

Activités biologiques et antiradicalaire des huiles essentielles de deux végétaux utilisés dans la fabrication des produits Tangawisi : *Xylopiæ aethiopiæ* (Dunal) A. Rich. et *Cyperus articulatus* L.

Vawazola N. V. H.¹, Nzizidi D. A.², Malumba K. P.¹, Masimango N. J. T.¹

Paper History

Received:
September 14, 2017

Revised:
February 23, 2017

Accepted:
June 23, 2017

Published:
September 2017

ABSTRACT

Biological and radical scavenging activities of essential oils from two medicinal plants used in the making of Tangawisi based juices: *Xylopiæ aethiopiæ* (Dunal) A. Rich. et *Cyperus articulatus* L.

This work aim to evaluate the biological and radical scavenging activities of essential oils extracted from two plants of Tangawisi products (*Xylopiæ aethiopiæ* and *Cyperus articulatus*). The spray disk on solid medium and macro broth amended methods followed by inoculation in agar medium free of essential oil were used to assess antibacterial and antifungal activity, the in vitro micro technique for antiplasmodial activity and DPPH method for radical scavenging activity. Diameter of the inhibition zone formed as a result of *X. aethiopiæ* oil is 21.50 ± 4.80 mm and 14.67 ± 2.00 mm respectively for *Salmonella sp* and *Staphylococcus aureus* strains, 12.33 ± 0.30 mm and 13.83 ± 1.00 mm for *C. articulatus* oil, and 18.5 ± 1.30 mm and 20.17 ± 3.30 mm for eugenol used as control. The MIC is 0.1% and 0.25% of both oils on *Salmonella sp* and *Staphylococcus aureus* strains and 0.05% for eugenol. The MBC is higher than 3.5% and 3.5% of *X. aethiopiæ* oil, there are 3.5% and 2.5% of *C. articulatus* oil and 0.5% and 0.1% for eugenol on *Salmonella sp* and *Staphylococcus aureus* strains. The both essential oils have a bacteriostatic action on the two bacterial strains. Both essential oils inhibit *A. flavus* strain growth; the MIC is 0.5% and 1.5% for *X. aethiopiæ* and *C. articulatus* oils whereas MFC is higher than 3.5%. Both essential oils have a fungus static action on *A. flavus* strain. Both essential oils make total inhibit completely trophozoites up to the concentration of $12.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ and below this concentration, inhibition become partial. Both essential oils react slightly with DPPH radical, the inhibition percentage recorded is 1.29% for $1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ of *X. aethiopiæ* oil and 8% for $1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ of *C. articulatus* oil.

Keywords:

Tangawisi, essential oil, *Xylopiæ aethiopiæ*, *Cyperus articulatus*, biological activity, radical scavenging activity

¹Faculté des Sciences Agronomiques, Université de Kinshasa.

²Département de Parasitologie, Institut National de Recherche Biomédicale, Kinshasa/Gombe.

* To whom correspondence should be addressed: vwawazola@yahoo.com

INTRODUCTION

L'humanité est confrontée à des sérieux problèmes de santé publique : la résistance de bactéries aux antibiotiques, l'altération des aliments par les microorganismes et la résurgence des maladies émergentes. De nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart d'antibiotiques à la suite de leur mauvais usage, sélectionnant ainsi les bactéries résistantes. Une autre conséquence inattendue de l'utilisation des antibiotiques est l'apparition de salmonelloses [ABDESSELAM, 2006].

Les antioxydants synthétiques approuvés comme agents de conservation des aliments sont signalés posséder des possibles propriétés toxiques et cancérigènes [SINGH et al., 2005]. Il en est de même des conservateurs conventionnels, utilisés pour prévenir les contaminations microbiennes lors de stockage des produits alimentaires, mais qui, en plus de la résistance microbienne qu'ils ont engendrée, sont soupçonnés contenir des substances toxiques pouvant

créer des problèmes de santé publique [KINGCHAIYAPHUM ET RACHTANAPUN, 2012].

Plusieurs études considèrent les huiles essentielles, à cause de la diversité de leurs activités biologiques, comme des alternatives potentielles aux antibiotiques pour traiter diverses maladies infectieuses, et aux agents chimiques de conservation des denrées alimentaires et produits cosmétiques [PRASAD et al., 2009 ; PARK ET LEE, 2011].

Des huiles essentielles ont confirmé, du fait de la complexité de leurs compositions chimiques, avoir des propriétés antibactérienne, anticoagulante, anti-inflammatoire, antivirale, anti cancérigène, antiseptique, antifongique, anti oxydante, insecticide, anti cicatrisante... et détenir un potentiel pour la conservation des aliments [PIARU et al., 2012].

Les deux plantes, *Xylopiæ aethiopiæ* et *Cyperus articulatus*, possédant des huiles essentielles, sont utilisées dans la

médecine traditionnelle africaine pour diverses raisons y compris thérapeutiques [KAMBU, 1990 ; LATHAM ET KONDA, 2006] et dans la fabrication des produits Tangawisi, qui sont fabriqués à base non seulement de rhizomes de gingembre mais aussi d'autres organes végétaux à vertu médicinale.

L'objectif de la présente étude est d'évaluer les activités biologiques et anti radicalaire des huiles essentielles extraites des deux végétaux des produits Tangawisi (*Xylopiya aethiopicum* et *Cyperus articulatus*).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des deux végétaux, matière première des produits Tangawisi : *Xylopiya aethiopicum* (Dunal) A.Rich. et *Cyperus articulatus* L.

Souches microbiennes

Les souches cliniques d'origine bactérienne (*Salmonella sp* et *Staphylococcus aureus*) ont été fournies par le Laboratoire de Bactériologie de l'Institut National de Recherche Biomédicale (INRB) et la souche fongique d'*Aspergillus flavus* faisant partie de la collection du Laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences Agronomiques de l'Université de Kinshasa.

