide ascorbique que celui de *Laurus nobilis* Mostaganem **IC₅₀ = 3,651±1,139 mg/ml**. Les analyses statistiques confirment que ces différences sont significatives (**P-value < 0,05**), suggérant que les extraits de *Laurus nobilis* peuvent être de bons candidats pour des applications antioxydantes, bien que leur efficacité soit inférieure à celle de l'acide ascorbique. "Pour d'autres chercheurs, **Tchombé et al. (2013)** ont signalé une concentration IC₅₀ de **3 mg/ mL** pour DPPH dans leurs extraits.

6. Activité antibactérienne des huiles essentielles et des extraits phénoliques

Le tableau 9 présente les résultats des observations microscopiques des souches étudiées :

Tableau 8: Coloration de Gram (Observation microscopique).

S O U C H E S	G R A M -	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
	G R A M +	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>

6.1. Évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque

Nous avons testé l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Laurus nobilis* avec un témoin DMSO (résultat négatif) (Figure 21) par la méthode de diffusion sur disque de huit souches bactériennes.



Figure 21 : Témoin DMSO (résultat négatif).

L'activité antibactérienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque. Les résultats montrent une inhibition de la croissance bactérienne proportionnelle au diamètre de la zone d'inhibition (**Tableau 9; Figure 22 et 23**)

Selon le diamètre de la zone d'inhibition obtenu, la sensibilité des germes est classée dans l'une des catégories suivantes :

$D < 8 \text{ mm}$: Souches résistantes (-).

$9 \text{ mm} \leq D \leq 14 \text{ mm}$: Souches sensibles (+).

$15 \text{ mm} \leq D \leq 19 \text{ mm}$: Souches très sensibles (++).

$D > 20 \text{ mm}$: Souches extrêmement sensibles (+++) (**Ponce et al., 2003**).

Tableau 9 : Activité antibactérienne des huiles essentielles *Laurus nobilis* Mostaganem et Tissemsilt réalisé par la méthode de diffusion sur disque

La souche	Code	zone d'inhibition (mm) TISSEMSILT	zone d'inhibition (mm) MOSTAGANEM
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923	20,24±7,816 ^A	23,02±7,816 ^A
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	14,40±2,240 ^B	14,79±2,240 ^B
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853	12,66±7,242 ^{BC}	13,5±7,242 ^{BC}
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC7603	9,80±1,916 ^C	11,81±1,916 ^C
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC35659	19,73±6,356 ^A	19,37±6,356 ^A
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC10876	14,14±4,921 ^{BC}	14,32±4,921 ^{BC}
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC6633	15,23±3,825 ^B	13,61±3,825 ^B
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231	20,61±5,822 ^A	20,05±5,822 ^A
DMSO		00±00	00±00

± Écart type

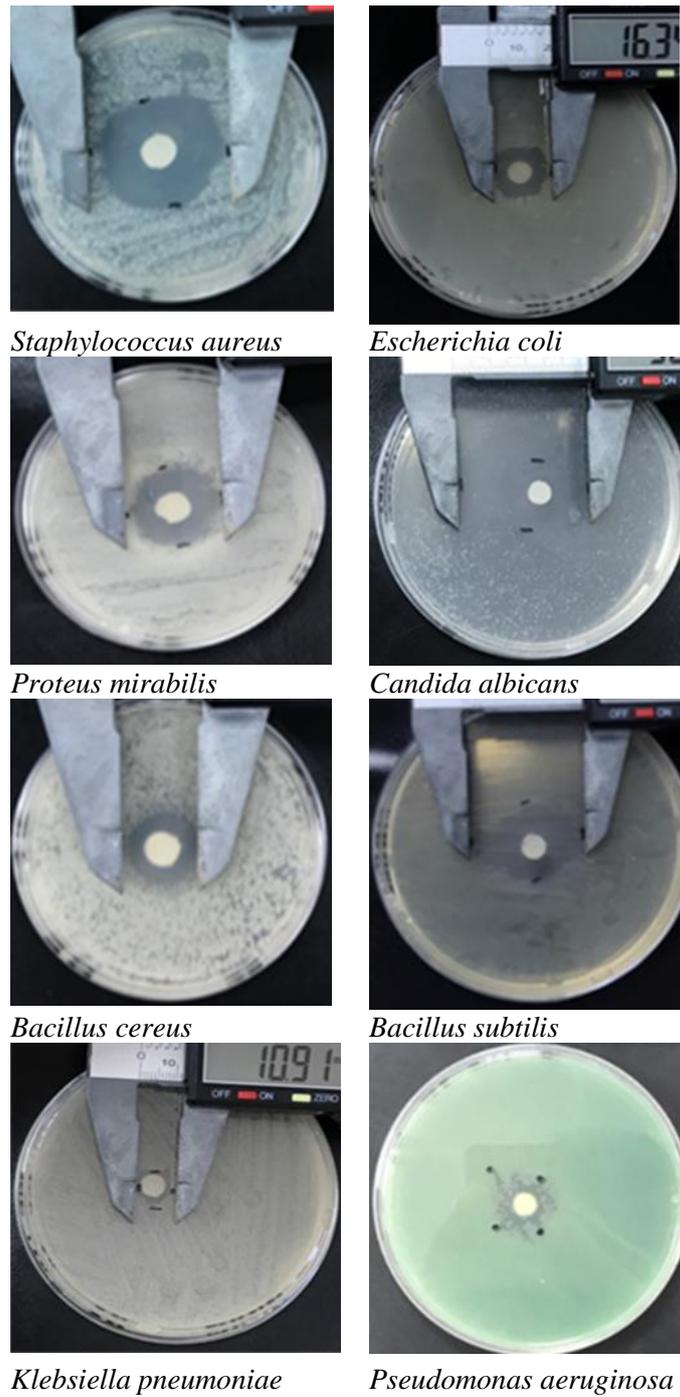


Figure 22 : Activité antibactérienne des huiles essentielles *Laurus nobilis* Mostaganem avec huit souches bactériennes.

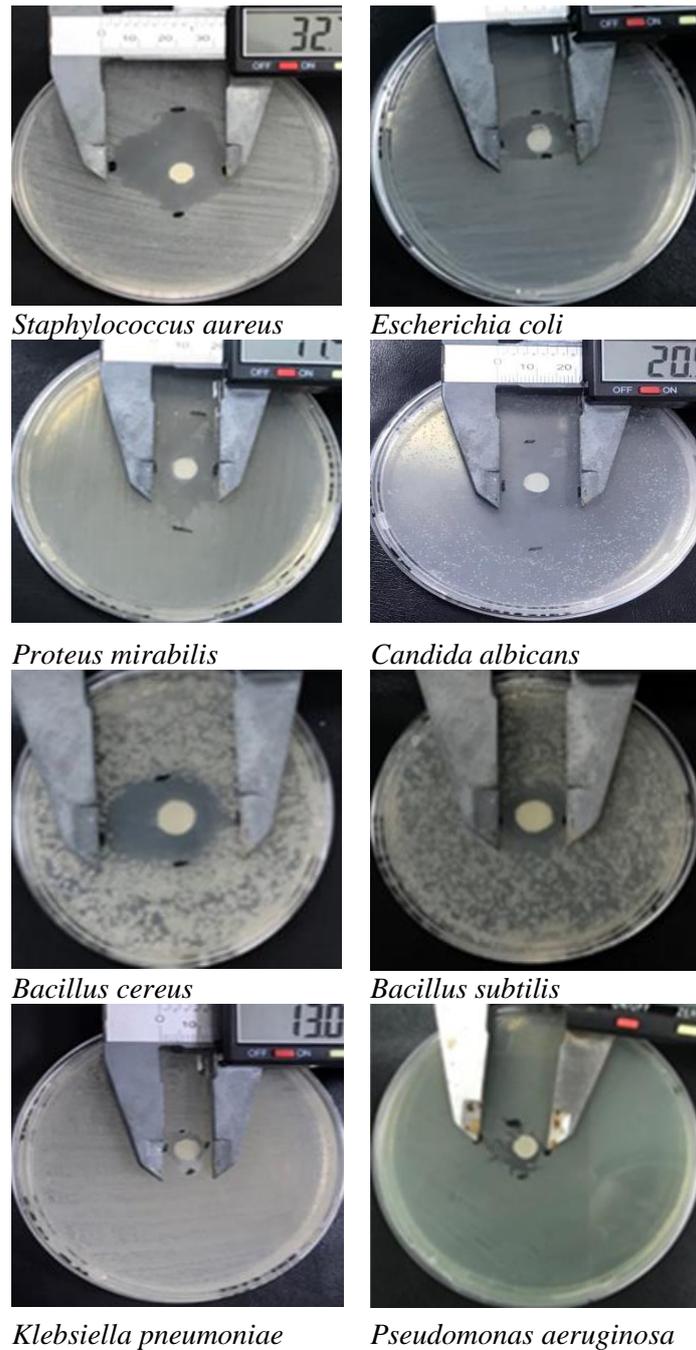


Figure 23 : Activité antibactérienne des huiles essentielles *Laurus nobilis* Tissemsilt avec huit souches.

