

## EXTRACTION ET CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES A PARTIR DE *Cymbopogon schoenanthus* DANS LA REGION DE GHARDAÏA

MAHBOUB Nasma<sup>1</sup>, SLIMANI N. <sup>1</sup>, BEN NADJI S., BOUZEGUAG C., KADRI M. <sup>1</sup>et KHELIL A. <sup>2 et 3</sup>

<sup>1</sup> Faculté des sciences de la nature et de la vie, Univ. EchahidHammaLakhdar El oued (Algérie).

<sup>2</sup>Faculté des sciences de la nature et de la vie Univ. KasdiMerbah Ouargla (Algérie).

<sup>3</sup> Laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi arides. Univ. KasdiMerbah Ouargla

**Résumé :** Ce travail vise à étudier quelques paramètres physicochimiques des huiles essentielles (HEs) extraites de *Cymbopogon schoenanthus*, tels que les propriétés organoleptiques, le pH, la densité, l'indice de réfraction et miscibilité à l'éthanol...etc. Par ailleurs, l'étude de l'activité biologique consacrée à l'activité antioxydante en utilisant DPPH et l'activité antibactérienne afin de savoir l'efficacité des huiles essentielles sur certaines souches bactériennes pathogènes, telles que *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Salmonella enterica* CIP 81-3 et *Listeria innocua* CLIP 74915. Le rendement d'extraction des huiles essentielles est d'environ 2% et possède un aspect liquide, couleur jaune blanche et odeur rosée. Par ailleurs, les propriétés physiques, on trouve le pH égale 7.4, la densité estimée est 0.8575, indice de réfraction est 1.482, et la miscibilité à l'éthanol estimée à 1V/3.2. C'est-à-dire nos HEs sont basiques et solubles. Concernant les analyses chimiques, on trouve que l'indice d'acide estimée est 1.12, indice d'ester est égale 12.9, indice d'iode est 0.14 et indice de saponification est égale 14.25. Ce qui conduit que les huiles essentielles possèdent une faible quantité d'acides libres avec un indice d'ester faible. Les résultats de l'activité antioxydante de ces huiles, confirment que leur valeur de IC<sub>50</sub> estimée égale 13.79 mg/ml et 0.03 mg/ml pour l'acide ascorbique. Ce qui indique que l'activité antioxydante de l'acide ascorbique est beaucoup plus forte que l'huile essentielle analysée. Egalement pour l'activité antibactérienne, ces huiles influent sur l'inhibition vis-à-vis de toutes les souches bactériennes utilisées à la concentration 100% et le maximum effet inhibiteur était 17.2mm contre la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa*.

**Mots clés:** Les plantes médicinales, *Cymbopogon schoenanthus*, huiles essentielles, l'activité biologique, DPPH, zone d'inhibition.

## EXTRACTION AND PHYSICO-CHEMICAL AND BIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF ESSENTIAL OILS FROM *Cymbopogon schoenanthus* IN THE REGION OF GHARDAÏA

**Abstract:** The aims of this work to study some physico-chemical parameters of essential oils (EOs) extracted from *Cymbopogon schoenanthus*, such as organoleptic properties, pH, density, refractive index and miscibility with ethanol ... etc. In addition, the study of biological activity devoted to antioxidant activity using DPPH and antibacterial activity in order to know the effectiveness of essential oils on some pathogenic bacterial strains, such as *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Salmonella enterica* CIP 81-3 and *Listeria innocua* CLIP 74915. The extraction yield of essential oils is approximately 2% and has a liquid appearance, white yellow color and pink odor. Furthermore, the physical properties, we find the pH equal to 7.4, the estimated density is 0.8575, the refractive index is 1.482, and the miscibility with ethanol estimated at 1V / 3.2. That is to say, our EOs are basic and soluble. Regarding to the chemical analyzes, we find that the estimated acid number is 1.12, the ester number is 12.9, the iodine number is 0.14 and the saponification number is 14.25. Which means that essential oils have a small amount of free acids with a low ester index? The results of the antioxidant activity of these oils confirm that their estimated IC<sub>50</sub> value is equal to 13.79 mg / ml and 0.03 mg / ml for ascorbic acid. This indicates that the antioxidant activity of ascorbic acid is much stronger than the essential oil analyzed. Also for antibacterial activity, these oils influence the inhibition with respect to all the bacterial strains used at the 100% concentration and the maximum inhibitory effect was 17.2mm against the bacterial strain *Pseudomonas aeruginosa*.

**Keywords:** Medicinal plants, *Cymbopogon schoenanthus*, essential oils, biological activity, inhibition zone.

## Introduction

Une huile essentielle est un produit odorant, de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage (**Bruneton, 2009**). Les végétaux riches en essences se trouvent surtout chez les Conifères, Myrtacées, Labiées, Ombellifères et Rutacées au niveau de différents organes de la plante (**Mautrait et Raoult, 2009**).

