جامعة محمد خيضر بسكرة
كلية العلوم الدقيقة
قسم علوم المادة

مذكرة ماستر

ميدان علوم المادة
فرع كيمياء
تخصص كيمياء صيدلانية

رقم: .....N

إعداد الطالب:
نويس سعاد

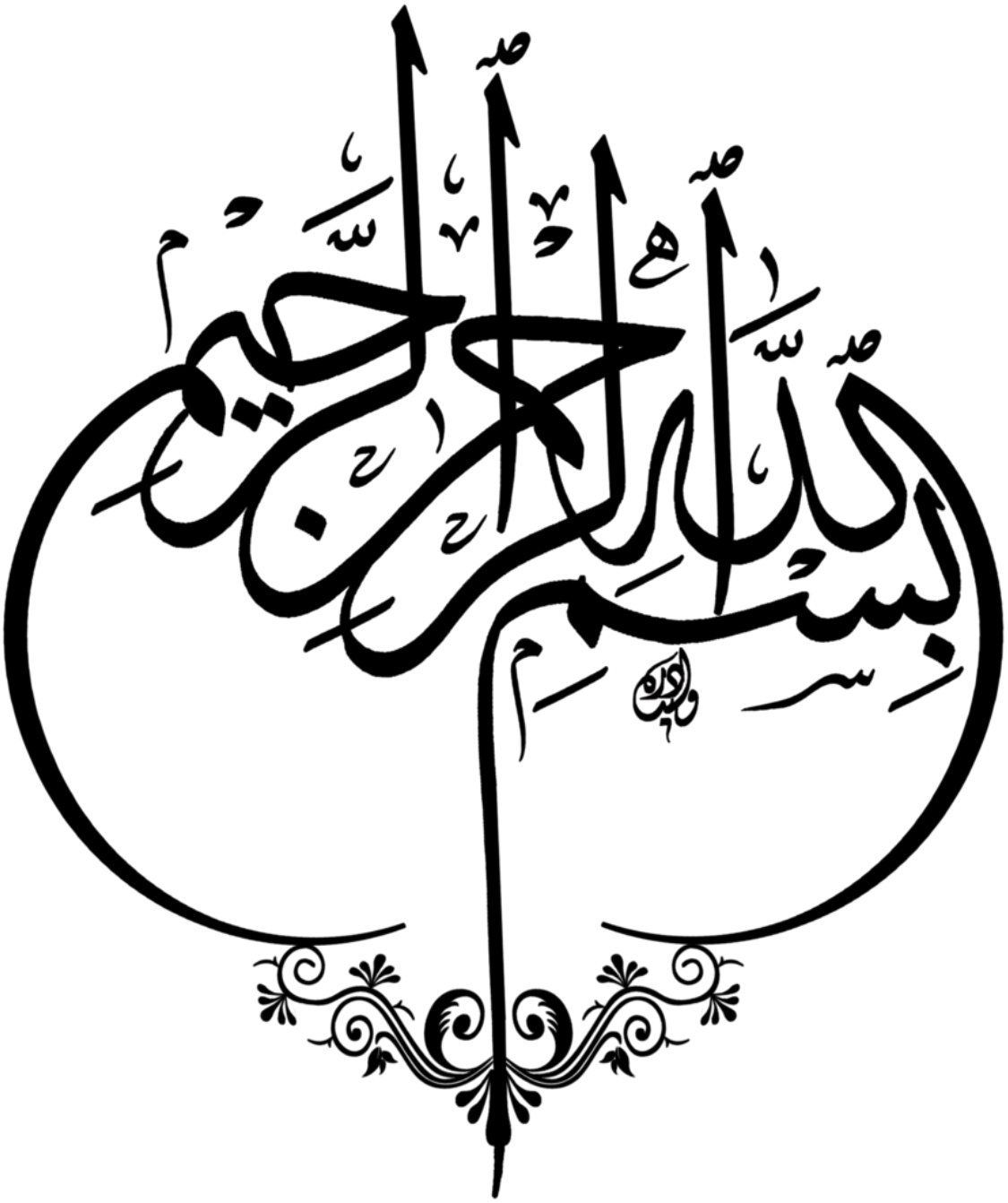
يوم:18/06/2025

إستخلاص الزيوت الأساسية ودراسة الفعالية البيولوجية لبعض النباتات الطبية

لجنة المناقشة:

ملكمي نجيب	أستاذ تعليم عالي	بسكرة	رئيسي
سلامي محمد	استاذ محاضر ب	بسكرة	مناقش
معناني جميلة	استاذ محاضر ب	بسكرة	مشرف

السنة الجامعية: 2025/2024


بسم الله الرحمن الرحيم

شكر وعرفان

الحمد لله كثيرا كما ينبغي لجلال وجهه وعظيم سلطانه، نشكرالله عزل وجل على نعمة العلم التي منحنا إياها وعلى عونه وتسديد خطانا في إتمام هذا البحث إذا كان الإعتراف بالجميل من شيم النفوس الكريمة فإنني اتقدم بالشكر للأستاذة المشرفة **"معناني جميلة"**أستاذة بجامعة محمد خيضر ببسكرة على ماقدمته من دعم وتوجيهات ونصائح قيمة طيلة إشرافها على هذا العمل،كما اتقدم بالشكر إلى رئيس اللجنة أستاذي البروفيسور ملكمي نجيب والأستاذ المحاضر سلامي محمد لقبولهم مناقشة هذه المذكرة ولكل أساتذتي الذين درسوني خلال هذا الموسم الدراسي لكم مني كل التبجيل والتقدير.

إهداء

الحمدلله أولا وأخيرا حمدا يليق بجلال وجهه وعظيم سلطانه الذي وفقني ويسر لي هذا الإنجاز

إلى نبض قلبي وسندي الأول والديا العزيزين

أنتما النور الذي أضاء طريقي، والدعاء الذي رافقني في كل لحظة. مهما كتبت لن أوفيكم حقكم، فلكم مني كل الحب والعرفان

إلى شريك حياتي، زوجي

أنت الذي كنت دائما بجانبي، تؤمن بي وتشجعنني، تتحمل معي التعب والسهر والغياب، فأنت النعمة الكبرى في حياتي. شكرا لصبرك ودعمك وحبك الذي منحني القوة للاستمرار.

إلى أولادي الأعزاء

أنتم فرحتي وفخري وسبب سعيي الدائم لأن أكون الأفضل. بكم يكتمل حلمي وتكتمل فرحتي أرجو أن تكونوا فخورين بي كما أنا فخور بكم وأدعو الله أن أكون قدوة حسنة لكم..

إلى إخوتي وأخواتي

لكم كل الحب والتقدير على وقوفكم بجانبي في كل خطوة.

إلى أصدقائي وأسرتي الكبيرة وكل من ساندني

أهديكم جميعا هذا الإنجاز فهو ثمرة تعبي، أهديه لكم بامتنان ومحبة.

جزاكم الله خيرا وجعل ماقدمتموه في ميزان حسناتكم، أهديكم جميعا هذا الإنجاز الذي تحقق بفضل الله ثم بفضلكم

اللهم اجعل هذا العمل خالصا لوجك الكريم وبارك لي فيه وانفعني به في الدنيا والآخرة ولا تجعل فيه رياء، اللهم وفقني إلى ما تحبه وترضاه

نويس سعاد

فهرس المحتويات

المحتوى	الصفحة
شكر وعرفان	
إهداء	
فهرس المحتويات	
ملخص	
مقدمة	أ
I . الفصل الأول : النباتات الطبية والزيوت الأساسية	
I-1 -النباتات الطبية	02
I-1-1 - تعريف النبات الطبي	02
I-1-2-المركبات الفعالة للنباتات الطبية	02
I-1-3- التعرف على النباتات الطبية	03
I-1-4- جمع وتخزين النباتات الطبية	05
I-2-الزيوت الأساسية	07
I-2-1- تعريف الزيوت الأساسية	07
I-2-2- تاريخ الزيوت العطرية	08
I-2-3-موقع الزيوت العطرية في النبات	09
I-2-4- إستخدامات الزيوت الأساسية	09
I-2-5- طرق استخلاص الزيوت الأساسية	12
I-2-6- النباتات المنتجة للزيوت العطرية	22
I-2-7 الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيوت الأساسية	22
I-2-8- طرق التعرف الكيميائي على الزيوت العطرية	23
I-2-9- التركيب الكيميائي للزيوت العطرية	24
I-2-10- الفعالية البيولوجية للزيوت الأساسية	28

I-2-11- آلية عمل الزيوت الآساسية	29
I-2-12- سمية الزيوت الأساسية	31
I-2-13- العوامل التي تؤثر على جودة الزيوت الأساسية	32
I-2-14- النبتات المدروسة	34
I-2-15-خصائص الفصيلة الشفوية (Lamiacées)	43
II . الفصل الثاني: الأدوات والطرائق المستعملة	
II- المواد والطرق المستخدمة	46
II-1- المادة النباتية	46
II-2- طريقة إستخلاص الزيوت الأساسية	46
II-3- حساب مردود الزيوت الأساسية	50
II-4- إختبار النشاط المضاد للتأكسد للزيوت الأساسية	50
II-5- إختبار النشاط ضد البكتيريا للمستخلصات الزيتية	53
III .الفصل الثالث : النائج والمناقشة	
III- النتائج والمناقشة	59
III-1- مردود الزيوت الأساسية	59
III-2- تقييم النشاطية المضادة للأكسدة بطريقة DPPH	61
III-3- النشاطية المضادة للبكتيريا للزيوت الأساسية	65
الخاتمة	70
قائمة المصادر والمراجع	73

الرقم	العنوان	الصفحة
1	التصنيف العلمي لنبات من جنس Echium	35
2	التصنيف العلمي لنبات Origanum majorana	37
3	التصنف العلمي لنبات Vitex agnus-castus	41
4	مردود الزيوت الأساسية	61
5	نتائج قيم الـ DPPHوBHTالتي أجريت على عينات الزيوت العطريةالمستخلصة للنباتات المدروسة	64
6	جدول يوضيح مناطق التثبيط بـ(mm)(عدد التكرارت 2)	66

الرقم	العنوان	الصفحة
1	الأنماط المختلفة للبنيات المسؤولة عن تشكل الزيوت الأساسية	09
2	طريقة استخلاص الزيت الأساسي بطريقة التقطير المائي (كلفنجر)	14
3	رسم لتركيبة إستخلاص الزيوت العطرية التقطير بالبخار	15
4	الشكل طريقة استخلاص الزيوت الأساسية بالإنتشار المائي	16
5	طريقة الإستخلاص بالبخار المشبع	17
6	طريقة استخلاص الزيوت الاساسية بالتشريب	18
7	طريقة إستخلاص الزيت الاساسي بالمذيب طريقة soxhlet	19
8	تركيبة للأستخلاص بالميكرو ويف	20
9	إستخلاص الزيت الأساسي بثاني أكسيد الكربون في الحالة فوق الحرجة	21
10	بنية جزيئ الإزوبران (Isopréne)	25
11	تصنيف التربينات وفقا لعدد وحدات الإزوبرين الداخلة في تركيبها	26
12	بنية بعض Monotrpène oxygén	26
13	بنية Sesquiterpènes hydrocarbonés	26
14	بنية (sesquiterpènes oxygénes)	27
15	بنية بعض مركبات العطريةالداخلة في تركيب الزيوت الأساسية	27
16	نبات Vitex agnus– castus	46
17	نبات Origanum majorana	46
18	صورة جهازكلفنجرالمستخدم لإستخلاص الزيت الأساسي	47
19	جهاز التقطير المائي	48
20	صورة لفصل الطور العضوي على الطور المائي بأنبوبة الفصل	49
21	جهاز rota vapالذي يفصل المذ يب عن الزيت الأساسي	50
22	الشكل الحروالشكل المرجع لـDPPH	52

23	الزيت العطري لنبات Origanum majorana	59
24	الزيت العطرس لنبات vitex agnes castus	60
25	منحنى النشاطية الضد التأكسدية للزيوت الأساسية وللـ BHT المسجلة في اختبار DPPH	62
26	صورة الأقراص تظهر قطر منطقة التثبيط	67

الملخص:

في هذا العمل قمنا باستخلاص الزيوت الأساسية لثلاثة نباتات طبية هيEchium، Origanum majorana و vitex agnus– castusبإستخدام طريقة التقطير المائي بجهاز كلفنجر بهدف تقييم نشاطها المضاد للأكسدة والمضاد للبكتيريا.

أظهرت نتائج اختبار DPPH وجود اختلاف كبير في القدرة على تثبيط الجذور الحرة بين العينات. فقد أظهر زيت Vitex agnus–castus أفضل نشاط مضاد للأكسدة بقيمة بلغت (IC_{50}=116.79 ±0.01 µg/mL) يليها Echium بـ (555,74 ± 0.01 µg/mL) ، في حين سجلتOriganum majorana أضعف نشاط (IC_{50} = 1878,5±14.8 µg/mL). بالمقارنة كان المعيار BHT يمتلك أقوى نشاط بقيمةIC_{50} تبلغ (38.87 ±0.7µg/mL) مما يدل على فعاليته العالية كمضاد أكسدة.

أما فيما يتعلق بالنشاط المضاد للبكتيريا، فقد أظهرت الاختبارات ضد السلالات موجبة الغرام (saureu ylococcusStaph)، وسالبةالغرام (Klebsiella pneumoniae–Escherichia coli) وجود تباين في الفعالية بين الزيوت. تميز زيت Origanum majorana بأعلى قطر لمنطقة التثبيط ضد البكتيريا موجبة الغرام(28.75 ± 1.76mm) ، بينما سجلت Echium وVitex agnus–castusنتائج أضعف نسبيا. أما ضد البكتيريا سالبة الغرام، فقد تراوحت أقطار مناطق التثبيط بين 7mm و23mm بحسب نوع الزيت والسلالة. بناءعلى هذه النتائج يمكن القول إن الزيوت الأساسية المدروسة خصوصا زيت Origanum majorana أظهر إمكانيات واعدة كمصادر طبيعية لمركبات ذات خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للبكتيريا، مما يفتح المجال أمام استخدامها المحتمل في التطبيقات الصيدلانية، الغذائية، والتجميلية. توصي الدراسة بإجراء تحاليل كيميائية مفصلة مستقبلا لتحديد المركبات الفعالة وآليات عملها.

الكلمات المفتاحية: Echium، Vitex agnus-castus، Origanum majorana، الزيوت الأساسية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا

Résumé

Dans cette étude, nous avons extrait les huiles essentielles de trois plantes médicinales : Echium, Origanum majorana et vitex agnus -castus, en utilisant la méthode de distillation à l'eau avec un appareil Clevenger. L'objectif principal était d'évaluer leur activité antioxydante et antibactérienne.

Les résultats du test DPPH ont montré que les huiles présentaient un pouvoir antioxydant variable selon l'extrait. L'huile essentielle de vitex agnus -castus a montré la meilleure capacité d'inhibition des radicaux libres, avec une valeur (IC50 =116,79 µg/mL±0.01), suivie par Echium avec (555,74 µg/mL ±0.01), tandis que Origanum majorana affichait une activité très faible (IC50=1878,5µg/mL ±14.8à). En comparaison, le standard BHT avait une (IC50 de 38,87 µg/mL± 0.7), ce qui indique une activité antioxydante plus élevée.Concernant l'activité antibactérienne, les tests réalisés Envert des souches Gram positives (staphococcus aureus) et Gram négatives (Klebsiella pneumoniae -Escherichia coli) ont révélé des zones d'inhibition variables. Origanum majorana a présenté la plus grande zone d'inhibition Envert les bactéries Gram positives (28,75 ± 1,76 mm), tandis qu'Echium et vitex Agnus -castus ont montré des résultats plus faible. Envert les bactéries Gram négatives, les diamètres des zones d'inhibition variaient entre 7mm et 23 mm selon les extraits et les souches.

En conclusion, cette étude met en évidence le potentiel prometteur des huiles essentielles étudiées, notamment celle d'Origanum majorana, comme sources naturelles d'antioxydants et d'agents antibactériens, ouvrant la voie à de futures applications pharmaceutiques et cosmétiques

Mots clés : Echium, Vitex agnus-castus, Origanum majorana, les huiles essentielles, antioxydants, antibactériens

Summary

In This Study, we extracted Essential Oils from three medicinal plants: Echium, Origanum majorana, and Vitex agnus -castus, using the hydrodistillation method with a clevenger apparatus. the main objective was to evaluate their antioxidant and antibacterial activities.

the DPPH assay results showed that the oils had varying antioxidant capacities depending on the extract. vitex agnus -castus essential oil exhibited the strongest free radical scavenging activity, with an IC50 value of (116.79 ±0.1 µg/ml), followed by Echium with (555,74 ±0.01 µg/ml), while-Origanum majorana showed very weak activity (IC50= 1878,5 ±14.8 µg/ml). By Comparison, The BHT Standard Had an (IC50 of 38,87 ±0.7 µg/ml), Indicating a higher antioxidant potential.

regarding antibacterial activity, the tests against Gram-Positive (staphococcus aureus) and Gram-negative (Klebsiella pneumoniae -Escherichia coli)

Bacterial strains revealed varying inhibition zones. Origanum majorana showed the largest inhibition zone against F1 (28.75 ± 1.76 mm), whereas Echium and Vitex agnus -castus showed weaker results. against Gram-negative bacteria, inhibition diameters ranged between 7mm and 23mm Depending On the extract and strain.

In conclusion, this study highlights the promising potential of the studied Essential Oils, particularly Origanum majorana, as natural sources of Antioxidants and antibacterial agents, paving the way for future Pharmaceutical and cosmetic applications.

Key words: Echium, Vitex agnus-castus, Origanum majorana, Essential Oils, Antioxidants, Antibacterial

مقدمة

في الوقت الحاضر يتزايد اتجاه البشر نحو استخدام المنتجات الطبيعية وخاصة تلك ذات الأصل النباتي من أجل علاج جميع أنواع الأمراض، تمثل هذه النبات خزان ضخم من المركبات المحتملة المنسوبة إلى المستقلبات(metabolites).

وهناك سبب أخر للاهتمام المتزايد بالأدوية العشبية حيث تحتوي كل الأعشاب على الالاف 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 [1].

تزخر الجزائر بأكثر من 1300 نوع من النباتات [2] تعتبر من بين البلدان الأكثر تنوع بسبب موقعها الجغرافي ومساحتها الشاسعة وتنوع مناخها هذا التنوع يشكل ثروة حقيقية تحتاج إلى الحفاظ عليها [3].تمتلك النباتات العطرية ميزة كبيرة بفضل الاكتشاف التدريجي لتطبيقات زيوتها الأساسية في الرعاية الصحية وكذالك استخداماتها في مجالات أخرى ذات أهمية اقتصادية، ان كثرة استخداماتها العديدة جعلت الطلب عليها متزايد بشكل كبير ومستمر في الأسواق العالمية نظرا للخصائصها الطبية، تعرف هذه المستخلصات المتطايرة من النباتات العطرية بخصائصهاالمضادة للالتهابات والمطهرة، مضاد للفيروسات، مضاد للفطريات، مبيد للبكتيريا، مضاد للسموم، مبيد للحشرات، المنشطة، المنبهة ومهدئة [4].

هناك عدد كبير من الزيوت العطرية المعروفة في العالم وتم تمييز آلالاف منها ومع ذلك فإن نسبة قليلة منها فقط لها أهمية تجارية ويتم تفسير ذلك من خلال التركيب الكيميائي لزيوت وتنوع استخداماتها المختلفة وتكلفة إنتاجها مهما كان مجال استخدام الزيوت العطرية(صناعة الأغذية، صناعة العطور ومستحضرات التجميل و/أو الأدوية)، فإن المعرفة التامة بخصائصها ضرورية من أجل التحكم في جودتها واكتشاف أي ميزات محتملة بهدف تثمينها.الطرق المستخدمة في الإستخلاص تعتمد على ذوبانية المركبات الموجودة في خليط ما داخل مذيب معين نحن اهتممنا هنا بالإستخلاص إنطلاقا من نظام صلب (النبات).الهدف من عملنا هو استخراج الزيوت العطرية من النباتات الطبية ودراسة الفعالية ضد بيكتيرية وضد التأكسدية لكل نبتة.

