

## Caractéristiques physicochimiques et activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L. au Maroc

Kamal OULED TAARABT<sup>1,2\*</sup>, Tayeb KOUSSA<sup>1</sup> et Mohamed NAJIB ALFEDDY<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Physiologie et Pathologie Végétales, Ecologie et Valorisation des Ecosystèmes, Faculté des Sciences d'El Jadida, Université Chouaib Doukkali, Maroc

<sup>2</sup>U.R. Protection des Plantes, Lab. Phyto-Bactériologie, CRRA, Marrakech, INRA, Maroc

\* Correspondance, courriel : [contact.taarabtkamal@gmail.com](mailto:contact.taarabtkamal@gmail.com)

### Résumé

Ce travail porte sur l'extraction de l'huile essentielle d'une plante spontanée de la flore Marocaine, le *Laurus nobilis* L., sa caractérisation sur le plan physicochimique et l'étude de son activité microbiologique. La composition de l'huile essentielle extraite par hydrodistillation des feuilles a été analysée par GC / FID. La teneur moyenne en huile essentielle est de 1,7 % par rapport à la matière sèche. Quarante-cinq composés ont été identifiés. L'Eucalyptol (30,52 %) était quantitativement le composé majoritaire. Sur les cinq souches testées (trois bactéries et deux champignons), l'Aromatogramme a montré qu'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sont insensibles à la concentration de 10 µL de l'huile essentielle, par ailleurs, cette dernière s'est montrée très active sur les trois souches restantes. Outre, la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricides / Fongicides (CMB) ont confirmé, qu'à la concentration de 5 mg / mL, l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L. a une activité bactériostatique sur *Staphylococcus aureus*, fongistatique sur *Aspergillus niger*, et fongicide sur *Candida albicans*. Bien plus, l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L. peut présenter, dans le domaine de la conservation antimicrobienne, des activités biologiques prometteuses et moins risquées que celles des produits de synthèse. Des applications dans l'industrie pharmaceutique et alimentaire sont désormais possibles.

**Mots-clés :** *Laurus nobilis* L., huile essentielle, activité antimicrobienne, conservateur antimicrobien.

### Abstract

**Physicochemical characteristics and antimicrobial activity of the essential oil of *Laurus nobilis* L. in Morocco**

This work aims to extract the essential oil of the spontaneous Moroccan flora plant, *Laurus nobilis* L., the physicochemically characterization and the study of its microbiological activity. The essential composition of the oil is extracted by steam distillation of leaves which was analyzed by GC / FID. The essential average oil content is 1.7 % relative to the dry matter. Forty-five compounds were identified. Quantitatively, the Eucalyptol (30.52 %) was the major compound. Of the five strains tested (three bacteria and two fungi), the Aromatogram showed *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* were insensitive to the concentration of 10 µL of the essential oil. The latter was very active on the remaining three strains. Moreover, the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration / Fungicides

(CMB) have confirmed that the concentration of 5 mg / mL, the essential oil of *Laurus nobilis L.* bacteriostatic activity *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus Niger* on fungistatic and fungicide on *Candida albicans*. Moreover, the essential oil of *Laurus nobilis L.* may be taking part in the field of antimicrobial preservation, promising biological activities and less risky than synthetic products. Applications in the pharmaceutical and food industry are now possible.

**Keywords :** *Laurus nobilis L.*, essential oil, antimicrobial activity, antimicrobial preservative.

## 1. Introduction

Le laurier noble ou laurier sauce, *Laurus nobilis L.* appartient à la famille des lauracées. C'est un arbuste de 2 à 10 m, il pousse spontanément dans les forêts du Rif oriental et occidental et le Moyen Atlas. Le laurier noble fait partie des plantes couramment utilisées dans la production des huiles essentielles et extraits aromatiques. Les feuilles sont exportées annuellement avec une moyenne de 20 tonnes [1]. Elles dégagent une odeur aromatique caractéristique lorsqu'elles sont froissées, elles sont condimentaires, très utilisées par l'industrie agroalimentaire surtout par les conserveries des poissons. Aussi, la plante peut être utilisée traditionnellement en phytothérapie [2]. En outre, les feuilles du laurier noble possèdent une activité anti-oxydante [3] et des propriétés spécifiques capables de conserver les aliments [4], les olives [5], les saucisses [6], les poissons [7] et d'améliorer en général la sécurité des produits [8]. Dans l'objectif de contribuer à une meilleure valorisation de cette plante dans la conservation antimicrobienne, dans le domaine médical ou alimentaire dont la recherche a montré que les conservateurs utilisés se sont révélés perturbateurs endocriniens, voire cancérigènes, ce travail a pour but de présenter l'huile essentielle des feuilles du *Laurus nobilis L.* comme un nouvel agent antimicrobien naturel et efficace. Cet article porte sur l'extraction, la caractérisation de cette huile sur le plan physicochimique et sur l'étude de son activité antimicrobienne contre trois germes bactériens et deux fongiques qui sont le plus souvent responsables de la détérioration des produits, particulièrement, les produits médicamenteux.

