رقم الترتيب:

رقم التسلسل:

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الوادي

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا

مذكرة تخرج لنيل شهادة

ليسانس أكاديمي

ميدان: علوم طبيعة وحياة

شعبة علوم البيولوجيا

تخصص: بيولوجيا وفيزيولوجيا النبات

الموضوع

دراسة النشاطية ضد البكتيرية للزيوت الطيارة المستخلصة من نبات النعناع *Mentha* sp (العائلة الشفوية Lamiaceae) المزروع في منطقة وادي سوف .

تحت إشراف الأستاذ :

شويخ عاطف

من إعدادالطالبات :

-الأطرش سمية

- بالقط خولة

بلول راضية

سباع نجوة

الموسم الجامعي : 2012-2013

شكر وعرفان

أولا وقبل كل شيء نحمد الله العزيز الحميد الكريم على منه وكرمه ،

وتوفيقه لإتمام هذا العمل وانجازه على هذا الوجه

وله كل الفضل والشكر على ذلك

ونتقدم بتشكراتنا الخالصة وامتناننا إلى الوالدين

الكريمين اللذان ساعدونا على الوصول لهذه المرحلة

وإلى أستاذنا المحترم" شويخ عاطف" الذي

لم يبخل علينا بالملاحظات والتوجيهات وسمح لنا بإنجاز دراستنا

كما لاننسى أن نشكر كل منا أساتذتنا الكرام وصديقاتنا وزملائنا والذين ساعدونا من قريب أو بعيد

الفهرس

المقدمة	01
الجزء النظري	
الفصل الأول : الزيوت الطيارة: تركيبها، مواصفاتها وطرق إستخلاصها	
I- مقدمة في الزيوت الطيّارة	**04**
I-1- تعريف الزيوت الطيّارة	**04**
I -2- تموقع الزيوت الطيارة	**05**
I-3- التركيب الكيميائي للزيوت الطيّارة	**05**
I-3-1- المركبات التربينية	**05**
I-3-1-1- التربينات الاحادية	**06**
I-3-1-2- السيسكوتربينات	**07**
I-3-1-3- التربينات الثنائية	**07**
I -3-1-4- التربينات الثلاثية	**08**
I-3-1-5- التربينات الرباعية	**09**
I-3-2- المركبات الاكسوجينية	**09**
I-3-2-1- الكحولات	**09**
I-3-2-2-- الكحولات الاليفاتية	**10**
I-3-2-3- الكحولات الحلقية	**10**
I-3-2-4- الالدهيدات	**10**
I-3-2-4 -المركبات الاليفاتية	**10**
I-3-2-4-2- المركبات الحلقية	**11**
I -3-2-5- الكيتونات	**11**
I -3-2-6- الأسترات	**12**
I -3-2-7- الإيثرات	**12**
I -3-2-8- الأوكسيدات	**12**
I -3-2-9- الفينولات	**13**
I -3-2-10- المواد الكبريتية	**13**
I -3-2-11- اللاكتونات	**14**
I-4 -التصنيع الحيوي	**14**
I-5- الصفات الطبيعية للزيوت الطيّارة	**16**
I-5-1-الرائحة	**16**
I-5-2-اللون	**16**

I -5-3-التطاير	16
I-5-4- الإذابة	16
I-5-5- الدوران الضوئي	16
I-5-6-الكثافة النوعية	16
I-5-7-معامل الإنكسار	16
I-6- فوائد واستعمالات الزيوت الاساسية	17
I-6-1- فائدتها بالنسبة للنبات	17
I-6-2- فائدتها بالنسبة للانسان	17
I-6-2-1- في المجال الغذائي	17
I-6-2-2- في المجال الصناعي	17
I-6-2-3- في مجال الطب والصيدلة	17
I-6-2-3-1- التاثير الفيزيولوجي	17
I-6-2-3-2- التاثير النفسي	18
I-7- طرق استخلاص الزيوت الاساسية	18
I-7-1- التقطير	18
I-7-1-1- التقطير بالماء	19
I-7-1-2-التقطير بالبخارفي وجود الماء	20
I-7-1-3- التقطير بالبخار فقط	21
I-7-2- الاستخلاص بالمذيبات العضوية	21
I-7-2-1- الاستخلاص بالمذيبات العضوية الطيارة	21
I -7-2-2- الاستخلاص بالمذيبات العضوية الغيرطيارة	21
I-7-3- الاستخلاص بالضغط على البارد	22
I-7-4- الاستخلاص بواسطة الامواج الدقيقة	22
I-7-5- الاستخلاص بواسطة CO_2السائلي	22
الفصل الثاني : مفاهيم عامة حول البكتيريا	
II-مدخل	25
II -1- نبذة تاريخية عن البكتيريا	25
II -2- تعريف البكتيريا	26
II -3- خصائص البكتيريا	26
II -4- تصنيف االبكتيريا	26
II -4-1- من حيث الاسواط	26
II -4-1-1- وحيدة السوط	26

II -4-1-2- سوطية الطرف	**26**
II -4-1-3-سوطية الطرفين	**26**
II -4-1-4- محيطية الاسواط	**26**
II -4-2- من حيث الشكل	**27**
II -4-2-1- بكتيريا عصوية	**27**
II -4-2-2- بكتيريا كروية	**27**
II -4-2-3- بكتيريا حلزونية	**27**
II -4-2-4- بكتيريا واوية	**27**
II-4-3- من حيث الوسط الذي تعيش فيه	**27**
II-4-3-2- بكتيريا لا هوائية اجبارية	**27**
II-4-3-3- بكتيريا لاهوائية اختيارية	**27**
II-4-4- من حيث التغذية	**27**
II-4-4-1- بكتيريا ذاتية التغذية	**27**
II-4-4-2- بكتيريا عضوية التغذية	**27**
II -4-5- من حيث طريقة التلوين	**27**
II-4-5-1- بكتيريا غرام موجب	**27**
II-4-5-2- بكتيريا غرام سالبة	**27**
II-4-6- من حيث طرق التكاثر	**28**
II-4-7- من حيث الاثر على الكائنات الحية	**28**
II -4-7-1- البكتيريا النافعة	**28**
II-4-7-2- البكتيريا الانتهازية	**28**
II-4-7-3- البكتيريا الممرضة (بعض الأمثلة)	**29**
II-4-7-3-1- *Escheirichia coli*	**29**
II-4-7-3-2- *Pseudomonas aeruginosa*	**29**
II-4-7-3-3- *Staphylococcus aureus*	**30**
II-4-7-3-4- *Bacillus subtilis*	**31**
II-5- نشاطية الزيوت الاساسية المضادة للاحياء الدقيقة	**31**

II-6- عمل الزيوت الاساسية على البكتيريا	**32**
الجزء التطبيقي	
الفصل الأول: مواد وطرق البحث	
I-1- المواد المستعملة	**34**
أ- المادة النباتية	**34**
ب- المواد المستعملة قبل وبعد التجفيف	**42**
ج- في المخبر	**42**
I—2 – طرق العمل:	**44**
أ- في الميدان	**44**
أ- عند التجفيف	**44**
ج- بعد التجفيف	**44**
د- إستخلاص الزيوت الطيارة	**44**
ه- تحضير أوساط الزرع	**45**
و- زراعة البكتيريا وتقدير القطر التثبيطي	**45**
الفصل الثاني:النتائج والمناقشة	
II-1- النتائج	**47**
II-1-1-مردود الزيت الطيار	**47**
II-1-2- النشاطية ضد البكتيرية للزيت الطيار المستخلص	**47**
II-2- المناقشة	**51**
الخاتمة	**53**
المراجع	
الملحق	
الملخص	

فهـــــرس الجـــــداول

الرقـم	عنـــــوان الجدول	الصفـحة
01	تقسيم التربينات	**06**
02	التصنيف النّباتي للنّعناع	**42**
03	متوسط أقراص التثبيط للبكتيريا	**47**

فهرس الوثائق

الرقم	عنوان الوثيقة	الصفحة
01	الصيغة الكيميائية للإيزوبرين.	**05**
02	بنية بعض التربينات الاحادية.	**06**
03	بعض السيسكوتريبنات	**07**
04	بنية بعض التربينات الثنائية	**08**
05	تركيب بعض التربينات الثلاثية	**08**
06	بنية بعض التربينات الرباعية	**09**
07	مثال عن الكحولات الأليفاتية	**09**
08	أمثلة عن الكحولات الحلقية	**10**
09	مثال عن المركبات الاليفاتية	**10**
10	مثال عن مركب ألدهيدي حلقي	**10**
11	بعض أنواع الكيتونات الحلقية	**11**
12	بعض أنواع الكيتونات الحلقية	**11**
13	بعض أنواع الأسترات	**12**
14	بنية مركب الأنيثول	**12**
15	بنية مركب السينول	**13**
16	بنية مركب الثيمول	**13**
17	بنية بعض اللاكتونات	**14**
18	التصنيع الحيوي للتربينات	**15**
19	جهاز التقطير بالماء	**19**
20	جهاز التقطير بالبخار في وجود الماء	**20**
21	مبدأ عمل جهاز Micro-onde	**22**

22	مبدأ عمل جهاز co_2 السائلي	**23**
23	بكتيريا *Escherichia coli*	**29**
24	بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*	**30**
25	بكتيريا*Staphylococcus aureus*	**30**
26	بكتيريا *Bacillus subtilis*	**31**
27	صورة للنعناع المستعمل *Mentha* sp	**35**
28	الفوتنج *Mentha pulegium* L.	**36**
29	النعناع المستدير الاوراق *Mentha rotundifolia*	**37**
30	النعناع البري *Mentha longifolia* L.	**38**
31	االنعناع البلدي *Mentha spicata* L.	**38**
32	النعناع الفلفلي *Mentha piperita* L.	**39**
33	النعناع الاخضر *Mentha viridis* L.	**40**
34	نعناع الحقول *Mentha arvensis* L.	**40**
35	نعناع الماء *Mentha aquatica* L.	**41**
36	جهاز كلافنجر calevenger	**45**
37	اقطار التثبيط للسلالات البكتيرية المختبرة	**48**
38	متوسط اقطار التثبيط للبكتيريا *Bacillus subtilis*	**49**
39	متوسط اقطار التثبيط للبكتيريا *Bacillus subtilis*	**49**
40	متوسط اقطار التثبيط للبكتيريا *Escherichia coli*	**50**
41	متوسط اقطار التثبيط للبكتيريا *Staphylococcus aureus*	**50**

المقدمة

المقدمة :

إن استخدام النباتات والأعشاب الطبية قديم قدم الإنسان نفسه حيث كان أسلافنا يعزلون الطيب والمفيد منها ويستبعدون الضار، ونظرا لأهمية هذه النباتات من الناحية الطبية وما تحتويه من مواد كيميائية ذات فائدة وأهمية كبرى لتأثيرها الفسيولوجي ونشاطها العلاجي للإنسان والحيوان، فقد انتشرت زراعتها في جميع بقاع العالم وتركزت بالخصوص على ضفاف النيل في عهد الفراعنة وفي بلاد الرافدين خلال الحضارتين البابلية والكلدانية حيث كانتا المنبع الغزير للحضارة اليونانية وبعد ظهور الإسلام أصبحت العلوم الإسلامية زاخرة بالمادة العلمية وحافلة بالتجارب الميدانية خصوصا فيما يتعلق بفروع الطب والعقاقير النباتية (رأفت؛2001).

ومما يجدر الإشارة إليه الآن أن النعناع *Mentha* sp نبات طبي شأنه شأن النباتات الطبية الأخرى تتوقف فعاليته على طبيعة المواد المؤثرة ونسبتها ومنها :المادة العفصية Tanins ، المنثولMenthole ، وزيت عطري Huile aromatique (حجاوي وآخرون؛ 2004)، حيث تستعمل في التداوي والعلاج إضافة إلى دورها الأساسي في الاستعمالات العطرية، وقد تستعمل أيضا في تراكيب الأدوية وخلطاتها لتحسين النكهة والطعم (مسمار؛ 1998).

لقد وقع اختيارنا في هذه الدراسة على نبات النعناع *Mentha* sp نظرا لأهميته الطبية والصيدلانية، وبهدف معرفة فعالية الزيوت الطيارة المستخلصة من الجزء الهوائي لهذا النبات على بعض السلالات البكتيرية الممرضة و مقارنتها مع المضادات الحيوية.

ولقد قسمنا هذا العمل إلى جزأين :

- **جزء نظري:** يحتوي فصلين حيث درسنا في الفصل الأول الزيوت الطيارة وطرق استخلاصها ، مكوناتها وتموقعها، أما في الفصل الثاني قمنا بدراسة نظرية حول البكتيريا ودراسة بعض أنواعها الممرضة .
- **جزء عملي:** يحوي هو الآخر فصلين حيث تطرقنا في الفصل الأول: مواد وطرق البحث وفيه تطرقنا إلى دراسة بعض أنواع النعناع، كما أشرنا إلى طريقة التقطير المستعملة في إستخلاص الزيت الطيار وتحضير أوساط زرع البكتيريا، ودراسة النشاطية التثبيطية للزيت الطيار على بعض الأنواع البكتيرية مع إستعمال المضادات الحيوية بقصد المقارنة،وقمنا في الفصل الثاني بمناقشة النتائج المتحصل عليها.

الجزء النظري

الفصل الأول :

الزيوت الطيارة: تركيبها، مواصفاتها وطرق إستخلاصها

I- مدخل:

استخدمت الزيوت الطيارة على مر العصور وتعاقبها، وتقدم الحضارات وازدهارها، فكثر استخدامها، واتسع تداولها وبين الشعوب والأمم في الشرق والغرب مما ساعد على تدوين وتسجيل منافعها وفوائدها على جدران المعبد والقبور وجاءت مراكز البحث اليوم لتؤكد أهمية الزيوت الطيارة في صناعة الدواء، مواد التجميل، معاجين الأسنان، الصابون، المواد المطهرة ومضادات الجراثيم (بن التهامي وآخرون؛ 2012).

I - 1- تعريف الزيوت الطيارة:

الزيوت الطيارة عبارة عن خلائط من المركبات العطرية والطيارة ذات المصدر النباتي (الجبر؛ 2010)، وهي من نواتج الأيض الثانوي له خاصية التبخر أو التطاير بسرعة دون أن تتحلّل وهذا ما يميزها عن الزيوت الثابتة (قطب؛1981)، وتوجد هذه الزيوت على هيئة مادة سائلة عند درجة الحرارة العادية، عدا زيت اليانسون وزيت الورد، اللّذان يتواجدان على هيئة مادة صلبة، وتتجمع في تراكيب وعائية خاصة، مثل : الشّعيرات الغدّية أو غدد زيتية أو قنوات زيتية، وبما أنّ هذه الزّيوت متطايرة ويسهل فقدانها في درجة حرارة الجوّ، فإنّ التّراكيب التي تحويها تكون مجهّزة بجدران مناسبة تمنع تطايرها (حسين وبوقاعة؛ 2012).

تتوزّع الزيوت الطيارة توزيعا غير متجانس تبعا للنباتات وتنتشر في أكثر من 2000 نبات، تمثّل حوالي 60 فصيلة نباتية وتتركّز بصفة خاصّة في بعض الفصائل أهمها مايلي :

القرفية Lauraceae

الشفوية Lamiaceae

السذابية Rutaceae

المركبة Asteraceae

الآسية Mirtaceae

الخيمية Apiaceae

الصنوبرية Pinaceae (قطب؛ 1981).

تسمى الزيوت الطيارة بالزيوت العطرية Huilles aromatiques لرائحتها العطرية، أو الزيوت الإيثيرية huilles ether لذوبانها في الإيثر، كما تسمى أيضا بالزيوت الأساسية Huiles essentielles (حسين وبوقاعة؛ 2012).

I-2- تموقع الزيوت الطيارة :

تصنع وتجمع الزيوت الطيارة في أماكن تواجدها بالأجزاء النباتية الحاملة لها. فهي تتواجد في الخلايا الإفرازية كما في العائلة القرفية Lauraceae، داخل الشعيرات الغدّية كما في العائلة الشفوية Lamiaceae، ممرات زيتية في العائلة السّذابية Rutaceae والعائلة الصنوبرية Pinaceae، قنوات إفرازية في العائلة الخيمية Apiaceae (حجاوي وآخرون؛ 2004).

I -3- التركيب الكيميائي للزيوت الطيارة:

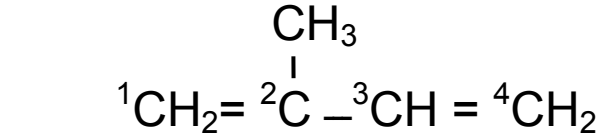
أشار دحية (2009) بأنّ الزيوت الأساسية عبارة عن خلائط معقدة، حيث تنحصر مكوناتها في نوعين هما: المركبات التربينية من جهة ومركبات عطرية من جهة أخرى.

I -3-1- المركبات التربينية:

وهي مركبات عديدة، توجد خاصة لدى النباتات، ولكن أيضا لدى الحيوانات و البكتيريا، وتنتج عن بلمرة وحدات الإيزوبرين، وهي المركبات التربينية الأكثر تطايرا، وتتميز بأنها أصغر الجزيئات العضوية التي تملك تنوع ضخم في تركيبها، حيث يتكون الإيزوبرين من 5 ذرات كربون مقسمة إلى قسمين كما هو موضح في الوثيقة (01).

