

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



Université BLIDA 1
Faculté des Sciences
Département de Chimie

Mémoire présenté par

Abbas Meriem

Maouche Ryma Nadjela

En vue d'obtenir le diplôme de Master

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

Option : **Chimie des produits Naturels**

Titre :

**Etude chimique des huiles essentielles de *Cuminum cyminum* et
Cinnamomum zeylanicum, test de synergisme antibactérien contre des
microorganismes liés à l'alimentation**

Soutenu publiquement le 24 juillet devant le jury composé de :

Y. Daghbouche

Pr

Présidente Université Blida 1

K. Eddouada

MCB

Examineur Université Blida 1

M.R. Zahi

MCB

Promoteur Université Blida 1

Promotion 2018-2019

Remerciements

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات

- *Au terme de notre travail, nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères Au bon Dieu pour la patience et la sante qui nous ont été utiles tout au long de notre parcours.*
- *Il nous est agréable de remercier notre promoteur Mr Zahi M. R, pour nous avoir assuré l'encadrement et le temps qu'il nous a consacré pour ces conseils qui ont été précieux à la réalisation de ce travail.*
- *On exprime nos sincères remerciements et notre profonde reconnaissance à M. Daghbouche Y, qui nous a honorées de sa présence en acceptant de présider le jury de cette soutenance.*
- *Nos remerciements et nos profondes considérations vont à l'endroit de Mr. Eddouada K, qui a accepté de donner des critiques sur ce mémoire et d'éclaircir avec leurs commentaires.*
- *Aux responsables du laboratoire, qui nous ont accepté de nous accueillir, et de nous faciliter notre intégration dans le milieu de la pratique, on exprime nos gratitudes.*
- *Nos remerciements à M. Bouderbale .H pour ça bien vaillance, ses conseils, ses aides pendant la période de travail et à tout l'équipe du Centre Nationale de Toxicologie Institut de Pasteur Enfin, nos remerciements vont vers toutes les personnes qui, de près ou de loin nous ont apportés leur soutien, leur conseil et leur contribution dans l'édification de ce mémoire.*

DÉDICACE

Je dédie ce travail à :

Mes très chers parents que dieu les protège pour leurs soutiens depuis
toujours

Mes sœurs : Cherifa et Nesrine

Mes tantes, mon oncle et mes cousines

Mon binôme Meriem

Ma meilleur amie Zahia

Tous mes amis(es) : Amel, Manel, et Zineb

Mes collègues de la promotion de CPN pour les sympathiques moments
qu'on a passé ensemble.

Ryma Nadjela

Dédicace

*Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que
Je dédie A :*

*Ma très chère idéale mère, source de tendresse, en témoignage
de ma reconnaissance pour son amour, sa patience et sa
compréhension.*

*Mon très cher père l'homme le plus parfait dans le monde, le secret
de ma réussite et mon grand exemple qui à rêver toujours de me voir
heureuse.*

*Que Dieu vous protège et vous réserve une longue vie pleine de
bonheur et de santé.*

*Ma chère et unique sœur Ryma, mes frères Amine Mahdi et Lotfi,
Mon binôme « Rym »*

Mes meilleures copines « Amel, Nabila ».

*A tous ma 2eme famille « groupe tournage » mes collègues de la
promotion.*

Et tous ceux qui m'ont Soutenus de près ou de loin.

Meriem

الملخص

للزيوت الأساسية أنشطة مهمة مضادة للجراثيم ويمكن أن تحل محل المضادات الحيوية بنجاح والتي تُظهر عدم كفاءتها ضد الكائنات الحية الدقيقة المقاومة، مما أدى بنا إلى إجراء التحليل الكيميائي والنشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية لاثنين من النباتات العطرية المحلية *Cuminum* و *Cinnamomum Zeylanicum* و *Cyminum*.

تمت عملية الاستخراج عن طريق التكسير المائي فكان المردود حوالي 1.72% و 1.67% على التوالي. تم تحليل الزيوت الأساسية بواسطة GC / MS. كشفت عن وجود 16 من مكونات *Cuminum cyminum* و 22 من مكونات *Cinnamomum zeylanicum*، وكانت المركبات الرئيسية عبارة عن *cinnamaldehyde* و *monoterpenes oxygénés cuminaldéhyde*.

اتضح النشاط المضاد للجراثيم من خلال الطريقة المتوسطة الصلبة وطريقة التخفيف الجزئي في وسط سائل. كل من الزيوت نشطة للغاية ضد البكتيريا 5 التي تم اختبارها. تم تأزر الزيتين مقابل 3 سلالات *E. cloacea*, *L. monocytogene* et *E. coli*.

الكلمات المفتاحية: *Cuminum Cuminum* ، *Cyminum* ، *Cinnamomum zeylanicum* ، زيت أساسي ، CG / MS ، نشاط مضاد للجراثيم ، التأزر.

Abstract

Essential oils have important antibacterial activities and can successfully replace antibiotics that are inefficient against resistant microorganisms, which led us to perform the chemical analysis and antibacterial activity of essential oils from two local aromatic plants; *Cuminum cyminum* and *Cinnamomum zeylanicum*. The extraction was carried out by hydrodistillation with a yield of 1.72% and 1.67% respectively. The chemical analysis of essential oils by GC/MS; revealed the presence of 16 constituents of *Cuminum cyminum* and 22 constituents of *Cinnamomum zeylanicum*. The major compounds were oxygenated monoterpenes cuminaldehyde and cinnamaldehyde. The antibacterial activity was performed by the solid medium and the microdilution methods in a liquid medium. Both oils are very active against the 5 bacteria tested. Synergism of the two oils was encountered against 3 *E. cloacea*, *L. monocytogenes* and *E. coli* strains. In contrast, and addition effect was found with the two others strains.

Key words: *Cuminum cyminum*, *Cinnamomum zeylanicum*, Essential oil, GC/MS Antibacterial activity, Synergy.

Résumé

Les huiles essentielles possèdent d'importantes activités antibactériennes et peuvent se substituer avec succès aux antibiotiques qui montrent leurs inefficacités à l'encontre des microorganismes résistants, ce qui nous a conduits à effectuer l'analyse chimique et l'activité antibactérienne des huiles essentielles issues de deux plantes aromatiques locales ; *Cuminum cyminum* et *Cinnamomum zeylanicum*. L'extraction est effectuée par hydrodistillation avec un rendement de 1,72% et 1,67% respectivement. L'analyse des huiles par CG/SM a révélé la présence de 16 constituants de *Cuminum cyminum* et 22 constituants de *Cinnamomum zeylanicum*, les composés majoritaires étaient des monoterpènes oxygénés cuminaldéhyde et cinnamaldéhyde. L'activité antibactérienne est mise en évidence par la méthode en milieu solide et la méthode de microdilution en milieu liquide. Les deux huiles sont très actives vis-à-vis aux 5 souches testées. Le synergisme des deux huiles a été rencontré contre 3 souches *E. cloacea*, *L. monocytogene* et *E. coli*. Par contre, un effet d'addition a été trouvé pour les deux autres souches.

Mot clés : *Cuminum cyminum*, *Cinnamomum zeylanicum*, Huile essentielle, CG/SM, Activité antibactérienne, Synergie.

Liste des abréviations

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

µm : Micromètre

µL : Microlitre

µl/ml : Microlitre par millilitre

Cm : Centimètre

M : Mètre

Mm : Millimètre

mg/l : Microgramme par litre

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AFNOR : Association française de normalisation

ATCC: American Type Culture Collection

B. cereus : *Bacillus cereus*

B. cuspidata: *Buddleja cuspidata*

B. fragilis : *Bacteroides fragilis*

B. ogadensis : *Boswellia ogadensis*

B. persicum : *Bunium persicum*

B. subtilis : *Bacillus subtilis*

C. albicans: *Candida albicans*

C. cyminum : *Cuminum cyminum*

C. dubliniensis : *Candida dubliniensis*

C. glabrata : *Candida glabrata*

CIF : Concentration Inhibitrice Fractionnaire

C. krusei : *Candida krusei*

CLSI : Clinical & Laboratory Standards Institute

C. tropicalis : *Candida tropicalis*

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

C. Zeylanicum : *Cinamomum Zeylanicum*

d.i : diamètre intérieur

DPPH : 2-2diphénylpicrylhydrazyl

E. coli : *Escherichia coli*

E. cloacea : *Enterobacter cloacea*

E faecali : *Enterococcus faecali*

E. feacium : *Enterococcus feacium*

EUCAST : Européen Comité sur les tests de sensibilité aux antimicrobiens

EV : Électron volt

CG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

HE : Huile essentielle

ICIF : La fraction inhibitrice moyenne des indices de concentration

ISP2 : International Streptomyces Project 2

K. pneumoniae : *Klebsiella pneumonia*

LB : Luria-Bertani

L. monocytogenes: *Listéria monocytogenes*

NIST: National Institute of Standards and Technology

P. aeruginosa: *Pseudomonas aeruginosa*

P. vulgaris : *Proteus vulgaris*

M. pyocyaneus : *Micrococcus pyocyaneus*

R^{dt} : Rendement

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

S. cerevisiae : *Saccharomyces cerevisiae*

S. Enteritidis : *Salmonella enteritidis*

v/y : Volume / volume

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure I.1 : Parties aériennes de la plante de <i>Cuminum cyminum</i> | 6 |
| Figure I.2 : Les différentes parties de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | 6 |
| Figure I.3 : L'arbre à <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | 10 |
| Figure I.4 : Situation géographique du Sri Lanka (Ceylan) | 10 |
| Figure I.5 : Batons et poudre d'écorce de <i>cinnamomumzeylanicum</i> | 11 |
| Figure II.1: Carte géographique de la région d'Oued Souf | 18 |
| Figure II.2: Photo des épices sélectionnés (à gauche : huile de <i>C. cyminum</i> et à droite : huile de <i>C. zeylanicum</i>) | 19 |
| Figure II.3: Dispositif d'extraction Clevenger | 19 |
| Figure II.4: Huiles essentielles extraites (A : huile de <i>C. cyminum</i> et B : huile de <i>C.Zeylanicum</i>) | 20 |
| Figure II.5: Appareil de chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrophotométrie de masse | 21 |
| Figure II.6 : Variation du rendement en huile essentielle de <i>C. Cyminum</i> dans quelques pays | 23 |
| Figure II.7 : Variation du rendement en huile essentielle de <i>C.Zeylanicum</i> dans quelques pays.. | 24 |
| Figure III.1 : Illustration de la méthode d'aromatogramme..... | 30 |
| Figure III.2 : Représentation de la méthode de macro dilution de matrices testées | 33 |
| Figure III.3 : Histogramme des résultats des CMI | 39 |
| Figure III.4 : Représentations en damier de l'association des deux huiles essentielles. Les cellules en noire montrent les combinaisons testées | 42 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau I.1 : Production de cannelle dans le monde | 12 |
| Tableau II.1 : Propriétés organoleptiques des huiles essentielles <i>Cinnamomum Zeylanicum</i> et <i>Cuminum cyminum</i> | 22 |
| Tableau II.2 : Constituants de l'huile essentielle de <i>C. cyminum</i> | 25 |
| Tableau II.3 : Constituants de l'huile essentielle de <i>C. zeylanicum</i> | 27 |
| Tableau III.1 : Généralités sur les souches bactériennes utilisées | 29 |
| Tableau III.2 : Résultats de l'aromatogramme général de toutes les bactéries étudiées | 38 |
| Tableau III.3 : L'indice de concentration inhibitrice fractionnelle (ICIF) de <i>C. Cyminum</i> et de <i>C. Zeylanicum</i> | 42 |

Liste des schémas

| | |
|--|----|
| Schéma III. 1 : La répartition des concentrations des huiles essentielles obtenues à partir des différentes dilutions..... | 36 |
|--|----|

SOMMAIRE

| | |
|---|------|
| Remerciements..... | I |
| Dédicace..... | II |
| المخلص..... | III |
| Abstract..... | IV |
| Résumé..... | V |
| Liste des abréviations..... | VI |
| Liste des figures..... | VII |
| Liste des tableaux..... | VIII |
| Liste des schémas..... | IX |
| Introduction général..... | 1 |
| Chapitre 1 : Synthèse bibliographique | |
| I.1 Généralités sur les huiles essentielles..... | 3 |
| I.1.1 Définition..... | 3 |
| I.1.2 Procédés d'extraction des huiles essentielles..... | 3 |
| I.1.2.1 Techniques de l'hydro-distillation /l'entraînement à la vapeur..... | 3 |
| I.1.2.2 Extraction assistée par micro-onde..... | 3 |
| I.1.2.3 Extraction par CO2 supercritique..... | 3 |
| I.1.3 Composition chimique des huiles essentielles..... | 4 |
| I.2 Généralités sur l'espèce <i>Cuminum cyminum</i> | 4 |
| I.2.1 Etude taxonomique et systématique de l'espèce..... | 4 |
| I.2.2 Position systématique..... | 5 |
| I.2.3 Description botanique du <i>Cuminum Cyminum</i> | 5 |
| I.2.4 Distribution géographique..... | 6 |
| I.2.5 Etude chimique de l'espèce <i>Cuminum Cyminum</i> | 7 |
| I.2.5.1 Eude chimique des extraits lipidiques des graines de <i>Cuminum cyminum</i> | 7 |
| I.2.5.2 Composition chimique d'huile essentielle de <i>Cuminum cyminum</i> | 7 |
| I.2.6 Les activités biologiques d'huile essentielle du <i>Cuminum cyminum</i> | 8 |
| I.2.6.1 Activité antimicrobienne..... | 8 |
| I.2.6.1.1 Activité antimicrobienne qualitatifs..... | 8 |
| I.2.6.1.2 Activité antimicrobienne quantitative..... | 9 |
| I.2.6.2 Activité antioxydante..... | 9 |
| I.3 Généralités sur l'espèce <i>Cinnamomum Zeylanicum</i> | 9 |

| | | |
|-----------|---|----|
| I.3.1 | Systématique et taxonomie de <i>Cinnamomum Zeylanicum</i> | 9 |
| I.3.2 | Position systématique | 10 |
| I.3.3 | Description botanique de l'arbre de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | 10 |
| I.3.4 | Description d'écorce de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | 11 |
| I.3.5 | Distribution géographique | 11 |
| I.3.6 | Etude chimiques de l'espèce <i>Cinnamomum Zeylanicum</i> | 12 |
| I.3.6.1 | Eude chimique des extraits lipidiques de <i>Cinnamomum Zeylanicum</i> | 12 |
| I.3.6.2 | Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | 13 |
| I.3.7 | Les activités biologiques d'huile essentielle de <i>Cinnamomum Zeylanicum</i> | 13 |
| I.3.7.1 | Activité antiseptiques | 13 |
| I.3.7.2 | Activité antispasmodique | 14 |
| I.3.7.3 | Activité antimicrobienne | 14 |
| I.3.7.3.1 | Activité antimicrobienne qualitative | 14 |
| I.3.7.3.2 | Activité antimicrobienne quantitative | 14 |
| I.4 | Test d'association | 15 |
| I.4.1 | La combinaison entre antibiotique et composé bioactive..... | 15 |
| I.4.2 | La combinaison entre Huile essentielle et composé bioactive | 16 |
| I.4.3 | La combinaison entre Huile essentielle et huile essentielle | 16 |
| I.4.4 | Les méthodes en "point final" | 17 |
| I.4.4.1 | Test de l'échiquier de micro dilution..... | 17 |
| I.4.5 | Les méthodes cinétiques | 17 |

Chapitre II : Étude chimique de l'huile essentielle

| | | |
|----------|---|----|
| II.1 | Matériels et méthodes expérimentales | 18 |
| II.1.1 | Extraction des huiles essentielles | 18 |
| II.1.1.1 | Matériels végétales | 18 |
| II.1.1.2 | Protocole expérimental d'extraction des huiles essentielles | 19 |
| II.1.2 | Caractérisation organoleptique des huiles essentielles..... | 20 |
| II.1.3 | Rendement en huile essentielle | 20 |
| II.1.4 | Analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse | 21 |
| II.2 | Résultats et discussions de l'étude chimique | 22 |
| II.2.1 | Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles <i>Cinnamomum Zeylanicum</i> et <i>Cuminum cyminum</i> | 22 |

| | |
|---|----|
| II.2.2 Rendement de l'extraction | 22 |
| II.2.3 Identification de la composition chimique des huiles essentielles par CG/SM | 24 |
| Chapitre III: Activité antibactérienne et testes de combinaison | |
| III.1 Matériels et méthodes | 29 |
| III.1.1 Microorganismes utilisés | 29 |
| III.1.2 Repiquage | 30 |
| III.1.3 L'aromatogramme (méthode de diffusion sur disque)..... | 30 |
| III.1.3.1 Protocole expérimental | 31 |
| III.1.4 Méthode de dilution en milieu liquide | 32 |
| III.1.4.1 Protocole expérimental | 33 |
| III.1.5 Etude de l'effet synergique des huiles essentielles de <i>Cuminum Cyminum</i> et <i>Cinnamomum Zeylanicum</i> | 34 |
| III.1.5.1 Protocole expérimental | 34 |
| III.2 résultats et discussion..... | 36 |
| III.2.1 Activité antibactérienne qualitative | 36 |
| III.2.2 La détermination de la concentration minimale inhibitrice | 38 |
| III.2.3 L'évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode l'échiquier | 40 |
| Conclusion générale..... | 44 |
| Références bibliographiques..... | 45 |

ANNEXES

Introduction générale

La qualité microbiologique d'un aliment constitue l'une des bases essentielles de son aptitude à satisfaire la sécurité du consommateur. Un aliment, exposé à la détérioration par les bactéries et les moisissures peut diminuer ses caractéristiques sensorielles, nutritives et sanitaires [1].

Pour faire face à ce problème crucial, l'essor de la chimie a permis l'apparition et l'application de nouvelles substances chimiques en tant que conservateurs alimentaires synthétiques. Malgré ses derniers, les inquiétudes suscitées par leurs effets secondaires inévitables. Récemment, les produits naturels ont suscité un intérêt croissant en raison de leur disponibilité, de la réduction de leurs effets secondaires ou de leur toxicité, ainsi que leur biodégradabilité améliorée par rapport aux antibiotiques et aux conservateurs disponibles [2].

L'exploration d'agents antimicrobiens d'origine naturelle à des fins de conservation des aliments fait l'objet d'une attention croissante par les chercheurs, en raison de la sensibilisation des consommateurs aux produits alimentaires naturels et de la préoccupation croissante que suscite la résistance microbienne aux agents de conservation conventionnels. Cependant, pour établir l'efficacité des conservateurs antimicrobiens naturels, ils doivent être évalués seuls et en combinaison avec d'autres facteurs de préservation afin de déterminer l'existence d'effets synergiques et de définir de multiples obstacles [3].

Les épices et les herbes sont des ingrédients courants ajoutés aux aliments pour améliorer le goût et la couleur. En outre, ils constituent de bonnes sources d'antioxydants et d'antimicrobiens [4]. Les huiles essentielles d'épices et d'herbes ont été recommandées pour les produits à base de viande et de poisson afin de prolonger la durée de conservation, de protéger la qualité organoleptique et d'inhiber la croissance microbienne et l'oxydation des lipides [5].

Les plantes aromatiques appartiennent à 12 familles végétales les plus importantes en aromathérapie, à savoir *les abiétacées, les apiacées, les Astéracées, les cupressacées, les éricacées, les géraniacées, les lamiacées, les lauracées...* [6]. Dans ce contexte, on a choisi deux espèces ; *Cinnamomum zeylanicum* qui appartient à la famille des *lauracées*. Elle provient de l'Asie tropicale et subtropicale, ainsi que de l'Australasie. Ces arbres et arbustes

ont des feuillages et des écorces riches en composés aromatiques, la majorité de ces plantes sont persistantes [7]. Et le *Cuminum cyminum* qui appartient à la famille des *Apiacée*, est une petite plante annuelle herbacée qui pousse dans tous les systèmes ethno-médicaux de l'Europe du Nord aux régions méditerranéennes, à la Russie, à l'Iran, à l'Indonésie et à l'Amérique du Nord [8], ces espèces exerçaient des propriétés antimicrobiennes, insecticides, analgésiques, antioxydant, anticancéreux, antidiabétique, agrégation antiplaquettaire, hypotenseur, bronchodilatateur et immunologique [9]

Dans le cadre de cette étude, ce mémoire est composé en trois chapitres. Le premier est une synthèse bibliographique consacrée aux généralités des plantes étudiées et leurs activités biologiques.

Le second traite l'extraction des huiles essentielles et la composition chimique des deux huiles.

Le troisième concerne l'activité antibactérienne et la méthode d'association.

Chapitre 1 : synthèse bibliographique

I.1 Généralités sur les huiles essentielles

I.1.1 Définition

Selon les normes de l'*International Standards Organization on Essential Oils*, ISO 9235 et celle de l'*Association de Normalisation Française*, AFNOR NF T 75-006 (octobre 1987), une huile essentielle est un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec [10,11].

I.1.2 Procédés d'extraction des huiles essentielles

I.1.2.1. Techniques de l'hydrodistillation /l'entraînement à la vapeur.

Est un procédé appelé aussi "entraînement à la vapeur d'eau". Elle consiste à percoler la matière première avec de la vapeur d'eau. C'est-à-dire qu'on fait bouillir de l'eau en présence de plantes ou de fruits. La vapeur d'eau entraîne alors les espèces odorantes qui sont ensuite condensées et donne l'huile essentielle de la matière première. Elle est utilisée pour les matières premières peu sensibles à la chaleur par exemple pour extraire l'huile essentielle de rose ou du bois de santal. On distingue les produits au fur et à mesure de la distillation, on recueille alors dans l'ordre d'abord une "note de tête", une "note de cœur" et une "note de fond". L'hydrodistillation au laboratoire, peut être utilisée avec un appareil de type Clevenger [12].

I.1.2.3 Extraction assistée par micro-onde

Elle utilise de plus petites quantités de solvant, n'est pas coûteuse et est considérablement rapide. Cependant, la température opératoire de cette technique est relativement haute (100 – 150 °C), ce qui pose des problèmes quand il s'agit de l'extraction d'antioxydants. Les autres inconvénients de cette technique sont d'une part le rendement faible lorsque les solutés ou les solvants sont apolaires et d'autre part le besoin de l'étape postérieure de filtration ou de centrifugation pour éliminer le résidu solide de l'extrait [13].

I.1.2.4 Extraction par CO₂ supercritique

Est le procédé le plus récent d'extraction à froid, qui met à profit des propriétés du CO₂ pour reproduire au plus juste l'odeur de la matière odorante, sans altérer la plante. On fait d'abord passer le CO₂ à l'état liquide en le plaçant sous pression à une température

inférieure à 40°C. Il permet ainsi d'extraire des substances odorantes peu volatiles comme celles que dégagent les épices. On peut ainsi obtenir des extraits d'une qualité olfactive et d'une pureté exceptionnelle. Il faut préciser que le CO2 recyclé ne pollue pas ; c'est donc une technique respectueuse de l'environnement [14].

I.1.3 Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont composées chacune d'un ou plusieurs groupes fonctionnels attachés à un squelette hydrocarboné. La plupart des groupes fonctionnels contiennent des hétéroatomes notamment de l'oxygène, les composés actifs peuvent être divisés en quatre groupes selon leur structure chimique : composés d'environ 90 % de terpènes, les alcools, les phénols, les esters, les oxydes, les coumarines, les sesquiterpènes, les terpénols, les cétones, les aldéhydes, etc. Mais ne contenant aucun acide gras, ni aucuns autres corps gras.

Ce sont les effets combinés de ces constituants et leurs proportions qui constituent l'identité propre à chaque huile, et qui déterminent leurs caractéristiques telles que l'odeur, les propriétés thérapeutiques et la toxicité. Environ 10 000 molécules ont été identifiées jusqu'au aujourd'hui. Les huiles essentielles sont généralement polymoléculaires : elles sont composées de quelques molécules en grande quantité, plus d'une multitude d'autres molécules en état de traces [15].

Les produits chimiques dans les huiles essentielles sont des métabolites secondaires, qui jouent un rôle important dans la défense des plantes comme ils possèdent souvent des propriétés antimicrobiennes. L'intérêt pour les huiles essentielles et leur application dans la conservation des aliments a été amplifié ces dernières années par une perception de plus en plus négative des conservateurs synthétiques par les consommateurs [16].

I.2 Généralités sur l'espèce *Cuminum cyminum*

I.2.1 Etude taxonomique et systématique de l'espèce

La famille des *apiécées* appelée anciennement ombellifères caractérisée par des rayons d'inflorescence disposés comme ceux d'une ombrelle. C'est l'une des plus importantes familles de plantes à fleurs. Elle est composée d'environ 300 à 455 genres et 3000 à 3750 espèces [17]. En Algérie, selon Quezel et Santa (1962) [18], elle est représentée par 55 genres, 130 espèces et 27 sous espèces, plusieurs espèces de cette famille sont considérées comme une riche source en huiles essentielles et végétales. Environ 760

constituants ont été isolés à partir d'huiles essentielles des cultures ombellifères, appartenant à différentes classes chimiques [19], parmi ces espèces, existe le cumin, du nom scientifique de *Cuminum cyminum* [20].

I.2.2 Position systématique [18]

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Spermaphytes*

Classe : *Dicotyledones*

Ordre : *Apiales*

Famille : *Apiaceae*

Genre : *Cuminum*

Espèce : *Cuminum cyminum*

I.2.3 Description botanique du *Cuminum Cyminum*

Le *C. cyminum* est une plante mince (figure I.1), glabre, herbacée et annuelle, elle peut atteindre une hauteur de 20 jusqu'à 60cm [21]. Elle possède des racines effilées, de feuilles vertes parfumées, finement divisées, palmatiséquées à lanières longuement filiforme et des petites fleurs, 3 à 5 par ombellules ayant une couleur blanche ou rose [22]. Le fruit du *C. cyminum* est un schizocarpe possédant une forme ovale ou fusiforme, de couleur brun clair ou grisâtre. Contenant deux méricarpes avec une seule graine; d'une odeur aromatique et un goût épicé et amer [23], d'une longueur comprise entre 5 et 6 mm, hérissés de longues soies dressées; la graine de *C. cyminum* est vert clair à gris brunâtre et de forme allongée portant 9 arêtes et 9 canaux sécréteurs [18]. Sa culture et sa récolte sont assez simple, la floraison a lieu dans les premiers jours de Mai, et le fruit mûrit en juin. On coupe la plante à ras de terre, et on la suspend dans un lieu aéré, où la maturation s'achève ; si l'on attend que la graine soit complètement mûre, on s'exposerait à en perdre une partie. On n'effectue le battage que lorsque la plante est sèche [24].



