الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de RELIZANE
Faculté des Sciences de la nature et de la vie
Département :Sciences de la nutrition

MEMOIRE
En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en :
Biochimie de la nutrition

Intitulé

Utilisation des huiles essentielles de *Laurus nobilis* (Laurier noble) dans la conservation d'un produit carné (Cachir)

Présenté par :

Mlle : FERGANE Ibtissem
Mlle : FERGANE Nour elhouda

Devant les membres de jury :

Présidente : Mlle SAIBI Amina	Maître assistant	(B) A(U. Relizane)
Encadreur : Mme BOUKHENNOUFA Asma	Maître de conférences	(B) A (U. Relizane)
Examinatrice : Mme FERRAG Dalila	Maître de conférences	(B) A (U. Relizane)

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Notre première gratitude va au tout-puissant ALLAH, le créateur du tout, pour nous avoir donné la vie, la bénédicité et la force pour accomplir ce travail Nous tenons à remercier notre encadrante Mme BOUKHENNOUFA Asma, pour ses conseils et son assistance tout au long de la réalisation de ce mémoire. Nous tenons également à remercier tout le personnel du laboratoire universitaire pour leur aide et leur gentillesse. Nous adressons également nos vifs remerciements aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche, en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs suggestions. Nous remercions également, en guise de conclusion, toutes les personnes qui n'ont pas été nommément citées ici, mais qui ont, de près ou de loin, contribué au bon déroulement de ce travail."

Dédicace

J'ai le grand plaisir de dédier cet humble travail aux deux personnes les plus précieuses à mes yeux, ma mère et mon père, qui ont toujours été à mes côtés, me soutenant et m'encourageant à arriver là où je suis aujourd'hui, me donnant force, patience et espoir. À mon frère Ahmed et ma sœur Fatiha et à tous les membres de ma famille. À tous mes amis avec qui j'ai partagé les plus belles années de ma vie, tous les moments que nous avons passés ensemble, et tous nos souvenirs ! Je vous souhaite à tous une longue vie pleine de bonheur et de prospérité. Et à tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce mémoire. Enfin, je voudrais remercier ma compagne Sarah qui m'a aidé à réaliser cet humble travail.

Dédicace

C'est avec un énorme plaisir et une immense joie, que je dédie ce travail à mes chers parents qui m'ont toujours soutenu et encouragé et pour la force qu'ils m'ont donnée durant toutes ces années d'études, que Dieu prolonge leur vie, et qu'il m'aide à rendre leur bien. Je dédie ce travail aussi A mes chers frères , A mes amies , A mes collègues pour tous les moments uniques et très émouvants que nous avons passés ensemble durant ces années d'études.

A ma binôme et amie Ibtissem qui m'a aidé à réaliser cet travail.

Résumé

Notre objectif vise à trouver un conservateur naturel d'une denrée alimentaire alternatif aux substances chimiques prohibées. Pour cela, notre choix s'est tombé sur les huiles essentielles issues des feuilles de *Laurus nobilis* (laurier noble), récoltées dans la région de Relizane.

La plante a été caractérisée en matière de détermination de la teneur en eau, et en taux d'huile essentielle obtenue par hydro-distillation. Les paramètres physico-chimiques sont déterminés à savoir, l'indice de réfraction, l'indice d'acide, l'indice d'ester, l'indice de saponification et de densité relative à 20°C. En parallèle, l'efficacité des huiles extraites est testée contre des souches microbiennes par la méthode de diffusion sur gélose. En effet, deux doses sont incorporées dans le cachir (5µL et 10µL). Après, les analyses de la qualité microbiologique ont été déterminées.

Le rendement d'extraction était égal à 0,95 ± 0,45 %, avec des valeurs d'indice de réfraction (1,3138), d'indice d'acide (0,225 ± 0,005), saponification (31,5 ± 0,005 mg KoH/g), d'indice d'ester (31, 25 ± 0,005) et de densité relative (0,825 ± 0,005).

Le test de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle montre une puissante activité contre *Staphylococcus aureus* (80 mm x 40 mm) et *Pseudomonas aeruginosa* (80 mm x 30 mm). Mais aucune activité antifongique n'a été constatée contre *Candida albicans.*

Après vingt jours de préparation, il parait que l'échantillon témoin, a perdu totalement sa couleur, son odeur, et sa texture qui est devenue un peu rigide avec un dégagement d'une odeur nauséabonde. A T0 et T10, aucune croissance de la FTAM n'a été constatée dans toutes les préparations y compris le témoin. A T20, le dénombrement de la FTAM révèle que les échantillons contenant l'HE (5µL et 10µL) ont préservé leur qualité microbiologique par rapport au témoin (1200 UFC/g).

Une absence totale des coliformes fécaux a été trouvée à T0 et T10 dans tous les échantillons préparés. Cependant, à T20 une altération du témoin a été marquée (6700 UFC/g).

Mots clés: Conservateur, extraction, huiles essentielles, *Laurus nobilis,* activité antimicrobienne

Abstract

Our goal is to find a natural food preservative that can be an alternative to prohibited chemicals. To this end, we chose essential oils from the leaves of *Laurus nobilis* (noble bay), harvested in the Relizane region.

The plant was characterized by determining its water content and the essential oil content obtained by hydrodistillation. Physicochemical parameters were determined, including refractive index, acid index, ester index, saponification index, and relative density at 20°C. At the same time, the effectiveness of the extracted oils was tested against microbial strains using the agar diffusion method. Two doses were added to the solution (5µL and 10µL). Microbiological quality analyses were then performed.

The extraction yield was 0.95 ± 0.45%, with values of refractive index (1.3138), acid index (0.225 ± 0.005), saponification (31.5 ± 0.005 (mg KoH/g), ester index (31.25 ± 0.005) and relative index (0.825 ± 0.005).

The antimicrobial activity test of the essential oil showed potent activity against *Staphylococcus aureus* (80 mm x 40 mm) and *Pseudomonas aeruginosa* (80 mm x 30 mm) respectively. But no antifungal activity was found against *Candida albicans*.

After twenty days of preparation, it appeared that the control sample has completely lost its color, its odor, and its texture which has become a little rigid with a release of a nauseating odor. At T0 and T10, no growth of total aerobic mesophilic flora was observed in all the preparations including the control. At T20, the total aerobic mesophilic flora count reveals that the samples containing the HE (5µL and 10µL) have preserved their microbiological quality compared to the control (1200 CFU/g).

A total absence of fecal coliforms was found at T0 and T10 in all prepared samples. However, at T20 an alteration of the control was marked (6700 CFU/g).

Keywords: Preservative, extraction, essential oils, *Laurus nobilis*, antimicrobial activity

ملخص

تهدف هذه الدراسة لإيجاد مادة حافظة طبيعية للأغذية مشكلة بذلك بديلاً للمواد الكيميائية المحظورة. ولتحقيق ذلك، اخترنا زيوتًا عطرية من أوراق الغار النبيل ، التي تُحصد في منطقة غليزان.

تم تحديد خصائص النبات بتحديد نسبة الماء ومحتوى الزيوت العطرية المُستخلصة بالتقطير المائي. حُددت بعدها المعايير الفيزيائية والكيميائية، بما في ذلك معامل الانكسار، ومعامل الحموضة، ومعامل الإستر، ومعامل التصبن، والكثافة النسبية عند درجة حرارة 20 درجة مئوية. وفي الوقت نفسه، اختُبرت فعالية الزيوت المستخلصة ضد السلالات الميكروبية باستخدام طريقة الانتشار فوق وسط الزرع. أُضيفت جرعتان إلى المحلول (5 ميكرولتر و10 ميكرولتر). ثم أُجريت تحاليل الجودة الميكروبيولوجية.

بلغت نسبة الاستخلاص 0.95 ± 0.45%، مع قيم لمعامل الانكسار (1.3138)، ومعامل الحموضة (0.225 ± 0.005)، ومعامل التصبن (31.5 ± 0.005 (ملغ هيدروكسيد البوتاسيوم/غ)، ومعامل الإستر (31.25 ± 0.005)، والمعامل النسبي (0.825 ± 0.005). أظهر اختبار النشاط المضاد للميكروبات للزيت العطري نشاطًا قويًا ضد *Staphylococcus aureus* (80 مم× 40 مم) *Pseudomonas aeruginosa* (80 مم × 30 مم) على التوالي. ولكن لم يُعثر على أي نشاط مضاد للفطريات ضد *Candida albicans*.

بعد عشرين يومًا من التحضير، تبيّن أن العينة الشاهد قد فقدت لونها ورائحتها وملمسها تمامًا، وأصبحت صلبة بعض الشيء مع انبعاث رائحة كريهة. عند T0 وT10، لم يُلاحظ أي نمو للبكتيريا الهوائية المتوسطة المحبة للحرارة في جميع المستحضرات. عند T20، يُظهر تعداد البكتيريا الهوائية المتوسطة المحبة للحرارة أن العينات التي تحتوي على HE (5 ميكرولتر و10 ميكرولتر) حافظت على جودتها الميكروبيولوجية مقارنةً بالشاهد (1200 وحدة تشكيل مستعمرة/غرام).

وُجد غياب تام ل coliformes fécaux عند T0 وT10 في جميع العينات المُحضرة. ومع ذلك، عند T20، لوحظ تغيير في عينة الشاهد (6700 وحدة تشكيل مستعمرة/غرام).

الكلمات المفتاحية: مادة حافظة، استخلاص، زيوت عطرية، نبتة الغار ، نشاط مضاد للميكروبات

Sommaire

Sommaire	Page
Remerciement	-
Dédicace	-
Résumé	-
Liste des figures	-
Liste des tableaux	-
INTRODUCTION	1
Synthèse bibliographique	
Chapitre I : *Laurus nobilis*	
I.1. Historique	3
I.2. Généralité	3
I.3. Habitat	4
I.4. Description	4
I.5. Classification	5
I.6. Composition chimique	6
I.7. Utilisation	6
Chapitre II : Les huiles essentielles	
II.1. Historique	8
II.2. Définition	8
II.3. Localisation des huiles essentielles dans la plante	9
II.4. Propriété pharmacologique	10
II.5. Méthodes d'extraction	11
II.5.1. Distillation par entraînement à la vapeur	12
II.5.2. Hydro-distillation	12
II.5.3. Extraction par micro-ondes	13
II.5.4. Extraction par CO_2 supercritique	14
II.6. Composition chimique	14
II.6.1. Les composés terpéniques	14

Sommaire **Page**

II.6.2. Les composés aromatiques 15

II.6.3. Les composés d'origine diverses 16

Chapitre III : Utilisation des huiles essentielles

III.1. Utilisation des huiles essentielles (pharmacie, parfumerie, industrie alimentaire) 17

III.1.1. En pharmacie 17

III.1.2. En parfumerie et cosmétologie 17

III.1.3. En industrie alimentaire 17

III.2. Application dans les produits alimentaires 17

III.3. Efficacité dans la conservation des produits carnés (le cachir) 18

III.4. Toxicité des huiles essentielles 18

III.5. Conditions de conservation et de stockage 19

Partie pratique

Chapitre IV : Matériel et méthodes

IV.1. Objectif 20

IV.2. Matériel végétal 21

IV.3. Souches microbiennes 21

IV.4. Caractérisation biochimique des feuilles 22

IV.4.1. Teneur en eau 22

IV.4.1.1. Principe 22

IV.4.1.2. Mode opératoire 22

IV.4.1.3. Expression des résultats 22

IV.5. Extraction par hydrodistillation 22

IV.5.1. Principe 22

IV.5.2. Mode opératoire 23

IV.6. Caractérisation de l'huile essentielle 23

IV.6.1. Caractéristiques organoleptiques 23

IV.6.2. Caractéristiques physicochimiques 24

IV.6.2.1. Indice d'acide 24

IV.6.2.2. Indice de saponification 24

Sommaire **Page**

IV.6.2.3. Indice d'ester 25

IV.6.2.4. Indice de réfraction 25

IV.6.2.5. Densité relative à 20°C 26

IV.7. Activité antimicrobienne des huiles essentielles 27

IV.7.1. Principe 27

IV.7.2. Méthode de diffusion d'agar 27

IV.8. Préparation du Cachir 28

IV.9. Analyse microbiologique du Cachir 29

IV.9.1. Préparation des dilutions [JO n°38, 22/06/2014] 29

IV.9.2. Germes totaux à 30°C [NF V08-017] 29

IV.9.3. Coliformes fécaux [NF V08-01] 30

IV.9.4. *Staphylococcus aureus* [ISO 6888] 30

IV.9.5. Clostridium sulfito réducteurs [ISO 6649] 30

IV.9.6. *Salmonella* [ISO 6579, 2002] 31

IV.10. Étude statistique 31

Chapitre V : Résultats et discussion

V.1. Caractérisation biochimique 32

V.2. Caractéristiques organoleptiques 32

V.3. Paramètres physico-chimiques 33

V.4. Activité antimicrobienne (diffusion sur agar) 35

V.5. Application dans la conservation du cachir 36

V.5.1. Caractéristique organoleptique 36

V.5.2. Qualité microbiologique 38

Conclusion générale 41

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Titre	Page
Figure (01): Laurie noble. a : Feuilles. b : Fruit	**05**
Figure (02): Appareils sécréteurs d'huiles essentielles dans les plantes. a : Poils glandulaires dans l'épiderme de Primevère de Chine, b : Canal résinifère dans l'aiguille de Pin – Coupe transversale, c : Poches sécrétrices dans le fruit du Citronnier (Citrus limon) – Coupe transversale x25	**10**
Figure (03) : Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne	**11**
Figure (04): Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau	**12**
Figure (05): Montage d'extraction par Hydrodistillation	**13**
Figure (06): Extraction assisté par micro-ondes	**14**
Figure (07): Structure chimique d'isoprène (C5H8)	**15**
Figure (08): Structure chimiques de quelques composés aromatiques	**16**
Figure (09): Schéma récapitulatif regroupant toutes les étapes du protocole expérimental	**20**
Figure (10): Feuilles de *Laurus nobilis*	**21**
Figure (11): Montage d'extraction des huiles essentielles de *Laurus nobilis*	**23**
Figure (12): Doses incorporées dans le produit préparé	**28**
Figure (13): Photo de l'huile extraite de *Laurus nobilis*	**33**
Figure (14) : Activité antimicrobienne de l'HE. a : contre *Staphylococcus aureus*, b : contre *Pseudomonas aerogenosa*, c : *Candida albicans*	**35**
Figure (15): Photos de Cachir préparé à T= 0. a : Témoin (sans huile essentielle), b : échantillon contenant 5µL, c : échantillon contenant 10µL.	**37**
Figure (16): Photos de Cachir préparé à T= 20. a : Témoin (sans huile essentielle), b : échantillon contenant 5µL, c : échantillon contenant 10µL.	**37**
Figure (17): Résultats du dénombrement de la FTAM sur milieu PCA. a : après 10 jours d'ensemencement, b : après 20 jours d'ensemencement.	**38**
Figure (18): Résultats du dénombrement des coliformes fécaux sur milieu VRBL. a : après 10 jours de préparation, b : après 20 jours de préparation.	**39**

Liste des tableaux

Titre	Page
Tableau (01): Classification de botanique *Laurus nobilis*	**05**
Tableau (02): Localisation géographique de la région de récolte	**21**
Tableau (03): Composition du Cachir (Mortadelle au poulet)	**28**
Tableau (04) : Résultats de la teneur en eau et de la matière sèche de laurier noble.	**32**
Tableau (05): Résultats des paramètres physico-chimiques des huiles extraites	**33**

Introduction générale

Introduction générale

La sécurité et la qualité des aliments représentent aujourd'hui des enjeux majeurs pour l'industrie agroalimentaire, les autorités sanitaires et les consommateurs. Les produits carnés, du fait de leur richesse en protéines, en lipides et en eau, constituent un milieu favorable au développement microbien et à l'oxydation lipidique, deux facteurs principaux de leur altération **(Tajkarimi et Cliver, 2010).** Pour pallier ces problèmes, les procédés industriels s'appuient généralement sur des méthodes combinées incluant la cuisson, la réfrigération, l'emballage sous vide, et l'ajout d'additifs chimiques comme les nitrites, nitrates ou antioxydants de synthèse.

