



الجمهورية الديمقراطية الشعبية الجزائرية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique  
جامعة ابوبكر بلقايد – تلمسان  
Université ABOUBEKR BELKAID - TLEMCEN  
كلية العلوم الطبيعية وعلوم الحياة وعلوم الأرض والكون  
Faculté des Sciences de la nature et de la vie, des Sciences de la Terre et l'univers  
Département de Biologie

## MEMOIRE

Présenté par :

Melle SENHADJI Souad      Melle YAMANI Souad

En vue de l'obtention du

Diplôme de **MASTER**

**Filière** : Sciences Alimentaires.

**Option** : Agro-Alimentaire et Contrôle de Qualité.

## Thème :

**Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'une espèce endémique de la région de Tlemcen « *Pulicaria vulgaris* »**

Soutenu le : 27/06/2020

Devant le jury composé de :

Melle Ghanemi Fatima	MCB	Université de Tlemcen	Présidente
Mme Chaib Faiza	MCB	Université d'Oran	Encadreure
Mr Belyagoubi larbi	MCA	Université de Tlemcen	Examinateur

Année Universitaire: 2019-2020

# Remerciement

*Nous tenons à exprimer nos profond et sincère remerciement à notre encadreur, **madame CHAIB FAIZA** maitre de conférences classe B à l'université d'Oran d'avoir dirigé ce travail en combinant l'ingénierie, la recherche scientifique l'enseignement.*

*Par sa disponibilité, ses conseils et ses idées innovantes tout au long de notre travail, nous avons appris avec elle comment développer nos sens d'écoute, d'analyse et de communication.*

*Nous adressons nos remerciements pour tous les membres du jury d'avoir accepté de participer à cette soutenance, afin d'évaluer et d'examiner notre travail.*

***Melle GHANEMI F.Z.** Maitre de conférences classe B, à l'université de Tlemcen, pour l'honneur de présider les jurys.*

***A Mr BELYAGOUBI** Maitre de conférences classe A, à l'université de Tlemcen, votre venue en tant qu'examineur.*

*Nous vifs remerciements d'adresses au **Melle GHANEMI FATIMA ZAHRA** pour tous ces aides, ses orientations, sa gentillesse, et ses conseils.*

*Nous remerciement vont également à **Mr GHALEM** et **Mr ALLALI** de nous avoir autorisé d'accéder au laboratoire LASNABIO. Ainsi qu'à la promotion MASTER agroalimentaire et contrôle de qualité.*

*Enfin, nous exprimons nos remerciements à tous ceux qui contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

# Dédicaces

*Au nom de Dieu, le clément, le très miséricordieux*

*A Mes parents NOURADINNE et SALIHA*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitte jamais assez.*

*A Ma grande sœur SALIMA*

*Pour son dévouement, sa compréhension et sa grande tendresse, qui en plus de m'avoir encouragé tout le long de mes études. Elle M'a consacré beaucoup de temps et disponibilité.*

*A Ma petite sœur RACHIDA et mon petite frère AMINE*

*A Ma chère cousine SOUAD et Ma meilleure amie ILHAM*

*A mes amies chacune son nom pour leurs aides précieuses*

*A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire*

*A tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin à l'élaboration de ce Travail.*

*Senhadji Souad*

## Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail*

*A mes parents qui m'ont toujours soutenu tout long ma vie*

*Abdel krim et Yamna*

*A mes sœurs Wassila et Meriem*

*A mes frères Kheireddine et Mohammed*

*A mes amis, plus particulièrement Leïla et Meriem pour tous les  
moments inoubliables*

*A mes collègues de la promotion Agro-Alimentaire et contrôle de  
qualité*

*Famani Souad*

## *Liste des Abréviation*

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**BHA** : Butyl Hydroxy Toluène

**BHT** : Butyl Hydroxy Anisol

**DPPH** : 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyle

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : peroxyde d'hydrogène.

**HE** : Huile Essentielle.

**HPLC** : Chromatographie en phase liquide à haute performance

**OH** : radicale hydroxyle.

**TBHQ** : Ter Butyl-Hydroxy-quinone

**IC<sub>50</sub>** : La concentration inhibitrice de 50%

**CPG** : Chromatographie en phase gazeuse

**CPG/SM** : Couplage de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse

# Liste des figures

Figure 01 : Structure de l'unité isoprène .....	- 5 -
Figure 03 : structure générale d'un sesquiterpène.....	- 6 -
Figure 02 : Exemple d'un monoterpène acyclique à gauche (myrcène) et monoterpène cyclique à droite (p-cimène) .....	- 6 -
Figure 04 : Structure d'un phénol terpénique, le thymol.....	- 7 -
Figure 05 : structure de citronellal.....	- 8 -
Figure 06 : structure d'une cétone terpénique, la menthone .....	- 8 -
Figure 07 : Structure d'un ester terpénique, l'acétate de linalyle .....	- 9 -
Figure 08 : structure d'alantolactone .....	- 9 -
Figure 09 : Structure des composés aromatiques dérivés de phénylpropane .....	- 10 -
Figure 10 : structure général de Coumarine .....	- 10 -
Figure 11 : schéma du principe de la technique d'hydro distillation .....	- 11 -
Figure 12 : Schéma d'extraction d'huile essentielle par expression.....	- 12 -
Figure 13 : Illustration schématique de la méthode de distillation par la vapeur d'eau.....	- 13 -
Figure 14 : Illustration schématique de la méthode d'extraction par solvant .....	- 13 -
Figure 15 : montage d'extraction par le CO <sub>2</sub> supercritique .....	- 14 -
Figure 16 : illustration schématique de L'hydrodistillation assistée par micro-ondes .....	- 15 -
Figure 17 : photos originales de <i>Pulicaria vulgaris</i> ssp <i>pomeliana</i> sèche.....	- 22 -
Figure 18 : Biotope de <i>Pulicaria vulgaris</i> subsp. <i>Pomeliana</i> .....	- 22 -
Figure 19 : Photo de <i>Pulicaria vulgaris</i> ssp <i>pomeliana</i> .....	- 25 -
Figure 20 : montage d'hydrodistillation (appareil de type Clevenger) .....	- 26 -
Figure 21 structure chimique du radical libre DPPH• (2,2 Diphenyl-1-Picryl-Hydrazyle) .....	- 28 -
Figure 22 : modification du DPPH• lors du transfert électronique.....	- 28 -
Figure 23 : Piégeage du radical libre DDPH (2,2-Diphenyl-1picrylhydrazil).....	- 29 -
Figure 24 : Pourcentage d'inhibitions du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de <i>P. vulgaris</i> ssp <i>pomeliana</i> .....	- 34 -
Figure 25 : Pourcentage d'inhibitions du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de <i>P. vulgaris</i> ssp <i>pomeliana</i> .....	- 35 -

# Listes des tableaux

Tableau 01 : exemple des antioxydants naturels et synthétiques .....	- 18 -
Tableau 2 : Classification botanique <i>Pulicaria vulgaris</i> ssp <i>pomeliana</i> .....	- 23 -
Tableau 03 : Comparaison des caracteristiques organoleptiques des différentes especes de <i>Pulicaria</i> ..	- 33 -
Tableau 04 : Les valeurs d'IC <sub>50</sub> de l'HE et des témoins positifs.....	- 36 -

# Table de matière

Remerciement

Dédicaces

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....	1 -
Chapitre 01 : Généralités sur les huiles essentielles -----	4 -
1 Définition : -----	4 -
2 Les différentes familles des huiles essentielles :-----	5 -
2.1 Composés terpéniques :-----	5 -
2.1.1 Les monoterpènes : -----	5 -
2.1.2 Les sesquiterpènes : -----	6 -
2.2 Les composés terpéniques oxygénés :-----	6 -
2.2.1 Les Alcools :-----	7 -
2.2.1.1 Les monoterpénols :-----	7 -
2.2.1.2 Les sesquiterpénols :-----	7 -
2.2.1.3 Les diterpénols : -----	7 -
2.2.2 Les phénols :-----	7 -
2.2.3 Les aldéhydes : -----	8 -
2.2.4 Les Cétones : -----	8 -
2.2.5 Les oxydes :-----	8 -
2.2.6 Les esters : -----	9 -
2.2.7 Les lactones : -----	9 -
2.3 Les composés aromatiques : -----	10 -
2.3.1 Les Coumarines :-----	10 -
2.4 Les composés d'origines diverses : -----	10 -
3 Les méthodes d'extractions des huiles essentielles :-----	11 -
3.1 Les méthodes classiques et conventionnelles :-----	11 -
3.1.1 Hydrodistillation :-----	11 -
3.1.2 L'expression : -----	11 -
3.1.3 Distillation par entraînement à la vapeur d'eau :-----	12 -
3.1.4 L'extraction par solvant : -----	13 -
3.2 Les Méthodes innovantes :-----	14 -
3.2.1 L'extraction par CO <sub>2</sub> à l'état supercritique :-----	14 -



3.2.2	Hydro distillation assistée par micro-ondes :	- 15 -
3.2.3	L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes :	- 15 -
4	Les activités biologiques des huiles essentielles.	- 16 -
4.1	Les activités antimicrobiennes et antiseptiques :	- 16 -
4.2	Les huiles essentielles en tant que pesticides verts :	- 16 -
4.3	L'activité anticancéreuse :	- 16 -
4.4	Activité antioxydante :	- 17 -
5	Les applications industrielles des huiles essentielles :	- 18 -
5.1	Dans les parfums et les cosmétiques :	- 18 -
5.2	En aromathérapie et pharmacie :	- 18 -
5.3	En agriculture :	- 19 -
5.4	En industrie agroalimentaire :	- 19 -
5.5	Emballages actifs contenant des huiles essentielles et applications :	- 19 -
1	Description de la famille Astéracée :	- 21 -
2	Espèce <i>Pulicaria vulgaris ssp pomeliana</i> :	- 21 -
3	Description botanique :	- 21 -
4	Habitat et répartition :	- 22 -
5	La nomenclature :	- 23 -
6	La systématique :	- 23 -
1	Matériel végétal :	- 25 -
2	Procédé d'extraction :	- 25 -
3	Rendement en huile essentielle :	- 26 -
4	Caractéristiques organoleptiques :	- 26 -
5	Les méthodes d'évaluation de pouvoir antioxydant :	- 27 -
5.1	Mesure de l'activité antioxydante par Piégeage du radical libre DDPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyle) :	- 27 -
5.1.1	Principe :	- 27 -
5.1.2	Protocole :	- 29 -
5.1.3	Le pourcentage d'inhibition :	- 29 -
5.1.4	Calcul de IC <sub>50</sub> :	- 30 -
1.	Rendement de l'huile essentielle :	- 32 -
2.	Analyse organoleptique	- 32 -

3. Evaluation de l'activité antioxydante :-----	- 33 -
3.1. Étude de l'activité antioxydante par la méthode du piégeage du radical libre DPPH :-----	- 33 -
3.2. Calcule d'IC <sub>50</sub> : -----	- 35 -
3.3. Discussion :-----	- 36 -
Conclusion.....	-40-
Référence bibliographique.....	-42-
Résumé	

# **INTRODUCTION**

De nos jours, la tendance de l'utilisation des produits naturels issus des plantes est en pleine croissance face au souci des effets cancérigènes et toxiques des composés synthétiques qui peuvent être nocifs à la santé humaine.

En effet, la demande industrielle de ces composés à forte valeur ajoutée est bien réelle, et ceci grâce à la multiplicité de leurs usages dans de nombreux secteurs tels que la pharmacie, le cosmétique, la parfumerie et l'agroalimentaire.

L'Algérie, est reconnue par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques (**Arab *et al*, 2014**)

Un grand nombre de ces plantes médicinales aromatiques et épices cultivées ou spontanées possèdent des propriétés biologiques très intéressantes : antiseptiques, antifongiques, anti-inflammatoires, et antioxydant. L'évaluation des effets biologiques de ces plantes présente aujourd'hui une tâche très intéressante.

La filière des huiles essentielles est un créneau potentiellement lucratif, commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle des molécules naturelles bioactives. Quel que soit le secteur d'activité, l'analyse des HEs reste une étape majeure qui, malgré les progrès constants des différentes techniques d'identification et de séparation et d'évaluation, demeure toujours une opération délicate nécessitant la mise en œuvre simultanée ou rotatoire des diverses techniques.

L'oxydation des lipides est l'un des problèmes majeurs en agroalimentaire, à cause de la formation des produits d'oxydation qui sont responsables des odeurs indésirables et de la diminution des qualités organoleptique, nutritionnelle et hygiénique des aliments. Pour prévenir le processus de dégradation des lipides, l'industrie agroalimentaire utilise des antioxydants chimiques à des doses bien définies, ces additifs sont de faible coût et d'une grande stabilité. Néanmoins, tels antioxydants de synthèse peuvent présenter une certaine toxicité pour l'homme. En effet, le BHT, le BHA, et le TBHQ sont suspectés d'avoir des effets négatifs sur la santé (**Paradiso *et al*, 2006**). De nombreuses études s'orientent vers la recherche d'antioxydants naturels parfaits, à la fois sûrs et efficaces

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des antioxydants naturels, on s'intéresse à l'étude de l'huile essentielle d'une espèce de la famille des astéracées *Pulicaria vulgaris* ssp *pomeliana*, une plante rarissime, endémique et surtout menacée de la région de Tlemcen. Cette plante n'a pas fait objet de travaux antérieurs. D'autre part il est intéressant d'explorer une valorisation de cette huile essentielle par des essais d'activités antioxydantes.

Notre étude est réalisée en deux parties, la première partie propose une mise au point bibliographique. Elle est divisée en deux chapitres.

Le premier chapitre est usité aux huiles essentielles, les différentes techniques d'extraction, les propriétés biologiques, leurs compositions chimiques et enfin ses différentes applications industrielles.

Le deuxième chapitre est consacré à l'étude de la plante et la description botanique de l'espèce, L'habitat et répartition, la systématique.

La deuxième partie du travail est réservée à l'étude expérimentale, dans laquelle nous avons effectué : une extraction et une analyse organoleptique de la plante. Ensuite, nous avons évalué le pouvoir antioxydant de notre extrait par le test de réduction de la 2,2-diphényl -1-picrilhydrazyle (DPPH). Enfin, les résultats obtenus sont commentés et discutés, on termine par une conclusion générale

Initialement notre objet est de mener une étude phytochimique et l'évaluation de l'HE de *Pulicaria vulgaris* ssp *pomeliana* par plusieurs tests antioxydants : DPPH, FRAP, ABTS.