Méthodes

La préparation consistait au tri, au découpage et au broyage du matériel végétal.

La teneur en eau et composés organiques volatils (% EMV) exprimée en pourcentage a été déterminée par étuvage à 105±1°C selon la norme française NF V 03-909 citée par El Kalamouni [2010]. La teneur en matière sèche se déduit de la valeur en % EMV et est exprimée en pourcentage :

$$\% \text{ Matière Sèche} = 100 - \% \text{EMV}$$

Une quantité de 100-300g de broyat de chaque végétal a été soumise à l'hydrodistillation pendant 2 à 3 heures. Les huiles essentielles obtenues ont été séchées à l'aide de sulfate de sodium et par la suite pesées et exprimées en grammes ; elles ont été enfin conservées dans des flacons bruns (opaques) gardés à l'obscurité.

Le rendement d'huile essentielle a été calculé suivant la relation:

$$\text{Rdt}_{\text{HE}} = (M_{\text{HE}}/M_{\text{VS}}) \times 100$$

Où :

- Rdt HE : Rendement en huile essentielle (%) ;
- MHE : Masse de l'huile essentielle (g) et
- MVS : Masse de la matière végétale sèche (g).

Méthode de disque de diffusion

L'activité antibactérienne des deux huiles essentielles a été déterminée par la méthode de disque de diffusion proposée par Dutta *et al.*, [2007] et Traoré *et al.*, [2013]. Un volume de 20 ml du milieu stérilisé de gélose Mueller Hinton (lot 070414206, réf : 610110, Liofilchem, Italy) et 0,5 ml de chaque suspension bactérienne d'environ 10⁶ à 10⁸ cellules par mL, vieille de 24 heures, ont été ensemencés par incorporation dans des boîtes de Pétri stériles (90 mm de diamètre). L'expérience a été réalisée en 3 répétitions. Après solidification, un disque de papier filtre Wattman n°1 stérile

de 6 mm de diamètre a été placé au centre de la surface de chaque culture en boîte de Pétri. 7,5 µL de chaque huile essentielle/eugénol ont été déposés sur le papier disque. Ces cultures en boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. L'activité antibactérienne de chaque huile essentielle/eugénol a été évaluée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (ZI). L'analyse statistique à l'aide du logiciel Statistix version 8.0 a permis d'établir les différences entre les diamètres de la ZI formés sous l'effet des deux huiles essentielles et de l'eugénol utilisé comme référence.

Méthode de dilution d'agar

L'activité antifongique des deux huiles essentielles a été déterminée par la méthode de dilution d'agar proposée par Feng et Zheng [2006], Piyo *et al.* [2009] et Udomslip *et al.* [2009]. Des quantités précises des deux huiles essentielles ont été déposées, au préalable, dans des boîtes de Pétri stériles et vides. Des volumes précis de la gélose de Sabouraud 4% (lot 090611204, réf : 610203, Liofilchem, Italy), en surfusion, ont été coulés dans ces différentes boîtes de Pétri dans le but d'obtenir 15 mL des mélanges homogénéisés concentrés respectivement en 0 ; 0,1 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2,5 et 3,5 % (v/v) en huile essentielle. Après solidification du mélange, une ôse de la souche d'*A. flavus* (d'environ 4-5 mm de diamètre), issue d'une culture vieille de 3-5 jours, a été ensemencée au centre de toutes les boîtes de Pétri. L'expérience a été réalisée en 3 répétitions. Toutes les cultures ont été incubées à la température ambiante (27±2°C) pendant 7 jours. L'activité antifongique a été évaluée par calcul du pourcentage d'inhibition de croissance de la souche fongique à l'aide de la formule rapportée par Marwah *et al.* [2007] et Maloueki *et al.* [2013] :

$$\text{Inhibition}(\%) = (C-T) \times 100/C$$

Où :

- C est le diamètre moyen du mycélium de colonie de la souche sur les boîtes de Pétri témoin (mm), et
- T est le diamètre moyen du mycélium de colonie de la souche sur les boîtes de Pétri traitées avec une concentration en huile essentielle(mm).

Les spectres antifongiques ont été établis par Excell 2010 en rapportant en abscisse les concentrations en huile essentielle et en ordonnée les pourcentages d'inhibition (%I) correspondants de la croissance mycélienne.

Méthode de macro dilution suivie d'un ensemencement sur milieu gélosé exempt d'huile essentielle

La concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide/fongicide (CMB/CMFc) ont été déterminées par la méthode de macro dilution suivie d'un ensemencement sur milieu gélosé exempt d'huile essentielle proposée par Mann et Markham [1998], Bouzouita *et al.* [2003] et Bourkhiss *et al.* [2007]. Différentes préparations de 3 mL de volume ont été réalisées dans différents tubes à essai avec les bouillons modifiés par l'ajout de 0,15% d'agar (bouillon Trypticase de soja (lot 092011206, réf : 610053, Liofilchem, Italy) pour les bactéries et le bouillon Czapek. L'inoculum (120 µL d'une suspension de 10⁶-10⁸ cellules/mL) et l'huile essentielle ont été incorporés dans les tubes de manière à obtenir des préparations concentrées en 0 ; 0,025 ; 0,05 ; 0,075 ; 0,1 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2,5 et 3,5% (v/v) d'huile essentielle. Après homogénéisation, les différents tubes à essai ont été incubés à 37°C pendant 24 heures pour les souches bactériennes et pendant 7 jours à la température ambiante pour la souche d'*A. flavus*. Ensuite, une ôse de chaque préparation contenue

dans les différents tubes à essai a été ensemencée par sries respectivement au centre d'une boîte de Pétri stérile en milieu gélose Mueller Hinton pour les souches bactériennes et gélose de Sabouraud CAF 4% pour la souche fongique exempte d'huile essentielle en 3 répétitions. Les boîtes de Pétri ainsi ensemencées ont été incubées à 37°C pendant 24 heures pour les souches bactériennes et à la température ambiante pendant 7 jours pour la souche d'*A.flavus*.

