

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2022

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Présenté par :

REHAL Keltoum Bouchra & ARRACHE Nassiba

Thème

**Etude des quelques activités microbiennes des extraits
totaux des feuilles de *Laurus nobilis* et de *Lippia citriodora***

Soutenu le : 06/07/2022

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mr REMINI Hocine</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. De Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mr KADRI Nabil</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. De Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>M^{elle} TEBBI Sara</i>	<i>Doctorante</i>	<i>Univ. De Bejaia</i>	<i>Co-promotrice</i>
<i>Mme MEBDOUA Chafiaa</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. De Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

Avant tout, nous remercions **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce modeste travail.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre promoteur Monsieur **KADRI Nabil** qui nous a dirigées avec une grande rigueur scientifique, sa patience, ses conseils, sa grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour le temps qu'il nous a consacré.

Nous remercions de tout cœur notre Co-promotrice M^{elle} **TEBBI Sara** pour sa disponibilité, ses conseils, son aide et son soutien concernant la réalisation de ce travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de jury d'avoir accepté de juger notre travail. Monsieur **REMINI Hocine** qui nous fait l'honneur de présider ce jury. Qu'il trouve ici l'expression de notre profond respect.

Madame **MEDBOUA Chafiaa** pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

Nous remercions également M^{elle} **BENSMAIL Souhila** et Madame **DJENADI Katia** pour leur aide précieuse.

Nos plus vifs remerciements aux doctorantes **BENZITOUNE Imane** et **HAMID Sara** pour leurs aides et leurs conseils.

Une pensée particulière pour l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude et à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à l'achèvement de ce travail

Keltoum et Nassiba

Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

Mes chers parents, que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience illimitée, leur encouragement continu, leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices, je vous aime.

A mon cher et adorable frère : Amar

Ma sœur : Imane

A ceux qui ne sont plus là avec nous, mais qui sont toujours présents dans nos cœurs et notre mémoire, à ma grand-mère : Yema Fatma

A toute la famille Rehal et Kaci

A mes cousines et cousin

A mon binôme, copine, l'adorable Nussa qui a tout partagé avec moi, merci du fond du cœur

A tous mes Amis(es)

A mes copines : Yasmine, Amina, Sabrina, Nouara, Fatima, Wissem, Melissa, Imane, Bouchra

A toute la promotion master 2 Biotechnologie Microbienne 2021-2022

Keltoum

Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

À ma famille ARRACHE et aux personnes les plus chères au monde mes chers

Parents

A ma très chère mère :

Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder Santé, longue vie et bonheur.

A mon père :

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

À mes très chers sœurs et frères, qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.

A mon binôme keltoum qui a partagée avec moi les moments difficiles et agréables passés ensembles sur ce travail ainsi qu'à toute sa famille.

Et tous mes amis et mes collègues de la spécialité biotechnologie microbienne.

Merci d'avoir toujours partagé avec moi les moments de joie.

Nassiba

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
I. <i>Laurus nobilis</i>	2
I.1. Généralités	2
I.2. Description botanique	2
I.3. Origine et distribution de la plante	3
I.4. Composition chimique	3
I.5. Classification Botanique	4
I.6. Dénomination internationale	5
I.7. Usage traditionnel de <i>Laurus nobilis</i> L	5
I.8. Activité antibactérienne	5
I.9. Activité antifongique	6
I.10. Activité antioxydante	6
I.11. Activité Anti-inflammatoire	6
II. <i>Lippia citriodora</i>	7
II.1. Généralités	7
II.2. Description botanique	7
II.3. Classification Botanique	8
II.4. Dénomination International	8
II.5. Composition Chimique :	8
II.6. Origine et distribution de la plante	9
II.7. Utilisation Traditionnelle	9
II.8. Activité Biologique	10
II.9. Activité antibactérienne	10
III. Composition chimique de <i>Laurus</i> et de <i>Lippia</i>	10
III.1. Composée en polyphénols du <i>Laurier noble</i>	10
III.2. Composé en polyphénols de <i>Lippia citriodora</i>	10
IV. Composés phénoliques	11

IV.1. Polyphénols.....	11
IV.2. Classification :	11
IV.3. Activité Biologique	13
IV.3.1. Activité antibactérienne des composés phénoliques	13
IV.4. Flavonoïdes	13
IV.4.1. Classes des flavonoïdes.....	13
IV.5. Rôle des composés phénoliques.....	17
IV.5.1. Rôle dans la physiologie humaine.....	17
IV.6. Action antimicrobienne des extraits phénolique.....	17
I. Matériels et Méthodes	19
I.1. Matériel.....	19
I.1.1. Matériel Végétal.....	19
I.1.2. Matériel instrumental et réactifs chimique	20
I.2. Méthodes	20
I.2.1. Préparation de la poudre végétale.....	20
I.2.2. Extraction des polyphénols	21
I.2.3. Dosage des Polyphénols.....	21
I.2.4. Dosage des Flavonoïdes	23
I.3. Etude de l'activité antimicrobienne	24
I.3.1. Choix des souches	24
I.3.2. Milieux de culture	24
I.3.3. Activité antibactérienne :.....	24
I.3.4. Activité Antifongique.....	25
II. Résultats et Discussion	27
II.1. Rendement d'extraction	27
II.2. Teneur en polyphénols totaux	28
II.3. Teneur en flavonoïdes.....	28
II.1. Activité antibactérienne	29
II.2. Activité antifongique	32
Conclusion.....	36

Reference bibliographiques

Annexe

Résumé

Abstract

Liste des figures

Figure1 : <i>Laurus nobilis</i> L.	2
Figure 2 : Répartition géographique des Lauracées à travers le monde.....	3
Figure 3 : Photographie des feuilles de <i>Lippia citriodora</i>	7
Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes.	13
Figure 5 : Des exemples des structures chimiques des flavonols.....	14
Figure 6 : Des exemples des structures chimiques des flavones.	14
Figure 7 : Des exemples des structures chimiques des flavanone.....	15
Figure 8 : Deux exemples des structures chimiques des flavan-3-ol	15
Figure 9 : Exemples des structures chimiques des isoflavones.	16
Figure 10 : Exemples des structures chimiques des anthocyanes	17
Figure 11 : Feuilles de Laurie(a) et de la verveine (b)	19
Figure 12 : Poudre végétale de Laurie (a) et de la verveine (b)	20
Figure 13 : Protocole de dosage des polyphénols	22
Figure 14 : Protocole de dosage des flavonoïdes	23
Figure 15 : Rendements des composés phénoliques des deux plantes en pourcentage (%).....	27
Figure 16 : Effets des composés phénoliques de <i>Laurus nobilis</i> sélectionnées sur de quelques espèces bactériennes testées.....	30
Figure 17 : Effets des composés phénoliques de <i>Lippia citriodora</i> sélectionnées sur de quelques espèces bactériennes testées.....	31

Liste des tableaux

Tableau I: Les principaux composants de <i>Laurus nobilis</i> L.	4
Tableau II: Dénomination internationale de <i>Laurus nobilis</i>	5
Tableau III: Dénomination internationale de <i>Lippia citriodora</i>	8
Tableau IV: Principaux constituants chimiques d' <i>Lippia citriodora</i>	8
Tableau V: Classe des composés phénolique.....	11
Tableau VI: Teneur en polyphénols totaux des deux extraits de plante.	28
Tableau VII: Teneurs en flavonoïdes dans les extraits de <i>Laurus nobilis</i> et <i>Lippia citriodora</i>	29
Tableau VIII : Résultats de l'aromatogramme de l'extrait polyphénolique du <i>Laurus nobilis</i>	30
Tableau IX: Résultats d'effet de l'extrait polyphénolique du <i>Lippia citriodora</i>	32
Tableau X: Résultats obtenus après l'incubation de 5j <i>Aspergillus Niger</i>	33
Tableau XI: Résultats obtenus après l'incubation de 5j <i>Aspergillus Flavus</i>	Error! Bookmark not defined.

Introduction

Introduction

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal recours de la médecine de nos grands-parents, malgré l'important développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies souvent mortelles. Environ 80% de la population mondiale profite des apports de la médecine traditionnelle à base des plantes reconnaissant ainsi les savoirs empiriques de nos ancêtres **(EL Rhaffari et Zaid., 2004)**.

On attribue, généralement à l'activité d'une plante un ou plusieurs principes actifs. Parmi les principes actifs découverts à partir des plantes médicinales, on trouve les polyphénols ; qui sont connus par leurs nombreuses activités biologiques, citons par exemple les activités antivirales, anti-inflammatoires, antioxydantes, anticancéreuses, et antimicrobiennes **(Yang et al., 2001 ; Ghédira., 2005)**.

La richesse des plantes en métabolites secondaires sont souvent sollicitées dans la thérapeutique. Au fil des décennies de recherche, il a été démontré que les polyphénols sont répanus dans tout l'appareil végétatif des plantes **(Beta et al., 2005 ; Kamatou et al., 2009)**.

Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aurait fallu attendre le début de 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser **(Dorman et al., 2000)**. Les plantes sont également utilisées pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques dans le domaine de la microbiologie médicale **(Mohammedi., 2013)**.

Notre travail s'insère dans le cadre de la recherche des molécules d'origines végétales jouissantes d'activités biologiques notamment les activités antibactériennes, antifongiques.

Dans le but de poursuivre ces activités, une étude est faite sur deux plantes médicinales à savoir : *Laurus nobilis* et *Lippia citriodora* qui appartiennent respectivement à la famille des lauracées, et des verbénacées. Elles se considèrent parmi les familles de plantes les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à qualité médicale intéressante.

Ainsi, le présent mémoire s'articulera en deux grandes parties :

La première partie est relative à l'étude bibliographique des plantes et les compositions phénoliques. La deuxième partie représente la partie expérimentale où nous présenterons les techniques utilisées pour l'extraction des extraits phénolique *Laurus nobilis* et *Lippia citriodora* à savoir la macération et l'extraction par solvant éthanolique.

Le deuxième axe consiste à déterminer l'effet : antibactérien, antifongique de l'extrait phénolique suivi des résultats obtenus des effets de la composition phénols des plantes étudiées et leurs activités antibactériennes, antifongiques sont interprétés à la lumière de la littérature.

Le travail est clôturé par une conclusion et des perspectives.

Partie I : Revue Bibliographique

I. *Laurus nobilis*

I.1. Généralités

Le laurier est une plante aromatique aux vertus médicinales. Il appartient à la famille des Lauracées. Cela comprend 32 genres et environ 2 000 à 2 500 espèces. Ce sont des arbres ou des arbustes à feuilles quasi persistantes (**Ferdinand, 2010**), plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extrait à qualités médicales intéressantes (**Yakhlef et al., 2011**). Lauraceae est l'une des familles de bois tropicaux les plus importantes (**Marzouki et al., 2009**). Le *Laurus*, nom latin, d'origine celte qui veut dire « toujours vert » fait allusion au feuillage persistant de la plante (**Pariente, 2001**). Les feuilles sont largement utilisées et connues comme assaisonnement et herbe médicinale depuis les périodes antique grec et romain (**Demir et al., 2004**).



Figure 1 : *Laurus nobilis* L.

I.2. Description botanique de la plante

Le laurier est un arbuste ou arbrisseau à silhouette pyramidale, aux rameaux dressés et à feuillage dense. Écorce noirâtre et jeunes rameaux verts (**Polese, 2010**), espèce forme un arbre de 12m de haut pour 9m d'étalement à l'état naturel, mais moins en culture (**Geoff et al., 2003**). *Laurus nobilis* L ayant des feuilles alternes, étroitement oblongues-lancéolées persistantes, de 5 à 12 cm, alternes, simples et entières, lancéolées à bords ondulés, avec un court pétiole, coriaces, très aromatiques au froissement, vert foncé brillant dessus, plus pâles, mates et glabres dessous. Le fruit de thérapie est de 10-15 mm, ovoïde et noir à maturité. L'écorce lisse peut être vert olive

ou rouge-bleu. La plante est à peine multi branchée, pousse généralement à une hauteur de 2030 pieds dans de nombreuses régions chaudes du monde (Polese, 2010 ; Chahal et al., 2017).

I.3. Origine et distribution de la plante

Cette famille qui est principalement tropical, se trouve dans la région méditerranéenne en particulier dans les pays suivants : Turquie, Grèce, Espagne, Italie, France, Algérie. Le laurier est aussi largement cultivé dans les pays arabes de la Libye au Maroc. Actuellement, cette espèce, sauvage ou cultivée, est présent dans le sud et l'ouest de l'Europe, et aux Etats-Unis comme plante ornementale (Ivan, 2001 ; Emam, 2010). Elle est surtout répartie dans toutes les régions humides. Elle se développe sur les bords des cours d'eau. Elle s'accommode sur tous les types des sols (Messaoudi, 2008). Le laurier noble est originaire du sud de l'Europe et d'Afrique du nord (Sayyah et al., 2002 ; Barla et al., 2007), bien que l'espèce se rencontre, aujourd'hui dans l'ensemble des pays méditerranéens (Garg et al., 1992 ; Anton et lobstein, 2005 ; Fang et al., 2005). Il exige un sol profond, humide et riche en humus. Elle est cultivée dans les clairières forestières et les jardins (Sassi, 2005).

En Algérie, le laurier est retrouvé dans les forêts et ravins humides, commun dans le tell algérois et constantinois. La floraison de la plante est observée entre les mois de mars et Avril (Beloued., 2001).

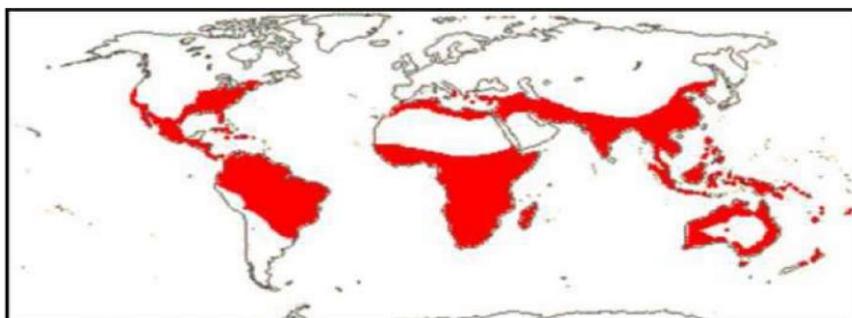


Figure 2: Répartition géographique des *Lauracées* à travers le monde (Steven, 2001).

I.4. Composition chimique

Plusieurs extractions dans différents solvants ont été utilisées, pour dévoiler la composition chimique de cette plante, l'analyse des extraits a montré que cette espèce contient plusieurs constituants, ces derniers sont très variables, à la fois qualitativement et quantitativement selon les provenances, et la période du récolte (Fiorini et al., 1998 ; Simic et al., 2003 ; Fang et al., 2005).

Tableau I : Les principaux composants de *Laurus nobilis* L.

Constituants Chimique	Constituants principaux	Références
Acides phénoliques	Acide phénylacrylique, carbonique : libres ou estérifiés, acides p-coumarique, fénulique, sinapique, gentisique et vanillique	(Barla et al., 2007)
Flavonoïdes	L'iso quercitrine, l'hypéroside et kaempférol-3 rhamnoside et 3- arabinoside. Le kaempférol-3- rhamnoside, 2-p-coumaroyles	(Fiorinietal.,1998 ; Kang et al.,2002).
Hétérosides de lignanes	Méthoxyisolarecirénol -9-0-xylosides, -0-sécoisolariciresinol-9-0-xylosides	(Uchiyama et al., 2002).
Alcaloïdes	Actinodaphonine, isodomeesticene, launobine, N-méthylactinodaphonine, nandigérine, néolitsine et réticuline	(Bricittpee et Bruneton., 1982).
Huiles Essentielle	1-8 cinéol (eucalyptol), linalol, sabinène, géraniol, eugénol, pinène et terpinène (l' α -terpinéol, l' α -terpinéol)	(Stefanova et al., 2020).