Comme étant des spécialistes en agro-alimentaire nous voulons compléter ces activités anti-oxydantes par le test de friture, malheureusement on était obligé d'arrêter toutes les manipulations au niveau du laboratoire en raison de la pandémie mondiale COVID19.

# **Synthèse Bibliographique**

## Chapitre 01 : Généralités sur les huiles essentielles

### 1 Définition :

Il est difficile de donner une définition précise au terme « l'huile essentielle ». En effet la notion d'HE peut différer avec le point de vue au quel se place des personnes de formation professionnelle.

Selon **Durvelle (1930, 1893)** les essences ou huiles essentielles, connues également sous le nom d'huiles volatiles, de parfums ...etc, sont des substances odorantes huileuses, volatiles, peu solubles dans l'eau, plus au moins solubles dans l'alcool et dans l'éther.

Elles sont en général incolores ou colorées en jaune pâle, mais on distingue autres couleurs telles que le bleu pour la camomille allemande et tanaïsie, celle de sarriette sont rouges, la bergamote est d'un très jolie vert pâle, et les cannelles sont orange (**Riotte, 2015**).

Ces essences sont inflammables, elles s'altèrent facilement à l'air en se résinifiant. Elles sont liquides à température ordinaire, quelques-unes sont solides ou en partie cristallisées. Elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes dont elles se distinguent par leur volatilité. Leur odeur plus ou moins forte, suave, piquante ou désagréable. Elles ont la propriété de ne pas laisser de tâche durable sur le papier. (**Bousbia, 2011**). Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau, à l'exception de certaines essences telles que : l'amande amère, de cannelle, de sassafras qui sont plus lourdes que l'eau (**Faye et al, 1997**).

D'après **Conner (1993)** les huiles essentielles sont des produits odorants issus de métabolite secondaire, formés dans des cellules spécialisées ou bien un groupe de cellules. On les trouve généralement dans les fleurs et les feuilles et même dans les fruits, le bois, l'écorce, les racines ou les rhizomes et les graines (**Marouf et Tremblin, 2009**).

Les huiles essentielles sont multiplexes, c'est-à-dire elles sont composées de divers éléments, principalement à l'état liquide, mais peuvent également contenir des particules solides. Les rendements des HEs qui sont obtenus actuellement à la température ambiante peuvent apparaître incolores à jaune clair. Elles sont facilement absorbées par l'épiderme. Les attributs physiques des huiles essentielles comprennent une force de rotation et un indice de réfraction élevés (**Naeem et al, 2018**).

L'Association Française de Normalisation (**AFNOR**) a défini les huiles essentielles comme étant : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe de citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition...» (**Afnor, 2000**).

## 2 Les différentes familles des huiles essentielles :

La composition d'une huile essentielle est un mélange très complexe. (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).

Grâce à la structure chimique et sa configuration spatiale, on peut expliquer l'activité thérapeutique des différentes molécules qui constituent les huiles essentielles (Attanasio, 2018).

Selon Libbey Eurotext (2009) elles sont constituées des composés suivants : les composés terpéniques, les compose terpéniques oxygénés, les composés aromatiques et des composés d'origine diverse.

### 2.1 Composés terpéniques :

Les terpènes sont très répandus dans l'ensemble des huiles essentielles. Ce sont des hydrocarbures ayant respectivement dix et quinze atomes de carbone. De formule générale  $(C_5H_8)_n$ . Leurs structures sont très variables mais tous sont issus de l'assemblage de sous-unités isopréniques et du métabolisme du glucose. Ils ont une action stimulante et toxique. Certains ont des propriétés antivirales même à très basse concentration (Moro Buronzo, 2008 ; Libbey Eurotext,2009).

Leur classification est basée sur le nombre de unité isoprène (figure1) qui les compose : hémiterpènes ( $C_5$ ), monoterpènes ( $C_{10}$ ), sesquiterpènes ( $C_{15}$ ), diterpènes ( $C_{20}$ ), sesterpènes ( $C_{25}$ ), triterpènes( $C_{30}$ ), caroténoïdes( $C_{40}$ ) et les polyisoprènes( $C_n$ ) (Deschepper, 2017).

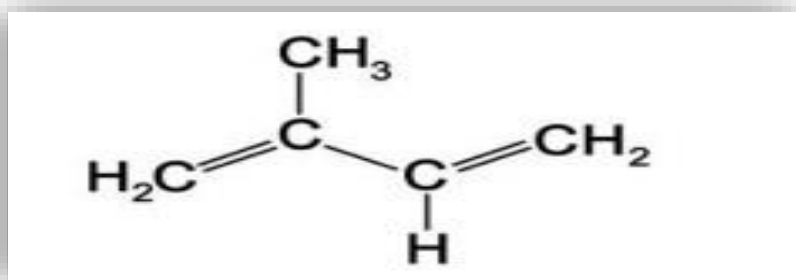


Figure 01 : Structure de l'unité isoprène

#### 2.1.1 Les monoterpènes :

Ils sont les principaux constituants de l'huile essentielle (90%). Ils sont présents dans des nombreux végétaux. Ils sont formés de deux unités d'isoprène( $C_{10}H_{16}$ ), ils peuvent être cycliques (myrcène) ou monocycliques (thymol et  $\rho$ -cimène) (figure 2), ou bicycliques (camphène). Ils sont légèrement antiseptiques, stimulants expectorants. Ils peuvent être irritants pour la peau et les muqueuses. (Moro Buronzo, 2008 ; Libbey Eurotext, 2009)



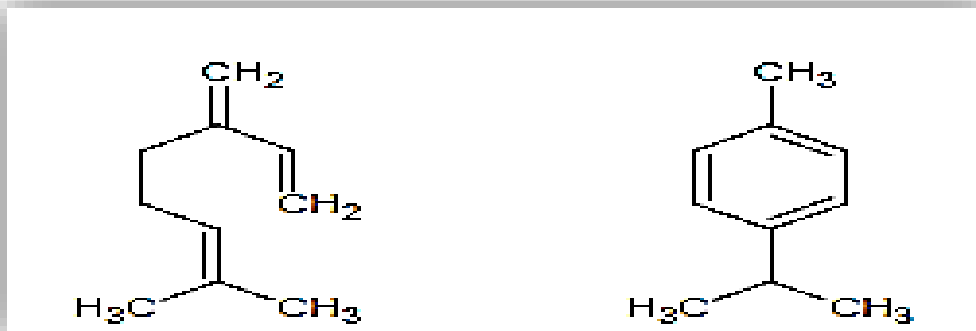


Figure 02 : Exemple d'un monoterpène acyclique à gauche (myrcène) et monoterpène cyclique à droite (p-cimène)

### 2.1.2 Les sesquiterpènes :

Ce sont des dérivés hydrocarbures (figure 3) composés de trois unités d'isoprènes ( $C_{15}H_{24}$ ), ils sont présents en faible quantité dans HE. Ils présentent des activités bactéricides et anti-inflammatoires (**Moro Buronzo, 2008 ; Libbey Eurotext, 2009**)

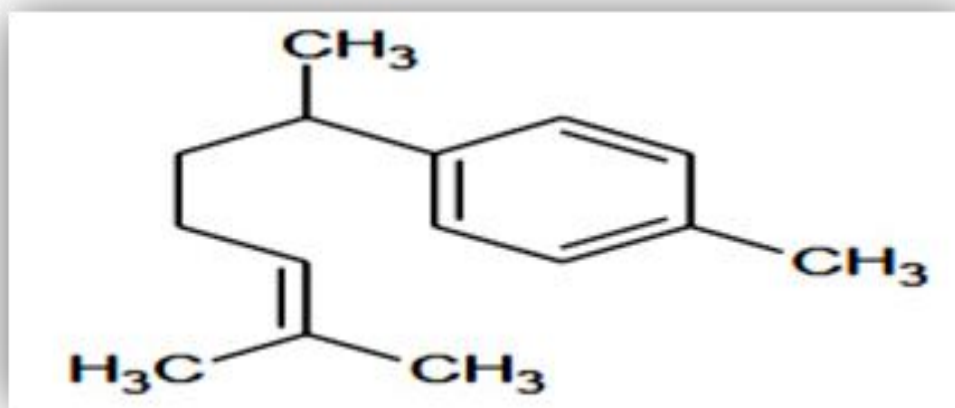


Figure 03 : structure générale d'un sesquiterpène

### 2.2 Les composés terpéniques oxygénés :

Ce sont des composés organiques, ils possèdent un groupe caractéristique renfermant un ou plusieurs atomes d'oxygènes. Ayant la structure des terpènes, ils appartiennent à différentes familles chimiques.

### 2.2.1 Les Alcools :

Les alcools font partie des dérivés terpéniques (**Laurent, 2017**). Ils comptent parmi les molécules les plus bénéfiques en raison de leurs propriétés antiseptiques, antivirales. Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques (**Moro Buronzo, 2008**).

Les alcools de ce groupe se forment lorsque les unités composées d'un atome d'hydrogène et d'un atome d'oxygène (hydroxydes) se relient à des atomes de carbone de la structure terpénique. On distingue les monoterpénols, les sesquiterpénols, les diterpénols (**Jouault, 2012**).

#### 2.2.1.1 Les monoterpénols :

Lorsque l'unité hydroxyle s'attache à un monoterpène, il en résulte un monoterpénol (**Jouault, 2012**). Les monoterpénols sont des anti-infectieux à large spectre, ils renforcent le système immunitaire. Ils sont indiqués dans toutes les pathologies bactériennes, virales et fongiques (**Laurent, 2017**).

#### 2.2.1.2 Les sesquiterpénols :

C'est un composé dérivé de la fixation d'un groupement hydroxyle sur un sesquiterpène, ces molécules exhibent des propriétés anti-inflammatoires et hépato-protectrices (**Jouault, 2012**).

#### 2.2.1.3 Les diterpénols :

Formés d'un hydroxyle fixé à un diterpène, les diterpénols sont souvent trop lourds pour être entraînés par la vapeur d'eau. Ils présentent une analogie structurelle avec certaines hormones stéroïdiennes. Ils ont une action mimétique (**Jouault, 2012**).

### 2.2.2 Les phénols :

Les HEs contiennent majoritairement des phénols terpéniques. Ils ont une action stimulante. Ils sont antiseptiques et bactéricides. Protégeant l'organisme des contaminations, ces composés sont très irritants pour la peau et les muqueuses (**Moro Buronzo, 2008**).

EX : *Thym vulgaire* à thymol (*Thymus vulgaris L*) (figure 4).

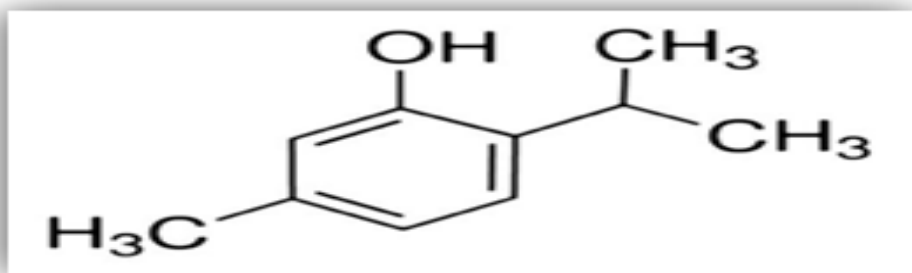


Figure 04 : Structure d'un phénol terpénique, le thymol

### 2.2.3 Les aldéhydes :

Ils sont formés par l'oxydation des alcools, ce sont des molécules très volatiles qui dégagent souvent une odeur puissante (**Moro Buronzo, 2008**). Dans le monde végétal, ils sont assez répandus. Ils ont un effet relaxant, calmant et anti-inflammatoire. Ils donnent un parfum d'agrumes à certaines huiles. Les aldéhydes terpéniques indiquent le rattachement d'un carbonyle à l'un des carbones de la structure moléculaire ainsi que la fixation d'un atome d'hydrogène à ce même carbone (**Helene, 2015**).

EX : l'HE d'Eucalyptus citriodora (eucalyptus citronne) contenant de la citronnellal (figure 5).

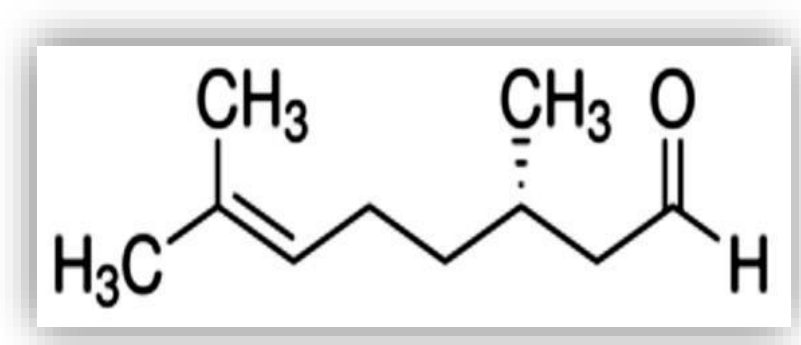


Figure 05 : structure de citronnellal

### 2.2.4 Les Cétones :

Ce sont des molécules très actives, ils indiquent la présence d'un carbonyle dans la structure (figure 6), les propriétés s'inversent en fonction de la dose employée. À faible dose, elles sont stimulantes du système nerveux central, Ils ont un effet relaxant et sédatif (**Jouault, 2012**).

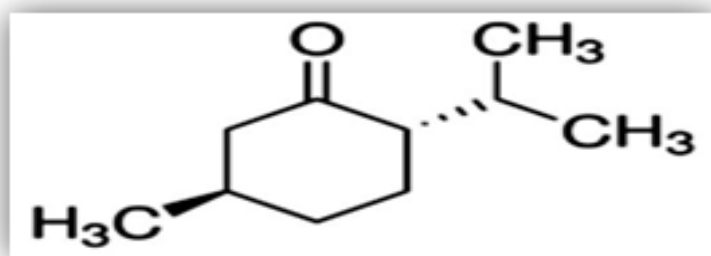


Figure 06 : structure d'une cétone terpénique, la menthone

### 2.2.5 Les oxydes :

Les oxydes sont des composés formés de la combinaison d'un oxygène avec une autre substance. Dans les huiles essentielles, on trouve les monoxydes, les dioxydes et les époxydes terpéniques. Ils ont une action sur les glandes exocrines des muqueuses respiratoires et digestives. En général, ils ont des propriétés mucolytiques, expectorantes, antibactériennes et antivirales (**Jouault, 2012 et Helene, 2015**).

### 2.2.6 Les esters :

Ils agissent directement sur le système nerveux central. Ils sont issus de la réaction d'un acide carboxylique avec un alcool. Ils ont une action équilibrante, apaisante et ils ont des propriétés anti-inflammatoires et de régénération des cellules. Les huiles essentielles de la lavande sont riches en esters (**Moro Buronzo, 2008**).