## 2. Matériel et méthodes

### 2-1. Matériel

#### 2-1-1. Matériel végétal

La collecte des feuilles du *Laurus nobilis L.* a été effectuée le 08 / 11 / 2014 dans la province d'AZILAL, commune d'AFOURAR, station de TAZERKOUNT, forêt d'IGHARGHAR. Les caractéristiques géographiques sont indiquées dans le **Tableau** ci-après (**Tableau 1**).

**Tableau 1 :** Caractéristiques géographiques du site de collecte du *Laurus nobilis L.*

Date	Lieu	Longitude	Latitude	Altitude
08 / 11 / 2014	AFOURAR	-6,51688772	32,17115391	1540,1 m

L'identification de l'espèce a porté uniquement sur les essais botaniques macroscopiques. Le séchage des feuilles a été effectué dans une chambre aérée à atmosphère ambiante, à l'abri de la lumière. Les feuilles ont été pesées régulièrement jusqu'au poids constant. La période du séchage a pris environ 30 jours. Ensuite, le matériel végétal a été broyé en une poudre granuleuse à l'aide d'un broyeur à couteaux. Le broyat a été conservé dans un récipient en inox à l'abri de la lumière et de l'humidité.

### 2-1-2. Souches microbiennes

Les souches microbiennes utilisées étaient celles décrites par la pharmacopée européenne dans le paragraphe « Efficacité de la conservation antimicrobienne ». Il s'agit de trois souches bactériennes : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* ; et deux souches fongiques : *Candida albicans* et *Aspergillus niger*. Les différentes souches nous ont été fournies par l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech et étaient entretenues régulièrement par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance en vue d'une utilisation éventuelle, d'autres étaient conservées par cryoconservation dans des micro-tubes avec 30 % de glycérine à -20 °C.

## 2-2. Méthodes

### 2-2-1. Extraction, paramètres physico-chimiques et profil chromatographique

#### 2-2-1-1. Extraction

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil à distiller de laboratoire à fonctionnement discontinu. Dans un ballon rodé de 6 Litres surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant, nous avons introduit 435 g du broyat avec 10 fois son poids en eau distillée. A l'aide d'un ballon de chauffage, nous avons procédé à l'extraction solide-liquide par entraînement à la vapeur d'eau à 100 °C jusqu'à récupération de 3 Litres de distillat. A l'aide d'une ampoule à décanter, nous avons procédé à une extraction cyclohexane-distillat qui nous a permis de séparer l'hydrolat de la phase organique. Ensuite, nous avons séparé - à l'aide d'un évaporateur rotatif en sous vide - le cyclohexane de l'huile essentielle. Enfin, l'huile essentielle a été récupérée dans un flacon en verre teinté étanche et stockée dans un réfrigérateur entre 4 °C et 8 °C. Le rendement moyen a été calculé en fonction du poids de l'HE obtenu à la fin de chaque extraction par rapport au poids de la matière végétale sèche utilisée selon la fonction suivante :

$$R_m(\%) = [P(HE) / P(MV)] \times 100 \quad (1)$$

$R_m$  : Rendement moyen ;  $P(HE)$  : Poids de l'HE obtenu ;  $P(MV)$  : Poids du matériel végétal utilisé.

Les caractéristiques organoleptiques ont porté sur l'aspect et la couleur de l'huile essentielle, son odeur, sa consistance et sa solubilité.

#### 2-2-1-2. Paramètres physico-chimiques

Les normes utilisées pour la réalisation des analyses étaient la NF ISO 280 pour l'indice de réfraction, la NF ISO 592 pour le pouvoir rotatoire, la NF EN ISO 660 pour l'indice d'acide, la NF ISO 709 pour l'indice d'ester, la NF ISO 1241 pour l'indice d'ester après acétylation, la norme AFNOR de l'huile étudiée pour la miscibilité à l'éthanol, la méthode « Coupelle fermée » pour la mesure du point éclair et le densimètre électronique pour la densité relative.

#### 2-2-1-3. Profil chromatographique

La composition de l'huile essentielle a été analysée par la CG / FID. Le chromatogramme a été réalisé sur colonne apolaire en fonction du temps de rétention. La colonne capillaire utilisée est en silice fondue, longueur 20 m, diamètre intérieur 0,18 mm, marque Agilent J & W DB-5ms Ultra Inert 121-5522UI. La phase stationnaire est apolaire, en 5 % Phenyl et 95 % dimethyl arylene siloxane. L'épaisseur du film est 0,18 µm. La

température du four est 50 °C pendant 3 min 20, puis programmation de température de 50 °C à 320 °C, à raison de 10 °C / min. La température de l'injecteur est 280 °C. La température du détecteur est 300 °C. Le détecteur utilisé est à ionisation de flamme (FID). Le gaz vecteur est l'hydrogène. Le volume injecté est 2 µL. Le débit du gaz vecteur est 1,1 mL / min. Le rapport de fuite est 1 / 150.

