

تأثير الارتفاع عن سطح البحر على الخصائص الكيميائية للزيت العطري لنبات الزعتر البري النامي في مناطق متفرقة من الجبل الأخضر

حنان علي ادريس¹، عبدالسلام البخاري²، أحمد جبريل محمد ابوبكر³،
عبدالمنعم فكرون⁴ لمياء عبدالجليل⁵، مريم الجنيد⁶.

^{2,1}. قسم الغابات والمراعي، كلية الموارد الطبيعية وعلوم البيئة، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا.

³. قسم الكيمياء، كلية العلوم، القبة، جامعة درنة.

⁴. قسم الاحياء الدقيقة، كلية العلوم، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا.

⁵. قسم علوم البيئة، كلية الموارد الطبيعية وعلوم البيئة، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا.

⁶. قسم الغابات والمراعي، كلية الموارد الطبيعية وعلوم البيئة، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا.

*Corresponding author: abdmanam.fakron@omu.edu.ly

المخلص

استهدفت هذه الدراسة معرفة تأثير الارتفاعات المتباينة عن سطح البحر على المحتوى الكيميائي لكل من الزيوت العطرية والمستخلصات لنبات الزعتر البري *Thymus capitatus* حيث تم اختيار موقعي أبو ذراع وسيدي الحمري، جمعت العينات النباتية تم تجفيف أجزاء النبات المستخدمة في الدراسة، تم استخلاص الزيت الطيار لكل عينة باستخدام طريقة التقطير المائي، تم تحضير المستخلصات الخام وذلك بإتباع طريقة الاستخلاص المتعاقب ثم أجريت طريقة الفصل الكروماتوجرافي باستخدام ألواح الطبقة الرقيقة (TLC)، والتعرف على مكونات كل زيت من الزيوت الطيارة المتحصل عليها من النباتات بواسطة GC/MS. أوضحت نتائج الدراسة وجود اختلاف كمي وكيفي في المحتوى الكيميائي للزيوت العطرية للنبات نتيجة اختلاف مواقع الدراسة، كانت النسبة المئوية للزيت العطري المتحصل عليه من نبات الزعتر البري من موقعي أبو ذراع وسيدي الحمري (1.5%، 1.06%) على التوالي. أظهرت نتائج GC/MS عن التعرف على عدد 12 مركب عطري بنسبة (95.97%) من إجمالي مكونات الزيت العطري لنبات الزعتر البري من موقع أبو ذراع، وعدد 20 مركب عطري بنسبة (87.53%) في زيت الزعتر البري من موقع سيدي الحمري، ولقد كان هناك عدد 7 مركبات عطرية مشتركة في مواقع الدراسة وهي- Delta, Carvacrol, Thymol, Alpha-thujene, Gamma-terpinene, Aromadendrene, cadinene, Alpha-humulene، ولقد كان مركب Carvacrol له أعلى نسبة تواجد في الموقعين أبو ذراع وسيدي الحمري بالنسبة لزيت نبات الزعتر البري (48.56%، 21.28%) على التوالي. وكان محتوى الهيدروكربونات أحادية التربين الغير مؤكسجة والمؤكسجة لها أعلى نسبة تواجد في المحتوى الكلي للزيت العطري تحت الدراسة، كما تم تحضير الخلاصات المختلفة من النباتين تحت الدراسة (خلاصات الهكسان والكلوروفورم والإيثانول بطريقة الاستخلاص المتتابع، كما تم أيضاً تحضير الخلاصة الكحولية الكلية الخام باستخدام طريقة الاستخلاص المباشر). تم فصل محتويات هذه الخلاصات على ألواح من السيلكا جل بواسطة عدة أنظمة للفصل كما تم تحديد عدد الحزم المفصولة في كل خلاصة وحساب قيم RF لكل حزمة.

