رقم الترتيب: .....

رقم التسلسل:.....

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة قاصدي مرباح ورقلة

كلية الرياضيات وعلوم المادة

قسم الكيمياء

مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص: كيمياء عـــــــــــــــضوية

من إعداد الطالبتين

بقاري سهيلة و بن الشيخ الشيماء

تحت عنوان

دراسة نظريةللتركيب الكيميائي والفعالية البيولوجية للزيت الأساسي لنبتة *Bellis perennis L*

نوقشت يوم: 29/ 09 /2020أمام لجنة المناقشة

د. شاوش خولة	أستاذة مساعدةأ	رئيسا
د .حمادة جميلة	أستاذة محاضرة أ	مناقشا
د. زاوي منال	أستاذة محاضرة أ	مؤطرا
د. مخلفي طارق	أستاذ محاضر أ	مساعد مؤطر

السنة الجامعية: 2020/2019

الإهـــــــــــــداء

وصلت رحلتي الجامعية إلى نهايتها بعد تعب ومشقَّة.

وها أنا ذا أختم مذكرة تخرُّجي بكل همَّة ونشاط، إلى صاحب السيرة العطرة، والفكر المُستنير؛ فلقد كان له الفضل الأوَّل في بلوغي التعليم العالي–والدي الحبيب–، أطال الله في عُمره.

إلى من وضعتني على طريق الحياة، وجعلتني ذو رباطة جأش، من ضحت بجهدها ووقتها حتى أوصلتني لهذه المرتبة –أمي الغالية–، حفظها الله وأطال في عمرها.

إلى إخوتي وأخواتي من كان لهم بالغ الأثر في كثير من العقبات والصعاب.

إلى جميع أساتذتي الكرام؛ ممن لم يتوانوا في مد يد العون لي.

أُهدي إليكم هذا العمل المتواضع.

<u>الشيمـــــــــاء</u>

أهديثمرة هذا العمل المتواضع إلىأعز الناس وأقربهم إلى قلبي إلى من منحاني الصبر والعزيمة لمواصلة الدرب إلى من علماني الصبروالاجتهاد الوالدين الكريمين، كما أهدي هذا العمل إلى كل الإخوة والأخوات و إلى كل أفراد العائلة،وإلى كل من علمني حرفا في هذه الدنيا إلى كل أساتذتي وزملائي في جميع الأطوار الدراسية، إلى كل من ساعدني من قريب أو بعيد وتمنى لي النجاح.

<u>سهيـــــــــــــلة</u>

شكـــــــــــــــــــر وعـــــرفان

يقول رسول اللهصلى الله عليه وسلم:(لا يشكر اللهمن لا يشكر الناس)

من منطلق هذا الحديث رتوجهإلى الله تبارك وتعالى بالحمدوالثناء والشكر كما يحبه ويرضاه على أن وفقنا فيإنجاز هذا العمل، على ما فيه من ضعف البشر و قصر النظر فما كان فيه من صواب فهو منمحض فضله سبحانه و تعالى و منّه علينا، فله الحمد والشكر و نسأل الله العفو والغفرانأتقدم بالشكر الخاص إلى الأستاذة د.زاوي منال علىكل مجهوداتها وتوجيهاتها في إتمام هذا العمل.

كما نشكر أعضاء اللجنة لقبول مناقشة هذه المذكرة وهم: الأستاذة شاوش.خ والأستاذة حمادة.ج

كل الشكر والعرفان إلى الأساتذة الافاضل:د.مخلفيطارق، د.حمادة جميلة و د.علاويمسعودة الذين لم يبخلوا علينا بمساعدتهم وتوجيهاتهم القيمةومعلوماتهم النيرةونشكر كل من ساعدنا في إتمامهذا العمل المتواضع ولو بكلمة طيبة وابتسامة صادقة.

فهرس المحتويات

المواضيع	الصفحة
إهداء	
شكر وعرفان	
فهرس محتويات	III
قائمة الجداول	VIII
قائمة الاشكال	IX
قائمة الاختصارات	X
مقدمة	02
الجزء النظري **الفصل الأول:الزيوت الأساسية**	
I - 1- تعريف النبات الطبي	05
I - 2- تعريف النبات العطري	05
I - 3- الزيوت الأساسية	05
I - 4- الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيوت الأساسية	06
I -4-1-الخصائص الفيزيائية	06
I-4-2-الخصائص الكيميائية	06
I - 5-وظيفة الزيوت الأساسية في النبات	07
I - 6-مجالات استعمال الزيوت الأساسية	07

I - 7- التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية	08
I - 7-1-المركبات التربينية	08
I - 7-1-1-التربينات الأحادية	09
I -7-1-2 السيسكوتربينات	11
I - 7-2-المركبات العطرية	12
I - 7-3-مركبات ذات مصادر مختلفة	12
I - 8- طرق استخلاص الزيوت الأساسية	13
I - 8-1-التقطير	13
I - 8-1-1-التقطير المائي	13
I - 8-2-الاستخلاص بالمذيبات العضوية الطيارة	14
I - 8-3-الاستخلاص بالشحوم والدهون	14
I - 8-4-الاستخلاص بالعصر	15
I - 8-5-الاستخلاص بواسطة الأمواج (microwave)	15
I - 8-6-الاستخلاص بغاز CO2السائل	16
I - 9- طرق فصل وتحليل الزيوت الأساسية	16
I - 9-1-كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقةTLC	16
I - 9-2-الكروماتوغرافيا الغازية GC	17
I - 9-3-الدمج بين الكروماتوغرافيا الغازية والمطيافية الكتلية	17
الفصل الثاني: الفعالية المضادة للبكتيريا	
II -1- تعريف البكتيريا	20
II -2-بنية البكتيريا	20
II -2-1-التراكيب السطحية	21
II -2-2- التراكيب الداخلية	21

II -3- تصنيف البكتيريا	22
II -3-1- من حيث توزيع أسواطها	22
II -3-2- من حيث الشكل	22
II -3-3- من حيث الوسط الذي تعيش فيه	23
II -3-4- من حيث التغذية	23
II -3-5- من حيث طريقة التلوين (الغرام)	23
II -3-6- من حيث أثرها على الانسان	24
II -4-تعريف المضادات الحيوية	25
II -5-أنواع المضادات الحيوية	26
II -6-طرق دراسة النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة	26
II -6-1-التخفيف الدقيق في المرق Broth(microdilution)	26
الجزء التطبيقي **الفصل الثالث :مواد و طرق البحث**	
III-1-دراسة نبات Bellis perennis من العائلة النجمية (Asteraceae)	30
III- 1-1-العائلة النجمية Asteraceae	30
III- 1-2-جنس Bellis	30
III- 1-3-التسمية	31
III- 1-4-التصنيف العلمي للنبتة	31
III- 1-5-وصف النبتة	32
III- 1-6-التوزيع الجغرافي	32
III- 1-7-الإستعمال الطبي للنبتة	33
III- 1-8-المركبات الكيميائية للنبتة	33

III- 2-طريقة العمل	34
III- 2-1-المادة النباتية	34
III- 2-2-إستخلاص الزيوت الأساسية	35
الفصل الرابع: **الدراسات السابقة**	
IV- 1- الدراسة (1)	38
IV- 2- الدراسة (2)	44
IV- 3- الدراسة (3)	49
IV- 4- المقارنة بين الدراسات	50
الخلاصة	54
قائمة المراجع	57
الملخص	

قائمة الجداول

رقم	العنوان	الصفحة
جدول(1-I)	تصنيف التربينات	**09**
جدول(1-III)	المركبات الفلافونيدية ل Bellis perennis	**34**
جدول(1-IV)	المركبات الكيميائية للزيت الأساسي لأزهار وأوراق Bellis perennis	**40**
جدول(2-IV)	الكائنات الحية الدقيقة المستخدمة في الفعالية ضد الميكروبية	**45**
جدول(3-IV)	المركبات الكيميائية للزيت الأساسي ل Bellis perennis	**47**
جدول (4-IV)	جدول مقارنة بين الدراسات (1) و(2) و(3)	**50**

قائمة الأشكال

رقم الشكل	العنوان	رقم الصفحة
شكل(I –1)	أكسدة للمركبات التربينية بواسطة الهواء في درجة حرارة الغرفة.....	07
شكل (I –2)	وحدة الإيزوبرين.....	08
شكل(I–3)	بنية بعض المركبات التربينية الأحادية	10
شكل(I–4)	بعض الأمثلة عن المركبات السيسكوتربينية.....	11
شكل(I–5)	يعض الأمثلة عن المركبات العطرية.....	12
شكل(I–6)	جهاز التقطير المائي من نوع Clevenger.....	14
شكل(I–7)	تجهيز الاستخلاص بواسطة أمواج microwave.	15
شكل(I–8)	مخطط تقنية الاستخلاص بغاز CO2	16
شكل(I–9)	الكروماتوغرافيا الغازية المدمجة مع مطياف الكتلة.....	18
شكل(II–1)	بنية البكتيريا.....	22
شكل(II–2)	بكتيريا الإيشيرشيا كولي.....	25
شكل(II–3)	بكتيريا المكورات الذهبية العنقودية.....	25
شكل(II–4)	طبق ميكروتر(microtiter plate)	27
شكل(III–1)	نبات Bellis perennis.....	32
شكل(III–2)	أزهار وساق النبتة المجففة.....	35

شكل(3–III)	الاستخلاص بجهاز كليفنجر.....	**35**
شكل(4–III)	الإستخلاص سائل–سائل.....	**36**
شكل(1–IV)	الأطوار المتحركة المستخدمة في فصل الزيت الأساسي.....	**38**

قائمة الاختصارات

إختصار	التسمية
Ar	غاز الأرجون
CFU	وحدات مشكلة للمستعمرات.
Cosy-^{1}H-^{1}H	.Correlation spectroscopy
DEPT	.distortionless enhancement by polarization transfer
DNA	الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين.
Et_2O	ثنائي إيثيل إيثر
H_2	غاز الهيدروجين
He	غازالهيليوم
HMBC	.Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HPLC	كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء.
HSQC	.Heteronuclear single–Quantum correlation Spectroscopy
MeOH	ميثانول
m/z	m:الكتلة،z:الشحنة.
N_2	غاز النيتروجين
IR	مطيافية الأشعة تحت الحمراء.
GC	كروماتوغرافيا الغازية .

GC-MS	كروماتوغرافيا الغازية-مطيافية الكتلة.
MIC	الحد الأدنى للتركيز المثبط .
MS	مطيافية الكتلة.
2D-RMN	مطيافية الرنين النووي المغناطيسي ثنائية البعد
RMN-C^{13}	مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للكربونC^{13}.
RMN-H	مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون.
TLC	كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.
UV	مطيافية الأشعة فوق البنفسجية.

المقدمة

الإنسان منذ نشأته إلى الاعتماد على النباتات في غذائه ودوائه وهذا ما دلت عليه العديد من المخطوطات التي تعود للحضارات القديمة حيث تم استعمال النباتات الطبية إضافةإلى عمليات نقل وتبادل للمعارف النباتية بين الشرق والغرب (عكو وأبوعبد الله،2012).

مع مرور الزمن وتطور الصناعة أصبح الدواء يُصنّع في المصانع وبدأ الانسان في استعمال الأدوية الكيميائية (المصنعة في المخابر والمصانع) مما أدى إلى ظهور أمراض جديدة نتجت من الأضرار الجانبية لهذه الأدوية ولهذا اتخذت الحكومات العديد من التوصيات الصادرة عن المؤتمرات الصيدلانية وعمدت إلى العودة في استخدام النباتات الطبية والعطرية والعقاقير ذات المصادر الطبيعية (بوخبتي،2010)، حيثأثبتت التجارب أن هذه الأخيرة لا تؤدي الدور العلاجي الذي تؤديه المادة الفعالة ذات المصدر الطبيعي(الجبر،2010).

ومن هذا المنطلق وقع اختيارنا على نبتة Bellis perennis L إذ أن الدراسات حولها نادرة وقليلة، و لم تثمن فضائلها الطبية بالقدر الكافي بالرغم من استعمالها شعبيا في التدواي من عدة أمراض.

تهدف هذه الدراسة إلى إستخلاص وتحديد المركبات الكيميائية المتواجدة في الزيت الأساسي لهذه النبتة ودراسة فعاليته البيولوجية،

ونظرًا للظروف التي فرضها الوباء العالمي COVID-19 توقف العمل التطبيقي، وتم الإعتماد على دراسة نظرية وذلك بتحليل ومقارنة ثلاث دراساتسابقة في مجال دراستنا وبناءً على هذا تم تقسيم المذكرة إلى جزأين:

جزء نظري يحتوي على فصلين

الفصل الأول: الزيوت الأساسية.

الفصل الثاني: الفعالية المضادة للبكتيريا.

جزء تطبيقي: يحتوي على فصلين

الفصل الثالث: المواد وطرق البحث.

الفصل الرابع: الدراسات السابقة.

الجـــزء النـــظري

الفـــصل الأوّل

الزيـــوت الأساسية

تمهيد

تحتوي النباتات الطبية والعطرية على العديد من المركبات الفعالة طبيا، والتي تعكس إمكانياتها العلاجية، من بين هذه المركبات الزيوت الأساسية. في هذا الفصل سنتطرق إلى تعريف بسيط للنباتات الطبية والعطرية وعموميات حول الزيوت الأساسية.

I -1- تعريف النبات الطبي

هو النبات الذي يحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه المختلفة على مادة كيميائية واحدة أو أكثر ، بتركيز منخفض أو مرتفع، ولها القدرة الفيزيولوجية على معالجة مرض معين ، أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض إذا ما أعطيت للمريض في صورتها النقية بعد استخلاصها من المادة النباتية، أو إذا ما تماستخدامهاوهي مازالت على سيرتها الأولى في صورة عشب نباتي طازج أو مجفف أو مستخلصجزئيا.

وقد عرف العالم Dragendroff كل شيء من أصل نباتي ويستعمل طبيا فهو نبات طبي، وطبقا لهذا التعريف فنجد أنه يضم معظم المملكة النباتية ولا يستثني من ذلك أكثر النباتات رقيا إلى أدناها وأبسطها تركيبا وتطورا (هيكل وعمر، 1993).

I -2- تعريف النبات العطري

هو النبات الذي يحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه النباتية على زيوت عطرية، سواء كانت في صورتها الحرة أو في صور أخرى، تتحول أو تتحلل مائيا إلى زيوت عطرية طيارة ذات عبير مقبول ويمكن استخلاصها بالطرق المتعارف عليها، وتستخدم في المجالات الصناعية المختلفة (هيكل وعمر، 1993).

I -3- الزيوت الأساسية

عبارة عن خليط من مركبات عطرية وطيارة (الجبر،2010) ،غالبا ما تكون سوائل ونادرا ما تكون صلبة ، تتبخر أو تتطاير عند درجات الحرارة العادية دون أن تتحلل (عكو وأبوعبد الله،2012)،تعد النباتات المصدر الأساسي للزيوت الطيارة

إذ تتواجد في أكثر من 3000 نبات وفي حوالي 60 عائلة نباتية(الجبر،2010) ،تكثر بصفة خاصة في بعض الفصائل مثل الغارية ، الشفوية ،الخيمية ،الأسية، المركبة ،والصنوبرية، قد تكون كل أجزاء النبات مصدرا للزيت الطيار وقد يتركز الزيت في أجزاء منه كأن يوجد في الأوراق أو الأزهار أو القشور أو القلف (اللحاء)أو البذور أو الجذور(عكو وأبوعبد الله،2012).

