

## Huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill : Composition chimique et activités antimicrobienne et antioxydante

Ferhat Z. \*, Houacine S. et Yessad M.

Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA) Hacène Badi El-Harrach Alger (Algérie)

\* Auteur correspondant : z.ferhat@ensa.dz

### Résumé

L'extraction des huiles essentielles à partir des feuilles du laurier noble (*Laurus nobilis* L.) de la région de Tizi-Ouzou et des graines du fenouil (*Foeniculum vulgare* Mill) de Biskra réalisée par hydrodistillation, a conduit à des rendements respectifs de 0,70% et 1,50% (ml/100g). Les analyses qualitative et quantitative par chromatographie phase gaz seule (C.P.G.) et chromatographie phase gaz couplée à la spectrométrie de masse (CG/ SM) des huiles essentielles de ces deux plantes ont permis d'identifier et de quantifier 18 composés de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* représentant 80,6% du total de l'huile dont les principaux constituants sont l' $\alpha$ -terpinyl acétate (19,2%), l'eucalyptol (15%), le linalool (13,1%) et le méthyleugénol (8,3%) et 17 composés de l'huile essentielle de *Foeniculum vulgare* représentant 95,7% du total de l'huile essentielle dont les constituants majoritaires sont le trans-anéthole (79,9%), le limonène (8,7%) et la fenchone (4,2%).

Les analyses qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne sur 2 germes Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*), 2 germes Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*) et 2 levures (*Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*), ont montré que l'huile essentielle de *Laurus nobilis* a fortement inhibé les bactéries et les levures testées (CMI = 0,03-2%), tandis que l'huile essentielle de *Foeniculum vulgare* Mill présente une forte activité antifongique envers *Candida albicans* (CMI = 0,06%) et *Saccharomyces cerevisiae* (CMI = 0,03%).

Les deux plantes étudiées présentent une certaine activité antioxydante. Le degré d'inhibition de l'oxydation lipidique de *Foeniculum vulgare* Mill est plus important que celui de *Laurus nobilis*.

**Mots-clés** : Huile essentielle, hydrodistillation, *Laurus nobilis*, *Foeniculum vulgare*, GC / MS, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

### Summary

The extraction by hydrodistillation of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tizi Ouzou region and seeds of *Foeniculum vulgare* Mill. from Biskra Lead to yields of 0.7 and 1.5% (V/W), respectively. The qualitative and quantitative analyses by GC and GC-MS of the two plants essential oils lead to the identification of 18 components of the essential oil of *Lauris nobilis* representing 80.6% of the total oil with  $\alpha$ -terpinyl acetate (19.2%), eucalyptol (15%), linalool (13.1%) and methyl eugenol (8.3%) as main constituents and 17 components of *Foeniculum vulgare* essential oil representing 95.7% of the oil with trans-anethole (79.9%), limonene (8.7%) and fenchone (4.2%) as major constituents.

The qualitative and quantitative analysis of the antimicrobial activity against 2 Gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*), 2 Gram negative bacteria (*Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*) and 2 yeasts (*Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*) showed a strong inhibition of the tested bacteria and yeasts (CMI= 0.03-2%) by *L. nobilis* essential oil, while *Foeniculum vulgare* essential

oil exerted a strong antifungal activity against *Candida albicans* (CMI=0.06%) and *Saccharomyces cerevisiae* (CMI=0.03%).

The two studied plants showed somewhat antioxidant activity. The degree of inhibition of lipid peroxidation of *F. vulgare* is most important than that of *L. nobilis*.

**Key words** : Essential oil, hydrodistillation, *Laurus nobilis*, *Foeniculum vulgare*, GC/MS, chemical composition, antimicrobial activity, antioxidant activity

## Introduction

Les plantes aromatiques ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir et se soigner, leurs extraits étaient déjà, connus et utilisés par les égyptiens, les romains et les grecs, pour leurs propriétés odorantes et médicinales.

Les plantes aromatiques sont prometteuses et constituent une grande source d'antioxydants et d'antibactériens naturels pour l'industrie agroalimentaire. En effet, l'oxydation des lipides dans les produits alimentaires induit non seulement une diminution de la valeur nutritive de l'aliment, mais aussi des effets reconnus nuisibles pour le consommateur et qui peuvent être associés à des risques de cancer chez l'homme. La présence d'antioxydants dans l'alimentation est devenue essentielle pour la qualité et la sécurité de l'aliment. Les effets négatifs des antioxydants synthétiques encouragent à leur substitution par des agents naturels.

Différentes plantes aromatiques sont caractérisées par la biosynthèse de molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle les huiles essentielles (HE) connues depuis longtemps pour leur activité antiseptique et thérapeutique dans la médecine populaire. La composition chimique des HEs est assez complexe, les composés terpéniques et aromatiques représentant les principaux constituants. On y trouve également, et en faibles concentrations des acides organiques, des cétones et des coumarines volatiles. La nature de la fonction chimique du composé majoritaire (phénol, alcool, aldéhyde, cétone...) joue un rôle prépondérant dans l'efficacité de leurs activités biologiques.