Cependant, l'utilisation de ces conservateurs est de plus en plus controversée, notamment les nitrites, en raison de leur potentiel à former des composés nitrosés cancérigènes, tels que les nitrosamines, lors de la digestion ou sous l'effet de la chaleur **(Sindelar & Milkowski, 2012).** Cette situation a suscité un intérêt croissant pour le développement de stratégies de conservation naturelles, plus respectueuses de la santé humaine et de l'environnement.

Dans ce contexte, les huiles essentielles issues de plantes aromatiques apparaissent comme une alternative prometteuse. Elles sont reconnues pour leurs propriétés antimicrobiennes et antioxydantes, largement démontrées contre une large gamme de micro-organismes responsables des altérations alimentaires **(Burt, 2004; Hyldgaard et *al.*, 2012).** Parmi elles, l'huile essentielle de laurier noble (*Laurus nobilis*) suscite un intérêt particulier. Originaire du bassin méditerranéen, cette plante médicinale et aromatique est traditionnellement utilisée pour ses vertus thérapeutiques, mais aussi comme conservateur naturel potentiel en agroalimentaire.

L'huile essentielle de laurier noble contient plusieurs composés bioactifs majeurs, notamment le 1,8-cinéole, l'eugénol, le linalol, et l'acétate de terpényle, qui lui confèrent une activité antimicrobienne à large spectre, en plus de ses capacités antioxydantes **(Basak & Candan, 2013 ; Giovanelli et *al.*, 2020).** Plusieurs recherches ont démontré son efficacité contre des bactéries pathogènes fréquentes dans les produits carnés comme *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus* ou encore *Escherichia coli* **(Bouhdid et *al.*, 2009 Djenane et *al.*, 2012).**

Le présent document s'articule autour de deux parties, une synthèse bibliographique regroupant des généralités sur laurier noble, sur les huiles essentielles et leurs utilisations dans différents domaines, et une partie pratique.

En effet, l'intérêt de la partie pratique se porte sur l'application de cette huile essentielle dans la conservation du cachir, une charcuterie cuite très répandue en Algérie et dans d'autres pays du Maghreb.

L'objectif principal de cette étude est donc d'évaluer l'efficacité de l'huile essentielle de laurier noble dans la conservation microbiologique et oxydative du cachir, en déterminant son impact sur la durée de conservation, la stabilité chimique et la qualité sensorielle du produit fini. L'hypothèse de départ est que l'incorporation contrôlée de cette huile essentielle permettrait de limiter l'usage d'additifs de synthèse tout en garantissant la sécurité et la qualité du produit.

Cette démarche s'inscrit dans un double objectif : répondre aux exigences de sécurité alimentaire et valoriser les ressources naturelles végétales locales, tout en contribuant au développement d'alternatives naturelles et durables pour l'industrie agroalimentaire.

Synthèse bibliographique

Chapitre I: *Laurus nobilis*

I.1.Historique

Selon certains, son nom commun est dérivé du mot celtique Lauer (semper virens) ou du latin laus, Louange, pour souligner les propriétés médicinales de la plante, déjà louées dans l'Antiquité. Laurus était dédié à Apollon et aux poètes. On croyait que sa mastication conférait le don de prophétie, selon Pline, était une plante sacrée pour Dionysos et Jupiter. Peut-être parce qu'elle était censée protéger de la foudre. Selon Suétone, Jules César portait toujours une couronne de laurier (sans doute pour cacher sa calvitie). Les Étrusques tressaient déjà des couronnes de laurier, une tradition suivie par les Romains qui entouraient le front des héros. N'oublions pas que le mot « bachelier » est dérivé du mot latin baccalaurea, un laurier, originaire d'Asie Mineure et présent dans toute la région méditerranéenne. Les lauracées, une famille de grands arbres aux feuilles aromatiques (par exemple l'avocatier, Pieris, Americana et le cannelier, *Cinnamomum verum*), qui ont des fleurs discrètes et produisent des drupes. Ils produisent des drupes. Le laurier est le seul arbre qui pousse en Europe (**Athemena, 2020)**.

Il aurait été importé d'Andalousie via Tyr et Jérusalem. Ils sont tressées pour le vainqueur, c'est parce que ses feuilles se flétrissent très lentement. Elles semblent avoir été la plante a d'abord attiré l'attention pour ses propriétés cosmétiques (même les personnes âgées s'y intéressaient pour garder leurs cheveux noirs) (**Athemena, 2020)**. Ce n'est qu'avec les Romains que le laurier s'est imposé dans la cuisine. Si la Pythie mâche des feuilles de laurier, c'est qu'il se passe quelque chose **(Gilly, 2005)**. Les propriétés énergisantes du laurier sont connues depuis l'Antiquité. Les Bédouins du désert mettaient des feuilles de laurier dans leur café pour l'aromatiser (**Pires et Blasquez, 2015**).

I.2. Généralité

Le nom *Laurus*, un nom latin d'origine celtique signifiant « toujours vert », fait référence aux feuilles persistantes de la plante (**Pariente**, **2001**). *Laurus nobilis* est une espèce de plante médicinale, aromatique qui connaît actuellement un regain d'intérêt pour son utilisation dans les industries pharmaceutiques, agroalimentaires et cosmétiques traditionnelles (**Pires et Blasquez et *al*.**, **2015**). *Lauraceae* est une famille d'angiospermes comptant plus de 2000 espèces réparties en une cinquantaine de genres. Ce sont des arbres ou des arbustes à feuilles persistantes (**Ferdinand**, **2010**). Elles sont utilisées dans le monde entier comme source d'épices et d'extraits aux qualités médicinales intéressantes (**Yakhlaf et *al*.**, **2011**).

I.3. Habitat

Les lauracées sont des plantes ligueuses très répandues dans les régions tempérée et subtropicales; cette famille regroupe des plantes bien représentées en Asie, dans les pays d'Amérique donnant sur l'Atlantique et en Afrique l'espèce (*Laurus nobilis*) de la région méditerranéenne forme des peuplements typiques. Le laurier est la seule espèce représentant la famille lauracées dans la région méditerranéenne d'où elle est originaire. Actuellement, la plante est largement cultivée comme plante ornementale et pour la production commerciale dans beaucoup de pays tels que l'Algérie, la Turquie, la France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les Etats-Unis Méridionaux. Le Laurier, Laurier-sauce ou Laurier vrai (*Laurus nobilis* L.) est un arbuste à feuillage persistant et coriace de la famille des Lauracées. Il est originaire du Bassin méditerranéen. Il est parfois appelé Laurier d'Apollon ou Laurier noble (**Demir et *al*., 2004 ; Barla et *al*., 2007**).

I.4. Description

Originaire d'Asie, *Laurus nobilis* 'EL-Rand' a envahi l'Europe et se trouve maintenant dans tous les Jardins. Il pousse dans les vallées montagneuses jusqu'à 1200 mètres d'altitude dans la région méditerranéenne. Cet arbuste de 2 à 10 mètres de haut a une tige brillante avec un coeur noir lisse et un bois jaune pâle (Figure 01). Les branches dressées portent des feuilles vert foncé brillantes sur le dessus et ternes sur le dessous. Elles sont coriaces, en forme de lance, ondulées à l'extrémité, alterne et persistante. (avril-mai) Les aisselles des feuilles sont disposées en grappes de 4 à 6 en forme de parapluie (**Dominique, 2017**). Longues de 16 cm sur 8 cm de large, atténuées en court pétiole, entière, fleurs dioïques, odorantes, en petites ombelles axillaires pédonculées et involucrées, périanthe pétaloïde caduc, à 4 divisions obovales égales, 8 à 12 étamines sur 2 rangs à anthères s'ouvrant de la base au sommet par des valvules 1 style court et épais, à stigmate subcapité, ovaire-libre entouré de 2 à 4 staminodes tripartis ; fruits drupacés, noir à maturité, ovoïde de 2 cm de long sur 1cm de large (**Beloued, 2009**).

Figure (01): Laurier noble. a : Feuilles. b : Fruit **(Awada et *al*., 2023).**

I.5. Classification

Dans l'ordre des *Laurales* on retrouve la famille des *Lauraceae*. Considéré comme parmi les plus primitifs des angiospermes. Cette famille comporte 2000 à 2500 espèces réparties en cinquantaine de genre dont *Cinnamomum* (cannelle), *Cryotocarya*, *Laurus* (laurier) et *Persea* (avocatier) (**Spichiger et *al*., 2002**). Les feuilles des espèces de cette famille sont largement appliquées et connues comme assaisonnement et herbes médicinales depuis les périodes antiques grecs et romaines. Le genre *Laurus* est originaire des îles Canaries et du bassin méditerranéen, il comprend trois espèces d'arbres ou d'arbustes persistants : *Laurus nobilis*, *Laurus azorica* et *Laurus novocanariensis* (**Demir et *al*., 2004**).. Le tableau suivant montre la classification de *Laurus nobilis*.

Tableau (01): Classification de botanique *Laurus nobilis* **(Pierre et Sébastien, 1962)**

Règne	Plantes
Sous-règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Dialypétales
Ordre	*Laurales*
Famille	*Lauraceae*
Genre	*Laurus*
Espèce	*Laurus nobilis L*

I.6.Composition chimique

Les feuilles sont composées de tanin, de principe amer, de gomme résineuse, de gomme bactérienne et d'un extrait aromatique incolore ou jaune pâle à saveur chaude, extrait aromatique incolore ou jaune pâle à saveur chaude, composé d'un mélange de cinéole et de méthylchavicol, mélange à 45 % de cinéole, de méthylchavicol, de pinène, d'eugénol, de linacol, d'éthers d'acide isobutyrique, d'acide isobutyrique et d'acide acétique. L'acide isobutyrique et l'acide acétique dans la valériane. Les baies contiennent de 17 à 25 % d'huile de laurier, de 2 à 3 % d'amidon, 2 % de sucre, 0,85 % d'amer, de résine, de gomme, de la bassorine et 1-3 % et 1-3% d'extrait (**Kivçak et *al*.,2002**). Les framboises contiennent 25 % d'huile grasse et jusqu'à 3 % d'huile volatile. L'huile volatile contient du cinéole, du géraniol et du linalol. Les feuilles sont riches en huiles volatiles, elles contiennent 45 % de cinéole, de principe amer et de tanin (**Pires** et **Blázquez , 2015**). Elles contiennent également des flavonoïdes polaires, des lactones, des sesquiterpènes et de la vitamine E (**Kivçak et *al*.,2002**). Des flavonoïdes, des acides phénoliques et des alcaloïdes (**Simić et al., 2003**). Des recherches ont montré que les feuilles de laurier contiennent jusqu'à 270 composants, dont les plus importants sont les suivants 1,8-cinéole (22-56%), le linalol (0,9-26. 9%) acétate d'alpha-erpinyle (4,5-18,2 %), alpha- pinène (2,2-15,9 %), bêta-pinène (1,9-15,3 %), le sabinène (4,5-12,7 %), alpha-terpinéol (0,9- 12,0 %), terpinéol-4 (0,9-4,1 %) (**Stefanova et *al*., 2020**).

I.7. Utilisation

Les feuilles de *Laurus nobilis* sont parmi les assaisonnements les plus connus dans tous les pays. Elles sont généralement utilisées comme épice valable en culinaires (en potages, ragoûts et sauce) et aromatisant en industrie alimentaire. Cette plante a aussi des applications importantes en médecine traditionnelle et représente récemment un sujet de recherche scientifique intéressent (**Simie et *al*., 2003**). Le laurier est principalement utilisé, par voie orale, dans le traitement symptomatique des troubles de l'appareil digestif supérieur tels que le ballonnement épigastrique, lenteur de la digestion, éructations et flatulence (**Iserin, 2001**).
L'huile essentielle est utilisée dans les bains antirhumatismaux ainsi qu'en frictions pour les foulures, abcès, ulcères, gale, pelade, pédiculose, psoriasis et mycoses. Il est utilisé aussi contre la chute des cheveux (**Bardeau, 1976; Iserin., 2001**). En outre, l'huile essentielle est utilisée par l'industrie cosmétique, et en parfumerie (**Demir et *al*., 2004; Beloued, 2005**). L'extrait aqueux est utilisé dans la médecine traditionnelle turque comme anti hémorroïdal,

Antirhumatismal, diurétiques et pour le traitement du mal d'estomac. Il peut être utilisé aussi comme antidote lors des morsures de serpent (**Kivçaket., 2002**).

Dans la médecine traditionnelle iranienne, les feuilles de cette plante ont été utilisées pour traiter l'épilepsie et la maladie de Parkinson (**Aqili, 1992**). Au Maroc, les feuilles sont prises oralement pour traiter le désordre du foie et pour l'hygiène dentaire (**Van, 2001**). La concrète et le beurre de laurier étaient utilisés dans la médecine vétérinaire ancienne en frictions contre les douleurs diverses dont la fourbure, la goutte des volailles. Elles servaient aussi à préserver l'animal des mouches et des poux. De nos jours, l'huile de Laurus nobilis entre dans la composition du végébon vétérinaire pour les affections de la peau et de la mamelle (**Cabaret, 1967**).

Bien que les feuilles de laurier noble soient principalement extraites pour produire les huiles essentielles qui sont utilisées en pharmacie et en cosmétique, la pyrolyse des résidus d'extraction de laurier ont une grande importance comme source d'énergie renouvelable (**Ertaşet, 2010**). La matière végétale de laurier noble épuisée après la distillation pourrait être considérée comme alimentation fibreuse ayant de bonnes valeurs énergétiques et de digestibilité pour les ruminants (**Di Leo Lira et *al.*, 2009**). L'hydrolat de laurier noble combat les germes et la douleur, pour tous les problèmes de bouche (aphtes et douleurs dentaires) (**Géraultet, 2009**).

Chapitre II :
Les huiles essentielles

II.1. Historique

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C (**Baser et Buchbauer, 2010**). Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines: rites religieux, parfumerie, médecine, alimentation, coutumes etc. (**Besombes, 2008**). On appelle huiles essentielles (essences = huiles volatiles) : « des produits de composition assez complexe contenant généralement des principes volatils présentes dans les plantes et plus ou moins modifiés au cours de la préparation » (**Cavalli, 2002**). Plus récemment, la norme AFNOR a donné la définition suivante d'une huile essentielle. La plupart des huiles essentielles sont des liquides huileux aromatiques très concentrés contenant es mélanges complexes de substances volatiles composées de dizaines de composés, présents dans toutes les parties de la plante (écorces, racines et feuilles, fleurs et fruits) et dans toutes les zones climatiques du monde (**AFNOR, 2000**). Les facteurs environnementaux tels que la température, le rayonnement et la photopériode peuvent jouer un rôle majeur dans la qualité et la quantité des huiles essentielles (**Raoul, 2005**). En outre, les composants des huiles essentielles peuvent être divisés en deux groupes principaux :

- Des composés hydrocarbonés constitués de terpènes, tels que des monoterpènes, des sesquiterpènes et des di terpènes.

- Les composés oxydés, comme les esters, les aldéhydes, les cétones ainsi que les alcools. Des composés azotés et soufrés sont également parfois présents (**Raul, 2005**).