I -4- الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيوت الأساسية

رغم اختلاف الزيوت الأساسية في التراكيب الكيميائية إلا أنها تشترك في بعض الخصائص العامة

I -4-1-الخصائص الفيزيائية

- **الرائحة**: لها رائحة عطرية مميزة ولكل زيت رائحة خاصة به.
- **التطاير**: تتطاير أو تتبخر في درجة الحرارة العادية وهذا ما يميزها عن الزيوت الثابتة
- **اللون**:معظمها شفافة اللون أو صفراء مبيضة أو مائلة للإخضرار ونادرا ما تكون زرقاء كما في زيت البابونج، تؤدي بعض العوامل إلى تغيير لون الزيت الأساسي حيث يأخذ الزيت الأساسي لونا أحمرا نتيجة خلل في عملية التقطير، كما أن طول مدة التقطير والتخزين ينتج عنه زيت أساسي داكن اللون.
- **الذوبانية**: الزيوت الأساسية قابلة للذوبان في الكحول،والمذيبات العضوية غير القطبية أو ضعيفة القطبية كالإيثر، كما لها قابلية الذوبان في الزيوت النباتية والشحوم الحيوانية، وقليلة الذوبان في الماء لكنها تذوب بنسبة كافية لتكسب الماء رائحتها المميزة.
- **الكثافة**: كثافتها أقل من كثافة الماء عدا بعض الزيوت مثل زيتي القرفة والقرنفل، تتراوح كثافتها ما بين 0.8و1.17.
- **الدوران الضوئي**: للزيوت الأساسية معامل دوران ضوئي ويعد أهم خاصية لمعرفة نوعية الزيت ونقاوته

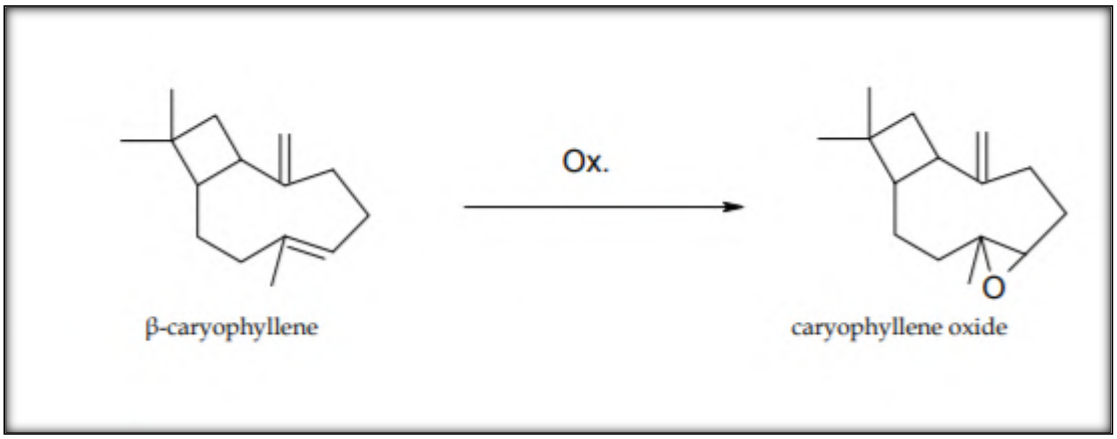
(عكو وأبوعبد الله،2012) (Bruneton, 1999).

I -4-2- الخصائص الكيميائية

إن تعرض الزيوت الأساسية إلى الضوء والحرارة والرطوبة والهواء يؤدي إلى حدوث تفاعلات من بينها الأكسدة والتحلل والبلمرة والتي تؤدي إلى تغير في صفاتها الكيميائية والفيزيائية(Djilani et Dcko,2012) .

- **الأكسدة**

بسبب بنيتها الجزيئية كوجود روابط ثنائية ومجموعات وظيفية كالهيدروكسيل والألدهيد والأستر فالزيوت الأساسية قابلة للأكسدة بسهولة بواسطة الضوء والحرارة والهواء.(Djilani et Dcko,2012)



شكل(I -1): أكسدة للمركبات التربينية بواسطة الهواء في درجة حرارة الغرفة. (Djilani et Dcko,2012)

I -5- وظيفة الزيوت الأساسية في النبات

- تعمل الزيوت العطرية على جذب الحشرات لإتمام عملية التلقيح في النبات.
- تساعد على حفظ الرطوبة المختزنة في النبات والتقليل من عملية النتح من خلال تبخرها وإحاطتها بالنبات.
- تعمل كعامل دفاعي بإبعاد الحشرات والحيوانات العاشبة عن طريق الحد من شهيتها للنبات.
- التئام أنسجة النبات المجروحة.
- حماية النبات من الامراض الفطرية والبكتيرية والفيروسية التي قد تصيبه (عكو وأبوعبد الله،201).

I -6-مجالات استعمال الزيوت الأساسية

أُستخدمت الزيوت الأساسية منذ العصور القديمة في تطبيقات عدة سواء الطبية أوغير الطبية وحتى في وقتنا الحالي خاصة في مجال الطب والصيدلة والصناعات الغذائية وصناعة العطور ومستحضرات التجميل حيث يعرف ما يقارب 3000 زيت أساسي، 300 منها ذات أهمية تجارية خاصة بالنسبة للأدوية وصناعة العطور ومستحضراتالتجميل (Bakkali *etal.*,2008) .

ففي مجال الصناعات الغذائية تستخدم الزيوت الأساسية كمعززات للنكهة أو معطرات (عكو وأبو عبد الله، 2012) ،تستخدم أيضا كتوابل وبهارات (هيكل وعمر 1988) بالإضافة إلى استخدام الزيوت الأساسية كمواد مضافة طبيعية لتمديد فترة صلاحية المنتجات الغذائية وهذا بسبب مخاطر المواد الحافظة الصناعية (Tongnuanchan and Benjakul, 2014).وفي مجال الطب والصيدلة تشير الأدبيات الكيميائية والطبية والصيدلانية الحالية إلى أنه يمكن استخدام الزيوت الأساسية بنجاح في العديد من جوانب الرعاية الصحية(Palazzolo *et al.*, 2013) ،حيث يتم استخدامها في الأدوية إما كمادة فعالة أو كسواغ

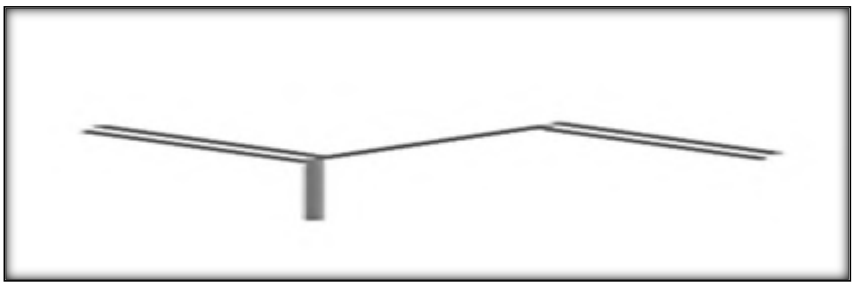
(Bentayeb et Tlili, 2017)، أهم الاستخدامات الصيدلانية للزيوت الأساسية هي الأمراض الجلدية وكمضادات حيوية ومسكنات ومضادات الالتهابات والجهاز الهضمي وأمراض القلب ومضادات السرطان (Silva-Santose *et al.*,2008).

I -7- التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية

الزيوت الطيارة عبارة عن مزيج أو خليط من مركبات تكون بنسب متفاوتة على حسب نوع الزيت ، بحيث تنحصر هذه المركبات في مجوعتين أساسيتين مختلفتين: مجموعة التربينات والتي تكون سائدة في معظم أنواع الزيوت، ومجموعة المركبات العطرية المشتقة من الفنيل بروبان ،وقد تحتوي أيضا على مركبات مشتقة أخرى مختلفة تكون بنسب محدودة (Bouhali, 2015).

I -7-1- المركبات التربينية

عبارة عن هيدروكربونات تتكون من تجمع وحدتين أو أكثر من وحدة الإيزوبرين Isopreneذات الصيغة المجملة (C_5H_8).



شكل (I -2): وحدة الإيزوبرين.

وتصنف التربينات على حسب تكرار عدد وحدات الإيزوبرين في المركب كما هو موضح في الجدول التالي:

جدول(I-1): تصنيف التربينات.

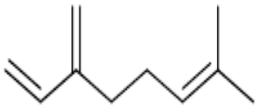
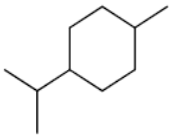
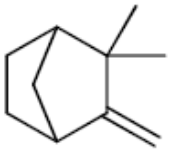
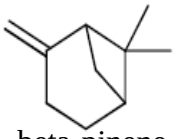
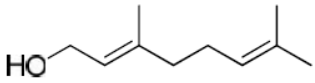
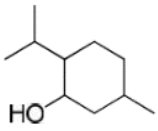
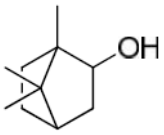
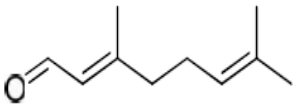
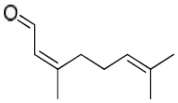
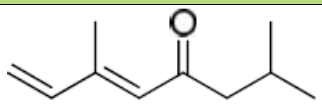
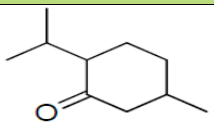
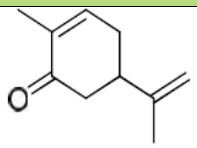
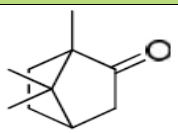
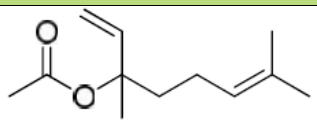
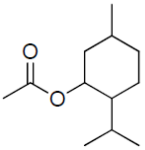
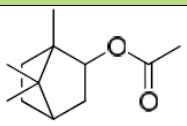
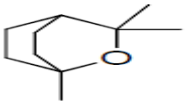
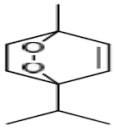
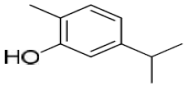
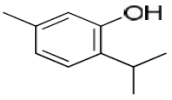
نوع التربين	عدد ذرات الكربون	عدد وحدات الإيزوبرين
التربينات الأحادية **Monoterpénes**	10	2
السيسكوتربينات **Sesquiterpénes**	15	3
التربينات الثنائية **Diterpénes**	20	4
السيسترتربينات **Sesterterpènes**	25	5
التربينات الثلاثية **Triterpénes**	30	6
التربينات الرباعية **Tetraterpénes**	40	7
التربينات المتعددة **Polyterpénes**	N>8	N>8

كما أن التربينات ذات الوزن الجزيئي المنخفض (الطيارة) هي الأكثر تواجدا في الزيوت الأساسية وهي التربينات الأحادية Monotrpènésوالسيسكوتربينات Sesquiterpènes(Bruneton, 1999).

I -7-1-1-التربينات الأحادية

تتشكل من اتحاد وحدتين من الإيزوبرين صيغتها العامة $(C_{10}H_{16})$،وعند إتحادها يمكن أن تتشكل تربينات أحادية ذات سلاسل مفتوحة مثل (myrcéne . ociménes) أو حلقية،إما أحادية الحلقة مثل (α-et γ-terpinéne, ρ-cyméne) أو ثنائية الحلقة مثل (camphéne, sabinéne) ، أحيانا قد يدخل هذا الصنف من التربينات في تركيبة الزيت بنسبة 90 % مثل الزيت الأساسي المتواجد في الحمضيات . وقد تحمل هذه المركبات وظائف أوكسيجنية مختلفة غالبا ما

تكون هي المسؤولة عن الطعم والرائحة: الكحولات، الألديهيدات، الكيتونات، الإسترات، الإيثيرات، البيروكسيدات، الفينولات (مخدمي،2014؛Breneton1999).

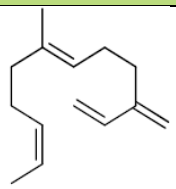
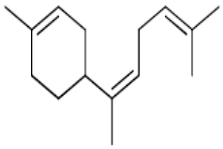
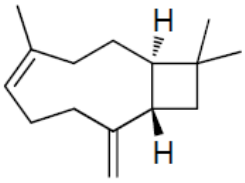
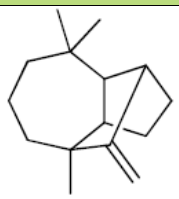
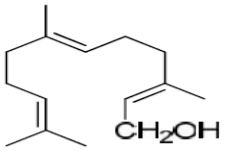
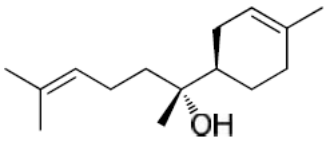
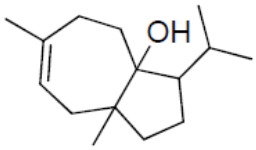
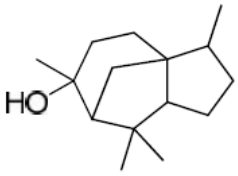
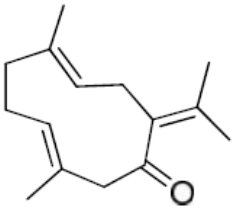
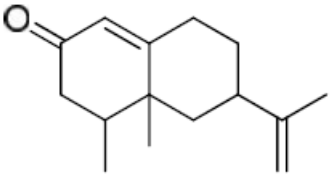
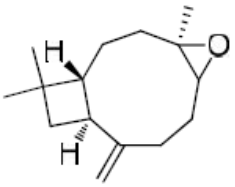
Carbures			
			
myrcene	p-Menthane	Camphene	beta-pinene
Alcools			
			
geraniol	menthol	Borneol	
Aldéhydes			
			
geranial	Neral	citronellal	
Cétones			
			
E-tagetone	menthone	carvone	Camphor
Esters			
			
linalyl acetat	menthyl acetat	isobornyl acetat	
Ethers	**Peroxydes**	**Phénols**	
			
1,8-Cineol	Ascaridole	carvacol	Thymol

شكل -I)

3): بنية بعض المركبات التربينية الأحادية(SIFI, 2016)

I -7-1-2-السيسكوتربينات

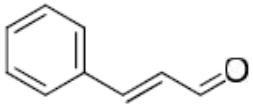
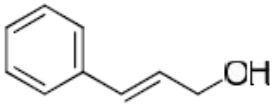
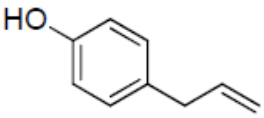
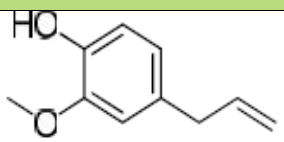
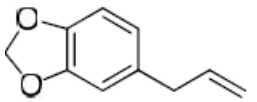
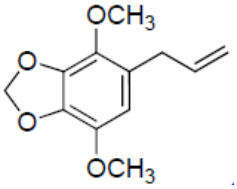
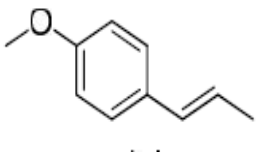
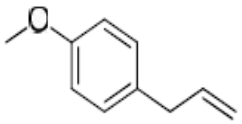
هي تربينات ناتجة عن إتحاد ثلاث وحدات من الإيزوبرين صيغتها العامة($C_{15}H_{24}$) قد تكون غير حلقية أو حلقية (إما أحادية، ثنائية أو متعددة الحلقات)ويمكن أن تكون هيدروكربونية مثل longifoléne أو حاملة لوظائف أوكسجينية مثل الكحولات، الكيتونات، الألديهيدات، الأسترات.

