الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Ferhat Abbas - Sétif
Faculté des Sciences
de la Nature et de la Vie

جامعة فرحات عباس - سطيف
كلية علوم الطبيعة والحياة

N° …./SNV/2012

قسم: الكيمياء الحيوية

مذكرة

مقدمة من طرف: **بوهدة آمنة**

لنيل شهادة **الماجستير**

تخصص: كيمياء حيوية و فزيولوجيا تجريبية

الموضوع

التركيب الكيميائي و النشاطية البيولوجية للزيت الأساسي لنبتة . *Daucus setifolius* Desf

نوقشت بتاريخ 2012 /07/02

أمام لجنة المناقشة

الرئيس: أ.د. بغياني عبد الرحمان	الرتبة أستاذ محاضر جامعة فرحات عباس سطيف
المشرف: أ.د. لعور حسين	الرتبة أستاذ محاضر جامعة فرحات عباس سطيف
ممتحن: أ.د. عكال صالح	الرتبة أستاذ محاضر جامعة منتوري قسنطينة
ممتحن: د. زروق محمد ميهوب	الرتبة أستاذ محاضر جامعة فرحات عباس سطيف

السنة الجامعية **2012-2011**

شكر و تقدير

الحمد و الشكر لله سبحانه و تعالى الذي وفقني لإنجاز هذا العمل.

أتوجه بالشكر الجزيل إلى الأستاذ المشرف: الدكتور البروفسور لعور حسين الذي وقف على هذا العمل و تابعته بإهتمام كبير خلال كل أطوار إنجازه، مقدما لي بذلك كل النصح و التوجيه لإتمامه على أكمل وجه.

كما يشرفني أن أتوجه بأسمى معاني الشكر و التقدير إلى السادة أعضاء لجنة المناقشة صاللح عكال، محمد ميهوب زروق و بغياني عبد الرحمان، بالإضافة إلى الأساتذة

أ. بوسواليم نوال، القلي مريم و لعمامرة مباركة أساتذة بمعهد البيولوجيا جامعة فرحات عباس سطيف.

كما يسعدني أن أوجه جزيل شكري و إمتناني إلى طلبة الماجستير تخصص كيمياء حيوية و فيزيولوجيا تجريبية دفعة 2009 لكل ما قدموه لي من مساعدة و إهتمام لإنجاز هذا العمل، دون أن أنسى صديقتي و زميلتي خنوف سامية، كل طلبة الماجستير و الدكتوراه في معهد البيولوجيا، مراتات فايزة ، عقون لبنى، حرار عبد الناصر، مضوي صورية، مرغم منيرة، شراقي صبرينة، عبابسة أحلام، نويوة وفاء، زادي وليدة و بونقاب صبرينة، و إلى كل الزملاء و الأصدقاء.

إهداء

إلى والديا الكريمين و جدايا العزيزين حفظهما الله دون

أن أنسى زوج عبد الجبار مراتات و كل عائلته.

مـلـخص

توجه الاهتمام للبحث عن مواد طبيعية بسيطة كالزيوت الأساسية لحل مشكلة مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية، نتيجة امتلاكها أنشطة بيولوجية مهمة منها النشاطية ضد الميكروبية، التي تعوض بنجاح المضادات الحيوية التي أثبتت عدم فعاليتها ضد البكتيريا المقاومة، الشيء الذي حثنا على إجراء التحليل الكيميائي و الدراسة الضد الميكروبية للزيت الأساسي المستخلص من نبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقتي سكيكدة و بجاية، بالإضافة إلى النشاطية المضادة للأكسدة. تمت عملية الإستخلاص بواسطة التقطير المائي، بينما تم تحليل الزيوت الأساسية بواسطة تقنية كروماتوغرافيا الطور الغازي المزاوجة مع مطياف الكتلة. أنجزت دراسة الأثر ضد الميكروبي باستخدام طريقة الانتشار على الوسط الصلب، في حين قدرت النشاطية ضد الميكروبية بواسطة طريقة التبخير. حدد التحليل الكيميائي لزيت النبتة المتحصل عليها من منطقة سكيكدة 13 مكون يهيمن عليهم sabinene بـ 37.65% و β-pinene بـ 28.62%، بالمقابل يتكون زيت نفس النبتة المتحصل عليها من منطقة بجاية من 10 مكونات يهيمن عليها: β-pinene بـ 41.1% و sabinene بـ 38.36%. أبدى كلا الزيتين نشاطية ملحوظة مع البكتيريا و الأعفان المدروسة، غير أن بعض هذه الأجناس أبدت نوعا من المقاومة. كما لوحظ أيضا أن الفعالية المضادة للأكسدة لزيت نبتة سكيكدة و زيت نبتة بجاية كانت جد معتبرة مقارنة بنشاطية مضاد الأكسدة المرجعي BHT.

الكلمات المفتاحية: *Daucus setifolius*، الزيوت الأساسية، النشاطية ضد الميكروبية، النشاطية المضادة الأكسدة.

Résumé

La recherche des substances naturelles simples comme les huiles essentielles est importante en vue de traiter le problème des bactéries résistantes aux antibiotiques. En effet, ces substances possèdent des activités biologiques telles que l'activité antimicrobienne, et par conséquence elles remplacent, avec succès, les antibiotiques démontrant leurs inefficacité contre les bactéries résistantes. De ce fait, le but de notre travail est de réaliser l'analyse chimique, d'évaluer l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle extraite de *Daucus* (de Skikda et Bejaia). L'extraction est réalisée par l' hydrodistillation, alors que l'analyse chimique de l'huile essentielle est réalisée par la technique de chromatographie gazeuse couplée au spectromètre de masse. En plus, l'étude antimicrobienne est faite en utilisant la méthode de diffusion sur milieu solide, tandis que l'activité antimicrobienne est évaluée par la méthode d'atmosphère. L'analyse chimique révèle que l'huile essentielle de la plante provenant de Skikda présente 13 composants dont sabinene et β-pinene sont les dominants avec 38.65 % et 28.62%, respectivement. Tandis que l'huile essentielle de la plante provenant de Bejaia contient 10 composants avec sabinene (41.1%) et β-pinene (38.36%). Les deux huiles montrent une activité considérable contre les bactéries et les champignons étudiés, cependant, certains de ces genres montrent certaine résistance. En plus, l'activité antioxydante de ces huiles est considérable comparant à celle de BHT.

Mots clefs: *Daucus setifolius*, huiles essentielles, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

Abstract

The rescarch of simple natural substances as essentiel oil is important allowing the treat of antibiotc résistant bacteria. Ilfact, The substances exhibe biological activities suchas antimicrobial activity, remplacing, with succes, The antibiotc which demonstrace its ineffeciency against resistant antibacterial. Thus, The ain of this study consist to perforus (realise) chimie analysis and to evalute both antimicrobial and antioxidant activities of essentiel oil from *Daucus* (Skikda and Bejaia). L'extraction was realised using hydrodistilation whereas, chemist analysis was performed using gazeous chromatography coupled with mass spectrometre. In addition, Antimicrobial study was occur ont using diffussion methode on solide nedium, Antimicrobial activity was evaluted using micro-atmospher methode. Chimist analysis revealed that essentiel oil (Skikda) presented 13 compounds, where sabinene and β-pinene were dominants with 38.65 % and 28.62 %, respectively. However, essentiel oil (Bejaia) presented 10 compounds, where sabinene (41.1%) and β-pinene (38.36%).were dominants. The two essentiel oil demonstrated a considerable activity againt with bacterial and fungi studies, However, some of these genus presented certain resistante. In addition, antioxidant activity of oil essentil was considerable compared to that of BHT.

Key words: *Daucus setifolius*, essential oils, antimicrobial activity, antioxidant activity.

الفهرس

- الملخص باللغة العربية
- الملخص باللغة الفرنسية
- الملخص باللغة الانجليزية
- قائمة المختصرات
- قائمة الجداول
- قائمة الأشكال
- مقدمة.....1

الجـــــزء النـــظري

الفصـــــــــــل I

دراسة النباتات الطبية

I-1 العلاج بالنباتات الطبية.....3

I-2 الأوصاف النباتية و المميزات العامة لعائلة *Apiaceae*.....4

I-3 وصف جنس *Daucus*..... 5

I-4 أهم مكوناته الكيميائية.....5

I-5 استعمالاته الطبية.....6

I-6 نبتة *Daucus setifolius* Desf.....6

I-6-1 وصفها النباتي.....6

I-6-2 تصنيفها.....7

الـفصـــــــل II

تثمين الموارد النباتية بدراسة الزيوت الأساسية

II-1 تعريف الزيوت الأساسية.....10

II-2 مكان تواجدها و دورها..... 11

II-3 ميزاتها الفيزيائية والكيميائية.....12

II-4 مكوناتها الكيميائية.....12

II-4-1 المكونات التربينية.....15

II-4-1-1 التربينات الأحادية.....18

II-4-1-2 السيسكوتربينات.....19

II-4-2 المركبات العطرية المشتقة من الفنيل بروبان.....20

II-4-3 المكونات ذات المصادر المختلفة.....20

II-5 الميزات العلاجية للزيوت الأساسية.....20

II-6 سمية الزيوت الأساسية.....22

II-6-1 احتياطات استعمال الزيوت الأساسية.....23

II-7 تقنيات استخلاص الزيوت الأساسية.....24

II-7-1 التقطير.....24

II-7-2 المراثة.....26

II-7-3 الإستخلاص بالمذيبات العضوية.....26

II-7-4 الإستخلاص بالعصر.....27

II-7-5 الإستخلاص بـ micro-ondes.....27

II-7-6 الإستخلاص بالغازات السائلة fluides supercritiques.....28

II-8 طرق تحليل الزيوت الأساسية.....29

II-8-1 كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.....29

II-8-2 كروتوغرافيا الطور الغازي (CPG).....30

II-8-3 الكروتوغرافيا الغازية المزاوجة مع مطياف الكتلة (GPC/SM).....30

II-8-4 الكروتوغرافيا السائلة ذات الضغط العالي HPLC.....31

II-8-5 التحليل الطنيني النووي المغناطيسي RMN.....31

II-9 النشاطية ضد الميكروبية لبعض الزيوت الأساسية..31

II-10 تقنيات الدراسة ضد الميكروبية..36

II-10-1 تقنية الاتصال المباشر...36

II-10-1-1 تقنية الانتشار على الجيلوز..36

II-10-2 تقنية التبخير micro-atmosphères..37

II-11 النشاطية المضادة للأكسدة...37

II-11-1 الجذور الحرة...38

II-11-2 الكرب التأكسدي و عواقبه...41

الجـــــزء التـــطبـيقي

الفصــــــــــــل III

المــواد و طــرق التحليل

III-1 المــواد...44

III-1-1 النبتة المستعملة..44

III-1-2 مواد اختبار النشاطية ضد الميكروبية...44

III-1-2-1 أنواع الميكروبات..44

III-1-2-1-2 الأوساط الزراعية.....45

III-1-2-1-3 المضادات الحيوية.....46

III-1-1-3 مواد اختبار النشاطية المضادة للأكسدة.....46

III-2 الطرق التجريبية.....46

III-2-1 استخلاص الزيتين الأساسيين لـ *Daucus setifolius* Desf.....46

III-2-2 تحليل الزيتين الأساسيين لـ *Daucus setifolius* Desf.....48

III-2-3 الدراسة المخبرية المضادة للميكروبات للزيتين *Daucus setifolius* Desf.....49

III-2-3-1 تقنية الاتصال المباشر (الانتشار).....49

III-2-3-2 تقنية التبخير micro-atmosphères.....53

III-2-4 دراسة النشاطية المضادة للأكسدة.....56

الفصـــــــــل VI

النتائــج و المنــاقشة

VI-1 استخلاص الزيوت الأساسية.....60

VI-2 التحليل الكيميائي للزيوت الأساسية.....62

VI-3 النشاطية المضادة للميكروبات للزيوت الأساسية.....69

VI-3-1 تقنية الاتصال المباشر (الانتشار على الجيلوز).....70

VI-2-3 تقنية التبخير micro-atmosphères.....87

VI-4 الدراسة الإحصائية الملخصة للنشاطية ضد الميكروبية لزيتي نبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقتي سكيكدة و بجاية مع بعض السلالات الميكروبية.....96 حتى 100

VI-5 النشاطية المضادة للأكسدة للزيوت الأساسية.....100

- خاتمة
- المراجع
- الملحق

قائـــــمة المـختصــرات

DPPH: Diphénylpicrylhydrazine.

DMSO: Diméthyl sulfoxide.

ATCC: American Type Collection Culture.

BHT: Butylhydroxtoluene.

CCM: Chromatographie sur couche mince.

CFU: Colony forming units.

CLHP: Chromatographie liquide à haute performance.

CMI: Concentration minimale inhibitrice.

GC/MS: Gas chromatograph/ mass spectrometer.

IC50: Concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres.

MH: Milieu de Mueller Hinton.

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standartrd.

PI: Pourcentage d'inhibition.

RMN: résonance magnétique nucléaire.

ROS: Réactive oxygène spices.

UV: Ultra-violet.

قائـــمة الجداول

الجدول **I**: يبين أهم الوظائف الموجودة في الزيوت الأساسية.....14

الجدول **II**: التركيب الكيميائي للزيتين الأساسيين المستخلصين من نبتة *Daucus setifolius*..63

الجدول **III**: النشاطية ضد الميكروبية لزيتي *Daucus setifolius* بتقنية الانتشار على الجيلوز71

الجدول **VI**: النشاطية ضد الميكروبية للمضادات الحيوية و المعبر عنها بأقطار التثبيط (مم)74

قائمة الأشكال

الشكل 1: نبتة *Daucus setifolius*.....8

الشكل 2: ملاحظة داخلية لبذور الكروية تحت المجهر الضوئي قبل عملية التقطير المائي..11

الشكل 3: المراحل الأساسية لبناء diphosphate d'isopentényle من acétyl CoA.....17

الشكل 4: بناء الزيوت الأساسية إنطلاقا من diphosphate d'isopentényle.....17

الشكل 5: البناء الحيوي للتربينات.....18

الشكل 6: البنية الكيميائية لبعض مركبات الزيوت الأساسية.....19

الشكل 7: جهاز التقطير المائي من نوع Clevenger.....25

الشكل 8: مخطط يوضح طريقة الإستخلاص ببخار الماء.....26

الشكل 9: أهم أجزاء جهاز التقطير (micro-ondes).....28

الشكل 10: مخطط الإستخلاص بـ CO_2.....28

الشكل 11: مخطط يوضح مبدأ عمل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.....29

الشكل 12: أهم طرق عمل مضادات الأكسدة الإنزيمية و مرافقاتها المعدنية.....38

الشكل 13: نبتة *Daucus setifolius* المستعملة في الإستخلاص.....44

الشكل14: تركيب جهاز clevenger.....48

الشكل15: طريقة aromatogramme على طبق بتري.....51

الشكل16: مراحل إنجاز النشاطية المضادة للميكروبات.....54

الشكل 17: تقنية micro-atmosphères.....55

الشكل18: البنية الحرة و المرجعة لـ DPPH.....57

الشكل19: مقارنة بين زيتي نبتة *Daucus setifolius*.....61

الشكل 20: بعض البنيات الكيميائية لمكونات الزيوت الأساسية.....67

الشكل 21: النسب المئوية لمختلف مكونات الزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة سكيكدة.....68

الشكل 22: النسب المئوية لمختلف مكونات الزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة بجاية.....68

الشكل 23: حساسية بعض السلالات البكتيرية لمختلف المضادات الحيوية المختبرة.....72-73

الشكل24: مقارنة بين نشاطية زيتي *Daucus setifolius* ضد بعض السلالات البكتيرية المرجعية بواسطة تقنية Aromatogramme.....77-78

الشكل 25: نشاطية زيت *Daucus setifolius* المتحصل عليه من بجاية ضد بعض السلالات البكتيرية المرجعية.....78-79-80

الشكل 26: نشاطية زيت نبتة *Daucus setifolius* لمنطقة بجاية باستخدام ورق الترشيح الخاص بالتحول الانزيمي.....81

الشكل 27: مقارنة النشاطية ضد الفطرية للزيتين الأساسين لنبتة*Daucus setifolius*..82 حتى 86

الشكل 28: مقارنة بين نشاطية زيتي *Daucus setifolius* ضد بعض السلالات البكتيرية المرجعية و الفطرية بواسطة تقنية التبخير micro-atmosphères.....89-90-91

الشكل 29: النشاطية ضد الميكروبية للزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة بجاية ضد بعض السلالات البكتيرية المرجعية و الفطرية بواسطة تقنية التبخير micro-atmosphères.....92-93-94

المخطط 30: النشاطية المضادة للأكسدة للزيتين الأساسين نبتة *Daucus setifolius*.....101

الشكل 31: بعض المركبات المساهمة في النشاطية المضادة للأكسدة لنبتة *Daucus setifolius*.....103

مقدمة

عرف التداوي بالنباتات الطبية اهتماما كبيرا في وقتنا الحالي، و ذلك نظرا للأضرار الجانبية التي تحدثها المواد الكيميائية الصناعية. بصفة عامة لا تملك المستخلصات الطبيعية آثار جانبية، و إن كان فليس بدرجة المعالجات الكيميائية الاصطناعية.

من بين المستقلبات الثانوية المسؤولة عن معظم النشاطية البيولوجية في النباتات الطبية نجد: الفينولات، الدباغ، الفلافونويدات، القلويدات و الزيوت الأساسية ...إلخ.

تعد الزيوت الأساسية أو كما تسمى بالزيوت العطرية مستقلب ثانوي هام لا يستهان بفعالية تأثيره العلاجي، سواء من حيث نشاطيته المضادة للميكروبات أو من حيث نشاطيته المضادة للأكسدة.

و نظرا للمكانة التي حظيت بها الزيوت الأساسية مؤخرا قمنا بدراسة و مقارنة المكونات الكيميائية للزيتين العطريين لنبتة *Daucus setifolius* Desf، المتحصل عليها من منطقتين ساحليتين موجودتين بالجزائر هما سكيكدة و بجاية، مع شرح طريقتي الإستخلاص و التحليل، بالإضافة إلى تجريب بعض التقنيات المستعملة في إظهار النشاطية البيولوجية المضادة للميكروبات لهذين الزيتين الأساسيين، كما تطرقنا أيضا إلى دراسة النشاطية المضادة للأكسدة باستعمال إختبار DPPH.

الجـــزء النـظري

الفصـــــــــل I

دراســـــة النبـــاتات الطـــبية

I-1 العلاج بالنباتات الطبية

I-1-1 المستقلبات الثانوية

تكمن أهمية النباتات الطبية في محتواها من النواتج الثانوية، وهذا ما يميزها عن باقي النباتات. فالخلايا النباتية تنتج كمية كبيرة من المستقلبات الثانوية، بالرغم من أن هذه الأخيرة جد معروفة إلا أن بعض مكوناتها يقتصر في نوع نباتي واحد و ينتج تقريبا في معظم أجزاء هذا النبات، غالبا ما تكون هذه المستقلبات مخزنة في الحجيرات الخلوية أو الحويصلات (Trivedi، 2009).

زاد حديثا البحث عن مواد طبيعية ذات فعالية بيولوجية إيجابية كمضادات للأكسدة و كمضادات ميكروبية لإستعمالها في الصناعة الغذائية و العلاج الطبي، فهي مبيدات طبيعية و كحل بديل للتأثيرات السلبية غير المرغوب فيها كالتسممات و السرطانات المحدثة من طرف المواد الإضافية المصنعة...إلخ.

ترجع أهمية المستقلبات الثانوية إلى بنيتها الكيميائية المعقدة مقارنة مع بنية المستقلبات الأولية. تنسب معظم التركيبات المتواجدة في النبتة إلى بعض المواد المعروفة، إذ يشتق الكثير منها من الأحماض الأمينية أو النكليوتيدات، لكن إنتاج هذه المواد ذات الوظائف المهمة و المختلفة يكون من خلال التفاعلات البسيطة كالمثيلة، الإماهة أو الارتباط الأيوني.

قسمت المستقلبات الثانوية عموما إلى ثلاث أقسام رئيسية:

- المستقلبات الثانوية الحاوية على النتروجين مثل: القلويدات و الأحماض الأمينية غير البروتينية "التي لا تدخل في تركيب البروتينات".

- المركبات الإيزوبرينية أو التربينية مثل: الزيوت العطرية و الستيرويدات ... إلخ.

- المركبات الفينولية مثل: اللجنينات، الدباغ و الفلافونويدات... إلخ (Trivedi، 2009).

I-2 الأوصاف النباتية و المميزات العامة لعائلة *Apiaceae*

تدعى عائلة *Apiaceae* بالخيميات سابقا Ombellifère، تعد كمجموعة نباتية واسعة تضم العديد من النباتات العشبية الحولية، ثنائية الحول، المعمرة، و أحيانا الشجيرات. تضم هذه العائلة لحد الآن حوالي ثلاثة آلاف نوع مقسم إلى 420 جنس. تتواجد نسبيا بصورة متجانسة و تتميز بنموذجها الإزهاري الخيمي (l'ombelle)، وجد أن لشكل و لون الأزهار أهمية كبيرة في هذه العائلة ذات الاسم العريق، إذ تكون على شكل خيمات مركبة مختلفة الألوان جاذبة للحشرات و مساعدة على التلقيح. بينما تتوضع الوريقات بشكل متقابل في النبتة، غالبا ما تكون كبيرة و مقسمة إلى مقاطع عميقة أو تكون بسيطة. تكون قاعدة الورقة غالبا مغمدة و واسعة. عادة ما تكون الأزهار صغيرة الحجم، بينما تكون البتلات منتظمة أو غير منتظمة الطول، في حين تملك الأزهار الخارجية للخيمة الزهرية بتلات خارجية كبيرة مقارنة بالأخرى. تستغل الثمار غالبا في تحديد الأجناس و التمييز بين الأجناس المتشابهة (Moreau، 1960).

يوجد في الجزائر حسب Quezel و Santa (1962) حوالي 55 جنس من هذه العائلة، موزع على 130 نوع و 27 تحت نوع.

توجد ثلاث تحت عائلات لـ *Apiaceae* (*Umbelliferae*) و هي: *Hydrocotyloideae* التي تضم حوالي 42 جنس و 470 نوع، معظمها نباتات عشبية تنتشر على نطاق واسع، نجدها بشكل وافر في النصف الجنوبي للكرة الأرضية خصوصا جنوب أمريكا، أستراليا و نيوزيلاندا الجديدة. تضم هذه العائلة نباتات طبية، نباتات صالحة للأكل و نباتات للزينة.

بالإضافة إلى تحت عائلتي *Apioideae* و *Saniculoideae* (Antoine و Gregory، 2009). تعد تحت عائلة *Saniculoideae* قسم من *Apiaceae* و تتفرع بدورها إلى قسمين(*Saniculeae* و *Lagoecieae*) الموزعين على تسع أجناس و تقريبا 330 نوع. تتواجد في المناطق القطبية، لكن تنتشر أكثر في نصف الكرة الجنوبي (Calviño و Downie، 2007).

كما تندرج *Apioideae* كذلك كتحت قسم من عائلة *Apiaceae*، تضم حوالي 404 جنس موزع على 2827 إلى 2935 نوع، نجدها في شمال أمريكا، أوروبا، روسيا، أستراليا و جنوب إفريقيا. كما يتواجد الكثير من أنواعها في الصين (Zhou و آخرون، 2009).

تتواجد مختلف أنواع عائلة *Apiaceae* في المناطق الشبه جافة و المناطق الرملية المتوسطية، نجدها خاصة قرب الأنهار والقناة كما في مصر و المغرب، وحتى في وسط فرنسا، تتميز هذه الأنواع بغناها بالمستقلبات الثانوية. تستغل باقي أنواع هذه العائلة المنتشرة في المناطق الصحراوية لإيران، شمال إفريقيا، و في معظم المناطق الحرارية من العالم خاصة في نصف الكرة الأرضية الشمالي، لأجل مادة الصمغ الموجودة فيها (Unesco، 1960).

تكمن أهمية هذه العائلة في غناها بالمستقلبات الثانوية ذات الأهمية الاقتصادية و الطبية، فهي تحتوي على كل من الفلافونويدات، الكومارين السيسكوتربينات و مركبات أخرى. لكن الشيء الذي يرفع من قيمتها هو إنتاجها لكميات معتبرة من الزيوت الأساسية، و تقريبا من مختلف أجزائها مقارنة مع باقي العائلات. تم عزل حاليا أكثر من 760 زيت عطري من عائلة *Apiaceae* (Moreau، 1960).

استعملت في الطب الشعبي القديم لعلاج مرض الكلا المزمن وآلام المثانة، بالإضافة إلى أهميتها الصيدلانية كمضادات بكتيرية، مضادات للأعفان و طاردة للديدان على مستوى الأمعاء، كما أنها مفيدة لحصى الكبد وتسمم الخلايا (Fu و آخرون، 2010).

I-3 وصف جنس *Daucus*

يحتوي جنس *Daucus* المنتمي لعائلة *Apiaceae* على 60 نوع نباتي حولي و ثنائي الحول، يرتكز توزعه خصوصا في أوربا، إفريقيا، غرب آسيا و بنسبة أقل في أمريكا و أستراليا. في حين يتواجد هذا الجنس في مصر بثمانية أنواع (Mansour و آخرون، 2004).

I-4 أهم مكوناته الكيميائية

أظهرت الأبحاث الكيميائية الحديثة بعض أنواع المكونات الكيميائية الموجودة في هذا الجنس النباتي و هي: التربينات الأحادية، السيسكوتربينات، الفلافونويدات، الكومارين و الأنثوسيانين (Fu و آخرون، 2010).

يعتبر جنس *Daucus* أغنى الأجناس المنتمية إلى عائلة *Apiaceae* فيما يتعلق بمحتوها من الزيوت الأساسية، التي يغلب في تركيبها التربينات الأحادية الهيدروكربونية (Mansour و آخرون، 2004).

I-5 استعمالاته الطبية

عموما من بين الاستعمالات الشعبية المعروفة للنباتات المنتمية لجنس *Daucus* نذكر ما يلي: مدرة للبول، ملينة، طاردة للديدان، طاردة للغازات و مساعد على الهضم. غير أن البعض منها صالح للأكل كالجزر (Mansour و آخرون، 2004).

اشتهر جنس *Daucus* منذ زمن بعيد بالنوع المعروف بالجزر ذو الاسم العلمي *Daucus carota* الذي يحتوي على مواد فعالة تساعد على الوقاية من السرطان، بالإضافة إلى إستعماله لعلاج الطفيليات المعوية، إلتهاب اللوزتين والإمساك (Radulovic و آخرون، 2011).

يستخدم الجزر أيضا كمضاد بكتيري، مضاد للإلتهاب و قاتل للحشرات (Ahmed و آخرون، 2005). اكتشف حديثا بأن زيت بذور الجزر مثبط لبكتيريا *Staphylococcus aureus* المقاومة لـ methicillin (Radulovic و آخرون، 2011).

I-6 نبتة *Daucus setifolius*

I-6-1 وصفها النباتي

هي نبتة معمرة يصل إرتفاعها أحيانا إلى متر تقريبا، تكون سيقانها متفرعة و شبه ملساء. بينما تكون أوراقها ذات شكل كوكبي أين تتجمع في نقطة واحدة حول المحور (الشكل 1). تكون نوراتها الزهرية قصيرة، نهائية أو إبطية (حسب موقعها في الساق)، يتراوح عرض هذه النورات ما بين 2 و 5 سم و قد يتقلص هذا العرض عند نضج الثمار. تسمى السويقة نقطة التقاء الورقة بالساق. يصل عدد الأعناق المكونة للتجمع الزهري إلى 20 عنق متماثل الشكل و الطول، بها الزغب أو شعر كثيف. تكون القنابات في النبتة (القنابة هي ورقة صغيرة أسفل الزهرة) ذات نصل ثلاثي الأجزاء و محرزي الشكل ذو زغب و شعر كثيف، يكون حجمه صغير جدا بالمقارنة مع حجم الزهرة الخيمية. بينما تتميز بتلات الزهرة بالقصر و إرتكازها

على معاليق صغيرة مشعرة. تأخذ الثمار شكل بيضوي أو أسطواني، ذات حجم 6 × 1.5 مم و لون غامق ضارب إلى الرمادي نتيجة كثرة الزغب و الأشواك التي تغطيها. تكون الحزم الوعائية في الثمرة عريضة كعرض أنابيب الزيت الأساسي فيها (Sáenz، 1981).

يتمركز التوزيع الجغرافي لنبتة *Daucus setifolius* في إسبانيا، الجزائر، المغرب و البرتغال (Sáenz، 1981).

I-2-6 **تصنيفها**

المملكة: نبات

الفرع: كاسيات البذور Spermatophyta (*Angiospermae*)

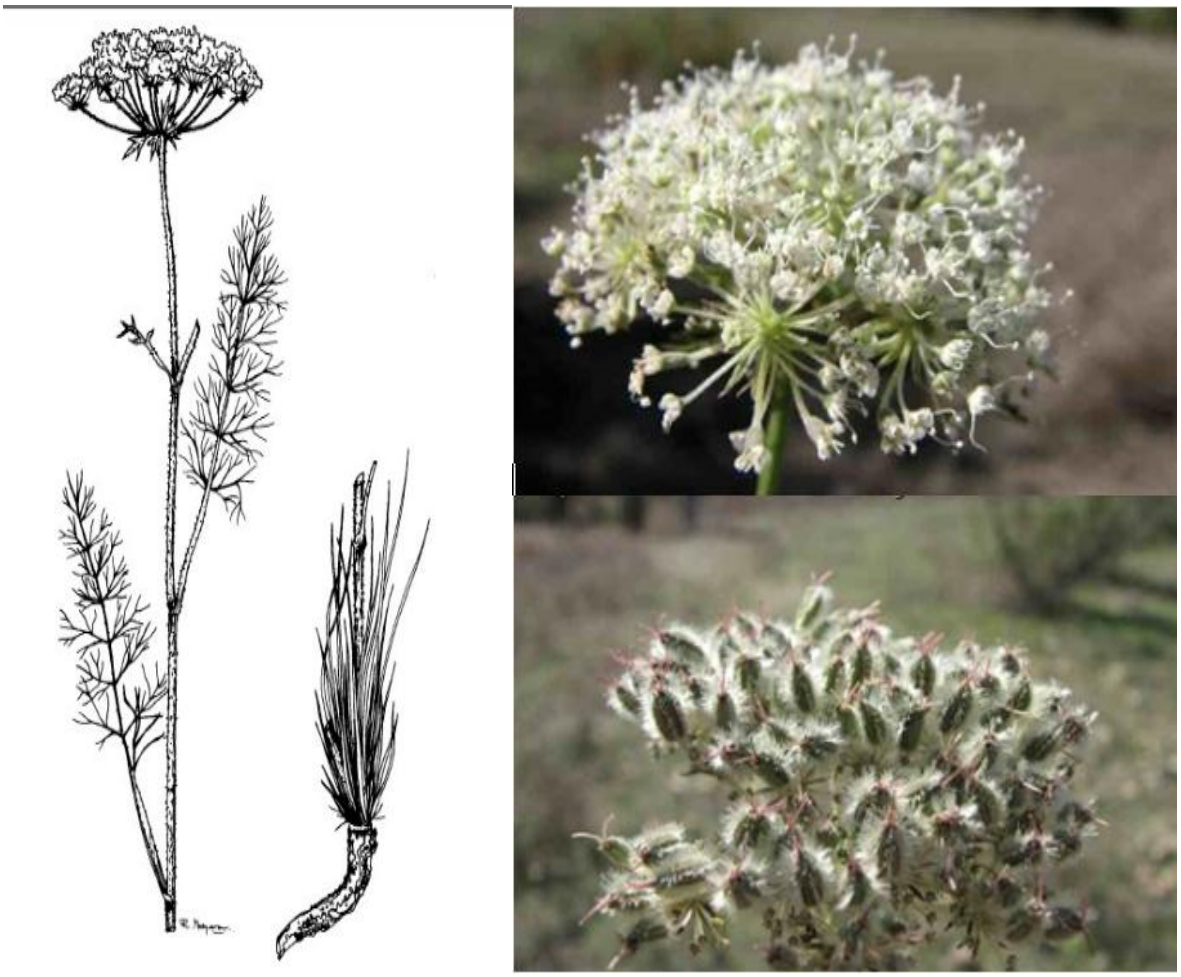
قسم: ذوات الفلقتين Dicotyledones

رتبة: الخيميات Apiales

عائلة: الخيميات *Apiaceae*

جنس: *Daucus*

نوع: *Daucus setifolius*



الشكل 1: نبتة *Daucus setifolius* (Sáenz، 1981).

الفصـــــــــــــل II

تثمين الموارد النباتية بدراسة الزيوت الأساسية

II-1 تعريف الزيوت الأساسية

يعود إستعمال الزيوت الأساسية إلى عصر المصريين القدامى الذين استخدموها في التعطير، و أبسط مثال على ذلك استعمالهم للكاليتوس، الخزامة و القرنفل من أجل العناية ببشرتهم (Franchomme و آخرون، 1990). عرفت aromathérapie كفرع مكمل للطب إنطلاقا من سنة 1920، لكن استعمالها في الطب الشعبي قديم جدا (Mojay، 2004 ; Cooke و Ernst، 2000)، استعمل هذا المصطلح لوصف الخصائص العلاجية للزيوت الأساسية.

كان أول ظهور للزيوت الأساسية في العصور الوسطى عند العرب، غير أن إبتكار مصطلح "الزيوت الأساسية" يعود للقرن 16 من طرف الطبيب السويسري Hohenheim، أثناء وصفه لهذا المركب النشط ذو التأثير العلاجي الفعال.

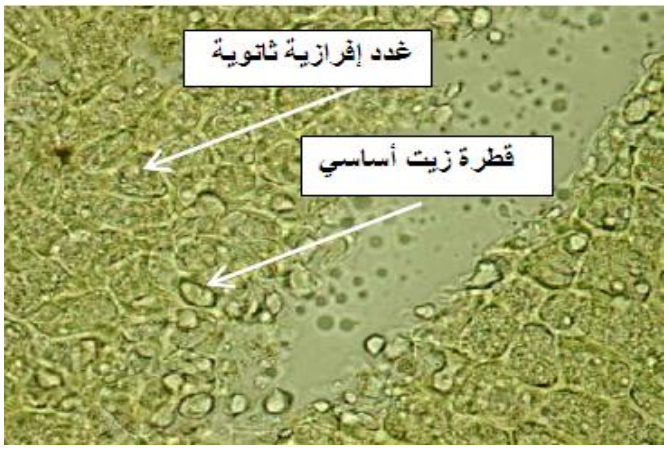
تعد الزيوت الأساسية من المركبات العطرية الطبيعية، تكون معقدة و متطايرة، تتميز برائحتها العطرة القوية المميزة لكل زيت، تكون سائلة أو نصف سائلة، شفافة أو ملونة، تذوب في الدسم و المذيبات العضوية لإنخفاض كثافتها مقارنة بالماء (Bakkali و آخرون، 2008).

مثلها كمثل أي زيت فهي غير قابلة للذوبان في الماء بشكل تام لأنها تتواجد في بروتوبلازم العضيات المفرزة لها متجمعة على هيئة مستحلب ثابت، أو أقل استقرارا على شكل قطرات سميكة الحجم.، لكنها تذوب أيضا في acetone، ethanol، methanol، DMSO و Tween 20 أو Tween 80، الكلوروفورم و كبريتات الكربون . كما تذوب أيضا في hexane، alcool، éthyle de acétate و المذيبات الكلورية (dichlorométhane). تذوب كليا في الكحول و الزيوت النباتية، بفضل كتلتها الجزيئية الضعيفة جدا و طبيعتها الكارهة للماء، تذوب في الدسم و المذيبات العضوية الاعتيادية، كما أنها قابلة للانجذاب مع بخار الماء (Bruneton، 1999). تكون الزيوت الأساسية خالية من الأجسام الدهنية على عكس الزيوت النباتية، بدليل وضع قطرة منها على الورقة وتركها لبعض الوقت فنجدها تتبخر و تختفي دون ترك أي أثر لأنها جد طيارة، تمكنها هذه الميزة من الانتشار بسرعة في الهواء إنطلاقا من البنيات الإفرازية النباتية المنتجة لها (Suppakul و آخرون، 2003).

II-2 مكان تواجد الزيوت الأساسية و دورها

تتواجد الزيوت الأساسية حسب Bakkali (2008) في مختلف أجزاء النبات (البراعم، الأزهار، الأوراق، السيقان، الأغصان، البذور، الثمار، الجذور، الخشب أو القشرة). غير أن تمركزها يكون بكثرة في الأزهار و الأوراق، في حين تكون أقل تواجدا في كل من القشرة، الخشب، الجذور، في الثمار الجافة و البذور.

يرتبط البناء الحيوي وتخزين الجزيئات العطرية بوجود بنيات نسيجية متخصصة أهمها الخلايا المفرزة، الفجوات، القناة، خلايا البشرة أو الغدد (Bakkali و آخرون، 2008).



الشكل 2: ملاحظة داخلية لبذور الكروية تحت المجهر الضوئي قبل عملية التقطير المائي (Lagunez، 2006).

يعد الإستخلاص أول مرحلة لانطلاق دراسة الزيوت الاساسية، من بين الطرق المستعملة و المعروفة لهذا الغرض نجد: الإستخلاص بثاني أوكسيد الكربون السائل أو بـ micro-ondes، غالبا ما يتم الإستخلاص بالتبخير أو التقطير المائي (Bakkali و آخرون، 2008).

يبقى الإستخلاص بالمذيبات العضوية الطيارة الطريقة الأكثر تطبيقا، و أشهر المذيبات استعمالا لحد الآن نذكر hexane، cyclohexane، ethanol و بدرجة أقل dichloromethane و acetone (Dapkevicius و آخرون، 1998 ; Legrand، 1993 ; Kim و Lee، 2002).

يكون مقدار الزيت العطري المستخلص من كل نبتة جد منخفض عموما، مقارنة بالتكلفة المرتفعة لعملية الإستخلاص (Willem، 2001).

يتم تحليل هذه الزيوت الأساسية بعد عملية الإستخلاص لمعرفة مكوناتها الكيميائية، بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المزاوجة مع مطياف الكتلة. تتناسب طريقة الإستخلاص مع غرض الاستعمال، فهناك عدة عوامل تتدخل في تغير كمية، نوعية و تركيب الزيت الأساسي، منها طريقة الإستخلاص، المناخ، نوع التربة، نوع الجزء النباتي المستخلص منه، عمر و مراحل دورة حياة النبتة (Bakkali و آخرون، 2008).

يقتصر تواجد الزيوت الأساسية على عدد محدد من العائلات النباتية أشهرها: Gentianaceae، Cupressaceae، Chenopodiaceae، Asteraceae، Apiaceae، Anacardiaceae و Verbenaceae، Rutaceae، Poaceae، Piperaceae، Pinaceae، Myrtaceae، Lamiaceae Zingiberaceae (Suppakul و آخرون، 2003).

II-3 الميزات الفيزيائية والكيميائية للزيوت الأساسية

يكون الزيت الأساسي سائلا و طيارا في الحرارة العادية، و هذا ما يميزه عن الزيوت الثابتة (Bruneton، 1999). يكون عديم اللون أو ذو لون أصفر مع استثناء بعض الزيوت الأساسية كزيت l'achillée (أخيليا) و زيت (البابونج) matricaire المميزان بلونهما الأزرق المخضر الراجع لوجود azulène و chamazulène (أبو زيد، 2000).

II-4 المكونات الكيميائية للزيوت الأساسية

تتميز الزيوت الأساسية بتنوعها الكبير كباقي المواد الطبيعية، إذ تتركب من جزيئات ذات هيكل كربوني، يكون عدد ذرات الكربون في كل هيكل غالبا 10 أو 15. فهي خليط طبيعي معقد من المركبات ذات التراكيز المختلفة (Wichtel و Anton، 2003).

يشمل هذا الخليط على حوالي 20-60 مركب بتراكيز مختلف تماما، يتصدره مركبين أو ثلاث مركبات أساسية ذات تراكيز مرتفعة ممثلة نسبة (20-70 %) مقارنة مع باقي المركبات الأخرى الموجودة بكميات قليلة، من بين المكونات الكيميائية المكونة للزيوت الأساسية نذكر: carvacrol، thymol، linalol، β-thuyone، camphor، α-1,8-cineole، α-phellandrene، limonène، carvone، menthol و menthone، معظم هذه المركبات مسؤولة عن تحديد الميزات البيولوجية

للزيت الأساسي. تملك الزيوت الأساسية مختلف الوظائف الكيميائية، إذ يتواجد على هيكلها موقع أو عدة مواقع وظيفية متماثلة أو مختلفة موضحة في الجدول (I).

تحتوي الزيوت الأساسية على العديد من الجزيئات العطرية المنتمية للعائلات الكيميائية التالية: aldéhydes، coumarines، esters، éthers، cétones، phénols، monoterpènes، oxydes، monoterpéniques، monoterpénols، sesquiterpénols و sesquiterpènes (Philippe و Didier، 2010).

جدول I: يبين أهم الوظائف الموجودة في الزيوت الأساسية (Bakkali و آخرون، 2008 ; Pibiri، 2005).

نوع الوظيفة	عـدد الحـلقات العـــطرية		
Carbures	Acyclic	Monocyclic	Bicyclic
	Myrcene, Ocimene	Terpinène, P-cimene .Phellandrene	3-carene, Pinène, Camphene, Sabinène.
Alcohols	Geraniol, Linalol, Citronellol, Lavandulol, Nerol	Menthol, α-terpineol, Carveol	Borneol, Fenchol, Chrysanthenol, thuyan-3-ol
Aldehydes	Geranial, Neral, Citronellal.	/	/
Ketone	Tegetone	Menthone, Carvone, Pulegone, Piperitone.	Camphor, Fenchone, Thuyone, Ombellulone, Pinocamphone, Pinocarvone.
Esters	Linalyl acetate, Propionate, Citronellyl acetate.	Menthyl, α-terpinyl, Acetate.	Isobornyl acetate.
Ethers	1,8-cineole, Menthofurane.		
Peroxydes	Ascaridole.		
Phenols	Thymol, Carvacrol.		
terpènes	Limonène, Camphre.		

تصنف المركبات الكيميائية الموجودة في الزيوت الأساسية عموما إلى قسمين مميزين هما: التربينات و المركبات العطرية المشتقة من الفنيل بروبان (Wichtel و Anton، 2003).

تنتج المركبات التربينية عن المسرى الاستقلابي الثانوي لحمض mévalonique. في حين تنتج المركبات العطرية المشتقة من الفنيل بروبان عن المسرى الاستقلابي الثانوي لحمض shikimique، و هي أقل وفرة من التربينات (Cu، 1990).

تتأثر المكونات الكيميائية للزيوت الأساسية بالعوامل الخارجية كطريقة الإستخلاص، المناخ، الحرارة الدنيا و القصوى، فترة الجني (شتاء أو صيف)، مدة التعرض للشمس والإشعاعات الشمسية، المغياثية، الارتفاع عن سطح البحر، طبيعة التربة و درجة pH الخاص بها. بالإضافة إلى تأثرها بالعوامل الذاتية المرتبطة بجنس النبات، نوعه، العضو المعني بالاستخلاص و مستوى نضج النبات المعني (Boukhatem و آخرون، 2010).

II-1-4- المكونات التربينية

أطلق Kékulé حسب Teisseire (1991) مصطلح التربينات على المركبات العضوية التي تعد مصدر لا يستهان به للمستقلبات الثانوية. فقد تم عزل و التعرف على الكثير منها إنطلاقا من الأزهار، السيقان، الجذور و مختلف أجزاء النبات (Schulz و آخرون، 2003 ; Hill، 2002).

تتواجد التربينات على هيئة مركبات هيدروكربيرية غير آزوتية ($C_{10}H_{16}$)، مصدرها الخلايا النباتية و تشارك في العديد من وظائفها الإستقلابية الأساسية (Lamarti و آخرون، 1994). كما يمكن أن نجدها على هيئة مركبات أوكسيجينية مشتقة من الهيدروكربيرات مثل: الكحولات، السيتونات، الأسترات، الإيثر، الألدهيدات، الفينولات و البيروكسيدات (Herz، 1977).

وزنها الجزيئي صغير و مدة حياتها قصيرة، ذات بنيات و وظائف مختلفة، تتركب إنطلاقا من تزاوج وحدات الإيزوبرين ذات خمس ذرات كربون ($\mathbf{C}_5$). يبين تحليل الزيوت الأساسية احتوائها على نسب كبيرة من التربينات منها: linalool، geraniol، thujanol، borneol، citronnillol، menthol و terpineol (Bakkali و آخرون، 2008).