II.2. Définition

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés volatils à forte odeur, synthétisés naturellement au cours du métabolisme secondaire des plantes, puis isolés par des moyens physiques (pression et distillation) sur une plante entière ou une partie de la plante (feuilles et fleurs, graines et racines, bourgeons, etc.) dont l'origine taxonomique est connue (**Fanz et *al*., 2020**).

Les effets antimicrobiens des huiles essentielles et de leurs composants chimiques ont été reconnus par de nombreux chercheurs dans le passé. En plus de cela, des études ont montré l'effet synergique de deux ou plusieurs composants d'huiles essentielles contre divers pathogènes humains (**Swamyetal, 2016**). Un large éventail de plantes aux propriétés

médicinales a été exploré et utilisé pour l'extraction d'huiles essentielles dans le monde entier (**Akthor et *al*., 2014**), puis utilisées en aromathérapie et pour le traitement de nombreuses maladies, notamment les maladies cardiovasculaires, le diabète, le cancer et la maladie d'Alzheimer. Le terme « huile » provient du fait que les volatiles contenu dans le végétale sont visqueux et hydrophobe, elles ont des propriétés de solubiliser dans les huiles végétales et minérales, et les graisses, les alcools et l'éther. La dénomination « essentielle» reflète le caractère principal des plantes qui dégagent des odeurs agréables (**Benomari et *al*., 2004**).

Selon l'Afnor NT 75-006 de février 2006, « une huile essentielle est un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par distillation à la vapeur d'eau ou par des procédés mécaniques à partir d'écorces d'agrumes, soit par distillation "sèche", et séparé de la phase aqueuse par des procédés physiques ». Cette définition définit les huiles essentielles. Cependant, elle exclut également les produits obtenus à partir de matières premières végétales par d'autres procédés d'extraction, ainsi que l'utilisation de solvants non aqueux ou de distillation non aqueuse (**Bisumbes, 2008**).

Selon la Pharmacopée européenne, les huiles essentielles se définissent comme suit : « Un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenue à partir d'une matière première végétale botanique définie Par entraînement à la vapeur d'eau, par distillation sèche ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Elle est en général obtenue à partir de la phase aqueuse par un procédé physique. De la phase aqueuse par un procédé physique qui n'altère pas significativement sa composition » (**Amamra, 2020**).

II.3. localisation des huiles essentielles dans la plante

La production d'huiles essentielles se fait dans des cellules glandulaires spécialisées, recouvertes de cuticules sur lesquelles elles s'appuient. Elles sont ensuite stockées dans des cellules à huile essentielle (*Lauraceae* ou *Zingiberaceae*), dans des poils sécréteurs (*Lamiaceae*), dans des poches sécrétrices (*Myrtaceae* ou *Rutaceae*) ou encore dans des canaux sécréteurs (*Apiacieae* ou *Asteraceae*) (Figure 02). Leur transport dans l'espace intracellulaire peut également se faire au niveau des poches intrinsèques. Dans les tissus internes. Au lieu de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont enveloppées par des membranes spéciales composées d'esters d'acides gras fortement polymérisés et ultra-polymérisés. En conséquence de leur nature lipophile et de leur faible capacité de perméabilité, ces membranes réduisent considérablement l'évaporation de l'huile essentielle, ainsi leur oxydation dans l'air. Les capillaires sécrétoires ou triples capillaires , qui peuvent prendre quatre formes : Ils peuvent

être constitués de plusieurs cellules sécrétoires réunies pour former une lamelle portée par un pédicelle, court, des soies corticales pédicule, court, soies corticales, soies capillaires, avec des pieds courts, lisses ou convexes **(Laiche et Mecheri, 2022).**

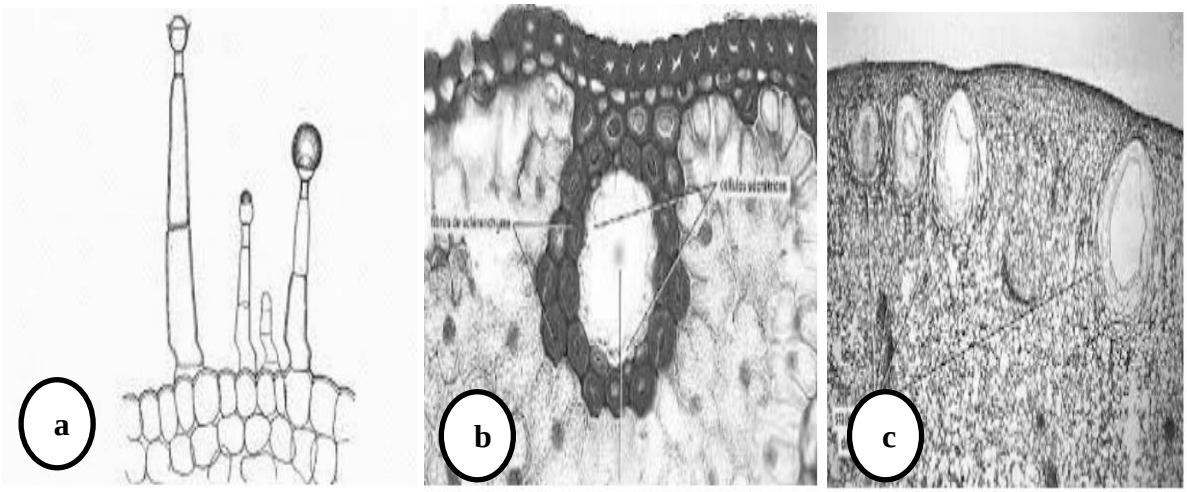


Figure (02): Appareils sécréteurs d'huiles essentielles dans les plantes. a : Poils glandulaires dans l'épiderme de Primevère de Chine, b : Canal résinifère dans l'aiguille de Pin – Coupe transversale, c : Poches sécrétrices dans le fruit du Citronnier (Citrus limon) – Coupe transversale x25 **(Ferkous, 2016).**

II.4. Propriété pharmacologique

Laurus Nobilis L. est une plante médicinale aromatique abondante, bénéficiant de propriétés thérapeutiques qui attribuant à la médecine traditionnelle et la pharmacologie, diverses propriétés anti-inflammatoire et antiseptique grâce à ses composants **(Bouchaal et *al.*, 2015) .**

- Activité anti-inflammatoire

L'extrait méthanolique (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).**

-Activité antioxydante

L'activité anti-oxydante des extraits méthanolique (brute et dégraissés) des feuilles d'écorce et des fruits de *Laurus Nobilis* ont été étudiés au niveau de la peroxydation de lipide (LP) dans les liposomes induite par le système fe^{+2}/acrobate et mésuré à 533nm. Les résultats ont montré que tous les extraits de recherche possédaient une activité antioxydante, L'extrait

dégraissé des feuilles montre une inhibition plus élevée du LP que l'extrait brut et que tous les autres extraits et le maximum de son activité (84,4%) a été atteint avec une plus petite quantité (0,2 mg) **(Simié et *al.*, 2003).**

-Activité antimicrobienne

Des huiles essentielles de plusieurs plantes ont été évaluées pour leur potentiel dans le control de mycète aflatoxine génique d'*Aspergillus* parasitique CFR 223 et de la production d'aflatoxine. L'huile des feuilles de laurier a stimulée *in vitro* la croissance des mycéliums du mycète mais a réduit la concentration de son aflatoxine de 55,21% **(Atanda et *al.*, 2007).**

L'étude de Dadalioglu et Evernddilek. (2004) a montré une efficacité d'HE sur *Salmonella typhymurium, Staphylococcies aureus* et *E. coli*. L'HE a une capacité d'inhiber les souches buccales avec une importante activité anti-bio film **(Atanda et *al.*, 2007).** montrent que les extraits d'autre espèce (*Thymus vulgarisa*) avec un spectre antimicrobienne plus large et à des doses plus faibles.

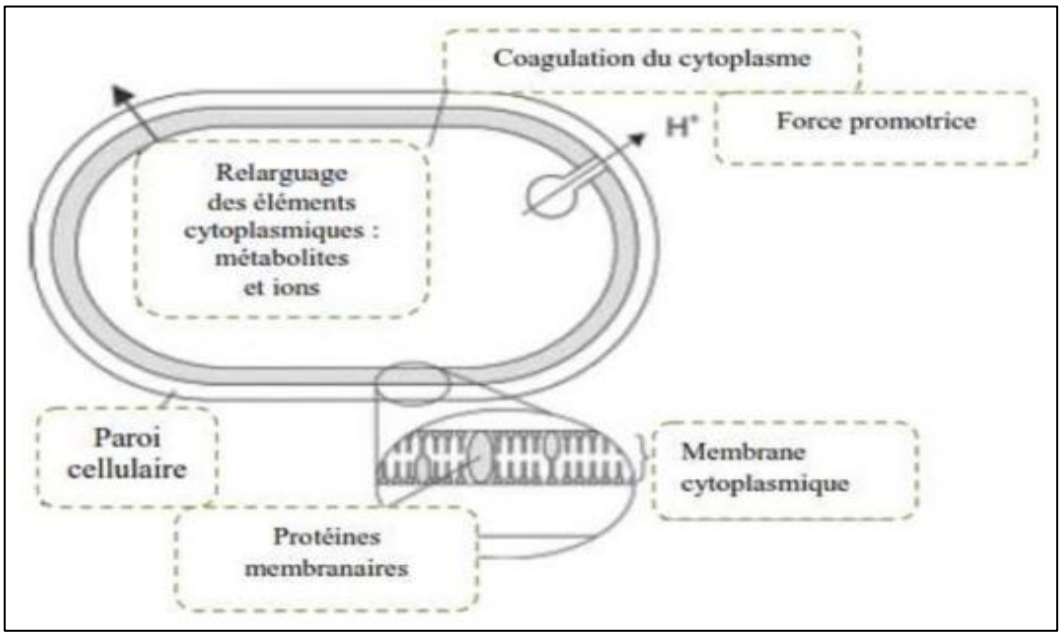


Figure (03) : Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne **(Goudjil, 2016)**

II.5. Méthodes d'extraction

Parmi de nombreuses techniques d'extraction des huiles essentielles, la distillation est la méthode la plus ancienne et également la plus utilisée. D'autres techniques plus récentes ont été développées afin d'améliorer le rendement ou la qualité des huiles essentielles extraites,

diminuer le temps d'extraction, réduire la quantité du solvant utilisé et accélérer la cinétique d'extraction **(Besombes, 2008).**

II.5.1. Distillation par entraînement à la vapeur

La distillation par entraînement à la vapeur est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles (Figure 04). Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est placé dans l'alambic sur une plaque perforée située à une certaine distance au-dessus du fond rempli d'eau. Le végétal est en contact avec la vapeur d'eau saturée mais pas avec l'eau bouillante. La vapeur provoque la rupture d'un grand nombre de glandes qui libèrent leurs composés aromatiques. Les huiles essentielles diffusent donc à travers le végétal pour entrer en contact avec la vapeur d'eau circulant à l'extérieur. Les vapeurs chargées en composés volatils sont ensuite condensées avant d'être décantées. Du fait de leur différence de densité, les HE et l'eau sont séparées **(Goudjil, 2016)**

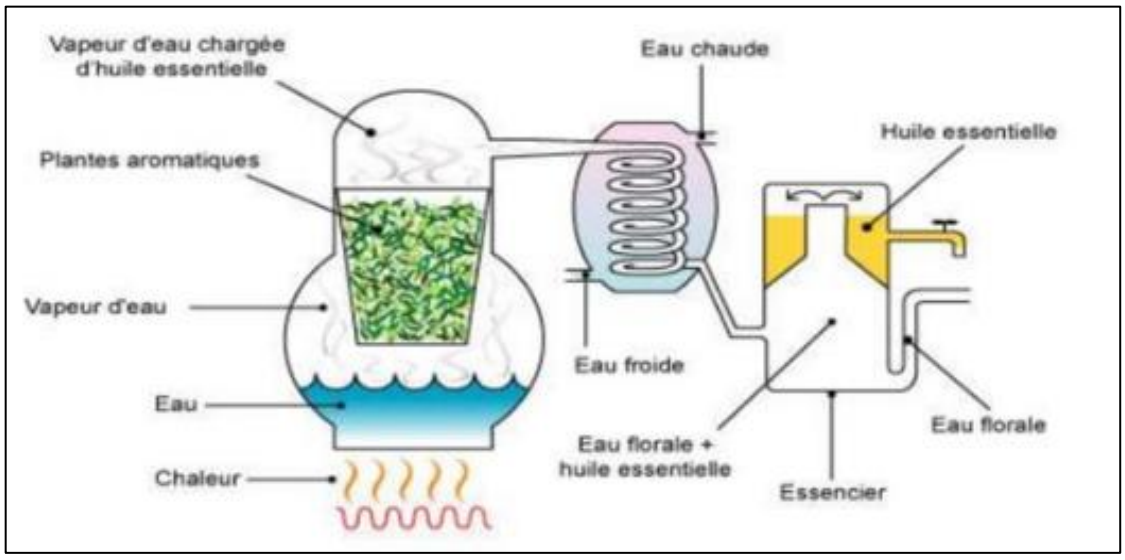


Figure (04): Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau **(Goudjil, 2016)**

II.5.2. Hydro-distillation

Dans un premier temps, l'extraction des huiles essentielles se fait en plongeant la matière première dans l'eau puis porter à ébullition (Figure 05). Par la suite, la matière première et l'eau sont séparées : soit l'eau est placée au fond de la cuve avant d'être portée à ébullition pour qu'un courant de vapeur d'eau traverse la matière première, c'est la vapohydrodistillation ; soit la vapeur d'eau est générée dans une chaudière à l'extérieur de l'alambic, technique dite vapodistillation. Dans ces divers cas, la vapeur d'eau chargée d'huile

essentielle est dirigée vers un condenseur formé généralement d'un serpentin, à tubes parallèles, dans lequel circule de l'eau froide. Une fois condensées, eau et huile essentielle sont acheminées vers un essencier ou vase florentin. Dans ce dernier, les deux liquides, non miscibles : l'eau aromatisée et l'huile essentielle. La séparation se fait ensuite par une simple décantation **(Besombes, 2008).**

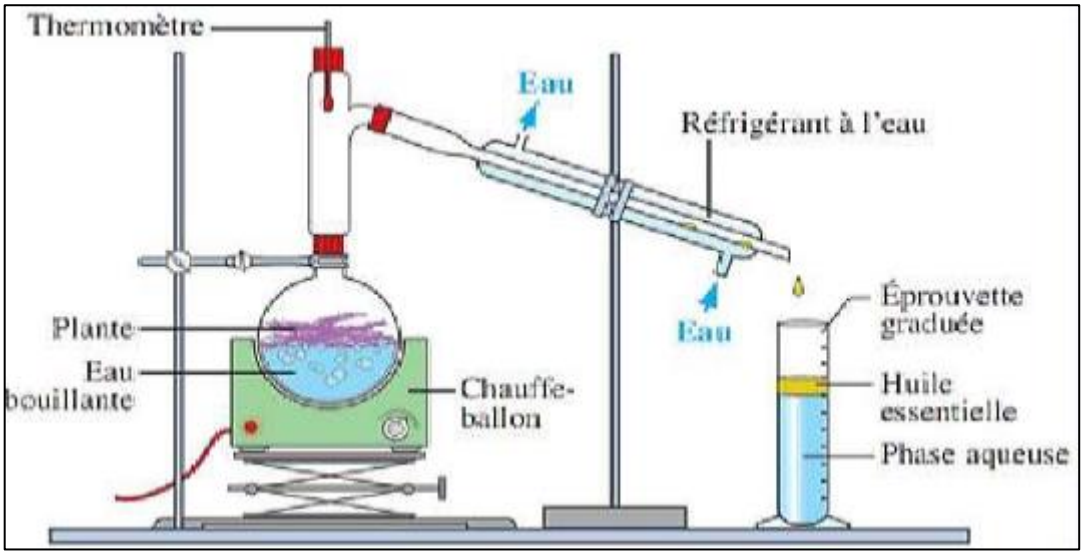


Figure (05): Montage d'extraction par Hydrodistillation **(Goudjil, 2016)**

II.5.3. Extraction par micro-ondes

Au début des années 1990 est apparue une toute nouvelle technique appelée hydrodistillation par micro-ondes sous vide (Figure 06). Dans ce procédé, la matrice végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation **(Goudjil, 2016).**

