

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CUMIN (*CUMINUM CYMINUM L.*) AND CLOVES (*SYZYGIUM AROMATICUM*) ESSENTIAL OILS, AND THEIR APPLICATION TO THE PRESERVATION OF MINCED MEAT**

K. Yahiaoui\*<sup>1</sup>, O. Bouchenak<sup>1</sup>, S. Lefkir<sup>1</sup>, N. Benhabyles<sup>1</sup>, R. Laoufi<sup>2</sup>, K. Arab<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of valorization and conservation of biologicals resources (VALCOR),  
Department of Biology, Faculty of Sciences, University M'hamed Bougara of Boumerdes,  
Algeria

<sup>2</sup>Laboratory of Soft Technologies, Valorization, Physicochemical of Biological Materials and  
Biodiversity, Department of Biology, Faculty of Sciences, University M'hamed Bougara of  
Boumerdes, Algeria

Published online: 15 March 2018

**ABSTRACT**

The two plant species that were the subject of our study, namely cumin (*Cuminum cyminum L.*) and Cloves (*Syzygium aromaticum*), are frequently used in pharmacopoeia and culinary tradition. The antibacterial activities of these species were tested on pathogenic bacteria (*Escherichia coli*, *Salmonella Sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, oxaciline-resistant *Staphylococcus aureus* and oxaciline-sensitive *Staphylococcus aureus*) present in a preserved "meat" food matrix. at a refrigeration temperature. Based on the results, it can be predicted that the two essential oils studied are effective natural antimicrobial agents and can be used as a very important source of natural food preservatives.

**Keywords:** *Essential oil, aromaticum Syzygium, Cuminum cyminum, antibacterial activity, MIC, Hydrodistillation, minced meat.*

Author Correspondence, e-mail: [yahiaoui\\_karima2005@yahoo.fr](mailto:yahiaoui_karima2005@yahoo.fr)

doi: <http://dx.doi.org/10.4314/jfas.v10i5s.6>



## 1. INTRODUCTION

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 voir diminuer ses caractéristiques sensorielles, nutritives et sanitaires [1 et 2]. Parmi les aliments les plus redoutés pour le consommateur on trouve la viande. Elle est le produit de transformation du muscle après la mort de l'animal. Elle est traditionnellement considérée comme le véhicule de nombreuse maladie d'origine alimentaire à cause des défauts d'hygiène. Elle est une denrée alimentaire hautement périssable et dont la qualité hygiénique dépend, d'une part de la contamination pendant les opérations d'abattage et de découpe et d'autre part, du développement et de la croissance des flores contaminantes pendant le refroidissement, le stockage et la distribution [3]. Malgré l'amélioration des techniques de conservation des aliments, la nature des conservateurs alimentaires reste une des questions les plus importantes pour la santé publique [4]. Pour faire face aux problèmes d'oxydation et de contamination des denrées alimentaires, l'essor de la chimie a permis l'apparition et l'application de nouvelles substances chimiques en tant que conservateurs alimentaires synthétiques [5]. Ces derniers ont été employés couramment pour empêcher la détérioration des aliments [6]. Par la suite, plusieurs conservateurs synthétiques ont été limités dans plusieurs pays, en raison de leurs effets toxicologiques indésirables à long terme, y compris la cancérogénicité [7 et 8]. De même, la tendance actuelle des consommateurs à chercher une alimentation plus naturelle a incité la recherche, le développement et l'application de nouveaux produits naturels ayant des activités antimicrobiennes et antioxydantes dans le but de les utiliser comme alternatives aux conservateurs synthétiques dans le domaine des industries agroalimentaires. Les plantes aromatiques ont été traditionnellement employées pour l'assaisonnement et la prolongation de la durée de conservation des aliments [9]. La plupart de leurs propriétés sont dues aux huiles essentielles produites par leur métabolisme secondaire [10].

Les H.E. et leurs composants sont connus pour posséder des activités antimicrobiennes [11] et pourraient donc servir de conservateurs alimentaires, d'autant plus qu'ils sont pour la

plupart classés « généralement reconnus comme sains » ou approuvés comme additifs alimentaires par les autorités sanitaires internationales.

Plusieurs études ont été réalisées dans le but de sélectionner les H.E. aux propriétés antibactériennes importantes [12] et [13]. Une large gamme d'huiles et de bactéries ont été testées. Les deux espèces végétales ayant fait l'objet de notre étude, à savoir le cumin (*Cuminum cyminum* L.) et les Clous de Girofle (*Syzygium aromaticum*) sont fréquemment utilisés dans la pharmacopée traditionnelle. Cette recherche a permis de mettre en évidence l'effet antibactérien des huiles essentielles (H.E.) de ces plantes dans une matrice alimentaire "la viande" conservée à une température de réfrigération.

## 2. RESULTS AND DISCUSSION

### 2.1. Rendement des huiles essentielles

Le rendement moyen en huile essentielle pour 100g de poudre végétale de cumin est voisin de  $1.80\% \pm 0.20$ . Il est faible par rapport aux rendements cités dans la littérature [14]. L'extrait d'huile obtenu est de couleur jaune pâle et présente un aspect limpide accompagné d'une odeur aromatique caractéristique forte.