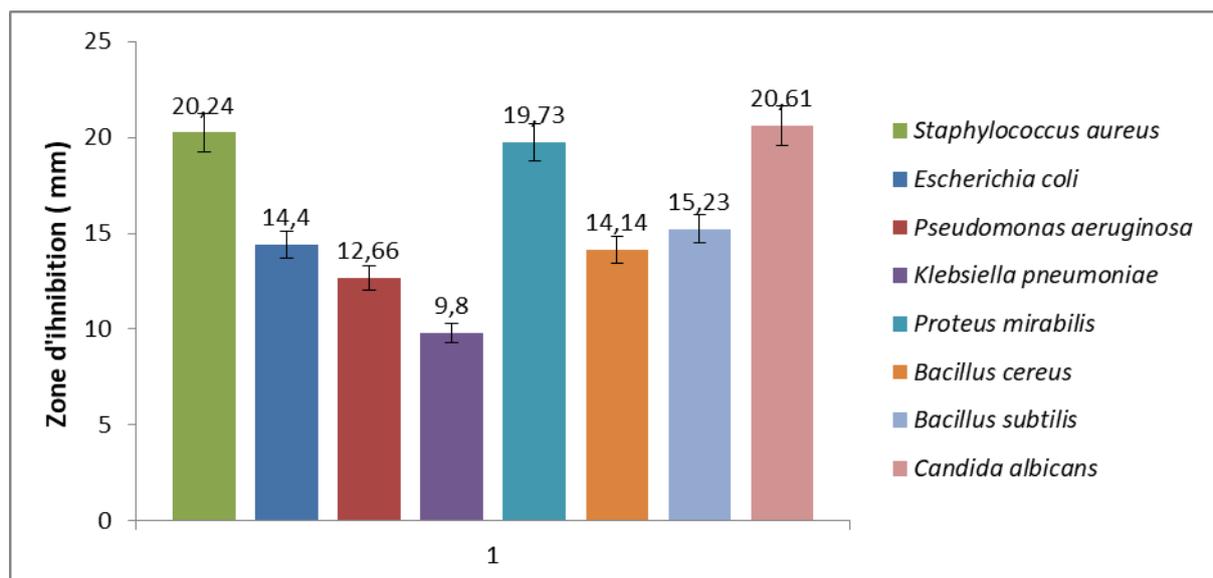


Figure 24 : Représentation graphique de l'activité antibactérienne des huiles essentielles *Laurus nobilis* de Tissemsilt réalisée par la méthode de diffusion sur disque.

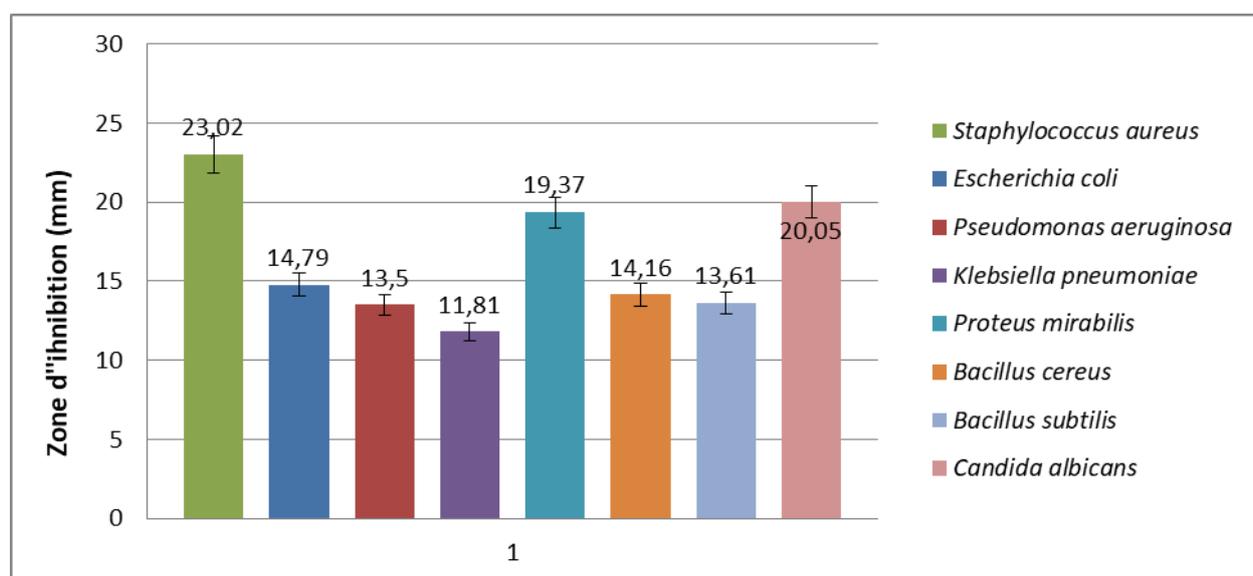


Figure 25 : Représentation graphique de l'activité antibactérienne des huiles essentielles *Laurus nobilis* de Mostaganem réalisée par la méthode de diffusion sur disque.

Les huiles essentielles de *Laurus nobilis* **Mostaganem** et de **Tissemsilt** ont montré des effets similaires sur les huit souches microbiennes testées. Les analyses des zones d'inhibition révèlent que, malgré de légères différences, les huiles essentielles des deux régions présentent une efficacité antimicrobienne similaire. Les résultats indiquent que la composition chimique des huiles essentielles dans ces deux régions affecte de manière similaire la croissance des micro-organismes, suggérant que les facteurs géographiques n'ont

pas entraîné de différences significatives dans l'activité antimicrobienne des extraits (**P-value =0.870**).

Tandis que, La sensibilité des différentes souches microbiennes aux huiles essentielles de *Laurus nobilis* varie considérablement, comme le montrent les zones d'inhibition observées. Parmi les huit souches testées, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* présente la plus grande sensibilité, indiquant une forte activité antimicrobienne des huiles contre cette bactérie. En revanche, les zones d'inhibition observées pour *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis* montrent des zones d'inhibition relativement faibles, ce qui suggère une sensibilité réduite de ces souches aux huiles de *Laurus nobilis*. En outre *Proteus mirabilis* présente une sensibilité modérée à l'huile de *Laurus nobilis*, Cette disparité dans la sensibilité entre les souches peut être influencée par divers facteurs, notamment la composition chimique de l'huile et les mécanismes de résistance spécifiques à chaque espèce bactérienne. Le résultat indiquant l'absence de zone d'inhibition autour du disque imprégné de DMSO suggère qu'il n'y a pas d'activité antibactérienne du DMSO contre les souches bactériennes testées.

Des résultats presque similaires ont été rapportés par **Kheyar et al, (2014)**, qui ont également constaté que *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* sont sensibles. Cependant, *Staphylococcus aureus* s'est montré la plus sensible aux huiles de *Laurus nobilis*. De plus, **Tahraoui et al. (2020)** ont trouvé que la plus grande zone d'inhibition était enregistrée avec *Staphylococcus aureus*.

Les huiles essentielles de *Laurus nobilis* présentent une activité antimicrobienne variable contre les différentes souches bactériennes testées. Les données suggèrent que les huiles de *Laurus nobilis* Mostaganem et de Tissemsilt ont un effet similaire sur ces souches.

6.2. Évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur puits

Nous avons testé l'activité antibactérienne de l'extrait de *Laurus nobilis* de trois différentes concentrations (**50; 100; 150 mg/ mL**) avec un témoin DMSO (**Figure 24**) (résultat négatif) par la méthode de diffusion sur puits de huit souches bactériennes. L'activité antibactérienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des puits. Les résultats montrent une inhibition de la croissance bactérienne proportionnelle au diamètre de la zone d'inhibition. (**Tableau10-11**)(**Figure26-29**).

Tableau 10 : Activité antibactérienne des huiles essentielles *Laurus nobilis* Mostaganem réalisé par la méthode de diffusion par puits.

Les souches	Code	Zone d'inhibition (mm) MOSTAGANEM		
		50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923	13,51±1.090 ^{DE}	14,5±1.198 ^{CDE}	15,78±1.481 ^{BCDE}
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	11,04±0.999 ^E	12,02±0,935 ^{DE}	12,19±1.755 ^{DE}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853	14,86±6.87 ^{BCDE}	13,61±7.71 ^{BCDE}	15,84±2.82 ^{BCDE}
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC7603	12,08±1.220 ^E	14,09±2.50 ^{DE}	12,51±1.544 ^E
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC35659	24,96±3.33 ^{ABC}	24,15±3.29 ^A	23,31±2.69 ^A
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC10876	16,49±1.26 ^{BCDE}	16,06±0.802 ^{CDE}	16,18±0.980 ^{BCDE}
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC6633	11,61±1.919 ^{CDE}	13,29±1.992 ^{CDE}	12,96±2.270 ^{CDE}
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231	16,85±3.05 ^{BCD}	18,22±2.005 ^{ABCD}	20,34±4.89 ^{ABC}
DMSO		00±00	00±00	00±00

(±) : écart type

Tableau 11 : Activité antibactérienne des huiles essentielles *Laurus nobilis* Tissemsilt réalisé par la méthode de diffusion par puits.

Les souches	Code	Zone d'inhibition (mm) TISSEMSILT		
		50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923	12,03±1,090 ^{DE}	12,82±1,198 ^{CDE}	16,47±1,481 ^{BCDE}
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	12,57±0,999 ^E	13,50±1,959 ^{DE}	13,28±1,755 ^{DE}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853	18,53±6,87 ^{BCDE}	20,02±7,71 ^{BCDE}	16,32±2,82 ^{BCDE}
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC7603	10,03±1,220 ^E	10,24±2,50 ^{DE}	9,86±1,544 ^E
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC35659	19,94±3,33 ^{ABC}	25,7±3,29 ^A	23,08±2,69 ^A
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC10876	16,92±1,26 ^{BCDE}	15,37±0,802 ^{CDE}	17,27±0,980 ^{BCDE}
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC6633	14,74±1,91 ^{CDE}	14,63±1,992 ^{CDE}	16,30±2,270 ^{CDE}
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231	19,97±3,05 ^{BCD}	18,72±2,00 ^{ABCD}	18,74±4,89 ^{ABC}
DMSO		00±00	00±00	00±00

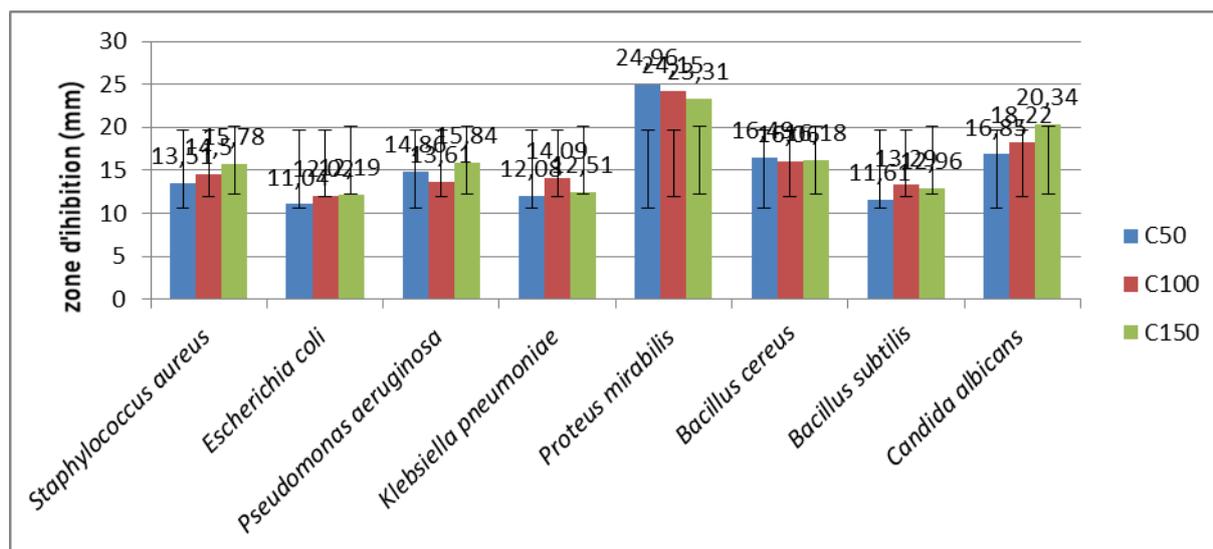


Figure 26 : Présentation graphique de l'activité antimicrobienne d'extrait *Laurus nobilis* Mostaganem la méthode de diffusion en puits à différents concentrations.