EX : l'HE de lavande vraie ou officinale (*Lavandula angustifolia*) (figure 7) contenant de l'acétate d'inalyle.

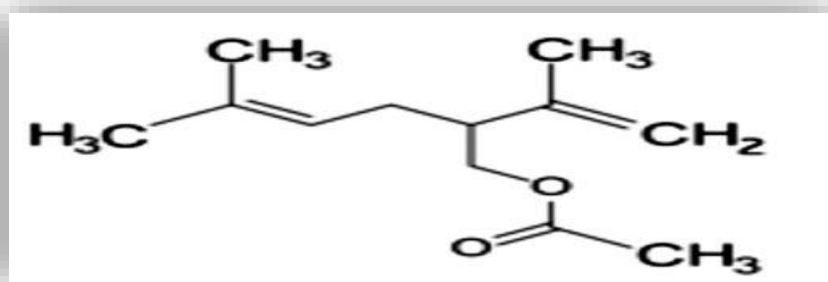


Figure 07 : Structure d'un ester terpénique, l'acétate de linalyle

### 2.2.7 Les lactones :

Les lactones sont des esters cycliques dérivés de l'acide lactique. Ils contiennent un oxygène hétérocyclique à côté d'une fonction carbonyle dans un cycle à cinq membranes ou plus (figure 8), il est saturé ou insaturé (**Berger, 2007**). Dans la plupart des cas, les lactones sont dégradées au cours du procédé d'hydrodistillation (**Laurent, 2017**). Ils ont des propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales. Ces molécules sont toxiques pour le système nerveux et abortif à forte dose. Ils sont rarement présents dans les plantes aromatiques (**Jouault, 2012**).

EX : l'HE d'inule odorante (*Inula graveolens Desf.*)

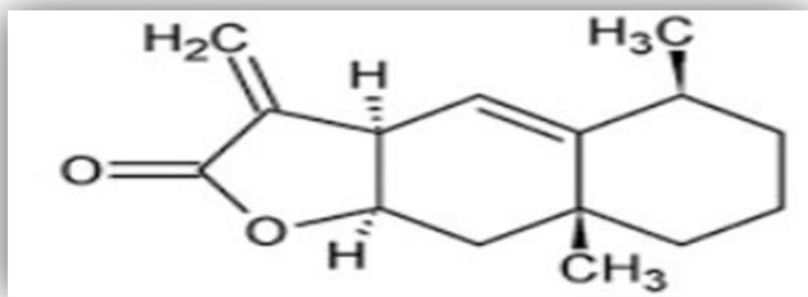


Figure 08 : structure d'alantolactone

### 2.3 Les composés aromatiques :

Les composés aromatiques des huiles essentielles sont principalement des dérivés du phénylpropane C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>. Ils sont beaucoup moins fréquents que les terpènes. Ils peuvent comprendre des phénols (chavicol, eugénol), des aldéhydes (cinnamaldéhyde), des alcools (alcool cinnamique), des dérivés méthoxy (anéthol, estragol) ou méthylène dioxy (myristicine, safrole) (**Bakkali *et al*, 2008**). La structure des différentes molécules est illustrée sur la Figure (09).

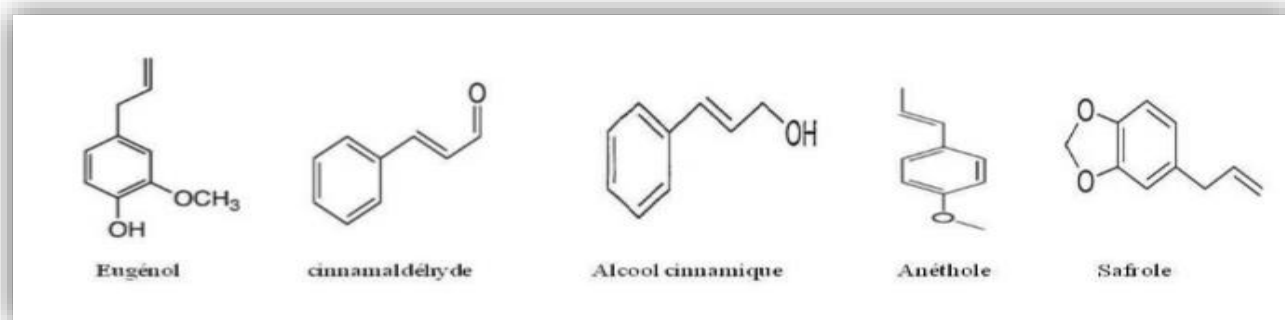


Figure 09 : Structure des composés aromatiques dérivés de phénylpropane

#### 2.3.1 Les Coumarines :

D'après **Bruneton (2009)** les coumarines (figure 10) sont issues du métabolisme de la phénylalanine via un acide cinnamique, l'acide 4-coumarique. La spécificité du processus est l'hydroxylation ensuite l'isomérisation photocatalysée de la double liaison enfin lactonisation (la réaction est spontanée). Les HES contenant des coumarines sont sédatives nerveuses et sont utilisées dans les problèmes d'insomnie (**Helene, 2015**).

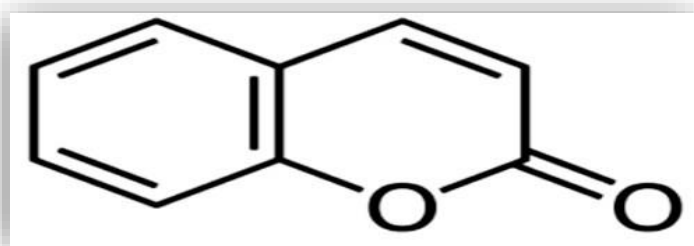


Figure 10 : structure générale de Coumarine

### 2.4 Les composés d'origines diverses :

Les huiles essentielles renferment certains composés aliphatiques (carbures, alcools, acides, esters, aldéhydes), ils sont entraînés lors de la distillation (**Libbey Eurotext, 2009**).

Les composés d'origines diverses résultent de la transformation des molécules non volatiles. Il s'agit de composé issu de la dégradation d'acide gras ou de terpène. D'autres composés comme les composés azotés et soufrés peuvent être présents dans la composition des HES (**Helene, 2015**).

### 3 Les méthodes d'extractions des huiles essentielles :

La production et la consommation mondiale d'huiles essentielles augmentent très rapidement. La technique de production est un élément essentiel pour améliorer le rendement global et la qualité de l'HE (Rassem *et al*, 2016). Il existe plusieurs procédés d'extraction des huiles végétales, cette diversité est due à la variété des matières végétales et à la sensibilité de certain constituant.

#### 3.1 Les méthodes classiques et conventionnelles :

Les techniques traditionnelles relatives au traitement des HEs revêtent une grande importance et sont encore utilisées dans des nombreux domaines.

##### 3.1.1 Hydrodistillation :

L'hydrodistillation est l'une des méthodes les plus anciennes et les plus simples. Utilisée pour l'extraction des huiles essentielles, cette méthode consiste à immerger le matériel végétal dans un bain d'eau, l'ensemble est porté à ébullition. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules volatiles contenus dans les cellules végétales. Le mélange volatil est en ensuite refroidi, condensé puis séparé en une phase aqueuse et une phase organique qui constitue l'huile essentielle. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation.

À l'échelle du laboratoire, le système basé sur ce principe qui est généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles en accord avec la pharmacopée Européenne est l'appareil de Clevenger (Marouf et Tremblin, 2009).

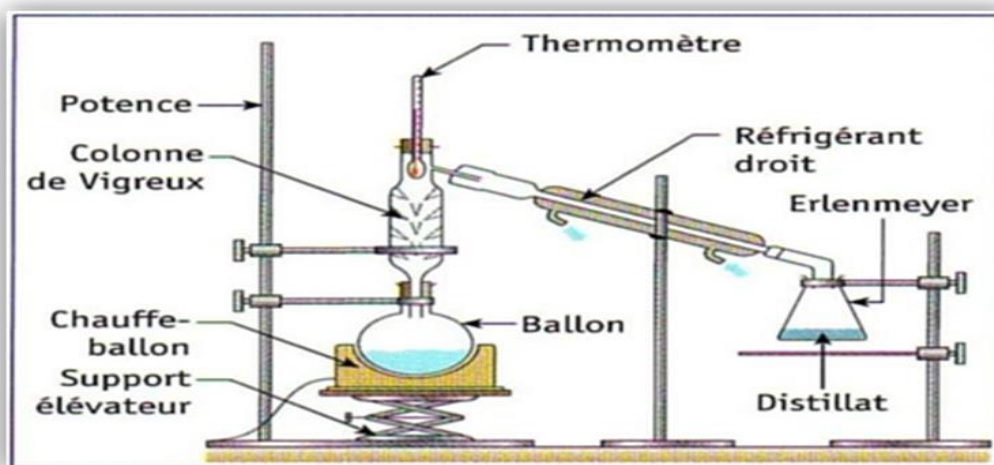


Figure11 : schéma du principe de la technique d'hydro distillation (Marouf et Tremblin, 2009)

##### 3.1.2 L'expression :

L'expression est réservée au péricarpe frais des fruits et agrumes. Cette opération consiste à faire éclater par différents procédés mécaniques (abrasion, compression, incision, perforation) les « poches » qui

sont situées à la superficie de l'écorce de ce fruit et qui renferment l'huile essentielle. L'essence libérée est ensuite recueillie par un courant d'eau (Marouf et Tremblin ,2009).



Figure12 : Schéma d'extraction d'huile essentielle par expression (Google, 2020)

### 3.1.3 Distillation par entrainement à la vapeur d'eau :

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur ascendant ou descendant sans macération préalable. Cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale, elle est basée sur le fait que la plupart des composés odorants volatils contenus dans les végétaux sont entraînés par la vapeur d'eau (Chenni, 2016). La matière végétale est répartie à l'intérieur de l'alambic, supportée par une grille. La vapeur d'eau, venant de la chaudière, est introduite dans l'alambic à travers une conduite placée au-dessous de la grille. Le flux ascendant de vapeur traverse le lit de matière végétale et entraine avec l'huile essentielle. Le mélange des vapeurs d'eau et d'huile arrive dans le condenseur où il est refroidi et condensé. Le distillat est recueilli dans le receveur et sa température est maintenue à une valeur fixe à l'aide du bain thermostaté. L'huile essentielle est séparée de l'eau de ce distillat par décantation. Les eaux de condensation accumulées au fond de l'alambic sont périodiquement évacuées, afin d'éviter tout contact avec la matière végétale (Charchari et Chahboub, 2001).

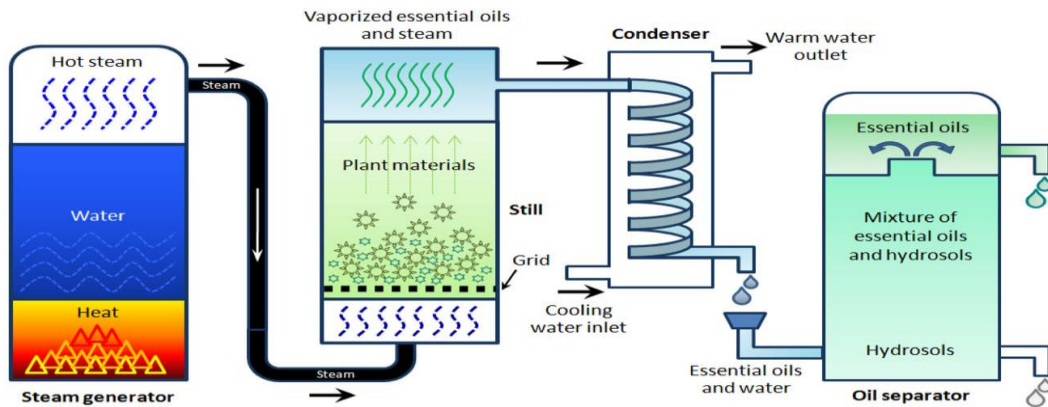


Figure 13 : Illustration schématique de la méthode de distillation par la vapeur d'eau (Tongnuanchan et Benjakul, 2014)

3.1.4 L'extraction par solvant :

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Le produit ainsi obtenu est appelé « concrète ». Cette concrète pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales. Après une dernière concentration, on obtient une « absolue ». Les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysant de l'eau ou de la vapeur d'eau. Parmi les solvants les plus utilisés, on recense : le méthanol, l'éthanol, l'éther de pétrole ou encore le dichlorométhane (Lucchesi, 2005).

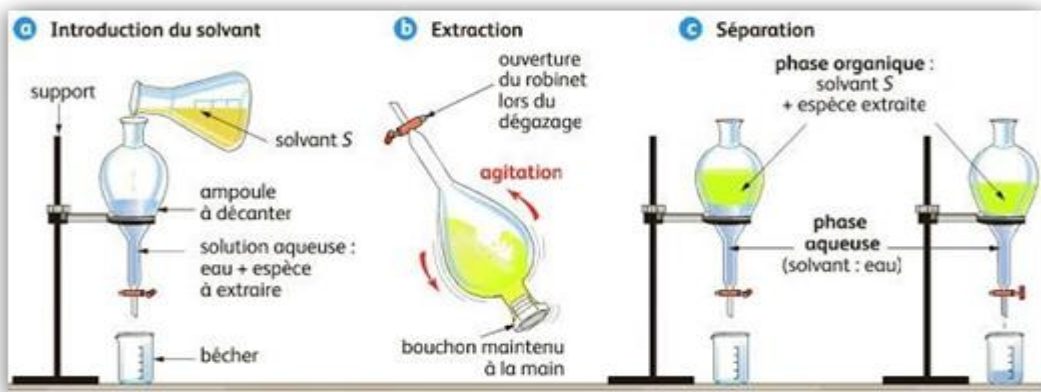


Figure 14 : Illustration schématique de la méthode d'extraction par solvant (Lucchesi, 2005)



### 3.2 Les Méthodes innovantes :

Depuis que l'économie, la compétitivité, le respect de l'environnement, la durabilité, la haute efficacité et la bonne qualité sont devenus les mots-clés de la production industrielle moderne, le développement des techniques d'extraction des huiles essentielles attire l'attention des plusieurs chercheurs et a permis la mise au point des nouvelles techniques d'extractions beaucoup plus écologiques utilisant des solvants moins toxiques et en moins grande quantité et aussi pour obtenir des extraits naturels d'une qualité supérieure.