Le rendement en H.E. extraite par hydrodistillation à partir des Clous de girofle est de  $10.2\% \pm 0.142$ . L'extrait obtenu est de couleur blanchâtre et présente un aspect liquide avec une odeur aromatique très puissante. Ce résultat coïncide avec les résultats obtenus par d'autres auteurs qui ont procédé par la même technique, allant jusqu'à 14 à 20 % de rendement [15].

Ces différences sont dues à plusieurs facteurs : l'origine géographique, les facteurs écologiques notamment climatiques (la température et l'humidité), l'espèce végétale elle-même, le stade de la croissance, la période de cueillette, la conservation du matériel végétal [16 et 17]

### 2.2. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

L'ensemble des résultats des caractéristiques physico-chimiques des deux huiles sont présentées dans le tableau suivant :

**Tableau 1.** Caractéristiques physico-chimiques des H.E.

<i>Paramètres</i>	Cumin	Clou de girofle
<b>Densité relative à 20 °C</b>	0.925 ±0.1	1.04 ±0.15
<b>Indice d'acide (mg KOH/1g d'huile)</b>	I <sub>A</sub> = 4.32 ±0.2	I <sub>A</sub> =2.805 ±0.27
<b>Indice d'ester (mg KOH/ 1g d'huile)</b>	I <sub>E</sub> = 8.22 ±0.32	I <sub>E</sub> = 8.415 ±0.15
<b>Indice de peroxyde (méqO<sub>2</sub>/ g d'huile)</b>	I <sub>P</sub> = 7.5 ±0.15	I <sub>P</sub> = 4.5

D'après ces résultats, les valeurs de la densité relative de Cumin (0.925) et de Clou de girofle (1.04) sont conformes aux normes A.F.N.O.R. [18]

L'indice d'acide des huiles essentielles de cumin et de clou de girofle présente des valeurs égales à 4.32 et 2.805 respectivement. Egalement, on observe que les deux plantes ont des valeurs d'indice d'ester et de peroxyde faibles, ce qui peut être expliqué par la non richesse de nos huiles en ester et en peroxyde ce qui assurera la stabilité de nos H.E.

### 2.3. Tests de sensibilité microbienne envers les h.e.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de Clou de Girofle et du cumin sont évaluées sur cinq germes pathogène d'origine hospitalière (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* sensible à l'oxaciline, *Staphylococcus aureus* résistante à l'oxaciline, *Pseudomonas aeruginosa*) après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C dont les résultats sont mentionnés au tableau 2.

**Tableau 2.** Activité antimicrobienne des huiles essentielles

<b>Souches</b>	<b>Cumin</b>	<b>Clou de girofle</b>
	<i>Diamètre du dique (mm)</i>	<i>Diamètre du dique (mm)</i>
<i>S.aureus sensible</i>	06 (résistante)	35 (très sensible)
<i>S.aureus resistente</i>	60 (très sensible)	39 (très sensible)
<i>E.coli</i>	20 (sensible)	30 (très sensible)
<i>Salmonella.sp</i>	35 (très sensible)	27 (très sensible)
<i>P.aeruginosa</i>	00 (Résistante)	00 (Résistante)

Les résultats révèlent des réponses variables en fonction des souches. Le test d'inhibition réalisé a montré que trois souches bactériennes présentent des degrés de sensibilité vis-à-vis l'huile essentielle de cumin. Il est clair que l'huile de cumin exerce une activité

antimicrobienne extrêmement remarquable vis-à-vis *S.aureus résistante* à l'oxaciline et *Salmonella.sp* avec un halo d'inhibition de diamètre 60mm et 35mm respectivement. Cependant, on remarque que les deux autres souches, *S.aureus sensible* et *P.aeruginosa* ont manifesté une résistance.

Les souches de *pseudomonas aeruginosa* ont la réputation d'être des germes résistants aux agents biocides, cela est lié à leur grande capacité à développer des résistances vis-à-vis de nombreux agents antimicrobiens [19].

Certains travaux ont montré qu' il n'y a aucun rapport entre la concentration d'huile essentielle ou du composé actif et la zone d'inhibition ; cette dernière semble dépendre de la capacité des huiles essentielles à diffuser uniformément sur l'agar [20]. Généralement, les huiles essentielles sont médiocrement solubles dans l'eau, ce qui pose beaucoup de problèmes pour étudier leur activité antibactérienne [21].

La richesse du cumin en flavonoïdes pourrait expliquer ses effets antibactériens puisqu'ils sont des puissants inhibiteurs in vitro de l'ADN gyrase [22].