تشمل المذكرة ثلاث فصول، حيث يشمل الفصل الأول تعريفا للنباتات الطبية وكيفية التعرف عليها وأوقات جمعها وطريقة تجفيفها وكيفية حفظها، ويتناول الزيوت الأساسية لبعض النباتات الطبية، حيث تم تقديم تعريف لها وذكر مكان تواجدها في النباتات وطرائق إستخلاصهاالعديدة، وخصائصها الفيزيائية والكيميائية ومجالات إستعمالها ومكوناتها وأدات تحليلها والنشاط البيولوجي لها، وتقديم تعريف وتصنيف ومجالات إستعملاتها النباتات المختارة والتي هي:Echium و vitex agnus- castus و origanum majorana

والفصل الثاني تم فيه ذكر كل المواد المستعملة والطرائق المتبعة في استخلاص الزيوت الأساسية لنباتات المدروسة وتم فيه أيضا دراسة النشاط البيولوجي للزيوت الأساسية للنباتات المدروسة (النشاط المضاد للتأكسد والمضاد للبكتيريا)

الفصل الثالث يظهر إستخراج الزيوت الأساسية لكل نبتة من النباتات المختارة وإظهار مردودها ومناقشة نتائج الفعالية المضادة للأكسدة بمقارنة قيم IC50 لكل زيت أساسي وكذالك مناقشة نتائج الفعالية ضد ميكروبي

I. الفصل الأول

النباتات الطبية

والزيوت الأساسية

I-النباتات الطبية :

I-1-1- تعريف النبات الطبية :

هو النبات الذي يستخدم لعلاج أو تخفيف الأمراض المختلفة أو هو عبارة عن النبات الذي جزء منه له خصائص طبية. حوالي 35000 نوع من النباتات تستخدم في جميع أنحاء العالم لأغراض طبية [5]. وتمثل 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 [6]. 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 ومعرفا كيميائا، تستخدم المركبات النقية عموما عندما تكون المقومات الفعالة ذات تأثير قوي وخاص [7].

I-1-2- المركبات الفعالة للنباتات الطبية :

الأثار العلاجية لبعض النباتات معروفة جيدا منذ القدم، فالبابونج الألماني (Lacamomille allemande) على سبيل المثال استخدم لألاف السنين ضد اضطرابات الجهاز الهضمي وأيضا الألوة (L'aloès) كانت معروفة في وقت كليوباترا، حيث كانت تستخدم لتليين الجلد. بالرغم من ذلك فإنه لم يتم عزل ودراسة المركبات الفعالة المتواجدة

في هذه النباتات ونباتات أخرى والمسؤولة عن هذه التأثيرات العلاجية إلا مؤخرا فمن الضروري أن نعرف تركيبة النباتات لفهم الكيفيةالتي تؤثربهاعلى الجسم [8].

I-1-3- التعرف على النباتات الطبية :

معرفة النباتات دون خطأ هو شيء ضروري ومهم للتمييز بين الأنواع المتشابه من النباتات، لذا وجب الحصول على دليل للنباتات البرية من أجل تجنب التسمم، كما لا يجب جمع نبتة لست متأكد منها [8].

بالنسبة للقدماء 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 وخصائصها فالنباتات ذات العصير الأصفر كبقلة الخطاطيف (la chélidoine) على سبيل المثال تستطيع الشفاء من أمراض الكبد والنباتات ذات العصير الأحمر كعصبة القلب (le millesiutrep)لها القدرة على الشفاء من أمراض الدم، عموما فإن المعلومات التي يقدمها شكل، نكهة، رائحة ولون النباتات هي الميزات الوحيدة التي كانت تمكننا من اختيار النبتة المطلوبة[9].

I-1 -4- جمع وحفظ النباتات الطبية:

I-1-4-1- جمع النباتات الطبية :

الطبيعة تمثل مصدرا غنيا بالنباتات الطبية حيث تكون عملية جمعها مفيدة وممتعة على حد سواء حصاد أو جمع النباتات الطبية لا يمثل مشكلة كبيرة المهم هو معرفة النباتات

المناسبة والقدرة على التمييز بينها [9].

I-1-4-2- متى تجمع النباتات :

من الأفضل دائما جني النباتات يكون في فصل الربيع وأن يكون الجو جاف فالنباتات الرطبة بسبب المطر أو الندى تتغير، وتتعفن، وتتخمر وتفقد قيمتهاالعلاجية يعتبر الصباح هو الوقت المناسب لجمع النباتات كما يمكن جمعها في المساء قبل إنخفاض درجة الحرارة [10].

I-1-4-3- كيف نقوم بعملية جمع النباتات :

يفضل إذا كان ذالك ممكن أن يكون المكان الذي تتواجد فيه النباتات المطلوبة قليل الإرتياد يجب عدم غسل النباتات الموجها للتجفيف (فالجذور هي الأجزاء الوحيدة التي يجب غسلها وبدقة بواسطة مياه نظيفة لتخلص من أي أثر للتربة) فينبغي إذا تجنب قطف النباتات التي عليها تراب والمتواجدة على حواف الطرق والحقول والتي يمكن أن تكون ملوثة بالأسمدة الكيماوية حديثة الإستخدام. ينبغي اختيار النباتات السليمة فقط ويجب التخلص دون تردد من النباتات الذابلة ذات البقع والألوان الغير إعتيادية كما ينبغي التخلص من النباتات التي هاجمتها الحشرات أو التي تنمو بجوار الفطريات [10].

أثناء عملية جمع النبتة المطلوبة ينبغي التخلص من البقايا المختلفة كالطحالب والأوراق والأغصان 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 وايضا من الضروري الحرص على عدم سحق أو ضغط النباتات فتكديس النباتات بدون مبالاة قد يؤدي إلى ذبولها وزوال نضارا تها كما يمكن أن يؤدي ذالك إلى بداية عملية التخمر في وقت مبكر ومن الأفضل استخدام سلة كبيرة خاصة لجمع النباتات [10].

I-1-5- حفظ و تخزين النباتات الطبية :

هناك أساليب مختلفة للتخزين الأكثر شيوعا وبساطة من بينها هو التجفيف بواسطة الهواء أو الفرن فالمكان الجاف والدافئ هو المكان المثالي بعد جفافها، يمكن لنباتات أن تبقى لعدة أشهر في كيس أو وعاء من الزجاج الملون أو في كيس مصنوع من ورق الكرافت [8].

I-1-5-1-التجفيف :

التجفيف هو عملية نزع الرطوبة من النبتة المراد تجفيفها يجب تطبيق هذه العملية مباشرة بعد جمع النبات توضع النباتات موزعة في غرفة مهوات بشكل جيد موضوعة على نسيج من الخيش 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 يؤديها إلى فقد البعض من خصائصها وذلك بسبب تطاير العديد من المواد [11] النباتات المتسخة بالتراب أو غيره من الضروري تنظيفها جيدا وتجفيفها

بعنايةهذا ينطبق أيضاعلى الجذور إذا قمنا بجمع النبتة كاملة يمكننا أن نضعها على سلك مشدود العملية تشبه إلى حد كبير نشر الغسيل خلال هذه العملية والتي يمكن أن تستمر لمدة تصل إلى أسبوع أو اثنين مع تقليب النباتات بشكل دوري [8].

I-1-5-2- الحفظ :

بعد تجفيف النباتات يجب الإنتقال إلى مرحلة الحفظ مباشرة لمنع تراكم الغبار عليها لتحقيق هذه الغاية نستعمل أكياسا من الورق أوعلبا مصنوعة من القصدير او أكياس من البلاستيك او القماش (بإستثناء الأنواع التي تحتوي على الزيوت الأساسية) وأوعية زجاجية يجب التحقق دائما من عدم تكثف الماء على جدران الحاوية مما يعني مشكلة في عملية التجفيف يمكننا في هذه الحالة بتجفيف النبات على الفور مرة أخرى هذا الأمر ينطبق أيضاعلى لنباتات التي تم شراؤها من المحلات المتخصصة في بيع الأعشاب الطبية (عند العشابين، الصيدليات) [11].

I-1-5-3- طرق أخرى للحفظ :

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

I-1-5-4- إزالة الرطوبة :

هذه الطريقة 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 [11].

I-1-5-5- التجميد :

التجميد يحفظ الألوان والعطور 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 كما يمكن تجميد العصارات المستخلصة من النباتات الطبية واستخدامها عند الحاجة [11].

I-2 -الزيوت الأساسية :

I-2-1- تعريف الزيوت الأساسية :

مصطلح الزيوت الأساسية(huile essentielles) 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 [12]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 و يتم الحصول عليها من النباتات العطرية بواسطة العديد من طرق الإستخلاص [13] وهي قابلة للذوبان في الدهون والمذيبات العضوية وكثافتها أقل من كثافة الماء [14]. تتشكل الزيوت الأساسية في كثير من النباتات كمنتجات أيض ثانوية لها خصائص وأساليب إستخدام محددة أعطت بذلك فرعا جديدا في التداوي بالأعشاب

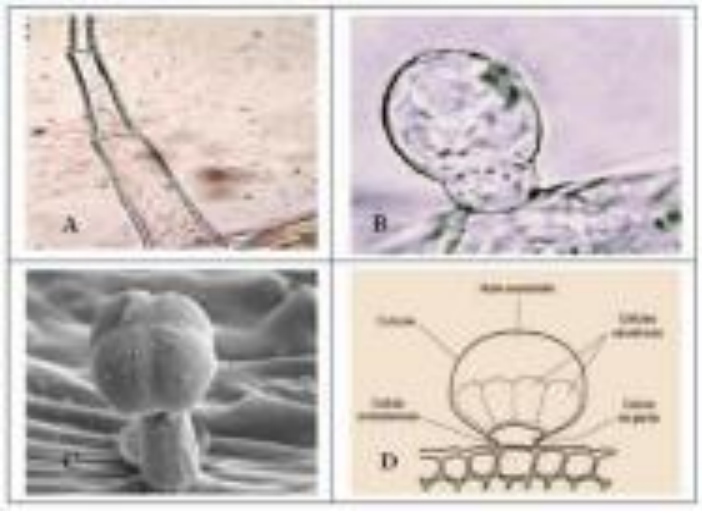
laphytothérapie: وهو طب الروائح L'aromatérapie تتواجد الزيوت الأساسية في البروتوبلازم (le protoplasme) على شكل مستحلب وهي تميل إلى التجمع في قطرات كبيرة الحجم [15] حوالي 3000 زيت أساسي تم تحديدها منها 300 فقط مهمة تجاري وهذا بفضل نشاطاتها البيولوجية كمضادات لميكروبات، الفطريات والطفيليات، ولأجل رائحتها تستخدم الزيوت الأساسية في المجال الصيدلاني، الغذائي ومستحضرات التجميل... ويمكن لزيت أساسي واحد أن يكون لها عددة استخدامات [14].

I- 2-2-تاريخ الزيوت العطرية:

تؤكد البرديات الفرعونية والأثار التاريخية والمومياءات أن المصريين القدماء كانوا أول من استعمل العطور وعرف قيمتها من حيث التنشيط والحيوية ولا شك أن الفراعنة أول من استخدم الزيوت العطرية في العالج وتقوية الابدان وفي عام (1928) اكتشف أحد علماء الآثار في أحد المقابر الفرعونية انية فخارية تحتوي زيوتا عطرية يعود تاريخها إلى (3557) عاما وقد كانت الملكة كليوبترا من أكثر المغرمين باستخدام العطور والزيوت العطرية في تعطير القصور والملا بس ومياه الاستحمام وبعدها انتقلت الزيوت العطرية إلى بقية الحضارات أما عن دور العرب فلقد طور ابن سينا هذا العلم وقدم له أهم المنجزات التي تمثلت باستعمال عملية التقطير واستخراج الزيت الصافي المركز ليضعه في قوارير صيدلية لاستعماله في معالجة مختلف الامراض كما تمكن ابن سينا من تقطير الكحول لتخفيف كثافة الزيت قبل وضعه على الجلد [16].

I-2-3-موقع الزيوت العطرية في النبات:

في النبتة يمكن للزيوت الأساسية أن تخزن في مختلف الأعضاء مثل:الأزهار (origan) الأوراق(citronnelle, eucalyptus) الخشب (bois de rose, santal) واللحاء (cannelier) والجذور(vétiver) الريزومات (acore) الفواكه (badiane) أو في البذور (carvi)[17] تصنيع وتجميع 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(cuctile)إن شكل وعدد البنيات النسيجية الإفرازية يختلف من عائلة نباتية إلى أخرى وحتى من نوع إلى آخر ويمكن لعدة فئات من الأنسجة الإفرازية التواجد في نفس النوع[18].



(A) : poil sécréteur de Mentha pulegium), (B) : trichome glandulaire de Mentha pulegium, (C) : trichome glandulaire de Lippia scaberrima et (D) : structure de trichome glandulaire de Thymus vulgaris[19] [20].

الشكل 01: الأنماط المختلفة للبنيات المسؤولة عن تشكل الزيوت الأساسية.

I-2-4-إستخدمات الزيوت الأساسية:

إن نطاق تطبيق الزيوت العطرية واسع جدا ولكن يمكن تحديد أربع قطاعات رئيسية لاستخدامها على نطاق صناعي: قطاع الصناعات الغذائية الزراعية، قطاع العطور ومستحضرات التجميل، صناعة الأدوية والصناعة الكيميائية[20] .

I-2-4-1-قطاع الصناعة الغذائية :

يتم استخدام الزيوت العطرية كمواد حافظة للأطعمة وكمنكهات وهذا هو الحال بالنسبة للزيوت الأساسية من القرنفل والفانيليا والنعناع والزنجبيل والليمون والحمضيات المستخدمة في الحلويات والشاي والمشروبات والبسكويت ومنتجات الألبان [21] [22].

I-2-4-2- قطاع صناعة العطور ومستحضرات التجميل :

يعد قطاع العطور ومستحضرات التجميل أكبر مستهلك للزيوت الأساسية يتم استخدامها في صناعة العطور والشامبو وجل الاستحمام والكريمات والحليب ومزيلات العرق ومنتجات التنظيف الأخرى (الصابون والمنظفات ومنظفات الغسيل ومنعمات الأقمشة).

I-2-4-3- قطاع صناعة الادوية :

تستخدم صناعة الأدوية الزيوت الأساسية في مجال المطهرات الخارجية كما أنه يستفيد من خصائص الجواهر الطبيعية المضادة للبكتيريا bactéricide et santifongique

والحماية وما إلى ذلك. وقد أشارت الوكالة الأوروبية للأدوية إلى العديد من الزيوت الأساسية في علاج العديد من الأمراض ولا سيما الزيوت الأساسية من اليانسون الأخضرAnis vert وشجرة الشايArbre de thé والبرغموتBergamote والقرفة السيلانية Cannelle deCeylan والكراوية carvi والأوكالبتوس غلوبولوس Eucalyptus globuleux وغيرهاعلى سبيل المثال يتم استخدام زيت شجرة الشاي العطري لعلاج الجروح السطحية ولدغات الحشرات والحكة والتهاب الغشاء المخاطي للفم يستخدم زيت النعناع الفلفلي العطري لعلاج أعراض اضطرابات الجهاز الهضمي (التشنجات وانتفاخ البطن والام البطن واعتلال القولون الوظيفي) وكذلك لعلاج الصداع [23] أما بالنسبة لاستخداماتها أو فوائدها للنبات فهي تعمل الأتي:

– جذب الحشرات لإتمام عملية التلقيح في النبات وزيادة تكوين البذور والمحافظة على النوع[24] .

– تساعد على التئام الجروح النباتية بعد ذوبان الراتنج منها. التخلص من بعض نواتج العمليات الخلوية خارج أنسجة النبات[25]. في بعض الأنواع النباتية تقوم بدور نافر وطارد للحشرات والحيوانات حفاظا على أنواعها من الانقراض [26].

I-2-4-4- قطاع الصناعة الكيميائية:

تستخدم الصناعة الكيميائية الزيوت الأساسية كمواد خام لتركيب المكونات الطبية الفعالة والفيتامينات والنكهات وما الى ذالك الزيوت الاساسية تدخل ايضا في العديد من تركيبات المبيدات الحيوانية بفضل طيفها الواسع، العمل على الحشرات والمسببات للأمراض. زيت

القرنفل العطري هو ميثال يستخدم لمحاربة الفطرياتGlomerella cingulata المسؤولة عن تعفن العنب الناضج ويمكننا ايضا أن نذكر زيت البرتقال العطري كمبيد حشري [26].

I-2-5- طرق استخلاص الزيوت الأساسية:

تم تطوير عدة طرق لاستخلاص الزيوت الأساسية يمكننا أن نذكر من بينها: الاستخلاص بواسطة البخار المائي، الاستخلاص على البارد(l'enfleurage) الاستخلاص بالسوائل فوق الحرجة، الاستخلاص بمساعدة الموجات فوق الصوتية الاستخلاص بمساعدة المايكروويف وغيرها يتم اختيار الطريقة الأنسب لاستخلاص العطور من النبات وفقا لطبيعة المادة النباتية المراد معالجتها والخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيت المراد استخلاصه وطريقة استخدام المستخلص وذلك بهدف التقليل من التشوهات الحتمية التي قد تحدث بين المستخلص والعطر الأصلي أثناء عملية الاستخلاص [27-28].

I-2-5-1-الاستخلاص بواسطة البخار المائي:

تعد هذه الطريقة واحدة من الطرق الرسمية للحصول على الزيوت الأساسية [29] وهي تعتمد على أن مكونات الزيوت الأساسية متطايرة ولها درجة غليان منخفضة لذا يمكن نقلها بواسطة بخار الماء وبفضل طابعها الكاره للماء فهي قابلة للفصل عنه تحت تأثير بخار الماء المدخل أو المتولد داخل وعاء الاستخلاص يتم تسخين الزيت الأساسي الموجود في النبات مما يؤدي إلى انفصاله عن النسيج النباتي ويحمله البخار معه تتكاثف الأبخرة غير

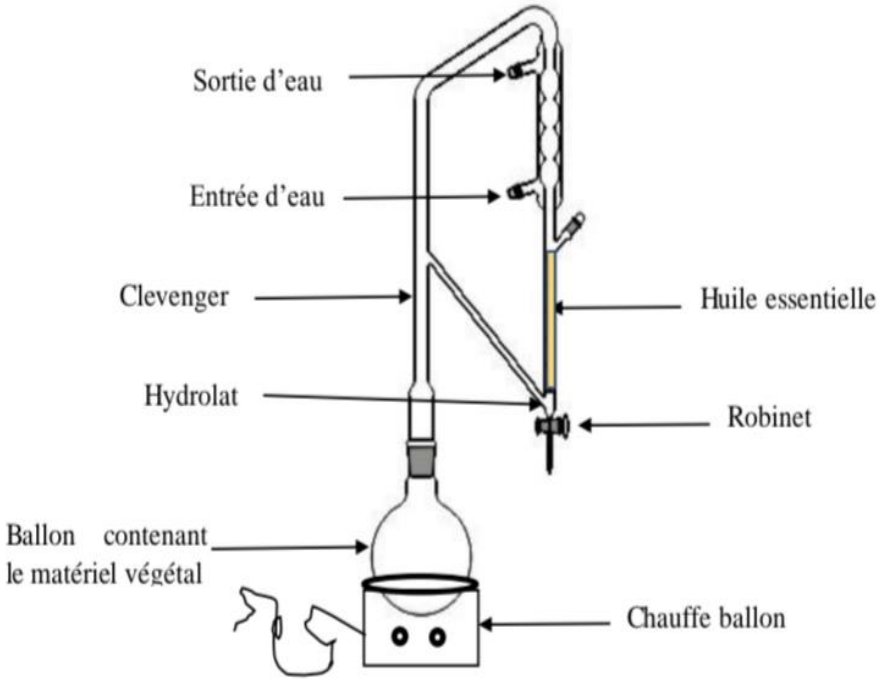
المتجانسة على سطح بارد ويتم فصل الزيت الأساسي عن طريق الترسيب حسب كثافة الزيت الأساسي يمكن أن يطفو فوق المقطر أو يترسب تحته توجد عدة أنواع من الاستخلاص بالبخارالمائي منها: التقطير بالبخار المائي (Hydrodistillation) الانتشار المائي (hidrodiffusion) والتقطير باستخدام بخار ماء مشبع Distillation à vapeur d'eau saturée

I-2-5-2- التقطير المائي:

التقطير المائي hydrodistillation هي طريقة مضبوطة normée من قبل AFNOR لاستخلاص الزيوت الأساسية وكذلك لمراقبة الجودة [30] حيث يتم غمس المادة النباتية المراد استخلاص الزيت الأساسي لها في الماء ثم يتم اخضاع الكل للحرارة حتى الغليان (الشكل 02).