Figure I.1 : Parties aériennes de la plante de *Cuminum cyminum* [25]

I.2.4 Distribution géographique

Utiliser depuis des millénaires, le *C. Cyminum* est une épice ancestrale, se référant près de 5000 ans à l'ancienne civilisation égyptienne, où elle a été utilisée à la fois comme une épice et un conservateur dans la momification. Le monde occidental a appris à le connaître comme une épice d'Iran, le nom cumin a ses racines dans le mot Kerman, une ville en Iran autour de laquelle elle a été largement cultivée [24]. Localement appelé Kermun, serait devenu Kumun, puis cumin dans les langues européennes [25]. Au moyen âge, le *C. cyminum* fut rapidement propagé dans l'ensemble des pays européens en Grèce et à Rome, où il était utilisé comme une sorte de poivron, puis les explorateurs espagnol et portugais l'ont introduit jusqu'en Amérique latine. À ce jour, il est largement cultivé également en Ouzbékistan, Tadjikistan, Turquie, Maroc, Égypte, Inde, Syrie, Mexique et au Chili [26,27]. En Algérie, il est généralement localisé dans les hauts plateaux Algérois, Oranais et Constantinois, l'Atlas saharien.

La production mondiale des grains de *C. cyminum* estimée est d'environ 300000 tonnes ; Elle est concentrée en Asie centrale et méridionale, plus précisément, en Inde qui est le fournisseur mondial principal de semences de *C. cyminum*, parmi les 80 000 à 170000 tonnes de semences cultivées en Inde environ 70 % de la production mondiale, 10% sont exportées ; le Rajasthan en produit 56%, tandis que la production du Gujarat en représente 44%. La production est relativement stable au fil des années. Les autres principaux pays

producteurs sont la Syrie (7%), la Turquie (6%) et l'Iran (6%) ; tous les autres producteurs représentent ensemble environ 10% [24,28].

I.2. 5 Etude chimique de l'espèce *Cuminum Cuminum*

I.2.5.1 Etude chimique des extraits lipidiques des graines de *Cuminum cyminum*

Les études phytochimiques sur les métabolites secondaires isolés des graines de *C. cyminum* ont révélés la présence de divers composés bioactifs, dont des métabolites secondaires importants sont discutés comme suit :

Un total de 19 composés phénoliques a été identifié avec succès dans l'extrait lipidique. Où le composé majeur était l'acide p-coumarique avec une teneur de (30,49%), d'autres composés phénoliques avec des proportions intéressantes, tels que l'acide trans-2-dihydrocinnamique (12,23%), l'acide syringique (9,72%), la flavone (5,53%), la lutéoline (4,65%) et même l'acide cinnamique (6,35%) [29], de plus ont étaient trouvés dans les grains de *C. cyminum* l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide vanilique, l'acide gallique, la rutine, la coumarine, le résorcinol et la quercétine sont apparus pour une quantité limitée [30]. Encore, elles sont connu pour contenir une quantité importante de tanins d'où Bettaieb et Bourgo (2010) [31] ont déjà confirmés leur présence avec des teneur de (30,92 à 83,23 %), en outre on peut citer la présence des caroténoïdes, des résines et des gommés [32-35] (Annexe 1).

I.2.5.2 Composition chimique d'huile essentielle de *Cuminum cyminum*

Selon la littérature, l'HE de *C. Cyminum* contient une variété de classes de produits chimiques, D'après S. Athamena et al, (2010) [21], cette huile contient une fraction des monoterpènes à savoir les monoterpènes oxygénés représentés principalement par le cuminaldéhyde (14-50%), et (13.62%) d'hydrocarbures monoterpénique constituent par le β -pinène (5-17%), p-cymène (9-47.08%) et le γ -terpinène (18-29%). En outre Tahri, K et al (2016) [36], ont publié plus de détails sur la composition de cette huile en différentes quantités à savoir : thymol, safranal, β -terpinéol, linalol, tétradécène, 1,8-céneol, 2-carene-10-al, α -trpinene-7-al et α -pinène. Toutefois, Des sesquiterpènes n'ont été trouvés que dans l'huile des graines à de faibles concentrations à savoir le β -Caryophyllène et le β -Farnesene de teneurs respectives (3.14%) et (1.72%) [37]. Alors que les aldéhydes qui contribuent à

la saveur caractéristique de l'épice était caractérisé par p-mentha-1,3-dien-7-al (15.18%), p-mentha-1,4-dien-7-al (9.48%) [38] (Annexe 1).

I.2. 6 Les activités biologiques d'huile essentielle du *Cuminum cyminum*

Les épices sont intensivement employées en médecine, pharmacie, parfumerie, et les produits de beauté. *C. Cyminum* possède un large spectre d'utilisation en médecine traditionnelle récemment prouvé par des études pharmacologiques et biologiques dues à la haute teneur en principes actifs tels que : le cuminaldéhyde, le p-cymène et le pinène.

I.2.6.1 Activité antimicrobienne

I.2.6.1.1 Activité antimicrobienne qualitatif

Parmi les travaux sur l'activité citons l'étude faite sur l'huile essentielle de graines *C. Cyminum* qui a été réalisée contre différentes souches de micro-organismes. Les tests antimicrobiens ont révélé une activité élevée de cette huile essentielle contre *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, les bactéries Gram-positives *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus epidermidis*, ainsi que la levure *Saccharomyces cerevisiae* [20].

L'HE de *C. Cyminum* exerçait un effet antibactérien d'inhibition contre tous les microorganismes testés avec des diamètres allant de 10 à 60 mm où la zone d'inhibition était plus élevée chez la bactérie *E. faecalis*, mais la plus faible chez *E. coli* et *M. pyocyaneus*, et parmi les champignons, celle qui est contre *B. fragilis* était supérieure que sur *S. cerevisiae* [39].

L'efficacité d'HE de *C. cyminum* a été étudiée aussi contre la croissance de certaines bactéries couramment utilisées dans l'industrie alimentaire, le *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus carnosus* et *Staphylococcus xylosus* ou liés au spoilage alimentaire (*Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter amigig*), elle a montré un effet inhibiteur contre toutes les bactéries testées [40]. Alors que cette huile est dotée d'une activité antifongique significative contre *Pseudallescheria boydii* et *Aspergillus flavus et* aussi contre différentes espèces pathogènes de *Candida* à montrer des zones d'inhibition variant de 7 à 50 mm [41,42].

Le temps total de la mort lors de l'exposition à l'HE de *C. cyminum* était de 20, 180 et 90 min pour *E. coli*, *S. aureus* et *L. monocytogenes*, respectivement cela présentait une forte activité antimicrobienne [43], La durée de conservation des fraises a été augmentée

de manière significative par l'utilisation des HEs de *C. cuminum*, car elles inhibaient les champignons (*Botrytis cinerea*) [44].

I.2.6.2 Activité antimicrobienne quantitative

L'huile essentielle des graines de *C. cuminum* a montré une bonne efficacité sur la croissance bactérienne de trois souches (*Streptococcus mutans*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella paratyphi*) obtenues suite aux valeurs faibles de CMI comprises entre 20.4 et 62.5 µl/ml [30], et vis-à-vis de plusieurs agents pathogènes d'origine alimentaire (*S.aureus*, *B.cereus*, *E.coli*, *S. enteritidis* et *L.monocytogenes*) étaient de 0,37 à 3,0 mg/ml [45]. Alors qu'elle a été étudiée contre deux espèces de *Candida pathogènes* (*C. albicans* et *C. dubliniensis*) d'où la meilleure CMI de l'huile a été enregistrée était 289 mg/ml [46].

I.2.6. 2Activité antioxydante

Les cellules et tissus humains peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dues à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène [47].

L'HE du *C. cuminum* à montrer des activités anti-radicalaires et antioxydantes. Parmi les tests les plus utilisés, la méthode au DPPH et la méthode du blanchissement du β-carotène. Cependant, les résultats de l'essai de blanchissement du β-carotène ont été meilleurs que ceux de l'essai du balayage du radical libre 2-2diphénylpicrylhydrazyl (DPPH) [30].

I.3 Généralités sur l'espèce *Cinnamomum Zeylanicum*

I.3.1 Systématique et taxonomie de *Cinnamomum Zeylanicum*

Lauracée est une famille économiquement importante, elle est composée principalement des arbres ou des arbustes semblables à des arbres. Le genre *Cinnamomum* comprend environ 250 espèces réparties en Asie et Australie. *Cinnamomum zeylanicum* est la source de l'écorce de cannelle, des feuilles et de leurs huiles essentielles, est une plante indigène du Sri Lanka, beaucoup d'espèces de cannelle donnent une huile volatile à la distillation [48]. Une grande variété de cannelles existe à la surface du globe mais deux

d'entre elles sont plus connues et plus usitées : la cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*) et la cannelle de Chine (*Cinnamomum cassia*) [49], elle est connue depuis l'Antiquité ; ses petits tubes, qui proviennent de l'écorce d'un arbre appelé cannelier [50].

I.3.2 Position systématique [51]

Règne : *Plantae*

Sous-Règne : *Tracheobionta*

Embranchement : *Magnoliophyta*

Sous-Embranchement : *Magnoliophytina*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-Classe : *Magnoliidae*

Ordre : *Laurales*

Famille : *Lauraceae*



Figure I.2 : Les différentes parties de *Cinnamomum zeylanicum* [52]

I.3.3 Description botanique de l'arbre de *Cinnamomum zeylanicum*

Le cannelier est un arbre élancé pouvant atteindre 8 à 17 mètres de haut, originaire du Sud-Ouest de l'Inde et du Sri-Lanka, introduit dans les îles de l'océan Indien. Ses feuilles comme son écorce aromatique est riche en huile essentielle, ce qui en fait un arbre très prisé aux plans médicinal et aromatique. En fonction de son espèce, il devient arbre ou reste arbrisseau ; il ne supporte pas les températures inférieures à 15 °C et ne vit que dans les régions tropicales ou subtropicales, poussant sur un sol léger, il ne se récolte pour la première fois, que six ou sept ans après sa plantation. Ces branches sont alors coupées pour la récolte de l'écorce, qui sera mise à sécher, les arbres fleurissent en janvier et les fruits mûrissent en mai-août [53,54].



Figure I.3: L'arbre à *C. zeylanicum* [55] **Figure I.4:** Situation géographique du Sri Lanka (Ceylan) [56]

I.3.4 Description d'écorce de *Cinnamomum zeylanicum*

Il forme des tuyaux isolés ou emboîtés les uns aux autres d'une longueur de 30 cm à 1 m sur 1 cm de diamètre et mats. Chaque ruban cylindrique a une épaisseur de 0,2 à 0,7 mm, la face externe est de couleur brun-jaune, lisse et marquée de fines stries longitudinales blanchâtres, la surface interne est plus sombre presque brune et lisse, la cassure est esquilleuse, l'odeur est aromatique, agréable et caractéristique, sa saveur est chaude, épicée et sucrée à la fois, pénétrante et puissante avec une légère note de brûlée [57].

Une fois les bâtons de cannelle broyés, on obtient de la poudre de cannelle, celle-ci est reconnaissable par la présence de longues fibres (1 à 2 mm) blanchâtres, amincies aux deux extrémités et d'amas de cellules scléreuses grises [57].



Figure I.5 : Bâtons et poudre d'écorce de *Cinnamomum zeylanicum* [58]

I.3.5 Distribution géographique

C. Zeylanicum est une espèce résineuse de la famille des *lauracées*, constitue un élément important de la végétation Indienne [59]. Elle s'agit de l'écorce d'un arbuste qui cultivé en plantation, se prête à l'écorçage au bout de 3 ou 4 ans, son principal producteur est Ceylan, puisqu'elle couvre plus de 14 000 ha plantés en cannelliers. On la trouve à la fois sur un sol riche et léger (sablonneux- siliceux ou du quartz blanc sur un bon sous-sol) qui exige une température moyenne de 30°C où son emplacement de prédilection est au soleil ou légèrement à l'ombre mais à 150 mètres au-dessus du niveau de la mer [60]. La chine est un gros producteur, qu'elle retire principalement des trois provinces du Guangxi, Guizhou et Guangdong [61]. En Algérie, il occupe une superficie localisée en majorité dans la région sud du pays [62]

Tableau I.1 : Production de cannelle dans le monde [63]

| Pays producteur | Production en tonnes | Pourcentage de la production Mondiale |
|----------------------|----------------------|---------------------------------------|
| Chine | 47000 | 44,28% |
| Indonésie | 39000 | 37,74% |
| Sri Lanka | 12200 | 11,49% |
| Vietnam | 6000 | 5,65% |
| Madagascar | 1500 | 1,41% |
| Seychelles | 230 | 0,21% |
| Timor oriental | 75 | 0,07% |
| Dominique | 55 | 0,05% |
| Grenade | 50 | 0,04% |
| Sao Tome-et-principe | 30 | 0,02% |
| Total | 106140 | 100,00% |

I.3. 6Etude chimiques de l'espèce *Cinnamomum Zeylanicum*

I.3.6.1 Eude chimique des extraits lipidiques de *Cinnamomum Zeylanicum*

Depuis les années 50, plusieurs travaux ont été effectués sur les extraits lipidiques des différentes parties de *C. Zeylanicum* en utilisant l'acétone et le méthanol comme solvant d'extraction [64-65]. Ces études ont mené à l'isolement de plusieurs molécules de différentes classes, à savoir les composés phénoliques, d'où l'acide p-coumarique était le composé majeur dans l'extrait lipidique, d'autres composés phénoliques ont été identifié, tels que les proanthocyanidines, anthocyanes, anthraquinone et les tanins. Alors que l'acide p-hydroxy benzoïque, l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide férulique, l'acide gallique, la coumarine, l'acide protocatéchique, l'acide caféique et l'acide salicylique sont apparus pour une quantité limitée [66-67]. De plus des composés flavonoïdiques ont été trouvés avec des teneurs intéressantes, tels que le kaempferol et l'orientine ainsi que trois hétérosides : le kaempferol-30-a.-L-rhamnoside, le kaempferol-30-rutinoside, et l'isorhamnétine-3-0-rutinoside [57]. Des composés de diterpènes pentacyclique ont été isolés de cette espèce avec des teneurs faibles : le cinnzeylanine, le cinnzeylanol, Cincassiols [68-69]. (Annexe 1)

I.3.6.2 Composition chimique de l'huile essentielle de *Cinnamomum zeylanicum*

L'HE de *C. zeylanicum* provenant de différents pays a fait l'objet de plusieurs études qui ont mené à l'identification d'une variété de classes de produits chimiques. Vernon et

Richard [70] ont déjà trouvés que les premières recherches sur la composition de cette huile ont été réalisées par Blanchet en 1833, Quelques temps après, Dumas et Peligot (1834 et 1835) [71], ensuite Valnet [66], indiquent que le principal constituant de cette essence est le cinnamaldéhyde (65 à 80 %) et en faible quantité le trans-2-méthoxycinnamaldéhyde. Alors que les composés phénoliques ont été identifiés en 1892 en des faibles teneurs, Picardie et verne (2014) [72] notent que la teneur en eugénol dans l'huile essentielle est plus importante que celle de l'écorce. D'autres composés de nature terpénique furent identifiés en 1975-1977 par le chimiste Guenther E. dont (1,10%) des monoterpènes, α - pinène est le seul monoterpène détecté, (54,51%) des sesquiterpènes, le caryophyllène est le composé majeur présent (12,76%), les alcools monoterpènes oxygénés étaient représentés par un seul composé, le linalol, les hydrocarbures terpéniques sont présents à 42,97% [73]. En outre selon Wright (1995) [74] les composés oxygénés sont présents à 52,6%, à savoir les esters (39,50%) l'acétate de (E)-cinnamyle est le composé principal et constituent 36,59% suivi par l'acétate de 3-phénylpropyle et le benzoate de benzyle. (Annexe 1)

I.3. 7 Les activités biologiques d'huile essentielle de *Cinnamomum Zeylanicum*

L'efficacité d'une HE dépend de sa richesse en composés bioactive, plus l'HE est riche en substances actives, plus son activité est importante. Elle est aussi liée à sa composition chimique, aux groupements fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, les composés terpéniques) [75,76].

I.3..71 Activité antiseptique

C'est le pouvoir d'empêcher le développement des bactéries ou des virus.

Nombreuses études ont été mises en œuvre qui considèrent la cannelle de Ceylan comme une plante majeure dans le domaine infectieux pour ses propriétés antiseptiques et anti putrescibles aussi bien pour son huile essentielle d'écorce que pour celle de ses feuilles, elle entre dans les formulations de diverses spécialités [70].

I.3.7.2 Activité antispasmodique

L'activité antispasmodique est le pouvoir de lutter contre les spasmes musculaires. L'utilisation de l'HE de *C. zeylanicum* contre les troubles digestifs tels que ballonnement

épigastrique, lenteur à la digestion, éructation, flatulence ; dans les asthénies fonctionnelles ; et pour faciliter la prise de poids [56].

I.3.7.3 Activité antimicrobienne

I.3.7.3.1 Activité antimicrobienne qualitative

L'activité antibactérienne de l'HE de *C. zeylanicum* a été étudiée contre 178 souches globalement, elle a inhibé tous les types de souches bactériennes testées, à l'exception de *Salmonella para typhi B*, présentant un effet antibactérien de 99,4% [78]. Alors qu'une autre étude faite par Iserin P, Moulard F (2002) [79] contre la croissance de plusieurs bactéries, cette huile, présentaient des zones inhibitrices assez intéressantes sur *E.coli*, *P.fluorescens*, *S.aureus*, de 30 mm 22 mm, 20mm respectivement. Cette activité semble due au fort taux d'eugénol (85%). En outre, cette huile a exercé un effet antibactérien contre 21 bactéries et 4 espèces de *Candida* et a donné des diamètres allant de 20 à 33 mm, un effet inhibiteur significatif contre *P. aeruginosa* (33,3 mm), *B. subtilis* (29,9 mm), *P. vulgaris* (29,4 mm), *K. pneumoniae* (27,5 mm) et *S. aureus* (20,8 mm) [80]. De plus l'efficacité de l'HE de *C. Zeylanicum* a été étudiée sur la croissance de certaines bactéries, elle a montré une activité antibactérienne élevée contre *Streptococcus oralis* et *Streptococcus sanguis* (23 mm), *Micrococcus roseus* (21 mm), *Streptococcus intermedius* (20 mm) et *Streptococcus mutans* (17 mm) [68].

I.3.7.3.2 L'activité antimicrobienne quantitative :

De nombreuses études ont été effectués sur l'activité antibactérienne de HE de *C. zeylanicum*, les CMI ont été évaluées par rapport à cinq bactéries pathogènes d'origine alimentaire courantes (*B.cereus*, *L.monocytogenes*, *S.aureus*, *E.coli* et *S.anatum*), varies entre 0.06 et 0.12 mg/ml, cette étude suggère que l'HE de *C. zeylanicum* et ses composants bioactifs peuvent être utilisés comme agents de conservation naturels [81]. Par ailleurs, selon Kam S et Wang, H (2006) [82] l'HEs a montré une bonne efficacité sur la croissance des bactéries à Gram positif *S.aureus*, et des bactéries à Gram négatif (*E. coli*, *E.aerogenes*, *P.vulgaris*, *P.aeruginosa*, *V.cholerae*, *V. parahaemolyticus* et *S. typhimurium*), leurs CMI ont varié de 75 µg/ml à 600 µg/ml.

Une autre étude a été effectuée par Nikolic M et Glamoclija (2014) [83] sur cette huile contre 8 souches de bactéries, dont (*E.coli*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *K. pneumoniae*, *Salmonella sp*), les résultats des tests antibactériens avaient un excellent effet inhibiteur, les CMI ont varié de 250 µg/ml à 500 µg/ml.

En revanche, le potentiel antifongique de l'HE de *C. Zeylanicum* a été étudié contre différents champignons y compris les levures (quatre espèces de *Candida* : *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* et *C. krusei*), des moisissures filamenteuses (4 isolats, 3 *asperges spp* et un *Fusarium sp*) et des dermatophytes (trois isolats, *M. gypseum*, *T. rubrum* et *T. mentagraphytes*). Leurs CMI ont varié de 100 µg/ml à 450 µg/ml pour les levures de *candida* de 75 µg/ml à 150 µg/ml pour les moisissures filamenteuses et 18,8 µg/ml à 37,5 µg/ml) pour les dermatophytes [84].

I.4 Test d'association

En raison de l'utilisation intensive d'antibiotiques, la propagation de souches bactériennes multi résistantes constitue l'une des menaces les plus préoccupantes pour la santé publique [85].

En conséquence, il a été lancé pour rechercher un nouvel antibiotique meilleur et abordable, dérivé d'une plante médicinale, en tant que traitement de substitution ou complémentaire de la résistance microbienne, y compris des bactéries. Et pour cela les chercheurs se sont lancés dans de différentes combinaisons :

I.4.1 La combinaison entre antibiotique et composés bioactifs

À la suite de différentes substances composées bioactives telles que les coumarines, les flavonoïdes, les phénoliques, les saponines alcaloïdes, les tanins, les terpénoïdes, les quinones, les anthraquinones, les glycosides cardiaques et d'autres se trouvent dans des concentrations différentes [86,87]. De nombreuses études ont montré que la combinaison de composés bioactifs et d'antibiotiques sélectionnés avait pour résultat des inhibiteurs de la biosynthèse des feuilles, des inhibiteurs de la synthèse ADN / protéine et des inhibiteurs de perméabilité cellulaire / paroi de la paroi [88-90].

Par exemple, Les effets combinés des antibiotiques modernes (ciprofloxacine, ceftazidime et tétracycline) et de six composés bioactifs (acide protocatéchique, acide gallique, acide ellagique, rutine, berbérine et myricétine) ont montré qu'il avait inhibé la croissance de *P.*

aeruginosa. Cette combinaison d'antibiotiques modernes et de composés naturels s'est révélé plus d'effet antibactérien qu'un seul composé [91].

I.4.2 La combinaison entre Huile essentielle et composé bioactive

La combinaison des huiles essentielles avec un autre composé pourrait modifier leur l'activité antimicrobienne. Ces composés peuvent être une bactériocine comme la nisine, un autre HE ou même un autre composé. Nitrite, etc. L'effet de ces interactions sur l'activité antimicrobienne des HE pourrait être synergique, additionnel ou antagoniste. Ainsi, Lacroix (2007) [92] a rapporté que le sodium les chlorures, les sucres et les acides organiques pourraient avoir un effet synergique avec les HEs.

I.4.3 La combinaison entre huile essentielle et huile essentielle

Les effets synergiques des huiles essentielles peuvent constituer un traitement efficace contre les bactéries multirésistantes [86]. Avec cette notion, une interaction in vitro entre l'antimicrobien testé pour 11 huiles essentielles a montré un effet prometteur contre la résistance aux médicaments : *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* et des souches cliniquement isolées [94,95].

De plus, Eshetu Gadisa et al (2019) [96] ont évalués l'effet antibactérien combiné des huiles essentielles de *B. cuspidata* et *B. ogadensis* contre la bactérie multirésistante. Cette étude pourrait servir de données de base pour étudier de nouvelles substances bioactives provenant d'huiles essentielles et déterminer la justification scientifique des effets combinés des plantes médicinales traditionnelles non exploitées utilisées par différentes sociétés.

Ces combinaisons synergiques sont évaluées par des méthodes classées en deux catégories : les méthodes en "point final" et les méthodes cinétiques.

I.4.4 Les méthodes en "point final"

I.4.4.1 Test de l'échiquier de micro dilution

Le procédé de micro dilution en damier utilise le plus souvent fréquemment des associations antimicrobiennes invasives. En utilisant ces méthodes, on peut reconnaître des

effets synergiques, additifs, interactions indifférentes ou antagonistes avec les agents testés.

Par cette méthode, une concentration inhibitrice fractionnaire (CIF) est calculée en comparant la CMI de chaque agent seul à sa CMI en combinaison avec le deuxième agent. À partir du CIF observé pour chacune des huiles, la fraction inhibitrice moyenne des indices de concentration (ICIF) ont été calculés comme suit :

$$\text{ICIF} = \text{CIF A} + \text{CIF B}$$

Ensuite, les résultats des fractions inhibitrice moyenne des indices de concentration ont été classés comme synergisme, addition, l'indifférence ou l'antagonisme [97,98].

- ✓ Synergie est généralement définie comme une diminution de 4 fois la CMI des agents en combinaison par comparaison avec les antibiotiques testés uniquement : $\text{CIF} \leq 0.5$
- ✓ Indifférence est définie à $0.5 \leq \text{CIF} \leq 4$
- ✓ Antagonisme est défini comme $\text{CIF} \geq 4$
- ✓ Certains chercheurs considèrent les composés comme additifs quand $0.5 \leq \text{CIF} \leq 1$

I.4.5 Les méthodes cinétiques

Elles permettent d'explorer dans le temps le devenir d'une population bactérienne en présence de plusieurs concentrations d'antibiotiques utilisées seules ou en association. La synergie se définit par un pourcentage de survivants 100 fois plus faible ($-2 \log_{10}$) en présence de l'association par rapport l'antibiotique le plus actif et l'antagonisme par un pourcentage de survivants 100 fois plus grand. Cette méthode permet d'étudier la phase précoce de bactéricidie (jusqu'à la 6 heures) appréciant ainsi la vitesse de bactéricidie et la phase tardive qui explore l'effet de l'association sur les phénomènes de croissance bactérienne en particulier l'émergence de mutants résistants [99].

Chapitre II : Etude chimique de l'huile essentielle

II.1 Matériels et méthodes expérimentales

II.1.1 Extraction des huiles essentielles

II.1.1.1 Matériels végétales

Le matériel végétal dans la présente étude est représenté par deux espèces qui appartiennent à la famille des *Apiacées* et *Lauracées*, qui sont les graines de *C. cyminum* et l'écorce de *C. zeylanicum*. Ces dernières ont été achetées sous forme séchée, chez un herboriste en Mars 2019 de la ville d'Oued-Souf dans la wilaya d'El Oued. Cette ville située dans le nord-est du Sahara algérien et au sud du Chott Melhir, à 79 km à l'est-nord-est de Touggourt, à 212 km au nord-est de Ouargla et à 512 km au sud-est d'Alger.



b

Figure II.1 : Carte géographique de la région d'Oued Souf [100]

Le climat du Souf est de type désertique. Il n'y a pratiquement aucune précipitation toute l'année dans la région. De plus, il affiche une température annuelle moyenne de 21.8 °C. Les épices sont conservées dans des boîtes propres pour servir ultérieurement à l'extraction des huiles essentielles.