Les conditions climatiques méditerranéennes de l'Algérie favorisent, aussi bien le développement des plantes sauvages (laurier, lentisque...) que

cultivées (fenouil...) et la valorisation de ces ressources naturelles peut avoir des retombées économiques considérables pour notre pays.

Par ailleurs, les nombreuses propriétés naturelles des huiles essentielles en font à la fois des ingrédients nutraceutiques et des agents de conservation très promoteurs pour l'industrie alimentaire. L'intégration des huiles essentielles comme procédé de conservation des aliments s'avère être un choix pertinent car il contribue à contrôler la flore microbienne et à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation.

L'objectif de ce travail est de contribuer à l'étude de la composition chimique du laurier noble (*Laurus nobilis* L.) et du fenouil (*Foeniculum vulgare* Mill) ainsi qu'à l'évaluation de leurs activités antioxydante et antimicrobienne.

## Matériel et méthodes

### Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué par les feuilles à l'état frais du laurier noble (*Laurus nobilis*) provenant de la région de Larbaa Nath Irathen, wilaya de Tizi-Ouzou et les graines de fenouil (*Foeniculum vulgare* Mill) provenant de la wilaya de Biskra.

### Extraction des huiles essentielles

L'huile essentielle des deux plantes étudiées a été extraite par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de Clevenger modifié.

### Analyse semi-quantitative des huiles essentielles par (CPG) et CG/SM

### Chromatographie phase gaz (CPG) seule

Appareil du type GC 6890 N (HP Agilent technologies muni d'une colonne : HP 5-MS

(Crosslinked 5% phenyl methylsiloxane), longueur : 30 m, diamètre interne : 0,25 mm ; l'épaisseur du film de la phase : 0,25  $\mu\text{m}$  ; programmation de la température : 35°C en isotherme pendant 2 min puis augmentation de la température à raison de 5°C/min jusqu'à 320°C ; mode d'injection split avec un rapport de 1/50 ; température de détection 280°C ; gaz vecteur : azote ; débit du gaz vecteur : 1 ml/min ; volume injecté : 0,2  $\mu\text{l}$ . La quantification des différents constituants a été réalisée par GC-FID.

### Chromatographie phase gaz couplée à la spectrométrie de masse CG-SM

La même colonne et les mêmes conditions que ceux décrits précédemment pour la CPG seule. Température de détection 280°C (interface) ; pression ; 6,75 psi ; gaz vecteur : hélium ; débit du gaz vecteur : 1ml/min ; volume injecté : 0,2  $\mu\text{l}$ .

### Spectrométrie de masse

Mode de détection : Scan ; appareil : MS-5973 N (HP Agilent Technologies) ; potentiel d'ionisation : 70 eV ; pression (Source, analyseur) : 6,75 Psi.

L'identification des constituants des deux huiles essentielles extraites est basée sur, la comparaison des spectres de masses des composés à ceux de la littérature (Adams 2007) et à ceux de la librairie de l'ordinateur (NIST 2005) ainsi que la comparaison des indices de rétention (KI) par rapport à ceux de la littérature.

### Activité antimicrobienne

#### Effet inhibiteur

L'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques stériles en cellulose. Cette technique

microbiologique permet d'étudier la sensibilité des germes aux deux huiles essentielles (fenouil et laurier). Son principe est tiré à partir du titrage des ATB « Pharmacopée européenne, 2002 ». Cette méthode a été utilisée auparavant par plusieurs chercheurs, (Chao *et al.*, 2000) et Ozkan *et al.*, 2003).

#### a- Principe

La méthode consiste à déposer un disque stérile en cellulose (disque de 9 mm de diamètre) imprégné d'une quantité bien définie de l'HE, à la surface d'une gélose préalablement coulée dans une boîte de Pétri etensemencée avec le microorganisme testé. L'évaluation de l'activité antimicrobienne est basée sur la mesure du diamètre (en mm) de la zone d'inhibition formée autour du disque.

#### b- Micro-organismes testés

L'activité antimicrobienne des deux HE, a été testée sur 6 micro-organismes (4 bactéries et 2 levures) qui sont tous de souches pures issus de la collection du CRD-SAIDAL (Tab. 1)

#### c- Protocole expérimental

##### - Préparation de la première couche du milieu

Fondre les milieux Mueller-Hinton (MH) pour les bactéries et Sabouraud (SAB) pour les levures, dans un bain marie à 95°C, puis verser aseptiquement une première couche des deux milieux dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre à raison de 15 ml par boîte ; laisser refroidir et solidifier sur paillasse.

