الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة فرحات عباس، سطيف 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم البيولوجيا والبيئة النباتية

N°................................/SNV/**2014**

مذكرة

مقدمة من طرف

زردومي سليمان

للحصول على شهادة

ماجستير في بيولوجيا وفيزيولوجيا النبات

تخصص: تثمين الموارد النباتية

الموضوع

Artemisia campestris L. في منطقة آريس، دراسة تشريحية ودراسة النشاطية الضد بكتيرية والضد تأكسدية لزيتها الأساسي

نوقشت بتاريخ ..../.........../2015

أمام لجنة المناقشة

الرئيس: لعور حسين أستاذ جامعة فرحات عباس – سطيف 1–

المشرف: شاكر عادل نجيب أستاذ جامعة فرحات عباس – سطيف 1–

الممتحنون: دحامنة صليحة أستاذ جامعة فرحات عباس – سطيف 1–

لقرادة تقية أستاذ محاضر أ جامعة فرحات عباس – سطيف 1–

مخبر تثمين الموارد الطبيعية

تشكرات :

الحمد لله حمدا كثيرا كما ينبغي لجلال وجهه وعظيم سلطانه.

أتقدم بالشكر الجزيل إلى البروفيسور عادل نجيب شاكر الذي لم يبخل علي بتوجيهاته

ونصائحه القيمة طيلة إشرافه على هذا العمل

كما أتقدم بالشكر الجزيل الى كل من ساعدوني سواء من قريب أو من بعيد في إنجاز

هذه المذكرة وأخص بالذكر الأستاذة حبيبة بوخبتي، الأستاذ رمضاني

الأستاذة دحامنة وفريق عملها، زملائي في الدفعة، صبرينة، عمي قدور ...

كما أتقدم بالشكر إلى رئيس اللجنة وأعضائها لقبولهم مناقشة هذا البحث.

الإهداء

أهدي هذا العمل المتواضع إلى أبي وأمي وأخوتي

إلى كل أصدقائي وأخص بالذكر : إبراهيم، بلال،

رياض، هشام، هشام.

إلى كل طلبة الماجستير دفعة 2011.

قائمة الجداول :

الجدول	العنوان	الصفحة
1	مركبات الفلافونويد الرئيسية الموجودة في : *Artemisia campestris*	16
2	النشاطية الضد بكتيرية للزيت الأساسي للنبتة *Artemisia campestris* (ملم)	40
3	النشاطية الضد بكتيرية للمضادات الحيوية المعبر عنها بالميليمتر.	40
4	جدول يبين CI_{50} للزيت الأساسي للنبتة *Artemisia campestris*. ومحلول BHT.	44

قائمة الأشكال :

الشكل	العنوان	الصفحة
1	الأنماط المختلفة للبنيات المسؤولة عن تشكل الزيوت الأساسية	18
2	وحدة الإزوبرين	19
3	تصنيف التربينات وفقًا لعدد وحدات الإزوبرين الداخلة في تركيبها	19
4	بنية بعض مركبات الداخلة في تركيب الزيوت الأساسية	20
5	جهاز Clevenger ، المستخدم في عملية التقطير المائي	26
6	صور فوتوغرافية للنبتة في بيئتها الطبيعية	28
7	جهاز الكليفجر المستخدم لاستخلاص الزيت الأساسي للنبتة *A.campestris* .	31
8	خطوات دراسة النشاطية التثبيطية للمستخلص الزيتي للنبتة A.campestris	33
9	الشكل الحر والمرجع لDPPH	35
10	مقطعين عرضيين في ساق فتية للنبتة *Artemisia campestris*	36
11	مقطع عرضي في ساق نبتة *Artemisia campestris* يظهر يظهر البشرة	36
12	مقطع عرضي في ساق نبتة *Artemisia campestris* يظهر القشرة	37
13	توزع الحزم الوعائية في ساق نبتة *Artemisia campestris*	37
14	مقطع عرضي في ساق نبتة *Artemisia campestris* يظهر اللب	38
15	مقطع عرضي في ورقة نبتة *Artemisia campestris*	38
16	شكل الثغور وتوزعها على بشرة الوجه السفلي للورقة	39
17	تأثير الزيت الأساسي على مختلف السلالات المختبرة	41
18	منحنى النشاطية الضد تأكسدية للزيت الأساسي للنبتة *Artemisia campestris*	43
19	منحنى النشاطية الضد التأكسدية لل BHT المسجلة في اختبار DPPH	43

قائمة الإختصارات :

Abs: *absorbance*.

BHT: 2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol.

CI_{50}: هو مقياس لمدى فعالية مركب في تثبيط نسبة 50% من ظيفة بيولوجية أو كيميائية حيوية معينة

CFU: وحدات مشكلة للمستعمرات.

C: Chloramphénicol .

DMSO: Dimethyl Sulfoxide .

DPPH : 2,2-diphenylpicrylhydrazyl.

E: Erythromycine .

FDA (**food and drug Administration**) : إدارة الغذاء والدواء FDA أو USFDA

GC– MS : الكروماتوغرافيا الغازية والمطيافية الكتلية.

GM: Gentamicine .

HES: الزيوت الأساسية.

LDL (***low density lipoprotein***): بروتين دهني منخفض الكثافة

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards

OX: Oxacilline .

P: Penicilline .

الفهرس

مقدمة..1

الجزء النظري :

1-الفصل الأول : النباتات الطبية

1-1-تعريف النبات الطبي...3

1- 2-المركبات الفعالة للنباتات الطبية...3

1-3- التعرف على النباتات الطبية...4

1- 4- جمع وحفظ النباتات الطبية...4

1-5- تحضير الأدوية العشبية...7

1- 6- طرق أخذ الأدوية العشبية 7

1- 7- الأنسجة النباتية Les tissus végétaux.....................................8

1- 8- نبتة *Artemisia campestris* 11

1- 8- 1- التسمية..11

1- 8- 2- وصف النبتة...11

1- 8- 3- التصنيف...12

1-8- 4- الاستخدام التقليدي *Artemisia campestris* 12

1- 8- 5- النشاط البيولوجي 13

1-8- 6- التركيب الكيميائي 15

2- الفصل الثاني : الزيوت الأساسية

2-1-تعريف الزيوت الأساسية.....17

2-2- مكان تواجدها في النبتة.....17

2-3- كيمياء الزيوت الأساسية..... 18

2-4- الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيوت الأساسية.....20

2-5- إستخدامات الزيوت الأساسية.....21

2-6-النشاط البيولوجي لزيوت الأساسية 22

2-7- آلية عمل الزيوت الأساسية..... 23

2-8- سمية الزيوت الأساسية 24

2-9- طرق إستخلاص الزيوت الأساسية 25

2-9-1- التقطير المائي.....25

2-10- العوامل التي تؤثر على جودة الزيوت الأساسية.....26

الجزء التطبيقي :

3- الفصل الثالث : المواد والطرق المستعملة

3-1 -المادة النباتية..... 28

3-2 - أوساط الزرع..... 28

3-3 - المضادات الحيوية.....29

3-4 - السلالات البكتيرية.....29

3-5 - المذيبات.....29

3–6– الملونات 29
3–7 – المواد الكيميائية..... 29
3–8 – الأجهز..... 30
3–9 – طريقة العمل..... 30
3–9 –1 – تحضير المقاطع النباتية للدراسة التشريحية.....30
3–9 –2 – استخلاص الزيت الأساسي للنبتة 31
3–9 –2 –1– حساب مردود الزيت الأساسي.....31
3–9 –3 – اختبار النشاطية الضد بكتيرية للمستخلص الزيتي.....32
3–9 –4 – اختبار النشاطية الضد تأكسدية للزيت الأساسي 34
3–9 –4 – 1– مبدأ عمل طريقة الـ DPPH.....34
3–9 –4 – 2– طريقة العمل 35
4 – الفصل الرابع : النتائج و المناقشة
4 –1– الدراسة التشريحية 36
4 –2– استخلاص الزيت الأساسي 39
4–3– النشاطية الضد بكتيرية للزيت الأساسي.....39
4 –4– النشاطية الضد تأكسدية.....43
النتيجة العامة.....45
المراجع.....46
الملاحق

الملخص:

تظهر المقاطع العرضية التي أنجزت على مستوى ساق نبتة *Artemisia campestris* أنها تتشكل من أربعة أنسجة مختلفة هي البشرة، القشرة، الأوعية الناقلة، اللب. كما أظهرت المقاطع المنجزة على مستوى أوراق هذه النبتة كذالك وجود أربعة أنسجة وهي البشرة الحزم الوعائية محاطة بنسيج برانشيمي عادي يليه النسيج العمادي ذو الخلايا المتطاولة والمتراصة. الزيت الأساسي للنبتة أظهر نشاطية ضد بكتيرية ضعيفة جدا فمن بين الأربع سلالات المختبرة (*S .aureus* ATCC 25923 ، *E. coli* ATCC 25922 ، *P. aeruginosa ATCC27853* ، *B . subtilis* ATCC *6633*) وجد أنها تؤثر فقط على سلالة واحدة وهي *S .aureus* ATCC 25923 ، حيت وجد أن قطر التثبيط يزيد بزيادة تركيز الزيت الأساسي ففي تركيز 20% وجد قطر التثبيط أنه يساوي 10 ملم، وفي تركيز 50% يساوي 14 ملم بينما في تركيز 100 % وجد أنه يساوي 35 ملم. تقييم النشاطية الضد تأكسدية للزيت الأساسي للنبتة *Artemisia campestris* باستعمال اختبار DPPH أظهر أنها هي الأخرى ضعيفة، فقد وجدت النشاطية الضد تأكسدية لهذا الزيت الأساسي تساوي 3057.75 µg/ml.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، *Artemisia campestris* ، الفعالية المضادة للميكروبات، الفعالية المضادة للأكسدة، DPPH.

Résumé:
les coupes anatomiques réalisées au niveau des tiges d'*Artemisia campestris* ont montré qu'elles sont composées de quatre tissus différents : l'épiderme, l'écorce, les faisceaux conducteurs et la moelle. En outre, les coupes transversales au niveau des feuilles ont montré la présence de quatre tissus : l'épiderme, les faisceaux conducteurs entourés par un tissu parenchymatique puis par un parenchyme palissadique. L'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de cette plante a montré une très faible activité. Parmi les quatre souches testées: (*S .aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC27853, *B. subtilis* ATCC 6633), seule la souche S .aureus ATCC 25923 a été affectée, où il a été constaté que le diamètre de l'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration de l'huile essentielle, en effet à la concentration de 20% le diamètre d'inhibition est de 10 mm, à la concentration de 50% il est de 14 mm et finalement à la concentration de 100% il est de 35 mm. Aussi, l'étude de l'activité antioxydante de L'huile essentielle de cette plante par le test DPPH a montré une faible activité , de l'ordre de 3057.75 µg/ml

Mots-clés: huiles essentielles, *Artemisia campestris*, activité antimicrobienne, activité antioxydante, DPPH

مقدمة :

اعتمد الإنسان منذ القدم على الطبيعة من أجل توفير احتياجاته الأساسية كالغذاء، المأوى، الملبس وحتى لتلبية إحتياجاته الطبية، و من هنا نجد أن استخدام النباتات من طرف الإنسان كعلاج للأمراض قديم جدًا و تطور مع تطور البشرية، فقد عرفت الحضارات القديمة استعمالا واسعا للنباتات الطبية، في الصين مهد التداوي بالأعشاب، في الهند والشرق الأوسط (خاصة في العصر الإسلامي)، اليونان والرومان، احتلت هذه النباتات مكانة رئيسية في استعمالاتهم اليومية.

هناك العديد من الأسباب وراء الموجة الحالية من الإهتمام بالطب الشعبي، الخوف من العقاقير المصنعة أحد هذه الأسباب، كلنا نعلم أن الأدوية المصنعة لها آثار واضحة في العلاج، ولكننا نعلم أيضا ما لها من تأثيرات جانبية، في خلال حقبة زمنية واحدة تمت مراجعة نصف الأدوية التي أجازتها إدارة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA) بشأن أعراضها الجانبية غير المتوقعة ولكن هناك سبب آخر للاهتمام المتزايد بالأدوية العشبية حيث تحتوي كل الأعشاب على الآلاف من المواد الكيميائية، فعند اختيار دواء عشبي، فإننا نتحصل على خليط من المواد الكيميائية، أما عندما نتناول عقارا صيدلانيا يحتوي على مادة واحدة فعالة اصطناعية، فسوف تساعدك فقط إذا كانت لهذه المادة فعالية مثبتة، وكان التشخيص سليما، ولكنها قلما تعالج مشاكل أخرى ثانوية، والتي قد يوجد لدينا الكثير منها (ديوك، 2003).

أصبحت صناعة الأدوية كذلك تعتمد وبشكل كبير على تنوع النباتات و مركباتها الثانوية للعثور على جزيئات جديدة ذات خصائص بيولوجية مفيدة، هذا المصدر يبدو غير ناضب لأنه ومن بين 400.000 نوع من النباتات المعروفة قسم صغير فقط تمت دراسته (Hostettmann et *al.*, 1998)،

الجزائر، بأكثر من 3100 نوع من النباتات، منها 19,87 ٪ متوطنة (Lebrun. 1982)، تعتبر من بين البلدان الأكثر تنوعًا وهذا بسبب موقعها الجغرافي و مساحتها الشاسعة وتنوع مناخها. هذا التنوع يشكل ثروة حقيقية تحتاج إلى الحفاظ عليها وإدارتها على نحو مستدام و عقلاني من أجل الحفاظ على التوازن البيئي و الحفاظ على التنوع البيولوجي (Pereira et *al.*, 2003).

الزيت الأساسي للنبتة المدروسة كان موضوعا للعديد من الدراسات السابقة، هذه الدراسات أظهرت اختلافات كثيرة في النتائج وهذا بسبب الكثير من العوامل منها: جزء النبتة الذي استخلص منه الزيت الأساسي، الموقع الجغرافي والوقت الذي جمعت فيه النبتة.

تشمل المذكرة جزأين: جزء نظري وجزء عملي، الجزء النظري يشمل فصلين حيث الفصل الأول يشمل تعريفا للنباتات الطبية وكذلك كيفية جمعها وحفظها بالإضافة إلى وصف، تعريف وتصنيف النبتة المختارة أما الفصل الثاني فهو يعالج الزيوت الأساسية للنباتات الطبية، أما الجزء العملي فقد خصص للدراسة النشاط البيولوجي للزيت الأساسي للنبتة المدروسة – النشاطية الضد تأكسدية والضد بكتيرية- بالإضافة إلى دراسة تشريحية لساق وأوراق هذه النبتة باعتبارها الأجزاء الأكثر استخداما في الطب الشعبي يتضمن هذا الجزء فصلين، فصل يوضح المواد والطرق المستعملة، وفصل ثان يتضمن النتائج ومناقشتها.

الجزء النظري:

الفصل الأول

1- النباتات الطبية

1- النباتات الطبية

1-1- تعريف النبات الطبي :

هو النبات الذي يستخدم لمنع أو علاج أو تخفيف الأمراض المختلفة، أو هو عبارة عن النبات الذي جزء منه له خصائص طبية (Farnsworth *et al.*, 1986). حوالي 35000 نوع من النباتات تستخدم في جميع أنحاء العالم لأغراض طبية، و تمثل أوسع مجموعة من التنوع البيولوجي التي يستخدمها معظم الأشخاص . لا تزال النباتات الطبية تلبي الحاجة الملحة لتداوي لدى الكثير من الناس بالرغم من تطور النظام الصحي الحديث (Elqaj *et al.*, 2007).

تستخدم النباتات الطبية في شكلين:

- الشكل الخام: ويكون على عدة أشكال (مثل المنقوع، الزيوت العطرية ومستخلصات الأصباغ)
- الشكل النقي: يكون فيه العنصر النشط (المادة الفعالة) المسؤول عن الأثر العلاجي محددا و معرفا كيميائيا، وتستخدم المركبات النقية عمومًا عندما تكون المقومات الفعالة ذات تأثير قوي وخاص (Hamburger et Hostettmann, 1991)

1- 2 – المركبات الفعالة للنباتات الطبية :

الآثار العلاجية لبعض النباتات معروفة جيدًا منذ القدم، فالبابونج الألماني La camomille allemande على سبيل المثال، استخدم لآلاف السنين ضد اضطرابات الجهاز الهضمي. الألوة L'aloès كانت معروفة بالفعل في وقت كليوباترا، حيث كانت تستخدم لتليين الجلد. بالرغم من ذلك، فإنه لم يتم عزل ودراسة المركبات- المركبات الفعالة – المتواجدة في هذه النباتات ونباتات أخرى و المسؤولة عن هذه التأثيرات العلاجية إلا مؤخرًا، فمن الضروري أن نعرف تركيبة النباتات لفهم الكيفية التي تؤثر بها على الجسم (Iserin , 2001).

1-3- التعرف على النباتات الطبية :

معرفة النباتات دون خطأ هو شيء ضروري ومهم للتمييز بين الأنواع المتشابهة من النباتات، لذا وجب الحصول على دليل للنباتات البرية من أجل تجنب التسمم، كما لا يجب جمع نبتة لست متأكدًا منها (Iserin, 2001). بالنسبة إلى القدماء، فقد ميزوا بين العديد من النباتات عن طريق ما يسمى بـ " مذهب التواقيع" (doctrine des Signatures) فقد ظن هؤلاء أن شكل أو لون نبتة ما ، يكفي بوضوح إلى تبيان استخدامها و خصائصها. فالنباتات ذات العصير الأصفر، كبقلة الخطاطيف (la chélidoine) على سبيل المثال ، تستطيع الشفاء من أمراض الكبد ، والنباتات ذات العصير الأحمر كعصبة القلب (le millepertuis) ، لها القدرة على الشفاء من أمراض الدم، عمومًا فإن المعلومات التي يقدمها شكل، نكهة، رائحة ولون النباتات هي الميزات الوحيدة التي كانت تمكننا من اختيار النبتة المطلوبة (Bardeau, 1973).

1- 4- جمع وحفظ النباتات الطبية :

1- 4-1- جمع النباتات الطبية :

الطبيعة تمثل مصدرًا غنيًا للنباتات الطبية حيث تكون عملية جمعها مفيدة وممتعة على حد سواء، حصاد أو جمع النباتات الطبية لا يمثل مشكلة كبيرة، المهم هو معرفة النباتات المناسبة و القدرة على التمييز بينها (Bardeau, 1973).