#### 3.2.1 L'extraction par CO<sub>2</sub> à l'état supercritique :

L'extraction par CO<sub>2</sub> supercritique est une technique alternative à l'extraction par solvant organique pour les composés naturels, notamment les plus fragiles (Marouf et Tremblin ,2009). La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Il est ensuite injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, puis le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant. L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente (El haib, 2011).

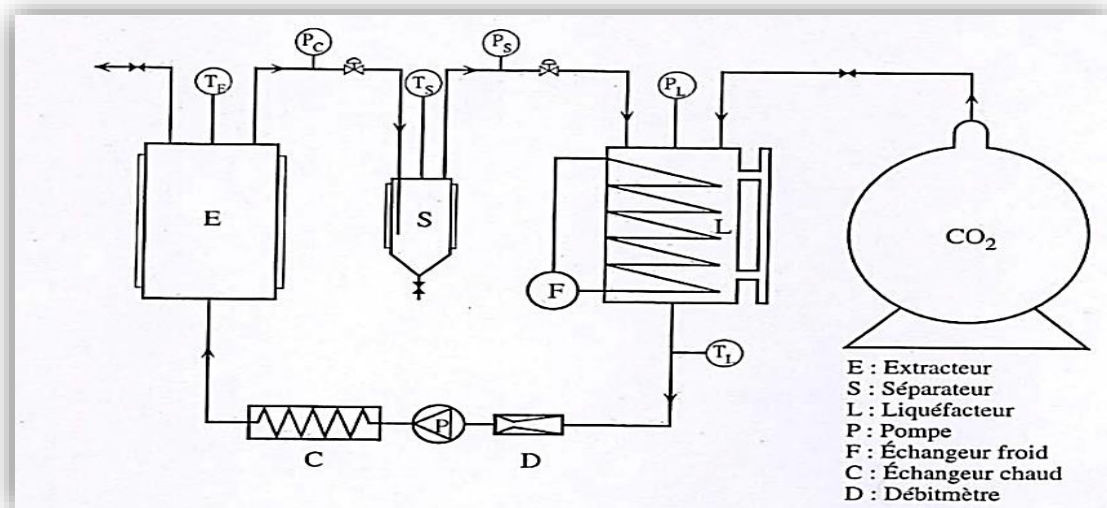


Figure 15 : montage d'extraction par le CO<sub>2</sub> supercritique (El haib, 2011)

### 3.2.2 Hydro distillation assistée par micro-ondes :

Ce procédé basé entièrement sur le principe de l'hydrodistillation classique consiste à placer une partie du montage d'hydrodistillation dans le four à micro-ondes. Le matériel végétal est donc placé en présence d'une quantité d'eau suffisante dans un ballon disposé dans une enceinte du four à micro-ondes. Le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération des essences sont situés à l'extérieur du four. Les avantages cités sont la rapidité et la similitude de la composition de l'huile par rapport à une hydrodistillation classique (Chemat et Lucchesi, 2005).

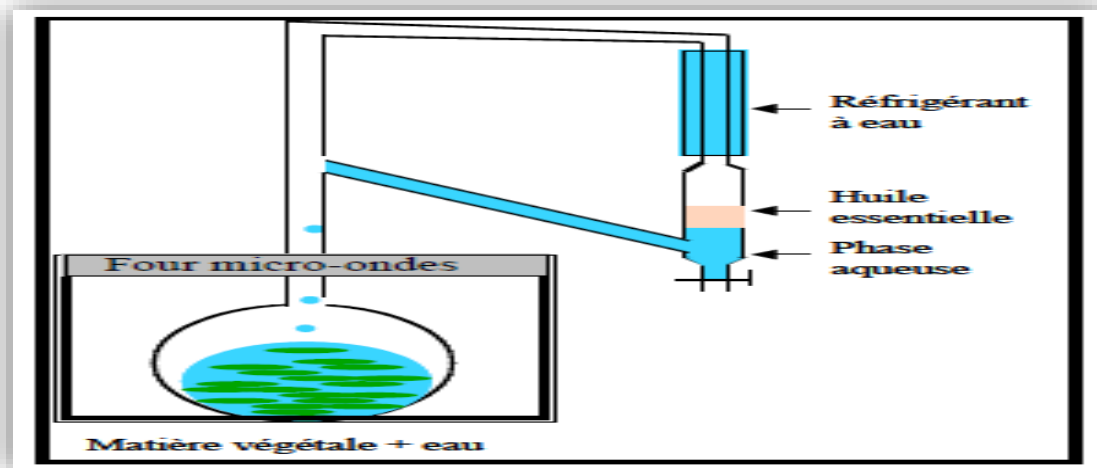


Figure 16 : illustration schématique de l'hydrodistillation assistée par micro-ondes (Chamate et Lucchesi, 2005)

### 3.2.3 L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes :

L'extraction des produits naturels assistée par micro-ondes sans solvant et sans eau à pression atmosphérique, a été développée et brevetée en 2004. Cette méthode décrit une distillation sèche assistée par micro-ondes qui consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes sans ajouter ni eau ni solvant organique. Le chauffage de l'eau interne à la plante permet la rupture des glandes contenant l'huile essentielle. Cette étape libère l'huile essentielle qui est ensuite entraînée par la vapeur d'eau produite à partir de l'eau de la matière végétale. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, de façon continue et le retour de l'excès d'eau à l'intérieur du ballon afin de maintenir le taux d'humidité propre au matériel végétal (Chemat et Lucchesi, 2005).

#### 4 Les activités biologiques des huiles essentielles.

Les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées dans différents domaines. La plupart de leurs propriétés sont dues aux huiles essentielles produites par leur métabolisme secondaire (**Sartoratto et al, 2004**).

##### 4.1 Les activités antimicrobiennes et antiseptiques :

Les huiles essentielles peuvent agir comme agents antibactériennes contre un large spectre des souches pathogènes et inhibent leurs croissances et leurs développements par exp *Listeria monocytogènes*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.... etc (**Properzi et al, 2013**). En général, l'activité antimicrobienne élevée des huiles essentielles est mieux observée chez les bactéries gram-positives que les bactéries gram-négatives (**Tongnuanchan et Benjakul, 2014**). Les HEs possèdent les plus importantes propriétés antimicrobiennes contre les agents pathogènes d'origine alimentaire, ces HEs contiennent un pourcentage élevé des composés phénoliques tels que le carvacrol et le thymol (**Burt, 2007**).

D'après **Bruneton (2009)**, la lavande, le thym, la cannelle, l'eucalyptus possèdent des HEs les plus antiseptiques. Ils sont également actifs sur des champignons responsables des mycoses et sur des levures, leurs doses actives sont généralement faibles et sont utilisées comme conservateur.

##### 4.2 Les huiles essentielles en tant que pesticides verts :

Les problèmes environnementaux causés par la surutilisation des pesticides ont été le sujet de préoccupation des scientifiques ces dernières années. Le concept " pesticides verts " suggère d'éviter l'utilisation de tout pesticide ou bien des produits phytosanitaires afin d'éliminer le taux de toxicité, qui comportent des risques pour la santé humaine et pour l'environnement.

L'utilisation de nombreuses huiles essentielles ou de leurs composants (terpénoïdes) s'ajoute à ce concept naturel en raison de leur volatilité, de leur persistance limitée. Les bio- pesticides à partir des huiles essentielles sont caractérisés par leur faible rémanence (**Bessah et Benyoussef, 2015**) et leur effet non toxique pour les mammifères, les oiseaux et les poissons et notamment l'homme. Les huiles (d'eucalyptus et de la citronnelle) présentent un large spectre d'activité contre les insectes nuisibles, les ravageurs et les champignons phytopathogènes. Ils interfèrent avec le système nerveux octopaminergique des insectes.

Ces "pesticides verts" peuvent également s'avérer efficaces dans la production des aliments biologiques (**Koul et al, 2008**).

##### 4.3 L'activité anticancéreuse :

Les huiles essentielles et leurs composants aromatiques individuels ont montré une inactivité suppressive du cancer lorsqu'ils ont été testés sur un certain nombre de lignées des cellules cancéreuses humaines (**Hamid et al, 2011**). Les huiles essentielles peuvent être utilisées en combinaison avec une

thérapie anticancéreuse afin de réduire les effets secondaires des médicaments. La cytotoxicité des huiles essentielles est due à leur action sur l'intégrité cellulaire, entraînant la nécrose et l'apoptose, l'arrêt du cycle cellulaire et la perte de la fonction des organelles clés. C'est pourquoi l'évaluation de l'activité anticancéreuse des huiles essentielles et de leur innocuité sur des lignées cellulaires normales est d'une grande importance (Morsy, 2017).

#### 4.4 Activité antioxydante :

L'activité antioxydante des huiles essentielles est une autre propriété biologique de grand intérêt car elle peut préserver les aliments des effets toxiques des oxydants. De plus, les huiles essentielles peuvent également piéger les radicaux libres ce qui montre leur rôle dans la prévention des certaines maladies (Miguel, 2010).

Selon Tongnuanchan et Benjakul (2014), les huiles essentielles ont plusieurs modes d'action en tant qu'antioxydants, tels que les piégeurs des radicaux libres, les agents réducteurs, l'arrêt des peroxydes, la prévention de l'abstraction continue d'hydrogène ainsi que les extincteurs de la formation d'oxygène singlet et la liaison des catalyseurs d'ions de métaux de transition. Grâce à ces fonctions, les huiles essentielles peuvent servir d'antioxydants naturels potentiels, qui peuvent être utilisés pour prévenir l'oxydation des lipides dans les systèmes alimentaires.

D'après Halliwell (1990), les antioxydants sont définis comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat ».

En fonction de leur origine, les antioxydants sont classés :

- ✚ **Des antioxydants synthétiques** : habituellement utilisés, sont des composés phénoliques. Vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, ils sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité (Guo *et al*, 2006).
- ✚ **Des antioxydants naturels** : ce sont les plus préférés par rapport aux produits synthétisés, ainsi les sources sont nombreuses et variées, on les trouve dans les fruits (pommes, poires, fruits rouges.....), les légumes (brocoli, oignon...), les boissons (café, thé, vin...) ainsi que dans les épices, le cacao ou encore les céréales (Desmier, 2016)

Tableau 01 : exemple des antioxydants naturels et synthétiques

Synthétique	Naturel
BHA (Butyl Hydroxy Toluène)	Caroténoïde ( $\beta$ - carotène)
BHT ((Butyl Hydroxy Anisol)	Polyphénols et flavonoïdes
TBHQ (Ter Butyl-Hydroxy-quinone)	Vitamine E
Les ester d'acide gallique	Acide ascorbique (vitamine C)

## 5 Les applications industrielles des huiles essentielles :

L'intérêt grandissant de la population pour les produits de santé naturel et bio a contribué au développement de l'industrie des huiles essentielles ces dernières années. La composition chimique de l'HE lui confère des propriétés intéressantes, ce qui l'a rendu utilisé dans nombreux secteurs industriels tels que l'industrie agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique, chimique et agricole, et dans les produits d'hygiène.

### 5.1 Dans les parfums et les cosmétiques :

L'industrie des cosmétiques, savonneries et parfums constituent le plus gros consommateur d'huiles essentielles. Il représente 60 % de la demande totale en substances naturelles (**Bessah et Benyoussef, 2015**).

Actuellement, près de 300 huiles essentielles ont une importance commerciale et sont utilisées comme matière première de base en parfumerie ou dans les produits cosmétique ou hygiéniques. Ce secteur se caractérise par une très grande variété des produits, à titre d'exemple l'huile de ylang- ylang et l'HE de vétiver, très utilisable en cosmétologie et en parfumerie et en savonnerie elles jouent le rôle de fixateur naturel.

Les HEs servent aussi en hygiène, en esthétique corporelle sous forme de lotions, d'eaux florales, des crèmes, des gels, des pommades (**Kenoufi, 2018**).

### 5.2 En aromathérapie et pharmacie :

Les vertus thérapeutiques des huiles essentielles sont connues depuis très longtemps, représentent la base de la médecine traditionnelle (**Mnayer, 2014**). Le marché mondial des médicaments traditionnels à base des plantes est estimé à 60 000 millions de dollars. (**Bessah et Benyoussef, 2015**). L'utilisation des HEs dans différentes pathologies (digestive, infectieuse, cancer...) fait appel à leurs propriétés : anti-infectieuses, antalgiques, anti-inflammatoires, sédatives, antimicrobiens, antispasmodiques et antioxydants. Peuvent être utilisées directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des principes actifs.

L'industrie pharmaceutique emploie également les huiles essentielles sous un nombre grandissant des formes (complexes à vaporiser, pastilles, gélules, dentifrices, etc...). Ces préparations contenant des huiles essentielles répondent à la réglementation des médicaments à base de plante (**Deschepper, 2017**).

### 5.3 En agriculture :

Certaines huiles essentielles et/ou leurs composants présentent un large spectre d'activité contre les insectes nuisibles, les champignons pathogènes et les nématodes (**Marouf et Tremblin, 2009**).

Selon **Deschepper (2017)** l'utilisation des huiles essentielles dans le domaine de l'agriculture est encore débutante mais est appelée à se développer. En effet, le contexte réglementaire actuel incite fortement à développer des produits phytosanitaires d'origine naturelle comme alternative au moyen de lutte chimique. Actuellement Les HEs sont testés sur différentes cibles : les insectes, les champignons, les bactéries, les adventices et également pour la conservation des semences.

### 5.4 En industrie agroalimentaire :

Les maladies d'origine alimentaire sont un problème de santé publique dans le monde entier. Un contrôle efficace est nécessaire par l'utilisation de plusieurs techniques de conservation durant la fabrication et le stockage des produits alimentaires. Cependant, la perception négative des consommateurs pour les additifs synthétiques a suscité un intérêt croissant pour trouver des alternatives naturelles (**Cherrat, 2013**).

Les HEs sont utilisées dans une très vaste gamme des denrées alimentaires, comme la préparation des boissons alcoolisées, les sodas, les confiseries et les soupes préparées etc. Des divers nombres des composants de ces huiles essentielles ont été enregistrés par la commission européenne pour être utilisés comme arômes et exhausteurs des goûts dans les denrées alimentaires, par exemple *le linalool, thymol, l'eugénol, carvone, le cinnamaldéhyde, vanilline, le carvacrol, le citral et le limonène*. Les effets organoleptiques indésirables peuvent être limités par une sélection rigoureuse des HEs en fonction du type d'aliment.

D'autre part, les huiles essentielles des différentes sources peuvent être exploitées aussi comme additifs naturels dans les industries agroalimentaires et comme un agent de conservation des divers produits, grâce à leurs propriétés antimicrobiennes, antivirales, antifongiques, insecticides, et anticancéreuses.