الحرارة المرتفعة تسمح بانفجار الخلايا النباتية وتحرير الجزيئات العطرية هذه الجزيئات العطرية تشكل مع بخار الماء خليطا ازوتروبي mélangeazéotropique يتم توجيه بخار الماء المحمل بالزيت العطري نحو مكثف التقطير المائي يمكن أن يكون مع أو بدون إعادة تدوير الماء ويسمى مبدأ إعادة التدوير عادة بـ cohobage في المختبر النظام المزود بـ cohobeو الذي يستخدم عادة لاستخراج الزيوت الأساسية والمتوافق مع la Pharmacopée Européenne لهوكليفنجر Clevenger

مدة التقطير المائيhydrodistillation يمكن أن تتغير بشكل كبير، حيث قد تبلغ عدة ساعات وهذا يعتمد على المعدات المستخدمة والمواد النباتية المراد علاجها، مدة التقطير لا تؤثر فقط على المردود ولكن أيضا على تركيبة المستخلص.

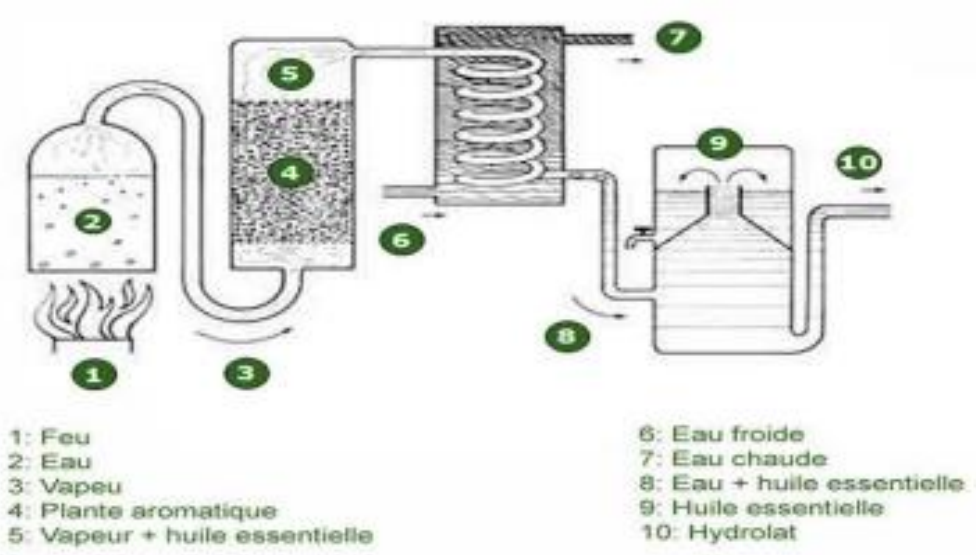


الشكل 2: يمثل الرسم طريقة استخلاص الزيت الأساسي بطريقة التقطير المائي (كلفنجر).

I-2-5-3-التقطير بالبخار :

يعد التقطير بالبخار أحد الطرق الرسمية للحصول على الزيوت العطرية (الشكل3) في نظام الاستخلاص هذا يتم وضع المادة النباتية في جهاز التقطير على لوحة مثقبة تقع على مسافة ما فوق القاع المملوء بالماء النبات على اتصال مع بخار الماء المشبع ولكن ليس مع الماء المغلي ويؤدي البخار إلى تمزق عدد كبير من الغدد مما يؤدي إلى تحرير مركباتها العطرية وبالتالي تنتشر الزيوت العطرية عبر النبات لتحمل مع بخار الماء المتدفق الى الخارج يتم بعد ذلك تكثيف الأبخرة المحملة بالمركبات المتطايرة قبل أن يتم تصريفها بسبب اختلاف كثافتهما يشكل الزيوت العطرية والماء طورين يتم فصلهما واستعادة الزيوت العطرية [31] تتيح هذه التقنية تجنب التفاعلات عندما تتلامس مكونات الزيوت العطرية مع الماء مما يؤدي إلى تغييرات في التركيب النهائي للمستخلص

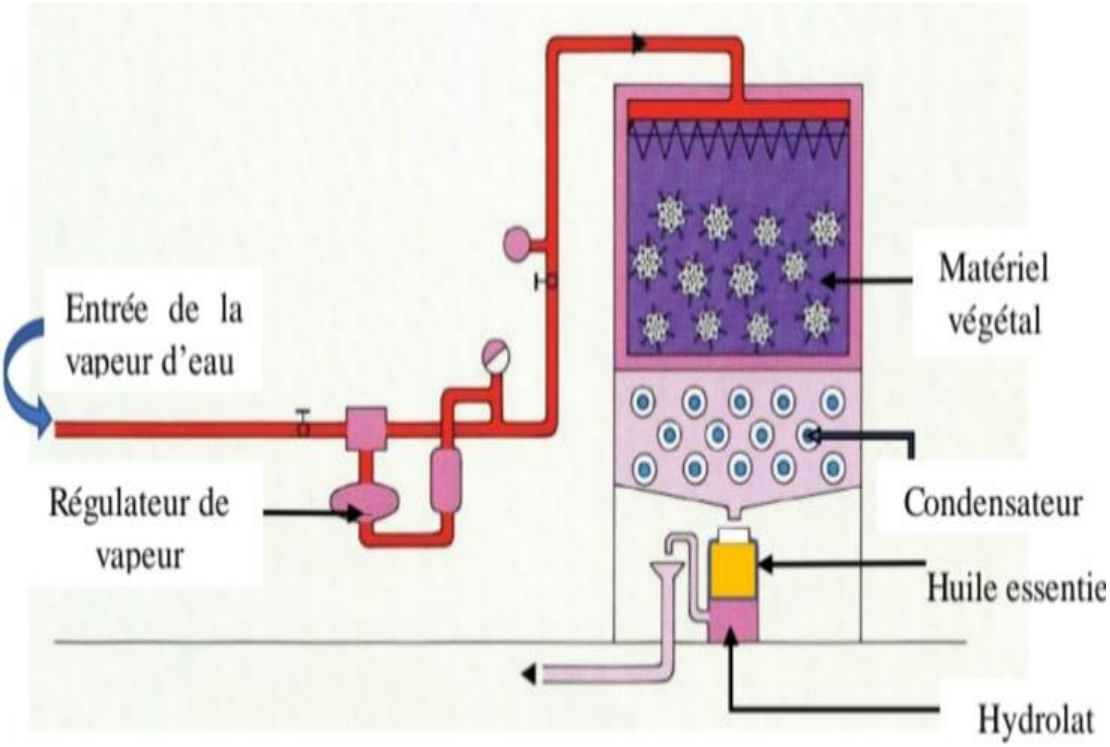
بالإضافة إلى ذلك فإنه يعمل بشكل أفضل مع الزيوت الأساسية الموجودة في الغدد الموجودة على سطح النبات تستغرق عملية التقطير بالبخار للزيوت العطرية غير السطحية وقتا أطول وتتطلب المزيد من البخار مقارنة بالزيوت العطرية السطحية.



الشكل 3: رسم لتركيبة لإستخلاص الزيوت العطرية التقطير بالبخار.

I-2-5-4- الانتشار المائي :

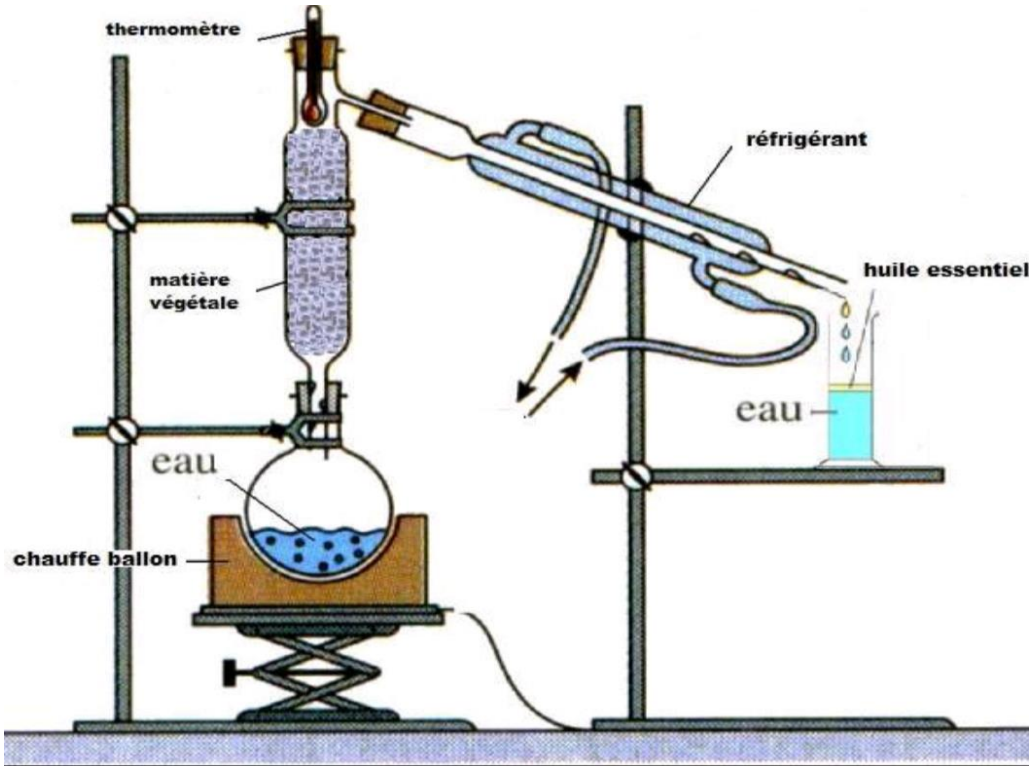
في هذه الطريقةلا تتلامس المادة النباتية مع الماء التقنية تعتمد على تكون بخار الماء من أعلى إلى أسفل من خلال المادة النباتية الموجودة تحتها ضغط منخفض يحمل بخار الماء جميع المواد المتطايرة معه (الزيت العطري) يتم جمع العناصر الأساسية بفضل المجمع الذي يسمح بالتوازن مع الضغط الجوي (الشكل4) ميزة هذه الطريقة أنها توفر الوقت والطاقة كما أنه يساعد على تجنب عدد كبير من الآثار المتعلقة بدرجة الحرارةالعالية وتسمح بالحصول على مردود أفضل من الزيت العطري [28].



الشكل4:يمثل الشكل طريقة استخلاص الزيوت الأساسية بالإنتشار المائي.

I-2-5-5- التقطير بالبخارالماء المشبع :

تعتبر عملية التقطير بالبخار المشبع الطريقة الأكثر استخداما على نطاق واسع اليوم في الصناعات للحصول على الزيوت الأساسية من النباتات العطرية ففي هذا النوع من التقطير (الشكل 5) لا تكون المادة النباتية على اتصال مباشر بالماء فهي توضع في شبكة مثقبة على مسافة معينة فوق الماء يمر البخار عبر المواد النباتية عن طريق إتلاف بنية الخلايا النباتية وبالتالي فإنه يحرر الجزيئات المتطايرة التي يتم نقلها بعد ذلك نحو المبرد حيث يتم تكثيفها يتم استعادة المقطر الناتج ومن ثم يتم فصل الزيت العطري عن الطور المائي تسمح هذه التقنية بتحسين جودة الزيت العطري عن طريق تقليل تغييرات التحلل المائي [32].



الشكل 5: تمثل الصورة طريقة الإستخلاص بالبخار المشبع.

I-2-5-6- التعبير البارد :

غالبا ما يتم استخدام الاستخلاص بالتعبير لاستخراج الزيوت الأساسية من الحمضيات مثلا لليمون والبرتقال واليوسفي وغيرها، ومبدأها هو كسر الجيوب البنزين بالوسائل الميكانيكية (الضغط أوالشق أو التآكل البارد) يتم فصل السائل المختلط بالماء الخلوي عن طريق الترسيب أو الطرد المركزي. في الوقت الحاضر هناك آلات يمكنها استخراج عصير الفاكهة والزيوت العطرية في وقت واحد تقريبا دون اتصال بين المستخلصين مما يتجنب التدهور المرتبط بعمل الماء [33].

I-2-5-7- الاستخلاص بالتشريب(Enfleurage) :

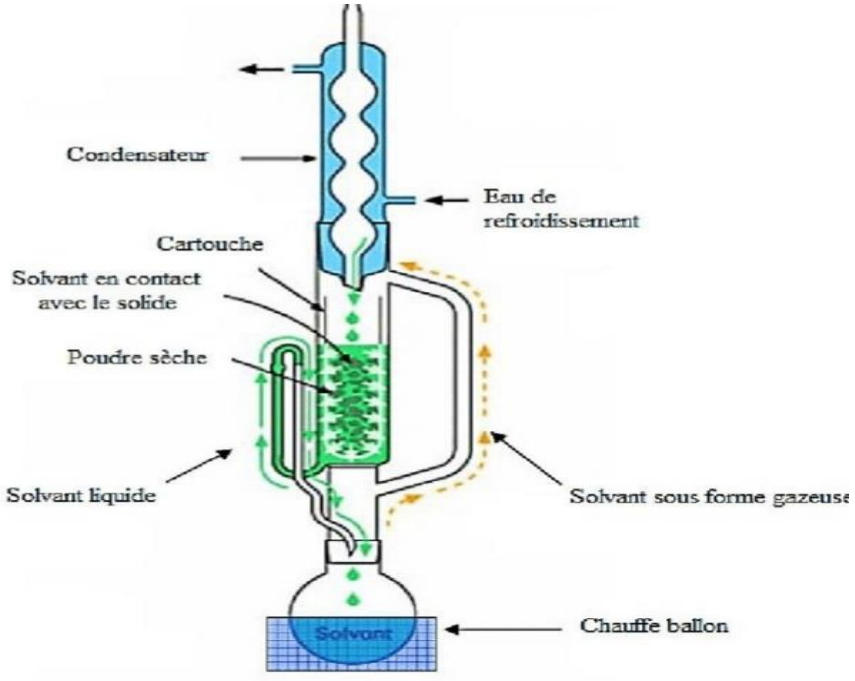
إن عملية التزجيج (أوالإستخلاص بالتشريب) طريقة قديمة جدا مبدأها هو بناء على التقارب القوي بين جزيئات الرائحة والدهون وهو يتألف من نشر المادة النباتية بلطف على ألواح زجاجية مطلية بطبقة رقيقة من الدهون ويتم تركيب هذه اللوحات على إطارات خشبية. المواد المتطايرة تنتشرويتم امتصاصها بواسطة طبقة الدهون ومن ثم يتم التخلص من هذه الدهون بالكحول تستخدم هذه العملية بشكل أساسي لاستخراج الزيوت العطرية من النباتات الهشة مثل الزهور [34].

الشكل 6: تمثل الصورة طريقة استخلاص الزيوت الاساسية بالتشريب.

I-2-5-8-الاستخلاص بالمذيبات العضوية :

تتمتع بعض الزيوت العطرية بكثافة قريبة من كثافة الماء لذا من الصعب فصلها عن الماء لذلك لا يمكن استخدام عملية التقطير بالبخار فالزيوت الأساسية قابلة للذوبان في معظم المذيبات العضوية فإن المبدأ هو نقع النبات في المذيب العضوي من أجل تمرير

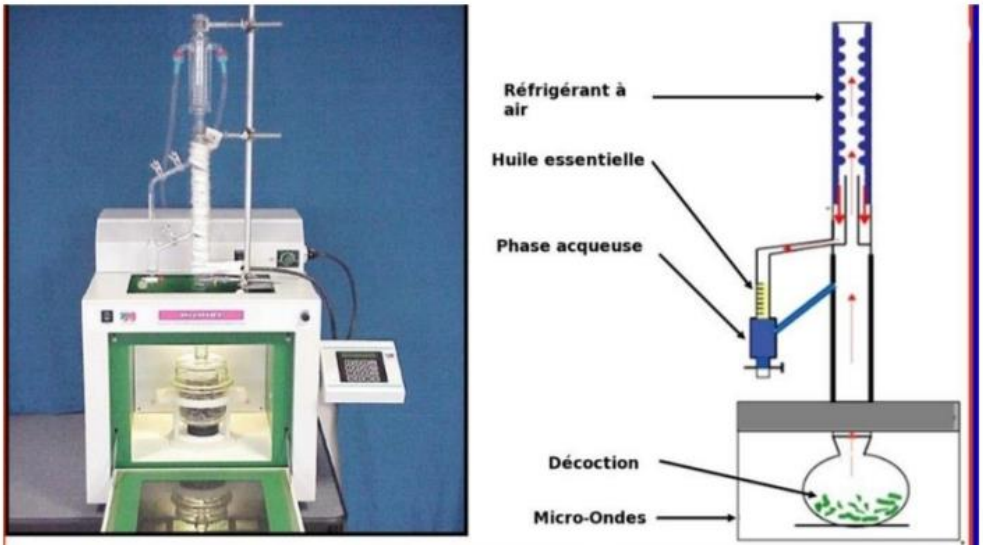
المواد ذات الرائحة في المذيب يتم بعد ذلك إخضاع المحلول الذي تم الحصول عليه لتقطير تحت ضغط منخفض لإزالة المذيب بالإضافة إلى كونه مسموح به يجب أن يكون لديه استقرار يفضل أن تكون درجة حرارة الغليان منخفضة لتسهيل التخلص منها ولا ينبغي أن يتفاعل كيميائيا مع المستخلص يتم الاستخراج بجهاز من النوع سوكسليت (Soxhlet)العيب في هذه الطريقة هو أن المذيبات المستخدمة في أغلب الأحيان تحتوي على قوة استخلاص أعلى من الماء بحيث لا تحتوي المستخلصات فقط على المركبات المتطايرة ولكن أيضا العديد من المركبات غير المتطايرة مثل الشمع و الأصباغ والأحماض الدهنية والعديد من المواد الأخرى [35].



الشكل 7: طريقة إستخلاص الزيت الاساسي بالمذيب طريقةsoxhlet.

I-2-5-9-الاستخلاص باستعمال الميكروويف :

في مطلع تسعينيات القرن العشرين ظهرت تقنية جديدة تماما تسمى التقطير المائي بواسطة الميكروويف تحت التفريغ (الشكل 8) في هذه العملية يسخن النبات بواسطة الميكروويف داخل حجرة مغلقة يتم فيها خفظ الضغط تدريجيا. تستخلص المركبات الطيارة بواسطة بخار الماء الموجود في النبات نفسه ثم تسترجع هذه المركبات بإستخدام الطرق التقليدية من تكثيف وتبريد وترسيب [36].