L'activité des huiles volatiles réside dans les centaines de molécules chimiques qui la constituent comme les terpénoïdes. Ces derniers donnent à la plante son odeur, d'autres sont responsables du parfum (**Cowan, 1999**).

Le domaine d'application des huiles essentielles sont diversifiés malgré l'arrivée sur le marché des composés de synthèse ; c'est ainsi qu'elles trouvent de nombreuses applications dans l'industrie chimique et dans le domaine de l'agroalimentaire (condiments, épices, aromatisants,...) et l'aromathérapie (parfumerie, cosmétique et savonnerie) (**Petitjean, 1974**).

## Matériel et méthodes

L'intérêt porté aux plantes spontanées à caractère médicinales comme source naturelle de nombreux principes actifs, a sensiblement augmenté au cours des 20 dernières années. Ce travail s'oriente sur les caractéristiques biochimiques des huiles essentielles de *Cymbopogonschoenanthus* dans la région de Ghardaïa.

L'étude porte sur l'extraction des huiles essentielles de cette plante médicinale et l'étude de leurs activités biologiques : antioxydante en utilisant le réactif de DPPH et l'activité antibactérienne en utilisant la méthode de diffusion sur disque. En parallèle une caractérisation physicochimique se fait en étudiant leur densité, pH, indice d'acide, indice de réfraction et en calculant le rendement d'extraction de ces huiles essentielles à partir de taxon étudié.

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Echahid Hamma Lakhdar d'El Oued d'une part et d'autre part dans le laboratoire de contrôle de qualité ELCHIHABI d'El Oued.

## Matériel végétal

Le choix du matériel végétal est justifié, non seulement par l'utilisation de ce dernier dans la région d'étude pour traiter certaines maladies humaines, mais aussi par le fait que peu d'études ont été réalisées sur la composition chimique et les activités biologiques de ce taxon.

La plante, fraîchement récolté, toutes les parties sont ensuite séparées puis séchées à l'air libre, à l'abri de la lumière et l'humidité. Celles-ci ont été ensuite pesées, réduites en petites morceaux pour augmenter la surface de contact avec l'eau et sont récupérés dans des sacs en papier afin de les conserver jusqu'au moment de l'extraction. L'espèce investiguée est : *Cymbopogonschoenanthus*.

## Extraction des huiles essentielles

L'extraction a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. Avant l'emploi, l'appareil a été nettoyé à l'acétone puis rincé à l'eau distillée afin d'éliminer les poussières et les graisses probablement présentes dans l'appareil pour éviter toute contamination de l'huile au cours de l'extraction.

Le principe consiste à porter à ébullition dans un ballon un mélange d'eau et de plante dont on souhaite extraire l'huile essentielle. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont alors entraînées par la vapeur d'eau créée. Elles passent par un réfrigérant à eau où elles sont condensées, puis sont récupérées dans un récipient (Bruneton, 1999). Dans notre cas, l'hydrodistillation est effectuée par l'utilisation de 50g de matière végétale avec 750 ml d'eau distillée.

### Détermination des indices physico-chimiques des HEs extraites

#### Propriétés physiques

##### Rendement

Le rendement est le rapport de la quantité d'huile recueillie après distillation sur la quantité de la biomasse, exprimée en pourcentage. Les quantités d'huile essentielle proviennent du cumul suivre l'effet de séchage sur le rendement d'extraction.

$$R = \frac{M_{he}}{M_{vg}} \times 100$$

R : Rendement en HE en (%) ; M<sub>he</sub> : Masse de l'huile essentielle ; M<sub>vg</sub> : Masse végétale sec

#### Caractéristiques organoleptiques

Les propriétés organoleptiques et physico-chimiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE. Nos essais ont été effectués selon un protocole précis.

#### Détermination de pH

Le pH mesure l'activité chimique des ions Hydrogènes H<sup>+</sup> en solution. Cette méthode décrit l'acidité ionique du produit à analyser, son principe consiste à introduire l'électrode du pH-mètre dans le produit après le réglage de la température d'étalonnage.

#### Densité relative

La densité de l'H.E est déterminée par le rapport entre la masse d'un certain volume de l'essence et la masse du même volume d'eau distillée pris à la même température.

La densité d'essence a été calculée à partir de la relation suivante:

$$d_{20} = \frac{m_1 - m_0}{m - m_0}$$

m 1: Masse en g de la seringue contenant 0,20 ml d'essence.

m 0: Masse en g de la seringue vide.

m : Masse en g de la seringue contenant 0,20 ml d'eau.