Par ailleurs, la méthode de diffusion sur disque a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle des Clou de Girofle . Cette activité pourrait être attribuée à son composé majoritaire qui est "l'eugénol". [4] et [23] ont démontré que l'H.E. des Clous de girofle contenant 78% d'eugénol était effective contre quatre bactéries pathogènes (*E. coli O157:H7*, *Listeria monocytogenes*, *S. Typhimurium* et *S. aureus*). À une concentration de 1% : vol/vol, l'H.E des Clous de girofle exerce une action bactéricide [24]. Certaines études [25] ont montré que l'eugénol parmi d'autres composés a provoqué l'inhibition complète de la croissance de *B. cereus*. Les mêmes auteurs ont constaté également qu'aucune croissance n'était observée après 60 jours en présence de 150 ul d'eugénol/100 mL de bouillon. Par ailleurs, les travaux réalisés par [26] ont suggéré qu'un mélange de cinnamaldéhyde et d'eugénol à 250 et 500 ug/mL, respectivement empêchait complètement la croissance de *Staphylocoque sp.*, *Micrococcus sp.*, *Bacillus sp.*, et *Enterobacter sp.* pendant plus de 30 jours, alors que les substrats appliqués individuellement n'ont pas empêché le développement microbien.

#### 2.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (cmi)

En se référant aux résultats obtenus dans le Tableau 3, l'étude a révélé des valeurs de CMI relativement élevées pour l'huile de clou de girofle par rapport à celles obtenues pour l'H.E. de cumin.

**Tableau 3.** Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles essentielles (ul/ml) de cumin et de clou de girofle

Souches	Cumin		Clou de girofle	
	Dilution	CMI (ul/ml)	Dilution	CMI (ul/ml)
<i>S.aureus sensible</i>	1/10	111.1	1/40	25.64
<i>S.aureus résistante</i>	1/20	62.5	1/10	111.1
<i>E.coli</i>	1/50	20.4	1/40	25.64
<i>Salmonella.sp</i>	1/50	20.4	1/10	111.1

Au vu des résultats obtenus, il ressort que l'huile essentielle des graines du cumin a montré une bonne efficacité contre trois souches bactériennes suite aux valeurs faibles de CMI obtenues. Les CMI obtenues sont comprises entre 20.4 et 62.5 µl/ml. La concentration minimale inhibitrice a présenté un effet sur la croissance bactérienne à la dilution 1/20, ce qui correspond à la concentration de 62.5 µl/ml et ce contre *S.aureus résistante* souches ayant une grande résistance, suivie de la dilution 1/50 soit 20.4 µl/ml sur *E. coli* et *Salmonella. Sp*.

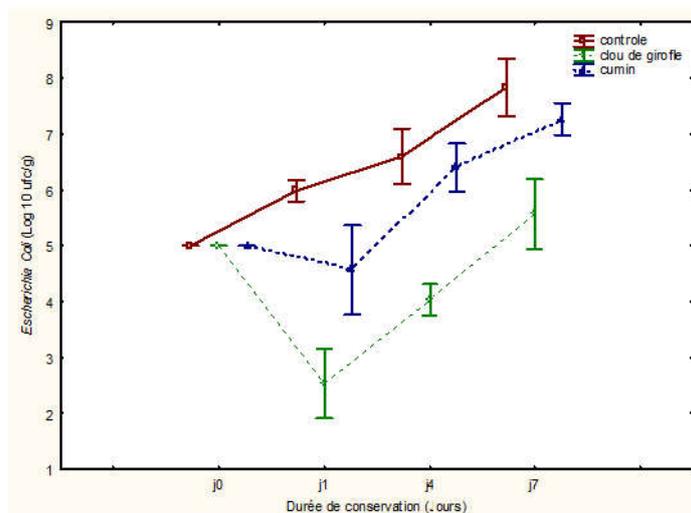
Aussi, l'H.E. de clou de girofle présente une activité antibactérienne sur la plupart des souches testées. La plus faible CMI a été obtenue pour la dilution 1/40 qui correspond à la concentration 25.54 ul/ml sur *S. aureus sensible*, et *E. coli* tandis que la plus haute CMI a été obtenues pour les dilutions 1/10 sur *S.aureus résistante* et *Salmonella.sp* (111,1 ul/ml). Il est à noter que l'efficacité d'une H.E. est inversement proportionnelle à la valeur de sa CMI vis-à-vis d'une souche donnée.

Généralement, il est bien admis que les activités varient selon la composition chimique des huiles essentielles. Ainsi, les composés majeurs d'une H.E. donnée reflètent souvent son activité biologique [25]. Et aussi, il a été estimé que l'activité antimicrobienne de certains H.E. pourrait être attribuée à la présence des composés mineurs présents à de faible taux non négligeables tel que : le nérol, le néral, carvacrol, et eugénol connus pour exhiber une activité

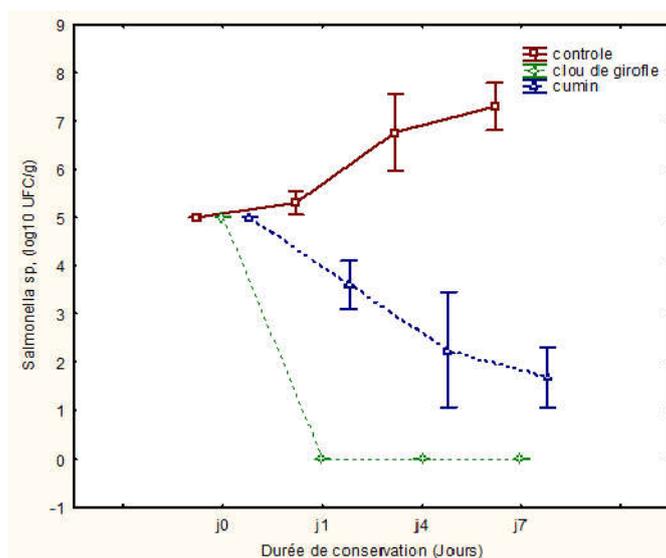
antibactérienne impliqués dans les phénomènes de synergie entre les différents constituants qui peuvent être à l'origine d'une activité antimicrobienne beaucoup plus prononcée que celle prévisible par les composés majoritaires [27].