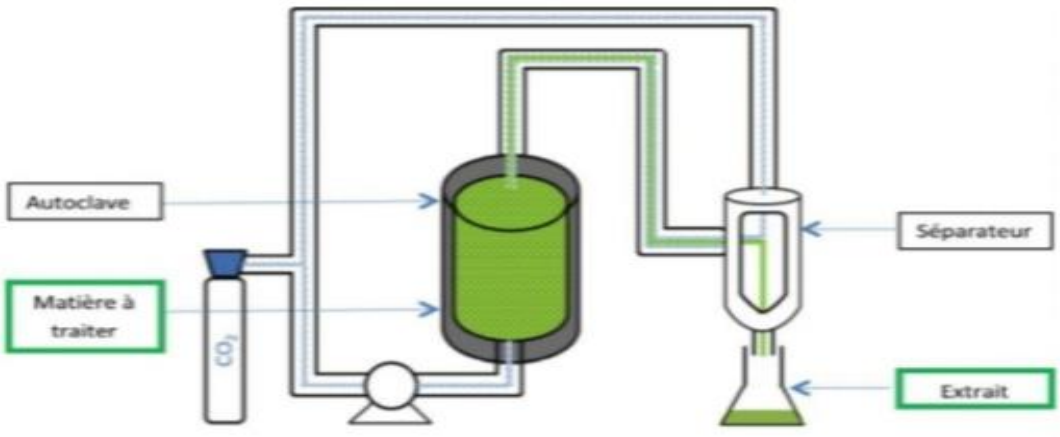


الشكل 8: رسم لتركيبة إستخلاص الزيوت الأساسية بالميكروويف.

I-2-5-10- الإستخلاص بواسطة ثاني أكسيد الكربون في الحالة فوق الحرجة :

تتميز هذه التقنية بطبيعة المذيب المستخدم فهو ثاني أكسيد الكربون في الحالة فوق الحرج تتم عملية الاستخلاص من خلال ضغط ثاني أكسيد الكربون إلى ضغوط ودرجات

الحرارة تفوق النقطة الحرجة له (P=72.8bars بار و°T=31.1C) في الحالة فوق الحرجة ثاني أكسيد الكربون ليس سائلا ولا غازيا وهذا يمنحه قوة استخلاص ممتازة قابلة للتعديل حسب درجة الحرارة المستخدمة السوائل فوق الحرجة مثل ثاني أكسيد الكربون فهي مذيبات جيدة في الحالة فوق الحرجة ومذيبات رديئة في الحالة الغازية [31] وتتمثل مزايا هذه العملية فيما يلي: ثاني أكسيد الكربون خامل كيميائيا تماما وهو طبيعي وغير سام وغير مكلف. في نهاية الدورة فصل المذيب عن المستخلص سهل (من خلال فك الضغط ليعودCO_2الى الحالةالغازية) مع الاسترجاع شبه كاملة للمذيب بتكلفة منخفضةاستخراج الزيوت العطرية باستخدام ثاني أكسيد الكربون فوق الحرج يوفر زيوتا عالية الجودة، جودة عالية ووقت استخلاص قصير نسبيا مقارنة بالطرق التقليديةومع ذلك فإن التركيب الصناعي لهذه العمليةلا يزال مكلفا ولاتزال الأجهزة المستخدمة ضخمة ومعقدة [31].



الشكل 9: رسم توضيحي لإستخلاص الزيت الأساسي بثاني أكسيد الكربون في الحالة فوق الحرجة.

I-2-6-النباتات المنتجة للزيوت العطرية :

ليست كل النباتات تنتج زيوتا أساسية اليوم حوالي 10%من الأنواع النباتية المسجلة تصنف كنباتات عطرية قادرة على إنتاج زيت أساسي ومن ثم هناك عائلات كبيرة من النباتات المنتجة.

تشكل الصنوبريات مثل التنوب(sapins) الفصيلة الخيميةla apiacées (المعروفة سابقا باسم Umbelliferae) وهي فصيلة نباتية واسعة الإنتشار وغنية بالزيوت الأساسية وتشكل الفصيلة النجمية(Les astéracées) والتي كانت تسمى سابقا "compositae" أكبر عائلة نباتية.

العائلة الشفوية Lamiaceae لها العديد من المزايا العلاجية وهناك عائلات أخرى لها أيضا مزايا علاجية كبيرة. مفيدة في العلاج مثل السرو (Cupressus) والخلنج (ericaceae)مع غولتيريا (Gaultheria) ونبتةإبرةالراعي (Pelargonium).

I-2-7-الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيوت الأساسية:

الزيوت الأساسية سائلة في درجة حرارة الغرفة وتتميز بكونها طيارة وهذا ما يميزها عن الزيوت الثابتة نادرا ما تكون الزيوت الأساسية ملونة [37] وكثافتها عموما أقل من كثافة الماء ماعدا القرنفل والقرفة (girofle وcannelle) فإن كثافتهما أكبر من كثافة الماء فهي تشكل إستثناءات، الزيوت الأساسية لديها معامل إنكسار عالي وهي قادرة على تحريف وتشتيت الضوء المستقطب.

I-2-7-1- القابلية للذوبان في المذيبات العضوية :

الزيوت الأساسية قابلة للذوبان في المذيبات العضوية فهي تذوب في الدهون

Liposolubles [38] [39] وهي أيضا قابلة لسحب بواسطة بخار الماء ذوبانها ضعيف جدا في الماء ومع ذلك فهي تعطي لهذا الماء رائحة مميزة مشكلة ما يسمى بالماء العطري [38].

I-2-8- طرق التعرف الكيميائي على الزيوت العطرية :

يتيح التحليل الكيميائي للزيوت الأساسية تحديد مكوناتها وكمياتها وقد ساهم التقدم في الأساليب التحليلية في التعرف السريع على عدد كبير من المركبات في الواقع تعد الكروماتوغرافيا الغازية(CPG) al chromatographie en phase gazeuse الطريقة المرجعية المستخدمة لتحليل الزيوت الأساسية حيث تتيح تحليل خلطات قد تكون معقدة جدا ومتفاوتة في درجة التطاير [31].

I-2-8-1-الكروماتوغرافيا في الطور الغازي(CPG) :

الكروماتوغرافيا الغازية هي طريقة تحليل تعتمد على الفصل وتطبق على المركبات الغازية أو التي يمكن تبخيرها بالتسخين دون أن تتحلل، تعد هذه التقنية الأوسع استخداما في تحليل التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية لأنها تتيح فصل المكونات الفردية بدءا من عينات بحجم ميليلتر أو حتى ميكروليتر فقط ، لقد ساهم التقدم التكنولوجي في مجال الأعمدة الشعرية(colonnes capillaires) ،الطورالثابت(phases stationnaires) وكواشف التأين باللهب.في جعل الكروماتوغرافيا الغازية أداة لا غنى عنها في تحليل الزيوت الأساسية[40]يميز كل مكون من خلال مؤشر يحسب بناء على سلسلة من الألكانات أو في بعض الأحيان إستر الميثيل الخطي وذلك تحت نفس ظروف تحليل العينات أو باستخدام برمجة درجة الحرارة (مؤشرات الاحتباس) ورغم أن أزمنة الاحتباس

تكون عادة خاصة بكل مركب إلا أنها قد تختلف من تحليل لآخر خصوصا بسبب تقادم الأعمدة[40].

I-2-8-2- الربط بين الكروماتوغرافيا الغازية / مطياف الكتلةCPG/SM):

تستخدام تقنية CPG/SM في مختبرات تحليل المركبات العطرية لبساطة الربط بين التقنيتين والتطور في معالجة الإشارات في الزمن الحقيقي وتوفر قواعد بيانات لطيف الكتلة وتطور خوارزميات مقارنة الطيف الخاص بمركب مجهول مع الأطياف المسجلة في قواعد البيانات تعد الكروماتوغرافيا الغازية باستخدام الأعمدة الشعرية (La CPG sur colonne capillaire) وسيلة ممتازة لإدخال العينة إلى مطياف الكتلة. حيث ترتبط هذه الأعمدة مباشرة بمصدر الأيونات مما يتيح التأين باستخدام تأثير الإلكترونات [31].

I-2 -9- التركيب الكيميائي للزيوت العطرية :

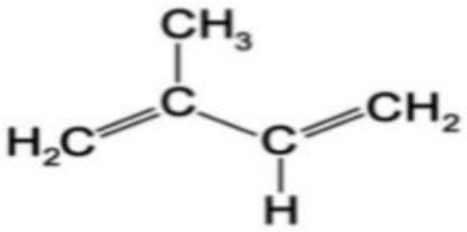
الزيوت العطرية عبارة عن خليط معقد من جزيئات شديدة التنوع تنتمي بشكل أساسي إلى مجموعتين كيميائيتين فيما يتعلق بأصولها الحيوية: المركبات التربينية (التربينات ومشتقاتها المؤكسدة) والمركبات العطرية المشتقة من فينيل بروبان [41] تتواجد عادة بعض المركبات من أصول مختلفة (الكحوليات، الألدهيدات، الكيتونات، الإسترات، الخ) بكميات ضئيلة تتميز جميع المركبات بوزن جزيئي منخفض [42].

I-2 -9-1- التربينات والتربينويدات (terpènes et terpénoïdes):

التربينات هي هيدروكربونات تحدث بشكل طبيعي تم تعريفها على انها المجموعة الأكثر تنوعا في المركبات الثانوية لدى النباتات وهي مشتقة من بنية خماسية الكربون n (C_5H_8) وتسمى عادة الايزوبرين ووفقا لعدد وحدات الازوبرين ووفقا لعدد وحدات الازوبرين المتكررة تصنف التربينات الى: monoterpénoïde (n=2), sesquiterpénoïdes (n=3)

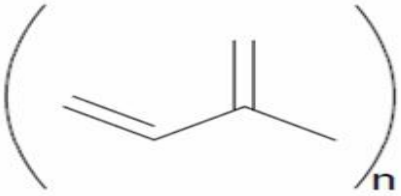
diterpénoïdes. (n=4)

في الزيوت الأساسية تشكل monoterpénoïdes وsesquiterpénoïdes الغالبية العظمى (الشكل 10) [43].



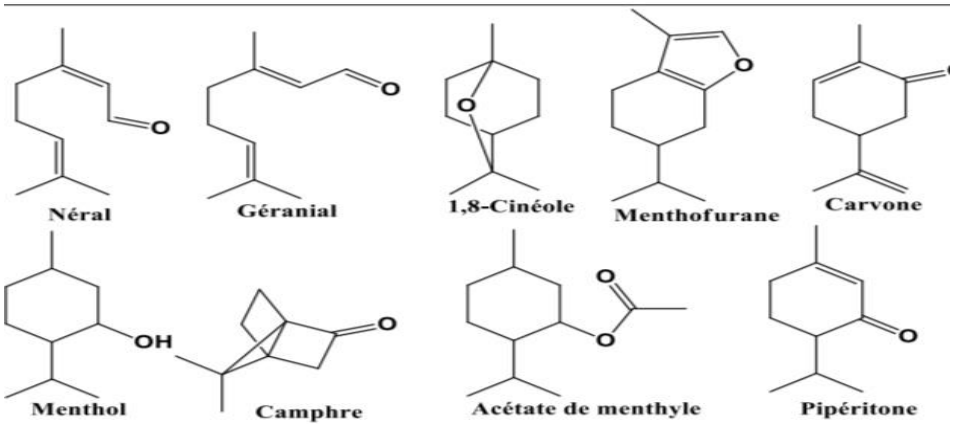
الشكل 10: بنية جزيئ الإزوبران (isopréne).

Isoprène = terpène

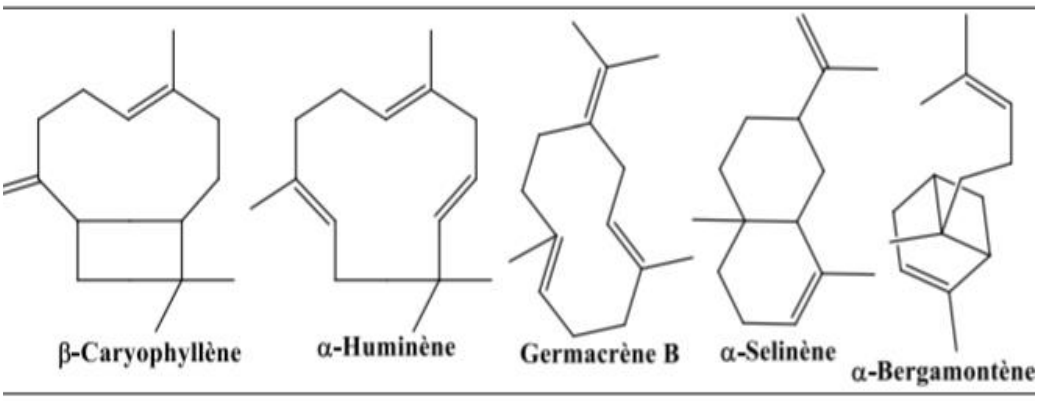


n			
1	C5	Hemiterpene :	Isoprène
2	C10	Monoterpéne :	Nérol, myrcène
3	C15	Sesquiterpène :	la chaîne de la chlorophylle, vitamine E
4	C20	Diterpéne :	Huiles essentielles
6	C30	Triterpéne :	Phytostérols
8	C40	Tetraterpéne :	caroténoïdes
>8	>40	Polyterpéne :	protéines, cytoquinine

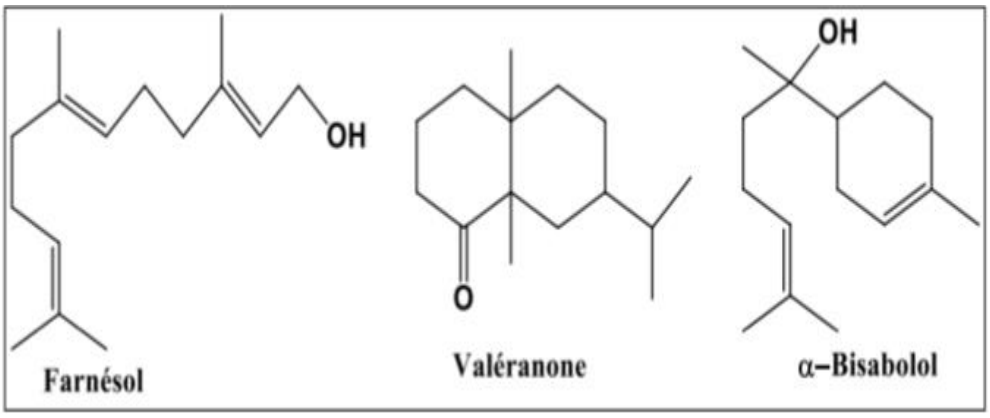
الشكل 11: تصنيف التربينات وفقا لعدد وحدات الإزوبرين الداخلة في تركيبها.



الشكل 12: بنيةMonotrpène oxygén .



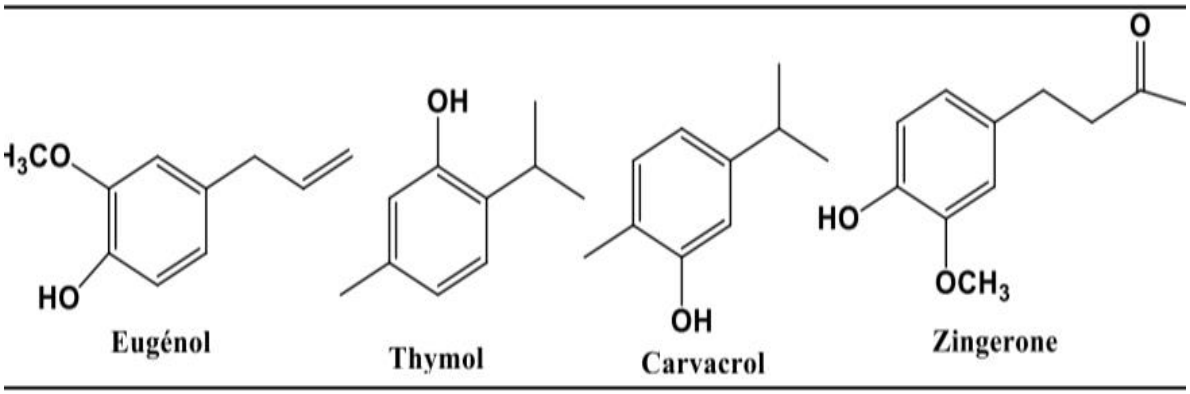
الشكل 13: بنية sesquiterpènes hydrocarbonés.



الشكل 14: sesquiterpènes oxygénes

I-2 -9-2- المركبات العطرية :

اقل تواجد في الزيوت العطرية مقارنة مع التربينات فإن بعض النباتات لديها نسب كبيرة منها phénylpropanoïdes مشتقة عادة من الحمض الأميني الفينيل ألانينphénylalanine. فهي تتكون من سلسلة كربونية مرتبطة بحلقة عطرية سداسية الكربون (الشكل 15) يوضح بنية بعض المركبات الداخلة في تكوين الزيوت الأساسية [44].



الشكل 15: بنية بعض مركبات العطرية الداخلة في تركيب الزيوت الأساسية.

I-2 -10- الفعالية البيولوجية للزيوت الأساسية:

للزيوت الأساسية خاصية علاجية وتطهيرية مهمة ففي القرون الأخيرة أجريت العديد من الدراسات العلمية التي إهتمت بهذه الخصائص [45] وقد تم التوصل إلى العديد من النتائج الهامة مثل النباتات التي تحتوي علىEucalyptu، Lavande، Girofle، Thym، Sarriette Cannelle فهي تحتوي في زيوتها، الأساسية على المركبات:Thymol، géraniol، citral، linalol ، التي تملك خاصية ضد بكتيريا مضاعفة بـ 2،7،20، 5 مرة على التوالي من الفينول [46].

أشار العالم lamendin أن مغلي البابونج (Camomille) استعمل كمهدئ واستخدم الزيت الأساسي له كمضاد للإلتهاب وكمسكن ومهدئ للجهاز العصبي، هذا وقد أكدت العديد من الدراسات أن للكثير من الزيوت الأساسية خاصية ضد تأكسدية مثل نباتات جنس Menthe [47]. معظم الزيوت الأساسية التي تحتوي على التربينات لها نشاط كبير ضد الميكروبات، كما انها 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 [48].

I-2-10-1-الفعالية ضد البكتيريا :

أظهرت الكثير من الدراسات أن كل من النباتات أن بعض النباتات لها نشاطية ضد بكتيرية كبيرة ومهمةخاصة ضد البكتيريا المسببة لإمراض الجهاز التنفسي وأمراض الجهاز الهضمي مثلSalmonella enterica و Escherichia coli[45].

أجرى العالمErturk دراسة لمعرفة نشاطية 11 زيت أساسي على خمس 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 [49] بدراسة الزيوت الأساسية لـ 50 نبتة طبية وتأثيرها على 6 سلالات من البكتيريا بإستعمالطرقتي: microdilution en milieu liquideو الإنتشار على وسط صلب بالأقراص وقد كانت النتائج إيجابية، حيث وجد 31 مستخلص زيتي كان له تاثير ضد بكتيري على البكتيريا الموجبة الغرام.

I-2-10-2- الفعالية ضد الفطريات :

حسب [50] فإن المركبان:thymol و carvacrol يملكان نشاطية ضد بكتيرية وفطرية من جهة أخرى الزيت الأساسي للنوع muigelup ahtnemالذي يحتوي على (+) R pulégone بنسبة 82% يملك نشاطية كبيرة ضد الفطرين Pénicilliumو Mucor.

I-2-10-3-الفعالية ضد الحشرات:

إن زيت Citronellol طارد للحشرات كالبعوض [49] في حين أكد في دراسة للزيت الأساسي لـ Mentha pulegium أن لهذا الأخير نشاطية ضد الحشرات (Rhyzopertha dominica، Sitophilus oryzae) التي أبيدت بالكامل خلال 24ساعة [51].

I-2-11- آلية عمل الزيوت الأساسية :

العديد من النظريات وضعت لتفسير الآلية التي تعمل بها الزيوت الأساسية كمضادات

للميكروبات. التكوين المعقد للزيوت الأساسية يميل إلى إثبات أن هذا النشاط يرجع إلى عدة آليات مختلفة تتعلق بطبيعة هذه المركبات الكيميائية [52]- [53] - [54].