#### Indice de réfraction

L'indice de réfraction  $n_t^\lambda$  se définit comme étant le rapport entre le sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré. Cet indice est mesuré à 20°C et rapporté à la raie D du sodium ( $\lambda=589\text{nm}$ ).

## Miscibilité à l'éthanol

La miscibilité à l'éthanol est déterminée par le volume (V) d'alcool nécessaire pour former avec 0,5ml d'HE un mélange homogène.

## Propriétés chimiques

### Indice d'acide (Ia)

L'indice d'acide exprime le nombre de mg d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans 1g d'HE.

L'indice d'acide Ia est déterminé par la formule suivante :

$$I_a = V \cdot c \cdot \frac{56,11}{m}$$

V: Volume en ml de la solution de KOH utilisé pour le titrage.

c : Concentration en mol. /L de la solution de KOH.

m : Masse en g de la prise d'essai.

### Indice d'ester (Ie)

L'indice d'ester est le nombre de mg d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libérés par hydrolyse en milieu basique des esters contenus dans 1g d'HE. L'indice d'ester (Ie) est calculé à l'aide de la relation suivante:

$$I_e = \frac{28,05}{m} (V_0 - V_1) - I_a$$

V<sub>0</sub>: Volume en ml de la solution d'HCl (0,1N) mesuré pour l'essai à blanc.

V<sub>1</sub>: Volume en ml de la solution d'HCl (0,1N) mesuré pour le calcul de Ie.

m : Masse en g de la prise d'essai. Ia : Valeur d'indice d'acide

L'indice de saponification (Is) est déterminé à partir de Ie et Ia

### Indice d'iode (Ii)

L'indice d'iode est la quantité d'iode susceptible d'être fixée par 100g de substance, par la rupture de la double liaison. Les deux atomes d'iode se fixent sur les deux carbones voisins.

L'indice d'iode est calculé selon la relation ci-dessous:

$$I_i = N_T \frac{(V_0 - V_1)}{m}$$

N<sub>T</sub>: Normalité de la solution de thiosulfate de sodium.

V<sub>0</sub>: Volume en ml de la solution de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> utilisée pour l'essai à blanc.

V<sub>1</sub>: Volume en ml de la solution de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> utilisée pour la détermination de Ii.

m : Masse en g de la prise d'essai.

## Activités biologiques

### Activité antioxydante

Cette méthode est basée sur la réduction d'un radical libre très stable : le 2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) en présence d'un antioxydant donneur. Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène.

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon cette relation :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Abs Control} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs Control}} \times 100$$

Abs control : Absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai). Abs échantillon : Absorbance du composé d'essai. Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence dans notre expérience c'est l'acide ascorbique.

### Activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle *Cymbopogonschoenanthus* été évaluée sur cinq souches bactériennes Ces souches sont : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Listeria innocua* CLIP 74915, *Pseudomonasaeruginosa* 27853, *Salmonella enterica ssp .Arizonae* CIP 81-3 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603. Les souches bactériennes apportées à l'hôpital HAKIM SAADAN -BISKRA.

Les tests d'activités antimicrobiennes sont réalisés par la technique par contact direct (méthode de diffusion sur milieu gélosé).

### Analyse statistique

Les données obtenues sont traitées statistiquement par le logiciel Microsoft office Excel 2007, pour le calcul des

concentrations à partir des courbes d'étalonnage et pour la présentation des résultats; et le logiciel Minitab pour la comparaison entre les souches bactériennes.

## Résultats et discussion

### Rendement d'extraction

Selon **Afnor (2000)**, les huiles essentielles sont habituellement liquides à la température ambiante et volatile. Elles sont plus ou moins colorées et leur densité est en général inférieure à celle de l'eau. Le rendement obtenu est d'environ 2%.

**Akroutet al., (2010)** ont expliqué que le rendement varie selon le type, et dans le même type varie considérablement et dépend de l'emplacement, la séparation géographique et la saison de récolte. **khadriet al. (2010)** trouvent avec la même plante un rendement d'environ 2,1% ; par contre **khare (2007)** trouve un rendement plus faible égal à 0,8%.

### Caractéristiques organoleptiques

A la lumière des résultats obtenus, on trouve que l'HE obtenue a un couleur jaune avec une odeur prononcée. Les paramètres organoleptiques de notre HE sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR (tableau 1).

**Tableau 1:** Propriétés organoleptiques de l'HE *Cymbopogonschoenanthus*

Paramètre	AFNOR	<i>Cymbopogonschoenanthus</i>
Aspect	Liquide mobile, limpide	Liquide
Couleur	Jaune ambré à jaune verdâtre	Jaune blanche
Odeur	Rosé, menthée	Rosée

### Caractéristiques physico-chimiques

#### Propriétés physiques

Les méthodes physiques d'examen pour l'analyse des huiles essentielles

s'attachent surtout à la détermination de la densité, l'indice de réfraction et la miscibilité à l'éthanol (Afnor, 2000). Les résultats de ces paramètres sont consignés dans le tableau 2.