#### 2.4. Effet des huiles essentielles appliquées dans la viande sur la flore pathogène

Les résultats du suivi de la cinétique microbienne des huiles essentielles après application dans la viande hachée sont présentés dans la figure N° 1.



a. *Echerichia coli*



b. *Salmonella sp.*

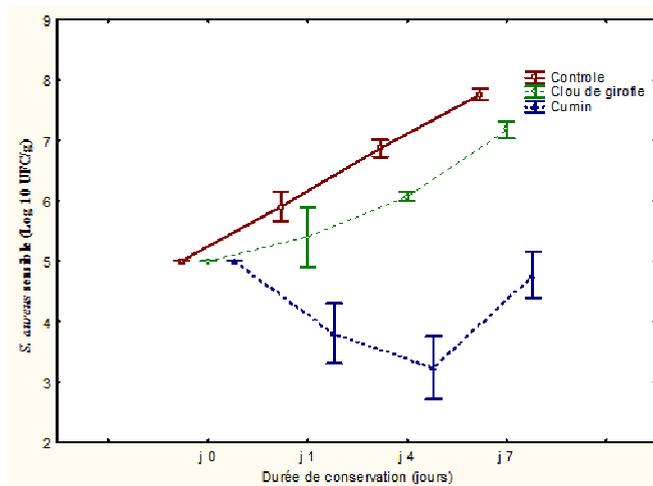
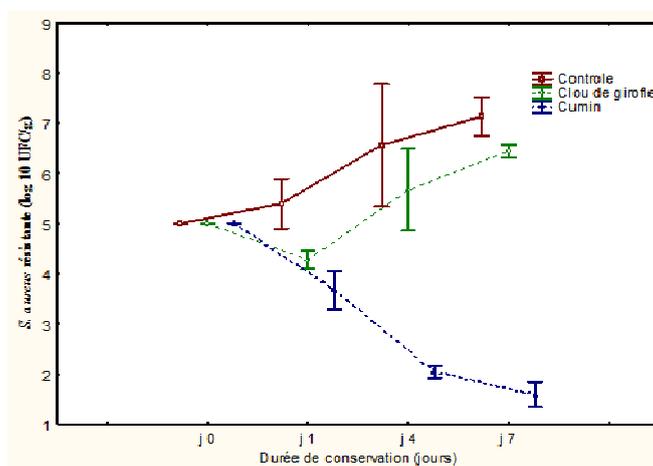
c. *S. aureus* sensible à l'oxacilined. *S. aureus* résistante à l'oxaciline

Fig. 1. Effets dans la viande des H.E. de cumin et des Clous de girofle

À travers la figure (fig.1.a), pour les échantillons inoculés avec *E. coli*, une augmentation exponentielle de la croissance bactérienne est observée dans ceux qui ne contiennent pas des H.E. pendant la période d'entreposage ( $p < 0.01$ ). Une diminution très remarquable est notée de la croissance bactérienne de l'échantillon traité avec l'H.E. de cumin atteignant une réduction de 4,7 Log UFC/g au bout du premier jour. L'effet de l'H.E. des Clou de girofle est très prononcé si on le compare à l'effet de l'huile de cumin vis-à-vis d'*E. coli*. ( $p < 0.01$ ). La cinétique de croissance de cette souche est ralentie à 2,5 Log UFC/g au jour 1 et atteint une valeur de 4,09 log UFC/g après 4 jours de conservation ( $p < 0.01$ ). Au-delà de cette période, on observe une perte progressive du pouvoir antibactérien. Certains chercheurs se sont

intéressés à *E. coli* O 157 : H7. Leurs résultats montrent que la croissance de cette souche est complètement inhibée par le citral, le carvacrol, le géraniol et le perillaldehyde à 0,5 g/L [28]. En revanche pour *Salmonella sp.* (fig.1.b) , il s'avère que la présence de ces deux huiles ont permis une réduction significative du nombre logarithmique de *Salmonella.sp* et, ceci pendant toute la durée de conservation. Le graphe montre que l'huile des Clous de girofle exerce une activité antimicrobienne plus considérable que l'huile du cumin, on remarque que, dès les premières heures d'entreposage, l'huile de des Clous de girofle a permis une réduction en chute libre du nombre bactérien . Après 24 h d'entreposage jusqu'au dernier jour, le nombre de *Salmonella.sp* a atteint une valeur nulle ( $p > 0.05$ ). Ce qui explique que l'huile des Clous de girofle exerce une très forte activité antibactérienne contre *Salmonella.sp*. une fois qu'elle est en contact avec la bactérie cible (effet bactéricide). Ce résultat confirme ceux obtenus "in vitro".