Figure (06): Extraction assisté par micro-ondes **(Goudjil, 2016)**

II.5.4.Extraction par CO2 supercritique ;

L'originalité de cette technique repose sur le solvant utilisé : il s'agit du CO2 en phase supercritique. L'extraction consiste à comprimer le dioxyde de carbone à des pressions et à des températures au-delà de son point critique (P=72.8 bars et T= 31.1°C). A l'état supercritique, le CO2 n'est ni liquide, ni gazeux, et cela lui confère un excellent pouvoir d'extraction, modulable à volonté en jouant sur la température de mise en œuvre. Les fluides supercritiques comme le CO2 sont de bons solvants à l'état supercritique, et de mauvais solvants à l'état gazeux **(Bouras, 2018).**

II.6. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes, peuvent comporter plus de soixante composés différents. Les composants principaux peuvent constituer jusqu'à 85% de l'huile, tandis que d'autres composants sont présents seulement comme traces. Elles sont constituées de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du propylbenzène **(Baser et Buchbauer, 2010).**

II.6.1. Les composés terpéniques

Les composés terpéniques généralement les plus volatils dont la masse moléculaire n'est pas élevée. Ces constituants proviennent de l'isoprène répondant à la formule générale (C5 H8)n (Figure 07) , ils sont également nommés isoprénoïdes ou terpénoïdes**.** Les terpénoides sont classés selon le nombre d'unité isopène en une série de structure homologue

hemitèrpnes (C5 H8), les monoterpènes (C5 H8)2, les sesquiterpènes (C5 H8)3, et moins fréquemment les diterpènes (C5H8)4, les triterpènes (C5 H8)6 et les tétraterpènes (C5 H8)8.

Les monoterpènes sont volatils entrainables à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des HE, parfois plus de 90%. Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocymène), monocyclique (terpinène, p-cimène) ou bicyclique (pinène, sabinène). A ces terpènes se rattachent un certain nombre de substances à fonction chimique : Alcools (géraniol, menthol), aldéhydes (géranial, citronellal, sinensal), cétones (carvone, menthone, ß- vétinone), et des esters (acétate de géranyle, acétate de linalyle,acétate de cédryle, acétate a- terpinyle).

Pour les sesquiterpènes, Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Elle contient plus de 3000 molécules comme par exemple : ß-caryophyllène, ß-bisabolène, a-humulène, abisabolol,farnesol **(Baser et Buchbauer, 2010).**

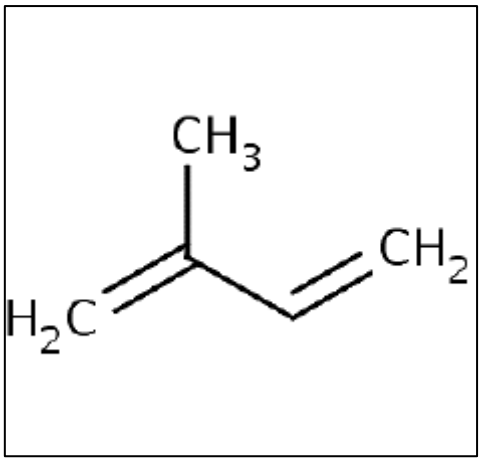


Figure (07): Structure chimique d'isoprène $(C_5H_8)_n$ **(Goudjil, 2016)**

II.6.2. Les composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpénoides (Figure 08). Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont plus fréquents dans les HE d*'Apiaceae* (anis, fenouil, cannelle, basilic). **(Bruneton, 1999).**

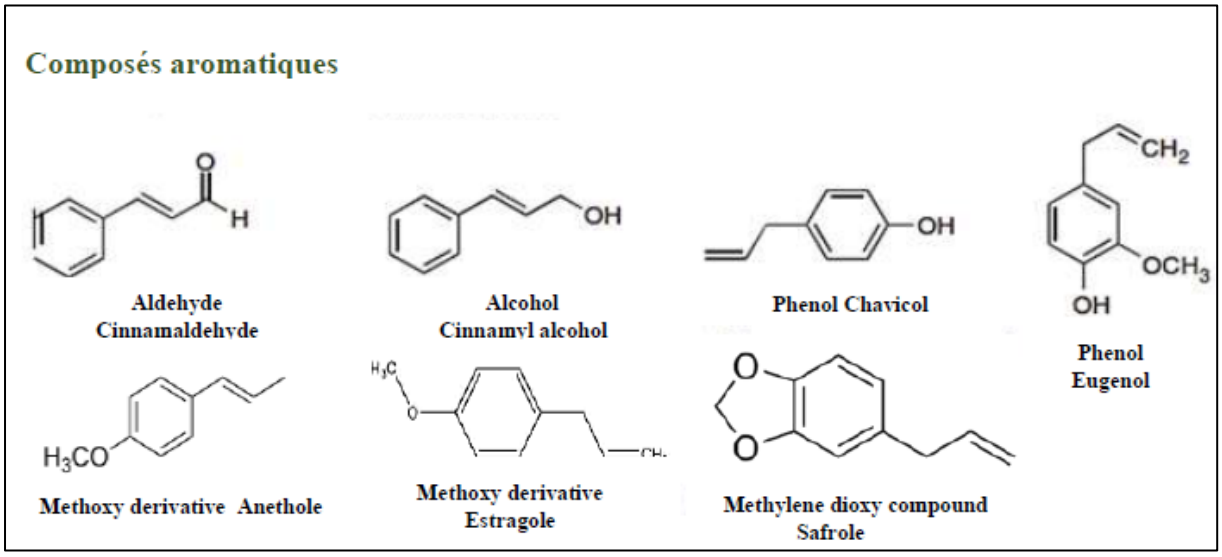


Figure (08): Structure chimiques de quelques composés aromatiques **(Goudjil, 2016)**

II.6.3- Les composés d'origine diverses

Il existe un nombre non négligeable de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles issues soit de la dégradation des terpènes non volatils qui proviennent de l'autooxydation par exemple des carotènes ou des acides gras comme les acides linoléique et alinolénique en (3-cis hexanol, decanal, ß-ionone) **(Goudjil, 2016).**

Chapitre III:
Utilisation des huiles essentielles

III.1. Utilisation des huiles essentielles (en pharmacie , parfumerie, industrie alimentaire)

III.1.1. En pharmacie

Les HE peuvent être utilisés comme :

• L'aromatisation des médicaments destinés à la voie orale

• Pour leurs actions physiologiques (Menthes, Verveine, Camomille) **(Samir, 2009).**

III.1.2. En parfumerie et cosmétologie

De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines HE constituent des bases des parfums. Exemples : Rose, Jasmine, Vétiver, Ylang etc.… **(Samir, 2009).**

III.1.3. En industrie alimentaire

Les HE (huile de citron, de menthe, de girofle) sont très utilisées dans l'aromatisation des aliments (jus de fruits, pâtisserie) **(Cavalli, 2002).** Quel que soit le secteur d'activité, l'analyse des HE reste une étape importante qui, malgré les progrès constants des différentes techniques de séparation et d'identification, demeure toujours une opération délicate nécessitant la mise en œuvre simultanée ou successive de diverses techniques **(Cavalli, 2002).**

III.2. Application des H.Es dans les produits alimentaires

L'utilisation des H.Es constitue également un outil très intéressant pour augmenter la durée de conservation des produits alimentaires. Ces substances naturelles sont riches en composés antimicrobiens et antioxydants. Elles pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaires, et ce d'autant plus qu'ils sont pour la plupart approuvés comme additifs alimentaires par l'administration Américaine des aliments et des médicaments, FDA (Food Drug Administration). Ils n'ont pas par conséquent pas besoin d'autorisation d'emploi dans les aliments, mais des études préalables sont nécessaires afin de mieux cerner leur activité sans pour autant être toxique pour l'homme **(Caillet et Lacroix, 2007).**

Pour choisir les H.Es comme conservateurs alimentaires, il convient de connaître le seuil d'efficacité (la concentration la plus faible en H.E capable d'inhiber toute croissance microbienne), car selon l'effet recherché et les bactéries ciblées, la concentration ne sera pas la même. Chaque H.E possède une activité spécifique variable selon les microorganismes, les conditions de stockage de l'aliment (le pH, la température, pression d'oxygène etc.) ou la natures des aliments peuvent avoir une influence sur l'action des H.Es. Ainsi, la généralisation de l'utilisation des H.Es n'est pas facilement envisageable à tous les aliments **(Cutter, 2000).**

Mais le recours aux H.Es s'avère être un choix pertinent à la nécessité de réduire ou de remplacer les agents de conservation chimiques ou synthétiques. Dans le but d'augmenter la

durée de conservation des différents types d'aliments, par exemple l'usage simultané de plusieurs facteurs de conservation sous forme de systèmes combinés pourrait être très utile pour potentialiser l'efficacité de chaque facteur individuel. La notion de synergie entre les systèmes antioxydants et antimicrobiens est aussi une alternatives intéressante. Voir même un procédé incontournable pour mieux sécuriser les produits vis-à-vis des germes pathogènes et, contre les phénomènes d'oxydation lipidique **(Azeredo et *al*., 2004).**

III.3. L'efficacité des huiles essentielles dans la conservation des produits carnés (le cachir)

a. Effets antimicrobiens : Les HE inhibent la croissance de *Listeria monocytogenes, Salmonella spp., E. coli*, et autres bactéries responsables de la détérioration ou de la contamination.

b. Effets antioxydants : Les composés phénoliques des HE empêchent l'oxydation des graisses, un problème courant dans les viandes transformées, ce qui aide à maintenir la qualité sensorielle (goût, couleur, odeur).

c. Formes d'application : Elles peuvent être incorporées directement dans la pâte de viande, encapsulées pour une libération contrôlée, ou appliquées sous forme de films comestibles (**Jouki et Khazaei, 2020).**

III.4. Toxicité des huiles essentielles

Certaines essences peuvent présenter un risque de toxicité si elles sont utilisées en quantité élevée. Paracelse a dit: Rien n'est toxique, tout est toxique, c'est une question de dose. Pour les plantes, les huiles essentielles sont très concentrées en éléments chimiques actifs et peuvent présenter certains dangers. Plusieurs chémotypes sont agressifs ou allergénes pour la peau, d'autre peut être toxique a fort dose ou sur une longue période, il faut savoir que certain chémotypes comme les cétones, sont des poisons et ne doivent jamais être que absorbées **(Valnet, 1984).**

La toxicité immédiate par les huiles essentielles est mieux connue. Parmi ces intoxications, selon **(Bruneton, 1999),** on a:

- l.'essence de sohine induit des hémorragies utérines chez la femme
- L'essence de genévrier donne les hématuries chez l'homme.
- Une dose de 2 g de menthol peut induit un spasme de la glotte qui mène a une asphyxie.
- Cis-anéthol provoque des convulsions.

- Le carvacol comme le thymol est irritant, astringent et caustique, ingéré a la dose de 2g.

III.5. Conditions de conservation et de stockage

La relative instabilité des molécules constitutives des HE implique des précautions particulières pour leur conservation. En effet, les possibilités de dégradation sont nombreuses facilement objectivées par la mesure d'indices chimiques (indice de peroxyde, indice d'acide...), par la détermination de grandeurs physiques (indice de réfraction, pouvoir rotatoire, miscibilité à l'éthanol, densité) et/ou par l'analyse chromatographique. Les conséquences sont multiples par exemple, photo-isomérisation, photocyclisation, coupure oxydative, peroxydation et décomposition en cétones et alcools, thermo-isomérisation, hydrolyse, transestérification. Ces dégradations pouvant modifier les propriétés et fou mettre en cause l'innocuité de l'huile essentielle, il convient de les éviter utilisation de flacons propres et secs en aluminium vernissé, en acier inoxydable ou en verre teinté anti-actinique, presque entièrement remplis et fermés de façon étanche (l'espace libre étant rempli d'azote ou d'un autre gaz inerte), stockage à l'abri de la chaleur et de la lumière **(AFNOR NF 75-002).**

Dans certains cas, un antioxydant approprié peut être ajouté à l'huile essentielle. Dans ce cas, cet additif est à mentionner lors de la vente ou l'utilisation de l'huile essentielle Par ailleurs, des incompatibilités sérieuses peuvent exister avec certains conditionnements en matières plastiques. Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des HE **(AFNOR NF T 75-001),** ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HE **(AFNOR NF 75-002).**

Partie pratique
Chapitre IV : Matériel et méthodes

IV.1. Objectif

La présente recherche est effectuée au sein des laboratoires pédagogiques de la faculté des sciences et de la technologie de l'université de Relizane, dans la période allant de 16/02/ 2025 jusqu'à 13/ 04/ 2025.

Notre objectif vise à trouver un conservateur naturel d'une denrée alimentaire alternatif aux substances chimiques prohibées. Pour cela, notre choix s'est tombé sur les huiles essentielles issues des feuilles de *Laurus nobilis* (laurier noble).

Cette partie s'articule autour de plusieurs axes et qui sont comme suit (Figure 09):

-Caractérisation des feuilles de la plante ;

-Extraction et caractérisation physicochimiques des huiles essentielles ;

-Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles obtenues ;

-Evaluation de l'effet de l'huile essentielle sur le Cachir préparé dans le laboratoire.