الكلمات المفتاحية:

الزعتر البري، الزيوت العطرية الطيارة، ألواح الطبقة الرقيقة (TLC)، الجبل الأخضر

Abstract

This study aimed to identify the effect of different altitudes above sea level on the chemical content of each of the essential oils and extracts of wild thyme, *Thymus capitatus*. Where the locations of Abu Dhra` and Sidi Al Hamri were selected, the plant samples were collected, the plant parts used in the study were dried, the volatile oil was extracted for each sample using the water distillation method, the crude extracts were prepared by following the successive extraction method, then the chromatographic separation method was carried out using thin-layer plates (TLC), and identification of the components of each volatile oil obtained from plants by GC/MS. The results of this study showed a quantitative and qualitative difference in the chemical content of the plant's essential oils as a result of the different study sites, the percentage of essential oil obtained from wild thyme from Abu Dra` and Sidi Al Hamri sites were (1.5%, 1.06%), respectively. The results of GC/MS showed the identification of 12 aromatic compounds with a percentage of (95.97%) of the total components of the essential oil of wild

thyme from Abu Dhra' site, and 20 aromatic compounds with a percentage of (87.53%) in wild thyme oil from Sidi Al-Hamri site, there are 7 common aromatic compounds in the study sites, which are Aromadendrene, Gamma-terpinene, Alpha-thujene, Thymol, Carvacrol, Delta-cadinene and Alpha-humulene. Berry (48.56%, 21.28%), respectively. The content of deoxygenated and oxygenated monoterpene hydrocarbons had the highest presence in the total content of the essential oil under study. The different extracts of the two plants under study were also prepared (extracts of hexane, chloroform and ethanol by successive extraction, and the total crude alcoholic extract was also prepared using the direct extraction method). The contents of these extracts were separated on silica gel plates by several separation systems and the number of separated packets in each feed was determined and RF values were calculated for each bundle.

Keywords: *Thymus capitatus* , Essential Oil, Thin-layer plates (TLC), Al Jabal Al Akhdar.

1. المقدمة

تضم منطقة الجبل الأخضر بليبيا العديد من النباتات العطرية النامية برياً والتي تعتبر ثروة طبيعية هامة يجب الاهتمام بها والاستفادة منها ودراستها. إن العديد من هذه النباتات العطرية ينتمي إلى العائلة الشفوية (Lamiaceae) حيث تنمو برياً في منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط [1]. وتعتبر هذه النباتات غنية بمحتواها من الزيوت العطرية الطيارة ذات القيم الاقتصادية العالية حيث يُضاف إلى الصناعات الغذائية كمادة حافظة ومضادة للأكسدة [2] [3] أثناء التخزين وفي تركيب بعض الأدوية والمستحضرات الطبية وفي صناعات الصابون والمنظفات الأخرى [4] ومن بين هذه النباتات نبات الزعتر وهو المعروف باسم الزعتر البري (*Thymus capitatus* (L.))، يعتبر هذا النوع من الزعتر من الأنواع المعروفة والمتواجدة بكثرة في منطقة البحر المتوسط وبالأخص في تركيا، اليونان، اسبانيا، وهما من النباتات العشبية المستديمة الخضرة، ينمو في الأرض ذات التربة الصخرية والجيرية، ويعتبر نبات الزعتر من النباتات التي تتحمل درجات الحرارة المنخفضة وكذلك الفترات الطويلة من الصقيع والثلوج [5].

ولقد أجريت العديد من الدراسات على المحتوى الكيميائي للزيوت الطيارة المستخلصة من نبات الزعتر لمعرفة المكونات الكيميائية وتقدير كمياتها كما ذكر كل من [6]، [7]، [8]. قام [9] بدراسة مقارنة للمحتوى الكيميائي للزيت الطيار ونسبة تواجد في نبات *Thymus vulgaris* وذلك أثناء مراحل النمو المختلفة في مناطق منخفضة وأخرى مرتفعة جبلية ووجد أن أعلى نسبة للزيت الطيار قد تم الحصول عليها من المناطق المنخفضة وفي فترة ما بعد الإزهار. كما قام [10] بدراسة وتحليل الزيت العطري لأربعة نباتات عطرية تشتهر بها منطقة ساحل البحر المتوسط وهي: *Coridothymus capitatus*، *Satureja spinosa*، *Satureja thymbra*، *Thymbra calostachya* ووجد أن هذه النباتات غنية بمحتواها من الزيت العطري حيث تصل نسبته 2.6-8.5%، كما وجد أن هناك أربعة مكونات تعتبر المكونات الرئيسية للزيوت العطرية للنباتات الأربعة تحت الدراسة وهي كالآتي:-