### 5.5 Emballages actifs contenant des huiles essentielles et applications :

La capacité des huiles essentielles des plantes à protéger les aliments contre les micro-organismes pathogènes et d'altération a été signalée par plusieurs chercheurs.

D'après **Tongnuanchan et Benjakul (2014)**, un emballage actif contenant de l'huile essentielle peut être appliqué pour prolonger la durée de conservation et maintenir la qualité des aliments, tels que la viande, le poisson et leurs produits. Les films peuvent servir de support à divers agents antimicrobiens et

antioxydants qui peuvent maintenir la qualité fraîche, prolonger la durée de conservation des produits et réduire le risque de croissance des agents pathogènes.

Pour améliorer les propriétés de ces emballages, des composés ou des extraits sont incorporés non seulement pour augmenter la bio-activité mais aussi pour modifier la propriété des biomatériaux utilisés pour les emballages.

Des matériaux hydrophobes tels que les huiles essentielles ont été incorporés pour améliorer la propriété de barrière à la vapeur d'eau des films à base des protéines, par exemple, un film de protéine de muscle de poisson, un film de gélatine de poisson. À titre exemple, l'incorporation d'huiles essentielles de gingembre, et de curcuma.

Il a été démontré que l'huile essentielle hydrophobe pourrait augmenter l'hydrophobicité des films, réduisant ainsi la migration de la vapeur d'eau à travers le film. D'autre part, les HEs de faible densité sont séparées et localisées à la surface supérieure du film, formant ainsi la microstructure bicouche. L'ajout de l'HE a eu un impact sur la transparence du film, en fonction du type et de la concentration ajoutée.

---

**Chapitre 02 : Généralité sur la plante étudiée *Pulicaria vulgaris ssp pomeliana***

La région de Tlemcen est l'un des paysages d'Afrique du nord les plus diversifiés. Ce paysage, qui va du littoral jusqu'à la steppe, il est riche en taxons endémiques et rares. Liée notamment au climat particulièrement diversifié. Les monts de Tlemcen, avec 94 taxons endémiques, ils constituent un bon refuge pour des nombreuses espèces menacées. Parmi celles-ci, c'est *Pulicaria vulgaris ssp pomeliana* (Faure et Maire) E. Gamal-Eldin, une plante rarissime (RRR), endémique et surtout menacée, qui amène notre attention (**Babali et Bouazza, 2016**).

**1 Description de la famille Astéracée :**

Le mot « aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur. La famille des astéracées (composées) est celle qui compte le plus grand nombre d'espèce soit environ 25000 espèces réparties en 1300 genres, ce qui représente environ 8 à 10% de toutes les plantes à fleurs. Les composées ont une distribution mondiale (sauf l'Antarctique) avec une large diversification écologique. Toutefois, elles sont abondantes principalement dans les régions tropicales et subtropicales bordant les zones semi-arides et désertiques, elles sont moins fréquentes dans les forêts tropicales (**Kennouche, 2017**).

La pulicaria commune (*Pulicaria vulgaris*) fait partie de la famille des astéracées sa période de floraison s'étale de juillet à septembre. Il s'agit d'une plante annuelle. Sa disparition est liée à la réduction des zones humides, au comblement des mares. Notre étude se focalise sur une espèce endémique de la région de Tlemcen *Pulicaria vulgaris ssp pomeliana*.

**2 Espèce *Pulicaria vulgaris ssp pomeliana* :**

*Pulicaria vulgaris ssp pomeliana* est une plante originale et endémique de l'Algérie occidentale, extrêmement rare, considérée comme menacée d'extinction puisqu'elle ne se rencontre qu'à Terni (Tlemcen) longtemps oubliée (**Quezel et Santa 1963**).

**3 Description botanique :**

*Pulicaria vulgaris ssp pomeliana* est une plante très petite (de 5 à 35 cm de hauteur), dressées d'un vert clair. Entièrement pubescente. Elle se caractérise par une racine grêle. Une tige dressée et rameuse, dès la base, à rameaux étalés, souvent su dichotomes, avec un capitule dans la bifurcation. Des feuilles intactes entières ou su entières, sessiles et non auriculées, à peine semi-amplexicaules, linéaires-lancéolées, légèrement ondulées, à apex pointu et mucroné des fleurs jaunâtres à ligules ne dépassant pas ou dépassant peu l'involucre, à involucre large, des capitules de 5 à 7 mm de diamètre, hémisphériques, tous pédonculés. Des akènes nervurés, oblongs-cylindriques, de 1,4 à 1,7 mm de longueur, à Pappus externes brièvement cupuliformes, de 175 à 250 µm de long, à lobes triangulaires-ovales (**Babali et Bouazza, 2016**).





Figure 17 : photos originales de *Pulicaria vulgaris* ssp *pomeliana*

#### 4 Habitat et répartition :

*Pulicaria vulgaris* ssp *pomeliana* a été trouvée à oued en-nechef. C'est une plante préférée en général, les bordures basses, les lits d'oueds et les terrains inondés pendant les mois pluvieux de l'année, notamment d'octobre à juin. À Terni, plus précisément, cette plante ne se trouve que le long de l'oued en-nechef et ses chaâbas, vers l'embouchure du barrage d'el-mafrouch, à des altitudes comprises entre 1130 et 1208 m. La *Pulicaria* préfère les bordures basses des oueds et les terrains temporairement inondés pendant les mois pluvieux de l'année. La sécheresse et les actions anthropiques (déversement d'eaux usées, constructions) sont les causes principales de sa disparition (**Babali et Bouazza, 2016**).



Figure 18 : Biotope de *Pulicaria vulgaris* subsp. *pomeliana*

**5 La nomenclature :**

- ✚ *Pulicaria vulgaris subsp. Pomeliana* (Faure et Maire) E. Gamal- Eldin (1981)
- ✚ *Pulicaria vulgaris Gaertner subsp. pomeliana* (Faure et Maire) Quézel et Santa(1963), *comb. inval.*
- ✚ *Pulicaria pomeliana* Faure et Maire (1932)
- ✚ *Pulicaria dentata* Gussone non D.C. (1905).
- ✚ *Pulicaria vulgaris Gaertner subsp. dentata* Batt. (1889)

**6 La systématique :**

La classification botanique de *Pulicaria vulagaris ssp pomeliana* (tab 02)

Tableau 2 : Classification botanique *Pulicaria vulgaris ssp pomeliana* (**GBIF** : *Pulicaria vulgaris subsp. pomeliana* (Faure & Maire) Quezel & Santa)

Taxonomie	Description
Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Pulicaria</i>
Espèce	<i>Pulicaria vulgaris</i>
Sous espèces	<i>Pulicaria vulgaris ssp pomeliana</i>

**Matériel**  
**Et**  
**Méthode**

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire des substances naturelles & bioactives (LASNABIO) de l'université de Tlemcen.

### 1 Matériel végétal :

*Pulicaria vulgaris* ssp *pomeliana* est prélevé pendant la période de floraison vers la fin du mois de juillet 2019, dans la région de Tlemcen (Terni). Ensuite la partie aérienne de la plante est nettoyée puis séchée à l'ombre pendant une dizaine des jours, à l'abri de l'humidité et de la lumière à une température ambiante puis conservée dans des sacs en papier jusqu'à l'extraction.

### 2 Procédé d'extraction :



Figure 19 : Photo de *Pulicaria vulgaris* ssp *pomeliana* (Original)

La méthode d'hydrodistillation consiste à immerger 60g de la partie aérienne de la plante dans un ballon (6L) en verre rempli de 2/3 d'eau de son volume puis le mélange est porté à l'ébullition pendant 5 heures. La formation d'une vapeur va entraîner les constituants volatiles. La vapeur de l'huile qui se dégage passe à travers le serpentin de refroidissement en verre où aura lieu la condensation, puis elles s'écoulent en goutte-à-goutte dans un récipient où elles forment le distillat, ce dernier est un mélange de l'huile essentielle + eau. Ces deux phases se séparent par leur différence de densité (par une simple décantation). L'huile essentielle primaire récupérée à l'aide de l'éther d'éthylique, enfin l'huile obtenue après évaporation de l'éther est conservée dans des flacons opaques en verre bien scellé pour éviter toute dégradation de l'essence à basse température (4°C) jusqu'à son utilisation. (Marouf et Tremblin ,2009).

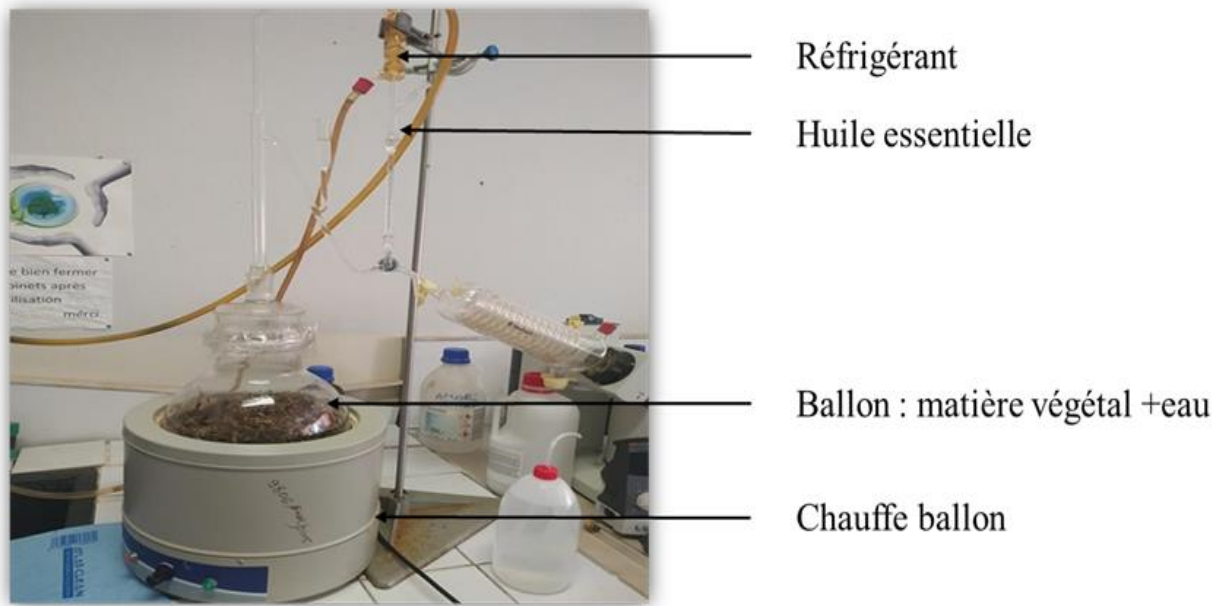


Figure 20 : montage d'hydrodistillation (appareil de type Clevenger)  
(Original)

### 3 Rendement en huile essentielle :

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction sur la masse de la matière végétale utilisée. Le rendement est exprimé en pourcentage et il est représenté par la formule suivante :

$$R \% = (M/M_s) \times 100$$

Avec :

R : Rendement de l'huile essentielle.

M : masse de l'huile essentielle exprimée en (g).

M<sub>s</sub> : masse de la matière végétale sèche utilisée exprimée en (g).

### 4 Caractéristiques organoleptiques :

Selon AFNOR 2000, les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont plus ou moins colorées et très odorantes. L'appréciation des caractéristiques organoleptiques de notre huile essentielle de *Pulicaria vulgaris* ssp *pomeliana* nécessite l'utilisation de nos sens afin d'évaluer l'aspect, l'odeur, la couleur.

### 5 Les méthodes d'évaluation de pouvoir antioxydant :

Depuis ces dernières années, les tests d'activités antioxydantes ont été largement développés pour évaluer l'efficacité des nouveaux composés. Diverses méthodes sont disponibles et mentionnées par la littérature permettent d'évaluer les différents aspects physico-chimiques du potentiel antioxydant dans différentes conditions. Certaines se basent sur la capacité réductrice d'un composé radicalaire, d'autres tests reposent sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger les composés radicalaires tels que les tests Trolox equivalent antioxidant Capacity (TEAC), Ferric-ReducingAntioxidant Power (FRAP), Oxygen radical absorbance Capacity (ORAC) et le test à la 2,2-diphényl -1- picrylhydrazyle (DPPH) et le test de blanchiment de  $\beta$ -carotène, etc.

Dans ce cadre nous nous sommes intéressées à l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Pulicaria vulgaris* ssp *pomeliana* en vue de sa valorisation en tant qu'antioxydant, nous avons utilisé le test DPPH selon la méthode de (Blois ,1958).

#### 5.1 Mesure de l'activité antioxydante par Piégeage du radical libre DDPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyle) :

Le test DPPH est l'un des tests les plus couramment utilisés qui est actuellement populaire, car il est simple et très sensible et non couteux.

En général, le pouvoir antioxydant des huiles essentielles testées est estimé par comparaison avec des antioxydants synthétiques tels que (acide ascorbique, BHT, BHA) ou bien des antioxydants naturels. Plusieurs facteurs influent sur le potentiel antioxydant et la cinétique de réduction, notamment les conditions de la réaction (temps, rapport Antioxydant/DPPH•, type de solvant).

##### 5.1.1 Principe :

D'après (Molyneux, 2004) le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle) (DPPH) est caractérisé comme un radical libre stable en raison de la délocalisation de l'électron de réserve sur l'ensemble de la molécule. Il est l'un des premiers radicaux à avoir été utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (figure 21)

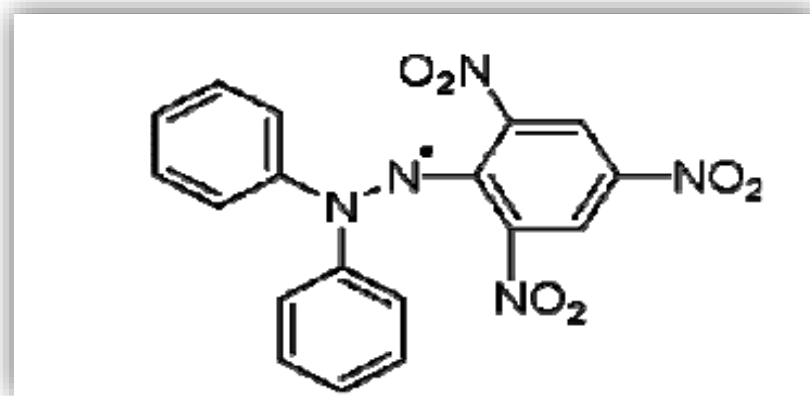
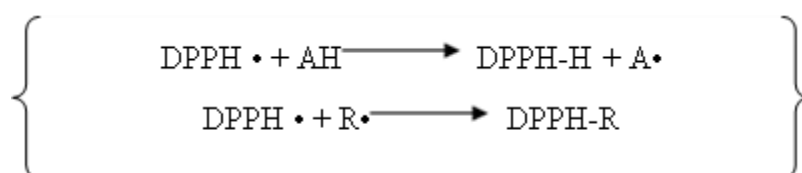


Figure 21 : structure chimique du radical libre DPPH• (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyle)

La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleu-violet, due à une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm. (Popovici et al, 2009)

La couleur passe du bleu-violet (forme radicalaire DPPH) au jaune (forme réduite DPPH-H), principalement à cause d'un transfert d'électrons rapide de l'échantillon au radical DPPH, selon la réaction suivante de (Brand-Williams et al, 1995).