## 2-2-2. Procédure microbiologique

### 2-2-2-1. Préparation de l'inoculum microbien

L'inoculum microbien a été préparé à partir de souches pures, sous forme d'un bouillon de culture (Trypticase-soja) de 24 h pour les bactéries et *Candida albicans*, et sous forme d'une suspension dans l'eau physiologique additionnée d'une goutte de Tween 80 pour les spores provenant d'une culture de 7 jours d'*Aspergillus niger* sur gélose de SABOURAUD au chloramphénicol. L'inoculum a été ajusté pour correspondre à 10<sup>8</sup> cellule / mL pour les bactéries, 10<sup>5</sup> levure / mL pour *Candida albicans* et 10<sup>6</sup> spore / mL pour *Aspergillus niger*.

### 2-2-2-2. Évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne

L'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle a été réalisée selon la méthode de Vincent dite « Aromatogramme ».

#### 2-2-2-2-1. Ensemencement

Pour les bactéries et *Candida albicans*, l'ensemencement de l'inoculum a été fait par écouvillonnage sur une gélose de MUELLER-HINTON de 4 mm d'épaisseur. Pour *Aspergillus niger*, l'ensemencement a été fait par inondation sur gélose de SABOURAUD au chloramphénicol. L'objectif de l'ensemencement était d'obtenir une nappe microbienne homogène.

#### 2-2-2-2-2. Mise des disques et incubation.

A la surface de chaque boîte, trois disques de papier Wattman N° 40 stériles de 3 mm de diamètre étaient déposés. Un disque essai imbibé avec 10 µL d'huile essentielle supplémentée de 10 % de Tween 80. Deux disques témoins : un témoin négatif avec 10 µL d'eau distillée stérile en présence de 10 % de Tween 80 et un disque d'antimicrobien (GENTAMYCINE® 160 « Gentamycine » pour les bactéries et TRIFLUCAN® IV 2 % « Fluconazole » pour les champignons) comme témoin positif. L'incubation était à 35°C pendant 18 à 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 24 à 48 heures pour *Candida albicans* et *Aspergillus niger*. Chaque essai était répété trois fois. Les zones d'inhibition ont été mesurées à l'aide d'un pied à coulisse. Les diamètres mesurés ont été comparés au **Tableau** conventionnel d'interprétation des zones d'inhibition (**Tableau 2**) pour la détermination de la sensibilité des germes.

**Tableau 2 :** Tableau conventionnel d'interprétation des zones d'inhibition

Norme	Grade	Sensibilité
$\emptyset < 8$	-	Non sensible
$8 \leq \emptyset \leq 14$	+	Sensible
$15 \leq \emptyset \leq 19$	++	Très sensible
$\emptyset \geq 20$	+++	Extrêmement sensible

$\emptyset$  : diamètre de l'halo d'inhibition de l'huile essentielle testée mesuré en mm

**2-2-2-3. Évaluation quantitative de l'activité antimicrobienne**

**2-2-2-3-1. Détermination de la CMI**

A partir de l'huile essentielle et du milieu Trypticase-soja supplémenté en Tween 80 (0,01 %, v / v), une série de mélange des deux produits était préparée de manière à obtenir une gamme de concentration de l'HE comprise entre 60 mg / mL et 5 mg / mL (**Tableau 3**).

**Tableau 3 :** Les différentes concentrations de l'HE en fonction du mélange HE-Trypticase-soja

	60 mg / mL	50 mg / mL	40 mg / mL	30 mg / mL	20 mg / mL	10 mg / mL	5 mg / mL	0 mg / mL
HE / $\mu$ L	30	25	20	15	10	5	2,5	0
T-S / $\mu$ L	470	475	480	485	490	495	497,5	500
VT / $\mu$ L	500	500	500	500	500	500	500	500

*HE* : volume de l'huile essentielle utilisée en microlitre ; *T-S* : volume du diluant nutritif le trypticase-soja en microlitre ; *VT* : volume total en microlitre.

L'inoculum microbien était ensuite additionné dans chaque tube de la série de dilution, 2,6  $\mu$ L pour les bactéries et *Candida albicans* et 20  $\mu$ L pour *Aspergillus niger*. Des tubes témoins de la croissance microbienne ne contenant pas de l'HE étaient réalisés. Chaque essai était répété trois fois. L'ensemble des tubes ont été incubés à 35°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 24 à 48 h heures pour *Candida albicans* et *Aspergillus niger*. La CMI (% , v / v) de l'HE testée a été déduite à partir du premier tube de la gamme dépourvu de croissance microbienne.