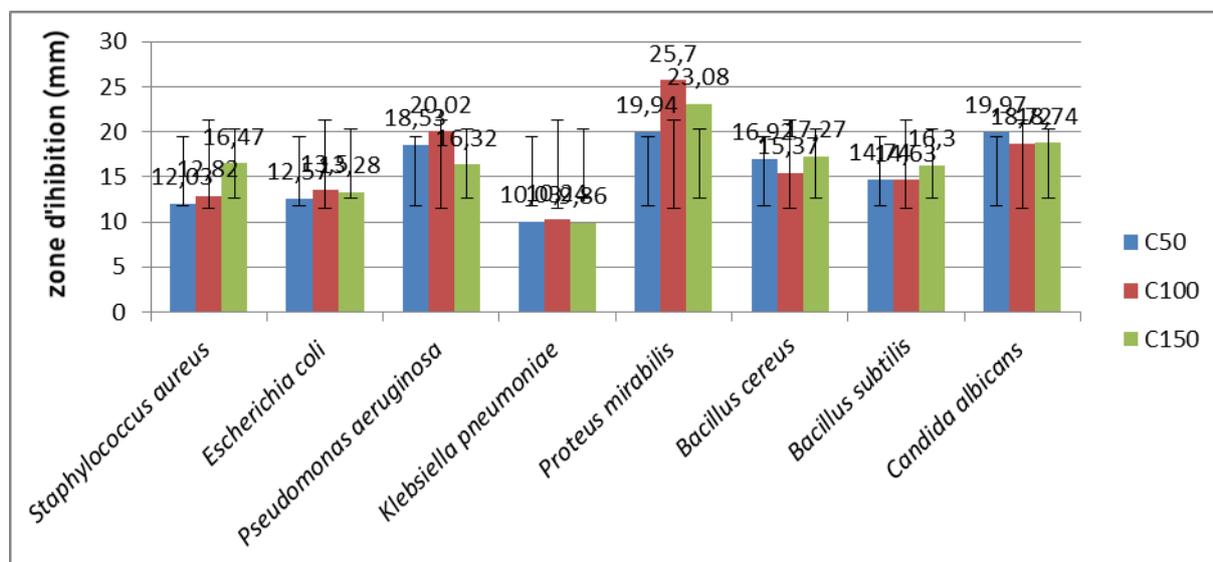


Figure 27: Présentation graphique de l'activité antimicrobienne d'extrait *Laurus nobilis* Tissemsilt la méthode de diffusion en puits à différents concentrations (50; 100; 150 mg/ mL).

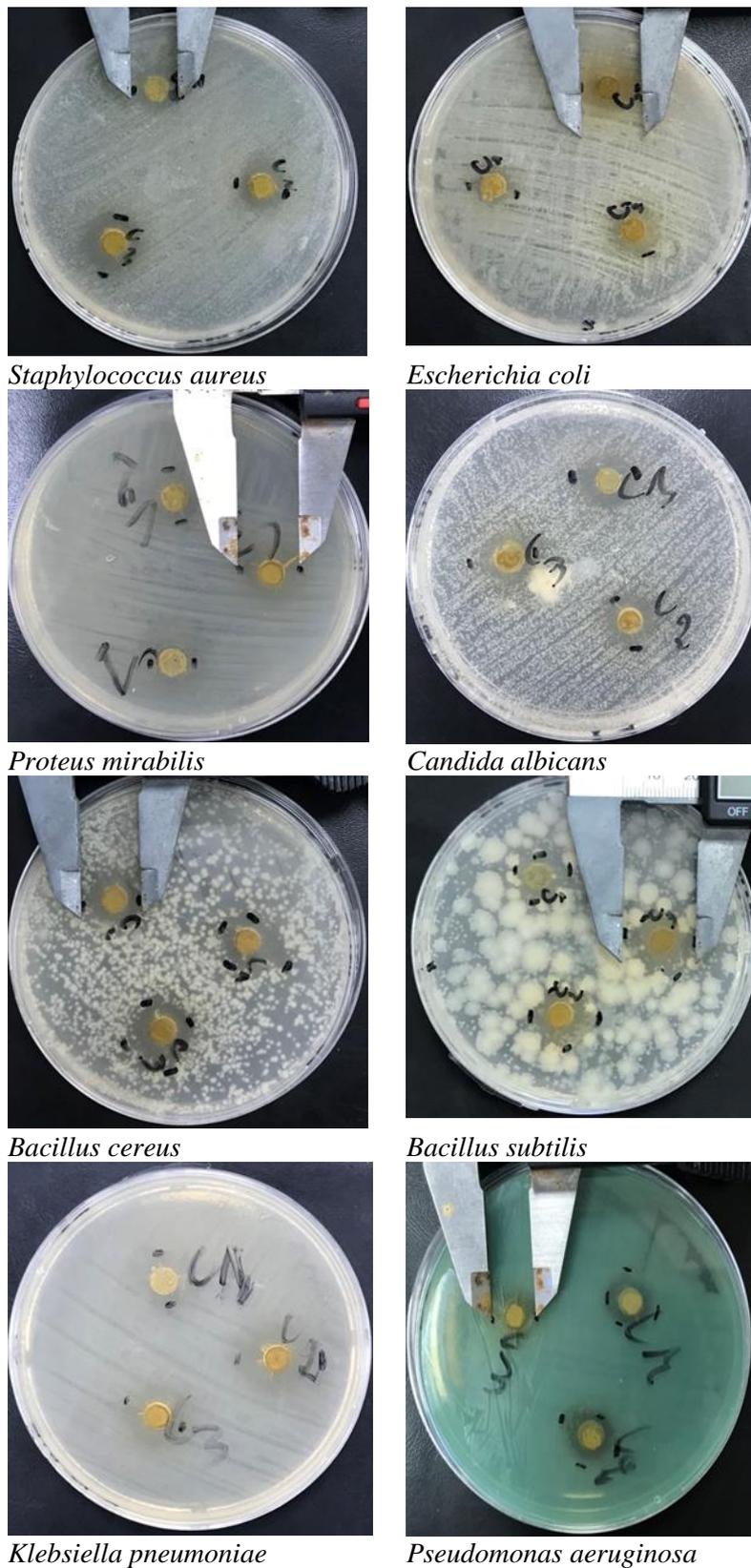


Figure 28 : Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur puits extrait de Mostaganem.

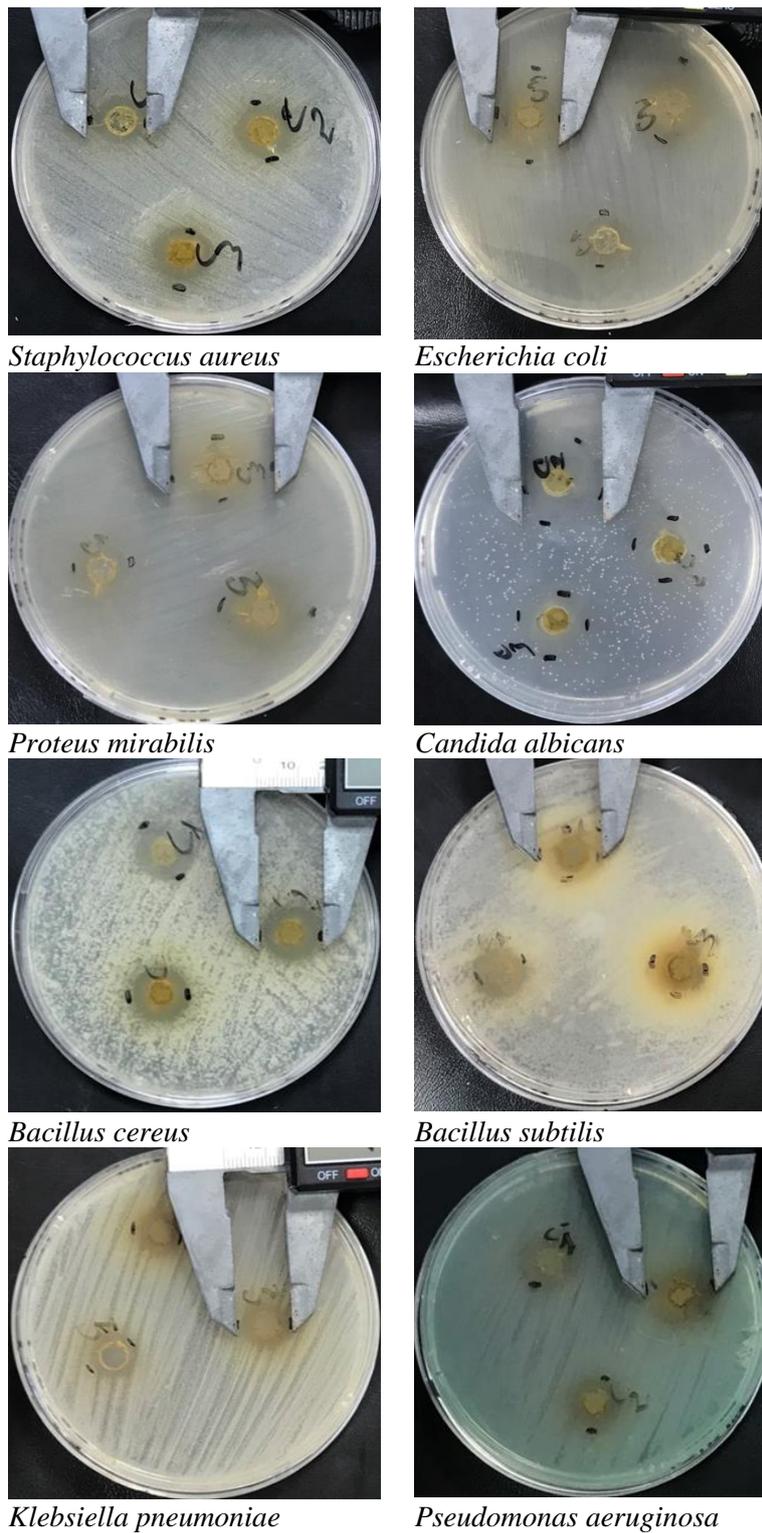


Figure 29 : Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur puits extrait de Tissemsilt.