##### - Préparation de l'inoculum

À partir d'une jeune culture 18h à 24h pour les bactéries et 48h pour les levures, on réalise des

**Tableau 1** : Souches microbiennes testées

Nom de la souche	N°ATCC	Gram	Famille
<i>Staphylococcus aureus</i>	6538	+	Micrococcaceae
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9027	-	Pseudomonadaceae
<i>Escherichia coli</i>	4157	-	Enterobacteriaceae
<i>Bacillus subtilis</i>	9372	+	Bacillaceae
<i>Candida albicans</i>	24433	/	Cryptococcaceae
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2601	/	Saccharomycetaceae

suspensions microbiennes en prélevant 8 à 10 colonies bien isolées et identiques, qu'on dépose dans 5ml d'eau physiologique stérile puis on agite au vortex.

On réalise une première lecture de la concentration de la suspension à l'aide d'un spectrophotomètre en estimant la transmittance entre 22 et 32% pour les bactéries et entre 2% et 3% pour les levures à une longueur d'onde de 620nm. Les valeurs comprises dans les intervalles cités ci-dessus correspondent à une concentration optimale de 107 - 108 germes/ml, si une des valeurs trouvées à la première lecture n'est pas comprise dans l'intervalle, on l'ajuste soit en ajoutant de l'eau physiologique ou des colonies. A chaque fois, une nouvelle lecture de transmittance est réalisée jusqu'à l'ajustement de la suspension aux valeurs désirées. L'inoculum doit être utilisé dans les 15 min qui suivent sa préparation.

#### **- Préparation de la deuxième couche du milieu**

Les milieux MH et SAB fondus, sont refroidis jusqu'à atteindre une température de 45°C.

Les milieux correspondant à chacune des couches sont transvasés dans des flacons de 50ml, puisensemencés avec 20µl de la suspension. 4ml de chaque milieuensemencé sont déposés sur la surface de la première couche puis agités manuellement en faisant pivoter la boîte sur elle-même pour avoir une surface uniforme. En les laissant sur paillasse, ces derniers seront solidifiés.

#### **- Dépôt des disques**

Les disques sont prélevés à l'aide d'une pince stérile. Ces derniers sont imbibés avec les HE à tester en mettant en contact seulement le bout des disques, et celles-ci vont être absorbées progressivement jusqu'à imprégnation totale de tous les disques ; puis ils sont déposés sur la surface de la gélose et vont diffuser pendant 30 min et incubé à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 25°C pendant 48h pour les levures.

#### **Concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu solide**

Les concentrations minimales inhibitrices sont définies comme la dernière ou la plus

basse concentration d'un agent antimicrobien qui peut inhiber visiblement la croissance d'un microorganisme après 24h d'incubation pour les bactéries et 48h pour les levures.

Après le dénombrement des germes, on prépare une suspension de 104 germes/ml à partir d'une culture microbienne de 24h pour les bactéries et 48h pour les levures. Une liquéfaction de 200ml du MH et SAB à 95°C dans un bain marie avec l'ajout de 1ml de Tween 80, a été réalisée. Une série de dilutions variant de 2 à 0,03% de chaque huile essentielle a été préparée, puis versée dans les boîtes de Pétri. Ces dernières sont séchées, puisensemencées par sportage, à l'aide d'une micro seringue à raison de 1-2 µl, des suspensions microbiennes de 10<sup>4</sup>germes/ml. Les boîtes témoins contiennent le MH et SAB avec Tween 80 sans huile essentielle.

#### **Evaluation de l'activité antioxydante**

##### **Matière première**

L'activité antioxydante de l'huile essentielle des deux espèces étudiées a été évaluée sur l'huile brute de soja provenant de l'Entreprise Nationale des Corps Gras d'Alger.

##### **Mode opératoire**

Seize flacons en verre transparent d'environ 200ml remplis à moitié avec l'huile de soja ont été mis dans de mauvaises conditions de stockage (air, lumière du jour, température ambiante) Tab. 2.

Le suivi de l'état oxydatif de l'huile de soja a été effectué par dosage des acides gras par chromatographie phase gaz, avant et après oxydation, en mesurant l'indice de peroxyde et l'absorbance par spectrophotométrie UV.

##### **Méthodes d'analyses**

###### **a- Dosage des acides gras**

Le dosage des acides gras par chromatographie phase gaz a été réalisé selon la norme AFNOR ISO 5509.

###### **b- Indice de peroxyde**

Cet indice mesuré par la méthode décrite par (Wolff 1968) consiste à :

**Tableau 2** : Répartition des échantillons (ppm : partie par millions)

Nature de la substance ajoutée	Numéro du flacon d'huile de soja	Concentration de la substance ajoutée (ppm)
–	Témoin	–
<b>Huile essentielle de laurier</b>	1	100
	2	250
	3	500
	4	750
	5	1000
<b>Huile essentielle de fenouil</b>	6	100
	7	250
	8	500
	9	750
	10	1000
<b>BHT (ButyHydroxyToluène)</b>	11	100
	12	250
	13	500
	14	750
	15	1000

(ppm : partie par millions)

Peser 2g de corps gras dans un erlenmeyer et ajouter 10ml de chloroforme et 15ml d'acide acétique. Puis 1ml d'une solution saturée d'iodure de potassium est rajouté. Après une minute d'agitation, le mélange est stocké à l'abri de la lumière pendant 5 min. Ensuite, 75ml d'eau sont rajoutés pour arrêter la réaction. 5 gouttes d'empois d'amidon sont versées sur la solution, et immédiatement, le titrage est réalisé avec une solution de thiosulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) N/100 jusqu'à disparition de la coloration violette. Un essai à blanc est effectué dans les mêmes conditions.