De plus, (Demo et al., 1998) ainsi que (Gomez-Coronado et al., 2004) ont montré la richesse de ses feuilles par les tocophérols (vitamine E), principalement la gama- tocophérol.

I.5. Classification Botanique

La classification botanique de *Laurus nobilis* L. d'après (Ballbio et Goetz., 2010) est présenté comme suite :

- **Règne** : *Plantae* ;
- **Sous règne** : *Plantae vasculaires* ;
- **Embranchement** : *Spermaphytes* ;
- **S/Emb** : *Angiospermes* ;
- **Classe** : *Dicotylédones* ;
- **Ordre** : *Laurales* ;
- **Famille** : *Lauracees* ;
- **Genre** : *Laurus* ;
- **Espèce** : *Laurus nobilis* L.

I.6. Dénomination internationale

Rand ou Tasselt, c'est noms sont les plus populaires en Algérie utiliser dans différentes régions. Les autres dénominations sont citées dans le tableau ci-dessous.

Tableau II : Dénomination internationale de *Laurus nobilis* (Anton., 2005).

Pays	Nom vernaculaire
Arabe	Rand, warkate sidna Moussa (ورقة سيدنا موسى), (ورق الغار) warak el ghar (موسى),
Kabyle	Tasselt
Français	Laurier commun, laurier sauce, laurier d'apollon, laurier franc, laurier noble
Anglais	Bay, sweet bay, bay laurel, true laurel, Roman laurel, noble laurel

I.7. Usage traditionnel de *Laurus nobilis* L

Le Laurier est un élément essentiel du bouquet garni dans nos préparations culinaires, est principalement utilisé en médecine traditionnelle pour soigner les troubles de l'appareil digestif ainsi que les douleurs arthrites (**Bendjersi, 2017**) et les maladies de la peau et la cicatrisation de plaies (**Ali-Shtayeh et al., 2000**), la névralgie et le parkinsonisme (**El Malti et Amarouch., 2009**), des rhumatismes, du cancer, de l'épilepsie et plusieurs maladies infectieuses (**Peixoto et al., 2017**). Il est utilisé dans les industries de la parfumerie et du savon (**Jeffrey et al., 2016**). Ses huiles essentielles sont dotées de pouvoirs antibactérien et antifongique avérés (**Ouibrahim et al., 2015**). Très utilisées par l'industrie agroalimentaire surtout par les conserveries des poissons. Aussi, la plante peut être utilisée traditionnellement en phytothérapie (**Taarabt et al., 2017**).

En plus de leur importance médicinale, les feuilles de ces plantes sont utilisées comme agent aromatisant, et pour augmenter la durée de conservation des aliments ; les olives (**Elharas et al., 2013**), les saucisses (**Da Silveira et al., 2014**), les poissons (**Senoussi et al., 2016**).

Car elles contiennent une activité antimicrobienne (**Nadeem et al., 2018**), et une activité anti – oxydante (**Dias et al., 2014**). Elle permet d'améliorer en général la sécurité des produits (**Houicher et al., 2016**). Les métabolites les plus divers de la feuille de Laurier, ont été étudiés pour leurs divers effets pharmacologiques tels que les effets cytotoxique (**Barla et al., 2007**).

I.8. Activité antibactérienne

En général, l'huile essentielle (HE) des feuilles de laurier de Géorgie a montré une faible activité inhibitrice (**Stefanova et al., 2020**). Il a également été démontré qu'il combat les bactéries Gram-positives et Gram-négatives (**El Malti et Amarouch., 2009**). Compte tenu de

la mise en garde croissante contre l'utilisation d'antibiotiques traditionnels, composés antimicrobiens naturels (Aurori et al., 2016).

I.9. Activité antifongique

Une étude de l'activité antifongique d'huile essentielle de la plante *Laurus nobilis* sur les souches de *Fusarium sporotrichoide*. A été réalisé par la méthode d'hydrodistillation. Le teste est réaliser par méthode de contact direct sur le *Fusarium sporotrichoide* dans des différentes concentrations d'huile (0.05, 0.25 et 0.5% de HE). Les résultats de cette étude montrent que HE de *laurus nobilis* possède une importante d'activité antifongique sur cette souche ; un indice d'inhibition de 100% avec la concentration de 0.5% (Salhi et al., 2015).

I.10. Activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits méthanoïque (bruts et dégraissé) des feuilles d'écorce et de fruit de *Laurus nobilis L*, ont été étudiés au niveau de la peroxydation lipidique dans les liposomes, (Simic, 2003). L'activité antioxydante de l'huile essentielle et extrait méthanoïque d'huile de graines de *L. nobilis* en employant le piégeage des radicaux libres DPPH (diphénylpicrylhydrazyle) et les systèmes de test à l'acide β -carotène / acide linoléique (Ozcan et al., 2010). Dans les deux systèmes de test l'huile essentielle et l'extrait méthanoïque d'huile de graine de *Laurus nobilis L* a montré des propriétés antioxydantes.

I.11. Activité Anti-inflammatoire

L'extrait éthanolique (80%) des feuilles de laurier séchées, administré par intubation gastrique à des rats à une dose de 100 mg / kg, a entraîné une inhibition de 19% de l'œdème induit. L'acétate d'éthyle et l'extraits d'hexane des feuilles, appliquée extérieurement [(TPA)-inflammation de l'oreille] sur des souris à une dose de 20,0 microlitres /animal, étaient actifs comparativement au tétradécanoyl acétate de phorbol (Olivier et Imael., 2017). L'isolement des composés actifs des fruits et des feuilles du *Laurus nobilis L* a été réalisé par (Fang et al., 2005), six composés ont été identifiés ils sont tous des lactones sesquiterpènes. Ces composés possèdent différentes propriétés pharmacologiques y-compris l'effet anti-inflammatoire.

II. *Lippia citriodora*

II.1. Généralités

La verveine est un arbrisseau cultivé dans les jardins, communément appelé ‘‘*Louiza* ou *Tizana*’. C’est dire combien la popularité de la verveine odorante est grande en Algérie. Cette plante ramifiée est caractérisée par un parfum très agréable rappelant l’odeur du citron, que ces feuilles et ses fleurs exhalent. La verveine peut atteindre 2m de haut, ses rameaux sont blanchâtres et ses feuilles lancéolées et rugueuses sont disposées en rosette par trois le long des tiges, au sommet des quelles apparaissent des gerbes de minuscules fleurs blanches disposées également par groupe de trois. Les feuilles récoltées avant la floraison et froissées dégagent une odeur citronnée agréable (**Slimani et Dahmane., 2013**). L’infusé de cette plante odorante ou verveine citronnelle est l’une des tisanes les plus consommées (**Lenoir, 2011**).



Figure 3: Photographie des feuilles de *Lippia citriodora*.

II.2. Description botanique

La verveine odorante, *Aloysia citriodora*, *Lippia citriodora* (Kunth.) ou *Aloysia triphylla* est un sous arbrisseau vivace de la famille des Verbénacées (**Lenoir, 2011**) mesurant 1,50 à 3,00 m de hauteur (**De Figueiredo et al., 2002**). Les tiges sont anguleuses, cannelées à branches droites et ramifiées (**Cheurfa et Allem., 2015**), portant des feuilles vert pâle, allongées, celle-ci ont une longueur de 3 à 7 centimètres et une largeur de 1 à 2 centimètres, verticillées par trois ou quatre sur les tiges, à pétioles très courts, rudes au toucher. Elles dégagent une odeur caractéristique de citron lorsqu’elles sont froissées. Les fleurs longues, disposées en épis, possèdent quatre pétales soudées à la base en un tube et étalés en quatre lobes bicolores : blancs sur la face externe et bleu violacé sur la face interne (**Ghédira et Goetz., 2017**).

II.3. Classification Botanique

Selon Ghédira et Goetz (2017), La classification botanique de l'espèce *Lippia citriodora* est comme suite :

- **Règne** : *Plantea* ;
- **Super-division** : *Embryophyta* ;
- **Division** : *Tracheophyta* ;
- **Classe** : *Magnoliopsida* ;
- **Superordre** : *Asteranae* ;
- **Ordre** : *Lamiales* ;
- **Famille** : *Verbenaceae* ;
- **Genre** : *Aloysia Juss* ;
- **Espèce** : *Aloysia citriodora*.

II.4. Dénomination International

Tizane < le nom le plus connue en Algérie > Louiza laymunia. Ces noms sont les plus populaires en Algérie. Les autres dénominations sont citées dans le tableau ci-dessous :

Tableau III : Dénomination internationale de *Lippia citriodora* (Ghédira et Goetz., 2017).

Français	Verveine vraie, verveine citronnée ou verveine du Pérou
Anglais	Lemon verbena, lemon beebrush
Arabe	لوزية ليمونية (Louiza laymunia)

II.5. Composition Chimique :

Bien que l'infusé de feuilles de la verveine odorante soit largement consommé, sa composition qualitative et quantitative en polyphénols est encore mal connue. Une première analyse de sa composition avait été réalisée au laboratoire par (Carnat et al., 1999).

Tableau IV : Principaux constituants chimiques de *Lippia citriodora* (Ghédira et Goetz., 2017).

Famille de constituantes chimique	Consistants principaux
Flavonoïdes	Salvigénine, eupatorine, eupafoline, 6-hydroxylluéoline, lutéoline, lutéoline-7-O-

	Glucoside, hispidutine, cirsimarine, dioslmétine, chrysoériole, apigénine
Huiles essentielles	Limonène, néral, géraniales, citronnelle, cinéole, curcuméne alphapanine, sabinène, bêta ociméne, bêta- caryphylléne
Acides phénolique	Actéonidé, acide dihydrocafféique, acide 4-hydroxy cinnamique
Iridoides	Verbénaline, aspéruloside, gardoside,
Autre dérive phynelpropnoique	Thévéside, eukovoside, forsythoside, maritinoside

II.6. Origine et distribution de la plante

Cette famille qui est principalement tropical, se trouve dans la région méditerranéenne en particulier dans les pays suivants : le Mexique, le Chili, le Brésil, le pourtour Méditerranéen (Maroc, Algérie, Turquie et France), l'Afrique du sud et l'Inde. Le marché est réservé principalement pour la consommation en herboristerie mais aussi pour la production de l'huile essentielle (EL Hmamouchi, 2006). Cette plante est originaire du Chili et du Pérou (Ghédira et Goetz., 2017), elle a été introduite en Europe à la fin du XVIIe siècle par plusieurs botanistes puis cultivée sous les climats tempérés au bord de la Méditerranée : Europe du sud et Afrique du nord (Naser Aldeen et al., 2015).

II.7. Utilisation Traditionnelle

Lippia Citriodora est une herbe largement utilisée pour l'alimentation. Il a une longue histoire dans la médecine traditionnelle comme l'asthme, le rhume, la fièvre et la grippe, et est utilisé pour traiter les flatulences, les coliques, la diarrhée, l'indigestion, l'insomnie et l'anxiété (Abuhamdah et Mohammed, 2013). La verveine citronnée est également utilisée pour lutter contre les états nerveux, les palpitations, les migraines, les acouphènes et les vertiges (Pascual et al., 2001) et elle est également utilisée pour abaisser le taux de sucre dans le sang. L'huile essentielle de cette plante est utilisée pour traiter le cancer (Zadeh et Meshkatalasadat, 2013). L'analyse in vitro à l'aide de divers tests a montré les propriétés antioxydantes, antispasmodiques et anti-inflammatoires de l'infusion. Les chercheurs ont montré que l'huile essentielle d'Aloysia citriodora a une activité antibactérienne contre Escherichia coli, Mycobacterium tuberculosis, Staphylococcus aureus et Helicobacter pylori (Cheurfa et Allem, 2015).

II.8. Activité Biologique

Lippia citriodora, en tant qu'épice et plante médicinale, contient divers flavonoïdes et acides phénoliques, ses feuilles ont des propriétés antispasmodiques, antipyrétiques, sédatives et digestives. Les huiles essentielles sont également utilisées dans les industries pharmaceutiques, parfumerie et cosmétique (**Kaskoos, 2019**). Dans cette étude, nous allons élucider les activités les plus importantes des plantes, en tenant compte à la fois des activités anti-inflammatoires et analgésiques. Les composés phénoliques (principalement les flavonoïdes, les acides phénoliques et les phénylpropanes) sont responsables de l'essentiel de l'activité pharmacologique de la verveine citronnée (**Carnat et al., 1999 ; Quirantes-Piné et al., 2009**), comme les antalgiques, des effets anti-inflammatoires et antioxydants (**Nakamura et al., 1997**).

II.9. Activité antibactérienne

Selon (**Hanaa et al., 2011**), l'huile essentiel a montré une activité antibactérienne intéressante contre *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*. Aucune activité antibactérienne contre *Listeria monocytogene*, *Salmonella typhi* et *Escherichia coli* n'a été observée. Les huiles essentielles extraites de plantes ont une activité antibactérienne contre les bactéries Gram-communes (*Escherichia coli*) et (*Staphylococcus aureus*) (**Paun et al., 2013**).

III. Composition chimique de *Laurus* et de *Lippia*

III.1. Composée en polyphénols du *Laurier noble*

Des recherches antérieures sur le laurier noble ont permis d'isoler plusieurs classes de métabolites secondaires, telles que les mono et les sesquiterpènes, alcaloïdes, flavonoïdes glycosylés, et composées phénoliques (**Julianti et al., 2012**). Le profil HPLC des composées phénoliques d'un échantillon de laurier sauvage a révélé la présence de plusieurs composées, dont les flavane-3-ol, les flavonols et les flavones (**Dias et al., 2014**). Une autre étude a détecté la présence de deux acides phénoliques, correspondant à l'acide coumarique et l'acide hydroxycinnamique. D'autres extraits ont montré la présence de l'acide caféique, férulique et vanillique. Ces différences dans la caractérisation des CP à partir des différents extraits de feuilles de laurier pourraient être dues aux conditions de croissance, et d'autres facteurs environnementaux (sol et climat) (**Muñiz-Márquez et al., 2013**).

III.2. Composé en polyphénols de *Lippia citriodora*

Bien que, l'infusé de feuilles de verveine odorante soit largement consommé, sa composition contient des quantités importantes de polyphénols et des flavonoïdes, principalement la lutéoline 7- diglucuronide, et de dérivés hydroxy cinnamiques. Dont le principal est le verbascoside (**Bilia et al., 2008**). Plus récemment, des études ont identifié dans l'infusion de verveine odorante, outre la lutéoline 7-diglucuronide et le verbascoside, des dérivés

diglucuronidés d'apigénine et de chrysoériole ainsi qu'un isomère du verbascoside, l'isoverbascoside (**Quirantes-Pine et al., 2009**) et des acide dihydrocafféique (**El-Hawary et al., 2012**). Ces composés possèdent des activités antioxydants, antimicrobiens, immunosuppressives et antitumorales (**Pieroni, 2000**).

IV. Composés phénoliques

IV.1.Polyphénols

Les polyphénols sont le plus grand groupe de produits photochimiques, dont beaucoup ont été trouvés dans les aliments végétaux. Une alimentation riche en polyphénols a été associée à de nombreux avantages pour la santé (**Tsao, 2010**). Les polyphénols sont une classe importante de composés dérivés de plantes et peuvent être divisés en plusieurs groupes. Les principales classes sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les lignanes et les stilbens (**Jakobek et Matić, 2018**). Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, (**Waksmundzka-Hajnos et al., 2011**). Les polyphénols sont des micronutriments végétaux synthétisés par les plantes et appartiennent à leur métabolisme secondaire. Ils participent à la protection des plantes contre les attaques environnementales (**Gee et Johnson., 2001**). Les plantes sont une source majeure de polyphénols, qui sont considérés comme des métabolites secondaires qui se défendent contre les agressions environnementales (**Dai, J, et al., 2000**). Ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences). Ce sont des micronutriments végétaux, principalement les pigments responsables de la coloration automnale des feuilles et de la couleur des fleurs et des fruits (jaune, orange, rouge) (**Edeas., 2007**).