Il est noté à travers ce graphe que le nombre maximal de *Salmonella.sp.* pendant toute la durée de conservation a été enregistré dans les échantillons de viande qui ne contiennent pas d'H.E (contrôle). Ces échantillons contrôles ont atteint une valeur de 7,1 Log UFC/g à la fin de la période de conservation (au 7ème jour) ( $p < 0.05$ ). La présence d'H.E. de cumin. a inhibé la croissance de *Salmonella.sp* de 3,8 Log UFC/g, 2,05 Log UFC/g et 1.7 Log UFC/g après 24 h, 04 jours et 07jours de conservation respectivement ( $p < 0.001$ ). Cette étude, ainsi que beaucoup d'autres, comme celles de de [29] confirment les propriétés antibactériennes de certaines H.E. Néanmoins, les H.E. de plantes sont souvent des mélanges complexes de différents composés dont certains, sont dotés de propriétés antimicrobiennes. La composition des H.E. d'une même espèce varie selon la localisation géographique, les conditions climatiques...par conséquent, leurs propriétés antibactériennes varient également [29]. Il a été supposé que la teneur en protéines constitue un facteur empêchant l'action de l'H.E. des Clous de girofle sur *salmonella enteritidis* dans un fromage à faible teneur en matière grasse [23]. Il serait donc d'une importance primordiale de séparer et d'identifier les composants actifs présents dans une huile à pouvoir antimicrobien. Plusieurs travaux ont démontré que différents constituants des H.E. possèdent des activités antibactériennes et que les constituants volatils majeurs ont les propriétés antimicrobiennes les plus importantes :

carvacrol chez l'origan, eugénol chez les Clous de girofle, linalool chez le coriandre, thymol chez le thym [20].

La souche *S.aureus* sensible (fig.1.c) n'a pas manifesté une sensibilité importante aux H.E une fois introduite dans la viande fraîche hachée. La cinétique de croissance de cette souche est ralentie et atteint une valeur de 3.4 log UFC/g après 4 jours de conservation. Ensuite la cinétique progresse pour atteindre une valeur de 4.9 log UFC/g après 7 jours d'entreposage ( $p < 0.01$ ). Il est bien connu que le pouvoir antimicrobien des H.E. dans des matrices alimentaires est généralement réduit une fois comparé au travail "in vitro", du fait que la présence de graisses, des hydrates de carbone, de protéines, de sels et de pH (facteurs intrinsèques) influence fortement l'efficacité de ces agents [ 4 et 26]. Aussi, d'autres travaux ont supposé que l'activité antimicrobienne liée aux extraits de fines herbes peut être diminuée par la présence de composants adipeux dans la viande hachée [30 et 31 ]

Par ailleurs, on remarque que l'huile de cumin exerce une activité antimicrobienne sur *S. aureus* résistante à l'oxaciline (fig.3.d) plus considérable que celle des Clou de girofle. À travers ce graphe, on remarque que l'huile de cumin exerce une activité antimicrobienne plus considérable que celle des Clou de girofle. Cette dernière a ralenti la croissance de *S. aureus* résistante uniquement durant les premières heures d'entreposage de la viande à une  $T^{\circ}$  de  $2 \pm 1$  °C. Une réduction du nombre logarithmique de cette souche en présence des H.E. de cumin et de Clous de girofle les 24h qui suivent l'entreposage est de 3,8 log UFC/g et 4,34 log UFC/g respectivement, jusqu'au 4e jour où les Clou de girofle perdent complètement son activité antibactérienne ( $p > 0.05$ ), contrairement à celle de cumin qui la maintient partiellement jusqu'au dernier jour ( $p < 0.01$ ).

Il est à noté, que l'H.E. de cumin, dans ce cas là, semble plus appropriée pour avoir une activité antibactérienne plus importante que celle de clou de girofle dans la matrice alimentaire. Cela pourrait s'expliquer à la façon dans laquelle les H.E. se diffusent dans la matrice alimentaire, et à la variation dans la composition chimique de chaque H.E.

Certains travaux portant sur l'activité antibactérienne de certaines H.E. de plantes, telles que l'origan (*Origanum copactum*) contre 25 genres bactériens "in vitro", ont conclu que l'ajout de ces extraits aux produits alimentaires, ne causerait aucune modification des propriétés

organoleptiques, et retarderait la contamination microbienne [32].