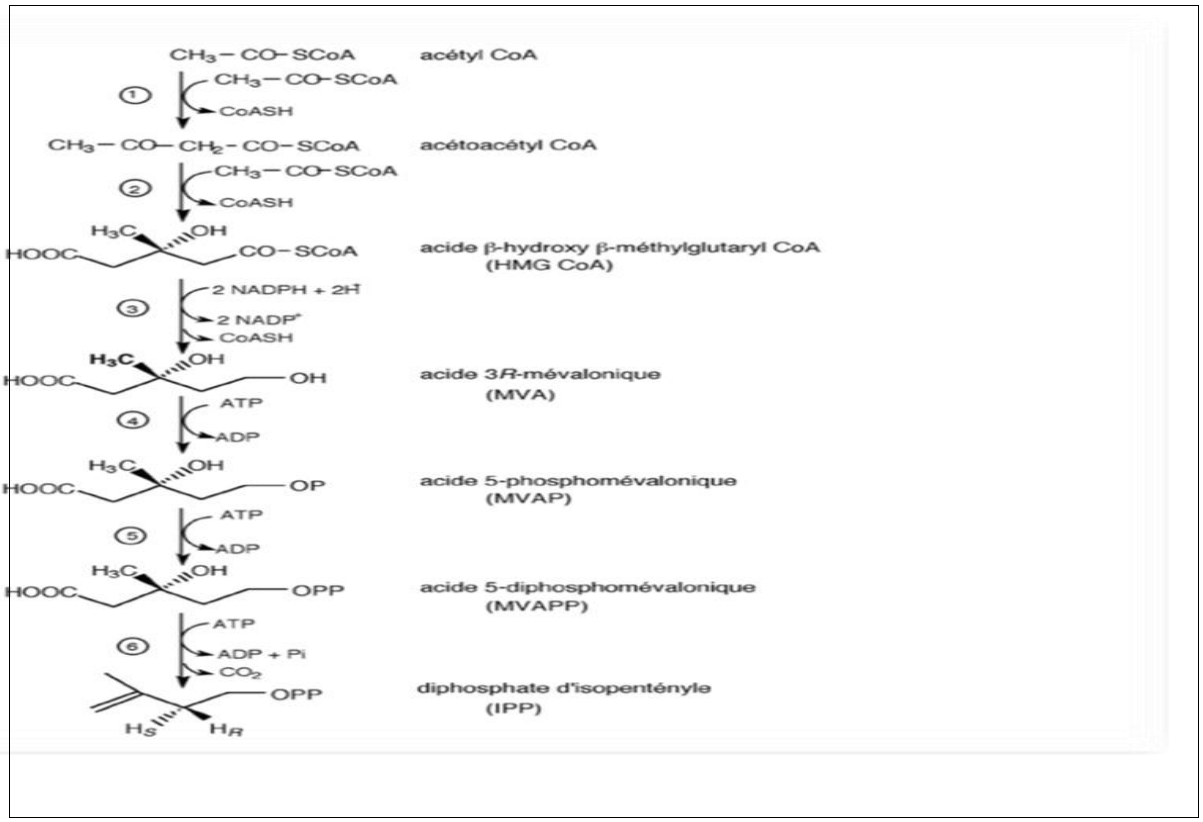
تقسم المركبات التربينية على حسب عدد وحدات isoprène إلى: Monoterpènes التربينات البسيطة ($\mathbf{C}_5$ x 2) المتشكلة من وحدتي isoprène ($\mathbf{C}_{10}\mathbf{H}_{16}$)، و Sesquiterpène ($\mathbf{C}_5$ x 3) المتشكلة من ثلاث وحدات isoprène ($\mathbf{C}_{15}\mathbf{H}_{24}$)، بالإضافة إلى Diterpène ($\mathbf{C}_5$ x 4) المتشكلة من اتحاد

أربع وحدات isoprène ($\mathbf{C_{20}H_{32}}$)، كما يوجد كذلك Triterpène ($\mathbf{C}_5$ x 3) + ($\mathbf{C}_5$ x 3) المتركبة من ستة وحدات من isoprène، أما Tétraterpènes فهي عبارة عن ثمانية وحدات من الإيزوبرين ($\mathbf{C}_5$ x 4) + ($\mathbf{C}_5$ x 4)، في حين تتركب Polyterpène من (n C_5H_8 isoprène) كالمطاط الطبيعي. كما نجد أيضا Hémiterpènes (C_5H_8) التي تمثل نصف جزيئة من terpène (Schulz و آخرون، 2003).

يبدأ البناء الحيوي للتربينات ببناء المركب diphosphate d'isopenténylе (IPP) (الشكل 3)، عبر مسلك حمض mévalonique إنطلاقا من acétyl CoA الناتج عن حمض البيروفيك الموجود على مستوى الميتاكوندري و البلاستيدة. يخلق acétyl CoA في الميتاكوندري بنزع الكربون من البيروفات بواسطة معقد متعدد الإنزيمات pyruvate déshydrogénase (PDH)، ثم يقوم الإنزيم acétyl CoA hydroxylase (ACH) بتحويل المركب acétyl CoA إلى أسيتات على مستوى الميتاكوندري، يمرر الأسيتات الناتج من الميتاكوندري إلى البلاستيدات من أجل الانضمام إلى باقي acétyl CoA الموجود هناك، لأن البلاستيدة هي موقع تواجد acétyl CoA synthétase (ACS). يتشكل acétyl CoA تحت ظروف التركيب الضوئي بواسطة مسرى glycolytique المساهم في بناء المركبات الإيزوبرينية و أولها diphosphate d'isopenténylе الذي يعد طليع لسلسلة الإيزوبرينية، إذ ينتج IPP من تكاثف جزيئتين من acétyl CoA.

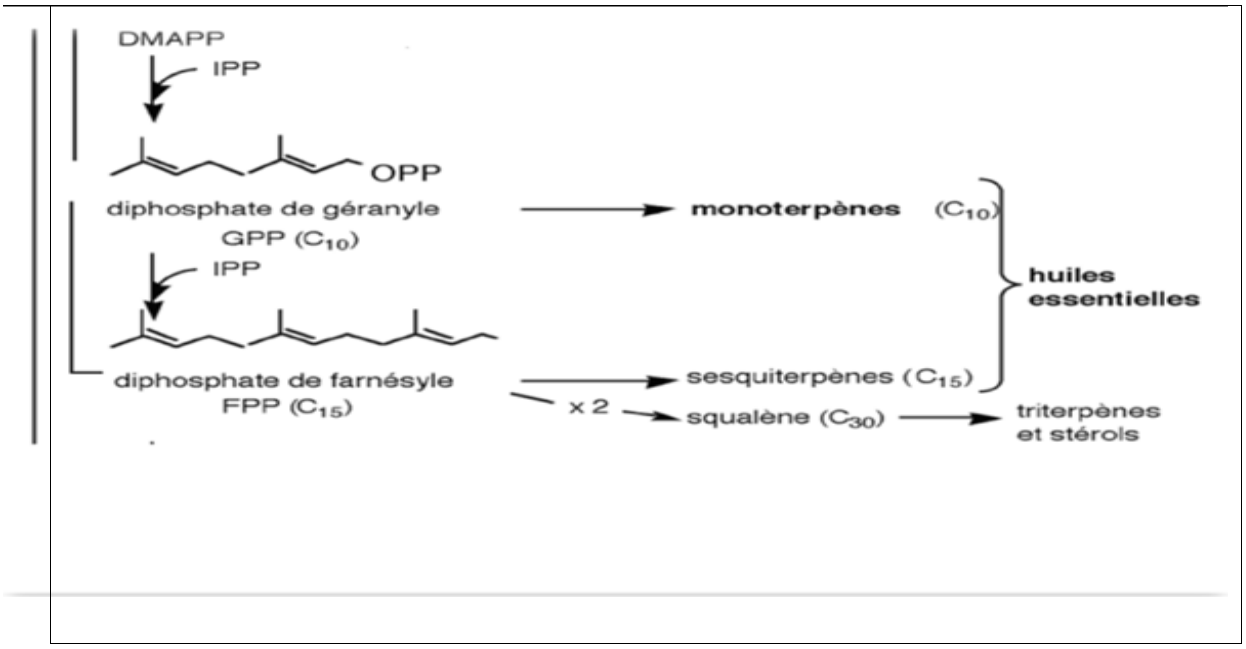
يتدخل IPP كوسيط أساسي في تشكيل المركبات التربينية (الشكل 4 و 5)، إذ يتبلمر إلى diphosphate de diméthylallyle (DMAPP) بواسطة إنزيم isopentényl diphosphate isomérase (Lamarti و آخرون، 1994).

تستعمل التربينات الأحادية في الصناعة الغذائية و مواد التجميل، بفضل نشاطيتها البيولوجية الفعالة: مضادة للبكتيريا، مبيدة للحشرات، مضادة للمسرطنات و مضادة للإلتهاب (Murakami و آخرون، 2004 ; Griffin و آخرون، 1999). كما أنها مضادة للهيستامين و مدرة للبول (Velickovié و آخرون ، 2003 ; Ding و آخرون، 2000)، تعمل التربينات الأحادية التالية على حماية الأعصاب مثل α-terpinène، γ-terpinène و trans-caryophyllène (Hyun و آخرون، 2007).

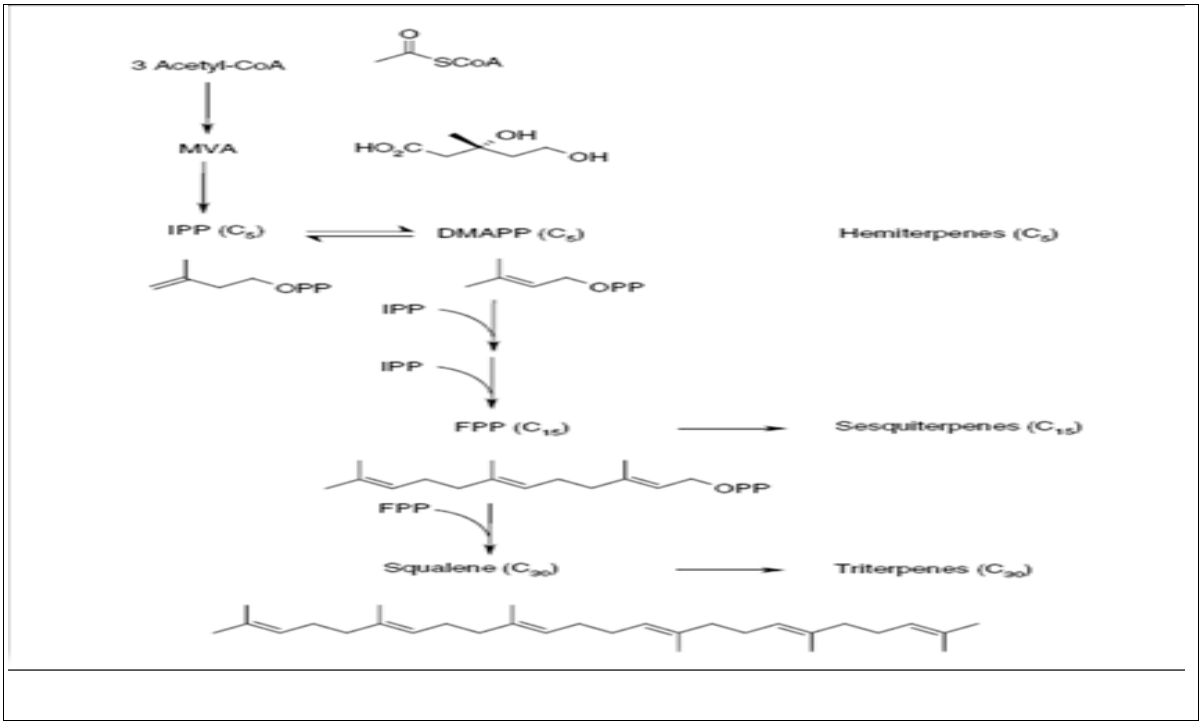


الشكل 3: المراحل الأساسية لبناء diphosphate d'isopenténylе إنطلاقا من acétyl CoA

(Lamarti و آخرون، 1994).



الشكل 4: بناء الزيوت الأساسية إنطلاقا من diphosphate d'isopenténylе (Lamarti و آخرون، 1994).

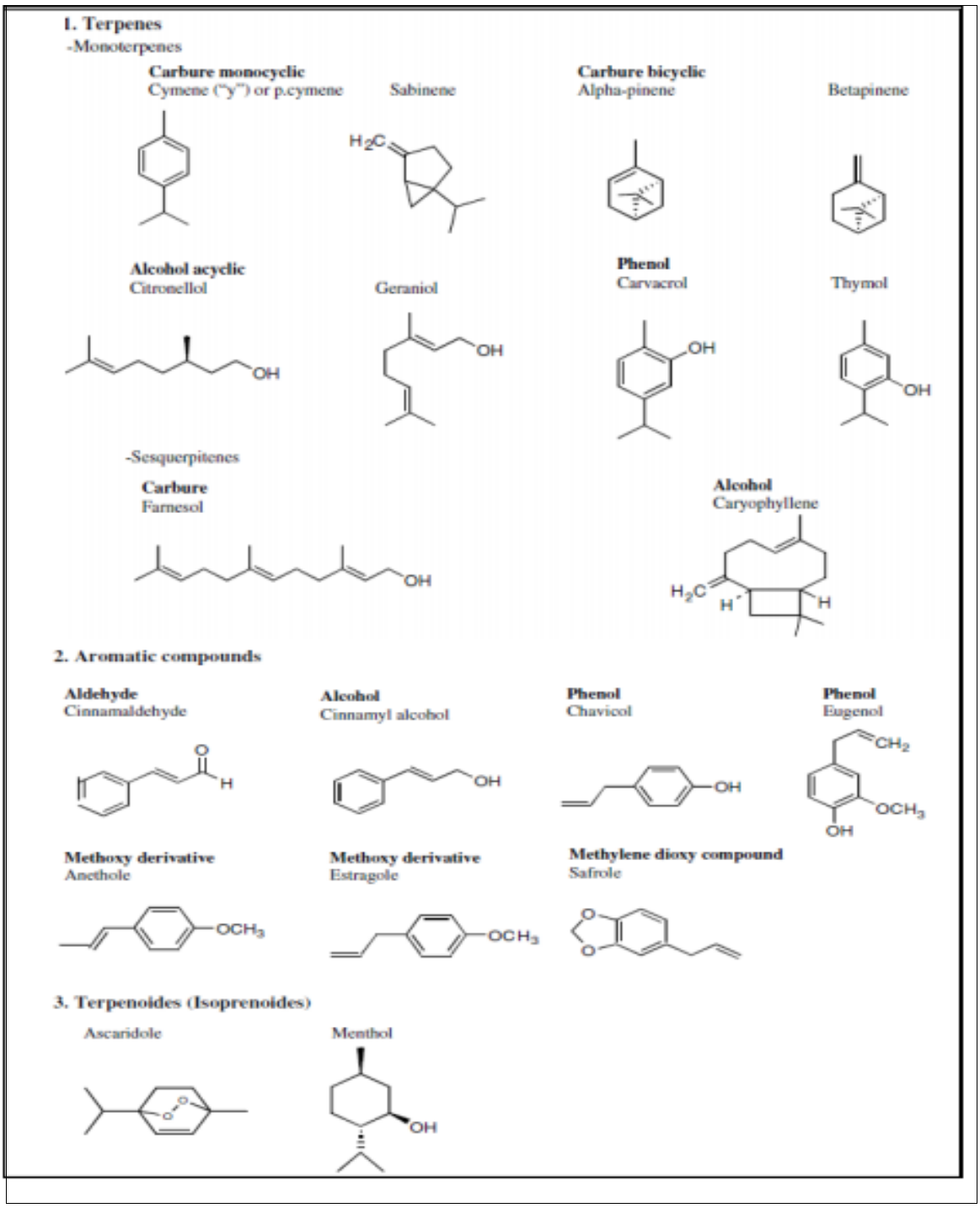


الشكل 5: البناء الحيوي للتربينات.

II-1-4-1 التربينات الأحادية

تعد التربينات الأحادية أبسط المركبات التربينية، حيث أن 90 % من الزيوت الأساسية عبارة عن تربينات أحادية (Bakkali، 2008). فهي مركبات عطرية تتطاير مع بخار الماء، ذات رائحة مستساغة (Lamarti و آخرون، 1994). تتركب التربينات الأحادية من 10 ذرات كربون ناتجة عن تكاثف وحدتين من isoprène، يكون ارتباطها رأس- ذيل (Padua و آخرون، 1999).

يعد جنس *Daucus* من أغنى أجناس عائلة *Apiaceae* فيما يتعلق بمحتوى الزيوت الأساسية، حيث تكون التربينات الأحادية الهيدروكربونية هي الغالبة فيه (Mansour و آخرون، 2004). تنتج كل هذه المركبات عن التركيب الضوئي مثلما هو موضح في (الشكل 6). ينتج حمض البيروفيك عن استقلاب السكاكر، فيتحول إلى أستيل مرافق الإنزيم -أ-، و بالتكاثف المتشعب لثلاث جزيئات من هذا المرافق الانزيمي يخلق حمض mévalonique، الذي يتحول إلى وحدتين من isoprènes pyrophosphates (IPP) (الذي يعد طليعا لكل التربينات).



الشكل 6: البنية الكيميائية لبعض مركبات الزيوت الأساسية (Bakkali و آخرون، 2008).

II -4-1-2 السيسكوتربينات

حدد Semmler في 1910 البنية الصحيحة ل β-santène و هو أول مركب سيسكوتربيني، وبعده بثلاث سنوات ركب Kerschebaum بنية الكحول الخطي trans-2-trans-6-farnésol الذي هو ثاني بنية سيسكوتربينية حددت بدقة (Teisseire، 1991).

تتركب السيسكوتربينات من ثلاث وحدات ايزوبرينية ذات تشكيلة $C_{15}H_{24}$، يقصد بـ (sesqui) جزيئة و نصف، بهذا تعني السيسكوتربينات جزيئة تربينية و نصف (Belaiche، 1979). تتركب من 15 ذرة كربون، تتواجد غالبا مختلطة مع التربينات الأحادية ضمن الزيوت الأساسية للنباتات العطرية، خاصة عند العائلات التالية: Labiateae، Myrtaceae، Pinaceae و Rutaceae (Baranska و آخرون، 2005). تفاعلاتها جد منشط للعضوية كمحفزات مناعية، مهدئات، مضادات للإلتهاب و مضادات للحساسية (Baudoux، 2000).

II-4-2 المركبات العطرية المشتقة من الفنيل بروبان

تتواجد مشتقات الفنيل بروبان (C_6-C_3) بكميات قليلة جدا في الزيوت الأساسية مقارنة بالتربينات (الشكل 6)، حسب Bruneton (1999) معظم هذه المشتقات عبارة عن propenylphenols و أحيانا تكون ألدهيدات. نادرا ما نجد المركبات ذات الصيغة C_6- C_1 ضمن الزيوت الأساسية مثل: safrole، vanilline و anthranilate de méthyle التي تتطاير مع بخار الماء (Bruneton، 1999).

II-4-3 مكونات ذات مصادر مختلفة

تنتج هذه المكونات عن تحول الجزيئات غير المتطايرة كهدم الأحماض الدهنية، التربينات و نادرا المركبات الآزوتية، بإمكانها الانجذاب مع بخار الماء أثناء عملية التقطير، يرتكز تواجدها غالبا في فواكه النباتات العطرية (Bruneton، 1999).

II-5 الميزات العلاجية للزيوت الأساسية

استعمال الزيوت الأساسية قديم جدا، بدأ في الشرق و المشرق المتوسط و انتشر إلى شمال إفريقيا و أوربا و في الصين، دون أن ننسى الاهتمام الكبير الذي حظيت به النباتات العطرية و مختلف النباتات الأخرى في عصر المصريين القدامى خاصة لعلاج مرضاهم (Franchomme و آخرون، 1990). تم التعرف حاليا حوالي 3000 زيت أساسي، 300 منها ذات أهمية تجارية خاصة في الصيدلة، الزراعة و صناعة مواد التنظيف.

تستعمل الزيوت الأساسية أو بعض مكوناتها في تركيب العطور و صناعة مستحضرات التجميل، في حفظ الأغذية، كمواد إضافية و كأدوية طبيعية. استخدمت كثيرا في التدليك بعد مزجها بالزيوت النباتية، في حين يرتبط استعمالها في المجال الطبي بقدرة و فعالية نشاطيتها البيولوجية المعترف بها (Bakkali و آخرون، 2008).

بإمكان بعض مكونات الزيوت الأساسية تثبيط الوظائف الإستقلابية، النمو و التكاثر عند الكائنات الدقيقة. أظهرت بعض الدراسات استعمال الزيوت الأساسية و مكوناتها العطرية للوقاية و العلاج من الأمراض المختلفة التي تصيب الانسان، مثل السرطان و أمراض الأوعية القلبية (تصلب الشرايين و التجلط). إذ اشتهرت بنشاطيتها المضادة للميكروبات، فهي مضادة للعفونة، مضادة للأكسدة و تعمل على الوقاية من مرض السكري (Chiu و آخرون، 2009)، مسكنة للآلام، مضادة للتشنج و موسعة للأوعية الدموية (Tavares و آخرون، 2008)، بالإضافة إلى أنها مضادة للسموم، مضادة للفيروسات، مضادة للإلتهاب و مضادة للطفيليات (Lahlou، 2004 ; Valnet، 2005).

تظهر النشاطية البيولوجية للزيوت الأساسية علاقة مكوناتها الكيميائية و إمكانيات التأثير التعاوني بين هذه المكونات، فهي تعالج الإصابات الجلدية مثل لسعات الحشرات، الحروق الخفيفة، الجروح و التآكلات، البشرة الجافة و الحك، حب الشباب، التهاب النسيج الخلوي و ضعف دوران الدم، كما تعالج المشاكل العضلية كأمراض المفاصل و الروماتيزم، و تعالج الإصابات الجرثومية (الزكام، إنفلونزا، السعال و التهاب الحلق). بالإضافة إلى أنها تعالج اضطرابات النوم، ضعف التوازن و فقدان التوازن الحركي (Afssaps، 2004). تستهدف هذه المواد الطيارة الأنسجة و الجسم، كمثال على ذلك نجد أنواع من السرو تحسن الدورة الدموية، كما يستعمل زيت النعناع للتحفيز و إزالة التعب مع تخفيف آلام الأعصاب، لكن لا يستعمل للاستحمام لأنه يسبب ألم تحت الجلد (Maach و Jemali، 1986).

تنتج الزيوت الأساسية في النباتات كمستقلبات ثانوية، لكن دورها بالضبط في حياة النبتة غير معروف. تلعب دور مهم في الطبيعة سواء من خلال حماية النباتات من الإصابات البكتيرية، الفيروسية و الفطرية، تبعد عنها الحشرات الضارة لها و غير المرغوب فيها، أو بحمايتها

من الحيوانات العاشبة بتخفيف شهيتها لأكل هذه النباتات، كما تعمل أيضا على جذب بعض الحشرات لتسهيل انتشار حبوب الطلع و البذور (Bakkali و آخرون، 2008).

تساهم بدرجة كبيرة في حماية النباتات والسماح لها بالدفاع عن نفسها ضد العوامل المعرقلة الحيوية (التنافس...) وغير الحيوية (نقص الماء أي الجفاف من خلال مساعدتها على التكيف معه و مع طبيعة التربة)، وهذا بفضل تنوع تركيبها الكيميائي الذي ينشئ إشارات كيميائية تمكن النبتة من الاتصال بمحيطها الخارجي (نباتات أو كائنات أخرى) المسؤول عن اختلاف تواجد الزيوت الأساسية من عائلة لأخرى، من نوع لآخر و من جنس لآخر (Unesco، 1960). يخمن على المدى البعيد في استعمالها كبديل للمركبات الكيميائية من أجل الحفاظ على التوازن البيئي (Bakkali و آخرون، 2008).

II-6 سمية الزيوت الأساسية

عموما الزيوت الأساسية و خاصة التربينات الأحادية لها سمية منخفضة للحيوانات ذات الدم الحار و سمية كبيرة للحشرات الضارة (Lee و آخرون، 2002)، فهي تظهر تأثير سمي للخلايا الحية حسب نوع الزيت وتركيزه. بسبب قدرتها على إحداث التأثير المضاد للسمية فهي تعمل في بعض الحالات على تغيير عملية الإرجاع الداخل خلوية و بالتالي تحدث خلل وظيفي للميتاكوندريا (Bakkali و آخرون، 2008)، لا يمكن تجاهل سميتها غير المرغوب فيها، والمرتبطة بوجود بعض المواقع الأوكسيجينية.

تثير الفينولات و الألدهيدات الموجودة ضمن الزيوت الأساسية كل من الجلد، العيون و المخاط، ترتكز معظم الالتهابات الجلدية المحدثة بسببها في الجفون، الإبط و أماكن أخرى. يسبب العديد من الزيوت الأساسية تفاعلات حساسية الجلد، تظهر هذه الأخير ابتداءا من اليوم الثالث من تماس الزيت مع الجلد، في حين تؤثر الزيوت الأساسية الداخلة في تركيب العطور على المخاطية التنفسية و تسهل إحداث نوبات الربو للمصابين بأمراض الربو مثل الرذاذات المزيلة للروائح. يمكن للعديد من الزيوت الأساسية أن تسبب التسمم و الحساسية تحت تأثير الضوء مثل: زيت الليمون و زيت البرتقال الحامض. يمكن للفينولات أن تسمم الكبد كما تسمم السيتونات الجهاز العصبي (Hayakawa، 1987 ; Elberling و Skov، 2007).

تناول الزيوت الأساسية بتراكيز كبيرة يسبب سمية تؤثر على الجهاز العصبي المركزي مثل الدوخة أو فقدان الوعي، أو إفراط في الحساسية و مختلف تفاعلاتها (Chiu و آخرون، 2009). تسبب الزيوت الأساسية عموما تسمم حاد ضعيف أو ضعيف جدا عبر المسلك الشفوي، تتراوح الجرعة القاتلة لمعظم الزيوت المستعملة (DL_{50}) ما بين 2 و 5 **غ/كغ** (الكاليتوس Eucalyptus، حبة الحلاوة Anis أو القرنفل Girofle) أو أكثر من 5 **غ/كغ** (البابونج Camomille، الخزامة Lavande)، أو 1,5 **كغ/ملل** بالنسبة للحبق Basilic أو الريحان Myrte. أكثر الزيوت سمية هي: زيت Boldo 0,13 **غ/كغ**، زيت Chénopode 0.25 **غ/كغ**، زيت العفصية Thuya 0.83 **غ/كغ**، كذلك زيت الخردل moutarde 0.34 **غ/كغ** (Bruneton، 1999).

II-6-1 احتياطات استعمال الزيوت الأساسية

- عدم ترك قارورات الزيوت الأساسية في متناول الأطفال عند استعمالها أو تخزينها.
- يكون الغلق محكم بمغلاق يمنع تسرب أي قطرة.
- تجنب استعمالها على الجلد أو استنشاقها في حالة وجود الحساسية.
- تجنب استنشاقها من طرف المصابين بالربو، الأطفال و الرضع.
- تجنب استعمال الزيوت الأساسية الغنية بالسيتونات للنساء الحوامل أو المرضعات.
- تؤثر الزيوت الأساسية الغنية بالفينولات و الألدهيدات العطرية على الجلد في حالتها النقية، لذا يجب أن تخفف في الزيوت النباتية.
- تجنب استعمال الزيوت الأساسية غير المعروفة.
- احترام بدقة مسالك الامتصاص مع احترام ما هو مكتوب في الوصفة.
- تجنب استعمال الزيوت في حالتها النقية خاصة في العينين، مخاطية الأذن و الأنف.
- لما نستعمل الزيت الأساسي في الأذن لا نستعمل الماء من أجل الغسل، بل يجب استعمال الزيت النباتي من أجل تخفيف الالتهاب (Willem، 2001).

يمكن لهذه الزيوت أن تسبب خطر كبير، مثل زيت العرعار الذي يؤدي إلى نزيف الرحم عند المرأة، و البول المدمي عند الرجل. يمكننا تجنب سمية معظم الزيوت الأساسية و ذلك من خلال استعمالها بأسلوب مراقب و مضبوط (Bruneton، 1999).

II-7 تقنيات استخلاص الزيوت الأساسية

لا تتطلب بعض أجزاء النبتة المراد استخلاص زيتها الأساسي مثل الأزهار و الأوراق معاملات خاصة قبل عملية التقطير، فيما يستلزم كل من الفروع، الجذوع و الجذور عملية التجفيف ثم التجزئة إلى أجزاء صغيرة. في حين الثمار و البذور يمكن جرشها دون سحقها قبل التقطير مباشرة لتسهيل فصل زيتها الأساسي دون ضياع. يتم استخلاص الزيوت الأساسية بواسطة العديد من التقنيات حسب غرض الاستعمال نذكر أشهرها:

II-7-1 التقطير

تستخلص الزيوت الأساسية باستخدام تقنية التقطير المتواجدة على نمطين أساسيين هما: التقطير المائي و التقطير ببخار الماء. تعد هذه التقنية أشهر تقنيات الإستخلاص المستعملة حاليا. يتم حسب Benjilali (2004) الحصول على الزيوت الأساسية المقطرة بعد المرور بالمرحلتين التاليتين: انتشار الزيت الأساسي الموجود داخل الأنسجة نحوى السطح الخارجي للنبتة، ثم تبخره و انجذابه مع بخار الماء.

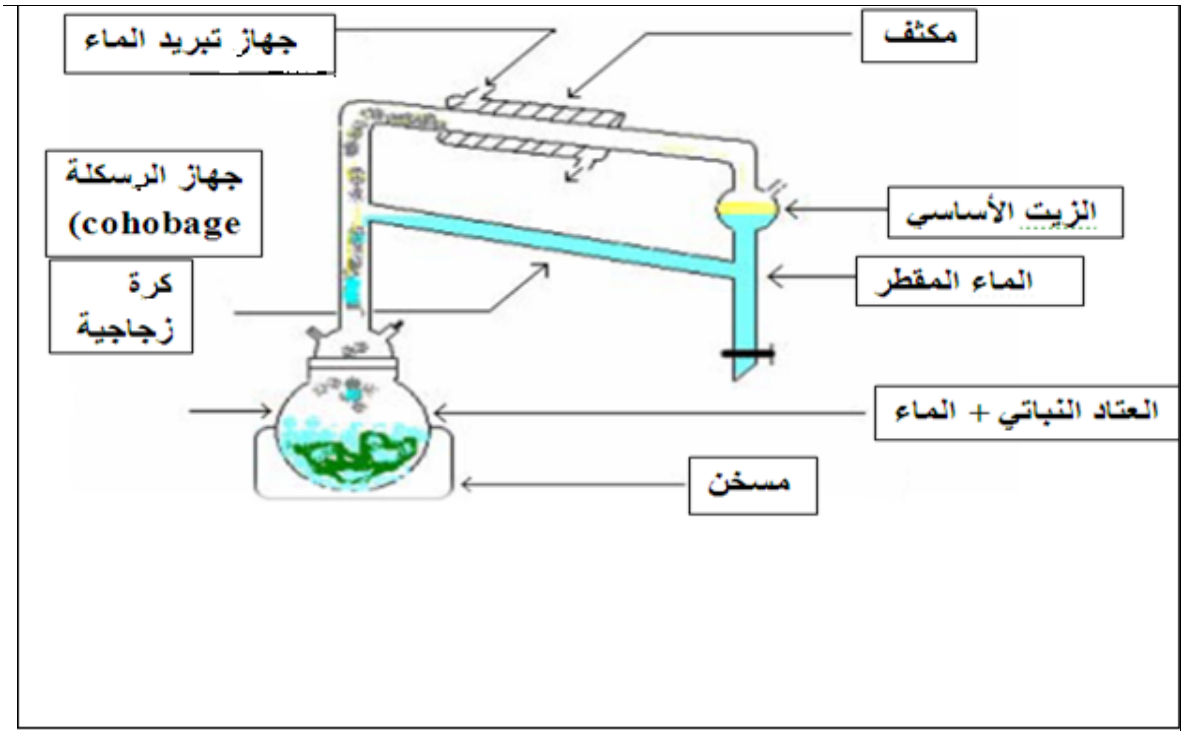
II-7-1-1 التقطير المائي Hydrodistillation

تستخلص الزيوت الأساسية بواسطة التقطير المائي اعتمادا على جهاز تقطير من نوع Clevenger (الشكل 7)، تبدأ العملية مخبريا بغلي حوالي لتر من الماء المقطر الممزوج مع 200 غرام من النبتة المجففة، يتواجد الكل داخل كرة زجاجية بسعة 2 لتر، و من ثم يتصعد البخار المشبع بالزيت عبر عمود طوله 60 سنتمتر، فيتكاثف هذا البخار المتصاعد بواسطة المبرد و ينفصل الزيت عن الماء حسب اختلاف الكثافة. يدوم تقطير الأجزاء النباتية التي تم قصها إلى أجزاء بقدر 3 سم إلى ثلاث ساعات ابتداءا من أول قطرة ناتجة من تكثف البخار أثناء التقطير (Amarti و آخرون، 2011).

ترتكز هذه التقنية على غمر كلي للنبات بالماء، تكون النبتة هنا في تماس مع الماء داخل الكرة الزجاجية. تكون مدة التقطير جد طويلة في النباتات الخشبية مقارنة بالنباتات العشبية، و يرتبط هذا الاختلاف عموما بموقع البنيات المهيئة لتخزين الزيوت الأساسية سواء الخارجية منها أو الداخلية، كل هذا يؤثر على عملية التقطير. تفقد البنيات الخارجية كالغشاء

الخارجي أو البشرة وظيفتها نتيجة الغليان، و تتطاير على الفور المركبات العطرية، باعتبارها الحواجز المحررة للزيوت الأساسية (Mohammedi ، 2006).

من إيجابيات هذه التقنية قدرتها على تجنب استخلاص المركبات غير الطيارة (Pollien و آخرون، 1998).

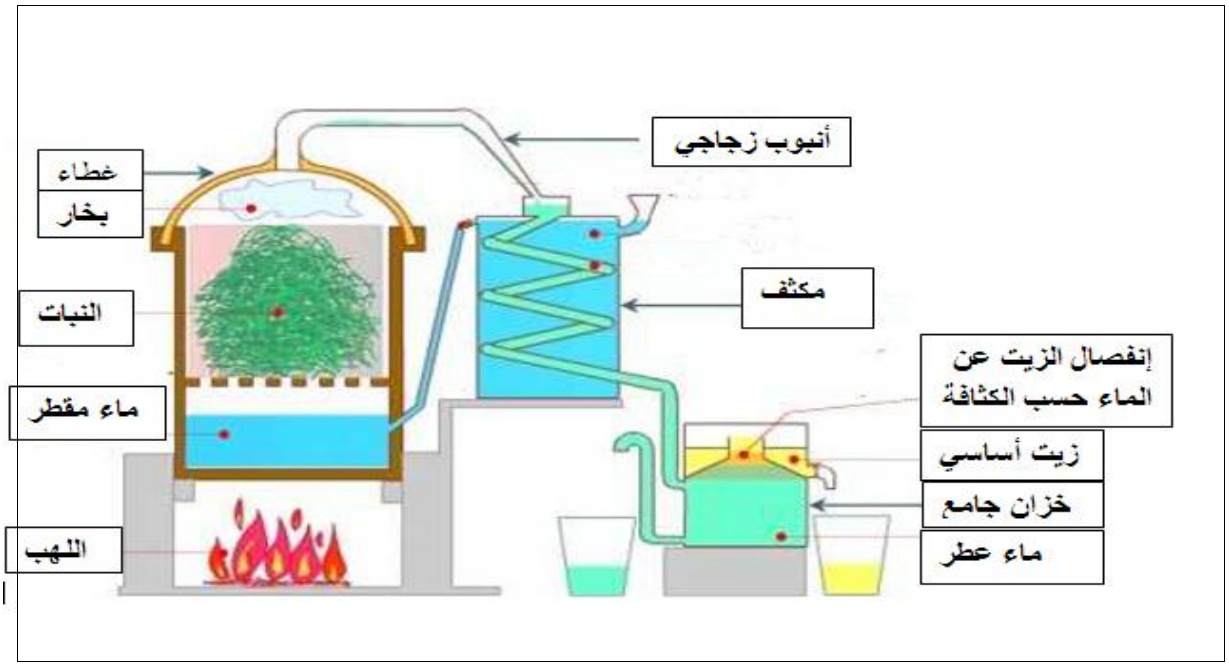


الشكل 7: جهاز التقطير المائي من نوع Clevenger (Hernandez-ochoa، 2005).

II -7-1-2 التقطير ببخار الماء

في هذه التقنية لا يكون العتاد النباتي على تماس مباشر مع الماء، بل يكون فوق حاجز مثقوب داخل المقطرة، عند غلي الماء يصعد بخاره عبر ثقوب الحاجز، مما يؤدي إلى جذب المركبات العطرية المتواجدة في النبتة معه ثم انفصالها عنه عند تكاثفها بماء المبرد (الشكل 8). فنتحصل في الأخير على الماء المعطر و الزيت الأساسي منفصلان عن بعضهما حسب تدرج الكثافة (Bruneton، 1999). تستعمل هذه الطريقة بكثرة في تقطير الزيوت الأساسية إنطلاقا من النباتات الطازجة مثل النعناع، الرند و النباتات ذات الأوراق الغنية بالزيوت الأساسية، إذ تقطع هذه النباتات إلى قطع صغيرة ثم توضع في جهاز التقطير، بما أن النبتة طازجة فهي غنية بالماء و ليس من الضروري تبليلها بشكل كبير (هيكل و عمر، 1993).

يعد الإستخلاص ببخار الماء الطريقة الوحيدة المتوافقة مع الاستعمال العلاجي، و المفضلة لاستخلاص الحمضيات (Bakkali و آخرون، 2008).



الشكل 8: مخطط يوضح طريقة الإستخلاص ببخار الماء.

II-7-2 المراثة

تعتمد هذه العملية على قدرة ذوبان المركبات العطرية النباتية في الأجسام الدهنية، تتم بوضع بتلات الأزهار الطازجة على صفائح زجاجية مغطاة بطبقات رقيقة من الدسم (زيت نباتي)، حيث تتناوب طبقات المادة النباتية مع الطبقات الدهنية فيذوب محتواها من الزيوت الأساسية ضمن الأجسام الدسمة تستعمل هذه التقنية لاستخلاص الزيوت الأساسية الجد مهمة كزيت الورد و زيت الياسمين (Bruneton، 1999).

II-7-3 الإستخلاص بالمذيبات العضوية

تختار المذيبات المتطايرة حسب نوع المركبات العطرية، حسب درجة استقرارها و حالتها الكيميائية، مع العلم يجب أن تكون درجة غليانها غير مرتفعة كثيرا، و إلا سمحت باستخراج كل المحتوى (المذيب و الزيت الأساسي)، وغير منخفضة جدا فيبقى كل المحتوى، لذا علينا تجنب أي نوع من التضييع. تعد الهيدروكربيرات الأليفاتية مثل إيثر البترول و الهيكسان

أكثر المذيبات إستعمالا، بالإضافة إلى كل من البروبان أو البيتان السائل (تحت الضغط)، المذيبات الهالوجينية (المشتقات المشعة و الكلورية للميثان والإيثان) و كذلك الإيثانول. على الرغم من أن البنزن مذيب جيد لكن سميته و خطورته تحد أكثر فأكثر من استعماله (Bruneton، 1999).

تستعمل هذه التقنية من أجل الأجزاء النباتية المحتوية على كميات قليلة من الزيوت الأساسية، أو من أجل الزيوت الأساسية التي لا يمكن استخلاصها بالتقطير. تعتمد على درجة تذويب العديد من المذيبات العضوية لمكونات الزيوت الأساسية (Belaiche، 1979 ; Duraffourd و آخرون، 1990).

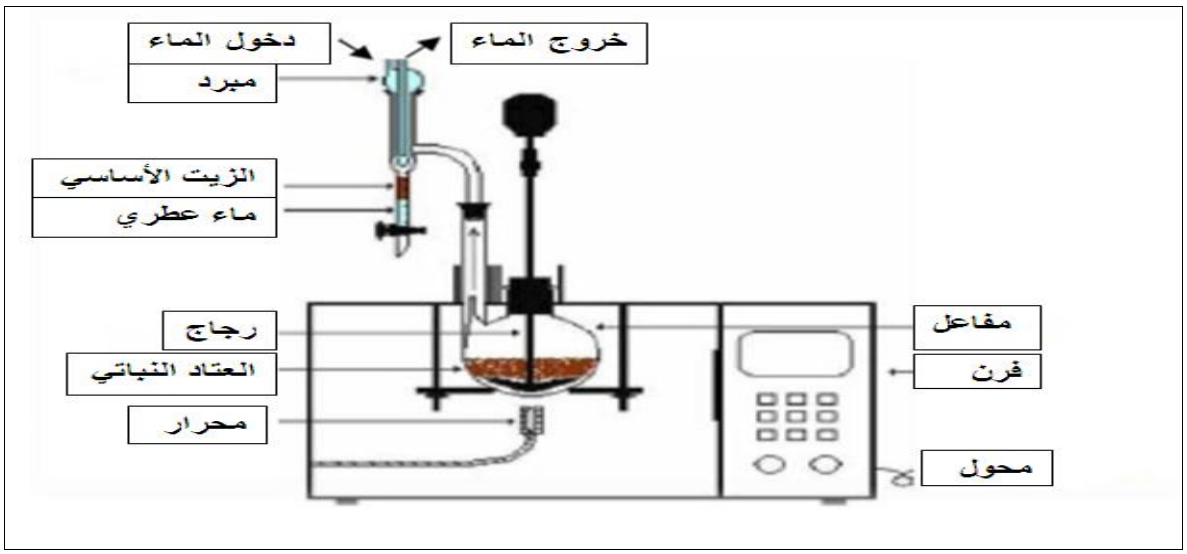
لا تستعمل الزيوت الأساسية المستخلصة بالمذيبات العضوية في العلاج الطبي، على عكس استعمالها في التعطير، فهي تعطي نتائج كمية و نوعية مهمة (Viaud، 1993).

II-7-4 الإستخلاص بالعصر

تتم ببساطة بنزع سريع لقشور عينة واحدة أو أكثر من الحمضيات، و من ثم إحداث تفجير و هدم آلي للأنسجة خاصة الجيوب الإفرازية المحتوية على الزيوت الأساسية، و تطبق أكثر من أجل الحمضيات كالبرتقال و الليمون (Bakkali و آخرون، 2008).

II-7-5 الإستخلاص بالأمواج الكهرومغناطسية micro-ondes

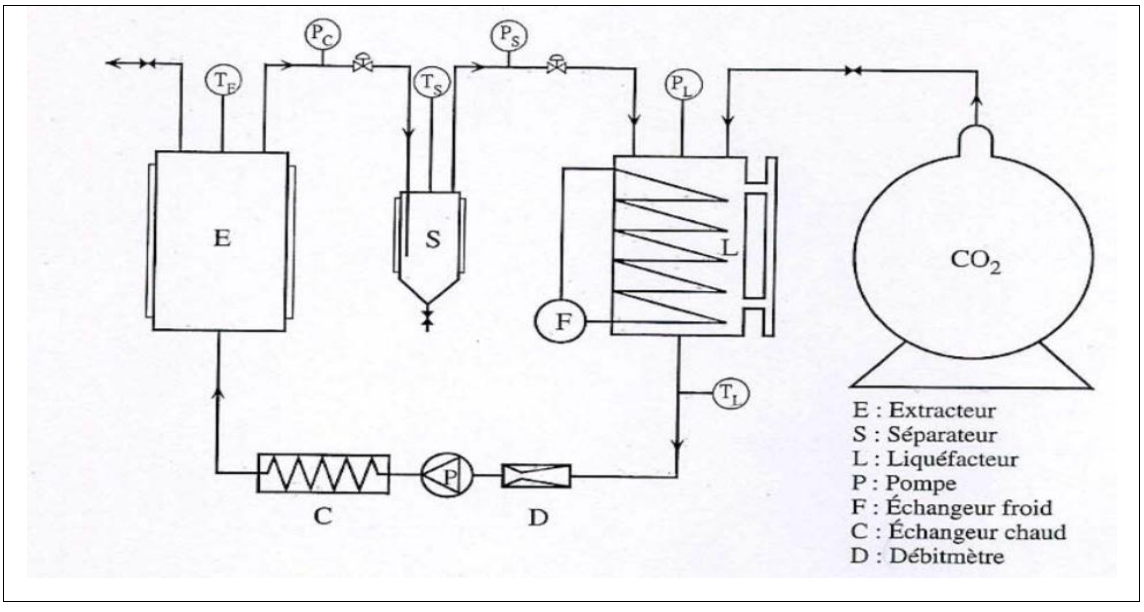
طريقة حديثة للاستخلاص (الشكل 9)، يرتكز مخطط عملها على امتصاص الطاقة الكهرومغناطسية بواسطة مركب عازل للكهرباء، يعتمد هذا الامتصاص أيضا على تردد الموجة و درجة تسخين العتاد النباتي. تتطلب العملية أشعة كهرومغناطيسية و سوائل شفافة خاصة بهذه الأشعة، يكون الإستخلاص بطريقة سريعة و الإنتقاء جيد للمكونات الكيميائية المتواجدة في النبتة (Paré، 1997). من إيجابيات هذه الطريقة أنها تستغرق وقت قصير للاستخلاص في بضع ثواني (France-Ida، 1996) كما تتميز هذه العملية بإستهلاكها للطاقة و النوعية الرفيعة (Bruneton، 1999).



الشكل 9: أهم أجزاء جهاز التقطير تحت الأشعة الكهرومغناطسية (Wang و Weller، 2006).

II-7-6 الإستخلاص بالغازات السائلة fluides supercritiques

تعتمد على سحب الزيوت الأساسية المتواجدة بالأجزاء النباتية بواسطة الغازات سائلة، لسهولة انتشارها إلى أبعد نقطة داخل الأنسجة النباتية (الشكل 10)، و قدرتها الكبيرة على التذويب ومن ثم تطايرها بعد الإستخلاص (Wichtel و Anton، 1999 ; Bruneton، 1999). يعطي الإستخلاص بواسطة CO_2 السائل حسب Scheffer (1996) زيوت ذات نوعية رفيعة خلال وقت قصير مقارنة بالطرق الكلاسيكية الأخرى. من إيجابيات هذه التقنية إمكانية إزالة و استعادة المذيب بواسطة خفض بسيط للضغط و عدم ضررها (Moura و آخرون،2005).



الشكل 10: مخطط الإستخلاص بـ CO_2 (Martini و Seiller، 1999).