**Tableau 2 :** Caractéristiques physiques des HEs

Propriété Physique	pH	d <sub>20</sub>	n <sup>20</sup>	Miscibilité à l'éthanol
HEs	7,4	0,8575	1,482	1V/3,2

Les résultats obtenus des analyses physicochimiques indiquent que l'échantillon analysé se trouve dans les fourchettes de référence établies par les normes Afnor.

Selon Gildo (2006), ces paramètres physicochimiques sont influencés par les conditions édaphiques et climatiques ainsi que les conditions de culture des plantes ; cela fait partie aussi de la complexité de la notion de chémotype.

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 5, on constate que : le pH des huiles essentielles de *Cymbopogonschoenanthus* est basique (pH>7). Il convient de souligner que le pH joue un rôle déterminant au cours des réactions chimiques et biochimiques et peut influencer les propriétés stabilisatrices d'une huile essentielle (effets antioxydant et antimicrobien). Par conséquent, ce résultat peut amener à un bon caractère

stabilisateur contre les microorganismes ; ce qui permettra à ces HEs de jouer le rôle insecticide.

Sachant quela densité est parmi les caractéristiques physiques généralement utilisées dans la classification des huiles essentielles. Mais elle ne peut pas être utilisée seule pour l'identification des huiles. Selon Afnor NFT 75.11, si on désire obtenir la masse volumique des huiles essentielles, il faut multiplier la densité relative par la masse volumique de l'eau m (eau) = 0,99823 g/ml. Les résultats de notre huile essentielle sont inférieur à celle de l'eau, est conformes aux normes proposées par AFNOR.

L'indice de réfraction dépend de la composition chimique qui augmente en fonction des longueurs des chaînes d'acides, de leurs degrés d'insaturation et de la température. Il varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en

dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé.

L'indice de réfraction obtenu est de l'ordre 1,482 ; il appartient à l'intervalle mentionné par les normes françaises des huiles essentielles.

Pour certains auteurs, le faible indice de réfraction de l'huile essentielle indique sa faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques (Chouitah, 2011).

Concernant la miscibilité à l'éthanol (90%), les valeurs indiquées par les normes

**Tableau 3:** Propriétés chimiques d'essence étudiée

Propriétés chimiques	$I_a I_e$	$I_i$	$I_s$
Valeur	1,12	12,90	0,14 14,25

D'après le tableau 3, on remarque que pour les constantes chimiques, l'indice d'acide donne une idée sur le taux d'acides libres. Dans notre étude, cet indice, certes dans les normes, demeure relativement élevé. Cela peut trouver une explication dans la dégradation de l'HE (hydrolyse des esters) durant sa conservation, ce qui est à terme préjudiciable. L'indice d'ester de l'H.E possède un indice plus faible, et pour l'indice d'iode est lié à l'état d'instauration des chaînes carbonées dans nos HEs. Les valeurs d'indice d'iode sont dans la fourchette (74-94g d' $I_2$ /100g) Norme C.O.I, donc on peut dire que cette huile présente une valeur plus faible à la norme, ce qui signifie qu'elle est facilement altérable.

Par ailleurs, l'indice de saponification permet de caractériser le poids moléculaire et la longueur moyenne des chaînes grasses

françaises (Afnor, 2000), ce qui veut dire que l'HE est soluble.

### Propriétés chimiques

Pour obtenir des données sur la composition et le degré de pureté des huiles essentielles, il est nécessaire d'étudier plusieurs paramètres chimiques, (Afnor, 2000).

Nous avons de même regroupé les propriétés chimiques de H.E également dans le tableau 3.

auxquelles il est inversement proportionnel (Harper, 1997). Selon les normes du Conseil Oléicole International C.O.I. L'intervalle de l'indice de saponification est compris entre 184-196, les résultats de huile *Cymbopogon schenanthus* est exclue de l'intervalle donné par les normes de C.O.I. Ce qui permet de dire qu'elle a un poids moléculaire de la longueur d'acide gras élevé.

### Activités biologiques

#### Activité antioxydante

La capacité de donation des électrons par les huiles essentielles est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique, en suivant la disparition de la couleur violette d'une solution méthanolique contenant le radical libre DPPH<sup>+</sup> (1,1-Diphenyl-2

picrylhydrazyl et apparence la couleur jaune.