القسم الأول: مكون من ثلاث ذرات كربون تسمى فيه ذرة الكربون رقم1: برأس الإيزوبرين

القسم الثاني:مكون من ذرتي كربون وتسمى فيه ذرة الكربون رقم 4: بالذيل (غالب ومحمد؛ 2008).



2-Methyl-3-butadiene(Isopréne)

الوثيقة (01): الصيغة الكيميائية للإيزوبرين (غالب و محمد؛ 2008).

وتقسم التربينات حسب عدد وحدات الإيزوبرين الداخلة في تركيبها، كما هو مصنف في الجدول(01).

الجدول(01): تقسيم التربينات حسب عدد وحدات الإيزوبرين الداخلة في تركيبها.

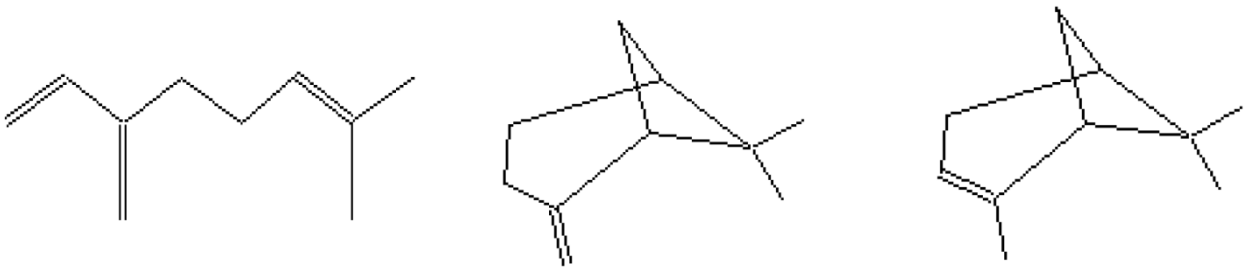
مثال	عدد وحدات الايزوبرين	عدد ذرات c	نوع التربين
Limonene	2	10	Monotérpenes
Artemisinin	3	15	Sesquitérpenes
Forskolin	4	20	Ditérpenes
α-amyrin	6	30	Tritérpenes
β-Carotene	8	40	Tétratérpenes
Rubbler	severol n>8	severol n<8	Polymeric Terpenoid

(بوديار؛2008)

I -1-1-3- التربينات الأحادية :

صيغتها المجملة $C_{10}H_{16}$ وهي نتاج تزاوج وحدتين من الايزوبرين مسؤولة عن الرائحة الزكية للنباتات والأزهار وتم التعرف على أكثر من ألف (1000) منها .يمكنها :

- أن تكون غير حلقية مثل (الميرسن *Myrcen*) الوثيقة (2)
- أو وحيدة الحلقة (الليمونين *limonène*).
- وقد تكون ثنائية الحلقة (البنين *Pinene*) الوثيقة (2) (دحية؛ 2009).

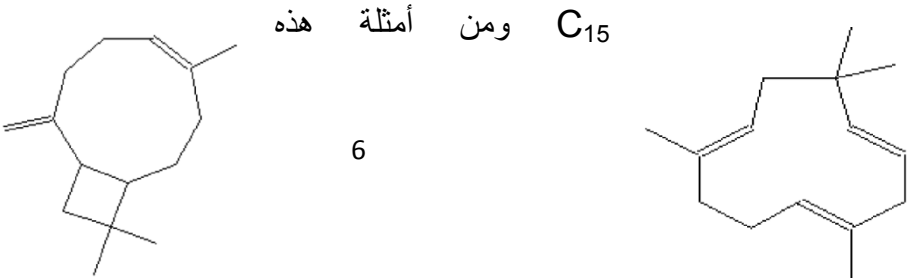


Myrcene ß-Pinene α-Pinene

الوثيقة (02): بنية بعض التربينات الأحادية. (دحية؛ 2009).

I-1-3-2- السيسكوتربينات Sesquitérpenes:

هي مركبات ناتجة من اندماج ثلاث وحدات من مركب الإيزوبرين وصيغتها الكيميائية $C_{15}H_{24}$ ومن أمثلة هذه المركبات



الفارنسين (*farnésene*) وهو مركب ألفاتي يوجد في زيت السترونيلا والزنجبرين (*zingiberéne*) وهو مركب حلقي ذو حلقة واحدة يوجد في زيت الجنزبيل الطيار والكادينين (*cadinene*) وهو مركب حلقي أيضا ذو حلقيتين يوجد في زيت الكاد الطيار وفي زيت حشيشة الليمون (قطب؛ 1981).

Caryophyllene α-Humulene

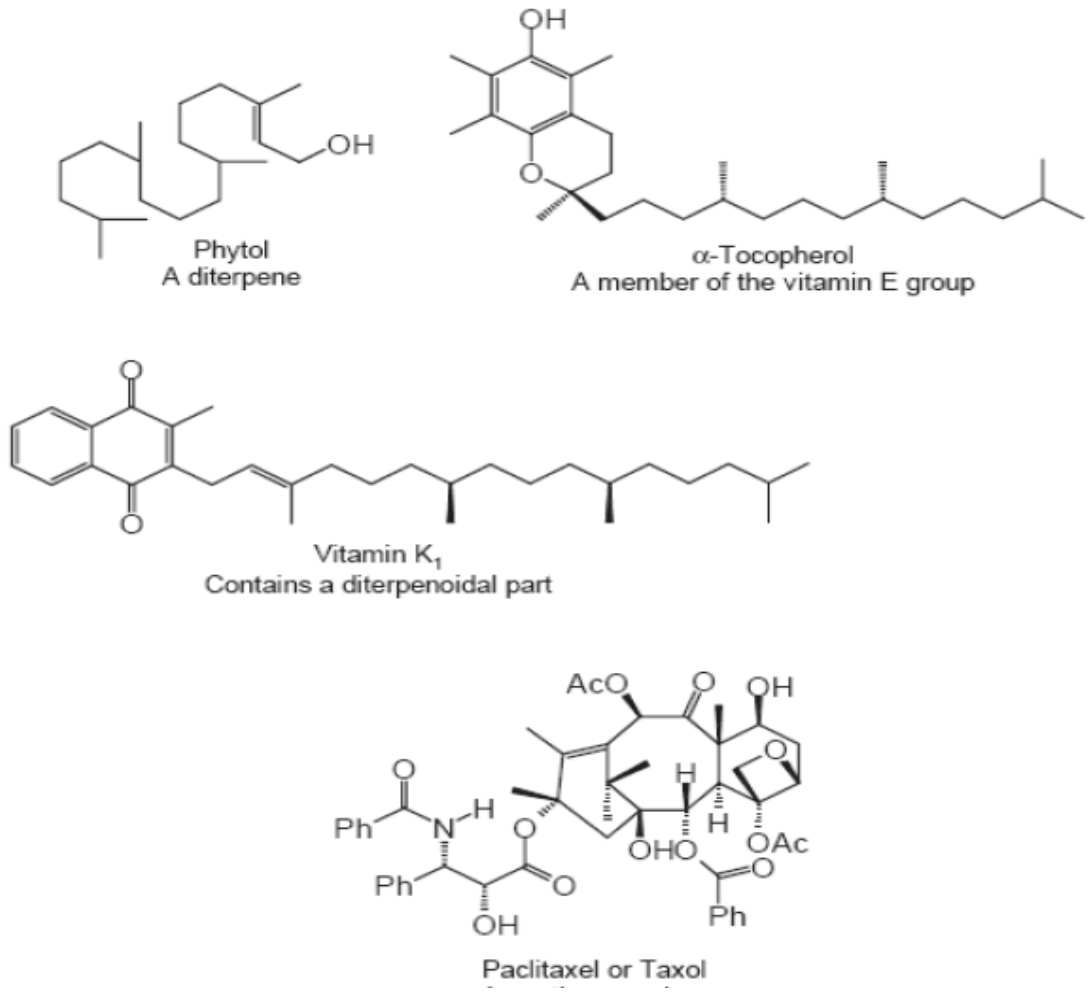
الوثيقة (03): بنية بعض السيسكوترينات (بن التهامي وأخرون؛ 2012).

I-3-1-3- التربينات الثنائية Ditérpenes :

تنتشر بصورة رئيسية في المملكة النباتية، وتختلف في تركيبها البنائي تبعا لإختلاف المصدر الطبيعي ومعظمها مواد صلبة.

تتكون التربينات الثنائية من 4 وحدات من الإيزوبرين وأهم المركبات التابعة لهذا القسم هما : حمض الجبرلين GA_3 الّذي يعد من الهرمونات البنائية، الفيتول Phytol : الذي يوجد عند أغلبية النباتات وهو لازم لتكوين جزيئة اليخضور، كما يدخل الفيتول في تشكيل كل من الفيتامين E و الفيتامينK .

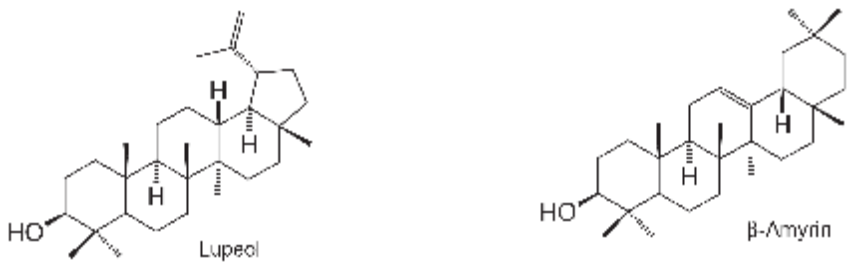
يحتوي الفيتامين A على 20 ذرة كربون وهو من أبرز الأمثلة عن التربينات الثنائية أحادية الحلقة تستعمل التربينات الثنائية في علاج بعض الأمراض ويعتبر مركب Paclitaxel الذي تم عزله من نبات (Tascaceae) *Tascus brevilia*، العقار الأول كمضاد للسرطان في الوقت الحالي كما هو موضح في الوثيقة (04) (بوديار؛ 2008).



الوثيقة (04): بنية بعض التربينات الثنائية (شويخ؛ 2004).

I -4-1-3- التربينات الثلاثية Tritérpene :

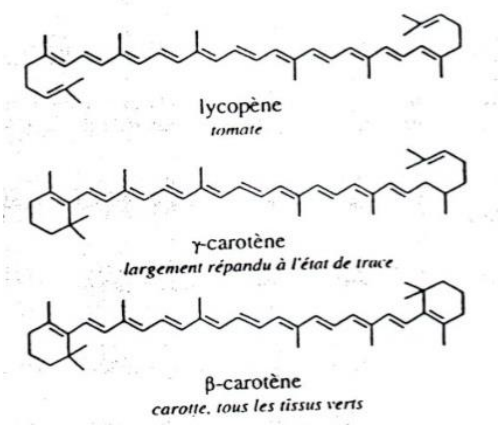
وهي مركبات ذات 30 ذرة كربون وتعتبر التربينات الثلاثية، خماسية الحلقة كمضادات طبيعية ضدّ الفطريات وتنتج هذه المركبات من تماكب 6 جزيئات Isopérene وتعطي خاصة مركبات stéroles وstéroides كما هي موضحة في الوثيقة (05) (شويخ؛ 2004)



الوثيقة (05): تركيب بعض التربينات الثلاثية (بن علي و بوسكاية ؛ 2011).

I -3-1-5- التربينات الرباعية:

تحتوي على العديد من المركبات الملونة بالأصفر، البرتقالي و الأحمر التي تلون العديد من الثمار والأزهار ومنها مجموعة الكاروتنيدات التي تلعب دور مهم في مسك الطاقة الشمسية في عملية التمثيل الضوئي، كما تلعب دور وقائي لنبات ضد الإشعاعات المضرة كالأشعة فوق البنفسجية ومن أمثلتها المركبات في الوثيقة (06) (شويخ؛2004).



الوثيقة (06): بنية بعض التربينات الرباعية (بن علي و بوسكاية؛ 2011).

I –3-2- المركبات الأكسوجينية:

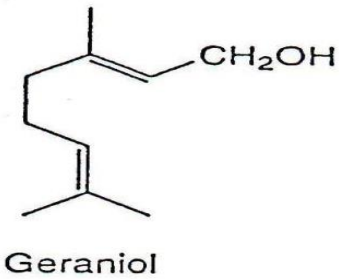
وهي التي تذوب بنسبة معينة في الماء، لذلك يعود لوجودها طعم الزيت المميز ورائحته، كما يعود لهذه المواد أيضا التأثير الطبي، وتواجدها يكون بمادة واحدة أو أكثر.

و يمكن تقسيمها تبعا لمجموعات الفعالة أو مشتقاتها الكيميائية كما يلي:

I –3-2-1- الكحولات:

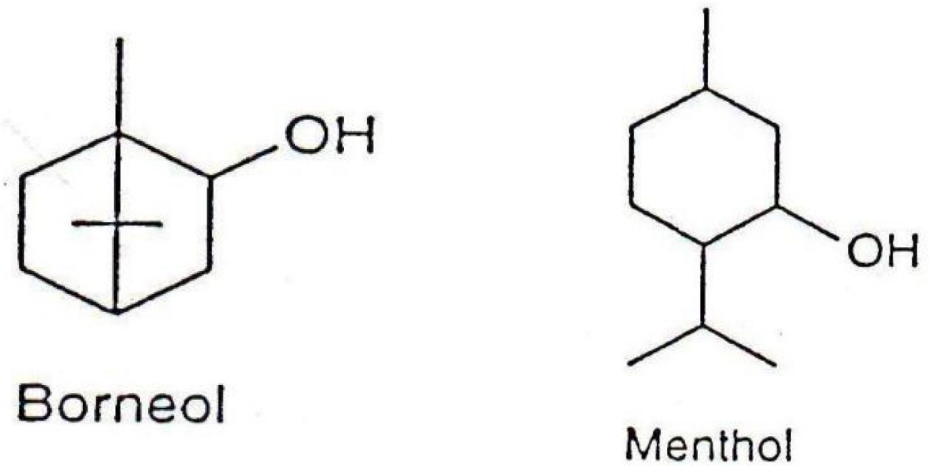
حسب طه (1981) تنقسم المشتقات الكحولية الموجودة في الزيوت الطيارة بالنسبة إلى تركيبها الكيميائي إلى:

I -3-2-2- الكحولات الاليفاتية: كما هو موضح في الوثيقة(07):



الوثيقة (07): مثال عن الكحولات الأليفاتية (شويخ؛ 2004).

I-3-2-3- الكحولات الحلقية: وكأمثلة على :



Borneol

Menthol

الوثيقة(08): أمثلة عن الكحولات الحلقية (شويخ؛ 2004).

I -3-2-4- الألدهيدات:

أشار شويخ (2004)إلى أن الألدهيدات هي مركبات تكون على شكل أليفاتي أو حلقي:

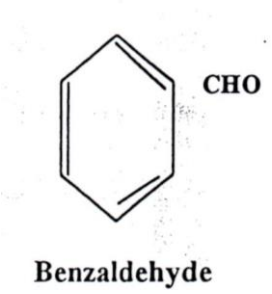
3-2-4-1- المركبات الأليفاتية: الوثيقة(09):

Cinnamaldehyde

Citral

الوثيقة (09):أمثلة عن الألدهيدات الأليفاتية (سلمان؛2008).

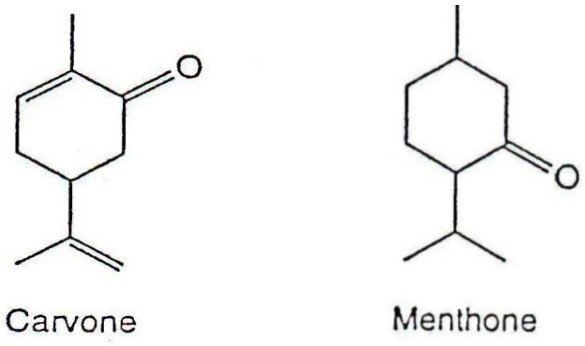
I-3-2-4-2- المركبات الحلقية :الوثيقة (10).



الوثيقة(10): مثال عن مركب الدهيدي حلقي(شويخ؛ 2004).

I -3-2-5- الكيتونات:

تتواجد الكيتونات في الزيوت الأساسية بكمية ضئيلة، ويمكن تقسيمها إلى: غير حلقية (Tagetone)، وحيدة الحلقة، ومن أمثلتها مركبات مثل(Carvone) و(Menthone) الوثيقة (11) (دحية؛ 2009).



الوثيقة (11): بعض أنواع الكيتونات الحلقية (قسمية؛ 2002).

أو ثنائية الحلقة (Thujone) و(Camphre)، كما تظهر هذه الأخيرة في الوثيقة (12) (دحيه؛2009).

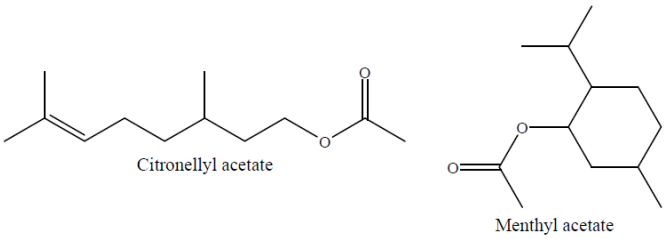
الوثيقة (12): بعض أنواع الكيتونات الحلقية (سلمان؛ 2008).