### c- Mesure des diènes conjugués

L'évaluation de la mesure des diènes conjugués est réalisée selon la Norme ISO 365.

Cette méthode est liée directement à la composition chimique de l'huile alimentaire en particulier à ses teneurs respectives en acides oléique, linoléique et linoléique (Wolff 1968).

### d- Pouvoir réducteur

L'aptitude des HEs à réduire le fer ferrique du complexe ferrocyanure-Fe+3 en fer ferreux, est évaluée par la méthode décrite par (Oyaizu 1986).

## Résultats et discussion

### Composition chimique des huiles essentielles étudiées

L'huile essentielle de fenouil est caractérisée par une dominance des composés monoterpènes oxygénés avec une teneur de 85,1% dont le trans-anéthole représente 79,9% suivi de la fenchone avec une teneur de 4,2% ; par contre les hydrocarbures monoterpéniques constituent 10,6% dont le limonène (8,7%) (Tab. 3).

Nos résultats concordent avec les travaux de (Telci *et al.*, 2009), Damjanovica *et al.*, 2005, Renjie *et al.*, 2010) qui classent les composants selon leurs teneurs en trans-anéthole (70-89%), limonène (3-9,6%) suivis de la fenchone et de l'estragol à

**Tableau 3** : Composition (%) des huiles essentielles de fenouil (*Foeniculum vulgare* Mill) et du laurier noble (*Laurus nobilis*)

N	*KI	Composés	Fenouil	Laurier
1	928	$\alpha$ -thujene	t	-
2	936	$\alpha$ -pinene	0,5	0,8
3	950	camphene	t	-
4	973	Sabinène	0,3	2,4
5	978	B-pinène	t	0,9
6	989	$\beta$ -myrcène	0,3	0,2
7	1004	$\alpha$ -phellandrene	0,1	-
8	1011	$\delta$ -3-carène	t	-
9	1024	p-cymène	0,2	-
10	1030	limonène	<b>8,7</b>	-
11	1032	eucalyptol	0,9	<b>15</b>
12	1038	Cis- $\beta$ -ocimène	<b>0,1</b>	-
13	1060	$\gamma$ -terpinène	0,4	-
14	1088	fenchone	4,2	-
15	1099	linalool	-	<b>13,1</b>
16	1143	camphor	0,1	-
17	1166	bornéol	-	0,4
18	1177	Terpinène-4-ol	-	1,9
19	1190	$\alpha$ -terpinéol	-	2,1
20	1295	Trans-anethole	<b>79,9</b>	-
21	1347	$\alpha$ -terpiny-acétate	-	<b>19,2</b>
22	1357	eugénol	-	-
23	1402	methyleugénol	-	<b>8,3</b>
24	1420	$\beta$ -caryophyllène	t	<b>0,7</b>
25	1543	(z)-nérolidol	-	1,1
26	1576	spathuléol	-	2
27	1581	Caryophyllène oxide	-	1,6
28	1643	Tau-muurolol	-	2,7
29	1652	$\alpha$ -cadinol	-	4,1
		Composés identifiés (%)	<b>95,7</b>	<b>80,6</b>
		Hydrocarbures Monoterpéniques	10,6	4,3
		Monoterpènes oxygénés	85,1	64,1
		Hydrocarbures Sesquiterpéniques	-	0,7
		Sesquiterpènes oxygénés	-	11,5

\*KI : indices de rétention relatifs à la série des n-alcanes C<sub>9</sub>-C<sub>17</sub> ; t= traces  
(Concentration <0.05%)

des concentrations variant de 1 à 18%. Par contre (Coelho et al., 2003), indiquent une teneur plus importante en anéthole (43%) suivi de l'estragol et de la fenchone avec 21% et 17% respectivement. Lahhit et al., (2011), ont relevé une teneur de 20,8% de limonène, 17,8% de beta-pinène et 12,5% de la fenchone.

L'huile essentielle de laurier est caractérisée par une dominance des composés monoterpènes oxygénés avec une teneur de 64,1% dont l' $\alpha$ -terpinyl acétate représente 19,2% suivi de l'eucalyptol, du linalool, du méthyleugénol et de l'eugénol avec des teneurs de 15%, 13,1%, 8,3% et 4,1% respectivement ; par contre les sesquiterpènes oxygénés représentent 11,5% dont l' $\alpha$ -cadinol représente 4,1%, suivi du tau-murolol et du spathulenol avec des teneurs de 2,7 et 2% respectivement (Tab. 3).