Figure II.2 : Photo des épices sélectionnés (à gauche : *C. cyminum* et à droite: *C. zeylanicum*)

II.1.1.2 Protocole expérimental d'extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation au moyen d'un dispositif d'extraction type *Clevenger* figure II.3. Au niveau du laboratoire de chimie, département de chimie, faculté des sciences de l'université de Saad Dahlab Blida1. L'hydrodistillation du matériel végétal séchées et pulvérisées a été menée pendant 3 heures à partir du début d'ébullition selon le protocole opératoire suivant, une masse végétale (100 g) a été introduite dans un ballon en verre de (1000 ml), puis on ajoute une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon.



Figure II.3 : Dispositif d'extraction Clevenger

Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli

auparavant d'eau distillée. L'HE de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière.

Le distillat (huile + eau) recueilli est transvasé dans une ampoule à décanter. Un relargage est réalisé en ajoutant une spatule de chlorure de sodium et on rajoute environ 40 ml d'éther diéthylique pour la séparation du mélange par différence de densité.

La phase organique contenant l'HE ainsi obtenue est récupérée puis traitée par un déshydratant, le sulfate de magnésium, pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans la phase. Cette deuxième phase est recueillie dans un ballon qu'on passe à l'évaporateur rotatif pour se débarrasser du solvant à une température voisine de 40°C. Et enfin conservée dans des flacons opaques bien scellés à température basse (4-5 C°).

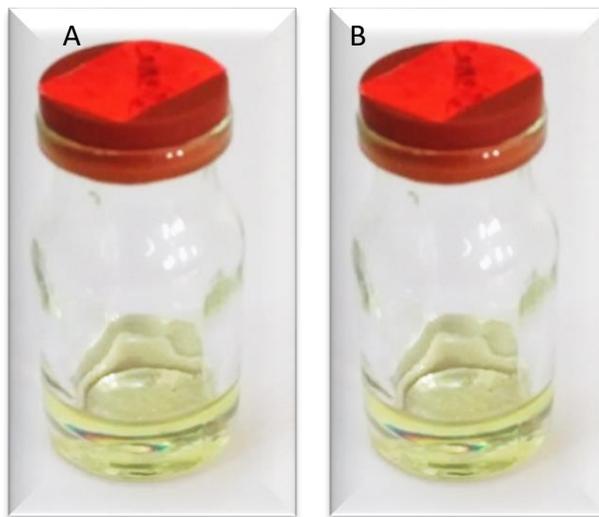


Figure II.4 : Huiles essentielles extraites (A : huile de *C. cyminum* et B : huile de *C. Zeylanicum*)

II.1.2 Caractérisation organoleptique des huiles essentielles

Les huiles essentielles doivent répondre aux caractéristiques analytiques établies par les commissions d'experts nationales et internationales. Pour savoir que la qualité de l'huile essentielle de cumin a été étudiée, des tests organoleptiques (couleur, odeur et apparence) ont été réalisés et comparables à ceux de la norme AFNOR 1990 [101].

II.1.3 Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle (R^{dt} (%)), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction ($M(H.E)$) et la masse de la matière végétale utilisée ($M(MV)$). Il est donné par la formule suivante :

$$R^{dt} (\%) = (M(H.E)/M(MV) \times 100$$

Où :

R^{dt} (%) : rendement en huile essentielle (en g) pour 100g de matière sèche.

M(H.E) : masse de l'huile essentielle obtenue (g).

M(MV) : masse de matière sèche utilisée en (g).

II.1.4 Analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

L'analyse de la composition des huiles essentielles a été effectuée par la technique de la chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrophotométrie de masse Perkin Elmer GC 680 - MS-SQ8T, (figure II.5). L'identification des différents composés des huiles essentielle est effectuée en se basant sur les banques des données spectrales NIST avec un taux de similitude supérieure ou égal à 90%.

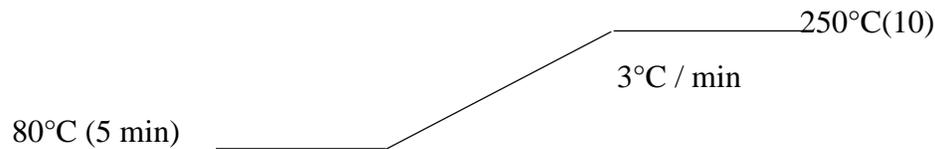


Figure II.5 : Appareil de chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrophotométrie de masse

Dans les conditions suivantes :

- ❖ Une colonne capillaire de type RTX5ms (30 m x 250 μ m d.i ; épaisseur du film de phase stationnaire : 0,25 μ m)
- ❖ Les molécules sont bombardées par un faisceau électronique de 70 eV.
- ❖ La quantité injectée est de 1 μ L se fait par mode split.
- ❖ Le gaz vecteur utilisé est l'hélium d'un débit de 1 ml/mn,

❖ La programmation du four :



❖ Les échantillons des huiles essentielles sont dilués dans l'hexane (1:100) (v/v).

II.2 Résultats et discussions de l'étude chimique

II.2.1 Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles *Cinnamomum Zeylanicum* et *Cuminum cyminum*

Les propriétés organoleptiques des huiles essentielles *Cinnamomum Zeylanicum* et *Cuminum cyminum* sont regroupé dans le tableau **II.1**.

Tableau II.1 : Propriétés organoleptiques des huiles essentielles *Cinnamomum Zeylanicum* et *Cuminum cyminum*

| | Caractéristiques organoleptiques | | |
|----------------------|----------------------------------|------------|--------------------------|
| | Aspect | Couleur | Odeur |
| <i>C. Zeylanicum</i> | Huileux | Jaune pale | Odeur chaude et épicé |
| <i>C. cyminum</i> | Limpide | Jaune pale | Odeur puissante et épicé |

II.2.2 Rendement de l'extraction

Nous rappelons que les huiles essentielles de *C. cyminum* et de la *C. zeylanicum* récoltée dans la région d'Oued Souf, ont été extraites par hydro-distillation pendant 4 heures dans un appareil de Clevenger.

En effet, l'extraction a révèlè une valeur de rendement de l'ordre de 1,67% et 1,72% pour les espèces *C. cyminum* et *C. zeylanicum* respectivement, ces valeurs représentent la moyenne de 12 manipulations.

Des rendements en huiles essentielles des écotypes des espèces étudiées ont été rapportés par différents chercheurs, les différents résultats sont résumer dans les figures **II.6** et **II.7**. D'après les figures, le rendement d'HE de *C. cyminum* bulgare (5.3%) est significativement plus élevé que ceux des autres origines [20], par conséquent les rendement trouvés en Inde (2,0%) [103], en Chine était de (3,80%) [104], respectivement.

Des rendements plus faibles ont été trouvés en Algérie dans la région de Boumerdes (1.8%) [105]. En revanche, notre rendement est du même ordre que le résultat trouvé en Tunisie par Rebey (1.6%) [29].

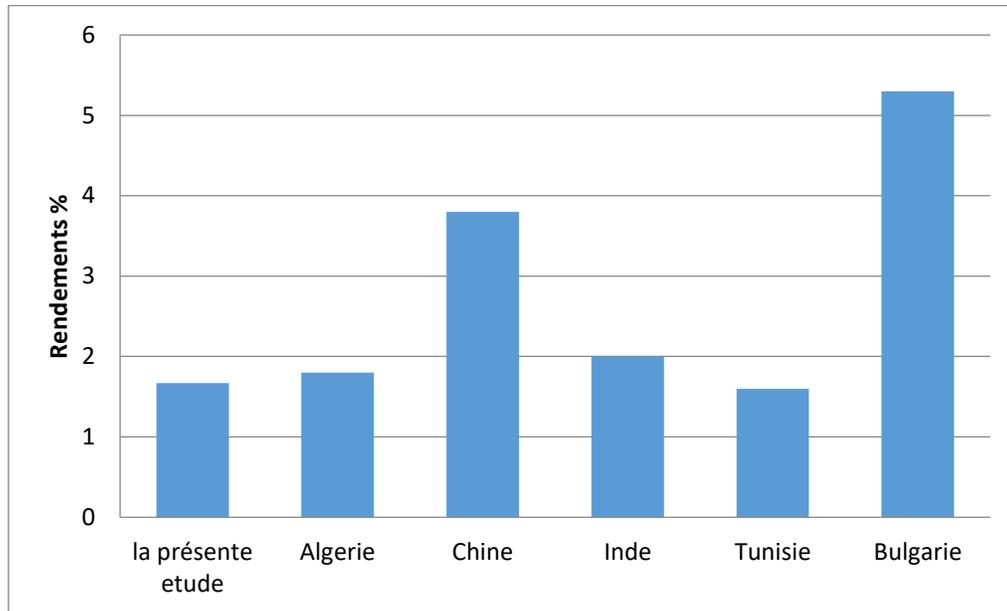


Figure II.6 : Variation du rendement en huile essentielle de *C. Cyminum* dans quelques pays

En ce qui concerne la *C. zeylanicum*, les résultats restent en accord avec ceux cités dans la littérature (1.3% - 2.8%).

Du fait, le rendement en HE de la *C. zeylanicum* qu'on a obtenu semble plus important que celui mentionné par la Chine (1.54%) [106], l'Algérie (Sétif) (1.54%) [107] et l'Iran (1.3%) [108]. Par contre, les rendements en huile les plus élevés ont été trouvés dans les espèces de la Malaisie (1.8%) [101] et celle de Madagascar (2.8%) [109].

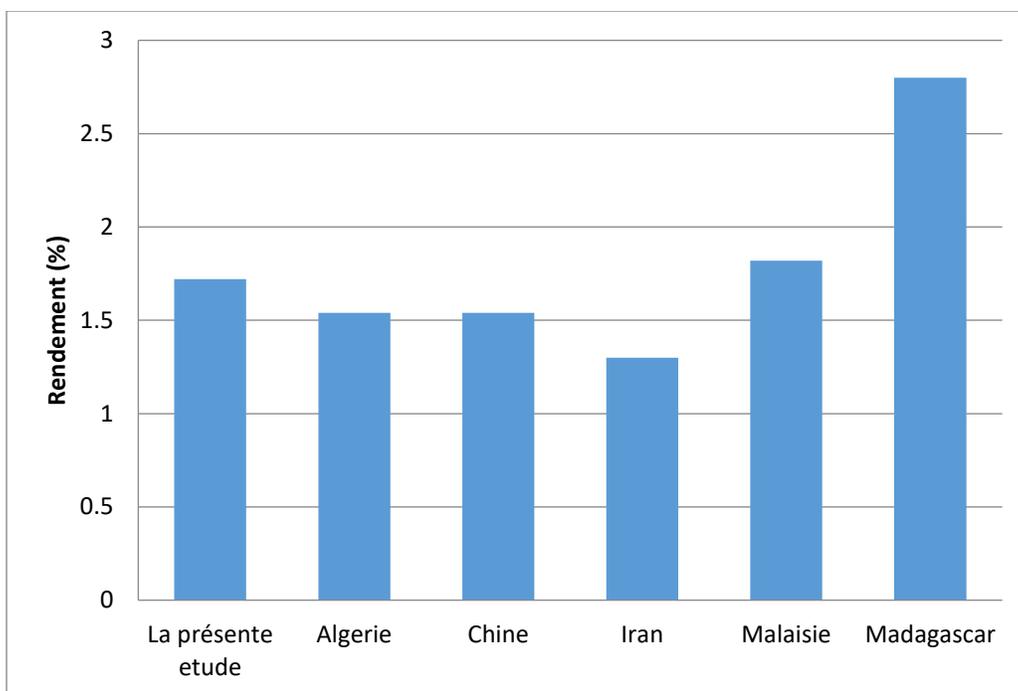


Figure II.7 : Variation du rendement en huile essentielle de *C.Zeylanicum* dans quelques pays

Cette nette différence dans les rendements en huiles essentielles est probablement reliée à plusieurs facteurs telle-que :

- L'origine de l'espèce végétale.
- La période de récolte et la manière de séchage de l'espèce végétale.
- Le climat, la région et la nature du sol
- La méthode et la durée d'extraction des huiles essentielles.

II.2.3 Identification de la composition chimique des huiles essentielles par CG/SM

Les compositions chimiques des huiles essentielles sont présentées dans les tableaux II.2 et II.3. 16 et 22 composés ont été identifiés dans les huiles essentielles de *C. cyminum* et *C. Zeylanicum*, respectivement à l'aide des spectres de masse, des temps de rétention comparé à la banque de données spectrales NIST (Annexe 2).

Tableau II.2 : Constituants de l'huile essentielle de *C. cyminum*

| N° | Tr (min) | Nom de produit | Formule chimique | % |
|----|----------|------------------------|-----------------------------------|-------|
| 1 | 5.12 | O-cymene | C ₁₀ H ₁₄ | 5.42 |
| 2 | 6.16 | γ- Terpinène | C ₁₀ H ₁₆ | 17.01 |
| 3 | 10.67 | Terpinen-4-ol | C ₁₀ H ₁₈ O | 0.17 |
| 4 | 13.31 | Cuminaldéhyde | C ₁₀ H ₁₂ O | 53.31 |
| 5 | 15.12 | 2-Caren-10-al | C ₁₀ H ₁₄ O | 21.42 |
| 6 | 16.92 | p-Mentha-1.4-dien-7-al | C ₁₀ H ₁₄ O | 0.76 |
| 7 | 17.21 | Safranal | C ₁₀ H ₁₄ O | 0.12 |
| 8 | 19.04 | α-Elemene | C ₁₅ H ₂₄ | 0.14 |
| 9 | 20.66 | Cis-caryophyllene | C ₁₀ H ₁₄ O | 0.07 |
| 10 | 21.33 | (Z.E)-α-Farnesene | C ₁₅ H ₂₄ | 0.03 |
| 11 | 22.21 | Cis – β Farnesene | C ₁₅ H ₂₄ | 0.10 |
| 12 | 22.82 | β-Cubebene | C ₁₅ H ₂₄ | 0.06 |
| 13 | 22.94 | Acoradiene | C ₁₅ H ₂₄ | 0.11 |
| 14 | 24.12 | 4-epi-Cubedol | C ₁₅ H ₂₆ O | 0.02 |
| 15 | 24.39 | β-Bisabolene | C ₁₅ H ₂₄ | 0.02 |
| 16 | 27.90 | Carotol | C ₁₅ H ₂₆ O | 0.08 |

Le tableau **II.2** montre les composants identifiés par CG/SM dans l'huile essentielle ; 16 composants ont été caractérisés, représentant 98,84 % de la composition totale de l'HE, qui est formée d'un grand nombre de monoterpènes oxygénés et hydrocarboné.

Les principaux composants identifiés dans cette huile étaient le cuminaldéhyde (53,31%), 2-Caren-10-al (21,42%), γ- Terpinène (17,01%) et O-cymène (5,42%). Les composés oxygénés identifiés contenaient environ 76,06% de la composition totale de l'huile. Les sesquiterpènes étaient présents dans l'huile essentielle à l'état de traces, représentant 0.54%

de l'huile totale, y compris du α -Elemene (0.14%), Acoradiene (0.11%), Cis- β Farnesene (0.1%), (Z.E)- α -Farnesene (0.03%), β -Cubebene (0.06%), β -Bisabolene (0.02%) etc.

Plusieurs études sur l'HE de cette espèce ont été réalisées à travers le monde, car c'est une plante très utilisée en médecine traditionnelle et en cuisine, d'où la nécessité de découvrir la composition d'HE responsable de son arôme fort et caractéristique. Toutes ces études ainsi que la présente, se rejoignent de la richesse de cette espèce en cuminaldéhyde à des pourcentages différents dus généralement aux différences climatiques entre les zones d'étude.

Par exemple, Les HES riches en cuminaldéhyde ont été trouvées au Maroc (84.1%) [110], en Chine (36.31%) [104], en Bulgarie (36%) [20] et en Egypte (35.25%) [111].

L'espèce Algérienne a fait l'objet de quelques études.

19 composants représentant 92,33% de l'HE ont été caractérisés par l'étude de R. Mekaoui et F. Benkacali (2012) [112] les monoterpènes oxygénés (85,4%) étaient la classe prédominante avec cuminaldéhyde (19.4%), p-Cymène (19.17%), γ -Terpinène (18.75%) et le β -pinène (14.2%) comme constituants majeurs.

Tandis que l'étude de variabilité dans la région de Boumerdès rapporté par A. Benrejda et al en 2011 [113] un autre type a été identifié dont les composants majoritaires sont le cuminaldéhyde et à 1-phenyl-1,2-ethanediol des concentrations de (33.3%) et (27.1%) respectivement.

En revanche, l'HE de *C. cyminum* originaire de la région nord de l'Iran se distingue des autres espèces par l'absence du cuminaldéhyde. Elle est caractérisée par le α -Pinène (30%) et le limonène (21%) [114-117].

De plus, la présence β -pinène dans plusieurs HES a été prouvée dans la littérature [20, 104, 111, 118] avec des quantités appréciables alors que le β -pinène est complètement absent dans la présente analyse.

Sahana.K et Nagarajan (2011) [24] a prélevé 11 échantillons dans différentes régions, située au nord-est de l'Iran, qui ont révélé la présence safranal (16.8%–29.0%) et γ -terpinene-7-al (13.5%–25.5%), en tant que composants principaux de l'huile essentielle de *C. cyminum*.

Tableau II. 3 : Les constituants d'huile essentielle de *C zeylanicum*

| N° | Tr (min) | Nom de produit | Formule chimique | % |
|----|----------|---------------------|--|-------|
| 1 | 5.16 | O-cymene | C ₁₀ H ₁₄ | 0,22 |
| 2 | 5.36 | Eucalyptol | C ₁₀ H ₁₈ O | 1,22 |
| 3 | 6.15 | γ-Terpinene | C ₁₀ H ₁₆ | 0,15 |
| 4 | 7.52 | Linalol | C ₁₀ H ₁₈ O | 0,11 |
| 5 | 9.87 | Benzenepropanal | C ₉ H ₁₀ O | 2,02 |
| 6 | 10.67 | Terpinen-4-ol | C ₁₀ H ₁₈ O | 0,38 |
| 7 | 11.26 | α-Terpineol | C ₁₀ H ₁₈ O | 0,64 |
| 8 | 14.70 | Cinnamaldéhyde | C ₁₀ H ₁₈ O | 80,12 |
| 9 | 15.06 | Borneol acétate | C ₁₂ H ₂₀ O ₂ | 1,35 |
| 10 | 18.90 | A-Copaene | C ₁₅ H ₂₄ | 2,10 |
| 11 | 20.67 | Caryophyllene | C ₁₅ H ₂₄ | 1,03 |
| 12 | 21.12 | Coumarin | C ₉ H ₆ O | 0,44 |
| 13 | 21.78 | Cinnamyl Acetate | C ₁₁ H ₁₂ O ₂ | 1,34 |
| 14 | 22.14 | Humulene | C ₁₅ H ₂₄ | 0,12 |
| 15 | 23.00 | γ-Muurolene | C ₁₅ H ₂₄ | 0,46 |
| 16 | 23.97 | A -Muurolene | C ₁₅ H ₂₄ | 5,53 |
| 17 | 24.76 | Δ-Cadinene | C ₁₅ H ₂₄ | 0,83 |
| 18 | 27.10 | Caryophyllene Oxide | C ₁₅ H ₂₄ O | 0,06 |
| 19 | 28.15 | 6-Epi-Shyobunol | C ₁₅ H ₂₆ O | 0,02 |
| 20 | 28.91 | Cubedol | C ₁₅ H ₂₆ O | 0,14 |
| 21 | 29.53 | Tau-Cadinol | C ₁₅ H ₂₆ O | 0,21 |
| 22 | 30.56 | Cadalene | C ₁₅ H ₁₈ | 0,09 |

Dans cette analyse, 22 composés ont été identifiés, représentant 98.58% de la composition totale d'HE. D'après le chromatogramme, l'huile est dominée par le cinnamaldéhyde (80,12%) et le α -muurolène (5,53%). D'autres monoterpènes oxygénés sont présents à des teneurs appréciables : benzenepropanal (2.02%), borneol acetate (1.35%), cinnamyle acetate (1.34%) et l'eucalyptol (1.22%). La fraction des sesquiterpènes était représentée par le caryophyllène (1.03%) ainsi que l' α -copaène (2.10%). Le γ -muurolène, le caryophyllène l'oxide, le Δ -cadinène et l'humulène ont été identifiés à une teneur faible de 0.02-0.83%.

Les résultats de l'analyse chimique montrent que l'HE de *C. zeylanicum* contient de cinnamaldéhyde (56.8%) comme constituant majoritaire, qui peuvent être rencontrés dans la plus part des huiles essentielles de cette espèce de provenance de différentes régions, citons : la Turquie (99.54%) [119], l'Inde (87%) [120] et la Malaisie (86,67%) [110] .

Notamment Kamaliroosta et al, (2011) [107] ont identifiés et quantifiés 19 composés dans l'HE de *C. zeylanicum* obtenue en Iran, l'aldéhyde cinnamique (62,09%), suivi par l'aldéhyde para-méthoxy cinnamique (11,56%), l'alpha-copaène (6,98%) et l'alpha-muurolène (4,32%) étaient les principaux constituants d'huile.

En plus, on peut constater la présence du caryophyllène (1 à 4%), cinnamyle acetate (1 à 8%) et coumarin (0.5%) à des teneurs supérieures à ce qu'on a enregistré dans la présente huile [121].

L'eugénol n'a pas été détecté parmi les constituants de *C. zeylanicum* alors qu'il été cité dans la majorité des études à des quantités appréciables de 70-75% en Indonésie [122]. En Égypte, le trans-caryophyllène et l'eugénol ont été observés comme composés majoritaires 17.78% et 14.67% respectivement [123]. Par ailleurs, la composition chimique de l'huile essentielle en Inde a été examinée les constituants majoritaires présentés été le cinnamaldéhyde (52.42%), benzaldehyde (12.31%), l'acide benzoïque (8.20%) avec une absence de l'eugénol [120].

Chapitre III: Activité antibactérienne et testes de combinaison

III.1 Matériels et méthodes

Afin d'évaluer l'effet antimicrobien des deux huiles essentielles, sur une sélection de 5 souches de référence bactérienne, nous avons adopté deux tests microbiologiques l'aromatogramme (méthode de diffusion en milieu solide) pour tester la sensibilité des bactéries vis-à-vis aux huiles, la méthode de dilution pour la détermination des CMI et la méthode de l'échiquier. Ces derniers ont été réalisés au niveau du laboratoire de Chimie des substances naturelles et de biomolécules à l'université Saad Dahlab Blida.

III.1.1 Microorganisme utilisés

Pour évaluer l'effet antimicrobien des deux HEs (*C. cyminum* et *C. zeylanicum*) sur une sélection de 5 bactéries, ont été choisis pour leur pathogénicité et leur implication fréquente dans la contamination des denrées alimentaires.

Des bactéries Gram-positif : *S. aureus* et *L. monocytogenes* et des bactéries Gram-négatif : *E. faecium*, *E. coli* et *E. cloacae*. Ces souches bactériennes sont sous forme des lots ATCC ; elles sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance et ont été conservés à une T° de réfrigération (4°C).

Tableau III.1 : Généralités sur les souches bactériennes utilisées

| Souches bactérienne testées | Caractères bactériologiques | Référence |
|-------------------------------|-----------------------------|------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Gram + | ATCC 44300 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | Gram + | ATCC 13932 |
| <i>Escherichia coli</i> | Gram - | ATCC 25922 |
| <i>Enterococcus faecium</i> | Gram - | ATCC 51559 |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | Gram - | ATCC 23355 |

III.1.2 Repiquage

Les souches bactériennes ont été ensemencées sur une boîte pétri de 90 mm contenant le milieu MH solide à l'aide d'une pipette pasteur ou une anse de platine puis incubées dans l'étuve pendant 24h à 37°C.

III 1.3 L'aromatogramme (méthode de diffusion sur disque)

L'aromatogramme est une méthode qui se réalise *in vitro*, basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques [124].

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés de différentes substances à tester, puis déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la souche microbienne à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, plus la souche est sensible à la substance testée, plus il est petit plus la souche est résistante. Cependant, on peut exprimer cette activité soit en indiquant directement le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre, soit en traduisant en croix le degré d'activité [125].

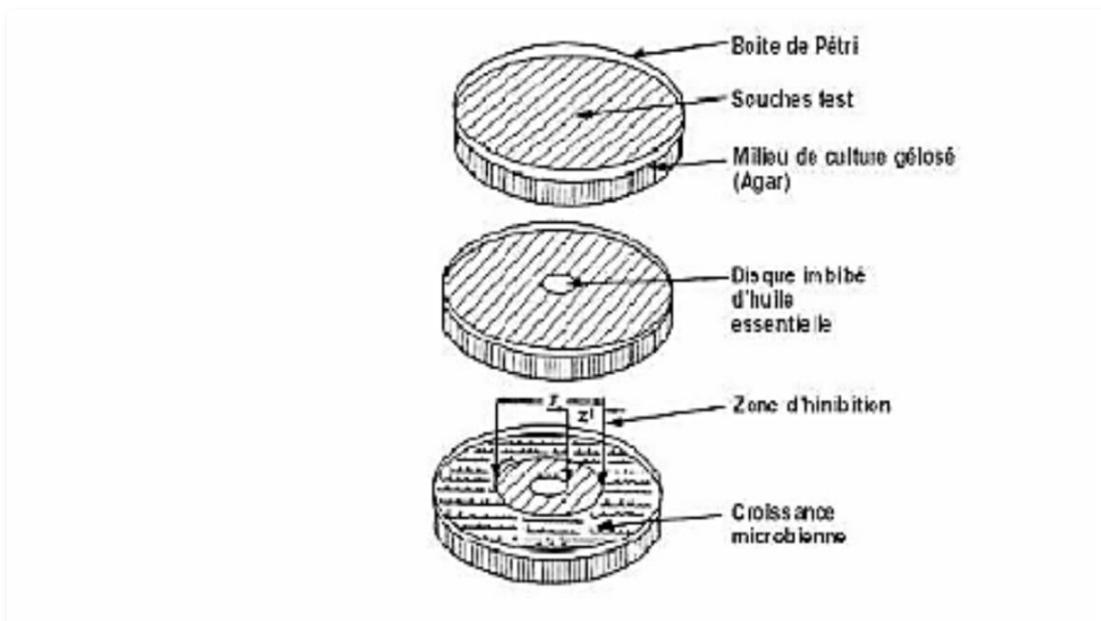


Figure III.1 : Illustration de la méthode d'aromatogramme [105]

III.1.3.1 Protocole expérimental

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Les colonies isolées ont servi à préparer l'inoculum [126]

➤ Préparation de Précultures

Les tests antimicrobiens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de (18 à 24 heures). La réactivation des souches est effectuée par ensemencement de la souche microbienne dans un milieu liquide (Le bouillon nutritif LB). Les germes utilisés ont été cultivés sur gélose nutritive, les boîtes ainsi ensemencées sont incubées à 37°C pendant 18 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48 heures pour les champignons.