L'effet des extraits de *Laurus nobilis* de Mostaganem et de Tissemsilt est similaire pour la plupart des souches ($p=0.190$). Cependant, l'extrait de *Laurus nobilis* présente une activité antimicrobienne variable selon les souches bactériennes et fongiques testées. La souche de *Proteus mirabilis* montre la plus grande sensibilité, indiquant une forte activité antimicrobienne contre cette bactérie, tandis que *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* montrent des zones d'inhibition relativement faibles, ce qui suggère une sensibilité réduite de ces souches aux extraits de *Laurus nobilis*. En revanche, les zones d'inhibition observées pour *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa*, ce qui suggère une sensibilité modérée de ces souches aux extraits de *Laurus nobilis*. Les concentrations de 150 mg/mL montrent une activité antimicrobienne significativement plus élevée (**P-value** = 0,048) par rapport à la concentration de C50 (**P-value** = 0,011) et C100 ($p=0.605$).

La variation des diamètres des zones d'inhibition des différentes concentrations confirme l'activité antibactérienne qui est due aux différents agents chimiques présents dans l'extrait tel que les composés phénoliques qui sont classifiés comme composés antibiotiques très actifs (**Rojas et al., 1992 ; Marjorie, 1999**), ces composés causent des dommages au niveau de la membrane externe des bactéries ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité (**Lambert, 2001**).

Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par **Mahimoud et Kemmouche (2023)**. Ils ont montré que les bactéries *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* présentent une sensibilité modérée à très élevée à l'extrait de *Laurus nobilis*, avec des diamètres d'inhibition allant de $11 \pm 0,10$ mm à $16 \pm 0,01$ mm respectivement.

6.3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Nous avons déterminé les concentrations minimales inhibitrices des huiles essentielles et des extraits de *Laurus nobilis* par la technique de micro-dilution. La CMI est déduite après incubation à partir du premier puits de la gamme dépourvu de croissance bactérienne visible. La croissance bactérienne est indiquée par la présence d'une coloration rouge dans les puits.

"Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux en terme de (+) et (-) : (**Tableau 12-15**)

(+) : **Présence des bactéries.**

(-) : **Absence des bactéries.**

Tableau 12 : Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) HE Mostaganem.

Les souches	Les concentrations %										
	10	5	2.5	1.25	0.625	0.31	0.15	0.07	C+	C -	
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-

Tableau 13 : Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) HE Tissemsilt.

Les souches	Les concentrations %										
	10	5	2.5	1.25	0.625	0.31	0.15	0.07	C+	C -	
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-

Tableau 14 : Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) Extrait

Mostaganem.

Les concentrations mg/ mL										
Les souches	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	C+	C -
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-

Tableau 15: Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) extrait Tissemsilt.

Les concentrations mg/ mL										
Les souches	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	C+	C -
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-

6.4. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

Dans le cadre de notre étude, les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ainsi que les concentrations minimales bactéricides (CMB) des huiles essentielles et de l'extrait de *Laurus nobilis* de Mostaganem et de Tissemsilt ont été déterminées. Ces concentrations sont mesurées dans le but de définir l'efficacité antibactérienne des huiles essentielles et des extraits contre les souches étudiées. Une activité bactériostatique ($CMB/CMI \geq 4$) et une activité bactéricide ($CMB/CMI \leq 4$). (Marmonier, 1990)(Tableau 16-17mo).

Tableau 16 : Détermination de la CMI et CMB pour les huiles essentielles de *Laurus nobilis*

CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) des huiles essentielles et extraits

Les souches	HE <i>Laurus nobilis</i> MOSTAGANEM			HE <i>Laurus nobilis</i> TISSMESILT		
	CMI%	CMB%	CMB/CMI	CMI%	CMB%	CMB/CMI
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	1.25	2.5	2	1.25	2.5	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.25	2.5	2	1.25	2.5	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2.5	5	2	2.5	5	2
<i>Proteus mirabilis</i>	2.5	5	2	2.5	5	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2.5	5	2	2.5	5	2
<i>Bacillus cereus</i>	1.25	2.5	2	1.25	2.5	2
<i>Bacillus subtilis</i>	2.5	5	2	2.5	5	2

Tableau 17 : Détermination de la CMI et CMB pour l'extrait de *Laurus nobilis*

Les souches	EX <i>L.nobilis</i> MOSTAGANEM			EX <i>L.nobilis</i> TISSMESILT		
	CMI mg/ mL	CMB mg/ mL	CMB/CMI	CMI mg/ mL	CMB mg/ mL	CMB/CMI
<i>Candida albicans</i>	25	50	2	25	50	2
<i>Escherichia coli</i>	12.5	25	2	12.5	25	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	50	2	25	50	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	25	50	2	25	50	2
<i>Proteus mirabilis</i>	25	50	2	25	50	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25	50	2	25	50	2
<i>Bacillus cereus</i>	25	50	2	25	50	2
<i>Bacillus subtilis</i>	25	50	2	25	50	2

Une activité bactériostatique ($CMB/CMI \geq 4$) et une activité bactéricide ($CMB/CMI \leq 4$) (Marmonier, 1990).

Les huiles essentielles, extraites à partir de plante *Laurus nobilis*, ont longtemps été étudiées pour leur potentiel antimicrobien. Dans notre étude, nous avons examiné les valeurs de CMI pour les différentes souches microbiennes exposées aux huiles essentielles de *Laurus nobilis*. Pour *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* (CMI=1.25%) et

Klebsiella pneumoniae, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Bacillus subtilis* (CMI=2.5%), nous observons des valeurs de CMI identiques pour les huiles essentielles de *Laurus nobilis* Tissemsilt et Mostaganem. Dans l'étude menée par **Tahraoui et al., (2020)**, les valeurs de CMI pour les souches *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* ont été établies à 25 mg/ml des résultats presque similaires à ceux obtenus dans notre propre travail. D'autre part, **Nabila et al., (2020)** ont trouvé que pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, la concentration minimale inhibitrice (CMI) était de 0,75 et 0,5 mg/mL respectivement. Cela confirme la forte activité de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* contre ces souches bactériennes.

L'**extrait** de *Laurus nobilis* a été évalué pour son potentiel antimicrobien contre diverses souches bactériennes. Nos résultats révèlent des valeurs de Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) variables. Pour *Escherichia coli*, la CMI est de 12,5 mg/ml, tandis que pour les autres souches microbiennes, à savoir *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis*, la CMI est de 25 mg/ml. Les valeurs de CMI sont similaires pour les extraits de *Laurus nobilis* Mostaganem et de Tissemsilt. Dans l'étude de **Benati (2022)**, la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* pour *Staphylococcus aureus*, correspond à 5.07 mg/ml d'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis*. D'autre part, dans l'étude de **Rahou (2018)**, l'extrait de *Laurus nobilis* a démontré une forte activité contre 8 des souches bactériennes, avec des valeurs de CMI observées dans une plage allant de 0,08 à 3,12 µl/ml. Notamment, l'extrait a présenté une CMI de 0,08 µl/ml pour *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus*. Ces résultats soulignent l'efficacité de l'extrait de *Laurus nobilis* contre ces souches pathogènes.

CMB (Concentration Minimale Bactéricide) des huiles essentielles et extraits

CMB, qui représente le niveau de concentration des **huiles essentielles** où aucune croissance bactérienne n'est observée, nous observons des variations similaires. Pour *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* (CMB=2.5%) et *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis* (CMB=5%), les valeurs de CMB sont également identiques pour les huiles de *Laurus nobilis* Mostaganem et Tissemsilt. Cela indique que pour ces souches, les huiles essentielles de *Laurus nobilis* présentent non seulement une capacité d'inhibition de la croissance bactérienne, mais également une capacité bactéricide (CMB/CMI=2). En ce qui concerne *Candida albicans*, nous avons constaté qu'elle était la plus sensible aux huiles essentielles de *Laurus nobilis*.

Cette forte sensibilité suggère un potentiel prometteur dans l'utilisation de ces huiles comme agents antifongiques.

Dans une autre comparaison avec l'étude menée par **Tahraoui et al. (2020)**, qui ont également observé un rapport CMB/CMI de 4 et pour **Nabila et al., (2020)** est inférieur à 4, indiquant que l'huile essentielle de *Laurus nobilis* a un effet bactéricide, nos résultats montrent que l'huile essentielle (HE) de *Laurus nobilis* a un effet fongicide sur *Candida albicans*, en accord avec les observations de **Taarabt et al. (2017)**.

Concernant la CMB, qui représente le seuil de concentration de l'**extrait** où aucune croissance bactérienne n'est observée, des tendances similaires sont observées. Pour *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis* (CMB=50 mg/ml) sauf *Escherichia coli* (CMB =25mg/ml). Cela indique que l'extrait de *Laurus nobilis* présente un effet bactéricide (CMB/CMI=2). Dans l'étude de **Benati (2022)**, le rapport CMB/CMI inférieur à 4 ce qui signifie que l'extrait de *Laurus nobilis* a un pouvoir bactéricide. De plus, cela indique que l'extrait de cette plante contient des composés phénoliques qui ont démontré des effets antimicrobiens contre de nombreux microorganismes pathogènes tels que *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (**Bouchaale et Zouaoui, 2015; Ould Yeroi, 2015**).