Pouvoir bactériostatique/fongistatique ou bactéricide/fongicide

Le pouvoir bactériostatique/fongistatique ou bactéricide/fongicide de chaque huile essentielle a été déterminé par le calcul du rapport CMB/CMI ou CMFc/CMI. Le pouvoir d'une huile essentielle est dit bactéricide/fongicide lorsque le rapport CMFC/CMI est inférieur ou égal à 4 ; par contre, lorsque ce rapport est supérieur à 4, le pouvoir est dit bactériostatique/fongistatique [BOUZOUITA *et al.*, 2003 ; DERWICH *et al.*, 2010].

Essai antiplasmodial des huiles essentielles

L'activité antiplasmodiale a été déterminée par la méthode de la microtechnique *in vitro* proposée par Rieckmann *et al.* [1978] cité par Maloueki *et al.* [2015]. Les huiles essentielles ont été préparées dans une solution de méthanol 100 %/diméthylsulfoxyde à 800 µg.mL⁻¹ respectivement. Le témoin utilisé, la quinine (solution commerciale) a été émulsionnée dans la solution de méthanol 50%. Sur les lignes des puits d'une microplaque stérile à 96 puits, 50 µl de chacune de ces solutions ont été dilués successivement de moitié jusqu'à la 7ème dilution à l'aide de 50 µl de la solution de méthanol, de sorte que la concentration de 800 µg.mL⁻¹ décroisse jusqu'à 6,25 µg.mL⁻¹. Ces dilutions ont été réalisées en 3 répétitions dans les conditions d'asepsie sous une hotte à flux laminaire vertical. Les microplaques ainsi imprégnées ont été placées dans l'étuve à 37°C jusqu'au séchage complet. Le sang impaludé à *Plasmodium falciparum* (souche clinique) d'un enfant âgé de moins de 5 ans a été centrifugé à 1600 tours/minutes pendant 10 minutes ; le culot globulaire obtenu a été dilué 10 fois avec le milieu RPMI 1640 à la glutamine. Cinquante microlitres de ce mélange sont repartis dans chacun des puits des microplaques précédemment imprégnées. Ensuite, les plaques sont placées dans un dessiccateur dans des conditions d'anaérobiose, et portées à 37°C pendant 48 heures. Le contenu de chaque puits correspondant a été étalé en goutte épaisse sur une lame. Les lames ont été colorées au Giemsa 10% dans de l'eau tamponnée (pH = 7,2) pendant 10 minutes, rincées à l'eau de robinet et séchées à l'air atmosphérique. Les lames sont observées au microscope optique à l'objectif 100 à huile à immersion. Pour chacun des puits, les trophozoïtes et les schizontes ont été dénombrés. Le pourcentage de maturation a été calculé, selon la formule ci-après :

$$\% \text{ Maturation} = (S/T) \times 100$$

Où:

- S = Nombre de schizontes dans le puits testé ;
- T = Nombre de trophozoïtes dans le puits testé.

Et le pourcentage d'inhibition a été déduit du % maturation, la formule devient :

$$\% \text{ Inhibition} = 100 - \% \text{ Maturation}$$

Les moyennes des % Inhibition ont été traitées à l'aide du logiciel Excell 2010 pour générer des graphiques d'activité antiplasmodiale des solutions testées.

Evaluation de l'activité anti radicalaire des huiles essentielles

L'activité anti radicalaire a été évaluée par la méthode de DPPH [FLOEGEL *et al.*, 2011 ; KEDARE ET SINGH, 2011 ; OKUSA *et al.*, 2007 ; THAIPONG *et al.*, 2006]. Une quantité de 3,2 mg du radical DPPH a été dissoute dans 100 mL de méthanol. La solution obtenue a été homogénéisée et gardée dans l'obscurité pendant environ 60 minutes à la température ambiante. Les deux huiles essentielles et l'acide ascorbique ont été dissous dans le méthanol anhydre/diméthylsulfoxyde en raison de 200, 400, 600, 800 et 1000 µg.mL⁻¹. A 20 µL de chaque solution d'une huile essentielle ont été ajoutés 1980 µL de la solution du radical DPPH. Les solutions obtenues ont été gardées pendant 30 minutes à l'abri de la lumière à la température ambiante. Il en est de même de 20 µL de méthanol devant servir de blanc et de 20 µL de la solution du composé de référence (acide ascorbique) devant indiquer la réaction positive. L'absorbance de toutes les solutions a été mesurée à 517 nm. Ces essais ont été réalisés en 3 répétitions et les données obtenues présentent une moyenne de 3 valeurs. Le logiciel Excell 2010 a été utilisé pour calculer les absorbances moyennes des différentes solutions et du blanc et le pourcentage d'inhibition du radical DPPH par comparaison de la moyenne des absorbances des différents extraits (concentrations croissantes des différentes huiles essentielles et du composé de référence) à celle du blanc (méthanol) par l'utilisation de la formule suivante :

$$\% = (A_{\text{blanc}} - A_{\text{échant}}) * 100 / A_{\text{blanc}}$$

Où:

- A_{blanc} est la moyenne des absorbances du méthanol *et*
- $A_{\text{échant}}$, la moyenne des absorbances des concentrations croissantes des deux huiles essentielles *et* de l'acide ascorbique.

Le traitement de ces résultats a conduit à l'obtention des graphiques du pourcentage d'inhibition du radical en fonction de la concentration de chaque huile essentielle et du composé de référence utilisé.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Rendement d'extraction des deux huiles essentielles par hydro distillation

L'extraction par hydrodistillation effectuée à partir des organes utiles des deux végétaux participant à la fabrication des produits Tangawisi a conduit à l'obtention de l'huile essentielle avec des rendements variables. Le **Tableau 1** donne, pour chaque végétal, l'organe utilisé et le rendement moyen d'huile essentielle obtenue.