IV.2.Classification :

Les composés phénoliques couvrent un groupe diversifié de composés chimiques. Ces composés peuvent être classifiés différemment

Tableau V : Classe des composés phénoliques

Class	Nombre de Carbon	Exemples	Origine (exemples)	Références
- Phénols simple	C6	- Catéchol		Macheix et al., (2005)
- Acides hydroxyben zoïques	C6-C3	- PHydroxybenzoïques - L'acide gallique - Les gallotannins	- Epice, frais - Fruits, kaki - la mangue	Clifford et al., (2000) Macheix et al., (2005)
- Acides hydroxy cinnamique	C6-C3	- Acide caffeique, - Acide Féruilique - Scopolétine, esculetine	- Pomme de terre - Pomme - Citrus	Macheix et al., (2005)
- Coumarines				
- Les stilbènes	C6-C2-C6	- Resvératrol	- Vigne, Les baies, - Le chou rouge, - Les épinards et plantes médicinales	Macheix et al., (2005) Crozier et al., (2009)
- Flavonoïdes	C6-C3-C6	- Quercétine - Daidzéine	- Pomme, raisin - Soja	Manach et al., (2004) Cassidy et al., (2000)
- Lignanes	(C6-C3)2	- Pinorésinol	-Pin	Macheix et al., (2005)

IV.3. Activité Biologique

IV.3.1. Activité antibactérienne des composés phénoliques

Les polyphénols sont les principaux composés antimicrobiens des plantes ; ils peuvent avoir une activité inhibitrice sur la croissance d'une grande catégorie de microorganisme et des bactéries pathogènes (Yi *et al.*, 2010). Les plantes ont une grande capacité de synthèse de substances aromatiques, tels que les polyphénols qui sont des principaux composés antimicrobiens. Dans beaucoup de cas, ces substances servent de mécanismes de défense pour les plantes contre une grande catégorie de microorganismes procaryotes et eucaryotes (virus, bactéries et champignons, les insectes, et les herbivores), ayant des modes d'action divers et des activités inhibitrices ou létales (Leclerc, 1983 ; R'ios, 2005).

IV.4. Flavonoïdes

Le nom flavonoïde est dérivé du mot latin « Flavus », qui signifie jaune (Kebieche, 2009). Les flavonoïdes constituent une famille de composés qui sont omniprésents dans le règne végétal. Plus de 4.000 flavonoïdes naturels ont été découverts (Marin *et al.*, 2002).

IV.4.1. Classes des flavonoïdes

Le terme "Flavonoïde", est généralement employé pour décrire une large famille de produits naturels ; qui incluent le cadre de carbone C6-C3-C6.

Selon la position en C-3 central, ce groupe de produits naturels peut être divisé en trois classes : flavonoïdes (2-phénylbenzopyranes), Isoflavonoïdes (3-benzopyranes) et Néoflavonoïdes (4-benzopyranes) (Jannie *et al.*, 2006).

Tous les flavonoïdes possèdent la même structure de base (C6-C3-C6), ils contiennent quinze atomes de carbone dans leur structure de base: deux cycles aromatiques A et B à six atomes de carbones (**figure 4**) liés avec une unité de trois atomes de carbone qui peut ou non être une partie d'un troisième cycle C (Tapas, A. R., *et al.*, 008).

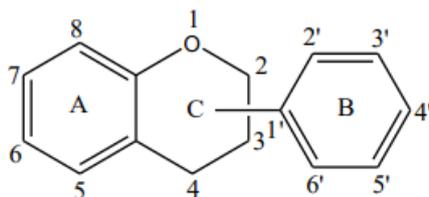


Figure 4: Structure de base des flavonoïdes.

Plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés dans les plantes, et la liste ne cesse de croître. C'est à cause de l'apparition de nombreux modèles de substitution ; les substituants primaires (groupe hydroxyle) peuvent eux-mêmes être substitués (glycosylés ou acylés) donnant parfois

des structures très complexes (D'Archivio et al., 2007). Les principales classes des flavonoïdes sont: les flavonols Les flavones, les flavanones, les flavan-3-ols, les isoflavones et les anthocyanes (Sadasivam et Thayumanavan., 2003), ils varient dans leurs caractéristiques structurales par la diversité fonctionnelle autour de l'oxygénation de l'hétérocycle.

IV.4.1.1. Flavonols

Les flavonols sont caractérisés par la présence d'une double liaison en position 2-3 et d'un groupement hydroxyle en C3 (figure 5). Elles sont les flavonoïdes les plus répandus dans le règne végétal, leur couleur varie du blanc au jaune, elles sont essentiellement représentées par la quercétine, le kaempférol et la myricétine. Les flavonols qui s'accumulent dans les tissus végétaux sont presque toujours sous la forme conjuguée glycosylés (Fraga., 2009).

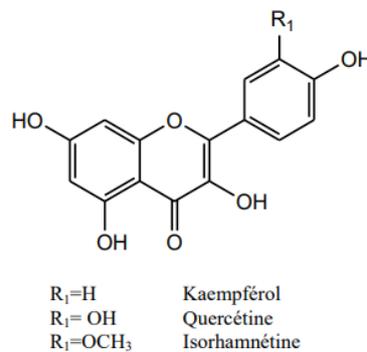


Figure 5: Des exemples des structures chimiques des flavonols.

IV.4.1.2. Flavones

Les flavones sont structurellement très similaire aux flavonols et ne diffèrent que par l'absence d'hydroxylation en position 3 sur le cycle C (figure 6). Elles sont principalement représentées dans l'alimentation par l'apigénine et la lutéoline. Contrairement aux flavonols, elles sont moins répandues dans les fruits et les légumes. Par conséquent, leur apport alimentaire est très faible (Fraga, 2009).

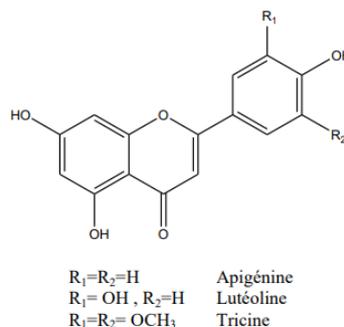


Figure 6: Des exemples des structures chimiques des flavones.

IV.4.1.3. Flavanones

Ces molécules sont caractérisées par l'absence de double liaison en 2, 3 et par la présence d'un centre d'asymétrie en position 2 (**figure 7**). Chez les flavanones naturelles, le carbone 2 est normalement de configuration S. Elles existent sous forme libre ou sous forme glycosylée (**Portet, 2007**). La principale source des flavanones reste les agrumes qui sont caractérisés par l'accumulation des montants élevés en ces composés. Les agrumes incluent les oranges amères, les citrons, les pamplemousses, les mandarines, les clémentines et les oranges douces. Parmi les formes libres des flavanones, on cite la naringénine qui est retrouvée dans le pamplemousse et l'orange amère

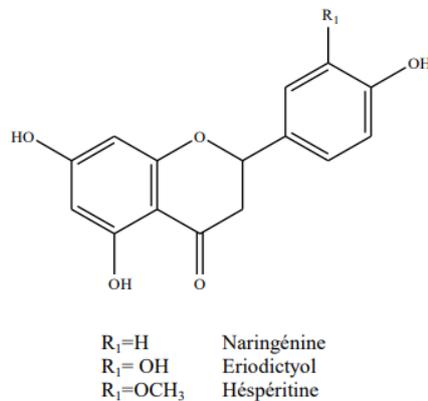


Figure 7: Des exemples des structures chimiques des flavanones

Le plus souvent, les flavanones existent sous forme glycosylée en position 7, comme L'héspératine, qui est retrouvée dans le citron, l'orange douce et la mandarine, et les néohesperidosides responsables du goût amer du pamplemousse et de l'orange (**Tomas-Barberan et al., 2000**)

IV.4.1.4. Flavanols

Ou Flavan-3-ols Ces molécules sont toujours hydroxylées en C3 et se caractérisent par l'absence du groupe carboxyle en C4 (**figure 8**). Elles sont souvent à l'origine des polymères flavoniques appelés proanthocyanidols ou tannins condensés. Les flavan-3-ols sont très abondant dans les fruits comme les abricots, les cerises, les raisins (**Fraga., 2009**).

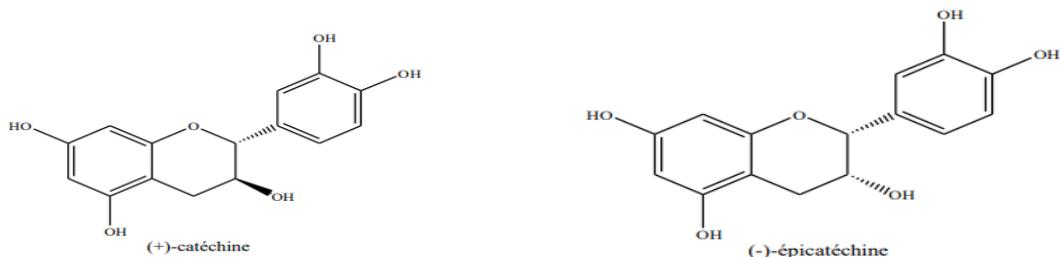


Figure 8: Deux exemples des structures chimiques des flavan-3-ol

Les flavanols sont largement répandus dans les fruits et légumes, mais la source la plus riche de flavanols au sein de l'alimentation humaine est certainement le thé. Ce dernier contient principalement de l'épi catéchine, de l'épigallocatechin-3-O-gallate et de la épigallocatechine (Del Rio *et al.*, 2010).

IV.4.1.5. Isoflavones

Les isoflavones sont considérées comme des dérivés des flavones, elles représentent une sous-classe importante et très distinctive des flavonoïdes (Bouheroum, 2007). Contrairement à la plupart des autres flavonoïdes, les isoflavones sont caractérisées par la présence d'un cycle B fixé à C3 plutôt que la position C2 (figure 9). Ils ont une distribution très limitée dans le règne végétal (Fraga, 2009).

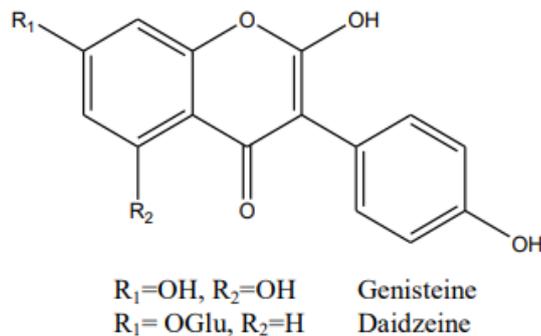


Figure 9: Exemples des structures chimiques des isoflavones.

IV.4.1.6. Anthocyanes

Les anthocyanes (en grec Anthos signifie fleur, et kyanos signifie bleu) sont des pigments hydrosolubles présents dans la plupart des espèces (Chatterjee *et al.*, 2013) Ces pigments sont des dérivés du cation 2-phénylbenzopyrylium plus communément appelé cation flavylium (figure 10). Ils sont accumulés dans les vacuoles cellulaires (Kerio *et al.*, 2012) et ils sont responsable des couleurs rouges, violettes et bleues dans les fruits, les légumes, les fleurs et les graines, mais aussi jouent un rôle important dans la physiologie végétale comme attracteurs des insectes et dans la dispersion des graines (Shipp *et Abdel-Aal*, 2010).

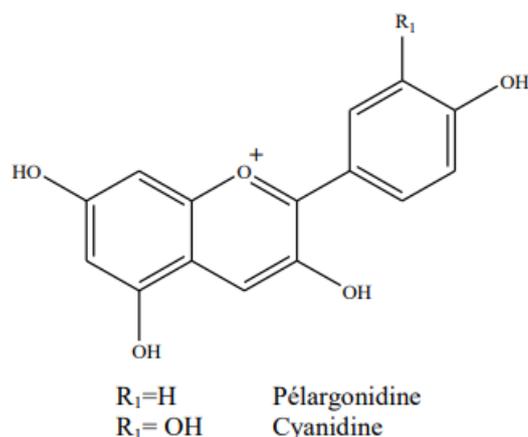


Figure 10: Exemples des structures chimiques des anthocyanes

IV.5. Rôle des composés phénoliques

IV.5.1. Rôle dans la physiologie humaine

Il a été démontré que les polyphénols préviennent les maladies coronariennes et les maladies dégénératives, qu'ils peuvent réduire l'absorption du cholestérol (action régulant positivement le foie), qu'ils peuvent également exercer des effets anti-inflammatoires, qui réduisent la production de cytokines impliquées dans l'adhésion cellulaire, et qu'ils peuvent également protéger contre le stress oxydatif (**Han et al., 2007 ; Zern et Fernandez, 2005**). On les trouve dans les fruits, les légumes, le vin, le thé, l'huile d'olive extra vierge et d'autres produits à base de cacao. La plupart des activités biologiques sont attribuées à leur capacité antioxydante intrinsèques, y compris la capacité de chélater les métaux ioniques impliqués dans la génération de radicaux libres (**Han et al., 2007 ; Pereira et al., 2009**).

IV.5.1.1. Chez les végétaux

Les composés phénoliques, peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante ; (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...). Dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique ; (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV). Soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux ; dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes) (**Fleuriet et al., 2005**).

IV.6. Action antimicrobienne des extraits phénolique

Les activités antimicrobiennes des extraits de plantes dépendent de la nature et de la structure des composés phénoliques. Par leur groupe hydroxyle, les composés phénoliques ont

une capacité de se lier aux protéines des membranes bactériennes pour former des complexes (**Zongo et coll, 2011**). Ainsi, plusieurs études ont mis en évidence les activités antimicrobiennes des extraits de plantes provenant de divers organes comme les feuilles, les graines et les fleurs (**Karou et coll, 2005 ; Falleh et coll, 2008**). Les composés antimicrobiens des plantes peuvent inhiber la croissance bactérienne par différents mécanismes. En effet, (**Caillet et Lacroix, 2007**) ont montré que l'action antimicrobienne de les extraits se déroule en trois phases :

- Attaque de la paroi de germe pathogène par les extraits, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

Partie II : Partie expérimentale

Dans le cadre d'élaboration de notre travail expérimental sur l'activité antimicrobienne des extraits Polyphénolique de *Laurus nobilis* et *Lippia citriodora* nous avons tracé une stratégie de travail qui se base sur l'obtention de la matière végétal des deux plantes choisit, par la suite procéder à l'extraction et en fin testé l'activité de nos extraits sur d'espèces bactériennes et fongique. Notre choix s'est porté sur ces deux plantes en raison de leur utilisation quotidienne dans la cuisine Algérienne et leurs utilisations en médecine traditionnelle et leur disponibilité sur le marché tout au long de l'année.

Ce travail a été effectué au niveau du laboratoire de biochimie et de microbiologie (laboratoire 05 et laboratoire 08), Département de Biologie, Faculté des sciences de la Nature et de la vie et sciences de la terre- Université Akli Mohand Oulhaj Bouira.

I. Matériels et Méthodes

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel Végétal

La récolte des feuilles de laurier et de la verveine a été effectuée dans la Wilaya de Bouira (El asnam, Alltitude 425m) en avril dans un endroit naturel loin de toute pollution, la préparation a été réalisée au laboratoire pédagogique de biochimie de l'université Akli Mohand Oulhaj.