P-cymene (13-20%، 10-12%، 22%، 5%)، gamma-terpinene (7-14%، 25-28%، 6%، 3%) أما مركب Thymol تصل نسبته إلى (0.4-34%، 0.3-36%، 21%، 21%)، مركب Carvacrol تصل نسبته إلى (63%-5%، 3-45%، 41%، 48%) على التوالي للنباتات الأربعة. أجريت دراسة [11] للتعرف على التركيب الكيميائي لمحتوى الزيت الطيار المُحضر من نبات *S. hortensis* بواسطة التقطير المائي للنبات تحت الدراسة وذلك بواسطة كروماتوجرافيا الغاز المدمج مع مطياف الكتلة. تم التعرف على 30 مركباً وكان مركب Thymol يمثل 40.54 من محتوى الزيت الطيار، مركب γ -terpinene (18.56%)، Carvacrol (13.98%) ومركب P-cymene (8.97%). في عام [25] تم دراسة المحتوى الكمي للزيت العطري والكيميائي المستخلص من نبات *T. caramanicus* النامي في إيران، أظهرت هذه الدراسة اختلافات كمية وكيفية للزيوت المستخلصة للنبات في مراحل النمو المختلفة (أثناء النمو الخضري، بداية التزهير، التزهير الكامل وخلال مرحلة تكوين الثمار والبذور)، لقد كانت نسب الزيت العطري المستخلص من النبات في مراحل المختلفة كالآتي: 1.9%، 2.1%، 2.5%، 2.0% على التوالي وعند تحليل هذه الزيوت باستخدام GC/MS فقد تم التعرف على 37، 37، 29، 35 مركباً عطرياً على التوالي. المحتوى الرئيسي في كل العينات كان مركب carvacrol أما المركبات العطرية الرئيسية الأخرى كالآتي: P-cymene، alpha-terpinene، thymol، borneo. كذلك أجرى [12] دراسة على المحتوى الكيميائي للزيوت العطرية الناتجة من نبات *T. tosevii*، *T. vulgaris* وتم تحضير هذه الزيوت بواسطة التقطير المائي للأجزاء الجافة للنباتين. كما تم تحليلها بواسطة GC/MS. ولقد وجد أن المركبان thymol (48.9%)، P-cymene (19.0%) يعتبران من المكونات الرئيسية للزيت العطري الناتج من نبات *T. vulgaris*، أما مركبات (12.8%) carvacrol، (12.3%) alpha-terpinyl acetate، (11.2%) cis-myrtanol، (10.4%) thymol تعتبر المكونات الرئيسية للزيت العطري لنبات *T. tosevi*، (*Thymus moesiacus*، *Thymus longidens*، *Thymus tosevi*) وأصنافهم المختلفة، ولقد لوحظ عدم وجود فروق كيفية واضحة في المحتوى الكيميائي للزيوت العطرية المستخدمة كما لوحظ بعض الفروق الكمية