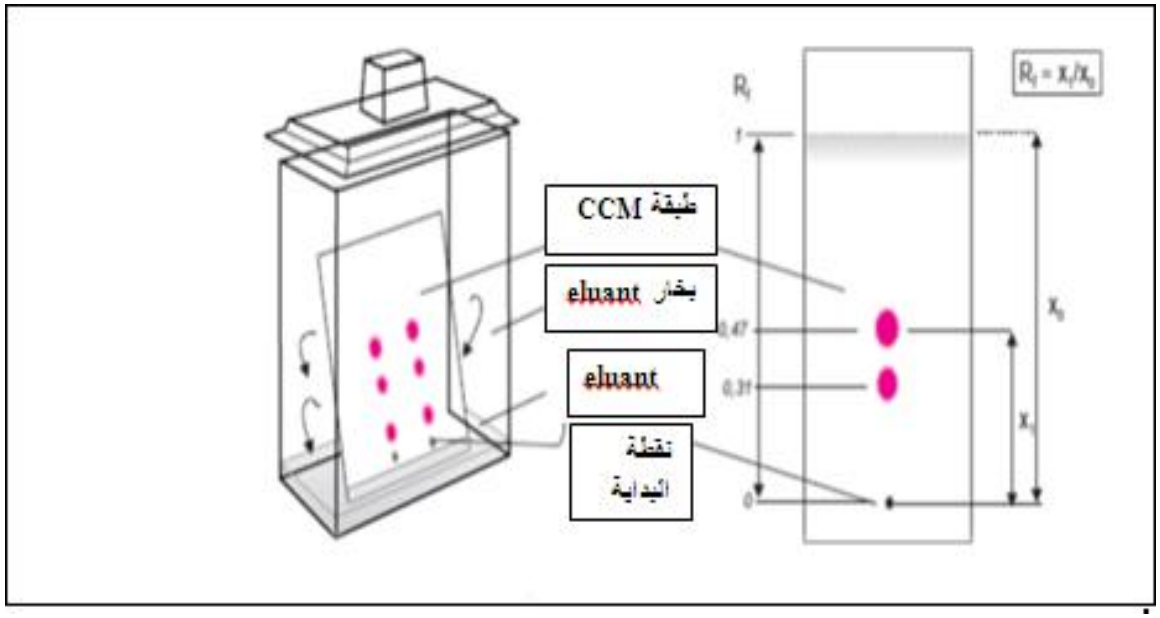
نستنتج حسب Collin (2000) أنه لا توجد عملية استخلاص أحسن من الأخرى. فأي نبات أو أي جزء نباتي يتطلب تقنية معينة للاستخلاص تتماشى مع غرض استعمالها.

II-8 طرق تحليل الزيوت الأساسية

تعد الكروماتوغرافيا تقنية فصل فيزيائية تعتمد على اختلاف شراهية المواد المحللة عبر طورين طور ثابت (حامل صلب في شكل عمود أو صفيحة) و طور متحرك (الذي هو غاز أو مذيب). تلعب الكروماتوغرافيا دور كبير في فصل المركبات الموجودة ضمن الطور متحرك، سواء بإدمصاصها أو تحررها المتعاقب في المرحلة الثابتة، أو بدرجة ذوبانها المختلفة في كل طور (Schwedt، 1993).

II-8-1 كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

تستعمل (CCM) كتقنية روتينية (الشكل 11) من أجل التحليل السريع للعينات المتحصل عليها بعد الفصل (Pradeau و Dauphin، 2007). يتوقف مبدأ عمل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) على ظاهرة الإدمصاص، يكون الطور المتحرك عبارة عن مذيب نقي أو خليط من المذيبات، بينما الطور الثابت عبارة على صفيحة زجاجية أو ورقة نصف صلبة من البلاستيك أو الألمنيوم مغطاة بطبقة رقيقة من هلام السيليس (Caude و Jardy، 1996).



الشكل 11: مخطط يوضح مبدأ عمل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (Rouessac، 2004).

يتم الكشف عن الموقع الجديد للجزيئات بعد الهجرة بالأشعة فوق البنفسجية (UV) أو بملون خاص. تقاس مسافة هجرة هذه المركبات و تقارن مع العينات الشاهدة المهاجرة عبر الطور المتحرك، مما يسمح بتعرف على معامل الهجرة **Rf** المميز لكل مركب، فهو مسافة هجرة المركب على مسافة هجرة المذيب (Caude و Jardy، 1996).

II-8-2 الكروتوغرافيا الغازية (CPG)

يعتمد مبدأ الفصل في هذه التقنية على ظاهرة الإدمصاص و التوزيع، يكون في هذا النوع من الكروماتوغرافيا الطور المتحرك عبارة عن غاز خامل (الهيليوم، الآزوت أو الهيدروجين)، و الطور الثابت سائل أو جسم صلب (سليكا) موزع على دعامة صلبة داخل أنبوب. تطبق هذه التقنية على العينات الغازية أو القادرة على التبخر. كما تستعمل في دراسة مستخلصات النباتات العطرية و المتطايرة في وجود حرارة عالية (Wichtel و Anton، 1999).

تسمح الكروماتوغرافيا الغازية بالتقدير الكمي و النوعي للتركيب الكيميائي الخاص بالزيوت الأساسية. فهي الطريقة الأكثر تكيفا مع تحليل المركبات الطيارة للزيوت الأساسية، تملك هذه التقنية العديد من المحاسن منها: سهولة إستخدامها، إستغراقها وقت قصير أثناء التحليل و النتائج المتحصل عليها مقنعة (Bruneton، 1999).

II-8-3 الكروتوغرافيا الغازية المزاوجة مع مطياف الكتلة (GPC/SM)

تعد الكروماتوغرافيا الوحيدة التي تفصل بدقة و تسمح بالتعرف على مختلف مكونات الخليط. تزاوج الكروماتوغرافيا الغازية بتقنية فيزيائية أخرى بهدف إضافة بعد تحليلي ثاني للكروماتوغرافيا يعطي تمثيل دقيق للبنية الجزيئية لمادة ما. يعتمد مبدأ هذه التقنية على انتقال المركبات المنفصلة بالكروماتوغرافيا الغازية بواسطة غاز كاشف (الطور المتحرك) إلى مطياف الكتلة، و إنقسامها إلى أيونات ذات كتل مختلفة و فصلها هنا يكون حسب كتلتها. المقارنة الآلية الطيفية للمعول غير المعروف تكون مع واحد أو أكثر من المعاول المرجعية التي تسمح بالتعرف عليه بشرط تماثل الأطياف (Desjobert و آخرون، 1997; Bruneton ، 1999).

II-8-4 الكروتوغرافيا السائلة ذات الضغط العالي HPLC

تعطي هذه التقنية نتائج مهمة، تتميز بالسرعة و القدرة على التحليل. يكون الطور الثابت عبارة عن أجزاء صغيرة صلبة كروية ذات قطر يصل حتى 5 µm موضوعة داخل عمود مغلق، أما الطور المتحرك يكون عبارة عن سائل يتدفق عبر الطور الثابت بفعل الضغط العالي الذي يرفع من سرعته، لذا تسمى الكروماتوغرافيا السائلة ذات الضغط العالي. تدخل العينات المراد تحليلها بحقن كميات قليلة منها (بعض المكرولترات) في éluant (المذيب المستعمل في الكروماتوغرافيا من أجل حركة المواد) تحت الضغط العالي. تتم قراءة مختلف مركبات العينة بعد فصلها و خروجها من العمود (Audigie و آخرون، 1995 ; Bencheikh، 2005). تستعمل هذه التقنية من أجل تقدير تركيز الزيوت الأساسية التي تملك مكوناتها طيف UV مميز، غير أنها بصفة عامة قليلة الاهتمام بالأجزاء الطيارة، ففي كل الحالات تكون فعالة لأجل دراسة المركبات غير طيارة (Bruneton، 1999).

II-8-5 التحليل الطنيني النووي المغناطيسي RMN

هي وسيلة إستثنائية لتحديد بنية الجزيئة المصنعة أو الطبيعية، بواسطة القياسات المغناطيسية لذرة الهيدروجين. جديد تقنية RMN بالمقارنة مع بقية التقنيات الأخرى هو تسجيلها لعدد ذرات الهيدروجين في مختلف المواقع أي إعطائها معلومات دقيقة و موحدة حول غالبية الذرات المكونة للجزيئة، لتسهل إمكانية التعرف على نوع الارتباطات بين ذرات مختلف المركبات، الهيكل و المجاميع الوظيفية (Platzer، 2002).

II-9 النشاطية ضد الميكروبية لبعض الزيوت الأساسية

تعتبر الزيوت الأساسية مثبط جيد لنمو البكتيريا، الأعفان و الخمائر. ترجع نشاطيتها إلى مكوناتها الكيميائية، خاصة طبيعة مكوناتها العطرية الغالبة. تعمل على منع تكاثر البكتيريا، تبوغها و إنتاج سمومها. أما من أجل الخمائر، تؤثر على كتلتها الحيوية و إنتاج pseudomycelium بتثبط إنبات الأبواغ، استطالة الميسليوم و إنتاج السموم عند الأعفان. تتمثل فعالية الزيت في أقل تركيز ممكن يعمل على التثبيط الكلي لنمو البكتيريا (Oussalah و آخرون، 2006).

هناك العديد من الدراسات القديمة التي أظهرت بأن الزيوت الأساسية مواد طبيعية مطهرة، من بينها التجارب الأولى لـ Koch في 1881 و المتمثلة في اكتشاف النشاطية القاتلة للبكتيريا bactericide للزيت الأساسي لـ térébenthine مع أبواغ الفحم (les spores du charbon). ثم درس بعده Chamberland (1887) نشاطية الزيوت الأساسية للزعتر، القرفة و القرنفل مع بكتيريا *Bacillus anthracis*. كما درس أيضا Bonnaure في 1919 النشاطية العلاجية للخزامة، و في عام 1935 أظهر Bose mit العلاقة بين التركيبة الكيميائية و القدرة المطهرة (Belaiche، 1979). تواصل الإهتمام بهذه الخاصية المهمة للزيوت الأساسية بعد ذلك بشكل مكثف و مستمر إلى يومنا هذا. كما تنوعت البحوث لاختبار نشاطية الزيوت الأساسية على الفطريات الممرضة للإنسان و النبات، نذكر من بينها عمل Deans و Ritchie (1987) في دراسة النشاطية ضد الميكروبية لـ 50 زيت أساسي مع 25 متعضي بكتيري، بواسطة تقنية التماس المباشر في الوسط الصلب مع أربع تراكيز مختلفة لكل زيت أساسي. تقوم كل هذه الزيوت الأساسية على الأقل بتثبيط متعضي بكتيري واحد، و هي في شكلها غير المخفف. أظهرت عشرة زيوت أساسية خواص تثبيطية جد واضحة، من خلال تثبيطها لـ 20 متعضي على الأقل من البكتيريا المختبرة، و هذه الزيوت هي زيت الرند، القرفة، القرنفل، زعتر، اللوز المر، المردقوش أو الزعتر البري، الفلفل الحلو و أنوية جوزة الطيب.

إختبر Janssen و آخرون (1988) التأثير التثبيطي لـ 53 زيتا أساسيا مع ثلاث فطريات جلدية: *Epidermaphyton floccosum*، *Trichophyton metagrophytus* و *Trichophyton rubrum*. أظهرت النتائج غنى هذه الزيوت الأساسية المختبرة بـ thymol، carvacrol، eugénol و cinnamaldehyde و هذا ما يفسر نشاطيتها العالية مع المتعضيات الدقيقة الثلاثة المختبرة. كما أكدت العديد من البحوث فعالية الزيوت الأساسية الغنية بالمركبات الفينولية مع مختلف الأنواع البكتيرية و الفطرية و هذا ما أثبته كل من Baser و آخرون (2001) و Unlu و آخرون (2003).

في حين اختبر Pattnaik و آخرون (1997) النشاطية ضد الميكروبية لخمس مركبات من الزيوت الأساسية cinéole، citral، géraniol، linalol و menthol مع 18 نوع بكتيري (موجبة غرام و سالبة غرام) و 12 فطر (3 خمائر و 9 أعفان)، يعد linalol أكثر فعالية من حيث تثبيطه لـ 17 نوع بكتيري ثم يليه cineole و géraniol (كل واحد منهما يثبط 16 نوع بكتيري).

بينما ثبط كل من menthol و citral 15 و 14 نوع بكتيري على التوالي. بينما احتل كل من citral و géraniol صدارة النشاطية ضد الفطرية (بتثبيطهما لـ 12 فطر)، ثم يتبعهما linalol (الذي ثبط 10 فطريات)، في حين ثبط كل من cineole و menthol 7 فطريات.

قام Hammer و آخرون (1999) بدراسة النشاطية ضد الميكروبية لـ 47 زيت أساسي ضد 10 متعضيات دقيقة منها خميرة (*Candida albicans*)، فلاحظوا تثبيط تام لكل هذه المتعضيات الدقيقة بواسطة الزيوت الأساسية التالية: *Cymbopogon citratus*، *Origanum vulgare* و *Pimenta racemosa* ذات التراكيز الضعيفة أو المساوية 2 %، على عكس غياب تثبيطها بزيت *Salvia officinalis* ذو التركيز 2 %.

درس كل من Dorman و Deans خلال سنة 2000 نشاطية الزيوت الأساسية للنباتات التالية الفلفل (*Piper nigrum*)، إبرة الراعي أو الغرنوقي (*Pelargonium graveolens*)، الزعتر البري (*Origanum vulgare*) و الزعتر (*Thymus vulgaris*) مع 25 متعضي مختلف من البكتيريا. حيث أظهرت هذه الزيوت الأساسية تأثيرات تثبيطية معتبرة ضد كل المتعضيات الدقيقة المختبرة مقارنة مع المضادات الحيوية على مستوى البكتيريا المزروعة. تكون المركبات الحاملة للبنية الفينولية مثل: carvacrol، eugénol و thymol أكثر فعالية ضد المتعضيات الدقيقة، فقد عرفت الفينولات كعوامل قاتلة للبكتيريا أو مثبطة لها حسب تركيزها المستعمل. تعود معظم النشاطية ضد الميكروبية في الزيوت الأساسية للتربينات الأحادية الأوكسيجينية الناتجة عن المركبات الحاملة لمجاميع الهيدروكسيل خاصة monoterpène hydrocarboné مثل α-pinène (Bouzouita و آخرون، 2008).

تملك الكحولات نشاطية قاتلة للبكتيريا microbicide أكثر من النشاطية التثبيطية لها microbiostatique. يكون تأثير الزيوت الأساسية على البكتيريا كبير مقارنة بالفطريات، و تكون فعالية التربينات على البكتيريا أكثر مما هي عليه في الفطريات (Satrani و آخرون، 2007). استعمل Miladinovic وآخرون (2001) تقنية الأقراص لملاحظة النشاطية ضد الميكروبية للزيت الأساسي الخاص بنبتة *Salvia officinalis*، أظهرت النتائج بأن تخفيف الزيت الأساسي إلى 1/5 و إلى 1/10 يعطي فعالية كبيرة ضد الأنواع البكتيرية التالية *Bacillus subtilis*، *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Salmonella enteridis* و *Aspergillus niger*،

يعود سبب هذه النشاطية إلى تواجد كل من α-thujone و camphre. في حين قدر Daferea و آخرون (2002) النشاطية ضد الميكروبية ل 8 زيوت عطرية مع متعضيات دقيقة ممرضة للنبات، فلاحظوا تثبيط تطور كل من الأنواع البكتيرية التالية *Botrytis cinerea*، *Fusarium solani* و *Clavibacter michiganensis* و بصفة كلية عند استعمال تراكيز الزيوت الأساسية التالية: *Origanum vulgare*، *Thymus capitatus*، *Origanum dictamnus* و *Origanum majorana* المقدرة بحوالي 85 إلى 300 µg/ml، أظهرت باقي الزيوت الأساسية لـ *Lavandula augustifolia*، *Rosmarinus officinalis*، *Salvia fructicosa* و *Mentha pulegium* نشاطية ضعيفة مع الأنواع البكتيرية المختبرة.

بين Ohno و آخرون (2003) قدرة الزيوت الأساسية للقرفة و الليمون الحامض citronnier في القضاء على نمو *Helicobacter pylori* (حتى الأنواع البكتيرية المقاومة) و تفاعلها حتى في الشروط الحمضية، في حين أظهرت الفئران مخبريا إنخفاضا محسوسا في عددها بعد حقنها بزيت القرفة عبر المسلك الشفوي. بالإضافة إلى إمتلاك الزيت الأساسي لنبتة *Ferula gummosa* نشاطية مضادة للأنواع البكتيرية التالية: *S. aureus*، *B. subtilis*، *E. coli* و *E. faecalis* و أقل نشاطية ضد بكتيريا *P. aeruginosa* (Eftekhar و آخرون، 2004). يمكن لنشاطية الزيت الأساسي لنبتة *Pulicaria odora* أن تكون أكبر من تلك التي تبديها المضادات الحيوية المعروفة (Hanbali و آخرون، 2005).

أظهر Laouer (2004) بأن الزيت الأساسي لنبتة *Ammoides pusilla* ذو نشاطية ضد ميكروبية مرتفعة أثناء إختباره بتقنية الإتصال المباشر مقارنة بتقنية التبخير، هذه النشاطية جد فعالة من أجل الفطريات أكثر من البكتيريا، حيث كانت البكتيريا موجبة غرام جد متحسسة مقارنة بالسالبة غرام. كما توصل كل من De Carvalho و Da Fonseca (2005) إلى أن 88.80 % من البكتيريا موجبة غرام و 93.30 % من الخمائر المختبرة أظهرت حساسية للزيت الأساسي لنبتة *Cordia verbenacea*، لكن 80 % من البكتيريا السالبة غرام أظهرت فعل مقاوم لهذا الزيت، فيما أبدت ثلاث أنواع من *Proteus mirabilis* و نوع من *Proteus vulgaris* رد فعل تثبيطي.

كما أظهرت Bencheikh (2005) عدم فعالية الزيت الأساسي لنبتة *Foeniculum vulgare* مع *Escherichia coli* ATCC 25922، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 و *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و أيضا مع 12 نوع بكتيري متحصل عليهم بالعزل المختلف.

يملك الزيت الأساسي لنبتة *Thymus fontanesii* مجال تفاعل كبير مع البكتيريا موجبة غرام وسالبة غرام و كذلك مع الفطريات، على عكس عدم فعالية هذا الزيت مع *Pseudomonas aeruginosa*. فيما يعد الزيت الأساسي لأوراق *Lavandula stoechas* عاملا فعالا ضد بكتيري مع كل من الأنواع البكتيرية *Klebsiella pneumoneae*، *Proteus mirabilis* و *E. coli* ATCC 25922. دون أن ننسى فعالية الزيت الأساسي لنبتة *Cistus ladaniferus* المعروفة ضد *Listeria monocytogenes* Mohammedi (2006). كما بين هذا الباحث أيضا بأن هناك من الزيوت الأساسية من لا يبدي أية تأثير ضد ميكروبي، نذكر منها زيت *Cupressus dupreziana* المختبر من طرف Ramdani و آخرون (2007)، توصل إلى عدم نشاطية هذا الزيت الأساسي ضد ثلاث أنواع من البكتيرية المرجعية، *E. coli* ATCC 25922، *S. aureus* ATCC 25923 و *P. aeruginosa* ATCC 27853. حتى الزيت الأساسي لنبتة *Marrubium deserti* المدروس من طرف Benalia (2008) أظهر عدم نشاطيته مع العديد من البكتيريا و نوعين من الفطريات.

في حين اختبرت El Kolli (2008) النشاطية ضد البكتيرية لزيتين أساسيين مستخلصين من نوعين من جنس *Anthemis*، و هما *Anthemis punctata* و *Anthemis pedunculata*، و ذلك باستعمال تقنية الأقراص مع ثلاث أنواع من البكتيريا المرجعية (ATCC)، تحصلت على نشاطية مضادة للبكتيريا لهذين الزيتين مع *E. coli* ATCC 25922 و مع *S. aureus* ATCC 25923 بالتخفيف 2/1 (v/v). ترجع هذه النشاطية حسب نفس المؤلف إلى المحتوى التربيني الكبير لهذين الزيتين مثل: pinène، myrcène، tricyclène، farnesène، cadinène، limonène ...إلخ.

أظهر اختبار Burt و Reinders (2003) الخواص ضد الميكروبية للزيتين الأساسيين للزعتر origan و thym، كانت النتائج جد إيجابية مقارنة بزيت القرنفل و أنوية المشماش، و ذلك باستعمال طريقة الانتشار. أكدت دراسة Hernandez و آخرون (2005) الهدف من استعمال *Lantana achyranthifolia* في الطب الشعبي معالجة الأمراض المعدية المعوية و التنفسية. يرجع سبب تأثير الزيت الأساسي لـ *Lantana achyranthifolia* على بكتيريا *Staphylococcus*

aureus و *Vibrio cholerae* في هذه الدراسة إلى وجود بعض المركبات مثل carvacrol، l'acétate de terpinéol، cimène، thymol، pinène، cinéole، linalol... إلخ المعروفة بنشاطيتها ضد الميكروبية.

II-10 تقنيات الدراسة ضد الميكروبية

تقدر النشاطية ضد الميكروبية للزيوت الأساسية بواسطة تقنيتين رئيسيتين: تقنية الإتصال المباشر (في وسط صلب أو وسط سائل) و تقنية التبخير (micro-atmosphères).

II-10-1 تقنية الإتصال المباشر

II-10-1-1 تقنية الانتشار على الجيلوز

هي تقنية قديمة لكنها لازالت مستعملة لحد الآن، تسمح بالتقدير النوعي لتأثير الزيت، و ترتكز هذه التقنية على وضع أقراص سيليلوزية حاملة لكميات معلومة من الزيت الأساسي (aromatogramme)، ثم حضنها في المزرعة البكتيرية عند درجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة. تقدر حساسية و مقاومة المستعمرات الميكروبية بقياس قطر منطقة التثبيط للنمو الميكروبي حول القرص، و النتيجة تعطى بالرمز (+) أو بالميليمتر (Belaiche، 1979). تعتبر هذه التقنية عموما بمثابة إختبار أولي للنشاطية ضد الميكروبية للزيوت الأساسية لأن قطر التثبيط لا يقيس مباشرة النشاطية ضد الميكروبية للزيوت الأساسية، لا تنتشر المركبات المختلفة بنفس الطريقة في الجيلوز، يختلف قطر التثبيط بدلالة كثافة وسط الزرع وسمكه. من الضروري توحيد هذه الشروط للتمكن من مقارنة النتائج (Hulin و آخرون، 1998).

II-10-2 تقنية التبخير micro-atmosphères

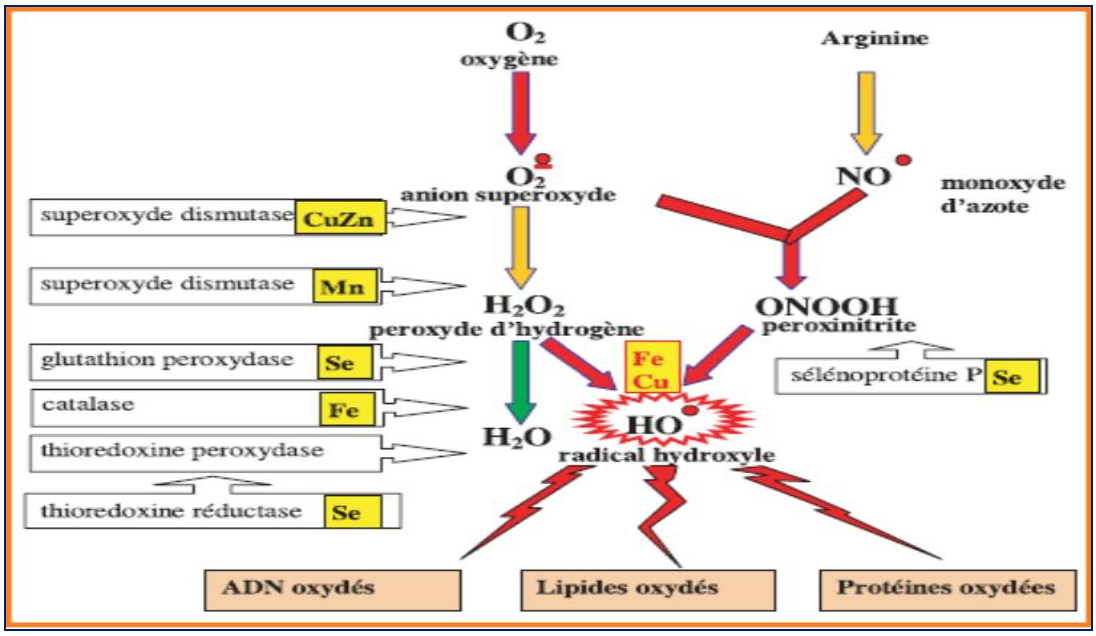
تعتمد هذه التقنية على وضع قرص من ورق الترشيح في وسط غطاء علبة بتري محمل بالزيت الأساسي المدروس دون أن يدخل الزيت الأساسي في اتصال مع الجيلوز المزروع بالكائنات الدقيقة. يجب غلق العلبة بإحكام و وضع الغطاء بشكل مقلوب في الحاضنة عند 37 م°. تتبخر المواد الطيارة داخل العلبة و تثبط الخلايا الحساسة الموجودة في الوسط الزرعي. تكمن فعالية الزيوت الأساسية في تطايرها عند درجة حرارة 37 م°. تعتمد نتيجة هذه التجربة

على نمو المزارع البكتيرية أو عدم نموها (Benjilali و آخرون، 1986). تكرر كل تجربة مرتين ثم يقارن النمو بعد الحضن. لا تقيس هذه الطريقة النشاطية ضد البكتيرية للزيوت الأساسية، بل تظهر فقط نشاطية المركبات الطيارة في درجة حرارة الحضن (Hulin و آخرون، 1998).

II-11 النشاطية المضادة للأكسدة

كل الكائنات الحية الهوائية بما فيها الانسان لها وسائل مضادة للأكسدة تحميها و تخلصها من أضرار العوامل المؤكسدة، على سبيل المثال نجد إنزيمات التصليح التي تعمل على إزالة أو تصليح الجزيئات المتضررة (Mavi و آخرون، 2004). ينقسم نظام دفاع مضادات الأكسدة في الجسم عموما إلى نظام دفاعي أول مكون من إنزيمات و مواد مضادة للأكسدة (الشكل 12) مثل: superoxyde dismutase **(SOD)** الذي يخفض مدة حياة **(O_2^-)**، **catalase** الذي يحول peroxyde hydrogène **(H_2O_2)** إلى جزيئة ماء بسيطة، glutathion peroxidase **(GPx)** يهدم peroxyde hydrogène و peroxyde lipidique، بينما يتمثل النظام الدفاعي الثاني في إنزيمات protéolytique، فوسفوليباز، ADN endonuclease، ligase و macroxyprotéinase. دون نسيان مضادات الأكسدة الطبيعية ذات المصادر الخارجية المتواجدة بكثرة في الفواكه والخضر، تنقسم هذه الأخيرة إلى ثلاث مجموعات رئيسية: الفيتامينات، الفينولات و الكاروتينويدات. يعرف حمض الأسكوربيك و الفينولات بمضادات الأكسدة المحبة للماء، بينما تعرف الكاروتينويدات بمضادات الأكسدة المحبة للدهن (Thaipong و آخرون، 2006). بالإضافة إلى الألبومين، حمض اليوريا، الأستروجين و عديدات الأمين (Svoboda و Hampson ، 1999). قد تكون الآليات الطبيعية المضادة للأكسدة غير كافية، لذا وجدت مضادات الأكسدة الصناعية مثل butylated hydroxytoluene (BHT) و butylated hydroxyanisole (BHA) المستعملة بكثرة في الصناعة الغذائية، لكن نظرا لآثارها الجانبية زاد الاهتمام أكثر فأكثر بالبحث عن مصادر طبيعية بديلة لها (Mavi و آخرون، 2004).

توقف مضادات الأكسدة تفاعلات الأكسدة و ذلك راجع لبنيتها المستقرة نسبيا (Vansant، 2004). تثبط أو تؤخر عملية الأكسدة من خلال إيقاف بداية سلسلة التفاعلات التأكسدية (Shrififar و آخرون، 2003).



الشكل 12: أهم طرق عمل مضادات الأكسدة الإنزيمية و مرافقاتها المعدنية (Favier، 2003).

II-1-11- الجذور الحرة

يعرف الجذر الحر على أنه نوع كيميائي سواء ذرة أو جزيئة، تحتوي على إلكترون غير مزاوج أو أكثر على مستوى المدار الخارجي وهذا ما يعطيها نشاطية قصوى. إذن هي جزيئات جد نشطة وغير مستقرة بدرجة كبيرة، بسبب محدودية مدة حياتها التي يكون عموما جد قصير و المقدر بـ 10^{-4} ثانية، يمكنها التفاعل بسرعة مع العديد من الجزيئات المجاورة لها من أجل مزاوجة إلكترونها و تصبح أكثر استقرارا (André، 1998 ; Beckman و Ames، 1998). تتضمن عملية التقاط إلكترون التفاعل مع الجزيئة المتبرعة التي تفقد إلكترون و تتأكسد، تصبح هذه الجزيئة المتبرعة المؤكسدة قادرة على أكسدة جزيئات أخرى و هكذا تبدأ سلسلة التفاعلات. تدعى جميع الجذور الحرة و مصادرها غالبا بالجذور الأوكسيجينية النشطة (Favier، 2003). بالرغم من الدور الكبير الذي تلعبه الجذور الحرة في الجسم، إلا أنها يمكن أن تتفاعل مع كل من DNA، البروتينات أو الليبيدات و تسبب العديد من الأضرار على

مستوى الغشاء الخلوي (Hawkins و آخرون، 2002). عند مهاجمة الجذور الحرة لـ DNA تسبب على مستواه طفرات محفزة لنشأة السرطانات (Shrififar و آخرون، 2003). تتشكل الجذور الحرة على مستوى خلايا الجسم و تنتج عموما عن عمليات الاستقلاب الخلوية (Niki E، 2001 ; Niki E، 1992).

يحتوي مركز العديد من أنواع هذه الجزيئات على الأوكسجين و أحيانا على النتروجين (Halliwell و آخرون، 1992 ; Halliwell و Chirico، 1993). إذ تسبب هذه الجذور تصلب الشرايين، مرض القلب، الشيخوخة المبكرة، الالتهابات، مرض السكري و التثبيط المناعي (Hemant و آخرون، 2002). بالإضافة إلى تأثيرها على الجهاز العصبي بالتسبب في إحداث مرض الباركنسن و مرض النسيان (Poullain و آخرون، 2004).

أهم الجذور الحرة

❖ **أنيون فوق الأكسيد $O_2^{\cdot -}$:**

عبارة عن جزيئة أوكسيجين تعمل على اكتساب إلكترون إضافي في المدار الخارجي، بفضل امتلاكها الطاقة الكافية لذلك، و بالتالي تصبح تسمى anion superoxide كما في المعادلة التالية:

$$O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\cdot -}$$

يتدخل هذا الأنيون كعامل مؤكسد في العديد من التفاعلات (Hadi، 2004). ينتج أثناء التفاعل بين الأوكسيجين و العديد من بروتينات السلسلة التنفسية (Favier، 2003). و يعمل على قتل الخلايا، إبطال عمل الإنزيمات، كما يهدم DNA، غشاء الخلايا و polysaccharide (Siddhuraju و Becker، 2003).

❖ **جذر الهيدروكسيل $OH^{\cdot}$:** جد نشط في التفاعل مع البنيات المتواجدة في العضوية و يلعب دور أولي في الأكسدة الذاتية للبيدات (Hadi، 2004).

❖ **الأوكسيجين الأحادي $O_2^{\cdot}$:** هو الشكل المهيج للأوكسيجين الجزيئي العادي.

❖ جذر البيروكسيد $ROO^{\cdot}$ (Hadi، 2004).

- **مصادر الجذور الحرة**

تنتج الجذور الحرة بآليات فيزيولوجية مختلفة لتقتل البكتيريا ضمن الخلايا البالعة ومتعددة النوى، أو من أجل تنظيم الوظائف الخلوية المتعلقة بالموت الخلوي المبرمج (Favier، 2003). من بين المصادر الرئيسية الداخلية لأشهر المنتجات الأوكسيجينية الخلوية نجد التنفس الهوائي العادي، تحفيز الخلايا المتعادلة، البالعات و البيروكسيزومات، بينما تتمثل المصادر الخارجية للجذور الحرة في تدخين التبغ، تأين الأشعة، المذيبات العضوية و المبيدات (Mavi و آخرون، 2004). تعد السلسلة التنفسية المصدر الأول للجذور الحرة و الأنواع الأوكسيجينية النشطة، من خلال إنتاجها لكل من أيونات فوق الأكسيد، الماء الأوكسيجيني و جذور الهيدروكسيل (Favier، 2003 ; De Moffart و آخرون، 2005). بالمقابل يعد الإلتهاب مصدر مهم للجذور الأوكسيجينية المنتجة مباشرة من قبل الخلايا البالعة المنشطة. تحفز الخلايا المناعية بواسطة محفزات خارجية أو داخلية، مما يترتب عنه وقف استهلاكها الأوكسجين مع تنشيط للإنزيم الغشائي NADPH oxydase المحفز لإرجاع هذا الأوكسجين إلى أنيون فوق أوكسيد ($O_2^{\cdot-}$)، ينتج هذا الأخير (H_2O_2) بواسطة Bonnefont-Rousselot) dismutation و آخرون، 2002 ; De Moffarts و آخرون، 2005). إلى جانب هذه المصادر الرئيسية للأنواع الأوكسيجينية النشطة نجد المصادر السيتوزولية، خاصة البيروكسيزوم الذي يعد مصدر مهم في الإنتاج الخلوي لـ H_2O_2 (Sevanian و آخرون، 1990 ; Valko و آخرون، 2007)، ينتج الإنزيم xanthine oxidase كل من $O_2^{-\cdot}$ و H_2O_2 (Groussard، 2006). تعمل إنزيمات الشبكة الأندوبلازمية الملساء خاصة cytochrome P450 على أكسدة الأحماض الدسمة غير المشبعة و الجزيئات الخارجية (Massion و آخرون، 2002). بالإضافة إلى تدخل عوامل أخرى في تشكيل الجذور الحرة كالأشعة فوق بنفسجية UV القادرة على خلق أيونات فوق أوكسيد أو الأوكسجين الأحادي، تملك الأشعة X و γ القدرة على قص جزيئة الماء إلى جذرين بواسطة تدخل عوامل حساسة للضوء (Tamer،2003). الأميونت و السليس هما أيضا مصادر للجذور الحرة دون أن ننسى استنشاق المدخنات كالسجائر و استهلاك الكحول (Wang و آخرون، 2008 ; Favier، 2003). تعد الإصابات البكتيرية أو الفيروسية حسب Aurousseau (2002) مصدر للجذور برفعها لعدد

الخلايا البالعة المشاركة في إقصائها، دون أن ننسى المضادات الحيوية و مضادات التسرطن التي تعمل على رفع نسبة الجذور الحرة (Hadi، 2004).

II-11-2 الكرب التأكسدي و عواقبه

ينتج الكرب التأكسدي عن طريق حدوث خلل في بناء الأنواع الأوكسيجينية النشطة، و قدرة مضادات الأكسدة على إزالة مفعول الأضرار الناتجة عن الأكسدة و إصلاحها، أي هو حالة إضطراب في الأكسدة الداخل خلوية (Boyd و آخرون، 2003). في الحالات العادية هناك اتزان بين مضادات الأكسدة و طلائع الأكسدة، لكن في الحالة المرضية غير العادية هناك نقص في مضادات الأكسدة أو فرط في إنتاج الجذور الحرة، يسمى هذا الإفراط في إنتاج الجذور الحرة بالكرب التأكسدي (Favier، 2003).

يحدث الإنتاج المفرط للجذور الحرة أضرار مباشرة على الجزيئات البيولوجية، منها أكسدة كل من ADN، البروتينات، الليبيدات و السكريات. تعتبر اللبيدات و خصوصا أحماضها الدهنية المتعددة الروابط المزدوجة هدفا مميزا لهجوم جذور الهيدروكسيل، يسمى هذا التفاعل بفوق أكسدة الدهون. ينتج عن مهاجمة الدهون الحرة المنتشرة تشكل LDL المؤكسد و تشكل راسب لبيدي على سطح الشرايين، يعمل هذا الأخير على تصلبها و بالتالي ظهور الأمراض الوعائية القلبية، كما تهاجم اللبيدات الغشائية و تغيير من ميوعة الغشاء البلازمي، و بالتالي تعطل عمل العديد من المستقبلات، النواقل و محولات الإشارات (Favier، 2003). يمكن للجذور الحرة أن تحرض حدوث طفرات وراثية أو توقف عملية استنساخ ADN، و ذلك عن طريق تغيير القواعد الآزوتية، تخريب جسور ADN- بروتين أو العمل على شطر أذرعها (Hadi، 2004). تعمل الجذور الحرة على تغيير طبيعة الأحماض الأمينية من خلال تغيير البنية الأولية، الثانوية و الثالثية للبروتينات. يعتبر الكرب التأكسدي المسبب الرئيسي للعديد من الأمراض كالسرطان، الضمور العضلي، الأزمات التنفسية الحادة، إنتفاخ الرئة، الشيخوخة المبكرة، السكري، مرض ألزهايمر، الروماتيزم و الأمراض الوعائية القلبية (Favier، 2003). مرض الباركنسن، الالتهابات المعدية المعوية، القرحات المعدية (Atawodi، 2005). هذا يعني بأن الجذور الحرة ليست دائما ضارة، فهي مفيدة للجسم بمحافظتها على

حيوية العضلات الملساء، كذلك مقاومتها للالتهابات و مكافحة الميكروبات (Pincemail و Defraigne، 2004).

الجزء التطبـــــــيقي

III الفصـــــــــــل

المواد و طرق التحليل

III-1 المواد

III-1-1 النبتة المستعملة

استعملت نبتة *Daucus setifolius* بكامل أجزائها عند الإستخلاص، بعدما تم التحصل عليها من المنطقتين الساحليتين سكيكدة و بجاية. تجفف النبتة بعد جنيها في مكان مظلم و درجة حرارة المخبر مع تنقيتها من الشوائب، ثم تقطع إلى أجزاء صغيرة تتراوح ما بين 1 إلى 2 سم. تزامنت فترة جني نبتة *Daucus setifolius* من هاتين المنطقتين بين شهري جويلية و أوت لعامي 2010 -2011. قطفت النبتة و هي في نهاية مرحلة الإزهار و بداية تشكل الثمار (البذور)، تم التأكد من نوع النبتة المستعملة من طرف الأستاذ لعور حسين من مخبر تثمين الموارد النباتية بجامعة فرحات عباس- سطيف.

الشكل13: نبتة *Daucus setifolius* المستعملة في الإستخلاص.

III-2-1 مواد اختبار النشاطية المضادة للميكروبات

III-1-2-1 أنواع الميكروبات

قدرت النشاطية ضد الميكروبية لزيتي نبتة *Daucus setifolius* باستعمال عدة سلالات بكتيرية مرجعية من نوع (**ATCC** American Type Culture Collection و Collection de listeria de **Clip** l'institut pasteure). و هي على التوالي: *Escherichia coli* ATCC 25922 و *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853، *Klebseilla pneumoniae (urinate)* E47 (resistante à la quinoline)، *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و*Staphylococcus aureus* résistante à la methycilline (SARM) ATCC 43300، *Listeria inoura* Clip 74915، و *Bacillus subtilis* ATCC 6633، *Enterococus faecalis* ATCC 49452، *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 و *Acinetobacter baumanip* ATCC 19606 . فضلا عن نوعين من الفطريات و نوع من الخميرة الذين تم عزلهم من المرضى و التعرف عليهم على مستوى مخبر علم البكتيريا و الفطريات بالمركز الاستشفائي الجامعي بسطيف: *Aspergillus niger*، *Aspergillus flavus* و *Candida albicans*.

III-1-2-1-1 حفظ السلالات الميكروبية

تحفظ السلالات الميكروبية في درجة حرارة 5 م° داخل أنابيب معقمة تحتوي على 10 ملل من وسط الزرع المائل (الذي هو Sabouraud من أجل الفطريات، و جيلوز نتريتيف من أجل البكتيريا و الخمائر).

III-1-2-2 الأوساط الزراعية

تتطلب زراعة البكتيريا استعمال الوسط الزرعي أغار ميلر هينتن (MH)، بالإضافة إلى الأوساط الزراعية التالية: جيلوز نتريتيف و مرق النتريتيف بالإضافة إلى جيلوز بالدم، المتحصل عليهم من معهد باستور بالجزائر العاصمة و الموضح تراكيبهم الكيميائي في الملحق 1.

أما الوسط المستعمل لزراعة الفطريات هو Sabouraud البسيط، كما يستعمل هذا الأخير في زراعة الخمائر بعد إضافة مادة chloramphénicol المانعة لنمو البكتيريا.

III-1-2-3 المضادات الحيوية

من بين المضادات الحيوية المستعملة في هذا الاختبار كشواهد إيجابية نجد:

Piperacillintazobactam ،Nitrofurantoin (**FT**, Bio-Rad) ،Nalidixic Acid (**NA**, Bio-Rad) ، Imipenem (**IMP**, ،Kanamycin (**K**, Bio-Rad) ،Vancomycin (**VA**, Oxoid) ،(**TZP**110, Oxoid) Ceftazidime (**CAZ**, Bio-،Cefotaxine (**CTX**, Oxoid) ،Erythromycin (**E15**, Oxoid) ،Bio-Rad) Ampicillin (**AM**, Bio-Rad) ،Oxacillin (**OX1**, Bio-Rad) ،Cefoxitin (**FOX**, Bio-Rad) ،Rad) Gentamicin ،Ampicillin (**AMP**, Oxoid) ،Amoxycillin+Clavulanic Acid (**AMC**, Bio-Rad) ، Fosfomycin (**FOS**, ،Aztréonam (**ATM**, Oxoid) ،Cefazolin (**CZ**, Bio-Rad) ،(**GN**, Bio-Rad) Ofloxacine (**OFX**, Bio-Rad) ،Ticarcilin (**TIC**, Bio-Rad) ،Amikacin(**AN**, Bio-Rad) ،Bio-Rad) .Rifampin (**RA**, Bio-Rad)،

مصدر جميع هذه المضادات الحيوية البكتيرية معهد باستور بالجزائر العاصمة، كما لاحظنا أن منتج كل هذه المضادات الحيوية هما المصنعين Oxoid و Bio-Rad. يتم سرد حمولة كل قرص من المضادات الحيوية في الملحق 2.

استعملت بعض المضادات الفطرية كشواهد إيجابية منها: 5-Fluorocytosine، Ketoconazole، Miconazole، Econazole، Nystatine.

III-1-3 مواد اختبار النشاطية المضادة للأكسدة

BHT (butylated hydroxytoluen)، الميثانول و **DPPH.**

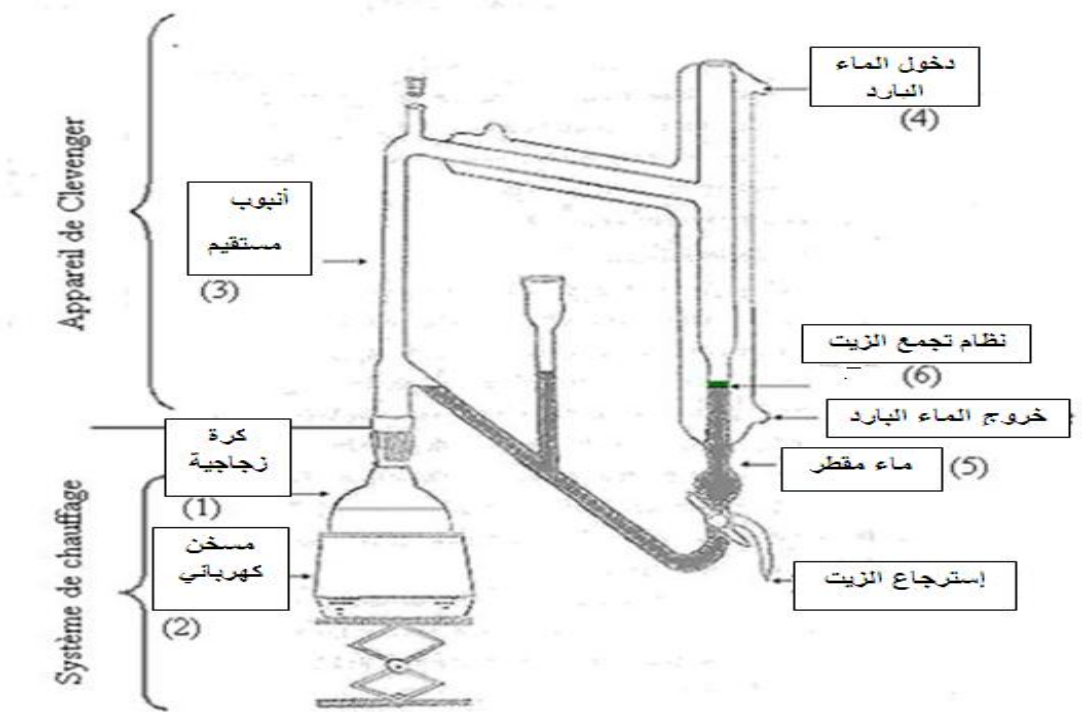
.(Diphenyl-2-picryl-hydrazyl-1, 1, $\mathbf{C_{18}H_{12}N_5O_6}$, Mr 394. 33)

III-2 الطرق التجريبية

III-2-1 استخلاص الزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius*

تعرض الأجزاء النباتية المجففة إلى عملية الاستخلاص باستعمال جهاز التقطير المائي من نوع Clevenger (الشكل 14)، بعد قصها إلى أجزاء جد صغيرة ثم وزنها.