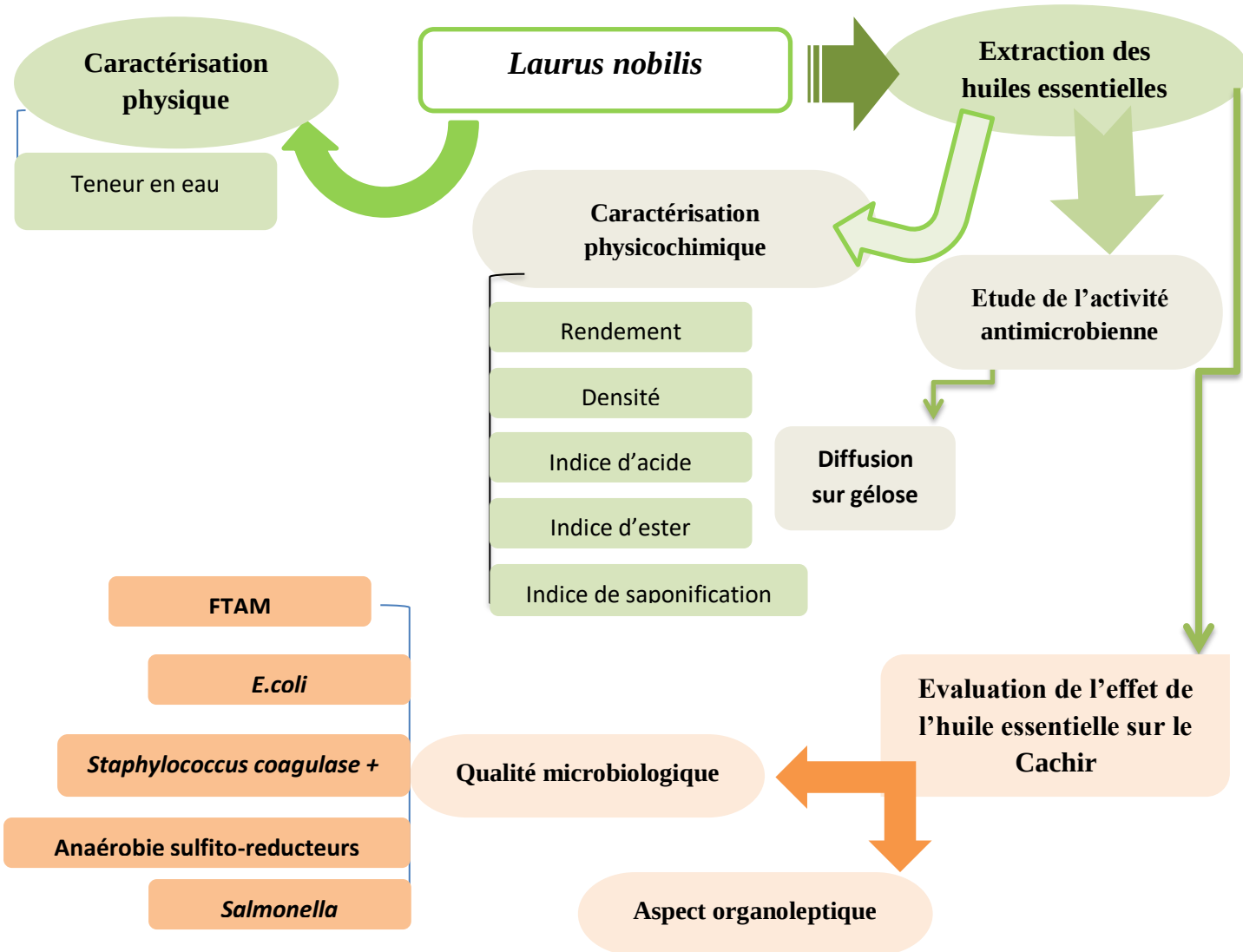


Figure (09): Schéma récapitulatif regroupant toutes les étapes du protocole expérimental

IV.2.Matériel végétal

Les feuilles de *Laurus nobilis* ont été récoltées le matin du 23/02./2025 et par temps sec, après que la chaleur a chassé la rosée, car les plantes ne doivent pas être mouillées au risque de fermenter, voire de développer des composés toxiques après récolte, dans la région de Bourmadia, sa localisation géographique est indiquée dans le tableau (02).

Tableau (02): Localisation géographique de la région de récolte

	Longitude	**Latitude**
Localisation géographique	0,57177° ou 0° 34′ 18″ est	35,70937° ou 35° 42′ 34″ nord

Ensuite, la plante a été authentifiée par un botaniste de la conservation des forêts de la wilaya de Relizane (Figure 10). L'identification de l'espèce a porté uniquement sur les caractéristiques macroscopiques apparentes.

Figure (10): Feuilles de *Laurus nobilis*

IV.3. Souches microbiennes

Les souches microbiennes utilisées étaient *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Candida albicans*. Les différentes souches nous ont été fournies par le laboratoire d'analyse Ecchifa de Chlef et étaient entretenues régulièrement par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance en vue d'une utilisation éventuelle.

IV.4. Caractérisation biochimique de feuilles

IV.4.1. Teneur en eau

IV.4.1.1. Principe

La teneur en eau qui a été établie par la méthode gravimétrique. Une quantité d'eau supérieure à 10% limite la conservation de l'échantillon par développement de microorganismes et oxydation des phytocomposés présents **(Audigié et *al*., 1978)**.

IV.4.1.2. Mode opératoire

La teneur en eau a été déterminée par dessiccation d'un échantillon de 2 g à la température de 105°C dans une étuve ventilée jusqu'à poids constant. Elle est définie comme étant la perte de poids subie lors de la dessiccation.

IV.4.1.3.Expression des résultats

La détermination de la teneur en eau se fait par le calcul de la différence de poids avant et après la dessiccation selon la formule suivante :

$$\mathbf{H\%= \frac{M1-M2}{PE}\ X\ 100}$$

H% : Teneur en eau, M1 : Poids de la capsule + échantillon avant dessiccation, M2 : Poids de la capsule + échantillon après dessiccation, PE : La prise d'essai.

Alors que la matière sèche est déterminée comme suit :

$$\mathbf{MS\% = 100 - H\%}$$

IV.5. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

IV.5.1.Principe

Elle consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau et l'ensemble est porté à ébullition. Elle est généralement conduite à pression atmosphérique. Ce procédé présente des inconvénients dus principalement à l'action de la vapeur d'eau ou de l'eau à l'ébullition ; Certains organes végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation **(Farhat, 2010).**

IV.5.2.Mode opératoire

Une quantité de 20 g de feuilles de laurier noble est placée dans un ballon du montage Clevenger (Figure 11), dès que l'eau bout, l'extraction est éteinte après 3 h. La vapeur chaude issue du ballon est condensée dans un réfrigérant, puis l'huile essentielle s'accumule dans le réservoir de récupération, en raison de la différence de densités, l'huile essentielle surnage à la surface de l'eau et est ensuite séparée de l'eau. Après avoir récupéré l'huile essentielle, le sulfate de sodium est additionné afin d'éliminer toute trace d'eau, car il s'agit d'un desséchant chimique. Ensuite, l'huile obtenue est conservée dans un tube en verre teinté, fermé hermétiquement jusqu'à moment d'utilisation. Le rendement d'extraction est calculé selon la formule suivante : $$R\ (\%)\ \frac{masse\ de\ l'huile\ obtenue\ exprimée\ en\ g}{masse\ de\ la\ plante\ fraiche\ exprimée\ en\ g} \times 100$$

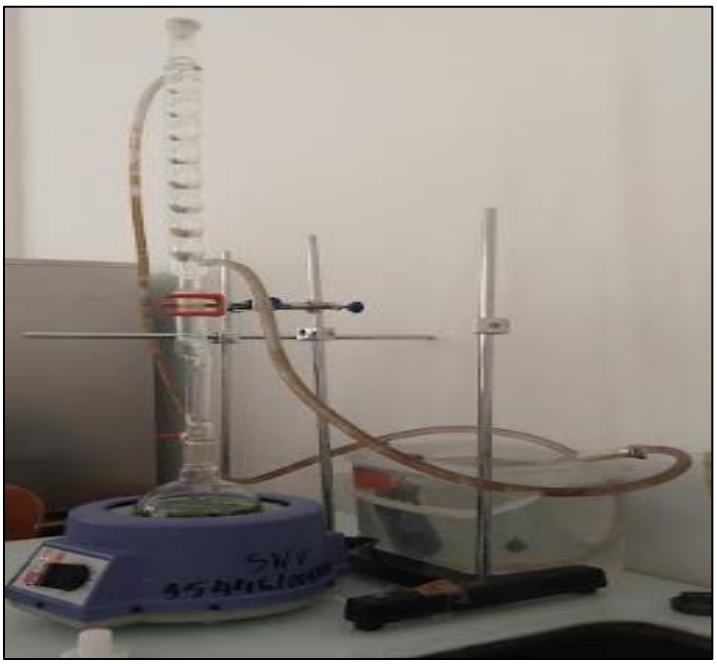


Figure (11): Montage d'extraction des huiles essentielles de *Laurus nobilis*

IV.6. Caractérisation de l'huile essentielle

IV.6.1. Caractéristiques organoleptiques

Chaque huile essentielle extraite est caractérisée par ces propriétés organoleptiques à savoir : l'odeur, l'aspect et la couleur. Autrefois, ces dernières permettaient d'apprécier la qualité d'une huile essentielle.

IV.6.2. Caractéristiques physicochimique

Etant donné que les propriétés organoleptiques ne donnent que des informations très limitées sur les HE, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises. La qualité d'une huile essentielle et sa valeur sont définies par des normes admises et portant sur les indices physicochimiques.

IV.6.2.1.Indice d'acide

IV.6.2.1.1.Principe

L'indice d'acide noté IA (grandeur sans unité), est défini comme le nombre de milligrammes (mg) de l'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenus dans 1g d'huile essentielle. La teneur en acides libres des corps gras augmente avec le temps, l'indice d'acide permet donc de juger de leur état de détérioration NFV 03-906 (AFNOR, 1984).

IV.6.2.1.2.Mode opératoire

Une quantité de 0,2 g d'HE est dissoute dans un volume de 5 ml d'éthanol et de 5 gouttes de phénolphtaléine. L'ensemble est titré par une solution de KI de 0,1N. L'apparition de la couleur violette indique la neutralisation de toute fonction acide dans le mélange réactionnel. L'IA est calculé selon la formule suivante :

$$\mathbf{IA}= \frac{C.V.0.56}{m}$$

Avec : V : Volume de réactif titrant KOH exprimé en millilitre (ml), m : masse de l'huile essentielle utilisée exprimée en gramme (g), C : concentration de la solution de KOH, 56,1 : masse de KOH.

IV.6.2.2. Indice de saponification

IV.6.2.2.1.Principe

L'indice de saponification (InS) se définit comme le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour saponifier un gramme de matière grasse. Ce paramètre a été déterminé suivant le protocole décrit par la norme NF T 60-206 **(AFNOR, 1984).**

IV.6.2.2.2.Mode opératoire

Une quantité d'un gramme d'huile est saponifiée à reflux par 25 mL de KOH éthanolique (0.5N) pendant une heure. L'excès du KOH est neutralisé par de l'acide hydrochlorique (HCl)
(0.5N) en présence de phénophtaléine comme indicateur coloré. Un essai à blanc est réalisé dans les mêmes conditions sans l'huile. L'indice de saponification est calculé par la relation suivante:

$$\mathbf{IS} = \frac{(\boldsymbol{V0}-\boldsymbol{V})\times\boldsymbol{C}\times\mathbf{0,56}}{\boldsymbol{m}}$$

dont **: I.S** : Indice de saponification,**V_0** : volume de HCl en mL dans le test à blanc, **V :** Volume de HCl en mL nécessaire pour neutraliser l'excès de la potasse, **m** : Masse d'huile prise en gramme, **C** : est la concentration exacte, d'acide chlorhydrique, **56,1** : Masse molaire de KOH.

IV.6.2.3. Indice d'ester

IV.6.2.3.1.Principe

L'indice d'ester (InE) d'un corps gras est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1 g de corps gras. En particulier, l'indice d'ester est égal à l'indice de saponification pour les glycérides purs **(Novidzro *et al.*, 2019).**

.IV.6.2.3.2.Mode opératoire

En pratique, cet indice n'est pas mesuré expérimentalement, mais il est plutôt déduit en faisant la différence entre l'indice de saponification et l'indice d'acide.

$$\mathbf{IE = IS - IA}$$

Avec : IE : Indice d'ester, **IS** : Indice de saponification, **IA :** Indice d'acide

IV.6.2.4. Indice de Réfraction

IV.6.2.4.1. Principe

C'est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile maintenue à une température constante **(Denis *et al.*, 1997).**

IV.6.2.4.2.Mode opératoire

La première étape consiste à diriger le réfractomètre vers la lumière, ensuite les deux faces en verre sont essuyées à l'aide d'un papier joseph imbibé d'eau distillée. Une goutte d'huile essentielle de *Laurus nobilis* est déposée par une pipette pasteur, sur la face horizontale du prisme de référence. Puis la face est refermée et bloquée avec la molette de gauche. Avec la molète de droite, un bel horizon a été fait entre la partie lumineuse supérieure et la partie sombre inferieure, l'horizon a été réglé aussi avec la molète du haut et la moleté du bas pour l'amener au centre de la croix. A la température de référence de 20 °C, l'indice de réfraction est calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{I^{20}=}\ IT + 0{,}0003\ (T - 20°C)$$

Avec : I^{20} : Indice de réfraction à 20°C. IT : Indice de réfraction à la température de mesure. T : Température de mesure.

Noté IT, l'indice de réfraction d'une huile essentielle est définit comme le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'échantillon à analyser, maintenue à une température constante. Dans notre cas, on cherche à déterminer I T de l'HE de Myrte. Cet indice est mesuré au laboratoire à l'aide d'un réfractomètre.

IV.6.2.5. Densité relative à 20°C

IV.6.2.5.1. Principe

La densité relative à 20 °C est le rapport exprimé en nombre décimal, de la masse volumique d'un échantillon liquide à 20 °C à la masse volumique de l'eau à la même température **(Novidzro *et al.*, 2019).**

IV.6.2.5.2. Mode opératoire

On pèse une certaine quantité de l'huile étudiée à l'aide d'un pilulier taré, puis on calcule la densité par la formule suivante :

$$\mathbf{d\theta = \frac{(m1 - m)}{(m2 - m)}}$$

Avec **m1** : Poids du pilulier avec l'huile, **m2** : Poids du pilulier avec l'eau distillée, **m** : Poids du pilulier à vide, **dθ :** Densité à température ambiante.

$$d20 = d\theta + (\theta - 20)\ 0.00068$$

θ: Température ambiante.

d20 : Densité à 20°C,

0.00068 : la variation de la densité quand la température varie de 1°C.

IV.7. Essai de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

IV.7.1. Principe

C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet antimicrobien, elle est aussi appelée : la technique de dilution en gélose pour la détermination des extraits actifs.

IV.7.2. Méthode de diffusion d'agar

L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de diffusion d'agar dans des puits de gélose, des suspensions de culture microbienne ont été préparées et diluées en série à 10^6 UFC/ml pour les souches bactériennes et à 5×10^4 spores/ml pour la souche fongique. Le milieu Muller Hinton (MH) a été utilisé respectivement pour les souches bactériennes et fongiques. Un volume de 100 µl est étalé de chaque suspension sur la surface de la boîte de Petri et laissé sécher. Des puits de 7 mm de profondeur et de 6 mm de diamètre ont été confectionnés. Puis, un échantillon de 60 µl de chaque concentration de l'huile essentielle a été délivré. Par la suite, les boîtes de Petri ont été incubées pendant 24 heures à 37 °C pour les bactéries, et pendant 72 heures à 30 °C pour *Candida albicans.* Le diamètre de la zone d'inhibition a été mesuré en millimètres (mm). Chaque essai est répété trois fois afin de minimiser l'erreur expérimentale. En fonction du diamètre de la zone d'inhibition on a pu déduire l'efficacité des huiles vis-à-vis des souches testées **(Brahimi et *al.*, 2020).** Un produit est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm **(Ela et *al.*, 1996).**

IV.8.Préparation du Cachir

Pour la mortadelle de poulet, la quantité de chaque constituant est montrée dans le tableau suivant (**Rajesson, 2009)** :

Tableau (03): Composition du Cachir (Mortadelle au poulet)

Composant	**Quantité (g)**
Poulet	3 250
Riz	250
Sel	5
Poivre noir	7.5
Persil, ail, et autres	4,5

Après avoir mélangé les ingrédients, la quantité totale est divisée en trois parties. Les doses des huiles essentielles dans cette matrice sont décrites dans la figure suivante :

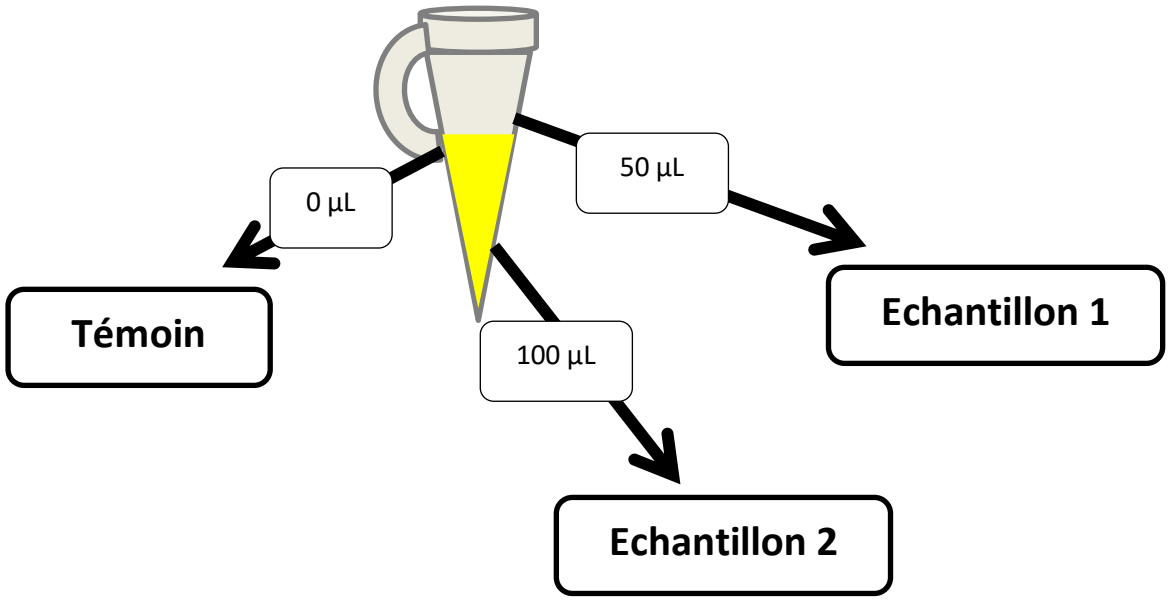


Figure (12): Doses incorporées dans le produit préparé

IV.9. Analyse microbiologique de Cachir

Cinq germes qui sont susceptibles d'infecter la qualité de cachir doivent être déterminés, les germes recherchés sont : germe totaux, coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus*, Clostridium sulfito réducteur et *Salmonella*.