Conclusion

Dans cette étude, nous avons exploré divers aspects de *Laurus nobilis*, notamment sa composition physico-chimique, son potentiel d'extraction, ses propriétés antioxydantes et son activité antimicrobienne.

Tout d'abord, l'analyse de la teneur en eau des feuilles de *Laurus nobilis* a révélé des valeurs comparables entre les régions de Mostaganem et de Tissemsilt, indiquant une composition similaire malgré les différences géographiques. En ce qui concerne les rendements d'extraction, nous avons observé des variations significatives : les huiles essentielles ont montré des rendements de 0.4% pour *Laurus nobilis* Mostaganem et 0.8% pour *Laurus nobilis* Tissemsilt, tandis que les extraits ont montré des rendements de 11% pour *Laurus nobilis* Mostaganem et 16% pour *Laurus nobilis* Tissemsilt.

En ce qui concerne les composés bioactifs, nous avons réalisé des dosages de polyphénols et de flavonoïdes dans les extraits de *Laurus nobilis*. Les résultats ont montré des teneurs moyennes en polyphénols totaux relativement proches pour les deux régions d'étude : 6.79 ± 0.940 mg EAG/g pour *Laurus nobilis* Mostaganem et 6.18 ± 0.233 mg EAG/g pour Tissemsilt. Cependant, les extraits de *Laurus nobilis* Mostaganem ont présenté une teneur moyenne en flavonoïdes légèrement élevée (44 ± 9.76 mg EQ/g) par rapport à ceux de Tissemsilt (31.02 ± 0.885 mg EQ/g).

Pour évaluer l'activité antioxydante, nous avons réalisé des tests DPPH, révélant des propriétés significatives des huiles essentielles et des extraits de *Laurus nobilis*. Les résultats ont montré que les huiles essentielles et les extraits des deux régions ont une activité antioxydante, bien que légèrement inférieure à celle de l'acide ascorbique. En ce qui concerne l'activité antibactérienne, les tests de diffusion sur disque ont montré que les huiles essentielles des deux régions présentaient des effets similaires contre les souches microbiennes testées.

Les tests de diffusion sur puits ont confirmé ces résultats, mettant en évidence une activité antimicrobienne variable des extraits selon les souches bactériennes testées. Des différences significatives ont été observées entre *Laurus nobilis* Mostaganem et *Laurus nobilis* Tissemsilt pour certaines souches, soulignant l'impact de la géographie sur l'activité antimicrobienne des extraits.

En outre, les valeurs de CMI et de CMB ont permis de déterminer les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des huiles essentielles et des extraits, confirmant leur efficacité contre les souches microbiennes étudiées. Pour *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis*, les valeurs de CMI et de CMB sont toutes similaires pour les huiles essentielles et l'extrait entre les deux régions.

En conclusion, les résultats de cette étude mettent en lumière les possibilités des huiles essentielles et des extraits de *Laurus nobilis* provenant des régions de Tissemsilt et de Mostaganem en tant qu'agents antimicrobiens. Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives prometteuses dans le domaine de la médecine naturelle et du développement de médicaments à base de plantes, ainsi que dans l'amélioration de leur utilisation future.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdelkhalek, A., Salem, M. Z., Ali, H. M., Kordy, A. M., Salem, A. Z., & Behiry, S. I. (2020). Antiviral, antifungal, and insecticidal activities of *Eucalyptus* bark extract: HPLC analysis of polyphenolic compounds. *Microbial Pathogenesis*, 104383.
- Abudunia, A. M., Marmouzi, I., Faouzi, M. E. A., Ramli, Y., Taoufik, J., El Madani, N., Ibrahim, A. (2017). Anticandidal, antibacterial, cytotoxic and antioxidant activities of *Calendula arvensis* flowers. *Journal de Mycologie Médicale*, 27(1), 90-97.
- Ali, M. B., Hahn, E. J., & Paek, K. Y. (2007). Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in *Panax ginseng* bioreactor root suspension cultures. *Molecules*, 12(3), 607-621.
- Amaral, J. A., Ekins, A., Richards, S. R., & Knowles, R. (1998). Effect of Selected Monoterpenes on Methane Oxidation, Denitrification, and Aerobic Metabolism by Bacteria in Pure Culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 520-525.
- Athmane, S. A., & Azza, O. (2023). Screening chimique et évaluation de l'activité antibactérienne, anticancéreuse et anti hémolytique de quelques plantes médicinales. Master, Université d'El Oued, 66.
- Awada, F., Hamade, K., Kassir, M., Hammoud, Z., Mesnard, F., Rammal, H., & Fliniaux, O. (2023). *Laurus nobilis* Leaves and Fruits: A Review of Metabolite Composition and Interest in Human Health. *Applied Sciences*, 13(4606).
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., ... Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Journal of Arzneim- Forsch Drug Research*, 46, 1086-1108.
- Ballabio, R., & Goetz, P. (2010). Huile de graine/fruit de laurier *Laurus nobilis* L., *Laurus azorica* (Seub.) Franco, *Laurus novocanariensis* Rivas Mart., Lousã, Fern. Prieto, E. Dias, J.C. Costa et C.Aguiar. *Phytothérapie*, 8(2), 141-144.
- Ballabio, R., & Goetz, P. (2010). Huile de graine/fruit de laurier *Laurus nobilis* L., *Laurus azorica* (Seub.) Franco, *Laurus novocanariensis* Rivas Mart., Lousã, Fern. Prieto, E. Dias, J.C. Costa et C.Aguiar. *Phytothérapie*, 8(2), 141-144.
- Barahmi, N., & Chibane, M. (Encadreur). (2008). Étude de quelques propriétés biologiques des extraits polyphénoliques de cinq plantes médicinales.
- Barla, A., Topçu, G., Öksüz, S., Tümen, G., & Kingston, D. G. I. (2007). Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus nobilis* I. *Food Chemistry*, 104, 1487-1484.
- Benati, F. Z. (2022). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne de l'extrait hydroéthanolique de laurier noble (*Laurus nobilis* L.) sur la souche pathogène de *Staphylococcus aureus* (ATCC 33862), Master, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem], Algérie, P35-36.
- Bekhechi, C., & Abdelouahid, D. (2014). Les huiles essentielles. Office des Publications Universitaires, 55.
- Beloued, A. (2005). Plantes médicinales d'Algérie. Office des Publications Universitaires.

- Beloued, A. (2009). Laurier, description, habitat, composition chimique. Dans Plantes Médicinales d'Algérie.
- Bendjersia, F. Z., Tazerouti, F., Belkhelfa, R., Djerdjouri, B., & Meklati, B. Y. (2016). Phytochemical composition of the Algerian *Laurus nobilis* L. leaves extracts obtained by solvent free microwave extraction and investigation of their antioxidant activity. *Journal of Essential Oil Research*, 28, 202–210.
- Benguerba, A. (2008). Étude phytochimique et de la phase butanolique de l'espece *Inula crithmoides* L. , Master, Université Mentouri Constantine
- Benkada, M. (1990). Isolation des huiles essentielles de la *Menthe suaveolens*, ehrh (Bous Domrane) de la région de Tlemcen et leur analyse par différents méthodes chromatographiques mise en évidence du composé majoritaire «la pulégone». *Magister. Univ Tlemcen*, 42, 76.
- Benoist, R. (1928). Les Lauracées de la Guyane française. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 75, 974-980.
- Bensaid, A. (2011). Effet de quelques extraits végétaux sur une population de cochenilles diaspines dans un verger d'agrumes à Rouïba. Mémoire de Magister. ENSA, Alger.
- Boizot, N., & Charpentier, J.-P. J. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- Benzie, I. F., & Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- Berthod, A., Biillardello, B., & Geoffroy, S. (1999). Polyphenol in counterwrent vbromatography. An exemple of large scale separation 1. *Analisis*, 27, 750-757.
- Bouchaale, I., Kahalerras, A., & Zouaoui, S. (2015). Etude comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Laurus nobilis* de deux régions (Algérie et Tunisie). Mémoire Master : Université de Guelma.
- Boudiaf, K. (2006). Étude des effets anti-xanthine oxydoréductase et antiradicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire Magister. Université Ferhat Abbas.
- Bourkhiss, M., Hnach, M., Bourkhiss, B., Ouhssine, A., Chaouch, B., & Satrani. (2009). Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Agrosolutions Septembre Vol. 20*.
- Bouloufa, H., & Chetioui, O. (2017). "Étude phytochimique, activité antioxydante et antihémolytique des extraits de *Laurus nobilis*". Mémoire de Fin de Cycle, MASTER, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- Boutekedjir, C., Bentahar, F., Belabbes, R., & Bessiere, J. M. (2003). Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour Fragr. J*, 18, 481-484.
- Boutoumou, B., & Ziat, S. (2020). Étude phytochimique et l'évaluation in vitro de quelques activités biologiques d'une plante médicinale algérienne, *Laurus nobilis* L (Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine 1, Algérie).
- Braga, P. C., Dal Sasso, M., Culici, M., Galastri, L., Marceca, M. T., & Guffanti, E. E. (2006). Antioxidant potential of thymol determined by chemiluminescence inhibition in human neutrophils and cell-free systems. *Pharmacology*, 76(2), 61-68.