Sangun et al., (2007), montrent que dans trois régions : Antakya, Yayladagi et Samandagi de la province de Hatay en Turquie, le 1,8-Cinéole est le produit majoritaire avec des teneurs variant de 46,6 à 59,9 %, suivi de l' $\alpha$ -terpinyl acétate dont les teneurs varient de 12 à 25,7%.

### Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des HES est évaluée en fonction du diamètre (mm ou cm) des zones d'inhibition de la croissance microbienne (Haddouchi et al., 2008, Derwich et al., 2009).

### Effet inhibiteur

Les résultats relatifs aux diamètres des zones d'inhibition révélées par les huiles essentielles (Tab. 4) en utilisant le test de l'aromatogramme montrent,

que l'HE de laurier noble a fortement inhibé la croissance des bactéries et des levures, sauf pour *Pseudomonas aerogenosa* où sa croissance est faiblement inhibée (10,95mm). Par contre, l'HE de fenouil a une activité plus ou moins modérée sauf dans le cas de *Candida albicans* qui est fortement inhibée et marque une zone inhibitrice plus importante (34,75mm).

L'HE de laurier noble présente une activité plus importante que celle du fenouil au contact de *Bacillus subtilis* avec 46 mm pour l'HE de laurier et 14 mm pour le fenouil.

Les deux huiles essentielles ont montré une grande efficacité vis-à-vis des souches mycéliennes.

Les résultats obtenus, concordent avec les travaux de Haddouchi et al. (2008) qui 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*.

Selon Singh et Maurya, (2006), le trans-anéthole est le composé principal de l'huile essentielle de fenouil, ce composé contribue à une activité antifongique importante, ce qui concorde avec le résultat obtenu pour l'HE de fenouil dont le trans-anéthol occupe une proportion de 79,9% (Tab. 3).

Selon Sivropoulou et al., (1997) in (Derwich et al., 2009), le composé majoritaire de l'HE de laurier, le 1,8-cinéole ou eucalyptol, est à l'origine de l'activité antibactérienne vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. L'activité antimicrobienne de l'HE de fenouil testée, serait principalement due aux monoterpènes oxygénés dont l' $\alpha$ -terpinyl acétate est le constituant majoritaire.

**Tableau 4** : Sensibilité des souches étudiées aux HE de laurier et fenouil (diffusion en mm par disque)

Germes	HE	
	HE de laurier noble	HE de fenouil
<i>Bacillus subtilis</i>	46	14
<i>Escherichia coli</i>	20.25	17.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	26	14
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	10.95	12
<i>Candida albicans</i>	36.25	34.75
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	32	20

L'HE de laurier est plus efficace contre les Gram positifs, par contre l'huile de fenouil a montré une efficacité modérée vis-à-vis de ces mêmes bactéries. Mais les travaux de Shahat et al. (2011), ont montré que l'activité des huiles essentielles des différentes variétés de fenouil est plus importante pour les Gram positifs.

### Analyse quantitative : détermination de la CMI

Ces résultats confirment les résultats précédents de l'analyse qualitative (zones d'inhibition des différentes souches microbiennes).

La CMI des deux huiles testées (Tab. 5 et Tab. 6), vis-à-vis de *Bacillus subtilis* est inférieure à la concentration 0,03% d'où ce germe ne présente aucun développement, de même pour l'huile essentielle de laurier vis-à-vis de *Saccharomyces cerevisiae* et *Candida albicans* avec des CMI de 0,03 et 0,06%, respectivement. Ces germes sont fortement sensibles à l'huile essentielle du

laurier avec des zones d'inhibition de diamètres de 46mm, 36,25mm et 32mm pour *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, et *Saccharomyces cerevisiae* respectivement (Tab. 5). Par contre en présence de l'HE de fenouil, les deux levures ne présentent aucun développement à une CMI de 0,12%. Une même CMI de 0,5% des huiles essentielles vis-à-vis d'*Escherichia coli* est observée.

Avec une zone d'inhibition inférieure à 12,5mm, *Pseudomonas aeruginosa* montre une grande résistance en présence des deux huiles essentielles testées et fournit une CMI supérieure à 2%.

Selon Oussalah et al., (2006), en présence de l'huile essentielle de laurier, *Pseudomonas putida* est moins résistante et enregistre une CMI de 0,8%.

*Staphylococcus aureus* présente une grande résistance avec une CMI de 0,06% avec l'HE de laurier et atteint une CMI de 0,25% avec l'HE de fenouil.

Derwich et al., (2009) ont montré que l'activité antimicrobienne de l'HE de laurier du Maroc est importante vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 13mm et une CMI de 0,35%.