1- 4-1- 1- متى تجمع النباتات ؟

من الأفضل دائما لجني النباتات أن يكون الجو جاف، فالنباتات الرطبة بسبب المطر أو الندى تتغير، تتعفن، و تتخمر و تفقد أي قيمة علاجية لها، لهذا يعتبر الصباح هو الوقت الأكثر ملاءمة لجمع النباتات، كما يمكن فعل ذالك في المساء قبل إنخفاض درجة الحرارة (Debuigue, 1984).

1- 4-1- 2- كيف نقوم بعملية جمع النباتات ؟

من الأفضل لجمع النباتات البرية، إذا كان ذلك ممكنًا، أن يكون المكان الذي تتواجد فيه النباتات المطلوبة قليل الإرتياد، النباتات الموجهة للتجفيف يجب عدم غسلها (الجذور هي الأجزاء الوحيدة التي

يجب غسلها وبدقة بواسطة مياه نظيفة لتخلص من أي أثر للتربة) فينبغي إذن تجنب قطف النباتات المغبرّة المتواجدة على حواف الطرق أو تلك التي تقع على حافة الحقول المزروعة ، والتي يمكن أن تكون ملوثة بالأسمدة الكيماوية حديثة الإستخدام . يجب اختيار النباتات السليمة فقط ويجب التخلص دون تردد من النباتات الذابلة ، ذات البقع و الألوان الغير اعتيادية ، كما يجب التخلص أيضًا من النباتات التي هاجمتها الحشرات أو التي تنمو بجوار الفطريات (Debuigue, 1984) .

من السهل جدًا أثناء عملية جمع النبتة المطلوبة، التخلص من البقايا المختلفة كالطحالب ، الأوراق و الأغصان للإبقاء على النبتة التي تهمنا فقط فالتخلص من هذه البقايا يصبح من الصعب القيام به بعد الإنتهاء من عملية الجمع، كما يجب علينا التحقق بعناية من عدم خلط النبتة التي نرغب في جمعها مع نباتات أخرى (وجود نبتة خطيرة يمكن أن يكون له عواقب وخيمة).

في حالة جمع أنواع عديدة من النباتات في آن واحد، ينبغي عدم خلطها مع بعضها البعض، خلال عملية الجمع و أيضًا من الضروري الحرص على عدم سحق أو ضغط النباتات فتكديس النباتات بدون مبالاة قد يؤدي إلى ذبولها وزوال نضارتها ، كما يمكن أن يؤدي ذالك إلى بداية عملية التخمر في وقت مبكر، ومن الأفضل استخدام سلة كبيرة خاصة لجمع النباتات (Debuigue, 1984).

1- 4-2- حفظ و تخزين النباتات الطبية :

هناك أساليب مختلفة للتخزين، الأكثر شيوعا و بساطة بينها هو التجفيف بواسطة الهواء أو الفرن فالمكان الدافئ والجاف يعتبر مثاليًا. بعد جفافها ، يمكن لنباتات أن تبقى لعدة أشهر في كيس أو وعاء من الزجاج الملون أو في كيس مصنوع من ورق الكرافت (Iserin, 2001) .

1-4-2-1-التجفيف:

التجفيف هو عملية نزع الرطوبة من المادة المراد تجفيفها، يجب تطبيق هذه العملية مباشرة بعد جمع النبات. توضع النباتات موزعة في غرفة جيدة التهوية، موضوعة على نسيج من الخيش (jute) أو من القطن، أين يتم فصل الأنواع المختلفة عن بعضها البعض. كما يجب عدم تعريضها لأشعة الشمس المباشرة ما لم يذكر خلاف ذلك. في الواقع، إن تعريضها لأشعة الشمس قد يؤدي بها إلى فقد البعض من خصائصها، وذلك بسبب تطاير العديد من المواد (Ticli, 1997). النباتات المتسخة بالتراب

أو غيره، من الضروري تنظيفها جيدًا و تجفيفها بعناية. و هذا ينطبق أيضًا على الجذور إذا قمنا بجمع النبتة كاملة، يمكننا أن نضعها على سلك مشدود، العملية تشبه إلى حد كبير ما نقوم به مع الغسيل، خلال هذه العملية والتي يمكن أن تستمر لمدة تصل إلى أسبوع أو اثنين مع تقليب النباتات بشكل دوري (Iserin, 2001).

1-4-2-2-الحفظ :

بعد تجفيف النباتات، يجب الإنتقال إلى مرحلة الحفظ مباشرة ، لمنع تراكم الغبار عليها، لتحقيق هذه الغاية، نستعمل أكياسًا من الورق، علبًا مصنوعة من الصفيح (القصدير)، أكياسًا من البلاستيك (بإستثناء الأنواع التي تحتوي على الزيوت الأساسية) و أوعية زجاجية، يجب التحقق دائمًا، من عدم تكثف الماء على جدران الحاوية مما يعني مشكلة في عملية التجفيف. يمكننا إنقاذ النباتات في هذه الحالة بتجفيفها على الفور مرة أخرى، هذا الكلام ينطبق أيضًا على النباتات التي تم شراؤها من المحلات المتخصصة في بيع الأعشاب الطبية (عند العشابين ، الصيدليات) (Ticli, 1997).

1-4-2-3-طرق أخرى للحفظ:

بالإضافة إلى لتجفيف بواسطة الهواء، هناك أساليب أخرى للحفاظ على الخصائص الطبية للنباتات.

- **إزالة الرطوبة (déshumidification):**

هذه طريقة فعالة لكنها باهظة الثمن، فهي تتطلب استخدام جهاز خاص يسمى مزيل الرطوبة (déshumidificateur) هذا الجهاز يقوم بإمتصاص الرطوبة من النباتات. يجب وضع الجهاز في غرفة مغلقة حيث تعلق النباتات على شكل باقات أو توضع على أطباق مثقوبة (Ticli, 1997).

- **التجميد:**

التجميد يحفظ الألوان و العطور، ولكن هذه الطريقة مناسبة أكثر للنباتات العطرية، يمكننا تجميد أغصان كاملة وذلك في أكياس بلاستيكية. من غير المفيد تذويب الجليد دون الحاجة إلى إستخدام النباتات، بالنسبة للأوراق فإنها تتفتت بسرعة بعد تجميدها. يمكننا أيضًا تجميد العصارات المستخلصة من النباتات الطبية واستخدامها عند الحاجة (Ticli, 1997).

1– 5– تحضير الأدوية العشبية : هناك العديد من الطرق لتحضير الأدوية العشبية نذكر منها

1– 5–1– النقيع (بالغلي) Les infusions :

النقيع طريقة بسيطة جدًا لاستعمال الأعشاب وهو يحضر تقريبًا كالشاي، يرفع الماء المغلي عن النار ليهمد قليلا لأن الماء الذي يغلي بقوة يبدد الزيوت الطيارة المفيدة في البخار. تستعمل هذه الطريقة للأزهار و الأجزاء المورقة من النباتات. يجب تحضير الكمية المعيارية كل يوم بيومه لتبقى طازجة وهي كافية لثلاث جرعات (بنيلوب أودي، 1999).

1– 5–2– المغلي Les décoctions :

تقوم هذه الطريقة على استخلاص مقومات (مركبات) النبات الفعالة على نحو أقوى من النقيع وتستعمل للجذور واللحاء والغصينات وبعض أنواع الثمار العنبيّة. توضع العشبة في الماء البارد ويغلى المزيج برفق لمدة تصل إلى ساعة واحدة حتى يتبخر ثلث السائل . يجب تحضير الكمية المعيارية للنقيع ، كل يوم بيومه حتى تستعمل طازجة (المصدر السابق).

1– 5–3– الصبغة Les teintures :

تحضر الصبغة عن طريق نقع العشبة المجففة أو الطازجة في مزيج من الكحول و الماء بنسبة 25 ٪ . يمكن استعمال أي جزء من النبتة. بالإضافة إلى استخراجها لمقومات (مكونات) النبتة الفعالة، تعمل المادة الكحولية بمثابة حافظ، مما يجعل الصبغات صالحة الإستعمال لمدة تصل إلى سنتين. تحضر الصبغة من نوع واحد من الأعشاب، وتمزج الصبغات عند الحاجة. تحضر الصبغات التجارية باستعمال الكحول الإثيلي (بنيلوب أودي، 1999).

1– 6– طرق أخذ الأدوية العشبية:

1– 6–1– عن طريق الفم: النقيع، المغلي، الصبغة، الشراب، والأقراص غالبًا ما تؤخذ عن طريق الفم، وأحيانا تحت اللسان (Gurib-Fakim , 2006).

1- 6-2- عن طريق الأنف (بالتدخين ، الشم أو التبخير) :

الزيوت الأساسية المعلقة في السوائل الساخنة أو المواد المسحوقة يمكن شمها بحيث يتم إمتصاص المركبات النشطة من خلال الغشاء المخاطي، الدخان المنبعث من حرق المواد يتم استنشاقه و المركبات النشطة تمتص بواسطة الرئتين بنفس الطريقة التي يمتص بها النيكوتين في الرئتين (المصدر السابق) .

1- 6-3- بشكل موضعي :

يتم تطبيق المستحضرات، والزيوت أو الكريمات التي تحتوي على المستخلصات النباتات الطبية مباشرة على الجلد، حيث يتم امتصاص المركب النشط (Gurib-Fakim , 2006) .

1- 6-4- الاستحمام :

الأعشاب أو المستخلصات العشبية يمكن أن تضاف لماء الحمام (المصدر السابق) .

1- 6-5- الحقن تحت الجلد أو في العضلات :

المكونات الكيميائية النقية المستمدة من النباتات الطبية يتم حقنها في مجرى الدم ومن المثير للاهتمام أحيانًا أن بعض المركبات غير نشطة تمامًا عندما تؤخذ عن طريق الفم و تصبح نشطة للغاية عندما يتم حقنها (Gurib-Fakim , 2006) .

1- 7- الأنسجة النباتية Les tissus végétaux :

تنتشر المواد الفعالة في معظم أجزاء النبات، ولكن تصنيعها يتم في أجزاء معينة منه، ولدراسة هذه الأجزاء يجب القيام بدراسة تشريحية لهذه النباتات (حجاوي وآخرون ،2004).

هناك نوعين من الأنسجة في النباتات الراقية وهما:

1- 7- 1- الأنسجة الإنشائية Les méristèmees :

تتكون هذه الأنسجة من خلايا لها القدرة على الإنقسام، تنقسم هذه الأنسجة من حيث النشأة إلى أنسجة إنشائية ابتدائية و أخرى ثانوية ، حيث نجد أن الأنسجة الإنشائية الابتدائية Les méristèmes

primaires تشمل الخلايا المكونة للجنين ، كما توجد في القمم النامية للجذور، السيقان، بدايات الأوراق، في الكامبيوم الحزمي في السيقان الحديثة لذوات الفلقتين، الأنسجة الإنشائية البينية الموجودة في قواعد السلاميات في سيقان بعض ذوات الفلقة الواحدة و قواعد الأوراق.

أما بالنسبة للنوع الثاني من الأنسجة الإنشائية وهو الأنسجة الإنشائية الثانوية ، فهو عبارة عن نسيج خلوي انشائي ثانوي يقع بين اللحاء و الخشب أو تحت البشرة من النبات، وهو الطبقة المسؤولة عن تجديد الخلايا، كما يحتوي على قنوات مسؤولة عن التغذية ويكون: الكامبيوم الحزمي المتواجد بين الخشب واللحاء ، الكامبيوم المتواجد بين الحزم الوعائية ، الكامبيوم الفليني (حجاوي وآخرون ،2004).

1- 7- 2- الأنسجة المستديمة : وتنقسم الى :

1- 7- 2- 1- النسيج البرنشيمي الضام

هو نسيج يتكون من خلايا حية رقيقة الجدر متساوية الأقطار تتكون في معظمها من السيليلوز ، هذا النسيج له مهام متعددة مثل: تخزين الغذاء أو الماء، التمثيل الضوئي (جبر وآخرون ،2001).

1- 7- 2- 2- الأنسجة الدعامية

- **النسيج الكلونشيمي** :

يتكون من خلايا حية، يتواجد في الأعضاء النامية من النباتات الخشبية وفي الأعضاء البالغة من النباتات العشبية التي لم يحدث فيها نمو ثانوي (جبر وآخرون ،2001).

- **النسيج السكليرونشيمي** :

يتكون من خلايا مغلظة بمادة اللجنين وهي في الغالب خلايا ميتة عند تمام تكوينها، هناك نوعان من الخلايا التي تشكل هذا النسيج وهي الألياف و الخلايا الحجرية (جبر وآخرون ،2001).

1- 7- 2- 3- الأنسجة الواقية

وهي أنسجة تحيط بالأعضاء النباتية وتلعب دورًا مهمًا في حمايتها من العوامل الخارجية، البشرة و الفلين هما نوعين من الأنسجة التي تلعب دور الأنسجة الواقية (بوغديري ،2000).

1- 7- 2- 4- الأنسجة الناقلة :

- **اللحاء** : له وظيفة أساسية وهي نقل وتوزيع المواد الغذائية الجاهزة أو ما يعرف بالنسغ الكامل إلى كافة أجزاء النبات، يتكون اللحاء من الأنابيب الغربالية، الخلايا المرافقة، ألياف اللحاء و برانشيم اللحاء (بوغديري ،2000).
- **الخشب** : وظيفة الخشب هي نقل النسغ الناقص الذي يتكون من الماء والأملاح المعدنية الذائبة الممتصة من التربة إلى كافة أجزاء النبات، ويساهم أيضًا في تدعيم النبات، يتكون الخشب من أوعية خشبية، قصبات، برانشيم الخشب و ألياف الخشب (جبر وآخرون، 2001).

1- 7- 2- 5-الأنسجة الإفرازية في النباتات:

- **الإفراز الداخلي** :

تكون على ثلاثة أنواع، الأولى تتكون نتيجة انقراض بعض الخلايا تاركة فراغًا تتجمع فيه المواد المفرزة، تسمى بالإنقراضية، الثانية التجويف يكون أكثر انتظامًا حيث تتفرق الخلايا بعد ذوبان صفائحها الوسطى و تعرف بالغدد الإنفصالية، أما النوع الثالث فيسمى بالغدد البينية وهي تنشأ من استطالة خلية واحدة بدرجة كبيرة .

- **الإفراز الخارجي** :

الإفراز الخارجي عبارة عن الأجهزة الإفرازية المسؤولة عن انتاج مواد مثل الزيت وتجمعه في مواضع خاصة متكونة من خلية أو عدة خلايا، والمنتشرة على السطح الخارجي لبشرة الأوراق و أجزاء الأزهار وبشرة السيقان (أبو زيد ، 2000). ونجد عدة أنواع نذكر منها :

- **الغدة الشفوية** :

وهي عبارة عن غدة بارزة فوق سطح خلايا طبقة البشرة للسطح العلوي و السفلي للورقة ، تتكون من رأس مستدير أو بيضاوي الشكل كبير الحجم وتحتوي على ثمانية خلايا إفرازية للزيوت الطيارة، معنقة أو غير معنقة لاتصالها المباشر بأحدى خلايا طبقة البشرة كما في أوراق وأجزاء الأزهار مثل : نبات الخزامى.

- **الشعيرات الغدية :**

عادة ما توجد على السطح السفلي للأوراق في تجاويف البشرة ، وقد يمتد تواجدها إلى أعناق الأوراق أو السيقان وكؤوس الأزهار وليس على أي جزء آخر من الأزهار أو الثمار، قد تكون جالسة أو ذات أعناق قصيرة ورؤوس كروية وحيدة أو رباعية أو ثمانية الخلايا (هيكل وعمر ،1993).

1– 8– نبتة ***Artemisia campestris*** :

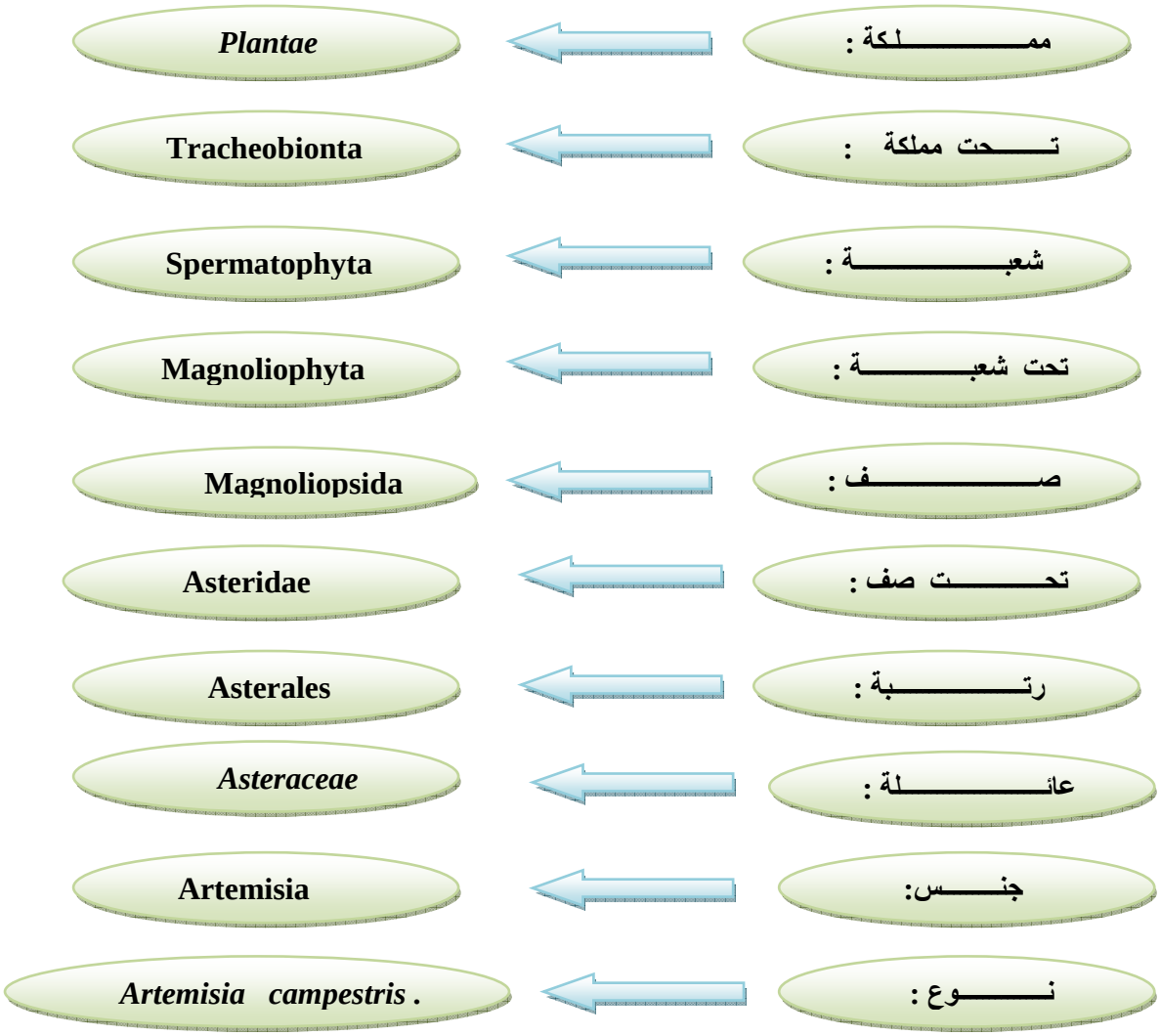
1– 8– 1– التسمية :

- **الإسم العلمي** : *Artemisia campestris*
- **الإسم العربي** : الشيح الحقلي، الشعال أو التقفت
- **الإسم الفرنسي** : Armoise champêtre.
- **الإسم الإنجليزي** :field wormwood .