➤ Ensemencement

La gélose de Muller Hinton fondue refroidie à 45°C. Elle a été coulée dans des boîtes pétri aseptiquement à raison à une épaisseur de 04 mm pour la solidification. Après solidification, un écouvillon stérile a été imbibé dans la suspension bactérienne et essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube sans oublier de faire pivoter, afin de le décharger au maximum. La démarche suivante est d'étaler en frottant l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose de haut en bas en stries serrées à trois reprises, l'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois en tournant l'écouvillon sur lui-même. A la fin de l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose, pour avoir une distribution égale de l'inoculum.

➤ Dépôt des disques

Les disques stériles imprégnés des huiles essentielles ont été déposés à l'aide d'une pince sur la surface de la gélose.

➤ Incubation

Pour toutes les souches bactériennes testés les boîtes ont été préparées et incubées (couvercle en bas) 24h à 37°C.

➤ Expression des résultats

La lecture des résultats se fait par la mesure de la zone de diamètre qui est représentée par une auréole formée autour de disque ou aucune croissance n'est observée.

D'après Celikel et Kavas (2007) [127] la sensibilité à l'huile a été classée par le diamètre des halos d'inhibition :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm.

III.1.4 Méthode de dilution en milieu liquide

Les méthodes de dilution sont les plus appropriées pour la détermination des valeurs de CMI, car elles offrent la possibilité d'estimer la concentration de l'agent antimicrobien testé. La méthode de dilution en bouillon ou en gélose peut être utilisée pour mesurer quantitativement l'activité antimicrobienne *in vitro* contre bactéries et champignons. La valeur CMI enregistrée est définie comme la plus basse concentration de l'agent antimicrobien testé qui inhibe la croissance visible du microorganisme testé, et elle est généralement exprimé en mg/ml ou en mg/L [128]. Cette méthode consiste à mettre une suspension bactérienne standardisé au contact de concentrations croissantes de l'agent antimicrobien a testé. L'inoculum bactérien est distribué de façon égale dans une série de tubes (méthode de macro dilution) contenant un volume minimum de 2 ml. Après incubation, la CMI est indiquée par le tube qui contient la plus faible concentration de l'agent où aucune croissance n'est visible. Pour les tests standards, nous considérons qu'une HE, fraction ou molécule est active pour une souche donnée pour une CMI inférieure à 1000 µg/ml [129,130].

Il est bien connu que la méthode de préparation et la taille de l'inoculum, le type du milieu de croissance, le temps d'incubation peut influencer les valeurs de CMI. Les normes les plus reconnues sont fournies par le CLSI et le Européen Comité sur les tests de sensibilité aux antimicrobiens (EUCAST) [131].

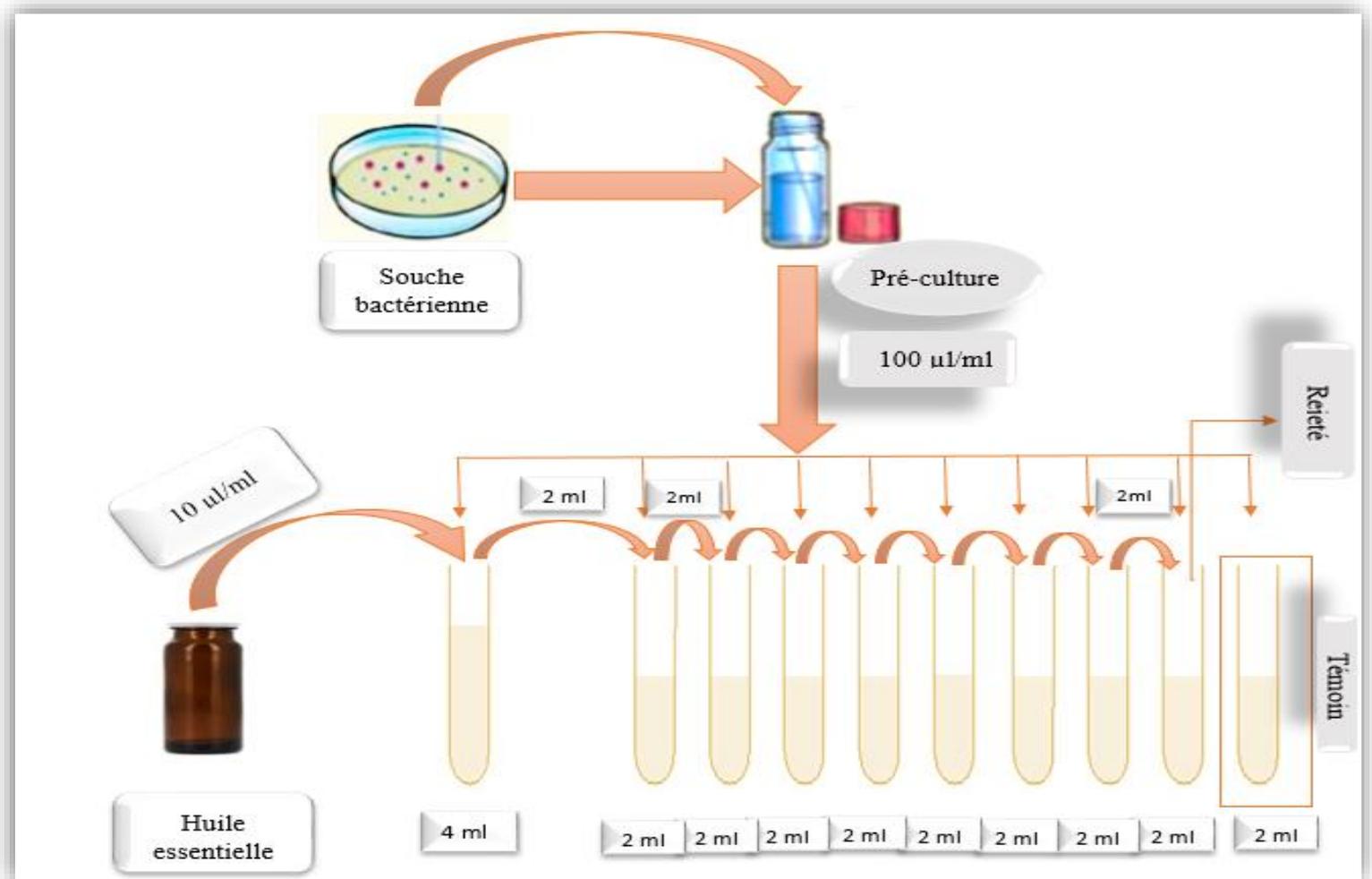
III.1.4.1 Protocole expérimental

- Préparation des différentes concentrations des échantillons testés

Une série de 9 tubes stériles avec le milieu de culture liquide « ISP2 » a été préparé dont le premier tube contenant 4 ml et les huit autres tubes remplis de 2 ml du milieu.

Deux séries de dilution ont été préparé pour les deux HEs à tester contre chaque souche microbienne.

Une concentration de 10 µl/ml d'HE a été ajoutée dans chaque tube hormis le tube témoin de la croissance de la souche a testé. Enfin une quantité de préculture (100 µl/ml) est



ajoutées dans les 9 tubes. Puis incuber à 37°C pendant 24h.

Figure III.2 : Représentation de la méthode de macro dilution de matrices testées

- **Lecture du résultat**

La quantité de croissance dans les tubes contenant l'agent antimicrobien a été comparé à la quantité de croissance dans les tubes de contrôle de la croissance (sans agent antimicrobien) utilisée dans chaque série d'essais lors de la détermination des paramètres de croissance.

III.1.5 Etude de l'effet synergique des huiles essentielles de *Cuminum Cyminum* et *Cinnamomum Zeylanicum*.

Pour l'évaluation de l'effet antimicrobien de l'association des deux HEs réalisée par la méthode échiquier dans lequel 2 agents antimicrobiens sont dilués en série dans une manière à inclure toutes les combinaisons dans une plage spécifiée cliniquement pertinente. En utilisant ces méthodes, on peut reconnaître des effets synergiques, additifs, interactions indifférentes ou antagonistes avec les agents testés.

III.1.5.1 Protocol expérimental

La procédure échiquier décrite par White et ses collaborateurs (1996) [132] a été suivie pour évaluer l'action synergique des deux HEs (*C. cyminum*/*C. zeylanicum*).

- ❖ L'inoculum initial a été préparé comme décrit dans la méthode de l'aromatogramme.
- ❖ Une série de neuf dilutions des deux huiles ont été préparées suivant la même méthode utilisée pour évaluer la CMI.
- ❖ Préparation des dilutions des deux HEs : Les concentrations préparées représentaient 1/2, 1/4 et 1/8 de la valeur de CMI pour chaque huile.
- ❖ Les concentrations des huiles sont répartie de façon a doné 9 différentes dilutions comme il est représenter dans le shéma suivant :

A Dilution

| | | | |
|--|-------|-------|-------|
| | A1 B3 | A1 B2 | A1 B1 |
| | A2 B3 | A2 B2 | A2 B1 |
| | A3 B3 | A3 B2 | A3 B1 |

B Dilution ←

Schéma III. 1 : La répartition des concentrations des huiles essentielles obtenues à partir des différentes dilutions.

D'où :

$$A1 = 1/2 \text{ CMI}$$

$$B1 = 1/2 \text{ CMI}$$

$$A2 = 1/4 \text{ CMI}$$

$$B2 = 1/4 \text{ CMI}$$

$$A3 = 1/8 \text{ CMI}$$

$$B3 = 1/8 \text{ CMI}$$

A : Huile essentielle du *C. cyminum*

B : Huile essentielle de *C. zeylanicum*

❖ Interprétation des résultats

Dans notre protocole expérimental, les combinaisons des huiles ont été analysées en calculant l'indice ICIF comme suit [133]:

$$\text{ICIF} = \text{CIF de l'agent A} + \text{CIF de l'agent B}$$

$$\text{CIF de l'agent A} = \text{CMI de l'agent A de la combinaison} / \text{CMI de l'agent A seul}$$

$$\text{CIF de l'agent B} = \text{CMI de l'agent B de la combinaison} / \text{CMI de l'agent B seul}$$

Où:

✓ ICIF = les indices de concentration inhibitrice fractionnaires

- ✓ CIFA et CIFB sont les concentrations minimales fractionnaires qui ont inhibé la croissance bactérienne pour les échantillons d'huile A et B, respectivement.
- ✓ Combinaison CMIA = CMI de l'huile A en présence de l'huile B
- ✓ Combinaison CMIB = CMI de l'huile B en présence de l'huile A
- ✓ CMIA seul = CMI d'un seul échantillon d'huile
- ✓ CMIB seul = CMI d'un autre échantillon d'huile

Ensuite, les résultats de FICI ont été classés comme synergisme, addition, l'indifférence ou l'antagonisme. Suivant :

- ✓ Synergie est généralement définie comme une diminution de 4 fois la CMI des agents en combinaison par comparaison avec les antibiotiques testés uniquement : $CIF \leq 0.5$
- ✓ Indifférence est définie à $0.5 \leq CIF \leq 4$
- ✓ Antagonisme est défini comme $CIF \geq 4$
- ✓ Certains chercheurs considèrent les composés comme additifs quand $0.5 \leq CIF \leq 1$

III.2 résultats et discussion

III.2.1 Activité antibactérienne qualitative

Pour l'évaluation du potentiel antibactérien qualitative de nos huiles, nous avons opté de les tester contre 5 microorganismes, Les mesures des diamètres d'inhibitions de nos HEs ont été effectuées à l'aide d'une règle ; la souche est dite sensible, lorsqu'une zone d'inhibition circulaire se forme autour du disque, si la souche est résistante, le diamètre de cette zone sera très faible jusqu'à une valeur nulle ou on peut remarquer une poussée de germes entourant le disque.

Les images montrant les diamètres d'inhibition des tests, figurent en annexe 2 et 3 et les différents diamètres sont présentés dans le tableau III.2.

Tableau III.2 : Résultats de l'aromatogramme général de toutes les bactéries étudiées

| | Zone d'inhibition | |
|-------------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| | H.E de <i>C. zeylanicum</i> | H.E de <i>C. cyminum</i> |
| <i>Enterobacter cloacea</i> | 32 mm | 27 mm |
| <i>Escherichia coli</i> | 44 mm | 24 mm |
| <i>Enterococcus Faecium</i> | 43mm | 21 mm |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 44 mm | 29 mm |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 32 mm | 21 mm |

L'HE de *C. cyminum* et celle de *C. zeylanicum* se sont avérés très actifs contre toutes les souches testées. Pour les souches *E. Faecium*, *E. coli* et *L. monocytogenes*, on remarque la présence d'une zone d'inhibition qui est très importante dépassant les (40 mm) de diamètre donc elle manifeste une sensibilité très élevée.

- *E cloacea* et *S aureus* possèdent un potentiel de résistance très faible contre l'action antibactérienne de l'HE de *C. zeylanicum* avec une zone d'inhibition de (32 mm).
- Au regard de ces résultats, l'HE de *C. cyminum* a montré un effet antibactérien plus prononcé vis-à-vis a *L monocytogenes* (29 mm), *E cloacea* pour (27 mm) et *E. coli* (24 mm).
- Quelques zones d'inhibition modérées avec l'HE de *C. cyminum* ont été enregistrées avec *E. Faecium* (21 mm), *S. aureus* (21 mm).

D'après les zones d'inhibition générées par les HEs étudiées, l'HE de *C. zeylanicum* a présenté la meilleure activité sur l'ensemble des souches testées.

Plusieurs auteurs ont ainsi rapporté dans leurs études un similaire résultat que le nôtre. En effet, P. Iserin et F Moulard (2001) [79] ont rapporté que l'activité d'HE de *C. zeylanicum* sur plusieurs bactéries, a présenté des zones inhibitrices assez intéressantes sur *E. coli* (d= 31 mm) et *S. aureus* (d=42mm), cette activité semble due au fort taux d'eugénol.

Une autre étude montrant un fort effet inhibiteur de l'huile essentielle de *C. zeylanicum* Algérienne de la région de Sétif sur *P aeruginosa*, *S aureus* et *E coli*. La zone d'inhibition était plus élevée chez la bactérie *S aureus* (d=50mm) et *E coli* (d=36 mm) [134].

De même, pour un autre test en Algérie ou ils ont déduit de toutes les bactéries étudiées une sensibilité significative contre *E coli* avec un diamètre de 44mm, suivie par *S aureus* a un diamètre de 36 mm [135].

Par ailleurs, l'huile essentielle de *C. cyminum* a enregistré un effet inhibiteur moins important que celui approuver par la littérature. Ainsi, une forte activité de l'HE de *C. Cyminum* sur *E. coli* dont le diamètre d'inhibition atteint 60 mm a été remarqué [136] .

En effet, selon Farag et al, Hinou et al [137,138] un composé manifeste une activité inhibitrice généralement importante lorsqu'il présente l'une des structures chimiques suivantes.

- Un groupement fonctionnel polaire greffé sur un noyau aromatique ex ; thymol
- Une isomérisation β tel que le β pinène.
- Une structure méthyl isopropyl d'une part, et une fonction cétone ou alcool d'autre part.

Cette sensibilité est attribuée principalement à l'activité antibactérienne des molécules lipophiles capables de pénétrer la double couche phospholipidique, entraînant alors un changement de conformation et un mauvais fonctionnement de la membrane cellulaire [139].

III.2.2 La détermination de la concentration minimale inhibitrice

En plus de l'activité antibactérienne qualitative, une étude quantitative de ces huiles a été réalisée. D'autre terme, la détermination des concentrations minimales inhibitrices des deux huiles vis-à-vis souches testées ; Les HEs présentent un profil de sensibilité important, vis-à-vis des agents oxydants. Elles peuvent être démunies de leurs activités par contact prolongé à l'air ambiant et à la lumière, aussi elles doivent impérativement être conservées dans des conditions strictes à l'abri de l'air et de la lumière.

Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure suivante et les images en annexe 4 et 5:

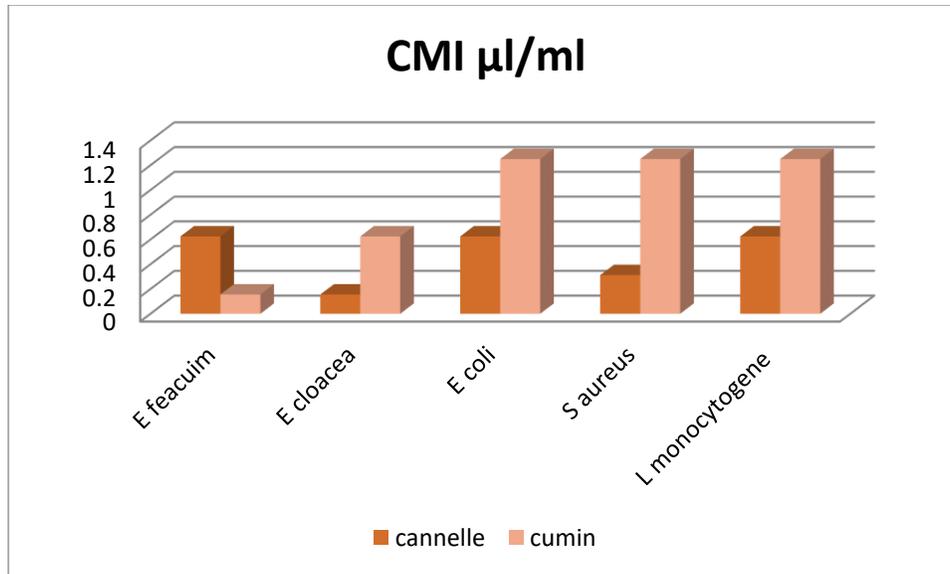


Figure III.3 : Histogramme des résultats des CMI

Cet histogramme résume les résultats des CMI des HEs de *C. cyminum* et *C. zeylanicum* qui varient de 0.156 µl/ml à 1.25 µl/ml.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que les deux HEs inhibent la croissance des souches avec des degrés de sensibilité différents. Selon les souches on constate, d'un côté une très grande sensibilité pour *E. feacium* et *E. cloacea* avec des CMI égales à 0.156 µl/ml et 0.625 µl/ml, et de l'autre côté une sensibilité inférieure de la part de *E. coli*, *S. aureus* et *L. monocytogenes* avec des CMI qui varient entre 0.312 µl/ml et 1.25 µl/ml, mais les deux HEs exercent toujours une inhibition notable.

L'activité inhibitrice des HEs s'exerce d'une manière différente suivant le milieu solide ou liquide, ce qui peut s'expliquer en termes de diffusion, de volatilité mais aussi d'oxydation. En effet en milieu solide le principe actif se volatilise facilement vers l'extérieur de la boîte de Pétri, facilité par la température de l'étuve. En milieu liquide par contre le principe actif est maintenu dans un milieu hermétique, ce qui limite aussi les phénomènes d'oxydation. Plusieurs auteurs ont ainsi rapporté dans leurs études l'activité d'HE de *C. Zeylanicum*, particulièrement sur *E. coli*, d'où Faid M., Kalalou I (2007) [138] ont confirmé l'activité de cette huile qui est qualifiée de bactéricide sur cette souche. En effet, sur diverses souches de *E. Coli* (dont certaines souches sont pathogènes et provoquent une symptomatologie de diarrhées), l'HE a montré une activité antibactérienne avec une CMI de 1.12 µl/ml plus

élevée que la streptomycine (antibiotique-antituberculeux actif contre *E. coli* ; utilisée comme témoin) qu'elle a révélé une CMI de 0.2 µl/ml.

Par ailleurs, les résultats d'HE de *C. Cyminum* trouvé dans la littérature ; Gachkar et al. (2007) [114] ont indiqué que cette huile iranienne présentait des activités antimicrobiennes bonnes à modérées contre *E. coli*, *S. aureus* et *L. monocytogenes* testés. En fait, *E. coli* était la bactérie la plus susceptible avec la plus faible valeur de CMI (1 µl / ml) et *L. monocytogenes* nécessitait une concentration plus élevée en HEs (2 µl / ml) pour une élimination complète avec une CMI de 0.8 µl / ml.

III.2.3 L'évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode l'échiquier

Dans cette partie, nous avons élargie notre investigation aux tests des effets de l'association des deux huiles essentielles sur les 5 souches testés. Les résultats de ce test laissent voir des combinaisons comparables, ils sont représentés dans la figure III.4 et en annexe (6, 7,8 et 9) d'après la figure on constate que

- Toutes les souches se sont montrées sensibles pour la combinaison des HEs du *C. cyminum/C. zeylanicum*.
- *L. monocytogenes* se caractérise par une remarquable sensibilité du fait que les CMI_{ass} obtenues sont nettement inférieure de 1/8 de les CMI obtenues pour les HEs seules de valeur égal à 0.156 µl/ml et 0.078 µl/ml respectivement.
- On constate pour cette combinaison que *E. cloacea* et *E. coli* présente enfin une sensibilité très importante.
- Il en est de même pour *S. aureus* et *E. feacium* la combinaison exerce une bonne inhibition. Elles ont réduit la CMI de l'huile essentielle de *C. zeylanicum* à une concentration de 50%.

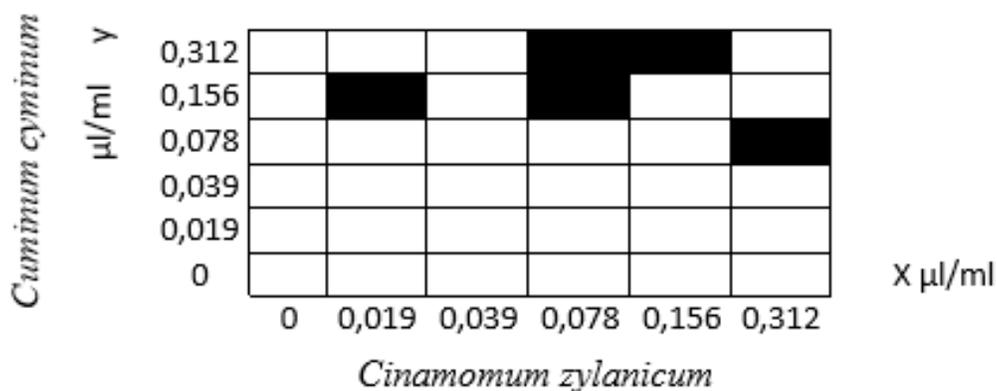


Figure III.4 : Représentations en damier de l'association des deux huiles essentielles. Les cellules en noire montrent les combinaisons testées

La mesure de l'effet association *C. cyminum*/*C. zylanicum* a été obtenue en calculant l'Indice de Concentration Inhibitrice Fractionnaire (ICIF) selon la formule ci-dessous. Les résultats de cette enquête sont montrés dans le tableau III.3.

$$ICIF = \frac{CMI \text{ de l'HE}_{C. \text{cyminum}} \text{ en combinaison}}{CMI \text{ de l'HE}_{C. \text{cyminum}} \text{ seul}} + \frac{CMI \text{ de l'HE}_{C. \text{zylanicum}} \text{ en combinaison}}{CMI \text{ de l'HE}_{C. \text{zylanicum}} \text{ seul}}$$

Tableau III.3 : L'indice de concentration inhibitrice fractionnelle (ICIF) de *C. Cyminum* et de *C. Zylanicum*

| | CIF <i>C. cyminum</i> | CIF <i>C. zylanicum</i> | ICIF |
|------------------------|-----------------------|-------------------------|-------|
| <i>E. faecium</i> | 0.5 | 0.499 | 1 |
| <i>S. aureus</i> | 0.249 | 0.5 | 0.749 |
| <i>E. cloacea</i> | 0.249 | 0.121 | 0.37 |
| <i>L. monocytogene</i> | 0.124 | 0.121 | 0.245 |
| <i>E. coli</i> | 0.249 | 0.121 | 0.37 |

Ces résultats nous permettent de conclure que :

- Les deux huiles essentielles étudiées ont agi d'une manière synergique sur les 3 souches *E. cloacea*, *L. monocytogene* et *E. coli*.
- Toutefois, l'association *C. cyminum*/*C. zeylanicum* a présenté un effet additif ($0,5 \leq \text{CIF indice} = 1$ et $0,749 \leq 1$) contre *E. feacium* et *S. aureus*.
- Pas d'effets d'indifférence ou d'antagonisme ont été détectés dans les combinaisons des deux huiles contre les souches testées.

- L'analyse individuelle des souches montre que chacune des huiles utilisées présente un très bon pouvoir antibactérien avec des microorganismes-cibles différents. Mais dans certains cas, notamment pour les souches résistantes, les associations d'huiles représentent la meilleure alternative.

D'après la littérature, les combinaisons des huiles essentielles sont plus efficaces que lorsqu'ils sont utilisés séparément. Par exemple, une étude faite sur l'effet synergique des huiles essentielles de *C. cyminum* et *B. persicum* avait montré une activité inhibitrice plus élevée contre la plupart des bactéries pathogènes, comparé à l'utilisation de chaque huile essentielle seule. Il y avait une activité synergique (CIFIndice < 0,9) contre les bactéries à Gram positif, y compris *S. aureus*, *B. cereus* et *L. monocytogenes*. Des effets additifs ($0,9 < \text{CIFIndice} < 1,1$) ont été observés contre les bactéries à Gram négatif, y compris *E. coli* et *S. Enteritidis* [130].

Ainsi, Le cinnamaldéhyde fait partie des aldéhydes les plus actifs contre les bactéries à Gram positives et à Gram négatives, y compris *Clostridium*, *Pseudomonas*, les levures et les champignons [128]. Lors de l'application combinée de disques d'antibiotiques contenant de l'HE et de la gentamicine, un effet synergique chez *M. pyocyaneus* et *A. hydrophila* a également mis en évidence un effet antagoniste chez d'autres bactéries [30].

Notamment, il a été estimé que l'activité antimicrobienne de certains HEs pourrait être attribuée à la présence des composés mineurs présents à de faible taux non négligeables tel que : le linalol et eucalyptol connus pour exhiber une activité antibactérienne impliqué dans les phénomènes de synergie entre les différents constituants qui peuvent être à l'origine d'une activité antimicrobienne beaucoup plus prononcée que celle prévisible par les composés majoritaires [21].