I -3-2-6- الأسترات:

حسب دحيه(2009) فإن الأسترات عبارة عن أملاح للأحماض العضوية وهي إما:

-غير حلقية ومن أمثلتها الشائعة(Acétate de citronellyle)،

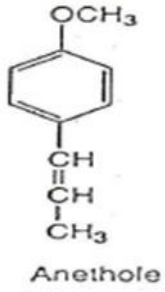
-وحيدة الحلقة ومن أمثلتها (acétate de citronellyle)، ثنائية الحلقة(Acétate d'isobornyle) مبينة في الوثيقة(13).



الوثيقة (13): بعض أنواع الأسترات (دحية؛ 2009).

I -3-2-7- الايثرات:

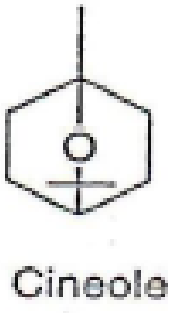
ومن أمثلتها مركب الأنيثول(Anthole) الوثيقة (14) الذي يوجد في زيت الينس. (بن التهامي وآخرون؛ 2012).



الوثيقة (14): تمثل بنية مركب الأنيثول (Anthole) (بن التهامي وآخرون؛ 2012).

I -3-2-8- الأوكسيدات:

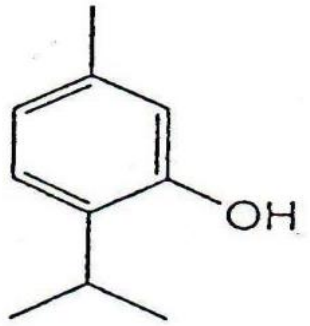
تتميز هذه المركبات بالطعم الحار والنكهة الكافورية كمركب السينول(Cineole) كما في الوثيقة(15) الموجودة في الزيت الأساسي لنبات الكافور والنعناع (نيد وهديبل؛2011).



الوثيقة(15): بنية مركب السينول (شويخ؛ 2004).

I -3-2-9- الفينولات:

عندما تتواجد المركبات الفينولية في الزيوت الطيارة يمكن استخدامها كمطهرات لها تأثير مخدر موضعي ومن المركبات الفينولية (Mebarki; 2001).



Thymol

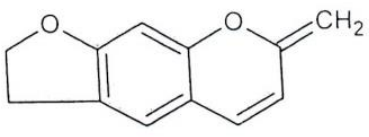
الوثيقة(16): بنية مركب Thymol (Mebarki ; 2001).

I -3-2-10- المواد الكبريتية:

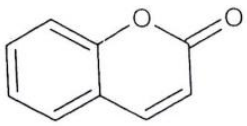
الزيوت الأساسية الناتجة من بعض النباتات العطرية تحتوي على عنصر الكبريت وهي معروفة بقدرتها الكبيرة على إبادة الميكروبات سواء كانت في صورة حرة، أو غير حرة، أهم هذه المواد أليل ايزوثيوسيانت (allyl isothiocyanate) الناتج من مركب الجليكوسيدي سيجري(Sinigrin) لبذور الخردل الأسود (نيد وهديبل ؛2011).

I -3-2-11- اللاكتونات:

ومن أمثلتها البرجنتن (bergapténe) الموجود في زيت البرجموت، والكومارين (coumarin) الموجود في زيت البقدونس (بن التهامي وآخرون؛ 2012).



البرجابتن (Bergamote)



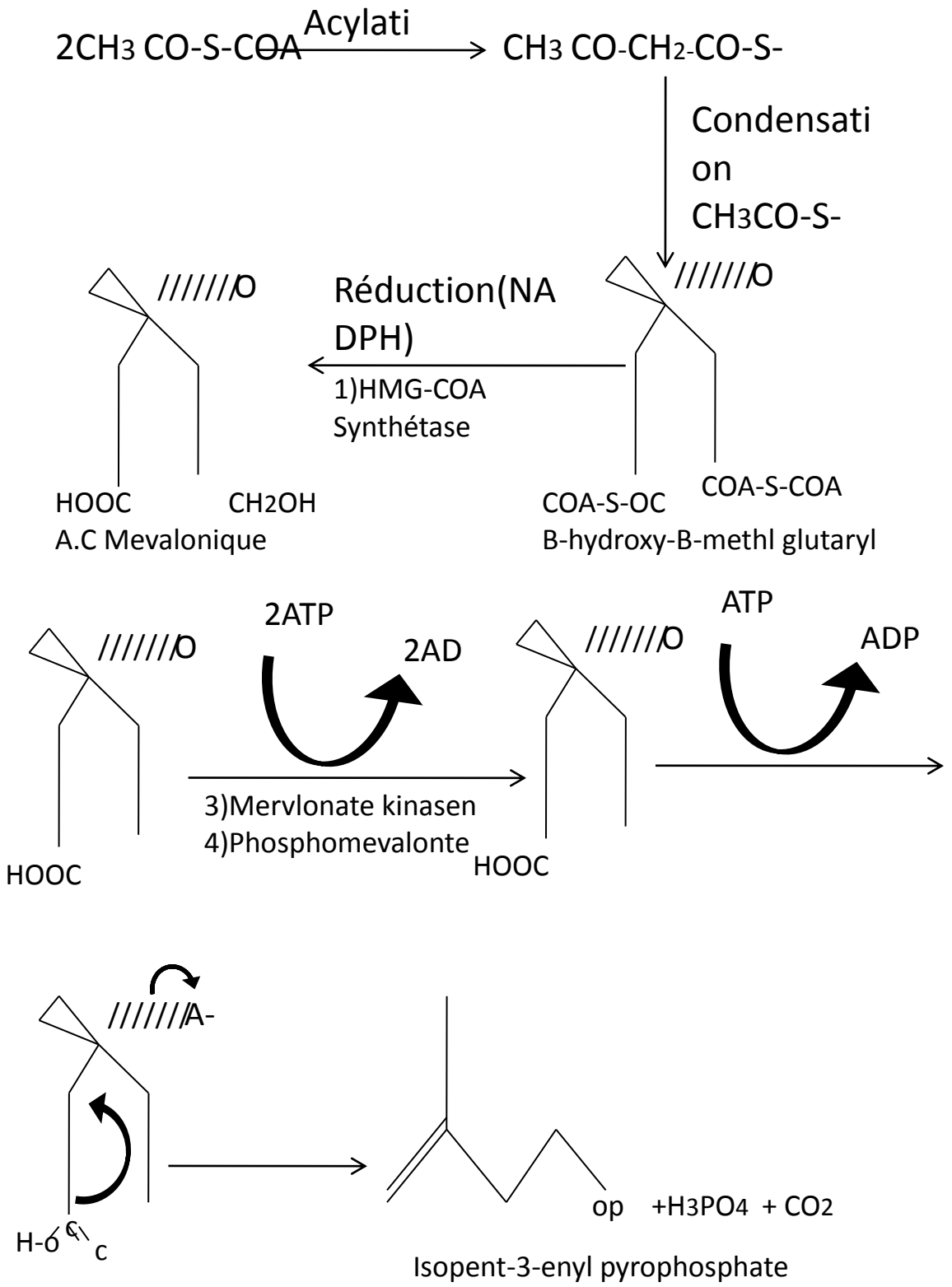
الكومارين(Coumarin)

الوثيقة (17): بنية بعض اللّاكتونات (بن التهامي وآخرون؛ 2012).

I-4- التصنيع الحيوي:

يبدأ بناء التربينات باستخدام وحدات Acetyl CoA الناتجة من هدم سكر الجلوكوز اثناء التنفس، حيث تتكون المادة الأساسية لبناء التربينات ليست الإزوبرين، ولكنها مادة مشابهة لها في البنية وهي:

Isopent -3-pyrophosphate التي تنشأ من استيل مرافق إنزيم (A) CH3 CO-S-CO الغني بالطاقة، اذ يتحول الى حمض ميفالونيك وذلك بتكاثفه مع أسيتو أستيل مرافق انزيم (A) ثم اختزال الناتج بواسطة NADPH وتستمر هذه الآلية بتحويل حمض الميفالونيك (6 ذرات كربون) المركب الأم في الإصطناع الحيوي للتربينات والسيترويدات إلى بيروفوسفات أيزبنتنيل 5 ذرات كربون (وذلك بالفسفرة ثم فقدان ثاني أكسيد الكربون من مجموعة الكربوكسيل مع رحيل الفوسفات) وآليات الإصطناع الحيوي للتربينات موضحة في الوثيقة (18):



الوثيقة (18): التصنيع الحيوي للتربينات (زعيتر؛2009).

I -5- الصفات الطبيعية للزيوت الطيارة:

I -5-1- الرائحة odeur :

تمتاز الزيوت الطيارة برائحة مميزة معظمها عطرية مقبولة ولكل زيت رائحته الخاصة والمميزة له (قطب؛ 1991).

I -5-2- اللون Couleur :

عموما الزيوت الطيارة عديمة اللون ولكن معظمها له لون أصفر فاتح جدا وبعضها به احمرار خفيف، هذا باعتبار أن الزيت طازج ولم يمر بعوامل التأكسد أو التحلل، ولم يتعرض إلى أي عوامل غير طبيعية أثناء عملية الاستخلاص مما يغير من لونه (قطب ؛1981).

I -5-3- التطاير Volatilisation :

الغالبية العظمى من الزيوت العطرية تتبخر أو تتطاير تماما تحت الظروف الطبيعية والعادية عدا القليل منها مثل : الزيت الليمون لاحتوائه على بعض المواد غير المتطايرة (نيد وهديبل؛ 2011).

I -5-4- الإذابة Solubilité :

حسب قطب (1981) جميع الزيوت العطرية لها قابلية الذوبان في معظم المذيبات العضوية مثل :الكحول والايثر، ولكنها لا تذوب في الماء، ولكن عند عملية التقطير يمتزج الزيت بالماء لدرجة تجعل الماء يكتسب طعم ورائحة الزيت الطيار.

I -5-5- الدوران الضوئي Rotation optique :

إن الزيوت العطرية تمتلك خاصية تدوير مستوى الضوء المستقطب وحرفه نحو اليمين أو اليسار، ومقدار حرف الضوء دليل على نقاوة الزيت (Bekhechi et Abdelouhid; 2010).

I -5-6- الكثافة النوعية Densité spécifique :

تختلف قيمة الكثافة النوعية للزيوت العطرية باختلاف مصادرها النباتية ، ويتراوح مداها ما بين0.8 و 1.17 (Bekhechi et Abdelouhid; 2010).

I -5-7- معامل الانكسار Indce de refraction:

تعرف الزيوت العطرية بمعامل انكسارها العالي (قطب؛1981).

I -6- فوائد واستعمالات الزيوت الاساسية.

I -6-1- فائدتها بالنسبة للنبات.

تلعب دور جاذب للحشرات بفضل الرائح المميزة لها و ذلك للقيام بعملية التلقيح او تقوم بدور طارد للحشرات و الحيوانات حفاظا على الانواع من الانقراض .

- تساعد على التئام الجروح النباتية بعد ذوبان الراتنج منها.
- التخلص من بعض نواتج العمليات الحيوية خارج الانسجة.
- كما ان لها دور هام في تنبيه و تنظيم نمو النباتات (الجبر؛ 2010) .

I -6-2- فائدتها بالنسبة للإنسان:

تستعمل الزّيوت الأساسيّة بشكل واسع في الحياة اليومية للإنسان و يستدل على ذلك من خلال الكميّة المستعملة منها سنويّا وهي : 30 ألف طن، هذا بالإضافة إلى تعدّد و تنوّع مجالات استخدامها (هيكل و عمر؛1993)

I -6-2-1- في المجال الغذائي :

تستعمل الزّيوت الأساسيّة و كذلك بعض النّباتات الحاوية عليه كتوابل و منكهات ومكسبات للطّعم و الرّائحة للعديد من أنواع الأغذية، كما يستغل البعض منها لتحسين نكهة الكثير من المشروبات،كما تستخدم كمواد حافظة و مانعة لعفونة الأغذيّة نظرا لامتلاكها لنشاطيّة هامة مضادة للأحياء الدقيقة(قسمية؛2008).

I -6-2-2- في المجال الصناعي :

وهو المجال الأكثر استهلاكا للزيوت الطيارة رغم كافتها الكبيرة، فتستعمل في تصنيع الروائح و العطور و الصابون ومختلف مستحضرات الزينة و التجميل (قسمية ؛2002).

I -6-2-3- في مجال الطب و الصيدلة:

يمكن تقسيم الزيوت الطيارة إلى زيوت ذات تأثير فسيولوجي و زيوت ذات تأثير نفسي.

I -6-2-3-1- التأثير الفيزيولوجي:

تستخدم الزيوت الأساسية بكثرة لغرض التداوي وذلك لامتلاكها لخصائص علاجية،حيث تستعمل في:

- علاج عسر الهضم و الإمساك مثل:زيت النعناع *Mentha* والريحان *Myrthus communis*
- مخدر لآلام الأسنان و اللّثة كزيت القرنفل
- كمطهرات و مضادات للفطريات و الطفيليات و البكتيريا مثل:زيت الزعتر *Thymus vulgaris*
- كمضاد للإلتهاب الصدرية مثل:زيت البصل وزيت النّعناع(بن عشورة؛2007).

I -6-2-3-2- التأثير النفسي :

وجد أن المعظم الزيوت العطرية خواص منشطة ومخملة في نفس الوقت فمثلا:

زيت النّعناع: منوم قوي إذا اخذ بجرعات كبيرة، ومنشط إذا اخذ بجرعات صغيرة.

وهناك دراسات حديثة أثبتت إمكانية استخدام الزيوت العطرية كعقاقير علاجية بنفس الفعالية التي تحدثها المهدئات و ذلك بتدليكها على الجلد أو برشها في الجّو فتحدث تأثيرا كبيرا بسبب رائحتها العطرية الجميلة (بن عشورة؛2007).

I -7- طرق استخلاص الزيوت الطيارة :

توجد عدّة طرق لاستخلاص الزيوت الأساسية من النباتات التي تحتويها وترجع هذه الطرق لعدة عوامل:

- التركيب الكيميائي للزيت الطيار، فعند استخلاص الزيت من النبات يجب إختيار الطريقة التي تضمن الحصول عليه بحالته الطبيعية، دون حدوث أي تحلّل أو تغير في صفاته الكيميائية وبالتالي لا تتغير رائحته أو طعمه .
- الجزء من النبات الذي يحتوي على الزيت الطيار، ومكان وجود خلايا الزيت به، ومدى حساسيته وسمك جدران هذه الخلايا، فطريقة استخلاص الزيت من بتلات الأزهار تختلف عن طريقة استخلاصه من الثمار، أو الأوراق أو الجذور .
- كمّية الزيت الطيار الموجود في النبات تحدّد الطريقة التي يتم استخلاصه بها، فإذا كانت نسبة الزيت ضئيلة يجب استخلاصه بطريقة المذيبات، حتى لا تفقد هذه الكمية إذا ما استخدمت طريقة التقطير بالماء أو البخار .
- يجب مراعاة العامل الاقتصادي في طريقة الاستخلاص، وخصوصا على المستوى التجاري إذ يجب الحصول على كمية الزيت الموجودة في النبات بأكملها، وبأقل تكاليف ممكنة.
- كما توجد عوامل أخرى نذكر منها وقت جمع محصول النباتات، وطرق معاملتها وإعدادها قبل عملية الإستخلاص (حجاوي وآخرون؛2004).

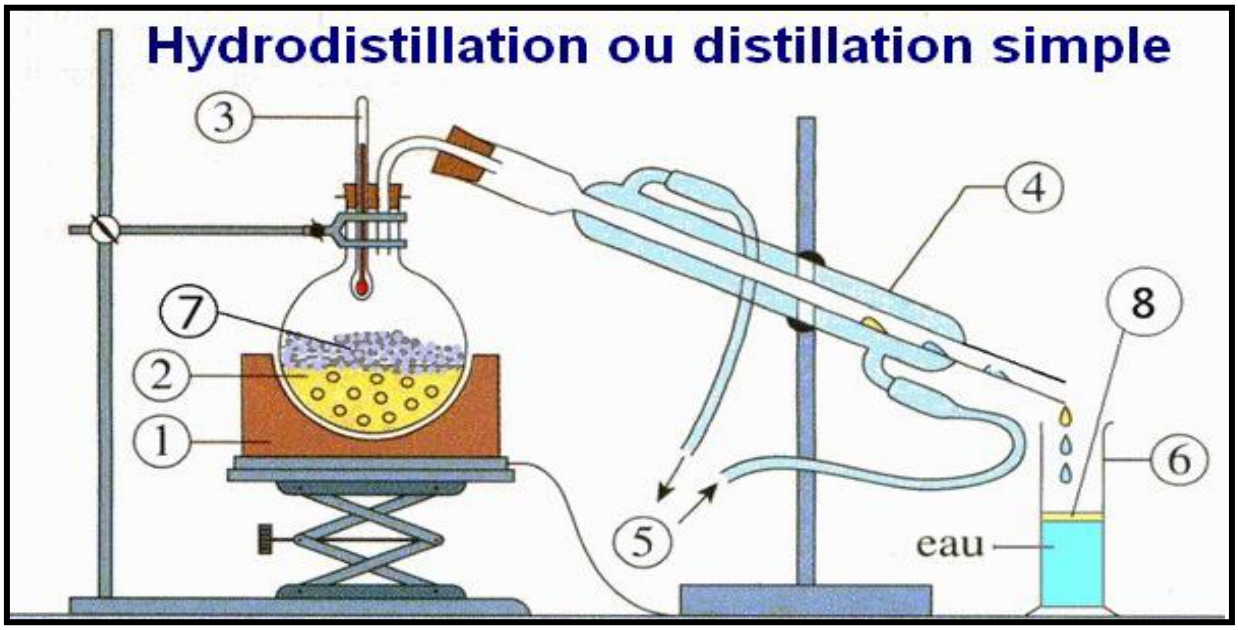
ومن الطرق المستعملة في إستخلاص الزيوت الطيارة:

I -7-1- التقطيرDistillation: حسب Hellal (2011) توجد ثلاثة طرق مختلفة تستخدم فيها خاصية التقطير: التقطير بالماء hydrodistillation ، التقطير بالبخار فقط hydrodiffusion والتقطير بالبخار في وجود الماء L'entrainemement à la vapeur d'eau .