**2-2-2-3-2. Détermination de la CMB**

Sur la même série de dilution après incubation, une aliquote a été prélevée à l'aide d'une anse calibrée sur les tubes témoins et les tubes à partir du dernier pourvu de croissance microbienne et étalée sur gélose de *MUELLER-HINTON* pendant 24 heures à 37°C pour les bactéries et sur gélose *SABOURAUD* au chloramphénicol à 25°C pendant 24 heures pour *Candida albicans* et 3 jours pour *Aspergillus niger*. Chaque essai était répété trois fois. La CMB (% , v / v) de l'HE a été déduite à partir de la première boîte dépourvue de colonie microbienne.

**3. Résultats et discussion**

**3-1. Caractérisation physico-chimique**

**3-1-1. Le rendement**

Le rendement moyen en huile essentielle du *Laurus nobilis L.* du Maroc s'étend à 1,7 %. Ce qui n'est point pareille relatif à d'autres rendements trouvés dans d'autres recherches menées sur des espèces de géographie différente [5, 9]. Tels sont les mots, il y a un consensus sur le fait qu'il existe plusieurs paramètres influençant le rendement, à savoir la méthode d'extraction choisie, liée à l'appareillage utilisé [10 - 12], et la plante en elle-même (géographie, période de récolte, climat) [6, 12, 13], ainsi que la préparation de la plante (conservation, séchage et broyage) [14].

### 3-1-2. Caractéristiques organoleptiques

L'HE extraite est un liquide huileux, mobile et limpide. Sa couleur est légèrement jaune claire, son odeur est caractéristique, agreste, cinéolée ; elle est non miscible à l'eau.

### 3-1-3. Paramètres physico-chimiques (Tableau 4)

À notre connaissance, le *Laurus nobilis* L. n'a jamais fait l'objet d'une étude de ces paramètres physico-chimiques, mis à part, quelques recherches sur la composition chimique de son HE. Cette caractérisation du *Laurus nobilis* L. du Maroc est la première de son genre.

**Tableau 4 : Résultats des analyses des paramètres physico-chimiques de l'HE**

Densité relative à 20 °C	0,9043
Indice de réfraction à 20 °C	1,46819
Pouvoir rotatoire à 20 °C	-2,22
Miscibilité à l'éthanol 80 % V / V à 20 °C	> 10
Indice d'acide en mg KOH / gr	2,5
Indice d'acide en % d'acide oléique	1,3
Indice d'ester	44
Indice d'ester après acétylation	130
Point d'éclair (méthode coupelle fermée) en °C à 101,3 kPa	< 10

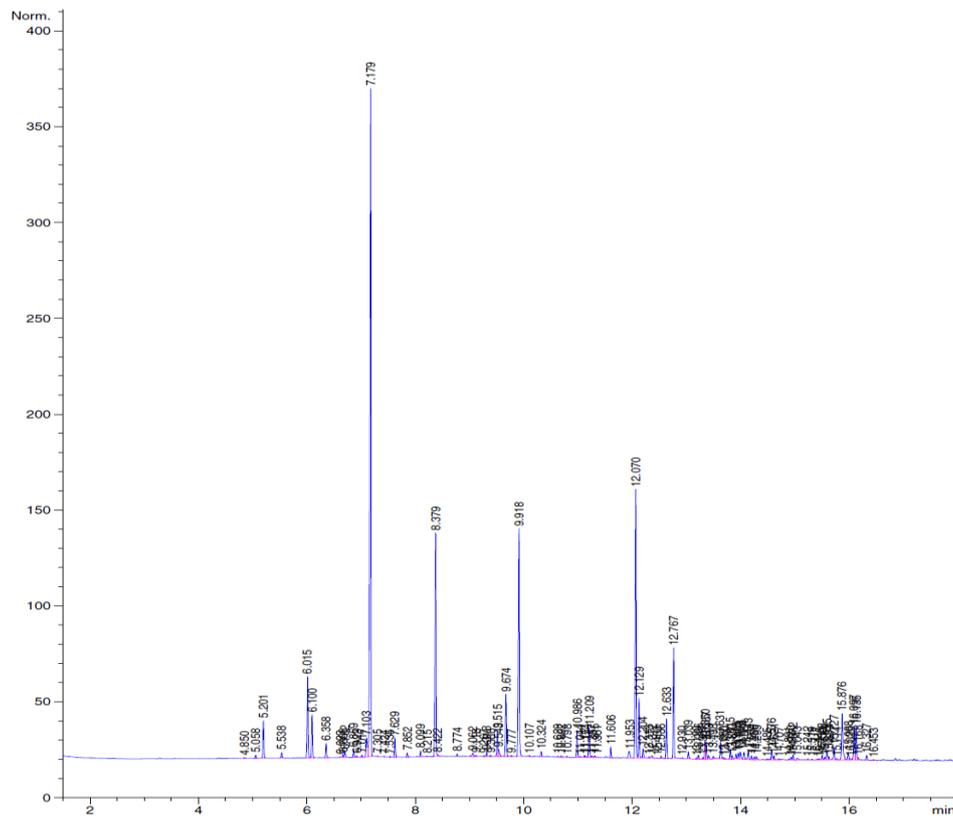
### 3-1-4. Profil chromatographique (Tableau 5)