En outre, l'utilisation d'inhibiteurs de la résistance aux antibiotiques pour une thérapie combinée suscite un intérêt croissant, L'HE de *C. Zeylanicum* a renforcé l'activité bactéricide de la clindamycine et diminué la concentration minimale inhibitrice de clindamycine requise pour une souche toxigène de *C. difficile*, d'où H. Monsef et F. Tavasoli (2007) [68] ont testés des combinaisons de clindamycine et de trans-cinnamaldéhyde pour déterminer l'indice CIF. L'indice CIF de *C. difficile* s'est révélé être de 0,312, ce qui confirme les effets synergiques de la clindamycine et du trans-cinnamaldéhyde. La présence de 20 µg / mL de trans-cinnamaldéhyde a diminué la CMI de la clindamycine pour *C. difficile* 16 fois, de 4,0 à 0,25 µg / mL. Ces résultats signifient que de faibles concentrations de trans cinnamaldéhyde augmentent l'action antimicrobienne de la clindamycine, suggérant un bénéfice clinique éventuel de l'utilisation de ces produits naturels en association à *C. difficile*.

Conclusion Générale

Le présent travail est consacré à l'extraction par hydrodistillation, l'étude chimique par l'analyse chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CG/SM) ainsi que la détermination des activités antibactérienne et l'association des huiles essentielles *C. zeylanicum* et *C. cyminum* provenant de la région d'Oued souf (Algérie).

Le rendement moyen en huiles essentielles de *C. zeylanicum* et *C. cyminum* est de 1,72% et 1,67% respectivement. L'analyse chimique par (CG/SM), à permet d'identifier 98% de la composition globale des huiles. Les résultats d'analyse de l'huile *C. cyminum* ont enregistré comme principaux composés : le cuminaldéhyde (53,31%), 2-carene-10-al (21.42%) et γ - terpinène (17.01%). Le cinnamaldéhyde (80,12%) et le α -muurolène (5.53%) sont les constituants majoritaires identifiés parmi les 22 composés caractérisés pour *C. zeylanicum*.

Les résultats de l'effet antibactérien ont révélé une activité assez importante des deux huiles contre les 5 souches bactériennes avec des CMI allant de 0.156 μ l/ml à 1.25 μ l/ml La combinaison des deux HEs à enregistrer une activité synergique contre trois bactéries (*E. cloacea*, *L. monocytogene* et *E. coli*.) et des effets d'addition ont été observés contre les bactéries *E. feacium* et *S. aureus*. La composition des huiles essentielles, à un rôle très important dans ces activités, d'où c'était nécessaire d'analyser nos échantillons, qui révèle des profils différents qu'apportés par la littérature.

D'après ces résultats, cette activité antimicrobienne intéressante, peut aussi nous ouvrir les portes vers l'évaluation in vivo et l'exploitation de ces huiles pour une future utilisation dans l'industrie agro-alimentaire en substituant les additifs chimiques de conservation par ces additifs naturels. En plus de l'étude d'autres propriétés biologiques de ces plantes, à savoir les propriétés : anti-inflammatoire, antivirale, anti-lithiasique et autres.

Référence Bibliographiques

- [1] Konaté. K, Mavoungou. J, Lepengué. A, d'Aworet-Samseny. R.R. A, Souza.A, M'Batchi, B. (2012). Activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline et à l'ampicilline producteurs de β -lactamase: détermination de l'indice de concentration inhibitrice fractionnaire (FICI). *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 11 (1), 18.
- [2] Antunes. Ojo O, Anibijuwon I. (2010) Synergistic effect of plants extracts on bacteria. *World Rural Observ* ;2(2):10-4.
- [3] Kesatebrhan H. (2013), Antimicrobial effect & phytochemical screening of crude extracts of medicinal plants grown in eastern Ethiopia. *Int J Pharm BioSci.*;4(4):326-33.
- [4] Abraham.P et Paridhavi.M (2013), A review of comprehensive study on medicinal plants of polyherbal formulation-Churna, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6(4), 10-18.
- [5] Bobbarala. V, Rybicki. EP, Chikwamba. R, Koch M, Rhodes. JI, Groenewald. JH. (2012). A Search for antimicrobial agents. Croatia, In Tech; *Plant made therapeutics: an emerging platform in South Africa*. *AJB.*;30(2):449-59.
- [6] Jean, B. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier.
- [7] Garner J. (septembre 1984), La cannelle de Ceylan : son huile essentielle et ses propriétés d'extraction, *Phytotherapy*, volume 11, p. 5-15.
- [8] Dhaliwal.H.K, Singh.R, Sidhu.J.K, Grewal.J.K, et Sadhar.G, (2016), Phytopharmacological properties of *Cuminum Cyminum Linn.* as a potential medicinal seed: an overview, *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(6), 478-489.
- [9] Al-Snafi A. E, (2016), The pharmacological activities of *Cuminum cyminum* - A review, *IOSR Journal of Pharmacy*, 6(6), 46-65.
- [10] Association Française de Normalisation, (1986), Recueil de normes Françaises

- “Huiles essentielles”, AFNOR, Paris. AFNOR NF T 75-006.
- [11] ISO/DIS 9235.2: (1997). Aromatic and Natural Raw Materials—Vocabulary. Geneva. International Standard Organisation.
- [12] Hyldgaard. M, Mygind. T, and Meyer. R. L., (2012), “Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components,” *Front. Microbiol.*, vol. 3, pp. 1–24.
- [13] Chemat F., Vian M.A., Cravotto G., 2012. Green Extraction of Natural Products : Concept and Principles. *International Journal of Molecular Sciences* 13, 8615–8627.
- [14] Paré J., Sigouin M., Lapointe J., 1990. Extraction des produits naturels assistée par micro-ondes. Brevet européen. EP 398798.
- [15] N. Dagli, R. Dagli, R. S. Mahmoud, and K. Baroudi, , (2015) “Essential oils, their therapeutic properties, and implication in dentistry: A review.,” *J. Int. Soc. Prev. Community Dent.*, vol. 5, no. 5, pp. 335–40.
- [16] Tabanca. N, Demirci. N, Ozek. B, Kirimer. T, Baser. N, Husnu. K Can, Erdal. B, I. Khan et Wedge. D.E, (2006), Gas chromatographic–mass spectrometric analysis of essential oils from *Pimpinella* species gathered from Central and Northern Turkey, *Journal of Chromatography*, 17(2), 194-205.
- [17] Quezel. P, Santa. S et Schotter . O, (1962), Nouvelle flore de l’Algerie et des regions desertiques meridionales Tome 1, 2^{-ème} éd. Paris (France), *Centre National de la Recherche Scientifique*, 643-666.
- [18] Aćimović. M. G, Kostadinović. L. M, Popović. S. J, et Dojčinović. N. S, (2015), Apiaceae seeds as functional food, *Journal of Agricultural Sciences*, 60(3), 237-246.
- [19] Jirovetz. L, Buchbauer. G, Stoyanova. A. S, Georgiev E. V., et Damianova. S. T, (2005), Composition, quality control and antimicrobial activity of the essential oil of cumin (*Cuminum cyminum L.*) seeds from Bulgaria that had been stored for up to 36 years, *International Journal of Food Science and Technology*, 40(3), 305-310.

- [20] Athamena. S, Chalghem. I, Kassah-Laouar. A., Laroui. S, et Khebri. S, (2010),
Activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum*.L ,
Lebanese Science Journal, 11(1), 69-81.
- [21] Singh.R. P, Gangadharappa. H. V, et Mruthunjaya. K, (2017), *Cuminum cyminum* –
A Popular Spice: An Updated Review, *Pharmacognosy Journal*, 9(3), 292-301.
- [22] Behera. S, Nagarajan. S, et Rao. L. J. M, (2004), Microwave heating and
conventional roasting of cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.) and effect on chemical
composition of volatiles, *Food Chemistry*, 87(1), 25-29.
- [23] Sahana. K, Nagarajan. S, Jagan. L, et Rao. M, (2011), Cumin (*Cuminum cyminum*
L.) Seed Volatile Oil : Chemistry and Role in Health and Disease Prevention, *Nuts
and Seeds in Health and Disease Prevention*, 417-427.
- [24] Divakara .E. V et Muthuswamy .A, (2013), Cumin, Fennel and Fenugreek, *Soils
plant growth and crop production Encyclopida of Life Support Systemes (EOLSS)*,
1-10.
- [25] Shivakumar.S. I, Shahapurkar, Kalmath. A. K. V, et Sivakumar. B, (2010),
Antiinflammatory activity of fruits of *Cuminum cyminum* Linn., *Der
Pharmacia Letter*, 2(1), 22-24.
- [26] Parashar M. et. Jakhar M. L, (2014), A review on biotechnology, genetic diversity
in Cumin (*Cuminum cyminum*), *International Journal of Life Science & Pharma
Reaserch*, 4(4), 17-34.
- [27] Gohari A. R et Saeidnia S, (2011), A Review on Phytochemistry of *Cuminumn
cyminum* seeds and its Standards from Field to Market, *Pharmacognosy Journal*, 3
(25), 1-5.

- [28] Rebey I. B, Bourgou S, Ben I, et Debez S., (2011), Effects of Extraction Solvents and Provenances on Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Cumin (*Cuminum cyminum L.*) Seeds, *Food and Bioprocess Technology*, 5(7), 2827-2836.
- [29] Al-Hashemi F. H. Y, (2014), Chromatographic separation and identification of some volatile oils, organic acids and phenols from the seeds of *Cuminum cyminum* growing in Iraq, *International Journal of Research and Reviews in Applied Sciences*, 19(1), 1.
- [30] Bettaieb I, Bourgou S, Wannas W. A, Hamrouni I, Limam F et Marzouk B, (2010), Essential oils, phenolics, and antioxidant activities of different parts of cumin (*Cuminum cyminum L.*), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(19), 10410-10418.
- [31] Parthasarathy B. V. A, Chempakam et John Z. T., (2008), Chemistry of Spices, *CAB International*, 32(5), 1-220.
- [32] Dhaliwal. H.K, Singh.R., Sidhu.J. K, Grewal.J.K, et Sadhar.G.,(2016), Phytopharmacological properties of *Cuminum Cyminum Linn.* as a potential medicinal seeds: an overview, *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(6), 478-489.
- [33] Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW, Castillejos L et Ferret A. (2007). Invited Review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*. 90, 2580- 25.
- [34] Kandlakunta B, Rajendran A, et Thingnganing L, (2008), Carotene content of some common (cereals, pulses, vegetables, spices and condiments) and unconventional sources of plant origin, *Food Chemistry*, 106(1), 85-89.

- [35] Tahri, K., C. Tiebe, N. El Bari, T. Hübert et B. Bouchikhi (2016). Différenciation de la provenance géographique et détection de l'adultération du cumin au moyen de systèmes de détection électroniques et de SPME-GC-MS en combinaison avec différentes approches chimométriques. *Analytical Methods*, 8 (42), 7638-7649.
- [36] El-Sawi S. A et Mohamed M. A., (2005), Cumin herb as a new source of essential oils and its response to foliar spray with some micro-elements, *Food Chemistry*., 77(1), 75-80.
- [37] Kara M, Baser K. H. C, Beis S. H, Azcan N., et. Ozek T, (2000), Production of essential oil from cumin seeds, *Chemistry of Natural Compounds*, 36(3), 265-268.
- [38] Toroglu. S et Imam K. S, (2011), In-vitro antimicrobial activity and synergistic / antagonistic effect of interactions between antibiotics and some spice essential oils, *Journal of Environmental Biology*, 32(1), 23-29.
- [39] Viuda-Martos M, Ruíz-Navajas Y, Fernández-López J, et Pérez-Álvarez J. A, (2007), Chemical composition of the essential oils obtained from some spices widely used in Mediterranean Region, *Acta Chemica Slovenica*, 54(4), 921-926.
- [40] Atta-Ur-Rahman Choudhary, Iqbal M, Afgan F., Aftab A., Zafar I. M, Betur. D, Fatih.D et Can B, K H, (2000), Antifungal activities and essential oil constituents of some spices from Pakistan, *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 22(1), 60-65.
- [41] Nostro. A, Cellini. L, Di Bartolomeo. S, Di Campli. E, Grande.R, Cannatelli.M.A, Marzio.L, et Alonzo V, (2005), Antibacterial Effect of Plant Extracts against *Helicobacter pylori* , *Phytotherapy Research*, 19, 198-202.
- [42] Fakoor M. H, et Rasooli I, (2008), Pathogen Control by Antioxidative Characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* Essential Oils, *International Workshop on Medicinal and Aromatic Plants*, 786, 125-136.
- [43] Asghari Marjanlo. A, Mostofi Y, Shoeibi S, et Fattahi. M, (2009), Effect of cumin essential oil on postharvest decay and some quality factors of strawberry, *Journal of Medicinal Plants*, 3(31), 25-43.

- [44] Oroojalian F, Kasra-Kermanshahi R, Azizi .M, et Bassami.M. R, (2010), Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens, *Food Chemistry*, 120(3), 765-770.
- [45] Karbin S, Rad. A. B, Aroiee .H, et Sasan. J, (2009), Antifungal Activities of the Essential Oils on Post-harvest Disease Agent *Aspergillus flavus*, *Environmental Biology*, 3(3), 219-225.
- [46] Toure. D, (2015), Etude chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Cote D'Ivoire, These de doctorat, Département de chimie organique, Faculté de Biochimie, Université Felix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire, 17.
- [47] Jayaprakasha, G. K., Negi, P. S., Jena, B. S., & Rao, L. J. M. (2007). Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts. *Journal of Food composition and analysis*, 20(3-4), 330-336.
- [48] Dechambre A. (1876), La cannelle, *dictionnaire encyclopédique des sciences médicales*, volume 12, p. 164-177
- [49] Wilson, D., Fiori, A., De Brucker, K., Van Dijck, P., & Stateva, L. (2010). *Candida albicans* Pde1p and Gpa2p comprise a regulatory module mediating agonist-induced cAMP signalling and environmental adaptation. *Fungal Genetics and Biology*, 47(9), 742-752.
- [50] Barceloux, D. G. (2008). *Medical toxicology of natural substances : foods, fungi, medicinal herbs, plants, and venomous animals*. John Wiley & Sons.
- [51] Perrot E., Paris R.P. (1974). *Plantes médicinales*, édition *Puf, Paris*, volume I.
- [52] Friedman, F. (1994). *Flore des Seychelles. Dicotyledones. Editions de l'ORSTOM, Paris*.
- [53] Wichtl, M., Anton, R., Bernard, M., & Czygan, F. C. (2003). *Plantes thérapeutiques*

: *tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Tec & Doc ; Ed. Médicales internationales.

- [56] Goetz, P., & Ghedira, K. (2012). *Cinnamomum zeylanicum* Nees (Lauraceae) : Cannelle de Ceylan. *Phytothérapie anti-infectieuse*, 247-252.
- [57] Hartmann, K., & Hunzelmann, N. (2004). Allergic contact dermatitis from cinnamon as an odour-neutralizing agent in shoe insoles. *Contact Dermatitis*, 50(4), 253-254.
- [58] D'andreta C. (1969). *Les plantes médicinales*. Diffusé en Suisse par édition Batelier, Paris.
- [59] Franchomme P., Penoel D. (1990). *L'aromathérapie exactement*. Ed Roger Jollois, Limoges p. 158
- [60] Baba Aïssa, F. (2000). *Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident*. Ed Librairie moderne Rouïba, 46.
- [61] FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations
- [62] Glinski, J. (2008). *U.S. Patent Application No. 11/971,994*.
- [63] Variyar, P. S., & Bandyopadhyay, C. (1989). On some chemical aspects of *Cinnamomum zeylanicum*. *PAFAI J*, 10, 35-38.
- [64] Valnet, J. (1990). *Aromatherapie Traitement des maladies par les essences des plantes. 1^{ime} édition*. Maloine, Paris
- [65] Isogai, A., Murakoshi, S., Suzuki, A., & Tamura, S. (1977). Chemistry and biological activities of cinnzeylanine and cinnzeylanol, new insecticidal substances from *Cinnamomum zeylanicum* Nees. *Agricultural and Biological Chemistry*, 41(9), 1779-1784.
- [66] Shahverdi, A. R., Monsef-Esfahani, H. R., Tavasoli, F., Zaheri, A., Mirjani, R. (2007).

Trans-cinnamaldehyde from *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil reduces the clindamycin resistance of *Clostridium difficile* in vitro. *Journal of Food Science*, 72(1), 2–5.

- [67] Bekara, A., Hamadouche, N. A., Kahloula, K., Sadi, N., & Abd-el-Kader, A. (2016). Etude phytochimique et activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L. *Algerian Journal Of Natural Products*, 4(2), 299-307.
- [68] Vernon F, Richard H (1976) Quelques épices et aromates et leurs huiles essentielles Série synthèses bibliographiques N° 10 – Centre de documentation internationale des industries utilisatrices de produits agricoles. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris Vol. 2.*In*.
- [69] Dumas, J.-B., Peligot, E., (1834). Sur l'Huile de Cannelle, l'Acide Hippurique, et l'Acide Sébacique, *Ann. Chim. Phys.*, 57[2], p : 305-334.
- [70] Picardie, U. D. E., Verne, J., Le, P., Etat, D. D., & En, D. E. D. (2014). L ' huile essentielle de cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*)
- [71] Guenther E. Robert E Krieger (1975-1977). *The essential oils* Volumes II, IV and VI.
- [72] Wright J. (1995). Essential oils. In Ashurst PR (Ed) Food flavorings. Blackie Academic and Professional.
- [73] Guy Gilly. (2005). Les plantes aromatique et huiles essentielles à grasse – botanique-culture -chimie-production et marché. *Préface de Hubert richard ; harmattan*
- [74] Pierre M, LYS M. (2007). Secrets des plantes : pour se soigner naturellement, *Artémis, France, 153p*.
- [75] Chang, S. T., Chen, P. F., & Chang, S. C. (2001). Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 77(1), 123–127
- [76] Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., & Ignacimuthu, S. (2006). In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complementary and Alternative*

Medicine, 6, 1–8.

- [77] Iserin P, Moulard F, Rachel R, Biaujeaud M, Ringuet J, Bloch J, Ybert E, Vican P, Masson M, Restellini J-P, & Botrel A. (2001). La rousse : *encyclopédie des plantes médicinales ; identification, préparation, soins*. 2 éd, Paris, pp.155-291
- [78] Hameed, I. H., Altameme, H. J., Mohammed, G. J. (2016). Evaluation of antifungal and antibacterial activity and analysis of bioactive phytochemical compounds of *Cinnamomum zeylanicum* (Cinnamon bark) using gas chromatography-mass spectrometry. *Oriental Journal of Chemistry*, 32(4), 1769–1788.
- [79] Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D., & Corke, H. (2007). Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*) : Activity against food borne pathogenic bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(14), 5484–5490.
- [80] Ooi, L. S. M., Li, Y., Kam, S.-L., Wang, H., Wong, E. Y. L., & Ooi, V. E. C. (2006). Antimicrobial Activities of Cinnamon Oil and Cinnamaldehyde from the Chinese Medicinal Herb *Cinnamomum cassia* Blume. *The American Journal of Chinese Medicine*, 34(03), 511–522.
- [81] Nikolić, M., Glamočlija, J., Ferreira, I. C. F. R., Calhelha, R. C., Fernandes, Â., Marković, T., ... Soković, M. (2014). Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. And *Reut* and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Industrial Crops and Products*, 52, 183–190.
- [82] Dorman H.J.D & Deans S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88 (2), 308-316.
- [83] Fotinos, N., Convert, M., Piffaretti, J.-C., Gurny, R. et Lange, N. (2008). Effets sur les bactéries Gram-négatives et Gram-positives médiées par les dérivés d'acide 5-

aminolévulinique et d'acide 5-aminolévulinique. *Agents antimicrobiens et chimiothérapie*, 52 (4), 1366–1373.

- [84] Konaté, K., J. Mavoungou, A. Lepengué, RR d'Aworet-Samseny, A., A. Souza, M'Batchi, B. (2012). Activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline et à l'ampicilline producteurs de β -lactamase: détermination de l'indice de concentration inhibitrice fractionnaire (FICI). *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 11 (1), 18.
- [85] Yalemwork E, Wossenseged L, Nega B (2014). Synergetic antimicrobial effects of mixtures of Ethiopian honeys and ginger powder extracts on resistant clinical bacteria isolates. *JEBCAM*.8.
- [86] Rahmani M. Crouch NR, Douwes E, Wolfson M, Smith GF, Edwards TJ. (2003) Chemical diversity of Malaysian flora: potential source of rich therapeutic chemical; South Africa's bioprospecting, access and benefit-sharing legislation: *current realities, future complications, and a proposed alternative*. *SAJS*;104(9):355–66.
- [87] Namraj D. (2013) Trends in Pharmacognosy: *a modern science of natural medicines*. *J Her Med.*; 3:123–31.7
- [88] Ojo O, Anibijuwon I. (2010) Synergistic effect of plants extracts on bacteria. *World Rural Observ.* 201;2(2):10–4.
- [89] Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., Lacroix, M., (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli O157:H7*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control* 18, 414-420.
- [90] El-Kalek HH, Mohamed EA. (2012) Synergistic effect of certain medicinal plants and amoxicillin against some clinical isolates of *MRSA*. *IJPA*; 3(3):387–398.
- [91] Naveed R, Hussain I, Mahmood M, Akhtar M. (2013) In vitro and in vivo evaluation of antimicrobial activities of essential oils extracted from some indigenous spices. *Pak Vet J.* ;33(4):413–7.

- [92] Konate K, Mavoungou JF, Lepengue AN, Samseny A, Hilou A, et al. (2012) Antibacterial effect against beta lactamase producing, methicillin and ampicillin resistant *Staphylococcus aureus*: *FICI determination*. *ACMA.*; 11:18.
- [93] Gadisa E, Weldearegay, Desta. G. K, Tsegaye G, Hailu S, Jote K et Takele A. (2019). Effet antibactérien combiné des huiles essentielles de trois plantes médicinales traditionnelles éthiopiennes les plus communément utilisées sur des bactéries multirésistantes. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19 (1).
- [94] Jenkins S. G et. Schuetz A. N, (2012) « Current Concepts in Laboratory Testing to », *JMCP*, vol. 87, n° 3, p. 290-308.
- [95] Rosato A. et al, (2010) « In Vitro Synergistic Action of Certain Combinations of Gentamicin and Essential Oils », p. 3289-3295.
- [96] Mainardi, JL (1997). Associations anti-biotiques pour le traitement des infections à *Staphylococcus aureus*. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 27, 217-224.
- [97] Souza, CMC, Pereira Junior, SA, Moraes, da. T, Damasceno S, JL, Amorim Mendes S, Dias.S, HJ, Pires, RH (2016). Activité antifongique d'huiles essentielles d'origine végétale sur des cellules planctoniques et biofilms de *Candida tropicalis*. *Medical Mycology*, 54 (5), 515–523.
- [98] Salah Eddine Sadine, Samia Bissati et Mohamed Didi Oueld Elhadj (2011) « Premières Données sur la diversité scorpionique dans la région du Souf (Algérie) », *Arachnides* N°61, p.3,
- [99] A.F.N.O.R. Association française de normalisation, (1988). Huiles essentielles, recueil des normes françaises. *Paris: 3ème édition AFNOR*.
- [100] Sharma, L. K., Agarwal, D., Rathore, S. S., Malhotra, S. K., & Saxena, S. N. (2016). Effect of cryogenic grinding on volatile and fatty oil constituents of cumin (*Cuminum cyminum* L.) genotypes. *Journal of food science and*

technology, 53(6), p. 2827-2834.

- [101] Li, R., et Jiang, Z. T. (2004). Chemical composition of the essential oil of *Cuminum cyminum* from China. *Flavour and fragrance journal*, 19(4), p. 311-313.
- [102] Yahiaoui, K., Bouchenak, O., Lefkir, S., Benhabyles, N., Laoufi, R., & Arab, K. (2018). Retracted: Antibacterial activity of cumin (*Cuminum cyminum*) and cloves (*Syzygium Aromaticum*) essential oils, and their application to the preservation of minced meat. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 10(5s), p. 100-117.
- [103] Wang, R., Wang, R., & Yang, B. (2009). Extraction of essential oils from five cinnamon leaves and identification of their volatile compound compositions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(2), p. 289- 292.
- [104] Bourabah Saïd, Oussar Bouzid et Harfi.T,(2012). Prospection de l'activité antimicrobienne des associations d'huiles essentielles Essais sur le thym, le clou de girofle, la cannelle et l'origan.
- [105] Kamaliroosta. L, Gharachorloo. M, Kamaliaoosta. Z et al, (2012). Extraction d'huile essentielle de cannelle et identification de ses composés chimiques. *Journal de la recherche sur les plantes médicinales*, 6(4), p. 609-614.
- [106] Kasim. N. N, Ismail S. N. A. S, Masdar N. D, Ab Hamid. F, et Nawawi. W. I. (2014). Extraction and potential of cinnamon essential oil towards repellency and insecticidal activity. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4(7), p. 2250-3153.
- [107] Krishnamoorthy, B., Rema, J., Zachariah, T.J., Jose, A. and Gopalam, A. (1996) Navasree and Nithyasree –two high yielding and high-quality cinnamon (*Cinnamomum verum* – Bercht & Presl.). *Journal of Spices and Aromatic Crops*,

5(1), p. 28–33.

- [108] Petretto. G. L, Fancello. F, Bakhy. K, Faiz. C. A, Sibawayh. Z, Chessa. M et Pintore. G. (2018). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from *Cuminum cyminum* L. collected in different areas of Morocco. *Food bioscience*, 22, p. 50-58.
- [109] Mouawad.S. A, El-Ghorab.A. H, Hassan .M, Nour-Eldin .H et El-Gharabli.M. M. (2015), Chemical and Microbiological Characterization Of Egyptian Cultivars For Some Spices And Herbs Commonly Exported Abroad, *Food And Nutrition Sciences*, Volume 6, p. 643-659.
- [110] Mekaoui,R, (2012). Composition chimique et activité antioxydant de l'huile essentielle de grains du *Cuminum cyminum* isolée par vapo-distillation assistée par micro-ondes. 10.13140/RG.2.1.4449.3841.
- [111] Benrejdal, A., Dridi, F., & Nabiev, M. (2012). Extraction and analysis of essential oil of cumin. *Asian Journal of Chemistry*, 24(5), p. 1949-1951.
- [112] Gachkar. L, Yadegari. D, Rezaei. M. B, Taghizadeh. M, Astaneh. S. A et Rasooli, I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food chemistry*, 102(3), p. 898-904.
- [113] Mohammadpour. H, Moghimipour.E, Rasooli,I, Fakoor. M. H, Astaneh.S. A, Moosaie. S. S et Jalili. Z. (2012). Chemical composition and antifungal activity of *cuminum cyminum* essential oil from alborz mountain against *Aspergillus* species. *Jundishapur journal of natural pharmaceutical products*, 7(2), p.50.
- [114] Naeini. A et Shokri. H. (2012). Chemical composition and in vitro antifungal activity of the essential oil from *Cuminum cyminum* against various *Aspergillus* strains. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(9), p.1702-1706.
- [115] Pour.A. R, Mirzargar. S. S, Soltani.M, Mousavi.H. A. E et eyed. A. M. (2014). The antibacterial effects of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* extracts and essential oil against *Lactococcus garvieae* in laboratory conditions on rainbow

trout. *European Journal of Experimental Biology*, 4(1), p. 456-463.