1 –8– 2– وصف النبتة :

Artemisia campestris المعروفة محليًا في الأوراس باسم تقوفت (dgouft) ، هي عشبة عطرية لها رائحة مميزة، معمرة، تنمو في المناطق القاحلة وشبه القاحلة في الجزائر (Baba Aissa , 1991 ; Chalchat et *al.,* 2003) ، ذات فروع متصلبة (خشبية)، أسطوانية الشكل ارتفاعها يتراوح ما بين 30 و 80 سم هذه النبتة لها رويسات (capitules) صغيرة جدًا، قطرها من 1 إلى 1.5 ملم، بيضوية أو مخروطية الشكل، القنابات (bractées) في هذه الرويسات (capitules) شفافة، يحتوي الرويس capitule من 3 إلى 8 أزهار صفراء اللون ذات حواف محمرة، حامل الزهرة (pédoncule) له شعيرات بيضاء أو بنية اللون، أوراق *Artemisia campestris* خضراء داكنة بدون شعيرات (David, Hervé., 1994 ; Ozenda, 1983 ; Quezel et Santa., 1962).

1 –8– 3– التصنيف : هناك عدة تصنيفات لهذه النبتة وقد تم الاعتماد على تصنيف Cronquist فوفقًا لـ Cronquist (1971) فإن تصنيف *Artemisia campestris* :



1– 8– 4– الاستخدام التقليدي للنبتة :

هذه النبتة استخدمت لفترة طويلة في الطب التقليدي لعلاج الكثير من الأمراض حيث تستخدم *Artemisia campestris* لعلاج اضطرابات الجهاز الهضمي والقرحة و آلام الطمث (Dob et *al.,* 2005)، كما أنها تستخدم في علاج مرض السكري (Sefi et *al.,* 2010).

يستخدم الجزء الهوائي لهذه النبتة في علاج الحروق، الإسهال، لدغات الثعابين ولسعات العقارب، الأكزيما، إلتهاب المعدة والأمعاء، والروماتيزم، كما أنها تستخدم لعلاج التهابات المسالك البولية، الحمى

و السعال (Ben Sassi et *al.,* 2007). وفقًا لـ Saoudi et *al* (2010) فإن الإستهلاك اليومي من المغلي المحضر من سيقان وأوراق *A. campestris* يقلل من اضطرابات الجهاز الهضمي.

1– 8– 5– النشاط البيولوجي :

بالإضافة إلى استخداماتها التقليدية، *Artemisia campestris* لديها العديد من الخصائص البيولوجية ، نذكر من بينها :

1– 8– 5–1– النشاط المضاد للأكسدة :

الجزء الهوائي لنبتة التقوفت يظهر نشاطية مضادة للأكسدة هامة، في الواقع هذه النبتة غنية بالمركبات التي لديها نشاط مضاد للأكسدة مثل : الفلافونويدات، حموض الدباغ و البوليفينول (Bruneton, 1999). في دراسة أجرتها Aniya و مساعدوها (2000) اختبروا فيها النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص المائي لنبتة الـ *A . campestris* من خلال اختبار DPPH ، (2,2-diphenyl-l-1-picrylhydrazyl)، وأظهرت النتائج أن المستخلص المائي لديه نشاط عالي مضاد للأكسدة . من جهته Akrout و مساعدوه (2011) درسوا النشاط المضادة للأكسدة لثلاثة مستخلصات للجزء الهوائي لـ *A . campestris* (الزيوت الأساسية، المستخلص المائي ، والإيثانولي 50 ٪) باستخدام ثلاث طرق مختلفة: طريقة DPPH ، تقنية décoloration du β-carotène وطريقة ABTS (2,2 azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6- sulphonic acid)، فوجدوا أن زيت الأساسي لديه نشاط مضاد للأكسدة منخفض، في حين أن المستخلصين المائي و العضوي أظهرا نشاطًا مهمًا مضادًا للأكسدة مقارنةً بما أظهرته الزيوت الأساسية .

1– 8– 5–2– النشاط المضاد للبكتيريا:

نبتة التقوفت استخدمت أيضًا في علاج العديد من الالتهابات مثل التهابات المسالك البولية.
Naili ومساعدوه (2010) قاموا باختبار النشاطية الضد بكتيرية للمستخلص الميثانولي لأوراق هذه النبتة فوجدوا أن نشاط هذا المستخلص كان أكثر فعالية ضد البكتيريا إيجابية الجرام Gram positif مثل (*Staphylococcus aureus*) منه ضد البكتيريا سالبة الجرام Gram négatif مثل (*Escherichia coli*). أما Ben Sassi ومساعدوه (2007) درسوا النشاط المضاد للبكتيريا لأربعة مستخلصات عضوية (الميثانول، و خلات الإيثيل، الأسيتون، والكلوروفورم) مستحلصة من 23 نبتة طبية من بينها نبتة التقوفت ضد 14 بكتيريا إيجابية وسلبية الغرام وأظهرت النتائج أن مستخلص الأسيتون هو الوحيد الذي

يظهر نشاطًا مثبطًا ضد ثلاثة أنواع: *S. epidermidis, S. saprophiticus , S. aureus.* بالإضافة إلى ذلك فإن نبتة التقوفت لديها أيضًا خصائص مضادة للفطريات ، فقد درس Kyeong ومساعدوه (2007) تأثير المستخلص المائي لجذور هذه النبتة على فطريات الـ mycorhize، فبينت النتائج أن المستخلص المائي لديه نشاط مضاد للفطريات. النباتات من جنس الـ *Artemisia* تحتوي على sesquiterpène lactone يسمى: الارتيميسينين Artemisinin ، وهذا العنصر هو المستقلب الثانوي الأكثر أهمية في جميع أنواع *Artemisia* ، فهو يعتبر دواء فعال جدًا ضد الطفيلي الذي يسبب الملاريا *Plasmodium falciparum* (Donrop et Day., 2007). الأرتيميسينين لديه أيضًا العديد من التأثيرات ، وهو فعال ضد الأمراض المعدية مثل إلتهاب الكبد (Romero et *al.*, 2005).

1- 8- 5-3- النشاط المبيد للحشرات :

أجريت دراسة حديثة أجرتها Pavela في (2009) حيث تم اختبار المستخلص الميثانولي للجزء الهوائي لـ *A. campestris* لأجل إثبات تأثير هذا المستخلص على نوع من أنواع البعوض و هي إناث بالغة لنوع *Culex quinquefasciatu* حيث أظهرت النتائج تأثيرًا منفرًا ضد هذه الحشرات الناقلة للعديد من الأمراض مثل الملاريا.

1- 8- 5-4- الخصائص الاليلوباتية (**Propriétés allélopathiques**) :

النباتات من جنس الـ *Artemisia* لها خصائص أليلوباتية فهي تثبط إنتاش ونمو بعض النباتات المتواجدة في نفس المحيط معها، وهذه الخصائص ربما بسبب وجود حمض الفينول (acide phénolique)، و مكونات أخرى قطبية (Kyeong et *al.*, 2007).

1- 8-5-5-النشاط المخفض لسكر الدم :

Sefi و مساعدوه (2010) وجدوا أن المستخلص المائي لأوراق الـ *A campestris* ، يقلل من تركيز الجلوكوز في بلازما الفئران التي يسببها مرض السكري الذي سببه الـ alloxane monohydrate ، ووجدوا أيضًا أن انخفاض تركيز الجلوكوز يرافقه من ناحية انخفاض في نسبة الدهون الثلاثية triglycérides واللبوبروتينات lipoprotéines المنخفضة الكثافة (LDL) ، ومن ناحية أخرى زيادة في مستوى الأنسولين ، وهذا قد يمنع مضاعفات مرض السكري.

1- 8- 5-6- التأثير المضاد للسمّية :

تم إختبار أربع مستخلصات لأوراق الـ *A . campestris* (خلات الإيثيل، الإيثانول، الميثانول و ثنائي كلورو ميثان diclorométhane) لأظهار قدرتها على معادلة neutralisation سم العقرب و الأفعى، وأظهرت النتائج أن مستخلص الايثانول يحول دون تفكك خلايا الدم الحمراء بسبب سم العقرب من نوع *Androctonus australis garzonii* ، وقد تم الحصول على نتائج مشابهة لمستخلص ثنائي كلورو ميثان في تثبيط سم أفعى من نوع *Macrovipera lebetina* (Memmi et *al.,* 2007).

1- 8- 6- التركيب الكيميائي :

كشفت العديد من الدراسات الكيميائية أن الجزء الخضري لنبتة *Artemisia campestris* غنية بالمركبات الثانوية مثل البوليفينولات (les polyphénols) ، الفلافونويدات (les flavonoïdes)، حموض الدباغ والزيوت الأساسية (Joa et *al.,* 1998 ; Juteau et *al.,* 2002). التركيب الكيميائي للنبتة يختلف حسب الـ chimiotype (Bruneton, 1999)، ويختلف أيضًا حسب الظروف الجغرافية والمناخية (درجة الحرارة والإرتفاع عن سطح البحر، كمية الأمطار، وإتجاه الرياح، ساعات سطوع الشمس...) وحسب عمر النبتة (Jerkovic et *al.,* 2003). بينت العديد من الدراسات التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية لـ *Artemisia campestris*، حيث تم تحليل الزيت الأساسي بواسطة الدمج بين الكروماتوغرافيا الغازية و المطيافية الكتلية (GC- MS) .

Juteau et *al* (2002) حددوا وعرفوا 51 مركب من الزيوت الأساسية لـ *Artemisia campestris* من كامارغ Camargue (مرسيليا، فرنسا)، الأكثر تواجدًا منها هي : γ-terpinène ، capillène ، 1-phenyl-2,4-pentadiyne ، spathulenol ، methyleugenol ، p-cymène و β-pinène.، بينما Akrout et *al* (2001) وجدوا أن المكونات الأكثر حضورًا في نوع من تونس هي : β-pinène (24,2- 27,9 %)، p-cymène (17.4- 22.3 %) و α-pinène (4.1 - 11.0 %)، وهذه المكونات تمثل أكثر من 45 ٪ من إجمالي الزيوت الأساسية. أما مركبات الفلافونويد التي تم تحديدها في الـ *Artemisia campestris* فهي : flavone (apéginie) ، flavonol (kaempférol 7-méthyle)، flavanone (naringénine)، dihydroflavonols (taxifoline-7-méthyle) (Valant et *al.,* 2003). الجدول- 01- يبين الفلافونويدات المعرفة في نبتة الـ *Artemisia campestris* .

الجدول 01 : مركبات الفلافونويد الرئيسية الموجودة في *Artemisia campestris*

الفلافونويدات	المراجع
. **– Flavanone**: 5, 8, 4'-trihydroxyflavanone	- Rauter et *al .,* 1989.
– Acétophénone: 3-acetyl-4-hydroxyacétophénone.	- Hurabielle et *al .,*1982
– Flavones: 5, 7-dihydroxy-3, 4'-dimethoxyflavone.	- Ferchichi et *al .,* 2006
. **– Flavonol**: Kaempférol-7méthyl	-Valant-V et *al .,* 2003
– Dihydroflavonol: 7-methyl aromadendrin.	- Hurabielle et *al .,* 1982

تحتوي أوراق الـ *Artemisia campestris* أيضًا على قلويدات (alcaloïdes) و مركبات الصابونين (saponines) ، (Naili et *al .,* 2010).

الفصل الثاني

2- الزيوت الأساسية

2- الزيوت الأساسية :

2-1-تعريف الزيوت الأساسية :

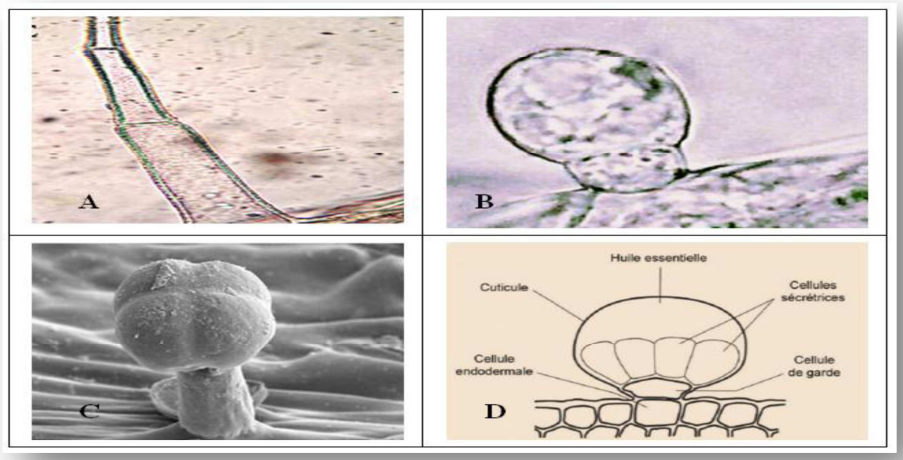
مصطلح الزيوت الأساسية huiles essentielles (HES) مستمد من الإسم " quinta essentia" ، الذي أعطاه الطبيب Paracelsus للمستخلصات النباتية السويسرية التي حصل عليها بواسطة عملية التقطير، يعني هذا الإسم عطر و جوهر النبات (Hart et *al.*, 2008) على عكس ما قد يوحي المصطلح به، فإن الزيوت الأساسية لا تحتوي على الدهون، وليست " أساسية " معنى أنها ضرورية للنمو أو الأيض فهي عبارة عن مركبات عطرية طيارة ، والتي لها مظهر زيتي، ويتم الحصول عليها من النباتات العطرية بواسطة العديد من طرق الإستخلاص (Burt, 2004)، وهي قابلة للذوبان في الدهون والمذيبات العضوية، و كثافتها أقل من كثافة الماء (Bakkali et *al.*, 2008) تتشكل الزيوت الأساسية في كثير من النباتات كمنتجات أيض ثانوية . لها خصائص وأساليب إستخدام محددة أعطت بذلك فرعًا جديدا في التداوي بالأعشاب la phytothérapie: وهو طب الروائح l'aromathérapie. تتواجد الزيوت الأساسية في البروتوبلازم le protoplasme على شكل مستحلب وهي تميل إلى التجمع في قطرات كبيرة الحجم (Binet et Brunel, 1968).

حوالي 3000 زيت أساسي تم تحديدها، منها 300 فقط مهمة تجاريًا و هذا بفضل نشاطاتها البيولوجية كمضادات للميكروبات، الفطريات و الطفيليات، ولأجل رائحتها . تستخدم الزيوت الأساسية في المجال الصيدلاني، الغذائي، ومستحضرات التجميل... و يمكن لزيت أساسي واحد أن يكون له استخدامات متعددة (Bakkali et *al.*, 2008).

2-2- مكان تواجدها في النبتة :

في النبتة، يمكن للزيوت الأساسية أن تخزن في مختلف الأعضاء مثل: الأزهار (origan)، الأوراق (citronnelle, eucalyptus)، واللحاء (cannelier)، الخشب (bois de rose, santal)، الجذور (vétiver)، الريزومات (acore)، الفواكه (badiane) أو في البذور (carvi) (Bruneton, 1987). تصنيع و تجميع الزيوت الأساسية يرتبط عادة بوجود بنية نسيجية متخصصة، الشكل 01 فالزيوت الأساسية يتم تصنيعها في سيتوبلازم الخلايا الإفرازية ثم تتجمع في خلايا غدية مغطاة بالكيوتكيل cuticule, إن

شكل و عدد البنيات النسيجية الإفرازية يختلف من عائلة نباتية إلى أخرى و حتى من نوع إلى آخر و يمكن لعدة فئات من الأنسجة الإفرازية التواجد في نفس النوع (Karray *et al.*, 2009).



الشكل 01 : الأنماط المختلفة للبنيات المسؤولة عن تشكل الزيوت الأساسية (**A**): poil sécréteur النعناع *Mentha pulegium*، (**B**): trichome glandulaire النعناع *Mentha pulegium* ، (**C**): trichome glandulaire لـ *Lippia scaberrima*، (**D**): بنية trichome glandulaire لـ *Thymus vulgaris* (Karray *et al.*, 2009 ; Combrinck *et al.*, 2007).

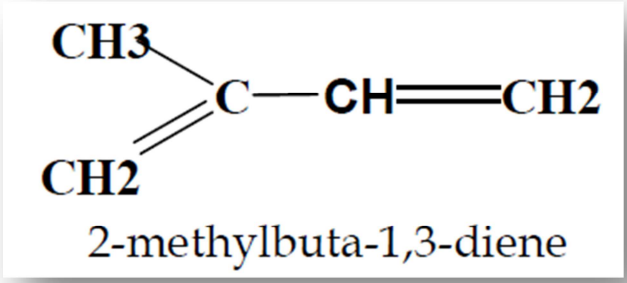
2-3- كيمياء الزيوت الأساسية :

الزيوت الأساسية هي خليط معقد من المركبات الكيميائية التي قد تحتوي على أكثر من ستين مكون مختلف، من بينها مركبين أو ثلاثة تمثل المكونات الرئيسية لها حيث تكون نسبتها في الخليط من 20 إلى 70٪، أما المركبات الأخرى فغالبًا ما تكون على شكل آثار، على سبيل المثال، الـ carvacrol و thymol هما المكونين الرئيسيين لزيت *Origanum compactum*، وlinalool هو المكون الرئيسي لزيت *Coriandrum sativum*، بينما menthol و menthone في زيت *Mentha piperita* . عمومًا هذه المكونات الرئيسية تحدد الخصائص البيولوجية للزيت الأساسي المكونة له (Bakkali et *al.*, 2008).