تعتمد هذه التقنية على إمكانية جذب بخار الماء للزيوت الأساسية و نقلها معه. تنطلق هذه العملية بعد وضع 400 غ من الكتلة النباتية المجففة داخل كرة زجاجية كبيرة تسع 5 لترات (1)، ثم تبليلها و غمرها بالماء المقطر دون ملء الكرة (حوالي ثلثي الكرة ماء مقطر و ثلث من الأجزاء النباتية المجففة) لتجنب التسرب أثناء الغليان. يسخن المزيج بمساعدة مسخن كهربائي خاص بالكرة الزجاجية (2). تمر الأبخرة المحملة بالزيوت الأساسية عبر أنبوب مستقيم (4) ثم تتكثف تحت تأثير المبرد (5). تتراكم قطرات الزيت ضمن الأنبوب الزجاجي و تطفو فوق سطح الماء المقطر (6)، لأن الزيوت الأساسية لها كثافة منخفضة مقارنة بالماء. يحصل على الزيت الأساسي بعد معالجته بكبريتات الصوديوم النازعة للماء أو سحب الماء منه بواسطة إبرة حقن معقمة، و ذلك للتخلص من قطرات الماء المختلطة مع الزيت الأساسي و أخيرا يحفظ الزيت داخل قارورات محكمة الإغلاق بعيدا عن الضوء و الحرارة في درجة حرارة منخفضة (4 - 6 م°). تدوم عملية الإستخلاص حوالي ثلاث ساعات إنطلاقا من بداية الغلي.



الشكل 14: تركيب جهاز Clevenger.

III-2-2 تحليل الزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius*

أنجز فصل و تحديد مركبات الزيوت الأساسية بالكروماتوغرافيا الغازية المزاوجة مع مطياف الكتلة (CPG/MS) في عمود غير قطبي. تجمع مزاوجة هاذين الجهازين بين قدرة فصل كروماتوغرافيا الطور الغازي و الكشف النوعي الجد حساس لمطياف الكتلة. تتم التحاليل بمساعدة غاز خاص بالكروماتوغرافيا من نوع Agilent (نموذج N6890)، بإضافة إلى كاشف تأين اللهب (FID) المزاوج مع الكاشف الإنتقائي للكتلة quadripolaire Agilent (نموذج 5973) الذي يؤثر على الإلكترونات عند 70 eV. يجمع غاز الكروماتوغرافيا في عمودين شعريين من السليكا HP-1 (PDMS)، ذو طول 50 متر على قطر 0.2 مم و سمك 0.33 مكرومتر). تكون معطيات التحليل (GC/MS) كما يلي: الغاز الناقل عبارة عن الهيليوم ذو تدفق 1ملل/ د (ضغط العمودين هو 25 psi رطل)، تبرمج درجة حرارة الفرن من 60 حتى 250 م° بـ 2 م°/د و تبقى ثابتة لمدة 40 دقيقة. تقدر درجة حرارة الحاقن (mode split, ratio

1/100) بـ 250 م°. تثبت درجة حرارة كاشف تأين اللهب (FID) على 250 م°، و تكون درجات الحرارة لمصادر التأين و خط التحول على التوالي 170 م° و 280 م° في المحلل GC/MS.

يتم التعرف على مركبات الزيوت الأساسية بعد عملية التسجيل بمقارنة أطيافها الكتلية و معامل احتباسها (KI) مع تلك المواد النقية المسجلة في القارء (الشواهد) أو مع تلك التي وضعت في قاعدة البيانات المختبرة إنطلاقا من مواد أصلية على مستوى مخبر الكيمياء لجامعة Nice الذي أجريت فيه الاختبارات، حيث أن لكل مركب طيف كتلة مميز له.

III-2-3 الدراسة المخبرية ضد ميكروبية للزيت الأساسي *Daucus setifolius*

أنجزت النشاطية ضد الميكروبية للزيتين الأساسين لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليهما من منطقتي سكيكدة و بجاية باستخدام تقنيتي الاتصال المباشر و التبخير (micro-atmospheres).

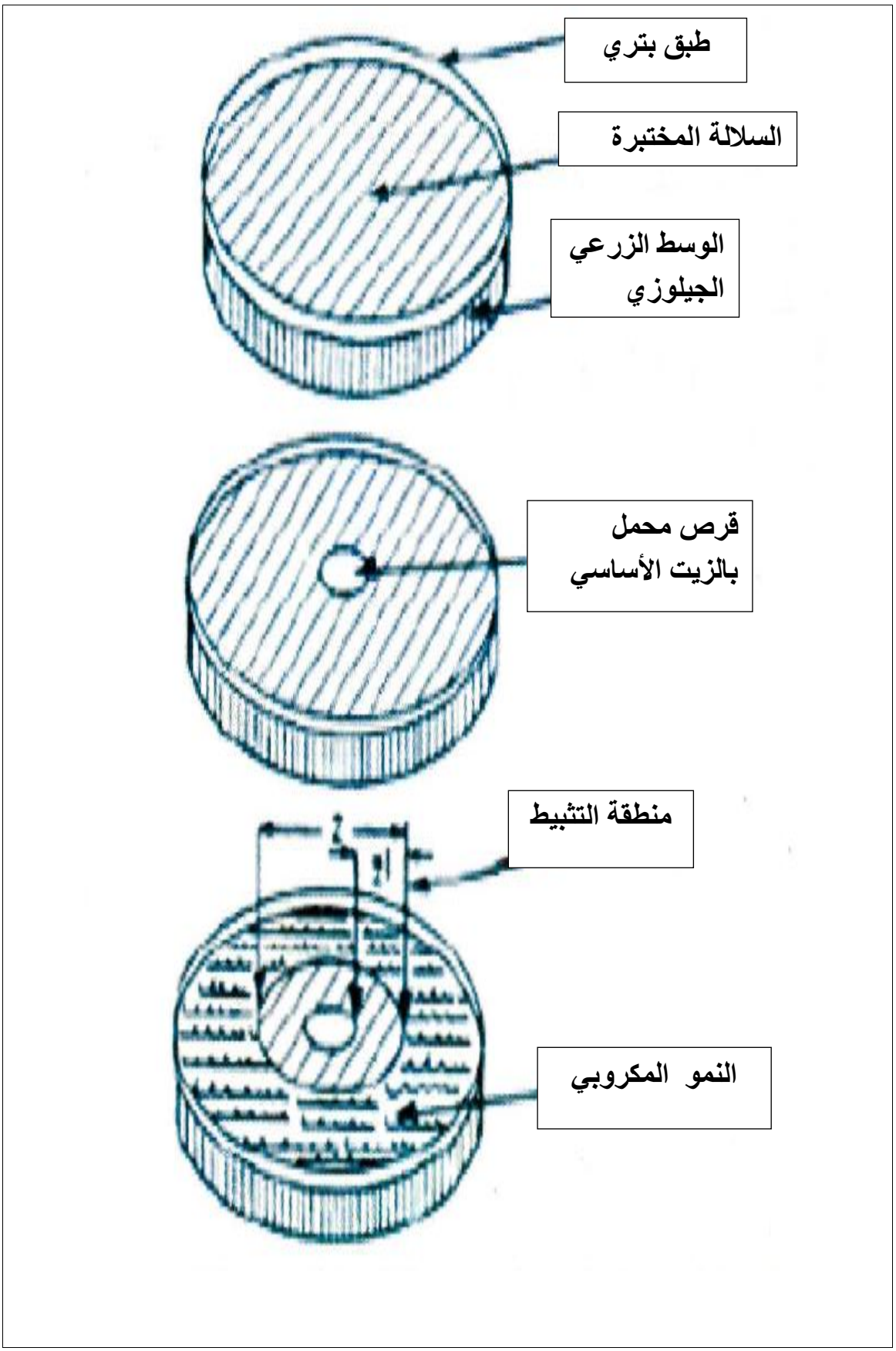
III-2-3-1 تقنية الاتصال المباشر (الانتشار)

تسمح هذه التقنية المسماة أيضا بتقنية الانتشار على وسط الزرع الصلب (الجيلوز) بمعرفة فعالية الزيوت الأساسية مخبريا و تقييم نوعية النشاطية.

يقدر النشاط ضد الميكروبي الكمي للزيوت الأساسية بتحديد التركيز الأدنى المثبط (CMI)، بعد إظهار نشاطيتها مع السلالات الميكروبية المختبرة.

أنجزت الدراسة ضد الميكروبية للزيتين الأساسيين لنبتة *Daucus setifolius* باستعمال تقنية الانتشار المصممة خصيصا من أجل المضادات الحيوية و المعروفة باسم antibiogramme. لكننا استبدلنا أقراص المضادات الحيوية بأقراص أخرى محملة بالزيوت الأساسية و أصبحت العملية تسمى بـ aromatogramme (الشكل15)، إستوحيت من الطريقة القديمة لـ Shroeder و Messing التي يرجع تاريخها إلى عام 1949، تتمثل هذه الطريقة الأخيرة في وضع أقراص معقمة و مصنوعة من ورق الترشيح على سطح الجيلوز المزروع بالسلالة الميكروبية المختبرة، ثم تحميلها بالزيوت الأساسية و قياس أقطار مناطق التثبيط بالمليمتر بعد نهاية الحضن إن وجدت (الشكل 15).

تصنع الأقراص بقطر 6 مم و ذلك باستخدام ورق الترشيح الخاص بالتحول الانزيمي (Papier de transfère enzymatique)، باعتباره ورق ترشيح سميك يقارب سمك أقراص المضادات الحيوية، تعقم هذه الأقراص في جهاز التعقيم البخاري (l'autoclave) لمدة 15 إلى 20 دقيقة عند ضغط 1 بار و درجة حرارة 121 م° تشبع هذه الأقراص المعقمة عند استعمالها بـ 10 مكرولتر من الزيت الأساسي المخفف بـ Diméthyl sulfoxide (DMSO)، و ذلك بعد رج الخليط المخفف جيدا لمدة دقيقتين أو ثلاث دقائق لضمان ذوبان الزيت الأساسي في محلول DMSO و الحصول على التراكيز التالية: 2/1، 5/1 و 10/1 (ح/ح). بينما تستعمل الأقراص الأخرى المعبئة بـ 10 مكرولتر من DMSO فقط كشاهد (اختبار سلبي)، بطبيعة الحال أي خطوة عملية نقوم بها في دراسة النشاطية ضد الميكروبية يجب أن تكون في وسط معقم. توضع هذه الأقراص فوق الأوساط المزروعة بالميكروبات المختبرة بواسطة ملقط معقم.



الشكل 15: طريقة aromatogramme على طبق بتري.

نستعمل ثلاث تكرارات (ثلاث أقراص بنفس التركيز) لكل تخفيف و ثلاث تكرارات لـ DMSO، نضع كل ثلاث مكررات في نفس الطبق، بالموازاة مع ذلك نضع مضادات حيوية مناسبة للنوع الميكروبي المختبر في طبق آخر مزروع بنفس النوع الميكروبي لمقارنة فعالية الزيت الأساسي بفعالية المضادات الحيوية (الاختبار الإيجابي). تحضن الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة (في حالة البكتيريا) و في نفس درجة الحرارة لكن لمدة 48 ساعة في حالة الخمائر، و في درجة حرارة 27 م° و مدة 7 أيام مع مراقبة النتائج كل يوم (لما يكون النوع الميكروبي عبارة عن فطريات).

تسجل النتائج بعد قياس أقطار مناطق التثبيط حول محيط كل قرص من المكررات الثلاث لكل طبق، بعدها نأخذ مسحة من سطح منطقة التثبيط القريبة من القرص لتحديد نوع تأثير الزيت الأساسي، و نضعها في أنبوب اختبار حاوي على مرق مغذي معقم (bouillon nutritif) هذا في حالة البكتيريا و الخمائر، ثم يحضن هذا الأخير في الحاضنة عند 37 م° لمدة 24 ساعة و بعد ذلك نلاحظ بالعين المجردة، إذا تعكر الوسط فإن نوعية التأثير تثبيطي "bactériostatique" و إذا لم يتعكر فإن التأثير من النوع القاتل "bactericide" (الشكل 16). يعتمد اختيار المضادات الحيوية من أجل أي سلالة ميكروبية على توجيهات المجلس الوطني للمخابر السريرية المرجعية Clinical Laboratory Standars (NCCLS).

تحضر معلقات الخلايا البكتيرية، الخلايا الفطرية (*C. albicans*) و الأبواغ (*A. niger* و *A.flavus*) إنطلاقا من مزارع نقية و فتية، حيث نأخذ مسحة من هذه الأخيرة و نضعها في ماء فيزيولوجي معقم بحيث تكون كثافة المعلق الميكروبي مساوية ل 0.5 Mc Farland أي ما يعادل 10^8 UFC / ملل (units forming colony /ml)، تعادل هذه القيمة الكثافة الضوئية 0.08–0.1 عند طول الموجة 625 نانومتر.

تتم عملية الزرع بغمس الماسح القطني (l'écouvillon) في المعلق الميكروبي المحضر حديثا (لتفادي تغير كثافة البيكتريا التي تدوم حوالي 15 دقيقة فقط بعد التحضير)، ثم نمسح وسط الزرع المعقم الموجود داخل علبة بتري بالماسح القطني المغمور في المعلق الميكروبي، تكون عملية الزرع على شكل خطوط متتالية ومتلاصقة مع تدوير الطبق ثلاث مرات بزاوية

60 م° في كل مرة (لكي تكون الزراعة موزعة بصورة متجانسة)، هذا كله بعد ضغط الماسح القطني داخل الأنبوب الحاوي على المعلق الميكروبي.

تحضن الفطريات عند درجة الحرارة 27 م° لمدة 7 أيام و تقرأ بداية ظهور النتائج بعد 72 ساعة، بينما تحضن البكتيريا عند 37 م° لمدة 24 ساعة و نفس الشيء بالنسبة للخمائر لكن مدة الحضن تدوم 48 ساعة.

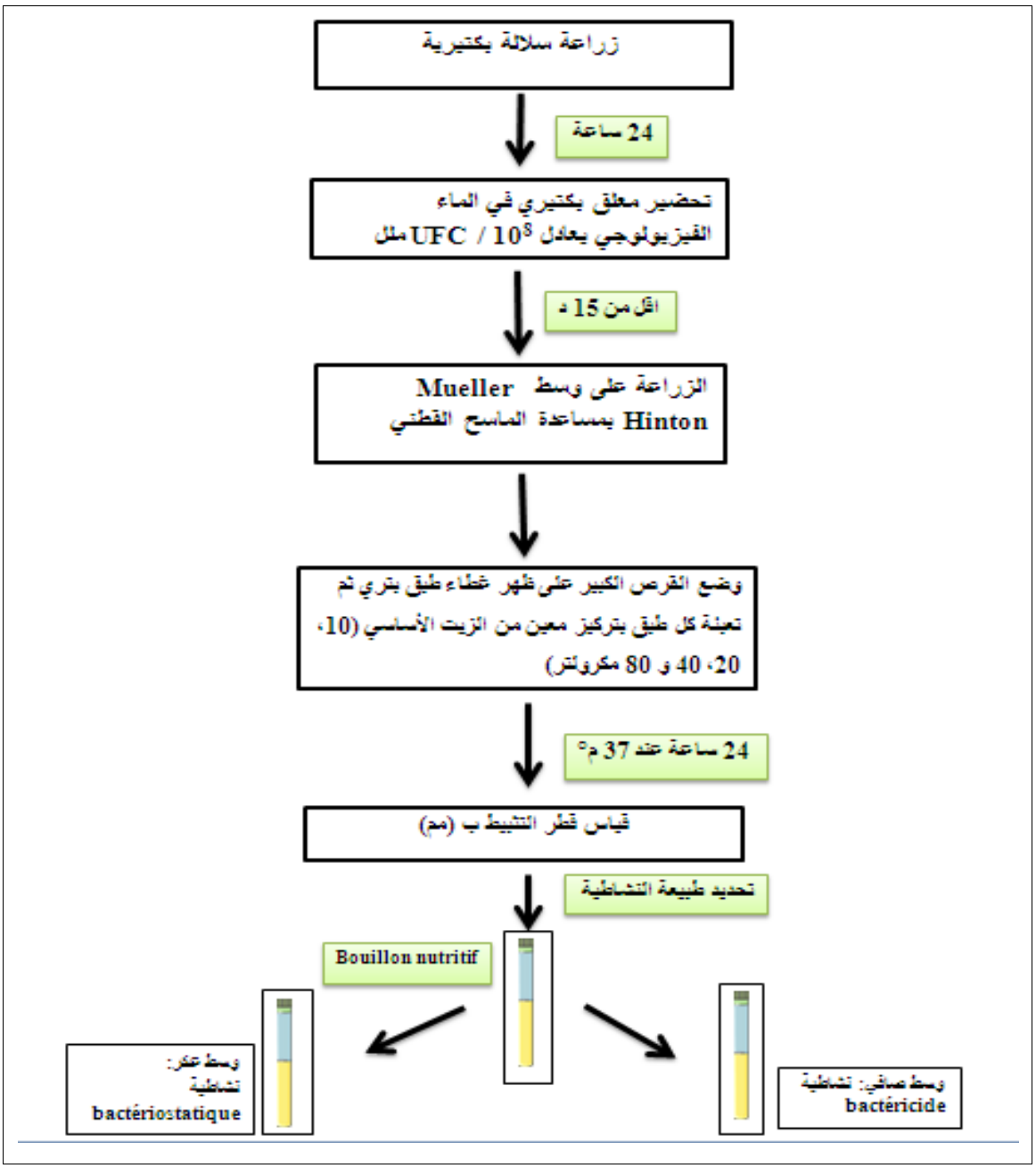
تزرع المعلقات الفطرية و الخمائر في جيلوز Sabouraud البسيط، بينما تزرع المعلقات البكتيرية في جيلوز الميلرهنتن. يعبأ الجيلوز في أطباق بتري بسمك 4 مم، الموافقة لسعة 20 ملل لطبق ذا قطر 90 مم. تجفف أطباق بتري المحتوية على الجيلوز في الحاضنة (المنظفة جيدا بماء الجافيل المركز) عند حرارة 37 درجة مئوية قبل استعمالها لأن وجود الماء في علب بتري يؤثر على النتائج، كما يجب التركيز على مراعاة شروط التعقيم.

تتطلب أي سلالة مختبرة 8 علب بتري مزروعة بنفس الماسح القطني، بشرط أن يغمس هذا الأخير في المعلق الميكروبي عند كل مرة (علبتان من أجل كل تركيز" 2/1، 5/1 و 10/1 ح/ح" للحصول على نتائج موثوقة، بالإضافة إلى علبتي الاختبار السلبي و الإيجابي).

تعتبر حساسية السلالة منعدمة عندما يكون قطر التثبيط يساوي 6 مم. بينما تكون الحساسية ضعيفة عندما يتراوح قطر التثبيط ما بين 8 و 14 مم، و متوسطة لما ينحصر قطر التثبيط بين 14 و 20 مم. في حين نقول بأن السلالة الممرضة جد حساسة لما يساوي أو يتجاوز قطر تثبيطها 20 مم (Duraffourd و آخرون، 1990) هذا في حالة إستعمال ورق الترشيح من نوع Wattman N01 (Benjilali و آخرون، 1986).

III-2-3-2 **تقنية التبخير** micro-atmosphères

تسمح هذه التقنية بدراسة تأثير المركبات المتطايرة من الزيوت الأساسية على المتعضيات الدقيقة. تتم هذه التقنية بتثبيت قرص معقم من ورق الترشيح العادي بقطر طبق بتري تحت غطاء هذا الطبق المزروع، ثم تحميله بكمية معينة من الزيت الأساسي (10، 20، 40 و 80 مكرولتر) دون أن يكون هذه الأخير على تماس مباشر مع الجيلوز المزروع بالميكروب المراد إختبار حساسيته تجاه الزيت الأساسي المجهول التأثير (الشكل 17) أي كل نوع



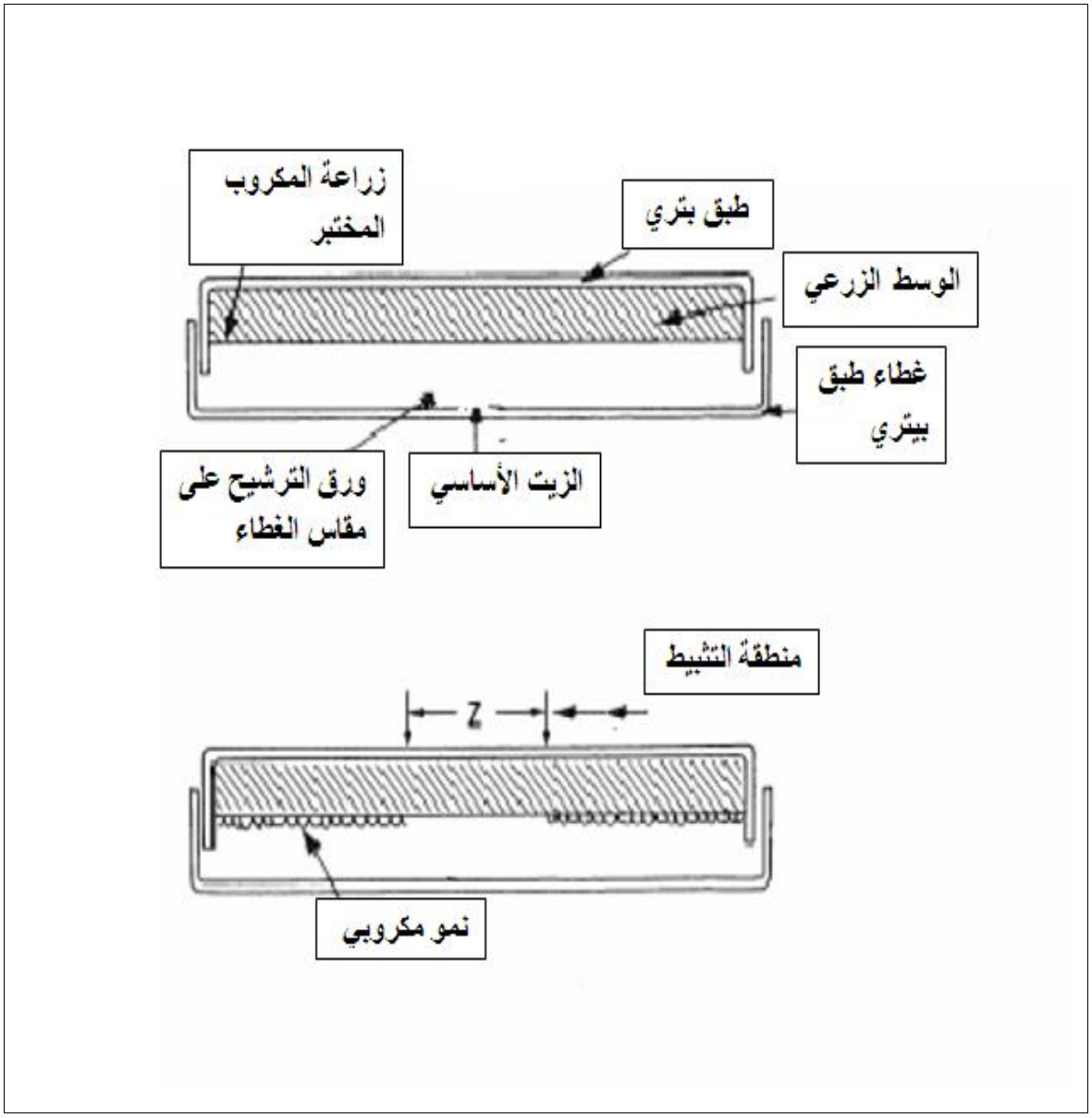
الشكل 16: مراحل إنجاز اختبار النشاطية المضادة للميكروبات

ميكروبي يتطلب 9 أطباق بتري مزروعة (طبقين لكل تركيز و طبق شاهد لا نضيف له الزيت). يحفز تطاير المركبات العطرية داخل الطبق تثبيط أو قتل الخلايا الحساسة في المزرعة البكتيرية أو الفطرية.

تسكب أوساط الزرع بعد تذويبها في أطباق بتري بسمك 4 مم، و من ثم تزرع هذه الأوساط بالمعلقات البكتيرية أو الفطرية باستعمال الماسح القطني المعقم، بعدها يوضع ورق الترشيح العادي المعقم ذو قطر 9 مم بواسطة الملقط المعقم في قاعدة غطاء كل طبق بتري مزروع، و

أخيرا يعبأ بحجم معين من الزيت الأساسي المختبر. ينتشر الزيت الأساسي على سطح الغطاء قبل غلقه. تكون الأحجام المستعملة لكل زيت مختبر و من أجل كل سلالة ميكروبية كالتالي: 0 (الشاهد)، 10، 20، 40 و 80 مكرولتر. يراقب النمو لمدة 7 أيام بالنسبة للفطريات، 24 ساعة بالنسبة للبكتيريا و 48 ساعة للخمائر.

تعرف الكمية الدنيا للتثبيط على أنها أقل كمية من الزيت الأساسي التي تعمل على إلغاء النمو الظاهري للميكروب المختبر مقارنة بالشاهد (Benjilali و آخرون، 1986).



الشكل 17: تقنية التبخير micro-atmosphère

لاختبار إن كان الزيت الأساسي يملك تأثير مثبط أو قاتل للبكتيريا نأخذ عينة من مناطق التثبيط و نضعها في المرق المغذي bouillon nutritif المعقم، ثم يحضن هذا الأخير عند درجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة للبكتيريا و 48 ساعة للخمائر.

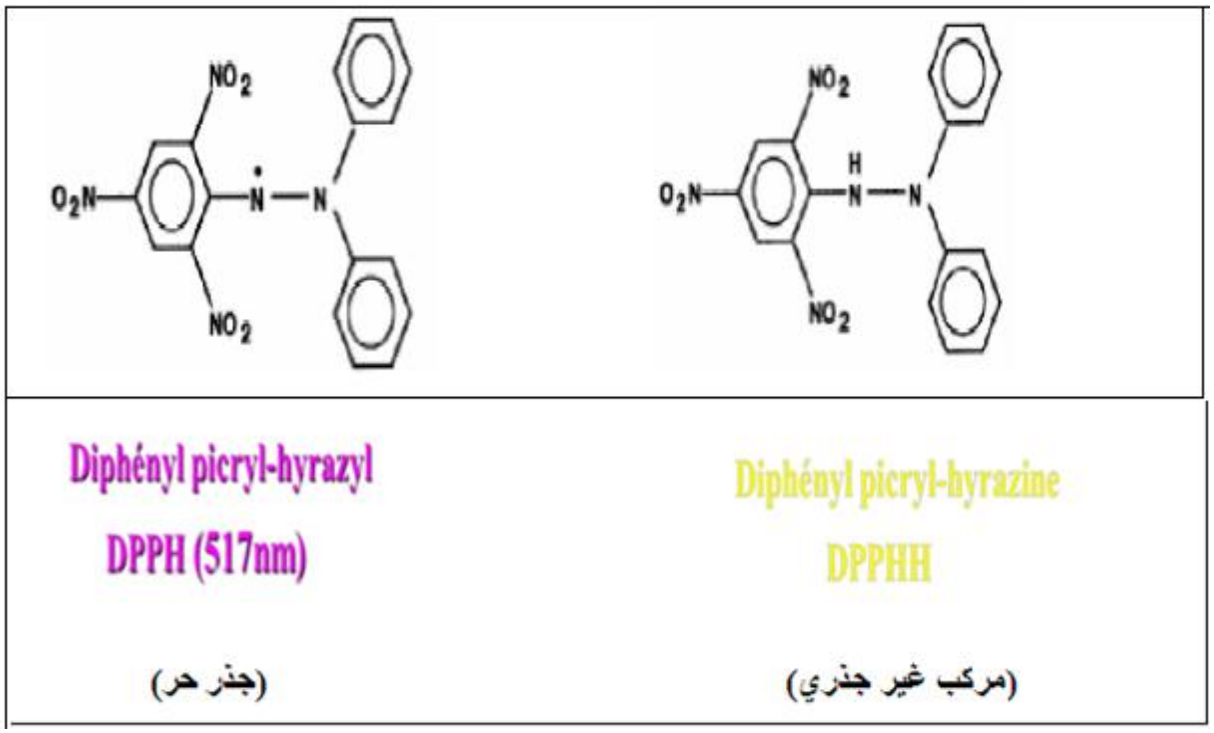
أما من أجل تحديد تأثير الزيت المثبط للفطريات (fongistatique) أو القاتل لها (fungicide) نأخذ عينة من سطح وسط الزرع غير النامي (مناطق التثبيط)، و نضعها في أنبوب يحتوي على جيلوز مائل من Sabouraud البسيط ثم نحضنها لمدة 48 ساعة بالنسبة للخمائر عند 37 م° و ثلاثة أيام بالنسبة للفطريات عند 27 م°.

III-2-4 دراسة النشاطية المضادة للأكسدة

استعملت عدة طرق لقياس النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات الطيارة للنباتات العطرية و أبسطها طريقة DPPH. قدرت النشاطية المضادة للجذور الحرة للزيتين الأساسين لنبتة *Daucus setifolius* من خلال قدرتهما على إزاحة الجذر الحر DPPH.

وصفت هذه الطريقة لأول مرة من قبل Blois (1958) ثم عدلت بعدها في 1995 من طرف Brand Williams (Masuda و آخرون، 1999)، و تابع بعدهم Molyneux (2004) إمكانية إرجاع الجذور الحرة لـ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) بواسطة مضاد أكسدة، مستخدما spectrophotométrie UV-visible المحدد لإنخفاض الامتصاصية الناتج عن وجود الزيت الأساسي في طول موجة 517 نانومتر.

يكون الجذر الحر الإصطناعي DPPH ذو لون بنفسجي في البداية ثم يتغير لونه إلى الأصفر بسبب هدرجة إلكترونه الحر (الشكل 18). يعتبر هذا التغير في اللون مؤشر على قدرة مركبات الزيت الأساسي على عزل هذه الجذور الحرة بشكل مستقل عن أي نشاط إنزيمي. يمكننا هذا الاختبار من الحصول على معلومات حول الفعالية المباشرة المضادة للجذور الحرة الخاصة بالزيت الأساسي المختبر.



الشكل 18: البنية الحرة و المرجعة لـ DPPH (Molyneux، 2004).

لتحديد نشاطية إزاحة الجذر الحر DPPH بواسطة الزيت الأساسي لـ *Daucus setifolius* استعملت طريقة Que و آخرون (2006)، التي يعتمد مبدأها على إضافة أحجام مختلفة من هذا الزيت أساسي لـ 600 مكرولتر من محلول DPPH (0.1 mM) المحضر في الميثانول، يخبأ الخليط فورا بعد تحضيره في الظلام (لتجنب تأكسده في الضوء) لمدة 30 دقيقة (مدة التفاعل) عند درجة حرارة المخبر.

تقاس الامتصاصية عند طول موجة 517 نانومتر مقارنة بالشاهد (blanc) الذي هو الميثانول. بينما يحتوي الكاشف (contrôle) على خليط من 600 مكرولتر DPPH و 600 مكرولتر ميثانول.

تنجز بالموازاة مع ذلك نفس التجربة لكن هذه المرة مع مضاد الأكسدة المرجعي المتوفر في المخبر ألا و هو butylated hydroxytoluene (**BHT**). للتأكد من النتائج المتحصل عليها يجب تكرار الاختبار ثلاث مرات في نفس الوقت.

تسمح قياسات امتصاصية DPPH لمختلف المواد المضادة للأكسدة (الزيوت الأساسية و BHT) بتحديد نسبة التثبيط PI عن طريق استخدام العلاقة التالية:

$$PI\ (\%) = [A_0 - (A_i - A_b)/A_0] \times 100$$

حيث A_0: هي امتصاصية الجذر الحر وحده (contrôle).

A_i: امتصاصية الجذر بعد 30 دقيقة من تماسه مع مضاد الأكسدة.

A_b: امتصاصية الزيت الأساسي وحده (Blanc).

يمكننا تحديد النسب المئوية للتثبيط من حساب قيمة IC_{50} (التركيز المثبط) الذي يمثل تركيز المادة المختزل لـ 50 % من الجذور الحرة المتواجدة ضمن الوسط التفاعلي.

الفصـــــــــل VI

النتائج و المناقشة

VI-1 استخلاص الزيوت الأساسية

يتم حساب مردود الزيت الأساسي باستخدام تقنية التقطير المائي، انطلاقا من وزن كتلة الزيت الأساسي و مقارنتها بوزن الكتلة النباتية الجافة المستعملة في هذا التقطير المائي كما يلي:

$$Rdt = Mhe/Mvg \times 100$$

حيث **Rdt:** مردود الزيت الأساسي (بـ %).

Mhe: كتلة الزيت الأساسي.

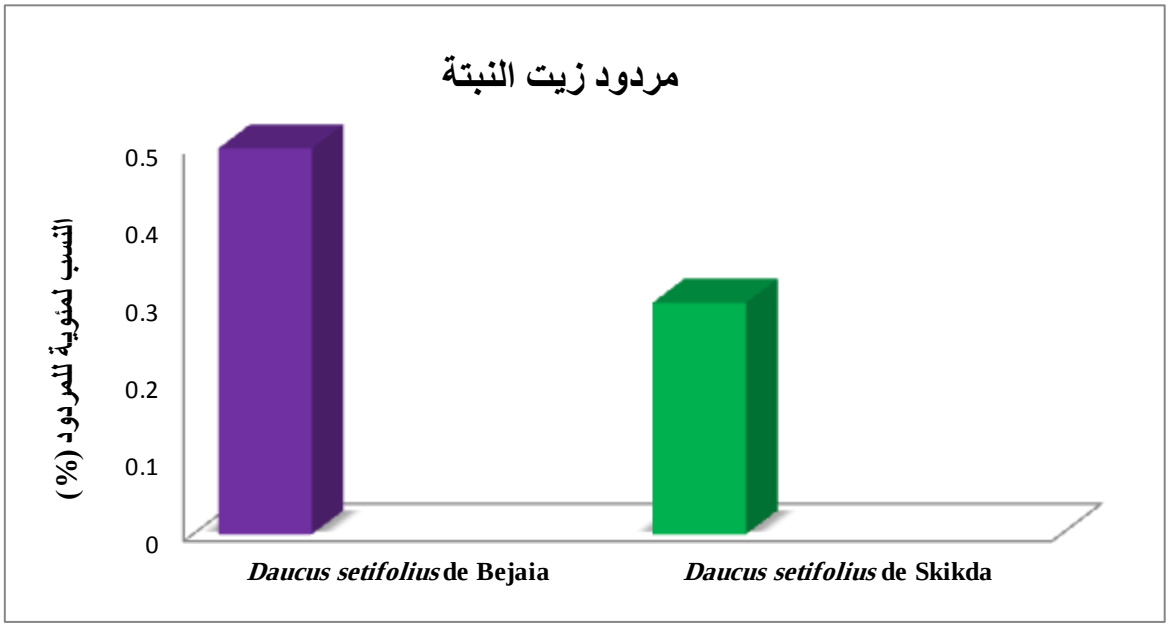
Mvg: الأجزاء النباتية الجافة.

قدر مردود الزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من مدينة سكيكدة بـ 0.3 % (**ك/ك**) كما هو موضح في الشكل 19، أي ما يعادل مردود نبتة *D. crinitus* 0.3 % Elkolli (2008)، و يقارب مردود زيت أوراق *D. carota* الصينية المقدر بـ 0.27 % (Flamini و آخرون، 2007) و أقل من مردود معظم بقية أجناس *Daucus* المدروسة كأبسط مثال على ذلك نجد النتيجة التي توصل إليها Djarri و آخرون في عام 2006 المقدرة لمردود زيت *D. reboudii Coss* و المقدرة بـ 0.4 % (Radulovic و آخرون، 2011)، يخرج عن القاعدة مردود كل من زيت أوراق *Daucus gingidium L. ssp. gingidium* 0.04 % (Flamini و آخرون، 2007) و زيت مختلف أجزاء (السيقان 0.07 % و الجذور 0.01 %) *D. carota* الصينية (Roop و آخرون، 1989). هذا المردود جد ضعيف مقارنة بذاك الناتج عن التقطير المائي لثمار كل من *Daucus glaber* Forssk (4 % **ح/ك**) و *Daucus gingidium L. ssp. gingidium* 1.21 % (Flamini و آخرون، 2007)، و أقل أيضا من مردود زيت *D. carota* الطازجة من جزيرة كورسيكا و المقدر بـ 0.6 (Gonny % و آخرون، 2004). لوحظ بأن زيت نبتة *Daucus setifolius* الخاصة بمنطقة سكيكدة ذو لون أصفر باهت و رائحة عطرة غير مستساغة، نفس الملاحظة بالنسبة لزيت نبتة بجاية لكن اللون أكثر عتامة نسبيا من الأول.

قدر مردود زيت نبتة *Daucus setifolius* المجنية من منطقة بجاية 0.5 %، و هو أكبر من مردود كل من مثيلتها في منطقة سكيكدة (0.3 %) و من مردود زيت سيقان *D. carota* الموجودة في الصين حوالي 0.45 % (Hiromu و آخرون، 1989). لكن ينحصر ضمن مجال مردود زيت الثمار الجافة لـ *D. carota* ذات الأصل الفرنسي (من 0.4 % حتى 0.8 %).

يختلف مردود كلا الزيتين الأساسيين أيضا عن مردود نبتة *D. carota* المتواجد في ألمانيا و الذي يتراوح بين 0.8 % حتى 1.6 %، و عن مردود زيت *Daucus guttatus* المقدر بـ 0.72 % **ك/ك** (Radulovic و آخرون، 2011).

هناك عدة عوامل تؤثر على مردود الزيوت الأساسية منها: طريقة الإستخلاص، المناخ (الحرارة و الرطوبة)، تركيب التربة، فترة الجني، نوع الجزء النباتي المستخلص منه، عمر و مراحل دورة حياة النبتة. عموما يجب أن تكون عملية الإستخلاص تحت نفس الشروط، أي من نفس عضو النبات النامي على نفس التربة و تحت نفس المناخ المختار من نفس الفصل (Bakkali و آخرون، 2008).



الشكل 19: مقارنة بين زيتي نبتة *Daucus setifolius*.

ما دامت الزيوت الأساسية مستقلبات ثانوية في النبات، فهي تنتج حتما من المرحلة الضوئية لعملية التركيب الضوئي في النباتات الخضراء الذاتية التغذية، هذا يعني أن نسبة الزيوت

الأساسية المنتجة من طرف النباتات العطرية تتأثر بفترة الإضاءة و نسبة الماء في التربة. أي كلما زادت فترة الإضاءة (طول النهار) زادت نسبة إنتاج الزيوت الأساسية من طرف النبات العطري (El-Zakhem، 2003).

VI-2 التحليل الكيميائي للزيوت الأساسية

تم تحليل زيتي نبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليهما من منطقتي سكيكدة و بجاية بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المزاوجة بمطياف الكتلة "GC-MS" الموضحة نتائجها في المخططين 20 و 21، سمحت هذه النتائج بالتعرف على 13 مركب كيميائي للزيت الأساسي المستخلص من نبتة سكيكدة، و 10 مركبات كيميائية للزيت الأساسي المستخلص من نبتة بجاية كما هو موضح في الجدول II.

لوحظ بأن عدد المركبات الكيميائية المكونة لزيتي هذه النبتة قليلة جدا مقارنة باقي زيوت أنواع جنس *Daucus*، حيث بين التحليل الكيميائي لزيت *Daucus guttatus ssp. zahariadii* احتوائه على 32 مركب، بينما يحتوي زيتي أوراق و ثمار نبتة *Daucus gingidium L. ssp. gingidium* على حوالي 100 مركب، في حين يتركب زيت أوراق و *Daucus glaber* Forssk من 19 مركب عكس زيت ثمارها المكون من 7 مكونات (Niko و آخرون، 2011 ; Flamini و آخرون، 2007 ; Mansour و آخرون، 2004).

تمثل هذه المركبات الكيميائية المتعرف عليها نسبة 97.09 % من مجمل زيت نبتة *Daucus setifolius* التي تم جنيها من منطقة سكيكدة و نسبة 97.02 % من زيت نفس النبتة النامية في منطقة بجاية (الشكلين 21 و 22).

الجدول II: التركيب الكيميائي للزيتين الأساسي المستخلصين من نبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقتي سكيكدة و بجاية.

المكونات الكيميائية	X1 %	X2 %
α-thujene	2.48	2.09
α-pinene	5.45	4.65
Camphene	0.58	-
Sabinene	37.65	38.36
β-pinene	28.62	41.1
Myrcene	2.27	2.85
Para-cymene	1.6	0.83
Limonène	2.73	1.52
γ-terpinène	0.89	1.55
α-terpinéol	3.54	3.64
Estragole	9.61	-
E-anethole	0.55	-
Germacrene D	1.12	0.43

X 1: التركيب الكيميائي للزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة سكيكدة.

X 2: التركيب الكيميائي للزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة بجاية.

تمثل التربينات الأحادية غالبية التركيبب الكيميائي الخاص بزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة سكيكدة بنسبة 79.11 %، نفس الشيء بالنسبة للتركيب الكيميائي للزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المجنية من منطقة بجاية لكن بنسبة تقدر بـ 88.55 %، كما هو موضح في الجدول II، بينما تمثل نسبتي 66.2 % و 87.8 % من التركيب

الكيميائي لزيت أوراق و ثمار نبتة *Daucus gingidium L. ssp. gingidium* (Flamini و آخرون، 2007). في حين تقدر بحوالي 43.9 %، 58.3 % و 61.5 % على الترتيب في كل من أغصان، ثمار و أوراق نبتة *Daucus glaber* Forssk (Mansour و آخرون، 2004).

أثبتت وجودها من خلال التربين الأحادي ذو الحلقة الواحدة sabinene (الشكل 20) المتواجد في نبتة سكيكدة كمكون رئيسي بنسبة (37.65 %) و كثاني مكون رئيسي في نبتة بجاية بنسبة (38.36 %)، يمثل هذا التربين نسب كبيرة مقارنة بنسب تواجده في زيت *Daucus guttatus* 0.3 % (Niko و آخرون، 2011)، تقريبا نفس القيمة نجدها في زيت أوراق *Daucus gingidium L. ssp. gingidium* (26,8 %)، و نصف الكمية الموجودة في زيت ثمار *Daucus gingidium L. ssp. gingidium* 60.6 % (Flamini و آخرون، 2007) و 16.8 % في زيت الجزء الهوائي لعشبة *Daucus carota* (Niko و آخرون، 2011)، مقارنة بالنسبتين الضئيلتين 2.04 %- 1.84 % الممثلتين لتواجده في أوراق و سيقان نبتة *Daucus glaber* Forssk (Mansour و آخرون، 2004).

بينما يحتل التربين الأحادي ذو الحلقتين β-pinene المرتبة الثانية في غالبية التركيب الكيميائي لزيت سكيكدة بنسبة (28.62 %)، و كمركب أساسي لزيت نبتة بجاية بنسبة (41.1 %)، تفوق هذه نسب تلك المتواجدة في *Daucus crinitus* (0.2 %) Elkolli (2008)، أوراق و ثمار *Daucus gingidium L. ssp. gingidium* 1.4 % - 3.4 % على التوالي (Flamini و آخرون، 2007)، بالإضافة إلى تواجده على شكل آثار في زيت نبتة *Daucus guttatus* (Niko و آخرون، 2011).

تتمثل باقي نسب التربينات الأحادية كمايلي: تتماثل نسب α-thujene في كل من زيت نبتة سكيكدة و زيت نبتة بجاية بالنسبتين (2.48% و 2.09 %)، و تتضاعف هذه النسب في *Daucus crinitus* (0.2 %) Elkolli (2008)، في أوراق و ثمار *Daucus gingidium L. ssp. gingidium* بنسبة 0.4 % في زيت كل واحد منهما (Flamini و آخرون، 2007)، و في زيت مختلف أجزاء (الثمار، الأوراق و السيقان) نبتة *Daucus glaber* Forssk بالنسب (0.01 %، 0.16 % و 0.13 %) على التوالي (Mansour و آخرون، 2004).

يتواجد α-pinene بنسب ضعيفة و متقاربة في كل من زيت نبتة سكيكدة (5.45 %) و زيت نبتة بجاية (4.65 %)، تعد هذه النسب كبير مقارنة بتلك المتواجدة في زيت نبتة *Daucus guttatus*

0.3 % (Niko و آخرون، 2011)، و في زيت ثمار نبتة *Daucus glaber* Forssk بنسبة 0.18 % (Mansour و آخرون، 2004). تواجده يكون أفضل في أوراق و ثمار *Daucus gingidium L. ssp. gingidium* 10.8 % - 12.2 % على الترتيب (Flamini و آخرون، 2007) و في نبتة *Daucus crinitus* (9.9 %) Elkolli (2008). و هي نسب قليلة جدا مقارنة مع النسبة 29.3 % المتواجدة في زيت الجزء الهوائي لعشبة *Daucus carota* (Niko و آخرون، 2011).

يمثل limonene (الشكل 19) نسبة 2.73 % في زيت نبتة سكيكدة، و هي ضعف الكمية المتواجدة في كل من زيت نبتة بجاية (1.52 %)، *Daucus crinitus* (0.2 %) Elkolli (2008) و *Daucus guttatus* 1.4 % (Niko و آخرون، 2011)، يماثل تلك النسب المتواجدة في ثمار *Daucus gingidium L. ssp. gingidium* (2.1 %) و يناصف الكمية المتواجدة في أوراق نفس النبتة 5.7 % (Flamini و آخرون، 2007)، على عكس نسب تواجده في زيت ثمار و أوراق *Daucus glaber* Forssk (37.02 % و 21.37 %) على التوالي (Mansour و آخرون، 2004).