Carbures			
			
farnesene	Bisabolene	Caryophyllene	longifolene
Alcools			
			
farnesol	bisabolol	carotol	cedrol
Cétones			**Epoxyde**
			
germacrone	nootkatone		Oxide de caryophyllene

شكل(I-4): بعض الأمثلة عن المركبات السيسكوتربينية. (SIFI, 2016)

I -7-2-المركبات العطرية

هي أقل تواجدا من التربينات في الزيوت الأساسية، وهي عبارة عن مشتقات الفينيل بروبان (C6-C3) phénylpropane، وتصنف على حسب الوظيفة التي تحملها: ألدهيد، أستر، حمض، الإيثر الفينولي، فينول.وهي المسؤولة عن الرائحة مثل l'eugénol المسؤول عن رائحة القرنفل (Benchikh, 2017).

Aldéhyde	Alcool	Phénol	
			
E-cinnamaldehyde	cinnamyl alcohol	chavicol	eugenol
Dioxyde de méthyléne		**Dérivés de méthoxy**	
			
safrole	Apiol	anethol	estragol

شكل(I-5): بعض الأمثلة عن المركبات العطرية(SIFI, 2016)

I -7-3-مركبات ذات مصادر مختلفة

وهي مركبات ناتجة عن تحول الجزيئات غير المتطايرة:

- مركبات ناتجة عن هدم الأحماض الدسمة.
- مركبات ناتجة عن هدمالتربينات.

- مركبات نيتروجينية أو كبيريتية.

غالبا ما تساهم هذه المركبات في إعطاء النكهة للفواكه، كما أنها غير قابلة للاستخلاص بالجرف بالبخار ولكن يمكن استخلاصها بالمذيبات.(Bruneton, 1999)

I -8-طرق استخلاص الزيوت الأساسية

توجد عدة طرق لاستخلاص الزيوت الأساسية، ولكن يجب اختيار الطريقة الأنسب وفقا لعدة اعتبارات أهمها:

- التركيب الكيميائي للزيت الأساسي ومدى ثبات مكوناته أمامدرجة الحرارة المرتفعة.
- نوع العضو النباتي الحامل للزيت الأساسي إذا كان أزهارا أو ثمارا أو غيرها.
- نسبة الزيت الأساسي المتواجد في النبات.

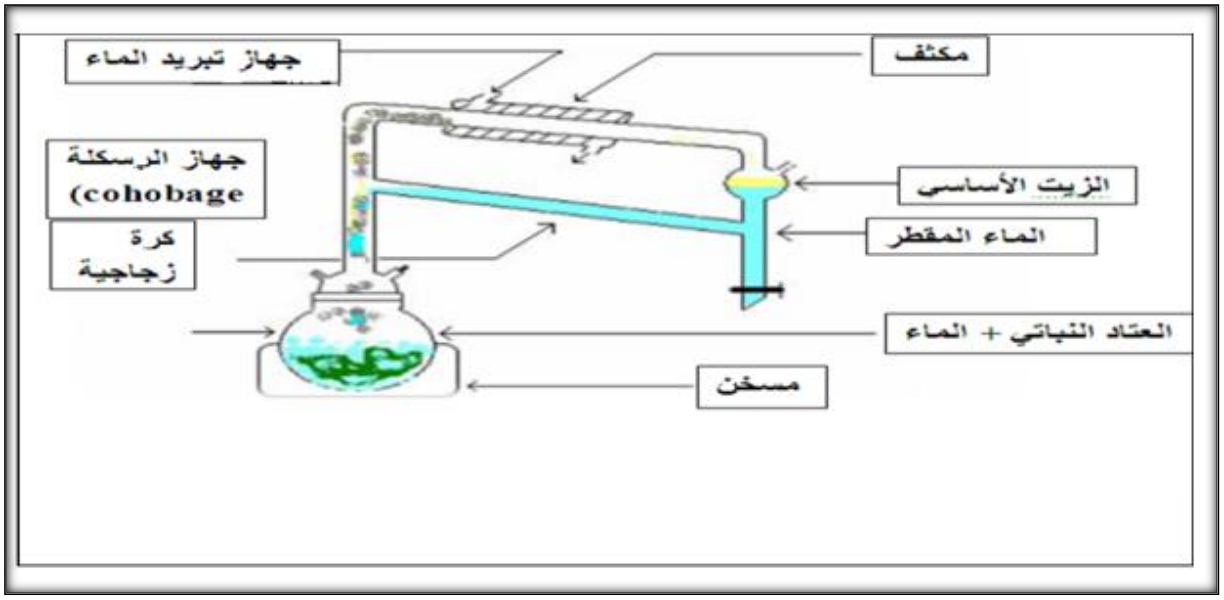
(هيكل وعمر، 1993)

I -8-1-التقطير

وهي الطريقة الأكثر استخداما، يقوم مبدؤها على دفع الزيوت الأساسية ببخار الماء بفعل الحرارة ليتم بعدها تمرير المزيج (الزيت + بخار الماء) على أنبوب مبرد يعمل على تكثيفه لينفصل الزيت عن الماء بفعل اختلاف كثافتهما، تستخدم هذه الطريقة للاستخلاص الزيوت التي لا تتأثر مكوناتها بالحرارة المرتفعة، وهناك ثلاث طرق مختلفة تستخدم هذا المبدأ: التقطير المائي(hydrodistillation)، التقطير ببخار الماء (Steam distillation)، التقطير بالتشرب المائي (hydrodiffusion). (SIFI, 2016) (بوخبتي، 2010)

I -8-1-1-التقطير المائي

يتم فيها غمر المادة النباتية مباشرة في الماء داخل دورق موضوع على مصدر حراري، تسمح الحرارة بانفجار الخلايا النباتية وتحرير الزيت العطري، لتحمل مع بخار الماء ليتم تكثيفهما بواسطة مكثف لينفصلا عن بعضهما بفعل اختلاف الكثافة بينهما.



شكل(I-6): جهاز التقطير المائي من نوع Clevenger.(مخدمي، 2014)

I -8-2-الاستخلاص بالمذيبات العضوية الطيارة

تستخدم هذه الطريقة لإستخلاص الزيوت الطيارة الحساسة للحرارة أو إذا كانت موجودة بكميات ضئيلة في النبات مثل زيت الياسمين والزئبق والبنفسج والنرجس، تعتمد هذه الطريقة على غمس الأجزاء النباتية مباشرة في المذيبات العضوية وتقلب من حين إلى آخر في درجة حرارة الغرفة، بعدها يتم تبخير المذيب عند $35C°$ على الأكثر لنتحصل في الأخير على زيت تعتمد خواصه الفيزوكيميائية على نوع المذيب المستعمل. (SIFI, 2016)

من بين المذيبات المستعملة هي: الهكسان،الهكسانالحلقي،الإيثانول،الميثانول،ثنائيكلورومیثانوالأسيتون .من عيوب هذا الطريقة يمكن أن تتبقى نسبة من المذيب في الزيت لهذا تستعمل الزيوت المستخرجة بهذه الطريقة في مجال صناعة العطور فقط (Bencheikh, 2017)

I -8-3-الإستخلاص بالشحوم والدهون

هذه الطريقة مناسبة للاستخلاص من الأجزاء الهشة للنباتات مثل الزهور (Bencheikh, 2017)، يستخدم فيها عدة أنواع من الشحوم النباتية و الحيوانية، و التي تطلى على ألواح زجاجية ثم توضع الأزهار عليها وتغطى بطبقة زجاجية شحمية أخرى ، هذا يعني أن كل طبقة من الأزهار تكون محصورة بين طبقتين من الدهن، ثم تتركلمدةيومإلىثلاثةأياملامتصاصالزيوتالطيارة،بعدها تستبدل الأزهار بأخرى طازجة، وتكرر العملية عدة مرات حتى يتشبع الدهن بالزيت الطيار كليا، ليستخلص الزيت الطيار من الشحم بالكحول ثم يكثف المستخلص و الراسب عبارة عن زيت عطري خام . (بوخبيتي، 2010)

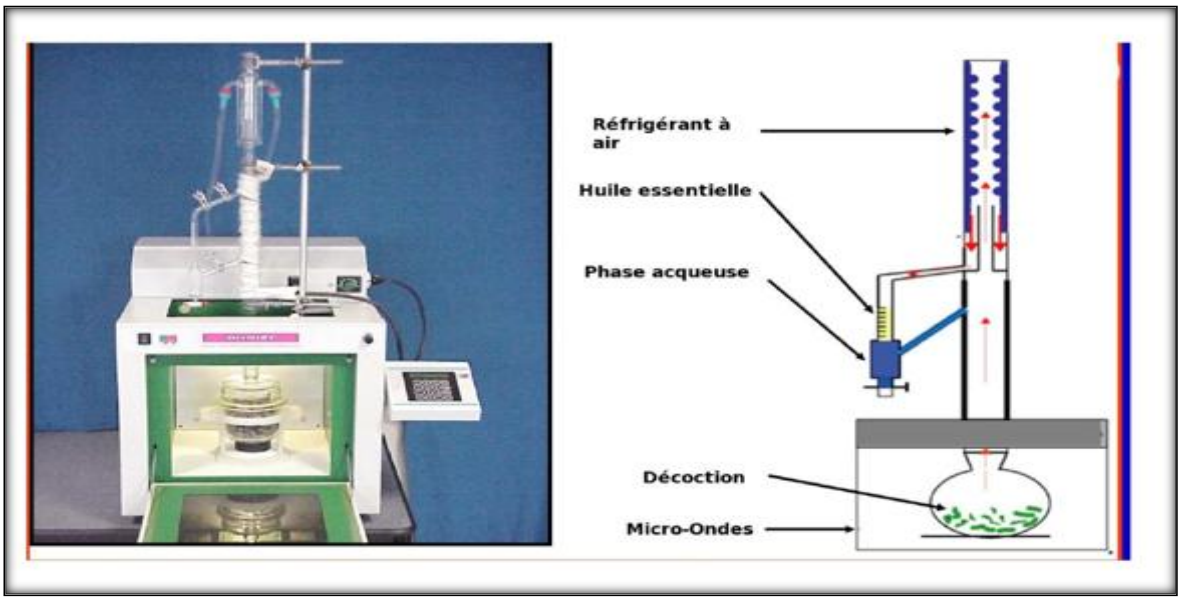
I -8-4-الاستخلاص بالعصر

تعتمد هذه الطريقة على عصر أو ضغط قشور ثمار الحمضيات مثل الليمون والبرتقال واليوسفي، والتي تحتوي على الزيت في غدد خاصة على سطح غلاف الثمرة، بحيث تبشر الطبقة السطحية لقشرة ثمار الحمضيات وتجمع في أكياس من القماش ثم تضغط داخل مكابس خاصة (بوخبيتي، 2010).

I -8-5-الاستخلاص بواسطة الأمواج (microwave)

هي تقنية جديدة تجمع بين استخدام أشعة microwaveوالطرق التقليدية الأخرى، يتم في هذه الطريقة تسخين النبات الطري بواسطة أشعة microwaveمؤديا بذلك إلى تسخين الماء الموجود داخل النبات وبالتالي يتحرر الزيت العطري الموجود في الغدد أو الأوعية النباتية، ثم يفصل الزيت عن الماء بعمليات التكثيف، التبريد والفصل التقليدية.

لهذه التقنية مزايا عديدة منها: السرعة، استخدام كميات قليلة من المذيب، مردود الاستخلاص مرتفع.

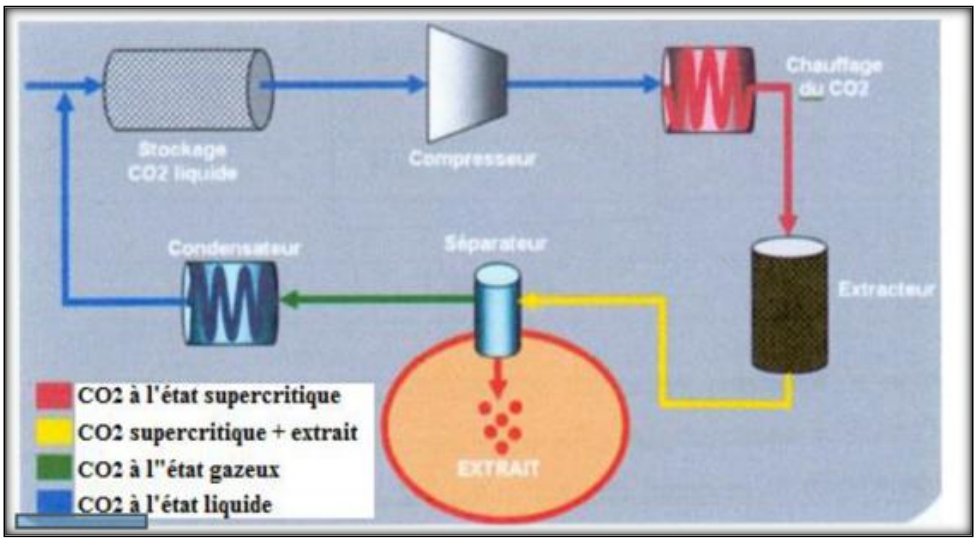


شكل(I-7): تجهيز الاستخلاص بواسطة أمواج microwave.(Bencheikh, 2017)

I -8-6-الاستخلاص بغاز CO_2السائل

من أحدث طرق استخلاص الزيوت الحساسة للحرارة، يستخدم فيها غازCO_2 في الحالة السائلة لأنه يتميز بانتشار جيد في المواد الصلبة وقدرة ذوبانية جيدة لاستخلاص المواد، يتم تكثيف ثاني أكسيد الكربون لجعله سائلاً، ثم يتم إرساله إلى خزان ليتم ضغطه وتسخينه لتحويله إلى الحالة الحرجة،بعدها يحقن في خزان الاستخلاص المحتوي على المادة النباتية لاستخلاص الزيتالأساسي،ويفصل عن الزيت الأساسي بتمديده وإرجاعه إلى الحالة الغازية.

هذهالطريقةممتازةجداولها مردودعاليولكنهامكلفة،لذلك نلاحظأنهامحدودةعلىالمستوىالصناعي فقط.



شكل(I-8): مخطط تقنية الاستخلاص بغاز CO_2.(YAACOUB & TLIDJANE , 2018)

I -9-طرق فصل وتحليل الزيوت الأساسية

I -9-1-كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC

يعتمد مبدأ كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة بشكل أساسي على ظاهرة الامتزاز، يكون فيها طورين، طور ثابت عبارة عن صفيحة من (الزجاج، البلاستيك أو من الألمنيوم) مغطاة بطبقة رقيقة من مادة ماصة قد تكون cellulose gel أو silica gel،وطور متحرك عبارة عن مذيب أو خليط من المذيبات والذي يتحرك أو يصعد على طول الطور الثابت، بحيث كل مركب في المزيج يتحرك بسرعة خاصة به، وهي متعلقة من جهة بالقوى الإلكتروستاتيكية التي تحبس المركب في الطور الثابت ومن جهة أخرى بذوبانية هذا المركب في الطور المتحرك، فيفصل المزيج. يتم الكشف عن مكونات العينة إما بعرض الصفيحة تحت مصباح الأشعة فوق البنفسجية أو برش مختلف الكواشف (بوخبيتي، 2010).