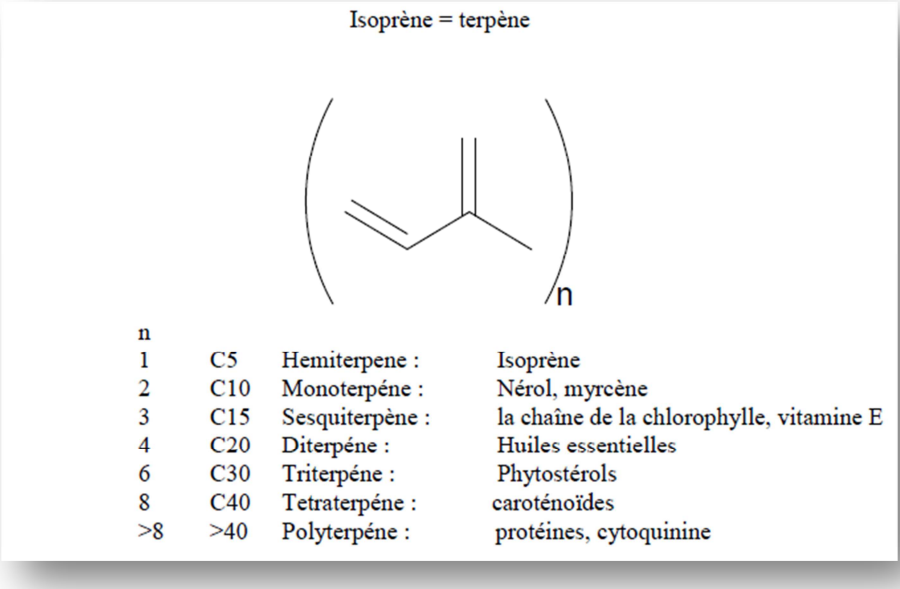
معظم مكونات الزيوت الأساسية تتواجد في مجموعتين هما: التربينات les terpénoïdes والمركبات العطرية phénylpropanoïdes، المجموعتين يتم تصنيعهما خلال مسارين منفصلين (Amlan et Patra, 2010 ; Calsamiglia et *al.*, 2007).

2-3- 1- التربينات Les terpénoïdes :

تم تعريفها على أنها المجموعة الأكثر تنوعًا في المركبات الثانوية لدى النباتات، وهي مشتقة من بنية خماسية الكربون (C_5H_8) ، وتسمى عادة الإيزوبرين، الشكل 02، ووفقًا لعدد وحدات الإزوبرين المتكررة، تصنف التربينات إلى (C10) monoterpénoïde ، sesquiterpénoïdes (C15)، diterpénoïdes (C20). في الزيوت الأساسية تشكل monoterpénoïdes و sesquiterpénoïdes الغالبية العظمى، الشكل 03 (Benchaar et *al.*, 2008 ; Calsamiglia et *al.*, 2007).



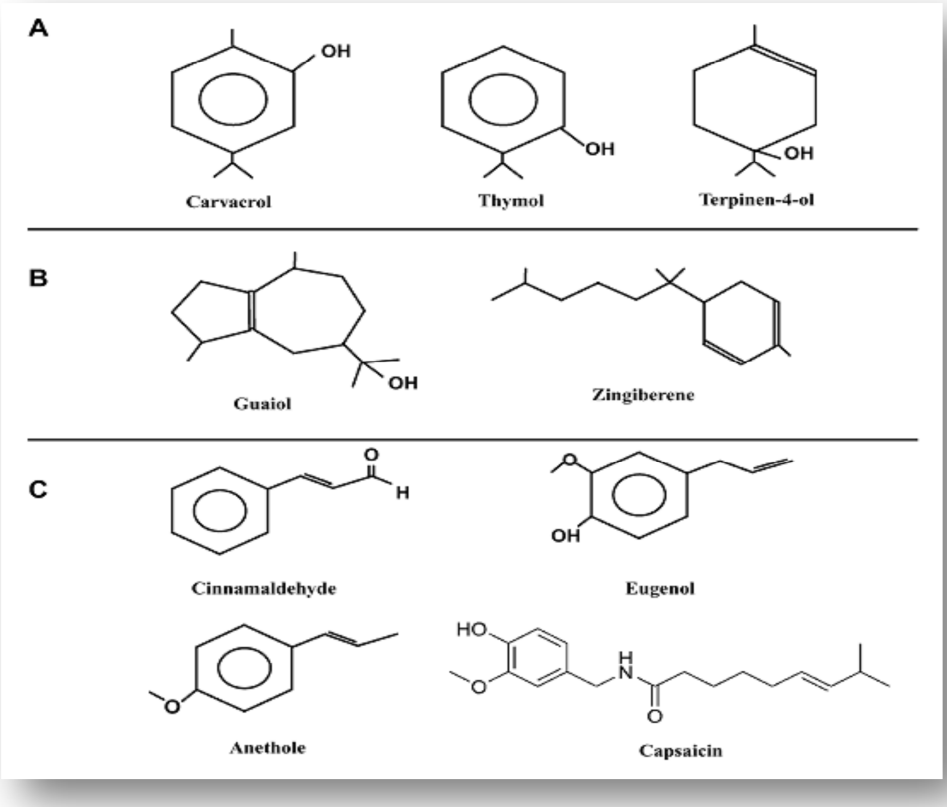
الشكل 02 : وحدة الإزوبرين unite isoprénique



الشكل 03 : تصنيف التربينات وفقًا لعدد وحدات الإزوبرين الداخلة في تركيبها.

2-3- 1- المركبات العطرية phénylpropanoïdes :

أقل تواجدًا في الزيوت الأساسية مقارنة بالتربينات .ومع ذلك ، فإن بعض النباتات لديها نسب كبيرة منها . phénylpropanoïdes مشتقة عادة من الحمض الأميني الفينيل ألانين phénylalanine . فهي تتكون من سلسلة كربونية مرتبطة بحلقة عطرية سداسية الكربون ، الشكل – 04- يوضح بنية بعض المركبات الداخلة في تكوين الزيوت الأساسية ، (Sangwan et *al.*, 2001).



الشكل 04 : بنية بعض مركبات الداخلة في تركيب الزيوت الأساسية

(**A**): monoterpénoïdes ، (**B**): sesquiterpénoïdes ، (**C**): phénylpropanoïdes (Calsamiglia et *al.*, 2007).

2-4- الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيوت الأساسية :

الزيوت الأساسية سائلة في درجة حرارة الغرفة، و تتميز بكونها طيّارة ، وهذا ما يميزها عن الزيوت الثابتة (Guignard et Cosson, 1985). نادرًا ما تكون الزيوت الأساسية ملونة، و كثافتها عمومًا أقل من

كثافة الماء (الزيوت الأساسية لـ .girofle و cannelle تشكل إستثناءات) . الزيوت الأساسية لديها معامل إنكسار عالي وهي قادرة على تحريف وتشتيت الضوء المستقطب .

2-4- 1- القابلية للذوبان في المذيبات العضوية:

الزيوت الأساسية قابلة للذوبان في المذيبات العضوية، فهي تذوب في الدهون Liposolubles (Bruneton, 1993 ; Guignard. et Cosson, 1985). وهي أيضًا قابلة لسحب بواسطة بخار الماء Entraînables à la vapeur d'eau ، و ذوبانها ضعيف جدًا في الماء ومع ذلك، فهي تعطي لهذا الماء رائحة مميزة مشكلة ما يسمى بالماء العطري eau aromatique (Bruneton, 1993).

2-5- إستخدامات الزيوت الأساسية :

هذه المنتجات الطبيعية ذات أهمية كبيرة لكثير من القطاعات مثل:

- **الصيدلة:**

يمكن استخدامها على النحو التالي:

- ✓ تنكيه الأدوية التي تؤخذ عن طريق الفم (Ziming et *al.,* 2005).
- ✓ لأجل تاثيراتها الفيزيولوجية (Verveine, Menthes) (Paris et Hurabielle ,1981).

- **في الصناعة :**

- ✓ **صناعة العطور و التجميل:**

العديد من العطور أصلها طبيعي، وبعض الزيوت الأساسية تشكل أساس العديد منها :Rose الورد ، Jasmine الياسمين ،Vétiver ، Ylang-ylang ، ....الخ (Paris et Hurabielle ,1981).

- ✓ **التغذية :**

تستخدم الزيوت الأساسية مثل (زيت الليمون ، النعناع والقرنفل) بكثرة في إعطاء نكهة للأطعمة (jus de fruits ،pâtisserie) (Ziming et *al.,* 2005 ; Paris et Hurabielle ,1981).

2-6- النشاط البيولوجي للزيوت الأساسية :

للزيوت الأساسية خاصية علاجية وتطهيرية مهمة، ففي القرون الأخيرة أجريت العديد من الدراسات العلمية التي إهتمت بهذه الخصائص (Kaloustian, 2008)، وقد تم التوصل إلى العديد من النتائج الهامة، مثلًا:النباتات Sarriette، Cannelle، Thym ، Girofle، Lavande، Eucalyptu ، تحتوي في زيوتها الأساسية على المركبات: thymol،géraniol،citral،linalol، التي تملك خاصية ضد تعفنية مضاعفة بـ 2 ،5 ،7، 20 مرة على التوالي من الفينول phénol (Bruneton, 1999).

أشار Lamendin et *al.*, (2004) أن مغلي البابونج Camomille استعمل كمهدئ واستخدم الزيت الأساسي له كمضاد للإلتهاب وكمسكن ومهدئ للجهاز العصبي، كما استعمل Clou de girofle سنة 1623 في فرنسا في طب الأسنان كمطهر ومسكن للألم، استعمل الثوم وبنفسج الثالوث البري Pensée ضد تصلب الشرايين (Rubin, 2004)، هذا وقد أكدت العديد من الدراسات أن للكثير من الزيوت الأساسية خاصية ضد تأكسدية مثل نباتات جنس Menthe (Delfine et *al.*, 2005).

معظم الزيوت الأساسية التي تحتوي على التربينات لها قدرة كبيرة ضد ميكروبية، كما أنها مسكنة للألم منشطة للقلب ومساعدة على الهضم، كما يستعمل الزيت الأساسي للقرفة كمنشط عام والزيت الأساسي للكالبتوس كمطهر رئوي، والزيت الأساسي للقرنفل كمساعد على الهضم وكمطهر للإستعمال الخارجي ...(Rubin, 2004)، كما أن الزيت الأساسي لـ Ascardiol طارد للديدان والطفيليات (حجاوي و آخرون ، 2004).

2-6-1- النشاطية ضد بكتيرية : أظهرت الكثير من الدراسات أن كل من النباتات : *Thymus vilgaris*، Origan d'Espagne، *Cinnamomum zeylanicum* ، *Eugenia caryophyllata* لها نشاطية ضد بكتيرية كبيرة ومهمة خاصة ضد البكتيريا المسببة لإمراض الجهاز التنفسي وأمراض الجهاز الهضمي مثل *Salmonella enterica* و*Escherichia coli* (Kaloustian, 2008).

أجرى Erturk (2006) دراسة لمعرفة نشاطية 11 زيت أساسي على خمسة سلالات بكتيرية باستعمال طريقة التخفيف وعلى فطرين باستعمال طريقة أقراص الإنتشار على الأغار ، وقد أعطت نتائج مختلفة لكنها أكدت أن الزيوت الأساسية لها تأثير على نوع واحد على الأقل من البكتيريا كما قام Koné et

al (2004) ، بدراسة الزيوت الأساسية لـ 50 نبتة طبية وتأثيرها على 6 سلالات من البكتيريا بإستعمال طرقتي : microdilution en milieu liquide والإنتشار على وسط صلب بالأقراص وقد كانت النتائج إيجابية، حيث وجد 31 مستخلص زيتي كان له تاثير ضد بكتيري على البكتيريا الموجبة الغرام.

2-6-2- النشاطية ضد فطرية Activité Antifongique :

حسب Mohammedi (2006) فإن المركبان : thymol و carvacrol يملكان نشاطية ضد بكتيرية و فطرية ، من جهة أخرى الزيت الأساسي للنوع *Mentha pulegium* الذي يحتوي على R(+) pulégone بنسبة 82 % يملك نشاطية كبيرة ضد الفطرين *Pénicilium* و*Mucor* .

2-6-3- النشاطية ضد حشرية Activité contre les insects :

ذكر حجاوي وآخرون (2004)، أن زيت Citronellol طارد للحشرات كالبعوض. في حين أكد Benayad et *al* (2007)، في دراسته للزيت الأساسي لـ *Mentha pulegium*، أن لهذا الأخير نشاطية ضد الحشرات (*Sitophilus oryzae* ، *Rhyzopertha dominica*)، التي أبيدت بالكامل خلال 24 ساعة.

2-7- آلية عمل الزيوت الأساسية :

العديد من النظريات وضعت لتفسير الآلية التي تعمل بها الزيوت الأساسية كمضادات ميكروبية . التكوين المعقد للزيوت الأساسية يميل إلى إثبات أن هذا النشاط يرجع إلى عدة آليات مختلفة، تتعلق بطبيعة هذه المركبات الكيميائية (Burt, 2004; Carson et *al.*, 2002; Skandamis et *al.*, 2001) ، وتعزى معظم هذه الآليات إلى تفاعل مكونات الزيوت الأساسية مع غشاء الخلية (Benchaar et *al.*, 2008).

الزيوت الأساسية تتكون من جزيئات قابلة لذوبان في الدهون لذلك فهي قادرة على اختراق الغشاء الخلوي المتكون من طبقة مزدوجة من الفوسفوليبيدات، تراكم هذه الجزيئات بين الفوسفوليبيدات يؤدي إلى تغير متعلق بتكوين غشاء الخلية وإلى خلل، وتعطيل لآليات نقل المواد المغذية بواسطة الغشاء الخلوي (Sikkema et *al.*, 1994; Ultee et *al.*, 1999).

كما يمكن أيضًا للزيوت الأساسية تشويش التدرج الأيوني على جانبي الغشاء السيتوبلازمي مما يقلل من إستقراره و تعطيل النقل الغشائي ومع ذلك ، فبعض البكتيريا قادرة على مواجهة هذا التأثير باستخدام مضخة الأيونات ، مع تباطؤ في سرعة نموها بسبب استنزاف طاقتها في هذه المضخة (Cox et *al.*, 2001 ; Griffin et *al* ., 1999 ; Ultee et *al* ., 1999).

آلية أخرى مقترحة لتفسير تأثير هذه الزيوت الأساسية تركز على مجموعة الهيدروكسيل المتواجدة في الفينولات، مثل carvacrol، التي من شأنها أن تصبح بمثابة ناقل للكاتيونات والبروتونات الأحادية التكافؤ عبر الغشاء، وهذا التأثير يشوش التدرج الأيوني لأغشية الخلايا الجرثومية وبالتالي وظيفتها (Ultee et *al* ., 2002).

الزيوت الأساسية المستخلصة من القرفة و الثوم يمكن أن تثبط النشاط الأنزيمي لـ bactéries du rumen مثل *Enterobacter aerogenes* . زيوت أساسية أخرى تمنع نمو الميكروبات عن طريق التأثير على الأحماض النووية (Calsamiglia et *al.*, 2007).

تأثير الزيوت الأساسية يعتمد أيضًا على طبيعة الكائنات الدقيقة المستهدفة. البكتيريا الإيجابية الغرام هي الأكثر حساسية لتأثير الزيوت الأساسية مقارنة بالبكتيريا سالبة الجرام .هذا يمكن تفسيره بوجود الغشاء الخارجي في البكتيريا سالبة الجرام، الذي يعمل كحاجز قادر على خفض نفاذية المركبات الكارهة للماء (Calsamiglia et *al.*, 2007)، ومع ذلك يمكن للجزيئات منخفضة الوزن الجزيئي مثل thymol و carvacrol عبور هذا الحاجز (Ultee et *al* ., 2002 ; Dorman et Deans , 2000).

2-8- سمية الزيوت الأساسية:

هذا الجانب من المعرفة له أهمية كبيرة. فالسمية المزمنة toxicité chronique للزيوت الأساسية ليست معروفة جيدًا، كما نفتقر للبيانات المتعلقة باحتمالية وجود خصائص لهذه الزيوت تسبب الطفرات propriétés mutagènes ، أو تسبب السرطان cancérogènes ، ولكن خطر السمية الحاد toxicité aigue معروف جيدًا و خاصة عند ابتلاع كميات كبيرة من الزيوت الأساسية، التي تتسبب مثلًا في تسمم الأعصاب la neurotoxicité و هذا لإحتوائها على thuyone (thuya ، absinthe ، tanaisie ، officinale، sauge)، أو pinocomphone (hysope) : هذه الكيتونات تسبب أزمات تشبه الصرع épileptiformes و tétaniformes ، تسبب إضطرابات نفسية و حسية و التي تتطلب العلاج

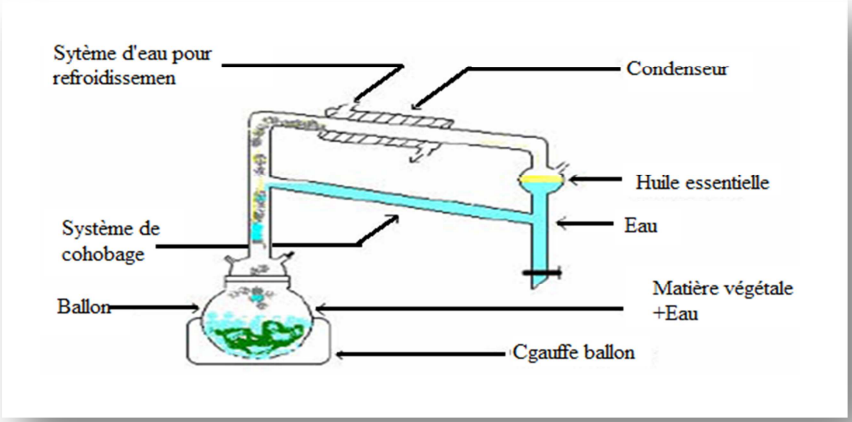
بالمستشفيات. وهناك تربينات أحادية monoterpène هي الأخرى سامة عند ابتلاعها بجرعات عالية مثل :camphre ، menthol (خطر تشنج في لسان المزمار glotte عند الأطفال الصغار) ، cineole ، E-anéthole. هذه السمية التي لايمكن تجاهلها تجعلنا نتخذ موقفًا حذرًا عند استخدامنا للزيوت الأساسية وخاصة في تناولها عن طريق الفم و في صفتها النقية وبتراكيز عالية (Bruneton, 1993).