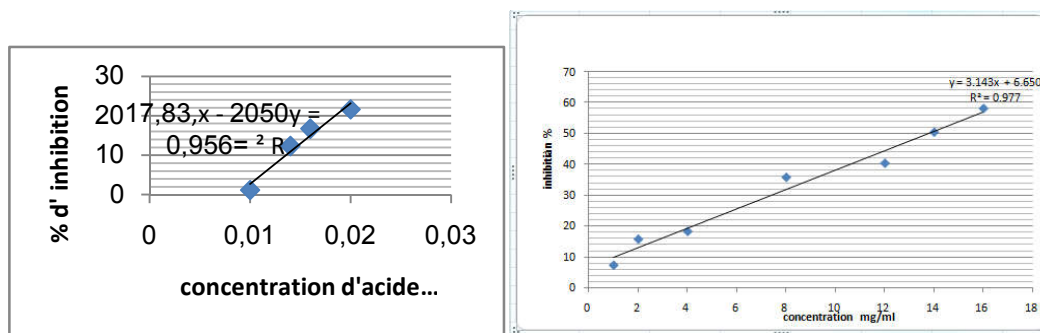


Figure 1: Courbe d'étalonnage de DDPH de H.Es. Figure 2: Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique

Les résultats semblent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique ou pour l'huile essentielle de *Cymbopogonschoenanthus* ; où sa concentration 16 mg/ml qui donne la meilleure activité antioxydante comparé à d'autres concentration, quand à la

concentration 1mg/ ml l'activité antioxydante était aussi faible que 7.13 %.

L'IC<sub>50</sub> est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (tableau 4).

Tableau 4: Valeur de IC<sub>50</sub> des huiles essentielles et acide ascorbique

	H.Es	Acide ascorbique
IC <sub>50</sub>	13.79	0.03

Benknatha, (2014), montre que plus la valeur de IC<sub>50</sub> est forte, plus l'efficacité antioxydante est faible. En comparant IC<sub>50</sub> de H.Es, qui est égal à 13.79 avec la valeur de IC<sub>50</sub> de l'acide ascorbique qui est égale 0.03, on trouve que l'efficacité antioxydante de H.Es est inférieure à celle de l'acide ascorbique, cela indique que le pouvoir antioxydant de H.Es de *Cymbopogonschoenanthus* est faible.

Des travaux similaires réalisés par khadriet al., (2010) trouvent que IC<sub>50</sub> de l'extrait méthanolique était estimée à 17,1 µg/ ml dans une étude menée sur la même plante.

La différence d'activité antioxydante entre les échantillons s'explique par le comportement du proton et de l'électron (Miliauskasetal., 2004). De nombreux chercheurs ont montré que la capacité inhibitrice des composés végétaux sur la racine de DDPH a une relation significative avec la structure chimique, et l'efficacité antioxydante de ces extraits peut être liée à leur composition en composés, l'efficacité de ces composés dépend du nombre de groupes hydroxyles associés à l'anneau aromatique (Deboubaetal., 2012).

Activité antibactérienne



En utilisant la méthode de diffusion sur disque dans le milieu de gélose ; Afin de détecter l'effet de l'huile essentielle de *Cymbopogonschoenanthuset* des antibiotiques en parallèle sur plusieurs souches bactériennes appartient également

au Gram <sup>+</sup> et Gram <sup>-</sup>. Les résultats obtenus sont illustrés dans les tableaux 5 et 6 (Sachant que le diamètre de zone d'inhibition compris le diamètre de disques utilisés égale 6mm).

**Tableau 5 - Zones d'inhibition (mm) des souches bactériennes gram (-) testés en fonction des déférents concentrations d'HEs.**

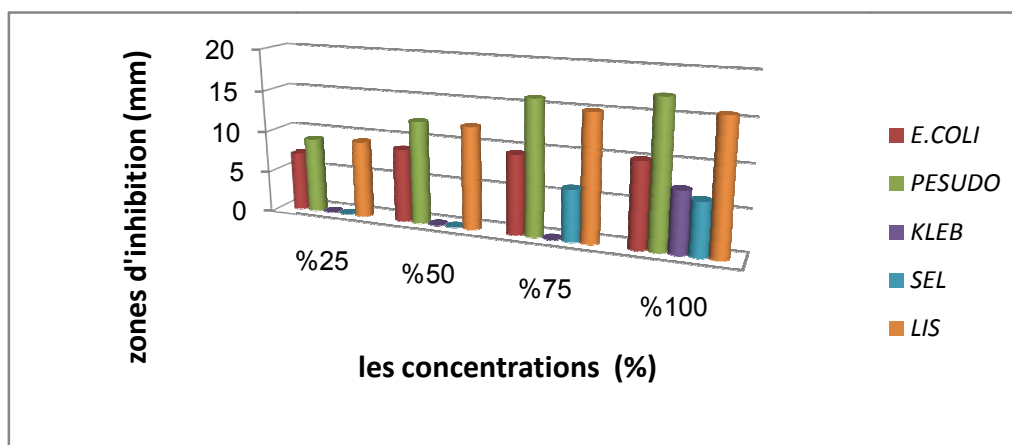
Les bactéries \ Les concentrations	25%	50%	75%	100%
<i>Escherichia coli</i>	7,1	8,8	9,5	10.1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	12,3	16	17,2
<i>Salmonella enterica</i>	6	6	6,1	6,3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	6	6	7,3