I -9-2-الكروماتوغرافيا الغازيةGC

الكروماتوغرافيا الغازية (GC) هي طريقة تحليلية شائعة الاستخدام لفصل المركبات الطيارة، أو قابلة للتطاير عند تسخينها دون أن يحدث لها تخريب في بنيتها الكيميائية، في هذا النوع من الكروماتوغرافيا يكون الطور المتحرك عبارة عن غاز (N_2،Ar ،H_2 ،He) يعمل على نقل مكونات العينة على طول الطور الثابت و يسمى بالغاز الناقل أو الحامل، حيث يتم

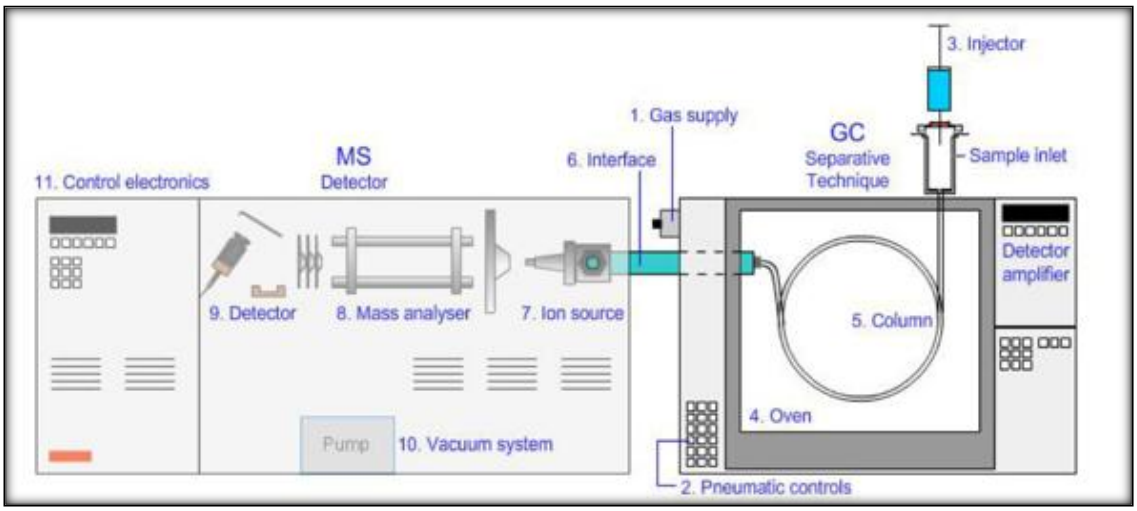
تبخير المزيج المراد فصله عند مدخل العمود الذي يحتوي على الطور الثابت ثم ينقل عبر العمود بواسطة الغاز الناقل لتنفصل مكونات العينة وتترك العمود بسرعات مختلفة الواحدة تلو الأخرى. أي يقوم مبدؤها على فصل مكونات العينة بواسطة الهجرة التفاضلية على طول الطور الثابت، لذلك نميز نوعين من الكروماتوغرافيا الغازية:

كروماتوغرافيا غاز–صلب وتدعى أيضا الكروماتوغرافيا الإمتصاصية، الطور الثابت في هذه الحالة يكون صلب كالسيليس أو الألومين والنوع الثاني هو كروماتوغرافيا غاز–سائل تدعى الكروماتوغرافيا التوزيعية، يكون فيها الطور الثابت سائل غير طيار وهي الأكثر إستعمالا (بوخبتي، 2010).

II 9-3-الدمج بين الكروماتوغرافيا الغازية والمطيافية الكتلية GC/MS

هي طريقة تحليلية تجمع بين الكروماتوغرافيا الغازية والمطيافية الكتلية لتحديد كمية وبنية المواد بدقة، تعتمد هذه التقنية على نقل المركبات المفصولة في الكروماتوغرافيا الغازية بواسطة الغاز الناقل إلى مطياف الكتلة، حيث تجزأ إلى أيونات مختلة الكتلة، ليتم فصلها وفقا لنسبة كتلتها إلى عددها الشحني m/z.

إنالجمعبينهاتينالتقنيتينللتحليل GC / MS يسمحبإجراءتحليلكامل،نوعيوكمي،للمنتجالمرادتحليله . يتمبعدذلكتحديدهوية كل مركب منخلالمقارنةمؤشراتالاحتفاظ (Ir) والبياناتالطيفية (أطيافالكتلة) مع أخرى موجودة في بنوك معطيات أعدت لهذا الغرض.هذههيالتقنيةالأكثراستخداماالتحليلالزيوتالعطريةويعود ذلك إلى: سهولةالتعامل معها، الدقة العالية وبتكلفة منخفضةنسبيًا.



شكل(I-9): الكروماتوغرافيا الغازية المدمجة مع مطياف الكتلة.

الفصل الثّاني

الفعاليّة المضادّة للبكتيريا

تمهيد

علم الميكروبيولوجيا هو علم يختص بدراسة الميكروبات ، وهي كائنات حية دقيقة لا ترى بالعين المجردة ولكن يمكن رؤيتها بالمجهر للتعرف على بنيتها وخصائصها ، والميكروبات تشمل مجموعة متباينة من الكائنات مثل البكتيريا والطحالب والفيروسات وتمثل هذه المجموعات كائنات متمايزة إلا أنها تتشابه في صغر حجمها وبساطة فسيولوجيتها نسبيا وتنظيميا، وهي قادرة على القيام بمجمل النشاطات الحيوية الأساسية التي تمارسها الكائنات الراقية كالتمثيل الغذائي وإنتاج الطاقة والتكاثر..إلخ، ونظرا لصغر حجم الأحياء الدقيقة فإن الإنسان لم يتعرف عليها إلا منذ قرون قليلة عندما تعلم كيف يصنع العدسات و أن يجعلها متداخلة لتعطي تكبيرا يكفي لرؤية هذه الكائنات، و بمرور الزمن و تطور وسائل البحث العلمي إزدادت قدرة العلماء على إستكشاف المزيد من أسرار الكائنات الحية الدقيقة، من بينها العلاقة السببية بين البكتيريا و الأمراض الحيوانية وكان أول من اكتشف ذلك العالم الألماني روبرتكوخ. (العاني،1992) (بن ساسي، 2018)

II 1-تعريف البكتيريا

هي كائنات دقيقة مجهرية وحيدة الخلية بدائية النواة، يوجد فيها حوالي 1500 نوع أو أكثر، يتراوح حجمها بين 1µm إلى 10µm، وتتميز بالانتشار الواسع، بحيث يمكننا أن نجدها في الهواء، التربة، في أنواع المياه (المالحة، العذبة، وحتى الساخنة)، كما أنها موجودة على أجسامنا وبعض أجزاء الجهاز الهضمي والتنفسي، وفي النبات والحيوان أيضا. وتستطيع البكتيريا أن تعيش لأعوام طويلة وتتحمل جميع أنواع الظروف البيئية القاسية. (زيدان، 2018) (علاوي، 2015)

II 2-بنية البكتيريا

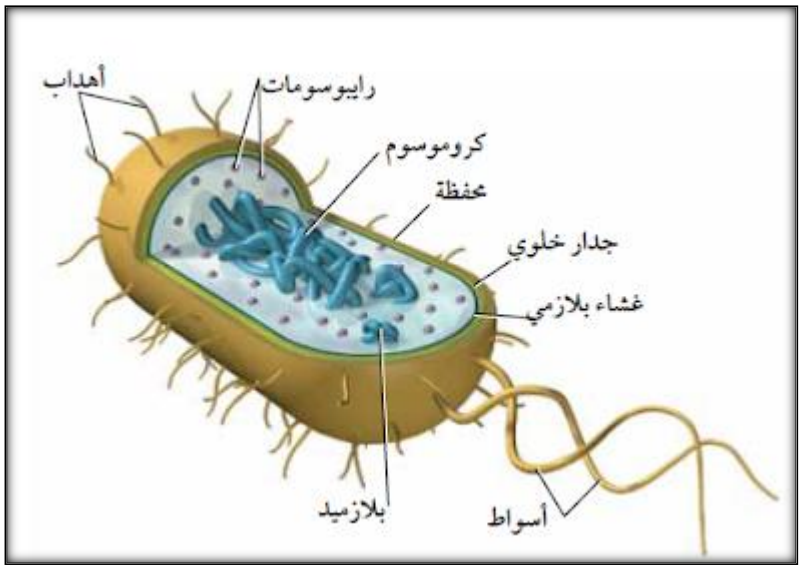
تتكون الخلية البكتيرية من تراكيب سطحية وهي الجدار الخلوي، والعلبة، والأسواط، والأهداب، وتراكيب داخلية وهي الغشاء البلازمي، والسيتوبلازم، والنواة، والجراثيم الداخلية. (أبو العصى موسى وآخرون، 2001) (علاوي، 2015)

II 2-1-التراكيب السطحية

- **الجدار الخلوي:** تحاط البكتيريا بجدار خلوي يحميها من تأثير العوامل الخارجية، ويحفظ لها شكلها، ومن وظائفه التحكم في نقل المواد الداخلة إلى الخلية والخارجة إلى الوسط الخارجي، ويتكون من طبقتين في البكتيريا الموجبة وثلاث طبقات في البكتيريا السالبة.
- **العلبة:** أو الكبسولة، وهي المنطقة التي تتواجد خارج الجدار الخلوي وهي عبارة عن مواد هلامية أو مخاطية.
- **الأسواط:** وهي عبارة عن زوائد خيطية طويلة سمكها عشر قطر الخلية البكتيرية تقريبا، وهي عبارة عن مادة بروتينية.
- **الأهداب:** وهي زوائد أقصر من الأسواط وتنتشر على كافة سطح الخلية، تساعد بعض الأهداب البكتيريا على الالتصاق بالسطح الذي تعيش عليه.

II 2-2-التراكيب الداخلية

- **الغشاء البلازمي:** يمثل الطبقة الخارجية لسيتوبلازم الخلية البكتيرية، وهو غشاء رقيق يتكون من الفسفوليبيدات والبروتين، يمتاز بخاصية النفاذية، بحيث يسمح بمرور الماء وبعض المواد للنمو والنشاط، وللغشاء البلازمي وظائف هامة أخرى حيث تتم عليه تحولات الطاقة والتنفس في الخلية البكتيرية، كما يلعب دروا هاما في انقسام الخلية البكتيرية.
- **السيتوبلازم:** يتكون من مواد بروتينية وإنزيمات ذائبة أو عالقة في الماء والسكريات ومختلف الريبوزومات الليبيدية ومتعدد الفوسفات.ويوجد في مركز السيتوبلازم نيكليوتيد يحتوي على جزيئة واحدة من DNA بالإضافة إلى جزيئات صغيرة من DNA الدائري وتسمى البلازميدات.
- **النواة:** لا تحتوي الخلية البكتيرية على نواة مثل أنوية الكائنات الحية الأخرى فهي بسيطة تتكون من كروموزوم واحد ملتف حول نفسه يتواجد في مركز الخلية، ليست محاطة بغشاء نووي ولا تحتوي على نويات أو سائل نووي.
- **الجراثيم:** ليست من التراكيب الموجودة دائما في الخلية البكتيرية، ولكنها توجد في أجناس معينة من البكتيريا، ومعظم البكتيريا تكون جراثيم داخلية إذا ساءت الظروف المحيطة بها.



شكل(II-1): بنية البكتيريا.(علاوي، 2015)

II 3-تصنيف البكتيريا

تصنف البكتيريا اعتمادا على عدة معايير منها:

II 3-1-من حيث توزيع أسواطها

- **بكتيريا وحيدة السوط:** يخرج سوط واحد من أطراف الخلية.
- **بكتيريا سوطية الطرف:** تخرج مجموعة من الأسواط من أحد أطراف الخلية.
- **بكتيريا سوطية الطرفين:** تخرج مجوعة من الأسواط أو سوط واحد من كلا الطرفين.
- **بكتيريا محيطية الأسواط:** تخرج الأسواط من جميع أطراف الخلية.

(بلفار، 2018)(حوة، 2013)

II 3-2-من حيث الشكل

- **البكتيريا العصوية:** خلاياها على شكل العصويات الصغيرة.
- **البكتيريا الكروية:** خلاياها على شكل كريات صغيرة.
- **البكتيريا الحلزونية أو اللولبية:** تأخذ خلاياها الشكل الحلزوني.

- **البكتيريا الواوية**: تأخذ خلاياها شكل الواو أو الضمة بالعربية.

(بلفار، 2018)

II 3-3-من حيث الوسط الذي تعيش فيه

- **بكتيريا هوائية**: وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الهواء الجوي، وتعتبر المصدر الأساسي لتسمم الأغذية.
- **بكتيريا لاهوائية**: وهي البكتيريا التي تعيش فقط في غياب الهواء الجوي.
- **بكتيريا لا هوائية اختيارية**: وهي البكتيريا التي تستطيع العيش والنمو في وجود أو غياب الهواء الجوي.

(بن ساسي، 2018)

II 3-4-من حيث التغذية

- **بكتيريا ذاتية التغذية**: وهي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو.
- **بكتيريا عضوية التغذية**: وهي البكتيريا التي تحصل على الكربون من تحليل المواد مثل السكر.

(زيدان، 2018)

II 3-5-من حيث طريقة التلوين (الغرام)

تبين الاختلاف في تركيب جدار الخلية، عن طريق التلوين وتسمى تقنية غرام نسبة إلى العالم J.GRAMالمكتشفة سنة1884، واستنبط نوعين من خلال هذه الطريقة:

- **بكتيريا موجبة الغرام**: عند تلوينها تمتص اللون وتظهر أرجوانية ويرمز لها(G^+).
- **بكتيريا سالبة الغرام**: تحرر صبغة وتظهر حمراء ويرمز لها (G^-).

وجدار الخلية البكتيرية موجبة الغرام أسمك من جدار الخلية البكتيرية سالبة الغرام. (بابا عربي، 2009)

II 3-6-من حيث أثرها على الإنسان

- **البكتيريا النافعة:**

وهي البكتيريا التي تقدم خدمات متنوعة للإنسان، سواء داخل جسمه أو في المحيط الذي يعيش فيه، فمثلا هناك بكتيريا تعيش في أمعاء الإنسان لتساعد على هضم الطعام، وتعمل على القضاء على الكائنات الحية الضارة وتفرز بعض المواد المفيدة للجسم مثل الفيتامينات. أما على مستوى محيطه هناك بكتيريا تعيش في التربة وتلعب دورا هاما في غذاء النبات، إذ تقوم بتثبيت النيتروجين الموجود في الهواء الجوي، والذي يدخل في تكوين البروتين عند النبات، وتعمل أيضا على تحليل الكائنات الحية الميتة والفضلات الموجودة في التربة إلى مركبات بسيطة تستفيد منها التربة والنبات. كما تمكن العلماء من استخدامها في معالجة مياه الصرف الصحي، لحماية البيئة من التلوث. (بابا عربي، 2009)

- **البكتيريا الانتهازية:**

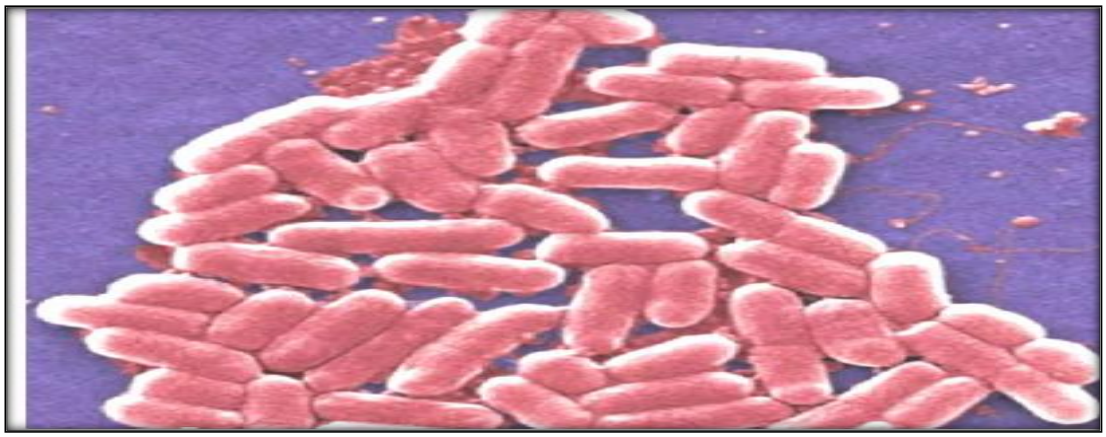
هي بكتيريا تعيش في جسم الإنسان دون أن تسبب له أضرار، ولكن عند انخفاض مناعة الجسم لأي سبب من الأسباب، تنتهز الفرصة لتهاجمه متحولة إلى بكتيريا ضارة مسببة العديد من الأمراض.(زيدان، 2018)