- Broadasky, T. F., Lewis, C., & Eble, T. E. (1976). Bioautographic thin layer chromatographic analysis of antibiotics and their metabolites in the whole animal. I Clindamycin in the rat. *Journal of Chromatography*, 123, 33-44.
- Bruneton, J. (2002). *Plantes toxiques, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux - 3^{ème} édition*, TEC&DOC. Paris, France.
- Bruneton, J. (Ed.). (year). *Pharmacognosie-phytochimie-plante-medicinals* (3rd ed.).
- Biljana, K., & Djendii, V. (2015). Flavonoïdes et acides phénoliques en tant que antioxydants naturels potentiels.
- Callery, E. (1998). *Le grande livres herbes : guide pratique de la culture, du séchage et vertus de plus de 50 herbes*. Konemann.
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., & Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10, 178-182.
- Chaumon, M., Goëlo, V., Ribeiro, A. M., Rocha, F., & Estevinho, B. N. (2020). *In vitro* evaluation of microparticles with *Laurus nobilis* L. extract prepared by spray-drying for application in food and pharmaceutical products. *Food and Bioproducts Processing*, 122, 124–135.
- Chebaibi, Z., Marouf, F., Rhazi-Filali, F., Fahim, M., & Ed-Dra, A. (2016). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc.
- Chytrý, M., Tichý, L., Hennekens, S.M., Knollová, I., Janssen, J.A.M., Rodwell, J.S., ... Schaminée, J.H.J. (2020). *Applied Vegetation Science*, 23, 648-675.
- Cillard, J., & Cillard, P. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des antioxydations. *Oleagineux, corps gras, lipides*, 13(1), 24-29.
- Cours de Bactériologie, DCEM1, Université Pierre et Marie Curie, Faculté de Médecine de Nantes. (2007).
- Cox, S.D., Gustafson, J.F., Warmington, J.R., & Wyllie, S.G. (1991). In vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Malaleuca alternifolia* essential oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 170-175.
- Cox, S.D., Mann, C.M., Markham, J.L., Bell, H.C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R., & Wyllie, S.G. (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88, 170-175.
- Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. (2009). Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat Prod Rep*, 26(8), 1001-43.
- Seigler, D. S. (1998). *Plant Secondary Metabolism*. Springer US. Retrieved from <https://www.springer.com/gp/book/9780412019814>
- Dangles, O., Stoeckel, C., Wigand, M.C., & Brouillard, R. (1992). Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion. *Tetrahedron Lett.*, 33, 5227-30.
- Demir, V., Guhan, T., Yagcioglu, A.K., & Ddegirmencioglu, A. (2004). Mathematical modeling and the Determination of some Quality Paramaters of Air-dried Bay leaves. *Biosystems Engineering*, 88(3), 325-335.

- Derwich, E., Benziane, Z., & Boukir, A. (2010). Chemical composition and *In vitro* antibacterial activity of the essential oil of Cedrus. *Atlantica*.
- Djahra, A. B., Bordjiba, O., & Benkherara, S. (2013). Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.). *Phytothérapie*, 11(6), 348-352.
- Doumandji, A., Hellal, A., & Saidi, N. (2010). Purification de la bactériocine à partir de *Lactobacillus acidophilus* 11. *Microbiol. Ind.*, (4), 25-47.
- Edris, A.E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytotherapy Research*, 21(4), 308-323.
- Wogiatzi, E. (2011). Evaluation of Essential Oil Yield & Chemical Components of Selected Basil Cultivars.
- Falcone Ferreyra, M. L., Rius, S. P., & Casati, P. (2012). Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in Plant Science*, 3, 222.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372-379.
- Fernandez, X., & Casale, A. (2015). Eaux florales et hydrolats - Obtention, compositions, conservations et applications. *Techniques de l'ingénieur*, p2645.
- Fernandez, X., & Chemat, F. (2012). La chimie des huiles essentielles. Tradition et innovation. Vuibert, Paris.
- Franchomme, P., Jollois, R., & Pénoël, D. (2001). L'aromathérapie exactement. In: *Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques*. Limoges: Roger Jollois.
- Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique Et Métabolisme*, 11, 115-20.
- Guba, R. (2001). Toxicity myths-essential oils and their carcinogenic potentiel. *International Journal of Aromatherapy*, 11, 76-83.
- Haddouche, F., & Benmansour, A. (2008). Article de synthèse: Huiles essentielles et activités biologiques, Application à deux plantes aromatiques. *Journal les technologies de laboratoire*, N°8.
- Haddouchi, F., Lazouni, H. A., Meziane, A., & Benmansour, A. (2009). Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique Science: Revue Internationale Des Sciences Et Technologie*, 5(2).
- Halliwell, B., & Gutteridge, J.M. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in Human disease: an overview. *Methods Enzymol.*, 186, 1-85.
- Hodek, P., Trefil, P., & Stiborova, M. (2002). Flavonoids-potent and versatile biologically.
- Ho, I.S., Hannan, F., Guo, H.F., Hakker, I., & Zhong, Y. (2007). Distinct functional domains of neurofibromatosis type 1 regulate immediate versus long-term memory formation. *J. Neurosci.*, 27(25), 6852—6857.
- Hopkins, W.G. (2003). *Physiologie végétale*. Ed: DE BOECK, 12, 41-42.
- Hwanhlem, N., Buradaleng, S., Wattanahant, S., Benjakul, S., Tani, A., & Maneerat, S. (2011). Isolation and screening of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented fish (Plasom) and production of Plasom from selected strains. *Food Control*, 22(3-4), 401-407.

- Hwanhlem, N., Buradaleng, S., Wattanachant, S., Benjakul, S., Tani, A., & Maneerat, S. (2011). Isolation and screening of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented fish (Plasom) and production of Plasom from selected strains. *Food Control*, 22(3–4), 401–407.
- Iserin, P. (2001). *Encyclopédie des plantes médicinales*. 2^{ème} Ed. Larousse. Londres, 225-226p.
- Ivanović, J., Žižović, I., Petrović, S. D., & Skala, D. (2009). The analysis of different processes of extraction: yield of extracts obtained from *Aloe vera* (aloe barbadensis miller) and sweet bay (*Laurus nobilis* L.) and the exergy analysis of applied processes. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*, 15(4), 271–278.
- Javed, F., Jabeen, Q., Aslam, N., & Awan, A. M. (2020). Pharmacological evaluation of analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of ethanolic extract of *Indigofera argentea* burm. F. *Journal of Ethnopharmacology*, 112966.
- Kheayar, N., Belhamel, K., & Meridja, D. (2014). Étude De L'activité Antibactérienne Des Huiles Essentielles D'*Inula Viscosa*, *Salvia Officinalis* Et *Laurus Nobilis* De La Région De Bejaia. Volume 2, Numéro 1, Pages 18-26.
- Kivcak, B., & Mert, T. (2002). Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* leaf extracts. *Fitoterapia*, 73, 242-3.
- King, A., & Young, G. (1999). Characteristics and Occurrence of Phenolic Phytochemicals. *Journal of the American Dietetic Association*, 99(1999), 213–218.
- Kosar, M., Tunalier, Z., Ozek, T., Kurkcuoglu, M., & Can Baser, K.H. (2002). A simple method to obtain essential oils from *Salvia triloba* L. and *Laurus nobilis* L. by using microwave assisted hydrodistillation. Thèse de Doctorat, Université de Anadolu, Turquie, 620p.
- Kunle, O., Okogun, J., Egamana, E., Emojevwe, E., & Shok, M. (2003). Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. *Phytomedicine*, 10(1), 59-61.
- Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18(6), 435-448.
- Lattanzio, V., Lattanzio, V. M. T., & Cardinali, A. (2006). Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. *Phytochemistry: Advances in Research*, 23-67.
- Leybros, P., & Frémeaux, « Extraction solide-liquide ». *Technique de l'Ingénieur*, J2780-2782, 1-21, Paris, 1990.
- Liang, X., Jiang, Y., Guo, Z., & Fang, S. (2020). Separation, UPLC-QTOF-MS/MS analysis, and antioxidant activity of hydrolyzable tannins from water caltrop (*Trapa quadrispinosa*) pericarps. *LWT*, 110010.
- Lambert, P. A. (2001). Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47(1), 5-8.
- Ljubuncic, P., Hui Song, A., Uri Cogan, B., Hassan Azaizeh, C., & Arieh, B. (2009). The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 198–204.
- Luo, X., Cui, J., Zhang, H., Duan, Y., Zhang, D., Cai, M., & Chen, G. (2018). Ultrasound assisted extraction of polyphenolic compounds from red sorghum (*Sorghum bicolor* L.) bran

- and their biological activities and polyphenolic compositions. *Industrial Crops and Products*, 112, 296-304.
- Bugnicourt, M. (1995). *Dictionnaire de microbiologie générale*. Ellipses édition marketing SA.
 - Mazid, M., Khan, T.A., & Mohammad, F. (2011). Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biology and Medicine*, 3, 232–249.
 - Maatallah, S., Nasri, N., Hajlaoui, H., Albouchi, A., & Elaissi, A. (2016). Evaluation changing of essential oil of laurel (*Laurus nobilis L.*) under water deficit stress conditions. *Industrial Crops and Products*, 91, 170–178.
 - Macheix, J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR Presses polytechniques.
 - Marjorie, M. C. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.
 - Mahimoud, M., & Kemmouche, N. D. (2023). Application et évaluation de quelques stratégies de lutte contre la résistance bactérienne : Activités antibactérienne et antibiofilm de l'extrait et de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*. Mémoire de Master, Université de frère mentouri, constantine.
 - Maisuthisakul, P., Pasuk, S., & Ritthiruang de j, P. (2008). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 229-240.
 - Marmonier, A. A. (1990). Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques. In *Bactériologie médicale, Techniques Usuelles* (pp. 227-236). Doin.
 - Maurice, N. (1997). *L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle*. Ed, TEC ET DOC.
 - Miliani, A. (2018). Étude phytochimique des feuilles de laurier noble (*Laurus nobilis L.*), effets biologiques et pharmacologiques. Thèse de doctorat, Université Saad Dahlab Blida 1, Algérie.
 - Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2), 211-219.
 - Molyneux, P. (2004). The use of the stable radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211-219.
 - Moroh, J.L.A., C., Bahi, K., Dje, Y.G. Loukou., F., & Guede-guina. (2008). Study of the antibacterial activity of *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) acetatique extract (ACE) on in-vitro growth of *Escherichia coli* strains. *Bulletin Societe Royale des Sciences Liege*, 77, 44-61.
 - Nabila B., Piras A., Fouzia B., Falconieri D., Kheira G., Fedoul F. F., & Majda S. R. (2020). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Laurus nobilis* leaves. *Natural Product Research*: 1-5.
 - Ouibrahim, A. (2015). Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis L.*, *Ocimum basilicum L.* et *Rosmarinus officinalis L.*) de l'Est Algérien.