Tableau 1| Rendement moyen d'extraction et organe utilisé pour les 2 végétaux

Nom du végétal	Organe utilisé	Rendement moyen d'extraction (%)
<i>Xylopiya aethiopica</i>	Gousses	0,819±0,054
<i>Cyperus articulatus</i>	Rhizomes	0,613±0,015

Essais biologiques

Méthode de disque de diffusion

Les résultats des diamètres de la zone d'inhibition formés sous l'effet des deux huiles essentielles et l'eugénol sur les deux souches bactériennes sont résumés dans le **Tableau 2**.

Tableau 2 | Diamètres de la zone d'inhibition (ZI) formés sous l'effet des deux huiles essentielles et l'eugénol sur les 2 souches bactériennes

Huiles essentielles/ Eugénol	Diamètre de la zone d'inhibition en mm	
	<i>Salmonella sp</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Xylopiya aethiopiaca</i>	21,50±4,80a	14,67±2,00ab
<i>Cyperus articulatus</i>	12,33±0,30b	13,83±1,00b
Eugénol	18,50±1,30ab	20,17±3,30a

Les chiffres dans les colonnes suivis de mêmes lettres ne sont pas significativement différents selon le test de la Plus Petite Différence Significative (PPDS) à 5% de probabilité.

Selon le **Tableau 2**, la zone d'inhibition la plus large a été enregistrée avec l'huile essentielle de *Xylopiya aethiopiaca* sur la souche de *Salmonella sp* (21,50±4,80 mm) ; suivie de l'eugénol sur *Staphylococcus aureus* (20,17±3,30 mm). L'analyse statistique avec le logiciel **Statistix version 8.0** montre l'existence de différence significative entre les diamètres de la ZI formés sous l'effet des huiles essentielles de *X. aethiopiaca* et *C. articulatus* sur la souche de *Salmonella sp* (ppds à 5%=6,322) et l'inexistence de cette différence des diamètres de la ZI de ces deux huiles essentielles sur la souche de *Staphylococcus aureus* (ppds à 5%=5,7176). Pour *Salmonella sp*, le diamètre formé sous l'effet de l'eugénol n'est pas significativement différent de ceux formés par chacune de deux huiles essentielles ; alors que pour *Staphylococcus aureus*, il y a de différence significative entre les diamètres de la ZI formés sous l'effet de l'eugénol et l'huile de *C. articulatus*, et il n'y a pas de différence significative entre les diamètres de la ZI de l'eugénol et l'huile de *X. aethiopiaca*.

En se référant à l'échelle de spectre d'activité antimicrobienne établie en fonction de l'importance du diamètre de la zone d'inhibition citée par Bousbia [2011], l'activité modérément inhibitrice est exercée par l'eugénol sur toutes les souches bactériennes et l'huile de *X. aethiopiaca* sur la souche de *S. aureus* alors que l'activité légèrement inhibitrice est exercée par les 2 huiles essentielles. Ces activités sont dues aux différents constituants chimiques des deux huiles essentielles ayant des potentiels antibactériens et aux souches bactériennes.

L'importance de la zone d'inhibition ne suffit pas pour caractériser l'activité antibactérienne des huiles essentielles ; d'autres méthodes sont utilisées pour déterminer l'activité inhibitrice ou létale des huiles essentielles.

Méthode de dilution d'agar

Les résultats des pourcentages d'inhibition journaliers des concentrations croissantes des deux huiles essentielles sur la souche d'*A. flavus* sont résumés dans les **Figures 1 et 2**.

Comme le montre la **Figure 1**, les spectres antifongiques obtenus avec l'huile de *X. aethiopiaca* montrent une inhibition partielle de la croissance mycélienne de la souche d'*A. flavus* aux concentrations inférieures à 1% et une inhibition totale de cette croissance aux concentrations supérieures à 1%.

Avec l'huile de *C. articulatus*, la **Figure 2** indique que les

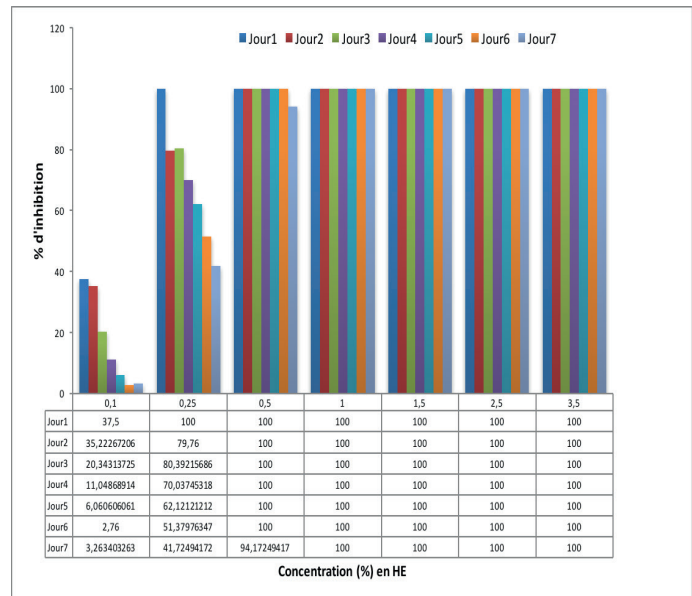


Figure 1 | Spectres antifongiques de l'huile essentielle de *Xylopiya aethiopiaca* sur la souche d'*A. flavus*