- **البكتيريا الضارة:**

بكتيريا ضارة تهاجم جسم الإنسان مسببة له العديد من أمراض متفاوتة الخطورة مثل: السل، الكوليرا، الالتهابات الرئوية والسعال الديكي. من بين البكتيريا الضارة والمسببة للأمراض نذكر: (بلفار، 2018)

✓ **بكتيريا الإيشيرشيا كولي(Escherichia coli)**

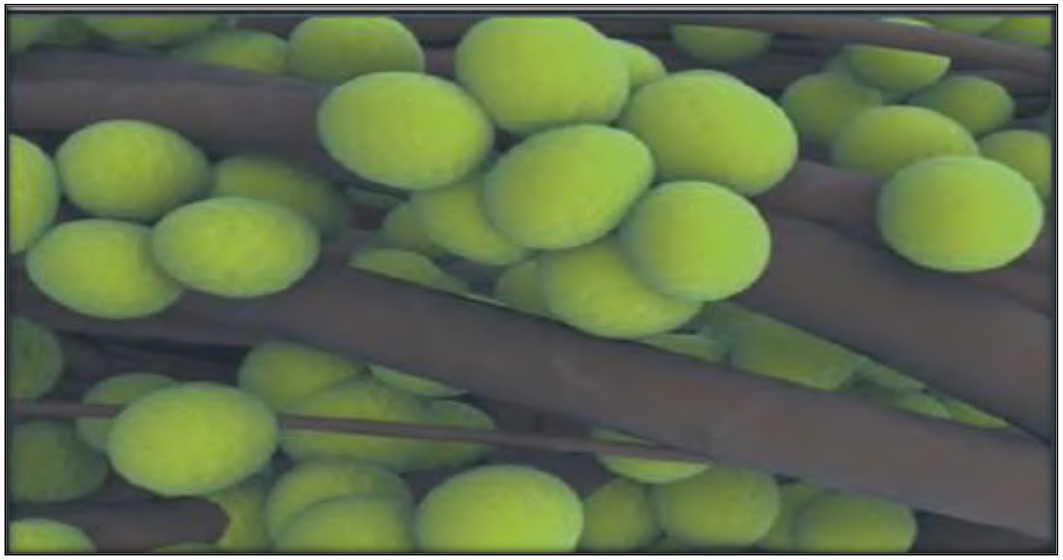
بكتيريا سالبة الغرام، عصوية الشكل، إختيارية الهواء، تتواجد في أمعاء الإنسان والحيوان، ذات أبعاد من $1\mu m$ إلى$3\mu m$، تتسبب في العديد من الأمراض منها: أمراض الجهاز البولي، الإسهال الحاد القاتل، أمراض الجهاز التنفسي، التهاب الزائدة الدودية، التهاب القلب، وتتسبب في ارتفاع درجات الحرارة بشكل شديد عندما تنتشر في الدم.



شكل(II-2): بكتيريا الإيشيرشيا كولي.(حوة، 2013)

- ✓ **بكتيريا المكورات الذهبية العنقودية (Staphylococcus aureus)**

بكتيريا موجبة الغرام، لاهوائية اختيارية، ترتبط في مجموعات على شكل عنقود قطرها حوالي1µmغير متحركة، توجد في الإنسان إلا أنها تسبب العديد من الأمراض منها: التهابات الجلد، التهاب الأذن الوسطى، تسمم الدم.(بلفار، 2018)



شكل(II-3): صورة لبكتيريا المكورات الذهبية العنقودية

II 4-تعريف المضادّات الحيوية

وهيعبارةعنمركباتكيميائيةعضويةتتكونتيجةللتفاعلات الأيضيةلبعضالأحياءالدقيقة،والتيتكون ذات فعالية انتقائية على الدقائق العضوية الممرضة تحت تراكيز ضعيفة، فهي تستطيعإيقافوتثبيطنموها وتكاثرها. وتستعمل المضادات الحيوية حاليا كنوع من المواد الكيميائية الطبيعية العلاجية لعلاج الكثيرمن الأمراض الميكروبية. (زيدان، 2018)

II 5-أنواع المضادّات الحيوية

مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية: تعمل على منع تكاثر الخلية البكتيرية.

مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية: ويتم ذلك عن طريق التأثير على جدار خليتها أو تتسبب في انتفاخ خليتها وانفجارها أو بمنع تكوين البروتين داخل الخلية.

(بلفار، 2018)

II 6-طرق دراسة النشاطيّة المضادّة للأحياء الدقيقة

يمكن دراسة الفعالية المضادة للميكروبات للمستخلصات النباتية باستخدام العديد من اختبارات،وأكثرهاشيوعًاهوانتشار على الأجار باستعمال القرص،والتخفيفعلى الآجار، والتخفيفالكلي للمرق والتخفيفالدقيقللمرق،يتطلب إجراء هذه الاختباراتاستخدامشروطوطرقلاختبارمحددة،بمافيذلكالوسائطوظروفوأوقاتالحضانة.

(إراتني نجاة،2008؛ Ojha & Kostrzynska, 2008; Paxton, 2005).

II 6-1-التخفيف الدقيق في المرق (Broth microdilution)

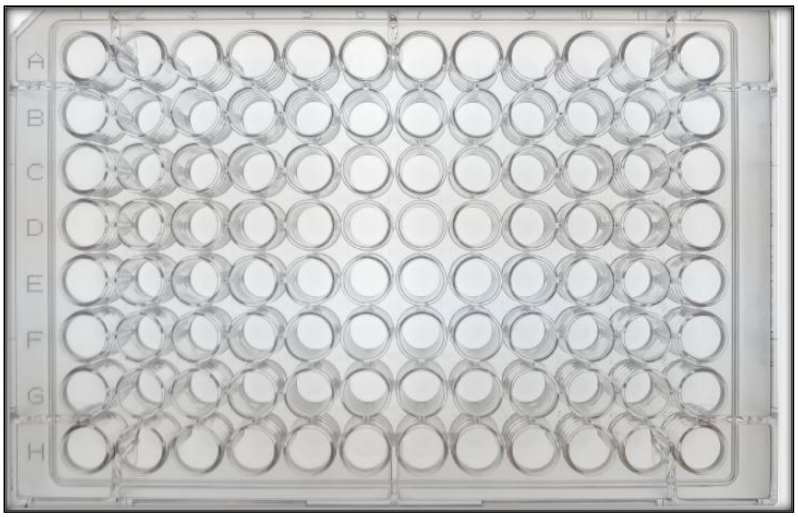
هي طريقة قياسية مستخدمة في معظم المختبرات، تعتمد هذه الطريقة على اختبار عدة مضادات حيوية بتخفيفات مختلفة عادةما تكون مضاعفة(2 ,4,8,16) عاي معلق بكتيري غالبا ما يكون بتركيز (10^8CFU/mlMacFarlane 0.5)، باستخدام ألواح ميكروتيتر حيث تتوفر هذه الألواح على 96 بئر كل منها بحجم 0.1ml وتسمح باختبار من 8-12 مضاد

حيوي مختلفا ،يتم التحليل في هذه الطريقة باتباع الخطوات التالية:

1 تحضير معلق بكتيري من الكائن الحي المراد اختباره في محلول ملحي أو في مرق مولر هينتون بتركيز($0.5 10^8$CFU/mlMacFarlane)

2 نقل من 1-5µl من المعلق البكتيري إلى 96 بئر ماعدا بئر واحد والذي يحتوي على تخفيفات مضاعفة للمضاد الحيوي المراد إختباره.

3 بعد ليلة من الحضانة في درجة حرارة°35C يتم تسجيل العكارة إما بواسطة العين المجردة أو بواسطة قارئبصري.



شكل(II-4): طبق ميكروتيتر(microtiter plate).(MacKay, 2018)

الجزء التطبيقي

الفصل الثالث

مواد وطرق البحث

تمهيد

قبل البدء في عملية (استخلاص، تحليل، دراسة الفعالية البيولوجية) للزيت الأساسي لBellis perennis L، يجب التطرق لبعض أساسيات هذه النبتة ك: العائلة والجنس التي تنتمي إليهما، التصنيف العلمي، وصفها، استعمالاتها الطبية...إلخ.

III-1-دراسة نبات Bellis perennis من العائلة النجمية (Asteraceae)

III-1-1-العائلة النجمية Asteraceae

عائلة Asteraceae المعروفة سابقا باسم العائلة المركبة (Compositea)، هي واحدة من أكبر عائلات كاسيات البذور، وتمثل أكثر من 10% من المجموع الكلي للنباتات في العالم، تحتوي على 5 عائلات فرعية، و30 قبيلة و1620جنس و23600 نوع. تنتشر في معظم الأنظمة البيئية باستثناء القارة القطبية الجنوبية.

تحتوي عائلة Asteraceae على عدد كبير من النباتات العطرية والطبية، التي تحتوي على مركبات كيميائية تظهر خصائص بيولوجية متنوعة لذلك تم استخدام زيوتها ومستخلصاتها النباتية في العديد من المجالات منها في حفظ الأغذية، وصناعة مستحضرات التجميل والصناعات الدوائية، والعلاج الطبيعي. واستخدمت أيضا كأزها للزينة(Maarfia , 2019)

III-1-2-جنس Bellis

يحتوي جنس Bellis على 82 نوع نباتي، من بينها:

B. annua L.; B. azorica Hochst.; B. bernardii Boiss. & Reut.; B. caerulescens (Cosson) Coss. ex Ball; B. dubia Spreng.; B. hyrcanicaWoronow; B. longifolia Boiss. & Heldr.; B. perennis L. ; B. rotundifolia (Desf.) Boiss. & Reut.; B. sylvestris Cirillo .

كلها حولية صغيرة أو أعشاب معمرة، يصل ارتفاعها من 5-25cm، ذات سيقان مستقيمة بسيطة، ومعظمها لها أوراق قاعدية، رؤوس الأزهار شعاعية، بحيث كل ساق ينتج رأس واحد. موطنه الأصلي أوروبا وحوض البحر الأبيض المتوسط وشمال افريقيا (Maarfia , 2019) .

III-1-3-التسمية

الاسم العربي: زهرة الربيع، زهرة اللؤلؤ، اللؤلؤية، شاش القاضي، البليس المعمر .

الاسم الإنجليزي: Daisy .

الاسم الفرنسي: Pâquerette. (وديع، 1987)

III-1-4-التصنيف العلمي للنبتة

المملكة:النباتات

تحت المملكة:النباتات الوعائية

الشعبة:النباتات البذرية

تحت الشعبة:مغطاة البذور

الصف:ثنائيات الفلقة

الرتبة: النجميات

العائلة:النجمية Asteraceae

الجنس: *Bellis*

النوع:*Bellis perennis L*

(united states departement of Agriculture, 2020)

III-1-5-وصف النبتة

عشبةبريةمعمرةمنفصيلةالمركبات،تسكنالأماكنالرطبة والأراضيالملحية،جذرهاوتديقصيريتراوح علوساقهابين4-15cm،وحيدةالضلع،الذييحملفيطرفهالأعلىزهرةواحدة،وهوعبارةعنشمراحمزغبدقيق للغاية .

وسطالزهرأصفراللون،أماالأطرافففهيلسيناتبيضاءاللونأووردية .أوراقهاضمية .قرصية،سميكة النصل، مسننةقليلا،ثمرهايابسةمطبقةوحيدةالبزرةالبيضويةالشكل،مذاقهايقطعبالمرارة(حليمي،1997).كما تتميز هذه النبتة بموسم ازهار طويل يدوم من مارس الى نوفمبر (Siatka & Kašparová, 2010)

شكل(III-1): نبات Bellis perennis.

III-1-6-التوزيع الجغرافي

تنتشر هذا النبتة على نطاق واسع في أوروبا وشمال افريقيا، وتم إدخالها في أمريكا الشمالية، وأمريكا الجنوبية ، ونيوزيلندا.(Ciobanu, 2016).

III-1-7-الإستعمال الطبي للنبتة

تم استخدام النبتة بشكل تقليدي كدواء مقشع (طارد للبلغم)، مدرة للبول، مضاد للالتهابات، خافضة للحرارة، مفيدة في التئام الجروح، مضادة للتشنج، كما تم استخدامها في علاج نزلات البرد، وأمراض العين، والأكزيما، وخراج الجلد، والتهاب المعدة، التهاب الأمعاء والإسهال، والتريف، والروماتيزم، والالتهابات، والتهابات الجهاز التنفسي العلوي. في المعالجة المثلية (Homéopathie)، قيل إن النبات يعمل على الألياف العضلية للأوعية الدموية ومفيد في وجع العضلات، والعرج، والاحتقان الوريدي لأسباب ميكانيكية. كان العلاج الأول في إصابات الأنسجة العميقة وإصابات الأعصاب التي تعاني من وجع شديد وعدم تحمل الماء البارد. (Al-Snafi, 2015)

حسب (حليمي،1997) فإنها أيضا نافعة جدا للأطفال الضعاف، منظفة للدم، معرقة، منقية للصدر، منبهة، وبما أنها مضادة للالتهابات يمكن أن يعالج بها داء المفاصل، والربو، والاستسقاء، وضعف الكبد، والكلى، والسهاد، وتورم الثدي، والأمراض الجلدية.

III-1-8-المركبات الكيميائية للنبتة

بالإضافة إلى احتوائها على الزيوت الأساسية، تحتوي أيضا على:

- الأحماض الفينولية التالية: حمض الكافئيك، حمض الفريوليك، حمض السينابيك، بارا-حمض الكوماريك، حمضالساليسليك.
- التانينات.
- الصابونينات: تم عزل إلى حد الآن حوالي 46 من الصابونين.
- الفلافونيدات.

(Al-Snafi, 2015)

جدول(III-1): المركبات الفلافونيدية ل Bellis perennis.

الأوراق	الأزهار
Apigenin	Apigenin
Apigenin 7-O-β-D glucoside	Apigenin 7-O-β-D glucoside
Apigenin -7-O-β-D- methyl-glucuronide	Apigenin -7-O-β-D- methyl-glucuronide
Kaempferol	Kaempferol
Kaempferol-3-O-β-D- glucoside	Kaempferol-3-O-β-D- glucoside
Isorhamentin-3-O-β-D-galactoside	Isorhamentin-3-O-β-D-galactoside
Querecetin	Querecetin
Isorhamentin-3-O-β-D-(6"-acetyl)-galactoside	
Apigenin-7-O-β-D-(6"-E-caffeoyl)-glucoside	

III-2-طريقة العمل

III-2-1-المادة النباتية

جمعت الأجزاء الهوائية لنبتة Bellis perennis وهي في مرحلة الإزهار في شهر ديسمبر 2019 من ولاية سطيف، أجريت عملية التجفيف في الظل في مكان مهوى،ثم تم فصل السيقان عن الأزهار لدراسة كل جزء على حدة.

شكل(III-2) : أزهار وساق النبتة المجففة.

III-2-2-إستخلاص الزيوت الأساسية

تم إستخلاص الزيت الأساسي للنبتة (السيقان والأزهار) بطريقة التقطير المائي باستعمال جهاز من نوع كلفنجر Clevenger، ن زن في كل مقدار 50g من النبتة (أزهار أو سيقان) ونضعها في دورق خاص بالجهاز سعته 1000ml ويضاف لها الماء المقطر بحيث يترك ثلث الدورق فارغا لتجنب فوران الخليط، تبدأ عملية التقطير بتسخين الدورق بشكل مستمر لمدة ثلاث ساعات.

شكل(III-3): الإستخلاص بجهاز كليفنجرClevenger.