2-9- طرق إستخلاص الزيوت الأساسية :

يتم استخلاص الزيوت الأساسية بواسطة العديد من الطرق نذكر أهمها: التقطير المائي، التقطير ببخار الماء، الإستخلاص بالضغط البارد، الإستخلاص بواسطة المذيبات العضوية...

2-9-1- التقطير المائي hydrodistillation :

التقطير المائي hydrodistillation ، هي طريقة مضبوطة normée من قبل AFNOR لاستخلاص الزيوت الأساسية، وكذلك لمراقبة الجودة (Maisonneuve , 1996)، حيث يتم غمس المادة النباتية المراد استخلاص الزيت الأساسي لها في الماء ، ثم يتم اخضاع الكل للحرارة حتى الغليان (الشكل- 05-). الحرارة المرتفعة تسمح بانفجار الخلايا النباتية وتحرير الجزيئات العطرية، هذه الجزيئات العطرية تشكل مع بخار الماء، خليطًا ازوتروبيًا mélange azéotropique. التقطير المائي يمكن أن يكون مع أو بدون إعادة تدوير للماء، ويسمى مبدأ إعادة التدوير عادة بـ cohobage. في المختبر النظام المزود بـ cohobe و الذي يستخدم عادة لاستخراج الزيوت الأساسية والمتوافق مع la Pharmacopée Européenne هو الكليفنجرClevenger مدة التقطير المائي hydrodistillation يمكن أن تتغير بشكل كبير، حيث قد تبلغ عدة ساعات وهذا يعتمد على المعدات المستخدمة و المواد النباتية المراد علاجها، مدة التقطير لا تؤثر فقط على المردودية ولكن أيضًا على تركيبة المستخلص.



الشكل 05 : جهاز Clevenger ، المستخدم في عملية التقطير المائي (Bourrel, 1993)

2-10- العوامل التي تؤثر على جودة الزيوت الأساسية :

العوامل التي تتحكم في نوعية الزيوت الأساسية يمكن أن يكون لها مصدرين :

- المصدر التكنولوجي
- المصدر الطبيعي

يمكن أن تحدث تغيرات كبيرة في الزيت الأساسي من بداية جمع النباتات إلى غاية استخلاصها (Garnero, 1985). فطريقة الحصاد، وظروف النقل، التخزين و التجفيف يمكن أن تولد des dégradations enzymatiques ، تحدث التغييرات الأكثر أهمية خلال عملية التقطير المائي تحت تأثير ظروف العمل، خاصة المتعلقة بالوسط (درجة الحموضة، درجة الحرارة) والوقت اللازم لعملية الإستخلاص .

تتدخل عوامل أخرى أيضًا مثل تلك الإجراءات التي يمكن القيام بها قبل أو أثناء عملية التقطير المائي (كالطحن broyage ، dilacération ، dégradation chimique ou enzymatique ، pression ، agitation) تساهم في اختلاف مردود وجودة الزيت الأساسي (Richard et Peyron, 1992). خلال التقطير، الوسط المائي الناتج عن غمس النبتة تصل درجة الحموضة فيه ما بين 4 و 7 وأحيانًا أقل من 4 بسبب بعض الفواكه (Koedam, 1987)، مكونات هذا الوسط تتعرض للحرارة و للوسط الحمضي،

مما قد يؤدي إلى تغييرات كيميائية . الزيوت الأساسية المستخلصة تختلف كثيرا عن جوهر الأصلي l'essence originelle، خصوصًا أذا كانت مدة الغليان طويلة، و درجة الحموضة منخفضة (Morin et Richard, 1985).

المادة النباتية تخضع لتفاعلات كيميائية مختلفة : hydrolyses ، déprotonations، hydratations و cyclisations (Morin et Richard, 1985)، يمكن أن تحفزها معادن موجودة بكميات ضئيلة في النباتات(Koedam 1987) أو آتية من معدات الجمع و الإستخلاص مما يتسبب بتحولات كيميائية للمكونات، إماهة (l'hydrolyse) الإسترات غالبًا ما يكون أول تفاعل يحدث، فيؤدي ذلك إلى تكوين الأحماض العضوية acides organiques والتي بدورها تحفز تفاعلاتcyclisation و déshydratation (Teisseire, 1987).

للحد من هذه المشاكل ، Morin و Richard (1985) دعا إلى الحفاظ على pH معتدل و تقليل مدة التقطير المائي hydrodistillation ، على الرغم من أنه من المعروف أن تفكك المواد النباتية يحث على تشكيل الحموضية .

قد تكون العوامل الطبيعية متعلقة بداخل النبتة intrinsèques مثل التركيب الجيني للنباتات أو خارجية extrinsèques ، تتعلق بالشروط التي تنمو وتطور فيها النباتات (Morin et Richard, 1985).

مردود و تركيب الزيوت الأساسية يختلفان تبعًا للبيئة (درجة الحرارة، الملوحة و هطول الأمطار ...) ، وفترة الحصاد (الموسم ، مرحلة النمو)، و حالة النبتة (طازجة أو مجففة) و تقنية الإستخلاص المستعملة (hydrodistillation، entrainement à la vapeur d'eau، extraction par solvant ...) وتلاحظ أيضًا الإختلافات بين الزيوت الأساسية المستخلصة من أجزاء مختلفة لنفس النبات (الأوراق، الأزهار، السيقان، البذور والجذور) (Dorman et Deans, 2000 ; Dudareva et *al.*, 2004) ، مثلًا الزيوت الأساسية المستخلصة من أوراق الكزبرة coriandr (*Coriandrum sativum*) تختلف عن الزيوت النباتية المستخلصة من بذور النبتة نفسها (Delaquis et *al.*, 2002) .

الجزء التطبيقي :

الفصل الثالث

3-المواد والطرق المستعملة

3- المواد والطرق المستخدمة :

3-1 - المادة النباتية :

تم الحصول على العينة النباتية لـ *Artemisia campestris* (الجزء الهوائي) في مرحلة الإزهار، الشكل -06-، في شهر نوفمبر 2013 (2013/11/2)، من منطقة آريس، الواقعة في الجنوب الشرقي لولاية باتنة، تم تجفيف الجزء الهوائي للنبتة في الظل لمدة أسبوع قبل الإستعمال، وقد تم التعرف على العينة النباتية في قسم البيولوجيا والبيئة النباتية بجامعة سطيف ،وتم حفظ عينة مرجعية في المخبر.

أ):

ب):

الشكل- 06-: صور فوتوغرافية لنبتة *Artemisia campestris*. **أ**): النبتة في بيئتها الطبيعية. **ب**): صورة تبين الشكل الخارجي للنبتة.

3-2 - أوساط الزرع :

- وسط MH -Meuller Hinton.
- المرق المغذي le bouillon nutritif.

3-3 – المضادات الحيوية : تم الحصول عليها من معهد باستور بالجزائر العاصمة ، استعملت كشاهد ايجابي وهي : **Gentamicine (GM)** Chloramphénicol **(C)** ، Erythromycine**: (E)** . Penicilline**:(P)**، Oxacilline**:(OX)** .

3-4 – السلالات البكتيرية :

استعملت أربع سلالات بكتيرية مرجعية (ATCC) American Type Culture Collection ،وهي: *Escherichia coli* ATCC 25922، *Bacillus subtilis* ATCC *66331* ، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

3-5 – المذيبات :

- الديميثيل سلفوكسيد Dimethyl sulfoxide (DMSO)
- التوين Tween 80 .
- الميثانول.

3-6- الملونات :

- أخضر اليود Vert d'iode
- الكارمن الشبي Carmin aluné.

3-7 – المواد الكيميائية :

- DPPH (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) على شكل مسحوق.
- BHT على شكل مسحوق.
- محلول حمض الخل.
- ماء جافيل.

3-8 – الأجهزة :

- جهاز كليفنجر.
- مجهر ضوئي.
- جهاز .spectrophotometer

3-9 – طريقة العمل :

3-9 -1 – تحضير المقاطع النباتية للدراسة التشريحية :

تم إجراء المقاطع على أجزاء نباتية فتية تشمل: الساق والأوراق للنبتة *A. campestris* وذلك بواسطة ميكروتوم يدوي حسب المراحل التالية

1. استخدام البيلسان (bois du sureau) لانجاز مقاطع دقيقة ،وذلك بوضع الورقة بين شطري لب البيلسان وفي حالة الساق وضعها في ثقب ننجزه في لب البيلسان.
2. انجاز العديد من المقاطع لكل من الساق والورقة
3. وضع المقاطع في مصفاة خاصة والتي بدورها نكون موضوعة في حوض به ماء مقطر لتجنب جفاف المقاطع وذلك لحين استخدامها.
4. تلوين المقاطع باستخدام طريقة التلوين المضاعف (بوغديري، 2000) وفق المراحل التالية
   - وضع المقاطع في ماء جافيل لمدة 20 دقيقة.
   - تغسل بعد ذلك جيدا بواسطة الماء المقطر.
   - وضع المقاطع في حمض الخل المخفف (10%) مدة 02 دقيقة.
   - الغسل الجيد بالماء المقطر.
   - توضع المقاطع في أخضر اليود من 02 دقيقة إلى 03 دقائق.
   - الغسل الجيد بالماء المقطر.
   - توضع المقاطع في الكارمن الشبي مدة 15-20 دقيقة
   - الغسل الجيد بالماء المقطر.

3-9 -2 - استخلاص الزيت الأساسي للنبتة :

تم استخلاص الزيت الأساسي باستخدام جهاز التقطير المائي الذي يدعى كليفنجر (Clevenger) ، الشكل-07-، حيث يعتمد التقطير المائي على قدرة بخار الماء حمل الزيت الاساسي للنبات، فبعد تقطيع النبتة إلى قطع صغيرة، توضع هذه الأخيرة في دورق زجاجي (سعته 05 لتر) به ماء مقطر- يملأ ثلثين من حجم الدورق على الأكثر – لتجنب فوران الخليط.

تحت تأثير منبع حراري يغلي الماء المقطر ويتبخر، حاملا معه الزيت الأساسي فينتقل عبر أنبوبة تمر عبر جهاز تبريد الذي يتسبب في تكثيف بخار الماء المشبع بالزيت، فتتكون قطيرات صغيرة وتتراكم بأنبوبة بها ماء مقطر، وبسبب الفرق الموجود بين كثافة الماء المقطر والزيت الأساسي يبقى الزيت طافيا فوق سطح الماء المقطر، عملية التقطير تستغرق مدة 03 ساعات بعد غليان الماء المقطر. يجمع الزيت الأساسي في قارورة معتمة زجاجية، يتم التخلص من كمية الماء التي من الممكن ان تتبقى أسفل القارورة بواسطة سولفات الصوديوم ، تحفظ القارورة بعيدا عن الضوء وفي درجة حرارة تتراوح ما بين 4- 6 م^{0}.

الشكل -07- : جهاز الكليفجر المستخدم لاستخلاص الزيت الأساسي للنبتة الـ *A.campestris* .

3-9 -2 -1- حساب مردود الزيت الأساسي :

مردود الزيت الأساسي هو النسبة بين كتلة الزيت الأساسي المستخلصة وكتلة النبتة قبل الإستخلاص (Carré, 1953).

يحسب مردود الزيت المستخلص حسب العلاقة التالية: **م = ك الزيت/ ك النبتة x 100**

م: مردود الزيت الأساسي المستخلص %.

ك الزيت : كتلة الزيت الأساسي المستخلصة بالغرام.

ك النبتة : كتلة النبة قبل الإستخلاص بالغرام.

3-9 -3 – اختبار النشاطية الضد بكتيرية للمستخلص الزيتي :

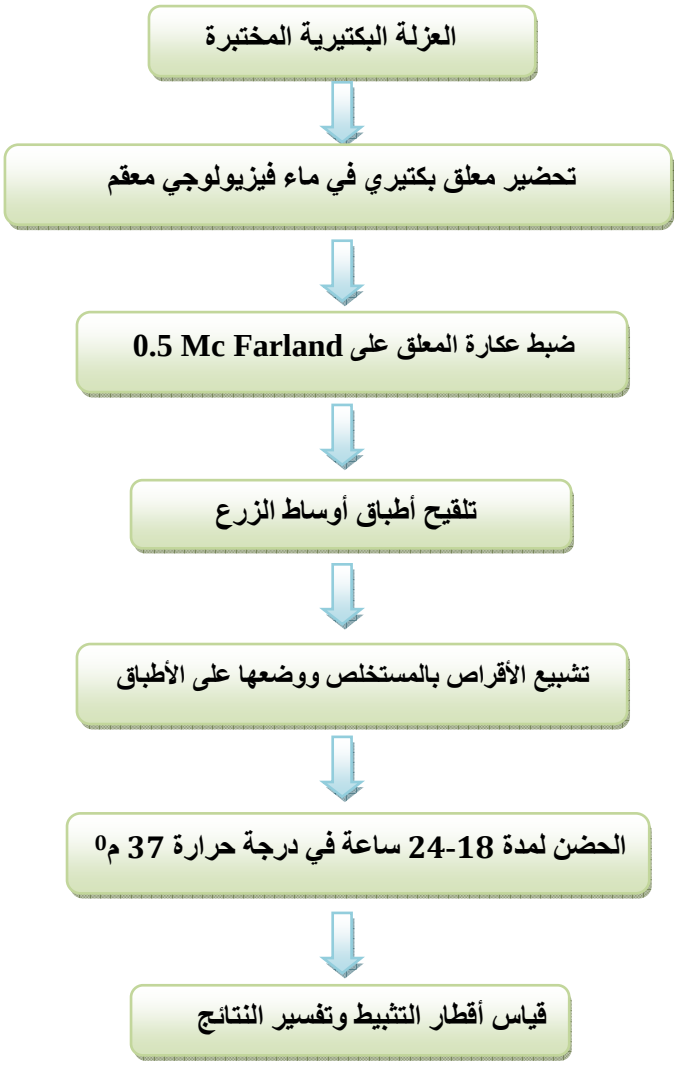
– طريقة التماس المباشر والإنتشار على وسط صلب بالأقراص:

حسب Belaiche (1979)، يتم تقييم نشاطية اي مادة كيميائية أو طبيعية ، على الأحياء الدقيقة بنوعين من الدراسة – نوعية وكمية– اقتصرنا نحن على الدراسة النوعية فقط

- **الدراسة النوعية :**

تتمثل في اختبار حساسية الكائن الدقيق للمادة المضادة له ، لهاذا الغرض تستعمل العديد من الطرق والتقنيات، أهمها تلك التي تعتمد على انتشار المادة المختبرة داخل وسط الزرع الصلب والطريقة المستعملة بشكل واسع هي طريقة الأقراص. لاختبار النشاطية ضد البكتيرية للزيت الأساسي لـ A.campestris تم اتباع طريقة التماس المباشر والانتشار بالأقراص المقترحة من طرف :

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) والخاصة باختبار المضادات الحيوية (antibiogrammes) مع استبدال المضادات الحيوية بالزيوت الأساسية (aromatogrammes)، (Rahal, 2005) . يمكن تلخيص هذه الطريقة في الشكل– 08–:



الشكل –08–: خطوات دراسة النشاطية التثبيطية للمستخلص الزيتي للنبتة A.campestris على السلالات البكتيرية بطريقة الانتشار المباشر بالأقراص.

لاجراء هذا الاختبار يستعمل وسط الزرع Mueller Hinton مع جميع الأنواع البكتيرية المختبرة (Rahal, 2005).

يصب الوسط في أطباق بتري ذات قطر 9 سم بسمك 4 مم (بمعدل 20مل في كل طبق بيتري)، ثم تترك حتى تتصلب ليتم الزرع عليها . بعدها يتم تحضير اللقاح أو المعلق البكتيري المتجانس انطلاقا من مزرعة بكتيرية حديثة عمرها بين 18 – 24 ساعة في ماء فيزيولوجي معقم ، ثم ضبط العكارة على 0.5 Mc Farland (مايقارب 10^8 وحدات مشكلة للمستعمرات CFU/مل) أو بقياس الكثافة الضوئية للمعلق في طول الموجة 625 نانومتر وضبطها بين 0.08 و 0.1 ، يجب أن يستعمل هذا اللقاح خلال 15 دقيقة الأولى من تحضيره لتفادي زيادة نمو البكتيريا.

يغمس ماسح قطني معقم في المعلق البكتيري ثم يمسح به على كامل الوسط الجاف بشكل خطوط متلاصقة مع تكرير العملية ثلاث مرات وذلك بتدوير الطبق 60^0 في كل مرة. يتم تشبيع الأقراص المعقمة، ذات القطر 6 ميليمتر بـ 10 ميكرولتر من المستخلص الزيتي النباتي الخام ، ثم المزيج المتكون من الزيت الأساسي المخفف في DMSO الى تركيزات مختلفة (5/1، 2/1 ح/ح)، اي ما يعادل 20% ،50 % على التوالي ،ثم توضع فوق الأوساط المزروعة .