**Tableau 5 : Composition chimique de l'HE extraite des feuilles du *Laurus nobilis* L. par CG / FI**

Tr	Composés	% Fid	Tr	Composés	% Fid
5.06	Alpha-Thujène	0.122	11.21	Acétate de Bornyle	1.083
5.20	Alpha-Pinène	1.504	11.61	Delta-Acétate de Terpényle	0.377
5.54	Camphène	0.225	12.07	Acétate d'Alpha-Terpényle	10.495
6.02	Sabinène	3.150	12.13	Eugénol	2.152
6.10	Béta-Pinène	1.706	12.20	Acétate de Néryle	0.359
6.36	Myrcène	0.568	12.46	Acétate de Géranyle	0.022
6.67	Alpha-Phellandréne	0.101	12.63	Béta-Elémène	1.472
6.70	Delta-3-Carène	0.266	12.77	Méthyl-Eugénol	4.105
6.87	Alpha-Terpinène	0.295	13.04	Béta-Caryophyllène	0.298
7.02	Para-Cymène	0.091	13.23	Alpha-Guaiène	0.158
7.10	Limonène	1.066	13.35	Acétate de Cinnamyle	0.673
7.18	Eucalyptol	30.520	13.37	(E)-Iso-Eugénol	0.475
7.63	Gamma-Terpinène	0.651	13.82	Germacrène-D	0.358
7.85	Cis-Hydrate de Sabinène	0.154	13.92	Béta-Sélinène	0.181
8.10	Terpinolène	0.210	14.14	Gamma-Cadinène	0.356
8.38	Linalol	8.781	14.20	Delta-Cadinène	0.152
9.39	Pinocarvone	0.040	14.58	Elimicine	0.400
9.52	Delta-Terpinéol	0.951	14.93	Spathuléol	0.131
9.54	Bornéol	0.298	14.97	Oxyde de Caryophyllène	0.210
9.67	Terpinène-4-ol	2.367	15.88	Béta-Eudesmol	2.399
9.92	Alpha-Terpinéol	9.683	16.10	inconnu MW 216	1.388
10.80	Acétate de Linalyle	0.041	16.14	inconnu MW 216	1.306
10.99	Acétate de 4-Thujène-2-Alpha-ol	0.968	Total		92.308

**3-1-5. Chromatogramme (Figure 1)**

L'HE du *Laurus nobilis* L. renferme 45 composants, les composants majoritaires sont dans l'ordre décroissant, l'Eucalyptol (30,52 %), l'Acétate d'alpha-terpényle (10,49 %), l'alpha-Terpinéol (9,68 %) et le Linalol (8,78 %). A noter que l'Eucalyptol reste toujours le composant majoritaire par unanimité dans la majorité des études effectuées [6, 9, 15 - 18].



De toute les manières, les HE rapportées dans la plus part des études décrivent presque les mêmes composants mais à des proportions variables [12]. D'après la littérature, les familles monoterpènes, les phénols et les phénylpropènes sont répandues anti-infectieuses, leur présence dans notre HE, nous dévoille une pré-idée sur la probabilité à ce que notre HE possède une éventuelle activité anti-microbienne.

### 3-2. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L.

#### 3-2-1. Aromatogramme

L'aromatogramme est une technique qualitative qui nous donne un aperçu sur la présence ou non d'une activité antimicrobienne de l'huile essentielle testée. A la concentration de 10  $\mu$ L, nous constatons que l'HE du *Laurus nobilis* L. (**Tableau 6**), contrairement aux résultats de certaines études [5, 6, 19] n'a pas d'activité sur deux bactéries : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, par ailleurs, elle a une activité très marquée sur une seule bactérie : *Staphylococcus aureus* [5] et sur les deux autres champignons : *Candida albicans* et *Aspergillus niger*.