ونظرا لعدم وجود الزيت الأساسي بكمية كافية لفصله عن الطبقة المائية تم جمع ناتج التقطير في قمع الفصل لفصل الزيت عن طريق إستخلاص سائل–سائل بمذيب عضوي (ثنائي إيثيل الإيثر) بحيث تمت معالجة كل 1000ml من ناتج التقطير ب 200ml من ثنائي إيثيل الإيثر، بعد عملية الرج والتوازن تتشكل طبقتين متمايزتين (الطورين) عندها يتم فصل الطور العضوي الذي يحتوي على الزيت العطري عن الطور المائي وتتكرر العملية ثلاث مرات بعدها تجمع الأطوار العضوية لتجفف ب Na_2SO_4 وتبخر في درجة حرارة الغرفة.

شكل(III–4): الإستخلاص سائل–سائل.

- حساب مردود الزيت

لحساب مردود الزيت نستعمل العلاقة التالية:

م=ك الزيت/ك النبتة×100

م: مردود الزيت الأساسي المستخلص% .

ك الزيت:كتلة الزيت الأساسي المستخلصة بالغرام.

ك النبتة:كتلة النبتة قبل الاستخلاص بالغرام.

توقف العمل في مرحلة الاستخلاص سائل–سائل وتم الإعتماد على الدراسات السابقة، بعدما كان الهدف تحليل الزيت الأساسي للنبتة ب GC–MS ودراسة فعاليته البيولوجية.

الفصل الرابع

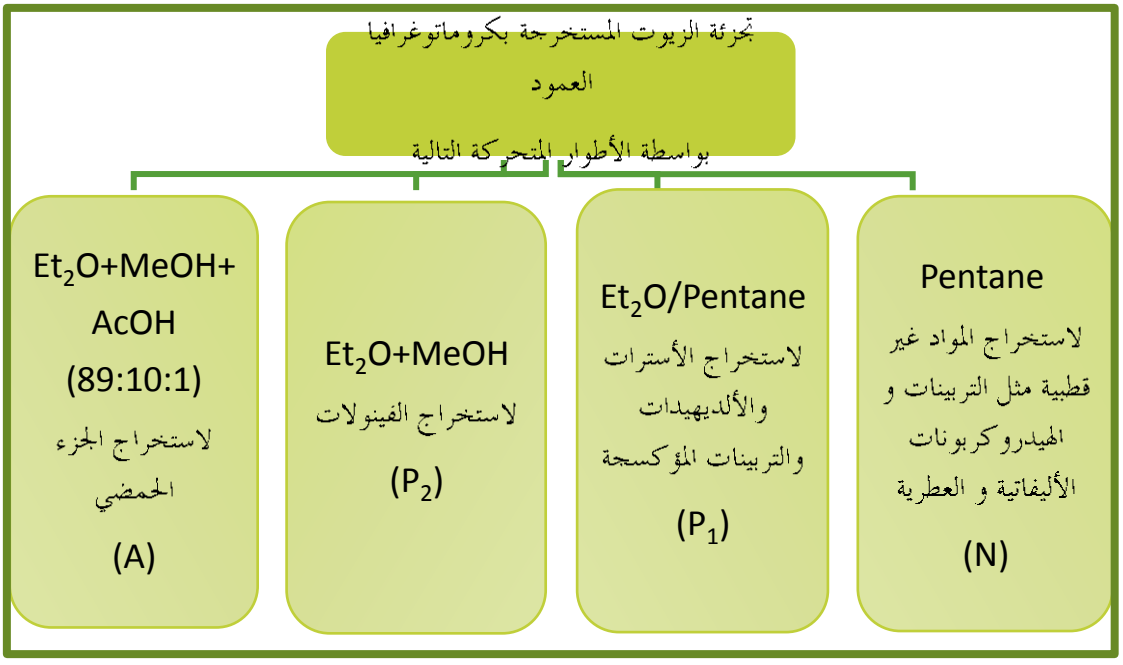
الدراسات السابقة

تمهيد

على حد علمنا وجدنا ندرة في الدراسات التي تطرقت للتركيب الكيميائي للزيت الأساسي لهذه النبتة وفعاليته البيولوجية،بحيث وُجدت ثلاث دراسات فقط وكل دراسة تناولت هذا الموضوع من زاوية مختلفة.

IV-1-الدراسة 1

دراسة (Avato & Tava, 1995)في إيطاليا، هدفت إلى تحليل الزيت الأساسي لأوراق وأزهار Bellis perennis،وتم ذلك باستخدام طريقة التقطير بالبخار لإستخلاص الزيت، بحيث بعد عملية استخلاص الزيت تم تحليل جزء منه مباشرة ب GC-MSو الباقي تمت تجزئته بواسطة كروماتوغرافيا العمود أولا(الأطوار المتحركة المستعملة مبينة في الشكل(**IV-1**))، ثم تحليله ب GC-MSوالطرق الطيفية الأخرى مثل (UV، IR، MS، RMN-^{1}H، RMN- DEPT،^{13}C) للمركبات التي استعصى التعرف عليها.



شكل(IV-1): الأطوار المتحركة المستخدمة في فصل الزيت الأساسي.

وكان من أبرز نتائجها ما يلي:

- تم استخلاص الزيت بمردود (0.005%) بالنسبة للأزهار و (0.004%) بالنسبة للأوراق.

- تم التعرف على 97% من إجمالي المركبات المكونة للزيت العطري، وتم تصنيفها في مجموعات كيميائية كما هو موضح في الجدول**(IV-1)**.
- يتكون الجزء الأكبر للزيت في جزئي النبتة من Monoterpenes (بنسبة% 47و62% في الأوراق والأزهار، على التوالي)، بحيث كان المركب β-Myrceneالأكثر تواجدا (15.05% في الأوراق و 28.43% في الأزهار) يليه Geranylacetate (11.99% في الأوراق و6.10% في الأزهار).
- لوحظ اختلاف طفيف في نسبة المركبات المحددة بين الأزهار والأوراق، باستثناء Cis-3-hexenol الذي وجد بكمية كبيرة في الأوراق (15.08%) مقارنة بالأزهار (0.43%).
- وجدت مركبات (C_{10}) Poly acétylènes بوفرة أيضا في الزيت العطري بنسبة 18% في الأوراق و21% في الأزهار، تم التعرف منها على مركبين واللذان اكتشفا لأول مرة في هذه الدراسة:

Methyl deca-4,6-diynoate

Deca-4,6-diynoic acid

جدول(IV-1): المركبات الكيميائية للزيت الأساسي لأزهار و أوراق **Bellis perennis**

Components	L	F	Detected in fraction¶
1,8-Cineole	0.25	0.32	W, P_1
cis-Ocimene	*tr*	*tr*	N
trans-Ocimene	0.03	0.04	W, N
γ-Terpinene	*tr*	*tr*	N
cis-Linalooloxide	0.20	*tr*	W, P_1
trans-Linalooloxide	*tr*	*tr*	P_1
α-Terpinolene	0.03	*tr*	N
Linalool	0.54	1.19	W, P_1
1,3,8-*p*-Menthatriene	*tr*	*tr*	N
cis-Pinenehydrate	1.18	2.25	W, P_1
trans-Pinocarveol	0.05	*tr*	W, P_1
trans-Pinenehydrate	0.88	1.37	W, P_1
Camphor	0.60	0.71	W, P_1
Pinocarvone	0.03	0.05	W, P_1
Citronellal	0.25	0.07	W, P_1
Lavandulol	0.19	0.23	W, P_1
4-Terpineol	0.18	0.21	W, P_1
α-Terpineol	0.21	0.73	W, P_1
Dihydrocarveol	0.14	*tr*	W, P_1
cis-Piperitol	0.26	0.39	W, P_1
trans-Piperitol	0.51	0.69	W, P_1
trans-Carvenol	0.15	1.10	W, P_1
Nerol	0.22	0.20	W, P_1
cis-Carveol	0.05	0.10	W, P_1
Isogeraniol	*tr*	*tr*	P_1
Pulegone	0.52	0.32	W, P_1

Neral	0.02	*tr*	P_2
Piperitone	0.95	1.16	W, P_1
cis-Sabinenehydrate acetate	*tr*	0.04	P_1
Geraniol	1.51	0.46	W, P_1, P_2
Linalyl acetate	0.21	0.05	W, P_1
cis-Verbenyl acetate	*tr*	*tr*	P_1
Geranial	0.36	0.38	W, P_1
Geranic acid methyl ester	0.82	1.10	W, P_1
Thymol	0.12	0.01	W, P_1, P_2
trans-Verbenyl acetate	*tr*	*tr*	P_1
cis-Pinocarveyl acetate	0.37	0.25	W, P_1
trans-Pinocarveyl acetate	0.09	0.02	W, P_1
Sabinyl acetate	0.99	0.30	W, P_1
Dihydrocarveyl acetate	0.19	0.20	W, P_1
Lavandulyl acetate	0.06	0.15	W, P_1
α-Terpinenyl acetate	0.07	0.10	W, P_1
Neryl acetate	1.65	7.31	W, P_1
Geranyl acetate	11.99	6.10	W, P_1
Geranilacetone	0.06	0.04	W, P_1
Neryl propionate	*tr*	*tr*	P_1
Geranyl propionate	0.12	0.01	W, P_1
Neryl angelate	*tr*	*tr*	P_1
Geranyl angelate	0.01	*tr*	P_1
Sesquiterpenes	**3.25**	**1.71**	
δ-Elemene	0.01	*tr*	N
α-Cubebene	0.09	0.02	W, N
Naphthalene-1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-Dimethyl-4-(1-methylethyl)	*tr*	*tr*	N
α-Ylangene	*tr*	*tr*	N
α-Copaene	0.16	0.10	W, N
β-Patchoulene	0.08	0.11	W, N
β-Bourbonene	0.12	0.07	W, N
β-Cubebene	0.10	0.15	W, N

β-Caryophyllene	0.39	0.14	W, N
Aromadendrene	0.02	0.03	W, N
α-Himachalene	0.15	0.10	W, N
α-Humulene	0.10	0.08	W, N
cis-β-Farnesene	0.32	0.12	W, N
allo-Aromadendrene	*tr*	*tr*	N
γ-Muurolene	0.26	0.10	W, N
Curcumene-*ar*	*tr*	*tr*	N
β-Selinene	*tr*	*tr*	N
δ-Selinene	*tr*	*tr*	N
α-Selinene	*tr*	*tr*	N
Germacrene B	0.05	*tr*	W, N
α-Longipinene	*tr*	0.01	N
α-Muurolene	*tr*	*tr*	N
α-Farnesene	0.16	0.05	W, N
γ-Cadinene	0.46	0.30	W, N
2,4,6-Trimethylazulene	*tr*	*tr*	N
δ-Cadinene	0.43	0.08	W, N
4,5,9,10-Dehydroisolongifolene	0.16	0.01	W, N
Neophytadiene	0.19	0.24	W, N
Torreyol	*tr*	*tr*	P_1
Poliacetylenes	**18.27**	**20.73**	
Methyl deca-4,6-diynoate	13.87	15.04	W, P_1
Lachnophyllum ester	2.83	3.53	W, P_1
Matricaria ester†	0.16	0.23	W, P_1
Matricaria ester†	0.07	0.10	W, P_1
Deca-4,6-diynoic acid	1.03	1.40	W. A
Lachophyllum acid	0.31	0.43	W, A

Diterpenes			
Abietatriene	*tr*	*tr*	N
Acids	**2.34**	**2.56**	
Octanoic acid	*tr*	*tr*	A
Nonanoic acid	*tr*	*tr*	A
Decanoic acid	*tr*	*tr*	A
Undecanoic acid	*tr*	*tr*	A
Lauric acid	0.68	0.35	W, A
Tridecanoic acid	*tr*	*tr*	A
Myristic acid	0.22	0.40	W, A
Pentadecanoic acid	*tr*	*tr*	A
Palmitic acid	1.06	1.21	W, A
Heptadecanoic acid	*tr*	*tr*	A
Stearic acid	0.10	0.18	W, A
Hexandicarboxilyc acid	*tr*	*tr*	A
Palmitoleic acid	*tr*	*tr*	A
Linoleic acid	0.08	0.10	W, A
Linolenic acid	0.20	0.32	W, A
Benzoic acid	*tr*	*tr*	A
Phenylacetic acid	*tr*	*tr*	A
Coumaric acid	*tr*	*tr*	P_2, A
Miscellaneous	**1.98**	**2.15**	
1,2,3-Trimethylbenzene	0.01	*tr*	N
trans-Decahydronaphtalene	*tr*	*tr*	N
Naphthalene	*tr*	*tr*	N
3,5-Dimethylphenol	0.03	0.05	W, P_2
Naphthalene-1,2-dihydro-1,1,6-trimethyl	*tr*	*tr*	N
p-Vinylguaiacol	0.23	0.19	W, P_2
Amethole	*tr*	0.01	P_2

Eugenol	0.02	0.06	W, P_2
β-Damascenone	0.10	0.16	W, P_1
β-Ionone	0.36	0.19	W, P_1
2,3-Dihydrobenzofurane	0.92	1.24	W, P_1, P_2
Dihydroactinidiolide	0.30	0.25	W, P_1
cis-Cyclododecene	0.01	*tr*	N
Unidentified	**2.72**	**1.87**	
MW = 182	1.34	1.10	W, P_1
MW = 182	0.20	0.11	W, P_1
MW = 182	0.10	0.08	W, P_1
MW = 182	0.43	0.34	W, P_1
Monoterpene $C_{10}H_{16}O$	0.05	0.10	W, P_1
Sesquiterpene $C_{15}H_{24}$	0.02	0.14	W, N
Diterpene $C_{20}H_{32}$	*tr*	*tr*	N
Total %	96.86	96.99	

L: الأوراق، F: الأزهار، tr: آثار،W:زيتأساسي N: كسر غير قطبي، P1-P2: كسور قطبية(انظر الشكل**IV-1**)، A: الكسر الحمضي

IV-2-الدراسة2

دراسة(Kavalcıoğlu et al,2010) في تركيا، كان من بين أهدافها مقارنة التركيب الكيميائي والفعالية البيولوجية للزيت الأساسي لنباتBellis perennisلست عينات(A,B,C,D,E,F)تم جمعها من أربع مواقع مختلفة في تركيا، بحيث العينات A،BوC أخذت من نفس الموقع وكل موقع أخذ منه جزء معين من النبتة(حيث A:استعملت كامل أجزاء النبتة ، Bأوراق، C أزهار) بينما العينات D، EوFأخذت من مواقع ثلاثة أخرى مختلفة واستعملت فيهم كامل أجزاء النبتة، بحيث أستخلص الزيت الأساسي للعينات بواسطة التقطير المائي باستعمال جهاز تقطير من نوع كلفنجر وتم تحليل الزيت الأساسي ب GC-MS، أما دراسة الفعالية البيولوجية المضادة للميكروبات كانت بطريقة التخفيف الدقيق في المرق Broth microdilution على مجموعة من السلالات البكتيرية و نوع واحد من الفطريات الموضحة في الجدول(4).

جدول(IV-2): الكائنات الحية الدقيقة المستخدمة في الفعالية ضد الميكروبية.