Contrairement à cette conclusion, les résultats de notre étude ont montré que les effets antibactériens sont différents de ceux qu'on a obtenus "in vitro", ceci revient à dire que l'activité antimicrobienne des H.E. dans la viande hachée est influencée par les facteurs intrinsèques à l'exception de l'H.E. Clou de girofle qui a maintenu son pouvoir antibactérien vis-à-vis de *Salmonella.sp.*

Certains facteurs comme la T°, les conditions de stockage, le pH ou la composition de l'aliment, peuvent avoir une influence sur l'action des H.E. Il est établi que l'efficacité de l'huile augmente avec la diminution du pH de l'aliment, de la température de stockage ou encore de la quantité d'oxygène dans l'emballage. Il est également prouvé qu'une même huile sera plus efficace dans un aliment pauvre en gras et/ou en protéines et ce n'est pas le cas pour la viande. Les fortes teneurs en eau et en sels d'un aliment vont aussi favoriser l'action de l'H.E. [33]. En plus, une faible teneur en eau dans les aliments peuvent entraver l'action des agents antimicrobiens envers les sites cibles dans la cellule bactérienne [4].

### **3. EXPERIEMNT**

#### **3.1. Matériel vegetal**

Les graines de cumin et les boutons floraux de clou de girofle ont été achetés dans un magasin au niveau de la wilaya de Bouira. Les échantillons des deux espèces végétales ont été conservés dans des sacs propres à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à utilisation.

#### **3.2. Extraction des huiles essentielles**

Les huiles essentielles (HE) des graines de cumin et des boutons floraux de clou de girofle ont été obtenues séparément par hydrodistillation Clevenger méthode [34]. Le matériel végétal (150 g de graines sèches pour le cumin et 60 g pour les boutons floraux de clou de girofle), est placé dans une fiole (2 l) avec l'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 03 heures. Les HE recueillis sont conservées à une température voisine de -18 C° jusqu'à son utilisation.

#### **3.3. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles**

Après extraction des H.E., on a déterminé la densité relative à 20°C et les indices chimiques (acidité, ester et peroxyde) et comparés avec ceux donnés par la norme A.F.N.O.R. [18].

### 3.4. Tests antimicrobiens in vitro

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de cumin et clou de girofle est réalisée par la technique du contact direct. Les souches bactériennes utilisées sont : (*Escherichia coli* ATCC25922, *Salmonella. Sp.* ATCC 29890, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* résistante à l'oxaciline ATCC 25923 et *Staphylococcus aureus* sensible à l'oxaciline ATCC 43300 provenant de l'institut pasteur.

Les CMI (concentration minimale inhibitrice) ont ensuite été déterminées. En effet, il est à souligner que l'utilisation d'une molécule antibactérienne comme conservateur dans un aliment, nécessite que la concentration minimale inhibitrice (CMI) soit évaluée. Il est intolérable quand les doses antibactériennes efficaces dépassent les niveaux acceptables organoleptiques. Par conséquent, ces concentrations sont mesurées dans le but de définir les frontières de l'acceptabilité sensorielle et l'efficacité antibactérienne des huiles essentielles [35].

### 3.4. Application des huiles essentielles pour la conservation de la viande hachée

La viande a été obtenue à partir d'une carcasse bovine (Boucherie de Boumerdes). Les muscles sont débarrassés de leurs couches périphériques constituées par du tissu conjonctif et de matière grasse puis transformés en viandes hachées. La viande a été transportée dans une enceinte réfrigérante vers le Laboratoire de Microbiologie de l'université de Boumerdes .

Il a été bien établi que les doses effectives d'H.E. approuvées dans des tests antibactériens "*in vitro*", ne pourraient être les mêmes quand il s'agit d'une matrice alimentaire. Il a suggéré que les CMI devraient être multipliées par un coefficient qui peut osciller entre 2 et 100, si on veut les appliquer dans un aliment pour obtenir des résultats satisfaisants. Selon les résultats des CMI des deux huiles obtenus, nous avons jugé utile de multiplier ces valeurs par un coefficient de 2 [36].

Pour chaque combinaison de paramètres étudiés (H.E. + bactérie pathogène), 200 grammes (g) de viande hachée ont été préparés dans un récipient Inox stérile et ensuite mélangés avec de l'H.E. donnée. Ensuite, la viande contenant de l'H.E. a été inoculée par la bactérie pathogène correspondante (5 log ufc/g). L'ensemble a été homogénéisé à l'aide d'une spatule pour bien répartir la distribution de l'huile et de la bactérie à travers la viande. Au total trois (03)

échantillons de 50 g chacun ont été préparés pour chaque combinaison. Les échantillons sont ensuite placés dans des boîtes de conserve Inox stériles de 6 cm de diamètre (03 boîtes/germe/H.E.) et conservés à une T° de réfrigération 4°C.

Les échantillons témoins (contrôles) ont été traités avec de l'eau distillée stérile en présence de la souche pathogène et, conservés dans les mêmes conditions.