- [116] Baser. K. H. C, Kürkçüoğlu. M et Özek. T. (1992). Composition of the Turkish cumin seed oil. *Journal of essential oil research*, 4(2), 133-138.
- [117] Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., & Ignacimuthu, S. (2006). In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 6, 1–8.
- [118] Kaskatepe. B, Kiyimaci. M. E, Suzuk. S, Erdem. S. A, Cesur. S et Yildiz. S. (2016). Antibacterial effects of cinnamon oil against carbapenem resistant nosocomial *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Industrial Crops and Products*, 81, 191-194.
- [119] Pharmacopée européenne version 7.1 (avril 2011)
- [120] Shan. B, Cai. Y. Z, Brooks. J. D et Corke, H. (2007). Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*) : Activity against foodborne pathogenic bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(14), 5484–5490.
- [121] Tarek. N, Hassan. H. M, AbdelGhani. S. M, Radwan. I. A, Hammouda. O et El-Gendy. A. O. (2014). Comparative chemical and antimicrobial study of nine essential oils obtained from medicinal plants growing in Egypt. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(2), 149-156.
- [122] Avril J. L et Fauchère J. L, (2002) « Bactériologie générale et médicale », Ellipses.
- [123] Guérin-Faubleé. V et Carret. G, (1999) « L'antibiogramme: principes, méthodologie, intérêt et limites », *Journées Natl. GTV-INRA*, p. 5-12.
- [124] Jacob. M, Pellecuer. J, et Tomei .R, (1979) « Centre régional d'étude et de développement des plantes à usage pharmaceutique », Riv. Ital. EPPOS, vol. 11, p.

26-30.

- [125] Celikel.N et Kavas.G ,(2007) « Antimicrobial Properties of Some Essential Oils against Some Pathogenic Microorganisms », vol. 26, n° 3, p. 174-181.
- [126] Balouiri M, Sadiki M, et Ibsouda S. K, (2016) « Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : A review \$ », *J. Pharm. Anal.*, vol. 6, n° 2, p. 71-79.
- [127] Benjilali .B, Tantaoui-elaraki A, Ayadi A, et Ihlal M, (1984) « Method to Study Antimicrobial Effects of Essential Oils : *Application to the Antifungal Activity of Six Moroccan Essences* », vol. 47, n° 10, p. 748-752.
- [128] Wilkinson J. M, (2014) « Methods for Testing the Antimicrobial Activity of Extracts », p. 157-172.
- [129] Pfaller M. A, Sheehan D. J, et Rex J. H, (2004) « Determination of Fungicidal Activities against Yeasts and Molds : Lessons Learned from Bactericidal Testing and the Need for Standardization », vol. 17, n° 2, p. 268-280.
- [130] White R. L, Burgess D. S, Manduru M, Bosso J. A, Carolina S, et Carolina.S, (1996) « Comparison of Three Different In Vitro Methods of Detecting Synergy : *Time-Kill , Checkerboard , and E test* », vol. 40, n° 8, p. 1914-1918.
- [131] Janssen A.M, Scheffer J.J.C, Ntezurubanza L, Beerheim Swendensen A, *Ethnopharmacol J.* (1989) 26 (1) 57.
- [132] Inouye. S, Takizawa. T, Yamaguchi. H. (2001) Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact, *Antimicrobial Chemother*, volume 47, p. 565-573
- [133] Bourabah, Saïd; Oussar, Bouzid; Harfi, T. (2012). Prospection de l'activité antimicrobienne des associations d'huiles essentielles Essais sur le thym, le clou de

girofle, la cannelle et l'origan

- [134] Li.R et Jiang. Z.T, (2004), Chemical composition of the essential oil of *Cuminum cyminum* L. from China , *Flavour and Fragrance Journal*, 19(4), 311-313.
- [135] Farrag R.S., Daw Z. Y., Hewedi F. M., El-Baroty, (1989), *J. Food Protect*, 52, 5, 665-667.
- [136] Hinou J. B., Harval G. E., Hinou E. B., (1989), *Pharmazie*, 44, 4, 302-3.
- [137] Krishnamoorthy, B., Rema, J, Zachariah, T.J, Jose. A. and Gopalam, A. (1996) Navasree and Nithyasree –two high yielding and high quality cinnamon (*Cinnamomum verum* – Bercht & Presl.). *Journal of Spices and Aromatic Crops* 5(1), 28–33.
- [138] Senhadji O., Faid M., Kalalou I. (2007) Inactivation of *E. coli* 0157 :H7 by essential oil from *Cinnamomum zeylanicum*. *Brazilian Journal of infection disease*, volume 11, issue 2, p. 234-236.

Site Web

[54] GOOGLE web site : bibliothèque de photos.

[/http://carnetdegares.canalblog.com.cannellier](http://carnetdegares.canalblog.com.cannellier)

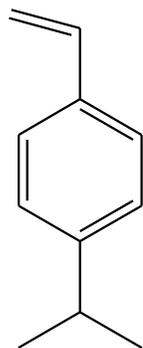
[55] GOOGLE web site : bibliothèque de photos.

<https://www.voyageursdumonde.fr/voyage-sur-mesure/voyages/guide-voyage/sri-lanka/infos-pratiques/géographie>

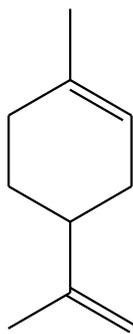
[57] <https://www.missionvegetal.fr/vegetaux/detail/616/>

Annexes

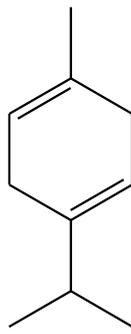
ANNEXE 1



Cuminaldéhyde (1)



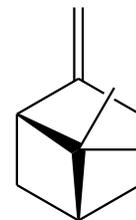
Limonen (2)



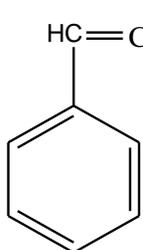
Terpinène (3)



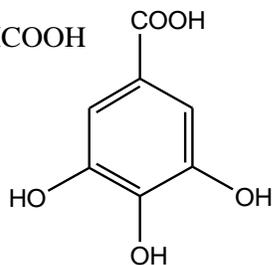
a-pinene (4)



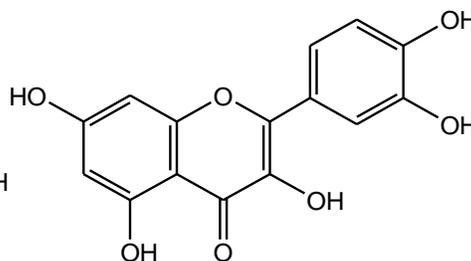
b-pinene (5)



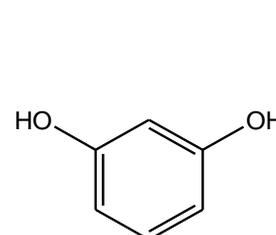
Acide Cinamique



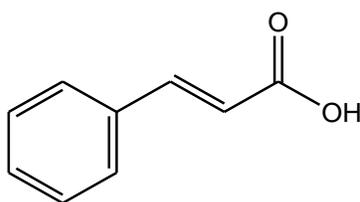
Acide gallique



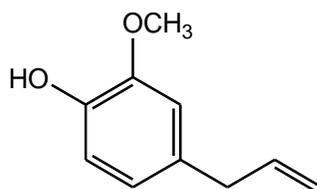
Quercétin



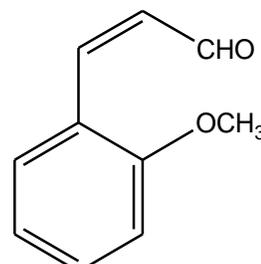
Résorcinol



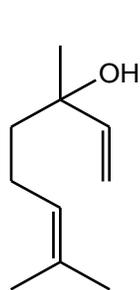
Aldéhyde cinnamique



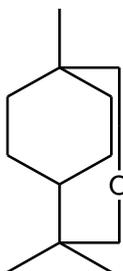
Eugénol



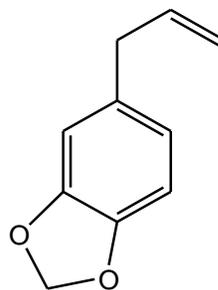
Méthoxycinnamaldehyde



Linalol



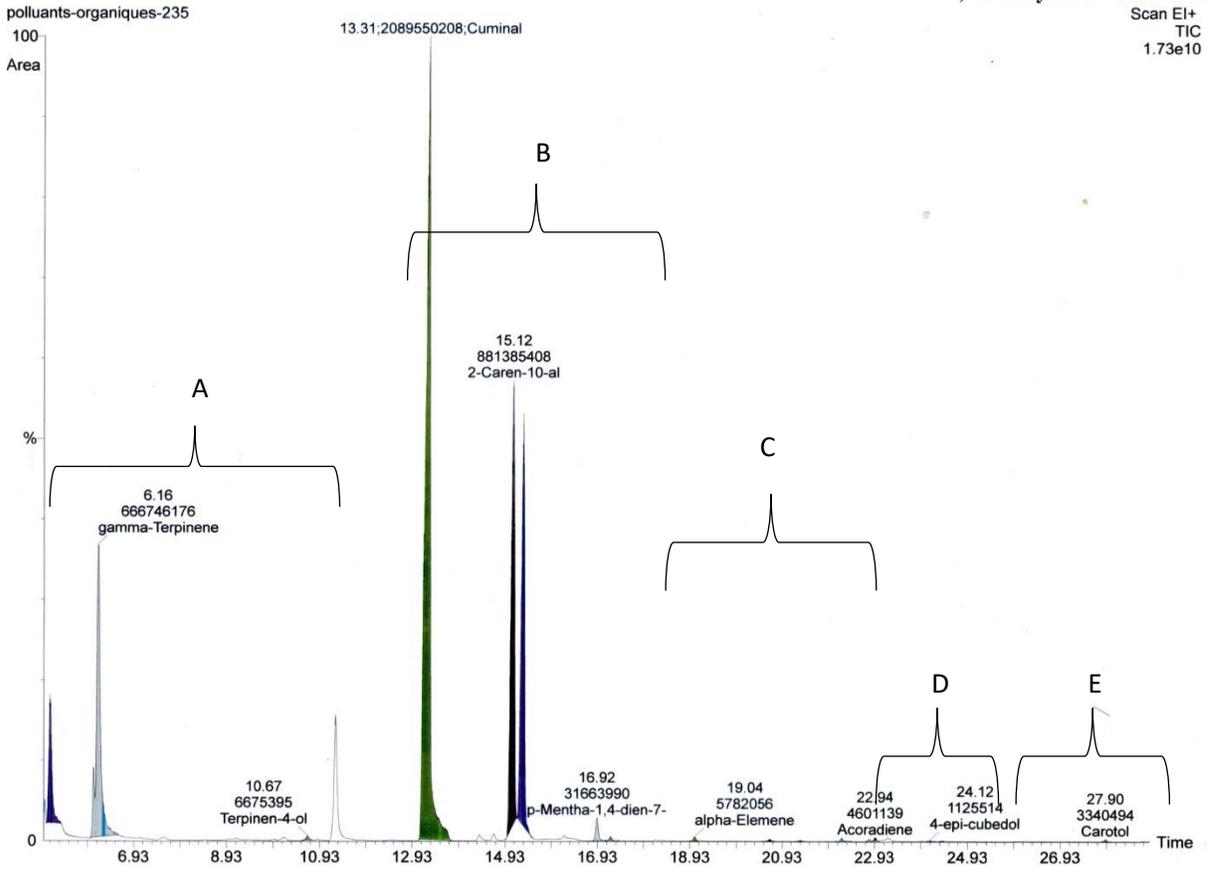
Cinéole



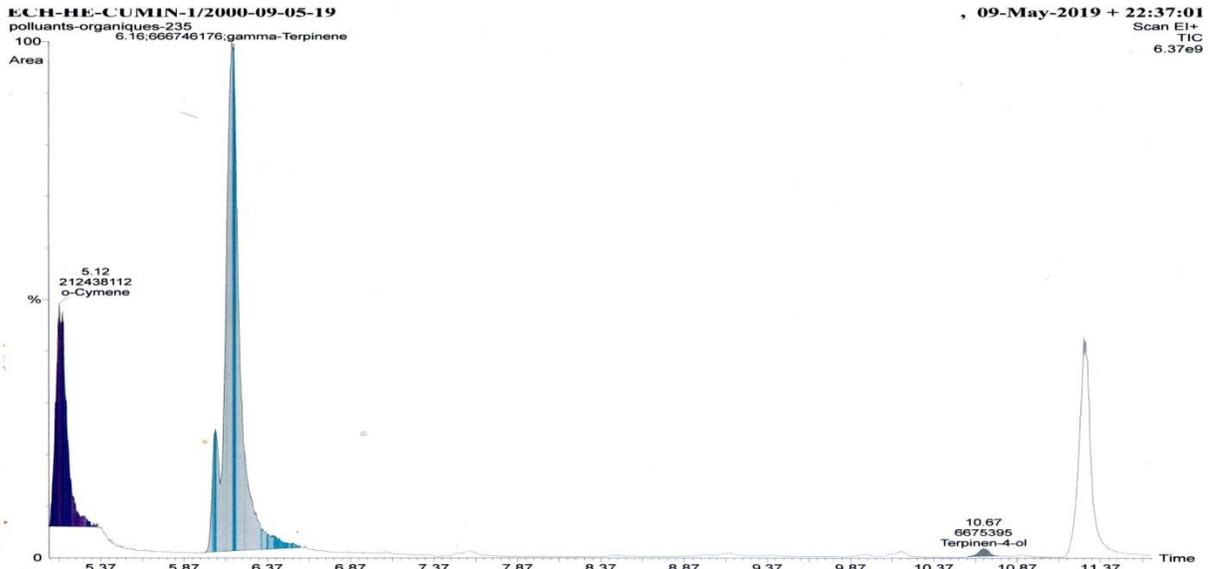
Safrole

Structures chimiques des composés isolés des deux espèces [21,28,57,62]

ANNEXE 2

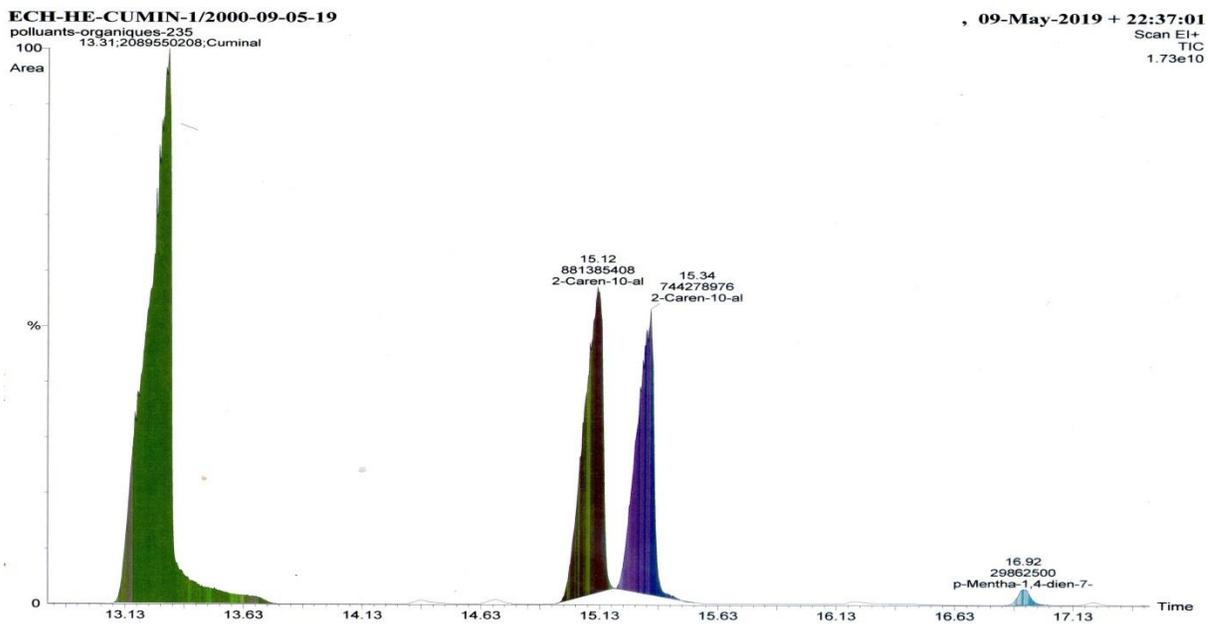


Profil chromatographique d'analyse de l'huile essentielle de *C. cyminum*



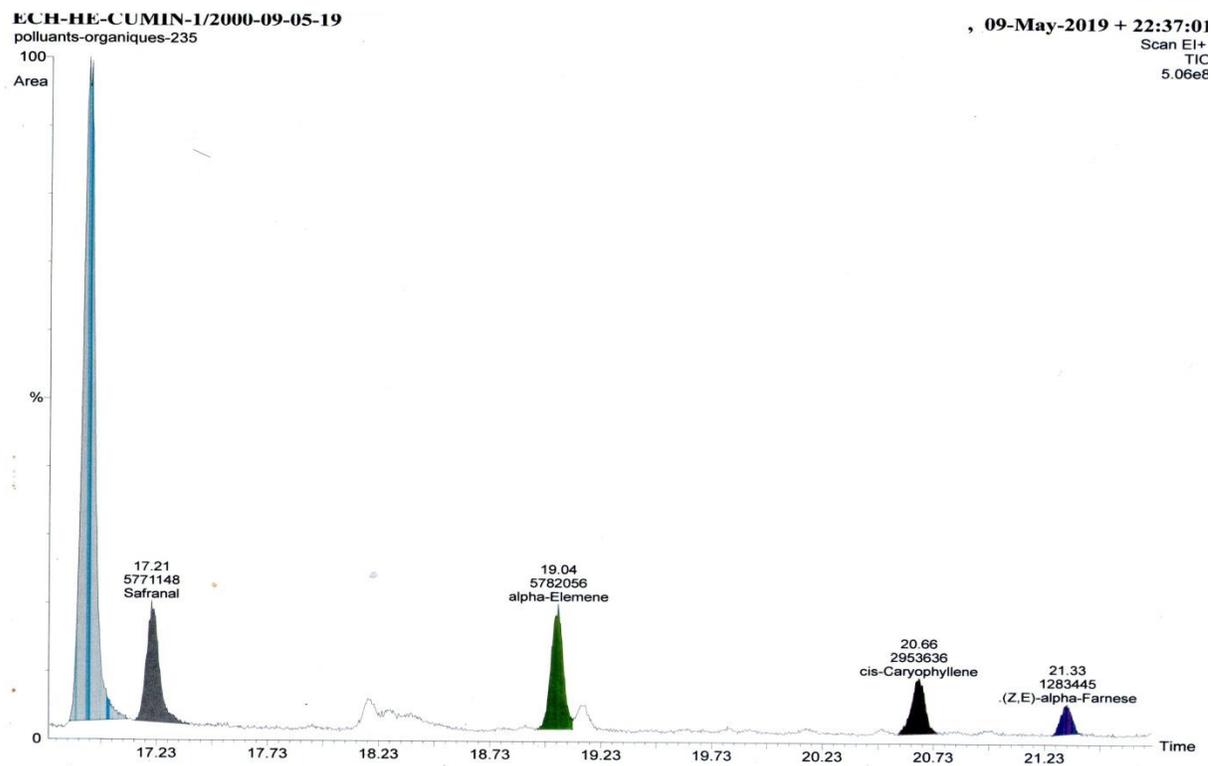
Agrandissement des pics du chromatogramme de l'huile essentiel de *C. cyminum*

(Partie A)



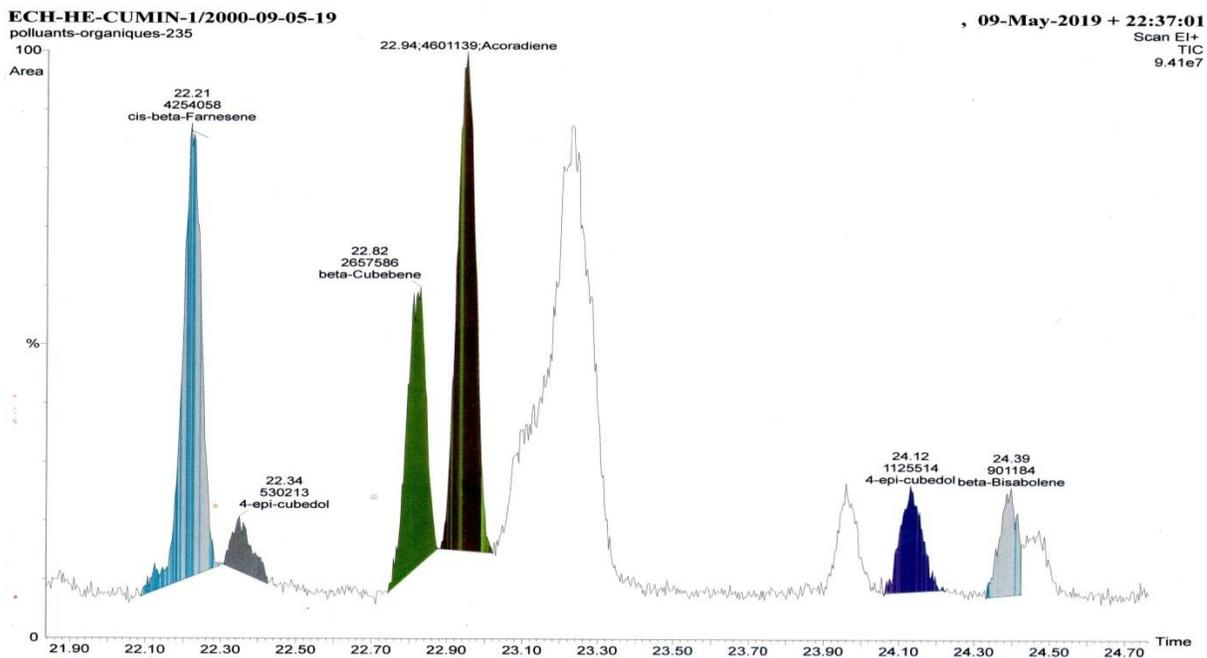
Agrandissement des pics du chromatogramme de l'huile essentiel de *C. cyminum* (Partie

B)

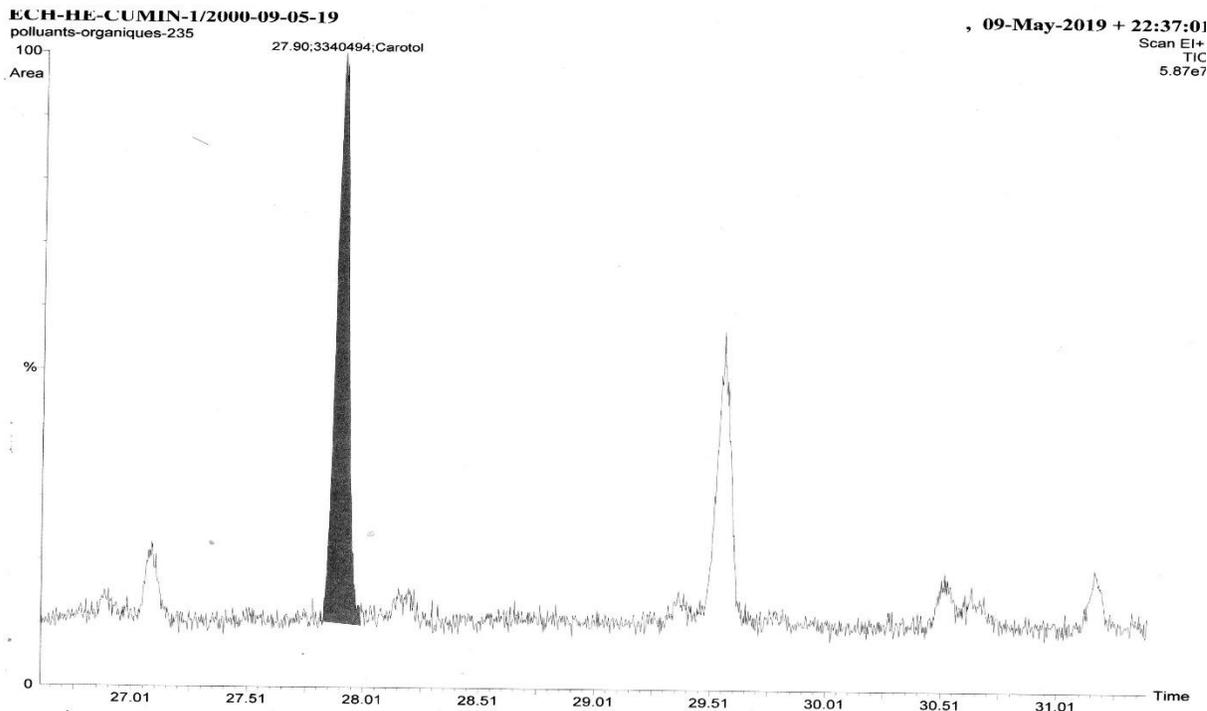


Agrandissement des pics du chromatogramme de l'huile essentiel de *C. cyminum* (Partie