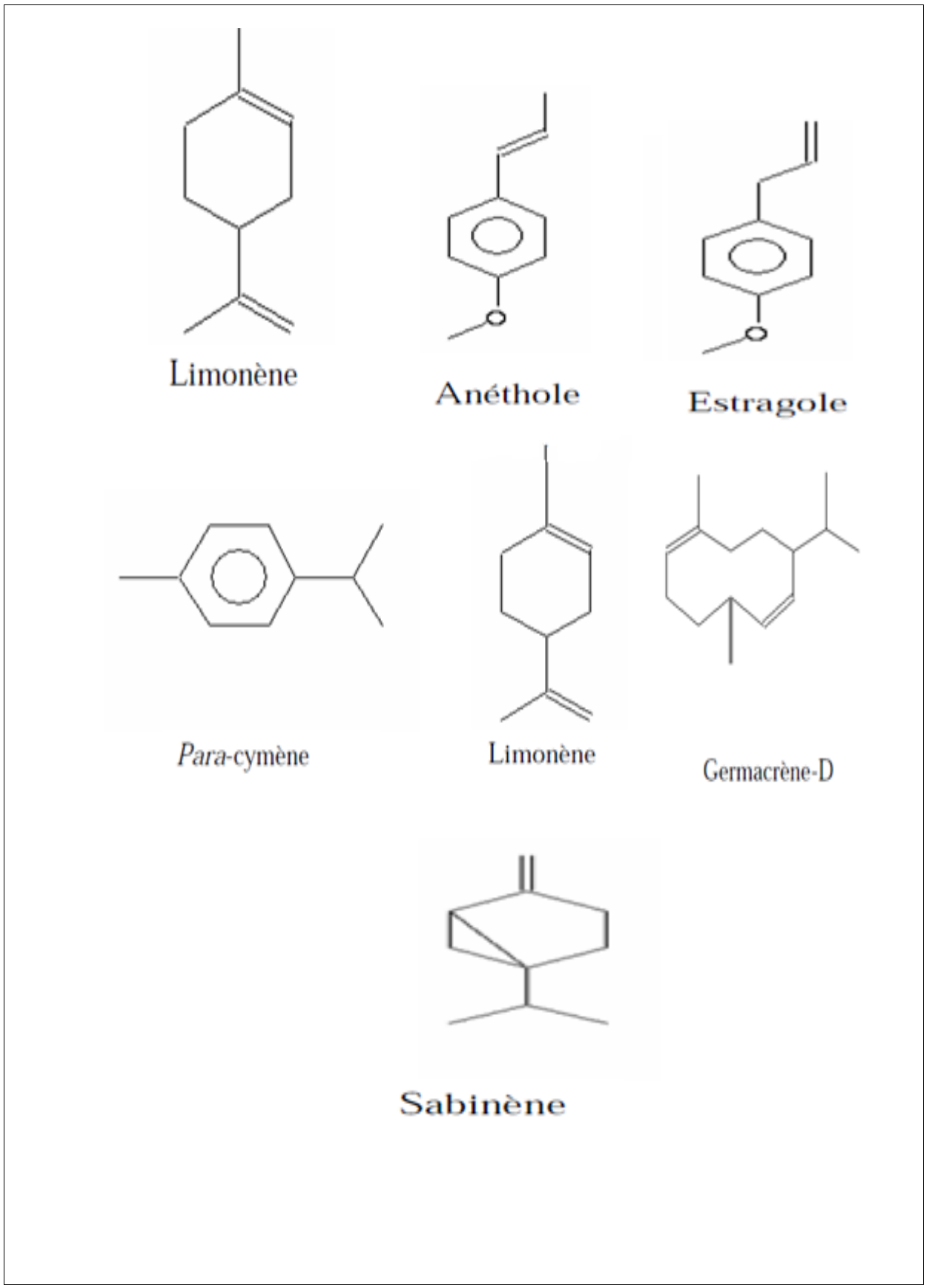
تقارب كمية كل من camphene (0.58 %) و *Para*-cymene (1.6 %) في زيت نبتة سكيكدة الآثار المتواجدة في زيت أوراق و ثمار *Daucus gingidium L. ssp. gingidium* (Flamini و آخرون، 2007)، و في زيت نبتة *Daucus guttatus* (Niko و آخرون، 2011)، نسجل غياب camphene في زيت نبتة بجاية مع تواجد ضعيف لمركب *Para*-cymene بنسبة (0.83 %) مقارنة بما هي عليه في زيت سكيكدة.

تمثل الفينولات نسبة 15.97 % من المحتوى الكيميائي لزيت نبتة سكيكدة، يتصدرها estragole (9.61 %) و α-terpineol (3.54 %). أما نسبتها في زيت *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة بجاية فتقدر بـ 6.49 % و هي نصف الكمية المتواجدة في زيت سكيكدة، و المتمثلة في المركبين α-terpineol (3.64 %) و myrcene (2.85 %)، تتماثل نسبة هذا الأخير مع النسبة المتواجدة في زيت نبتة *Daucus setifolius* لمنطقة سكيكدة (2.27%)، و تقارب تلك المتواجدة في أوراق (2.3 %) و ثمار (3 %) *Daucus gingidium L. ssp. gingidium* (Flamini و آخرون، 2007) و زيت *Daucus crinitus* (3.4 %) Elkolli (2008)، تمثل نسبة المركب الفينولي α-terpineol في نبتة *Daucus setifolius* ضعف الكمية 0.77 % المتواجدة في سيقان نبتة *Daucus*

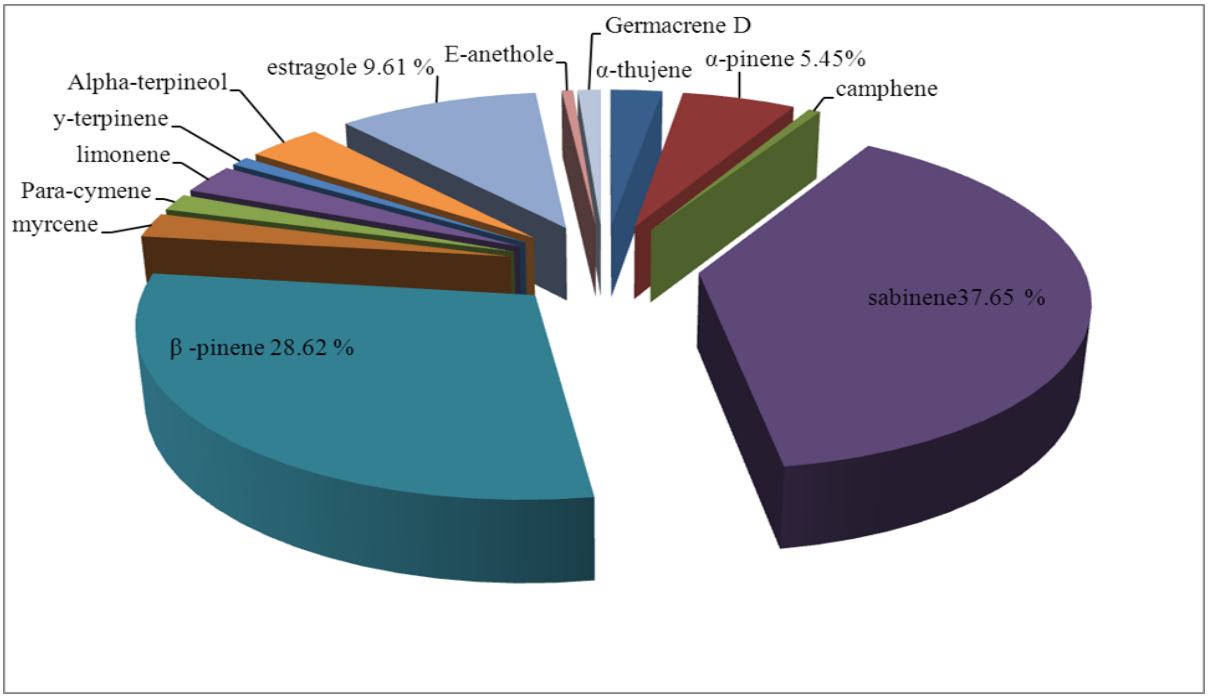
Forssk *glaber* (Mansour و آخرون، 2004). يمثل الفينول E-anethole نسبة (0.55 %) في زيت نبتة سكيكدة و نلاحظ غيابه في زيت نبتة بجاية.

تتمثل باقي المركبات الكيميائية لزيتي نبتة *Daucus setifolius* المجنية من منطقتي سكيكدة و بجاية في النسب الضئيلة من المركب السيسكتربيني Germacrene D (1.12 % و 0.43 %) و المركب الهيدروكربوني 8-terpinene (0.89 % و 1.55 %) على الترتيب، تعتبر نسب هذين المركبين كبيرة مقارنة بتلك المتواجدة في زيت ثمار *Daucus gingidium L. ssp. gingidium* 0.2 %- 0.5 % (Flamini و آخرون، 2007)، و زيت نبتة *Daucus guttatus* على الترتيب 0.4 % من Germacrene D و آثار من 8-terpinene (Niko و آخرون، 2011).

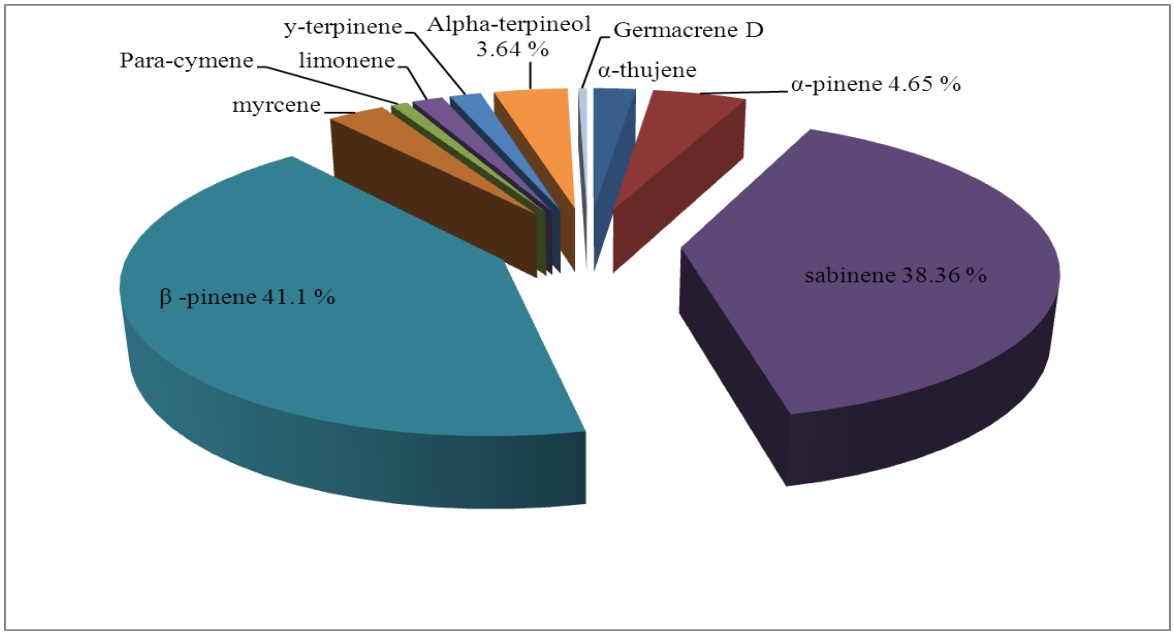
أي أن نسبة السيسكوتربينات ضئيلة في هذه النبتة مقارنة بنسبتها التي تصل إلى 17.8 % في أوراق نبتة *Daucus gingidium L. ssp. gingidium* (Flamini و آخرون، 2007). و أكبر من تلك النسبة المتواجدة في أوراق نبتة *Daucus glaber* Forssk و المقدرة بـ 0.3 % (Mansour و آخرون، 2004).



الشكل 20: بعض البنيات الكيميائية لمكونات الزيوت الأساسية.



الشكل 21: النسب المئوية لمختلف مكونات الزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة سكيكدة.



الشكل 22: النسب المئوية لمختلف مكونات الزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة بجاية.

يرجع تباين و اختلاف نسب التراكيب الكيميائية للزيتين الأساسية المستخلصين من نبتة *Daucus setifolius* إلى عدة عوامل داخلية و خارجية نذكر منها: العوامل البيئية الخارجية كالمناخ (الحرارة و الرطوبة المناسبة)، التربة، الماء، مدة تعرض النبتة لأشعة الشمس، موسم و مكان جني النبتة. فحسب Danute (2004) يختلف التركيب الكيميائي للزيت الأساسي لنبتة *Daucus carota* النامية في المناطق النقية عن تلك النامية في المناطق الملوثة. بالإضافة إلى تدخل العوامل الداخلية متعلقة بالنبتة كطور دورة نمو النبتة أثناء جنيها (الإنبات، تشكل الأوراق، الإزهار أو تشكيل الثمار)، لأن تشكل المواد النشطة في النبتة يتم خلال مرحلة نموها التام و أثناء فترات الاستقلاب الكثيف كالإزهار و تشكيل الثمار، خاصة عند بعض الخيميات كالجزر و (coriandre) الكزبرة (Gonny و آخرون، 2004)، تنقية النبتة من الشوائب، الأدوات المستعملة في تجزئة النبتة، طريقة و ظروف الاستخلاص، ظروف التخزين و التجفيف. بالإضافة إلى مساهمة الظروف التجريبية ككفاءة جهاز التقطير، توفر الخبرة اللازمة للقيام بعملية الإستخلاص و إسترجاع الزيت كله مع فصله عن الماء دون ضياع.

VI-3 النشاطية المضادة للميكروبات للزيوت الأساسية

بينت العديد من الدراسات الفعالية ضد الميكروبية لأجناس نوع *Daucus*، حيث أظهر Mansour و آخرون (2004) الفعالية الكبيرة لزيت أوراق، ثمار و سيقان *Daucus glaber* ضد البكتيريا المختبرة السالبة غرام و الموجبة غرام.

تتعلق قدرة استجابة المتعضيات الدقيقة باختلاف التركيب الكيميائي للزيت الأساسي و تنوع المجاميع الوظيفية السائدة فيه (الكحولات، الفينولات و الألدهيدات)، بالإضافة إلى التأثير التعاوني بين هذه المركبات.

تبين مختلف الدراسات بأن البكتيريا الموجبة غرام أكثر حساسية من البكتيريا السالبة غرام (Holler و Patel، 2005)، و ذلك راجع إلى القدرة التأثيرية للزيوت الأساسية على الجدار البكتيري بفضل طبيعتها المحبة للدهن. يكون جدار البكتيريا السالبة غرام سميك لأنه يتركب من غشائين بلازميين مفصولين بطبقة البيبتيدوغليكان، بينما يتكون جدار البكتيريا الموجبة غرام من غشاء خلوي واحد و طبقة رقيقة من البيبتيدوغليكان.

VI-3-1 تقنية الاتصال المباشر (الانتشار على الجيلوز)

نفسر استعمالنا لعدد قليل من السلالات البكتيرية و عدد قليل من تقنيات الكشف عن النشاطية ضد الميكروبية إلى نقص كمية الزيت الأساسي، نظرا لضآلة مردود النبتة، قلة تواجدها و صعوبة جنيها لأنها تنمو في الأماكن الجبلية ذات المنحدرات الحادة صعب الوصول إليها، خاصة نبتة *Daucus setifolius* المتواجدة في منطقة فليفلة التابعة لولاية سكيكدة.

كشف اختبار أطباق بتري عن وجود مناطق تثبيط شفافة محيطة بالأقراص المحملة بمختلف تراكيز الزيت الأساسي لـ *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة بجاية، عند زرعها بمختلف السلالات الميكروبية، و غيابها مع مختلف تراكيز الزيت الأساسي لـ *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة سكيكدة (الجدول III).

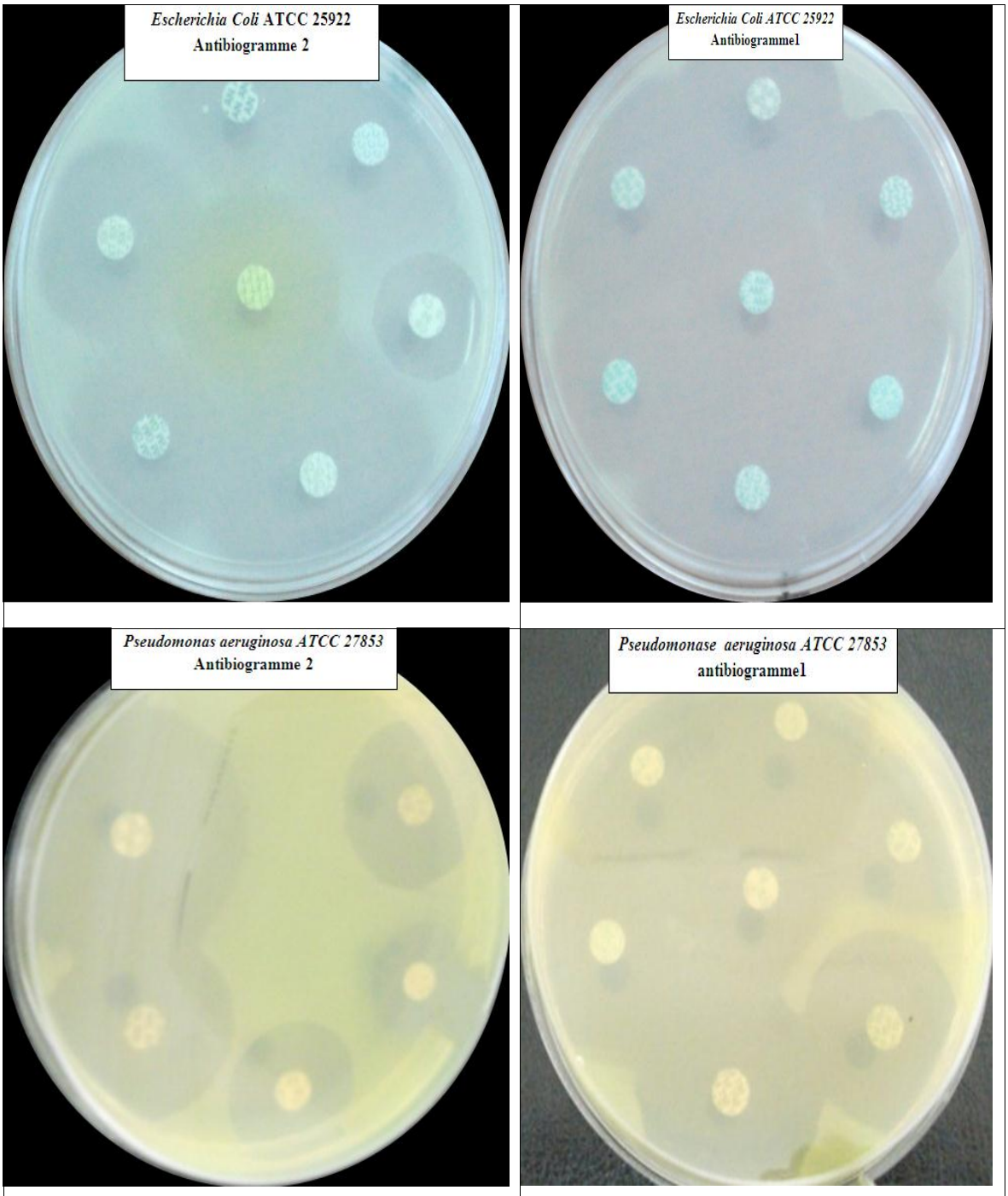
تنقص فعالية الزيت كلما زاد تخفيفه، يكون أكبر تأثير عند أعلى تركيز الذي هو 2/1 (ح/ح). كانت فعالية المضادات الحيوية كبيرة مع السلالات البكتيرية المرجعية الثلاث *Escherichia coli* ATCC 25922، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 كما هو موضح في الشكل 23، بأقطار تثبيط تتراوح بين 19 و 39 مم (الجدول VI).

الجدول III: النشاطية ضد الميكروبية لزيتي *Daucus setifolius* بتقنية الانتشار على الجيلوز.

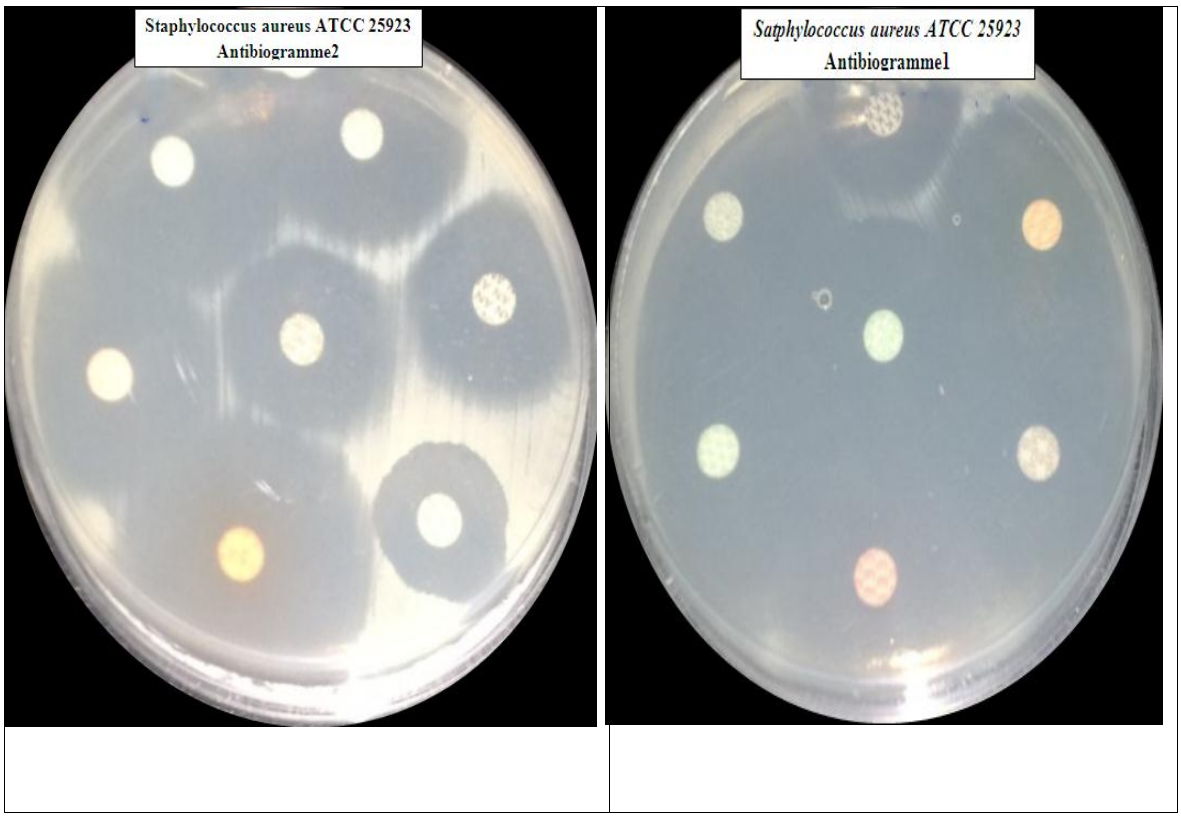
Gentamicine	زيت نبتة *Daucus setifolius* لمنطقة سكيكدة			زيت نبتة *Daucus setifolius* لمنطقة بجاية			التخافيف / السلالات
	1/10	1/5	1/2	1/10	1/5	1/2	
22mm	-	-	-	-	7mm (+)	11mm (+)	*Escherichia coli* ATCC 25922
26mm	-	-	-	-	-	10mm (+)	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
/	/	/	/	-	8mm (-)	12mm (-)	*Klebseilla pneumoniae (urinate)* E47 (resistante à la quinoline)
9mm	/	/	/	-	11mm (+)	12mm (+)	*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603
25mm	-	-	-	7mm (+)	8mm (+)	10mm (+)	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923
/	/	/	/	-	-	7mm (-)	*Staphylococcus aureus* résistante à la methycilline (SARM) ATCC 43300
/	/	/	/	8mm (-)	8.5mm (-)	9mm (-)	*Listeria inoura* Clip 74915
18 mm	/	/	/	-	8mm (-)	13mm (-)	*Bacillus subtilis* ATCC 6633
30mm	/	/	/	-	-	-	*Enterococus faecalis* ATCC 49452
11mm	/	/	/	-	-	21mm (-)	*Acinetobacter baumanip* ATCC 19606
11mm	/	/	/	-	-	-	*Listeria monocytogenes* ATCC 15313
26mm (5FC)	-	-	13mm (-)	14mm (-)	17mm (-)	24mm (-)	*Candida albicans*
64mm (5FC)	-	-	-	10mm	12mm	13mm	*Aspergillus niger*
26mm (KET)	-	-	10mm	8mm	8mm	11mm	*Aspergillus flavus*

(+): تأثير مثبط للبكتيريا « Bacteriostatique ». (-): تأثير قاتل للبكتيريا « Bactericide».

- : لا يوجد تأثير بل هناك مقاومة ميكروبية. /: لم تجرب لعدم توفر الزيت الأساسي.



الشكل 23: حساسية بعض السلالات البكتيرية لمختلف المضادات الحيوية المختبرة.



الشكل 23: حساسية بعض السلالات البكتيرية لمختلف المضادات الحيوية المختبرة.

بينت العديد من الدراسات مقاومة السلالة البكتيرية السالبة غرام *Pseudomonas aeruginosa* لمعظم الزيوت الأساسية المختبرة عدا البعض منها كزيت *Daucus crinitus* (في تركيز 2/1 ح/ح) و *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة بجاية (في تركيز 2/1 ح/ح)، و ذلك راجع إلى أن طرق إستجابة مركبات الزيوت الأساسية تتغير من سلالة ميكروبية لأخرى، لكن ذكر في العديد من الدراسات أن البكتيريا الموجبة غرام جد حساسة للمواد المختبرة مقارنة بالبكتيريا السالبة غرام.

تعود مقاومة هذه السلالة البكتيرية إلى طبيعة غشائها البلازمي الخارجي، الذي يحتوي على جزيئات دهنية عديدة التسكر (lipopolysaccharide) المانعة لنفاذية الجزيئات الكارهة للماء خاصة الزيوت الأساسية، يعد المبدأ الأساسي للزيت الأساسي هو تحليل أو ثقب الجدار البكتيري تكون المضادات الحيوية أيضا جد فعالة ضد البكتيريا الموجبة غرام منه ضد السالبة غرام (Perry و أخرون، 2004).

الجدول VI: النشاطية الضد مكروبية للمضادات الحيوية و المعبر عنها بأقطار التثبيط (مم).

المضاد الحيوي / البكتيريا	GM	AM	AN	AMC	IPM	OFX	CTX	FT	CS	C	CZ	FOX	SXT	FOS	TIC	ATM	PIP	TZP	IPM	CAZ	TM	P	OX	K	TE	E	PT	RA	FA	VA
E. coli ATCC 25922	22	24	22	28	32	31	35	28	19	26	28	29	27	29																
P. aeruginosa ATCC 27853	26		31			20			23					39	30	26	32	25	28	32	32									
S. aureus ATCC 25923	25		25							32		32		35								34	24	24	34	27	31	37	35	19

تتميز السلالة البكتيرية *P. aeruginosa* بإنتاجها pyoverdine (صبغة خضراء تصنع من طرف هذا النوع).

أظهر الزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة بجاية فعالية واضحة تجاه السلالات البكتيرية المرجعية (الموجبة غرام و السالبة غرام على حد السواء) و الفطريات، عكس زيت *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة سكيكدة، الذي لم يبد أي تأثير بل قاومته هذه السلالات الميكروبية بكل سهولة (الشكل 24) و ذلك راجع إلى أن زيت نبتة بجاية كانت فيه نسبة التربينات الأحادية المسؤولة عن النشاطية المضادة للميكروبات أكبر مقارنة بتلك المتواجدة في زيت نبتة سكيكدة خاصة β-pinene و المركب السيسكتربيني Germacrene D المتواجدين بضعف الكمية، كذلك الفعل المضاد للمركبات التالية camphene، estragole و E-anethole على المركبات المنشطة للتأثير ضد الميكروبي.

أثر زيت نبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة بجاية على كل السلالات الميكروبية عدا السلالتين الموجبتي غرام *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 و *Enterococus faecalis* ATCC 49452 اللذان أبديا مقاومة واضحة.

أظهرت كل من السلالات البكتيرية التالية "*Escherichia coli* ATCC 25922، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923، *Staphylococcus aureus* résistante à la methycilline (SARM) *ATCC 43300* و *Listeria inoura* Clip 74915" حساسية ضعيفة ترجمت من خلال أقطار التثبيط التي تراوحت فيما بين 7 و 11 مم عند أعلى تركيز 1/2 (ح/ح) مقارنة بمجال التثبيط (22- 28 مم) التي أحدثه المضاد الحيوي Gentamicin، نفس النتيجة أبداها زيتي ثمار، أوراق و سيقان نبتة *Daucus glaber* Forssk مع *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis* بأقطار تتراوح ما بين 6.5 mm و 8.5 mm مقارنة بالأقطار التثبيطية 16.5 mm و 19.0 mm التي أبدتها هاتين السلالتين البكتيريتين مع المضاد الحيوي ampicillin 5 mg/ml (Mansour و أخرون، 2004)، نفس الملاحظة وجدت في زيت نبتة *Daucus crinitus* الذي أبدى نشاطية ضعيفة تجاه البكتيريا الحساسة *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 بأقطار تثبيطية تصل إلى 21 mm عند أكبر تركيز 1/2 (ح/ح)، غير أن هذا الزيت لم يبد أية

نشاطية تجاه السلالتين البكتيريتين المرجعيتين *Escherichia coli* ATCC 25922 و *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 El Kolli (2008).

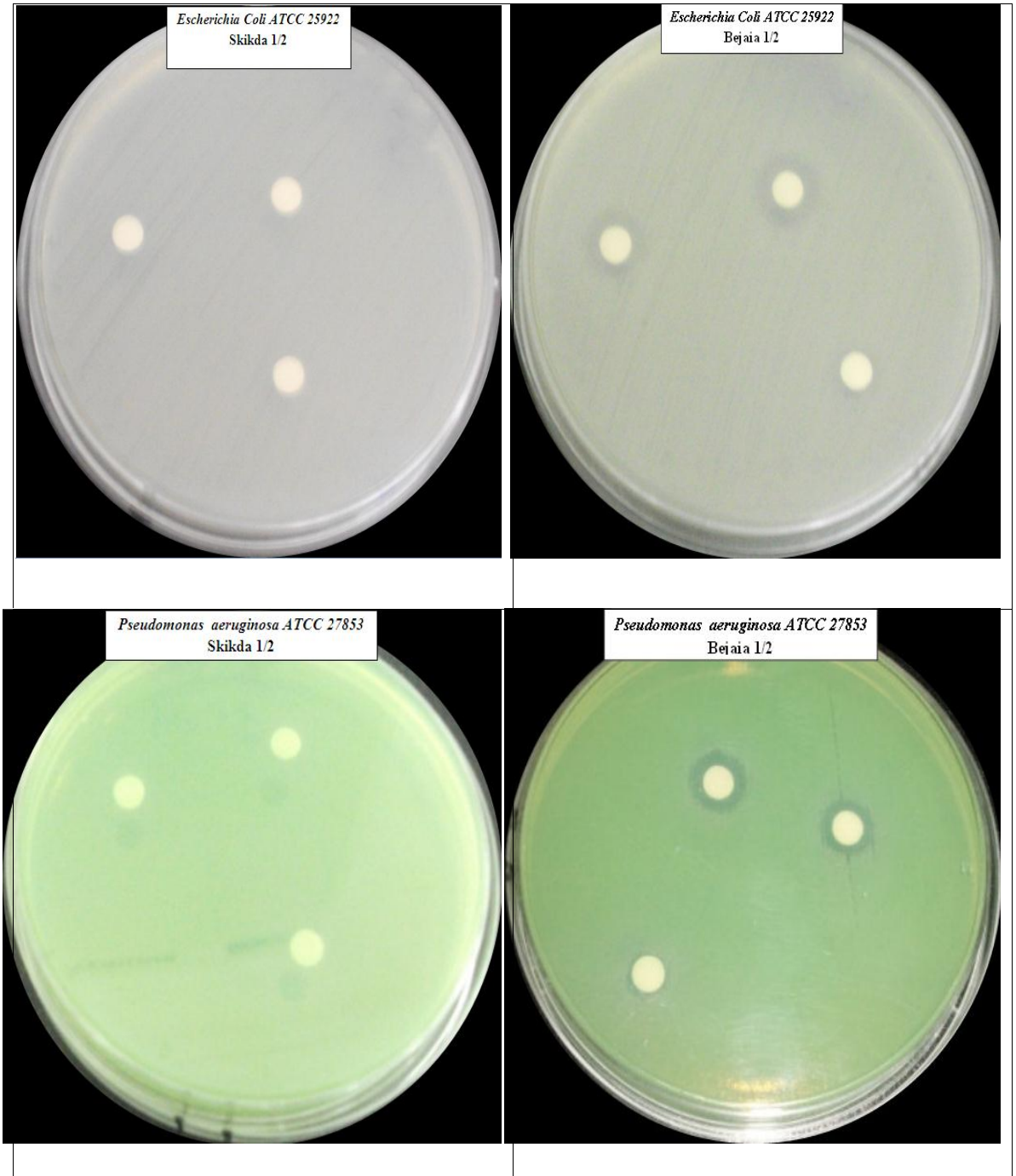
بينما أظهر كل من *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 و *Staphylococcus aureus* résistante à la methycilline (SARM) ATCC 43300 مقاومة واضحة مع باقي التراكيز (1/5-1/10)، نفس الشيء لوحظ في *Klebseilla pneumoniae (urinate)* E47 (resistante à la quinoline)، *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603، *Bacillus subtilis* ATCC 6633 و *Escherichia coli* ATCC 25922، نفس النتيجة أبداها زيت كل من ثمار و أوراق نبتة *Daucus glaber* Forssk مع *Escherichia coli* ومع المضاد الحيوي ampicillin، فهذا الزيت أبدى نشاطية واسعة تجاه البكتيريا المختبرة سواء الموجبة أو السالبة غرام (Mansour و أخرون، 2004).

نفس الشيء وجده Staniszewska و أخرون (2005) من خلال النشاطية القوية للزيت الأساسي للجزر البري *Daucus carota* ssp ضد البكتيريا الموجبة غرام (*B. subtilis* و *S. aureus*)، و أن الزيت الأساسي لجزر المزارع *Daucus carota* ssp *carota* كان نشط ضد كل المتعضيات الدقيقة المختبرة و بالأخص الموجبة غرام (*B. subtilis* و *S. aureus*) أكثر من السالبة غرام (*E. coli* و *P. aeruginosa*). وضح أيضا Glisic و أخرون (2007) أن نشاطية زيت L *carota Daucus* مع كل السلالات الموجبة غرام (*S. aureus*، *Listeria monocytogenes*، *B. subtilis* و *Enterococcus faecalis*) و السلالات السالبة غرام مثل *E. coli* و *Salmonella enteritidis*. بينت السيسكيتربينات الأربعة المعزولة من جذور *Daucus carota* (carrote sauvage de la Jordanie) نشاطية ضد ميكروبية ضد البكتيريا الموجبة غرام (*S. aureus*، *B. cereus*، *Streptomyces scabies* و *B. subtilis*) و ضد البكتيريا السالبة غرام مثل *P. aeroginosa* و *E. coli* (Ahmed و أخرون، 2005).

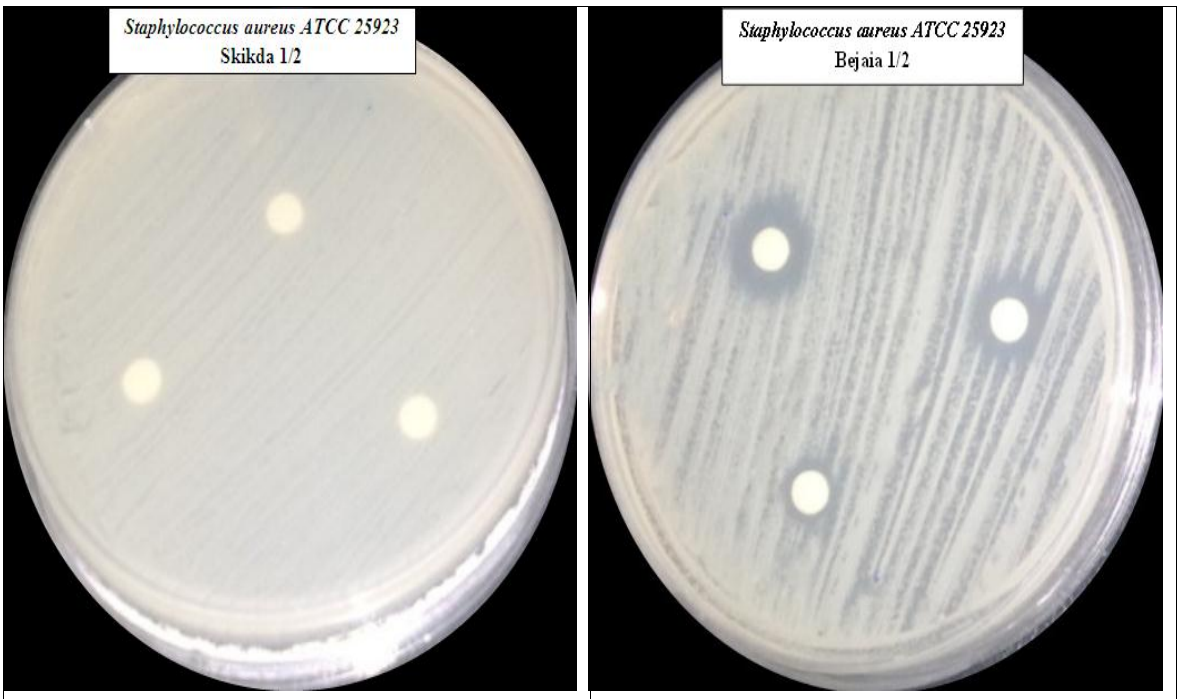
دون أن ننسى أن طبيعة الورق المستعمل في صناعة الأقراص المحملة بالزيت التي لعبت دور كبير في تعطيل انتشار هذا الزيت الأساسي.

أبدت السلالات البكتيرية *Klebseilla pneumoniae* E47 (resistante à la quinoline)، *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 و *Bacillus subtilis* ATCC 6633 حساسية متوسطة تجاه زيت نبتة *Daucus setifolius* لبجاية بأقطار تثبيط متراوحة بين 12 و 13 مم عند أعلى تركيز 1/2 (ح/ح)،

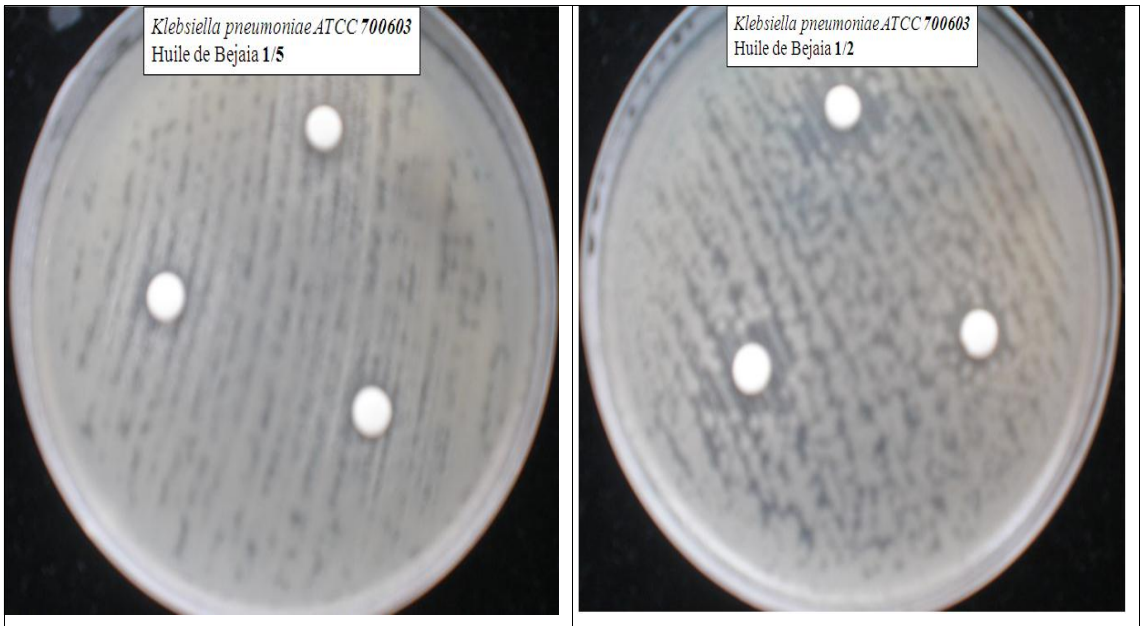
على عكس البكتيريا *Acinetobacter baumanip* ATCC 19606 التي أظهرت حساسية كبيرة تجاه هذا الزيت عبرت عنها بأقطار تثبيط وصلت إلى 23 مم عند أعلى تركيز 1/2 (ح/ح) بينما أبدت مقاومة للتراكيز الدنيا الأخرى.



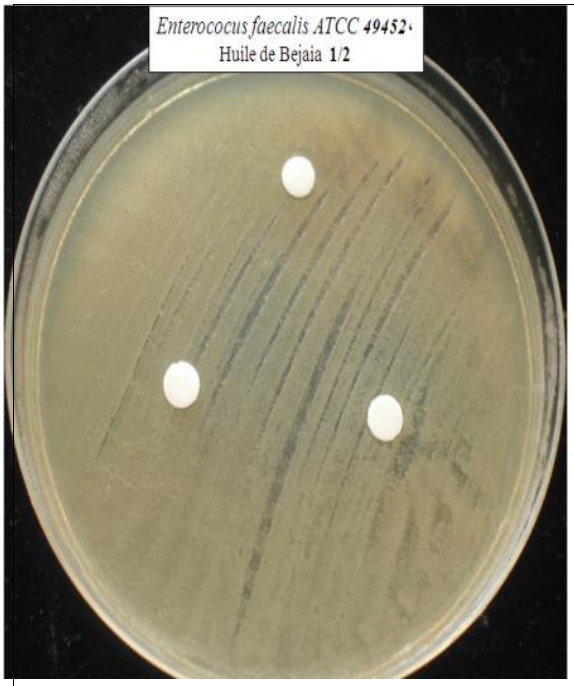
الشكل 24: مقارنة بين نشاطية زيتي *Daucus setifolius* ضد بعض السلالات البكتيرية المرجعية بواسطة تقنية aromatogramme.

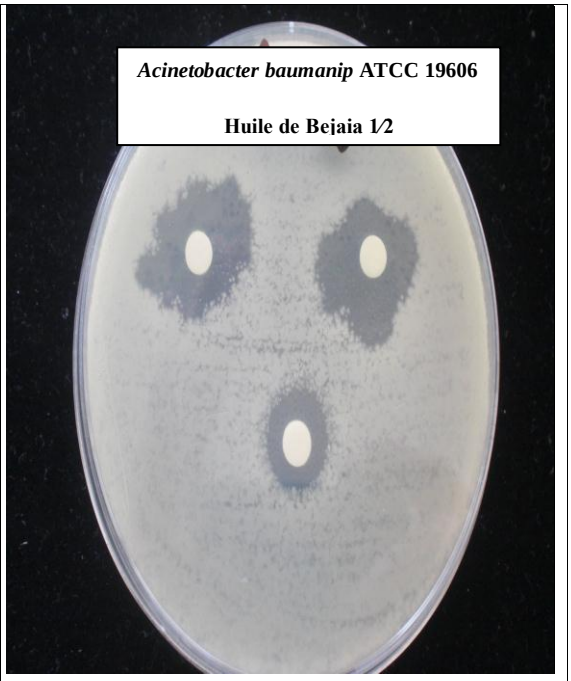


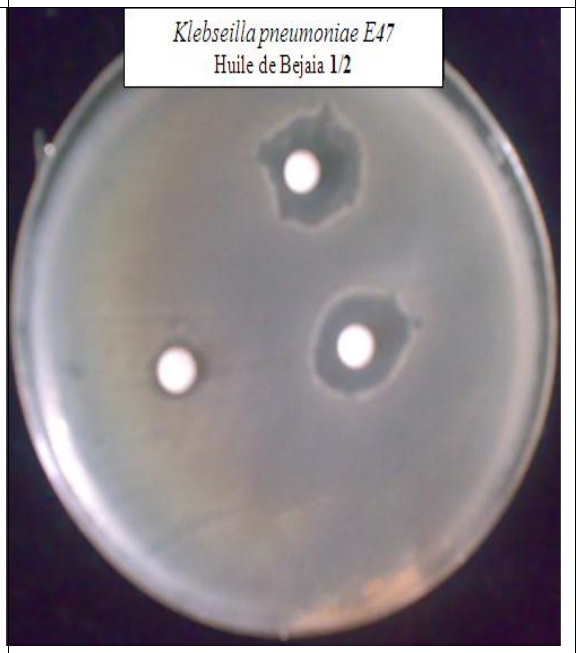
الشكل 24: مقارنة بين نشاطية زيتي *Daucus setifolius* ضد بعض السلالات البكتيرية المرجعية بواسطة تقنية aromatogramme.



الشكل 25: نشاطية زيت *Daucus setifolius* المتحصل عليه من بجاية ضد بعض السلالات البكتيرية المرجعية.