I -7-1-1- التقطير بالماء Hydrodistillation :

هي أقدم الطرق التي تستعمل في استخلاص الزيوت الطيارة، تستخدم للنبات الجاف الذي يحوي على نسبة عالية من الزيوت الطيارة، حيث تغمر المادة النباتية في الأنبيق Alamic المملوء

بالماء، توضع على مصدر حراري، وترفع درجة الحرارة حتى الغليان، فيحمل البخار الزيت معه ويتكثف في مكثفات خاصة ويفصل الزيت عن الماء لاختلاف الكثافة وتوضح الوثيقة (19) مبدأ عمل الجهاز وعيوب هذه الطريقة أنها تحتاج لوقت طويل وتعرض الزيت العطري للماء لفترة طويلة يغير من تركيبه الكيميائي وخصائصه كاللون والرائحة (بن عشورة؛ 2007).



1- مسخن الحوجلة Chauffe ballon

2- حوجلة Ballon

3- مقياس الحرارة Thermomètre

4- مبرد Réfrigérant

5- دخول وخروج الماءEntreé et sortie d'eau

6-Erlnmeyer

7- المادة النباتية matiére à extraire l'essence

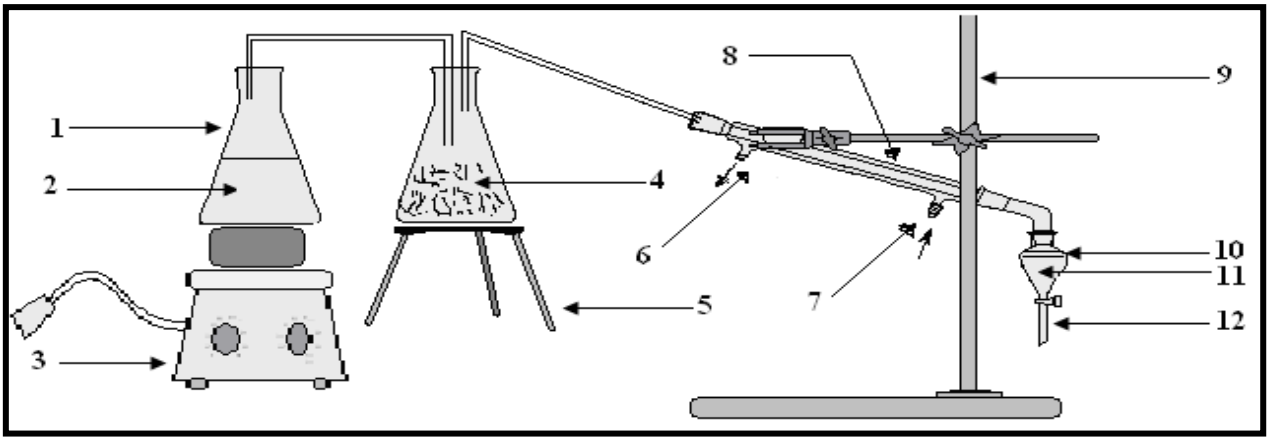
8- طبقة الزيت الطيّار La couch d'HE

الوثيقة(19): تمثّل جهاز التقطير بالماء (Hellal ;2011).

I-7-1-2- التقطير بالبخار في وجود الماء:

تستعمل في حالة النباتات المجففة أو الطازجة والتي تتأثر بالغليان المباشر في وجود الماء (هيكل وعمر؛ 1993)، وهي تختلف عن طريقة التقطير بالماء بوجود مصدر منفصل يجهز فيه بخار الماء، ثم يمرر هذا الأخير عن طريق أنابيب إلى الوعاء الذي يحتوي على المادة النباتية التي يغمرها

الماء، فيتبخر الزيت مع الماء ثم يكثفا ويجمعا في وعاء آخر مشكلان طبقتين "ماء + الزيت الطيّار" ، وتمتاز هذه الطريقة عن طريقة التقطير بالماء في عدم وجود تلامس مباشر بين المادة النباتية و اللهب المستخدم في تسخينها، مما يقلل من تعرض الزيوت المستخلصة لدرجة الحرارة المرتفعة التي تسبب تلفها الوثيقة (20) (بن عشورة؛ 2007).



1- الحوجلة 2- الماء

3- سخان 4- المادة النباتية

5- حامل الوعاء 6- خروج الماء

7- دخول الماء 8- المبرد

9- حامل المبرد 10-الزيت الطيار

11-الماء العطري 12- حبابة الاستنزال

الوثيقة(20): جهاز التقطير بالبخار في وجود الماء (Hameurlaine ;2009).

I -7-1-3- التقطير بالبخار فقط Hydrodiffusion :

وهي تقنية حديثة لا يوجد هناك ما يدعو إلى غمر المادة النباتية بالماء، ووجود نسبة من الرطوبة أو البخار عامل هام لإلتمام عملية التقطير، حيث يمر تيار من البخار بضغط منخفض و يتخلل المادة النباتية(bekakra et bousbia ; 2011)، ويستخلص الزيت الأساسي منها، وايجابيات هذه الطريقة أنها أسرع من باقي الطرق، وأقل خطورة على المركبات العطرية الناتجة (قسمية؛2002).

I -7-2- الاستخلاص بالمذيبات العضوية:

تستعمل هذه الطريقة في استخلاص الزيوت الحساسة التي تتأثر بالحرارة (قسمية؛2002)، أو تلك التي توجد في أجزاء النبات بكمية جدا ضئيلة، وكذلك في استخلاص بعض الزيوت التي لها كثافة مقاربة للماء، وتعتمد أساسا على التماس بين المادة النباتية والمذيب العضوي باستخدام جهاز خاص (Soxhlet).وتنقسم حسب بن عشورة (2007) على أساس نوعية المذيب إلى:

I -7-2-1- الاستخلاص بالمذيبات العضوية الطيارة:

تتم هذه الطريقة بإضافة المذيب العضوي إلى النبات المراد استخلاصه و الموضوع في شكل طبقات رقيقة تسمح بنفاذ المذيب إلى الخلايا المحتوية على الزيت، ثم تتم بعدها عملية استرجاع المذيب و فصله عن الزيت (هيكل وعمر؛ 1993)، ويعاب على هذه الطريقة كون أن المذيب لا يقتصر على استخلاص الزيت الأساسي، بل يتعداه إلى إذابة واستخلاص مواد أخرى كالزيوت الثابتة و الفسفوليبيدات و الشموع والصبغيات وغيرها من المواد يتطلب إجراء عملية تنقية أخرى للزيت، كما أن هذه الطريقة تستخدم بحذر نظرا لسمية بعض المذيبات (Bruneton ;1999).

I -7-2-2- الا ستخلاص بالمذيبات العضوية غير طيارة (الثابتة):

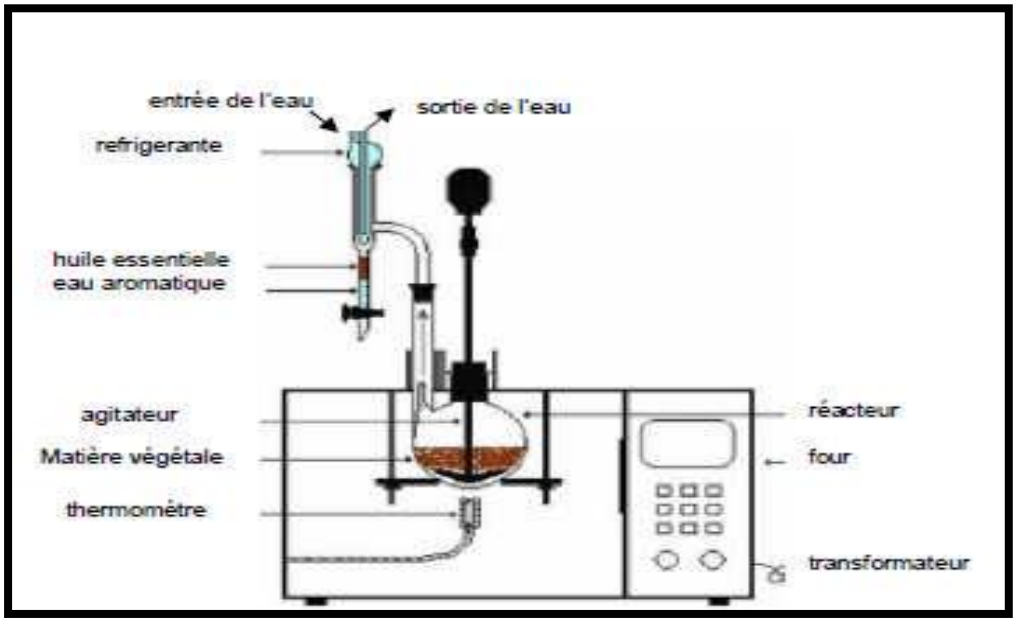
الاستخلاص بالمذيبات العضوية غير طيارة عملية مكلفة وهو ما يسمى بطريقة المراثة (enfleurage)، ويعتمد على استعمال شحوم أو دهون حيوانية أو زيوت نباتية، ويستخدم مع الزيوت الحساسة غالية الثمن وذلك بالاعتماد على ذوبانها في هذه الدهون أو الشحوم، (قسمية؛ 2002)، حيث انه بعد تمام الاستخلاص تشبع هذه الأخيرة بالزيت الأساسي و تعالج بالكحول النقي الذي يستخلص الزيت فقط تاركا الشحوم على حالها، ثم في الأخير يبخر الكحول للحصول على الزيت نقيا (Hellal ; 2011).

I -7-3- الاستخلاص بالضغط على البارد Extraction à froid:

تستخدم بشكل خاص في استخلاص الزيوت الأساسية من قشور ثمار الحمضيات، و ذلك لأن طبيعة هذه الزيوت وتركيبها الكيميائي لا يسمحان باستخلاصها بعملية التقطير لتأثرها بالحرارة، كما أن الزيوت في هذه الثمار تتواجد في غدد زيتية في الطبقة السطحية لقشرة الثمرة، فبعد أن تنتزع القشور من هذه الثمار تغمر في الماء حتى تصبح رخوة نسبيا ويسهل استخراج الزيت منها وذلك بالضغط إما يدويا أو آليا (هيكل وعمر؛ 1993).

I – 7-4- الاستخلاص بواسطة الامواج الدقيقة Extraction par micro –ondes:

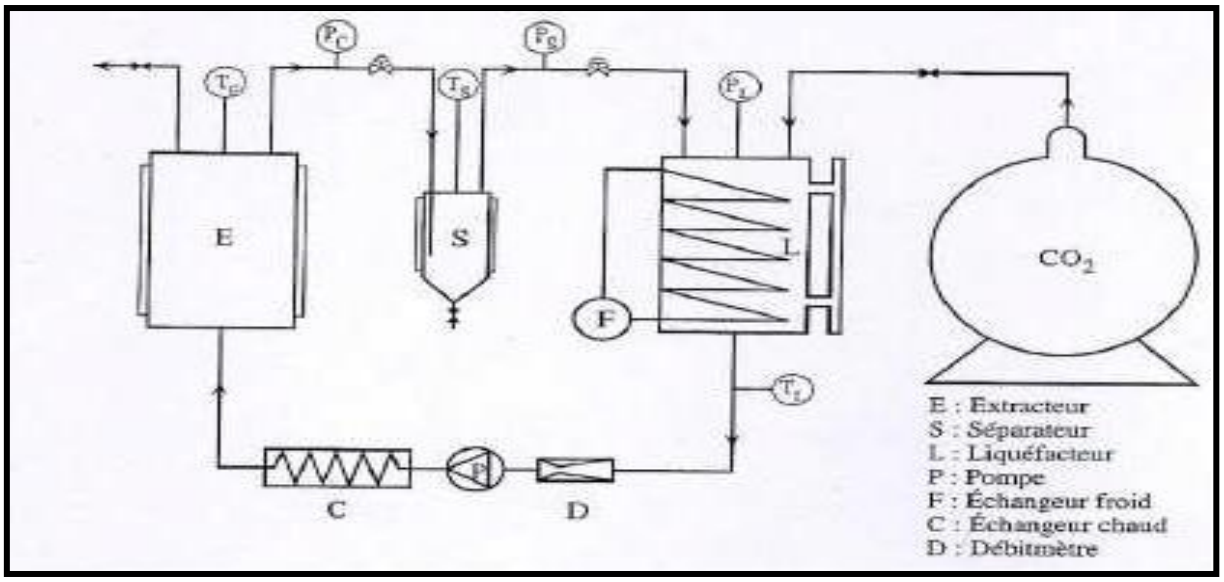
وهي من أحدث الطرق، وفيها تسخن النبتة بواسطة اشعة Micro –ondes، يسحب الزيت الأساسي داخل المزيج المشكل من بخار الماء الصافي الناتج من النبتة المدروسة، ومن ايجابيات هذه الطريقة أنها جد سريعة وذات استهلاك ضئيل للطاقة، وتكون مردودية الزيت عالية والجهاز يوضح طريقة العمل الوثيقة (21) (Hemwimonet et *al* ; 2007).



الوثيقة (21): مبدأ عمل جهاز micro- onde (Belkhiri; 2009).

I -5-7- الاستخلاص بواسطة CO2 السائلي Extraction par fluide super – critique:

وهي تعتمد على سحب الزيوت الأساسية المتواجدة في المادة النباتية بواسطة الغازات وذلك لسهولة انتشارها داخل المواد الصلبة في درجة حرارة وضغط حرجين (31.3 درجة مئوية، 72.9 ضغط جوي) يتسرب الغاز إلى المادة النباتية ويتشبع بالزيت، ثم يتم فصل الزيت، لكن كلفة هذه الطريقة العالية ولا تجعلها في متناول غالبية الناس يتميز الزيت المتحصل عليه بعدم احتوائه على الرواسب السامة للمذيبات العضوية وعدم فقدانه المركبات الأصلية للنبات وجودته الطبيعية والكيميائية وارتفاع نكهته ورائحته الزكية (ابو زيد؛ 2002). والجهاز يوضح مبدأ العمل :



الوثيقة (22): مبدأ عمل جهاز CO2 السائلي(Bekakra et Bousbia ; 2011).

الفصل الثاني :
مفاهيم عامة حول البكتيريا

II - مدخل:

تشكّل البكتيريا مجموعة الكائنات بدائية النّوى، تعامل معها الإنسان دون أن يراها فقد عرف أنّها تسبب المرض وأُستعمل بعضها في عمليّات التخمّر المختلفة .

ولقد كان للكشف المجهري الأثر في التّعرف عليها، أوّل من اكتشف وجود البكتيريا العالم الكيميائي الفرنسي (باستورPasteur) من خلال تجاربه على التخمّر واكتشف أيضا طعومها وارتبط اسمه بعمليّة البسترة لقتل الكائنات الحيّة المجهريّة التي يمكن أن توجد بالسّوائل و خاصّة الحليب، أما العالم الألماني روبرت كوخ فقد أسهم في اكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض وهو أوّل من عمل مزارع نقيّة للبكتيريا .

ولقد إرتبط إسم البكتيريا كثيرا بالأمراض التي تسببّها للإنسان، ولكن الاكتشافات الحديثة و التّقدم السّريع الذي حدث في العلوم التطبيقيّة أظهرت أنّ البكتيريا تلعب دورا هامّا في كثير من الصّناعات الغذائيّة والدّوائية والتخلص من المواد العضويّة وغير العضويّة وكذلك معالجة المياه العادمة والمعالجة الحيويّة لمخلّفات المزارع واستخدامها في إنتاج الطّاقة وغاز الميثان(عابد؛ 2009).

II – 1- نبذة تاريخيّة عن البكتيريا :

تميل بعض الأبحاث العلمية إلى الاعتقاد بأنّ البكتيريا- أو بعض صورها – تمثّل أول صورة للحياة ظهرت على سطح الأرض، فأقدم الحفريات المعروفة، كانت لبكتيريا عاشت وتكاثرت على ظهر الأرض، منذ أمد بعيد قد يصل إلى 5.3 ألف مليون عام.

وكان أوّل من وصف البكتيريا، هو العالم الألماني أنتوني فان لوفينهوك Antoni Van Lee wenhoek، وذلك عقب تطويره لجهاز مبسّط من العدسات يشبه المجهر، وقد اعتقد العلماء في بداية الأمر، أنّ البكتيريا إن هي إلاّ ناتج مواد غير حيّة إلى أن اثبت العالم الفرنسي لويس باستور Louis Pasteur ، في نهاية القرن الثامن عشر، أن البكتيريا كائن حي، وان الكائن الحي لا يتولد إلا من كائن حي آخر.