السلالات البكتيرية	الفطريات
Escherichia coli (NRRL B-3008) Staphylococcus aureus (ATCC 6538) Pseudomonas aerouginosa (ATCC 27853) Enterobacter aerogenes(NRRL) Salmonella typhimurium(ATCC3567) Proteus vulgaris (NRRL B-123) Bacillus cereus (NRRL B-3711)	Candida albicans (ATCC10231)

وكان من أبرز نتائجها ما يلي:

- تم استخلاص الزيت بمردود ضعيف جدا (لم تعطى القيمة).
- تم تحديد 82 مكونًا من جميع العينات التي تم فحصها والموضحة في الجدول **(IV-3)**.
- في العينةA، تم تحديد 30 مركبا، و التي تمثل أكثر من 99% من الإجمالي، حيث كان Hexadecanoic acid(87.6 %) هو المركب السائد. وفي العينة Bتم تحديد 55 مركبا وهي تمثل87.2% وكان(Phytol(22.8% هو المركب السائد للعينة، أما العينة C تم تحديد 38 مركبًا والتي تمثل أكثر من 86% من الإجمالي وكان (Hexadecanoic acid(32.2% المركب السائد لها. وفي العينة D تم تحديد 31 مركب وهي تمثل 89.2% حيث كان المكون الرئيسي هو(Phytol(30.4%، أما بالنسبة للعينة Eتم تحديد 37 مركب وهو ما يمثل 80.5% من الإجمالي وكان المركب السائد هو(Hexadecanoic acid(28.6% ، والعينة Fفقد تم تحديد 38 مركب وهو ما يمثل 96.4% من الإجمالي حيث كان المركب السائد هو Hexadecanoic

acid(40.1%).وبالنسبة لتكوين العينات Eو D كانت مقاربة لتكوين العينة A. بينما العينةF،

أظهرتاختلافاتطفيفةفيتركيبتهاالكيميائية مقارنة بالعينة A.

- أوضحت النتائج أن جميع السلالات البكتيرية وCandidaalbicana كانتمقاومةللزيت الأساسي لجميع العينات.

جدول(IV-3): المركبات الكيميائية للزيت الأساسي ل Bellis perennis

Compound	A	B	C	D	E	F
α-Pinene	0.2	0.2	2	0.5	1	0.2
Hexanal		0.1	0.5		0.7	
β-Pinene		0.1	0.5	0.1	0.8	0.2
Myrcene		tr	tr	0.7	3.2	0.8
β-Phellandrene						0.8
(*Z*)-3-Hexenal		0.1				
2-Pentylfuran		0.1			0.7	0.1
(*Z*)-β-Ocimene			0.5			
2-Nonanone			0.2			
Nonanal		0.2	0.3	0.1	0.3	0.1
Tetradecane		tr		0.2		0.1
Dimethyl tetradecane[a]		0.2				
1-Octen-3-ol			0.3		0.4	
(*E,Z*)-2,4-Heptadienal		0.2				
Cyclosativene	tr	0.1				
α-Copaene	tr	0.1				
(*E,E*)-2,4-Heptadienal		0.3				
Pentadecane						0.3
Decanal	tr	tr	0.7	0.2	0.8	
(*E*)-Theaspiran		0.3				
(*E*)-2-Nonenal		0.1				
β-Cubebene	tr	0.4	1.0		0.7	
Linalool	tr					
(*Z*)-Theaspiran		0.2				
trans-p-Menth-2-en-1-ol	tr				0.2	
cis-Chyrsanthenyl acetate		1.1	1.7	1.4	2.2	1.1
(*E,Z*)-Nonadienal		0.2				
Hexadecane		0.2		0.2		0.2
β-Caryophyllene	0.2	0.8	2	0.5	1	0.3
Cyclocitral	tr	0.4		0.3		
α-Himachalene	0.1				0.4	0.1
Phenylacetaldehyde		0.2			0.4	
(*Z*)-β-Farnesene	0.1		tr			
α-Humulene	0.1	0.2		0.7	tr	
Heptadecane		0.2				0.1
γ- Himachalene	5.2	16.2	11	17.4	16.6	5.8
cis-Piperitone oxide		0.2				
Germacrene-D	0.6	2.7	6.4	2.2	4	0.2
Nerylacetate						0.2
Eremophylene	0.2	0.6	0.8		0.8	0.1
Bicyclogermacrene		0.3	0.9			
(*E,E*)-α-Farnesene				0.2		0.1
Napthalene		0.3			0.3	
Geranyl acetate						0.8
δ-Cadinene	0.1	0.3	1	0.2	0.7	tr
(*E,Z*)-2,4-Decadienal		0.1	0.6		0.5	

(*E*)-Geranylacetone		0.3		0.2		0.1
Decylbutirate		0.2				
Epi-cubebol	tr		0.2			
Nonadecane		0.1				
Tetradecanal	0.1	8.6		6.4	1.4	7.3
Cubebol			0.7	0.2	1.1	
(*E*)-β-Ionone	0.1	1.9	0.4	1.7	0.6	0.2
cis-Jasmone			1			
1-Dodecanol						0.1
Piperitene oxide	0.4		0.7	0.3		
Eicosane			0.5			
Caryophyllene oxide	0.1					
2-Pentadecanone			tr		tr	1
Pentadecanal	0.3	4.4	tr	3.7	0.7	1
1-*epi*-Cubenol			tr		0.3	
Heneicosane		0.3				
Hexahydrofarnesylacetone		1.1	1.7	1.4	2.2	1.1
3,4-Dimethyl-5-penthylidene-2(5H)furanone	tr	0.8		0.6	tr	tr
1-Tetradecanol	tr	0.3		0.4		tr
3,4-Dimethyl-5-pentyl-5H-furan-2-one	tr		tr	tr	tr	0.2
Copaborneol	0.1	0.5	1.3	0.3	1	
Carvacrol	0.4	0.4	2	tr	tr	
Methyl ethyl hexadeconoate	tr	0.3	tr		tr	
Isophytol						tr
Tricosan		0.1				
9,12-Hexadecadienoic acid methylester		1.2				
1-Hexadecanol			1		tr	0.3
Pentacosane		tr			tr	tr
Methyl linoleat			0.5			
1-Octadecanol				1.1		
Ethyl linolenate		tr				1.1
Phytol	3.5	22.8	13.4	30.4	8.9	22.2
Tetradecanoic acid						8.4
Heptacosane		tr				
Nonacosane		3.2		2		1.7
Hexadecanoic acid	87.6	14	32.2	15.6	28.6	40.1
Total %:	**99.4**	**87.2**	**86.0**	**89.2**	**80.5**	**96.4**
Identified components	30	55	38	31	37	38

tr: آثار

IV-3-الدراسة3

وفي دراسة أخرى أجريت في صربيا (Nikolić& Radulović, 2018)، هدفت إلى تحديد بنية مركب آخر من مركبات Poly acetylènes الموجودة في الزيت الأساسي للنبتة، وتم هذا باستخلاص الزيت العطري بواسطة التقطير المائي لأزهار النبتة، وتحليله ب GC-MS، ولتحديد بنية المركب تم فصل الزيت بكروماتوغرافيا العمود CCوتحليله بتقنية RMN-^{1}Hو

RMN-^{13}C و 2D-RMN (HSQC و Cosy ^{1}H-^{1}H،HMBC)وتم التوصل إلى النتائج التالية:

- بعد عملية التقطير المائي، تم الحصول على الزيت بلون أخضر فاتح وبمردود ضعيف قدر ب0.022%
- تم التعرف على 33 مركبا، وهي تمثل 97.1% من الزيت الأساسي، وكانت مركبات Poly acetylènes(C_{10})واحدة من الفئات الكيميائية الرئيسية المتواجدة في الزيت.
- بعد فصل الزيت بكروماتوغرافيا العمود تم الحصول على كسر واحد غني بمركبات Poly acetylènes(C_{10})، بحيث كشف تحليل GC-MS لهذا الكسر عن وجود مركبين، واحد تم تحديده في الدراسة السابقة (الدراسة1) وهو:

Methyl deca-4, 6-diynoate

- والمركب الثاني تم تحديد بنيته بالطرق الطيفية السابق ذكرها وهو:

Methyl(Z)-Deca-8-en-4,6-diynoate

IV-4-مقارنة بين الدراسات

الجدول التالي يلخص أبرز أوجه التشابه والإختلاف بين الدراسات.

جدول(IV-4): جدول مقارنة بين الدراسات (1) و(2) و(3).

الجزء المستعمل من النبات	إختلف الجزء المستعمل بين الدراسات، حيث إستعملت دراسة (Avato & Tava, 1995) في إيطاليا الأزهار والأوراق بشكل منفصل لتقارن تركيبها الكيميائي، بينما دراسة(Kavalcıoğlu et al,2010)في تركيا اختبرت عدة عينات في كل عينة إستخدمت جزء من النبتة حيث استخلصت من (كامل أجزاء النبتة، الأوراق والأزهار بشكل منفصل، الأوراق والأزهار معا)، ودراسة صربيا (Nikolić& Radulović, 2018) إستخلصت من الأزهار فقط.
حالة المادة (طرية أوجافة)	إستخدمت الدراستين(Avato & Tava, 1995) و (Nikolić& Radulović, 2018) النبتة وهي في حالتها الطرية عكس دراسة (Kavalcıoğlu et al,2010) إستخدمتها في حالتها الجافة.
طريقة الاستخلاص	اعتمدت الدراستين (Kavalcıoğlu et al,2010)(Nikolić& Radulović, 2018) على طريقة التقطير المائي، أما دراسة (Avato & Tava, 1995) اعتمدت على طريقة التقطير ببخار الماء.
لون الزيت الأساسي	دراسة (Nikolić& Radulović, 2018) في صربيا فقط التي صرحت بلون الزيت الأساسي (أخضر فاتح)
مردود الاستخلاص	أعلى مردود استخلاص تحصلت عليه دراسة(Nikolić& Radulović, 2018) في صربيا والذي قدر ب0.022%، بينما دراسة (Avato & Tava, 1995) في إيطاليا تحصلت على مردود قدر ب 0.005% في الأزهار 0.004% في الأوراق، وفي دراسة (Kavalcıoğlu et al,2010) في تركيا أشارت أنها تحصلت على مردود ضعيف.
نتائج التحليل ب GC-Ms	دراسة (Avato & Tava, 1995) في إيطاليا: كانت المركبات السائدة في الزيت الأساسي β-Myrceneبنسبة (15.05% في الأوراق و28.43 في الأزهار) و Geranylacetate بنسبة

	(11.99% في الأوراق و6.10% في الأزهار) وهما من فئة Monoterpenes دراسة (Kavalcıoğlu et al,2010) في تركيا: كانت المركبات السائدة في كامل العينات Hexadecanoic acid وهو من الأحماض الدهنية المشبعة، وPhytol وهو عبارة عن كحول غيرحلقي من فئة Diterpènes اختلفت الدراستين(Avato & Tava, 1995) في إيطاليا و (Kavalcıoğlu et al,2010) في تركيا، في عدد ونسب المركبات في الزيت إلا أنها اشتركت في العديد من المركبات من بينها: α-Pinene, β-Pinene, Myrcene, Hexanal, Decanal, Tetradecane, Heptadecane. اتفقت دراستي (Avato & Tava, 1995) في إيطاليا و(Nikolić& Radulović, 2018) في صربيا ،على أن مركبات Poly acétylènes (C_{10}) كانت بين الفئات السائدة في الزيت الأساسي، بينما في دراسة في(Kavalcıoğlu et al,2010) تركيا لم تكن من مكونات الزيت الأساسي.
الفعالية المضادة للبكتيريا	دراسة (Kavalcıoğlu et al,2010) فقط التي تطرقت إلى الفعالية المضادة للبكتيريا، حيث اختبرت فعالية الزيت الأساسي لجميع العينات على سبع سلالات بكتيرية ونوع واحد من الفطريات، وكانت النتائج سلبية.

بعد المقارنة بين الدراسات، تبين وجود اختلاف بين نتائج هذه الدراسات سواء من حيث المردود أو التركيب الكيميائي للزيت الأساسي لهذه النبتة، ويعود هذا إلى عدة عوامل نذكر منها:

- وقت جني النبتة: فكمية ونوعية المواد الفعالة في النبات تختلف على مدار العام.
- الموقع الجغرافي: العوامل البيئية مثل (الحرارة، الرطوبة، نوعية التربة، مدة تعرض النبتة للضوء) تؤثر بشكل كبير على كمية وجودة الزيت الأساسي.
- طريقة الاستخلاص: يجب اختيار طريقة الإستخلاص المناسبة على حسب النبتة، لأنها تؤثر على كمية المردود، فعند مقارنة الدراسات نجد أن الطريقة التي أعطت أكبر مردود للزيت الأساسي هي طريقة التقطير المائي.

خلاصة

خلاصة

لمواكبة الاهتمام المتزايد بالنباتات الطبية والعطرية ولمعرفة مدى القيمة العلاجية للمواد الفعالة للنباتات، هدفت دراستنا إلى تحديد التركيب الكيميائي والفعالية البيولوجية للزيت الأساسي لنباتBellis perennis L من عائلة Asteraceae، وتم هذا باستخلاص الزيت الأساسي للأزهار والأوراق المجففة بواسطة التقطير المائي بجهاز كليفنجر، ولعدم وجود كمية كافية من الزيت لفصلة عن الطبقة المائية أجرينا عملية استخلاص سائل-سائل باستعمال ثنائي إيثيل الإيثرونظرا للظروف الصحية لم يتم اتمام العمل التطبيقي وتم الاعتماد على دراسة نظرية وذلك بتحليل ومقارنة ثلاث دراسات سابقة مماثلة لدراستنا ، وكانت نتائج الدراسات كالتالي:

- دراسة(1) أجريت في إيطاليا: تم استخلاص الزيت من أزهار وأوراق النبتة بواسطة التقطير ببخار الماء، ومعرفة تركيبه

ه

الكيميائي بواسطة GC-MS. حيث قدرت قيمة مردود الزيت الأساسي ب (0.005%، 0.004%) للأزهار والأوراق على التوالي، وبعد تحليله تم التعرف على 97% من مركباته، حيث كانت Monoterpenes الفئة السائدة، أهمهاتلك التي كانت بنسب معتبرة β-Myrcene(15.05% في الأوراق و28.43% في الأزهار) و Geranylacetate (11.99% في الأوراق و6.10% في الأزهار)، وجدت مركبات (C10) Poly acétylènes بوفرة أيضا في الزيت العطري بنسبة 18% في الأوراق و21% في الأزهار، تم تحديد منها مركبين باستعمال الطرق الطيفية

المختلفة.

- دراسة(2) أجريتفي تركيا: تم استخلاص ودراسة الفعالية البيولوجية للزيت الأساسي لست عينات(A,B,C,D,E,F)تم جمعها من أربع مواقع مختلفة في تركيا، حيث في كل عينة تم استخدام جزء مختلف من النبتة ،استخلص الزيت الأساسي بواسطة التقطير المائي بجهاز كليفنجر ، وتم تحليله بواسطةGC-MS، ثم اختبرت فعاليته المضادة للميكروبات باستعمال طريقة Broth microdilution. تم التحصل على الزيت بمردود ضعيف جدا في جميع العينات، وكشف تحليل GC-MS عن وجود 82 مركب من جميع

العينات،المركبات السائدة في الزيت كانت Phytolفي العينة BوD و Hexadecanoic acid لباقي العينات،وفي اختبار الفعالية الميكروبية كانت النتائج سلبية تجاه جميع السلالات البكتيريةوالفطريات المختبرة.

- دراسة(3) أجريت في صربيا: أستخلص الزيت من أزهار النبتة بطريقة التقطير المائي وتم تحليله ب GC-MS، تم الحصول على زيت بلون أخضر فاتح وبمردود ب 0.022%، وتم الكشف عن 33 مركبا، والتي تمثل 97.1% من الإجمالي، وكانت مركبات Poly acetylene(C_{10})واحدة من الفئات الكيميائية المتواجدة في الزيت، تم تحديد منها بينة مركب واحد بالاستعانة بوسائل طيفية مختلفة.

ومن خلال التحليل المقارن بين الدراسات، تبين وجود اختلافات واضحة في المردود وعدد ونسب المركبات والفئات السائدة ويعود هذا إلى عدة عوامل من بينها: الموقع الجغرافي، وقت جني النبتة، حالة النبتة (مجففة أو طرية)، طرق الاستخلاص.