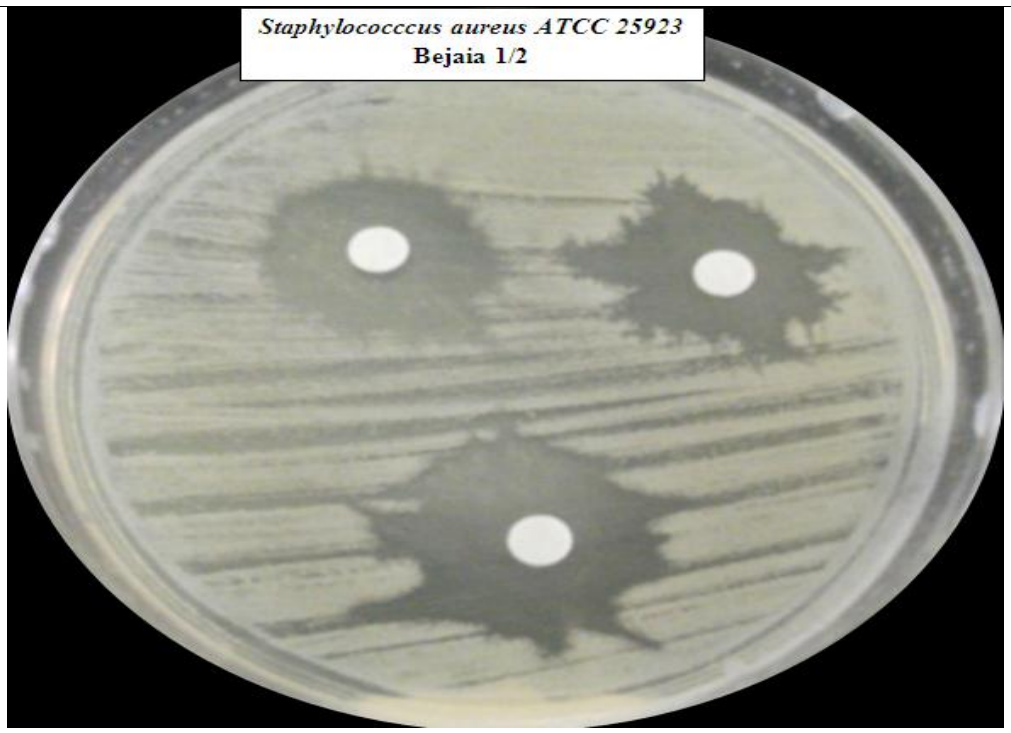




الشكل 25: نشاطية زيت *Daucus setifolius* المتحصل عليه من بجاية ضد بعض السلالات البكتيرية المرجعية.

الشكل25: نشاطية زيت *Daucus setifolius* المتحصل عليه من بجاية ضد بعض السلالات البكتيرية المرجعية.

صنعت الأقراص المحملة بالزيت الأساسي من ورق الترشيح الخاص بالتحول الانزيمي، و هو ورق سميك قابل لاستيعاب حجم الزيت المختبر (10 مكرولتر)، لكن طبيعة هذا الورق تعيق انتشار الزيت الأساسي في الوسط الزرعي، بدليل التجربة التي أعطى فيها زيت نبتة بجاية مناطق تثبيط مع السلالة البكتيرية *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 تتراوح بين 7 مم و 10 مم، في حين أعطى نفس الزيت مع نفس السلالة البكتيرية مناطق تثبيط أكبر محصورة بين 16 مم و 23 مم عند استخدام ورق الترشيح العادي، هذا يعني أن طبيعة ورق الترشيح الخاص بالتحول الإنزيمي عطلت انتشار الزيت الأساسي على كافة علب بتري، لكن حدود مناطق التثبيط بالورق الثاني كانت واضحة مقارنة بالورق العادي (الشكلين 24 و 26).



الشكل 26: نشاطية زيت نبتة *Daucus setifolius* لمنطقة بجاية باستخدام ورق الترشيح الخاص بالتحول الانزيمي.

كمنت فعالية زيتي نبتة بجاية و سكيكدة في نشاطيتهما المضادة للفطريات مقارنة بالمضادات الفطرية (الشكل 26)، من خلال الحساسية الكبيرة التي أظهرتها الخميرة *Candida albicans* تجاه زيت نبتة بجاية و مع كل التراكيز حيث وصلت الأقطار المثبطة لنمو الخميرة إلى 24 مم مع أكبر تركيز (1/2)، لكنها لم تتجاوز 13 مم مع أكبر تركيز (1/2) و قاومت التركيزين الآخرين لزيت نبتة سكيكدة كما هو موضح في الشكل 25. على عكس المقاومة الكبيرة التي أبدتها هذه الخميرة مع زيت كل من ثمار و أوراق نبتة *glaber* Forssk (Mansour و أخرون، 2004) و كذلك مع المضاد الحيوي ampicillin.

كانت حساسية *Aspergillus flavus* للزيتين ضعيفة ممثلة بأقطار تثبيط تراوحت بين 10 و 11 مم، غير أن هذه الحساسية انعدمت عند التركيزين 1/5 و 1/10 في زيت نبتة سكيكدة.

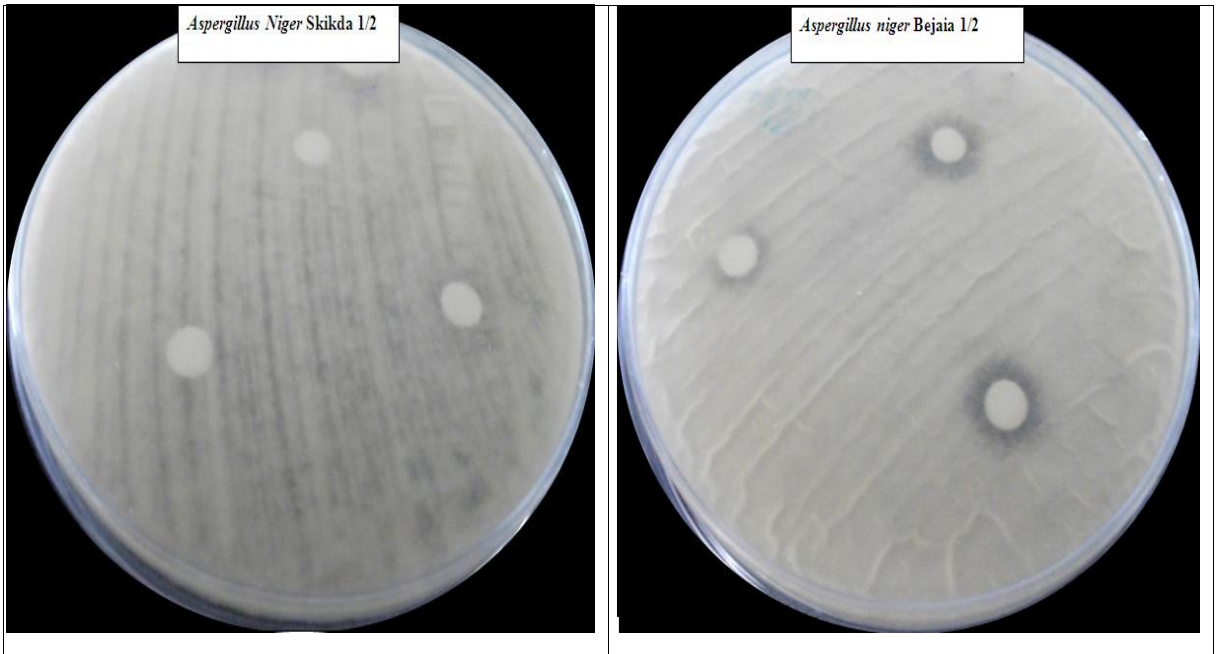
أبدى الفطر *Aspergillus niger* مقاومة واضحة لزيت نبتة سكيكدة مع حساسية ضعيفة لزيت نبتة بجاية و المترجمة بأقطار مناطق التثبيط المتراوحة بين 11 و 8 مم كما هو موضح في الجدول VI.

وصلت أقطار تثبيط الأقراص المضادة للفطريات إلى 64 مم عند تجريب المضاد الحيوي 5-Fluorocytosine مع الفطر *Aspergillus niger*، غير أن نفس المضاد مع *Candida albicans* أنتج منطقة تثبيط أقل تقدر بـ 53 مم و أثر على *Aspergillus flavus* بتثبيطه لنمو أبواغه لكن مع السماح بتشكل الميسليوم.

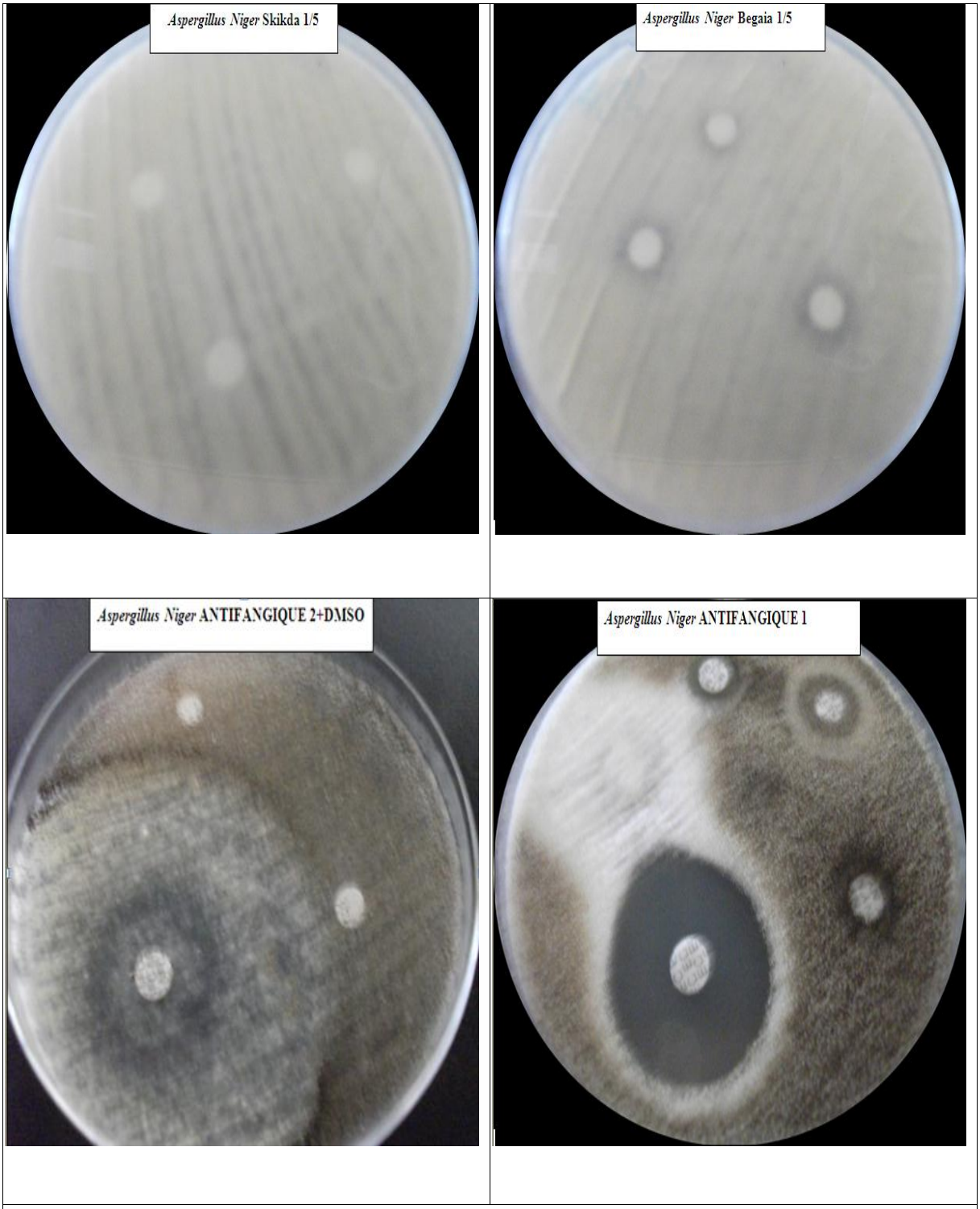
أثر المضاد الفطري Ketoconazole على *Aspergillus flavus* من خلال منطقة التثبيط التي أحدثها و المقدرة ب 26 مم، في حين وصل قطرها عند *Aspergillus niger* إلى 13 مم فقط، مقارنة بزيت *Daucus crinitus* الذي أظهر فعالية كبيرة تجاه هذا الفطر من خلال أقطار التثبيط المتراوحة بين 44 و 55mm (Staniszewska و أخرون، 2005).

أبدت *Candida albicans* حساسية متوسطة بقطر تثبيط يصل إلى 26 مم تجاه هذا المضاد الفطري، و بأقطار 27 مم، 18 مم و 12 مم تجاه Econazole، Miconazole و Nystatine على الترتيب.

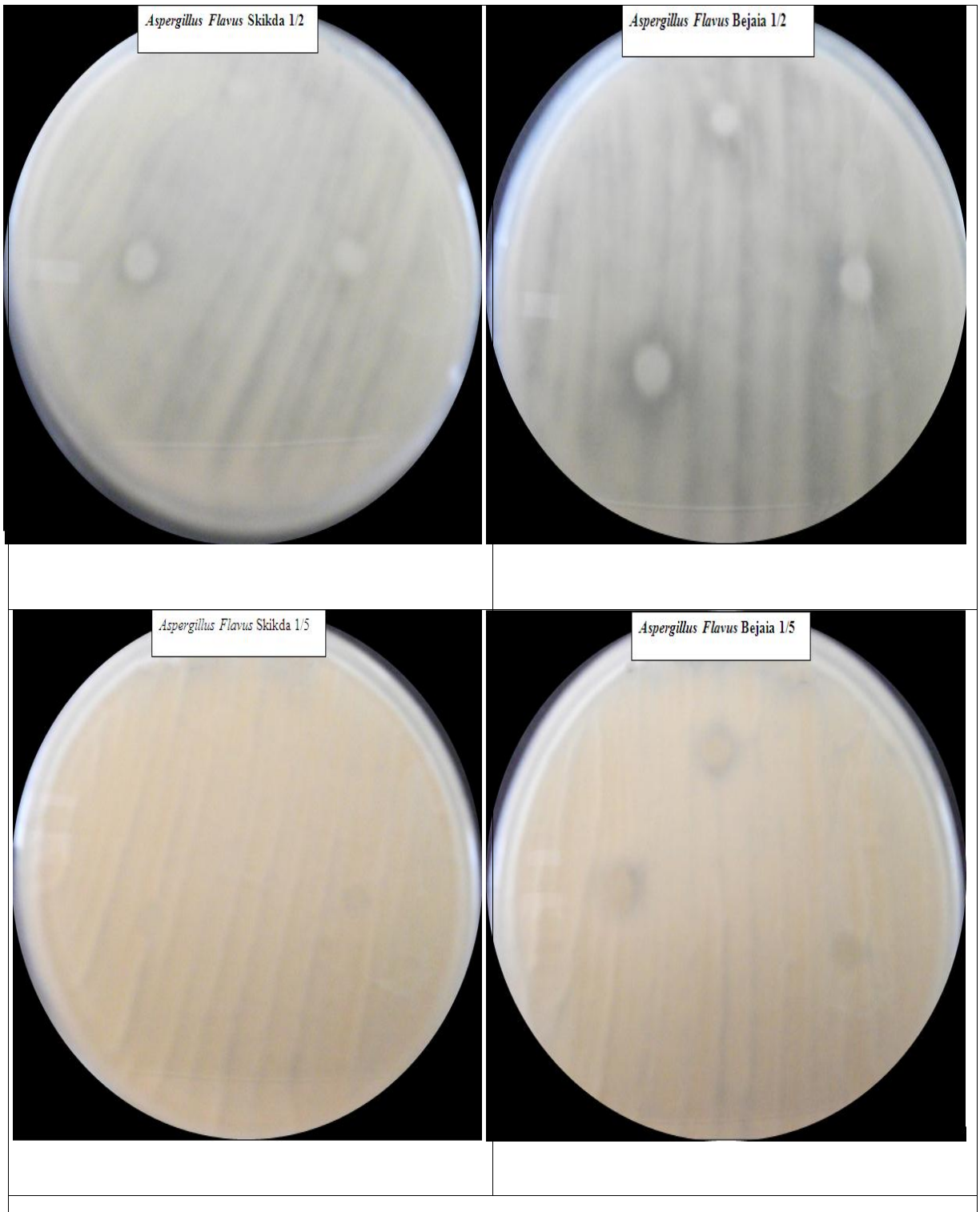
أظهر *Aspergillus niger* حساسية متوسطة تجاه المضادات الفطرية التالية: Econazole، Miconazole و Nystatine، ترجمت بالأقطار التثبيطية التالية: 28 مم، 12مم و 8 مم على الترتيب.



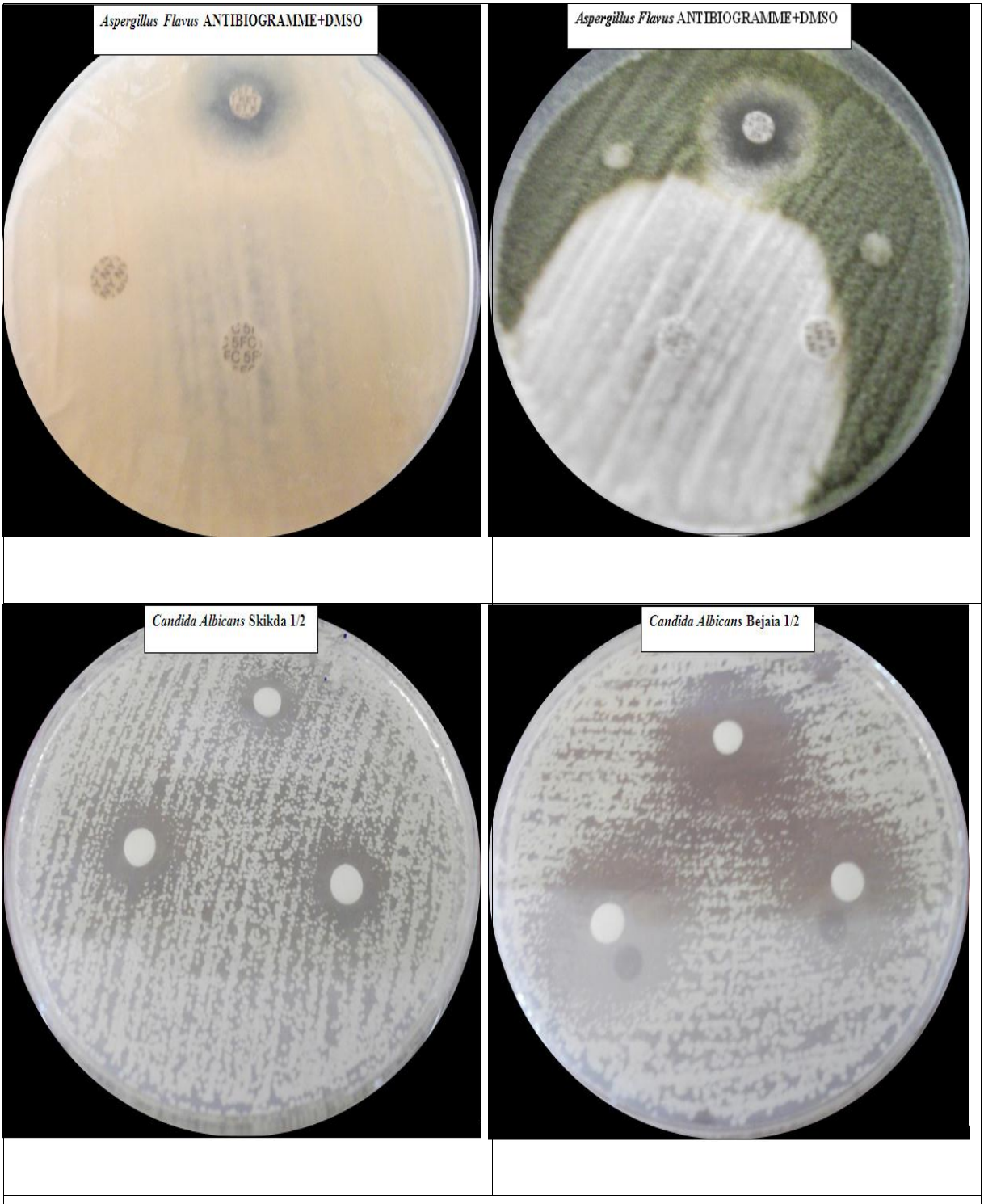
الشكل 27: مقارنة النشاطية ضد الفطرية للزيتين الأساسين لنبتة *Daucus setifolius*.



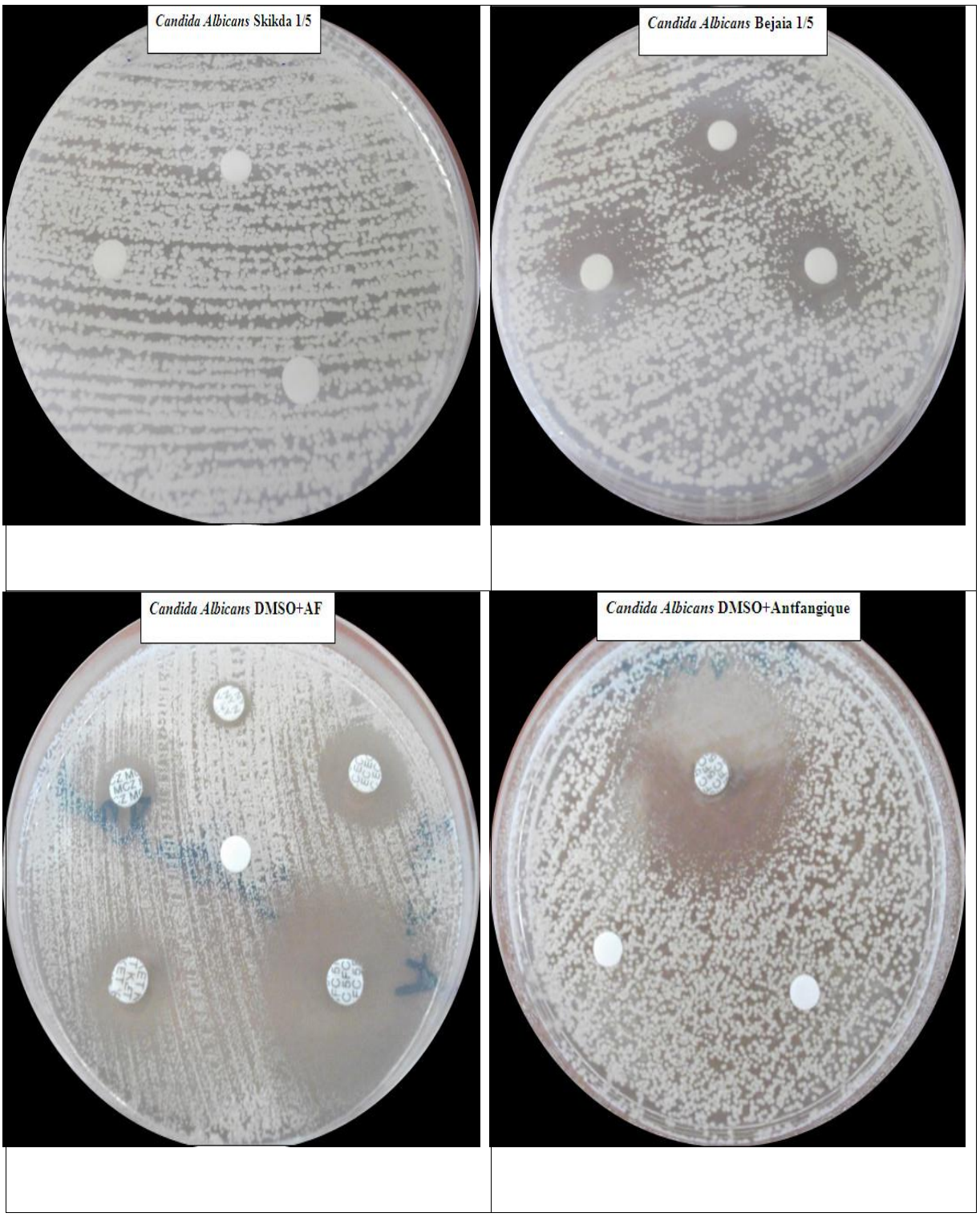
الشكل 27: مقارنة النشاطية ضد الفطرية للزيتين الأساسين لنبتة *Daucus setifolius*.



الشكل 27: مقارنة النشاطية ضد الفطرية للزيتين الأساسين لنبتة *Daucus setifolius*.



الشكل 27: مقارنة النشاطية ضد الفطرية للزيتين الأساسين لنبتة *Daucus setifolius*.



الشكل 27: مقارنة النشاطية ضد الفطرية للزيتين الأساسين لنبتة *Daucus setifolius*.

أظهر الزيت الأساسي المستخلص إنطلاقا من الجزء الهوائي لنبتة *Daucus carota* نشاطية كبيرة تجاه الفطريات التالية *C. albicans*، *Penicillium expansum*، *Fusarium oxysporum* و *Aspergillus niger* (Staniszewska و أخرون، 2005). أكدت هذه النشاطية من طرف العديد

من الباحثين على أنواع أخرى من جنس *Daucus*، حيث أعطت ثمار *Daucus carota* L نشاطية ملاحظة تجاه *C. albicans* (Glisic و أخرون، 2007). نفس الشيء لوحظ في زيت *Daucus glaber* (Mansour و أخرون،2004). أظهرت الزيوت الأساسية للجزر المزروع (*Daucus carota* ssp *carota*) و الجزر البري (*Daucus carota* ssp *sativus*) نشاطية ضد *C. albicans* و *Penicillium expansum* هذه النشاطية جد كبيرة على البكتيريا الموجبة غرام (Staniszewska و أخرون، 2005).

يتم تفاعل الزيوت الأساسية مع *C. albicans* بزيادة نفاذية الغشاء البلازمي الناتج عن إحداث ثقوب فيه مما ينجر عنه تسرب المحتوى السيتوبلازمي وبالتالي موت الخميرة (Cox و أخرون، 2000).

تعود النشاطية ضد البكتيرية لزيتي نبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليهما من منطقتي سكيكدة وبجاية إلى وجود المركبات التالية: α-pinene (28,62 % و 41,1 %)، limonène (2 ,73 % و 9,52 %) و myrcène (2,27 % و 2,85 %)، و ذلك حسب تصنيف Duke (2007) لهذه المواد على أنها مضادات ميكروبية. بالإضافة إلى الكحول α-terpinéol (3,54 % و 3,64 %) المختبر من قبل Oussalak و آخرون (2006) كمضاد بكتيري و فطري.

VI-3-2 تقنية التبخير micro-atmosphères

استعملت هذه التقنية بهدف تقدير الأثر ضد الميكروبي لأبخرة الزيوت الأساسية من أجل استعمالها لاحقا كمواد معقمة للجو في المستشفيات و الأماكن العامة. حيث قدرت الكميات الدنيا المثبطة للزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* منطقة بجاية بـ: 10 مكرولتر من الزيت ضد البكتيريا *Escherichia coli* و *Staphylococcus* aureus و 20 مكرولتر من الزيت ضد البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*.

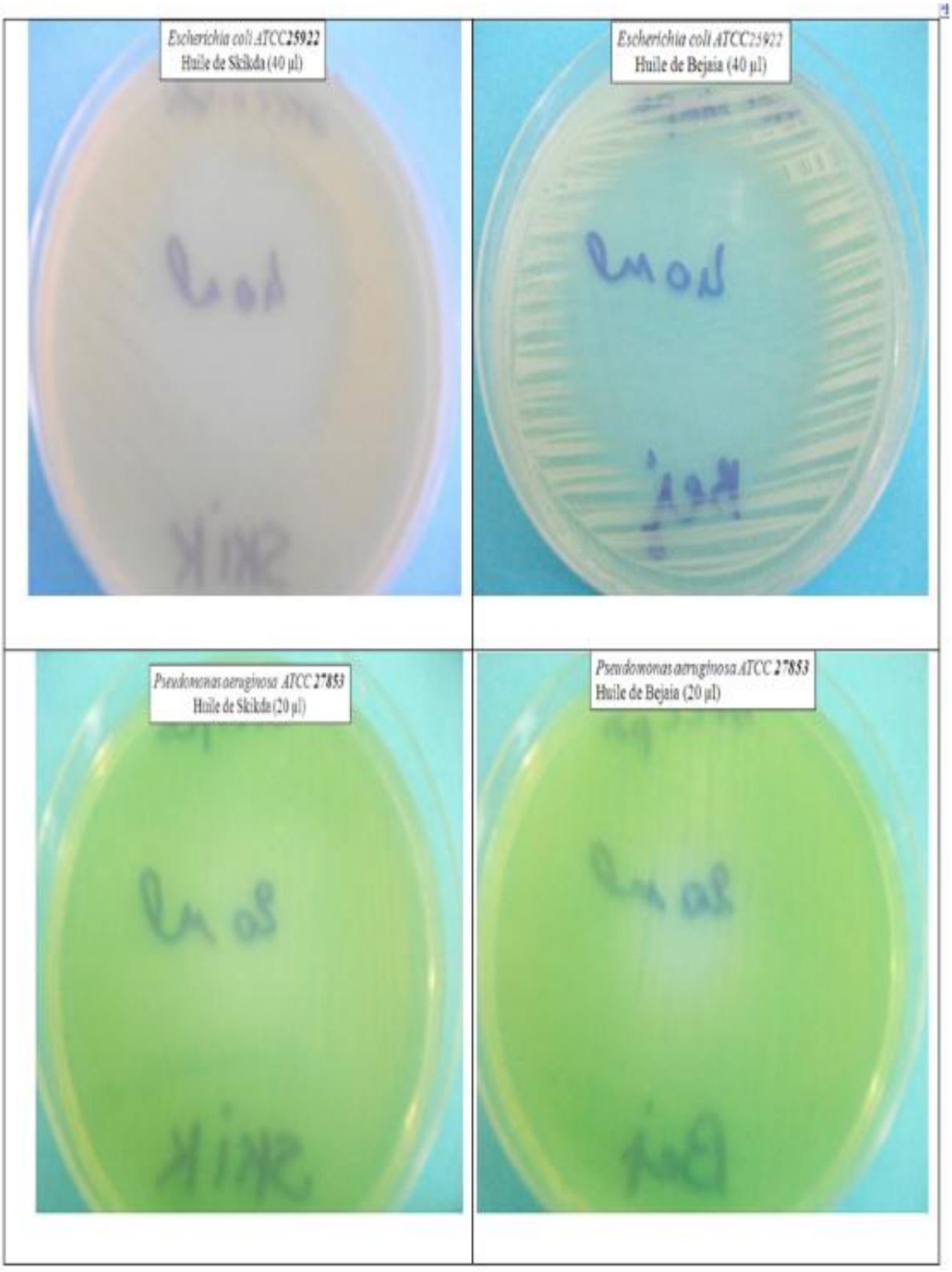
أكد Benjilali و أخرون (1986) بأن تراكيز مركبات المرحلة البخارية مختلفة عن تلك الموجودة في المرحلة السائلة، وضح كذلك الإختلافات في درجة التطاير للمركبات. تحتوي المرحلة البخارية على كمية مرتفعة من المركبات الخفيفة جد متطايرة (α-pinène) و كمية

ضعيفة من المركبات قليلة التبخر (camphre). تطاير مكونات الزيوت الأساسية مرتبط بقطبيتها، ضغط البخار و درجة غليانها.

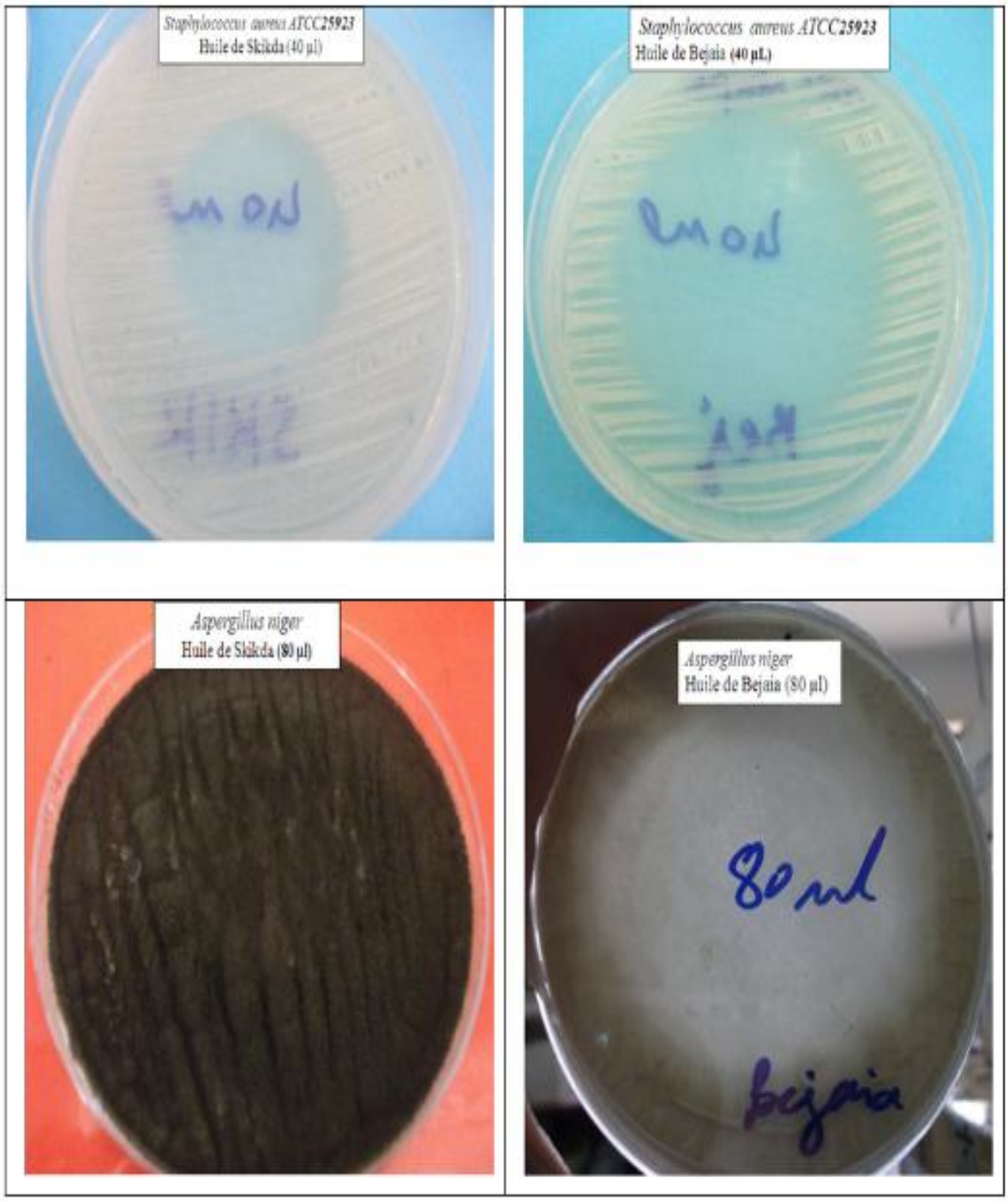
تفاعل المرحلة البخارية يكون بطريقة غير مباشرة، من خلال إدمصاص البخار على سطح الوسط الزرعي متبوعا بالإنتشار داخل المتعضيات الدقيقة (Inouye و أخرون، 2000).

أعط بخار الزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* ببجاية نتائج ضج بكتيرية جيدة مع سبع سلالات ميكروبية من بين أربعة عشر سلالة مختبرة (*Staphylococcus aureus* résistante à la methycilline (SARM) ATCC 43300، *Listeria inoura* Clip 74915، *Klebseilla pneumoniae* E 47 (resistante à la quinoline)، *Bacillus subtilis* ATCC 6633، *Enterococus faecalis* ATCC 49452، *Acinetobacter baumanip* ATCC 19606 و *Lysteria monocytogenes* ATCC 15313)، بكميات تثبيطية دنيا مختلفة حسب نوع السلالة الميكروبية. عكس زيت نبتة سكيكدة الذي أبدى حساسية متوسطة أقل مما ظهرت في زيت نبتة بجاية مع ثلاث سلالات ميكروبية (*Escherichia coli* ATCC 25922، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و *Aspergillus niger*) من أصل خمس سلالات مختبرة، لعدم توفر زيت نبتة سكيكدة و قلة مردوده.

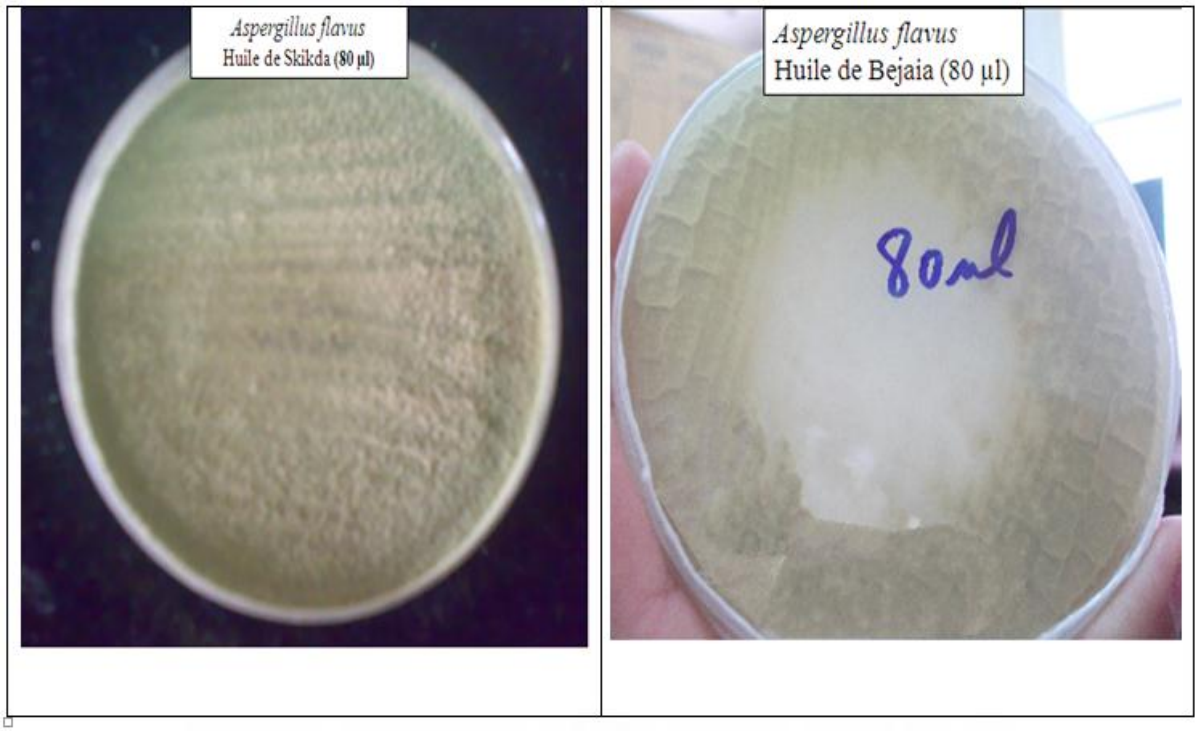
كان تأثير المرحلة البخارية لزيتي *Daucus setifolius* على *Escherichia coli* إنطلاقا من 10 مكرولتر، بينما انطلق تأثير زيت نبتة بجاية مع *Staphylococcus aureus* ابتداءا من 10 مكرولتر (22 مم) أما في زيت نبتة سكيكدة فبدأ من 20 مكرولتر (29 مم)، في حين لم يبد بخار زيت نبتة سكيكدة أية فعالية ضد *Pseudomonas aeruginosa* على عكس بخار زيت نبتة بجاية الذي أظهر فعالية واضحة إنطلاقا من 20 مكرولتر بمنطقة تثبيط مقدرة بـ 20 مم (الشكل 28).



الشكل 28: مقارنة بين نشاطية زيتي *Daucus setifolius* ضد بعض السلالات البكتيرية المرجعية و الفطرية بواسطة تقنية التبخير micro-atmosphère.

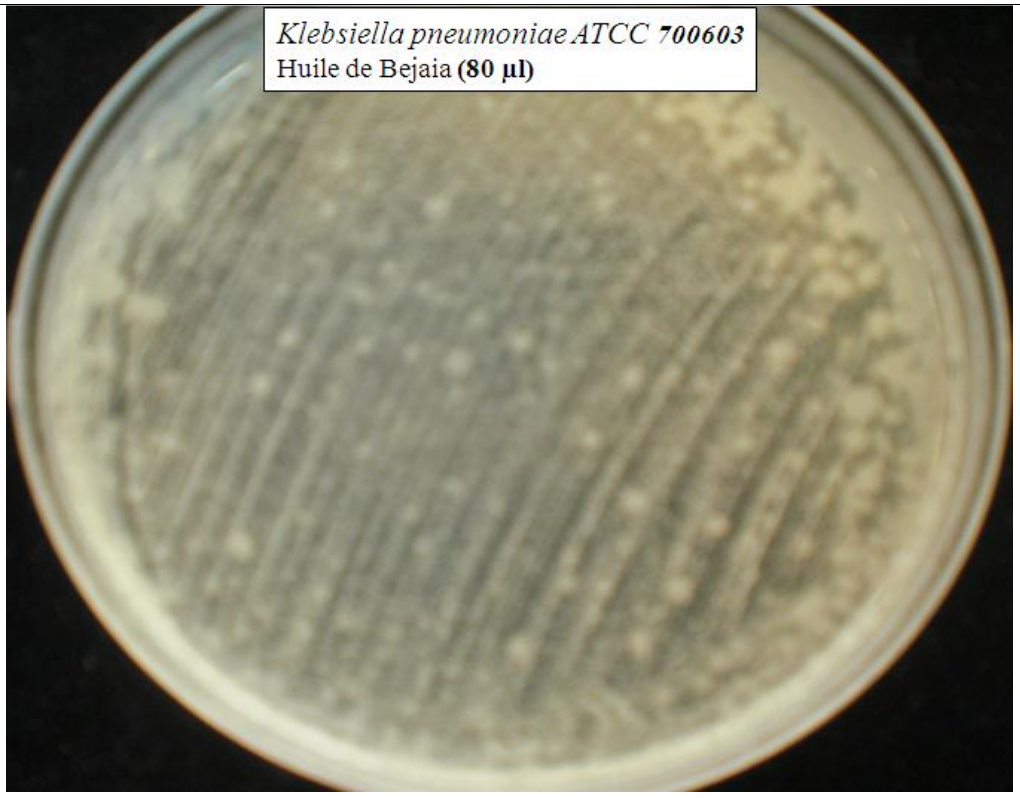


الشكل 28: مقارنة بين نشاطية زيتي *Daucus setifolius* ضد بعض السلالات البكتيرية المرجعية و الفطرية بواسطة تقنية التبخير micro-atmosphère.

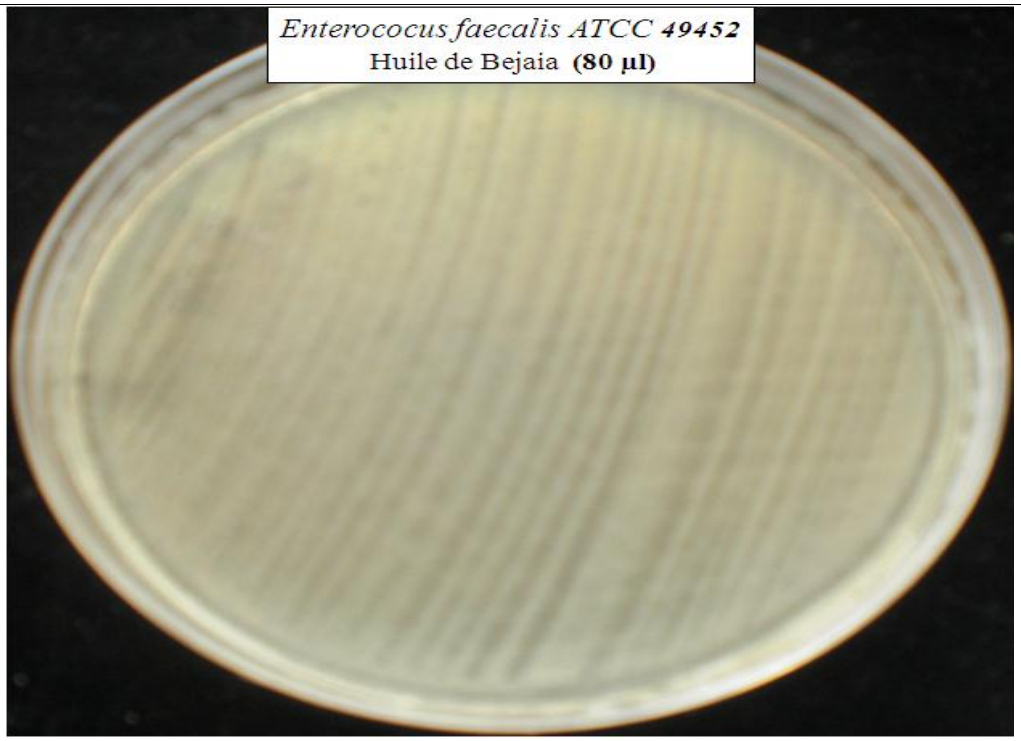


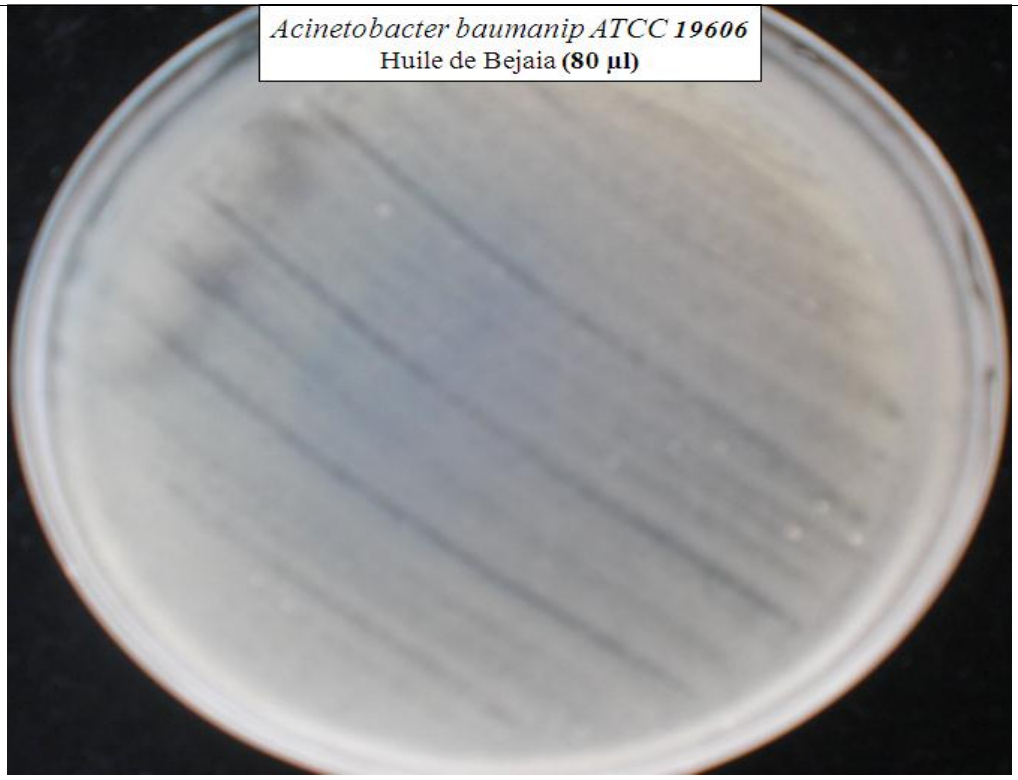
الشكل 28: مقارنة بين نشاطية زيتي *Daucus setifolius* ضد بعض السلالات البكتيرية المرجعية و الفطرية بواسطة تقنية التبخير micro-atmosphère.