Pour déterminer l'efficacité inhibitrice des H.E. sur les bactéries pathogènes présentes dans la viande, des analyses microbiologiques sont effectuées pour suivre la cinétique microbienne de chaque espèce en présence et en absence d'H.E. La cinétique microbienne de chaque espèce a été mesurée au 1<sup>er</sup>, 4<sup>ème</sup> et 7<sup>ème</sup> jour pendant une durée globale de conservation de sept (07) jours. Les échantillons ont été conservés à 4°C à l'air libre. Pour chaque prélèvement, 25 g de viande de chaque échantillon étudié sont placés puis dilués dans 225 ml d'eau peptonée (0.1%). Chaque échantillon a été très bien homogénéisé. Des dilutions décimales sont préparées par dilution de 1 ml dans 9 ml d'eau peptonée stérile (0.1%). Deux boîtes de pétri sontensemencées en versant 1 ml de chaque suspension dans de la gélose en surfusion, chaque germe a étéensemencé sur son milieu sélectif. Le dénombrement de *Salmonella. sp* et d'*E. coli* a été déterminé en comptant les boîtes dans un milieu Hektoen, incubées à 37 °C pendant 24 h. Celui de *Staphylococcus aureus* résistante et sensible a été déterminé dans un milieu Chapman incubées à 37°C pendant 48 h. Le nombre de bactéries est exprimé en log<sub>10</sub> d'unité formant colonie/g (Log ufc/g).

### 3.5. Étude statistique

L'étude statistique a été réalisée par le logiciel statistica 6.0 . Les résultats sont exprimés en moyenne ± SD de trois répétitions. Les résultats sont analysés par le test Anova univarié. Les valeurs de p≤0.05 sont considérées statistiquement significatives.

## 4. CONCLUSION

Les H.E. sont des substances aromatiques, d'une composition chimique complexe. Cette complexité leur confère des propriétés antimicrobiennes très intéressantes à mettre à profit dans la préservation des produits alimentaires.

Les deux espèces végétales étudiées, à savoir le cumin et les Clous de Girofle ont montré

des résultats intéressants. En effet, l'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation, les rendements ont été voisins de 1.80% et 10.2% pour le cumin et les clous de girofle respectivement.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont été estimées par la méthode de dilution en milieu solide, la plus faible CMI étant exercée par l'huile de cumin avec 20,4ul/ml sur la totalité des souches testées. Alors que, pour l'H.E. de clou de girofle, la plus faible CMI a été obtenue à la concentration 25.54 ul/ml.

Les résultats obtenus "in vitro" ne constituent qu'une première étape de recherche et qui ne sont pas tout à fait parallèles à ceux obtenus une fois appliquée dans la viande. Cependant, les techniques récentes d'encapsulation en liposomes semblent surmonter de tels problèmes.

Suivant nos résultats, nous pouvons prédire que les H.E. étudiées sont des agents antimicrobiens naturels efficaces et peuvent être une source très importante de conservateurs naturels utilisés pour limiter les empoisonnements d'origine bactérienne.

Enfin, il est indispensable donc de mener une étude détaillée sur la composition qualitative et quantitative de ces huiles par le couplage de la CPG/SM. Aussi, de vérifier leur innocuité par des tests de toxicité et des tests d'allergénicité

## 5. REFERENCES

- [1] Rozier J., Carlier V. et Bolnot F. Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments. Éd. SAPALC. Paris, 1986, pp. 130-143.
- [2] Guiraut J. P. Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod, Paris, 2003, pp. 110-112.
- [3] Salifou C.F.A.1., Boko 1 K.C., Ahounou 1 G.S., Tougan 1 P.U., Kassa 1 S.K., Houaga 1 I., Farougou 1 S., Mensah 2 G.A., Clinquart 3 A. et Youssao 1 A.K.I. Diversité de la microflore initiale de la viande et sécurité sanitaire des consommateurs. *International Journal of biological and Chemical Sciences*, 2013 ,7(3): 1351-1369.
- [4] Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int J Food Microbiol.*, 2004, 94, 223-253.
- [5] Moll M. Additifs alimentaires et auxiliaires technologique. Ed. DUNOD. Paris, 1998, pp. 89-99.

- 
- [6] Nakahara K., Alzoreky N.S., Yoshihashi T., Nguyen H.T.T. and Trakoontivakorn G. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cymbopogon nardus* (Citronella Grass), 2003, JARQ 37 (4), pp. 249-252.
- [7] Ho C. L., Wang E.I.C., and Su Y.C. Essential oil compositions and bioactivities of the various parts of *Cinnamomum camphora* Sieb. var. *linaloolifera* Fujuta. 林業研究季, 2009, 31 (2) : pp. 77-96.
- [8] Chahardehi A. M., Ibrahim D., and Sulaiman S.F. Antioxidant, antimicrobial activity and toxicity test of *Pilea microphylla*. International Journal of Microbiology, 2010, ID 826830, 6p.
- [9] Wang H.F., Yih K.H. and Huang K.F. Comparative study of the antioxidant activity of forty- five commonly used essential oils and their potential active components. Journal of Food and Drug Analysis, 2010. Vol. 18, №1, pp. 24-33.
- [10] Rashid A., Qureshi M.Z., Raza S.A., William J. and Arshad M. Quantitative determination of antioxidant potential of *Artemisia persica*. Analele Universităţii din Bucureşti –Chimie (serie nouă), 2010, vol. 19 №1, pp. 23-30.
- [11] Mahboubi M. et Haghi G. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. Journal of Ethnopharmacology, 2008, 119, 325-327.
- [12] Adrar, N., Oukil, N., Bedjou F. Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus numidicus* and *Salvia officinalis* essential oils alone or in combination. Ind. Crops Prod., 2015, 88, 112–119.
- [13] Gutierrez, J.; Barry-Ryan, C.; Bourke, P. Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: Efficacy, synergistic potential and interactions with food components. Food Microbiol. 2009, 26, 142–150.
- [14] Abdellaoui M., Kasrati Allaoui A. I., Rhaffari L. Activités anti Oxydantes des Huiles essentielles des Populations Locales du Cumin (*Cuminum Cyminum*) Conduit sous des Conditions de Production Biologique dans la Réserve de Biosphère des Oasis du Maroc. European Journal of Scientific Research ISSN 1450-216X / 1450-202X Vol. 137 No 1 January, 2016, pp.11-25