وتعزى معظم هذه الآليات إلى تفاعل مكونات الزيوت الأساسية مع غشاء الخلية [43]. 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 والى خلل وتعطيل لآليات نقل المواد المغذية بواسطة الغشاء الخلوي [55] -[56] كما يمكن أيضا للزيوت الأساسية تشويش التدرج الأيوني على جانبي الغشاء السيتوبلازمما يقلل من إستقراره وتعطيل النقل الغشائي ومع ذلك، فبعض البكتيريا قادرة على مواجهة هذا التأثير بإستخدام مضخة الأيونات مع تباطؤ في سرعة نموها بسبب استنزاف طاقتها في هذه المضخة[57-56] 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 يعطل وظيفتها [56] الزيوت الأساسية المستخلصة من القرفة والثوم يمكن أن تثبط النشاط الأنزيمي لـ bactéries du rumen مثلEnterobacter aerogenes. زيوت أساسية أخرى تمنع نمو الميكروبات عن طريق التأثير على الأحماض النووية [58].

يعتمد أيضا تأثير الزيوت الأساسية على طبيعة الكائنات الدقيقة المستهدفة، البكتيريا الإيجابية الغرام هي الأكثر حساسية لتأثير الزيوت الأساسية مقارنة بالبكتيريا سالبة الغرام هذا يمكن تفسيره بوجودالغشاء الخارجي في البكتيريا سالبة الغرام الذي يعمل كحاجز قادر على خفض نفاذية المركبات الكارهة للماء [58] ومع ذلك يمكن للجزيئات منخفضة الوزن الجزيئي مثل (carvacrol و thymol) عبور هذا الحاجز [59- 56].

I-2-12- سمية الزيوت الأساسية :

هذا الجانب من المعرفة له أهمية كبيرة فالسمية المزمنة (toxicité chronique) للزيوت الأساسية ليست معروفة جيدا كما نفتقر للبيانات المتعلقة باحتمالية وجود خصائص لهذه الزيوت تسبب الطفرات propriétés mutagènes أو تسبب السرطان cancérogènes ولكن خطر السمية الحاد toxicitéaigue معروف جيدا و خاصة عند ابتلاع كميات كبيرة من الزيوت الأساسية التي تتسبب مثلا في تسمم الأعصاب la neurotoxicit و هذا لإحتوئها على thuyone (thuya، absinthe ، tanaisie، sauge،officinale) أو pinocomphone(hysope): هذه الكيتونات تسبب أزمات تشبه الصرع épileptiformes و tétaniformes، تسبب إضطرابات نفسية وحسية والتي تتطلب العلاج بالمستشفيات وهناك تربينات أحادية monoterpène هي الأخرى سامة عند ابتلاعها بجرعات عالية مثل:Menthol، camphre(خطر تشنج في لسان المزمار glotte عند الأطفال الصغار)،cineole، E- Anéthole هذه السمية

التي لايمكن تجاهلها تجعلنا نتخذ موقفا حذرا عند استخدامنا للزيوت الأساسية وخاصة في تناولها عن طريق الفم وفي صفتها النقية وبتراكيز عالية [38].

I-2-13- 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 [60] فطريقة الحصاد وظروف النقل، التخزين والتجفيف يمكن أن تولد dégradations Enzmatiques

تحدث التغييرات الأكثر أهمية خلال عملية التقطير المائي تحت تأثير ظروف العمل خاصة المتعلقة بالوسط (درجة الحموضة ودرجة الحرارة) والوقت اللازم لعمليةالإستخلاص أيضا تتدخل عوامل اخرى مثل تلك الإجراءات التي يمكن القيام بها قبل أو أثناء عملية التقطير المائي(كالطحن).Agitation، pression، dégradation chimique ou enzymatique

broyage. ،dilacération تساهم في اختلاف مردود وجودة الزيت الأساسي [61] خلال التقطير، الوسط المائي الناتج عن غمس النبتة تصل درجة الحموضة فيه ما بين 4 و7 وأحيان أقل من4 بسبب بعض الفواكه [62] مكونات هذا الوسط تتعرض للحرارة وللوسط الحمضي الذي قد يؤدي إلى تغييرات كيميائية. الزيوت الأساسية المستخلصة تختلف كثيرا عن جوهر الأصليl'essence originelle خصوصا أذا كانت مدة الغليان طويلة

ودرجة الحموضة منخفضة [63]. المادة النباتية تخضع لتفاعلات كيميائية مختلفة: hydrolyses،déprotonations، hydratations و cyclisations [63]، يمكن أن تحفزها معادن موجودة بكميات ضئيلة في النباتات [62] أو اتية من معدات الجمع والإستخلاص مما يتسبب بتحولات كيميائية للمكونات، إماهة (l'hydrolyse)الإسترات غالباما يكون أول تفاعل يحدث فيؤدي ذلك إلى تكوين الأحماض العضوية acides organiquesوالتي بدورها تحفز تفاعلات cyclisationو déshydratation [64]. للحد من هذه المشاكل دعا [63] إلى الحفاظ على pH معتدل وتقليل 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 خارجيةextrinsèques ، تتعلق بالشروط التي تنمو وتطور فيها النباتات [63]. مردود وتركيب الزيوت الأساسية يختلفان تبعا للبيئة (درجة الحرارة، الملوحة وهطول الأمطار...) وفترة الحصاد (الموسم، مرحلة النمو) وحالة النبتة (طازجة أو مجففة) وتقنية الإستخلاص المستعملة ونلاحظ أيضا الأختلافات بين الزيوت الأساسية المستخلصة من أجزاء مختلفة لنفس النبات (الأوراق، والجذور والبذور، السيقان والأزهار) [59]. مثلا الزيوت الأساسية المستخلصة من أوراق الكزبرة rdnairoc (coriandrum sativum)تختلف عن الزيوت النباتيةالمستخلصة من بذور النبتة نفسها [65]. وفي هذه الدراسة تم إختير ثلاث نباتات تنتمي للفصيلة الشفوية.

I-2-14- النبتات المدروسة :

I-2-14-1- معلومات عامة على النباتات التي تنتمي لجنس Echium

الإسم العلمي: Echium

معلومات عامة:

النباتات التي تنتمي لجنس Echium هي نباتات عشبية ثنائية الحول من فصيلة الثنائيات من عائلة الحميحميات (Boraginaceae) موطنها الأصلي أوروبا وغرب آسيا وهي منتشرة على نطاق واسع في العديد من المناطق المعتدلة في العالم [66]. يتراوح ارتفاعها بين (30cm و100)ولها أوراق مستطيلة عليها شوك يشبه الزغب بالإضافة إلى الزهور التي على شكل جرس عادة ما تكون زرقاء أو وردية أو بيضاء [67] يشتهر نباتEchium بخصائصه الطبية، حيث يتمتع بخصائص مضادة للالتهابات وتستخدم في الطب العشبي [68].

I-2-14-2-التصنيف العلمي لنباتات من جنسEchium :

من عائلة (Boraginaceae) هي عائلة من كاسيات البذور تضم 1600 نوع موزعة على110جنس [69] هناك أعشاب سنوية (Heliotropium) شجيرات وأشجار ومن المميزات أن الساق والأوراق مغطاة بشعر صلب تعطي شعورخشنا [70]،Heliotropium لها توزيع عالمي أنواع Boraginaceae لها العديد من الاستخدامات ولكن لا يوجد منها ذات أهمية اقتصادية كبيرة باستثناء بعض النباتات الزينة ونباتات الأخشاب تتمتع العديد من نباتات Boraginaceae بخصائص طبية تستخدم في الطب التقليدي لعلاج

الإصابات وأمراض الجلد والحمى، ألالم في الصدر وما إلى ذلك [71].

I-2-14-3- التصنيف العلمي لـ Echium:

تم تصنيفه حسب [72].

المملكة	(النباتات)	Régne
تحت المملكة	Tracheobionta (النباتات الوعائية)	Sous-régne
القسم	Magnoliopsida (ثنائية الفلقة)	classe
تحت القسم	Asteridae (الفئة الفرعية)	Souse classe
االفصيلة	**Lamiacées** (الشفوية)	Ordre
(العائلة)	Boraginaceae (الحمحمية)	Famille
الجنس	Echium	Genre

الجدول 1: التصنيف العلمي لنبات من جنس Echium.

I-2-14-4- الإستخدامات والخصائص الطبية لنباتات التي تنتمي لجنس Echium :

الخصائص الطبية لنباتات التي تنتمي لجنس (Echium)، غني بصمغ الفركتوزان والقلويدات السامة للكبد يتم استخدام قمم الأزهار والأوراق على شكل مغلي للاستفادة من خصائصها، قابض، مرطب، طارد للبغم، محفز للتعرق ويمنع التهاب الشعب الهوائية والإنفلونزا [73] في الواقع يوصى باستخدام Echium لمجموعة واسعة من التطبيقات

الطبية، مثل علاج نزلات البرد والسعال والحمى والصداع واحتباس الماء وحصى الكلى والالتهابات الألم وتعزيز التئام الجروح وعلاج الجلد المحمر والدمامل وتعمل الألكانينات الموجودة في Echium كعوامل مضادة للميكروبات ضد بكتيريا حمض اللاكتيك وضد والمكورات العنقودية الذهبية والسارسينا لوتيا(Sarcina Lutea) تستخدم جذور نبات Echium في الطب التقليدي لعلاج الشقوق على اليدين وكذلك لشفاء الجروح مثل جذورها هي بلسم فعال ضد الحروق والدمامل [74] تحتوي نباتات التي تنتمي لجنس Echiumعلى تركيبة كيميائية غنية ومتنوعة و تحتوي على مجموعة من المركبات النشطة بيولوجيا بما في ذلك الفلافونويدات، قلويدات البيروليزيدين، التربينات البوليفينولات، الستيرولات، التانينات له خاصية النشاط المضاد للأكسدة حيث تتمتع الفلافونويدات بالقدرة على حبس الجذور الحرة التي ينتجها جسمنا استجابة لذلك للعدوانية التي تتعرض لها بيئتنا والتي تعزز شيخوخة الخلايا ومن بين هذه الفلافونويدات: الروتين (la rutine) وله خاصية النشاط المضاد للسرطان حيث توجد عوامل مضادة للسرطان في الفلافونويدات التي يمكنها تثبيط انتشارالخلايا السرطانية وتشارك بشكل فعال في تثبيط التسرطن في المرحلة الأولية [75] ومن بين هذه الفلافونويدات: الكيرسيتين(la quercétine).

I-2-14-5-الإسم العلمي origanum majorana :

التسمية بالعربية: البردقوش

الإسم majorana أصله من كلمتين يونانيتين "oros"وتعني الجبال و" gonos"وتعني

الإشراقة والمتعة وهكذا أصبح معروفا بمتعة الجبال لجماله ووفرته في المناطق الجبلية في حوض البحر الأبيض المتوسط [76]. origanum majoranaهو نبات طبي من عائلة الشفوية عشبي معمر من جنس Organum. ينتشرهذا النبات في مناطق البحر الأبيض المتوسط، وخاصة في المغرب والجزائرو مصرو إسبانيا Origanum majorana يصل ارتفاعها من 20 إلى 40 سم متفرعة إلى حد ما، مع أوراق بيضاوية صغيرة ورقيقة ومشعرة أزهارها الصغيرة بيضاء أو وردية مجمعة في شكل خيمة رائحتها قوية جدا لها رائحة طيبة [77] زهور هذا النبات خنثى في الطبيعة حيث يوجد كلا الجنسين على نفس النبات. البذورصغيرة بيضاوية ذات لون بني غامق وتنضج من أغسطس إلى سبتمبر لها جذور أساسية يبلغ قطرها من 0.2mm إلى0.6mm الجذور النبات أسطوانية الشكل لها رائحة عطرية وطعم غير ثابت [78].

I-2-15-1-التصنيف العلمي لنباتOriganum majorana :

ينتمي لجنسOriganum إلى عائلة Lamiaceae والفصيلة الفرعيةNepetoideae [79].

Règne	النباتات	المملكة(Règne)
Sous-régne	Chlorobiontes	**المملكة الفرعية**
classe	Trachéophytes	**القسم**
erdor	الشفوية (**Lamiacées**)	**الفصيلة**
Genre	Origanum	**الجنس**
Espèce	Organum majorana.	**الأنواع**

الجدول 2: التصنيف العلمي لنبات Origanum majorana.

I-2-15-2- النشاط المضاد للأكسدة :

المستخلص المائي والزيت العطري ومستخلص أسيتات الإيثيل للجزء الهوائي منOriganum majorana تمتلك نشاطا مضادا للأكسدة بشكل كبير كما تم معرفة خصائص مضادة للأكسدة في مستخلصات أخرى من المردقوش الحلو بما في ذلك الإيثانول، والهكسان، والمستخلص الكحولي المائي. المركبات الفينولية مثل حمض الهيدروكسي سيناميك والفلافونويدات، حمض الأورسوليك، حمض الأورنوسيك، الكارنوسول، حمض الروزمارينيك وأحماض الكافئيك(caféique) هذه المركبات مسؤولة عن النشاط المضاد للأكسدة [80].

I-2-15-3- النشاط المضاد للبكتيريا :

تؤثر الزيوت الأساسية على تكاثر الميكروبات من خلال تغيير نفاذية الغشاء للبكتيريا عن طريق تعطيل أنظمة نقل الأيونات؛ النقل الإلكترون وإنتاج الطاقة. تعتمد طريقة عمل الزيوت الاساسية على النوع من الكائنات الحية الدقيقة [81] بشكل عام، البكتيريا سالبة الغرام (-GRAM) أكثر مقاومة من موجبة الغرام (+ GRAM) بفضل بنية الغشاء الداخلي [82].

II-15-4- المكونات الفعالة لـ Origanum majorana :

صنف نبات (Origanum majorana) كنبات ذي أنشطة دوائية قيمة [83-84]. فقد تمت دراسة النشاط البيولوجي للزيت العطري المشتق من الجزء العلوي من النبات. وقد نسبت العديد من الخصائص إلى هذا الجزء من المستقلبات الثانوية، بما في ذلك خصائص مضادة للأكسدة، ومضادة للميكروبات، ومضادة للالتهابات، ومضادة لأستيل

كولينستراز(anti-inflammatory)، ومضادة للسرطان، ومضادة للاكتئاب، ومسكنة للألم [86] [85]. وإلى جانب الأنشطة البيولوجية المذكورة أعلاه، فإن النشاط الطارد والمبيد للحشرات للزيت العطري للنبات له أهمية قصوى [87] [88] وفي الوقت الحاضر ولضمان توافر الغذاء تعالج المحاصيل بالمبيدات الحشرية الاصطناعية والتي يناقش تأثيرها السلبي على صحة الإنسان والبيئة بشكل مكثف [89]. ويمكن أن تكون الزيوت العطرية بدائل بيولوجية للمبيدات الحشرية الاصطناعية المستخدمة حاليا [90]. لذلك، يتناول عدد كبير من الدراسات النشاط البيولوجي للزيوت العطرية كمبيدات حشرية مرشحة ضد العديد من أنواع الحشرات [92-90]. تهدف هذه المنتجات المشتقة طبيعيا إلى حماية المحاصيل بطريقة صديقة للبيئة وفي الوقت نفسه عدم الإضرار بصحة الإنسان على وجه الخصوص، فيما يتعلق بالزيت العطري لـ Origanum majorana فقد تم تقييم أنشطته في إبادة الحشرات وإبادة اليرقات وطرد الحشرات والتبخير [88] - [91] - [93] - [94]. نظرا لقدرة الزيت العطري للنبات في مكافحة الآفات الحشرية فيOriganum majorana، المركبات المتطايرة المميزة المقدمة بكميات كبيرة هي الهيدروكربونات أحادية التربينات (monoterpenes hydrocarbons) و(monoterpenes oxygenated). أما المكونات الأخرى الأقل كمية فهي(sesquiterpenes) سواء كانت مؤكسدة أم لا وكما هو موضح أدناه تسود أحاديات التربين المؤكسدة في معظم الحالات في زيت Origanum majorana العطري المشتق من مناطق جغرافية مختلفة ويعتبر terpinen-4-ol المركب الأكثر وفرة [96-95]. في

معظم الدراسات كانت المركبات التي تم رصدها بوفرة هي تيربينين-4-أول، وهيدرات سيس-سابينين، وجاما-تيربينين-γ terpinen-4-ol,hyadrate cis-sabinene and (terpinene) بينما في بعض الحالات يكون الزيت العطري غنيا بالكارفاكرول والثيمول (carvacrol and thymol) حيث يكون تركيز تيربينين-4-أول(terpinen-4-ol) نصف تركيز الكارفاكرول (carvacrol) أو حتى غائبا تماما [87-96-97]. وهكذا صنف البحثون نبات(Origanum majorana) إلى نمطين كيميائيين رئيسيين، بناء على معايير نوعية. النمط الكيميائي الأول هو تيربينين-4-أول/ سيس-سابينين هيدرات the) (terpinen-4-ol/cis-sabinene hydrate، والنمط الكيميائي الثاني ينتمي لنوع الكارفاكرول/الثيمول [99-98].

I-2-16- الإسم العلمي vitex agnus-castus :

التسمية بالعربية: عشبة مريم

I-2-16-1- تعريف جنس vitex :

جنس Vitexهي عبارة عن شجيرات أو أشجار صغيرة التي كانت تصنف سابقا ضمن عائلة Verbenaceae ولكن التصنيف التطوري يضعها الآن في الفصيلة الشفوية [100]. تنمو في المناطق الدافئة ويمكن التعرف عليها بسهولة وخاصة أوراقها الكفية (تشبه شكل كف اليد) الكأس ذو الخمسة أسنان يكون قصيرا عموما. التويج يحتوي على 5 فصوص غير متساوية للغاية تشكل شفتين تقريبا، والفص السفلي واضح أكثر تطورا من الاخرين. تبرز الأسدية الأربعة

متجاوزة بشكل واضح التويج ومحيط بأسلوب مياسم. الثمرة عبارة عن ثمرة لحمية تنقسم نواتها إلى 4 حجرات كل منها يحتوي على بذرة. يضم هذا الجنس أكثر من 200 نوع،

I-2-16-2- التصنيف النباتي :

في سنة 2009 تم تغيير تصنيف العائلة من verbenaceae الى iaceaelam [100].

Régne	النباتات	المملكة
Sous-régne	tracheobionta	المملكة الفرعية
Division	Magnoliophyta	القسم
Sous classe	Asteridae	الفئة الفرعية
Ordre	Lamiales	الترتيب
Famillie	الشفوية(**Lamiacées**)	العائلة
Genre	vitex	الجنس
Espèce	vitex Agnus- castus	النوع

الجدول 3: التصنف العلمي لنبات Vitex agnus-castus.

I-2-16-3- وصف النوع **Vitex agnus-castus** :

Vitex agnus-castus هي شجيرة ذات أوراق متساقطة قد يصل ارتفاعها إلى5m الأوراق متقابلة ذات عنق طويل تتكون من خمس إلى سبع وريقات مشعة طحها العلوي أخضر وسطحها

السفلي رمادي الزهور عطرة وملونة أزرق، بنفسجي وردي أو أبيض تشبه الثمار حبات الفلفل صلبة ذات لون بنفسجيذو قشرة سوداء مصفر من الداخل مغطى جزئيا بكأسه الأخضراء ويحتوي على أربع حجرات بها بذور،الرائحة عطرية وطعمها حار وفريدة من نوعها بعد النضج [101].

I-2-16-4- التوزيع الجغرافي :

توجد عشبة Vitex agnus-castus في الأماكن الرطبة، على حافة المجاري المائية أوفي المناطق البحرية، وخاصة في منطقة البحر الأبيض المتوسط. نجدها أيضافي شمال أفريقيا وفي آسيا الوسطى وغرب آسيا يتم زراعته الآن في جميع أنحاء العالم بما في ذلك الجزء الجنوبي من الولايات المتحدة [102]. في الجزائر يجد هذا النوع ملجأه الأخير في منوار وواد خرروعة في قلب الصحراء [103].

I-2-16-5- الزيوت الأساسية :

يمكن تصنيف المكونات الرئيسية لأوراق وأزهار الزيت العطري لVitex agnus-castus إلى فئتين:

منتجات(sesquiterpeniques) مثل:الليمونين (Limonene)،والسينول (cinèole)والسابينين(sabinéne)، وαتيربينول (αterpinèol)، واللينالو(linalol) والسيترونيلو(citronellol) والكامفين (camphene) والميرسين (myrcene)ألفا بينين وبيتا بينين (α-pinene et β- pinene)منتجات أحادية التربين (monoterpeniques)مثل:β-caryophyllene [104 -105].