ثم توالت بعد ذلك مجموعة من الأبحاث والأعمال العظيمة الناجحة التي قام بها كل من لويس باستر والعالم الألماني روبرت كوخ اللذين يعزى إليهما الفضل في إنشاء علم دراسة البكتيريا في العصر الحديث (عابد؛ 2009).

II -2- تعريف البكتيريا:

البكتيريا كائنات دقيقة لا ترى إلا بالمجهر الالكتروني ($X\ 10^6$) أو بالمجهر الضوئي ($X\ 10^3$)، توجد البكتيريا في كل مكان، في التربة و في الهواء وفي الماء، وعلى جسم الإنسان، وداخل قناته الهضمية، وجهازه التنفسي(مصطفى وآخرون؛ 1979).

II – 3- خصائص البكتيريا :

1- البكتيريا كائنات دقيقة مجهرية بدائية النوى .

2-البكتيريا كائنات دقيقة الحجم يتراوح حجمها بين 03- 2 ميكرون.

3- تتميز البكتيريا ببساطة التركيب: إذ تتركب من جدار وغشاء خلويين يحيطان بالسيتوبلازم الذي كروموزوما حلقيا واحدا ADN ولا يحتوي على بروتين الهيستون وقد يحتوي على واحد أو أكثر من جزيئات ADN على شكل دوائر صغيرة تسمى البلازميدات وتتكاثر بصورة مستقلة عن الكروموزوم والريبوزومات وبعض الأجسام التخزينية .

4-تحتوي الخلية البكتيرية على غلاف قاس، متماسك، متمم للبكتيريا، وهو المسؤول عن حماية شكل الخلية من الإضطرابات الناتجة عن تأثير الضغط الخارجي كالأجسام الغريبة، وهناك أنواع أخرى تحتوي على حافظة خاريجيّة حول غلاف يدعى Capsule.

5-درجة الحرارة المناسبة لنمو البكتيريا تتراوح بين °37 م-°45 م بحيث يمكنها التكاثر خلال مدة وجيزة إلى أعداد كثيرة (عابد؛ 2009).

II -4- تصنيف البكتيريا :

صنّف العلماء البكتيريا على إعتبار عدّة معايير :

II -4-1- من حيث أسواطها :

II -4-1- 1- وحيدة السّوط : وفيها يخرج سوط واحد من قطبيّ الخلية .

II -4-1- 2- سوطيّة الطّرف : وفيها تخرج حزمة سوطية من قطب واحد .

II -4-1- 3- سوطيّة الطّرفين : وفيها يخرج سوط واحد أو حزمة من كل قطب من قطبي الخلية البكتيرية .

II -4-1-4- محيطيّة الاسواط: وفيها تنتشر الأسواط حول جميع سطح الخلية البكتيرية (مصطفى وآخرون؛ 1979).

II -4-2 - من حيث الشّكل :

II -4-2-1- *بكتيريا عصويّة (Bacilli):التي تأخذ خلاياها شكل العصويات الصغيرة تحت المجهر.*

II -4-2-2- بكتيريا كروية (*Cocci*) : التي تأخذ خلاياها شكل الكريات الصغيرة .

II -4-2-3- بكتيريا حلزونية (*Spiral*) : التي تأخذ الشكل الحلزوني .

II -4-2-4- بكتيريا واوية *(Vibrio)* :التي تأخذ شكل الواو أو الضمّة العربيّة (عابد؛ 2009).

II -4-3- من حيث الوسط الذي تعيش فيه :

فيمكن تقسيمها إلي ثلاثة أنواع :

II -4-3- 1- بكتيريا هوائية إجباريّة Aerobie strict : وهي البكتيريا التي لا تستطيع النمو إلا في وجود الأوكسجين، وهي تعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية.

II -4-3- 2- بكتيريا لاهوائية إجباريّة Anaerobie strict: وهي البكتيريا التي لا تستطيع النمو إلا في غياب الأوكسجين.

II -4-3- 3- بكتيريا لا هوائية اختيارية Anaerobie facultative: وهي البكتيريا التي تستطيع النمو سواء أكان الأوكسجين موجودا أو غير موجود (مصطفى وأخرون؛ 1979).

II -4-4- من حيث التّغذية :

فيمكن تقسيمها إلى نوعين :

II -4-4-1- بكتيريا ذاتية التّغذية : هي البكتيريا التي تستهلك الكربون أو تقوم بعملية التركيب الضوئي للنمو و التكاثر.

II -4-4-2- بكتيريا عضوية التّغذية : هي البكتيريا التي تحصل على الكربون من تحليل المواد العضوية كالسكر (عابد؛ 2009).

II -4-5- من حيث طريقة التّلوين (حسب نوع جدار الخلية البكتيرية):

يوضح الإختلاف في تركيب جدار الخلية بالتلوين، حسب تقنية غرام (GRAM) نسبة للعالم J.GRAM المكتشفة سنة 1884، و استنبط نوعين من خلال هذه الطريقة :

II -4-5-1- بكتيريا غرام موجب G^+ (gram positive): عند تلوينها تمتص اللون وتظهر أرجوانية.

II -4-5-2- بكتيريا غرام سالب G^- (gram négative): تحرر صبغ وتظهر حمراء (عابد؛ 2009).

II -4-6- من حيث طرق التّكاثر:

II- 4 -6-1- الإنشطار الثنائي

II-4 -6-2- تكوين الابواغ الداخلية : مثل *Clotridium،bacillus*

II-4 -6-3- - تكوين ابواغ كونيدية : مثل *Streptomycetaceae* (مصطفى وآخرون؛ 1979).

II -4-7- من حيث الأثر على الكائنات الحية :

يمكن تقسيمها إلى ثلاثة أنواع:

II -4-7-1- بكتيريا نافعة :

وهي التي تقدّم خدمات مفيدة للإنسان والحيوان والبيئة، فهناك نوع من البكتيريا يعيش في أمعاء الإنسان، يساعده على هضم الطعام، ويفرز بعض المواد المفيدة للجسم، مثل: الفيتامينات، ويعمل على تدمير البكتيريا الضارّة.

و هناك نوع آخر من البكتيريا يعيش في التّربة، ويلعب دورا هامّا في غذاء النّبات، إذ يقوم بتثبيت النّيتروجين الموجود في الهواء الجوّي، ليكون بمثابة عنصر أولي، يستطيع من خلاله النّبات تثبيت الآزوت مثل : *Azotobacter* و*Pasteurisnum* ، كما أنّه هناك بكتيريا في التّربة تعمل على تحليل أجسام الكائنات الحيّة بعد موتها، وكذا المواد العضويّة المعقّدة، وتحويلها إلى صور بسيطة، تستفيد منها التربة والنّبات والحيوان، ولا يقتصر الأمر على ذلك فحسب، بل إنّ هناك صناعات كاملة تقوم على استخدام بعض أنواع البكتيريا النافعة، فصناعة بعض منتجات الألبان مثل: الجبن السّويسري تستغل فيها الطّاقة الإنزيمية لبعض أنواع جنس *propionibacterium*، وصناعة بعض الأدوية ما هي إلاّ ناتج عمل البكتيريا النّافعة.

وحديثا تمكّن العلماء من إستخدام البكتيريا في معالجة مياه الصّرف الصحي، حماية للبيئة من التلوث، ويطلق على كل هذه الأنواع البكتيرية إسم البكتيريا النّافعة (Beneficial bacterie) (عابد؛2009) (مصطفى وآخرون؛1979).

II -4-7-2- البكتيريا الإنتهازية :

هناك أنواع من البكتيريا تعيش في جسم الإنسان من دون أن تسبّب له أضرار صحيّة إلا أنّها تؤدي إلى إنخفاض مناعة جسم الإنسان لأيّ سبب من الأسباب، تهاجم الجسم متحوّلة إلى بكتيريا ضارّة تسبّب عديدا، من الأمراض، وذلك على نحو ما هو شائع في الإصابة بإلتهاب الحلق أو اللّوزتين، ويطلق على هذه البكتيريا اسم البكتيريا الانتهازيّة (opportuniste bactérie) (عابد؛ 2009).

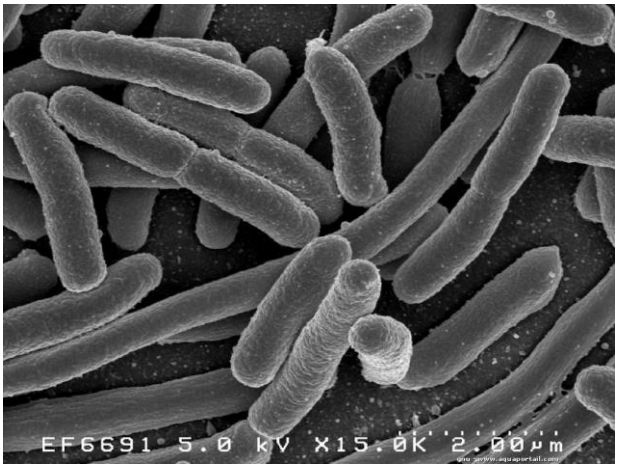
II -4-7-3- البكتيريا الممرضة:

ويطلق على هذا النوع من البكتيريا اسم البكتيريا الممرضة (Pathogenie Bacteria)، وهي بكتيريا تهاجم الكائنات الحيّة، فتسبّب له أمراضا ومشاكل صحيّة عديدة، وذلك على نحو ما يتسبّب في أمراض : السّل والكوليرا، والتّيفوئيد، والسّعال الديكي، والزّهري والسّيلان (عابد؛ 2009) ، ومن بين البكتيريا الضارّة والمسبّبة للأمراض ما يلي :

II -4-7-3-1- *Escherichia coli* :

وهي بكتيريا سالبة الغرام تكون متحرّكة على شكل عصيّات (عابد؛ 2009) هي أكثر أنواع البكتيريا اللاّهوائية الإختيارية وجودا في الجهاز الهضمي للإنسان والحيوان (Kechkar; 2005)، كما توجد في النّبات والتّربة مسبّبة للأمراض، من بين هذه الأمراض:

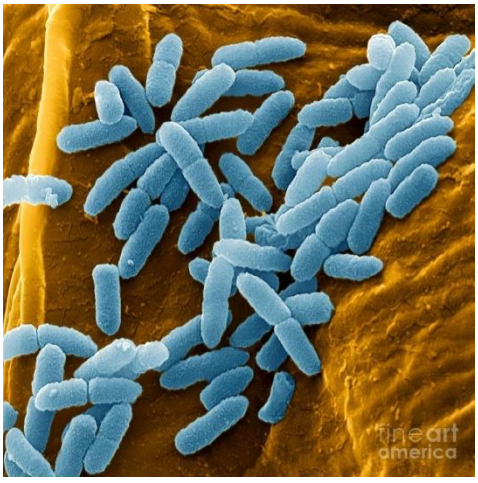
أمراض الجهاز البولي، الإسهال الطفيلي، التهاب السّحايا وتسمّم الدّم (عابد؛2009).



الوثيقة (23): بكتيريا *Escherichia coli* (.http://www.aquaportail.com).

II -4-7-3-2- *Pseudomonas aeruginosa* :

بكتيريا سالبة الغرام، متحرّكة بواسطة أهداب قطبيّة، عصويّة الشّكل هوائية إجباريّة، يمكنها العيش في درجة تتراوح ما بين 41c° و43c° تتواجد عموما في الماء و التربة، تحلل المادّة العضويّة كمصدر للطّاقة والكربون، مقاومة للعديد من المضادات الحيويّة والمطهّرات ممّا يفسّر نموّها وتكاثرها في الأوساط الإستشفائية، وتكون ممرضة للجهاز المناعي للجسم (Benzeggouta; 2005).



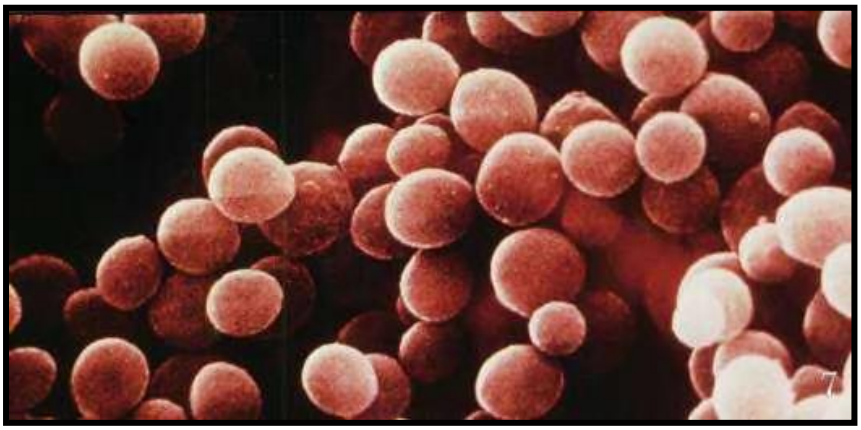
الوثيقة (24): بكتيريا*Pseudomonas aeruginosa*

.(http://images.fineartamerica.com.)

II -4-7-3-3- *Staphylococcus aureus* :

هي بكتيريا موجبة الغرام، كروية الشكل، عديمة الحركة، هوائية أو لا هوائية اختيارية (Benzeggouta; 2005) تكوّن عناقيد على شكل أكوام، تتواجد لدى الإنسان و الحيوان في الجلد والأمعاء والجهاز التناسلي و الجهاز التنفسي .

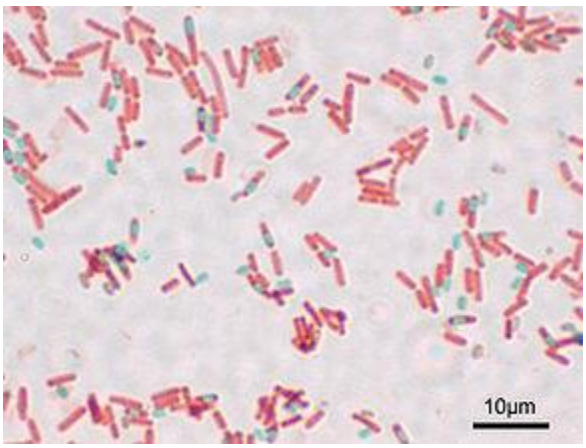
تتسبّب في تشكّل الصّديد وتسمّم الغذاء، كما يسبّب هذا النّوع من البكتيريا بالعديد من الإلتهابات التي تسهّل إنتشارها في الأماكن المزدحمة (Kechkar; 2000).



الوثيقة (25): بكتيريا *Staphylococcus aureus* (http://vaccinenewsdaily.com).

II -4--3-7-4- *Bacillus subtilis* :

بكتيريا موجبة الغرام، وهي بكتيريا هوائية (Marchadiere ; 2009)، متجمعة في سلاسل، تعيش مترممة على العضويات البالية، في درجة حرارة تتراوح بين°5 و°65، و في الشّروط غير الملائمة لحياتها تكوّن أبواغ بعضها ممرض للحشرات(Anonyme ; 2003).



الوثيقة (26): بكتيريا *Bacillus subtilis* (http:// vaccinenewsdaily.com).

II -5- نشاطية الزيوت الأساسية المضادة للأحياء الدقيقة:

أكتشف فعل الزّيوت الأساسيّة المضادّة للأحياء الدّقيقة انطلاقا من التّجارب الأولى لKoch (1881) وأعمال Chamber land (1887) لكنّ الاهتمام بهذه الخاصّية الهامّة للزّيوت الأساسيّة تواصل بعد ذلك بشكل مكثّف وهو مستمر إلى يومنا هذا، كما تنوّعت البحوث المجراة في هذا الميدان لإختبارنشاطيّة الزّيوت الأساسيّة على البكتيريا والفطريات الممرضة للإنسان.

من بين البحوث العديدة التي تناولت الفعل ضد مكروبي للزّيوت الأساسيّة، دراسة Janssen وآخرون (1986) التي إختبر فيها التّأثير التثبيطي لـ 53 زيتا أساسيّا على أربع أنواع بكتيرية هي *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginos*، *Staphylococcus aureus*، *Bacillus subtilis*، وكذلك على خميرة *Condida albicaus* كشفت النتائج عن امتلاك جميع الزّيوت الأساسيّة النشاطية ضد الميكروبية، على الأقل واحد من الأنواع المختبرة أنّ أكبر نشاطيّة سجّلت مع الزّيوت المحتوية على مركبات فينولية.

وكانت أكثر الأحياء الدقيقة حساسيّة بكتيريا *Bacillus subtilis* وخميرة *Candida albicaus* وبعدها بكتيريا *Staphylococcus aureus* وأخيرا *Esherichia coli* أما *Pseudomonas aeruginosa* فكانت مقاومة لغالبيّة الزّيوت.