**Tableau 6 :** Résultats de l'aromatogramme de l'HE du *Laurus nobilis* L.

	$\emptyset_m$	Norme	Grade	Sensibilité
<i>Staphylococcus aureus</i>	29,66 $\pm$ 2,42	$\emptyset \geq 20$	+++	Extrêmement sensible
<i>Escherichia coli</i>	3	$\emptyset < 8$	-	Non sensible
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	$\emptyset < 8$	-	Non sensible
<i>Candida albicans</i>	35 $\pm$ 1	$\emptyset \geq 20$	+++	Extrêmement sensible
<i>Aspergillus niger</i>	40	$\emptyset \geq 20$	+++	Extrêmement sensible

$\emptyset_m$  : diamètre moyen de l'halo d'inhibition de l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L. mesuré en mm.

*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sont deux bactéries gram négatif, tant que *Staphylococcus aureus* est une bactérie gram positif. Nous pouvons dire que les BGN sont insensible à l'HE du *Laurus nobilis* L. vu peut être leur mécanisme de résistance qui se manifeste au niveau de la structure de leur enveloppe bactérienne [13, 20] ainsi qu'au niveau de leurs arsenaux enzymatiques. Les champignons sont nettement plus sensibles que les bactéries à l'HE du *Laurus nobilis* L.

#### 3-2-2. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est une technique quantitative qui nous indique la plus faible concentration en HE capable d'inhiber toute culture visible après 24 h d'incubation, sa valeur nous révèle le pouvoir bactériostatique ou fongistatique de l'HE testée. Aussitôt, les résultats de la CMI (**Tableau 7**) nous confirment l'insensibilité du *P.a* [13] et *E.c* à l'HE même à la plus forte concentration utilisée (60 mg / mL), mais, une faible concentration de 5 mg / mL de l'HE s'avère largement suffisante pour inhiber la croissance microbienne de *S.a* [6, 15, 21] et des deux souches fongiques qui ont été révélées sensibles via l'aromatogramme. Nous pouvons déduire que l'HE du *Laurus nobilis* L. a un effet bactériostatique / fongistatique très marqué sur les trois germes : *S.a*, *C.a* et *A.n*.

**Tableau 7 : Résultats de la CMI**

	<i>S.a</i>	<i>E.c</i>	<i>P.a</i>	<i>C.a</i>	<i>A.n</i>
T <sub>1</sub> : 60 mg / mL	-	+	+	-	-
T <sub>2</sub> : 50 mg / mL	-	+	+	-	-
T <sub>3</sub> : 40 mg / mL	-	+	+	-	-
T <sub>4</sub> : 30 mg / mL	-	+	+	-	-
T <sub>5</sub> : 20 mg / mL	-	+	+	-	-
T <sub>6</sub> : 10 mg / mL	-	+	+	-	-
T <sub>7</sub> : 5 mg / mL	-	+	+	-	-
T <sub>T</sub> : 0 mg / mL	+	+	+	+	+

T<sub>i</sub> : tube numéro i de la gamme ; T<sub>T</sub> : tube témoin ; X mg.mL<sup>-1</sup> : concentration du tube en huile essentielle ; + : Présence de croissance microbienne (trouble ou sédimentation de culot pour les bactéries et candida / une nappe surnageante pour *Aspergillus niger*) ; - : Absence de croissance microbienne.

**3-2-3. Concentration Minimale Bactéricide / Fongicide (CMB)**

La CMB est une technique qui nous permet d’avoir une idée sur le pouvoir bactéricide ou fongicide de l’HE étudiée. Pour *E.c* et *P.a*, les résultats (**Tableau 8**) sont toujours en conformité avec ce qui a été conclu de l’aromatogramme. Les bactéries en question sont insensibles à l’HE qui n’a guère la capacité, quelle qu’elle soit la concentration utilisée, de les détruire, non plus de les inhiber. Bien plus, nous avons constaté que le *S.a* et *A.n*, qui étaient incapables de s’accroître en présence même de faible concentration de l’HE, n’étaient détruits en totalité, expliqué par la présence d’une certaine charge vivante, au niveau du tube, qui était prête à se proliférer une fois l’HE supprimée du milieu de culture.

**Tableau 8 : Résultats de la CMB**

	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>T</sub>
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Aspergillus niger</i>	+	+	+	+	+	+	+	+

+ : Présence de croissance microbienne ; - : Absence de croissance microbienne.