أبدت السلالات البكتيرية التالية مقاومتها لمختلف كميات زيت نبتة بجاية: " *Staphylococcus aureus* résistante à la methycilline (SARM) ATCC 43300، *Listeria inoura* Clip 74915، *Klebseilla pneumoniae* E47 (resistante à la quinoline)، *Bacillus subtilis* ATCC 6633، *Acinetobacter baumanip* ATCC 19606، *Enterococcus faecalis* ATCC 49452، *Enterococcus faecalis* ATCC 49452، *Acinetobacter baumanip* ATCC 19606 و *Lysteria monocytogenes* ATCC 15313" كما هو موضح في الشكل 28، على عكس باقي السلالات البكتيرية *Escherichia coli* ATCC 25922، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 و *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 المذكورة سابقا، بالإضافة إلى *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 التي أظهرت حساسية واضحة تجاه هذا الزيت الأساسي كل كميات الزيت الأساسي، بأقطار تثبيطية تراوحت بين 25 مم و 70 مم (الشكل 29).

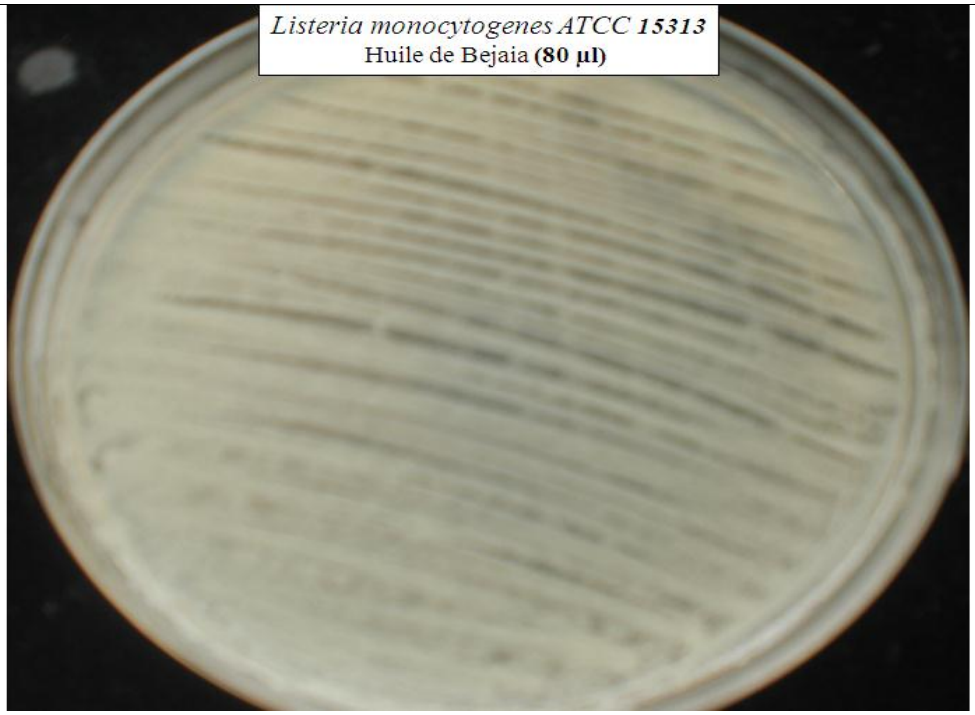


الشكل 29: النشاطية ضد الميكروبية للزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة بجاية ضد بعض السلالات البكتيرية المرجعية و الفطرية بواسطة تقنية التبخير micro-atmosphères.





الشكل 29: النشاطية ضد الميكروبية للزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة بجاية ضد بعض السلالات البكتيرية المرجعية و الفطرية بواسطة تقنية التبخير micro-atmosphères.



الشكل 29: النشاطية ضد الميكروبية للزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة بجاية ضد بعض السلالات البكتيرية المرجعية و الفطرية بواسطة تقنية التبخير micro-atmosphères.

أظهر بخار زيت *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة بجاية فعالية كبيرة تجاه الخميرة *Candida albucans* و الفطر *Aspergillus niger* (الشكل 27) إنطلاقا من 10 مكرولتر بأقطار تثبيطية كالتالي: 46 مم و 35 مم على التوالي، و مع *Aspergillus flavus* إنطلاقا من 20 مكرولتر بقطر يقدر بـ 11 مم.

بينما أبدى الفطر *Aspergillus niger* حساسية كبيرة تجاه زيت نبتة سكيكدة (الشكل 27) إنطلاقا من 10 مكرولتر بأقطار تثبيطية مقدرة بـ 31 مم (الجدول V).

بين Benjilali و آخرون (1986) بأن تركيز المركبات في المرحلة البخارية مختلف عنه في المرحلة السائلة.

في الواقع، يعود إختلاف النتائج إلى طبيعة التركيب الكيميائي للزيت الأساسي حسب Oussalah و أخرون (2006)، تتعلق النشاطية البيولوجية للزيت الأساسي إلى تركيبه

الكيميائي، المجاميع الوظيفية للمركبات المتواجدة بنسب كبيرة (الكحولات، الفيينولات و الألدهيدات) و التأثير التعاوني بين المركبات الكيميائية. كذلك المركبات الكيميائية الأكثر فعالية و التي تملك مجال كبير للتفاعل كمضادات ميكروبية هي الفينولات (thymol، carvacrol و eugénol)، الكحولات (α-terpinéol، terpinen-4-ol، menthol، géraniol، linalool)، الألدهيدات (néral، géraniol و citral)، السيتونات (carvone، pulégone و camphr) (Moleyar و narassimham، 1992 ; Dorman و Deans، 2000 ; Oussalah و أخرون، 2006).

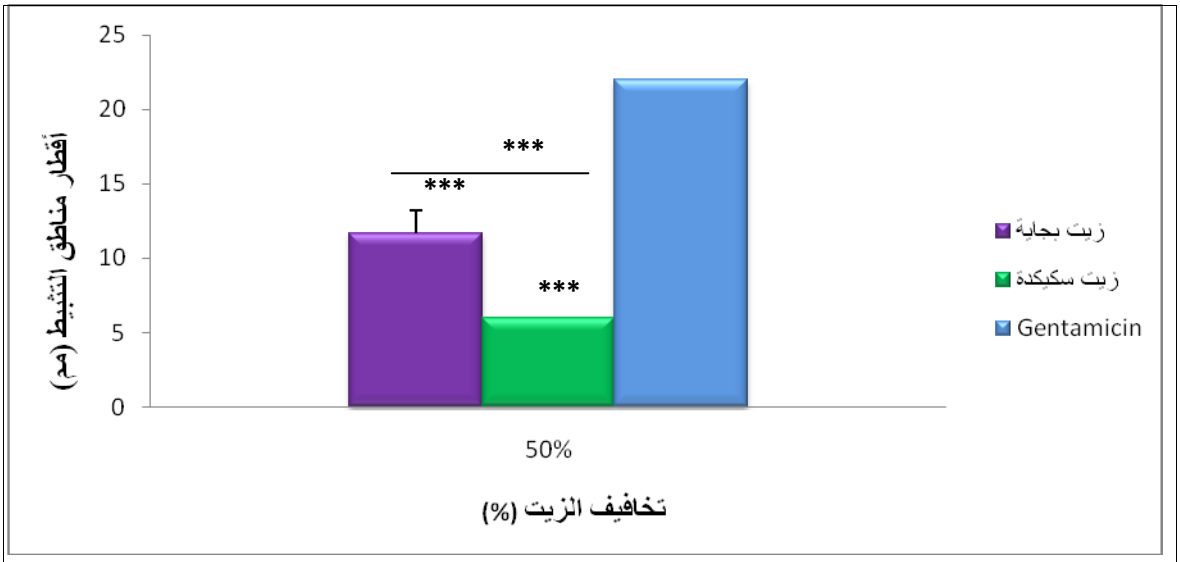
يفسر غياب النشاطية المضادة للميكروبات بالمقاومة التي تبديها السلالات الميكروبية مع مختلف الزيوت الأساسية من خلال نموها. من بين هذه السلالات المدروسة نجد البكتيريا *P. aeruginosa* المعروفة بمقاومتها، نتيجة لإمتلاكها مقاومة منيعة ضد العوامل الحيوية المضاد لها بفضل طبيعة غشائها الخارجي، يتركب هذا الأخير من lipopolysaccharides ذو الشحنة السالبة الذي يشكل حاجز يمنع نفاذية المركبات الكارهة للماء (Mann و أخرون، 2000).

ترجع النشاطية المضادة للفطريات إلى التأثير التعاوني للمكونات الكيميائية المتواجدة بالنسب الكبيرة و الضعيفة و قدرتها على تثبيط الفطريات (Deba و أخرون، 2008).

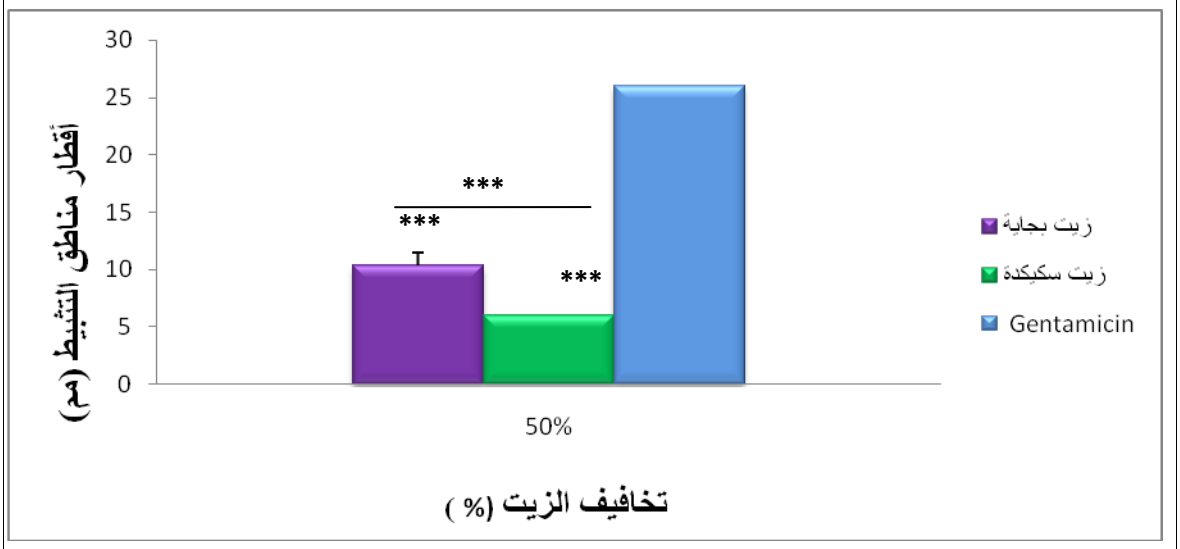
بين Suppakul و أخرون (2003) بأن النشاطية المضادة للفطريات تتم بآليتين مختلفتين: تحدث العديد من مركبات الزيت الأساسي تسرب مستمر للأحماض الأمينية و السكريات، و البعض منها يندمج ضمن اللبيدات الغشائية من أجل إحداث إضطراب في الوظائف الغشائية.

VI-4 الدراسة الإحصائية الملخصة للنشاطية ضد الميكروبية لزيتي نبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقتي سكيكدة و بجاية مع بعض الشلالات الميكروبية

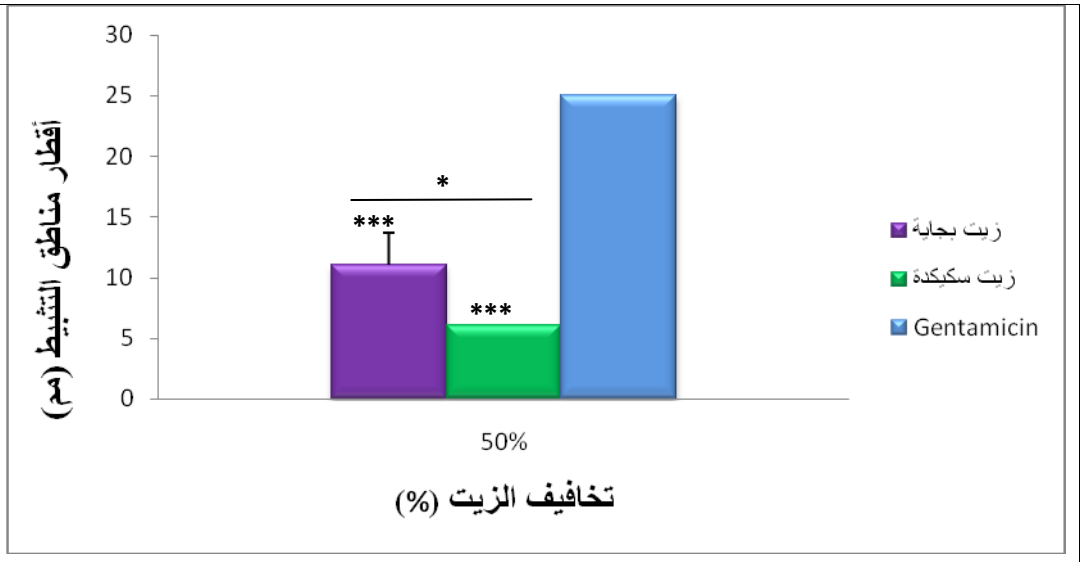
VI-4-1 تقنية الاتصال المباشر (الانتشار على الجيلوز)



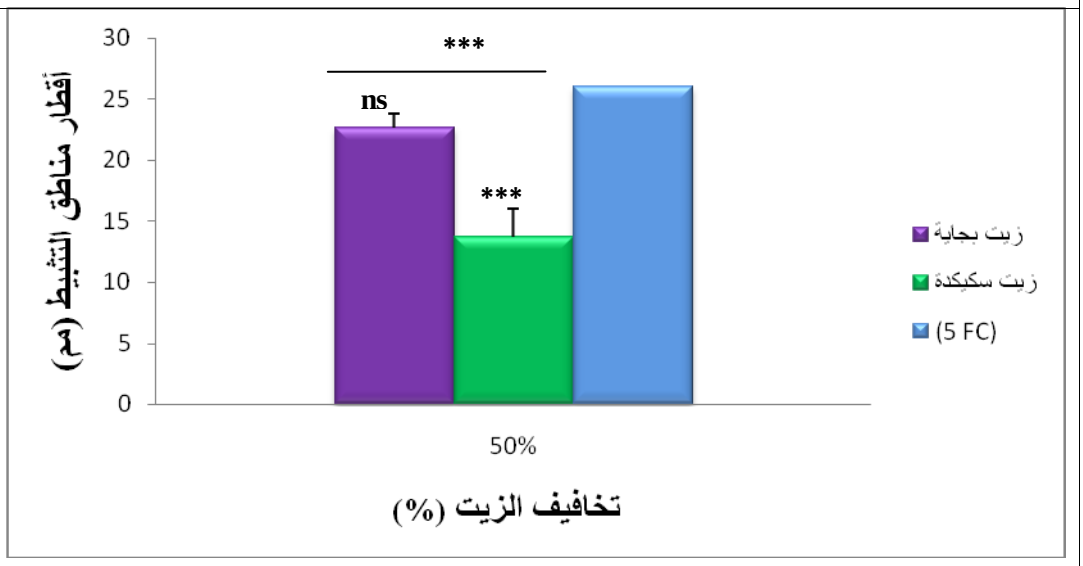
A) *Escherichia coli* ATCC 25922



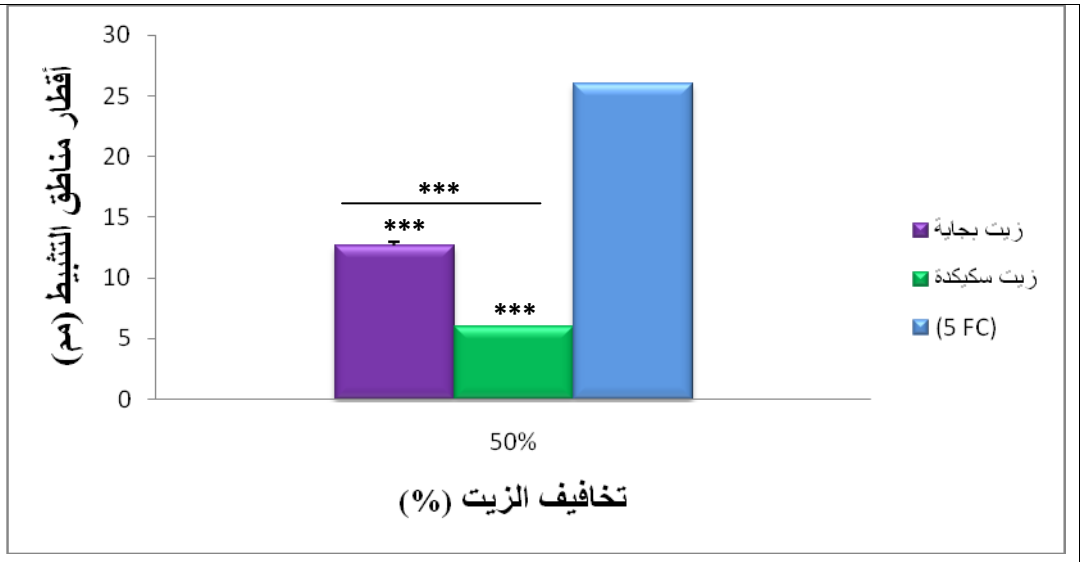
B) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



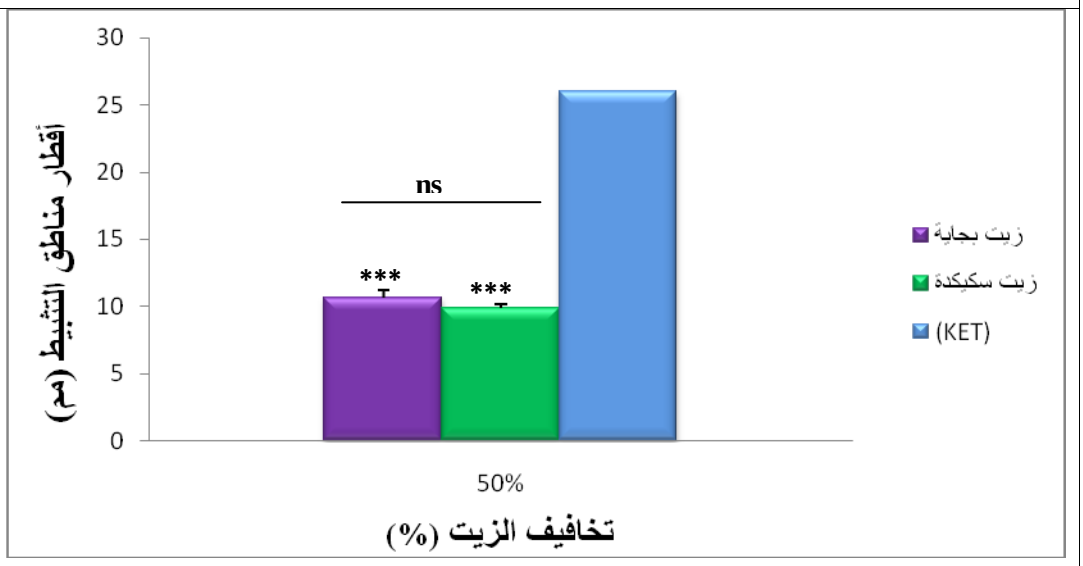
C) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



E) *Candida albicans*



F) *Aspergillus niger*



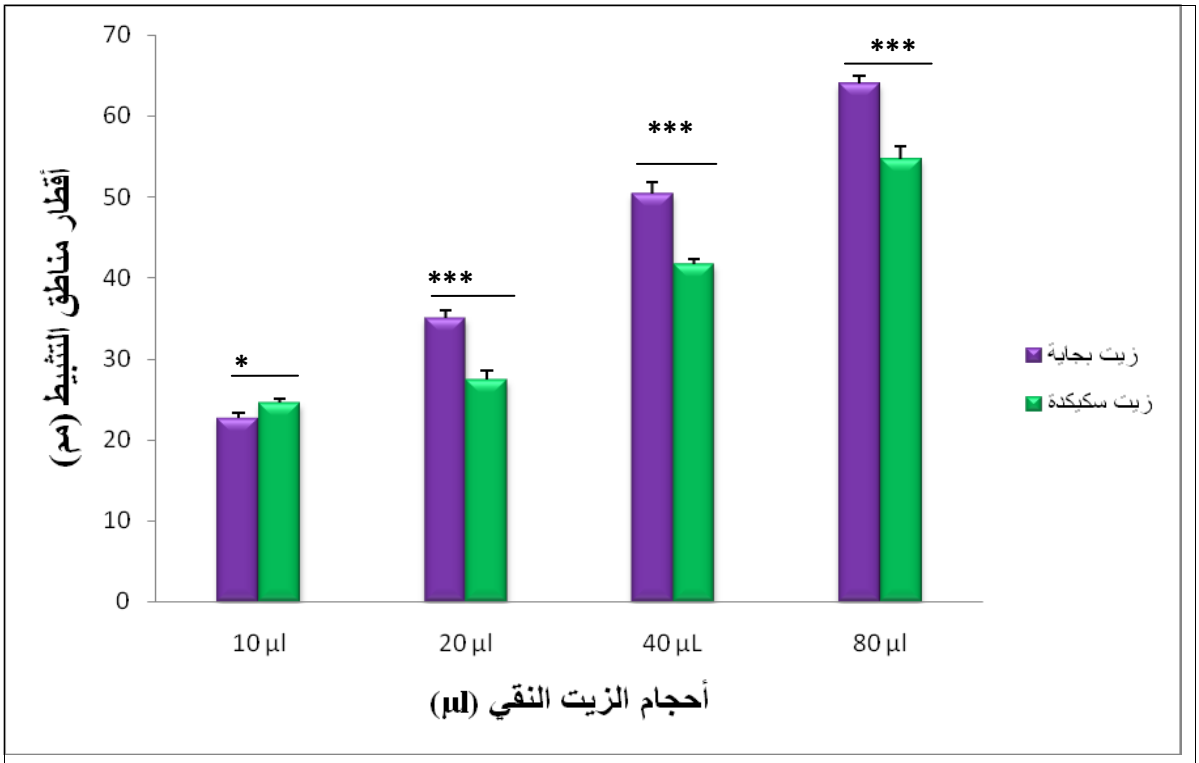
G) *Aspergillus flavus*

*** : هناك فرق معتبر ($P \leq 0.05$)

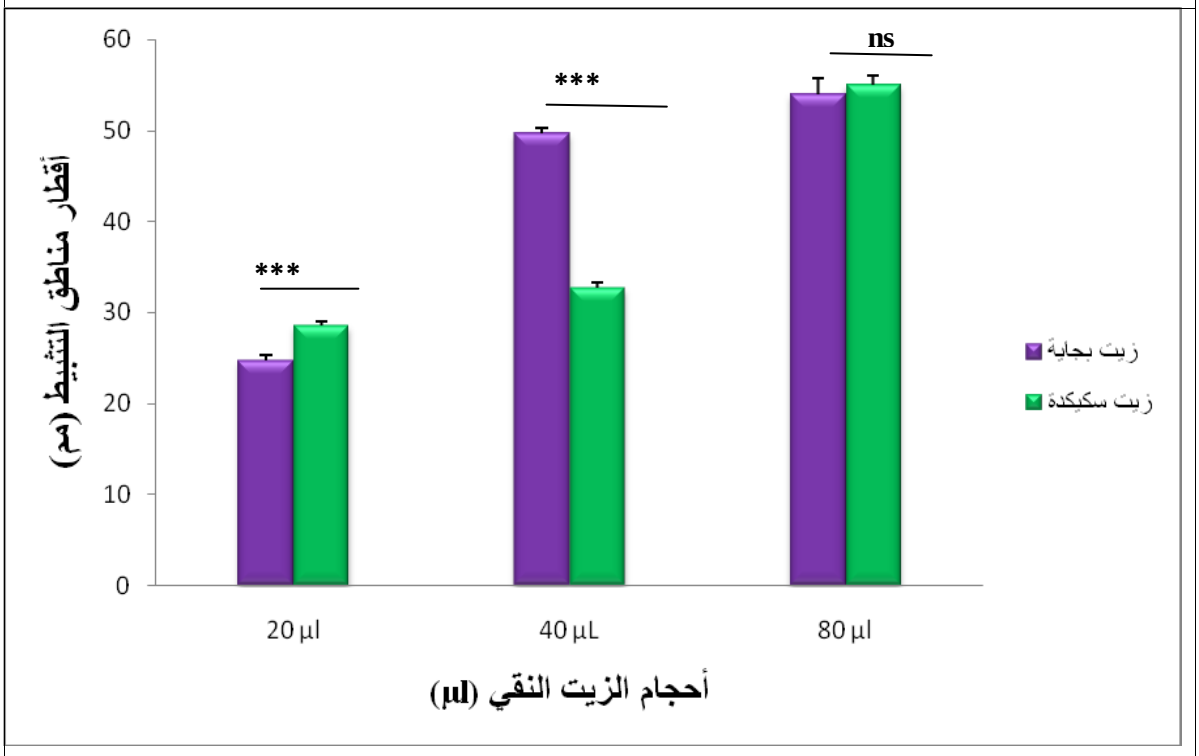
** : ($P \leq 0.01$)

* : ($P \leq 0.001$)

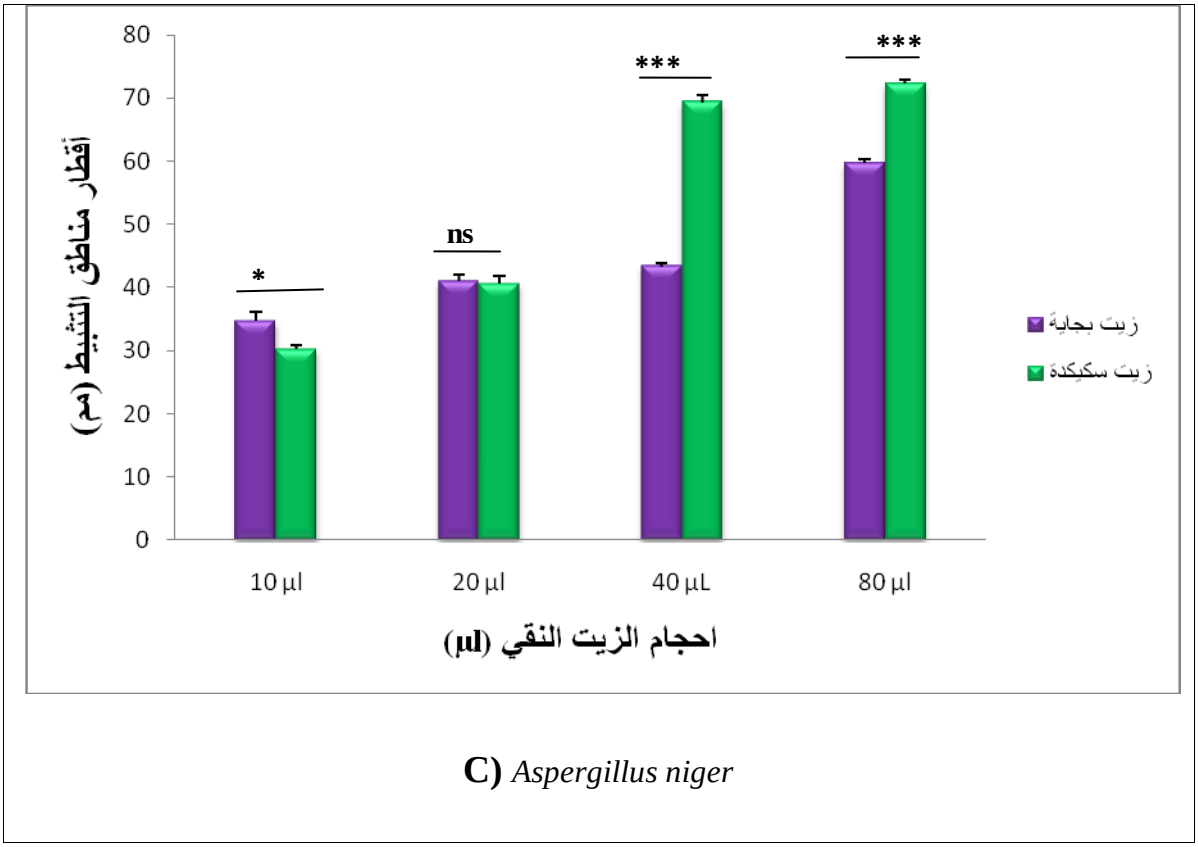
ns : لا يوجد فرق ($P > 0.05$)



A) *Escherichia coli* ATCC 25922



B) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



C) *Aspergillus niger*

*** : هناك فرق معتبر ($P \leq 0.05$)

** : ($P \leq 0.01$)

* : ($P \leq 0.001$)

ns : لا يوجد فرق ($P > 0.05$)

VI-5 النشاطية المضادة للأكسدة للزيوت الأساسية

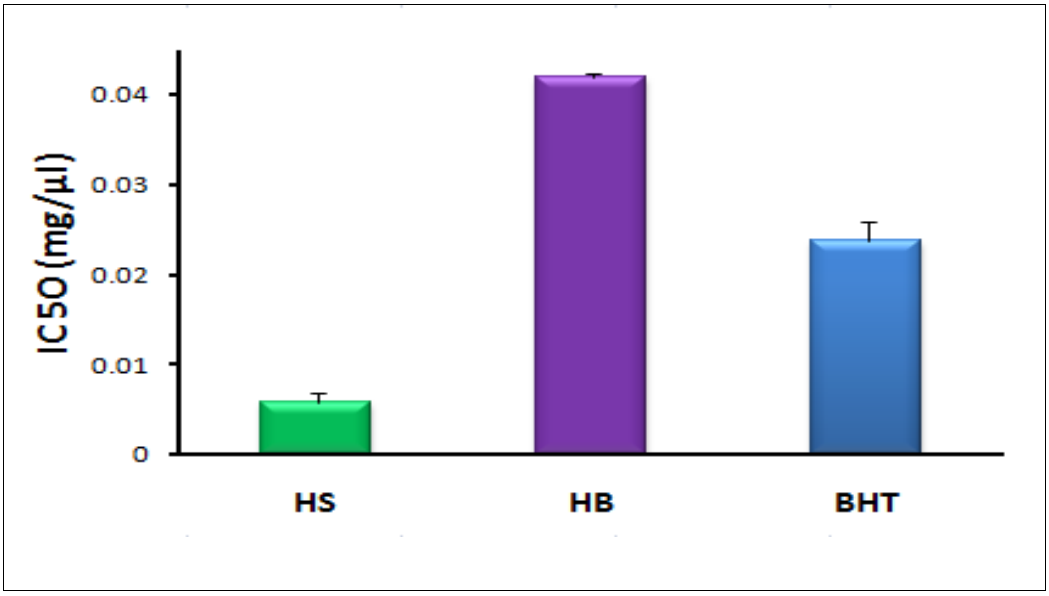
تملك الزيوت الأساسية القدرة على إرجاع الجذور الحرة، و هي الميزة الأساسية لأي مضاد أكسدة. تعتمد دراسة هذه النشاطية على سرعة إرجاع الجذر و قدرة مضاد الاكسدة.

يعد DPPH جذر حر إصطناعي ذو لون بنفسجي، يتم من خلاله تقدير النشاطية المضادة للأكسدة عبر إرجاعه إلى جذر غير نشط ذو لون أصفر 2,2-diphényl-1 -picrylhydrazine، نتيجة لهدرجة الإلكترون الحر غير المستقر المتواجد على ذرة الجسر الآزوتي، و هي طريقة تقدير سهلة، بسيطة و سريعة.

تسمح قياسات إنخفاض امتصاصية DPPH الناتج عن وجود مركبات نشطة في الزيتين الأساسيين لنبتة *Daucus setifolius* بعد مدة التفاعل(30 دقيقة)، بتحديد نسبة التثبيط (PI) لكل

تركيز من تراكيز الزيتين الأساسيين، تحسب نسبة التثبيط بتطبيق العلاقة المذكورة سابقا (في فصل المواد و طرق التحليل).

وضحت نتائج القدرة المضادة للأكسدة للزيتين الأساسيين في الشكل (30) من خلال قياس انخفاض الامتصاصية بمرور الوقت. تراوحت التراكيز المزيلة لتأثير 50 % من جذور DPPH بين **IC_{50}**= 0.00575 mg/µl في نبتة سكيكدة و **IC_{50}** = 0.041895 mg/µl في نبتة بجاية مقارنة بمضاد الأكسدة الاصطناعي **$IC50_{BHT}$**= 0.0238225 mg/µl.



HS: زيت نبتة مدينة سكيكدة. **BHT**: butylated hydroxytoluene

HB: زيت نبتة مدينة بجاية.

الشكل 30: النشاطية المضادة للأكسدة للزيتين الأساسين نبتة *Daucus setifolius*.

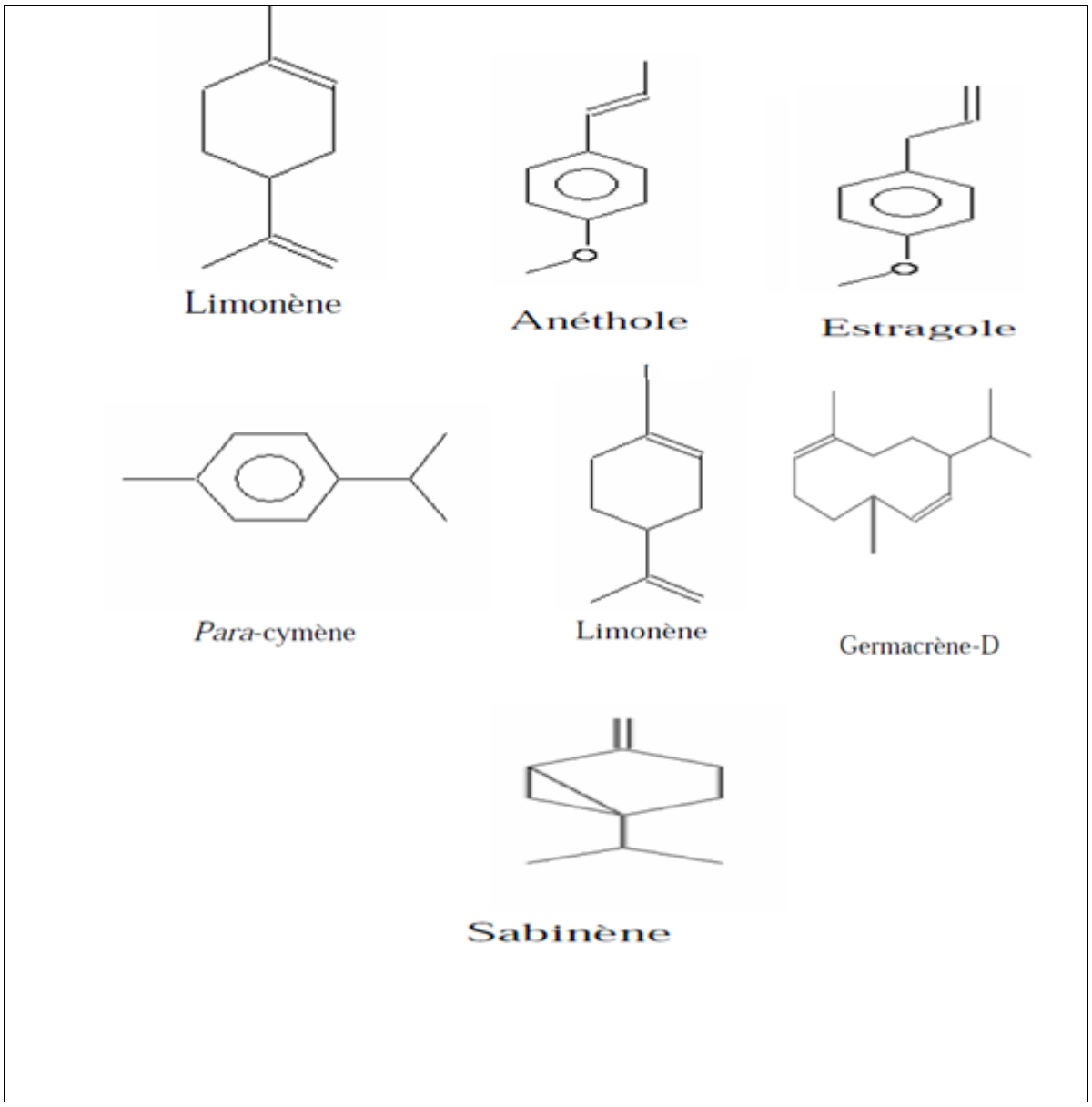
نلاحظ بأن زيت نبتة سكيكدة أزاح 50 % من الجذور الحرة لـ DPPH عند تركيز أقل من 0.01 mg/µl أي عند حجم أقل من 10 µL من الزيت الأساسي و هي قدرة جد فعالة مقارنة بمضاد الأكسدة المرجعي BHT، على عكس زيت نبتة بجاية التي أظهر نشاطية مضادة للأكسدة ضعيفة أزيحت فيها 50 % من الجذور الحرة لـ DPPH عند حجم 50 µL مقارنة بـ BHT.

ترتبط النشاطية المضادة للأكسدة للزيوت الأساسية بالمحتوى الفينولي، و ذلك من خلال تمرير ذرة الهدروجين المتواجدة في مجاميع الهيدروكسيل للمركب النشط إلى الجذر الحر و جعله أكثر ثباتا و كذلك بتركيز هذا المركب النشط.

في الواقع، تكون قدرة ارجاع الجذر DPPH بواسطة المجاميع الفينولية أكثر قوة مقارنة بالمجاميع غير الفينولية، نسبة إلى المضادة للأكسدة الاكثر إستعمالا.

يرجع إختلاف النشاطية المضادة للأكسدة للزيتين الأساسيين إلى عدة عوامل أساسية منها: نسبة المركبات الفينولية، عدد المجاميع الوظيفية المانحة للإلكترون، عدد مجاميع الهيدروكسيل، كذلك التأثير التعاوني بين مختلف المجاميع النشطة المكونة للزيت الأساسي (الشكل 31).

ترجع النشاطية العالية للزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من مدينة سكيكدة إلى احتوائه على نسبة معتبرة من الفينولات مقارنة مع زيت نبتة بجاية، حيث يحتوي تقريبا على نفس نسبتي المركبين α-terpineol و myrcene، بالإضافة إلى إحتوائه على الفينولين estragole (9.61 %)، camphene (0.58 %) و E-anethole (0.55 %) الغائبين في زيت نبتة بجاية. حيث تعود النشاطية المضادة للأكسدة للمركب الفينولي anethole، دون أن ننسى التأثير التعاوني للمركبات التربينية مثل *Para*-cymene، sabinene و limonene المتواجدة كمكونات أساسية في زيت نبتة *Monarda didyma* و التي مكنتها من إظهار نشاطية ضد تأكسدية كبيرة مقارنة بنشاطية زيت *Myrrhis odorata* الحاوي على anethole، limonene و estragole كمكونات أساسية (El Kalamouni و أخرون، 2009).



الشكل 31: بعض المركبات المساهمة في النشاطية المضادة للأكسدة لنبتة *Daucus setifolius*.

الخـــــــــاتمة

تهدف هذه الدراسة إلى معرفة التركيب الكيميائي و بعض الأنشطة البيولوجية للزيتين الأساسيين لنبتة *Daucus setifolius* المنتمية لعائلة Apiaceae، المتحصل عليها من المنطقتين الساحليتين سكيكدة و بجاية الواقعتين ببلاد الجزائر.

تم إستخلاص الزيتين الأساسيين من خلال طريقة التقطير المائي بإستعمال جهاز Clevenge. أجري تحليل الزيتين الأساسيين و معرفة تركيبهما الكيميائي بواسطة كروماتوغرفيا الطور الغازي المزاوجة مع مطياف الكتلة CPG/SM من طرف باحث في مخبر المواد الطبيعية و العطرية بجامعة Nice. بعدها إختبرنا النشاطية المضادة للميكروبات للزيتين بإستعمال تقنيتي الإنتشار عبر الأقراص و التبخير.

قدرت قيمة مردود الزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* التي تم جنيها من منطقة سكيكدة بـ 0.3 % **(ك/ك)**، بينما قيمة مردود زيت نبتة بجاية بـ 0.5 %. تعتبر هذه القيم منخفضة مقارنة مع مردود معظم أنواع هذا الجنس النباتي.

سمح تحليل الزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المجنية من منطقة سكيكدة بالتعرف على 13 مركب كيميائي للزيت الأساسي، و 10 مركبات كيميائية للزيت الأساسي المستخلص من نبتة بجاية، لوحظ بأن عدد المركبات الكيميائية المكونة لزيتي هذه النبتة قليلة جدا مقارنة بباقي أنواع جنس *Daucus*، تمثل هذه المركبات الكيميائية نسبة 97.09 % من زيت نبتة *Daucus setifolius* التي تم جنيها من منطقة سكيكدة و نسبة 97.02 % من زيت نفس النبتة النامية في منطقة بجاية.

المكون الأساسي لزيت نبتة سكيكدة هو sabinene بنسبة 37.65 %، بينما يحتل التربين β-pinene المرتبة الثانية في غالبية التركيب الكيميائي لزيت سكيكدة بنسبة 28.62 %، بينما يتواجد كل من α-thujene بـ 2.48%، α-pinene بـ 5.45 %، limonene بـ 2.73 %، camphene بـ 0.58 % و *Para*-cymene بـ 1.6 %، يتصدر estragole الفينولات من خلال النسبة (9.61 %) و α-terpineol بـ 3.54%، بينما يمثل كل من الفينول E-anethole نسبة 0.55 %، المركب السيسكتربيني Germacrene D 1.12 % و المركب الهيدروكربوني γ-terpinene 0.89 %.

بينما يحتل β-pinene غالبية التركيب الكيميائي لزيت نبتة بجاية بنسبة 41.1 %. أما ثاني مكون رئيسي في زيت هذه النبتة هو sabinene (38.36 %)، و تتمثل باقي المركبات في كل من α-thujene (2.09 %)، α-pinene (4.65 %)، limonene (1.52 %) و *Para*-cymene (0.83 %)، تتمثل الفينولات في المركبين α-terpineol (3.64 %) و myrcene (2.85 %)، أما باقي المركبات فهي المركب السيسكتربيني Germacrene D (0.43 %) و المركب الهيدروكربوني γ- terpinène (1.55 %).

تبين من خلال مقارنة نتائج التحليل الكيميائي للزيتين الأساسيين مع العديد من أنواع هذا الجنس التي تمت دراستها، أن هناك العديد من المركبات المشتركة كـ sabinene، β-pinene، α-thujene، α-pinene، limonene، ...إلخ و غير المشتركة كـ camphene، Estragole، *Para*-cymene، E-anethole و γ-terpinene الراجعة إلى عدة عوامل داخلية و خارجية.

أظهر الزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة بجاية فعالية واضحة تجاه السلالات البكتيرية المرجعية (الموجبة غرام و السالبة غرام على حد السواء) و الفطريات، عكس زيت *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة سكيكدة، الذي لم يبد أي تأثير بل قاومته هذه السلالات الميكروبية بكل سهولة، و ذلك راجع إلى إختلاف نسبة تواجد التربينات الأحادية في تركيب الزيتين الأساسيين و التأثير المعرقل لفعالية هذه المواد النشطة من طرف مركبات أخرى متواجدة ضمن الزيتين كـ Estragole، E-anethole و Camphene.

أثر زيت نبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة بجاية على كل السلالات الميكروبية عدا السلالتين الموجبتي غرام *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 و *Enterococus faecalis* ATCC 49452 اللذان أبديا مقاومة واضحة، لأن البكتيريا الموجبة غرام أكثر حساسية من البكتيريا السالبة غرام و ذلك راجع إلى القدرة التأثيرية للزيت الأساسي على الجدار البكتيري الذي يتكون من غشاء خلوي واحد و طبقة رقيقة من البيبتيدوغليكان.