كما تناولت الكثير من البحوث التأثيرات ضد الميكروبية لزيوت أساسية أخرى ذات تراكيب ومحتويات متنوعة ومشتقة من أنواع نباتية مختلفة، وكانت نتائجها متباينة ومتعلقة أساسا بتركيبة الزيت الأساسي وبنوع الكائن الدقيق المختبر، نذكر من بين هذه البحوث دراسة Nychas و Tassou (1995) على الزيت الأساسي المستخلص من نبات *Pistacia lentiscus* ودراسة puerta وآخرون (1996) على الزيت الأساسي L *Achilla agertum*، وأعمال Santas و آخرون (1997) على الزّيوت الأساسيّة المستخلصة من جنسي *Pilocapus* و*Psiduin* ودراسة Sivvopoulou و آخرون (1997) على الزّيوت الأساسيّة لنبات *Salvia fruticosa*، و Tabamcaو آخرون(2000) على الزّيت الأساسي لـ *Migomeria gistat* (قسمية؛ 2009).

II -6- عمل الزّيوت الأساسيّة على البكتيريا :

تؤثر الزّيوت الأساسيّة على حياة البكتيريا بتعطيل الوظائف الإستقلابيّة مثل توقيف النّمو والتّضاعف (فعل تثبيطي) وإذا ما إستمرّت عمليّة التّثبيط فإنّها تؤدّي في النّهاية إلى التحلّل أو تخريب الخلية البكتيرية وقتلها.

تتعلق فعالية الزيوت الأساسية بتركيز الخلايا الميكروبية، إذ كلما زاد عددها تطلب تثبيطها تراكيز أعلى من الزيت الأساسي كما تتعلق بتركيز الزيت الأساسي فكلما زاد التركيز المستعمل منه زادت الفعالية.

وجد على العموم أن الزّيوت الأساسيّة لها فعاليّة اكبر على البكتيريا موجبة الغرام مقارنة لسالبة الغرام ، وذلك نظرا لأنّها محبة للدّهون فهي تفشل في عبور الغشاء الخارجي للبكتيريا سالبة الغرام أو لأنّ جدار البكتيريا موجبة الغرام أقلّ تعقيدا من جدار بكتيريا سالبة الغرام لذلك فهو أكثر نفاذية للمركبات الضّد ميكروبية للزّيوت الأساسيّة .

في إحدى الدّراسات وجد أنّ البكتيريا *Bacillus megaterun* موجبة الغرام هي أكثر الأنواع البكتيرية حساسيّة للفعل التّثبيطي للزّيوت الأساسيّة المختبرة ، لكنّها على العكس من ذلك كانت جد مقاومة للفعل القاتل وتمّ تفسير ذلك بقدرة البكتيريا على تكوين ابواغ لمقاومة الظروف غير الملائمة.

بيّنت دراسة chalachat وآخرون (1997) حول النّشاط ضد ميكروبي للزّيوت الأساسيّة المستخلصة من 13 نبات إفريقي أنّ هناك علاقة مباشرة بين التركيب الكيميائي لهذه الزّيوت ونشاطيتها المضادّة للبكتيريا حيث كلما كانت هذه الزيوت غنية بالمركبات الأكسيجينيّة (الدهيدات، كحولات، كيتونات) كانت نشاطيتها إتجاه البكتيريا أعلى .

إن عمليّة إختبار نشاطية الزّيوت الأساسيّة المضادّة للأحياء الدقيقة هي عمليّة صعبة، ويعود ذلك لكونها متطايرة ومعقّدة التّركيب وغالبيتها غير قابلة للذوبان في الماء، وهناك أربعة عوامل مهمّة تتدخّل في هذا الإختبار، وهي التقنية المستعملة، الكائن الدّقيق المختبر،وسط النمو، الزّيت الأساسي المستعمل (Jenssen et *al ;* 1987) (قسمية؛2009).

الجزء التطبيقي

الفصل الأول:
مواد وطرق البحث

I -1- المواد المستعملة:

أ- المادة النّباتية:

تعتبر العائلة الشّفوية (Lamiaceae) من النّباتات التي تستعمل لعدة أغراض في حياتنا اليوميّة، وميزتها الزّيوت الطيّارة التي تفرزها الغدد الرّحيقية في أجزاء نّباتية خاصة، والتي تستعمل في عدة مجالات صناعيّة من بينها صناعة العطور، ومن بين هذه الأنواع: الخزامة Lavande، الجعدة Phlonis، النّعناع Menthe، الإكليل Romarin.

ويعود أصل تسميتها إلى الكلمة اللاتينيّة labium، والتي تعني شفتين، معظم نباتات هذه العائلة أعشاب حوليّة أو معمّرة، أو شجيرات سيقانها قائمة أمّا أوراقها فتكون متقابلة متعامدة بسيطة بلا أذينات، نوراتها غير محدودة، وقد تكون النّورة لولبيّة، أو بسيطة ذات شعبتين أو عقربيّة وهي عند كل عقدة تكون ما يشبه السّوار، ويكون شكل النّورة سنبلي أو عنقودي أو هامي ، أزهارها خنثى وحيدة التناظر سفليّة، ويتألّف الكأس من خمسة سبلاّت ملتحمة و مستديمة وهو أنبوبي الشّكل أو شفوي أو مسنّن، يتألّف التّويج من خمسة بتلاّت ملتحمة على شكل شفتين.

أما القرص الغدّي فيقع في أسفل المبيض وأحيانا يكون بشكل غدّة كبيرة على الجانب الأمامي، يوجد في المبيض حجرتان لكل واحدة منهما بويضتان، أما الثّمرة فتكون من أربع ثمرات تقع بداخل الكأس، وتكون البذرة أندوسبيرمية وكثيرا ما يمتصّها الجنين، تشمل هذه الفصيلة حوالي 200 جنس و600 نوع تنتشر في جميع أنحاء العالم خصوصا حوض البحر الأبيض المتوسّط، ومن أجناس هذه العائلة جنس *Mentha* حيث يشمل هذا الجنس على 69 نوع منتشرة في حوض البحر الأبيض و جنوب القارّة الأسيويّة وأمريكا اللاّتينيّة.

هناك أنواع كثيرة من النّعناع منها: الأجعد والبلدي والبرّي وطويل الأوراق والفلفلي واللّيموني، والمائي ومستدير الأوراق، والياباني ونوع آخر يدعى نعناع القطط، يستعمل النّعناع في الطب الشّعبي كمادة مهدّئة، مضاد للمغص، مطيّب وتابل، وطارد للغازات، ومنعش، ومقشع صدري، ويستعمل أيضا ضد التهاب الجفون، وفي حالة التشنّجات وهو مطهّر خارجي، ومعطش ومضاد للإسهال المزمن والعادي (مسمار؛ 1998).

يتميّز جنس *Mentha* الوثيقة (27) بغناه بالمركّبات الطبيعيّة التاليّة :

التربينات Terpene، الفلافونيدات Flavonoïdes، كزانتونات Xentons، التانين Tanins، الستيرويلات Stéroïdes، والأحماض الفينولية Acide phénolique، كما أنّ الجنس معروف بزيوته الأساسيّة حيث يحتوي على المانثول Menthol الّذي يستخدم في صناعة العطور، السّجائر وفي الصّناعة الصيدلانيّة (تبوب؛ 2010).

الوثيقة (27): صورة لنوع من جنس نبات النعناع *Mentha* sp

- الوصف النّباتي لبعض أنواع جنس النّعناع *Mentha* :

- الفوتنج *Mentha pulegium* L:

ينمو قرب السّواقي والأنهار، وأماكن تجمّع مياه الأمطار، السّاق قصير (قبيسي؛ 1995)، الفروع مزهرة تنطلق من قرب القاعدة وحتّى القمّة، الأزهار صغيرة، موبرة، بنيّة، مسنّنة قليلا الوثيقة (28)، الكأس له شفتان تقريبا كثير الوبر من الدّاخل، التّويج أنيبيبي، الرّائحة زكيّة (Beloud; 2001).

الوثيقة (28): الفوتنج *Mentha pulegium* L(Medellel; 2010).

- النّعناع المستدير الأوراق *Mentha rotundifolia* L :

نجده في الحفر وعلى الطّرقات، الأوراق بيضاوية مستديرة، سميكة، مجعّدة، خشنة، مسنّنة قليلا، مخمليّة من الأسفل، عليها شعر قصير مجعّد ورخو، كثير الفروع، الأزهار فاتحة اللون الوثيقة(29)، على سنبلة طويلة دقيقة ذات رأس حاد ولها قنّابات طويلة، أسنان الكأس مثلّثة، الرّئاد مورقة، الرائحة قوية (قبيسي؛ 1995).

الوثيقة(29) : النعناع المستدير الأوراق *Mentha rotundifolia* L (Medellel; 2010).

- النّعناع البرّي *Mentha longifolio* L :

نجده في الحقول (قبيسي؛ 1995)، و هي أعشاب مائلة إلى البياض، الأوراق بيضاوية، مسنّنة، وحادّة عند رأسها الوثيقة (30)،الأزهار في السّنبلة كثيفة له قنيبات دقيقة، الكأس له أسنان طويلة ودقيقة (Medellel; 2010).

الوثيقة (30): النعناع البري *Mentha longifolia L* (Bekakra et Boubia; 2011).

- النّعناع البلدي *Mentha spicata L*:

موطنه الأصلي أوروبا نبات عشبي معمّر قصير غزير التّفريع، الأوراق بسيطة متقابلة و متصالبة ذات أعناق قصيرة جدا وأنصال بيضية مموجة الحواف أو مسننة عطرية الرائحة، الأزهار مصفرة في عناقيد طرفية الوثيقة (31) (هيكل و عمر؛ 1993).

الوثيقة (31): النعناع البلدي *Mentha spicata* L

(www.jtosti.com/fleur3/menthe.htm).

- النعناع الفلفلي *Mentha piperita* L الوثيقة (32):

قليل التواجد في الجزائر وهو هجين يأتي نتيجة تزاوج *Mentha aquotica* مع *Mentha spicata* L، وهو نبات عشبي حولي، الأوراق بيضاوية، مسننة، حادة، متقابلة ذات لون اخضر داكن، الساق محمر، مربع السويقة قصيرة، يتواجد فيه الميثانول بكثرة (Medellel; 2010).

الوثيقة (32) : النعناع الفلفلي *Mentha piperita* L (Medellel; 2010).

- النعناع الأخضر *Mentha viridis* L :

بري ونادر في الجبال، يزرع في السهول، شبه اجرد، الأوراق خضراء على الوجهين، الأزهار في سنابل رخوة الوثيقة (33)، الكأس أجرد وله أسنان دقيقة، الرائحة عذبة ونفاذة (قبيسي؛ 1995).

الوثيقة (33) : النعناع الأخضر *Mentha viridis* L (Bekakra et Bousbia; 2011).

- نعناع الحقول *Mentha arvensis* L :

متعدد الأشكال، الفروع لا زهور لها عند القمة، الأوراق موبرة عريضة،الأزهار في دوارات كثيفة أقصر من الأوراق، الكأس أوبر على شكل جرس له أسنان متساوية عريضة وقصيرة الوثيقة (34)، وله حلقة من الشعر في التويج (قبيسي؛1995).

الوثيقة (34) : النعناع الحقول *Mentha arvensis* L (Bekakra et Bousbia; 2011).

- نعناع الماء *Mentha aquatica* L :

في الأراضي الموحلة، متعدد الأشكال، السّيقان موبرة، منتصبة وكذلك أوراقه البيضاوية طويلة السّويقات، الأزهار في دورات قليلة العدد، طرفها في الرأس البيضوي الوثيقة (35)، الكأس معرّق، أوبر له أسنان دقيقة له حلقة من الشّعر في التويج، الرائحة قويّة (قبيسي؛ 1995).

الوثيقة (35) : نعناع الماء *Mentha aquatica* L (Medellel; 2010).

والجدول (02) يبين التصنيف النباتي للنعناع المستعمل *Mentha* sp في دراستنا هذه.

الجدول (02) : التصنيف النباتي للنعناع المستعمل *Mentha* sp .

Règne	Végétale	المملكة
Sous règne	Métaphytes	تحت المملكة
Embranchement	Cormophyte	الشعبة
Sous embranchement	Angiospermes	تحت الشعبة
Classe	Dicotylédones	القسم
Sous classe	Métachlamydées	تحت القسم
Sub Ordre	Gamopétales	فوق الرتبة
Ordre	Tubiflorales	الرتبة
Famille	Labiaceae(Lamiaceae)	العائلة
Genre	Mentha	الجنس
Espèce	*Mentha* sp	النوع

(Medellel; 2010)

ب- المواد المستعملة قبل وبعد التّجفيف:

-آلة حادّة (سكّين)

-مقص

-آلة طحن

-أكياس ورقيّة

-ميزان الكتروني Balance de Precision

ج- في المخبر:

-بيشر 25ml -appareil de calevenger

-بيشر 50ml -micropipette

-قمع -autoclave

-علب بيتري -bec Bunsen

-ماء مقطر -Anse à ensemencer

-إيثانول -étuve

-أنابيب إختبار -وسط زرع ميلر هنتون milieu de Mueller Hinton

- سحّاحة 1ml - قارورة معتمة

-السلالات البكتيرية :

- *Bacilliss subtilis* ATCC 9372 / Famille: Bacillaceae / G(+).
- *Pseudomones aerginosa* ATCC 9027/ Famille: Pseudomonaceae / G(-).
- *Escherichia coli* ATCC 4157 / Famille: Enterobacteriaceae / G(-).
- *Stephylococcus aureus* ATCC 6538 / Famille: Micrococaceae / G(+).

-المضادات الحيوية:

- Pénicilline(PE) 10mcg
- Tétracycline(TC) 30mcg
- Colistine (CO) 25mcg

I –2- طرق العمل:

أ- في الميدان:

تم قطف الجزء الهوائي للعيّنة يوم 2013/01/27 على السّاعة 09:30 صباحا بمنطقة الطريفاوي ولاية الوادي.

ب- عند التّجفيف:

قبل البدء بعمليّة التّجفيف تنقى العيّنة من الحشرات الدّقيقة و الأعشاب الدّخيلة، ثم تنشر مختلف أجزاء العيّنة (أوراق وسيقان) في الظّل على أوراق خاصّة وعلى شكل طبقة رقيقة لتسهيل عمليّة التّقليب و يجب أن نراعي عدم تعرض النّبات لأشعّة الشّمس التّي تؤدي إلى فقدان المادة الفعّالة، و بعد التأكد من أن النّبات قد جفّ ثم نقوم بتقطيعه إلى أجزاء صغيرة ثم نسحقه.

ج- بعد التّجفيف:

بعد سحق مختلف أعضاء النّبتة نقوم بوزن 100g بواسطة الميزان الإلكتروني ثم نحفظها في أكياس ورقيّة مغلقة بإحكام.

د- استخلاص الزّيوت الطيّارة من نبات النّعناع:

تمّ وضع 100g من المادة النّباتية المجففة و المجزّأة من سيقان و أوراق نبات النّعناع في جهاز كليفنجر الوثيقة (36) وطريقة عمل الجهاز كالآتي: وضع المادة النباتية المعلومة الوزن في دورق زجاجي (ballon) مع كمّية كافية من الماء المقطّر، ترتفع درجة حرارة المزيج إلى حد الغليان بواسطة مصدر حراري(chauffe ballon)، فيمر البخار المحمّل بالزيت الطيّار عبر العمود (colonne) وصولا إلى المبرّد الزّجاجي(réfrigérant) أين تتم عمليّة التّكثيف، تتجمّع قطرات من المزيج في أنبوب مليء بالماء.

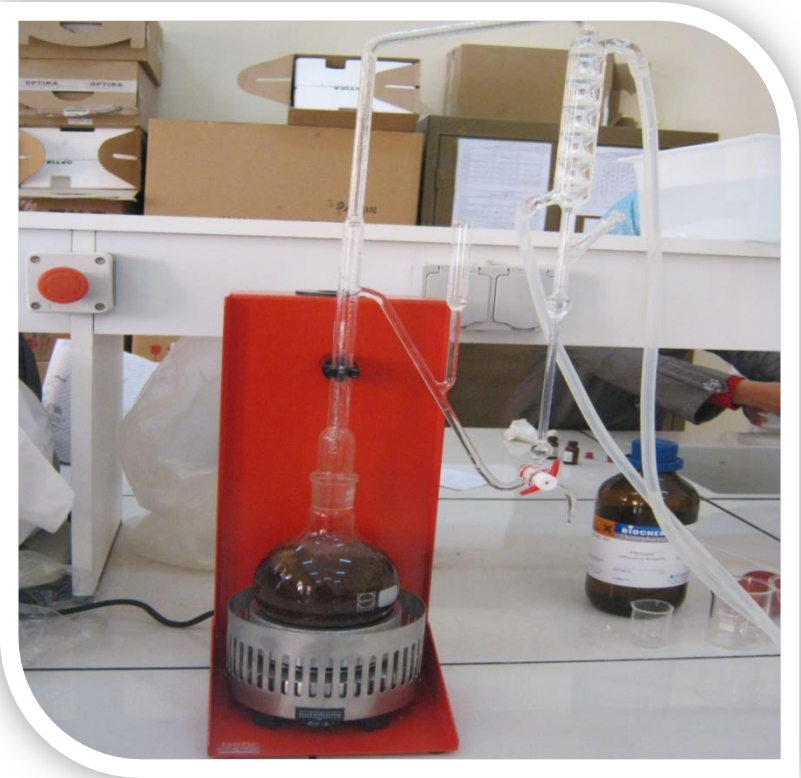
يتمّ فصل الطّورين السّائل و الزّيتي عن طريق الفرق في الكثافة .بعد فصل الزّيت عن الماء يحفظ في قارورة معتمة في درجة حرارة من 4-6 مئوية إلى حين استعماله، ويتم تكرار العمليّة مرّتين.