**Tableau 5** : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'HE de fenouil vis-à-vis des souches testées

Germes	HE	CMI fenouil						
		2%	1%	0,50%	0,25%	0,12%	0,06%	0,03%
<i>Bacillus subtilis</i>		-	-	-	-	-	-	CMI<
<i>Staphylococcus aureus</i>		-	-	-	CMI	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>		-	-	CMI	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		CMI>	+	+	+	+	+	+
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		-	-	-	-	CMI	+	+
<i>Candida albicans</i>		-	-	-	-	CMI	+	+

**Tableau 6** : Concentrations minimales inhibitrices de l'HE de laurier vis-à-vis des souches testées

Germes	HE	CMI laurier						
		2%	1%	0,50%	0,25%	0,12%	0,06%	0,03%
<i>Bacillus subtilis</i>		-	-	-	-	-	-	CMI<
<i>Staphylococcus aureus</i>		-	-	-	-	-	CMI	+
<i>Escherichia coli</i>		-	-	CMI	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		CMI>	+	+	+	+	+	+
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		-	-	-	-	-	-	CMI>
<i>Candida albicans</i>		-	-	-	-	-	CMI	+



Nos résultats montrent une meilleure efficacité de l'HE de laurier avec une zone d'inhibition de 26 mm et une CMI de 0,06%.

## Activité antioxydante

### Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des huiles essentielles étudiées et du Butyl-Hydroxy-Toluène (BHT) exprimé par l'absorbance à 700 nm augmente en fonction des concentrations (Tab. 7) et montre que l'HE de laurier noble manifeste une faible capacité réductrice par rapport au BHT, par contre, le fenouil a enregistré une capacité beaucoup plus importante que celle de l'HE de laurier et modérée par rapport à celle du BHT.

### Dosage des acides gras par CPG

L'analyse par CPG des esters méthyliques d'acides gras de l'huile de soja (HS) avant et après oxydation est résumée dans le Tab. 8.

On constate une différence des proportions des acides gras insaturés où la proportion de l'acide linoléique tend à diminuer alors que celle de l'acide linoléique tend à augmenter (Tab. 8). Cette évolution peut être expliquée selon Eymard (2003) par le fait que les acides gras polyinsaturés à longues chaînes sont oxydés prioritairement et leur

proportion diminue au cours de l'avancement des réactions d'oxydation.

Les résultats de dosage des acides gras (Tab. 8) enregistrent l'existence d'une oxydation de l'HS après stockage et cette oxydation est estimée par les mesures de l'indice d'oxydation et des diènes conjuguées.

On constate une différence des proportions des acides gras insaturés où la proportion de l'acide linoléique tend à diminuer alors que celle de l'acide linoléique tend à augmenter. Cette évolution peut être expliquée selon (Eymard, 2003) par le fait que les acides gras polyinsaturés à longues chaînes sont oxydés prioritairement et leur proportion diminue au cours de l'avancement des réactions d'oxydation.

Les résultats de dosage des acides gras (Tab. 8) enregistrent l'existence d'une oxydation de l'HS après stockage et cette oxydation est estimée par les mesures de l'indice d'oxydation et des diènes conjuguées.

Les figures 1-3 révèlent l'évolution de l'effet antioxydant en fonction des concentrations de la même huile essentielle et de l'antioxydant synthétique BHT.

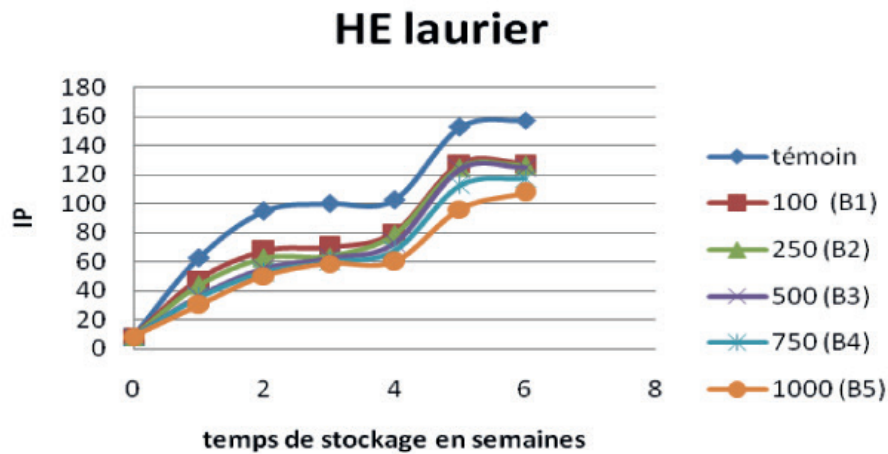
Le témoin manifeste une forte augmentation de l'indice de peroxyde et enregistre une valeur qui passe de 8,5 à 157,5 meq/Kg du corps gras à la fin de l'expérimentation (Fig. 3).