L'extraction de l'hydrogène de l'échantillon par le radical DPPH est marginale, car elle se produit très lentement et dépend du solvant acceptant la liaison hydrogène. Le méthanol et l'éthanol sont généralement des solvants utilisés pour les tests de capacité antioxydante, qui acceptent fortement la liaison hydrogène, par conséquent la réaction d'abstraction d'hydrogène se produit très lentement (Miguel, 2010).

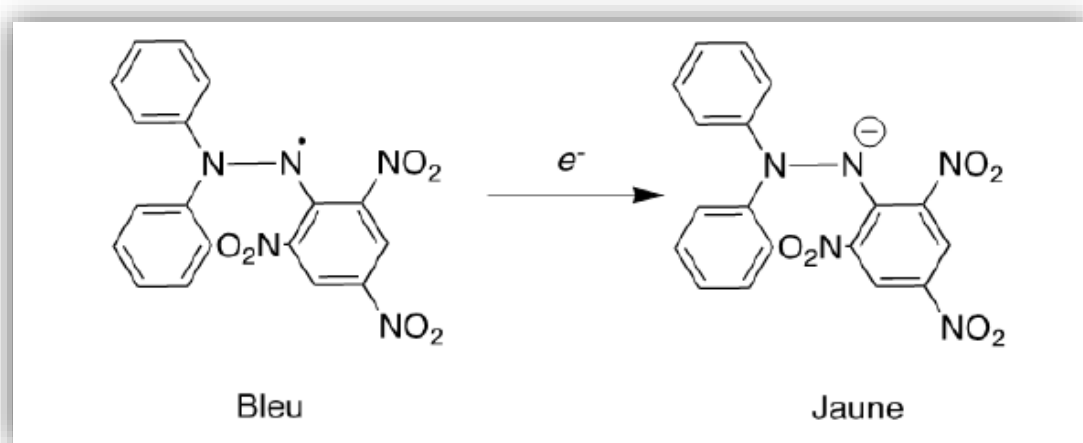


Figure 22 : modification du DPPH• lors du transfert électronique

### 5.1.2 Protocole :

L'activité anti-radicalaire de l'HE a été mesurée par la méthode de DPPH selon le protocole décrit par (Molyneux, 2003) avec quelques modifications.

Pour l'échantillon testé, une solution mère de 5 mg/ml est préparée dans l'éthanol, à partir de laquelle des dilutions sont préparées. L'acide ascorbique et BHT sont utilisés comme témoins positifs.

1 ml de solution de DPPH à 0.006 % dans l'éthanol a été ajoutée à 1 ml de l'échantillon à tester à différentes concentrations, après agitation le mélange est mis à l'obscurité pendant 30 mn et 1H, la densité optique est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le contrôle négatif est réalisé avec 1 ml d'éthanol et 1 ml de solution éthanoïque de DPPH. Les tests sont répétés 03 fois (figure23)



Figure 23 : Piégeage du radical libre DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyle)

### 5.1.3 Le pourcentage d'inhibition :

L'activité antioxydante liée à l'effet du piégeage du radical DPPH est exprimée en pourcentage d'inhibition où l'absorbance du mélange réactionnel qui contient le radical libre et l'échantillon de l'antioxydant est reliée avec l'absorbance du mélange sans aucun antioxydant (solution témoin ou contrôle) à un temps t. (Popovici et al, 2009) :

Le pourcentage d'inhibition est calculé comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Abs \text{ c} - Abs \text{ e}) / Abs \text{ c}] \times 100$$



Avec :

Abs c : absorbance du contrôle

Abs e : absorbance de l'échantillon testé

Les résultats sont exprimés selon la moyenne des valeurs.

### 5.1.4 Calcule de IC<sub>50</sub> :

La concentration inhibitrice de 50% est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH.

Les IC<sub>50</sub> de l'échantillon et des témoins sont calculées par Excel et les pourcentages d'inhibitions sont représentés par des histogrammes indiquent le pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations des fractions testées.

**Résultats  
Et  
discussion**

### 1. Rendement de l'huile essentielle :

L'extraction de l'huile essentielle étudiée est réalisée à l'aide d'un hydrodistillateur de type Clevenger durant cinq heures. L'extrait brut récupéré est pesé puis conservé à 4°C.

Le rendement en huile essentielle de la partie aérienne de *Pulicaria vulgaris* ssp *pomeliana* est de 0.6%.

En 2017 **Chaib et al**, ont obtenu un rendement de 0,5% de l'HE de *Pulicaria incisa* une espèce poussant à EL- Hoggar.

D'autres études menées par **Shahat et al (2017)** sur les huiles essentielles des feuilles fraîches de *Pulicaria incisa* sub. *Candolleana* de la région d'Égypte obtenues par hydrodistillation ont révélé un rendement identique à celui de notre HE qui est de 0.66%. D'autre part, ces mêmes auteurs ont noté un rendement nettement inférieur pour les fleurs de 0.33%.

Par ailleurs, **Al Fahimi et al (2015)** ont estimé un rendement de 0.84% pour *Pulicaria jaubertii* de la région de Yémen (sud du Yémen).

En Iran, **Bashi et al (2013)** et **Shariatifar et al (2014)** ont calculé le rendement de l'HE de partie aérienne de la même espèce *Pulicaria gnaphalodes*, ils ont constaté une grande différence, le rendement calculé est de 0.1% pour 200g et de 3% pour 100g de matière végétale respectivement.

Nous suggérons que ces variations en rendement en huiles essentielles pourraient être expliquées par plusieurs facteurs, l'espèce étudiée, l'origine de la plante, la partie ou l'organe utilisé, le milieu de récolte, la période de récolte et d'autre part, les pratiques culturales et les techniques d'extractions.

### 2. Analyse organoleptique

L'huile essentielle obtenue est de couleur jaune clair avec une odeur aromatique un peu piquante et un aspect liquide.

Nous avons comparé les caractéristiques organoleptiques de notre huile essentielle de *Pulicaria vulgaris* ssp *pomeliana* avec les autres espèces de la même famille citée précédemment. Les résultats sont mentionnés dans le tableau (03) :

Tableau 03 : Comparaison des caractéristiques organoleptiques des différentes espèces de genre *Pulicaria*

Propriétés	Aspect	Couleur	Odeur	Référence
<i>P. vulgaris</i> (l'Algérie)	Liquide	Jaune clair	Aromatique un peu piquante	_____
<i>P. incisa</i> (l'Égypte)	Liquide	Jaune	Agréable	(Shahat <i>et al</i> , 2017)
<i>P. incisa</i> (l'Algérie)	Liquide	Jaune clair	Parfumée et forte	(Chaib <i>et al</i> , 2017)
<i>P. jaubertii</i> (Yémen)	Liquide	Jaune	Parfumée	(Al-Fatimi <i>et al</i> , 2015)

### 3. Evaluation de l'activité antioxydante :

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés biologiques intéressantes a augmenté considérablement. Cette étude porte sur l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Pulicaria vulgaris* ssp *pomeliana* poussant à terni (Tlemcen). La comparaison des résultats est réalisée avec deux contrôles positifs l'acide ascorbique et BHT.

#### 3.1. Étude de l'activité antioxydante par la méthode du piégeage du radical libre DPPH :

Nous avons étudié le pouvoir anti-radicalaire des extraits de *Pulicaria vulgaris* ssp *pomeliana* sur le piégeage de radical libre DPPH. Ce test est largement utilisé en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse. Le radical DPPH• fixe un radical H• qu'il détache de l'antioxydant AH ainsi, il perd sa couleur violette et son absorbance à 517 nm pour se transformer en DPPH-H de couleur jaunâtre.

Les résultats obtenus sont présentés sous forme des graphes représentant la réduction du radical libre DPPH en fonction des concentrations.

La figure (24) montre les résultats du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations du composé testé pour 30min d'incubation. D'après la figure, on constate que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration. Il varie de 44,37 % à 57,99 %. D'autre part, on remarque que la concentration 5000 µg/ml de l'huile essentielle de *P. vulgaris* ssp *pomeliana* présente le meilleur pourcentage d'inhibition, il atienne la valeur de 57.99%.

Par ailleurs la concentration 4000 µg/ml montre un pourcentage d'inhibition très intéressant (56.26%). Par contre, les concentrations 2000 µg/ml et 3000 µg/ml ont enregistrées des faibles pourcentages

d'inhibitions 46,50% et 48,64% respectivement. Ceci montre que nos résultats sont significatifs pour une durée de 30min d'incubation seulement.

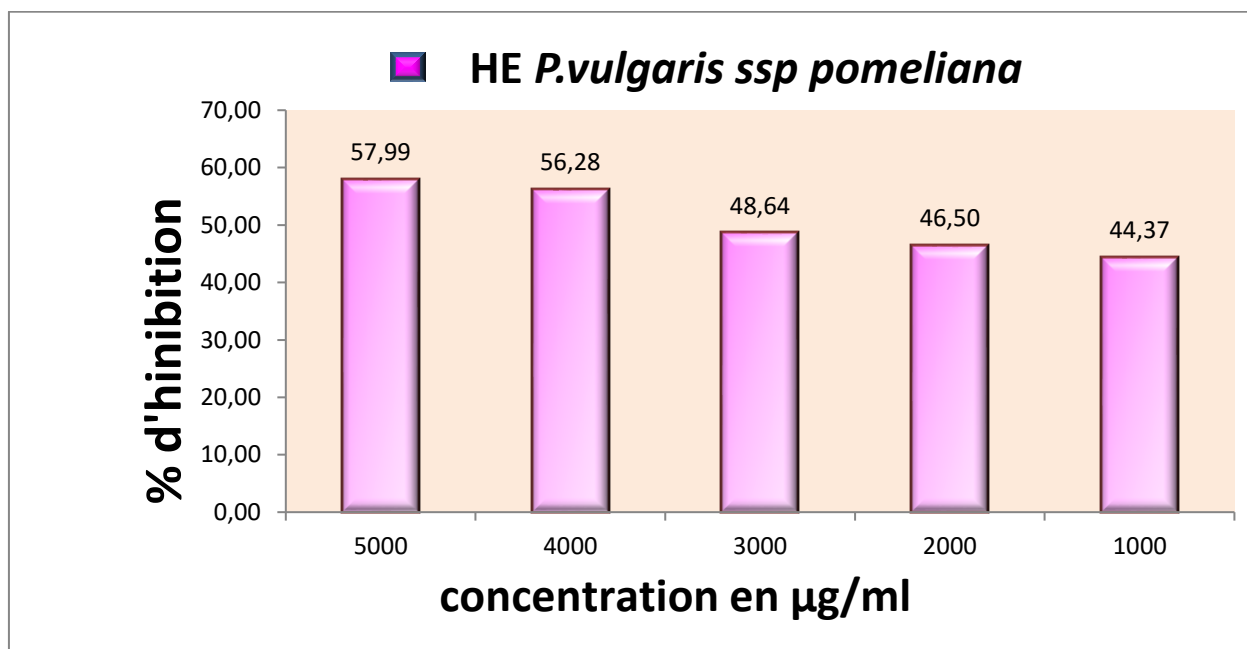


Figure 24 : Pourcentage d'inhibitions du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de *P. vulgaris ssp pomeliana* (30min)

Pour une durée de 1H on remarque que l'huile essentielle présente une activité antioxydante qui dépasse 50% pour une concentration de 2000  $\mu\text{g/ml}$ , il atteint la meilleure capacité de piégeage de DPPH 79,64% à la concentration de 5000  $\mu\text{g/ml}$ . Quant aux concentrations 1000  $\mu\text{g/ml}$ , 3000  $\mu\text{g/ml}$  et 4000  $\mu\text{g/ml}$ , le pourcentage d'inhibition est de 39.46%, 64.50% et 75.50% respectivement.

Plusieurs facteurs influent sur le potentiel antioxydant, notamment les conditions de la réaction telle que la composition chimique, le temps, le rapport Antioxydant/DPPH•, type de solvant.

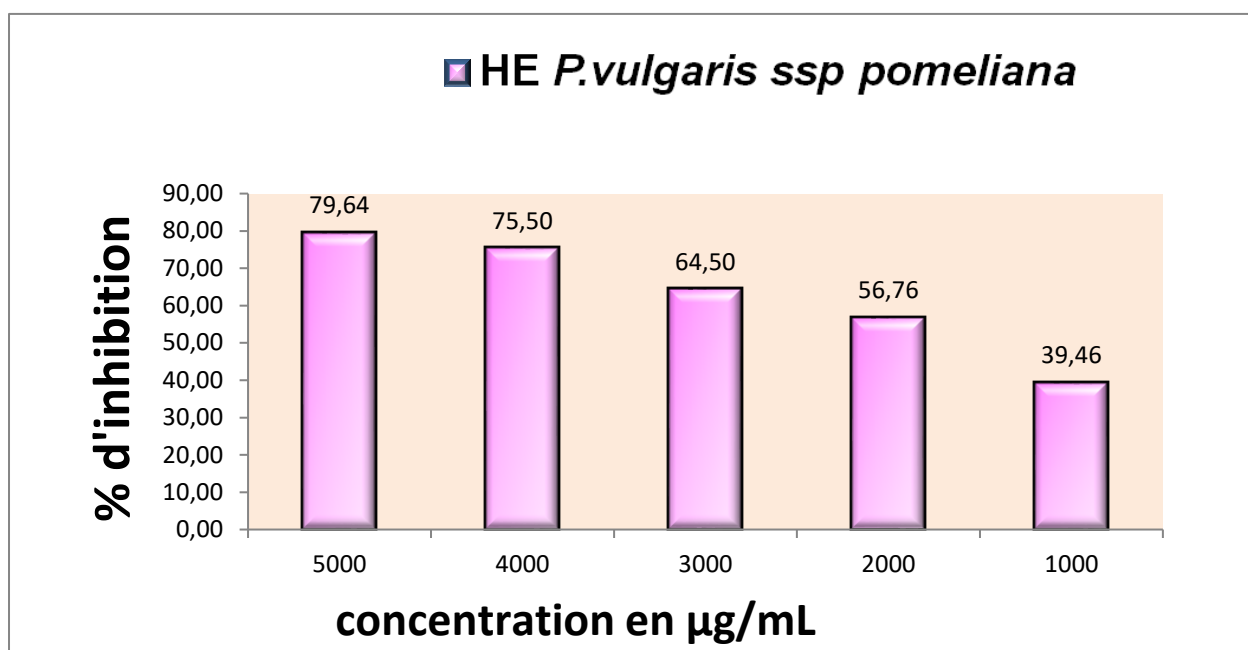


Figure 25 : Pourcentage d'inhibitions du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de *P. vulgaris ssp pomeliana* (1h)

À travers les histogrammes qui sont illustrées dans les figures 24 et 25, on remarque que le pouvoir anti-radicalaire dépend de la concentration de l'HE. En effet, nous avons remarqué une différence de la valeur du pourcentage d'inhibition entre les deux graphes, ce pourcentage est plus élevé pendant la durée de 1H par rapport à la durée de 30mn. On peut dire que l'efficacité antioxydante et la capacité de piégeage du radical DPPH est influencé de façon directe par le temps d'incubation.