و يمكن حساب مردوديّة الزّيت الطيّاربالعلاقة التّالية :

$$RHE\ (\%) = M'/Mx100$$

وزن الزّيت الطيّار المستخلص بالغرام :'M

وزن العيّنة النباتيّة بالغرام :M (Laib ; 2012).



الوثيقة (36) :جهاز كلافنجر calevenger.

هـ- تحضير أوساط الزرع :

يتم تحضير أطباق بتري 9 سم ونسكب بها وسط الزّرع ميلر هنتون mueller de Hinton الذي تمّ تعقيمه في autoclave. (فرحات وآخرون؛ 2011).

و- زراعة البكتيريا :

لدراسة النّشاطية المضادة للبكتيريا تم إستعمال طريقة الإنتشار بالأقراص.

في هذه التقنية تغمس (Anse à ensemencer) معقّمة في وسط يحتوي على معلّق بكتيري ووتوضع بصورة مباشرة على سطح وسط الزّرع بشكل خطوط منحنية من الأسفل إلى الأعلى بزاوية 60°، تكرّر العمليّة في كل علب بتري.

بواسطة ملقط معقم يتم وضع ثلاثة أقراص من ورق التّرشيح المعقّمة وثلاثة أقراص من المضادّات الحيويّة على سطح الطّبق المزروع، ثمّ يتم تشبيع أقراص ب 5 ميكرولتر من مختلف تراكيز الزّيت الطيّار لنبات النّعناع.

في حالة الزّيت الطيّار تمّ إستعمال ثلاثة تركيزات : المحلول الأم solution mére 100% محلول مخفّف مقدار 50 % و محلول مخفّف مقدار 25%حيث يتم التّخفيف بواسطة الإيثانول النّقي. وبعدها يتم حضن الأطباق في الحاضنة لمدّة 24ساعة في درجة حرارة 37° (دحية؛ 2009

الفصل الثاني :
النتائج والمناقشة

II -1- النّتائج:

II -1-1- مردود الزّيت الطيّار المستخلص:

بعد عملية إستخلاص الزيوت الطيارة للجزء الهوائي لنبات النّعناع *Mentha* sp، تمّ حساب المردوديّة التي كانت كالآتي:

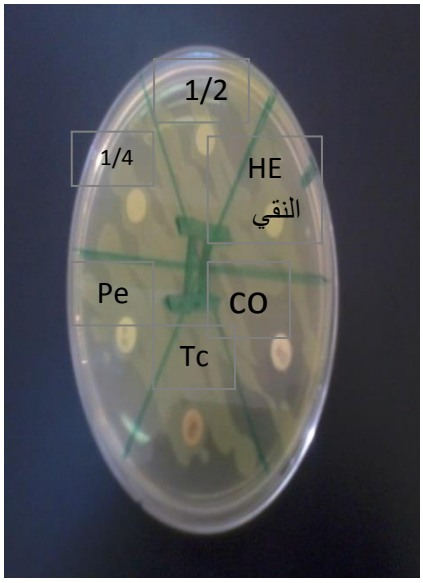
- العينة الأولى RHE= 0.8162g
- العينة الثانية: RHE= 0.3981g
- متوسط مردود الزيت الطيار المستخلص: 0.60715غ/100غ أي 0.60715%.
- لون الزيت المستخلص: مصفر.

II - 1-2- النشاطية الضد بكتيرية للزيت الطيار المستخلص:

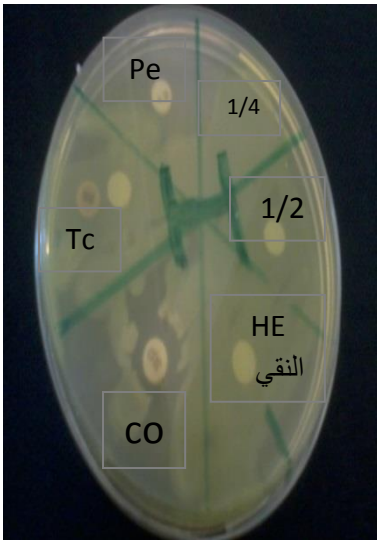
بعد انتهاء مدة الحضن التي دامت 24 ساعة ثم إجراء قياسات لأقطار التثبيط حول كل من أقراص المحتوية على التراكيز المختلفة من الزيت الطيار المستخلص وأقراص المضادات الحيويّة لكل نوع بكتيري(التجارب مكرّرة 3 مرات) بواسطة مسطرة على السطح الخارجي لطبق بتري بعد قلبه، كما هو مبيّن في الجدول(03) و الوثائق (37، 38،39، 40 ،41).

الجدول (03):يوضح متوسط أقراص التثبيط المتحصل عليها أثناء الدراسة

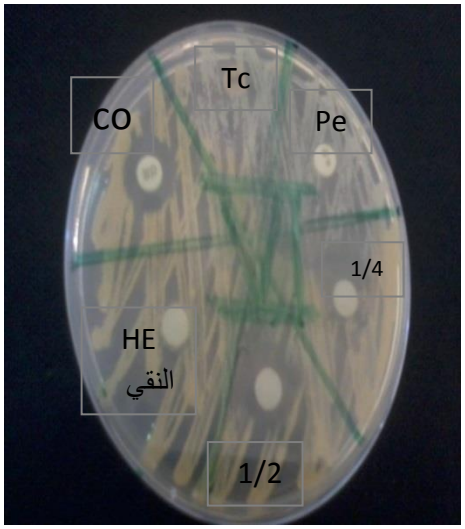
	المضادات الحيوية			تخفيفات الزيت الطيار		
السلالات البكتيرية	Pénicilline	Tétracycline	Colistine	Pur %100	50%	% 25
Escherichia coli	0	0	14.3 ملم	0	17 ملم	19.6 ملم
Pseudomonas aeruginosa	0	0	17.3ملم	0	0	0
Bacillus subtilis	0	0	11.6 ملم	0	0	0
Staphylococcus aureus	0	0	11 ملم	0	0 ملم	0



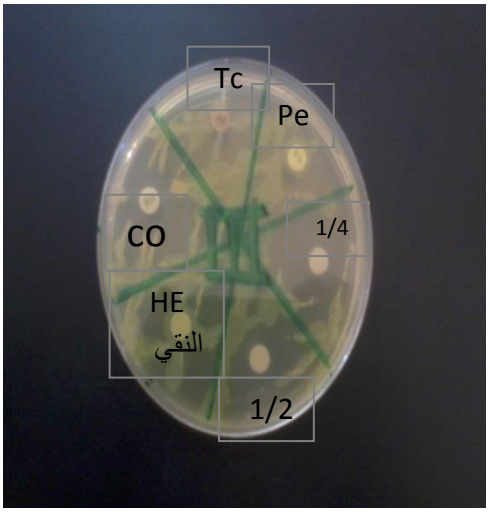
Pseudomonase aeruginose



Bacillus subtilis

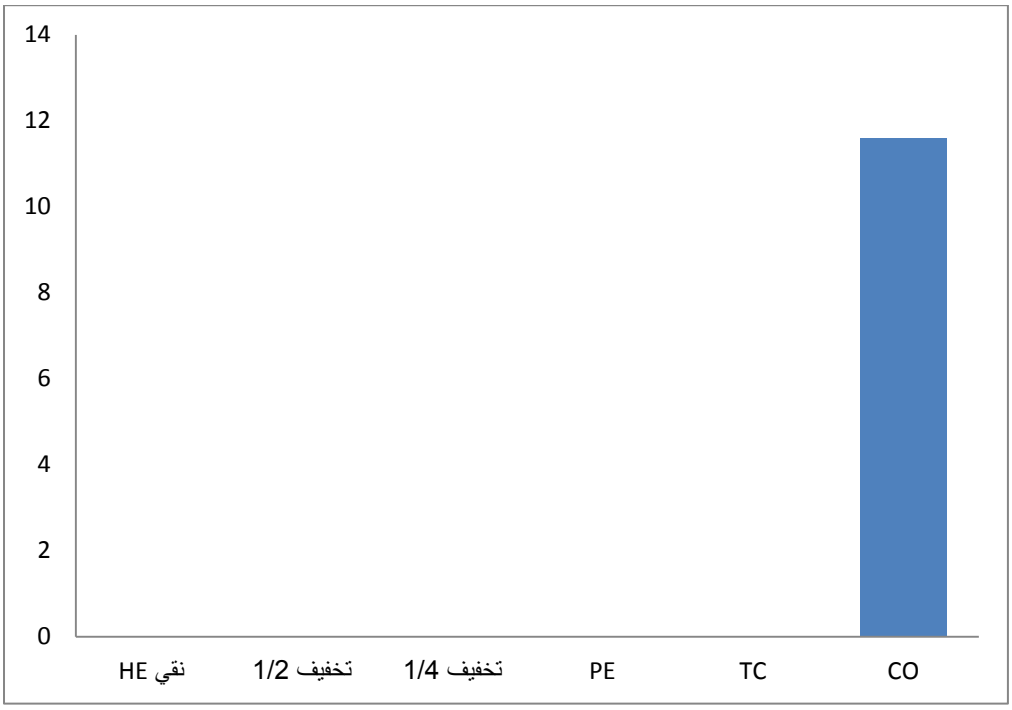


Staphylococcus aureuse

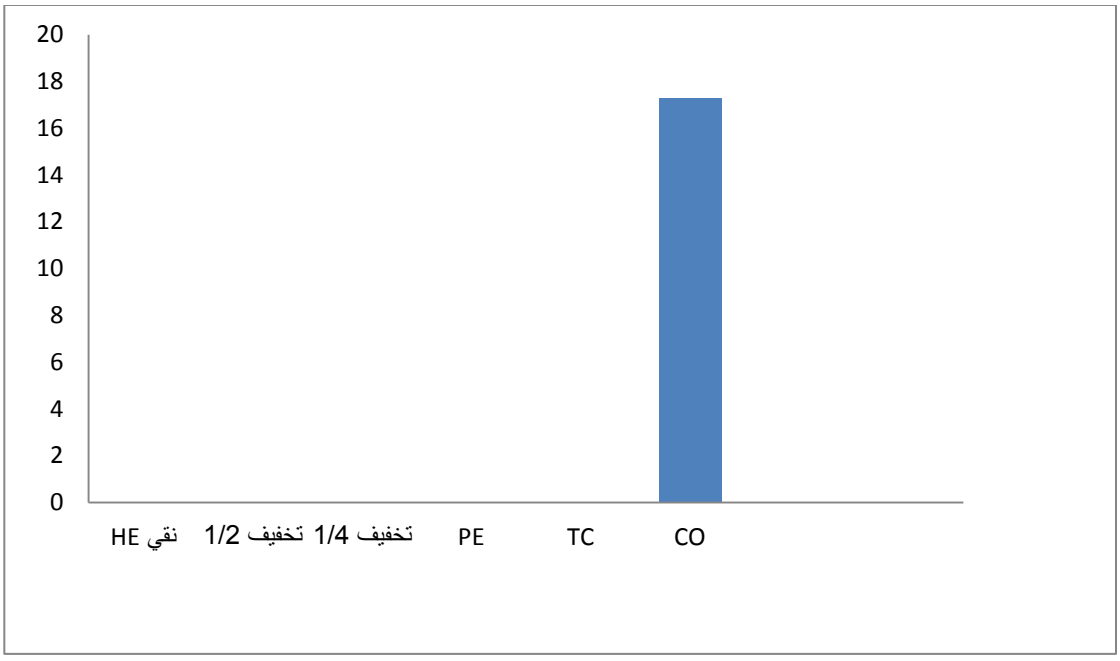


Escherichia coli

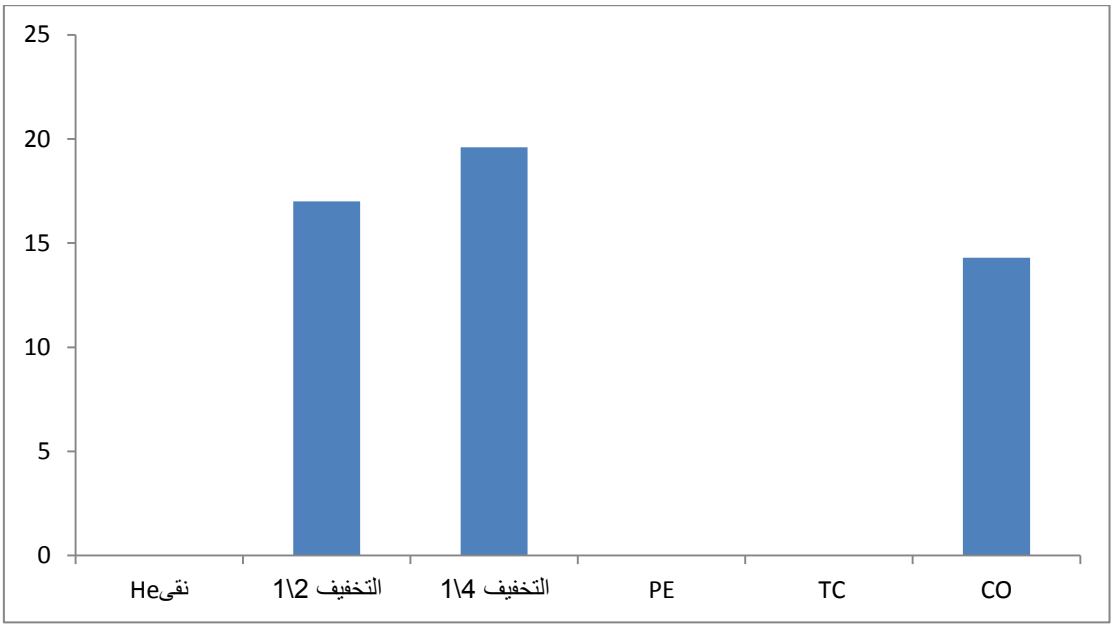
الوثيقة (37): أقطار التثبيط للسلالات البكتيرية المختبرة.



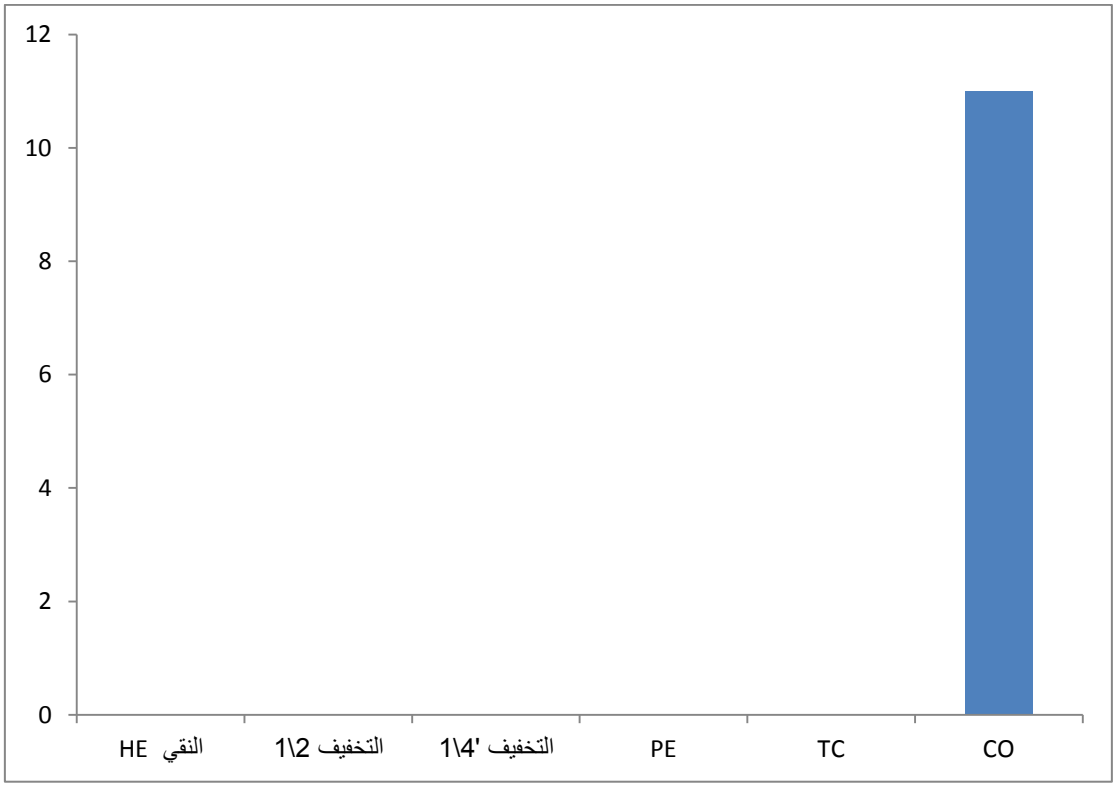
الوثيقة (38) : متوسط أقطار التثبيط لبكتيريا سلالة *Bacilus Subtilis*.



الوثيقة (39) : متوسط أقطار التثبيط لبكتيريا سلالة *Pseudomonas aeruginosa*.



الوثيقة(40): متوسط اقطار التثبيط لبكتيريا سلالة *Escherichia coli*.