**Tableau 7** : Pouvoir réducteur des HE étudiées et de BHT

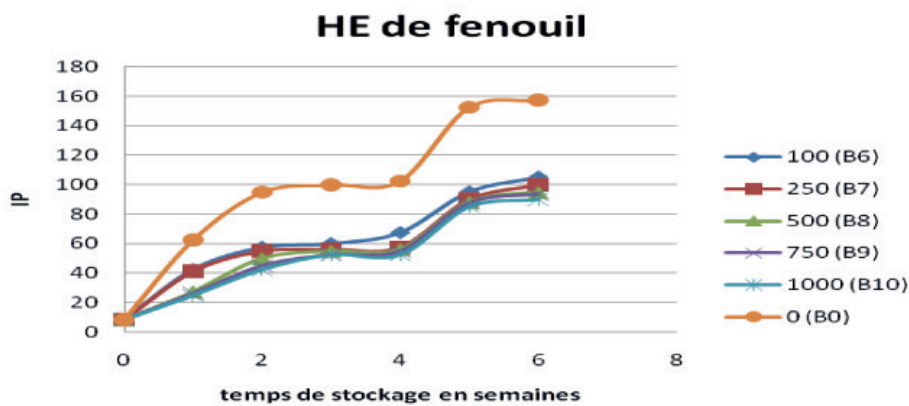
Concentrations	Laurier	Fenouil	BHT
100 ppm	0,027	0,087	1,192
250 ppm	0,058	0,21	1,584
500 ppm	0,083	0,444	1,707
750 ppm	0,103	0,649	1,732
1000 ppm	0,119	0,921	1,768

**Tableau 8** : Composition en acides gras de l'huile de soja avant et après stockage

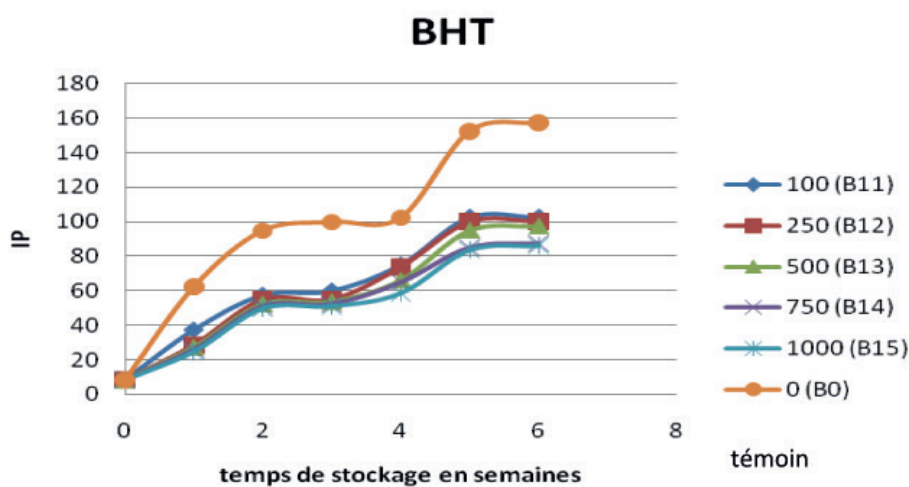
Acides gras	(%) avant stockage	(%) après stockage
Acide palmitique: C16 :0	10,9	10,9
Acide stéarique : C18 :0	4,2	4,4
Acide oléique : C18 :1	22,3	22,6
Acide linoléique: C18 :2	53,9	54,3
Acide linoléique: C18 :3	8,8	7,8



**Figure 1** : Evolution de l'indice de peroxyde (IP) (méc. d'O<sub>2</sub> actif/Kg CG) de l'huile de soja en fonction des concentrations de l'HE de laurier noble durant 6 semaines de stockage.



**Figure 2** : Evolution de l'indice de peroxyde (méc. d'O<sub>2</sub> actif/Kg CG) de l'huile de soja en fonction des concentrations de l'HE de fenouil durant 6 semaines de stockage.



**Figure 2** : Evolution de l'indice de peroxyde (méc. d'O<sub>2</sub> actif/Kg CG) de l'huile de soja en fonction des concentrations de l'HE de fenouil durant 6 semaines de stockage.

**Tableau 9** : Absorbance à 270nm et 232nm

Echantillons*	Absorbance	
	232nm	270nm
Témoin	0,140	0,006
HS après 6 semaines de stockage	0,844	0,061
HS + L	0,737	0,051
HS + F	0,707	0,0495
HS + BHT	0,608	0,041

\*HS= Huile de soja seule ; HS+L= Huile de soja + huile essentielle de laurier ;  
HS+F= Huile de soja + huile essentielle de fenouil.

Le BHT et le fenouil présentent une activité antioxydante sensiblement identique comparativement à l'HE de laurier, dont la capacité antioxydante est moins importante et enregistre à la 5<sup>ème</sup> semaine des valeurs d'indice de peroxyde dépassant 100 meq/Kg du corps gras (CG), contrairement à l'HE de fenouil et du BHT qui enregistrent respectivement 87,5 et 85 méq./ Kg de corps gras.

#### Absorbance par spectrophotométrie ultra-violette

L'absorbance par spectrophotométrie UV à 270nm et 232nm avant et après 6 semaines de conservation des échantillons est mentionnée dans le Tab. 9.