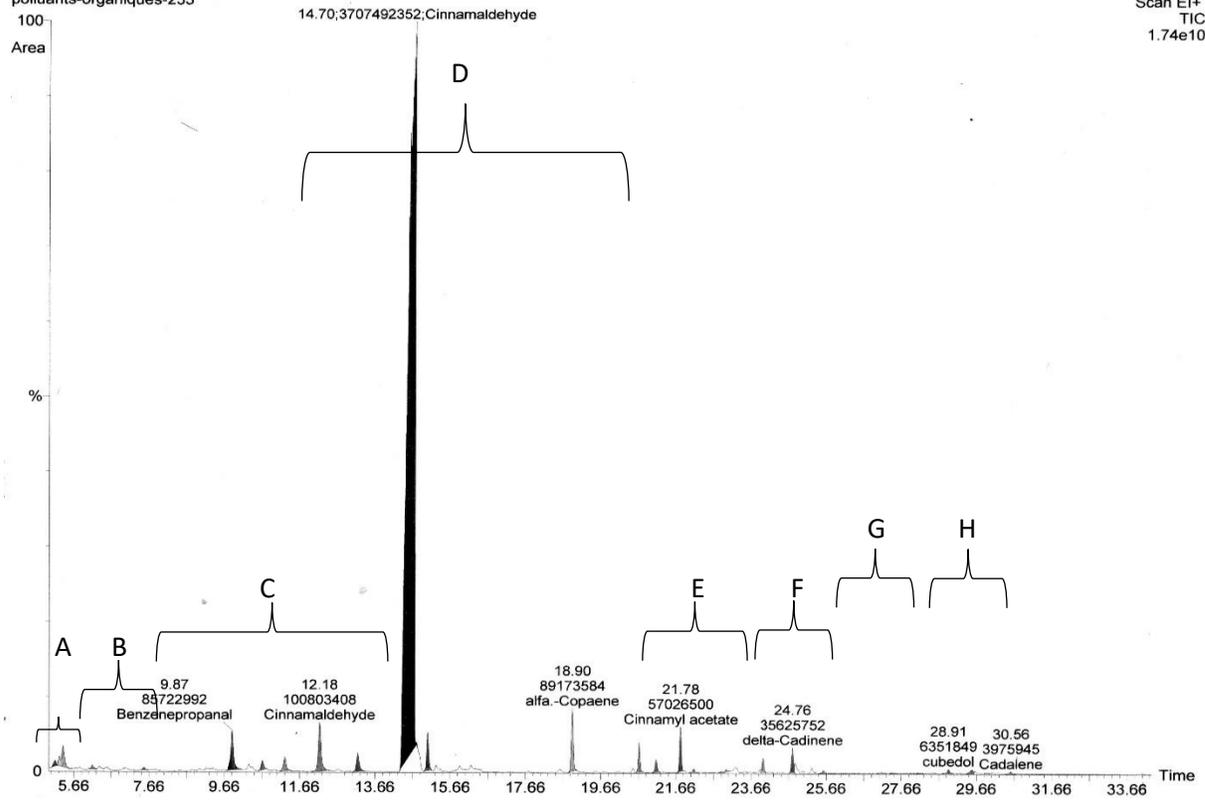
C)



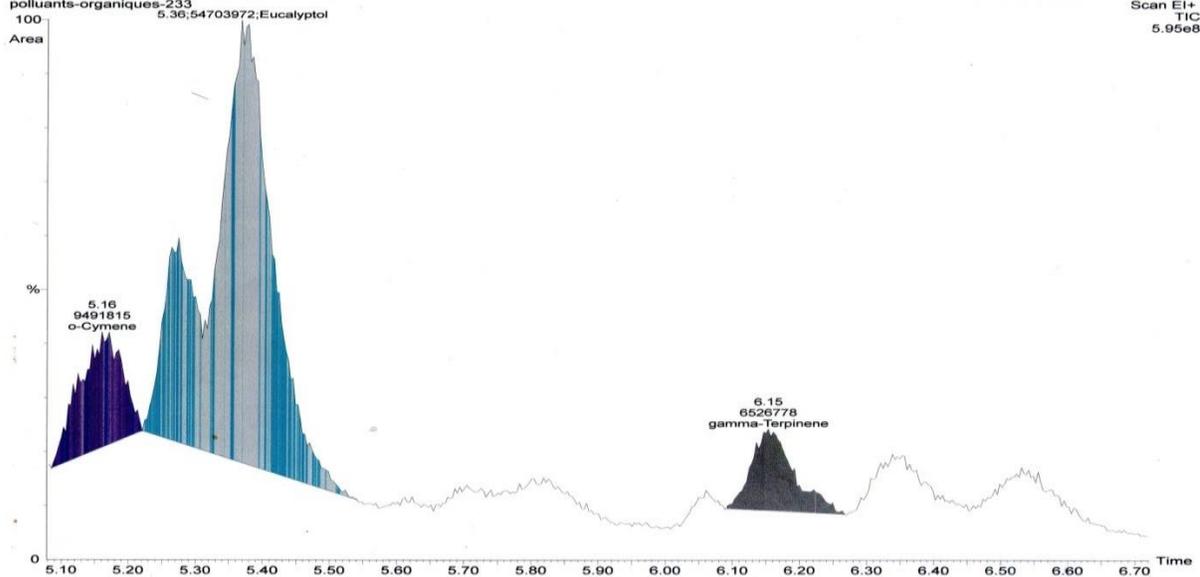
Agrandissement des pics du chromatogramme de l'huile essentiel de *C. cyminum* (Partie d)



Agrandissement des pics du chromatogramme de l'huile essentiel de *C. cyminum* (Partie E)

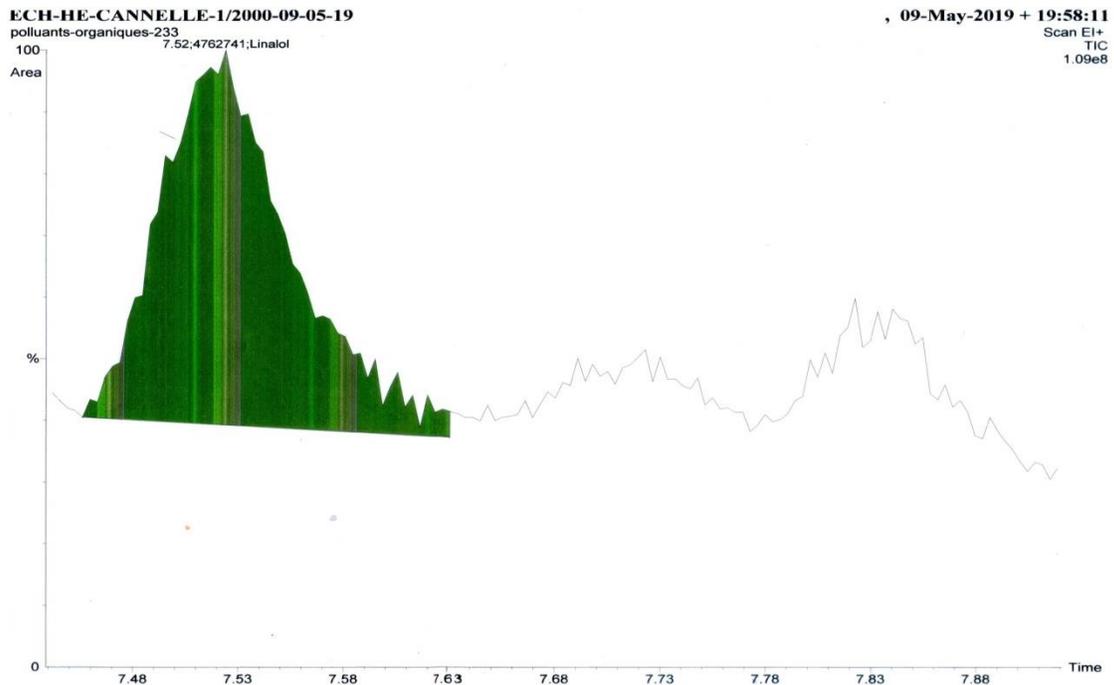


Profil chromatographique d'analyse de l'huile essentielle de *C. zeylanicum*

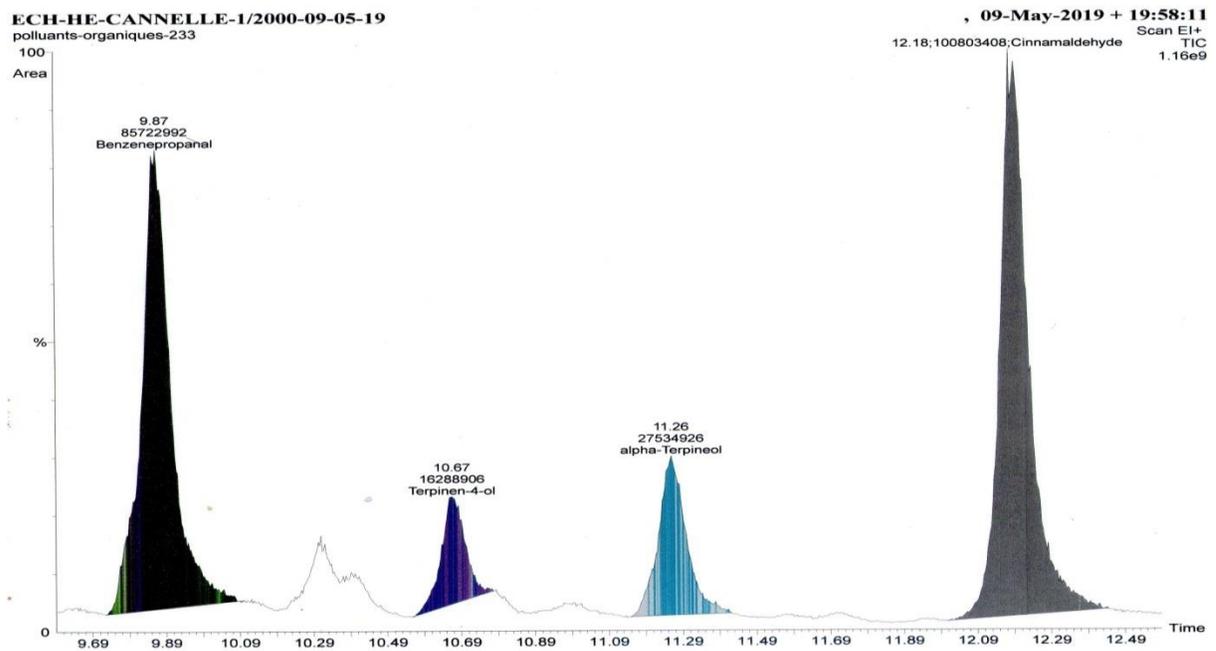


Agrandissement des pics du chromatogramme de l'huile essentiel de *C. zeylanicum*

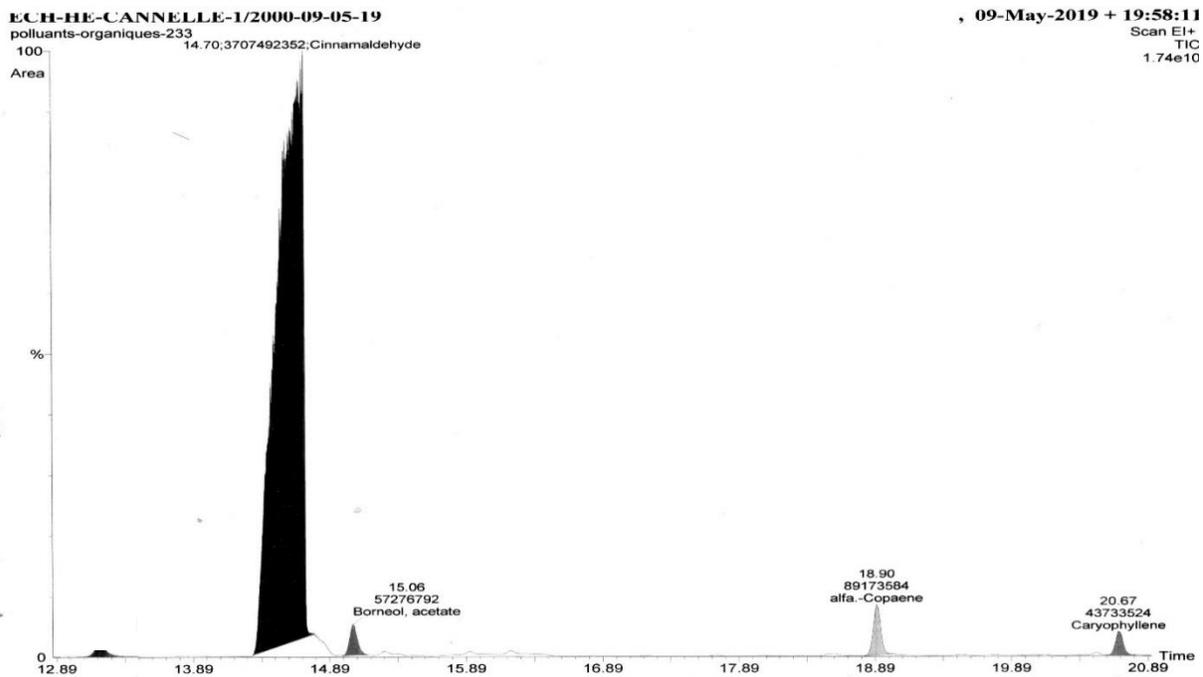
(Partie A)



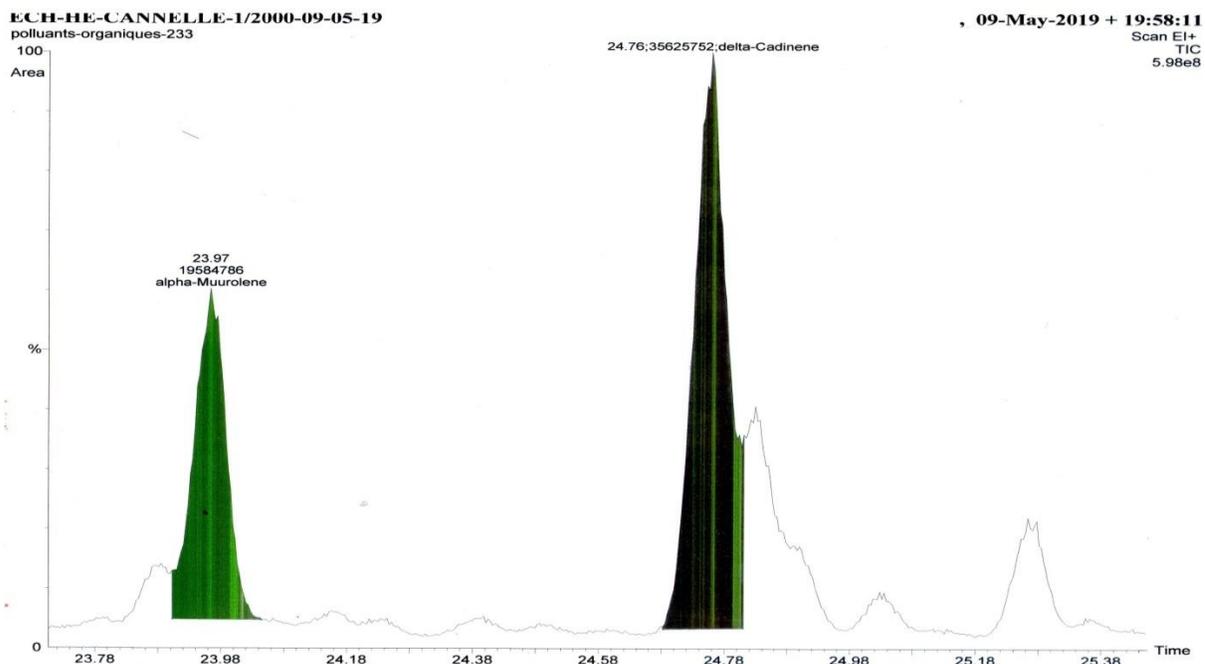
Agrandissement des pics du chromatogramme de l'huile essentiel de *C. zeylanicum*
(Partie B)



Agrandissement des pics du chromatogramme de l'huile essentiel de *C. zeylanicum*
(Partie C)



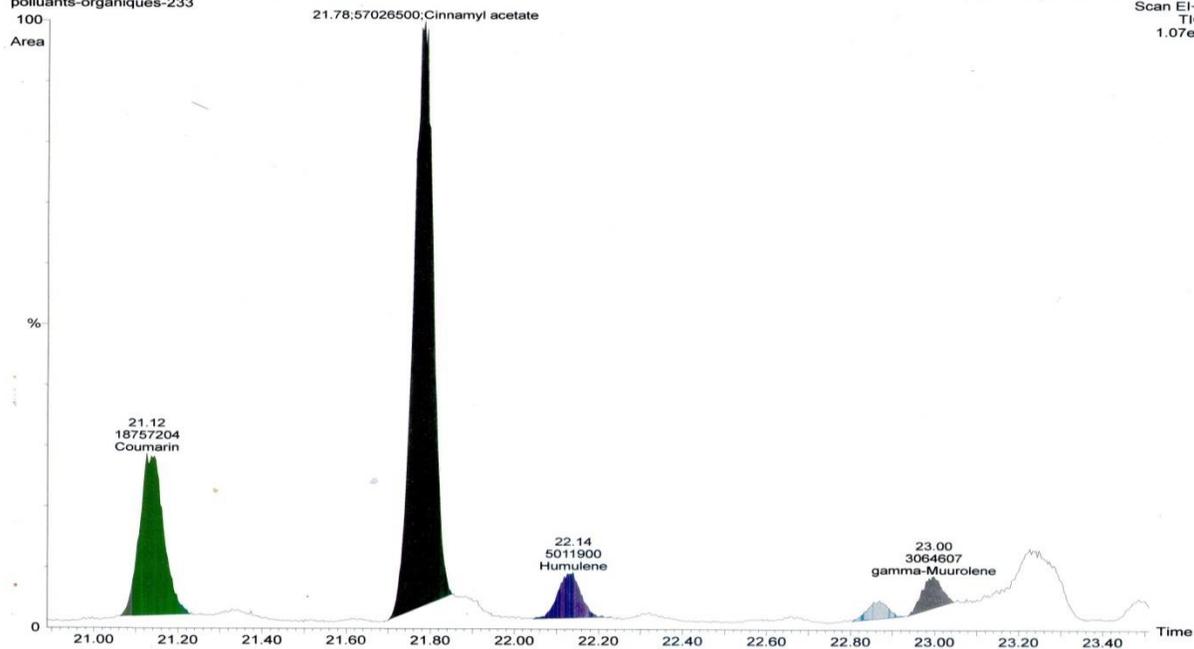
Agrandissement des pics du chromatogramme de l'huile essentiel de *C. zeylanicum*
(Partie D)



Agrandissement des pics du chromatogramme de l'huile essentiel de *C. zeylanicum*
(Partie E)

ECH-HE-CANNELLE-1/2000-09-05-19
polluants-organiques-233

, 09-May-2019 + 19:58:11
Scan EI+
TIC
1.07e9

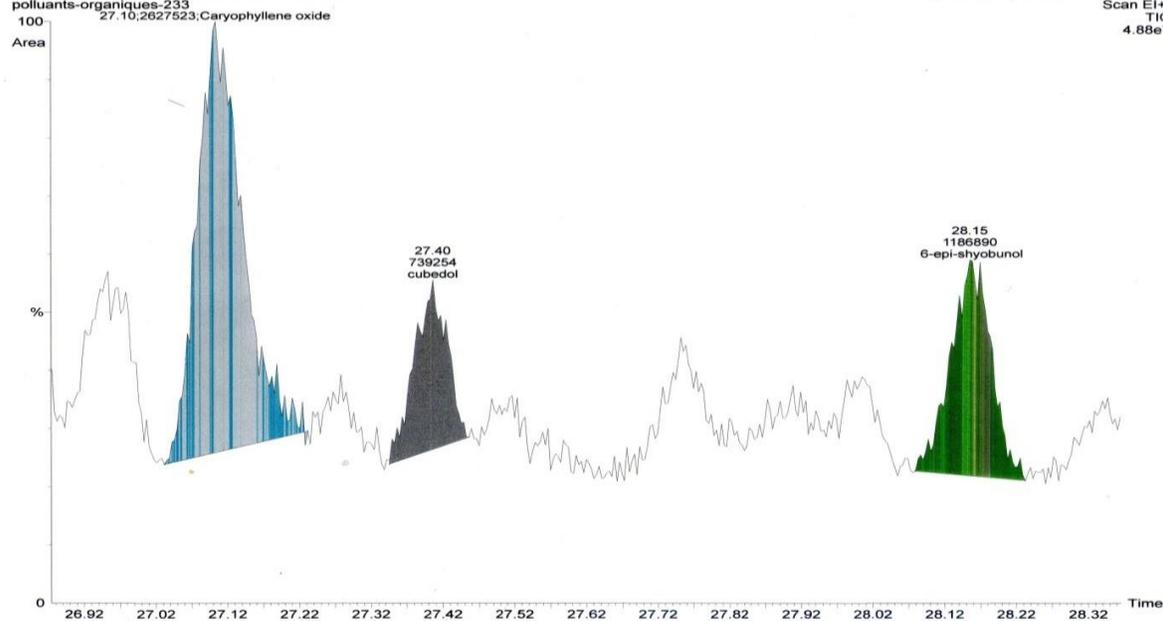


Agrandissement des pics du chromatogramme de l'huile essentiel de *C. zeylanicum*

(Partie F)

ECH-HE-CANNELLE-1/2000-09-05-19
polluants-organiques-233

, 09-May-2019 + 19:58:11
Scan EI+
TIC
4.88e7



Agrandissement des pics du chromatogramme de l'huile essentiel de *C. zeylanicum*

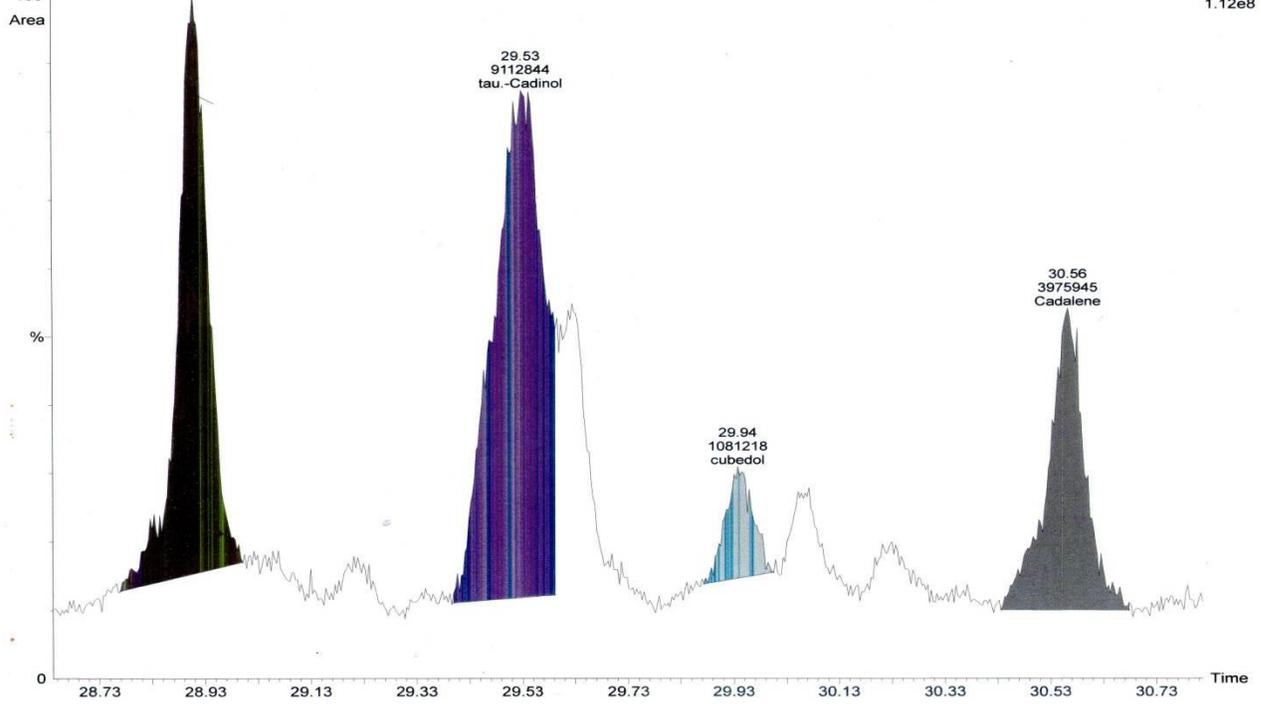
(Partie G)

ECH-HE-CANNELLE-1/2000-09-05-19

polluants-organiques-233
28.91;6351849;cubedol

, 09-May-2019 + 19:58:11

Scan EI+
TIC
1.12e8



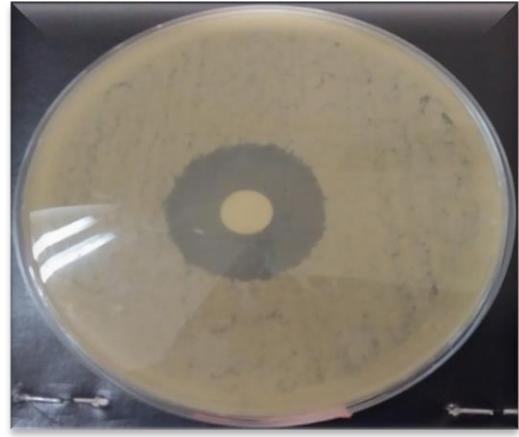
Agrandissement des pics du chromatogramme de l'huile essentiel de *C. zeylanicum*

(Partie H)

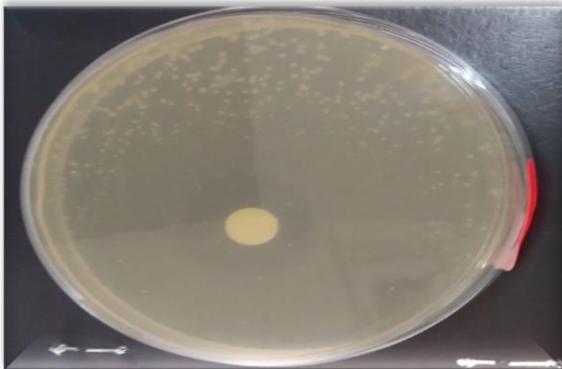
ANNEXE 3



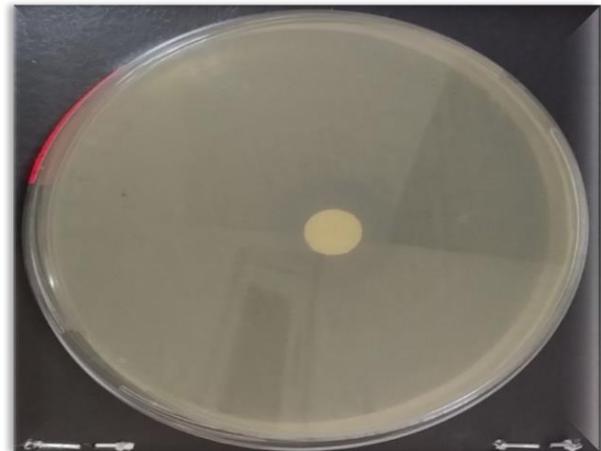
Aromatogramme du C. cuminum contre S. aureus



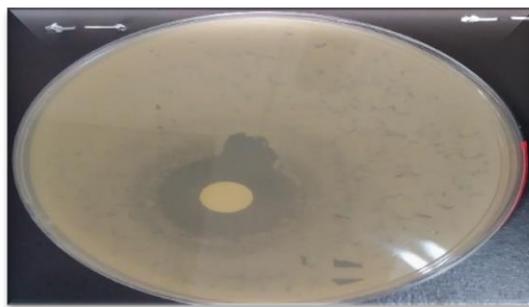
Aromatogramme du C. cuminum contre L. monocytogenes