### 3.2.Calcul d'IC<sub>50</sub> :

L'inhibition à 50% exprime la quantité d'antioxydants requise pour diminuer la concentration de 50% du radical libre. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est faible plus l'activité antiradicalaire d'un composé est importante.

Dans la présente étude, nous avons comparé notre huile essentielle avec deux témoins positifs BHT et Acide ascorbique, les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 04 : Les valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'HE et des témoins positifs

	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	
	30min	1 heure
<b>Acide ascorbique</b>	9.39 µg/mL	9.38 µg/mL
<b>BHT</b>	729.18 µg/mL	681.38 µg/mL
<b>HE <i>P.vulgaris</i></b>	1255 µg/mL	1178.5 µg/mL

Dans les premières 30 min d'incubation, l'huile essentielle est dotée d'un pouvoir antioxydant modérer la valeur d'IC<sub>50</sub> est de 1255 µg/ml, elle est faible par rapport au BHT (IC<sub>50</sub>=729.18 µg/ml). On remarque une activité antiradicalaire très importante pour l'acide ascorbique (IC<sub>50</sub>=9.39 µg/ml).

Concernant les valeurs obtenues après 1H d'incubation, les résultats montrent une capacité de piégeage de DPPH plus au moins intéressante, l'IC<sub>50</sub> de l'HE enregistré est de 1178.5 µg/ml celui du BHT et de l'acide ascorbique sont de 681.38 µg/ml et de 9.38 µg/ml respectivement.

### 3.3.Discussion :

Les plantes médicinales sont une source riche en métabolites secondaires ayant des activités biologiques intéressantes (**Hussien et al, 2017**).

La recherche des nouvelles molécules est devenue indispensable. La lutte biologique par l'utilisation des substances naturelles pouvant constituer une alternative aux produits chimiques. Parmi ces substances naturelles, nous avons les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques (**Laib et Barkat, 2012**).

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité de résister à l'oxydation. Notre étude se focalise sur une espèce appartenant à la famille des astéracées : *P.vulgaris ssp pomeliana*.

À la lumière des résultats obtenus par l'étude du pouvoir anti-radicalaire par DPPH de l'HE, on constate que cette plante possède une activité antioxydante intéressante.

En termes de concentration, à 5000 µg/ml de l'HE de *P. vulgaris ssp pomeliana* possède le pourcentage anti-radicalaire le plus élevé pour les deux durées d'incubation par rapport aux autres concentrations. En effet, il atteint 79,64% après 1H d'incubation, alors qu'il est à 57.99% après une durée de 30mn. La littérature relève que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration de l'HE (**Chaib, 2018**).

L'activité antiradicalaire de l'huile essentielle pourrait être attribuée à sa teneur élevée en composé chimique majoritaire et minoritaire. Des espèces du genre *Pulicaria* contiennent divers composés bioactifs tels que les monoterpènes, les flavonoïdes, les acétylènes, l'isocomène et les lactones sesquiterpéniques. (Al-Hajj *et al*, 2014 ; Hanbali *et al*, 2005)

La capacité de piégeage à 50% du radical DPPH de l'HE de *P. vulgaris* ssp *pomeliana* est de 1178.5 µg/ml. Une étude réalisée par Shariatifar *et al* (2014) en Iran sur l'huile essentielle de *Pulicaria gnaphalodes* obtenue par hydrodistillation montre une faible capacité de piégeage de DPPH ( $IC_{50}=147 \pm 1,50$  µg/ml) par rapport au contrôle BHT ( $IC_{50}=4,9 \pm 0,25$  µg/ml). À Yémen, Al-Hajj *et al* (2014) ont remarqué que l'huile essentielle de *Pulicaria inuloides* a une activité antioxydante élevée,  $IC_{50} = 4.95 \pm 0.05$  µg/ml et le pourcentage d'inhibition est de 92.92%.

En comparant les valeurs du potentiel anti-radicalaire de notre huile essentielle ( $IC_{50}=1178.5$  µg/ml) et celui des témoins positifs testés BHT ( $IC_{50}=61.38$  µg/ml) et l'acide ascorbique ( $IC_{50}=9.38$  µg/ml) l' $IC_{50}$  de l'HE est le moins significatif. Cette comparaison n'est pas prise en grande considération car les concentrations ne sont pas identiques.

Une autre étude réalisée par Al-Fatimi *et al* (2015) sur l'huile essentielle extraite des fleurs de *Pulicaria jaubertii* montre un effet antioxydant faible ( $IC_{50} = 280$  µg/ml) comparé à l'acide ascorbique ( $IC_{50} = 6$  µg/ml). Il a été rapporté que certains monoterpènes oxygénés tels que la carvotanacétone et le bornéol présentent des potentiels antioxydants.

En Algérie dans la région du Hoggar, Chaib (2018) montre que l'huile essentielle de *P. incisa* obtenue par hydrodistillation présente une très bonne activité antioxydante avec un ( $IC_{50} = 3,37 \pm 0,12$  mg/ml) par rapport au BHT ( $IC_{50}= 0,21 \pm 0,018$  mg/ml). Il atteint un pourcentage d'inhibition égale 83,83 % à 10mg/ml.

En outre, Djermane *et al* (2016) ont noté que le pourcentage d'inhibition des radicaux libres pour l'huile essentielle de *Pulicaria arabica* est très faible, presque nul par rapport à celui de l'acide ascorbique à toutes les concentrations testées. La faible activité antioxydante de l'huile essentielle peut s'expliquer par son faible profil chimique en composés connus pour leurs effets antioxydants tels que les composés phénoliques.

D'autre part en Algérie, Gherib *et al* (2016) ont testé des extraits organiques du genre *Pulicaria*, c'est une plante médicinale endémique du Sahara algérien « *Pulicaria mauritanica* Coss. » Ces auteurs ont déduit que l'activité par DPPH sur l'extrait d'acétate d'éthyle des fleurs a montré une activité antiradicalaire similaire au BHT dont les valeurs d' $IC_{50}$  sont de  $IC_{50}=7,43$  µg/ml et  $IC_{50}=6,26$  µg/ml, celui de l'acide ascorbique est la plus importante elle est de 3,62 µg/ml.



En Iran, **Ravandeh et al (2011)** ont examiné l'extrait éthanolique de *Pulicaria undulata*, les résultats montre une activité antioxydante par DPPH plus faible par rapport au BHT, l'IC<sub>50</sub> est de 63,47 ppm et 25,86 ppm respectivement.

Ces différences en résultats s'expliquent par l'origine géographique de l'espèce, son cycle végétatif, la période de sa récolte ainsi que les méthodes d'extractions utilisées (**Chaib, 2018**)

Au cours des dernières années, des études sur les activités antioxydantes des plantes médicinales sont considérablement augmentées grâce à leur potentiel d'être utilisées en tant que sources d'antioxydantes naturelles. L'activité antioxydante, l'un des rôles physiologiques les plus importants de l'alimentation est censée de protéger les organismes des dommages oxydatifs et permet de prévenir les maladies réfractaires graves, notamment divers types de cancer, les maladies coronariennes, le diabète, les maladies neurologiques et autres.

La famille des astéracées contient un grand nombre d'espèces aromatiques et médicinales avec différents principes actifs et des propriétés biologiques très intéressantes. Ils sont largement utilisés dans les domaines de la cuisine et de la médecine traditionnelle, leurs huiles essentielles sont largement utilisées dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques.

Actuellement, plusieurs espèces appartenant à la famille des astéracées font l'objet des recherches phytochimiques visant à découvrir des nouveaux antioxydants.

D'autre part, **Chaib (2018)** montre que l'HE d'*A. graveolens* (IC<sub>50</sub>= 25,33± 4,36 mg/ml) contient une très faible capacité de piégeage de la DPPH, par rapport au témoin de BHT (IC<sub>50</sub>= 0,21 ± 0,018 mg/ml). En termes de concentration, cette HE a un très faible pourcentage d'inhibition de 9,73± 3,52% et 30± 3,65% pour les concentrations 5 mg/ml et 15 mg/ml respectivement.

**Sobrinho et al (2016)**, ont étudié l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Eupatorium ballotifolium* (Asteraceae) recueillies en Brésil, les résultats de la méthode du piégeage du radical de DPPH ont montré une faible capacité antioxydante avec un IC<sub>50</sub> de 222,17 µg/ml par rapport aux témoins positifs : IC<sub>50</sub> de thymol = 21,71 µg/ml et l'IC<sub>50</sub> de carvacrol = 25,5 µg/ml.

D'après **Segueni et al (2017)**, l'huile essentielle de *Hertia cheirifolia* récolté en Algérie possède une forte activité de piégeage des radicaux DPPH (88,47 %). Il a été remarqué qu'il a exercé une activité antioxydante plus importante que la vitamine C (71 %).

Selon **Moldovan et al (2017)** les résultats de la méthode de DPPH ont montré une activité antioxydante importante pour l'extrait de *Rudbeckia triloba* avec un IC<sub>50</sub> inférieur à (0.32%). Cela s'explique par sa richesse en hydrocarbures monoterpéniques.

# Conclusion

## Conclusion et perspective

---

Par sa position géographique, l'Algérie est très connue par sa richesse en plantes aromatiques et médicinales. Notre étude se focalise sur une espèce de genre *Pulicaria* de la région de Tlemcen *Pulicaria vulgaris* ssp *pomeliana*, c'est une plante endémique et originale appartenant à la famille des astéracées.

L'extraction de notre HE est réalisée par une hydrodistillation à partir d'un appareil du type Clevenger. Le pouvoir antioxydant de notre huile essentielle est évalué par la méthode de piégeage du radical libre DPPH (2,2 diphenyle-1-picrylhydrazyle).

Le rendement en huile essentielle de la partie aérienne de *Pulicaria vulgaris* ssp *pomeliana* est de 0.6%.

À la lumière des résultats obtenus par l'étude de l'activité antioxydante de *P. vulgaris* ssp *pomeliana* par DPPH le pourcentage d'inhibition atteint 79,64% à la concentration de 5000 µg/ml. La valeur d'IC<sub>50</sub> est de 1178.5 µg/ml, celles du BHT et Acide Ascorbique sont 9.39 µg/ml. 681.38 µg/mL respectivement.

En s'appuyant sur ces résultats, on constate que l'HE de *Pulicaria vulgaris* ssp *pomeliana* montre un pouvoir anti-radical important, mais il reste faible par rapport aux standards BHT et Acide ascorbique.

À notre connaissance, aucune étude n'est réalisée sur cette plante, si on considère cela comme une première étape, les résultats étaient prometteurs. Pour cette raison, il serait intéressant de faire des études plus approfondies sur l'huile essentielle de *Pulicaria vulgaris* ssp *pomeliana* afin d'isoler, de purifier et d'identifier les composés ayant une activité antioxydante et antifongique. En perspectives, plusieurs travaux peuvent être envisagés :

- L'étude phytochimique de l'HE par des techniques chromatographiques. L'analyse de l'huile essentielle par (CCM, CPG CPG/SM)
- La mesure d'activité antioxydante en utilisant d'autres tests telle que : la réduction de fer (FRAP), le blanchiment du β-carotène, piégeage du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), et essai de décoloration de radical cation (ABTS).
- L'étude d'autres propriétés biologiques telle que : l'activité antibactérienne, anti-inflammatoire, anti-pesticide, anti-enzymatique et anticancéreuse.
- La soumission de l'HE à une étude toxicologique.
- Détermination du potentiel conservateur des huiles essentielles sur les denrées alimentaires.

# **Références Bibliographiques**

**A**

- Afnor, (2000). Association français de normalisation. Norme français : huile essentielle. *Ed. Afnor, paris.*
- Afnor, (2000). Huiles essentielles. Échantillonnage et méthodes d'analyse monographies relatives aux huiles essentielles (*Tome2*).
- Al-Fatimi, M., Awadh, N. A. A., Wurster, M., Al-Sokari, S. S., Lindequist, U., & Setzer, W. N. (2015). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Pulicaria jaubertii* from South Yemen. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(12), 1-9.
- Al-Hajj, N. Q. M., Wang, H. X., Ma, C., Lou, Z., Bashari, M., & Thabit, R. (2014). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of some aromatic medicinal plants (*Pulicaria inuloides*-Asteraceae and *Ocimum forskolei*-Lamiaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(8), 1287-1293.
- Arab, K., Bouchenak, O., & Yahiaoui, K. (2014). Phytochemical study and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 6(1), 77-91.
- Attanasio, D. (2018). Toxicité des huiles essentielles chez les enfants. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Toulouse III Paul Sabatier faculté des sciences pharmaceutiques, p. 57.

**B**

- Babali, B., & Bouazza, M. (2016). Redécouverte de *Pulicaria vulgaris* subsp. *pomeliana* (Faure et Maire) E. Gamal-Eldin (Asteraceae) dans la région de Tlemcen (Algérie occidentale). *Bull Soc Lin Prov*, 67, 45-52.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
- Bashi, D. S., Ghani, A., & Asili, J. (2013). Essential oil composition of *Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Boiss. Growing in iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(2), 252-256.
- Berger, R. G. (Ed.). (2007). *Flavours and fragrances: chemistry, bioprocessing and sustainability*. Springer Science & Business Media, 648 p.
- Bessah, R., & Benyoussef, E. H. (2015). La filière des huiles essentielles Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. *Revue des Energies Renouvelables*, 18(3), 513-528.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Bousbia, N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de Doctorat en chimie. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Alger, p. 3.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et augmentée. Paris : Tec & Doc-Éditions médicales internationales, 259p.