ويمكن أن يختلف تركيب الزيت العطري بشكل كبير اعتمادا على نضج الثمار المستخدمة وعمليات التقطير تشير الأبحاث المخبرية إلى أن نبات Vitex agnus-castus قد يمنع نمو سرطان

الثدي، خلايا سرطان المبيض وعنق الرحم والمعدة والقولون والرئة [106-107]. تظهر مستخلصات الزيوت العطرية من هذاالنبات خصائص مضاد للبكتيريا ومضاد للفطريات [108].

I-2-16-6-التركيب الكيميائي والنشاط المضاد للميكروبات لزيوت الأساسية المستخلصة من الثمار والأوراق Vitex agnus –castus

تناولت هذه الدراسة التركيب الكيميائي والنشاط المضاد للميكروبات لزيوت الأساسية vitex agnus –castus ومكوناتها الرئيسية في المختبر (in vitro) وداخل الكائن الحي كانت المركبات الرئيسية في زيت الثمار غير الناضجة هي السابينين (17.8 %) و-1,8سينول (17.5%)، بينما كانت المركبات السائدة في زيت الثمار الناضجة هي-1,8 سينول (16.3%)والسابينين (13.4.%) احتوى زيت الأوراق أيضا على نسبة عالية من-1,8 سينول (22.0.%) جميع الزيوت التي تم اختبارها كانت غنية بمركب ألفا-بينين(بنسب 9.4% و9.4% على التوالي.)

تم اختبار النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة التخفيف الدقيق(microdilution) على سلالات بكتيرية وفطرية. باستخدام نفس التقنية، أظهر كل من-1,8 سينول وألفا-بينين فعالية عالية كمضادات للميكروبات [109-110].

والنباتات الثالثة المختارة كلها تنتمي للفصيلة الشفوية وهذه نبذة عن خصائص الفصيلة الشفوية.

I-2-17- خصائص الفصيلة الشفوية(Lamiacées) :

الفصيلة الشفوية (La famille des Lamiacées ou Labiées) هي فصيلة مهمة من النباتات

ثنائيات الفلقة والتي تشمل حوالي 6000 نوع، وحوالي 210 جنسا منتشرة على نطاق واسع في جميع أنحاء العالم، وخاصة في منطقة البحر الأبيض المتوسط. وهي مقسمة إلى ثمن عائلات فرعية (Ajugoïdeae، Chloanthoïdeae، Lamioïdeae، Nepetoïdeae، Scutellariooïdeae،Teucrioideae، Viticoideae، Pogostemoideae).

وهي في أغلب الأحيان نباتات عشبية أوشجيرات ونادراما تكون أشجارا أو الليانات يتميز هذا النوع من النباتات بشكل شفة الزهرة ووجود الزيوت العطرية فيه بالنسبة لمعظم الأجناس فإن المقطع العرضي المربع للساق والأوراق المتقابلة هي أيضا السمات العديد من الأنواع في هذه العائلة وهي نباتات عسلية يرتادها النحل [111].

II.الفصل الثانـي

الأدوات والطرائق المستعملة

II – المواد والطرق المستخدمة:

II-1- المادة النباتية :

تم الحصول على العينة النباتية من مدينة بسكرة وكانت على شكل أوراق جافة وكان ذلك في شهر فيفري وتم طحنها وإستخلاص الزيت لها في جامعة محمد خيضربسكرة كلية العلوم الدقيقة قسم علوم المادة مخبر الكيمياء العضوية. النباتات المستخدمةهيvitex agnus-castus،origanum majorana . Echium تم وزن كل نبتة قبل الإستعمال والصور التالية هي صور للنباتات المدروسة.

الشكل16: صورة لنبات vitex agnus-casuts.

الشكل 17: صورة لنبات origanum majorana.

II-2-طريقة إستخلاص الزيوت الأساسية للأعشاب :

تم استخلاص الزيت الأساسية لعشبة origanum majorana وEchium باستخدام جهاز التقطير المائي الذي يدعى كليفنجر (Clevenger) (الشكل 18) حيث يعتمد التقطير المائي على قدرة بخار الماء على حمل الزيت الاساسي للنبات فبعد طحن النبتة تغمر هذه الأخيرة في دورق

كروي زجاجي (سعته 1000 ml) 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 يقوم بتكثيف بخار الماء المشبع بالزيت، فتتكون قطيرات صغيرة وتتراكم بأنبوبة بيها ماء مقطر، وبمأن كثافة الزيت الأساسي أقل من كثافة الماء يبقى الزيت طافيا فوق سطح الماء المقطر، عملية التقطير تستغرق من 3 الى 4 ساعات بعد غليان الماء المقطر تحت تأثيردرجة حرارة منخفضة.

يجمع الزيت الأساسي في قارورة زجاجية عاتمة، يتم التخلص من كمية الماء التي من الممكن ان تتبقى أسفل القارورة بواسطة كبريتات الصوديوم اللامائية، تحفظ القارورة بعيدا عن الضوء في درجة حرارة ما بين 4-6C°

الشكل 18: صورة جهاز كلفنجر المستخدم لاستخلاص الزيت الاساسي.

أما عشبة vitex agnus-castus فقد تم إستخلاص زيتها الاساسي بعملية التقطيرالمائي (الشكل19).ويتم العمل بنفس الخطوات السابقة ولكن الزيت يتم تقطيره في دورق مع الماء (hydrola) ويتم إضافة 10ml من المذيب ثنائي كلور المثان (CH_2CL_2) مع القليل من الملح(NaCl) ويتم الرج جيدا لكي يتم الفصل بين الطور العضوي والطور المائي في انبوبة الفصل (الشكل 20).

الشكل 19: صورة لجهاز التقطير المائي.

الشكل 20: صورة لفصل الطور العضوي على الطور المائي بأنبوبة الفصل.

ثم يتم فصل المذيب عن الزيت الأساسي بعملية التبخير، لأن المذيب درجة حرارة تبخره أقل من درجة حرارة تبخر الزيت الأساسي ويتم ذالك في جهاز Rota vap حيث يبقى الزيت الأساسي في الدورق الكروي(الشكل21).

الشكل 21: جهاز Rota vapالذي يفصل المذ يب عن الزيت الأساسي.

II-3- حساب مردود الزيوت :

يحسب مردود الزيت المستخلص حسب العلاقة التالية: $R= \frac{masse\ de\ huille}{masse\ de\ blante} \times 100$

R : مردود الزيت الأساسي المستخلص%.

$masse\ de\ huille$:كتلة الزيت المستخلص بالغرام.

$masse\ de\ blante$:كتلةالنبتة قبل الإستخلاص بالغرام.

II-4-اختبار النشاطية المضاد للتلأكسد للزيوت الأساسية :

تم إجراء الاختبارات النشاط المضادة للأكسدة في مختبر مركز البحث العلمي والتقني في المناطق القاحلة (CRSTRA) ببسكرة. توجد عدة طرق تحليلية تستخدم لتقييم الفعالية المضادة للأكسدة.

إختبار CUPRAC الذي يعتمد على إختزال أيونات النحاس (CU^{+2}إلىCU^{+}).

إختبارORAC يقيس قدرة العينة على امتصاص جذور الأكسجين الحرة (peroxyl radicals).

إختبارFRAP يقيس قدرة العينةعلى إختزال الحديد الثلاثي (Fe^{+3}) إلى الحديد الثنائي (Fe^{+2})

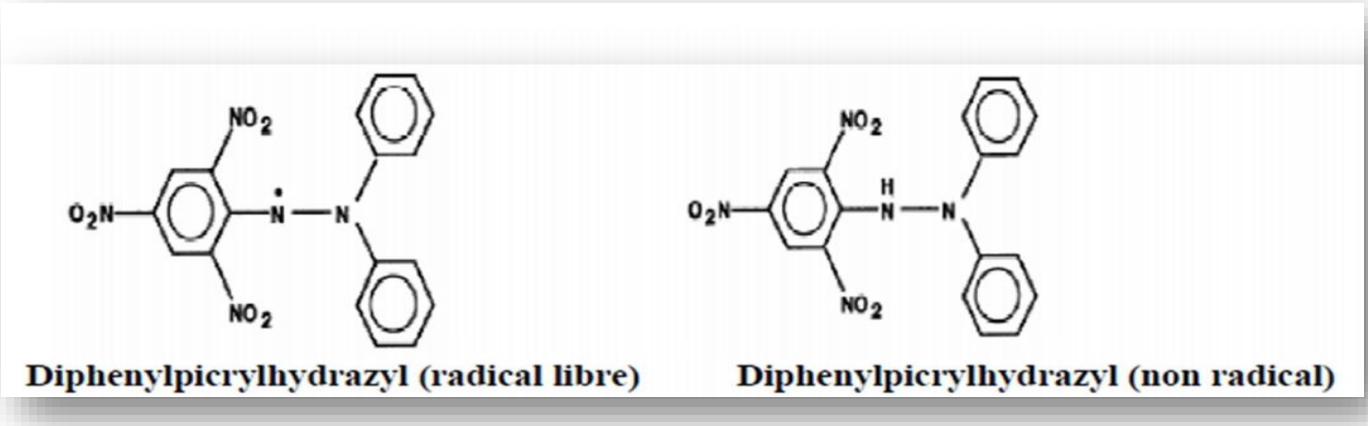
إختبارDPPH (2,2 diphényl- 1-picryl hydrazyl)، وفي هذا العمل تم إختيار

$C_{18}H_{12}N_5O_6$(DPPH)، لقياس قدرة المركبات الطبيعية على تثبيط جذره الحر.

II-4-1- مبدأ عمل اختبار الـ DPPH :

هومركب يحتوي على جذرحر مستقر، يستقبل جذر الهيدروجين أو إلكترونا، مشكلا جزيئا) مغناطيسيا DPPH (2,2 diphényl- 1-picryl Hydrazyl) DPPH ثنائيا مستقرا [71] ، يكون لون محلول في البداية بنفسجي ثم يتلاشى إلى اللون الأصفر (2,2diphényl -1- picryl hydrazine)

عندما تتبرع المكونات النشطة بيولوجيا (مضادات الأكسدة) من الزيوت العطرية بجذور الهيدروجين [72]. تعد قيم IC50 معيارا قياسيا لقياس النشاط المضاد للأكسدة في عينات الزيوت العطرية، والذي يمثل تركيز مضادات الأكسدة اللازم لتقليل التركيز الأولي لـ DPPH بنسبة 50% [72] (الشكل 22).



الشكل 22: الشكل الحر والشكل المرجع لـ DPPH.

II-4-2- طريقة العمل:

تم تحضيرمحاليل من الزيوت الأ ساسية بتراكيز مختلفة حيت تم أضافة الإيثانول من أجل تخفيف وإذابة الزيت الأساسي. ثم نضيف 160ميكرولتر منDPPH لكل أنبوب إختبارثم تم وضعها في الظلام لمدة 30دقيقة وفي درجة حرارة الغرفة°C37، قياس الكثافة الضوئية تم في طول الموجة 517nmبإستخدام جهاز spectrophotometer، تم تحضير الشاهد السلبي باضافة 600 ميكرولتر من DPPH الى 600 ميكرولتر من الإيثانول، الشاهد الإيجابي هو محلول الـ BHT النشاطية المزيحة للجذور يعبرعنها على شكل نسبة مئوية وتحسب حسب العلاقةالتالية.

العلاقة التالية:

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

A%: نسبة النشاطية المزيحة للجذور.

Absacontrol : الكثافة الضوئية للشاهد السلبي.

Abséchantillon:الكثافة الضوئية للعينة.

IC50 تعرف على أنها تركيز العينة الذي يرجع 50% من الجذور الحرة لـ.DPPH

II-5- اختبار النشاطية الضد بكتيرية للمستخلصات الزيتية :

II-5-1- تقييم الخصائص المضادة للبكتيريات للزيوت العطرية :

تم إجراء الاختبارات المضادة للبكتيريات في مختبر جامعة محمد خيضر ببسكرة كلية العلوم الطبيعية، قسم البيولوجيا بالحاجب. تم إجراء اختبار لتحديد النشاط المضاد للبكتيريا لثلاثة مستخلصات نباتية باستخدام طريقة الانتشار على الأقراص .تعتمد هذه الطريقة على قياس قطر منطقة التثبيط المحيطة بالقرص المشبع بالمستخلص عند وضعه على وسط مزروع ببكتيريا مستهدفة.

II-5-2-المبدأ :

تسمح هذه الطريقة بتحديد النشاط المثبط للنموالعوامل البيولوجية (للمبيدات الحيوية) عن طريق قياس قطرمنطقة التثبيط حول قرص من ورق Whatman بقطر6mm تم وضع 10 µg/mLمن الزيت الأساسي على كل قرص وزرعت ثلاث سلالات بكتيرية(+Gram) بكتيريا موجبة الغرام F1 وبكتيريا سالبة الغرام ($Gram^-$) وهي (F2وF3) حساب متوسط قطر مناطق التثبيط بمليمترات لكل مستخلص تم وضع الأقراص على اوساط مزروعة بثلاث سلالات بكتيرية:

S1 straphylococcus aureus – S2 klebsiella pneumoniae – S3 escheichia coli

II-5-3- تحضير المعلق البكتيري :

تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات والزيوت المختلفة التي تم الحصول عليها ضد عدة عزلات بكتيرية سريرية باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص، التي تعتمد على انتشار المواد المختبرة على قرص نحو وسط الوسط المزرعي الصلب .تم تحضير معلق بكتيري بدرجة عتامة 0.5 على مقياسMc Farland (امتصاصية بين0.08-0.1 عند630nm) انطلاقا من مزرعة فتية (بعمر 18 ساعة). تم تلقيح هذا المعلق على أطباق بتري تحتوي على وسط غار مولر هينتون (la gélose Mueller Hinton). تم التلقيح عن طريق المسح باستخدام مسحة قطنية، مع تمريرها ثلاث مرات على نفس الطبق بتدوير الزاوية بـ 60 درجة في كل مرة بعد التلقيح، وضعت أقراص قطرها 6mmعلى سطح الآغار الملقح، وتم تشريب كل قرص بـ 10 ميكرولتر من المستخلص (الزيت الأساسي). استخدم ثنائي ميثيل سلفوكسيد (DMSO) كعنصر تحكم سلبي. بعد الحضانة لمدة 24 ساعة عند 37 درجة مئوية، تم قياس أقطار مناطق التثبيط الناتجة حول الأقراص. كلما زاد قطر منطقة التثبيط، دل ذلك على نشاط مضاد ميكروبي أكبر. تم إجراء القراءة عن طريق قياس قطر منطقة التثبيط حول كل قرص باستخدام مسطرة بـ (mm) وفقا للحساسية.

- يتم تحديد الضغوط فيما يتعلق بالزيت الأساسي على النحو التالي
  - ✓ غير حساس (-) أو مقاوم إذا كان القطر أقل من 8mm

- ✓ حساس (+) إذا كان القطر بين 9mm و14mm.
- ✓ حساسة للغاية (++) إذا كان القطر بين 15mm و19mm.
- ✓ حساسة للغاية (+++) إذا كان القطر أكبر من 20mm [112].

II-5-4-التعريف بالبكتيرية المستعملة :

II-5-5- المكورات العنقودية الذهبية (Staphylococcus aureus) :

المكورات العنقودية الذهبية هي بكتيريا مسببة للأمراض للإنسان. تنتمي إلى الجنس المكورات العنقودية الذهبية غرام+ [113].

- ✓ تعتبر التهابات الجلد من أكثر أمراض المكورات العنقودية شيوعا.
- ✓ تشكل الالتهاب الرئوي العنقودي الذهبي 10% من حالات الالتهاب الرئوي داخل المستشفيات و1%.
- ✓ الالتهاب الرئوي الحاد، المكورات العنقودية الذهبية مسؤولة عن التهاب اللوزتين.
- ✓ ويمكن أيضاأن يكون مسؤولا عن التهاب الجيوب الأنفية المزمن الذي غالبا ما يتم اختياره بواسطة المضادات الحيوية غير النشطة [114].
- ✓ التهابات الأوعية الدموية وصمامات القلبالتهاب العظم والنقي لدى الأطفال [115].

II-5-6- كليبسييلا الرئوية Klebsiella pneumoniae :

تنتمي للبكتيريا سالبة الغرام، وهي البكتيريا الموجودة في كل مكان على سطح الأغشية المخاطية للحيوانات أو في البيئة (الماء، التربة، الغبار، الخ). عند البشر، وتوجد بشكل رئيسي في الجهاز الهضمي، كما أنها موجودة أيضا بتركيزات أقل في البلعوم والأنف،

- ✓ والتي يمكن أن تصل إلى الدم فتسبب تسمم الدم والأنسجة [116].
- ✓ تعتبر الكليبسيلا الرئوية من مسببات الأمراض المسؤول بشكل رئيسي عن التهابات الجهاز التنفسي والبول [117].
- ✓ ويشارك في 8 إلى 10% من حالات العدوى المكتسبة في المستشفيات في أوروبا والولايات المتحدة. تتمتع هذه البكتيريا بمعدل وفيات مرتفع وعلاجاتها محدودة للغاية [118].

II-5-7- إشريشيا القلون Escherichia coli :

إشريشيا القلون أو العصيات القولونية هي عوائل طبيعية للأمعاء: فهي تمثل ما يقرب من 80% من البكتيريا المعوية الهوائية لدى البالغين (البكتيرياشبه المهيمنة، لأن البكتيريا المهيمنة هي99٪لاهوائي). يمكن أيضا العثور عليها في الأغشية المخاطية المختلفة. اعتمادا على معدات عامل الضراوة (حدة المرض) والخصائص السريرية، يمكن تصنيف إشريشيا القولون على أنها تسبب:

- ✓ أمراض معوية أو خارج الأمعاء. الإشريشيا القولون التي تسبب التهابات معوية (الإسهال الإشريشيا القولون) [119].
- ✓ ممكن أن تسبب الإشريشية القولونية المرض في العديد من المواقع خارج الجهاز الهضمي، بما في ذلك:
- ✓ المسالك البولية.
- ✓ والسحايا.
- ✓ والقنوات الصفراوية.
- ✓ والصفاق.

- ✓ الرئتين والجلد والأنسجة الرخوة.
- ✓ غالبا ما تشترك السلالات التي تسبب هذه في العدوى. وهي بكتيريا سالبة الغرام [120].

هناك العديد من عوامل الضراوة المعروفة والمفترضة، تكشف الدراسات النبضية أن السلالات ذات الصلة الوثيقة من نفس السلالة يمكن أن تسبب التهابات المسالك البولية والالتهابات في مواقع أخرى[121].

III.الفصل الثالث

النتائج والمناقشة

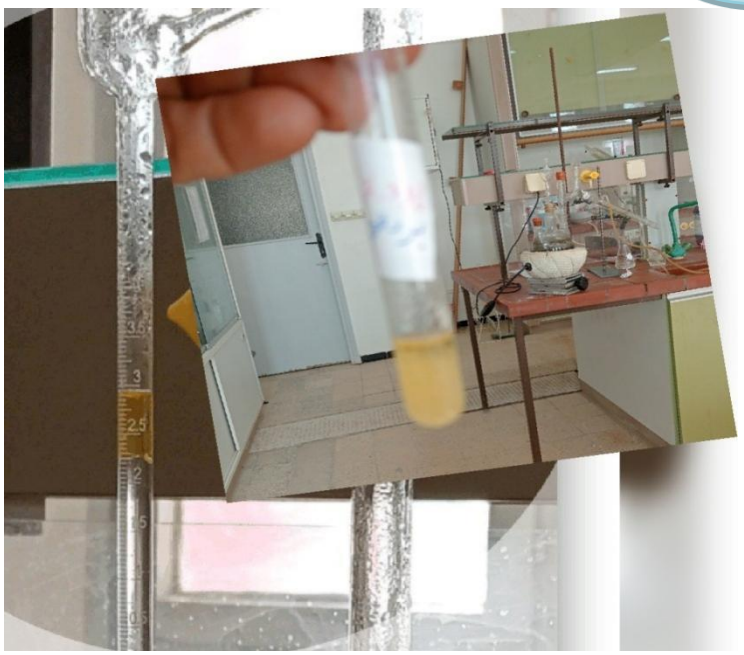
III-النتائج والمناقشة :

يمكن أن يختلف التركيب الكيميائي للزيوت العطرية بالنسبة لنفس النوع النباتات، ويؤدي هذا التقلب إلى إختلاف الخصائص البيولوجية للزيوت الأساسية، إن تسليط الضوء على الخصائص الكيميائية للزيت العطري من خلال منهجية مناسبة يوفر معلومات حول خصائصه البيولوجيا المحتملة، في هذه الدراسة تم إستخدام أوراق جافة من النباتات:

Echium ، origanum majorana، vitex agnus-castus.