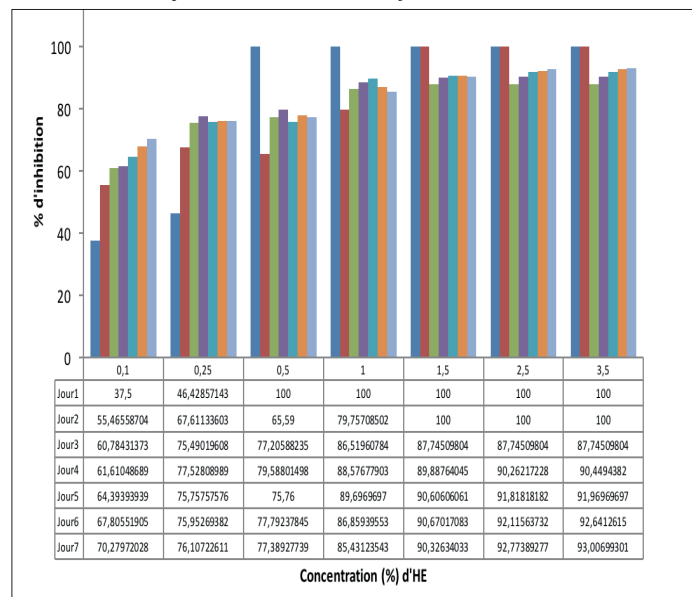


Figure 2 | Spectres antifongiques de l'huile essentielle de *Cyperus articulatus* sur la souche d'*A. flavus*

spectres montrent une inhibition totale provisoire de la croissance radiale de la souche d'*A. flavus* au premier jour d'incubation aux concentrations supérieures à 0,5%, une inhibition totale au deuxième jour aux concentrations supérieures à 1,5% et une forte inhibition partielle pour le reste de la durée d'incubation sur toute la gamme des concentrations fixées.

Méthode de macrodilution suivie d'un ensemencement sur milieu exempt d'huile essentielle

Les résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI), concentrations minimales bactéricides/fongicides (CMB/CMFc), rapports CMB/CMI et CMFc/CMI et pouvoir des deux huiles essentielles/Eugénol sur les souches microbiennes testées sont résumés dans les **Tableaux 3, 4, 5 et 6**.

Est considérée comme concentration minimale inhibitrice (CMI), la concentration élevée en huile essentielle qui ne manifeste pas une croissance en milieu liquide (absence du trouble) [BOUZOUITA et al., 2003]. Les valeurs de CMI consignées dans les **Tableaux 3, 4 et 5** pour toutes les souches bactériennes testées sont de 0,05% pour l'eugénol, de 0,1%

Tableau 3| Rapport CMB/CMI et Pouvoir de l'huile de *Xylopiya aethiopica* sur les 2 souches bactériennes

Souche bactérienne	CMI (%)	CMB (%)	Rapport CMB/CMI	Pouvoir de l'huile essentielle
<i>Salmonella sp</i>	0,10	NE	4	Bactériostatique
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,25	3,5	14	Bactériostatique

Légende : CMI = Concentration minimale inhibitrice ; CMB = Concentration minimale bactéricide ; NE = Non évalué car en dehors de la gamme des concentrations fixées.

Tableau 4 : Rapport CMB/CMI et Pouvoir de l'huile de *Cyperus articulatus* sur les 2 souches bactériennes

Souche bactérienne	CMI (%)	CMB (%)	Rapport CMB/CMI	Pouvoir de l'huile essentielle
<i>Salmonella sp</i>	0,10	3,5	35	Bactériostatique
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,25	2,5	10	Bactériostatique

Tableau 5 : Rapport CMB/CMI et Pouvoir de l'eugénol sur les 2 souches bactériennes

Souche bactérienne	CMI (%)	CMB (%)	Rapport CMB/CMI	Pouvoir de l'eugénol
<i>Salmonella sp</i>	0,05	0,5	10	Bactériostatique
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,05	0,1	2	Bactéricide

Tableau 6 : Rapport CMFc/CMI et Pouvoir des huiles de *X. aethiopica* et *C. articulatus* sur *A. flavus*

Huile essentielle	CMI (%)	CMFc (%)	Rapport CMFc/CMI	Pouvoir de l'huile essentielle
<i>Xylopiya aethiopica</i>	0,5	NE	4	Fongistatique
<i>Cyperus articulatus</i>	1,5	NE	4	Fongistatique

à 0,25% pour les 2 huiles essentielles ; pour la souche d'*A. flavus*, la CMI est de 0,1% pour l'huile de *Xylopiya aethiopica* et de 1,5% pour celle de *Cyperus articulatus*.

Est considérée comme concentration minimale bactéricide/fongicide (CMB/CMFC), la concentration élevée en huile essentielle qui ne permet pas la formation de colonies des souches testées dans une boîte de Pétri en milieu gélosé [BOUGUERRA, 2012]. Les valeurs de CMB des deux huiles

essentielles/Eugénol sont consignées dans les Tableaux 3, 4 et 5. Pour l'huile de *X. aethiopica*, la CMB est de 3,5% pour *S. aureus* et au-delà de la gamme des concentrations fixées pour l'expérimentation pour *Salmonella sp* (supérieure à 3,5%) ; pour celle de *C. articulatus*, elle est de 3,5% et 2,5% respectivement pour *Salmonella sp* et *S. aureus*. Mais pour l'eugénol, la CMB est de 0,5% pour *Salmonella sp* et de 0,1% pour *S. aureus*. Quant à l'*A. flavus*, le Tableau 6 indique que la CMFc est au-delà de la gamme des concentrations fixées (supérieure à 3,5%) pour les deux huiles essentielles.

En ce concerne le pouvoir exercé par les 2 huiles essentielles et l'eugénol sur les souches bactériennes testées, exception faite à l'eugénol sur *S. aureus* où le pouvoir est bactéricide, les Tableaux 3, 4 et 5 indiquent que ce pouvoir est bactériostatique. Pour *A. flavus*, le Tableau 6 montre que les 2 huiles essentielles exercent un pouvoir fongistatique.