وفي الأخير هناك عدة مجالات ومحاور وآفاق مستقبلية لتعميق البحث على الزيت الأساسي لهذه النبتة، وذلك من خلال:

- ✓ استخلاص وتحليل التركيب الكيميائي للزيت الأساسي من مناطق مختلفة تشمل التوزيع الجغرافي للنبتة في العالم ونخص بالذكر في الجزائر.
- ✓ تنويع طرق الاستخلاص، ودراسة أجزاء أخرى من النبتة (السيقان)
- ✓ إختبار الفعالية المضادة للميكروبات بطرق تقديرية أخرى وتوسيع دائرة السلالات البكتيرية المختبرة.
- ✓ التطرق إلى أنشطة بيولوجية أخرى مثل النشاطية المضادة للأكسدة.

قائمة المراجع

المراجع بالعربية

- إبراهيم العابد. (2009). دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران Traganum nudatum .مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجيستر . جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- إبراهيم حوة. (2013). دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفويةوالفعالية ضد الأكسدة.مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجيستر. جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- اراتني نجاة . (2008). دراسة التأثير المضاد للبكتيريا والمضاد للأكسدة لمستخلصات Artemisia herba albaوPunica granatumوانواع Qeurcusوبعض المركبات الفينولية. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماجيستير.جامعة فرحات عباس سطيف.
- آسيا بلفار. (2018). دراسة القدرة المضادة للأكسدة وللبكتيريا وللتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات Limoniastrum guyonianum(dur).أطروحة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه. جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- إلياس بابا عربي. (2009). تحضير بعض أملاح الفوسفونيوم ودراسة فعاليتها البيولوجية على بعض أنواع البكتيريا عند مزجها مع البنسيلين v .مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجيستر. جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- برهان عكو، و وائل أبو عبدالله. (2012). أطلس النباتات الطبية والعطرية في الوطن العربي. المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة أكساد دمشق.
- حبيبة بوخبتي. (2010). النباتات الطبية المتداولة في المنطقة الشمالية لولاية سطيف دراسة تشريحية لنوعين من جنس Menthaوالنشاطية ضد البكتيرية لزيوتهما الأساسية .مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير. جامعة فرحات عباس سطيف.
- دحام اسماعيل العاني. (1992). الكائنات الحية الدقيقة. *العلوم و التقنية*(19)، 52.
- شيماء بن ساسي. (2018). تقييم الفعالية المضادة للأكسدةوالمضادة للبكتيريا للمركبات الفينولية لبعض أصناف التمور من منطقة واد ريغ بطرق مختلفة.مذكرة تخرج لنيل شهادة الدكتوراه. جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- محمد السيد هيكل، و عبد الله عبد الرزاق عمر. (1993). *النباتات الطبية والعطرية كميأؤها،إنتاجها فوائدها*. منشأة المعارف بالإسكندرية.
- محمد زيدان. (2018). دراسة الفعالية المضادة للأكسدة والبكتيريا لمستخلصات الرمان punica granatum L.مذكرة تخرج لنيل شهادة الدكتوراه. جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- مسعودة علاوي. (2015). الدراسة الفيتوكيميائية والتقييم الميكرو بيولوجي لنبتتين من الفصيلة الرمرامية تستعملان في الطب التقليدي الصحراوي:Traganum nudatum (Thamran(Remth) Haloxylon scoparium Pomel) .مذكرة تخرج لنيل شهادة الدكتوراه. جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- ميثاق الجبر. (2010). بحث وتحديد نواتج الأيض الثانوي لنبات القات Catha edulis من العائلة (Celastraseae) ونبات البوليكاريا pulicaria juberti من العائلة (Asteraceae)وتقييم الفعالية البيولوجية.أطروحة لنيل شهادة الدكتوراه. جامعة
- نظمي خليل أبو العصى موسى، و آخرون. (2001). *الكائنات الحية الدقيقة المسار العلمي -المرحلة الثانوية*.
- نور الهدى مخدمي. (2014). استعمال المستخلصات المائية لنبتتي Matricaria pubscens و Pituranthos chloranthos كمعطرات طبيعية للجبن "أمير"،ودراسة النشاطية ضد البكتيريا لزيوتهما العطرية .مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجيستر . جامعة فرحات عباس سطيف.
- وديع جبر. (1987). معجم *النباتات الطبية* . دار الجبل بيروت.

المراجع باللاتينية

- Akula, R., & Gokare, A. R. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior, 6* (11), 582-585.
- Al-Snafi, & A, E. (2015). The pharmacological importance of Bellis perennis- a review. *International Journal of Phytotherapy, 5* (2), 63-69.
- Avato, P., & Tava, A. (1995). Acetylenes and Terpenoids of Bellis perennis. *Phytochemistry, 40* (1), 141-147.
- Bekkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological-effet of essential oils-a review. *Food and chemical toxicology, 46* (2), 446-475.
- Bencheikh, S. (2017). Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante Teucrium polium ssp Aurasianum Labiatae.Thése Doctorat. Université Kasdi Merbah Ouargla.
- Bentayeb, H., & Tlili, A. (2017). Etude analytique comparative et caracérisation de l'huile essentielle des différentes parties d'Ocimum basilicum L.cultivées sous climat aride.Thème Master Academique. Université Kasdi Merbah Ouargla.
- Bouhali, H. (2015). Caractérisation des huiles essentielles de Citrus sinensis et étude de leur activité antioxydante : étude comparative entre l'huile essentielle des écorces sèches et fraiches.Mémoire de Magister . Université Abderrahmane Mira Bedjaia.
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie phytochemie Plantes medicinales (éd. 3éme édition).*Paris: TEC et DOC.
- Ciobanu, L. A. (2016). Bellis Perennis-Variations of Physiological Responses in Urban Conditions. *Annales of west university of Timisoara.Series of Biology, 19* (1), 77-86.
- Djilani, A., & Dicko, A. (2012). The therapeutic benefits of essential oils. *Nutrition, well-being and health, 7*, 155-179.
- Horváth, G., Bencsik, T., Ács, K., & Kocsis, B. (2016). Sensitivity of ESBL-producing gram-negative bacteria to essential oils, plant extracts, and their isolated compounds. *Academic Press, Amsterdam* , 239-269.
- Hugo, W., & Russell, A. (1998). *Pharmaceutical microbiology.* Blackwell Science Ltd.
- Karakaş, F., Karakaş, A., Boran, Ç., Türker, A., Yalçin, F., & Bilensoy, E. (2012). Karakaş, F. P., Karakaş, A., Boran, Ç., Türker, A. U., Yalçin, F. N., & Bilensoy, E. The evaluation of topical administration of Bellis perennis fraction on circular excision wound healing in Wistar albino rats. *Pharmaceutical biology, 50* (8), 1031-1037.
- Kavalcıoğlu, N., Açık, L., Demirci, F., & Demirci, B. (2010). Biological activities of Bellis perennis volatiles and extracts. *Natural Product Communications, 5* (1), 147-150.

- Maarfia, S. (2019). Study of essential oils and phenolic compounds; their changes and anticancer activity in some species belonging to Asteraceae and Lamiaceae families.Thèse Doctorat. University Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi.

- *Microtiter/microwellplate*. (2018). Consulté le 2020, sur https://figshare.com: https://figshare.com/articles/figure/Microtiter_microwell_plate/6224723?fbclid=IwAR0Dc0TP_7QOv6h-28auIAelDXKSDmvlgFYW9wMoez114blFuuvfl0OcUMU

- Morikawa, T., Ninomiya, K., Takamori, Y., Nishida, E., Yasue, M., Hayakawa, T., et al. (2015). Oleanane-type triterpene saponins with collagen synthesis-promoting activity from the flowers of Bellis perennis. *Phytochemistry, 116*, 203-212.

- Morikawa, T., Nishida, E., Matsuda, H., Nakamura, S., & Yoshikawa, M. (2008). Perennisosides I–VII, acylated triterpene saponins with antihyperlipidemic activities from the flowers of Bellis perennis. *Journal of natural products, 71* (5), 828-835.

- Morikawa, T., Nishida, E., Nakamura, S., Ninomiya, K., Matsuda, H., & Yoshikawa, M. (2010). Medicinal flowers. Part 29. acylated oleanane-Type triterpene bisdesmosides: perennisaponins G, H, I, J, K, L, and M with pancreatic lipase inhibitory activity from the flowers of Bellis perennis. *Helvetica Chimica Acta, 93* (3), 573-586.

- Morikawa, T., Nishida, E., Nakamura, S., Ninomiya, K., Matsuda, H., & Yoshikawa, M. (2011). Medicinal Flowers. XXXII. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 59* (7), 889-895.

- NAZARUK, J., & Gudej, J. (2001). Qualitative and quantitative chromatographic investigation of flavonoids in Bellis perennis L. *Acta poloniae pharmaceutica, 58* (5), 401-405.

- Nikolić, M., & Radulović, N. (2018). Identification and 2D NMR structural elucidation of a C10-polyacetylenic ester, a previously unreported constituent of Bellis perennis L. essential oil. *Facta Universitatis, Series Physics, Chemistry and Technology, 16* (1), 131.

- Ninomiya, K., Motai, C., Nishida, E., Kitagawa, N., Yoshihara, K., Hayakawa, T., et al. (2016). Acylated oleanane-type triterpene saponins from the flowers of Bellis perennis show anti-proliferative activities against human digestive tract carcinoma cell lines. *Journal of natural medicines, 70* (3), 435-451.

- OJHA, S., & KOSTRZYNSKA, M. (2008). Examination of animal and zoonotic pathogens using microarrays. *Vet. Res, 39*, 4–26.

- Palazzolo, E., Laudicina, V., & Germanà, M. (2013). Current and potential use of citrus essential oils. *Current Organic Chemistry, 17* (24), 3042-3049.

- Poxton, I. (2005). Molecular techniques in the diagnosis and management of infectious diseases: do they have a role in bacteriology? *Med. Princ. Pract* (14), 20–26.

- Schöpke, T., Wray, V., Rzazewska, B., & Hiller, K. (1991). Bellissaponins BA1 and BA2, acylated saponins from Bellis perennis. *Phytochemistry, 30* (2), 627-631.

- Siatka, T., & Kašparová, M. (2010). Seasonal variation in total phenolic and flavonoid contents and DPPH scavenging activity of Bellis perennis L.flowers. *Molecules, 15* (12), 9450–9461.
- SIFI, I. (2016). Activité Biologique et Analyse Activité Biologique et Analyse Chimique des Huiles Essentielles des Galles du Pistachier de l'Atlas.Thèse Doctorat. Université Kasdi Merbah Ouargla.
- Silva-Santos, A., Antunes, A., Bizzo, H., d'AVILA, L., Souza-Santos, L., & Souza, R. (2008). Analysis of uses of essential oils and terpenics/terpenoids compounds by pharmaceutical industry through USPTO granted patents. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais, 10*, 8-15.
- Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science, 79* (7), R1231-R1249.
- United States Departement of Agriculture. (2020). *Classification| USDA PLANTS* . Récupéré sur Plants USDA Natural Ressources convsersation service: https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet
- Wray, V., Kunath, A., Schöpke, T., & Hiller, K. (1992). Wray, V., Kunath, A., Schöpke, T., & Hiller, K. Bayogenin and asterogenic acid glycosides from Bellis perennis. *Phytochemistry, 31* (7), 2555-2557.
- YAACOUB , R., & TLIDJANE , I. (2018). Caractérisation physico-chimiques et analyses biologiques de l’huile essentielle des grains de Cuminum cyminum L. et de Foeniculum vulgare Mill. extraite par hydrodistillation et CO2supercritique:Etude comparative. Université Larbi Ben M’hidi Oum El Bouaghi.
- Yoshikawa, M., Nishida, E., Nakamura, S., Matsuda, H., Muraoka, O., & Morikawa, T. (2008). Medicinal flowers. XXI. Structures of perennisaponins A, B, C, D, E, and F, acylated oleanane-type triterpene oligoglycosides, from the flowers of Bellis perennis. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 56* (4), 559-5568.

الملخص

يهدف هذا العمل إلى دراسة التركيب الكيميائي والفعالية البيولوجية للزيت الأساسي لنبتة Bellis perennis L، وتم هذا باستخلاص الزيت الأساسي للأزهار و السيقان المجففة بواسطة التقطير المائي بجهاز كليفنجر، ولعدم وجود كمية كافية من الزيت لفصله عن الطبقة المائية أجرينا عملية استخلاص سائل–سائل باستعمال ثنائي إيثيل الإيثر، ونظرا للظروف الصحية لم يتم إتمام العمل التطبيقي، وتم الإعتماد على دراسة نظرية وذلك بتحليل ومقارنة ثلاث دراسات سابقة في مجال دراستنا، حيث كانت نتائج الدراسات متباينة بعد تحليل الزيت ب GC–MS، فالدراسة الأولى أثبتت أن المركبات السائدة في الزيت هي β–myrcene وgeranylacetate وفي الدراسة الثانية كانت hexadecanoic acid وphytol هي المركبات السائدة، كما تم تأكيد أن مركبات Poly acétylènes (C_{10}) متواجدة بوفرة في الزيت الأساسي في الدراستين الأولى و الثالثة.

وفي إختبار الفعالية الميكروبية للزيت الأساسي كانت النتائج سلبية على جميع السلالات البكتيرية والفطريات المختبرة.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية،GC–MS، لفعالية البيولوجية، Bellis perennis L.

Abstract

The present work focuses at the chemical composition and the biological activity of the essential oil of the plant of Bellis perennis L, and this through the extraction of the flowers and the stems dried with Hydrodistillation by the KLEVENGER instrument. And as the quantity of the oil is not sufficient to separate it from the Aqueous phase, we proceeded to the extraction process liquid-liquid using « Diethyl Ether ».

Unfortunately, and for health reasons (covid-19 pandemic) we were unable to carry out the practical part, and be limited to the theoretical part, based on the analysis and comparison of three previous studies in the same context, after the analysis of the oil by GC-MS, the results of the studies were divergent.

The first study showed that the major components in the oil are β-myrcene and geranylacetat, in second were Hexadecanoic acid and Phytol, it was ensured the abundant presence of the components of Polyacetylenes (C_{10}) in the essential oil in the 1st and 2ed studies

In the microbial activity test, on the essential oil, the results were negativs for all the bacterial and fungus series tested.

Keywords: Essential oil, GC-MS, microbial activity, Bellis perennis L

Résumé

Cette étude ayant l'objectif d'étudier la composition chimique et l'activité biologique de l'huile essentiel de la plante Bellis pernnis L, et ce fait par l'extraction d'huile essentiel des fleurs et les tiges séchées par Hydrodistillation, en utilisant un appareil de type Clevenger, et comme la quantité n'est pas suffisante pour la séparer de la phase aqueuse, nous avons optés à l'opération d'extraction liquide- liquide, en utilisant l'Ether Eiéthylique.

Vu la crise sanitaire provoquée par la pandémie de COVID-19, l'étude pratique n'était plus possible de l'achever ; à cet effet, une étude théorique a été adoptée, par l'analyse et la comparaison de trois études antérieures dans le même contexte, après l'analyse d'huile par GC-MS, les résultats ont été divergents.

La première étude a démontrée que les composants majoritaires dans l'huile sont β-myrcene et Geranylacetate, le Phytol et l'Hexadecanoic acid y étaient dans la deuxième. il a été prouvé que les composants Poly Acétyléne(C_{10}) s'y trouvent aussi d'une manière abondante dans l'huile essentielle, et ce dans la première et la troisième études.

Dans le test de l'activité microbienne de l'huile essentiel, les résultats ont été négatifs sur toutes les souches microbiennes expérimentées.

Mots clés : huile essentielle, GC-MS, activité microbienne, Bellis perennis L.