III-1- مردود الزيوت الأساسية :

بعد الإنتهاء من عملية استخلاص الزيت الطيار من الجزء الهوائي للنباتاتoriganum majoranaالتي استغرقت تقريبا أربع ساعات بعد غليان الماء وزن النبتة (200g) الحصول على زيت لونه أصف رذو رائحة منعشة فكان وزن الزيت0.753g وعند حساب المردود وجد أنه يساوي 0.38 ٪ .



الشكل 23: الزيت العطري لنبات origanum majorana.

❖ بعد الإنتهاء من عملية استخراج الزيت الطيار من الجزء الهوائي للنباتات Echium (أوراق وأزهاروالساق) وزنها(200g) التي تمت على مرحلتين وكل مرحلة إستغرقت أربع ساعات، تم الحصول على زيت أساسي لونه أصفر ذو رائحة عطرة وزنه 0.132 g وعند حساب المردود وجد أنه يساوي ٪0.070 .

❖ تم إستخراج الزيت الطيار من الجزء الهوائي للنباتات vitex castus-agnus (أوراق فقط) التي استغرقت أربع ساعات بعد غليان الماء (وزن النبتة200g) تم الحصول على زيت أساسي لونه أزرق رائحته منعشة وزنه 1.041g وعند حساب المردود وجد أنه يساوي ٪ 0.52 .

الشكل24: الزيت العطري لنبات vitex agnus-castus .

الجدول 4: مردود الزيوت الأساسية.

الزيت الأساسي	المردود
vitex agnus-castus	٪ 0.52
Origanum majorana	٪ 0.38
Echium	٪0.070

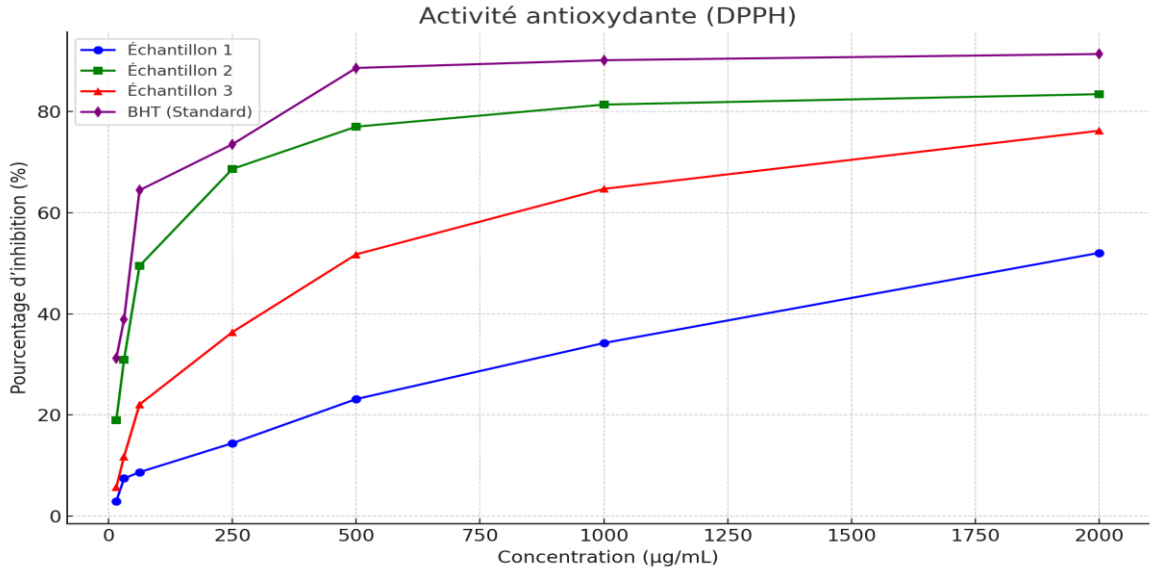
أظهرت النتائج إختلاف واضح في مردودالزيوت الأساسية للنباتات حيث مردودعشبة vitex agnus-castus تفوق مردود عشبة origanum majorana بحوالي 1.32مرة، ويفوق على مردود الزيت الأساسي لنبتة Echium بحوالي 7.14مرة، كذالك عشبة origanum majorana أعلى من مردودEchium بحوالي 5.43 مرة يمكن تفسيرهذا الإختلاف بعدة عوامل مثل:

- ✓ الظروف المناخية والموسمية لجمع النبات.
- ✓ طريقة الإستخلاص وكفاءتها.
- ✓ الجزء النباتي المستخدم (أوراق، أزهارو بذور).

III-2-تقييم النشاط المضاد للأكسدة بطريقة DPPH:

تم إجراء إختبار DPPH لتقييم الفعالية المضادة للأكسدة لعدة عينات. تم تحضير تراكيز مختلفة من العينة (2000،1000،500،250،125،62.5،31.5،15.625 µg/mL) وتم قياس الإمتصاصية عند طول موجة 517nmبعد تفاعلها مع كاشفDPPH أظهرت

النتائج أن نسبة التثبيط تزداد بزيادة تركيز العينة، مما يدل على وجود نشاط مضاد للأكسدة تم حساب قيمة IC50 لكل عينة، وهي تمثل التركيز الذي يحدث تثبيط بنسبة 50٪لجذور DPPHالحرة والنتائج كانت كمافي الشكل (25).



الشكل 25: منحنى بياني يمثل إختلاف الفعالية الضد التأكسدية للزيوت الاساسية و للـBHT المسجلة في اختبار DPPH.

échantillon1	هي الزيت الأساسي لـoriganum majoranan
échantillon 2	هو الزيت الأساسي لـ castus-agnus vitex
échantillon 3	هي الزيت الأساسي لـ Echium
BHT	مضادأكسدة مرجعي

III-2-1- تحليل المنحنى الضد التأكسدية للزيوت الاساسية ولـ BHT المسجلة في اختبار DPPH:

في الرسم البياني، تمثل المنحنيات العلاقة بين تركيز العينة(µg/mL) بنسبة التثبيط% .

تظهر نتائج اختبار النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقة DPPH فعالية متفاوتة بين العينات المدروسة مقارنة بالمضاد القياسيBHT.من خلال المنحنى البياني نلاحظ أن الزيت

الأساسي لـ origanum majorana سجلت قدرة تثبيط ضعيفة نسبيا، إذ بلغت أعلى نسبة تثبيط لها حوالي 52% عند التركيز الأعلى (2000µg/mL)، لتنخفض بشكل واضح مع التخفيف، مما يعكس قدرتها المحدودة على التفاعل مع الجذور الحرة في المقابل،أظهرت بعض الدراسات أن الزيت الأساسي لنبات المردقوش يحتوي على مركبات فينولية (phenolic) وتربينية (terpenoid) نشطة مثل الكارفاكرول (carvacrol) بنسبة (41.09%)، والتربينين-4-أول (terpinen-4-ol) بنسبة (28.08%)، والسابينين هيدرات (sabinene hydrate) بنسبة (21.12%)، التي تمنحه قدرة عالية على التقاط الجذور الحرة .في دراسة أجريت على هذا الزيت، سجلت فعالية قوية في اختبار DPPH بقيمة IC50حوالي 0.25mg/ml مما يشير إلى فعاليته كمضاد أكسدة طبيعي [122]. أظهر الزيت الاساسي لـvitex agnus castus أفضل نشاط مضاد للأكسدة بين جميع العينات حيث بلغت نسبة التثبيط أكثر من 83% عند أعلى تركيز مع منحنى قريب من منحنىBHT مما يشير إلى إحتوائهاعلى مركبات فعالة ومؤثرة في المقابل أظهرت دراسة نشرت في مجلة Journal de Mycologie Médicaleأن الزيت الأساسي المستخلص من بذور نبات Vitex agnus-castus يحتوي على مركبات فينولية وتربينية نشطة تمنحه قدرة عالية على تثبيط الجذور الحرةفي اختبارDPPH سجل الزيت فعالية قوية كمضاد طبيعي للأكسدة [123] .

أما عينة Echium فقد أبدت نشاطا متوسطا إذ وصلت إلى نسبة تثبيط تقارب 76% عند أعلى تركيز لكنها كانت أقل فعالية مقارنةالزيت الأساسي لـ Vitex agnus-castusوBHT. من

الجدير بالذكر أن منحنىBHT كمضاد أكسدة مرجعي حافظ على نسب تثبيط مرتفعة عبر مختلف التركيزات، متجاوزا 90% عند التركيزات العالية، مما يعكس كفاءته العالية وقدرته على تثبيط الجذور الحرة بكفاءة كبيرة وأكدت الدراسات أن زيت Echium الأساسي يحتوي على مركبات فينولية وتربينية نشطة تمنحه قدرة عالية على تثبيط الجذور الحرة. في اختبار DPPH سجل الزيت فعالية قوية كمضاد طبيعي للأكسدة [124] . بالمقارنة بين IC50الكل عينة، نجد أن الزيت الأساسي لـ Vitex agnus-castus هي الأقرب من حيث الفعالية إلى المعيارBHT . بينما الزيت الأساسي لـ Echium أظهر قدرة متوسطة، origanum majorana يبقى الأضعف من حيث النشاط المضاد للأكسدة.

الجدول 5: نتائج قيم DPPHالتي أجريت على عينات الزيوت العطريةالمستخلصة للنباتات المدروسة وTBH.

الزيت الأساسي	قيمةIC50 بـ(µg/mL)
الزيت الاساسي لـVitex agnus-castus	116,79 ±0.1
الزيت الأساسي لنبتةEchium	555,74 ±0.01
الزيت الاساسي لـoriganum majorana	1878,5 ±14.8
BHT	38,87 ±0.7

III-2-2- مناقشة نتائج قيمIC50 للنشاط المضاد للأكسدة :

أظهرت النتائج أن الزيوت الأساسية تختلف في فعاليتها كمضاد أكسدة. حيث تم قياس النشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية المستخلصة من النباتات الثلاثة بإستخدام

اختبار DPPH ، وحساب قيم IC50 لكل زيت، والتي تمثل التركيز المطلوب لتثبيط 50% من الجذور الحرة. النتائج المسجلة كما يلي:

- ✓ عشبة Vitex agnus-castus: 116,79 ±0.1 µg/mL
- ✓ عشبةEcium: 75.555 ±0.01 µg/mL
- ✓ عشبة Origanum majoranau: 1878,5 ± 14.8 µg/mL

تشير هذه القيم إلى أن زيت عشبة Vitex agnus-castusيمتلك أعلى نشاط مضاد للأكسدة من بين العينات المختبرة، حيث سجل أدنى قيمةIC50 ، مما يعني أنه الأكثر فعالية في التقاط الجذور الحرة. بالمقابل، جاء زيت Echium في المرتبة الثانية بنشاط متوسط، رغم أن مردوده كان الأقل بين الزيوت المختبرة. أما زيت Origanum majorana، فرغم مردوده الجيد، أظهر أضعف نشاط مضاد للأكسدة، ما يعكس أن كمية الزيت المستخلصة لا تعكس بالضرورة فعاليته البيولوجية بل تعتمد بشكل أساسي على نوعية المركبات الفعالة الموجودة فيه.

III-3- النشاطية المضاد للبكتيريا للزيت الأساسي :

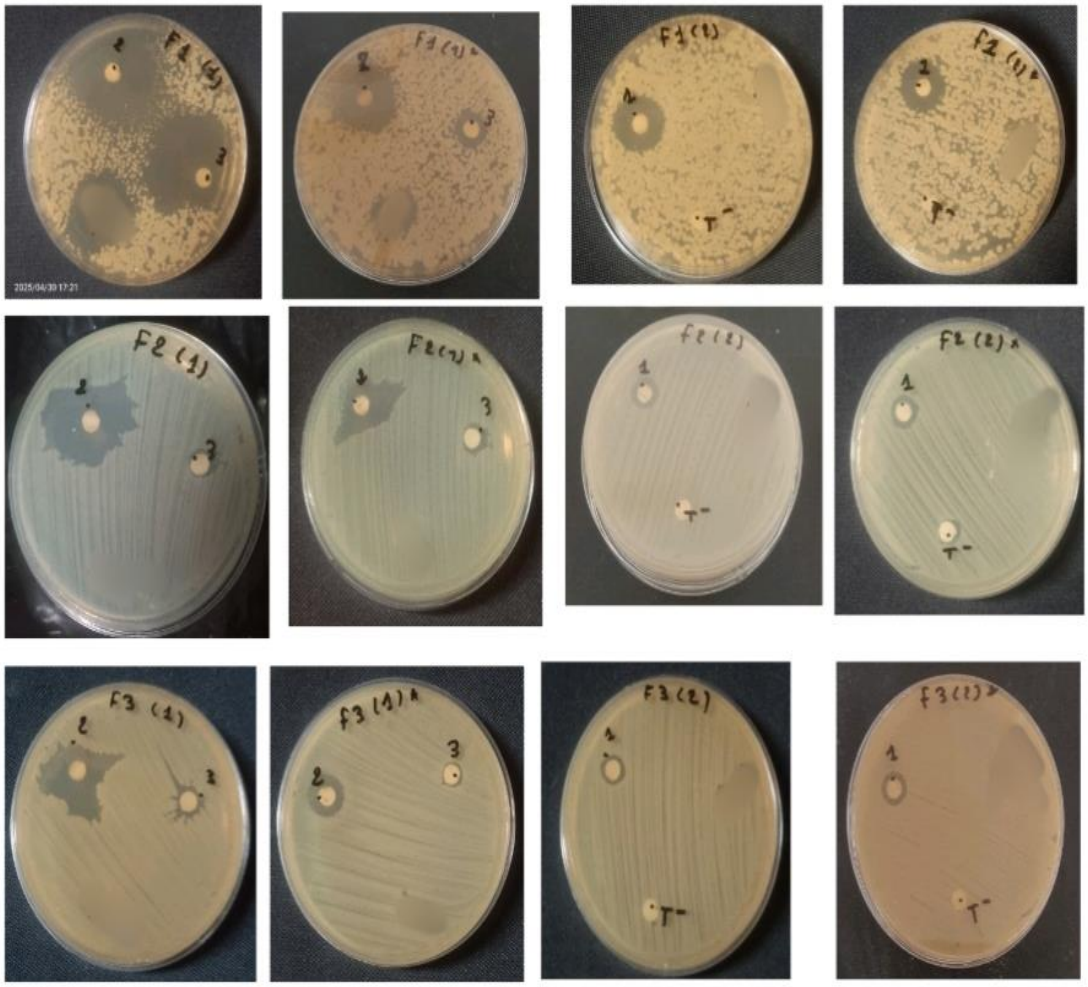
إن ظهور سلالات مقاومة للمضادات الحيوية أدى الى البحث عن بدائل لهذه المضادات، الزيوت الأساسية مرشحة محتملة لتقوم مقام مضادات للميكروبات، وهذا بفضل تنوعها الكيميائي الكبير، مايمنع تكيف الميكروبات المسببة للأمراض، ويقلل من مقاومتها.

III-3-1- نتائج إختبار النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات بطريقة إنتشار القرص :

بعد إجراء إختبار النشاط المضاد للبكتيريا بطريقة انتشار القرص بهدف تحديد قدرة العينة المدروسة على تثبيط نمو السلالات البكتيرية المختارة، ومن خلال قياس قطر منطقة التثبيط حول كل قرص، تم تقييم فعالية كل عينة ومقارنتها مع الضوابط الايجابية والسلبية، نقدم فيما يلي نتائج هذه الاختبارت مع تحليل الفرق بين العينات.

الجدول 6: جدول يوضح مناطق التثبيط بـ(mm) (عدد التكرارت 2).

	Souchesbactériennes		
Les extraits	Gram +	Gram −	
	F1	F2	F3
Echuim	20 ± 0 mm	10.5 ± 0.70 mm	11 ± 0 mm
origanum majorana	28.75 ± 1.76 mm	23 ±1.33 mm	20.25 ±1.88 mm
Vitex agnus-castus	6 mm (Négative)	7 ±1.40 mm	7.5 ± 0.07 mm



الشكل 26: صورة الأقراص يظهر قطر منطقة التثبيط.

1F	هو بيكتيريا موجبة الغرام	Taphylococcuss aureus
2F	هي بكتييريا سالبة الغرام	Klebsiella pneumoniae
3F	هي بكتييريا سالبة الغرام	Escherichia coli
T^-	مضاد حيوي مرجعي	

رقم1	Echium
رقم2	Origanum majorana
رقم3	Vitex agnus-castus

III-3-2- مناقشة النتائج:

بناء على نتائج أقطار مناطق التثبيط، نلاحظ أن زيت Origanum majorana يمتلك أقوى نشاط مضاد للبكتيريا مقارنة ببقية المستخلصات، ضد ثلاث سلالات staphylococcus aureus و Klebsiella pneumoniaeو Escherichia coli حيث سجل أكبر مناطق تثبيط مع السلالات الثلاث(F1 ، F2، F3)، إذ بلغت القيم على التوالي (mm23 ± 1.33) (mm 28.75 ± 1.76)، و(mm20.25 ± 1.88). هذا يشير إلى احتوائه على مركبات فعالة قادرة على التأثير على كل من البكتيريا موجبة وسالبة الغرام. يعزى هذا التأثير إلى قدرةالمركبات الفعالة في الزيت على إتلاف الغشاء الخلوي للبكتيرياممما يؤدي إلى تسرب المكونات الخلوية وموت الخلايا[125].كما نلاحظ أن قطر منطقة التثبيط للمضادات الحيوية المستخدمة أقل من قطر مناطق التثبيط في تخفيفات الزيت العطرية. ، قد أظهر Echium بناء على نتائج أقطار مناطق التثبيط، نلاحظ أن مستخلص نشاطا متوسطا، مع أفضل تأثير ضد السلالة F1 (20 ± 0mm) لكنه كان أقل تأثيرا ضد السلالتين الأخريين(10.5± 0.70mm) F2 وF3(11 ±0mm)، مما قد يبين أن له تأثيرعلى البكتيريا موجبة الغرام أكبر من تأثيره على بكتيريا سالبة الغرام[126]. بالمقابل فإن مستخلصVitex agnus-castusكان ضعيف الفعالية، خاصة ضد

السلالة F1 حيث سجل فقط 6mm وهي تعتبر نتيجة سلبية، بينما سجل قيما منخفضة أيضا مع F2 (7 ±mm1.40) وF3 (7.5 ± 0.07mm) أظهرت الدرسات أن الزيت يمتلك نشاطا مضادا للبكتيريا، مما يدل على قدرته على إتلاف الغشاء الخلوي للبكتيريا، مما يؤدي إلى تسرب المكونات الخلوية وموت الخلايا [127] .

❖ تظهر هذه النتائج أهمية التركيب الكيميائي للمستخلصات النباتية في تحديد فعاليتها ضد الميكروبات. قد تحتوي بعض المستخلصات، مثلOriganum majorana ، على زيوت طيارة أو مركبات فينولية تمنحها نشاطا عاليا، بينما تفتقر مستخلصات أخرى إلى هذه المركبات أو تكون بتركيزات منخفضة. من المهم ملاحظة أن الفعالية تختلف حسب نوع البكتيريا، حيث تكون البكتيريا سالبة الغرام أكثر مقاومة في بعض الأحيان.