Evaluation de l'activité antiplasmodiale

Pour l'activité antiplasmodiale des huiles essentielles de *Cyperus articulatus* et *Xylopiya aethiopica*, à la gamme des concentrations décroissantes fixées pour l'expérimentation, la Figure 3 montre qu'il y a absence totale (inhibition totale) des trophozoïtes et des schizontes aux concentrations allant de 800 à 12,5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ pour les deux huiles essentielles, comme la quinine, sur toute la gamme des concentrations. Seulement en dessous de 12,5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, il y a présence des trophozoïtes jeunes

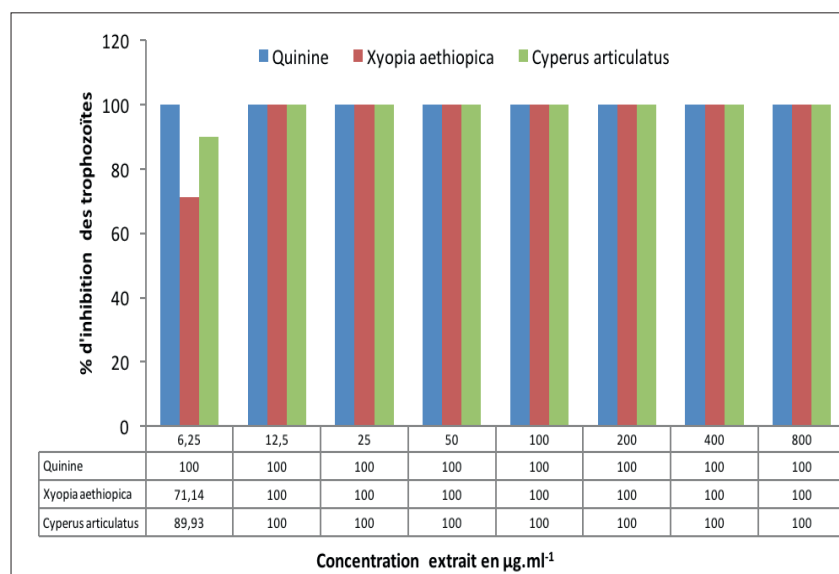


Figure 3| Inhibition de la maturation des trophozoïtes par les extraits de la quinine (témoin positif) et des 2 huiles essentielles

et matures (schizontes) et l'inhibition de la maturation des trophozoïtes devient partielle pour les 2 huiles essentielles alors que pour la quinine, l'inhibition reste totale. Les CE_{50} pour les 2 huiles essentielles peuvent être estimées inférieures à $6,25 \mu\text{g.mL}^{-1}$; pour la quinine, elle peut encore être estimée de loin inférieure à $6,25 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

Evaluation de l'activité anti radicalaire

Le radical DPPH (1,1-Diphényle-2-picrylhydrazyle), un radical libre de couleur violette, est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés anti-radicalaires. L'effet anti radicalaire d'une huile essentielle sur le DPPH est dû à la capacité donatrice d'un atome d'hydrogène de ses constituants chimiques. La **Figure 4** montre le pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations croissantes des extraits des 2 huiles essentielles et de l'acide ascorbique.

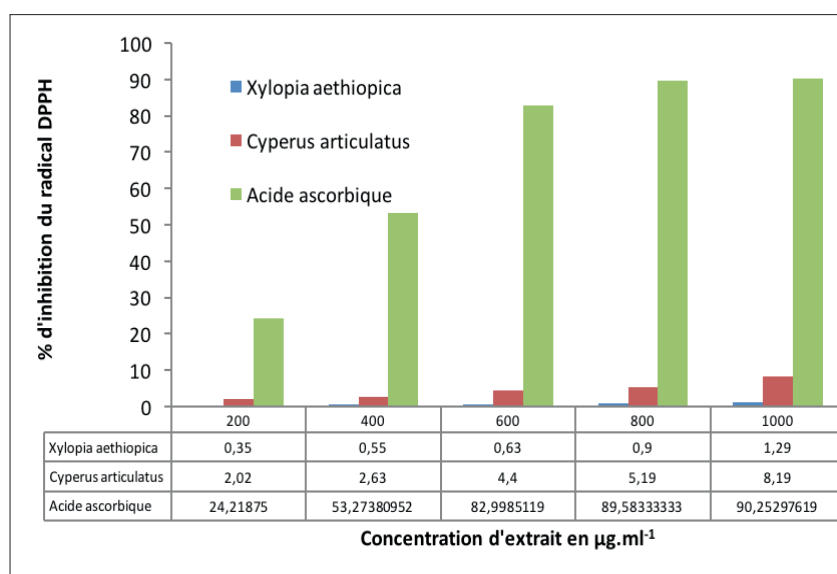


Figure 4 | Inhibition du radical DPPH par les extraits des 2 huiles essentielles et de l'acide ascorbique (référence)

L'analyse de la **Figure 4** montre qu'à la gamme des concentrations fixées, l'inhibition du radical DPPH est forte pour l'acide ascorbique et est faible pour les huiles essentielles de *X. aethiopiaca* et *C. articulatus*. En effet, selon Tirzitis et Bartosz [2010] et Martysiak-Zurowska et Wenta [2012], des antioxydants très hydrophobes montrent une faible réactivité vis-à-vis de ce radical. Le pourcentage d'inhibition est d'environ 1,29% pour la concentration d'extrait d'huile de *X. aethiopiaca* de $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ et d'environ 8% pour celle de *C. articulatus*.

Les deux huiles essentielles ne manifestent pas de la même manière leurs activités biologiques et antiradicalaires; cette différence de comportement est liée à la différence de leur composition chimique (nature et proportions des constituants chimiques). Toutes ces activités sont tributaires des groupements chimiques de constituants majoritaires et minoritaires.