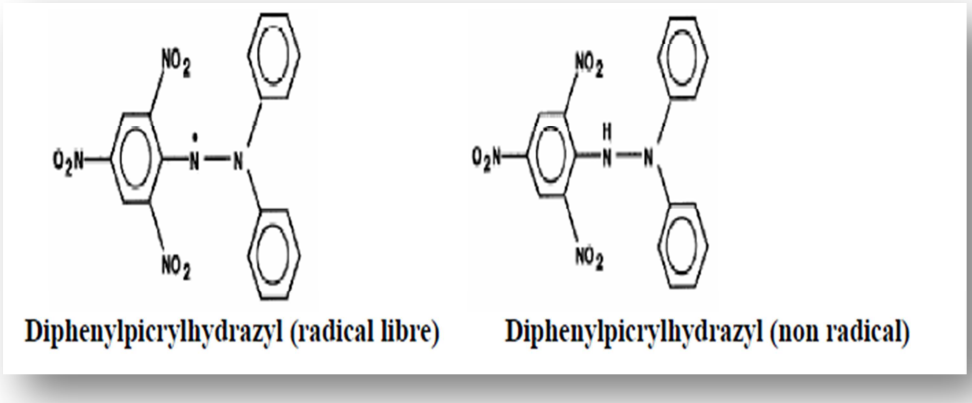
نحضر طبق بيتري إضافي به أقراص مشبعة بـ10 ميكرولتر من مادة DMSO وقرص آخر فارغ ، كشاهد على الإختبار السلبي ، كما أجريت الدراسة على أقراص للمضادات الحيوية للمقارنة كشاهد إيجابي وقد تم اختيار المضادات الحيوية حسب توصيات Rahal (2005).تعتبر حساسية سلالة ما منعدمة أذا كان قطر التثبيط أقل أو يساوي 08 ملم، وتكون محدودة عندما يتراوح قطر التثبيط بين 14/08 ملم، بينما تكون متوسطة عند قطر تثبيط يتراوح بين 20/14 ملم لكنها تكون جد حساسة عندما يكون قطر التثبيط أكبر من 20 ملم. (Duraffourd et *al.*, 1990)

3-9 -4 - اختبار النشاطية الضد تأكسدية للزيت الأساسي :

نشاطية الزيت الأساسي ضد التأكسدية حددت باتباع طريقة Que S. ومساعدوه (2006)، حيث يستعمل جذر الـ DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) ، يتم تحضير محلول الـ DPPH بإذابة 4 مغ في 100 مل من الميثانول. حيث يستخدم الـ DPPH عادة لتقييم النشاطية الضد التأكسدية للمركبات الطبيعية والاصطناعية .

3-9 -4 - 1- مبدأ عمل اختبار الـ DPPH :

يعتمد مبدأ عمل هذه الطريقة على مضادات الأكسدة التي تلعب دور في الإيقاع بالجذور الحرة، في حالة وجود مثل هذه المضادات للأكسدة – سواء اصطناعية مثل BHT أو طبيعية مثل الزيوت الأساسية – فأن الـ DPPH 2,2 diphényl 1 picryl hydrazyl الذي يتميز بلونه البنفسجي، يرجع الى 2,2diphényl 1 picryl hydrazine ذو اللون الأصفر (Maataoui et *al.*, 2006). الشكل- 09-.



الشكل– 09–:الشكل الحر والمرجع لـ DPPH (Molyneux,2004).

3–9 –4 – 2– طريقة العمل :

تم وضع أحجام مختلفة من الزيت الأساسي للنبتة *Artemisia campestris* L في أنابيب اختبار (02ميكرولتر، 04 ميكرولتر، 06 ميكرولتر، 08 ميكرولتر، 10 ميكرولتر) ، في كل أنبوب اختبار من الأنابيب السابقة تم اضافة الميثانول لتخفيف وإذابة الزيت الأساسي ،حيث في كل أنبوب اختبار يكون الحجم النهائي (ميثانول + الزيت) يساوي 600 مكرولتر (اي أضفنا 598 ميكرولتر، 596 ميكرولتر، 592 ميكرولتر، 590 ميكرولتر من الميثانول لكل أنبوب على التوالي). بعد الإنتهاء من اضافة الميثانول ، نضيف 600 ميكرولتر من محلول الـ DPPH لكل أنبوب اختبار ، وبعد عملية الرج تم وضع الأنابيب في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة، قياس الكثافة الضوئية تم في طول الموجة 517 نانومتر، تم تحضير الشاهد السلبي باضافة 600 ميكرولتر من DPPH الى 600 ميكرولتر من الميثانول.الشاهد الإيجابي هو محلول الـ BHT، النشاطية المزيحة للجذور يعبر عنها على شكل نسبة مئوية وتحسب حسب العلاقة التالية

$$A\% = \text{Abs control} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs control} \times 100$$

A% : نسبة النشاطية المزيحة للجذور

Abs control : الكثافة الضوئية للشاهد السلبي .

Abs échantillon : الكثافة الضوئية للعينة .

IC_{50} تعرف على أنها تركيز العينة الذي يرجع 50% من الجذور الحرة لـ DPPH.

الفصل الرابع

4-النتائج و المناقشة

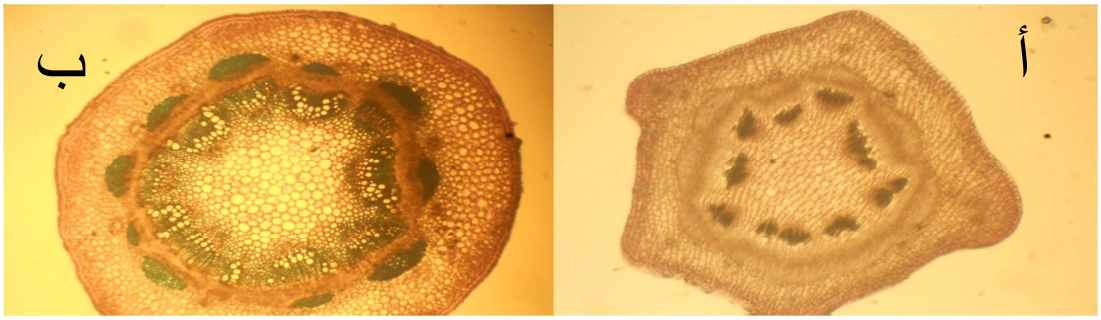
4- النتائج والمناقشة:

4 -1- الدراسة التشريحية :

4-1-1-الدراسة التشريحية للساق :

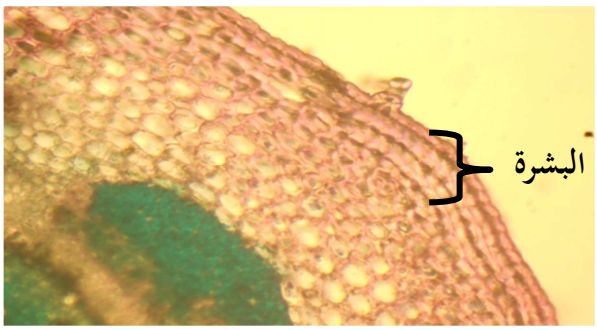
من خلال المقاطع العرضية التي أنجزت للسيقان الفتية للنبتة *Artemisia campestris* ، لاحظنا تكون البنية الأولية التي تتألف من أربع مناطق نسيجية متباينة في اللون وشكل الخلايا تتمثل في البشرة ، القشرة ، الحزم الوعائية واللب.

سيقان نبتة *Artemisia campestris*، لها شكل خماسي في بداية نموها وهذا ماتظهره المقاطع العرضية التي انجزت عليها ، وبمرور الوقت تصبح دائرية الشكل .



الشكل 10: مقطعين عرضيين في ساق فتية للنبتة *Artemisia campestris* يظهر الشكل الخماسي في بداية نمو الساق (أ) ثم بمرور الوقت تصبح دائرية الشكل (ب) (تكبير 100 مرة)

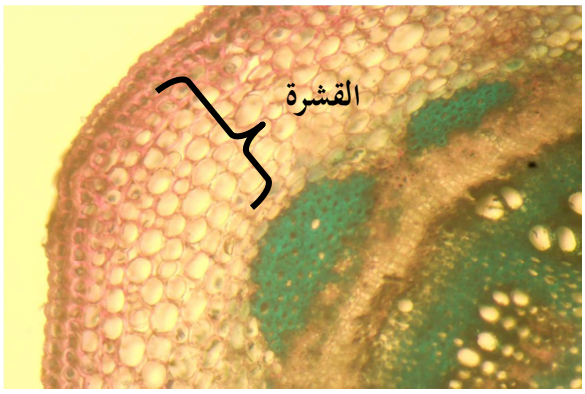
4 -1-1-1-.البشرة : تتكون من صفين إلى ثلاثة صفوف من الخلايا المتلاصقة ببعضها البعض.



الشكل 11: مقطع عرضي في ساق نبتة *Artemisia campestris* يظهر يظهر البشرة تتكون من ثلاثة صفوف من الخلايا المتلاصقة (تكبير 400 مرة).

4 -1-1-2-القشرة :

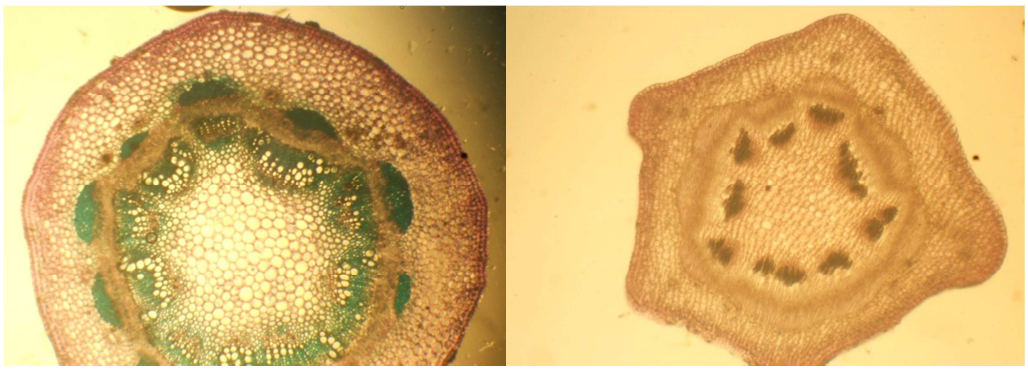
نسيج برانشيمي، تتكون من خلايا برانشيمية صغيرة وأخرى كبيرة الحجم، متواجدة بين البشرة والحزم الوعائية .



الشكل 12: مقطع عرضي في ساق نبتة *Artemisia campestris* يظهر القشرة (تكبير 100 مرة).

4 -1-1-3- الحزم الوعائية :

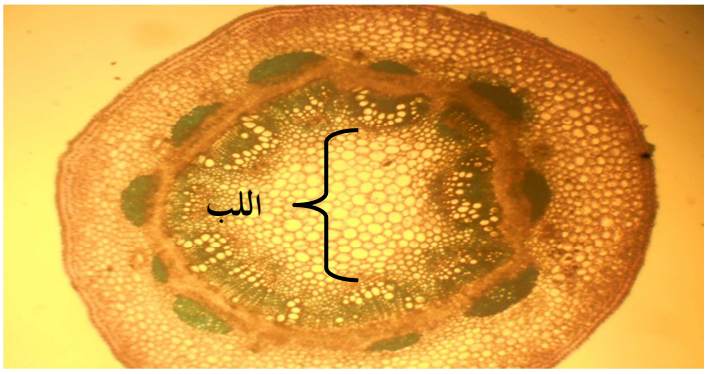
تحاط بالمحيط الدائر، حيث يلاحظ أن عدد الحزم الوعائية عشرة حزم وعائية، وتكون هذه الحزم في البداية منفصلة عن بعضها البعض ،ثم تعود بمرور الوقت لتقترب من بعضها، تتكون كل حزمة من خشب في جهة الداخل يقابله اللحاء نحو الخارج وبينهما يوجد Procambium، توزع هذه الحزم يتبع شكل الساق ، ففي البداية يكون توزعها على شكل خماسي ثم يصبح توزعها دائري .



الشكل 13: توزع الحزم الوعائية في ساق نبتة *Artemisia campestris* (تكبير 100 مرة)

4 -1-1-4-اللب :

يتكون من نسيج برانشيمي ذو خلايا مضلعة وكبيرة الحجم، يحتل جزء متوسط من مساحة المقطع .

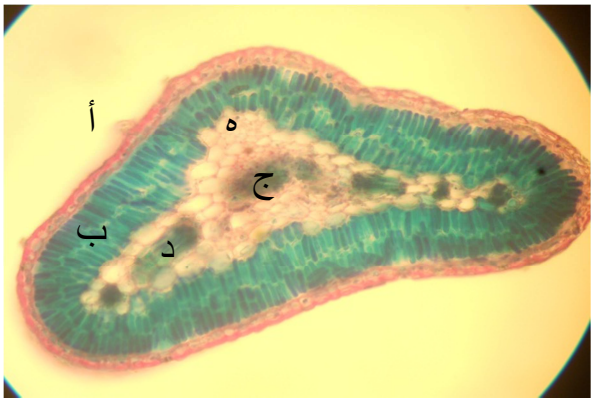


الشكل 14: مقطع عرضي في ساق نبتة *Artemisia campestris* يظهر اللب (تكبير 100 مرة).

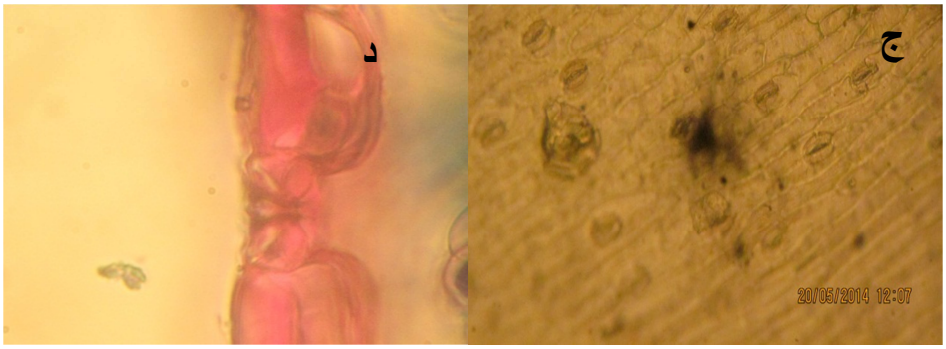
4 -1-2-الدراسة التشريحية للورقة :

من خلال ملاحظة المقاطع العرضية للأوراق ، تم ملاحظة مايلي:

البشرة صفين من الخلايا، تغلف بطبقة رقيقة من الكيوتيكل، تحتوي على ثغور، تزداد كثافتها خاصة في الجهة السفلية، المقطع العرضي للورقة يظهر وجود عرق رئيسي وخمسة عروق ثانوية في هذه العروق توجد الحزم الوعائية المتكونة من الخشب واللحاء يحيط بهذه الحزم الوعائية نسيج برانشيمي عادي يليه النسيج العمادي ذو الخلايا المتطاولة والمتراصة.



الشكل 15: مقطع عرضي في ورقة نبتة *Artemisia campestris* يظهر أ) بشرة ب) نسيج عمادي ج) عرق رئيسي د) عرق ثانوي هـ)نسيج برانشيمي (تكبير 100 مرة).



الشكل16: ج) شكل الثغور وتوزعها على بشرة الوجه السفلي للورقة د) تكبير لأحد هذه الثغور (تكبير 400 مرة).

4 –2– استخلاص الزيت الأساسي:

بعد الإنتهاء من عملية استخلاص الزيت الطيار من الجزء الهوائي للنبتة *Artemisia campestris L* (تم استخدام 2316.67 غ من الجزء الهوائي للنبتة) التي استغرقت حوالي ثلاثة ساعات بعد غليان الماء، تم الحصول على زيت أساسي أصفر اللون قوي الرائحة وزنه 6.066 غ وعند حساب المردود وجد أنه يساوي 0.26 ٪ وهو يوافق النتائج التي تحصل عليها كل من Akrout et *al* (2003) و Chalchat et *al* (2003) بالمقارنة مع النتائج التي توصل إليها Belhattab et *al* (2011) في عملية استخلاص الزيت الاساسي للنبتة *Artemisia campestris* التي جمعت من منطقة بوسعادة ، لوحظ أن المردود كان أكبر، إذ كان يساوي 0.66 ٪ ، تحصل Ghorab et *al* (2013) عند استخدامه 100 غ من الجزء الهوائي للنبتة *Artemisia campestris* جمعت من ولاية خنشلة على مردود يساوي 1.0 ٪ . هناك الكثير من العوامل التي تؤثر على الكمية التي ينتجها النبات من الزيت الاساسي خاصة البيئية منها مثل الحرارة، الرطوبة، العضو النباتي المستخدم، وقت جني النبات، عمر النبات وطور النمو(هيكل وعمر، 1993; Lamendin et *al.*, 2004)

4 –3– النشاطية الضد بكتيرية للزيت الأساسي:

إن ظهور سلالات مقاومة للمضادات الحيوية أدى الى البحث عن بدائل لهذه المضادات، الزيوت الأساسية مرشحة محتملة لتقوم بدور مضادات للميكروبات، وهذا بفضل تنوعها الكيميائي الكبير، مايمنع تكيف الميكروبات المسببة للأمراض، ويقلل من مقاومتها (De Billerbeck, 2007).

ولهذه الغاية، اقترحنا اختبار الزيت الأساسي الذي تحصلنا عليه من نبتة *Artemisia campestris* ضد مجموعة من سلالات مختلفة وتشمل سلالات مقاومة للمضادات الحيوية.

النتائج مبينة في الجدولين (02) و (03)، يجب الاشارة الى أن الأبحاث التي اهتمت بدراسة النشاطية الضد بكتيرية للنبتة *Artemisia campestris* قليلة جدا (Ben Sassi et *al.*, 2007 ; Naili et *al.,* 2010).

الجدول –02–: النشاطية الضد بكتيرية للزيت الأساسي للنبتة *Artemisia campestris* معبر عنها بالميليمتر.