IV.9.1. Préparation de la dilution mère et des dilutions décimales [J.O n° 38 du 22/06/2014]

Une quantité de 25g de Cachir est placée dans un flacon stérile contenant 225 ml de diluant (eau physiologique), puis un volume de 1ml est introduit aseptiquement dans 9 ml du même diluant à l'aide d'une micropipette, la méthode est refaite de la même façon pour obtenir les dilutions 10^{-2} et 10^{-3}.

IV.9.2. Dénombrement des germes totaux à 30°C [NF V 08-017]

IV.9.2.1.Principe

La flore mésophile aérobie totale est l'ensemble des micro-organismes aptes à se multiplier à l'air à une température moyenne, plus précisément dans une température optimale de croissance située entre 25 et 40°C. Ils peuvent être des micro-organismes pathogènes ou d'altération.

IV.9.2.2.Mode opératoire

A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1}. Un volume de 1 ml est porté aseptiquement dans une boite de pétri suivi de 20ml de gélose PCA (Annexe 01) fondue. L'ensemble est mélangé par des mouvements circulaires sous forme de 8. Après solidification, les boites sont incubées à 30°C pendant 72h. Les germes totaux se présentent sous forme lenticulaire en masse.

IV.9.3. Dénombrement des coliformes fécaux [NF V08-01]

IV.9.3.1.Principe

Les coliformes fécaux sont des micro-organismes vivant dans les intestins d'animaux ou humains. Ils sont généralement en nombre inférieur aux coliformes totaux et indiquent qu'il y a contamination récente ou constante.

IV.9.3.2.Mode opératoire

A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1}, 1ml est placé dans une boite de pétri suivi de 15ml de gélose VRBL (Annexe 01), après solidification une couche superficielle du même milieu est versée (environ 4ml), après une deuxième solidification les

boites de Pétri retournées sont incubées dans une étuve réglée à 44 °C pendant 24h. Les colonies obtenues en milieu solide sont de couleur violacées.

IV.9.4. Dénombrement de *Staphylococcus aureus* [ISO 6888]

IV.9.4.1. Principe

Staphylococcus aureus est une bactérie de type cocci Gram+, elle a un diamètre d'environ 0.5 à 1.5 µm, non sporulé, immobile et facultativement anaérobique.

IV.9.4.2.Mode opératoire

Un volume de 0.1 ml de la dilution 10^{-3} est étalé rapidement possible à la surface du milieu Chapman (Annexe 01) en essayant de ne pas toucher les bords de la boite avec un étaleur en verre stérile, après séchage, les boites sont incubées à 37°C ± 1°C durant 24 à 48 heures. Les colonies caractéristiques jaunes brillantes, d'un diamètre compris entre 0.5 et 2 mm d'une auréole d'éclaircissement du milieu.

IV.9.5. Dénombrement des clostridium sulfito réducteurs (C.S.R) [ISO 6649]

IV.9.5.1.Principe

Ce sont des germes qui se développent sans oxygène (anaérobie) qui résistent à la cuisson en sporulant, appartenant à la famille des Bacillacées.

IV.9.5.2.Mode opératoire

Un flacon de gélose viande foie en surfusion est additionné une ampoule d'Alun de fer et une ampoule de sulfite de sodium. Les tubes contenant les dilutions 10^{-2} et 10^{-1} seront soumis à un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 min suivis d'un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet, dans le but d'éliminer les formes végétatives et garder uniquement les formes sporulées. A partir des dilutions, un volume de 1ml est placé dans un tube neuf et stérile, dans lequel 15ml de gélose viande foie (Annexe 01) sont ajoutés. Après solidification, les tubes sont incubés à 37°C pendant 16 à 24h. Une première lecture doit se faire impérativement à 16h car : D'une part les colonies de C.S.R sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant alors l'interprétation difficile et l'analyse est à refaire. D'autre part il faut absolument repérer toute colonie noire ayant poussée en masse et d'un diamètre supérieur à 0.5mm.

IV.9.6.Dénombrement de *Salmonella* [ISO 6579, 2002]

IV.9.6.1.Principe

Ce sont des bactéries qui se présentent sous forme de bacilles à Gram négatif et qui se développent à une température de 37°C de 24 à 72h sur milieu Hektoen (Annexe 01), formant des petites colonies, pigmentées en vert ou en bleu vert.

IV.9.6.2.Mode opératoire

IV.9.6.2.1.Pré- enrichissement

Une quantité de 25g de produit à analyser est mise dans un flacon stérile contenant 225ml d'eau peptonée tamponnée (EPT) (Annexe 01), après avoir homogénéisé, la suspension est incubée à 37°C pendant 18 à 20h.

IV.9.6.2.2.Enrichissement

Se fait à partir du milieu de pré-enrichissement : 1 ml est prélevé aseptiquement dans un tube contenant le mélange de sélénite S /C+ cystéine (Annexe 01), l'ensemble est incubé à 37°C pendant 24h.

IV.9.6.2.3.Isolement

Un volume de 15 ml du milieu Hektoen est versé dans des boites Petri, après solidification, une goutte de la préparation précédente est déposée sur la surface puis étalée.Les boites sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h. Les salmonella se développent sous forme de colonies vertes ou bleutées avec ou sans centre noir.

IV.10.Etude statistique

L'échantillon a été analysé individuellement en triple exemplaire pour sa composition chimique et ses activités antimicrobiennes et les données sont rapportées en tant que moyenne ± écart type.

Chapitre V
Résultats et discussion

V.1. Caractérisation biochimique de la plante

V.1.1. Teneur en eau

Après détermination de la teneur en eau, les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau (04) : Résultats de la teneur en eau et de la matière sèche de laurier noble.

Plante	H (%)	MS (%)
Laurus nobilis	**0,29 ± 0,051**	**99,71 ± 0,51**

La plante analysée présente une teneur en eau très faible, avec une moyenne de **0,29 ± 0,51 %**, contre **99,71 ± 0,51 %** de matière sèche. Cette faible humidité peut s'expliquer par un état de dessiccation avancé de la plante. Ce résultat pourrait indiquer une excellente stabilité de la plante.

À titre comparatif, nos résultats sont strictement inférieurs à ceux constatés par Chehbi et *al.*, (2017), ou, un taux d'humidité était égal à 5,29 % ± 0,415 d'un échantillon récolté dans la région d'ouest de la wilaya de Sétif. Un autre échantillon de laurier noble issu de la région de Tébessa Hammamet Oued Bouakouz montre un taux de 31 %, ce qui signifie que 69% représente le taux de matière sèche **(Ferhi et Menasria, 2024).**

Généralement, les végétaux sont riches en eau, les plantes fraîches renferment 60 à 80 % d'eau. Pour assurer une bonne conservation, cette teneur en eau doit être inférieure ou égale à 10 % **(Paris et Moyse, 1965).** Certaines plantes aromatiques comme le basilic ou la menthe peuvent contenir jusqu'à 90 % d'eau**.** De telles différences s'expliquent par des facteurs variétaux, les conditions de stockage ou encore le stade de maturité des échantillons récoltés **(Bogdanov et *al.*, 2004).**

V.2.Caractéristiques organoleptiques

L'huile essentielle obtenue présente une couleur jaune claire, d'un aspect légèrement visqueux et une odeur intense caractéristique de laurier noble (Figure 13). Le rendement d'extraction est égal à 0,95 ± 0,45 %. Notre plante semble riche en huile essentielle par rapports aux travaux antérieurs. Chehbi et *al*., (2017) ont constaté un rendement égal à 0.60 %.

Le rendement moyen en huile essentielle du *Laurus nobilis L*. du Maroc s'étend à 1,7 %. Ce qui n'est point pareille relatif à d'autres rendements trouvés dans d'autres recherches menées sur des espèces de géographie différente **(Ouled Taarabt et *al.*, 2017).**

Ces fluctuations de rendements peuvent s'expliquer par la différence des lieux, des saisons de récolte du matériel végétal utilisé et la méthode d'extraction choisie **(Guedouari, 2012).**

Figure (13): Photo de l'huile extraite de *Laurus nobilis*

V.3.Paramètres physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles extraites des plantes possèdent des propriétés physico-chimiques spécifiques qui influencent leur qualité, leur stabilité et leur potentiel d'application dans divers domaines. Dans cette partie, nous présentons les résultats des tests effectués sur les principaux paramètres physico-chimiques des huiles essentielles extraites de la plante étudiée (Tableau 05).

Tableau (05): Résultats des paramètres physico-chimiques des huiles extraites

	L'huile essentielle de *Laurus nobilis*
Indice de réfraction	1,3138
Indice d'acide	0,225 ± 0,005
Indice de saponification	31,5 ± 0,005 (mg KoH/g d'huile essentielle)
Indice d'ester	31, 25 ± 0,005
Densité relative à 20 °C	0,825 ± 0,005

Selon Afnor (2000), les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, elles sont plus ou moins colorées.

Notre indice de réfraction (1.3138) est inférieur aux résultats constatés (1,4909) **(Hadjloum et Ould Ali, 2018),** 1,46819**(Ouled Taarabt et *al.*, 2017).** L'indice de réfraction est une mesure de la capacité de l'huile essentielle à dévier la lumière et est un paramètre crucial pour déterminer la pureté de l'huile. Un indice de réfraction élevé peut indiquer la présence des huiles essentielles de haute qualité, tandis qu'un indice faible pourrait suggérer des impuretés ou des diluants **(Wagner et Bladt, 1996)**. Cet indice est utile pour les contrôles de qualité dans les industries de transformation des huiles essentielles.

Ouled Taarabt et *al.*, (2017) ont trouvé un indice d'acide plus élevé par rapport à nos résultats (2,5 mg de KoH/g de la matière grasse), en plus, un autre échantillon révèle une valeur égale à 1,12 mg de KoH/g de la matière grasse **(Hadjloum et Ould Ali, 2018).**

La norme pharmacopée a fixé cet indice à une valeur inférieure ou égale à 2, donc l'indice de notre huile est conforme à cette norme. L'indice d'acide mesure la quantité d'acides gras libres dans l'huile essentielle, ce qui peut affecter son goût, son odeur, ainsi que ses propriétés de conservation. Un indice acide élevé peut signifier une huile plus volatile ou moins stable, tandis qu'un indice faible indique une huile plus stable **(Cowan, 1999).**

Les résultats d'indice de saponification sont proches à ceux constatés dans une huile essentielle issue de la région de Tlemcen (35,026). Mais d'autres échantillons sont marqués par des valeurs très petites (IS=23 à Saida, IS=19.8175 à Alger et IS=19.635 à Chlef). **(Haddadi, 2021).**

L'indice de saponification mesure la quantité de base nécessaire pour saponifier un gramme d'huile. Cet indice est essentiel pour déterminer les propriétés de l'huile dans les processus de fabrication de savons ou de produits cosmétiques **(Burt, 2004).**

Une valeur de 44 d'indice d'ester est trouvée par Ouled Taarabt et *al.*, (2017). L'indice d'ester est la différence entre l'indice de saponification et l'indice acide, et il est utilisé pour évaluer la qualité chimique de l'huile essentielle. Un indice d'ester élevé suggère une huile de meilleure qualité, avec une plus grande capacité de réaction dans les processus chimiques **(Rao et *al.*, 2017).** Cet indice est important pour la classification des huiles essentielles en

fonction de leurs propriétés chimiques et de leur potentiel dans diverses applications industrielles.

Selon AFNOR (2000), la densité des HEs est en général inférieure à celle de l'eau. Notre résultat est légèrement proche de ceux trouvé par d'autres auteurs : 0,9121 et 0,9043 pour la même huile essentielle **(Ouled Taarabt et *al.*, 2017 ; Hadjloum et Ould Ali, 2018).**

La densité de l'HE de la wilaya de Chlef est le plus élevé par rapport aux autres wilayas (0.914), après la wilaya d'Alger avec une densité de 0.8855, et la wilaya de Tlemcen (0.7367) et Saida (0.7026) sont presque égales et moins denses par rapport aux précédents **(Haddadi, 2021).**

Il est à noter aussi que, la densité de l'huile essentielle est un autre paramètre clé, utilisée pour déterminer son comportement dans les mélanges et sa stabilité dans les formulations. Une densité plus élevée peut indiquer une huile plus riche en composés actifs.

V.4. Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle par la méthode de diffusion sur agar

Ce test montre une puissante activité antibactérienne de l'huile essentielle contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aerogenosa* avec des diamètres d'inhibition de (80 mm x 40 mm) et (80 mm x 30 mm) respectivement. Mais aucune activité antifongique n'a été constatée contre *Candida albicans* (Figure 14).

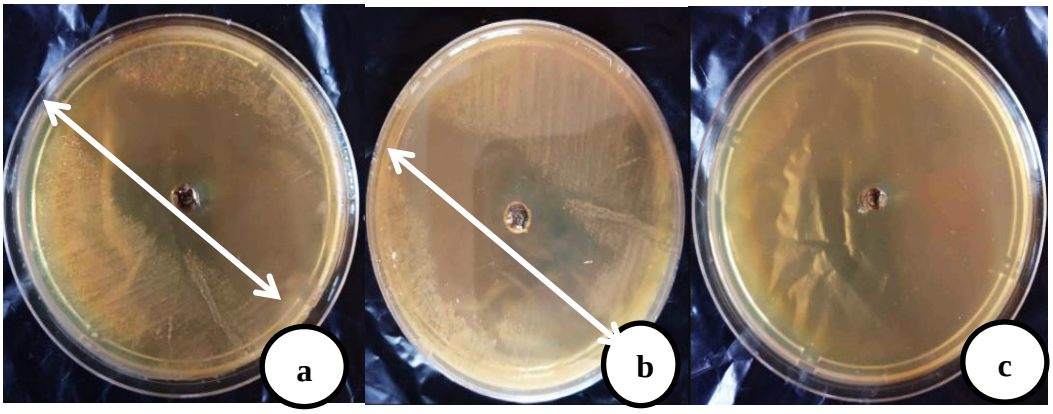


Figure (14) : Activité antimicrobienne de l'HE. a : contre *Staphylococcus aureus*, b : contre *Pseudomonas aerogenosa*, c : *Candida albicans*

La méthode d'aromatogramme est la technique utilisée pour déterminer l'activité antibactérienne de notre Huile essentielle. C'est la technique la plus répandue de l'évaluation de l'activité antimicrobienne des Huiles essentielles. Elle sert à prédire la sensibilité d'un germe aux substances étudiées.