فيما أظهرت كل من السلالات البكتيرية التالية " *Escherichia coli* ATCC 25922، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923، *Staphylococcus*

"*Listeria inoura* Clip 74915 و *aureus* résistante à la methycilline (SARM) ATCC 43300 حساسية ضعيفة ترجمت من خلال أقطار التثبيط التي تراوحت بين 7 و 11 مم عند أعلى تركيز 1/2 (ح/ح) مقارنة بمجال التثبيط (22-28 مم) التي أحدثه المضاد الحيوي Gentamicin، بينما أظهرت كل من *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 و *Staphylococcus aureus* résistante à la methycilline (SARM) ATCC 43300 مقاومة واضحة مع باقي التراكيز (1/5-1/10)، نفس الشيء لوحظ في *Klebseilla pneumoniae (urinate)* E47 (résistante à la quinoline)، *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603، *Bacillus subtilis* ATCC 6633 و *Escherichia coli* ATCC 25922.

أبدت السلالات البكتيرية *Klebseilla pneumoniae (urinate)* E47 (résistante à la quinoline)، *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 و *Bacillus subtilis* ATCC 6633 حساسية متوسطة تجاه زيت نبتة *Daucus setifolius* لبجاية بأقطار تثبيط تراوحت بين 12 و 13 مم عند أعلى تركيز 1/2 (ح/ح)، على عكس البكتيريا *Acinetobacter baumanip* ATCC 19606 التي أظهرت حساسية كبيرة تجاه هذا الزيت عبرت عنها بأقطار تثبيط وصلت إلى 23 مم عند أعلى تركيز 1/2 (ح/ح) بينما أبدت مقاومة للتراكيز الدنيا الأخرى.

كمنت فعالية زيتي نبتة بجاية و سكيكدة في نشاطيتهما المضادة للفطريات مقارنة بالمضادات الفطرية، من خلال الحساسية الكبيرة التي أظهرتها الخميرة *Candida albicans* تجاه الزيت نبتة بجاية و مع كل التراكيز حيث وصلت أقطار تثبيط الزيت لنمو الخميرة إلى 24 مم مع أكبر تركيز (1/2)، لكنها لم تتجاوز 13 مم مع أكبر تركيز (1/2) و قاومت التركيزين الآخرين لزيت نبتة سكيكدة، بينما كانت حساسية *Aspergillus flavus* للزيتين ضعيفة ممثلة بأقطار تثبيط متراوحة فيما بين 10 و 11 مم، غير أن هذه الحساسية انعدمت عند التركيزين 1/5 و 1/10 في زيت نبتة سكيكدة.

أبدى الفطر *Aspergillus niger* مقاومة واضحة لزيت نبتة سكيكدة مع حساسية ضعيفة لزيت نبتة بجاية و المترجمة بأقطار مناطق التثبيط المتراوحة بين 11 و 8 مم .

في حين سمحت تقنية التبخير بتقدير القيم الدنيا المثبطة للزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* منطقة بجاية بـ: 10 مكرولتر من الزيت ضد كل من *Escherichia coli* و *Staphylococcus* aureus و 20 مكرولتر من الزيت ضد *Pseudomonas aeruginosa*.

أعطى التأثير البخاري للزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من بجاية نتائج جيدة ضد سبع سلالات ميكروبية من بين أربعة عشر سلالة مختبرة (*Staphylococcus aureus* résistante à la methycilline (SARM) ATCC 43300، *Listeria inoura* Clip 74915، *Klebseilla pneumoniae (urinate)* E47 (résistante à la quinoline)، *Bacillus subtilis* ATCC 6633، *Enterococcus faecalis* ATCC 49452، *Acinetobacter baumanip* ATCC 19606 و *Lysteria monocytogenes* ATCC 15313)، بكميات تثبيطية دنيا مختلفة حسب نوع السلالة الميكروبية. عكس زيت نبتة سكيكدة الذي أعطى حساسية متوسطة أقل مما ظهرت في زيت نبتة بجاية مع ثلاث سلالات ميكروبية (*Escherichia coli* ATCC 25922، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و *Aspergillus niger*) من أصل خمس سلالات مختبرة.

قدرت الكمية الدنيا المثبطة لزيتي *Daucus setifolius* على *Escherichia coli* بـ 10 مكرولتر، بينما انطلق تأثير زيت نبتة بجاية مع *Staphylococcus aureus* ابتداءا من 10 مكرولتر (22 مم) أما في زيت نبتة سكيكدة ابتداءا من 20 مكرولتر (29 مم)، في حين لم يبد بخار زيت نبتة سكيكدة أية فعالية مع *Pseudomonas aeruginosa* على عكس بخار زيت نبتة بجاية الذي أظهر فعالية واضحة إنطلاقا من 20 مكرولتر بمنطقة تثبيط مقدرة بـ 20 مم.

أبدت سبع السلالات البكتيرية التالية مقاومتها لمختلف كميات زيت نبتة بجاية: *Staphylococcus aureus* résistante à la methycilline (SARM) ATCC 43300"، *Listeria inoura* Clip 74915)، *Klebseilla pneumoniae (urinate)* E47 (résistante à la quinoline)، *Bacillus subtilis* ATCC 6633، *Enterococus faecalis* ATCC 49452، *Acinetobacter baumanip* ATCC 19606 و *Lysteria monocytogenes* ATCC 15313"، على عكس باقي السلالات البكتيرية *Escherichia coli* ATCC 25922، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 و *Staphylococcus aureus* ATCC 25923،

بالإضافة إلى *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 التي أظهرت حساسية واضحة تجاه كل كميات هذا الزيت الأساسي ، بأقطار تثبيطية تراوحت بين 25 مم و 70 مم.

أظهر بخار زيت *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقة بجاية فعالية كبيرة تجاه الخميرة *Candida albucans* و الفطر *Aspergillus niger* إنطلاقا من 10 مكرولتر بأقطار تثبيطية كالتالي: 46 مم و 35 مم على التوالي، و مع *Aspergillus flavus* إنطلاقا من 20 مكرولتر بقطر يقدر ب 11 مم، بينما أبدى الفطر *Aspergillus niger* حساسية كبيرة تجاه زيت نبتة سكيكدة انطلاقا من 10 مكرولتر بأقطار تثبيطية مقدرة بـ 31 مم .

درست النشاطية المضادة للأكسدة للزيتين الأساسيين لنبتة *Daucus setifolius* عن طريق اختبار الجذر الحر الاصطناعي DPPH و مضاد الأكسدة المرجعي BHT. وضحت نتائج القدرة المضادة للأكسدة للزيتين الأساسيين من خلال قياس انخفاض الامتصاصية أثناء مدة التفاعل الخاصة بالاختبار (30 دقيقة). تراوحت التراكيز المزيلة لتأثير 50 % من جذور DPPH بين $\mathbf{IC_{50}}$= 0.00575 mg/µl في زيت نبتة سكيكدة و $\mathbf{IC_{50}}$= 0.041895 mg/µl في زيت نبتة بجاية مقارنة بمضاد الأكسدة الاصطناعي المرجعي $\mathbf{IC_{50\ BHT}}$= 0.0238225 mg/µl.

نستخلص بأن الزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من بجاية تملك نشاطية مهمة ضد الميكروبات الممرضة المختبرة، و نشاطية مضادة للأكسدة ضعيفة مقارنة بمضاد الأكسدة المرجعي. على عكس الزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من سكيكدة التي أظهرت تأثير ضعيف و أحيانا منعدم تجاه الميكروبات المختبرة، بينما فعاليتها المضادة للأكسدة كانت واضحة مقارنة بمضاد الأكسدة المرجعي، و ذلك أن و زيت نبتة بجاية غني بالتربينات الأحادية المسؤولة عن النشاطية المضادة للميكروبات مقارنة بزيت نبتة سكيكدة الذي فيه نسبة أقل من هذه المواد الفعالة بالإضافة إلى التأثير المعرقل لبعض التراكيب الأخرى الموجودة في الزيت على هذه النشاطية ضد الميكروبية، بينما تعود الفعالية المضادة للأكسدة في زيت نبتة سكيكدة إلى وجود الفينولات الغنية بمجاميع الهيدروكسيل، وغيابها في زيت نبتة بجاية.

تمكنا من خلال هذه الدراسة من تحديد الكميات الدنيا المثبطة لهذين الزيتين، و دراسة النشاطية ضد الميكروبية للمركبات الطيارة للزيتين ضد السلالات الميكروبية لاستعمالها كمطهرات للهواء الملوث في المستشفيات أو قناة التهوية للعمارات. كما يمكن استعمالها في الصناعات الخاصة بالمزروعات الغذائية كمواد إضافية لحفظ الأغذية و حل بديل للمواد كيميائية، كما نطمح مستقبلا إلى دراسة جميع المستقلبات الثانوية المتواجدة في النبتة، و تنويع تقنيات الاستخلاص و التحليل، مع التطرق إلى أنشطة بيولوجية أخرى كالنشاطية المضادة للالتهاب، النشاطية السمية و تأثيرها على الجهاز الهضمي و العصبي...إلخ.

قـــــــــائمة المراجـــــــع

Afssaps (2004)- Comité de coordination des vigilances des produits de santé. Bilan: principaux faits marquants des vigilances sanitaires: http://afssaps.sante.fr/pdf/5/bilan05.pdf., (consulté le 10/10/2011)

Ahmed A. A, Bishr M. M, El-Shanawany M. A, Attia E. Z., Ross S. A, P. W Pare (2005)- Rare trisubstituted sesquiterpenes daucanes from thewild *Daucus carota*. *Photochem*, **66**: 1680-1684.

Amarti F, Satrani B, Ghanmi M, Farah A, Aafi, Aarab L, Chaouch M. E. A. A (2011)- Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. *Biotechnol Agron A Soc Env*, **14**: 141-148.

André R (1998)- La maladie de parkinson. Ed Masson. Paris, P: 16-19.

Atawodi S. E (2005)- Antioxidant potential of African medicinal plants. *Af J Biotechnol*, **4**: 128- 133.

Audigie C. L, Dupon G et Zonsgain F (1995)- Principes des méthodes d'analyse biochimique. T1. 2ème éd Doin. Paris, p 44.

Aurousseau B (2002)- Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod Anim*, **15**: 67- 82.

Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M (2008)- Biological effects of essential oils–A review. *Food Chem Toxicol*, **46**: 446–475.

Baranska M, Schulz H, Kruger H, Quilitzsch R (2005)- Chemotaxonomy of aromatic plants of the genus *origanum* via vibrational spectroscopy. *Anal Bianal Chem*, **381**: 1241-1247.

Baser K. H, Tümen G, Tabanca N and Demirci F (2001)- Composition and antibacterial activity of the essential oils from *Satureja wie demanniana* (Lallem). Velen Z Naturforsch, **56c**: 731-738.

Baudoux D (2000)- L'aromathérapie, se soigner par les huiles essentielles. Editions Atlantica Anglet, Biarritz, France, P: 224.

Beckman K. B and Ames B. N (1998)- The free radical theory of aging matures. Physiol Rev, **78**: 574-581.

Belaiche P (1979)- Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1: l'aromatogramme. Ed. Maloine. Paris.

Bencheikh H (2005)- Contribution à l'étude de la composition, de l'activité antimicrobienne et de la cytotoxicité des huiles essentielles de *Thymus fontanesii* et de *Foeniculum vulgare*. Mémoire de Magistère. Département de biologie. Faculté des sciences. UFA de Sétif.

Benjilali B (2004)- Extraction des plantes aromatiques et médicinales, cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles: de la plante à la commercialisation. Edition. Rabat, p:17-59.

Benjilali B, Tantaoui-Elaraki A, Ismaïli-Alaoui M et Ayadi A (1986)- Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. Plantes médicinales et phytothérapie. **20**: 155-167.

Bonnefond-Rousselot D, Peynet J, Beaudeux J. L, Terond P, Legrand A et Delattre J (2002) - Stress oxydant, fonction vasculaire et athérosclérose. *J Nutr clin mét*, **16**: 260- 267.

Boukhatem M. N, Hamaidi M. S, Saidi F, Hakim Y (2010)- Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (Pelargonium graveolens L) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). Revue « *Nat Technol* ». N° 03. P: 37-45.

Bouzouita N, Kachouri F, Ben Halima M et Chaabouni M. M (2008)- Composition Chimique et Activités Antioxydante, Antimicrobienne et Insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. Journal de la Société Chimique de Tunisie. **10**: 119- 125.

Boyd B, Ford C, Koepke Michael C, Gary K, Horn E, McAnalley S et McAnalley B (2003)- Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. Glyco Science & Nutrition, **4**:7-14.

Bruneton J (1999)- Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales, 3ème Edition, Ed Tec et Doc, Paris, P: 472-670.

Burt S. A and Reinders R (2003)- Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. Letters in Applied Microbiology, **36**: 162-167.

Calviño C. I and Downie S. R (2007)- Circumscription and phylogeny of Apiaceae sub family. Molecular phylo genetic and Evolution, **44**: 175–191.

Caude M et Jardy A (1996)- Méthodes chromatographiques. Dossier P 1445. Base documentaire: Techniques d'analyse.

Chiu H. H, Chiang H. M, Lo C. C, Chen C. Y and Chiang H. L (2009)- Constituents of volatile organic compounds of evaporating essential oil. Atmospheric Environment, **43**: 5743–5749.

Collin G (2000)- Quelques techniques d'extraction de produits naturels. Info-essences, **13**: 4- 5.

Cooke B and Ernst E (2000)- Aromatherapy: a systematic review. Brit J Gen Pract, **50**: 493-496.

Cox S. D, Mann C.M, Markham J. L, Bell H.C. Gustafson J.E, Warmington J. R and Wyllie S.G (2000)- The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J Appl Microbiol*, **88**: 170–175.

Cu J. Q (1990)- Extraction de compositions odorantes végétales par divers solvants organiques. Thèse de l'Institut Nationale Polytechnique. Toulouse. France.

Daferea J. D, Ziogas B. N and Polissiou M. G (2002)- The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea, Fusarium sp.* and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis.* Crop protection, **22**: 39- 44.

Danute M and Ona N (2004)- Sabinene Chemotype of essential oil of seeds of *Daucus carota L. ssp. Carota* Growing wild in Lithuania. *J essen oil research*.

Dapkevicius A, Venskutonis R, Van Beek T. A and Linssen J. P. H (1998)- Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *J Science Food Agr*, **77**: 140-146.

De Carvalho C and Da Fonseca M. M. R. Carvone (2005)- Why and how should one bother to produce this terpene. *Food Chem*, **95**: 413- 422.

De Moffarts B, Kirschvink N, Pincemail J et Lekeux P (2005)- Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Anim Méd Vétér*, **149**: 1- 9.

Deans S. G and Ritchie G (1987)- Antibacterial properties of plant essential oils. *Inter J Food Microbiol*, **5**: 165- 180.

Deba F, Xuan T.D, Yasuda M and Tawata S (2008)- Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* L. var. *Radiata. Food Control*. **19**: 346-352.

Desjobert J. M, Bianchini A, Tommy P, Costa J et Bernardini A. F (1997)- Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis*, **25**: 13- 16.

Djarri L, Medjroubi K, Akkal, Elomri A Seguin E and Verité P (2006)- Composition of the essential oil of aerial parts of an endemic species of the Apiaceae of Algeria, *Daucus reboudii* Coss. Flavour Frag J, **21**: 647- 649.

Ding H. y, Wu Y. C and Ching, H (2000)- Phytochemical and Pharmacological Studies on Chinese Changzhu. *J Chin Chem Soc*, **47**: 561-566.

Dorman H. J. D and Deans H. J. D (2000)- Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol*, **88**: 308– 316.

Duke J (2007)- Phytochemical and ethnobotanical database. USDA- ARS- NGRI, Belsville Agricultural research center (http://www.Ars-grin.gov/duke/) (consulté le 08/09/2011)

Duraffourd C, D'hervicourt L et Lapraz J. C (1990)- Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris.

El Kalamouni C, Raynaud C and Talou T (2009)- Screening of antioxidant and antimicrobial activities of Midi-Pyrenées aromatic plants. *Chem Technol*, **3**: 69.

El Kolli M (2008)- Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Athemis pedunculata* Desf. d'*Athemis punctata* Vahl. et de *Daucus crinitus* Desf. Mémoire de Magistère, Département de biologie. Faculté des sciences. UFA de Sétif.

Elberling J and Skov P. S (2007)- Increased release of histamine in patients with respiratory symptoms related to perfume. Clin Exp Allergy Nov, **37**: 1676-80.

Favier A (2003)- Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, **269-270**: 108- 115.

Flamini G, Cioni P L, Maccioni S and Baldini R (2007)- Composition of the essential oil of *Daucus gingidium L.* ssp. *Gingidium.* Food Chem, **103**: 1237- 1240.

France-Ida J (1996)- Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. Info-essence. **3**: 5- 6.

Franchomme P, Jollois R et Pénoël D (1990)- L'aromathérapie exactement. Roger Jollois Editeur, France, p: 44-48.

Fu H. w, Zhang L, Yi T, Feng Y. L. and Tian J. k (2010)- Two new guaiane-type sesquiterpenoids from the fruits of *Daucus carota* L. Fitoterapia, **81**: 443–446.

Glisic S. B, Misic D. R, Stamenic M. D, Zizovic I. T, Asanin R. M and Skala D. U (2007)- Supercritical carbon dioxide extraction of carrot fruit essential oil: Chemical composition and antimicrobial activity. *Food Chem.* **105**: 346-352.

Gonny M, Bradesi P and Casanova J (2004)- Identification of the components of the essential oil from wild Corsican *Daucus carota* L. using 13C-NMR spectroscopy. Flavour Fragr J, **19**: 424– 433.

Griffin S. G, Wyllie S. G, Markham J. L, Leach D. N (1999)- The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour Fragr J*, **14**: 322-323.

Groussard C (2006)- Stress oxidative et exercice anaérobie. Oxidative stress and anaerobic exercise. *Science &Sports*. **21**: 201- 209.

Hadi M (2004)- La quercétine et ses dévivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres: études et applications thérapeutiques. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur,, Domaine: Phamacochimie. P: 155.

Halliwell B, and Chirico S (1993)- Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr*, **57**: 715S-724S.

Halliwell B, Gutteridge J. M and Cross C. E (1992)- Free radicals, antioxidants, and human diseases: where are we now?. *J Lab Clin Med*, **119**: 598-620.

Hammer K. A, Carson C.F and Riley T. V (1999)- Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol*, **86**: 985– 990.

Hanbali F, Akssira M, Ezoubeiri A, Gadhi C. A, Mellouki F, Benherraf A, Blazquez A. M and Boira A (2005)- Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Pulicarian odora* L. *J Ethnopharmacol*, **99**: 399– 401.

Hawkins C. L, Brown B. E and Davies M. J (2002)- Hypochlorite and hypobromite- mediate d radical formation and its role in cell lysis. *Arch Biochem Biophys*, **395**: 137-145 .

Hayakawa R (1987)- Depigmented contact dermatitis due to incense. Contact Dermatitis, **16**: 272-274.

Hemant R, Jadhav and Bhutani K. K (2002)- Antioxidant Properties of Indian Medicinal Plants. *Phytotherapy research Phytother Res*, **16**: 771- 773.

Hernandez Ochoa L. R (2005)- Substitution de solvants et matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de doctorat. Institut national polytechnique de Toulouse.

Herz W (1977)- in: Heywood V. H, Harbone J. B, Turner B.L (Eds). « The biology and chemistry of the compositae ». *Academic Press*, London. P: 337. Chapter 11.

Hill R. A (2002)- dictionary of natural products on CD-ROM. Ed. Chapman & Hall. CRC, New york. 10:2.

Hiromu K, Kenichi S and Mitsuo M (1989)- Composition of essential oil of Kakushitsu (*Daucus carota* L and *Carpesium abrotanoides* L). Nippon Nogei Kagaku Kaishi, **63**: 185- 188.

Holley R. A and Patel D (2005)- Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiol*, **22**: 273–292.

Hulin V, Mathot A. G, Mafart P et Dufossé L (1998)- Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes. Sciences des aliments. **18**: 563-582.

Hyun J, Hyun J. K and Hyang S. C (2007)- Quntitative sructure-activity relationship (QSAR) for neuroprotective activity of terpenoids. Life sciences, **80**: 835-841.

Inouye S, Tsuruoka, Watanabe M, Takeo K, Akao M, Nishiyama Y and Yamaguchi H (1998) - Inhibitory effect of essential oils on apical growth of *Aspergillus fumigatus* by vapour contact. *Mycoses*, **43**: 17-23.

Kim N. S and Lee D. S (2002)- Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from Lavandula species by gas chromatography mass spectrometry. *J Chromatography A*, **982**: 31-47.

Lagunez R (2006)- Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteurs chauffe par inductio thermomagnetique directe. Thèse de doctorat. L'institut national polytechnique de Toulouse, France.

Lahlou M (2004)- "Methods to study phytochemistry and bio activity of essential oils" . *Phytotherapy Research*, **18**: 435-448.

Lamarti A, Badoc A, Deffieux G, Carde J. P (1994)- Biogénèse des monoterpènes: II - La chaîne isoprénique. *Bull Soc Pharm*, Bordeaux, **133**: 79- 99.

Laouer H (2004)- Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa. Composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Ammoides pusilla* et de *Magydaris pastinacea*. Thèse de Doctorat d'état. Département de Biologie. Faculté des sciences. UFA de Sétif.

Lee B. H, Lee S. E. Annis P. C, Pratt S. J. B. S Park and Tumaalii F (2002)- Fumigant Toxicity of Essential Oils and Monoterpenes Against the Red Flour Beetle, *Tribolium castaneum. Herbst J Asia-Pacific Entomol*, **5**: 237- 240.

Legrand G (1993)- Manuel de préparateur en Pharmacie. Masson. Paris.

Maach A. E. T et Jemali A (1986)- Etude des caractéristiques physico-chimiques des HE de deux plantes aromatiques cultivées au Maroc: Menthe Naa Naa Abdi. Coriandre. IAV Hassan II. Rabat. Maroc.

Mann C. M, Cox S. D and Markham J. L (2000)- The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributors to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Tea tree oil). *Lett Appl Microbiol*, **30**: 294-297.

Mansour E. S. S, Maatooq G. T, Khalil A.T, Marwan E. S. M, and Sallam A. A (2004)- Essential Oil of *Daucus glaber* Forssk. *Z Naturforsch*, **59c**: 373-378.

Martini MC and Seiller M (1999)- Actifs et additifs en cosmétologie. Procédés d'extraction des huiles essentielles. Editions Tec & Doc. P: 563.

Massion P, Preise R. J. C et Balligand J. L (2002)- Les espèces réactives de l'azote: bénéfiques ou délétères. Reactive nitrogen species: deleterious or not. *Nutr clin mét*, **16**: 248- 252.

Masuda T, Yonemori S, Oyama Y, Takeda Y, Tanaka T and Andoh T (1999)- Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. *J Agr Food Chem*, **47**: 1749-1754.

Mavi A, Terzi Z, Zgen U, Yildirim A¸ COS M and Kun (2004)- Antioxidant Properties of Some Medicinal Plants: *Prangos ferulacea* (Apiaceae), *Sedum sempervivoides* (Crassulaceae), *Malva neglecta* (Malvaceae), *Cruciata taurica* (Rubiaceae), *Rosa pimpinellifolia* (Rosaceae), *Galium verum* subsp. *verum* (Rubiaceae), *Urtica dioica* (Urticaceae). *Biol Pharm Bull*, **27**: 702-705.

Miladinovic D and Miladinovic I. J (2001)- Antimicrobial activity of essential oil of Sage from Serbia. *Physics Chem Technol*, **2**: 97-100.

Mohammedi Z (2006)- Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de Magistère. Département de biologie. Faculté des sciences. UABB de Tlemcen.

Mojay G (2004)- The aromatic and acupressure treatment of common musculoskeletal disorders: an oriental medicine approach. *Inter J Aromatherapy*, **14**: 81-88.

Moreau F (1960)- "Botanique: Procaryotes (cyanophites et bactéries). Eucaryotes (algues, champignons et végétaux supérieurs). La plante dans ses rapports avec le milieu". Ed Paris. Gallimard.

Moleyar V and Narassimham P (1992)- Antibacterial activity of essential oil components. *Inter J Food Microbiol*, **16**: 337-342.

Molyneux P (2004)- The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol*, 26: 211-219.

Moura L. S, Carvalho Jr. R. N, Stefanini M. B, Ming L. C, Meireles M. A. A (2005)- Supercritical fluid extraction from fennel (*Foeniculum vulgare*): global yield, composition and kinetic data. The Journal of Supercritical Fluids, Article in press.

Murakami A, Tanaka T, Lee J. Y, Surch Y. J, Kim H. W, Kawabata K, Nakamura Y, Jiwajinda S and Ohigashi H (2004)- Zerumbone, Asesquiterpene en subtropical ginger, suppresses skin tumor initiation and promotion stages in ICR mice. *Inter J cancer*, **110**: 481-490.

Niki E (1992)- Free radical pathology and antioxidants: overview. *J Nutr Sci Vitaminol*, Spec N^{o}: 538-540.

Niki E (2001)- Free Radicals in the 1900's: from *in vitro* to *in vivo*. *Free Radical Research*, **33**: 693-704.

Ohno T, Kita M, Yamaoka Y, Imamura S, Yamamato T, Mitsufuji S, Kodama T, Kashima K and Imanishi J (2003)- Antimicrobial activity of essential oils against *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*, **8**: 207- 215.

Oussalah M, Caillet S, Saucier L and Lacroix M (2006)- Inhibitory effects of selected plant essential oils on *Pseudomonas putida* growth. a *bacter spoil Meat Science*, **73**: 236- 244.

Padua de L. S, Bunyapraphatsara N and Lemmens R. H. M. J (1999)- Plant Resources of South-East Asia. Medicinal and Poisonous Plants 1. Backhuys Publishers. Leiden. The Netherlands. N^{o}: 12.

Paré J (1997)- Procédé assisté par micro-ondes. Info-essences. Bulletin sur les huiles essentielles. **4**: 4.

Pattnaik S, Subramanyam V. R, Bapaji M and Kole C. R (1997)- Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbios*, **89**: 39- 46.

Perry J.J, Staley J.T, et Lory S (2004)- Microbiologie. Cours et questions de revision. Ed. Dunod.

Philippe G et Didier P (2010)- Huiles essentielles guide d'utilisation. Ed Ravintsara.

Pibiri MC (2005)- Thèse de sciences: Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Ecole polytechnique fédérale de Lausanne. Suisse. P: 161.

Pincemail J et Defraigne J. O (2004)- Les antioxydants: un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène, Symposium « antioxydant et alimentation » institut Danone. 23/10/2004.

Platzer N (2002)- Application de la RMN à la détermination des structures. Base Documentaire. Techniques d'analyse. Dossier: P: 1092.

Pollien P, Ott A, Fay L. B, Maignial L et Chaintreau A (1998)- "Simultaneous distillation-extraction: preparative recovery of volatiles under mild conditions in batch or continuous operations". Flav fragr J, **13**: 413- 423.

Poullain C, Girard-valenciennes E, Smadja J (2004)- Plants reunion island: evaluation of their radical scavenging and antioxidants activities. *J ethnopharmacol*, **95**: 19-26.

Pradeau D et Dauphin C (2007)- Chromatographie planaire: applications. Dossier P1476. Base documentaire: Techniques d'analyse.

Que F, Linchun M and Xin P (2006)- Antioxidant activities of five chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. *Foud research inter*, **39**: 581-587.

Quezel P et Santa S (1962)- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions. désertiques méridionales. Tome: I. Edition CNRS. Paris.

Radulovic N, Dord-evic N and Stojanovic–Radic Z (2011)- Volatiles of the Balkan endemic *Daucus guttatus* ssp. *zahariadii* and cultivated and wild-growing *D. carota*- A comparison study *Daucus carota*. *Food Chem*, **125**: 35-43.

Ramdani M, Rached O, Laouer H, El Kolli M and Lograda T (2007)- Chemical composition and antimicrobial activity of *Cupressus dupreziana* A. *Cam Nat Pro Com*, **2**: 945- 949.

Rennes © Unesco (1960)- les plantes médicinales des régions arides. L'Organisation des Nations Unies pour l'éducation, la science et la culture. place de Fontenoy. Imprimeries Oberthur, Paris-7^{e}.

Roop K. K, Onkar S. S and Akhileshwar S (1989)- The essential oil from leaves of *Daucus carota* Linn var. *sativa*. *Frag Flav*, **11**: 173- 6.

Rouessac F et Rouessac A (2004)- Analyse chimique, méthodes et techniques instrumentales modernes, méthodes séparatives. 6ème Ed. Dunod. Paris. P: 102.

Sáenz laín (1981)- Research on *Daucus* L. (Umbelliferae). Actas III Congr. ÓPTIMA. Anales Jard Bot, Madrid. **37**: 481-534.

Staniszewska M, Kula J, Wieczorkiewicz M and Kusewicz D (2005)- Essential Oils of Wild and Cultivated Carrots - the chemical composition and antimicrobial activity. *J essent oil res*, **17**: 579-583.

Satrani B, Ghanmi M, Farah A, Aafi A, Fougrach H, Bourkhiss B, Bousta D and Talbi M (2007)- Composition Chimique et l'activité Antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*. *Bull Soc Pharm Bordeaux*, **146**: 85-96.

Scheffer J. J. C (1996)- Various methods for the isolation of essential oils. *Phytother res*, **10**: S6-S7.

Schulz H, Schrader B, Quilitzsch R, Pfeffer S, Kruger H (2003)- Rapid classification of basil chemotypes by various vibrational spectroscopy methods. *J Agric Food Chem*, **51**: 2475.

Schwedt G (1993)- Méthodes d'analyse. Ed Flammarion, Paris.

Sevanian A, Nordenbr, Kim E. K, Ernester L and Hochstein P (1990)- Microsomal lipid peroxidation: The role of NADPH-cytochrome P450 reductase and cytochrome P450. *Free Radic Biol Med*, **8**: 145- 152.

Shrififar F, Yassa N and Shafiee A (2003)- Antioxidant Activity of *Otostegia persica* (Labiatae) and its constituents. *Iran J Pharmaceut Res*, 235- 239.

Siddhuraju P and Becker K (2003)- Antioxidant Properties of Various Solvent Extracts of Total Phenolic Constituents from Three Different Agroclimatic Origins of Drumstick Tree (*Moringa oleifera* Lam.) Leaves 2144. *J Agric Food Chem*, **51**: 2144- 2155.

Suppakul P , Miltz J , Sonneveld K et Bigger S. W (2003)- Antimicrobial properties of Basil and its possible application in food packaging. *J Agric Food Chem*, **51**: 3197-3207.

Svoboda K. P and Hampson J. B (1999)- Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plant: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department. SAC Auchincruive. Ayr. Scotland. UK.

Tamer F. M. D (2003)- Free Rdical, Types, Sources and Damaging Reactions. Inter Med Artic, http: www. Doctorslounge.com/prinmary/articles/freeradicals/index.htm. 08/09/2011).

Tavares A. C, Gonc M. J¸ alves, Cavaleiro C, Cruz M. T, Lopes M. C, Canhoto J and Salgueiro L. R (2008)- Essential oil of *Daucus carota* subsp. *halophilus*: Composition, antifungal activity and cytotoxicity. *J Ethnopharmacol*, **119**: 129-134.

Teisseire P. J (1991)- Chimie de substances odorantes. Tec et Doc. Lavoisier. Paris, p: 9.

Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L and Hawkins Byrne D (2006)- Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J Food Comp Anal*, **19**: 669-675.

Trivedi P. C (2009)- Medicinal plants: utilization and conservation. 2rd ED. Jaipur-302 004, India.

Unlu G. V, Candan F, Sokmen A, Daferea D, Polissio M, Sökmen M, Donnez E and Tepe B (2003)- Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* fisch. et Mey. Var pectinatus (Lamiaceae). *J Agric Food Chem*, **51**: 63- 67.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M. T. D and Mazur M (2007)- Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human diseases. *Inter J Biochem Cell Biol*, **39**: 44- 48.

Valnet J (2005)- L'aromathérapie. Ed Maloine S. A.

Vansant G (2004)- Radicaux libres et antioxydants : principes de base. symposium « Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.

Velickovié A. S, Ristié M. S, Velikovié D. T, Iliéand S. N, Mitié N. D (2003)- The possibilities of the application of some species of sage (*Salvia* L.) as auxiliaries in the treatment of some diseases. *J Serb Chem Soc*, **68**: 435-445.

Viaud H (1993)- Les huiles essentielles, qualité distillation. GNOMA. Revue électronique. www.nature-helps.com/France/viaud2.htm. (consultée le 08/07/2011)

Wang L and Weller C (2006)- Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Trends in *Food Science & Technology*, 1-13.

Wichtel M et Anton R (1999)- Plantes thérapeutiques: tradition, pratiques officinales, science et thérapeutiques. Ed Tec et Doc , Paris.

Wichtl M et Anton R (2003)- Plantes thérapeutiques, 2ème Edition. Lavoisier Tec et Doc. Paris.

Willem D (2001)- Les Huiles Essentielles : Médecine d'Avenir. Edition du Dauphin, Paris.

Zhou J, Gong X, Downie S. R and Peng H (2009)- Towards a more robust molecular phylogeny of Chinese Apiaceae subfamily Apioideae: Additional evidence from nr DNA ITS and cp DNA intron (rpl16 andrps16) sequences. *Molec Phylogen Evol*, **53**: 56-68.

المراجع باللغة العربية

أبو زيد ن. ح (2000)- الزيوت الطيارة. الدار العربية للنشر و التوزيع، القاهرة، ص 256.

هيكل م. أ و عمر ع. ع (1993)- النباتات الطبية و العطرية. كيمياؤها، إنتاجها و فوائدها. منشاة المعارف بالإسكندرية.

:الملحق 1

الأوســـــاط الزراعـــــــية

:Muller Hinton agar

300 g..Infusion de viande de boeuf déshydraté -

17.5 g..Hydrolysat de caséine -

5 g..Amidon de maïs -

13 g..Agar Agar -

1000 ml..Eau distillée -

:MH agar additionné de sang (gélose au sang)

300 g...……Infusion de viande de boeuf désh -

17.5 g..Hydrolysat de caséine -

1.5 g……………………………………………………………...Amidon de maïs -

% 5 à 2……………………………………………………Sang de cheval lysé -

13 g...Agar Agar -

1000 ml...Eau distillée -

:Bouillon nutritive

5 g …………………………..………………………………………………Peptone -

1 g ……………………….……..……………………………………Extrait de viande -

2 g. …………………………………..…………………………........Extrait de levure -

5 g.…………………………………...Chlorure de Sodium -

1000 ml………………...………………………….…………………… Eau distillée -

:Sabouraud simple

10 g.…………………………………………………………………..……. Peptone -

20 g.…..……..………………………………………………………........Gélose -

20 g ……...…………………………………………………….……......Glucose -

1000 ml …………..………………………..……………………………...Eau distillée -

الملحق 2:

حمـــولة أقراص المضادات الحيــــــوية

حمولة القــــرص (µg)	رمـــــــــزه	المضاد الحيــــوي
30µg	(NA, 8A3262, Bio-Rad).	Nalidixic Acid
300µg	(FT, 8A3262, Bio-Rad).	Nitrofurantoin
110µg	(TZP110, CTO725BOxoid).	Piperacillintazobactam
30µg	(VA, CTOO58B, Oxoid).	Vancomycin
30µg	(K, 3J2093, Bio-Rad).	Kanamycin
10µg	(IMP, OK3214, Bio-Rad).	Imipenem
15µg	(E15, CTOO20B, Oxoid).	Erythromycin
30µg	(CZ, OJ3164, Bio-Rad).	Cefazolin
30µg	(CAZ, OK3241, Bio-Rad).	Ceftazidime
30µg	(FOX, OK3178, Bio-Rad).	Cefoxitin
1µg	(OX1, 7M3080, Bio-Rad).	Oxacillin
10µg	(AM, OK3430, Bio-Rad).	Ampicillin
20/10µg	(AMC, OK3526, Bio-Rad).	Amoxycillin+Clavulanic Acid
30µg	(DO30, CTOO18B, Oxoid).	Doxycycline

10µg	(GN, OK3098, Bio-Rad).	Gentamicin
75µg	(TIC75, CTO167B, Oxoid).	Ticarcillin
50µg	(FOS, OJ3224, Bio-Rad).	Fosfomycin
30µg	(CTX, OK3384, Bio-Rad).	Cefotaxime
30µg	(AN, OK3251, Bio-Rad).	Amikacin
50µg	(CS, OD3155, Bio-Rad)	Colistin
75µg	(TIC, OK3233, Bio-Rad).	Ticarcilin
5µg	(CIP, OK3188, Bio-Rad).	Ciprofloxacin
30µg	(RA, OJ3194, Bio-Rad).	Rifampin

مـلـخص

توجه الاهتمام للبحث عن مواد طبيعية بسيطة كالزيوت الأساسية لحل مشكلة مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية، نتيجة امتلاكها أنشطة بيولوجية مهمة منها النشاطية ضد الميكروبية، التي تعوض بنجاح المضادات الحيوية التي أثبتت عدم فعاليتها ضد البكتيريا المقاومة، الشيء الذي حثنا على إجراء التحليل الكيميائي و الدراسة الضد الميكروبية للزيت الأساسي المستخلص من نبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقتي سكيكدة و بجاية، بالإضافة إلى النشاطية المضادة للأكسدة. تمت عملية الإستخلاص بواسطة التقطير المائي، بينما تم تحليل الزيوت الأساسية بواسطة تقنية كروماتوغرافيا الطور الغازي المزاوجة مع مطياف الكتلة. أنجزت دراسة الأثر ضد الميكروبي باستخدام طريقة الانتشار على الوسط الصلب، في حين قدرت النشاطية ضد الميكروبية بواسطة طريقة التبخير. حدد التحليل الكيميائي لزيت النبتة المتحصل عليها من منطقة سكيكدة 13 مكون يهيمن عليهم sabinene بـ 37.65% و β-pinene بـ 28.62%، بالمقابل يتكون زيت نفس النبتة المتحصل عليها من منطقة بجاية من 10 مكونات يهيمن عليها: β-pinene بـ 41.1% و sabinene بـ 38.36%. أبدى كلا الزيتين نشاطية ملحوظة مع البكتيريا و الأعفان المدروسة، غير أن بعض هذه الأجناس أبدت نوعا من المقاومة. كما لوحظ أيضا أن الفعالية المضادة للأكسدة لزيت نبتة سكيكدة و زيت نبتة بجاية كانت جد معتبرة مقارنة بنشاطية مضاد الأكسدة المرجعي BHT.

الكلمات المفتاحية: *Daucus setifolius*، الزيوت الأساسية، النشاطية ضد الميكروبية، النشاطية المضادة الأكسدة.

Résumé

La recherche des substances naturelles simples comme les huiles essentielles est importante en vue de traiter le problème des bactéries résistantes aux antibiotiques. En effet, ces substances possèdent des activités biologiques telles que l'activité antimicrobienne, et par conséquence elles remplacent, avec succès, les antibiotiques démontrant leurs inefficacité contre les bactéries résistantes. De ce fait, le but de notre travail est de réaliser l'analyse chimique, d'évaluer l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle extraite de *Daucus* (de Skikda et Bejaia). L'extraction est réalisée par l' hydrodistillation, alors que l'analyse chimique de l'huile essentielle est réalisée par la technique de chromatographie gazeuse couplée au spectromètre de masse. En plus, l'étude antimicrobienne est faite en utilisant la méthode de diffusion sur milieu solide, tandis que l'activité antimicrobienne est évaluée par la méthode d'atmosphère. L'analyse chimique révèle que l'huile essentielle de la plante provenant de Skikda présente 13 composants dont sabinene et β-pinene sont les dominants avec 38.65 % et 28.62%, respectivement. Tandis que l'huile essentielle de la plante provenant de Bejaia contient 10 composants avec sabinene (41.1%) et β-pinene (38.36%). Les deux huiles montrent une activité considérable contre les bactéries et les champignons étudiés, cependant, certains de ces genres montrent certaine résistance. En plus, l'activité antioxydante de ces huiles est considérable comparant à celle de BHT.

Mots clefs: *Daucus setifolius*, huiles essentielles, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

Abstract

The rescarch of simple natural substances as essentiel oil is important allowing the treat of antibiotc résistant bacteria. Ilfact, The substances exhibe biological activities suchas antimicrobial activity, remplacing, with succes, The antibiotc which demonstrace its ineffeciency against resistant antibacterial. Thus, The ain of this study consist to perforus (realise) chimie analysis and to evalute both antimicrobial and antioxidant activities of essentiel oil from *Daucus* (Skikda and Bejaia). L'extraction was realised using hydrodistilation whereas, chemist analysis was performed using gazeous chromatography coupled with mass spectrometre. In addition, Antimicrobial study was occur ont using diffussion methode on solide nedium, Antimicrobial activity was evaluted using micro-atmospher methode. Chimist analysis revealed that essentiel oil (Skikda) presented 13 compounds, where sabinene and β-pinene were dominants with 38.65 % and 28.62 %, respectively. However, essentiel oil (Bejaia) presented 10 compounds, where sabinene (41.1%) and β-pinene (38.36%).were dominants. The two essentiel oil demonstrated a considerable activity againt with bacterial and fungi studies, However, some of these genus presented certain resistante. In addition, antioxidant activity of oil essentil was considerable compared to that of BHT.

Key words: *Daucus setifolius*, essential oils, antimicrobial activity, antioxidant activity.

مـلـخص

توجه الاهتمام للبحث عن مواد طبيعية بسيطة كالزيوت الأساسية لحل مشكلة مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية، نتيجة امتلاكها أنشطة بيولوجية مهمة منها النشاطية ضد الميكروبية، التي تعوض بنجاح المضادات الحيوية التي أثبتت عدم فعاليتها ضد البكتيريا المقاومة، الشيء الذي حثنا على إجراء التحليل الكيميائي و الدراسة الضد الميكروبية للزيت الأساسي المستخلص من نبتة *Daucus setifolius* المتحصل عليها من منطقتي سكيكدة و بجاية، بالإضافة إلى النشاطية المضادة للأكسدة. تمت عملية الإستخلاص بواسطة التقطير المائي، بينما تم تحليل الزيوت الأساسية بواسطة تقنية كروماتوغرافيا الطور الغازي المزاوجة مع مطياف الكتلة. أنجزت دراسة الأثر ضد الميكروبي باستخدام طريقة الانتشار على الوسط الصلب، في حين قدرت النشاطية ضد الميكروبية بواسطة طريقة التبخير. حدد التحليل الكيميائي لزيت النبتة المتحصل عليها من منطقة سكيكدة 13 مكون يهيمن عليهم sabinene بـ 37.65% و β-pinene بـ 28.62%، بالمقابل يتكون زيت نفس النبتة المتحصل عليها من منطقة بجاية من 10 مكونات يهيمن عليها: β-pinene بـ 41.1% و sabinene بـ 38.36%. أبدى كلا الزيتين نشاطية ملحوظة مع البكتيريا و الأعفان المدروسة، غير أن بعض هذه الأجناس أبدت نوعا من المقاومة. كما لوحظ أيضا أن الفعالية المضادة للأكسدة لزيت نبتة سكيكدة و زيت نبتة بجاية كانت جد معتبرة مقارنة بنشاطية مضاد الأكسدة المرجعي BHT.

الكلمات المفتاحية: *Daucus setifolius*، الزيوت الأساسية، النشاطية ضد الميكروبية، النشاطية المضادة الأكسدة.

Résumé

La recherche des substances naturelles simples comme les huiles essentielles est importante en vue de traiter le problème des bactéries résistantes aux antibiotiques. En effet, ces substances possèdent des activités biologiques telles que l'activité antimicrobienne, et par conséquence elles remplacent, avec succès, les antibiotiques démontrant leurs inefficacité contre les bactéries résistantes. De ce fait, le but de notre travail est de réaliser l'analyse chimique, d'évaluer l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle extraite de *Daucus* (de Skikda et Bejaia). L'extraction est réalisée par l' hydrodistillation, alors que l'analyse chimique de l'huile essentielle est réalisée par la technique de chromatographie gazeuse couplée au spectromètre de masse. En plus, l'étude antimicrobienne est faite en utilisant la méthode de diffusion sur milieu solide, tandis que l'activité antimicrobienne est évaluée par la méthode d'atmosphère. L'analyse chimique révèle que l'huile essentielle de la plante provenant de Skikda présente 13 composants dont sabinene et β-pinene sont les dominants avec 38.65 % et 28.62%, respectivement. Tandis que l'huile essentielle de la plante provenant de Bejaia contient 10 composants avec sabinene (41.1%) et β-pinene (38.36%). Les deux huiles montrent une activité considérable contre les bactéries et les champignons étudiés, cependant, certains de ces genres montrent certaine résistance. En plus, l'activité antioxydante de ces huiles est considérable comparant à celle de BHT.

Mots clefs: *Daucus setifolius*, huiles essentielles, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

Abstract

The rescarch of simple natural substances as essentiel oil is important allowing the treat of antibiotc résistant bacteria. Ilfact, The substances exhibe biological activities suchas antimicrobial activity, remplacing, with succes, The antibiotc which demonstrace its ineffeciency against resistant antibacterial. Thus, The ain of this study consist to perforus (realise) chimie analysis and to evalute both antimicrobial and antioxidant activities of essentiel oil from *Daucus* (Skikda and Bejaia). L'extraction was realised using hydrodistilation whereas, chemist analysis was performed using gazeous chromatography coupled with mass spectrometre. In addition, Antimicrobial study was occur ont using diffussion methode on solide nedium, Antimicrobial activity was evaluted using micro-atmospher methode. Chimist analysis revealed that essentiel oil (Skikda) presented 13 compounds, where sabinene and β-pinene were dominants with 38.65 % and 28.62 %, respectively. However, essentiel oil (Bejaia) presented 10 compounds, where sabinene (41.1%) and β-pinene (38.36%).were dominants. The two essentiel oil demonstrated a considerable activity againt with bacterial and fungi studies, However, some of these genus presented certain resistante. In addition, antioxidant activity of oil essentil was considerable compared to that of BHT.

Key words: *Daucus setifolius*, essential oils, antimicrobial activity, antioxidant activity.