(a)



(b)

Figure 11 : Feuilles de Laurier(a) et de la verveine (b)

I.1.2. Matériel instrumental et réactifs chimique

Réactifs chimique	Appareillage / autre matériel	Matériel Biologique
<ul style="list-style-type: none"> - Eau distillée - Ethanol - L'eau physiologie - Carbonate de sédum - Réactif de Folin - Chlorure d'aluminium AlCl₃ - Milieu de culture Muller Hinton (MH) - Milieu de culture Sabouraud 	<ul style="list-style-type: none"> - Bain mari - Etuve - Incubateur (30/ 37°C) - Bec benzène - Agitateur - Balance électrique - Broyeur électrique - Les écouvillons - Micropipette - Les boites pétries - Prafilm - Vortex - Anse de platine - Tube à essaie 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Escherichia coli</i> - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - <i>Salmonelle</i> - <i>Bacillus subtilis</i> - « <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)</i> » - <i>Aspergillus niger</i> - <i>Aspergillus flavus</i>

I.2. Méthodes

I.2.1. Préparation de la poudre végétale

Les feuilles de *Laurus nobilis* et *Lippia citriodora* une fois nettoyées et débarrassées de poussières sont alors séchées dans l'étuve ventilée à 40 C° pendant 3j. Les feuilles séchées sont directement broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine. La poudre ainsi obtenue entreposées dans un récipient hermétique.



(a)



(b)

Figure 12 : Poudre végétale de Laurier (a) et de la verveine (b)

I.2.2. Extraction des polyphénols

I.2.2.1. Macération

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante (Feknous et al., 2014).

➤ Protocole expérimentale

Le protocole a été décrit par **Mohammedi. (2011)** en y apportant quelques modifications. Une masse de 40 g de poudre délipidée ont été macérés à température ambiante avec 200 ml d'éthanol (70%) avec agitation jusqu'à l'homogénéisation à l'ultra-son à 40°C pendant 30 min. Après filtration à travers du papier Whatman N° 1. Le filtrat obtenu est mis dans l'étuve pendant 3 jrs à 40° C pour éliminer l'éthanol.

Le rendement d'extraction a été calculé suivant la formule ci-dessous :

$$R (\%) = (M_1/M_0) \times 100$$

Avec : **R (%)** : Rendement en %.

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

M₁ : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

I.2.3. Dosage des Polyphénols

Le dosage des phénols totaux dans les différents extraits est réalisé par le réactif de Folin-Ciocalteu, selon la méthode de (Boizot et Charpentier., 2006).

➤ Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et phosphomolibdique (H₃PMO₁₂O₄₀), qui est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃). Cette coloration bleue, dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm. (Ribéreau-Gayon et al., 1972 ; Beghlal et al., 2016).

➤ Mode opératoire

Un volume de 200 µl de chaque extrait de *Laurus nobilis* et *Lippia citriodora* à une concentration 1mg/ml a été mis dans des tubes à essai ; ajouter 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué dans l'eau distillée (1/10), puis additionner un volume de 800µl de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7,5%. Le mélange réactionnel a été incubé pendant 1 heure, à température ambiante et à l'abri de la lumière et l'absorbance a été mesurée, à partir du spectrophotomètre UV-

visible, à 760 nm. Effectuer la même opération pour l'acide gallique, à différentes concentrations en introduisant 200 µl de ce dernier dans une série de tubes à essais, puis ajouter les autres réactifs. Le blanc est représenté par l'éthanol additionné du Folin-Ciocalteu, et de carbonate de sodium.

Le taux des polyphénols dans les extraits a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax + b$), établie avec des concentrations précises d'acide gallique comme standard de référence (**Annexe 01**). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme (mg EAG / g d'extrait) (**Talbi et al., 2015**).

La quantité des phénols totaux a été calculée par l'équation suivante :

$$C = c \cdot v / m$$

Avec : **C** = contenu totale des phénols (mg EAG / g d'extrait).

c = concentration des extraits EAG, obtenu à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml).

v = volume de l'extrait (ml).

m = masse de l'extrait pur de la plante (g).

L'expérience a été faite en triple, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type.

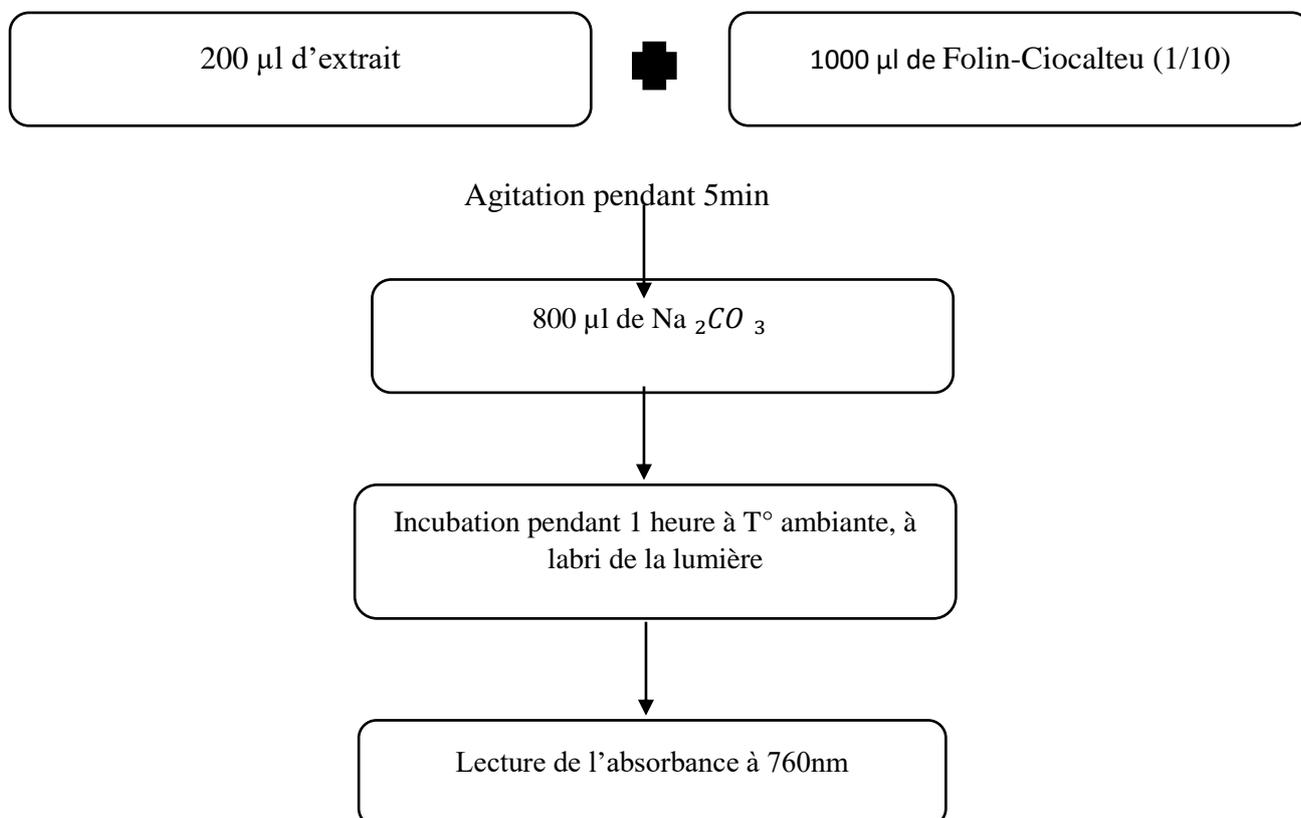


Figure 13 : Protocole de dosage des polyphénols (**Boizot et Charpentier., 2006**).

Les concentrations des polyphénols sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec l'acide gallique et sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique par 1 g d'extrait, présenté dans l'Annexe 1

I.2.4. Dosage des Flavonoïdes

La méthode utilisée de trichlorure d'aluminium décrite par (Bahroun et al., 1996).

I.2.4.1.Principe

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits de *Laurus nobilis* est réalisée par la méthode chlorométrique de (Maksimovic et al., 2005). Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (Fer et Aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Ribéreau-Gayon et al., 1972 ; Maksimovic et al., 2005).

➤ Mode opératoire

Un volume de 1ml des différents extraits de *Laurus nobilis* et *Lippia citriodora* ont été mélangés avec 1 ml du réactif AlCl_3 (133mg AlCl_3 et 400mg d'acétate de sodium dans 1ml d'eau distillée). Après 10 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre UV-visible, à 430 nm. Effectuer la même opération pour la routine à différentes concentrations, en introduisant 1 ml de ces dernières dans une série de tubes et ajouter 1 ml d' AlCl_3 pour préparer une courbe d'étalonnage. Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits de Laurie et la verveine sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage, les résultats sont exprimés en mg d'équivalent routine/ g d'extrait sec (mg Eq. R/g) (Annexe 2).

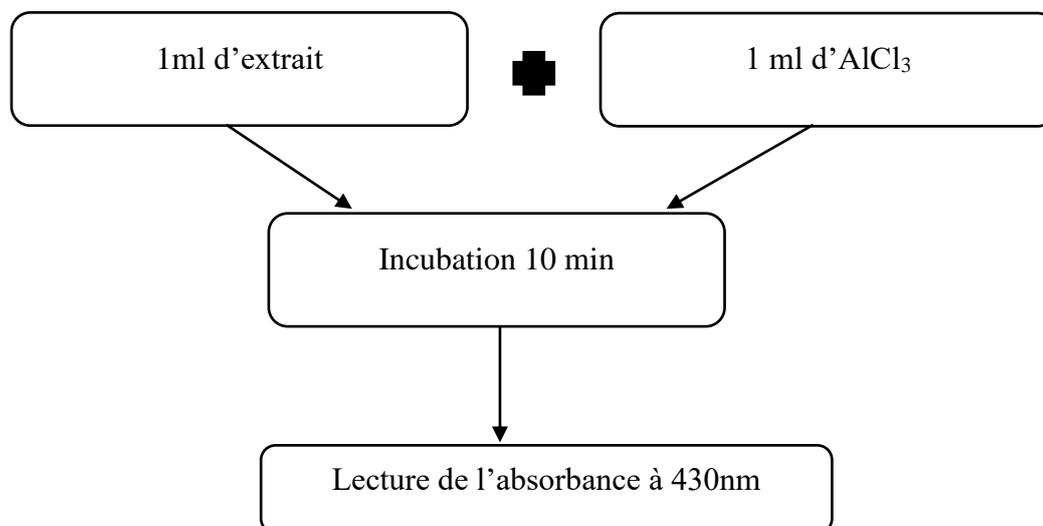


Figure 14 : Protocole de dosage des flavonoïdes (Bahroun et al., 1996).

I.3. Etude de l'activité antimicrobienne

I.3.1. Choix des souches

Notre étude a porté sur six souches bactériennes et deux souches fongiques ont été utilisées pour déceler l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait polyphénolique de Laurie et de la verveine. Le choix des souches à tester est basé sur le caractère pathogénique, sur les études déjà réalisées et sur leur disponibilité au niveau du laboratoire :

- Staphylocoque Aureus (ATCC 6538)
- *Escherichia coli* (ATCC 25922)
- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 6633)
- *Salmonelle*
- *Bacillus subtilis* (ATCC 6633)
- «Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)» (ATCC 43300)
- *Aspergillus niger*
- *Aspergillus flavus*

I.3.2. Milieux de culture

- La culture des bactéries a nécessité l'utilisation des milieux suivants : la gélose Mueller Hinton.
- La culture de la souche fongique est cependant réalisée sur le milieu de culture sabouraud.

I.3.3. Activité antibactérienne :

L'activité a été mesurée selon le protocole **Bolou et al (2011)**, avec quelques modifications

I.3.3.1. Ré-isolement des souches bactériennes

A l'aide d'une anse de platine on prend une colonie, et on le met dans une boîte pétrie qui contient la gélose de Muller Hinton ensuite la mettre dans l'incubateur pendant 24h à 37°C.

I.3.3.2. Préparation La suspension bactérienne

A partir des boîtes contenant les germes pathogènes on a préparé des suspensions pour chaque espèce étudiée. A l'aide d'une anse de platine on prélève deux ou trois colonies pures et bien isolées qu'on décharge dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérilisée.

La suspension bactérienne a été bien homogénéisée, à l'aide d'un vortex, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Ferland ou à une DO de 0,08 à 0,10 avec une lecture à 625 nm.

I.3.3.3. Ensemencement par écouvillonnage

Un écouvillon a été trempé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement (en le tournant), afin de le décharger au maximum. L'écouvillon a été frotté sur la

totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération a été répétée deux fois en tournant la boîte 90°C à chaque fois.

Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée. L'écouvillon a été rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de pétri avec la même souche (**Bellahouel, 2012**).

I.3.3.4. Méthode utilisée

L'activité antibactérienne a été déterminée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé solide. Il s'agit de la méthode des puits ou aromatogramme, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries.

a. Aromatogramme

Une méthode inspirée de l'antibiogramme, il permet de déterminer l'activité inhibitrice par mesure du diamètre d'inhibition, autour d'un disque imprégné ou bien un puit.

b.Principe :

La méthode aromatogramme a été décrite et appliquée par **Mayachiew et Devahastin (2008)**; **Gachkar et al (2006)** et **Hussain et al (2010)**. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des extraits sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri pour déterminer l'activité antimicrobienne et permet de mettre en évidence l'effet antibactérien de l'extrait sur les bactéries, ainsi que la détermination de la résistance ou la sensibilité de ces bactéries vis-à-vis de cet extrait

I.3.3.5. Préparation des puits d'aromatogramme

Après la solidification des boîtes à l'aide d'un emporte-pièce stérile, on pratique des puits de 6 mm de diamètre dans les géloses, Les puits sont ensuite remplis par 50 µl de l'extrait. Chaque puits a été rempli par différents volumes d'extraits (30, 60,90 et 120 ml). Enfin, les boîtes ont été incubées pendant 24h dans l'étuve à 37° C pour les bactéries. Ces différentes étapes ont été appliquées pour chaque germe.

➤ Lecture

La lecture a été faite après 24h par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (diamètre de l'aurole d'inhibition du germe-cible au tour des puits).

I.3.4. Activité Antifongique

L'activité a été mesurée selon le protocole **Fandohan et al (2004)**, avec quelques modifications.

I.3.4.1. Ré-isolement des souches fongique

A partir des boîtes pétries cultive par *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger* et à l'aide d'une anse de platine on prend des souches, et on les met dans le centre des boîtes glosé par sabouraud. Mettre dans l'étuve pour incubation pendant 7j à 30°C.

➤ **Protocol :**

Un volume de 1000µl a été prélevé de l'extraits éthanolique des différentes volumes (60, 90,120) et versé dans des tubes à essai contenant 9 ml de milieu de culture, chaque tube est homogénéisé instantanément par agitation manuelle puis son contenu est coulé dans une boîte de pétrie. Ensuite, les boîtes coulées ont été séchées pendant 15 minutes devant un bec benzène. A partir des boites contenant des souches fongiques jeun et à l'aide d'une anse de platine on prélève de la culture jeune et coulé dans le centre des boites gélosé contenant l'extrait.

➤ **Incubation et lecture**

La lecture des résultats a été effectuée après 5jours d'incubation à 30 °C par mesure du diamètre de la zone de croissance. Et comparer avec la zone de croissance de ces mêmes souches fongiques en absence d'extrait. (Témoin négatif).

Cette partie expose l'ensemble des résultats obtenus lors de notre étude expérimentale sur l'extraction des extraits phénoliques de *Laurus nobilis* et *Lippia citriodora* par macération et les effets de la composition phénolique et leur activité antimicrobienne contre les souches testées comparées et confirmées par des études similaires et complémentaires.