Il est à noter que plus l'absorbance à 270nm est élevée, plus l'huile de soja contient des produits secondaires, et plus elle augmente à 232nm, plus l'huile de soja est peroxydée.

Une absorbance élevée, est observée pour l'HS après 6 semaines de conservation ce qui justifie l'oxydation de l'HS en comparant les absorbances obtenues avant et après stockage.

L'absorbance à 232nm de l'HS+L est beaucoup plus importante que celles de l'HS+F et l'HS+BHT, par conséquent l'HS+L est peroxydée, on en déduit que l'efficacité antioxydante de l'HE de laurier est moins importante que celle du fenouil et du BHT. L'HE de fenouil et le BHT montrent une forte protection de l'HS contre l'oxydation.

#### Conclusion

Les huiles essentielles du laurier et du fenouil se présentent comme des antioxydants assez actifs pouvant être une alternative à des antioxydants de synthèse tels que le BHT dans la préservation de l'huile de soja contre l'oxydation durant le stockage. De plus ces deux huiles s'avèrent très inhibitrices vis-à-vis de *Bacillus subtilis*. L'HE de laurier est bactéricide et fongicide alors que celle du fenouil est beaucoup plus fongicide.

#### Références

- Adams R.P.; 2007.- Identification of Essential Oil Components by gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4 th Edition. Allured publishing corporation Carol Stream USA.
- Chao S. C., Young D. G., Oberg G. J.; 2000.- Screening for inhibitory activity of Essential Oils on selected Bacteria, Fungi and viruses. J. Essent. Oil Res.; vol. 12, p.p.639-649.
- Coelho J.A.P., Pereira A.P., Mendes R.L., Palavra A.M.F.; 2003.- Supercritical carbon dioxide extraction of *Foeniculum vulgare* volatile oil. Flav. and Frag. Journal, vol.18, n.4, p.p. 316-319.
- Damjanovica B., Lepojevicb Z., Zivkovicc V., Aleksandar Tolic A.; 2005.- Extraction of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill) seeds with supercritical

- CO<sub>2</sub> Comparison with hydrodistillation Food Chemistry, vol. 92, n.1, p.p 143-149.
- Derwich E., Benziane Z., Boukir A., 2009,- Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. Australian Journal of Basic and Applied Science, vol.3, n.4, p.p. 3818-3824.
- Haddouchi F., Benmansour A. ; 2008.- Huiles essentielles, utilisations et activité biologique: Application à deux plantes aromatiques. Les technologies de laboratoire, n.8, p.p. 20-27.
- Lahhit N., Bouyanzer A., Desjobert J.M., Hammouti B., Salghi R., Costa J., Jama C., Bentiss F., Majidi L. ; 2011.- Fennel (*Foeniculum vulgare*) essential oil as green corrosion inhibitor of carbon steel in hydrochloric acid solution. Portugatae Electrochimica ACTA, vol.29, n.2, p.p.127-138.
- Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M. ; 2006.- Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. Meat science, vol. 73, p.p. 233-246.
- Oyaizu M.; 1986.- Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Japan Journal of Nutrition, vol. 44. p.p. 307-315.
- OzKan G., Sagdic O., Baydar N.G. et Baydar H.; 2003.- Inhibition of pathogenic bacteria by essential oils at different concentrations. Food Science and Technology International, vol.9, n.2, p.p. 85-88.
- Renjie L., Zhenhong L., Shidi S.; 2010.- GC-MS Analysis of fennel essential oil and its effect on microbiology growth in rats' intestine. *Afr. J. Microbiol. Res*, 4, 1319-1323.
- Sangun M., K., Aydin E., Timur M., Karadeniz H., Caliskan M., and Ozkan A.; 2007.- Comparison of chemical composition of the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves and fruits from different regions of Hatay, Turkey. Journal of Environmental Biology, 28(4) 731-733.
- Shahat A.A., Ibrahim A.Y., Hendawy S.F., Elsayed A.O., Hammouda F.M., Abdel-Rahman F.H., Mahmoud A.S.; 2011.- Chemical Composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils from organically cultivated fennel cultivars, Molecules, vol.16, p.p. 1366-1377.
- Singh G., Maurya S.; 2006.- Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. Food Control, p.p. 547-552.
- Sivropoulou, Nicolaou C., Papanikolaou E., Dokkini S., Lanaras T., and Arsenakis M. ; 1997.- "Antimicrobial, cytotoxic and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oil" Journal of Agricultural and Food Chemistry 45, 3197-3201.
- Telci I., Demirtas I., Sahin A. ; 2009.- Variation in plant properties and essential oil composition of sweet fennel (*F. vulgare* Mill) fruits during stages of maturity. Industrial Crops and Products, vol. 30, p.p.126-130.
- Wolff J.P.; 1968.- Manuel d'analyse des corps gras. Ed. Azoulay, Paris, 548p.