L'efficacité des huiles essentielles testées ainsi que leur mode de pénétration dans ces microorganismes sont différents. L'activité biologique d'une huile essentielle est due principalement à son profil chimique. Compte tenu de la diversité des molécules présentes dans les huiles, l'activité biologique semble résulter d'une combinaison de plusieurs modes d'action, impliquant différentes cibles cellulaires [FISHER ET PHILLIPS, 2006; EL-BAROTY et al., 2010]. L'activité anti radicalaire est aussi tributaire du profil

chimique d'une huile essentielle. Les composés phénoliques et les terpénoïdes sont souvent cités pour contribuer à l'activité anti radicalaire des huiles essentielles [ABEROU M ET DEOKULE, 2010; BHALLA et al., 2011].

CONCLUSION

Les huiles essentielles extraites des gousses de *X. aethiopiaca* et des rhizomes de *C. articulatus* manifestent différemment leurs activités biologiques parmi lesquelles antibactérienne, antifongique et antiplasmodiale et leur activité antiradicalaire consécutif au profil chimique de chaque huile essentielle. Leur utilisation en médecine traditionnelle africaine et comme matières premières dans la fabrication des produits Tangawisi peut être justifiée eu égard aux activités observées. Ces huiles essentielles peuvent être utilisées à la fois comme agents antimicrobiens et antipaludiques et pour la thérapie de maladies dégénératives.

Résumé

Le présent travail avait pour objectif d'évaluer les activités biologiques et anti radicalaire des huiles essentielles extraites des deux végétaux des produits Tangawisi (*Xylopiya aethiopiaca* et *Cyperus articulatus*). Les techniques de disque de diffusion sur milieu solide et de macro dilution en bouillon modifié suivie d'un ensemencement dans un milieu gélosé exempt d'huile essentielle ont été utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique; la microtechnique *in vitro* pour l'activité antiplasmodiale et la méthode au DPPH pour l'activité anti radicalaire.

Le diamètre de la zone d'inhibition formée sous l'effet de l'huile essentielle de *X. aethiopiaca* est de $21,50 \pm 4,80$ mm et $14,67 \pm 2,00$ mm sur les souches bactériennes de *Salmonella sp* et *Staphylococcus aureus*; pour l'huile de *C. articulatus*, il est de $12,33 \pm 0,30$ mm et $13,83 \pm 1,00$ mm et de $18,50 \pm 1,30$ mm et $20,17 \pm 3,30$ mm pour l'eugénol utilisé comme référence. La CMI des deux huiles essentielles est de 0,1% et 0,25% respectivement sur *Salmonella sp* et *Staphylococcus aureus* et est de 0,05% pour l'eugénol sur les deux souches. La CMB est supérieure à 3,5% et de 3,5% d'huile de *X. aethiopiaca*, elle est de 3,5% et 2,5% d'huile de *C. articulatus* et 0,5% et 0,1% d'eugénol sur *Salmonella sp* et *Staphylococcus aureus*. Le pouvoir exercé par les 2 huiles sur les 2 souches bactériennes est bactériostatique. Les 2 huiles essentielles inhibent la croissance de la souche d'*Aspergillus flavus*, la CMI est de 0,5% et 1,5% respectivement pour l'huile de *X. aethiopiaca* et de *C. articulatus* alors que la CMFc est supérieure à 3,5%. Le pouvoir exercé par les 2 huiles sur *A. flavus* est fongistatique. Les 2 huiles essentielles manifestent l'activité antiplasmodiale en inhibant totalement les trophozoïtes jusqu'à la concentration de $12,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ et en dessous de cette concentration, l'inhibition devient partielle. Les 2 huiles essentielles réagissent faiblement avec le radical DPPH, le pourcentage d'inhibition observé est de 1,29% pour $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de l'huile de *X. aethiopiaca* et de 8% pour celle de *C. articulatus*.

Mots clés : Tangawisi, huile essentielle, *Xylopiya aethiopiaca*, *Cyperus articulatus*, activité biologique, activité antiradicalaire.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABDESSELAM Z., [2006]. Les huiles essentielles, un pouvoir antimicrobien avéré. Aromathérapie Lettre d'information mensuelle; Nutraneews – Science – Nutrition – Prévention et Santé; Octobre; 16 pages.
- ABEROU M. and DEOKULE S.S., [2010]. Comparative study on polyphenol content in some food plants. Asian Journal of Food and Agro-Industry, Issue 3(2): 212-216.