II. Résultats et Discussion

II.1. Rendement d'extraction

Dans la présente étude, les polyphénols extraits des plantes de *Laurus nobilis* et *Lippia citriodora* ont été étudiés. Brièvement, le rendement d'extraction, la composition chimique ainsi que l'activité antimicrobienne ont été testés. Le rendement d'extraction est résumé dans la figure 15.

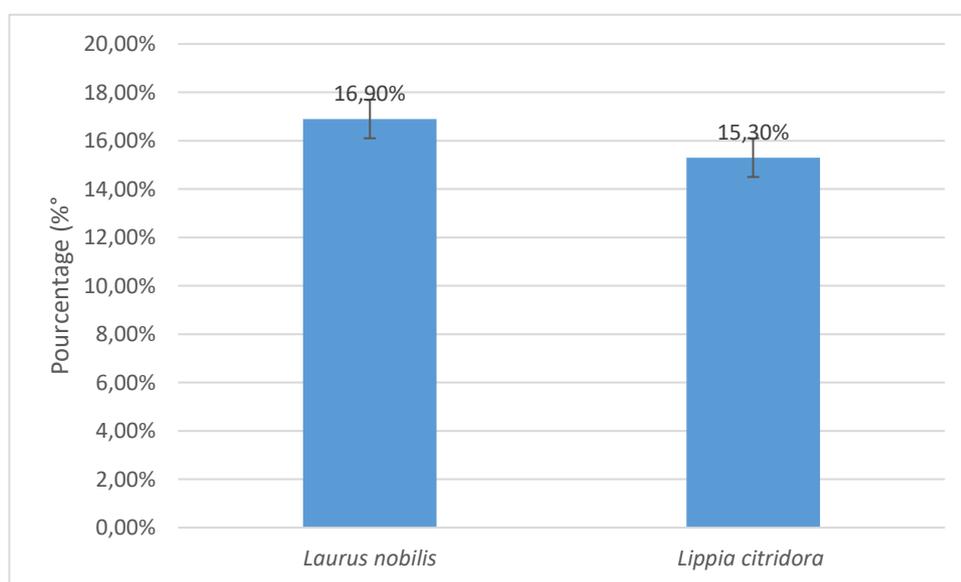


Figure 15 : Rendements des composés phénoliques des deux plantes en pourcentage (%)

Les résultats d'extraits bruts secs obtenus par macération dans l'éthanol donnent par la figure montrant que la préparation des extraits bruts éthanoliques a donné un rendement de 16,9 % pour *Laurus nobilis* et 15,3 % pour *Lippia citriodora*. On constate d'après la comparaison des deux rendements, que l'extrait Laurier est plus riche en termes de polyphénols totaux que *Lippia citriodora*. Une manière générale, les teneurs en extraits secs (rendement) varient non seulement d'une plante à une autre mais également en fonction des paramètres de l'extraction solide-liquide des polyphénols, le solvant d'extraction (**Boutlelis, 2013**).

La méthode d'extraction par macération prolongée des feuilles de deux plantes (*Laurus nobilis* et *Lippia citriodora*) dans de l'éthanol à 70 % **Mahmoudi (2011)**.

Les résultats obtenus révèlent que les extraits des deux plantes possèdent. Selon le T-test le solvant avait un effet significatif ($P < 0,001$). La caractérisation chimique des plantes indique la

présence de quantités substantielles de composés métaboliques secondaires tels que les flavonoïdes et les polyphénols totaux. L'utilisation d'un mélange d'alcool et d'eau présente l'avantage d'ajuster la polarité du solvant alcoolique, ajoutant que la solubilité des polyphénols dépend principalement des groupes hydroxyle, de la taille moléculaire et de la longueur de l'hydrocarbure.

Les travaux conduits par **Katalinic (2010), Mulinacci (2004), Koffi (2010)**. Confirment nos résultats en indiquant que l'éthanol en combinaison avec l'eau permet une meilleure extraction des polyphénols totaux. Pour obtenir des fractions riches en polyphénols, il est préférable L'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols

II.2. Teneur en polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux est déterminée selon l'équation suivante ($y = 2,3214x + 0,0349$, $R^2 = 0,9987$) (**annexe 01**) tracées en utilisant comme standard l'acide gallique. Les concentrations sont exprimées en mg EAG/ g E pour les phénols totaux Les résultats de la teneur en phénols totaux sont illustrés dans le (**tableau VI**). La quantité des polyphénols correspondant à l'extrait étudié a été rapportée en milligramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (**tableau VI**). Le résultat obtenu indique que la quantité des composés phénoliques est de 0.3 ± 0.06 mg d'acide gallique/mg d'extrait de *Laurus nobilis* et 1.06 ± 0.2 mg d'acide gallique/mg d'extrait de *Lippia citriodora*. Concernant *Laurus nobilis*, **Muñiz-Marquez et al. (2013)** ont rapporté une teneur en polyphénols largement supérieur à nos résultats (8.2 mg EAG/g). Concernant *Lippia citriodora*, **Losagni et al. (2014)** ont trouvé une teneur en polyphénols égale à 39,33 mg EAG/g MS qui est supérieur par rapport à nos résultats dans le tableau

Tableau VI : Teneur en polyphénols totaux des deux extraits de plante.

Extrait	Polyphénols Totaux (mg EAG/ g E)
<i>Laurus nobilis</i>	0.3 ± 0.06^a
<i>Lippia citriodora</i>	1.06 ± 0.2^b

II.3. Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est déterminée à partir des courbes d'étalonnage ($y = 35,927x + 0,0015$, $R^2 = 0,9998$) (**annexe 02**) tracées en utilisant comme standard la quercétine. Les concentrations sont exprimées et en mg EQ/ g E pour les flavonoïdes. Les résultats de la teneur en flavonoïdes sont illustrés dans le (**tableau VII**). Les résultats montrent que l'extrait éthanolique du *Laurus nobilis* une teneur en flavonoïdes est égale à $0,24 \pm 0,03$ et *Lippia citriodora* possède une teneur en flavonoïdes enregistrée quant à elle est égale à $0,30 \pm 0,04$ mg EQ/ g E. Ce résultat est comparable à d'autres études qui s'intéressent à la détermination des

teneurs en flavonoïdes des extraits des feuilles de *Laurus nobilis* à savoir l'étude de (Škerget et al. (2005) *Laurus nobilis* de la Slovénie, Dall'acqua et al. (2009). qui ont identifié les flavonoïdes de l'infusion de *L. nobilis* de l'Italie. De même pour l'étude de Lu et al. (2011) qui ont déterminé la teneur des flavonoïdes dans l'extrait éthanolique de *Laurus nobilis* de la Chine. Les valeurs en flavonoïdes obtenus restent inférieures à celles rapporté par Brahim et al. (2015); Taroq et al. (2018). La distribution des métabolites secondaires peut changer Selon le stage de maturité, ceci peut être également lié aux conditions climatiques (température élevée, exposition solaire, sécheresse, etc). Qui stimulent la biosynthèse de ces métabolites secondaires Falleh et al. (2008). Les résultats de l'extraits éthanolique de *Lippia citriodora* sont nettement inférieurs à ceux trouvés par Moien et al. (2014) (7,01 mg EQ/g MS) et Cheurfa et Allem. (2015) (6,41 mg EQ/g MS).

Tableau VII : Teneurs en flavonoïdes dans les extraits de *Laurus nobilis* et *Lippia citriodora*

Extrait	Flavonoïde
<i>Laurus Nobilis</i>	0.24 ± 0,03
<i>Lippia Citriodora</i>	0.30± 0,04

II.1.Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits phénoliques des différent concentrations (30, 60, 90,120mg/ml) avec un témoin négatif, et l'effet sur les souches testées est observée dans les figures suivant :

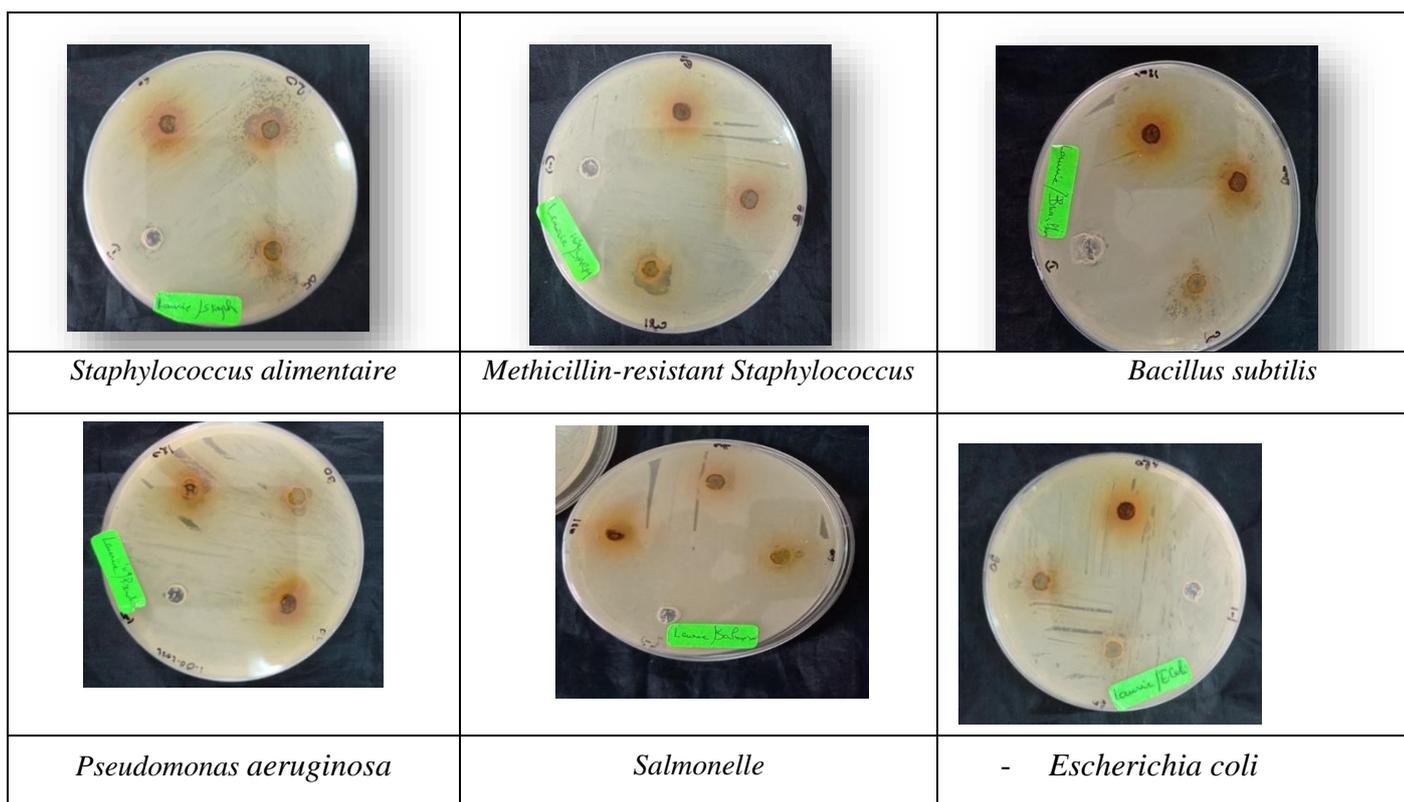


Figure 18 : Effets des composés phénoliques de *Laurus nobilis* sélectionnées sur de quelques espèces bactériennes testées.

L'activité antibactérienne des extraits Polyphénolique des feuilles de *Laurus nobilis* a été traduite, par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des puits remplis d'extraits bruts étudiés. Le tableau suivant montre le résultat d'effets des microorganismes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aërognosie*, *Staphylococcus aureus*, *Sarm*, *Salmonelle*, *Bacillus subtilis*)

Tableau VIII : Résultats de l'aromatogramme de l'extrait poly phénolique du *Laurus nobilis*.

Concentrations	<i>Staphylococcus</i>	<i>Sarm</i>	<i>Pseudo</i>	<i>E coli</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Salmonelle</i>
Concentrations mg/ml <90 mg/ml	-	-	-	-	-	-
Concentrations mg/ml >90 mg/ml	+	+	-	-	-	-
Concentrations mg/ml >120 mg/ml	+	+	+	-	-	-

(-) Résulta négative, non sensible.

(+) Résulta positive, faible sensibilité (zone observée avec petit diamètre).

Les résultats des tests de l'activité antibactérienne des extraits poly phénolique de *Laurus nobilis* sur les souches *Staphylococcus aureus*, *Methicillin-resistant Staphylococcus* et *Pseudomonas aërognosie*, indique quelque effet positive observé par des zones de diamètres <2mm sur les concentrations plus de 90mg/ml, contrairement aux souches *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Salmonella*. Qui ont signifié l'absence de zone d'inhibition. Une insensibilité a été enregistrée à différentes concentrations de l'extrait poly phénolique de *Laurus nobilis*. Cela est probablement expliquer par la mauvaise diffusion de nos extraits dans les milieux de culture, Ou peut-être explique par leur mécanisme de résistance qui se manifeste au niveau de la structure de leur enveloppe bactérienne.

Cependant, très peu de recherches se sont intéressées à l'étude de l'activité antimicrobienne de *Laurus nobilis* (Atanda et al., 2007 ; Otsuka et al., 2008)

Par comparaison a des résultats similaires ont été signalé par (Yakhlef, 2011) la plante *Laurus nobilis* montre une certaine activité inhibitrice de la croissance microbienne, mais moins intéressante. Il montre que l'extrait phénolique de *Laurus nobilis* inhibe les *staphylocoques* (Gram⁺), ces souches sont plus au moins sensibles que les autres souches bactériennes testées notamment, *Escherichia Coli*, *Pseudomonas aërognosie*, *salmonella* (Gram⁻). La résistance de

ces dernières n'est pas surprenante, ces bactéries possèdent une résistance intrinsèque aux agents biocides qui est en relation avec la nature de leurs membranes externes composées de lipopolysaccharides qui forment une barrière imperméable aux composés hydrophobes. En présence d'agents perméabilisants de la membrane externe, des substances inactives contre ces bactéries deviennent actives (Yakhlef, 2011). Beaucoup de travaux rapportent la variation de la composition chimique explique donc les variations observées dans l'activité antibactérienne des extraits d'une même plante ou de plantes différentes. L'efficacité de l'activité bactérienne d'une plante peut ne pas être due à un constituant actif principal (compositions phénolique), mais à l'action combinée des différents composés du métabolite primaire et secondaire à l'origine de cette plante.

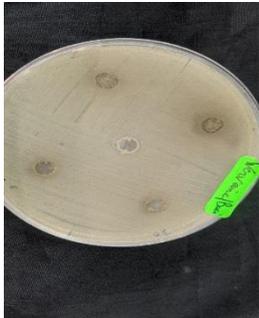
		
<i>Staphylococcus alimentaire</i>	<i>Methicillin-resistant Staphylococcus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella</i>	- <i>Escherichia coli</i>

Figure 19 : Effets des composés phénoliques de lippia citriodora sélectionnées surde quelques espèces bactériennes testées.

L'activité antimicrobienne des extraits poly phénolique des feuilles de *Lippia citriodora* a été traduite par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des puits remplis d'extraits bruts étudiés. Le tableau suivant montre le résultat d'effets des microorganismes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Methicillin-resistant Staphylococcus*, *Salmonella*, *Bacillus subtilis*).

Tableau IX : Résultats d'effet de l'extrait poly phénolique du *lippia citriodora*.

Concentrations	<i>Staphylococcus</i>	<i>Sarm</i>	<i>Pseudo</i>	<i>E coli</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Salmonelle</i>
Concentrations mg/ml <90 mg/ml	-	+	-	-	-	-
Concentrations mg/ml >90 mg/ml	-	+	-	-	-	+
Concentrations mg/ml >120 mg/ml	+	+	-	-	+	+

(-) Résulta négative, non sensible.