L'HE inhibe fortement la croissance de *Salmonella spp* avec un diamètre d'inhibition supérieur à 20 mm **(Ould Yerou et *al*., 2015).**

E. coli est sensible à l'huile essentielle pure de *Laurus Nobilis L* avec un diamètre d'inhibition de 25mm. Elle possède un effet bactéricide sur *E. coli*, un effet bactériostatique sur *Staphylococcus aureus* et aucun effet antibactérienne sur *Pseudomonas aeruginosa* **(Benemara et Rais, 2018).**

Les travaux de Haddouchi et *al*. (2008) affirment que *Pseudomonas aerogenosa* est moins sensible à l'activité de l'HE de laurier et cette dernière est plus active vis-à-vis de *Candida albicans.*

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle semble inclure une altération de la membrane bactérienne qui se produit lorsque cette substance passe à travers la paroi cellulaire et la membrane cytoplasmique, et perturbe la structure de leurs différentes couches de polysaccharides, des acides gras et des phospholipides**.** En général, les activités antimicrobiennes ont été expliquées principalement par C10 et C15 capables de former des liaisons covalente avec les sites actifs de la cible enzymes, bien que d'autres terpènes actifs, ainsi que des alcools, des aldéhydes et des esters contribuent à l'activité antimicrobienne des huiles essentielles **(Belletti et *al*. , 2004).**

V.5. Essai de l'application microbiologique des huiles essentielles (Utilisation de l'huile essentielle dans la conservation du cachir)

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité de l'huile essentielle extraite de la plante étudiée dans la conservation du cachir, un produit charcutier traditionnel.

V.5.1. Caractéristique organoleptique

Trois préparations ont été obtenues, la première sans huile essentielle, la deuxième contenant 5µL, et la troisième contenant 10 µL (Figure15). A T_0 les échantillons présentaient une texture ferme homogène, une couleur caractéristique du Cachir, et une odeur très agréable semblable à celle des produits commercialisés.

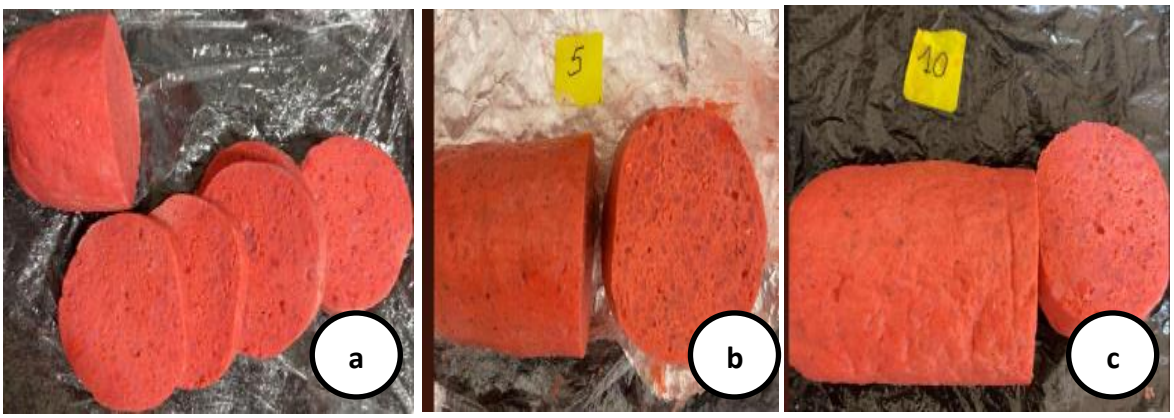


Figure (15): Photos de Cachir préparé à T= 0. a : Témoin (sans huile essentielle), b : échantillon contenant 5µL, c : échantillon contenant 10µL.

Après vingt jours de préparation, il parait que l'échantillon témoin, a perdu totalement sa couleur, son odeur, et sa texture qui est devenue un peu rigide avec un dégagement d'une odeur nauséabonde. En parallèle, les huiles essentielles incorporées dans les échantillons ont retardé partiellement la perte de couleur caractéristique du cachir, mais beaucoup plus dans la dose de 10µL. Cependant, aucune mauvaise odeur n'a été constatée dans ces préparations (Figure 16).

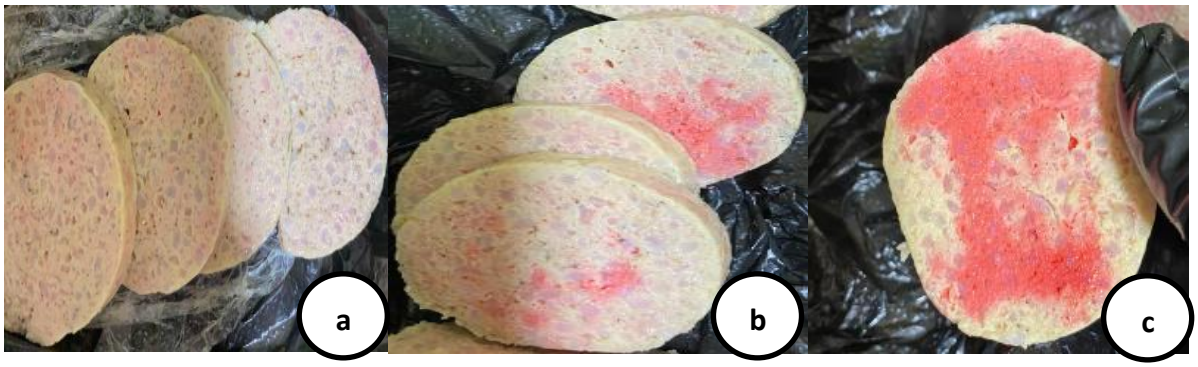


Figure (16): Photos de Cachir préparé à T= 20. a : Témoin (sans huile essentielle), b : échantillon contenant 5µL, c : échantillon contenant 10µL.

V.5.2. Détermination de la qualité microbiologique

Des échantillons de cachir ont été préparés selon la méthode traditionnelle, en utilisant des viandes de qualité, puis répartis en plusieurs groupes (Témoin, 5µL et 10 µL) recevant différentes concentrations d'huile essentielle, afin d'observer l'effet de chaque dosage sur la prolifération microbienne. Les échantillons ont été conservés dans des conditions réfrigérées simulant le stockage habituel.

Le suivi de la qualité microbiologique a été effectué à intervalles précis, tels 10 jours et 20 jours, avec des analyses visant à détecter la présence de bactéries pathogènes comme *Salmonella*, *Staphylococcus* aureus, *Escherichia coli* et *Streptococcus*.

A T0 et T10, aucune croissance de la FTAM n'a été constatée dans toutes les préparations y compris le témoin. A T20, le dénombrement de la FTAM révèle que les échantillons contenant l'HE (5µL et 10µL) ont préservé leur qualité microbiologique par rapport au témoin (1200 UFC/g) (Figure 17).

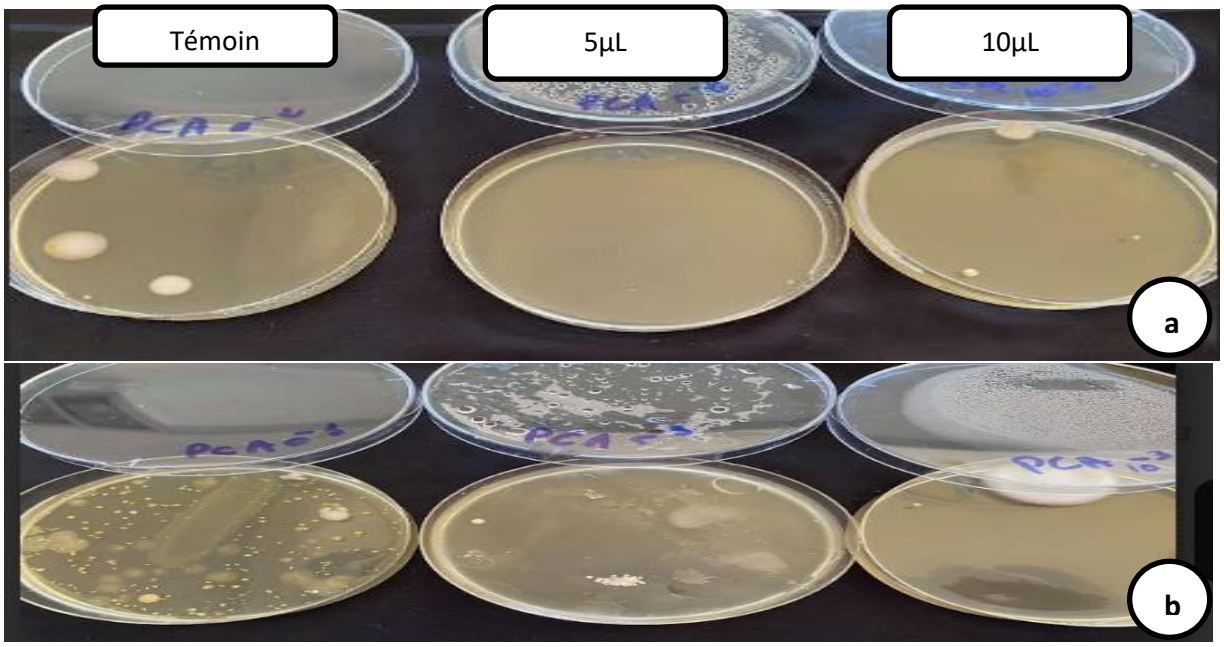


Figure (17): Résultats du dénombrement de la FTAM sur milieu PCA. a : après 10 jours d'ensemencement, b : après 20 jours d'ensemencement.

Après avoir ensemencé les échantillons sur milieu VF, SS et Chapman, aucune croissance des germes n'a été révélée jusqu'à T20 dans les préparations incorporées par l'HE. En revanche, une absence totale des coliformes fécaux a été trouvée à T0 et T10 dans tous les

échantillons préparés. Cependant, à T20 une altération du témoin a été marquée qui se traduit par un nombre égal à 6700 UFC/g (Figure 18).

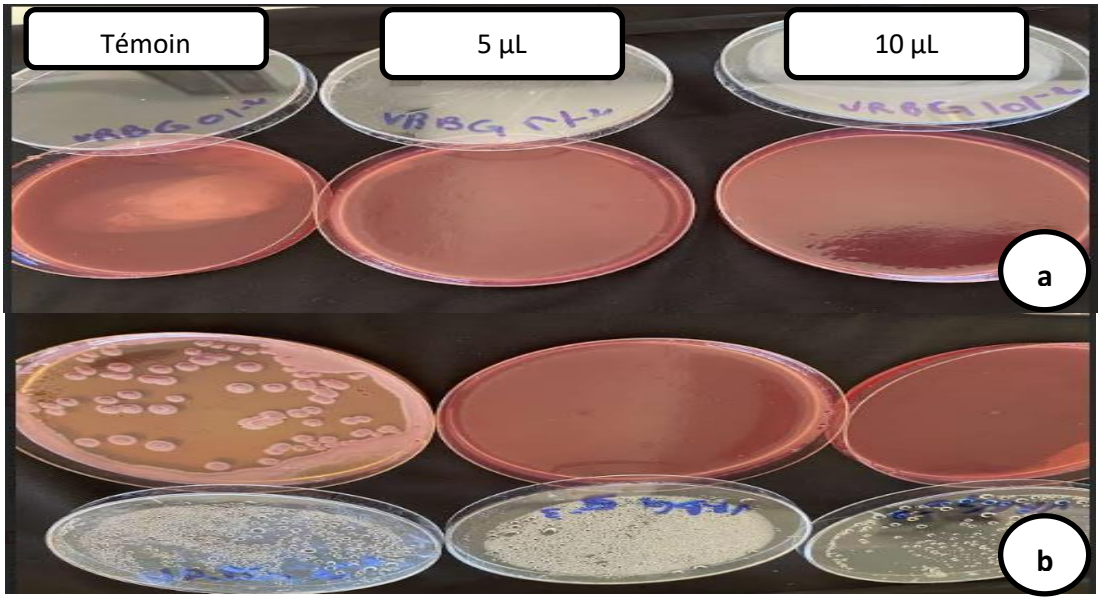


Figure (18): Résultats du dénombrement des coliformes fécaux sur milieu VRBL. a : après 10 jours de préparation, b : après 20 jours de préparation.

Les résultats ont démontré que l'huile essentielle exerce un effet significatif sur la réduction de la croissance bactérienne. La concentration maximale testée (10µL) a presque totalement inhibé la prolifération des bactéries pathogènes, attestant de l'efficacité de l'huile essentielle pour prolonger la conservation du produit.

Cette dernière a ainsi permis de prolonger la durée de conservation du cachir à environ trois semaines, contre l'échantillon non traité. De plus, l'appréciation de la qualité organoleptique a montré un léger changement, garantissant le maintien des qualités sensorielles.

Il est à noter que, la conservation des produits carnés, tels que le cachir, représente un enjeu majeur pour l'industrie alimentaire. Elle vise notamment à éviter la contamination microbienne et à prolonger la durée de vie des produits. Traditionnellement, des conservateurs chimiques comme les nitrates et nitrites sont utilisés pour préserver les viandes transformées. Cependant, l'emploi d'huiles essentielles en tant qu'alternatives naturelles gagne en popularité, grâce à leurs propriétés antimicrobiennes et antioxydantes **(Burt, 2004).**

Le laurier noble (*Laurus nobilis L*.) est souvent utilisé dans la conservation de la viande en raison de ses propriétés antibactériennes et antifongiques. L'huile essentielle de laurier noble contient des composés tels que le 1,8-cinéole, le linalol et l'eucalyptol, qui sont également connus pour leur activité antimicrobienne (**Temamri et Zadek, 2023).**

Nos résultats concordent avec ceux constatés par Temamri et Zadek, (2023), ou L'extrait hydroéthanolique des feuilles de *Laurus nobilis* L, a montré un effet antimicrobien sur la prolifération des germes bactériens étudiés de contamination en particulier la FTAM, les coliformes fécaux et *Staphylococcus aureus*.

Conclusion générale

Conclusion générale

La découverte progressive des utilisations des huiles essentielles de plantes aromatiques en médecine et dans d'autres domaines d'intérêt économique leur a donné un avantage important aujourd'hui. En raison de leurs nombreuses applications, il y a une demande croissante pour ces substances sur les marchés internationaux en raison de leurs qualités thérapeutiques et alimentaires.

Dans ce travail on vise à extraire les huiles essentielles à partir de la plante *Laurus nobilis* par un hydro distillateur de type Clevenger et de l'incorporer en tant que conservateur naturel d'un produit carné (Cachir).

La plante est caractérisée par sa faible teneur en eau, mais ce n'est pas le cas pour les huiles essentielles. Les paramètres physicochimiques des huiles extraites étaient proches à ceux constatés auparavant.