Dans ce sens, le *S.a* peut être un mécanisme qui lui permet de ne pas être détruit complètement par l’HE et de garder sa capacité pour reprendre sa multiplication. D’autre part, nous savons que les spores de l’*A.n* représentent une forme de résistance. Ceci-dit, l’HE a pu empêcher ces spores de se développer, mais, sans pouvoir autant les démolir. Ainsi, nous pouvons conclure que l’HE n’a qu’un effet bactériostatique / fongistatique sur ces deux souches. Pour le *C.a*, l’HE a pu détruire ces levures même à faible concentration de 5 mg / mL. Le *C.a* ne dispose pas d’un mécanisme de défense contre l’HE comme les autres microbes, c’est le germe le plus sensible vis-à-vis à l’HE quelle qu’elle soit la concentration utilisée et / ou la technique testée. Récemment, une étude a montré que l’HE peut affecter la biosynthèse de la paroi et la perméabilité membranaire [22] de cette levure. Nous pouvons confirmer que l’HE est fongistatique contre le *C.a*. En guise de synthèse, l’huile essentielle du *Laurus nobilis L.*, en fonction des concentrations utilisées, est sans effet sur *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Par contre, nous pouvons stipuler que l’HE étudiée, en se

basant sur le rapport CMB / CMI, est bactériostatique sur *Staphylococcus aureus*, fongistatique sur *Aspergillus niger*, et fongicide sur *Candida albicans*. Certes, les composants de l'HE ont un lien très fort avec l'activité microbienne étudiée, en précis, les composants majoritaires [13, 17]. D'autres composants peuvent eux aussi être incriminés [11] dans ce processus. Mais encore, l'HE est une matrice de composants qui font partie de différentes classes chimiques. Des phénomènes d'antagonisme et / ou de synergie [13] sont désormais possibles. Ainsi, l'imputation de la relation cause à effet aux molécules incriminées devint nécessaire.

#### 4. Conclusion

L'HE du *Laurus nobilis L.* a un rendement de 1,7 %, ce qui est très encourageant pour l'industrie de la distillerie. Les résultats du screening antimicrobien prouvent que l'HE du *Laurus nobilis L.* a une activité bactériostatique sur *Staphylococcus aureus*, fongistatique sur *Aspergillus niger*, et fongicide sur *Candida albicans*. Bien autant, ces résultats sont prometteurs et exploitables dans la conservation antimicrobienne. L'HE est une matrice de molécules complexes, son utilisation en l'état peut engendrer des problèmes multiples, à citer, l'hypersensibilité [23] à l'un de ces composants, l'odeur, le goût, la solubilité, etc. Ce qui nous oblige à la fractionner en des molécules séparées faciles à manipuler. Dans cette perspective, un travail de criblage des molécules en rapport avec l'activité antimicrobienne de l'HE du *Laurus nobilis L.* devra être entrepris pour aboutir à des principes actifs naturels et efficaces.

#### Références

- [1] - USAID., Stratégie nationale de développement du secteur des Plantes Aromatiques et Médicinales au Maroc. Rapport Final, (2008).
- [2] - MI. DIAS, J. C. BARREIRA, R. C. CALHELHA, M. J. QUEIROZ, M. B. OLIVEIRA, M. SOKOVIĆ, I. C. FERREIRA, Two-dimensional PCA highlights the differentiated antitumor and antimicrobial activity of methanolic and aqueous extracts of *Laurus nobilis L.* from different origins. *BioMed Research International*, (2014).
- [3] - M. I. DIAS, L. BARROS, M. DUEÑAS, R. C. ALVES, M. B. OLIVEIRA, C. SANTOS-BUELGA, I. FERREIRA, Nutritional and antioxidant contributions of *Laurus nobilis L.* leaves : would be more suitable a wild or a cultivated sample?. *Food Chem.* Aug 1, (156) (2014) 339 - 46.
- [4] - N. BRAHMI, M. SCOGNAMIGLIO, S. PACIFICO, A. MEKHOUKHE, K. MADANI, A. FIORENTINO, P. MONACO, <sup>1</sup>H NMR based metabolic profiling of eleven Algerian aromatic plants and evaluation of their antioxidant and cytotoxic properties. *Food Research International*, (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.005>
- [5] - K. ELHARAS, A. DAAGARE, A. MESFIOUI, M. OUHSSINE, Activité antibactérienne de l'huile essentielle des inflorescences de *Laurus Nobilis* et *Lavandula Angustifolia*. *Afrique SCIENCE*, 09 (2) (2013) 134 - 141.
- [6] - S. M. DA SILVEIRA, F. B. LUCIANO, N. FRONZA, A. C. JR, G. N. SCHEUERMANN, C. R. W. VIEIRA, Chemical composition and antibacterial activity of *Laurus nobilis* essential oil towards foodborne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7 °C. *LWT - Food Science and Technology*, 59 (2014) 86 - 93.
- [7] - M. SNUOSSI, N. TRABELSI, S. BEN TALEB, A. DEHMENI, G. FLAMINI, V. FEO, *Laurus nobilis*, *Zingiber officinale* and *Anethum graveolens* Essential Oils : Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities against Bacteria Isolated from Fish and Shellfish; *Molecules*, 21 (2016) 1414.