(+) Résulta positive, faible sensibilité (zone observée avec petit diamètre).

L'activité antibactérienne des extraits éthanoliques et aqueux de feuilles de verveine citronnée (*Lippia citriodora*) a été dosée contre six bactéries gram ⁺et ⁻ par une méthode de diffusion sur gélose et les résultats des zones d'inhibition sont présentés dans le tableau.

Les résultats montrent que les souches *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* et *Salmonella*. Était sensible selon la méthode de diffusion sur gélose. Tandis que les bactéries les plus résistantes étaient *Escherichia coli*, *Pseudomonas aërognosie*. En comparant les résultats avec ceux obtenus dans la littérature **koohsari et al. (2013)**, nous avons constaté que l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques de feuilles de verveine citronnée (*Lippia citriodora*) était mesurée contre Gram +/- par la méthode du puits d'agar Bactéries ont été dosés. Les bactéries les plus sensibles dans la méthode de diffusion des pores sur gélose étaient *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, le diamètre de la zone d'inhibition était de 24,18 mm, tandis que les bactéries les plus sensibles étaient *Escherichia coli* et *Pseudomonas aerogenes*. Les concentrations base dans cette plante n'étaient pas inhibitrices par rapport aux concentrations élevées.

II.2. Activité antifongique

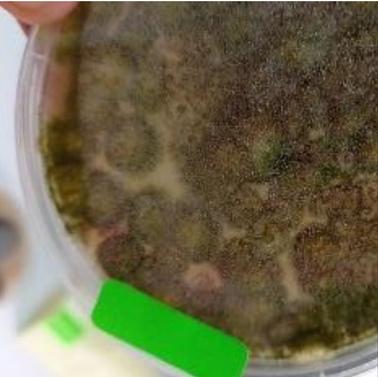
L'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance des souches fongiques sur les boites constantes les extraits phénoliques les tableaux suivants montre

les résultats après le contact direct des extraits poly phénolique avec *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*.

Tableau X: les résultats obtenus après l'incubation de 5j *Aspergillus Niger*.

	60(mg/ml)	90(mg/ml)	120 (mg/ml)	Témoin (-)
<i>Laurus nobilis</i>				
<i>Lippia citriodora</i>				

Tableau XI: les résultats obtenus après l'incubation de 5j *Aspergillus Flavus*

	60(mg/ml)	90(mg/ml)	120(mg/ml)	Témoin négatif
<i>Laurus nobilis</i>				
<i>Lippia citriodora</i>				

Comme la figure le montre, seulement le témoin qui a donné un effet positif sur les souches contrairement aux extraits poly phénoliques testés traités. Pas seulement expliquer par une faible diffusion mais aussi, les polyphénols extraits à partir de ces plantes n'ont aucune activité

Des résultats similaires sur des différentes plantes ont été signalé par **Hamlaoui et coll. (2009)** ; **Aouadhi et al (2013)**.

Ont révélé que l'extrait phénolique de *M. pulegium*, n'avait pas d'effet antifongique contre les mêmes souches fongiques testes, (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*). Contrairement aux travaux de **Aouadhi et al (2013)** les extraits phénoliques de

Teucrium polium et *M. vulgare*, avaient une activité antifongique importante vis-à-vis *A. Niger* et *A. Flavus*.

Une recherche supplémentaire sur la composition chimique de chaque extrait, est plus que nécessaire pour comprendre l'évaluation de composés présentant l'activité antimicrobienne été signalés par plusieurs auteurs **Tawil (1980); Bajpai (2007)**. D'après tous ces études on conclu que l'activité antifongique des extraits, dépend non seulement des composés phénoliques. Mais aussi de la présence de différents métabolites secondaires à effet antifongique tels que les stéroïdes, les saponosides et les huiles essentielles qui ont par ailleurs déjà été signalés par plusieurs auteurs.

Conclusion

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir l'industrie, la médecine, la pharmacie et l'agriculture. Les préparations à base de ces deux plantes connues par leur propriété aromatique et leur goût

Les polyphénols totaux montrent des proportions de 16.90% de poudre de feuilles de *Lippia citriodora* et de 15.30% de poudre de feuilles de *Laurus nobilis*. Ces résultats confirment la grande richesse des feuilles d'en substances phénoliques. Cette étude préliminaire reste insuffisante et ne permet pas d'expliquer les différents résultats d'activité recherchée, parce que l'activité antimicrobienne des extraits de plantes est due aux différents agents chimiques présents dans l'origine de ces plantes. La variation de la composition chimique explique donc les variations observées dans l'activité antimicrobienne des extraits d'une même plante ou de plantes différentes. Les extraits bruts de *Lippia citriodora* et de *Laurus nobilis* ont été testés par la méthode de diffusion à partir d'un aromatoگرامme par puits, pour leur pouvoir inhibiteur, contre un ensemble de germes pathogènes : six souches bactériennes et deux fongique, Les extraits ont révélé des activités antimicrobiennes variables contre les différentes souches microbiennes testées.

Afin d'approfondir les aspects entrevus dans ce travail, un certain nombre de perspectives peuvent être envisagées :

- Exploiter le pouvoir antimicrobien dans l'industrie pharmaceutique pour enrichir l'arsenal thérapeutique.
- Etudier d'autres activités biologiques (antioxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse...ect).

Au final, les résultats obtenus ainsi que les perspectives proposées vont permettre d'ouvrir de nouvelles voies dans le domaine thérapeutique.

Références Bibliographique

Reference bibliographiques

- **Abuhamdah, R. et Mohammed, A. (2013).** "Chemical, molecular pharmacology and neuroprotective properties of the essential oil derived from *Aloysia citriodora*" Palau: Durham University.
- **Ali-Shtayeh S., Yaniv Z., et Mahajna J. (2000).**"Ethnobotanical survey in the Palestinian area: a classification of the healing potential of medicinal plants." Journal of Ethnopharmacology 73(1-2): 221-232.
- **Anton, R. Lobstein, A. (2005).**"Plantes aromatiques, Epice, aromates, condiments et huiles essentielles." Tec & Doc, Paris (France). Pp521.
- **Archivio M., Filesi C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., et Masella, R. (2007).** "Polyphenols, dietary sources and bioavailability". Ann IST Super Sanità. 43, 348-361.
- **Atanda, O., Akpan, I., & Oluwafemi, F. (2007).** "The potential of some spice essential oils in the control of *A. parasiticus* CFR 223 and aflatoxin production." Food control, 18(5), 601-607.
- **Aurori C., Bobiş O., Dezmirean S., Mărghitaş A., & Erler S. (2016).** "Bay laurel *Laurus nobilis* as potential antiviral treatment in naturally BQCV infected honeybees." Virus research 222: 29-33.
- **Bajpai K., Rahman A., & Kang C. (2007).** Chemical composition and anti-fungal properties of the essential oil and crude extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. Industrial Crops and Products, 26(1), 28-35.
- **Ballabio, R. Goetz, P. (2010).** "Huile de graine/fruit de laurier, *Laurus nobilis* L. *Laurus azorica* (Seub) Franco, *Laurus novocanariensis* RivasMart., E. Dias, J.C. Costa et C. Aguiar Phytothérapie ,8. P: 141-144."
- **Bahorun T., Gressier B., Troitin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J et Pinkas M. (1996).**"Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations." Arznei. Forschung.; 46:1086-1089.
- **Bahorun, T. (1997).** "Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle." Food Agric les Council Mauritias pp 83 _94.

-
- **Barla A., Topçu G., Öksüz S., Tümen G., et amp; Kingston D. G. (2007).**"Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus nobilis L.*" Food Chemistry 104(4): 1478-1484.
 - **Beloued, A. (2009).**"Laurier, Description, Habitat, Composition chimique." Dans plantes médicinales d'Algérie (p. 124).
 - **Bellahouel, S., Merah, B., Fortas, Z., Soulimani R., & Derdour A. (2012).** "Antimicrobial activity of the alkaloids and saponin extracts of *Anabasis articulata*." J. Biotechnol. Pharm. Res, 3(3), 54-57.
 - **Bendjersi, F. (2017).**"Etude de la composition chimique des extraits de *Laurus nobilis L*" (Doctoral dissertation, Faculté de Chimie).
 - **Beta, T., Nam, S., Dexter, J.,et Sapirstein H.D.(2005).** Phenolic Content and Antioxidant Activity of Pearled Wheat and Roller-Milled Fractions. Cereal Chem. 82(4):390–393.
 - **Bilia AR., Giomi M., Innocenti M. (2008).** "HPLC–DAD– ESI–MS analysis of the constituents of aqueous preparations of verbena and lemon verbena and evaluation of the antioxidant activity". J Pharm Biomed Anal 46, 463–470.
 - **Bouheroum, M. (2007).** "Etude photochimique des plantes médicinales algériennes: *Rhantherium adpressum* et *Ononis angustissima*." Thèse de Doctorat : Université Mentouri de Constantine Algeria.
 - **Boizot, N. et Charpentier, JP. (2006).**"Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier." Le Cahier des Techniques de l'Inra :79-82.
 - **Bolou K., Attioua B., N'guessan C., Coulibaly A., N'guessan D., et Djaman A. (2011).** "Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* planch sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*". Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège 80, 772 – 790.
 - **Brahmi N., Scognamiglio M., Pacifico S. (2015) .** "1H NMR based metabolic profiling of eleven Algerian aromatic plants and evaluation of their antioxidant and cytotoxic properties." Food Res Int 76:334–341.
 - **Carnat A., Fraisse D., et Lamaison J., (1999).** "The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea." *Fitoterapia*, 70(1): 44-49.
 - **Caillet, S. et Lacroix, M. (2007).** " Les huiles essentielles, leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire." Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) INRS-Institut Armand-Frappier, Université de Laval (Québec).

-
- **Cassidy A., Hanley B., and Lamuela-Raventos M. (2000).** "Isoflavones, lignans and stilbenes: origins, metabolism and potential importance to human health." *J Sci Food Agric*: 348.
 - **Chahal k., Kaur M., Bhardwaj U., Singla N., et Kaur A. (2017).** "A review on chemistry and biological activities of *Laurus nobilis L.* essential oil." *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*; 6(4). P: 1153-1161.
 - **Chaboussou, A. Chabauty, A. (2013).**"Modes opératoires des extraits végétaux en viticulture biologique." *L'Agriculture Biologique en pays de la Loire*, 1-4.
 - **Cheurfa, M. et Allem, R. (2015).**"Évaluation de l'activité antioxydante de différents Extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla.*" *Phytothérapie*, 14(3): 181-187.
 - **Chatterjee, D. et Bhattacharjee, P. (2013).** "Solvent and supercritical carbon dioxide extraction of color from eggplants: Characterization and food applications." *LWT. Food Science and Technology* 51, 319-32
 - **Clifford, M. et Scalbert, A. (2000).** "Ellagitannins nature, occurrence and dietary burden." *J Sci Food Agric* 80: 1118-1125.
 - **Cowan, M., (1999).** "Plant Products as Antimicrobial Agents." *Clinical Microbiology review*, 12 (4): pp. 564-582.
 - **Crozier, A., Jaganath B. et Clifford M. (2009).** "Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health." *Nat Prod Rep* 26: 1001-1043.
 - **Crozier A., Michael N., et Hiroshi C. (2006).**"Plant Secondary Metabolites Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Blackwell Publishing Ltd.
 - **Dias I., Barros L., Dueñas M., Alves C., Oliveira P., Santos-Buelga C., & Ferreira I. (2014).**"Nutritional and antioxidant contributions of *Laurus nobilis L.* leaves: would be more suitable a wild or a cultivated sample," *Food chemistry* 156: 339-346.
 - **Dai, J. et Mumper, R. (2010).** "Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propreties." *Molecules* 15(10), 7313-52.
 - **Da Silveira M., Luciano B., Fronza N., CunhaA., Scheuermann N., et amp;**
 - **Vieira W. (2014).**"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(1): 86-93.
 - **Dai J. & Mumper, R. J. (2010).** "Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propreties." *Molecules* 15(10), 7313-52.
 - **Del Rio D., Stalmach A., Calani L., et Crozier A. (2010).**"Bioavailability of coffee chromogenic acids and green tea flavan-3-ols." *Nutrients* 2, 820-833.

-
- **Descheemaeker, K., (2003).** "Nutri et Phytothérapie : Developpements Recents." Edition Garant, page 12, 46.
 - **De Paula Rogerio A., Sorgi A., Sadikot R., et Carlo T. (2015).**"The role of lipids mediators in inflammation and resolution." *BioMed Research International*, 10 (1155):2.
 - **Demir V., Guhan T., Yagcioglu K., Ddegirmencioglu A., (2004).**"Mathematical modeling and the Determination of some Quality Paramaters of Air-dried Bay leaves." *Bio systems engineering* 88 (3): 325-335.
 - **Dorman, H. et Deans, S. (2000).**"Antimicrobial agent from plants: antibacterial activity of plant volatile oils-*Journal of Applied Microbiology*." vol.8, N°2, pp. 308-316
 - **Edeas, M. (2007).**"Citroflavonoïdes." *Phytothérapie*, 5(4), 210-211.
 - **Emam M., Mohamed A., Diab, M., Megally Y., & Mohamed Y. (2010).**"Isolation and structure elucidation of antioxidant compounds from leaves of *Laurus nobilis* and *Emex spinosus*." *Drug Discov Ther*, 4(3), 202-207.
 - **El Hmamouchi, ME. (2006).**"Partenariats Agricoles pour la productivité et la prospérité. Numéro spécial." *L'Institut Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques (INPMA) de Taounate*, 4.
 - **El-Hawary S., Miriam F., Yousif F., Abdel Motaal A., Abd-Hameed M. (2012).**"Bioactivities, phenolic compounds and in-vitro propagation of *Lippia citriodora* Kunth cultivated in Egypt." *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University* 2012; 50:1–6.
 - **El Malti, J. et Amarouch, H. (2009).**"Antibacterial effect, histological impact and oxidative stress studies from *Laurus nobilis* extract. *Journal of food quality* 32(2): 190-208.
 - **El-Rhaffari L., Zaid A. (2004).** "Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée." *Origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savantes*, 293-318.
 - **Elharas K., Daagare A., Mesifioui A., Ouhssine M. (2013).** "Activité antibactérienne de l'huile essentielle des inflorescences de *Laurus Nobilis* et *Lavandula Angustifolia*." *Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie* 9(2) : 134-141.
 - **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.