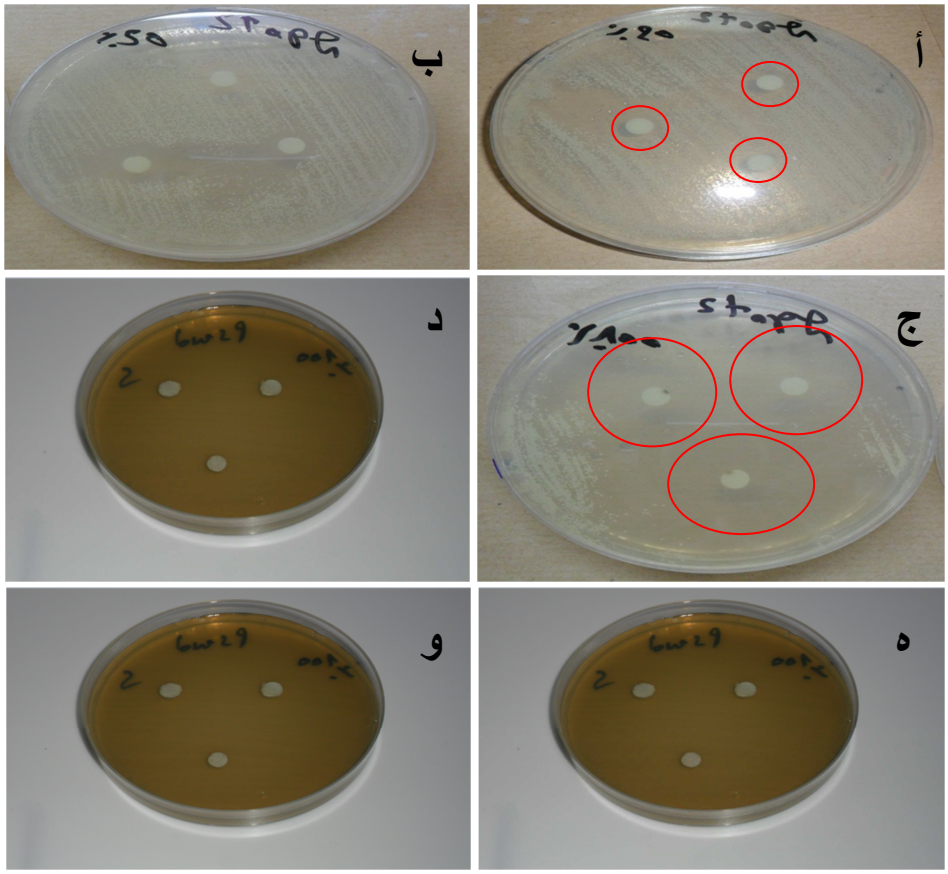
التركيز (ح/ح) / السلالات البكتيرية	% 20	% 50	% 100	الشاهد DMSO (ملم)
Staphylococcus aureus ATCC 25923	10	14	35	00
Escherichia coli ATCC 25922	00	00	00	00
Bacillus subtilis ATCC *663313*	00	00	00	00
Pseudomonasaeruginosa ATCC27853	00	00	00	00

الجدول –03–: النشاطية الضد بكتيرية للمضادات الحيوية المعبر عنها بقطر التثبيط بالميليمتر.

المضادات الحيوية / السلالات البكتيرية	GM	C	P	OX	E
Staphylococcus aureus ATCC 25923	27	00	11	6	10
Escherichia coli ATCC 25922	28	24	00	00	00
Pseudomonas aeruginosa ATCC27853	13	00	31	3	33
Bacillus subtilis ATCC *6633*	00	00	00	00	00

حددت النشاطية ضد بكتيرية للزيت الأساسي لنبتة *Artemisia campestris* بحساب قطر التثبيط وقد تم التوصل الى أن بكتيريا *S .aureus* ATCC 25923 هي الوحيدة التي كانت حساسة لزيت الأساسي

أما باقي السلالات فقد أبدت مقاومة تامة، إذ لم يكن للزيت الأساسي أي تأثير على هذه السلالات (بمختلف التراكيز) الشكل 17.



الشكل17: تأثير الزيت الأساسي على :

أ: *S .aureus* ATCC 25923 بتركيز20 %. **ب** : *S .aureus* ATCC 25923 بتركيز50 %.

ج: *S .aureus* ATCC 25923 بتركيز100 %.

د: *E. coli* ATCC 25922 بتركيز 100%.

ه : *P. aeruginosa ATCC27853* حيث وجدنا أنها لاتتأثر بالزيت الأساسي في مختلف التراكيز.

و:*B . subtilis* ATCC *6633* حيث وجدنا أنها لاتتأثر بالزيت الأساسي في مختلف التراكيز.

كان للسلالة *S .aureus* ATCC 25923 حساسية اتجاه الزيت الأساسي معبر عنها بأقطار تثبيط مختلفة حسب تركيز الزيت الأساسي، فكلما زاد التركيز زاد قطر التثبيط، إذ قدرت حساسية

S .aureus ATCC 25923 بمنطقة تثبيط قطرها يساوي 35 ملم في تركيز (100%) ، وبقطر 14 ملم في تركيز 50%، وأخيرا في تركيز 20% قدرت منطقة التثبيط بقطر 10 %، هذا وكانت منطقة تثبيط المضادات الحيوية (GM، P ، OX وE) أقل إذ قدرت بقطر يساوي 27 ملم، 11ملم، 06 ملم و10 ملم على التوالي بالنسبة لهذه السلالة، أما حساسية *E. coli* ATCC 25922 كانت منعدمة تماما في جميع تراكيز الزيت الأساسي، *E.coli* ATCC 25922 أظهرت حساسية فقط مع مضادين حيويين هما (GM وC) حيث كان قطر التثبيط لكل منهما 28 ملم و 24 ملم على التوالي . *B. subtilis* ATCC *663313* و *P. aeruginosa* ATCC27853 لم تظهرا كذالك أي حساسية اتجاه الزيت الأساسي في مختلف التراكيز، أما بالنسبة للمضادات الحيوية *B. subtilis* ATCC *663313* لم تظهر أي حساسية اتجاه المضادات الحيوية المدروسة عكس *P. aeruginosa* ATCC27853 التي أظهرت حساسية اتجاه (GM، P ، OX وE) بأقطار تثبيط تساوي 13 ملم، 31 ملم، 3 ملم و33 ملم على التوالي. تم إختبار DMSO (شاهد سلبي) ولم نسجل أي نشاطية ضد بكتيرية مع جميع الأنواع البكتيرية.

الزيت الأساسي لنبتة *Artemisia campestris* لم يظهر أي نشاط مضاد للجراثيم ضد جميع سلالات بإستثناء سلالة واحدة و هي *S .aureus* ATCC 25923 وهذا يتوافق جزئيا مع النتائج التي ذكرها Akrout ومساعدوه (2010)، ولكن الزيت الأساسي الذي تحصل عليه أظهر نشاطية ضد *E.coli* (بقطر يساوي 18 ملم).

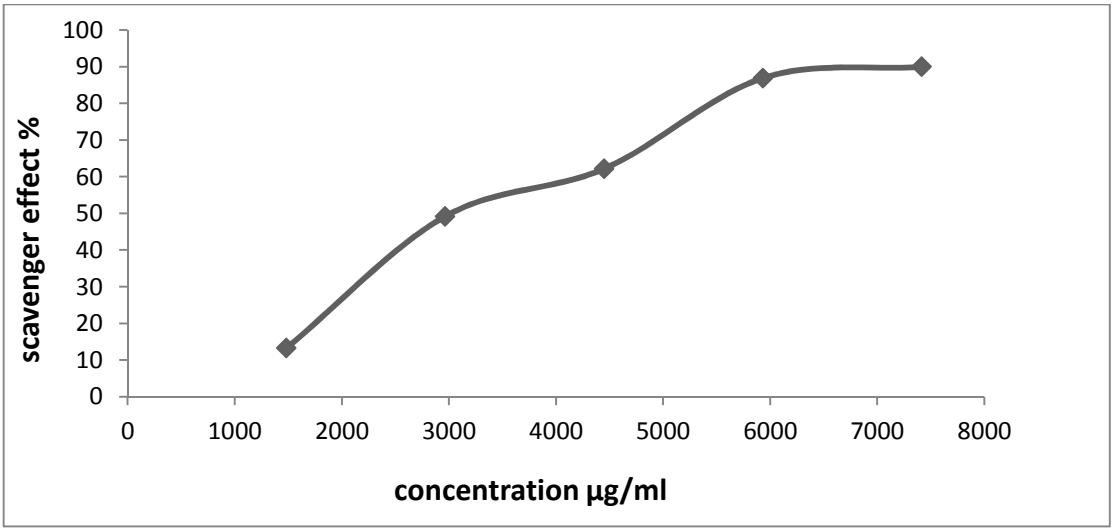
S. aureus ATCC 25923 هي السلالة الأكثر حساسية ولم تطور مقاومة إلا ضد القليل من الزيوت الأساسية (Hammer et *al.*, 1999).

غياب النشاطية ضد بكتيرية يفسر بوجود مقاومة ضد الزيت الأساسي من طرف السلالات البكتيرية. من بين هذه السلالات المقاومة نجد *P. aeruginosa*، مقاومة هذه السلالة تتوافق مع النتائج التي تثبت أن حساسيتها اتجاه الزيوت الأساسية تكون ضعيفة (Hammer et *al.*, 1999). هذه المقاومة ذكرها أيضا Chalchat et *al.* (1979) فهي أول سلالة تظهر مقاومة اتجاه 13 زيت أساسي.

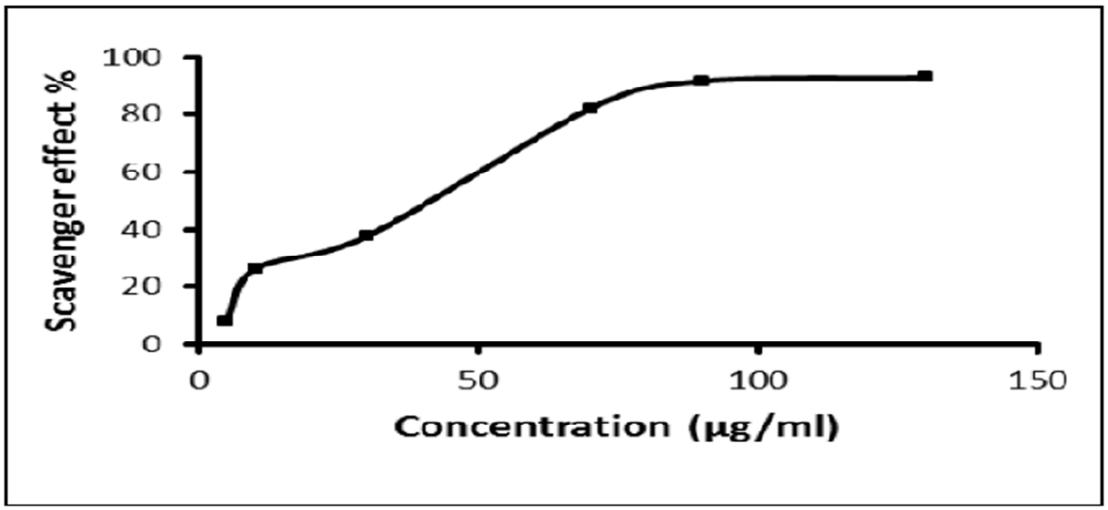
عكس الزيت الأساسي للنبتة *Artemisia campestris* فقد وجد أن النشاطية الضد بكتيرية لمستخلصات هذه النبتة أكثر تأثيرا من زيتها الأساسي (Ben Sassi et *al.*, 2007 ; Naili et *al.*, 2010).

4 –4– النشاطية الضد تأكسدية :

النشاطية الضد التأكسدية للزيت الأساسي للنبتة *Artemisia campestris* بالنسبة لجذر DPPH حسبت بواسطة جهاز spectrophotomètre في طول موجة يساوي 517 نانومتر، وذلك بتتبع إرجاع هذا الجذر والذي يصاحبه تغير في اللون : من البنفسجي إلى الأصفر، لغرض المقارنة استخدم BHT كمضاد أكسدة مرجعي، المنحنيان المتحصل عليهما في الصورتين 18 و 19 تظهر أن الزيت الأساسي لنبتة *Artemisia campestris* و BHT يمتلكان نشاطية ضد تأكسدية تتعلق بتركيز كل منهما.



الشكل18 :منحنى النشاطية الضد تأكسدية للزيت الأساسي للنبتة *Artemisia campestris*



الشكل19: منحنى النشاطية الضد التأكسدية لل BHT المسجلة في اختبار DPPH.

كتلة المادة (µg من الزيت الأساسي أو الـBHT) الموجودة في 01 مل من الوسط التفاعلي التي تنقص الكثافة الضوئية l'absorbance لمحلول DPPH إلى 50 % تعرف بـ (CI_{50}) ، CI_{50} للزيت الأساسي للنبتة *Artemisia campestris* وجدت تساوي 3057.75 µg/ml وفي المقابل وجدت CI_{50} لـ BHT تساوي 41,358 µg//ml مما يبين أن الـBHT له نشاطية ضد تأكسدية قوية .

حسب النتائج المسجلة في الجدول – 04– ، يظهر أن الزيت الأساسي للنبتة *Artemisia campestris* يمتلك نشاطية ضد تأكسدية ضعيفة مقارنة بالنشاطية الضد تأكسدية لـ BHT.

الجدول –04– : CI_{50} للزيت الأساسي للنبتة *Artemisia campestris L* ومحلول BHT.

العينة	CI_{50}	SD
الزيت الأساسي للنبتة *Artemisia campestris L*. (µg/ml)	3057.75	0.301
BHT (µg/ml)	41.3	0.397

النشاطية الضد تأكسية يمكن أن تشرح بانتقال ذرة الهدروجين لمجموعة الهيدروكسيل للمركبات الفينولية المتواجدة في الزيت الأساسي. بوجود جذور حرة لـ DPPH ذرة الهيدروجين تنتقل الى هذا الأخير مما يجعله مستقرا. هذا ما يؤدي الى تناقص تركيز هذه الجذور الحرة وفي المقابل تناقص الكثافة الضوئية خلال زمن التفاعل إلى أن تنتهي قدرة مضاد الأكسدة المعطي لذرات الهيدروجين. الدور الرئيسي للمركبات كمثبطات للجذور الحرة ذكر في العديد من التقارير (Villano et *al.*, 2007)، وفقا لـ Bourgou وآخرون (2008) مركبات الزيوت الأساسية الأكثر فعالية في النشاطية الضد التأكسدية هي التربينات الأحادية وبالأخص الفينولات والكحولات .

نتائج النشاطية الضد تأكسدية للزيت الأساسي لنبتة *Artemisia campestris* متوافقة مع النتائج التي تحصل عليها Akrout ومساعدوه (2010)، الذي أثبت أن عينة تنمو في تونس لها نشاطية ضد تأكسدية ضعيفة فالنشاطية الضد تأكسدية للزيت الأساسي لنبتتنا *Artemisia campestris* مشابهة لتلك التي سجلتها العينة التونسية وأكد Lopes-Lutz وآخرون (2008) في دراسة أجريت على بعض الأنواع لجنس *Artemisia* أن النشاط المضاد للأكسدة لهذه النباتات منخفض.

الخاتمة :

يهدف هذا العمل الى أجراء دراسة تشريحية لنبتة *Artemisia campestris* ، وكذالك إلى دراسة الزيت الأساسي لهذه النبتة من حيث تقييم النشاط البيولوجي له (دراسة نوعية للنشاطية الضد بكتيرية ، ودراسة النشاطية الضد تأكسدية).

الدراسة التشريحية لنبتة *Artemisia campestris* أظهرت أن المقاطع العرضية للساق تتواجد بها أربعة أنسجة :البشرة ، القشرة، الحزم الوعائية، اللب.

المقاطع العرضية للأوراق أظهرت كذالك وجود أربعة أنسجة وهي البشرة تتكون من صفين من الخلايا، تغلف بطبقة رقيقة من الكيوتيكل، تحتوي على ثغور، تزداد كثافتها خاصة في الجهة السفلية، الحزم الوعائية في العرق الرئيسي والعروق الثانوية تشبه تلك الموجودة في الساق يحيط بهذه الحزم الوعائية نسيج برانشيمي عادي يليه النسيج العمادي ذو الخلايا المتطاولة والمتراصة.

الزيت الأساسي لنبتة *Artemisia campestris* أظهر نشاطية ضد بكتيرية ضعيفة جدا فمن بين الأربع سلالات المختبرة (*S .aureus* ATCC 25923 ، *E. coli* ATCC 25922 ، *P. aeruginosa* ATCC27853، *B . subtilis* ATCC *6633*) وجدنا أنها تؤثر فقط على سلالة واحدة وهي *S .aureus* ATCC 25923 ، حيت وجدنا أن قطر التثبيط يزيد بزيادة تركيز الزيت الأساسي ففي تركيز 20% وجد قطر التثبيط أنه يساوي 10 ملم، وفي تركيز 50% يساوي 14 ملم بينما في تركيز 100 % وجد أنه يساوي 35 ملم.

تقييم النشاطية الضد تأكسدية للزيت الأساسي للنبتة *Artemisia campestris* باستعمال اختبار DPPH أظهر أنها هي الأخرى ضعيفة، فقد وجدت النشاطية الضد تأكسدية لهذا الزيت الأساسي تساوي 3057.75 µg/ml.

في النهاية كل هذه النتائج التي تم الحصول عليها في المختبر ليست سوى الخطوة الأولى في البحث عن المصادر الطبيعية من المواد النشيطة بيولوجيا ستكون هناك حاجة إلى اختبارات إضافية كتحديد مكونات هذا الزيت الأساسي و دراسة سميته.

قائمة المراجع :

- **الشحات نصر أبو زيد** . الزيوت الطيارة ، الطبعة الأولى ، الدار العربية للنشر والتوزيع- مدينة نصر.2000.

- **غسان حجاوي ،حياة المسيمي ،رولا محمد جميل قاسم .علم العقاقير** ، الطبعة الأولى ، مكتبة دار الثقافة للنشر و التوزيع – عمان – الأردن.2004 .

– د. جيمس إيه .ديوك. الصيدلية الخضراء، الطبعة الأولى، مكتبة جرير– المملكة العربية السعودية 2004.

- **بنيلوب أودي**. الكامل في الأعشاب و النباتات الطبية : معجم لاتيني . إنجليزي . فرنسي . عربي ، أكديميا انترناشيونال ، بيروت ،1999

- **محمود محمد جبر، إسماعيل محمد كامل، عفت فهمي شبانة** ، أساسيات علم النبات العام الشكل الظاهري والتركيب التشريحي- تقسيم المملكة النباتية ووظائف أعضاء النبات ، الطبعة الأولى ، ار الفكر العربي-القاهرة.2001.

- **العربي بوغديري** ، دروس وتطبيقات في علم النبات، ديوان المطبوعات الجامعية – بن عكنون- الجزائر، 2000.

- **محمد السيد هيكل، عبد الله عبد الرزاق عمر**، النباتات الطبية والعطرية، كيمياؤها، إنتاجها، فوائدها. منشأة المعارف بالإسكندرية .1993.

-Akrout A., Chemli R.C., Chrief., and Hammami M. (2001). Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *J. Flavour Fragr.* **16**: 337–339.

-Akrout, A.; Chemli, R.; Simmonds, M.; Kite, G.; Hammami, M.; Chreif, I., *J.* (2003). *Essent. Oil. Res.*, ***15***, 333-336.

- Akrout A., Gonzalez L.A., El Jani H.J., and Madrid P.C. (2011). Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaeahirsuta* from southern of Tunisia. *J. Food. Chem. Tox.* **49:** 342–347.

-Akrout, A.; El Jani, H.; Amouri, S.; Neffati, M., (2010) *Recent Research in Science and Technology,* ***2*** **(1)**, 29–39.

-Amlan K., Patra J.S., (2010). A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*. **71** : 1198–1222.