الخاتمة

يهدف العمل الذي قمنا بيه الى إستخلاص الزيوت الاساسية من النباتات الطبية والتى هي نبتة Ecium ونبتة origanum majoran ونبتة Vitex agnus-castus

بإستعمال عملية التقطير المائي حيث إستعملنا جهاز كلفنجر، ثم قمنا بدراسة خصائص هذه الزيوت العطرية. من حيث تقييم النشاط البيولوجي لها (دراسة نوعية النشاط المضاد للبكتيريا، ودراسة النشاط المضاد للتأكسد). وفي ختام هذا العمل سمحت لنا الدراسة بتقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للبكتيريا لهذة المستخلصات النباتية بإستخدام اختبار DPPH واختبار مناطق التثبيط ضد سلالات بكتيرية مختلفة. أظهرت نتائج اختبار DPPH تفوق vitex agnus-castus بوضوح من حيث القدرة على تثبيط الجذور الحرة، حيث اقتربت فعاليتها من المعيار القياسيBHT مما يعكس غناها بالمركبات النشطة القادرة على تقديم حماية قوية ضد الأكسدة. في المقابل، سجلت فعالية زيت Echium متوسطة، بينما كان زيت Origanum majorana الأقل نشاطا. أما فيما يخص النشاط المضاد للبكتيريا، فقد بينت النتائج تباينا في الاستجابة حسب نوع المستخلص والسلالة البكتيرية المدروسة. تميز زيت Echium بفعالية ملحوظة خصوصا ضد البكتيريا موجبة الغرام، في حين أظهرزيتivtex agnus-castus فعالية محدودة. أما زيت Origanum majorana فقد سجل بدوره نشاطا متفاوتا باختلاف السلالات، مع مناطق تثبيط وصلت حتى 28.75mm.ضد بعض السلالات، مما يعكس إمكانية استخدامه كمصدر طبيعي لمركبات مضادة للبكتيريا. بناء على نتائج، إختبارDPPH وطريقة انتشار القرص.

يمكن القول إن الزيوت الأساسية المدروسة تمثل مصادر واعدا للمركبات الفعالة بيولوجيا، سواء كمضادات أكسدة أو مضاذ البكتيريا. وبمأن التركيب الكيميائي لهذه الزيوت معروف ومحلل مسبقا في دراسات سابقة، فإن هذه النتائج تفتح المجال لدراسة تطبيقاتها العملية المحتملة، سواء في المجال الصيدلاني أو الغذائي أو كمستحضرات طبيعية.

قائمة المصادر والمراجع

1. Toure D. Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'Ivoire. Université Felix Houphoeut Boigny, (2015).

2. Dr James A. Duke. La Pharmacie Verte. Librairie Jarir, (2004),pp.29 - 3.20

3. Lebrun JP. Introduction à la flore d'Afrique.IEMVT, (1982), pp.89

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

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

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

7. Hamburger K., Hostettmann. Bioactivity in plants. hytochemistry, (1991) 30 (12): 3874.

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

9. Bardeau F. La pharmacie du Bon Dieu. Paris, Edition Stock, (1973) Vol.01, 334p. 5(2) : 429-432.

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

11. Ticli B. L'herbier de santé. Edition VECCHI SAO, (1997), pp. 01.206.

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

13. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods–a review. International Journal of Food Microbiology, (2004), pp.94.253-223.

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

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

16. Bruneton J. Eléments de phytochimie et de pharmacognosie. Technique Documentation Lavoisier, paris, (1987).

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

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

19. FranceAgriMer. Production et marchés des huiles essentielles. AROMADAYS, (2020).

20. Kehal F. Utilisation de l'huile essentielle de Citrus limon comme agent conservateur et aromatique de la crème fraîche. Université Constantine 1, Algérie, mémoire de magister, (2013).

21. Önder A. Coriander and its phytoconstituents for the beneficial effects. Potential of essential oils, (2018), pp.165.

22. Socasau FC : Les huiles essentielles référencées à l'agence Européenne du Médicament Université de Bordeaux , (2017)

23. Amawi R. les terènes, (2009),1 :25.29.

24. Mithaq J. Recherche et identification des métabolites secondaires du khat (Catha edulis) de la famille des Celastraceae et du pulicara ijoubertii de la famille des Asteraceae, et évaluation de leur efficacité biologique. Thèse de doctorat, Université de Mentouri, Constantine, (2010), PP. 57-64.

25. Shuwaikh A. Recensement des plantes médicinales dans les gouvernorats d'Oum El Bouaghi et d'El Oued. Mémoire de troisième cycle, spécialité biologie et physiologie végétales, Centre universitaire d'Oum El Bouaghi, (2004), PP.10-40.

26. Gundel SDS., Reis TRD., Copetti PM. Evaluation of cytoxicity, genotoxicity and ecotoxicity of nanoemulsions containing Mancozeb and Eugenol.Ecotoxicol. Environ. Saf., (2019), 169 :207-215.

27. Boukhatem MN., Ferhat A., Kameli A. Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. Revue Agrobiologia, (2019), 9 :1653-1659.

28. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS). Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles, (2008).

29. Pharmacologie Européenne : Direction de la Qualité du Médicament et Soins de Santé du Conseil de l'Europe (DEQM). Strasbourg, France, (2007).

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

31. Bouras M. Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de certaines plantes de l'est algérien sur des souches résistantes aux antibiotiques. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie, (2018).

32. Capon M., Courileu V. Vallet C. Chimie des couleurs et des odeurs. Cultures et techniques, (1993).

33. Bruneton J. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Tec & Doc, Lavoisier, Paris, (1999), pp. 1120.

34. Bruneton J. Huiles essentielles, dans Pharmacologie : phytochimie, plantes médicinales. 2è éd., Lavoisier, Paris, (1993).

35. Hubert R. Epices et aromates. Tec & Doc, Lavoisier, France, (1992).

36. Zenasni Leila. Etude du polymorphisme chimique des huiles essentielles de Thymus satureioides Coss et d'Origanum compactum Benth gu genre Nepta et évaluation de leur propriété antibactérienne. Thèse de doctorat, Université Mohammed-Agdal, Rabat, Maroc, (2014).

37. Guignard L., Cosson M., Henry. Abrégé de Phytochimie. Masson, Paris, (1985).

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

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

40. Paolini J. Caractérisation des huiles essentielles par CPG/Ir, CPG/MS(IE/IC) et RMN du carbone 13 de Citrus albidus et deux Asteraceae endémique. Thèse de doctorat, (2005).

41. Boukhobza F. Goetz P. Phytotérapie en odontologie (guide clinique). Edition CdP, (2014), 978-2-84361-244-2/ 1242-899.

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

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

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

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

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

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

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

49. Ghassan Hijjawi, Hayat Al-Masimi, Rula Muhammad Jamil Qasim. Pharmacologie. Bibliothèque Dar Al-Thaqafa pour l'édition et la distribution, Amman, Jordanie, (2004).

50. Mohammedi Z. Etude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région Tlemcen. Mémoire de Magistère, Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, (2006).

51. Ben Sassi A., Harzallah-Skhiri F., Aouni1 M. Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. J. Pharmaco. Bio., (2007), pp. 45.

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

53. Carson C.F., Mee B.J., Riley T.V. Mechanism of action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on Staphylococcus aureus. Antimicrobial Agents Chemotherapy, (2002), 46: 1914–1920.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

64. Teisseire P. 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, (1987), pp. 215-258.

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

66. Stace C. New Flora of the British Isles.Cambridge University Press, Tabata, M, Mizukani, H., Nador (2010), 95: 1376-1379.

67. Konoshima, M., "Antimicrobial activity of Lithospermum erythrizon callus cultures". Yakugaaku Zasshi, (1975), pp .95, 1376-1379.

68. Revue botanique de la Société linnéenne. (2016), 181(1),1-20.

69. Chevallier A., The Encyclopedia of Medicinal Plants. DK Publishing, (2016).

71. Neuwinger HD., Médecine traditionnelle africaine. Dictionnaire des usages et application des plantes. Avac supplément : systéme de recherche maladies, (2000).

72. Groupe de phylogénie des angiospermes. Mark W. Chase, Maarten J.M. Christenhusz.

73. Boullard B., Dictionnaire des plantes médicinales du monde : Croyances et Réalités. Ed. ESTEM, Paris, (2001), p.636.

74. Tanaka S.T., Mayumi T., Minoru T., Tabata M. A comparative study of anti-inflammatory activities of the enantiomers shikonin and alkannin. Journal of Natural Products, (1986), pp. 49, 466-469.

75. Karabin M., Hudcova T., Jelinek L., Dostalek P. Biotransformation and biological activities of hop flavonoids. University of Chemistry and Technology, Prague, (2015).

76. Khadka D., Dhamala M.K., Li F., Aryal P.C., Magar P.R., Bhatta S., et al. The use of medicinal plants to prevent COVID-19 in Nepal.Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, (2021),17: 1-17.

77. Bia S. Etude des activités biologiques de trois espèces du genre Origanum. Thèse master, Université d'El Oued, (2019).

78. Muqaddas, Khera R.A., Nadeem F., Jilani M.I. Essential Chemical Constituents and Medicinal Uses of Marjoram (Origanum majorana L.). International Journal of Chemical and Biochemical Sciences, (2016),9: 56-62.

79. Balahbib A., El Menyiy N., Bouyahya A. Phytochemistry, toxicology and pharmacological properties of Origanum elongatum, (2021).

80. Bina F., Rahimi R. Sweet Marjoram: A Review of Ethnopharmacology, Phytochemistry, and Biological Activities. Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, (2017), 22(1) : 175-185.

81. SAIMI A. Contribution à l'évaluation de la sensibilité d'Escherichia coli isolés d'infections urinaires communautaires aux quinolones et à l'extrait d'Origanum glandulosum et Cynoglossum cheirifolium. Mémoire de magistère, Université Aboubekr Belkaid Tlemcen, (2014).

82. OUIS N. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Thèse doctorat, Université Oran 1, (2015).

83. Ramos da Silva L.R., Ferreira O.O., Cruz J.N., de Jesus Pereira Franco C., Oliveira Dos Anjos T., Cascaes M.M., et al. Lamiaceae Essential Oils, Phytochemical Profile, Antioxidant and Biological Activities. Evid. -Based Complement.Altern.Med., (2021).

84. Soliman A.M., Desouky S., Marzouk M., Sayed A.A. Origanum majorana Attenuates Nephrotoxicity of Cisplatin Anticancer Drug. Nutrients, (2016), pp 8, 264.

85. Ouedrhiri W., Mechchate H., Moja S., Mothana R.A., Noman O.M., Grafov A., Greche H. Boosted Antioxidant Effect Using a Combinatory Approach. Plants, (2021), pp. 10, 2817.

86. Ou M.C., Hsu T.F., Lai A.C., Lin Y.T., Lin C.C. Pain relief assessment by aromatic essential oil massage. J. Obstet. Gynaecol. Res., (2012), pp .38, 817–822.

87. Aboelhadid S.M., Abdel-Tawab H., Mahran H.A., Daferera D., Sokmen A., Al-Quraishy S., Abdel-Baki A.S. Synergistic larvicidal and repellent effects of essential oils of three Origanum species. Exp. Appl. Acarol, (2022), pp. 273-287.

88. Prabu S. Jing D., Chandran V., Mathew P. Insecticidal activity of Origanum majorana L. essential oil. Entomol.Res, (2020), pp. 50, 402–413.

89. Nicolopoulou-Stamati P., Maipas S., Kotampasi C., Stamatis P., Hens L. Chemical Pesticides and Human Health. Front. Public Health, (2016), pp .4, 148.

90. Fierascu R.C., Fierascu I.C., Dinu-Pirvu C.E., Fierascu I., Paunescu A. The application of essential oils as a next-generation of pesticides. Z. Naturforsch. C J. Biosci., (2020), pp .75, 183–204.

91. Caballero-Gallardo K., Olivero-Verbel J, Stashenko E.E. Repellent activity of essential oils and some of their individual constituents. J. Agric. Food Chem., (2011), pp. 59, 1690–1696.

92. Kim S.W., Lee H.R., Jang M.J., Jung C.S., Park I.K. Fumigant Toxicity of Lamiaceae Plant Essential Oils. Molecules, (2016), pp. 21, 361.

93. Kordali S., Usanmaz A., Bayrak N., Çakır A. Fumigation of volatile monoterpenes and aromatic compounds. Rec. Nat. Prod, (2017), pp.11, 362.

94. Abbassy M.A., Abdelgaleil S.A.M., Rabie R.Y.A. Insecticidal and synergistic effects of Majorana hortensis essential oil. Entomol. Exp. Appl., (2009), pp .131, 225–232.

95. Yang Y., Isman M.B., Tak J.H. Insecticidal Activity of 28 Essential Oils. Insects, (2020), pp .11, 474.

96. Jelali N., Dhifi W., Chahed T., Marzouk B. Salinity effects on growth, essential oil yield and composition. J. Food Biochem, (2011), pp. 35, 1443–1450.

97. Ragab T.I., El Gendy A.N.G., Saleh I.A., Esawy M.A. Chemical composition and evaluation of antimicrobial activity. J. Essent. Oil-Bear.Plants, (2019), pp. 22, 563–573.

98. Ezzeddine N.B.H.B., Abdelkefi M.M., Aissa R.B., Chaabouni M.M. Antibacterial screening of Origanum majorana L. oil. J. Essent. Oil Res., (2001), pp.13, 295–297.

99. Baser K.H.C., Kirimer N., Tümen G. Composition of the Essential Oil of Origanum majorana L. J. Essent. Oil Res, (1993), pp .5, 577–579.

100. Hajlaoui H., Mighri H., Aouni M., Gharsallah N., Kadri A. Chemical composition and in vitro evaluation. Microb.Pathog, (2016), pp. 86–95.

101. APG III. Angiosperm Phylogeny Group classification. (2009), APG III.

102. D.J. Brown. Med. Nat. Rev., (1994), pp .211-2,111.

103. Upton.R. Chaste Tree Fruit, Vitex agnus-castus. American Herbal Pharmacopoeia, Santa Cruz, CA, (2001).

104. BenkheÓra.A. Guide des habitats aride et saharien. Projet ALG/00/G35,

105. C. Du Mee. Aust. J. Med. Herb, (1993), pp. 5, 63-65.

106. Fleming.T. PDR for herbal medicines. NJ: Montvale, Medical Economics Company, Inc, (1998).

107. Dixon. D-Shanies, N. Shaikh. Oncol.Rep, (1999) pp .6, 1383-7.

108. K. Ohyama et al. Biol. Pharm. Bull, (2003), pp. 26, 10-8.

109. Mills.S, K. Bone. Principles and Practice of Phototherapy. Churchill Livingstone, London, (2000).

110. Dejan Stojkovic ´ a, Marina Sokovic´ a, Jasmina Glamocˇlija a, Ana Dzˇamic´ b, Ana C´ iric´ a, Mihailo Ristic´ c, Dragoljub Grubišic´ a

111. Guignard J. Botanique systématique moléculaire. Masson, Paris, (2001), pp. 221-225.

112. Ponce A.G., Fritz R., del Valle C.E., Roura S.I. Antimicrobial activity of essential oils on the native microfora of organic Swiss chard. Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie, (2003) 36: 679–684.

113. Ponce A.G., Fritz R., del Valle C., Carlos Cavaleiro, Ligia Salgueiro. Antifungal activity of essential oils on the native microflora of organic swiss chard. Leben-Wissen and tech, (2009).

114. Wertheim H.F., Melles D.C., Vos M.C., van Leeuwen W., van Belkum A., Verbrugh H.A., Nouwen J.L. The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections. Lancet Infect Dis, (2005), 5:751–762. :10.1016/S1473-3099(05)70295-4.

115. Brun Y., Bes M., Vandenesck F. Staphylococcus. In: Freney J, Hasen W, Bollet C, eds. Précis de bactériologie clinique. Eska, Paris, (2000).

116. Avril J.L., Dabernat H., Denis F., Monteil H. Bactériologie clinique.3ème édition. Ellipses, Paris, (2003), pp. 8-28.

117. Wang G., Zhao G., Chao X., Xie L., Wang H. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of Klebsiella pneumonia. Int. J. Environ. Res. Public Health, (2020).

118. Murphy C.N., Clegg S. Klebsiella pneumoniae and type 3 fimbriae: nosocomial infection, regulation and biofilm formation. Future Microbiology, (2012).

119. Willsey G.G., Ventrone S., Schutz K.C., Wallace A.M., Ribis J.W., Suratt B.T., Wargo M.J. Pulmonary surfactant promotes virulence gene expression and biofilm formation in Klebsiella pneumoniae. Infection and Immunity, (2018).

120. Flandrois J.P. Bactériologie médicale, (1997).

121. Kessler R., et al. Diarrhea, bacteremia and multiorgan dysfunction due to an extraintestinal pathogenic Escherichia coli strain with enteropathogenic E. coli genes. FEMS Pathogens and Disease, (2015).

122. El Kamari F., Chlouchi A., El Hamzaoui N., Harmouzi A., Lhilali I., El Amrani J., El Mouhdi K., El Omari H., Abdellaoui A. Chemical Composition,

Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Essential Oil of Origanum majorana Growing in Middle Atlas of Morocco. Tropical Journal of Natural Product Research, (2023), 7(10), 1693–1699.

123. Asdadi A., et al. Study on chemical analysis, antioxidant and in vitro antifungal activities of essential oil from wild Vitex agnus-castus L. seeds growing in area of Argan Tree of Morocco against clinical strains of Candida responsible for nosocomial infections. Journal de Mycologie Médicale (2015), 25(4), e118–e127.

124. Sarikurkcu C., Arisoy K., Tepe B., Cakir A., Abali G., Mete E. Studies on the antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of Echium species from Turkey. Food and Chemical Toxicology, (2009), 47(10), 2479–248.

125. El Kamari F., Chlouchi A., El Hamzaoui N., Harmouzi A., Lhilali I., El Amrani J., El Mouhdi K., El Omari H., Abdellaoui A. Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Essential Oil of Origanum. (2023).

126.Bonjar GS. Evaluation of antibacterial properties of Iranian medicinal plants against Micrococcus luteus, Serratia marcescens, Klebsiella pneumoniae and Bordetella bronchoseptica. Asian J Plant Sci (2004), 3:82-6.

127. Asdadi A., et al. Study on chemical analysis, antioxidant and in vitro antifungal activities of essential oil from wild Vitex agnus-castus L. seeds growing in area of Argan Tree of Morocco against clinical strains of Candida responsible for nosocomial infections. Journal de Mycologie Médicale, (2015)PP,25.

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Med Khider Biskra

Faculté des Sciences Exactes
Département des Sciences de la Matière
Filière de Chimie

الجمهورية الجزائرية الديموقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
جامعة محمد خيضر بسكرة

كلية العلوم الدقيقة
قسم علوم المادة
شعبة الكيمياء

تصريح شرفـــي

خاص بالالتزام بقواعد النزاهة العلمية لإنجاز بحث

(ملحق القرار 1082 المؤرخ في 2021/12/27)

أنا الممضي أسفله،

السيد(ة): نوسن سعاد

الصفة: طالب سنة ثانية ماستر كيمياء تخصص: كيمياء عضوية

الحامل(ة) لبطاقة التعريف الوطنية رقم: 20185369 الصادرة بتاريخ: 2017/10/22

المسجل بكلية: العلوم الدقيقة قسم: علوم المادة والمكلف

بانجاز أعمال بحث : مذكرة ماستر في الكيمياء

عنوانها: الاستخلاص و الفعالية البيولوجية للزيوت الأساسية لبعض النباتات الطبية

أصرح بشرفي أني ألتزم بمراعات المعايير العلمية والمنهجية ومعايير الأخلاقيات المهنية والنزاهة الاكاديمية المطلوبة في انجاز البحث المذكور أعلاه وفق ما ينص عليه القرار رقم 1082 المؤرخ في 2021/12/27 المحدد للقواعد المتعلقة بالوقاية من السرقة العلمية ومكافحتها.

التاريخ: 2025/05/30

إمضاء المعني بالمر

على إمضاء السيد

04 جوان 2025