- **Fang F., Sang S., Chen Y., Gossiau A. & Rosen, R. T. (2005).** "Isolation and identification of cytotoxic compounds from Bay leaf (*Laurus nobilis*)". Food Chemistry, 93(3), 497-501.
- **Fraga, C. (2009).** "Plant phenolics and human health: Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology." John Wiley & Sons Edition, pp 5-13.
- **Fandohan, P., Gbenou, D., Gnonlonfin, B., Hell, K., Marasas, F., et Wingfield, M. (2004).** "Effect of essential oils on the growth of *Fusarium verticillioides* and fumonisin contamination in corn." Journal of agricultural and food chemistry, 52(22), 6824-6829.
- **Fernández J., Damiani, N., Podaza, A., Martucci, F., Fasce, D., Quiroz, F., & Gende, B. (2019).** *Laurus nobilis* L. Extracts against *Paenibacillus larvae*: Antimicrobial activity, antioxidant capacity, hygienic behavior and colony strength. Saudi Journal of Biological Sciences, 26(5), 906-912.
- **Feknous S., Saidi F., and Mohamed-Said R. (2014).** "Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L)". Nature & Technology 11:7-13.
- **Ferdinand, P. (2010).** "Historique, Habitat, Composition chimique." Dans F. paris, Guide des plantes médicinales (p. 279). Paris -France- : Delachaux et Niestlé.
- **Fiorini C., David B., Fourastét I., Vercauteren J. (1998).** "Acylated Kaempférol glycosides from *Laurus nobilis* leaves." J. Phytochemistry. 47 (5): 821-824.
- **Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J., (2005).** "Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes pp 121-216.
- **Garg S., Siddiqui S., & Agarwal, S. (1992).** "New fatty acid esters and hydroxy ketones from fruits of *Laurus nobilis*." Journal of Natural Products, 55(9), 1315-1319.
- **Gee, J. et Johnson, I. (2001).** "Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health." Current medicinal chemistry, 8(11), 1245-1255.
- **Geoff, B. Sue, F. Greig, D. Guest, S. Harmony, M. Sue, H. Jakso, G. Lavarak, P. Ledgett, M. (2003).** "Botanica Edition: h. full Mann." P: 512.
- **Ghedira, K (2005).** "Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique." Phytothérapie 3(4), 162-169.
- **Ghédira, K. et Goetz, P. (2017).** "Verveine odorante *Aloysia citriodora* Palau (*Lippia citriodora*)." Phytothérapie, 15(1): 33-37.
- **Gómez-Coronado M., Ibañez E., Rupérez J., Barbas C. (2004).** "Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin, Journal chromatography. 1054: 227-233.

-
- **Hanaa, A., El-Beltagi, H et Nasr F. (2011).** "Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of *Aloysiatriphylla*." Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 10 (8): 2689-2699.
 - **Hajlaoui H., Trabelsi N., Noumi E., Snoussi M., Fallah, H., Ksouri R., & Bakhrouf, A. (2009).**"Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. " World Journal of Microbiology and Biotechnology, 25(12), 2227-2238.
 - **Houicher A., Hechachna H., Teldji H., & Ozogul F. (2016).** "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): 99-106.
 - **Ivan A. (2001).** "Ross-medicinal plants of the world, chemical constituents, traditional and modern medicinal uses." –Humana press. Volume 2. pp .261-264, United States of America.
 - **Jakobek, L MATIĆ, P., & UKIĆ, Š. (2018).** "Equilibrium and kinetic study of phenolic acids adsorption onto β -glucan." Croatian journal of food science and technology, 10(1), 73-80.
 - **Jannie J., Bettina-Devours, M., Dixon A., Ferreira D. (2006).**"The Stereochemistry of flavonoids, The Science of Flavonoids, Edited Références bibliographiques 159 by Erich Grotewold." The Ohio State University Columbus, Ohio, Springer Science Business Media, 01±46.
 - **Jeffrey, K. (2016).** "Lauraceae dans K. Aronson, Meyler's Side Effects of Drugs." 16th Edition the International Encyclopedia of Adverse Drug Reactions and Interactions (pp. 484-486). ISBN: Elsevier Science.
 - **Jutiviboonsuk A., Zhang H., Tan G., Ma C., Van Hung N., Cuong M., Bunyapraphatsara N., Soejart D., Fong S., (2005).** "Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*." Phytochemistry 66: 2745 – 2751.
 - **Karou D., Savadogo A., Canini A., Yameogo S., Montesano C., Simpoire, J., & Traore, S. (2006).** "Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*." African journal of biotechnology, 5(2), 195-200.
 - **Karou, D; (2005).**"Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethno medicinal plants of Burkina Faso." African Journal of Biotechnology, 4, 823-828.

-
- **Kaskoos, A. (2019).**"Essential oil analysis by GC-MS and analgesic activity of *Lippia citriodora* and *Citrus Limon*." Journal of Essential Oil Bearing Plants, 22(1): 273 – 281.
 - **Katalinic V., Mozina S., Skroza I., Generalic H., Abramovic M., Milos I., Ljubenkovic S., Piskernik I., Pezo P., Terpinic et Boban M. (2010).**"Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia)." Food Chem. Vol. 119. (2010). pp. 715-723.
 - **Kerio, C., Wachira, N., Wanyoko, K., et Rotich, K., (2012).** "Characterization of anthocyanins in Kenyan teas: Extraction and identification." Food Chemistry 131, 31–38.
 - **Kebieche, M. (2009).** "Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus Repens L.*: effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine." Thèse de Doctorat. Université Mentouri Constantin .21.
 - **Kivçak, B. et Mert, T. (2002).**"Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* leaf extracts." Fitoterapia 73(3): 242-243.
 - **Kong J., Chia L., Goh K., Chia T., et Brouillard R. (2003).**"Analysis and biological activities of anthocyanins". Phytochemistry 64, 923–933.
 - **Koffi E., Sea T., Dodehe et S. Soro (2010).**"Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty-three Ivorian plants". J. Animal & Plant Sci. Vol. 5. (2010). pp. 550-558.
 - **Koohsari H., Ghaemi E., Sadegh Shesh Poli M., and Sadegh A. (2013).**"Evaluation of antibacterial activity of Lemon verbena (*Lippia citriodora*) leaves."Annals of Biological Research, 4 (10):52-55.
 - **Kühnau, J. (1976).** "The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition." World Rev Nutr Diet 24: 117-191.
 - **Lacy, A. et O’Kennedy, R. (2004).** "Studies on Coumarins and Coumarin Related Compounds to Determine their Therapeutic Role in the Treatment of Cancer." Current Pharmaceutical Design 10, 3797-3811.
 - **Lenoir, L. (2011).**"Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d’inflammation colique chez le rat." Université d’Auvergne-Clermont-Ferrand I.
 - **Messaoudi, S. (2008).** "Les plantes médicinales." Troisième édition, Dar Elfikr,
 - **Mayachiew, P. et Sakamon, D. (2008).** "Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts." LWT-Food Science and Technology 41.7:1153-1159.

-
- **Macheix, J.-J., Fleuriet, F. & Jay-Allemand, C. (2005).** "Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique." PPUR presses polytechniques, p 134.

 - **Manach, C., A. Scalbert, C. Morand, et al. (2004).** "Polyphenols: food sources and bioavailability." *Am J Clin Nutr* 79: 727-747.
 - **Maksimović Z., Malenčić Đ., & Kovačević, N. (2005).** "Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts." *Bioresource technology*, 96(8), 873-877.
 - **Marzouki H., Piras A., Bel Haj Salah K., Medini H., Pivetta T., Bouzid S.,**
 - **Marongiu, B. et Falconieri (2009).** "Essential oil composition and variability of *Laurus nobilis* L, growing in Tunisia, comparison and chemometric investigation of different plant organs. *Natural research product*. 23,343-54.
 - **Marin R., Frutos J., Perez-Alvarez A., Martinez-Sanchez F., Del Rio A. (2002).** "Flavonoids as nutraceuticals: structural related antioxidant properties and their role on ascorbic acid preservation." *Studies in Natural Products Chemistry*, Elsevier Science, 26, 741±778

 - **Maiga A., Diallo D., Fane S., Sanogo R., Paulsen B. S., Cisse, B., (2005) .** "A survey of toxic plants on the market in the district of Bamako, Mali: traditional knowledge compared with a literature search of modern pharmacology and toxicology." *Journal of Ethnopharmacology* 96: 2005, 183 - 193.
 - **Mohammedi, Z. (2011).** "Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphyllia* L. karst." *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 2:609-615.
 - **Mohammedi, Z. (2013).** "Etude Photochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie". Thèse de Doctorat en Biologie. Université aboubekr Belkaid. Algérie. P 84.
 - **Milane, H. (2004).** "La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère peroxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques." Thèse de Doctorat en Sciences, université Louis Pasteur, Strasbourg.
 - **Morris, J et Khettry, A., & Seitz, E. W (1997).** "Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils." *J. Am. Oil Chem. Soc.*; 56: pp. 595-603.

-
- **Mulinacci N., Prucher D., Peruzzi M., Romani A., Pinelli P., Giaccherini C., et Vincieri F. (2004).** "Commercial and laboratory extracts from artichoke leaves: estimation of caffeoyl esters and flavonoidic compound content." *J. Pharm. and Biomed. Anal.* Vol. 34.pp. 349-357.
 - **Muñiz-Márquez B., Martínez-Ávila C., Wong-Paz E., Belmares-Cerda R., Rodríguez Herrera R., & Aguilar N. (2013).** "Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Laurus nobilis L.* and their antioxidant activity. «*Ultrasonics Sonochemistry* 20(5): 1149-1154.
 - **Nadeem A., Aasim M., Kırıcı S., Karık Ü., Nawaz M. A., Yılmaz A., et amp; Baloch (2018).** "Laurel *Laurus nobilis L.*: A less-known medicinal plant to the world with diffusion, genomics, phenomics, and metabolomics for genetic improvement." *Biotechnological Approaches for Medicinal and Aromatic Plants*: 631-653.
 - **Nakamura T., Okuyama E., Tsukada A., Yamazaki M., Satake M., Nishibe S., et Deyama T., Moriya A., Maruno M., Nishimura H, (1997).** "Acteoside as the analgesic principle of Cedron (*Lippia triphylla*), a Peruvian medicinal plant." *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 45(3): 499–504.
 - **Naser A., Mansoor R., et Aljoubbeh M., (2015).**"Fluctuations of phenols and flavonoids in infusion of lemon verbena (*Lippia citriodora*) dried leaves during growth stages." *Nutrition ET Food Science*, 45(5): 766-773.
 - **Otsuka, N Liu, H., Shiota, S., Ogawa W., Kuroda T., Hatano T., & Tsuchiya, T. (2008).** "Anti-methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) compounds isolated from *Laurus nobilis*." *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 31(9), 1794-1797.
 - **Ouattara L, Koudou J., Zongo C., Barro N., Savadogo A., Bassole I & Traore, A. S. (2011).** "Antioxidant and antibacterial activities of three species of *Lannea* from Burkina Faso." *J Appl Sci*, 11(1), 157-162.
 - **Ouibrahim A., Kaki A., Bennadja S., Mansouri R., Kaki A., Khbizi S., et amp; Djebar R. (2015).**"Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis L.* provenant de la région d'El Kala (Nord–Est Algérien)." *Algerian Journal of Natural Products* (3) 3: 209-2016.
 - **Oussalah M., Caillet S., Saucier L., & Lacroix M. (2007).**" Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*." *Food control*, 18(5), 414-420.

- **Ozcan B., Esen M., Sangun 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.
- **Paun G., Zrira S., Boutakiout A., Ungureanu O., Simion D., Chelaru C., et Radu GL., (2013).** "Chemical composition, antioxidant and antibacterial activity of essential oils from Moroccan aromatic herbs." *Revue Romaine de chimie*, 58 (11-12) : 891-897.
- **Pariente, L. (2001).**"Dans Dictionnaires des sciences pharmaceutique et biologique 2éme édition (p. 1643). Paris, Académie Nationale de Pharmacie."
- **Pereira D., Patricia V., Pereira J. et Andrade P. (2009).**"Phenolics: From Chemistry to Biology." *Molecules*. 14, 2202-2211.
- **Peris, I., (2015).** "Comparative GC-MS Analysis of Bay Leaf *Laurus nobilis L.*
- **Peixoto L., Rosalen L., Ferreira S., Freires, A., de Carvalho, G., Castellano, R., & de Castro, R. D. (2017).**"Antifungal activity, mode of action and anti-biofilm effects of *Laurus nobilis Linnaeus* essential oil against *Candida* spp." *Archives of Oral Biology* 73:179 -185.
- **Pieroni A., Pachaly P., Huang Y., Van Poel, B., Vlietinck A. (2000).**"Studies on anti-complementary activity of isolated flavones from *Ligustrum vulgare* and *Phillyrea latifolia* leaves (Oleaceae)." *Journal of Ehnopharmacology*, 70:213-217. 25. Mors, W.B., Rizzini, C.T., Pereira, N.A. Medi.
- **Polese, J. (2010).** "Arbre et arbustes de Méditerranée. "Editions : Edisude. P : 45,46.
- **Portet, B. (2007).** "Recherche bioguidée de molécules antipaludiques d'une plante guyanaise *Piper hostmannianum* var. *berbicense*". Thèse de Doctorat : Université de Toulouse.
- **Peris, I. et Blázquez M. (2015).** "Comparative GC-MS Analysis of Bay Leaf *Laurus nobilis L* Essential Oils in Commercial Samples." *International Journal of Food Properties* 18 : 757–762.
- **Peixoto R., Rosalen L., Ferreira S., Freires A., Carvalho G., Castellano R., et AMP ; de Castro D. (2017).**"Antifungal activity, mode of action and anti-biofilm

-
- effects of *Laurus nobilis* Linnaeus essential oil against *Candida* spp." *Archives of Oral Biology* 73: 179 -185.
- **Quirantes-Pine R., Funes L., Micol V. (2009).**"High-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray time-of-flight and ion-trap tandem mass spectrometry to identify phenolic compounds from a lemon verbena extract." *J Chromatogramme A* 1216: 5391-5397.
 - **Ribéreau-Gayon, P. (1972).** "Evolution des composés phénoliques au cours de la maturation du raisin." *Conn. Vigne VIN*, 6, 161-175.
 - **Salhi N., Goumni Z., Salhi A., Mehani M., et Terzi V. (2015).**"Evaluation de l'activité antifongique in vitro des huiles essentielles de *Laurus Nobilis L.* sur la croissance mycélienne de *Fusarium Sporotrichoide*." *Revue El Wahat pour les Recherches et les Etudes* Vol, 8(2) : 34-44.
 - **Sayyah M., Valizadeh J., et Kamalinejad M. (2002).** "Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole-and maximal electroshock-induced seizures." *Phytomedicine* 9(3) : 212-216.
 - **Sadasivam, S. et Thayumanavan, B. (2003).**"Molecular host plant resistance to pests." Volume 96 de *Books in soils, plants and the environment*. CRC Press, p221.
 - **Scalbert, A. et Williamson, G. (2000).**"Dietary intake and bioavailability of polyphenols." *J Nutr* 130: 2073S-2085S.
 - **Shipp, J. et Abdel-Aal, M. (2010).**"Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients." *The Open Food Science Journal* 4, 7-22.
 - **Skerget M., Kotnik P., Hadolin B., Hras R., Simonic M. et Knez Z. (2005).** "Phenols, proanthocyanidines, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities." *Food Chemistry*. 89: 191-198.
 - **Simiü M., Kundakoviü T., Kovapeviü N. (2003).**"Preliminary assay on the antioxidant activity of *Laurus nobilis* extracts." *Fitoterapia*.74: 613-616.
 - **Simić A., Soković D., Ristić M., Grujić S., Vukojević J., et Marin D., (2004).**"The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities." *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* 18(9): 713-717.
 - **Slimani, N. et Dahmane, M. (2013).** "Effet des huiles essentielles extraites à partir des feuilles de *Mentha Spicata*, *Mentha pulegium*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia citriodora*, *Ocimum basilicum* sur quelques bactéries pathogènes." Thèse de master université de Hassiba Ben Bouali-Chleff.