Burt, S. A. (2007). *Antibacterial activity of essential oils : potential applications in food*. Thèse de Doctorat. Utrecht University, p1-36.

### C

Conner, D. E. (1993). Naturally occurring compound. In 'Antimicrobials in foods'.(Eds PM Davidson, AL Branen), p. 441–468.

Couic-Marinier, F., & Lobstein, A. (2013). Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques*, 52(525), 18-21.

Charchari, S., & Chahboub, A. (2001). Optimisation de l'extraction par entrainement à la vapeur d'eau de l'huile essentielle d'eucalyptus globulus lab. *Recents progrès en génie des procédés*, (15), 261-268.

Chaib, F., Allali, H., Bennaceur, M., & Flamini, G. (2017). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from the aerial parts of *Asteriscus graveolens* (Forssk.) Less. and *Pulicaria incisa* (Lam.) DC.: Two Asteraceae herbs growing wild in the Hoggar. *Chemistry & biodiversity*, 14(8), e1700092.

Chaib, F. (2018). Etude de quelques plantes Sahariennes de Tamanrasset « El-Hogar » : Extraction, identification et activité biologiques des huiles essentielles. Thèse de doctorat en science biologique. Université d'Oran 1, 120p.

Chemat, F., & Lucchesi, M. E. (2005). Extractions assistées par micro-ondes des huiles essentielles et des extraits aromatiques. *Journal de la Société ouest-africaine de chimie*, (20), 77-99.

Chenni, M. (2016). Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic «*Ocimum basilicum* L.» extraite par hydro-distillation et par micro-ondes. Mémoire de doctorat, université d'Oran 1, p. 8-30.

Cherrat, L. (2013). Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de 5 plantes aromatiques et médicinales du Maroc et évaluation de leurs effets combinés avec des méthodes de conservation alimentaire. Thèse de doctorat en Microbiologie. Université Abdelmalek Essadi faculté des sciences technique-Tanger. p 5-24.

### D

Deschepper, R. (2017). Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de Doctorat en pharmacie. Faculté de pharmacie de Marseille, p. 14-57.

Desmier, T. (2016). Les antioxydants de nos jours : définition et applications. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Limoges faculté de pharmacie, p. 28-45.

Djermane, N., Gherraf, N., Arhad, R., Zellagui, A., & Rebbas, K. (2016). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of *Pulicaria arabica* (L.) Cass. *Pharma Letter*, 8, 1-6.

Durvelle, J. P. (1893). *Fabrication des essences et des parfums: plantes à parfum.-Extraction des essences et des parfums par distillation par expression et par les dissolvants*. J. Fritsch, p1-2.

Durvelle, J. P. (1930). *Fabrication des essences et des parfums*. Ed. Desforges, Girardot et Cie, 807 p.

### E

El Haib, A. (2011). Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques thèse de doctorat. Université Toulouse III-Paul Sabatier, P. 11.

### F

Faye, O., Lo, M., Diop, B., Gaye, O., Bah, I. B., Dieng, T., ... & Diallo, S. (1997). Knowledge and treatment of malaria in rural Senegal. *Medecine Tropicale: Revue du Corps de Sante Colonial*, 57(2), 161-164.

### G

Gherib, M., Chahrazed, B., El-Haci, I. A., Chaouche, T. M., & Bekkara, F. A. (2016). antioxidant and antibacterial activities of aerial part essential oil and some organic extracts from the algerian medicinal plant *pulicaria mauritanica* coss. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(1), 76-84.

Guo, L., Xie, M. Y., Yan, A. P., Wan, Y. Q., & Wu, Y. M. (2006). Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC-MS. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 386(6), 1881-1887.

### H

Halliwell, B. (1990). How to characterize a biological antioxidant. *Free radical research communications*, 9(1), 1-32.

Hamid, A. A., Aiyelaagbe, O. O., & Usman, L. A. (2011). Essential oils : its medicinal and pharmacological uses. *International Journal of Current Research*, 33(2), 86-98.

Hanbali, F. E., Akssira, M., Ezoubeiri, A., Mellouki, F., Benherraf, A., Blazquez, A. M., & Boira, H. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Pulicaria odora* L. *Journal of ethnopharmacology*, 99(3), 399-401.

Helene, V. (2015). Valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université d'angers, p. 69-81.

Hussein, K., Ahmed, A. H., & Al-Maqtari, M. A. (2017). Composition and radical scavenging activity of edible wild *Pulicaria jaubertii* (Asteraceae) volatile oil. *PSM Biological Research*, 2(1), 21-29.

### J

Jouault, S. (2012). La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité, thèse de Doctorat en pharmacie, Université de Lorraine, p. 24-40.

### K

Koul, O., Walia, S., & Dhaliwal, G. S. (2008). Essential oils as green pesticides : potential and constraints. *Biopesticides International*, 4(1), 63-84.

Kenoufi, M. (2018). Caractérisation histologique, caryologique, phytochimique et activités biologiques de *Senecio giganteus* Desf et *S. jacobaea* L, Thèse de doctorat en Biologie. Université Ferhat Abbas Sétif 1, p. 29-37.

Kennouche, S., & Bentamene, A. (2017). Etude phytochimique et biologique des espèces *Chrysanthemum segetum* L. (Asteraceae) et *Limonium pruinosum* (L.) Chaz. (Plumbaginaceae). Thèse de doctorat en Sciences en Chimie organique. Université des Frères Mentouri-Constantine faculté de science exacte, P. 4.

### L

Laib, I., & Barkat, M. (2011). Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*. *Agriculture*, 2(2), 89-101.

Laurent, J. (2017). Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Thèse de Doctorat en pharmacie, Université Paul Sabatier Toulouse 3, p. 21-67.

Libbey Eurotext, J. (2009). *Progrés en dermato- allergologie bordeaux*, Ed Paris, Pp123-126.

Lucchesi, M. E. (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en chimie, Université de la reunion, p. 22.

### M

Marouf, A., & Tremblin, G. (2009). *Abrégé de biochimie appliquée*. EDP sciences, p123-145.

Miguel, M. G. (2010). Antioxydant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules*, 15(12), 9252-9287.

Mnayer, D. (2014). Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Thèse de doctorat en chimie, Université d'avignon, p. 4-24.

Moro Buronzo, A. (2008). *Grand guide des huiles essentielles*. (Ed) Hachette pratique, p 27-30.

Morsy, N. F. S. (2017). Chemical structure, quality indices and bioactivity of essential oil constituents. *Active Ingredients from Aromatic and Medicinal Plants; InTech: London, UK*, 2841-2879.



Moldovan, Z., Buleandă, M., Oprea, E., & Mînea, Z. (2017). Studies on chemical composition and antioxidant activity of *Rudbeckia triloba*. *Journal of analytical methods in chemistry*, 2017,1-8.

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. sci. technol*, 26(2), 211-219.

### N

Naeem, A., Abbas, T., Ali, T. M., & Hasnain, A. (2018). Essential oils : Brief background and uses. *Annals of Short Reports*, 1(1), 1-6.

### P

Paradiso, A., Cecchini, C., De Gara, L., & D'Egidio, M. G. (2006). Functional, antioxidant and rheological properties of meal from immature durum wheat. *Journal of cereal science*, 43(2), 216-222.

Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, 4, 25-39.

Properzi, A., Angelini, P., Bertuzzi, G., & Venanzoni, R. (2013). Some biological activities of essential oils. *Medicinal & Aromatic Plants*, 2, 136.

### Q

Quézel, P. & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, Paris, Tome 2: 978-979.

### R

Rassem, H. H., Nour, A. H., & Yunus, R. M. (2016). Techniques for extraction of essential oils from plants : a review. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(16), 117-127.

Ravandeh, M., Valizadeh, J., Noroozifar, M., & Khorasani-Motlagh, M. (2011). Screening of chemical composition of essential oil, mineral elements and antioxidant activity in *Pulicaria undulata* (L.) CA Mey from Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(10), 2035-2040.

Riotte, B. (2015). Mon Guide huiles essentielles. Ed .145P.

### S

Sartoratto, A., Machado, A. L. M., Delarmelina, C., Figueira, G. M., Duarte, M. C. T., & Rehder, V. L. G. (2004). Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35(4), 275-280.

Segueni, N., Zellagui, A., Boulechfar, S., Derouiche, K., & Rhouati, S. (2017). Essential oil of *Hertia cheirifolia* leaves: chemical composition, antibacterial and antioxidant activities. *Journal of materials and Environmental Sciences*, 8(2), 551-556.

Shahat, E. A., Bakr, R. O., Eldahshan, O. A., & Ayoub, N. A. (2017). Chemical composition and biological activities of the essential oil from leaves and flowers of *Pulicaria incisa* sub. *candolleana* (Family Asteraceae). *Chemistry & biodiversity*, *14*(4), 1-10.

Shariatifar, N., Kamkar, A., Shamse Ardekani, M. R., Misagi, A., Akhonzade, A., & Jamshidi, A. H. (2014). Composition and antioxidant activities of Iranian *Pulicaria gnaphalodes* essential oil in Soybean oil. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, *27*(4), 807-812.

Sobrinho, A. C. N., de Souza, E. B., Rocha, M. F. G., Albuquerque, M. R. J. R., Bandera, P. N., dos Santos, H. S., ... & Carolina, S. P. C. (2016). Cytotoxicity, antifungal and antioxidant activities of the essential oil from *Eupatorium ballotifolium* Kunth (Asteraceae). *Afr J Pharm Pharmacol*, *10*, 346-355.

### T

Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential oils : extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, *79*(7), 1231-1249.

### Q

Quézel, P. & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, Paris, Tome 2: 978-979.

<https://www.gbif.org/species/8829632>

## الملخص:

لقد زاد الاهتمام بمضادات الأكسدة الطبيعية وخصائصها البيولوجية المثيرة للاهتمام مقارنة بالسنوات السابقة. في عدة قطاعات يجري تطوير بحوث علمية لاستخراج هذه المركبات، وتحديد كميتها من عدة مواد طبيعية، بما في ذلك النباتات العطرية. الهدف من هذه الدراسة هو البحث عن نشاط مضاد للأكسدة للزيت الأساسي لـ "*Pulicaria vulgaris ssp pomeliana*"، هذه الأخيرة تعتبر أصلية، مستوطنة ومهددة أيضا بالانقراض تنتمي إلى عائلة "Asteracées"، حيث تم حصادها في منطقة تيرني بتلمسان، أما الزيت الأساسي المستخرج عن طريق التقطير المائي فكان عائده مثيرا للاهتمام حيث بلغ 0.6%. أظهر النشاط المضاد للأكسدة الذي يقوم به الزيت الأساسي والذي تم تقييمه بواسطة طريقة DPPH فعالية كبيرة مضادة للأصولية (79.64%) مع  $IC_{50} = 1178.5 \mu g/ml$ ، إلا أنه ما زال منخفضا جدا مقارنة بالمواد المضادة للأكسدة القياسية التي استخدمت: حمض BHT مع  $IC_{50} = 681.38 \mu g/ml$  وحمض الاسكوربيك  $IC_{50} = 9.39 \mu g/ml$ . الزيت الأساسي لـ "*Pulicaria vulgaris ssp pomeliana*" لديه نشاط مضاد للأكسدة ملحوظ يمكن أن يستغل كحافظ في مجال صناعة الأغذية، وهذا يقودنا إلى مواصلة هذا العمل مستقبلا.

**الكلمات المفتاحية:** *Pulicaria vulgaris ssp pomeliana*، DPPH، الزيت الأساسي، استخراج، نشاط مضاد للأكسدة.

## Résumé :

L'intérêt porté aux antioxydants naturels en relation avec leurs propriétés biologiques intéressantes a augmenté par rapport aux années précédentes. Dans plusieurs secteurs, les recherches scientifiques sont développées pour extraire, identifier et quantifier ces composés à partir des plusieurs substances naturelles notamment les plantes aromatiques.

L'objectif de ce travail vise à réaliser une étude basée sur la recherche de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Pulicaria vulgaris ssp pomeliana* récolté à la région de terni (Tlemcen), une plante originale et endémique et surtout menacée qui appartient à la famille des astéracées. L'huile essentielle extraite par hydrodistillation a fourni un rendement très intéressant de 0,6%.

L'activité antioxydante d'huile essentielle évaluée par la méthode de DPPH (2,2 diphenyle-1-Picrylhydrazyle) a montré un pouvoir anti-radicalaire important (79,64%) avec une  $IC_{50}$  de  $1178.5 \mu g/mL$ . Il reste très faible par rapport aux antioxydants standards employés BHT et acide ascorbique avec une concentration d'inhibition  $IC_{50}$  :  $681.38 \mu g/mL$  et  $9.39 \mu g/ml$  respectivement.

L'huile essentielle de *Pulicaria vulgaris ssp pomeliana* présente une activité antioxydante remarquable qui pourrait être exploitée comme un agent conservateur en industrie agroalimentaire, cela nous mène à poursuivre ce travail ultérieurement.

**Mots clés :** *Pulicaria vulgaris ssp pomeliana*, extraction, huile essentielle, activité antioxydante, DPPH.

## Abstract :

The interest in natural antioxidants in relation to their interesting biological properties has increased compared to previous years. In several sectors, scientific research is being developed to extract, identify and quantify these compounds from several natural substances, including aromatic plants.

The objective of this work is to carry out a study based on the search for antioxidant activity of essential oil of *Pulicaria vulgaris ssp pomeliana* recolted in the region of terni (Tlemcen), an original and endemic and especially endangered plant belonging to the family asteraceae. The essential oil extracted by hydrodistillation provided a very interesting yield of 0.6%.

The antioxidant activity of essential oil evaluated by the DPPH method (2,2 diphenyl-1-Picrylhydrazyl) showed significant anti-free-radical potency (79.64%) with an  $IC_{50}$  of  $1178.5 \mu g/mL$ . It remains very low compared to the standard antioxidants used BHT and ascorbic acid with  $IC_{50}$  inhibition concentration :  $681.38 \mu g/mL$  and  $9.39 \mu g/ml$  respectively.

The essential oil of *Pulicaria vulgaris ssp pomeliana* has a remarkable antioxidant activity that could be exploited as a preservative in the food industry, this leads us to continue this work later.

**Keywords :** *Pulicaria vulgaris ssp pomeliana*, extraction, essential oil, antioxidant activity, DPPH.