- 
- [15] M. MUCHAMAD et J. CROUZET . “Composition de l’huile essentielle de clous de girofle de différentes provenances” in Annales Techniques. VII Congrès International des Huiles Essentielles, Fedarom., 1982, Grasse, pp 255-258.
- [16] Viljoen A.M., Denirci B., Baser K.H.C., Potgieter C.J. and Edwards T.J. (2006) Micro distillation and essential oil chemistry- a useful tool for detecting hybridisation in *Plectranthus* (lamiaceae). *South African Journal of Botany*, 72:99-104
- [17] Sefidkon F., Abbasi K. Jamzad Z. and Ahmadi S. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* jamzad. *Food chemistry*, 2007, 100: 1054-1058.
- [18] AFNOR. « Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 1. Echantillonnage et méthodes d’analyse ». AFNOR, Paris, 2000, 440 p.
- [19] Mann C.M. Cox S.D. et Markham J.L. The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749, contribute to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Letter in applied Microbiology*, 2000,30, 297-297
- [20] Bagamboula C.F., Uyttendaele M. and Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Higella sonnei* and *S. flexneri*, *Food Microbiology*, 2004, p. 33-42.
- [21] Griffin S. Aspects of antimicrobial activity of terpenoids and the relationship to their molecular structure, Doctorate thesis, University of Western Sydney, Sydney, 2000, Australia.
- [22] Milane, H., La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat, 2004, Strasbourg
- [23] Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria*, 2007.
- [24] Leuschner, R. G. K., Lelsch V. Antimicrobial effects of garlic, clove and red hot chilli on *Listeria monocytogenes* in broth model systems and soft cheese. *International journal of food Sciences and Nutrition*, 2003, 54, 127-133
- [25] Valero M. et Giner M.J. Effects of antimicrobial components of essential oils on growth

- of *Bacillus cereus* INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth. *International Journal of Food Microbiology*, 2006, 106, 90 - 94
- [26] Moleyar V., Narasimham P. Antibacterial activity of essential oil components. *International Journal of Food Microbiology*, 1992, 16, 337- 342.
- [27] Delaquis P.J., Stanich K., Girad B. et Mazza G. Antimicrobial activity of individual and mixed fraction of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oil. *International Journal of Food Microbiology*, 2002, 74(1-2), 101-109
- [28] Kim J.M., Marshall M.R., Cornell J.A., Wei C.I. Antibacterial activity of some essential oil components against five food borne pathogens. *Journal Of Agricultural and Food Chemistry*, 1995, 43, 2839-2845.
- [29] Razzaghi A. M., Shams G.A.M., Yoshinari T., Rezaee M.B., Jaimand K., Nagasawa H., Sakuda S. Inhibitory effects of *Satureja hortensis* L. essential oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *International Journal of Food Microbiology*, 2008, 123, 228-233.
- [30] Cutter C. N. Antimicrobial effect of herb extracts against *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium* associated with beef. *Journal of Food Protection*, 2000, 63, 601-607
- [31] Djenane D, Yangüela J, Derriche F, Bouarab L, Roncales P. Olive tree leaf extract; in vitro tests on *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis* and *Pseudomonas aeruginosa*; application in turkey meat. *Phytotherapie*, 2012; 10: 10–18.
- [32] Dorman H.J.D et Doyen K. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oil, *Journal of Applied Microbiology*, 2000, 88: 308-316.
- [33] Caillet S., Lacroix M. Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de Recherche en Sciences appliquées à l'Alimentation (RESALA) INRS-Institut Armand-Frappier, 2007, Université de Laval (Québec).
- [34] Bounatirou S., Smiti S., Miguel M.G., Faleiro L., Rejeb M.N., Neffati M., Costa M.M. Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G. Chemical composition, antioxidant and

---

antimicrobial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitus* Hoff. et Link. Food Chemistry, 2007, 105: 146–155.

[35] Tiwari B.K., Valdramidis V.P., O'Donnell C.P., Muthukumarappan K., Bourke P. and Cullen P.J., Application of natural antimicrobials for food preservation. *J. Agric. Food Chem.* 57, 2009, pp.5987–6000

**How to cite this article:**

Yahiaoui K, Bouchenak O, Lefkir S, Benhabyles N, Laoufi R, Arab K. Antibacterial activity of cumin (*cuminum cyminum l.*) and cloves (*syzygium aromaticum*) essential oils, and their application to the preservation of minced meat. *J. Fundam. Appl. Sci.*, 2018, 10(5S), 100-117.