Le test de diffusion sur milieu MH par la méthode des puits montre une puissante activité antibactérienne de l'huile essentielle contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aerogenosa.* Mais aucune activité antifongique n'a été constatée contre *Candida albicans.*

Trois préparations ont été obtenues, la première sans huile essentielle, la deuxième contenant 5µL, et la troisième contenant 10 µL.

Le suivi de la qualité microbiologique a été effectué à intervalles précis, tels 10 jours et 20 jours, avec des analyses visant à détecter la présence de bactéries pathogènes comme *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Streptococcus*.

Après vingt jours de préparation, il parait que l'échantillon témoin, a perdu totalement sa couleur, son odeur, sa texture qui est devenue un peu rigide avec un dégagement d'une odeur nauséabonde, une croissance de la FTAM, des staphylocoques, des salmonelles, des streptocoques et des coliformes fécaux.

Néanmoins ces travaux méritent d'être approfondis. Il s'agit notamment de :

-Faire des tests de toxicité *in vivo*. Le fait que les HE sont des matières complexes (composition, solubilité, odeur, saveur), très actives et fortement concentrées ; et en plus, très fragiles et sensiblement instables vis-à-vis les conditions extérieures; Ceci pose énormément de problèmes après les avoir ingérés.

Conclusion générale

-Caractériser des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse doit être réalisée pour les analyser quantitativement et qualitativement.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- AFNOR NF 75-002. (n.d.). *Standard for essential oils*. Association Française de Normalisation.
- AFNOR. (1984). *Standard for essential oils*. Association Française de Normalisation.
- AFNOR. (2000). *Recueil de normes : Les huiles essentielles (Tome 2)*. Association Française de Normalisation.
- Amamra, R. (2020). Phytochemical analysis of medicinal plants in Algeria. *Phytochemistry Letters*, 35, 78–92.
- Aqili, M.S. (1992). *Collection of drugs (Materia Medica)*. Tehran: Educational Organization.
- Atanda, O.O., Akpan, I., & Oluwafemi, F. (2007). Antifungal activity of spice essential oils. *Food Control*, 18(5), 601–607.
- Athemena, R. (2020). Essential oils and their biological applications. *Natural Product Communications*, 15(3), 1–12.
- Awada, F., Hamade, K., Kassir, M., Hammoud, Z., Mesnard, F., Rammal, H., & Fliniaux, O. (2023). Recent advances in essential oil research. *Molecules*, 28(2), 345.
- Azeredo, L., Freire, B., Soares, A., Leite, C., & Coelho, R.R.R. (2004). Antimicrobial effects of plant extracts. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35(4), 275–280.

B

- Bardeau, F. (1976). *La mémoire par les fleurs*. Robert Laffont.
- Basak, S.S., & Candan, F. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of *Laurus nobilis*. *Industrial Crops and Products*, 43, 514–519.
- Baser, K.H.C., & Buchbauer, G. (2010). *Handbook of essential oils: Science, technology, and applications*. CRC Press.
- Belletti, N., Ndagihimana, M., Sisto, C., Guerzoni, M., Lanciotti, R., & Gardini, F. (2004). Evaluation of the antimicrobial activity of citrus essences on *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6932–6938.
- Beloued, A. (2009). *Plantes médicinales d'Algérie*. Office des Publications Universitaires.

Références bibliographiques

- Benemara, W., & Rais, H. (2018). Extraction, caractérisation et étude microbiologique de l'huile essentielle de laurier noble (*Laurus nobilis* L.). [Mémoire de Master, Université Ibn Khaldoun – Tiaret].
- Benomari, F., Vanessa, A., Kotarba, J., & Mohamed, D. (2004). Essential oils from Algerian plants. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(2), 148–152.
- Besombes, C. (2008). *Extraction hydro-thermomécanique d'herbes aromatiques* (Thèse de Doctorat). Université de La Rochelle.
- Bogdanov, S., Sieber, R., Gallmann, P., & Bee, S. (2004). Honey for nutrition and health. *Journal of Apicultural Research*, 43(2), 60–75.
- Bouchaale, I., Kahalerras, A., & Zouaoui, S. (2015). Chemical composition of *Laurus nobilis* essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(3), 567–574.
- Bouhdid, S., Abrini, J., Zhiri, A., Espuny, M.J., & Manresa, A. (2009). Antibacterial activity of essential oils. *Journal of Applied Microbiology*, 107(2), 499–510.
- Bouras, M. (2018). Activité antibactérienne des extraits de plantes algériennes. [Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar – Annaba].
- Brahimi, D., Mesli, L., Rahmouni, A., Zeggai, F., Khaldoun, B., Chebout, R., & Belbachir, M. (2020). First data of statistic and ecological behavior of Orthoptera insects in arid region (Southern West of Algeria). *Data in Brief*, 31, 105857.
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (3rd ed.). Lavoisier.
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.

C

- Cabaret, J. (1967). *Plantes pour soigner les animaux*. Poins Vétérinaire.
- Caillet, S., & Lacroix, M. (2007). Essential oils as antimicrobials in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(8), 735–748.
- Cavalli, J.F. (2002). Composition chimique des huiles essentielles. *Phytochemistry*, 61(4), 437–444.
- Chehbi, A., Chahmani, H., & Boulakhras, A. (2017). Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne des extraits de feuilles de *Laurus nobilis* L. [Mémoire de Master, Université Ibn Khaldoun – Tiaret].

Références bibliographiques

D

- David, J.D., Denis, D.K., & Sarin, A. (1997). *Bactériologie médicale: Techniques usuelles*. Elsevier Masson.
- Demir, V., Tuncay, G., Yagcioglu, A.K., & Adnan. (2004). Mathematical modeling of air-dried bay leaves. *Biosystems Engineering*, 88(3), 325–335.
- Di Leo Lira, P., Retta, D., Tkacik, E., Ringuelet, J., Coussio, J.D., Van Baren, C., & Bandoni, A.L. (2009). Essential oil and by-products of distillation of bay leaves (*Laurus nobilis*) from Argentina. *Industrial Crops and Products*, 30(2), 259–264.
- Dominique, B. (2017). *Aromathérapie: 100 huiles essentielles*. Dunod.

E

- Ertaş, M., & Alma, M.H. (2010). Pyrolysis of *Laurus nobilis* residues. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 88(1), 22–29.

F

- Farhat, A. (2010). *Vapo-diffusion assistée par micro-ondes : conception, optimisation et application*. Université d'Avignon & ENI Gabès.
- Fanz, C., & Novak, J. (2020). Sources of essential oils. In *Handbook of Essential Oils* (3rd ed., pp. 39–81).
- Ferhi, A., & Menasria, M.T. (2024). Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits bioactifs d'une plante médicinale. [Mémoire de Master, Université de Larbi Tébessa – Tébessa].
- Ferkous, I. (2016). *Les huiles essentielles et l'aromathérapie : Cas de la menthe poivrée (Mentha x piperita)* [Mémoire de Master, Université Constantine 1].

G

- Ghannadi, A., Bagherinejad, M., & Abedi, D. (2002). Essential oil composition and antibacterial activity of *Laurus nobilis* L. *Pharmaceutical Biology*, 40(6), 470–474.
- Ghasemi, E., Ghasemi, N., & Hamedi, J. (2016). Antibacterial activity of essential oils of medicinal plants against *Escherichia coli*. *Iranian Journal of Medical Sciences*, 41(2), 73–80.
- Ghazghazi, H., Aouadhi, C., Zourgui, L., & Kchouk, M. (2013). *Laurus nobilis* oil: Chemical composition and antimicrobial activity. *African Journal of Biotechnology*, 12(14), 1693–1698.

Références bibliographiques

- Giacometti, J., Kokic, M., Tomasic, T., & Saponjac, V. (2018). *Laurus nobilis* L.: Composition and biological properties. *Molecules*, 23(3), 525.

H

- Hazzit, M., Baaliouamer, A., Faleiro, M.L., & Miguel, M.G. (2006). Composition of the essential oils of *Laurus nobilis* L. from Algeria: Antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(7), 2300–2305.
- Hilan, C. (1998). *Les plantes aromatiques et médicinales*. Centre de Documentation Universitaire.
- Holetz, F.B., Pessini, G.L., Sanches, N.R., Cortez, D.A., & Nakamura, C.V. (2002). Screening of some plants used in Brazilian folk medicine. *Phytotherapy Research*, 16(5), 580–584.

J

- Joulain, D., & König, W.A. (1998). *The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons*. E.B.-Verlag.

K

- Kamazani, M.M., Aliahmadi, A., & Rafati, H. (2015). Antibacterial properties of bay leaf oil (*Laurus nobilis*). *Journal of Essential Oil Research*, 27(5), 439–445.
- Karaman, I., Sahin, F., Güllüce, M., Ögütçü, H., Sengül, M., & Adigüzel, A. (2003). Antimicrobial activity of essential oils of plants used in Turkish traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 85(2-3), 231–235.

L

- Lis-Balchin, M., & Deans, S.G. (1997). Bioactivity of selected plant essential oils. *Phytotherapy Research*, 11(5), 323–328.
- Lopez, P., Sanchez, C., Batlle, R., & Nerin, C. (2005). Antimicrobial properties of major components of essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(11), 4046–4052.

M

- Mahboubi, M. (2019). *Laurus nobilis* and its essential oil. *Phytotherapy Research*, 33(4), 651–665.
- Marchese, A., Arciola, C.R., Barbieri, R., Silva, A.S., Nabavi, S.F., Tsetegho Sokeng, A.J., Izadi, M., Jafari, N.J., Suntar, I., & Nabavi, S.M. (2017). Antimicrobial activity of essential oils. *Microbial Pathogenesis*, 111, 336–351.

Références bibliographiques

- Mikaili, P., Shayegh, J., Sarahroodi, S., & Sharifi, M. (2011). Pharmacological effects of *Laurus nobilis* L. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 3(1), 1–8.

N

- Noudogbessi, J.P., Sessou, P., Talontsi, F.M., & Sohounhloué, D.K. (2013). Antibacterial activity of *Laurus nobilis* L. essential oil. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(10), 215–219.

O

- Ozcan, M., & Chalchat, J.C. (2005). Effect of collection time on chemical composition of *Laurus nobilis* L. leaves oil. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(6), 521–525.

P

- Perry, N., & Perry, E. (2006). Aromatherapy in the treatment of psychiatric disorders. *Current Opinion in Psychiatry*, 19(1), 83–89.

R

- Raafat, K., & Samy, W. (2014). Phytochemical and pharmacological profile of *Laurus nobilis*. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 6(3), 35–41.
- Rahmouni, M., & Hadef, Y. (2020). Composition chimique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* du nord de l'Algérie. *Revue des Sciences*, 31(1), 89–96.
- Riahi, L., & Ghazghazi, H. (2013). Variability in essential oil composition of *Laurus nobilis* L. *Industrial Crops and Products*, 45, 440–446.

S

- Saim, N., & Maouche, L. (2016). Étude de l'effet antibactérien des huiles essentielles extraites de laurier (*Laurus nobilis* L.) [Mémoire de Master, Université Constantine 1].
- Satrani, B., Farah, A., Fechtal, M., Talbi, M., & Ghanmi, M. (2004). Composition chimique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* du Maroc. *Acta Botanica Gallica*, 151(2), 157–164.
- Soković, M., Glamočlija, J., Marin, P.D., Brkić, D., & van Griensven, L.J.L.D. (2010). Antibacterial effects of essential oils. *Food*, 4(3), 241–246.

T

- Tadtong, S., & Asawanonda, P. (2005). Chemical composition and antifungal activity of *Laurus nobilis* essential oil. *International Journal of Aromatherapy*, 15(4), 211–216.

Annexes

Annexe 1

1. Eau physiologique

-Chlorure de sodium : 9g

-Eau distillée : 1000 ml

Autoclavage à 120°C pendant 20 min

2. Milieu PCA

-Tryptone : 5,0 g

-Extrait de levure : 2,5 g

-Glucose : 1,0 g

-Agar : 15,0 g

-pH = 7.0

-Eau qsp 1 L

Autoclavage à 120°C pendant 20 min

3. Milieu de Culture VRBL

-Peptone : 7,00 g

- Chlorure de sodium : 5,00 g

-Extrait de levure : 3,00 g

-Rouge neutre : 0,03 g

-Sels biliaires N° 3 : 1,50 g

-Cristal violet : 0,002 g

-Lactose : 10,00 g

-Agar : 15,00 g

-pH final à 25°C : 7,4 ± 0,2

-Eau distillée : 1000 mL

Ne pas surchauffer - ne pas autoclaver.

4. Milieu de culture Chapman

-Peptones : 10,00 g

-Extrait de viande de bœuf : 1,00 g

-D-mannitol : 10,00 g

-Chlorure de sodium : 75,00 g

-Rouge de phéno l : 0,025 g

-Agar : 15,00 g

-Eau distillée : 1000 mL

pH final à 25°C : 7,4 ± 0,2

Autoclaver 15 minutes à 121°C.

5. Milieu de culture Viande foie (VF)

-Base viande foie : 30,0 g

-Glucose : 2,0 g

-Agar : 6,0 g

-Eau distillée : 1000 mL

pH = 7,4

Autoclaver 15 minutes à 121°C.

6. Bouillon eau peptonée tamponnée

-Peptone de caséine : 10,00 g

- Chlorure de sodium : 5,00 g

-Phosphate de sodium, dibasique, $12H_2O$: 9,00 g

-Phosphate de potassium, dibasique : 1,50 g

-Eau distillée : 1000 mL

pH final à 25°C : 7,0 ± 0,2

Autoclaver 15 minutes à 121°C.

7. Bouillon Sélénite Cystine

-Tryptone : 5,00 g

- Lactose : 4,00 g

-Sélénite acide de sodium : 4,00 g

- Phosphate disodique : 10,00 g

-L-cystine : 0,01 g

-Eau distillée : 1000 mL

pH final à 25°C : 7,0 ± 0,2

Ne pas surchauffer - ne pas autoclaver.

8. Milieu Salmonella-Shigella (SS)

-peptone:.....5,0 g
-extrait de viande:.....5,0 g
-lactose:.....10,0 g
-citrate de sodium:.....10,0 g
-citrate de fer III:.....1,0 g
-sels biliaires:.....8,5 g
-vert brillant:.....3,3 mg
-rouge neutre:.....25 mg
-thiosulfate de sodium:.....8,5 g
-Agar:.....12,0 g
-Eau distillée : 1000 mL
pH = 7
Ne pas surchauffer - ne pas autoclaver.

9. Milieu muller Hinton (MH)

-Infusion de viande de bœuf : 300,0 ml

-peptone de caséine : 17,5 g

-amidon de maïs : 1,5 g

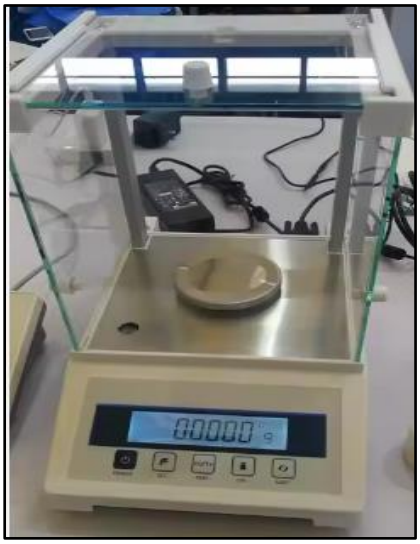
-agar : 17,0 g

-Eau distillée : 1000 mL

pH = 7,4

Autoclaver 15 minutes à 121°C.

Annexe 2 : Matériel utilisé



Balance analytique

Agitateur magnétique chauffant

Ph mètre

Incubateur

Distillateur

Autoclave

Four pasteur

Spectrophotomètre

Bain-marie