**Tableau 6 : Zones d'inhibition (mm) de souche bactérienne gram (+) testé en fonction des déférents concentrations d'HEs.**

Les bactéries \ Les concentrations	25%	50%	75%	100%
<i>Listeria innocua</i>	9,2	12,2	15	15,7

Selon les tableaux ci-dessus, on observe que toutes les souches testées sont sensibles aux huiles essentielles de *Cymbopogonschoenanthus* à une

concentration pure, par contre, dans les concentrations diluées, l'activité était variée, plus la concentration est faible, moins le diamètre de l'inhibition (figure 3).



**Figure 3 : Zones d'inhibition (mm) des souches bactériennes testées en fonction de différentes concentrations d'huile essentielle**

D'après tous les résultats obtenus, nous pouvons dire que l'huile essentielle de *Cymbopogonschoenanthus* possède une capacité antimicrobienne faible contre les souches bactériennes testées. Ce résultat est équivalent à ceux trouvée par **Kobaet al., (2004)**. Ils ont prouvé la faiblesse de l'huile essentielle de *Cymbopogonschoenanthu*, où cette faible efficacité est due probablement aux pertes des composés volatils de l'huile essentielle durant le stockage et/ou à l'extraction.

**Hashim et al., (2016)** ont étudié l'activité antibactérienne d'huile essentielle de *Cymbopogonschoenanthus* et ils ont trouvé que la souche de *Klebsiella pneumoniae*

sensible à ce l'huile essentielle avec une zone d'inhibition de 14mm, mais dans notre étude *Klebsiella pneumoniae* possède une résistance contre notre huile.

**Da Silva et al., (2018)** ont étudié la composition chimique et l'activité antibactérienne de huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* et *Cymbopogon flexuosus*, ils ont trouvé que la souche de *Escherichia coli* possède des zones d'inhibition (2.7mm et 4.5mm) respectivement. Alors c'est plus petit de ce que nous avons trouvé dans notre étude sur l'huile essentielle de *Cymbopogonschoenanthus*.

**Hussein (1990)**, ont montré que les bactéries à Gram positifs résistent mieux aux huiles essentielles, que les bactéries à Gram négatifs. Bien qu'il soit généralement connu que les bactéries Gram négatif sont

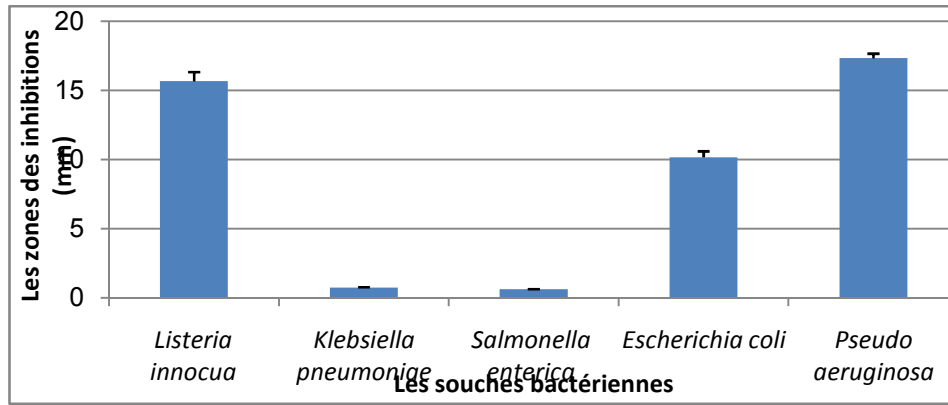
légèrement plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries Gram positives (**Moussa et al., 2012**). Ce n'est pas toujours vrai. Par exemple, dans une étude de **Deans et Ritchie (1987)**, cinquante huiles essentielles disponibles dans le commerce ont été testées contre 25 genres, et aucune différence de sensibilité n'a été observée entre micro-organismes Gram-négatifs et Gram-positifs (**Hashimet al., 2016**).

Chez les bactéries à Gram positifs, le peptidoglycane est très épais et associé à des protéines pariétales exposées et à des structures polyosidiques (acides lipoteichoïques et acides teichoïques) (**Labioud, 2016**).

La membrane externe des bactéries gram positifs est très chargée, elle agit comme une barrière aux huiles essentielles (**Chouitah, 2012**).