-
- **Snuossi M., Trabelsi N., Ben Taleb S., Dehmeni A., Flamini G., & De Feo V. (2016).**"*Laurus nobilis*, *Zingiber officinale* and *Anethum graveolens* essential oils, composition, antioxidant and antibacterial activities against bacteria isolated from fish and shellfish." *Molecules* 21(10): 1414.
 - **Steven, M (2011).**"In the Court of Chancery of the State of Delaware." February 25, No. 5566-VCN.
 - **Stefanova G., Girova T., Gochev V., Stoyanova M., Petkova Z., Stoyanova A., (2020).**"Comparative study on the chemical composition of laurel *Laurus nobilis* L. leaves from Greece, Georgia, and the antibacterial activity of their essential oil. "Heliyon 6 (12): e 05491.
 - **Sripad G., Prakash V., et Narasinga Rao M. (1982).** "Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents." *J. Biosci.* Vol. 4. (1982). pp. 145-152.
 - **Tsao, R. (2010).** Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients* 2, 1231-1246.
 - **Taroq A., El Kamar F., Aouam I., El Atki Y., Lyoussi B. et Abdellaou A. (2018).** "Antioxidant Activities and Total Phenolic and Flavonoid Content Variations of Leaf Extracts Of *Laurus Nobilis* L. From Morocco." *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.*11, 540.
 - **Tapas, R., Sakarkar, D., & Kakde, R. (2008).**" Flavonoids as Nutraceuticals: A Review." *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 7 (3), 1089-1099.
 - **Talbi H., Boumaza A., El-mostafa K., Talbi J., et Hilali A. (2015).** "Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L." *Journal of Materials and Environmental Science* 6 :1111-1117.
 - **Taarabt O., Koussa T., et amp Alfeddy M. (2017).**"Caractéristiques physicochimiques et activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L au Maroc." *Afrique science* 13(1): 349-359.
 - **Tomas F., Ferreres F., et Gil M., (2000).** "Antioxidant phenolic metabolites from fruit and vegetables and changes during postharvest storage and processing." *Atta-ur-Rahman (Ed.) Studies in Natural Products Chemistry*, Vol. 23, p747.
 - **Turi T., Wroblewska B., She D., Chung S., Kim H., & Neale, J.(1997).**" Molecular cloning of a peptidase against N-acetylaspartylglutamate from a rat hippocampal cDNA library." *Journal of neurochemistry*, 69 (6), 2270-2277.
 - **Urquiaga, I. et Leighton, F. (2000).** "Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress." *Biological Research.* 33, 55-64.

-
- **Vermerris, W. Nicholson, R. (2006).** "Isolation and identification of phenolic compounds, phenolic compound biochemistry" Published by Springer, Dordrecht, 151-191.
 - **Vierling, E. (2008).** "Aliments et boissons : filières et produits." Wolters Kluwer France Edition, p 153.
 - **Yadegarinia D., Gachkar L., Rezaei B., Taghizadeh M., Astaneh, A., & Rasooli, I (2006).**"Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita L* et *Myrtus communis L* essential oils." *Phytochemistry* 67.12 : 1249-1255.
 - **Yakhlef, G. Laroui, S. Hambaba, L. Aberkane, C. et Ayachi, A. (2011).**"Evaluation de L'activité anti microbiome de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle." *Phototherapies*, vol. 9, no 4, p. 209-218.
 - **Yi S., Zhu, J. L., Fu L., & Li, J. R. Et al. (2010).** "Tea polyphenols inhibit *Pseudomonas aeruginosa* through damage to the cell membrane." *International journal of food microbiology*, 144(1), 111-117.
 - **Yousefzadeh, N. et Meshkatalasadat, M. (2013).**"Quantitative and qualitative study of bioactive compounds of essential oils of plant *Lippia citriodora*." by use of GC-MS technique. *Journal of Novel Applied Sciences*, 2(2S): 964-968.
 - **Yousef, R. et Tawil, G. (1980).** "Antimicrobial activity of volatile oils." *Die Pharm.;* 35: pp. 698-701.
 - **Yong S., Landau M., Huang T., et Newmark H. (2001).**"Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds." *Annual Review of Nutrition*, 21: 381-406.
 - **Waksmundzka, M. et Sherma, J. (2011).** "High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical ience." *Chromatographic Science Series*, 477-478.
 - **Wong SP., Leong LP., William Koh H. (2006).**"Antioxidant activities of extracts of selected plants." *Food Chem* 99: 775–83.
 - **Zongo C., Savadogo A., Somda M. K., Koudou J., & Traore A. S. (2011).**"In vitro evaluation of the antimicrobial and antioxidant properties of extracts from whole plant of *Alternanthera pungens* H.B. & K. and leaves of *Combretum sericeum* G. Don." *International Journal of Phytomedicine*, 3, 182-191.

Annexe

Annexe

Annexe N°1

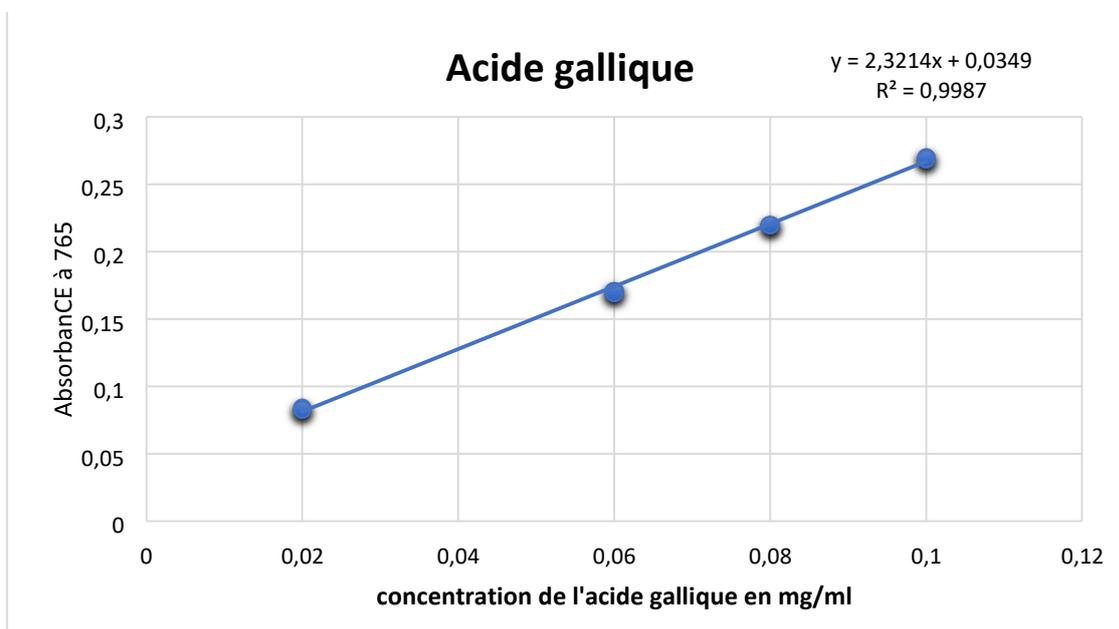


Figure 01 : Courbe d'étalonnage du standard acide gallique utilisé dans le dosage des polyphénols totaux.

Annexe N°2

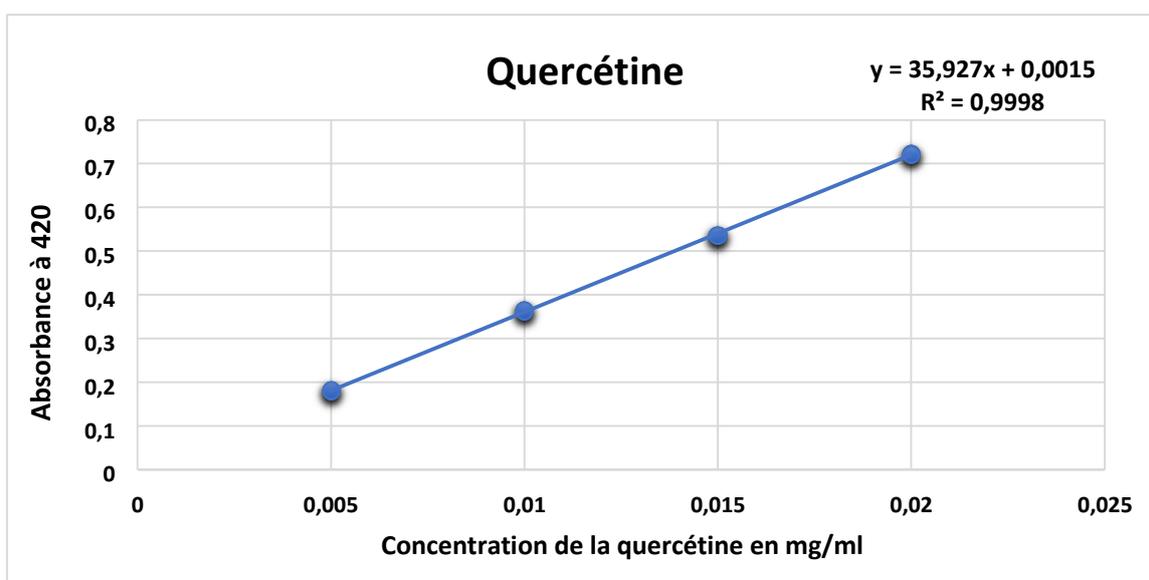


Figure 02 : Courbe d'étalonnage du standard Quercétine utilisé dans le dosage des flavonoïdes

Annexe N°3

Préparation des milieux cultures

- ✓ La gélose Miller Hinton

Mélanger 38 grammes de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée stérile, agitation jusqu'à obtention d'une suspension homogène.

Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Répartir en tubes ou flacons stériles.

- ✓ Gélose Sabouraud

Dissoudre 30 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Mélanger soigneusement avec agitation jusqu'à obtention d'une suspension homogène, Répartir et stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave.

Annexe N°4

Souche bactérienne	Gram	Caractéristiques
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positive	<ul style="list-style-type: none"> On le retrouve bien dans les milieux communautaires qu'hospitaliers, il est au deuxième rang des infections nosocomiales derrière <i>Escherichia coli</i> et au deuxième des intoxications alimentaires après les salmonelles. Il intéresse un très grand nombre de sites infectieux et peut être isolé au laboratoire dans tous les types de prélèvements. On le retrouve dans des infections aussi bien locales qu'invasives dont l'issue clinique.
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	<ul style="list-style-type: none"> Elle provoque des infections urinaires, génitales, hépatobiliaires ou digestives méningites chez les nourrissons, infection alimentaires, manifestation intestinales telles que des diarrhées variables selon la souche en cause : diarrhées des voyageurs ou turista grève destruction des globules rouge et lésions rénales Due à la souche sécrétant une puissante toxine appelée toxine Véro vomissement.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	négatif	<ul style="list-style-type: none"> Cette bactérie préfère les milieux humides et on la trouve quelquefois au niveau de la peau, de l'appareil respiratoire supérieur, de l'oreille externe et du tube digestif chez l'individu sain. Ce sont essentiellement les individus qui ont reçu des antibiotiques. Les infections sont le plus souvent des infections d'origine nosocomiale. Ce terme concerne tout ce qui est relatif aux hôpitaux. Plus généralement, il est employé pour une maladie contractée lors d'une hospitalisation.
<i>Salmonelle</i> Aspect	négatif	<ul style="list-style-type: none"> La plupart des <i>Salmonella</i> sont hébergées dans l'intestin des animaux vertébrés et sont le plus souvent transmises à l'homme par le biais d'aliments contaminés. Les trois principales maladies causées par <i>Salmonella</i> chez les humains sont la salmonellose non typhoïde non invasive, la salmonellose non typhoïde invasive et la fièvre typhoïde. Les salmonelles appartiennent au genre des entérobactéries <i>Salmonella</i>. Elles provoquent deux types de maladies : des gastro-entérites par

		intoxication alimentaire (salmonellose), et des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes
<i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>	Positive	<ul style="list-style-type: none"> • Un staphylocoque doré (<i>S. aureus</i>) est une bactérie qu'on peut trouver habituellement sur la peau ou dans les narines des personnes. En général inoffensif chez les gens en bonne santé, le staphylocoque doré peut parfois causer des infections, de la peau ou une infection de plaie ou, plus rarement, une pneumonie, une infection du sang ou une méningite
<i>Bacillus Subtilis</i>	Positive	<ul style="list-style-type: none"> • Cette bactérie rencontrée dans le sol, l'eau, les poussières, les plantes et les matières fécales de l'homme et des animaux. • <i>B. subtilis</i> qui est l'espèce la plus fréquemment isolée de produits pathologiques. Les infections à <i>B. subtilis</i> peuvent être classées en trois catégories : les infections digestives les infections locales et les infections systémiques

Résumé

Notre étude a pour objectif de déterminer l'activité antibactérienne et antifongique des extraits totaux, des deux plantes médicinales sur des souches bactériennes et fongiques pathogènes. Dans un premier temps, une extraction par macération dans l'éthanol a été réalisée. Le rendement de *Laurus nobilis* 16.9 % est plus élevé que *Lippia citriodora* 15.3%. Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes montre que les deux espèces contiennent des teneurs élevées en ces composés phénoliques. L'activité antimicrobienne a été déterminée sur six souches bactériennes et deux souches fongiques, selon la méthode des puits. L'activité a révélé que le pouvoir antibactérien de l'extrait de *Lippia citriodora* était très important par rapport à l'extrait de *Laurus nobilis* varie en fonction du microorganisme et de la concentration. L'extrait phénolique inhibe la croissance des bactéries *salmonella*, *Staphylococcus aureus*. La concentration élevée de ces extraits possèdent une capacité antibactérienne contre les souches testées. Les résultats de l'activité antifongique ont montré l'inefficacité de tous les extraits contre *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*.

Mots Clés : *Laurus nobilis*, *Lippia Citriodora*, effets antibactérien, effets antifongiques, extrait brut.

Abstract

The objective of our study is to determine the antibacterial and antifungal activity of the total extracts of both medicinal plants on bacterial and fungal pathogenic strains. First, an extraction by maceration in ethanol was carried out. The yield of *Bay laurel* 16.9% is higher than *Lemon verbena* 15.3%. The determination of polyphenols and flavonoids shows that both species contain high levels of these phenolic compounds. Antimicrobial activity was determined on six bacterial and two fungal strains, using the well method. The activity revealed that the antibacterial power of the extract of *Lemon verbena* was very important compared to the extract of *Bay laurel* varies depending on the microorganism and concentration. Phenolic extract inhibits the growth of *salmonella bacteria*, *Staphylococcus aureus*. The high concentration of these extracts have an antibacterial ability against the strains tested. The results of the antifungal activity showed the ineffectiveness of all extracts against *Aspergillus Niger* and *Aspergillus flavus*.

Keywords: *Bay laurel*, *Lemon verbena*, antibacterial effects, antifungal effects, raw extract.

ملخص:

تهدف دراستنا إلى تحديد النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات للمستخلصات الإجمالية للنباتين الطبيين على السلالات البكتيرية والفطرية المسببة للأمراض. في البداية، تم استخراج الإيثانول عن طريق النقع. عائد ورق الغار 16.9% أعلى من ورق تيزانة 15.3%. يُظهر تحديد البوليفينول والفلافونويد أن كلا النوعين يحتويان على مستويات عالية من هذه المركبات الفينولية. تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات على ست سلالات بكتيرية وسلالتين فطريتين، وفقاً للطريقة الجيدة. كشف ورق الغار بالمقارنة مع ورق تيزانة تختلف كانت مهمة جداً لاستخراج النشاط أن القوة المضادة للبكتيريا لمستخلص اعتماداً على الكائن الحي الدقيق والتركيز. المستخلص الفينولي يثبط نمو بكتيريا السالمونيلا، المكورات العنقودية الذهبية. التركيز العالي لهذه المستخلصات له قدرة مضادة للبكتيريا ضد السلالات التي تم اختبارها. أظهرت نتائج النشاط المضاد للفطريات عدم فعالية جميع المستخلصات ضد الرشاشيات النيجر ونكهة الرشاشيات. يستحق هذا العمل أن يكتمل بدراسة لتحديد النشاط المضاد للالتهاب.

الكلمات الرئيسية: ورق الغار، تيزانة، التأثيرات المضادة للبكتيريا، التأثيرات المضادة للفطريات، المستخلص الخام