-**Baba Aissa, F.,** (1991). Les plantes médicinales en Algérie. Coédition Bouchene et Addiwane, Alger, Algérie.

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

-**Bardeau, F.** (1973). La pharmacie du Bon Dieu, Paris, *Edition Stock*, Vol.01, 334p.

-**Belhattab R., Boudjouref M., Barroso J.G., 2Pedro L.P., Figueirido A.C**.;(2011). Essential Oil Composition from *Artemisia campestris* Grown in Algeria. Advances in Environmental Biology, **5(2):** 429-432.

-**Benchaar C., Calsamiglia S., Chaves A.V., Fraser G.R., Colombatto D., McAllister T.A. *et al.,*** (2008). Plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*. **145** : 209–228.

-**Ben Sassi A., Harzallah-Skhiri F., and Aouni1 M.** (2007). Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities.*J. Pharmaco. Bio*. **45 (5):** 421–428.

-**Belaiche P-Daninos .,**(1979).Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, Tome 1, L'aromatogramme .éd. Maloine :201p

-**Binet. ET, Brunel J.-P.,** (1968).Physiologie Végétale. Tome II. Edit., Doin.

-**Bourgou S., Ksouri R., Skandrani I., Chekir-Ghedira L., Marzouk B.** (2008) – Antioxidant and antimutagenic activities of the essential oil and methanol extraction from Tunisian *Nigella sativa L*. (Ranunculaceae). Italian journal of food science, 20 **(2):**191-20.

-**Bourrel.** (1993). Analyse chimique, activités biostatiques et antioxydantes d'extraits de plantes aromatiques sélectionnées. Thèse de doctorat l'Institut National Polytechnique de toulouse.Toulouse, France.

-**Bruneton J.,** (1987), Eléments de phytochimie et de pharmacognosie, Technique & Documentation Lavoisier, Paris..

-**Bruneton J,**(1993), Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales, 2e édition. Technique documentation, Paris. p 406, 410**.**

-**Bruneton, J.,** (1999). *Plantes toxique et végétaux dangereux pour l'homme et animaux.* Paris.

- **Burt S.,** (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods–a review. *International Journal of Food Microbiology*. **94** : 223–253

-**Carré P.** (1953) précis de technologie et de chimie industrielle. T3. Ed. Balliére JB. Et fils.

-**Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L., Ferret A.,** (2007). Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*. **90** : 2580–2595.

-**Carson C.F., Mee B.J., Riley T.V.,** (2002). Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents Chemotherapy.* **46** : 1914–1920.

-**Chalchat, J.C., P. Cabassu, S.D. Petrovic, Z.A. Maksimovic and M.S. Gorunovic,** (2003). Composition of essential oil of *Artemisia campestris L*. From Serbia. J. Essent. Oil Res., **15**: 251-253.

-**Chalchat J.K., Carry L. P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R and Chopinau J.** (1997) – Correlation between oils. Journal of essential oils research, **9**: 67-75.

-**Combrink S.,** Du Plooy G. W., Mccrindle R. I., Botha B.M., (2007). Morphology and Histochemistry of the glandular Trichomes of *Lippia scaberrima* (Verbenaceae). *Annals of botany*. **99(6):** 1111-1119.

-**Cox S.D., Mann C.M., Markam J.L.,** (2001). Interaction between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Microbiology*. **91** : 492–497.

- **Cronquist,A.** (1971) Introductory Botany. Harper & Row, New York.

-**David A., Hervé M.** (1994). Flore de la suisse. Ed Du Griffon Neuchâtel. Suisse. 428p.

-**Debuigue, G.,** (1984), Larousse des plantes qui guérissent, Librairie Larousse, p.5-6.

-**De Billerbeck VG**.(2007) – Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques, *Phytothérapie*, **5**, 249-253.

-**Delaquis R.J., Stanich K., Girard B., Massa G.,** (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*. **74** : 101–109.

-**Delfine S., Loreto F., Pinelli P., Tognetti R., Alvino A.** (2005)- Isoprenoids content and photosynthetic limitations in rosemary and spearmint plants under water stress. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **106,** 243–252

.

-Dob T., Dahmane D., BerramdaneT., and Chelghoum C. (2005). Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia campestris* L. from Algeria. *J. Pharm. Bio.* **43(**6): 512–514.

-Donrop A.M., Day N.P. (2007). The treatment of severe malaria.*Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg* .**101**: 633-634.

-Dorman H.J.D., Deans S.G., (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. **88** : 308

-Dudareva N., Pichersky E., Gershenzon J., (2004). Biochemistry of plant volatiles. *Plant Physiology*. **135** : 1893–1902.

-Duraffourd C., D'Hervicourt L., Lapraz J.C. (1990). Cahier de phytothérapie clinique examen de laboratoire galénique, élément thérapeutiques synergiques Tome 1, 2éme édition, éd. Masson, Paris.

-Elqaj M., Ahami A. et Belghyti D. (2007). La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.

-Erturk O. (2006). Antibactirial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven space plants. *Biologia, Bratislava,* **61(3)**: 275-278.

-Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D. et Guo Z. (1986). Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé*., **64 (2)** : 159-164.

-Ferchichi L., Merza J., Landreau A., Le Ray A.M., Legseir B., Seraphin D., and Richomme P. (2006). Occurrence of isocoumarinic and phenolic derivatives in *Artemisia campestris L. subsp. campestris*. *Biochem Syst. and Ecol.* **34:** 829-832

- Garnero J. (1985). Semipreparitive separation of terpenoids from essential oil Phytotherapy. **15** : 19

-Ghorab H., Laggoune S., Kabouche A., Semra Z and Kabouche Z.,(2013). Essential oil composition and antibacterial activity of *Artemisia campestris* L. from Khenchela (Algeria). Der Pharmacia Lettre, **5 (2):**189-192.

-Griffin S.G., Wyllie S.G., Markham J.L., Leach D.L., (1999). The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour Fragrance Journal*. **14** : 322–332.

-Guignard. L. Cosson. M. Henry., (1985). Abrégé de Phytochimie, Masson, Paris. p 155.

-**Gurib-Fakim.,** (2006).Traditions of yesterday and drugs of tomorrow, Molecular Aspects of Medicine **27**,1-93.

-**Hamburger, K. Hostettmann.,** (1991). Bioactivity in plants. The link between phytochemistry and medicine, Phytochemistry, 30(12), 3874.

-**Hammer K. A., Carson CF. and Riley T.V.** (1999) - Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of Applied Microbiology, **86**: 985-900

-**Hart K.J., Yánez-Ruiz D.R., Duval S.M., McEwan N.R., Newbold C.J.,** (2008). Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*. **147** : 8–35.

-**Hostettmann, O. Potterat, J. L. Wolfender**., (1998), The potential *of* higher plants as a source *of* new drugs, Chimia, **52**, 10-17.

-**Hurabielle M., and Eberle J.,** (1982). Flavonoids of *Artemisia campestris ssp. glutinosa*. *Planta Med.* **46** (2):124–125.

-**Iserin, P.,** (2001), Encyclopédie des plantes médicinales, Ed. Larousse, p.11. 14-16.

-**Jerkovic J., Mastelic M. Milos., Juteau F., Masotti V and VianoJ.** (2003). Chemical variability of *Artemisia vulgaris* L. essential oils originated from the Mediterranean area of France and Croatia *Flavour. Fragr. J.* **(18):** 436–440

-**Joa O.M., Vasconcelos.,Artur M.S.S and Jose A.S.C.** (1998). Chromones and flavones from *Artemisia campestris SubspMaritima. Phytochemistry*. **49 (5):** 1421-1424

-**Juteau F., Masotti V., Bessière J-M., Viano J.** (2002). Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris var. glutinosa. Bioch. Syst. Ecol.* **(30):** 1065-1070.

-**Kaloustian J., Chevalier J., Martino C., Abou L., Vergnes M.F.** (2008)- Etude de six huiles essentielles: composition chimique et activité antibactérienne. *phytothérapie,* **6,** 160–164.

-**Karray-Bouraoui N., Rabhi M., Neffati M., Baldan B., Ranieri A., Marzouk B. ,** (2009). Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *Mentha pulegium*. *Industrial Crops and Products*. **30** : 338–343.

-**Koedam A.** (1987). Some aspects of essential oil preparation in capillary gas chromatography in essential oil analysis. Sandra P., Bicchi C. p.13-27

-Koné W.M., Kamanzi A.K., Terreaux C., Hostettmann K., Traoré D., Dosso M. (2004)- Traditional medicinal in north Cote-d'Ivoir : screening of 50 medicinal plants for antibactirial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, ***93***, 43-49.

-Kyeong W.Y., Anwar M., and Jong H.K. (2007). Effects of the Aqueous Extract from *Artemisia campestris* ssp. *caudata*on Mycorrhizal Fungi Colonization and Growth of Sand Dune Grasses. J. *Plant. Biology.* **50 (3):** 358-361.

-Lamendin H., Toscano G., Rquirand p. (2004)- Phytothérapie et aromathérapie buccodentaires. *EMC-Dentisterie*, **1**, 179-192.

-Lebrun JP. (1982); introduction à la flore d'Afrique. Faits et chiffres, IEMVT.89 p.

-Lopes-Lutz D., Alviano D., Alviono C. S. and Kolodziejczyk P.P. (2008). Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*. **69:**1732-1738.

-Maataoui, B.S., Hmyene, A., Hilali, S. (2006). Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*, **7(1)**: 3-8.

Maisonneuve S.A, (1996).Pharmacopée Européenne 1 Conseil de l'Europe. Editions, Sainte Ruffine.

-Memmi A., Sansa G., Rjeibi I., El ayeb M., Srairi-Abid N., Bellasfer Z.,and Fekhih A. (2007). Use of medicinal plants against *scorpionic* and *ophidian*venoms.*Arch. Inst. Pasteur. Tunis*. **84 (1-4)**: 49-55.

Mohammedi Z. (2006). Etude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région Tlemcen. Mémoire de Magistère, Département de biologie, Faculté des sciences, université abou bakr belkaid, Tlemcen.

-Morin P., Richard H. (1985). Thermal degradation of linalyl acetate during steam distillation in Proc. 4 Fh Weurman Flav. Res. Symp. Elsevier Sci. Publ., B.V. Amsterdam., pp 563-576.

-Molyneux, P.(2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, ***26,*** 211–21.

-Naili M.B., Alghazeer O.A., Saleh N.A., Al-Najjar A.Y. (2010). Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnacea). *Arab. J. Chem.* **3:** 79–84.

-Ozenda P. (1983). Flore du Sahara Ed : éditions du centre nationale de la recherche scientifique -Paris- 441p.

-Paris et Hurabielle., (1981). Abrégé de Matière Médicale (Pharmacognosie). Tome 1 Masson, Paris, p 1-3, 5-10

-Pavela R. (2009). Larvicidal effects of some Euro-Asiatic plants against *Culexquinquefasciatus*Say larvae (Diptera: Culicidae). *J. Parasitol Res.***105**: 887–892.

-Pereira R. C., P. Da Gama B. A., Teixeira V. L., Yoneshigue-valentin Y. Y., Ecological roles of natural products of the Brazilian red seaweed *Laurencia obtuse*, Braz. J. Bio. (2003), 63, (4), 667-672.

-Que S., Lunchun M. and Xin P. (2006) - Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds, Foods Research International, **39**: 581-587

-Quezel.F, Santa.S. (1962), Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Vol. 1-2. Ed. CNRS, centre nationale de la recherche scientifique. Paris France. 990p.

-Rahal K. (2005)- Standardisation de L'antibiogramme en Médecine Humaine à l'Echelle Nationale selon les recommandations de l'OMS, 4ème édition, éd Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière.

-Rauter A.P., Branco I., TostaoZ ., Pais M.S., Gonzalez A.G et Bermejo J.B. (1989). Flavonoids from *Artemisia campestris Subsp Maritima. Phytochemistry.* **28 (8):** 2173-2175.

-Richard Hubert., Peyron L., (1992). L'extraction des épices et herbes aromatiques et les différents types d'extraits. Epices et aromates. Tec et Doc – Lavoisier, APRIA., Paris.

-Romero M.R., Efferth T., Serrano M.A., Castano B., Macias R.I., Briz O, and Marin .J. (2005). Effect of artemisininartesunate as inhibitors of hepatitis B virus production in an ''in vitro'' system.*Antivir Res*. **68:** 75-83 .

-Rubin M. (2004)- Guide pratique de phytothérapie et d'aromathérapie. Ellipses Edition Marketing S.A.

-Sangwan N.S., Farooqi A.H.A., Shabih F., Sangwan R.S., (2001). Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation*. **34** : 3–21.

-**Saoudi M., Allagui M.S., Abdelmouleh A., Jamoussi K., and El Feki A.** (2010)**.** Protective effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* against puffer fish *Lagocephaluslagocephalus* extract-induced oxidative damage in rats. *Exp.Tox.Pathol.***62**: 601–605.

-**Sefi M., Fetoui H., MakniM., and Najiba Zeghal N.** (2010). Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. J. *Food. Chem.Toxicol.***48**: 1986–1993.

-**Sikkema J., Bont J.A.M., Poolman B.,** (1994). Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *Journal of Biological Chemistry.* **269** : 8022–8028.

-**Skandamis P., Koutsoumanis K., Fasseas K., Nychas G.J.E.,** (2001). Inhibition of oregano essential oil and EDTA on Escherichia coli O157:H7. *Italian Journal of Food Science*. **13 (1)** : 65–75.

-**Teisseire P.** (1987). Industrial quality control of essential oils by capillary G.C. in Capillary Gas Chromatography in Essential oil Analysis, Sandra P., Bicchi C. Heidelberg, New York., pp 215-258.

-**Ticli, B**. (1997). L'herbier de santé. 1°édition, Paris, *édition VECCHI SAO*, p 01.206.

-**Ultee A., Bennik M.H.J., Moezelaar R.,** (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. **68** : 1561–1568.

-**Ultee A., Kets E.P., Smid E.J.,** (1999). Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. **65:** 4606–4610.

-**Valant-Vetschera K.M., Fischer R., and Wollenweber E.** (2003). Exudate flavonoids in species of *Artemisia* (Asteraceae-Anthemideae): new results and chemosystematic interpretation. *Biochem. Syst. Ecol.* **31:** 487-498

-**Villano D., Fernandez-Pachon M. S., Moya M. L., Troncosa A. M., Garcia-Parrila M. C.** (2007) - Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. Talanta, **71**:230-235.

-**Ziming Wang, Lan Ding, Tiechun Li, Xin Zhoua, Lu Wanga, Hanqi Zhang,Li Liu , Ying Li, Zhihong Liu, Hongju Wang, Hong Zengb, Hui H**, (2005). Improved solvent-free microwave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum* L. and *Zanthoxylum bungeanum* Maxim Journal of hromatography A, 1102 (2006)11–17.

الملاحق :

الملحق 01:

المضادات الحيوية

المضاد الحيوي	الرمز	سعة القرص (µl)
Erythromycine	E	15
Chloramphénicol	C	30
Gentamicine	GM	10
Oxacilline	OX	05
Penicilline	P	15

الملحق 02:

أوساط الزرع :

ميلر – هلتن MH agar

منقوع لحم بقر مجفف	300غ.....
Hydrolysat de caséine	17.5غ.....
نشاء الذرى	1.5غ.....
آغار–آغار	13غ.....
ماء مقطر	1000 ملل.....

المرق المغذي le bouillon nutritif:

مواد حية مهضومة	5غرام.....
مستخلص لحمي	1غرام.....
مستخلص خميرة	2غرام.....
كلوريد الصوديوم	5غرام.....
ماء مقطر	1000 ملي لتر.....

الملخص:

تظهر المقاطع العرضية التي أنجزت على مستوى ساق نبتة *Artemisia campestris* أنها تتشكل من أربعة أنسجة مختلفة هي البشرة، القشرة، الأوعية الناقلة، اللب. كما أظهرت المقاطع المنجزة على مستوى أوراق هذه النبتة كذالك وجود أربعة أنسجة وهي البشرة الحزم الوعائية محاطة بنسيج برانشيمي عادي يليه النسيج العمادي ذو الخلايا المتطاولة والمتراصة. الزيت الأساسي لنبتة *Artemisia campestris* أظهر نشاطية ضد بكتيرية ضعيفة جدا فمن بين الأربع سلالات المختبرة (*S .aureus* ATCC 25923 ، *B . subtilis* ATCC *6633*، *P. aeruginosa ATCC27853* ، *E. coli* ATCC 25922) وجد أنها تؤثر فقط على سلالة واحدة وهي *S .aureus* ATCC 25923 ، حيت وجد أن قطر التثبيط يزيد بزيادة تركيز الزيت الأساسي ففي تركيز 20% وجد قطر التثبيط أنه يساوي 10 ملم، وفي تركيز 50% يساوي 14 ملم بينما في تركيز 100 % وجد أنه يساوي 35 ملم. تقييم النشاطية الضد تأكسدية للزيت الأساسي للنبتة *Artemisia campestris* باستعمال اختبار DPPH أظهر أنها هي الأخرى ضعيفة، فقد وجدت النشاطية الضد تأكسدية لهذا الزيت الأساسي تساوي 3057.75 µg/ml.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، *Artemisia campestris* ، الفعالية المضادة للميكروبات، الفعالية المضادة للأكسدة، DPPH.

Résumé:

les coupes anatomiques réalisées au niveau des tiges d'*Artemisia campestris* ont montré qu'elles sont composées de quatre tissus différents : l'épiderme, l'écorce, les faisceaux conducteurs et la moelle. En outre, les coupes transversales au niveau des feuilles ont montré la présence de quatre tissus : l'épiderme, les faisceaux conducteurs entourés par un tissu parenchymatique puis par un parenchyme palissadique. L'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de cette plante a montré une très faible activité. Parmi les quatre souches testées: (*S .aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC27853, *B. subtilis* ATCC 6633), seule la souche S .aureus ATCC 25923 a été affectée, où il a été constaté que le diamètre de l'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration de l'huile essentielle, en effet à la concentration de 20% le diamètre d'inhibition est de 10 mm, à la concentration de 50% il est de 14 mm et finalement à la concentration de 100% il est de 35 mm. Aussi, l'étude de l'activité antioxydante de L'huile essentielle de cette plante par le test DPPH a montré une faible activité, de l'ordre de 3057.75 µg/ml

Mots-clés: huiles essentielles, *Artemisia campestris*, activité antimicrobienne, activité antioxydante, DPPH