Les HEs de *Cymbopogonschoenanthus*, semblaient être préférentiellement plus actives sur les Gram négatifs, tout en exerçant une activité inhibitrice plus grande contre *Pseudomonas aeruginosa*. Nos résultats sont en parfaite concordance avec ceux obtenus par **EL-Kamali et EL-amir (2010)**.

Les auteurs ont conclu que le mécanisme d'action sous-jacent des huiles essentielles causée par l'inhibition de la synthèse de l'ADN, de l'ARN, des protéines et des polysaccharides dans les cellules fongiques et bactériennes (**Kalemba et Kunicka, 2003**).



**Figure 4 :** Les zones des inhibitions des bactéries à une concentration pure.

Les résultats des analyses statistiques réalisées par le logiciel minitab sont présentés dans le tableau 7.

**Tableau 7 :** les valeurs des probabilités des souches bactériennes

Bactéries	<i>Escherchia coli</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Listeria innocua</i>
Probabilités	0,007	0,000	0,000	0,199

Lorsque la valeur de (p) est inférieure à 0.05, donc il y a une différence significative ; Si la valeur de (p) supérieure à 0.05 il n ya pas une différence significative.

D'après le tableau 7, on observe que les souches *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* et *Klebsiella pneumoniae* possèdent une différence hautement significative mais pour la souche *Listéria* il n'existe plus de signification.

Concernant les antibiotiques utilisés, on constate que Toutes les souches se sont révélées sensibles à la gentamicine avec des diamètres de zone d'inhibitions variés, dont la plus grande enregistrée sur

*Pseudomonas aeruginosa* avec une zone d'environ de 29.6mm, et la plus petite est de 18.33mm enregistrée sur *Salmonella enterica*. Et aussi sensible à la Céfixime, de telle façon que le plus grand diamètre est de 27mm enregistrée sur *Escherichia coli*, et la plus petite est de 11mm enregistré sur *Pseudomonas aeruginosa*(tableau 8).

Ampicilline, n'agit que sur *Escherichia coli* avec diamètre de 23mm.

Par ailleurs, le témoin négatif utilisé (DMSO) n'a pas marqué des zones d'inhibition avec toutes les souches bactériennes (tableau 8).

**Tableau 8 :** Zones d'inhibition (mm) des souches bactériennes testées en fonction des différents ATB et DMSO.

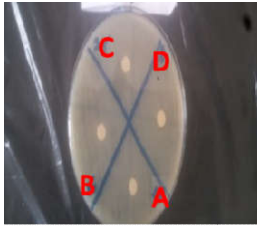
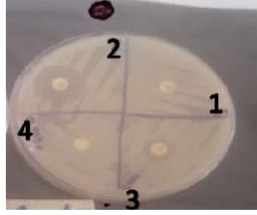
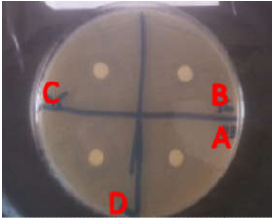
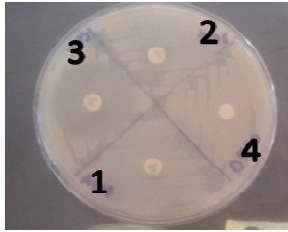
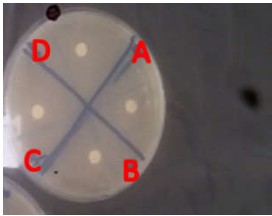
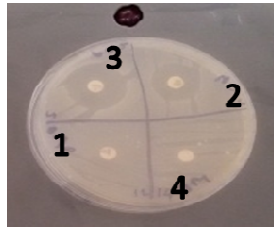
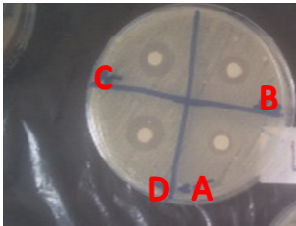
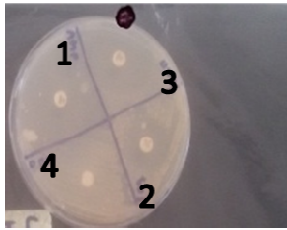
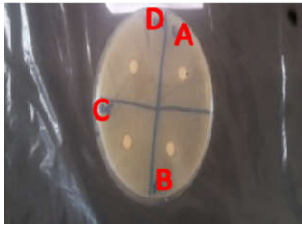
bactéries témoins	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Listeria innocua</i>
<b>AMP</b>	23	0	0	0	45
<b>GEN</b>	29.5	29.6	18.33	21	23
<b>CFM</b>	27	11	24	13	25
<b>DMSO</b>	0	0	0	0	0

Selon coefficient de corrélation linéaire de Bravais Pearson (Zarrouk, 2012) est nul ( $r = 0$ ) lorsqu'il n'y a pas de relation linéaire entre les variables varie entre -1 et +1 sera donc forte. Toutes les valeurs  $R^2$  des courbes sont proches de +1 donc montre une forte liaison entre les deux caractères (les concentrations utilisés et les zones d'inhibition obtenues). La relation linéaire est ici croissante (c'est-à-dire que les variables varient dans le même sens).