الوثيقة (41) : متوسط أقطار التثبيط للبكتيريا سلالة *Staphylococcus aureus*

II -2- المناقشة:

II -2-1- دراسة النتائج :

تم تحديد النشاطية ضد البكتيرية لنبات النعناع *Mentha* sp بحساب قطر التثبيط بالمليمتر للسلالات البكتيرية *Staphylococcus aureus*، *Bacilluis subtilis* ، *Escherichia coli* ، *Pseudomonas aeruginosa*.

- ملاحظة: لم نسجّل أي نشاطيّة بإستعمال الزّيت الطيّار النقي وهذا مع جميع أنواع سلالات البكتيريا المختبرة.
- يتّضح من خلال النتائج الملاحظة أن قيم أقطار التّثبيط متوسّطة نوعا ما، حيث لم نسجّل أي حساسية للبكتيريا *Staphylococcus aureus* تجاه الزّيت الطيّار عند التّركيز 50%و 25% ، وبالنّسبة للمضاد الحيوي Colistin ومقارنة مع الزّيت الطيّار فقد كانت فعاليته اكبر تجاه بكتيريا *Staphylococcus aureus* وقدّ ر متوسّط قطره 11 ملم، أمّا في ما يخص المضادين الحيويين Tétracyclineو Pénicilline فقد أبدت هذه البكتيريا مقاومة شديدة .
- كما سجّلنا أقطار تثبيط كبيرة للزّيت الطيّار تجاه بكتيريا *Escherichia coli* عند التّركيزين 50% و 25% قدّر متوسطها على التّوالي 17 ملم و19.6ملم وهذا راجع إلى احتمال تأثير الإيثانول التخفيف المستعمل في ونلاحظ أن المضاد الحيوي Colistine له نشاطية أقل نسبيا على النّوع البكتيري مقارنة مع التّركيزين 50% و 25% قدّر متوسّطه 14.3، أمّا بالنّسبة للمضادّين الحيويين Tétracycline و Pénicilline فقد كانت فعاليتهما منعدمة.
- أمّا في ما يخص النّوع البكتيري *Bacilluis subtilis* فقد أبدى مقاومة مع التركيزين 50% و 25% ،وبالنّسبة للمضاد الحيوي Colistin فقد سجّلنا قطر تثبيط قدره 11.6 ملم .
- أما السلالة البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa* فقد أبدت مقاومة عند كلا التّركيزين 50% و 25%، أمّا بالنّسبة للمضاد الحيوي Colistin فقد سجّلنا قطر تثبيط متوسطه 17.3 ملم، أمّا فيما يخص المضادّين الحيويين Tétracyclineو Pénicilline فقد كانت فعاليتهما معدومة.

وعلى ضوء هذه النّتائج يمكننا القول أن الزّيت الطيّار لنبات النّعناع *Mentha* sp كانت له فعالية بيولوجيّة اتجاه *Escherichia coli* وهذا يعود الى المركّبات التي يحتويها الزّيت الطيّار لهذا النّوع النّباتي والّتي قد تؤثّر بشكل على الجدار الخلوي للبكتيريا، وأيضا على تثبيط البروتينات الخاصّة بها، مما يعيق تكاثرها، وبالموازة مع ذلك فقد أبدت كل من *Pseudomonas aeruginosa* و *Bacilluis subtilis* و *Staphylococcus aureus* مقاومة لمختلف تراكيز الزيت الطيار.

الخـــاتمـةةـة

الخاتمة :

كانت الهدف من دراستنا هذه إستخلاص الزيوت الطيارة لنبات النعناع *Mentha* sp، ومدى فعاليته البيولوجية على بعض السلالات البكتيرية الممرضة، حيث أعطى استخلاص الزيت الطيار للنبات بواسطة التقطير المائي Hydrodistilation باستعمال جهاز calevenger مردود معتبر قدر متوسطه بـ 0.60715%.

وللتعرف على تأثير الزيت الطيّار على بعض السلالات البكتيرية قمنا بزراعة بكتيريا باستعمال طريقة الانتشار بالأقراص ،حيث من خلال نتائج بحثنا توصّلنا إلى أن الزّيت الطيّار لنبات النّعناع *Mentha* sp كانت له فعالية بيولوجيّة اتجاه *Escherichia coli* أكثر من المضادات الحيوية المستعملة وهذا يعود الى المركّبات التي يحتويها الزّيت الطيّار لهذا النّوع النّباتي أو الى إحتمال تأثير الإيثانول المستعمل في التخفيف الّتي تؤثّر بشكل واضح على الجدار الخلوي للبكتيريا، وأيضا على تثبيط البروتينات الخاصّة بها، مما يعيق تكاثرها، وبالموازة مع ذلك فقد أبدت كل من *Pseudomonas aeruginosa* و *Bacilluis subtilis* و*Staphylococcus aureus* مقاومة لمختلف تراكيز الزيت الطيار.

وفي الأخير نرجو من المهتمين بمجال المواد الفعالة في النباتات أجراء العديد من الأبحاث المعمقة لمعرفة طرق وكيفيات تأثير المواد الفعالة تجاه السلالات البكتيرية والفطرية الممرضة.

المراجع

المراجع بالعربية:

الكتب:

1. حجاوي غ.، حسين ح.، محمد ر.،2004- علم العقاقير والنباتات الطبية.الطبعة الاولى ، دار الثقافة للنشر والتوزيع ، عمان الاردن ،ص:312.
2. غالب محمد م.، محمد السعيطي و.،2008- أسس الكيمياء العضوية. دار الكتب الوطنية ، بنغازي ليبيا 309ص.
3. قبيسي ح.،2004- معجم النباتات والأعشاب الطبية .دار الحكمة ،بيروت لبنان ص :319-321
4. قطب ط.، 1981-النباتات الطبّية زراعتها ومكوّناتها. دار المرّيخ للنّشر، الرّياض، ص:76-83

حليس ح.، بوقاعة و.، 2012-استخلاص وتحليل الزيت لنبات السرو. مذكّرة تخرّج لنيل شهادة التّعليم الثانوي، المدرسة العليا للأساتذة القبّة الجزائر، ص:86.

5. مصطفى د.، والآخرون 1979 - النبات العامة. منشأة المعارف، الإسكندرية ص:1100
6. هيكل م.، عمر ع.،1993-النباتات الطبية و العطرية كيميائها وفوائدها. الطبعة الثانية، منشأة المعارف بالإسكندرية ص:274-281

تقارير:

1. رأفت ع.،2001-دراسة التأثير التثبيطي للمستخلصات المائية والزيتية و الكحولية لبذور نبات الحبة السوداء على أنواع مختارة من البكتيريا المرضية. مجلة البصرة-العمليات. العدد 37. الجزء5. ص:127-133
2. سليمان م.،2008- استخدام المذيبات العضوية في إستخلاص وتقدير نسبة الزيوت الأساسية والمستخلصات الأخرى لأعمار مختلفة من أوراق اليوكاليبتوس *Eucalyptus camadulensis* . المعهد التقني كركوك ص:12
3. مسمار م.،1989- أعشاب طبية من بلدي. رسالة النجاح، 98، ص:2

مذكرات:

1. بن التهامي م .،وآخرون 2012- استخلاص وتحليل الزيت الطيار لنبات الإكليل الجبل*Rosmarinus officinalis*، مذكرة تخرج لنيل شهادة التعليم الثانوي ص:9-23
2. بن عشورة ص.، 2007-ا لزيوت الطيارة والمركبات الفينولية *Deverra Scoparia*. مذكرة ا في الهندسة الكيميائة تخصص التحضير العضوي والفيتو كيمياء، جامعة قا .

3. بـــن علـــي أ.، بوســـكاية و.، 2011 -دراســـة مستخلصـــات نبـــاتي الفجـــل *Raphanus sativus*والخروع *Ricinus communis*L على نمو بعض أنواع البكتيريا . مذكرة تخرج لنيل شهادة ليسانس المركز الجامعي بالوادي ص:83

4. بوديار ط.، 2008-فصل وتحديد نواتج الأيض الثانوي ودراسة الفعالية المضادة للأكسدة النبتة *Euphorbia gnyoniana*.مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية، شعبة المواد العلاجية جامعة منتوري بقسنطينة ،128ص.

5. تبوب ع.، 2010- فصل وتحديد منتجات الأيض الفلافونيدي لنبات *Mentha arvenis*، مذكرة ماجيستير ،جامعة منتوري قسنطينة ص:81

6. الجبر م.،2010-بحث وتحديد نواتج الايض الثانوي لنبات القات من العائلة Clastraceae ونبات البوليكاريا من العائلة Astraceae وتقسيم الفعالية البيولوجية. رسالة وقدة لنبل شهادة دكتوراه علوم في الكيمياء العضوية، فرع كيمياء النباتات،ص:142

7. حسين ح.، بوقاعة ر.،2012-إستخلاص وتحليل الزيت لنبات السرو، مذكرة تخرج لنيل شهادة التعليم الثانوي، المدرسة العليا للأساتذة القبة الجزائرص:22

8. دحية م.، 2009-النباتات الطبية في مناطق الجلفة بوسعادة والمسيلة. دراسة نبات القزّاح أنواعه التركيب الكيميائي النشاطية البيولوجية للزّيوت الطيارة للسيقان. أطروحة قدّمت لنيل شهادة دكتوراه العلوم تخصص بيولوجيا النبات، جامعة فرحات عباس سطيف، 123ص.

9. زعيتر ل.،2009 -تحديد المكونات الكيميائية للأطوار الكلوروفورم والزيوت الأساسية لأنواع من العائلتين المركبة والسيسينية .رسالة مقدمة لنيل درجة دكتوراه الدولة في العلوم تخصص كيمياء عضوية شعبة كيمياء النبات، جامعة منتوري قسنطينة ص219.

10. شويخ ع.، 2004- تعداد النباتات الطبّية في ولايتي أم البواقي والوادي. مذكرة نهاية الدراسة لنيل شهادة الدراسات العليا DSE تخصص بيولوجيا وفسيولوجيا النبات، المركز الجامعي أم البواقي، ص:13-21.

11. عابد إ.، 2009 -دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران، مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة ص:106.

12. فرحات س.، والآخرون ميثانولي لنبات الخياطة Marrubium deserti de noe على بعض بسانس أكاديمي، المركز الجامعي الوادي ص:33

13. قسمية خ.،2002- الزيت الـــي ـــب ـــرب كيمياء ونشاطية مضادة للأحياء الدقيقة، جامعة فرحات عباس سطيف :ص26-80

14. نيد س.،هديبل ك.، 2011- أهمية الفينولات المتواجدة في النباتات العطرية. مذكّرة تخرّج لنيل شهادة التّعليم الثانوي، المدرسة العليا للأساتذة القبّة الجزائر، ص:9-23

المراجع بالأجنبية :

Livre

1. Abdelouahid D.، Bekhechi ch.، Les huile essentielles. Place central ben aknone alger، 55p
2. Beloud A.، 2001-Plante médicinales d'algerie Publications، Universitaires Ben Aknoun Alger

Article

1. Anonyme.، 2003- Pacteriologie. Faculté de médecine pierre et moric curie، université paris. 122p
2. Laibi I.،2012- Etude des activites qntoxsydante et antifongique del'huile essentielle des fleurs séches de lavandula officinalse appalication aux moissures de legumes sec nature technologie. n°7.44 à 52P.

Mémoire

1. Bekakra N.، Bousbia Brahim R.، 2011- Analyse physicon chimique des huilles essentielles de Menthe poivrée hybride au région : EL-oued "Teksebet".Mémoire du diplôme de licence academique. Centre universitaire D'EL –Oued، 49P.
2. Belkhiri F.، 2009-Activité antimicrobienne et antioxydante des extraits du *tamus communis* L et *carthamus aeruleus* L. Magister en microbiologie- O. microbiologie appliqué،Université farhat abbes-Setif، 108p
3. Benzeggouta N.، 2005-Etude de ıne des huiles infusées de quater plantes comme aliments. thes de magiter، Université mentouri Kechkar M.، 2009-Extraction de la silymarine et ét[illegible]nicrobienne .Mémoire du magister، Universite mantouri، 70p

4. Bruneton J.(1999)-Pharmacognosie Phytochemie Plantes médicinales. 3éme Ed. Lavoisierr. Tec and Doc,Paris,1095P
5. El kalamouni ch.، 2010- caractérisations chimiaues et biologique d' extraits de plantes aromatiques oubiieés de midi-pyréneés. Doctorat de scienes de agressources، de l'universitéde toulouse، 227p
6. Hameurlaine S.، 2009-mise en evidence des huiles essentielles contenues dans les plante pituranth es scoparius et rhantherium adpressum de laregion ghardia. Université de kasadi merbah ouarigla، 71p.
7. Hellal Z.، 2011-Contribution à l'etudedes propriétes antibacterinnes et antioxydontes de certaines huiles essentielles extraites des citrus. Application sur la sardine. Mémoire de magisteurn، université Mouloud Mammert de Tizi-ouzou،120P.
8. Janssen A.,*al,1987*- ANTIMICROBIAL activity of essentiial oil: A 1976-1986 literature review Aspectsof the test methodes Plante Med P: 53, 395-398
9. Marchadier A.، 2009-Etude fonctionnelle dune centre dinteracions proteiaues chez *bacillus subtilis* par une opporche intégrée. thes de doctorat، Universite Paris،80p
10. Mebarki N.، 2001-Extraction de l'huile essentielle de thymus fontanesu et application à la formation d'une forme médicamenteuse antimicrobienne. Magister en genie des procedes chimiaue et pharmaceutufues، Université m'hamed bougara boumerdes، 122p.
11. Medellel A.،2010-Contribution a L'etude d'une espece hybride *Mentha* Sp de la region d'ouede souf diplime d'etat en pharmacie. Universite Badgi mokhtar annaba، 115p

Site web

1. http://www.aquaportail.com .Co
2. http://www.aquaportail.com .Consutler le 05/02/2012

3. http://images.fineartamerica.com .consutler le 10/03/2012
4. http://vaccinenewsdaily.com.consutler le 05 / 02 / 2012

الملحق

جدول يوضح أقطار التثبيط للسلالات البكتيرية المختبرة (مع التكرارات) لمختلف تراكيز زيت الطيارة

Souche	التكرارات	100%	50%	25%
Escherichia coli	1	0	0	0
	2	0	19 ملم	15ملم
	3	19ملم	19ملم	21ملم
Staphylococcus aureus	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
Bacillus subtilis	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
Pseudomonas aeruginasa	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0

جدول يوضح أقطار التثبيط للسلالات البكتيرية المختبرة (مع التكرارات) لمختلف المضادات الحيوية

Souche	التكرارات	Pénicilline	Tétracycline	Colistine
Escherichia coli	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	13 ملم	15 ملم	15ملم
Staphylococcus aureus	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	17 **1**ملم	13ملم	13ملم
Bacillus subtilis	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	10 ملم	13ملم	13ملم
Pseudomonas aeruginasa	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	17ملم	17ملم	18ملم

الملخص :

درسنا في عملنا هذا تقدير الفعالية البيولوجية للزيت الطيار المستخلص من الجزء الهوائي لنبات النّعناع *Mentha* Sp المزروع في منطقة واد سوف على بعض السّلالات البكتيرية الممرضة (*Pseudomonas aeruginasa*، *Bacillus subtilis* و*Staphylococcus aureus* ، *Escherichia coli*) وذلك باستعمال طريقة إنتشار الاقراص، مع إستعمال المضادت الحيوية : (Colistine/ Tétracycline/ Pénicilline) لقصد المقارنة.

تبين من خلال النتائج المتحصل عليها إن النشاطية البيولوجية ضد السّلالات البكتيرية المختبرة متوسطة عموما، إذ أن الزّيت الطيّار لنبات النّعناع *Mentha* sp كانت له فعالية بيولوجيّة اتجاه *Escherichia coli* أكثر من المضادات الحيوية المستعملة وهذا يفسر بإحتواء الزيت الطيارلنبات النّعناع *Mentha* sp على مركبات جد فعالة توفر للنبات الحماية.

وبالموازة مع ذلك فقد أبدت كل من السلالات البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa* و *Bacilluis subtilis* و*Staphylococcus aureus* مقاومة لمختلف تراكيز الزيت الطيار.

الكلمات المفتاحية: منطقة واد سوف، نبات النعناع *Mentha* sp، الزيوت الطيارة، النشاطية البيولوجية.

Résumé:

On a étudié au cours de cette préparation l'évaluation de l'efficacité biologique d' huile Essentielle extraite de la partie aérienne de la plante de Menthe (*Mentha* Sp) cultivé dans la région d' Oued Souf sur quelques espèces bactériennes pathogènes: *Pseudomonas aeruginasa, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli.*

En utilisant la procédure de la diffusion des disques avec l'utilisation des antibiotiques (Colistine, Tétracycline, Pénicilline) comme comparaison.

D'après les résultats obtenus, on observe que l'activité biologique contre les espèces bactériennes expérimentées est généralement moyenne. Donc, l'huile Essentielle de la plante de Menthe a eu plus d'efficacité biologique vers *Escherichia coli* par apport antibiotiques utilisées et cela explique que la plante de Menthe contenant d'huile Essentielle sur des composants très efficaces assurent la protec

tion de la plante.

D'autre part, les trois espèces bactériennes: *Pseudomonas aeruginasa, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus,* montrent une résistance contre les différentes concentrations d'huile essentielle.

Mots- clés:Région Oued Souf- Plante de menthe- Huile essentielle - activité biologiq