Aromatogramme du C. cuminum contre E. coli

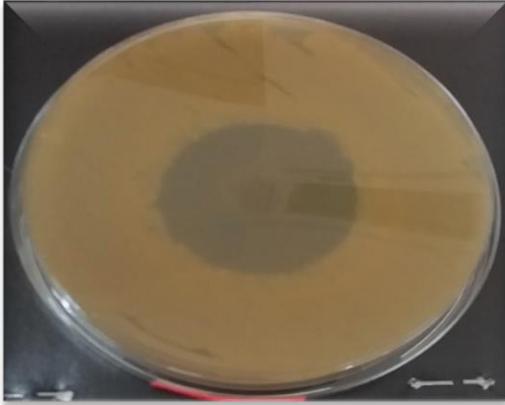


Aromatogramme du C. cuminum contre E. faecium

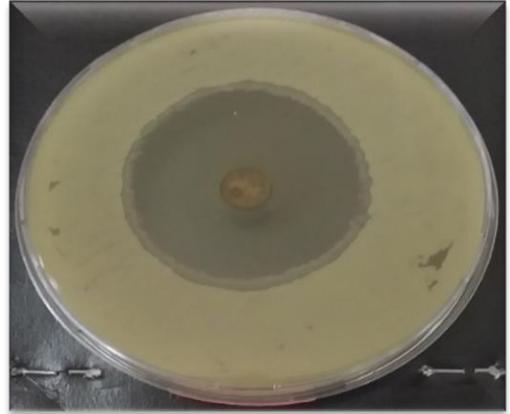


Aromatogramme du C. cuminum contre E. cloacea

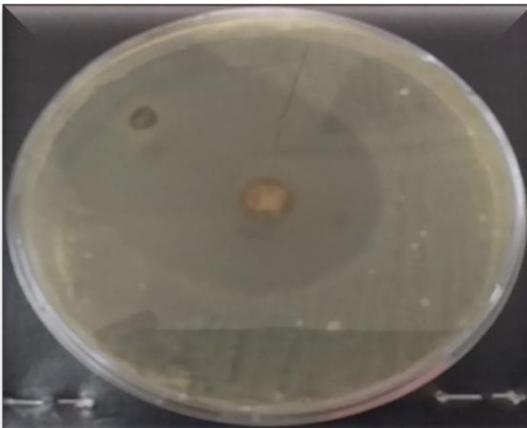
ANNEXE 4



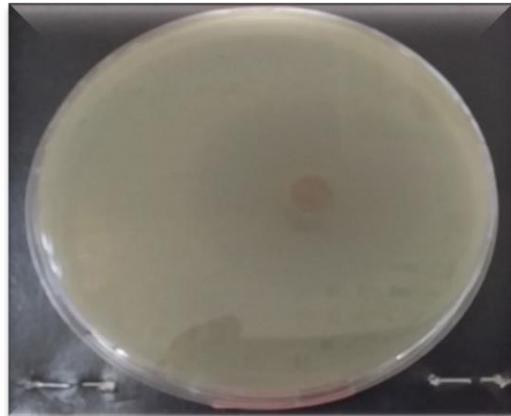
Aromatogramme de la C. zeylanicum contre S. aureus



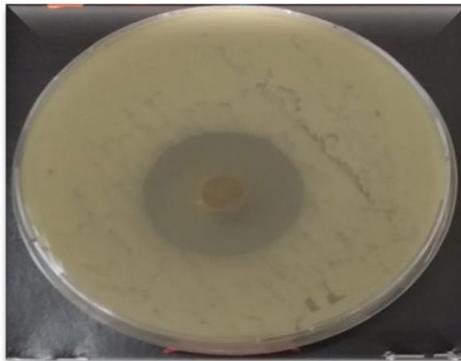
Aromatogramme de la C. zeylanicum contre L. monocytogenes



Aromatogramme de la C. zeylanicum contre E. coli

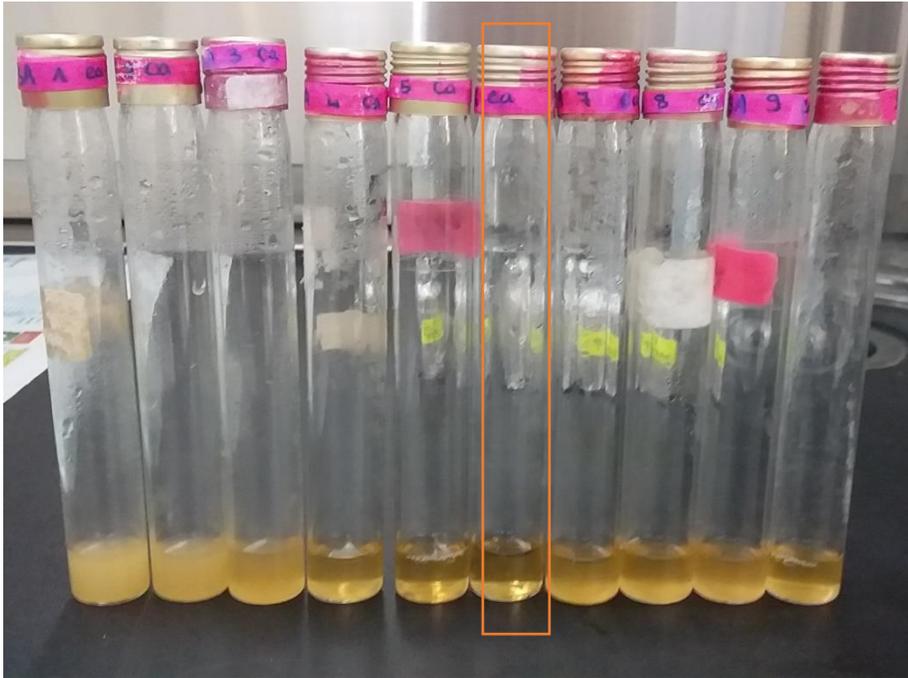


Aromatogramme de la C. zeylanicum contre E .Faecium



Aromatogramme de la C. zeylanicum contre E. cloacea

ANNEXE 5



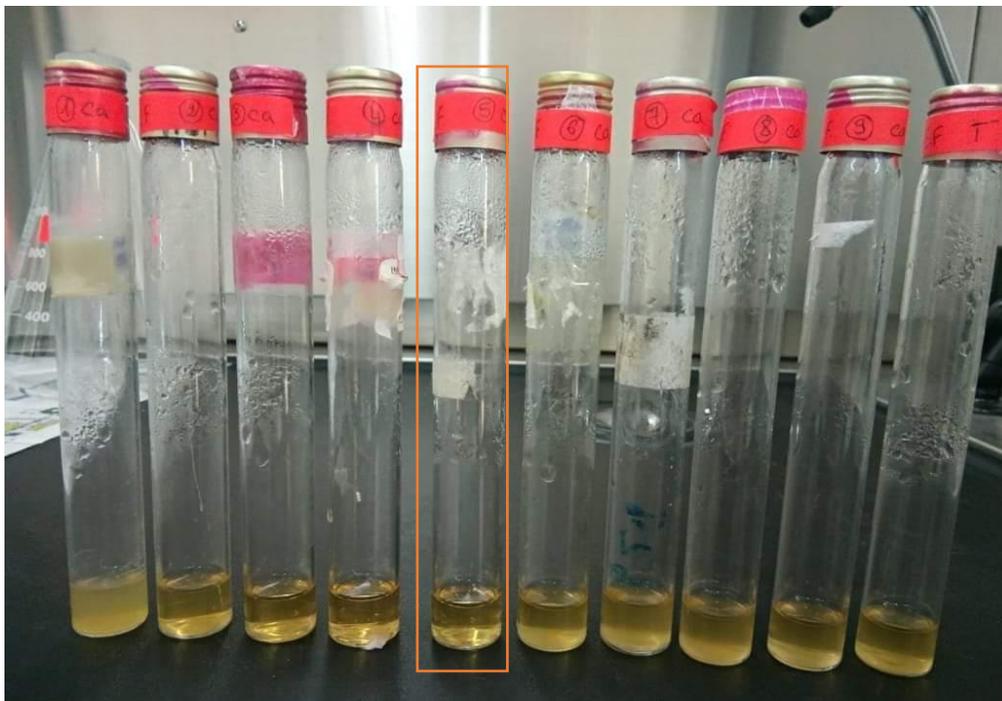
CMI de la *C. zeylanicum* contre *S.aureus*



CMI de la *C. zeylanicum* contre *L.monocytogene*



CMI de la *C. zeylanicum* contre *E.coli*

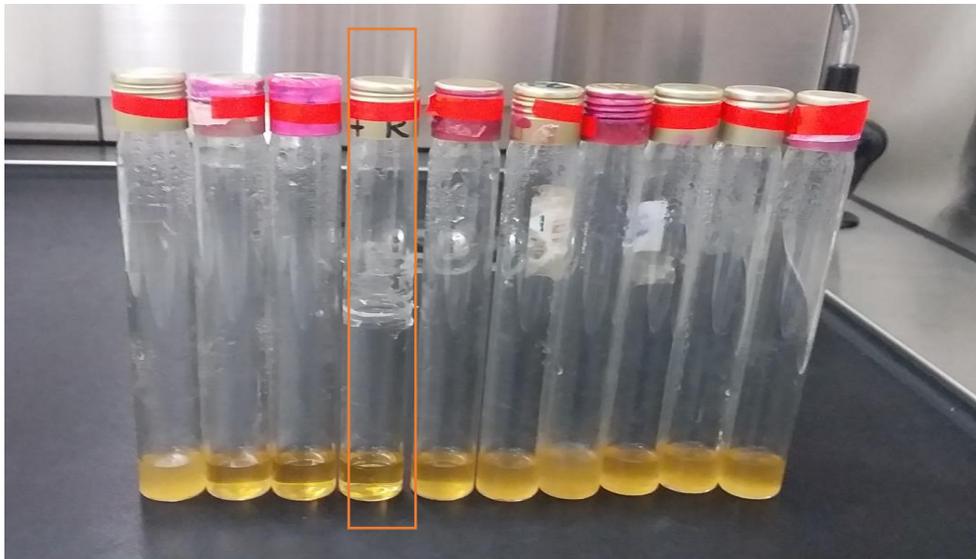


CMI de la *C. zeylanicum* contre *E.feacium*

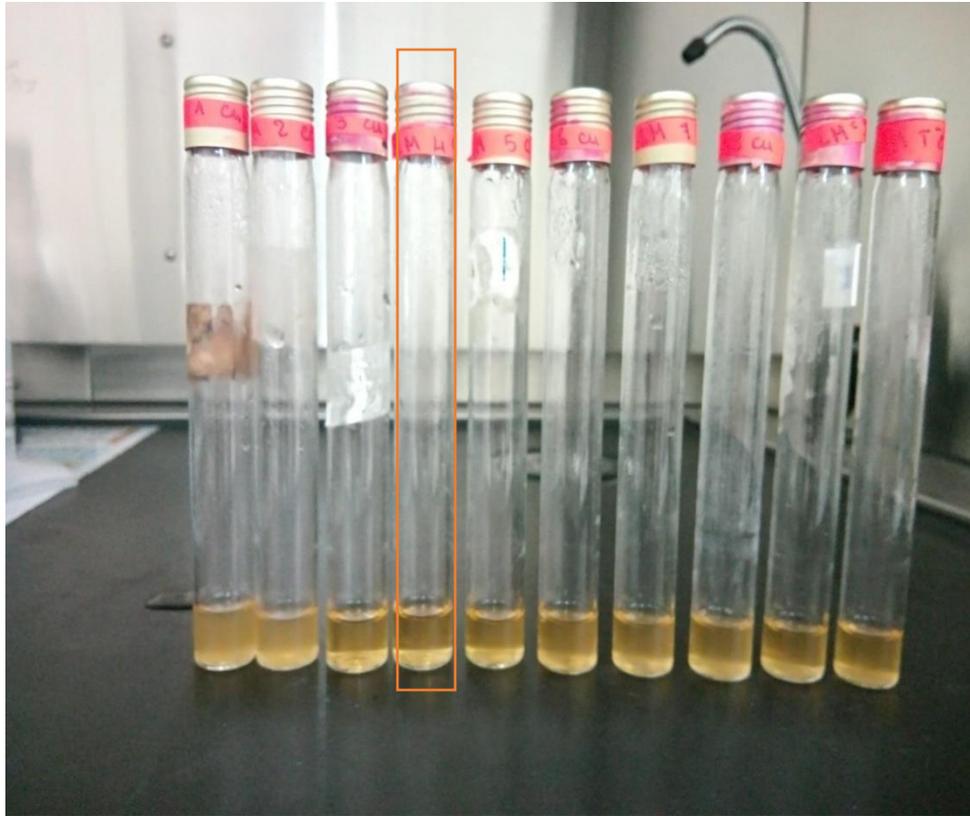


CMI de la *C. zeylanicum* contre *E. cloacea*

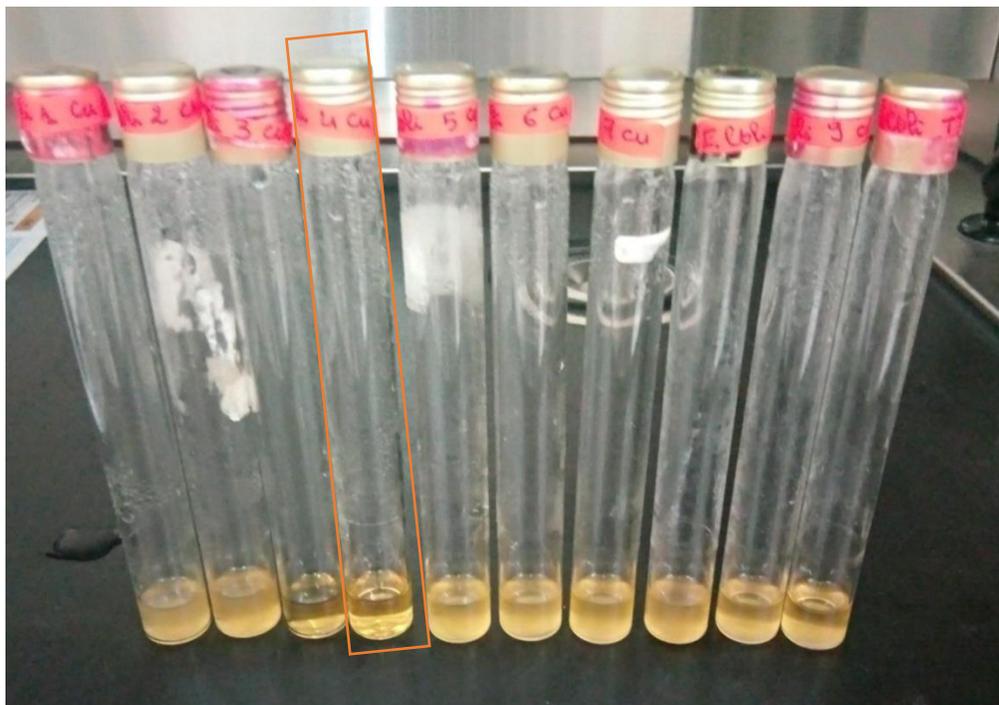
ANNEXE 6



CMI du *C. cyminum* contre *S.aureus*



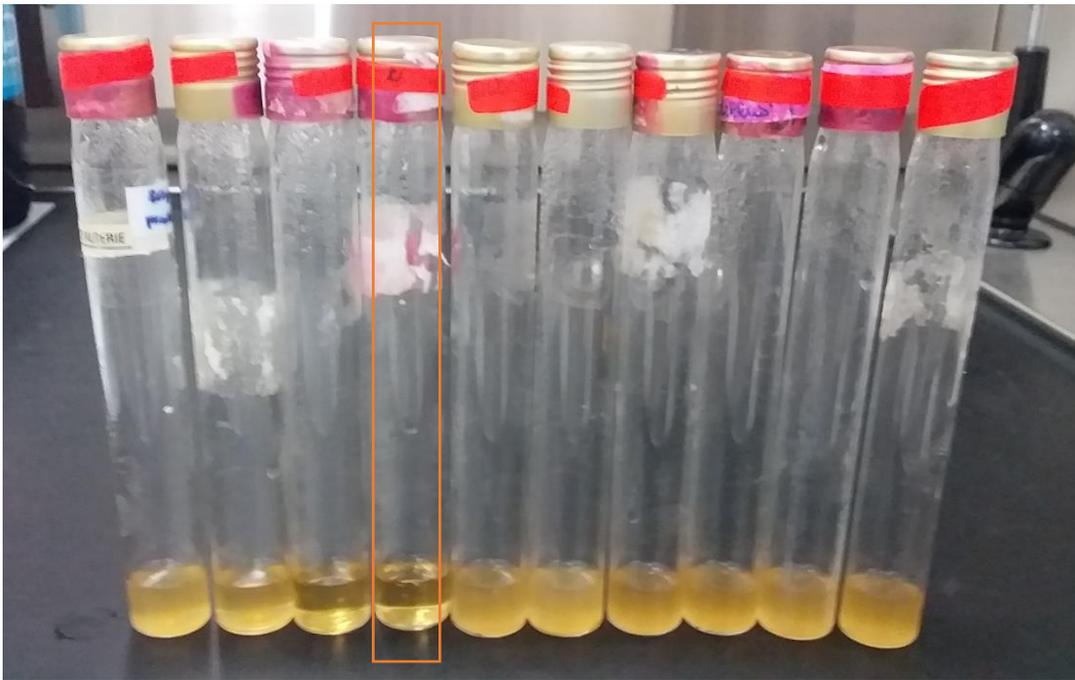
CMI du C. cyminum contre L.monocytogene



CMI du C. cyminum contre E.coli

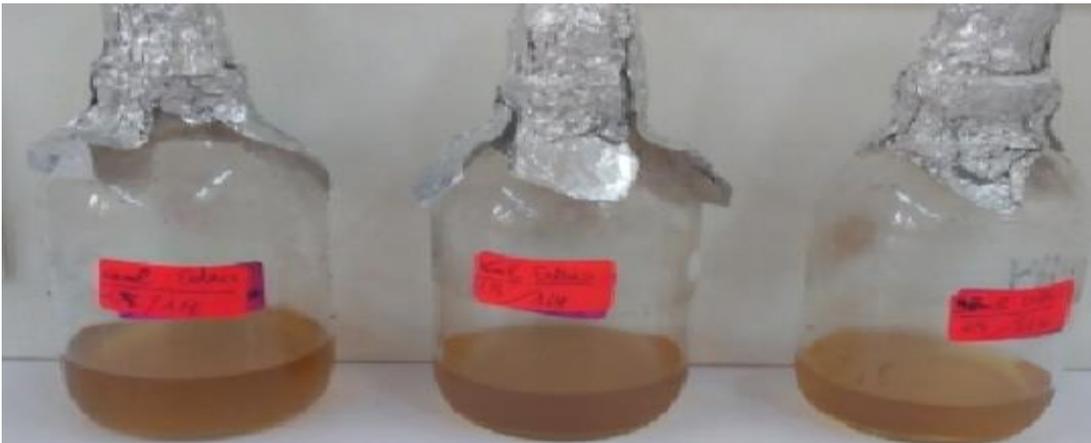


CMI du C. cuminum contre E. faecium



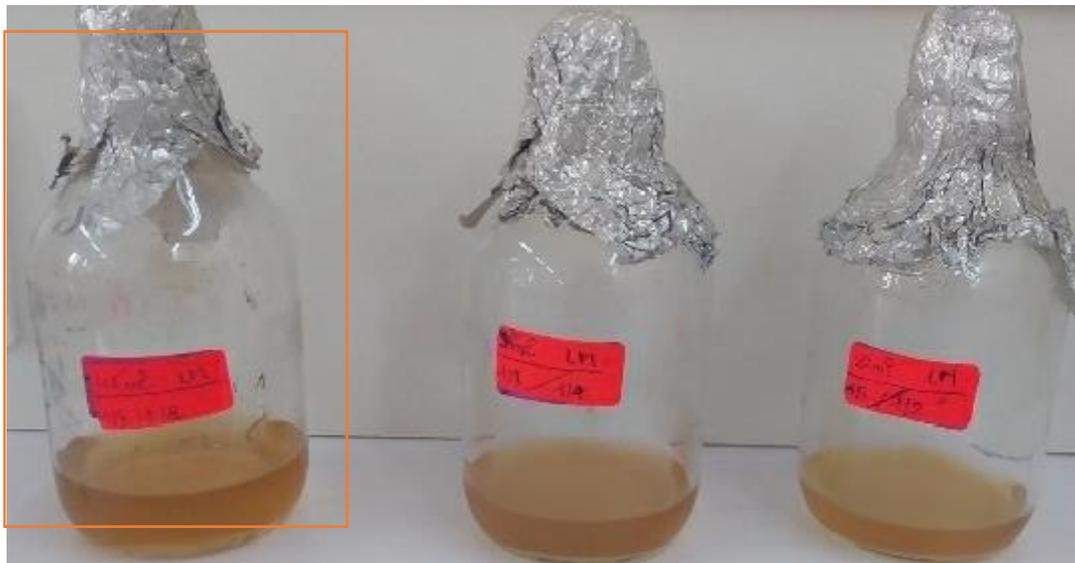
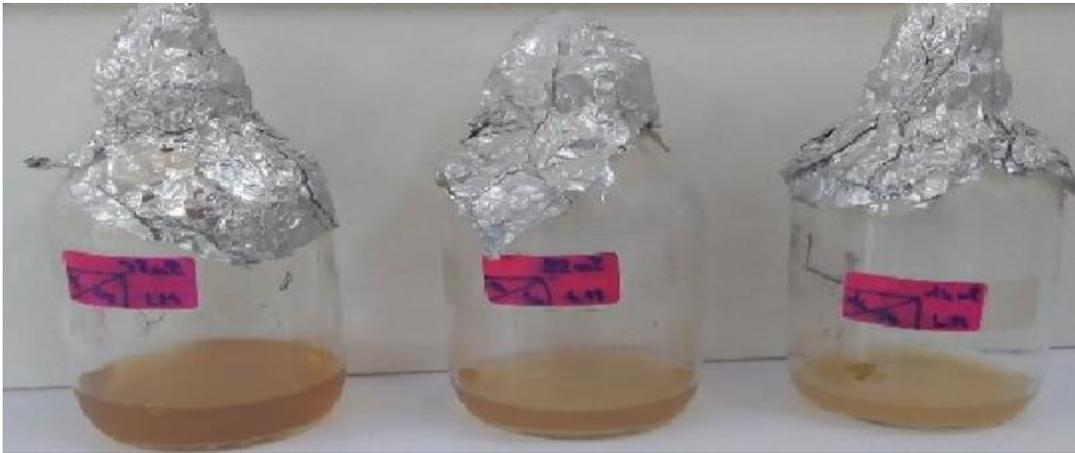
CMI du C. cuminum contre E. cloacea

ANNEXE 7



CMI de combinaison pour *E. cloacea*

ANNEXE 8



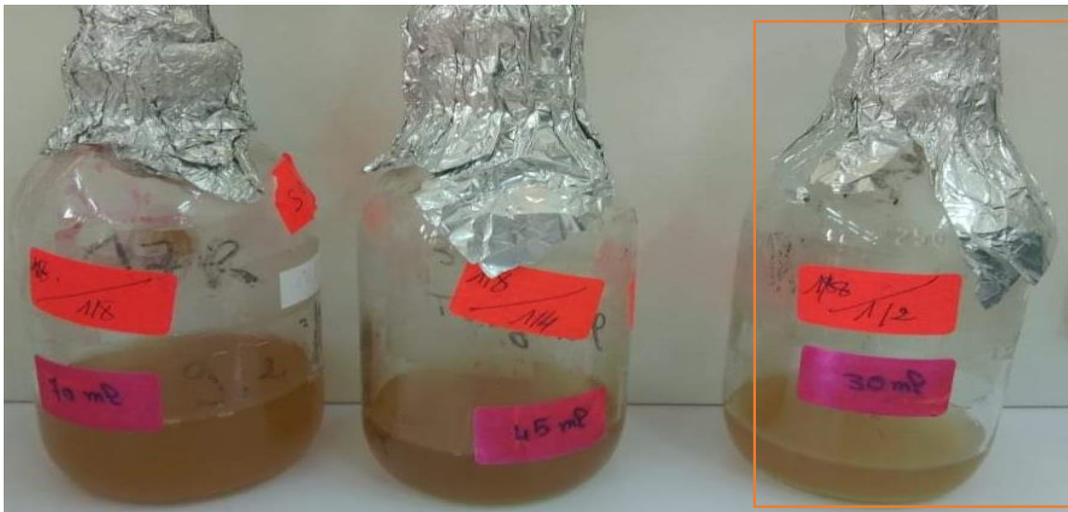
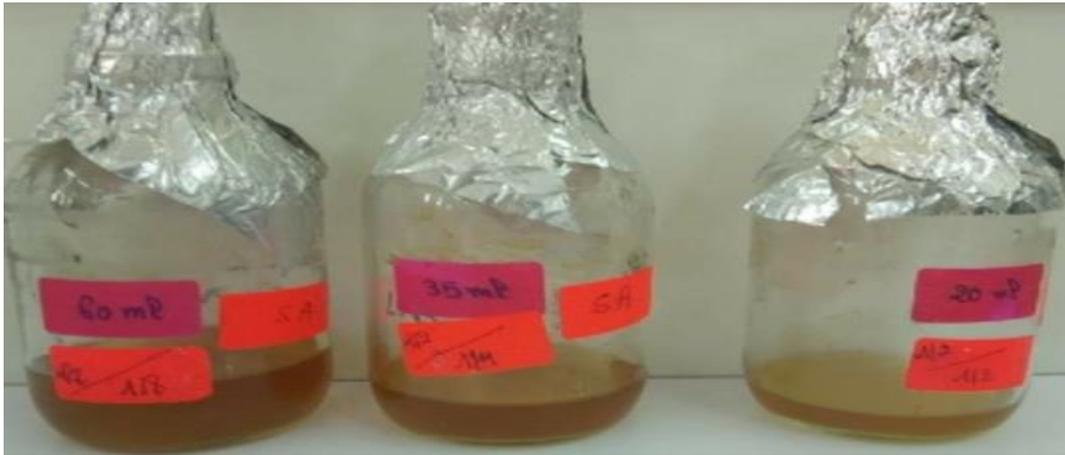
CMI de combinaison pour *L.monocytogene*

ANNEXE 10



CMI de combinaison pour E.feacium

ANNEXE 11



CMI de combinaison pour *S. aureus*