- [8] - A. HOUICHER, H. HECHACHNA, H. TELDJI, F. OZOGUL, In vitro study of the antifungal activity of essential oils obtained from *Mentha spicata*, *Thymus vulgaris* and *Laurus nobilis*. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, 8 (2) (2016) 99 - 106.
- [9] - J. MADIOUNI BEN JEMAA, N. TERSIM, K. T. TOUDERT, M. L. KHOUJA, Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition ; *Journal of Stored Products Research*, 48 (2012) 97 - 104.
- [10] - A. BOULILAA, I. HASSENB, L. HAOUARIA, F. MEJRIA, I. BEN AMORB, H. CASABIANCAC, K. HOSNI, Enzyme-assisted extraction of bioactive compounds from bay leaves(*Laurus nobilis* L.). *Industrial Crops and Products*, 74 (2015) 485 - 493.
- [11] - G. A.EVRENDILEK, Empirical prediction and validation of antibacterial inhibitory effects of various plant essential oils on common pathogenic bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 202 (2015) 35 - 41.
- [12] - H. MARZOUKI, A. KHALDI, R. CHAMLI, S. BOUZID, A. PIRAS, D. FALCONIERI, B. MARONGIU, Biological activity evaluation of the oils from *Laurus nobilis* of Tunisia and Algeria extracted by supercritical carbon dioxide; *Natural Product Research*, Vol. 23, No. 3, (2009) 230 - 237.
- [13] - A. OUIBRAHIM, A. TLILI-AIT-KAKI, S. BENNADJA, S. AMROUNI, A. G. DJAHOUDI, M. R. DJEBAR, Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. *Afr. J. Microbiol. Res.*, Vol. 7 (42), (2013) 4968 - 4973 pp.
- [14] - M. T. EBADI, M. AZIZI, F. SEFIDKON, N. AHMADI, Influence of different drying methods on drying period, essential oil content and composition of *Lippia citriodora* Kunth. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jarmap.2015.06.001>
- [15] - A. MERGHNI, H. MARZOUKI, H. HENTATI, M. AOUNI, M. MASTOURI, Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections; *Pathologie Biologie*, (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.patbio.2015.10.003>
- [16] - J. Z. AL-KALALDEH, R. ABU-DAHAB, F. U. AFIFI, Volatile oil composition and antiproliferative activity of *Laurus nobilis*, *Origanum syriacum*, *Origanum vulgare*, and *Salvia triloba* against human breast adenocarcinoma cells. *Nutrition Research*, 30 (2010) 271 - 278.
- [17] - C. N. HASSIOTIS, E. I. DINA, The effects of laurel (*Laurus nobilis* L.) on development of two mycorrhizal fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65 (2011) 628 - 634.
- [18] - M. P. SANTAMARINA, J. ROSELLÓ, S. GIMÉNEZ, M. A. BLÁZQUEZ, Commercial *Laurus nobilis* L. and *Syzygium aromaticum* L. Merr. & Perry essential oils against post-harvest hytopathogenic fungi on rice. *LWT - Food Science and Technology*, Volume 65, (2016) 325 - 332 Pages.
- [19] - Z. AUMEERUDDY-ELALFIA, A. GURIB-FAKIMB, M. MAHOMOODALLYA, Antimicrobial, antibiotic potentiating activity and phytochemical profile of essential oils from exotic and endemic medicinal plants of Mauritius. *Industrial Crops and Products*, 71 (2015) 197 - 204.
- [20] - H. MITH, R. DURÉ, V. DELCENSERIE, A. ZHIRI, G. DAUBE, A. CLINQUART, Antimicrobial activities of commercial essential oils and their components against food-borne pathogens and food spoilage bacteria. *Food Science & Nutrition*, 2 (4) (2014) 403 - 416.
- [21] - M. CHMIT, H. KANAAN, J. HABIB, M. ABBASS, A. MCHEIK, A. CHOKR, Antibacterial and antibiofilm activities of polysaccharides, essential oil, and fatty oil extracted from *Laurus nobilis* growing in Lebanon; *Asian Pac J Trop Med*; 7(Suppl 1), (2014) S546 - S552.
- [22] - L. R. PEIXOTO, P. L. ROSALENB, G. L. S. FERREIRAA, I. A. FREIRESB, F. G. CARVALHOA, L. R. CASTELLANO, R. D. CASTRO, Antifungal activity, mode of action and anti-biofilm effects of *Laurus nobilis* Linnaeus essential oil against *Candida* spp. *Archives of Oral Biology*, 73 (2017) 179 - 185.
- [23] - T. K. UZUNCAKMAK, A. S. KARADAG, B. IZOL, N. AKDENIZ, B. COBANOGLU, S. TASKIN, Erythema multiforme like allergic contact dermatitis associated with laurel oil : a rare presentation. *Dermatology Online Journal*, Vol. 21, N° 4, (2015).