- Ouibrahim, A., Tlili-Ait-Kaki, Y., Bennadja, S., Amrouni, S., Djahoudi, A.G., & Djebar, M.R. (2013). Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast
- OuldYerou K., Meddah B., TirTouil A. Etude de l'effet d'huile essentielle de *laurier noble* de l'ouest algérien sur salmonella spp. *In vitro* et *in vivo*. European Scientific Journal. 2015 11:33 pp. 311-318.
- Ozcan, B., Esen, M., Sangun, M. K., Coleri, A., & Caliskan, M. (2010). Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil. Journal of Environmental Biology, 31(5), 637-641.
- Paolini, V., Dorchie, Ph., & Hoste, H. (2012). Effets des tanins condensés et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. INRA/ENVIT. N°31076. 5 P.
- Pariente, L. (2001). Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique, 2^{ème} Ed. Académie nationale de pharmacie.
- Peronny, S. (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (*Lemur catta*). Thèse de doctorat, 151 p.
- Perrot, É. (1891). Contribution à l'étude histologique des Lauracées. Imprimerie Lucien Declume.
- Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A., Bacq-Calberg, C.M., & Dusart, J. (2003). Microbiologie, 2^{ème} éd. De Boeck Université.
- Quezel, P., & Santa, S. (1963). La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Ed CNRS.
- Rakotomalala, R. (2013). Comparaison de populations. Tests paramétriques, Omp, 119.
- Rahou, Y., & Djalloul, D. Y. (2018). Exploration des activités biologiques de l'extrait des feuilles de *Laurus nobilis* L. *In vitro* et *In vivo* [Mémoire de Master, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, Algérie], P 38-39.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine, 26, 1231-1237.
- Ren, M., Xu, W., Zhang, Y., Ni, L., Lin, Y., Zhang, X., & Huang, M. (2020). Qualitative and quantitative analysis of phenolic compounds by UPLC-MS/MS and biological activities of *Pholidota chinensis* Lindl. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 113350.
- Ricardo da Silva, J.M., Darmon, N., Fernandez, Y., & Mitjavila, S. (1991). Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39, 1549-1552.
- Richard, H., & Peyron, F. (1992). Épices et aromates. Ed. Tec. & Doc-Lavoisier.
- Rojas, A., Hernandez, L., Pereda-Miranda, R., & Mata, R. (1992). Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology, 35, 275-283.
- Ponce, A.G., Fritz, R., del Valle, C., & Roura, S.I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensm.-Wiss.u.-Technol. 36, 679-684.

- Sagdic, O., Kuscu, A., Özcan, M., & Özcelik, S. (2002). Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli* O157, *Food Microbiology*, 19, 473-480.
- Saidi, Meriama, & Tobji, Nafissa. (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne de combinaisons d'huiles essentielles et d'antibiotiques.
- Samanta, A., Das, G., & Das, S.K. (2011). Roles of flavonoids in plants. *Int J Pharm Sci Tech*, 6, 12-35.
- Sharma, K., & Guleria, S., & Razdan, V.K., & Babu, V. (2020). Synergistic antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of some selected medicinal plants in combination and with synthetic compounds. *Ind Crops Prod* 154(January), 112569.
- Sayyah, M., Valizadeh, J., & Kamalinejad, M. (2002). Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole. *Phytomedicine*, 9, 212-216.
- Selles, C. (2012). Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen: *Anacyclus pyrethrum* L, Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5M. Thèse de pharmacie, 214p.
- Sharma, K., Guleria, S., Razdan, V.K., & Babu, V. (2020). Synergistic antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of some selected medicinal plants in combination and with synthetic compounds. *Industrial Crops and Products*, 154, 1125-69.
- Sharma, O.P., & Bhat, T.K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113(4), 1202-1205.
- Sies, H., & Jones, D.P. (2007). Oxidative stress. In G. Fink (Ed.), *Encyclopedia of Stress* (2nd ed., Vol. 3, pp. 45-48). Elsevier.
- Singleton, V., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Stout, M.J., & Fidantsef, A.M. (2003). Molecular and biochemical details of the biosynthesis and action of phytoalexins. *Annual Review of Plant Biology*, 54, 211-235.
- Taarabt, K.O., Koussa, T., & Alfeddy, M.N. (2017). Caractéristiques physicochimiques et activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L. au Maroc. *Afrique Science*, 13(1), 349-359.
- Tahraoui, H., Si Mohammed, E., & Sidi Yakhlef, W. (2020). Étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la plante médicinale *Laurus nobilis* de la région d'Aïn Témouchent. *Mémoire de l'Université Belhadj BouchaïB, Ain Témouchent*. p. 41-42.
- Tchombé, L.N., Louajri, A., Gálvez, J., & Benajiba, M.H. (2013). Concentration effect on the radical scavenging activity of two plants (*Laurus nobilis* L. and *Ficus carica* L.) leaves extracts. *Moroccan Journal of Biology*, 10, 16.
- Technique et Documentation Lavoisier. (1999).
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., & Cisneros-Zevallos, L. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 669-675.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>.
- Tortora, G.J., Funke, B.R., & Case, C.L. (2019). *Microbiology: An Introduction* (13th ed.). Pearson.

- Ulomskiy, E.N., Ivanova, A.V., Gorbunov, E.B., Esaulkova, I.L., Slita, A.V., Sinegubova, E.O., ... & Gerasimova, E.L. (2020). Synthesis and biological evaluation of 6-nitro-1, 2, 4-triazoloazines containing polyphenol fragments possessing antioxidant and antiviral activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 127216.
- Yang, Q.Q., Farha, A.K., Cheng, L.Z., Kim, G., Zhang, T., & Corke, H. (2020). Phenolic content and *in vitro* antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) are not directly related to anti-proliferative activity. *Food Bioscience*, 100662.
- Ziani, B.E.C., Heleno, S.A., Bachari, K., Dias, M.I., Alves, M.J., Barros, L., & Ferreira, I.C.F.R. (2019). Phenolic compounds characterization by LC-DAD-ESI/MSn and bioactive properties of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. and *Ephedra alata* Decne. *Food Research International*, 116, 312-319. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.041>.

Annexes

Annexe 1 : Activité antimicrobienne

1.1. Composition chimique des milieux utilisés :

Gélose nutritive (GN) (g/l)

Peptone.....	10 gd
Extrait de viande.....	3 g
Extrait de levure.....	3 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Agar.....	18 g
Eau distillée.....	1000 ml

Mueller Hinton gélosé (M-H) (g/l)

Extrait de viande.....	3 g
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5 g
Amidon.....	1.5 g
Agar.....	16 g
Eau distillée.....	1000 ml

Bouillon nutritif (BN)

Peptone.....	10 g
Extrait de viande.....	3 g
Extrait de levure.....	3 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Eau distillée.....	1000 ml

Bouillon Muller Hinton :

Extrait de viande.....	3 g
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5 g
Amidon.....	1.5 g
Eau distillée.....	1000 ml

Eau physiologique :

Chlorure de sodium	9g
Eau distillée.....	1000g

Annexe 2 : Dosage des polyphénols et activité antioxydante 2.1. Préparation des solutions :

Quantification des polyphénols totaux :

Préparation de Carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 3,75% :

Une quantité de 3,75 g de Na₂CO₃ est dissoute dans 100 mL d'eau distillée sous agitation à l'aide d'un agitateur magnétique.

➤Préparation de Folin Ciocalteu dilué 5 fois

Une quantité de 5 g de folin ciocalteu est dissoute dans 50 mL d'eau distillée sous agitation à l'aide d'un agitateur magnétique.

➤Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique

Quantification des flavonoïdes totaux :

Préparation des solutions :

Préparation de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) : on pèse 0,2g d'AlCl₃ dans 100 ml d'eau distillée.

Activité anti-radicalaire au DPPH :

Préparation de la DPPH

La solution de DPPH (solution de stockage) a été préparé par la solubilisation de 24 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol et gardé à -4°C à l'abri de la lumière.

La solution mère de DPPH : On prend 10 ml de la solution de stockage et mélanger avec 45ml méthanol (absorbance de 1.1±0.2 à 515 nm)

Annexe 3 : Analyse statistique *Laurus nobilis.L*

1. Activité antioxydante :

1.1. Analyse de la variance DPPH huiles essentielles

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
echantillon	2	5,267	2,6333	8,26	0,038
Erreur	4	1,276	0,3190		
Total	6	6,543			

Moyennes

echantillon	N	Moyenne	EcTyp	IC à 95 %
acide ascorb	1	0,05583	*	(-1,51230; 1,62395)
He Mostaganem	3	2,703	0,727	(1,797; 3,608)
He Tissemsilt	3	1,954	0,332	(1,048; 2,859)

Ecart type regroupé = 0,564796

1.2. Analyse de la variance DPPH extrait AQ

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
echantillon	2	9,728	4,8639	6,99	0,049
Erreur	4	2,782	0,6955		
Total	6	12,510			

Moyennes

echantillon	N	Moyenne	EcTyp	IC à 95 %	<i>Ecart type regroupé = 0,833979</i>
acide ascorb	1	0,05500	*	(-2,26050; 2,37050)	
AQ Mostaagen	3	3,651	1,139	(2,314; 4,988)	
AQ Tissemsilt	3	2,618	0,305	(1,281; 3,955)	

2. Dosage des polyphénols :

2.1. Analyse de la variance polyphénols

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
zone	1	0,5496	0,5496	1,17	0,340
Erreur	4	1,8758	0,4689		
Total	5	2,4254			

Moyennes

zone	N	Moyenne	EcTyp	IC à 95 %	<i>Ecart type regroupé = 0,684793</i>
Mostaganem	3	6,791	0,940	(5,693; 7,888)	
Tissemsilt	3	6,185	0,233	(5,088; 7,283)	

2.2. Analyse de la variance flavonoïdes

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
zone	1	252,7	252,72	5,26	0,083

Erreur	4	192,1	48,03
Total	5	444,8	

Moyennes

zone	N	Moyenne	EcTyp	IC à 95 %	
Mostaganem	3	44,00	9,76	(32,89; 55,11)	Ecart type regroupé = 6,93021
Tissemsilt	3	31,020	0,885	(19,911; 42,129)	

3. Activité antimicrobienne :

3.1. Analyse de la variance méthode diffusion en *disque* (les huiles essentielles *Laurus nobilis*) ANOVA.

Analyse de la variance

Analyse de la variance

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
les souches	7	576,768	82,3954	10,20	0,000
zones	1	0,221	0,2207	0,03	0,870
Erreur	39	314,990	8,0767		
Inadéquation de l'ajustement	7	5,127	0,7324	0,08	0,999
Erreur pure	32	309,863	9,6832		
Total	47	891,978			