- BHALLA Y., GUPTA V.K. and JAITAK V. [2013].** Anticancer activity of essential oils: a Review. *J Sci Food Agric* 11.
- BOURKHISS M., HNACH M., BOURKHISS B., OUHSSINE M. et CHAOUCH A. [2007].** Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetralin articulata* (Vahl) du Maroc. *Afrique SCIENCE 03(2)* : 232 – 242.
- BOUSBIA N. [2011].** Extraction des huiles essentielles riches en anti oxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires, *Thèse en co-tutelle ; Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique* ; 136 pages.
- BOUZOUITA N., KACHOURI F., HAMDY M. and CHAABOUNI M.M. [2003].** Antimicrobial activity of essential oils from Tunisian aromatic plants *Flavour Fragr. J.* 18: 380–383.
- DERWICH E., BENZIANE Z. and BOUKIR A. [2010].** GC/MS Analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegioides* grown in Morocco. *Res. J. Agric. & Biol. Sci.*, 6 (3): 191-198.
- DUTTA B.K., KARMAKAR S., NAGLOT A., AICH J.C. and BEGAM M. [2007].** Anticandidal activity of some essential oils of a mega biodiversity hotspot in India. *Mycoses*, 50 : 121–124.
- EL KALAMOUNI C. [2010].** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, *Thèse de Doctorat, Université de Toulouse*, 225 pages.
- EL-BAROTY G.S., ABD EL-BAKY H.H., FARAG R.S. and SALEH M.A., [2010].** Characterization of antioxidant and antimicrobial compounds of cinnamon and ginger essential oils. *African Journal of Biochemistry Research* 4(6): 167-174.
- FENG W. and ZHENG X. [2006].** Control of *Alternaria alternata* by cassia oil in combination with potassium chloride or sodium chloride. *Journal of Applied Microbiology* 101: 1317–1322.
- FISHER K. and PHILLIPS C.A. [2006].** The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* *in vitro* and in food systems. *Journal of Applied Microbiology* 101: 1232–1240.
- FLOEGEL A., KIM D.O., CHUNG S.J., KOO S.I., and CHUN O.K. [2011].** Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7) : 1043–1048.
- KAMBU K. [1990].** Eléments de phytothérapie comparée ; Plantes médicinales africaines. *Centre de recherche pédagogique ; Collection U (U31) ; Kinshasa* ; 106 pages.
- KEDARE S.B. and SINGH R.P. [2011].** Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol (July–August)* 48(4):412–422.
- KINGCHAIYAPHUM W. and RACHTANAPUN C. [2012].** Antimicrobial and antioxidative activities of essential oils in Chinese sausage (Kun-Chiang). *As. J. Food Ag-Ind.*, 5(02) : 156-162.
- LATHAM P. et KONDA K.M. [2006].** Quelques plantes utiles de la Province du Bas-Congo, République Démocratique du Congo. 2^e édition. 330 pages.
- MALOUKEI U., MUSUYU M., MBOMBA N.B.A., NDIEMBO K.S.P., KAPETSHI K.J. et KABENA N.O. [2013].** Activités antimicrobiennes et antioxydantes des extraits aqueux totaux des feuilles de *Megaphrynium macrostachyum* (Benth.) Milne-Redh. (Marantaceae) et de *Palisota hirsuta* (Thunb.) K. Schum. (Commelinaceae). *Revue CongoSciences*, 1(1) : 38-48.
- MALOUKEI U., KUNYIMA K.P., MBOMBA I.D., DANI N.A., LUKUKA K.A., LAMI N.J., MPIANA P.T., NGBOLUA K.N., NDIEMBO K.S.P., MBOMBA N.B. et MUSUYU M.C.D. [2015].** Activités anti oxydante et antiplasmodiale d'extraits de *Massularia acuminata* (Rubiaceae). *Phytothérapie vétérinaire ; Lavoisier* ; 8 pages.
- MANN C.M. and MARKHAM J.L. [1998].** A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of Applied Microbiology*, 84: 538–544.
- MARTYSIAK-ZUROWSKA D. and WENTA W. [2012].** A comparison of ABTS and DPPH methods for assessing the total antioxidant capacity of human milk. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 11(1): 83-89.
- MARWAH R.G., FATOPE M.O., DEADMAN M.L., OCHEI J.E. and AL-SAIDI S.H. [2007].** Antimicrobial activity and the major components of the essential oil of *Plectranthus cylindraceus*. *Journal of Applied Microbiology* 103: 1220–1226.
- OKUSA P.N., PENGE O., DEVLEESCHOUWER M. and DUEZ P. [2007].** Direct and indirect antimicrobial effects and antioxidant activity of *Cordia gilletii* De Wild (Boraginaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 112(3): 476–81.
- PARK J.S. and LEE G.H. [2011].** Volatile compounds and antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of the needles of *Pinus densata* and *Pinus thunbergii*. *J. Sci Food Agric*, 91: 703–709.
- PIARU S.P., MAHMUD R., MAJID A.M.S.A., ISMAIL S. and MAN C.N. [2012].** Chemical composition, antioxidant and cytotoxicity activities of the essential oils of *Myristica fragrans* and *Morinda citrifolia*. *J. Sci. Food Agric* ;92: 593–597.
- PIYO A., UDOMSILP J., KHANG-KHUN P. and THOBUNLUEPOP P. [2009].** Antifungal activity of essential oils from basil (*Ocimum basilicum* Linn.) and sweet fennel (*Ocimum gratissimum* Linn.): Alternative strategies to control pathogenic fungi in organic rice. *As. J. Food Ag-Ind., Special Issue: S2-S9*.
- PRASAD C.S., SHUKLA R., KUMAR A. and DUBEY N.K. [2009].** *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of essential oils of *Cymbopogon martini* and *Chenopodium ambrosioides* and their synergism against dermatophytes. *Mycoses* 53: 123–129.
- SINGH G., MARIMUTHU P., DE HELUANICAROLA S. and CATALAN C. [2005].** Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds. *J Sci Food Agric* 85:2297–2306.
- THAIPONG K., BOONPRAKOB U., CROSBY K., CISNEROS-ZEVALLOS L. and HAWKINS BYRNE D. [2006].** Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extract. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7): 669–675.
- TIRZITIS G. and BARTOSZ G. [2010].** Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. *Acta Pol.*, 57(1) : 139-142.
- TRAORÉ N., SIDIBÉ L., BOUARÉ S., HARAMA D., SOMBORO A., FOFANA B., DIALLO D., FIGUERO G. et CHALCHAT J.C. [2013].** Activités antimicrobiennes des huiles essentielles de *Eucalyptus citriodora* Hook et *Eucalyptus houseana* W.Fitzg. ex Maiden. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 7(2): 800-804.
- UDOMSILP J., PIYO A., KHANG-KHUN P. and THOBUNLUEPOP P. [2009].** Antifungal properties of essential oils from Thai medical plants against rice pathogenic fungi. *As. J. Food Ag-Ind.* 2009, Special Issue, S24-S30.



This work is in open access, licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in the credit line; if the material is not included under the Creative Commons license, users will need to obtain permission from the license holder to reproduce the material. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>