### Conclusion

En raison de la richesse de la plante en huiles essentielles, on a fait l'extraction de ces dernières en utilisant un dispositif clevenger, où on a obtenu un rendement d'environ 2% qui est considéré comme un bon rendement. Par ailleurs, les résultats de l'activité antioxydante montrent que  $IC_{50}$  pour l'huile essentielle était égale à 13.74 mg/ml, tandis que pour l'acide ascorbique était égale 0.03 mg/ml. Ce qui confirme que l'efficacité antioxydante d'huile essentielle était significativement inférieure à celle de l'acide ascorbique.

En parallèle, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle en utilisant la méthode de diffusion des disques vis-à-vis cinq souches bactériennes différentes : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica ssp*, *Klebsiella pneumoniae* et *Listeria innocua* clip où les résultats ont montré que l'huile essentielle a un effet inhibitrice sur la croissance et la propagation de ces souches bactériennes car cet effet varie selon le type de souche et la concentration utilisée, et on conclut que la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* possède la plus grande sensibilité à l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* exprimée avec un diamètre d'inhibition de 17.2 mm. Dans ce contexte, la souche bactérienne, *Klebsiella pneumoniae* possède une résistance complète car aucune zone d'inhibition aux concentrations 25%, 50% et 75%.

	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	
<i>Salmonella enterica</i>	
	
<i>Listeria innocua</i>	
	
<i>Escherichia coli</i>	

**Photo 1** : Zones d'inhibition de déférence concentrations de HEs sur les souches bactériennes et les ATB et DMSO.

A: 25% B: 50% C: 75% D: 100% 1: AMP 2: CFM 3: G 4: DMSO

## Références bibliographiques

- Akrouf A., Eljami H., Amouri S., Neffati M., (2010). Screening of Antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisiacampestris* L., *Artemisia herba alba* Asso and *Thymus capitatus* Hoff. et link Wild in the Southern of Tunisia. Recent Research in Science and Technology. Vol.2.N (1).
- Association Française de Normalisation (AFNOR) (1982). Huiles essentielles NFT
- Bruneton J., (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plants médicinales. Ed. Tec & Doc., Paris, p: 488-538.
- Chouitah A., (2011). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhizaglabra*. Thèse de doctorat Université d'Oran p:17-18.
- Cowan M., (1999). Plant Products As Antimicrobial Agents, Clinical Microbiology Reviews. 12 (4), p. 564-582.
- Da Silva L.E., Gonçalves M.V., do Amaral, W., De Quadros D.A., Reis R. A., Do Amaral L. D. P., Huergo L.F. et Garcia B., (2018). Chemical composition and antibacterial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon flexuosus* essential oils. Universida de Federal do Paraná, PR, Brasil.
- Deans, S.G., Ritchie G., (1987). Antimicrobial Properties of Plant Essential oils. Int.J. Food Microbiol., Vol. 5, p : 165-180.
- El-Kamali HH., El-Amir MY., (2010). Antibacterial activity and phytochemical screening of ethanolic extracts obtained from selected Sudanese medicinal plants. Curr. Res. J. Biol. Sci. 2(2):143-146.
- Hashim G., Almasaudi S., Azhar E., AlJaouni S., et Harakeh, S., (2016). Biological activity of *Cymbopogon Choenanthus* essential oil. Saudi Journal of Biological Sciences.
- Hussein, A.M.S, (1990). Antibacterial and antifungal activities of some Libyan aromatic plants. Planta Medica, Vol. 56, p : 644 – 649.
- Khadri A., Serralheiro M.L.M., Nogueira J.M.F., Neffati M., Smiti S., Araújo M.E.M., (2010). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of essential oils from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. Determination of chemical composition by GC–mass spectrometry and <sup>13</sup>C nmr. Food chemistry .Vol.109:630–637;
- Satureja calamintha nepeta*: activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Université Badji Mokhtar-Annaba. p: 78.
- Petitjean A., (1974), Thèse de doctorat d'Etat, Montpellier, p.118
- Zarrouk F., (2012). Etude de la relation entre deux variables (le coefficient de corrélation). Cours 9 de statistiques à distance
- LABIOD R., (2016). Valorisation des huiles essentielles et des extraits de