Coefficients

Terme	Coef	Coef ErT	Valeur de T	Valeur de p	FIV
Constante	15,982	0,691	23,14	0,000	
les souches					
<i>Bacillus cereus</i>	2,25	1,83	1,23	0,227	1,75
<i>Bacillus subtilis</i>	-0,92	1,83	-0,50	0,617	1,75
<i>Candida albicans</i>	-1,10	1,83	-0,60	0,552	1,75
<i>Escherichia coli</i>	-1,38	1,83	-0,76	0,454	1,75
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-5,17	1,83	-2,83	0,008	1,75
<i>Proteus mirabilis</i>	3,58	1,83	1,96	0,059	1,75
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-2,90	1,83	-1,59	0,122	1,75
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,65	1,83	3,09	0,004	*
zones					
mostaganem	0,527	0,691	0,76	0,451	1,00
tissemsilt	-0,527	0,691	-0,76	0,451	*
les souches*zones					
<i>Bacillus cereus mostaganem</i>	3,56	1,83	1,95	0,060	1,75
<i>Bacillus cereus tissemsilt</i>	-3,56	1,83	-1,95	0,060	*
<i>Bacillus subtilis mostaganem</i>	-0,70	1,83	-0,38	0,703	1,75
<i>Bacillus subtilis tissemsilt</i>	0,70	1,83	0,38	0,703	*
<i>Candida albicans mostaganem</i>	-2,21	1,83	-1,21	0,236	1,75
<i>Candida albicans tissemsilt</i>	2,21	1,83	1,21	0,236	*
<i>Escherichia coli mostaganem</i>	-0,33	1,83	-0,18	0,856	1,75
<i>Escherichia coli tissemsilt</i>	0,33	1,83	0,18	0,856	*
<i>Klebsiella pneumoniae mostaganem</i>	0,48	1,83	0,26	0,796	1,75
<i>Klebsiella pneumoniae tissemsilt</i>	-0,48	1,83	-0,26	0,796	*
<i>Proteus mirabilis mostaganem</i>	-0,71	1,83	-0,39	0,702	1,75
<i>Proteus mirabilis tissemsilt</i>	0,71	1,83	0,39	0,702	*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-0,95	1,83	-0,52	0,608	1,75
mostaganem					
<i>Pseudomonas aeruginosa tissemsilt</i>	0,95	1,83	0,52	0,608	*
<i>Staphylococcus aureus mostaganem</i>	0,86	1,83	0,47	0,641	*
<i>Staphylococcus aureus tissemsilt</i>	-0,86	1,83	-0,47	0,641	*

Informations de groupement avec la méthode de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher et un niveau de confiance de 95 %

les souches	N	Moyenne	Groupement
Staphylococcus aureus	6	20,5667	A
Candida albicans	6	20,3300	A
Proteus mirabilis	6	19,5575	A
Bacillus subtilis	6	15,0600	B
Escherichia coli	6	14,5983	B
Bacillus cereus	6	14,1500	B C
Pseudomonas aeruginosa	6	12,4633	B C
Klebsiella pneumoniae	6	10,9900	C

Informations de groupement avec la méthode de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher et un niveau de confiance de 95 %

zones	N	Moyenne	Groupement
mostaganem	24	16,0323	A
tissemsilt	24	15,8967	A

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.

3.2. Analyse de la variance méthode diffusion en puits (les extraits *Laurus nobilis*) ANOVA

Coefficients

Terme	Coef	Coef ErT	Valeur de T	Valeur de p
Constante	15,828	0,250	63,40	0,000
les souches				
<i>Bacillus cereus</i>	0,528	0,648	0,81	0,417
<i>Bacillus subtilis</i>	-1,964	0,637	-3,08	0,003
<i>Candida albicans</i>	3,831	0,797	4,81	0,000
<i>Escherichia coli</i>	-3,391	0,637	-5,32	0,000
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-4,357	0,637	-6,84	0,000
<i>Proteus mirabilis</i>	6,289	0,637	9,87	0,000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,704	0,637	1,11	0,272
<i>Staphylococcus aureus</i>	-1,641	0,637	-2,58	0,012
zones				
mostaganem	0,330	0,250	1,32	0,190
tissemsilt	-0,330	0,250	-1,32	0,190
concentration				
c100	0,180	0,347	0,52	0,605
c150	0,725	0,361	2,01	0,048
c50	-0,906	0,351	-2,58	0,011
les souches*concentration				
<i>Bacillus cereus</i> c100	-0,697	0,883	-0,79	0,432
<i>Bacillus cereus</i> c150	-0,562	0,958	-0,59	0,559
<i>Bacillus cereus</i> c50	1,259	0,908	1,39	0,169
<i>Bacillus subtilis</i> c100	-0,081	0,899	-0,09	0,928
<i>Bacillus subtilis</i> c150	-0,138	0,904	-0,15	0,879
<i>Bacillus subtilis</i> c50	0,220	0,900	0,24	0,808
<i>Candida albicans</i> c100	-1,77	1,06	-1,67	0,098
<i>Candida albicans</i> c150	2,58	1,21	2,12	0,036
<i>Candida albicans</i> c50	-0,81	1,10	-0,74	0,464
<i>Escherichia coli</i> c100	0,147	0,899	0,16	0,870
<i>Escherichia coli</i> c150	-0,424	0,904	-0,47	0,640
<i>Escherichia coli</i> c50	0,277	0,900	0,31	0,759
<i>Klebsiella pneumoniae</i> c100	0,517	0,899	0,58	0,567

<i>Klebsiella pneumoniae c150</i>	-1,011	0,904	-1,12	0,266
<i>Klebsiella pneumoniae c50</i>	0,495	0,900	0,55	0,584
<i>Proteus mirabilis c100</i>	2,490	0,899	2,77	0,007
<i>Proteus mirabilis c150</i>	-0,486	0,904	-0,54	0,592
<i>Proteus mirabilis c50</i>	-2,004	0,900	-2,23	0,029
<i>Pseudomonas aeruginosa c100</i>	0,104	0,899	0,12	0,909
<i>Pseudomonas aeruginosa c150</i>	-1,175	0,904	-1,30	0,197
<i>Pseudomonas aeruginosa c50</i>	1,071	0,900	1,19	0,237
<i>Staphylococcus aureus c100</i>	-0,708	0,899	-0,79	0,433
<i>Staphylococcus aureus c150</i>	1,217	0,904	1,35	0,182
<i>Staphylococcus aureus c50</i>	-0,509	0,900	-0,57	0,573

Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

les souches	N	Moyenne	Groupement
<i>Proteus mirabilis</i>	18	21,9560	A
<i>Candida albicans</i>	18	18,6690	B
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18	16,3710	B C
<i>Bacillus cereus</i>	18	16,2592	B C
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	14,0260	C D
<i>Bacillus subtilis</i>	18	13,7027	C D
<i>Escherichia coli</i>	18	12,2755	D
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	18	11,3094	D

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.

Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

les souches*concentration	N	Moyenne	Groupement
<i>Proteus mirabilis c100</i>	6	24,6266	A
<i>Proteus mirabilis c150</i>	6	22,1949	A B
<i>Candida albicans c150</i>	5	19,6478	A B C
<i>Proteus mirabilis c50</i>	6	19,0466	A B C
<i>Candida albicans c100</i>	7	18,2645	A B C D
<i>Candida albicans c50</i>	6	18,0948	B C D
<i>Pseudomonas aeruginosa c100</i>	6	16,6549	B C D E
<i>Bacillus cereus c50</i>	6	16,5483	B C D E
<i>Pseudomonas aeruginosa c50</i>	6	16,5366	B C D E
<i>Bacillus cereus c150</i>	5	16,4279	B C D E
<i>Staphylococcus aureus c150</i>	6	15,9683	B C D E
<i>Pseudomonas aeruginosa c150</i>	6	15,9216	B C D E
<i>Bacillus cereus c100</i>	7	15,8013	C D E
<i>Bacillus subtilis c150</i>	6	14,2899	C D E
<i>Bacillus subtilis c100</i>	6	13,8016	C D E
<i>Staphylococcus aureus c100</i>	6	13,4983	C D E
<i>Bacillus subtilis c50</i>	6	13,0166	C D E
<i>Staphylococcus aureus c50</i>	6	12,6116	D E
<i>Escherichia coli c100</i>	6	12,6033	D E
<i>Escherichia coli c150</i>	6	12,5766	D E
<i>Klebsiella pneumoniae c100</i>	6	12,0066	D E
<i>Escherichia coli c50</i>	6	11,6466	E
<i>Klebsiella pneumoniae c150</i>	6	11,0233	E
<i>Klebsiella pneumoniae c50</i>	6	10,8983	E

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.

3.3. Analyse statistique CMI et CMB

Analyse de la variance CMI HUILES ESSENTIELLES

Analyse de la variance

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
les souches	7	68,3475	9,76393	*	*
Erreur	8	0,0000	0,00000		
Total	15	68,3475			

Statistiques descriptives : T-test CMI HUILES ESSENTIELLES

Statistiques descriptives

Echantillon	N	Moyenne	EcTyp	ErT moyenne
Mostaganem	8	2,97	2,21	0,78
Tissemsilt	8	2,97	2,21	0,78

Analyse de la variance CMI extrait

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
les souches	7	1502,73	214,676	*	*
Erreur	8	0,00	0,000		
Total	15	1502,73			

Statistiques descriptives T-TEST CMI extrait

Zone géographique	N	Moyenne	EcTyp	ErT moyenne
mostaganem	8	12,7	10,4	3,7
tissemsilt	8	12,7	10,4	3,7

Analyse de la variance CMB huiles essentielles

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
les souches	6	38,170	6,362	6,33	0,014
Erreur	7	7,031	1,004		
Total	13	45,201			

Statistiques descriptives : T-test CMB huiles essentielles

Echantillon	N	Moyenne	EcTyp	ErT moyenne
Mostaganem	7	54,5	43,1	16
Tissemsilt	7	54,5	43,1	16

Analyse de la variance CMB extrait AQ

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
les souches	6	38,170	6,362	6,33	0,014
Erreur	7	7,031	1,004		
Total	13	45,201			

Statistiques descriptives : T-test CMB extrait

Echantillon	N	Moyenne	EcTyp	ErT moyenne
Mostaganem	7	54,5	43,1	16
Tissemsilt	7	54,5	43,1	16