لبعض من المركبات العطرية التي تم التعرف عليها والتي تضم Thymol، Carvacrol، p-cymene، β -pinene، Linalool، Gamma-terpinene، geranyl acetate، Terpinyl acetate، كما وجد أن معظم العينات تحت الدراسة يحتوي الزيت العطري لها على مركبات فينولية عطرية بنسب عالية مثل Thymol، Carvacrol، ولوحظ أن هناك بعض الأصناف من النباتات تحت الدراسة تحتوي على زيت عطري قليل في محتواه الفينولي وفي نفس الوقت يحتوي على نسب عالية من Linalool، geraniol، terpinyl acetate، geranyl acetate مثل *Thymus moesiacus*.
لقد أشار [13] أن نتائج المسح الكيميائي لنبات *T. capitatus* المزروع في مصر أسفر عن وجود صابونينات، راتنجيات، فلافونيدات، وزيت عطري وزيت ثابت. وفي دراسة قام بها [14] تم تحليل الزيت العطري المستخلص من نبات *T. capitatus* النامي في سردينيا وكذلك عينات تجارية من هذا الزيت بواسطة GC/MS ولقد أسفرت هذه التحاليل عن أن المحتوى العطري الرئيسي يتكون من مركبات أحادية التربين وفينولات، بنسب مختلفة في الزيوت العطرية تحت الاختبار. لقد وجد [4] أن المركبات الرئيسية للزيت الطيار لنبات *Coridothymus capitatus* المستخلص بواسطة التقطير المائي للأجزاء الهوائية للنبات هي من نوع أحادية التربين (98.9%) منها 55.6% هيدروكربونات مؤكسجة، 43.6% هيدروكربونات غير مؤكسجة. حيث أن α -thujene، B-myrcene، terpinene، α -thujene، B-myrcene، terpinene تعتبر من المركبات الرئيسية لهذا الزيت الطيار على التوالي وذلك من خلال تحليلها بواسطة كروماتوجرافيا الغاز المدمج بمطياف الكتلة. كما أشارت الدراسة التي أجراها [2] أن مركب carvacrol يمثل نسبة 68%، 73% للزيت الطيار المستخلص بواسطة التقطير المائي للأجزاء الهوائية لنبات *T. capitatus* الذي ينمو في تونس في مرحلة الأزهار وما قبل الإزهار وذلك باستخدام كروماتوجرافيا الغاز المتصل بمطياف الكتلة. ومن خلال استعراض نتائج الدراسات السابقة على الأنواع المختلفة لنبات الزعرير يوجد اختلاف في التركيب الكيميائي للزيوت العطرية والمستخلصات بين هذه الأنواع المختلفة وأيضاً اختلاف كيميائي لنفس النوع نظراً لاختلاف البيئات والتوزيع الجغرافي، وحيث تم اختيار موقعين على ارتفاعات مختلفة عن سطح البحر في منطقة الجبل الأخضر، والجدير بالذكر أن ليبيا لم تحظى بدراسات كافية لهذان النوع من حيث إيجاد علاقة بين اختلاف الارتفاع عن مستوى سطح البحر والمحتوى الكيميائي للزيوت الطيارة والمستخلصات وكان هدف هذه الدراسة هو دراسة المحتوى الكيميائي للزيوت العطرية وبعض المستخلصات من الأجزاء الهوائية (الأزهار - الأوراق - السيقان) للعينات المختلفة من النباتين وإجراء مقارنة كروماتوجرافية بينهما.

2. المواد وطرق العمل

2.1. جمع العينات النباتية وتجهيزها:-

تم الحصول على عينات من الأجزاء الهوائية من الزعرير البري *Thymus capitatus* كما في شكل (1) من موقعين مختلفين (50 نبته من مواقع عشوائية في كل منطقة)، خلال خريف 2017 وخريف 2018 من نباتات في الجبل الأخضر بليبيا، موقع أبو ذراع وسيدي الحمري حيث يقعان عند إحداثيات شمالاً و شرقاً (1.5%، 1.06%) وبارتفاع (653، 830) متر فوق سطح البحر على التوالي. ولقد تم تعريف النبات طبقاً لما وصف في الفلورا الليبية [15]. تم تجفيف أجزاء النبات المستخدمة في الدراسة وذلك بوضعها في مكان ظليل لمدة 7 - 10 أيام مفردة في طبقة رقيقة وتقلب باستمرار [5] ثم بعد ذلك تم طحنها في الطاحونة للحصول على هذه النباتات تحت الدراسة في شكل مسحوق جاف ثم تحفظ في عبوات داكنة اللون محكمة الإغلاق بعيداً عن الضوء.

2.2. تقدير الرطوبة:-

تم تقدير المحتوى الرطوبي في العينات التي قد تم جمعها وطحنها وتجفيفها من المواقع المختلفة تحت الدراسة وذلك قبل إجراء عمليات الاستخلاص وحساب العائد المتحصل عليه على أساس الوزن الجاف لكل عينة، ولقد اتبعت طريقة التقطير مع مذيب عضوي (تولوين Toluene) حيث أنه غير قابل للامتزاج مع الماء، وذلك لاحتواء العينات على زيوت طيارة تبعاً لطريقة [16] و [17]

استخلاص الزيوت الطيارة :-

تم استخلاص الزيت الطيار لكل عينة من كل موقع تحت الدراسة باستخدام طريقة التقطير المائي (Hydrodistillation) تبعاً لطريقة [18] و [19].

2.3 تحضير المستخلصات المختلفة :-

تم تحضير المستخلصات الخام وذلك بإتباع طريقة الاستخلاص المتعاقب (Successive extraction) [20].
طريقة الفصل الكروماتوجرافي باستخدام ألواح الطبقة الرقيقة (TLC): [21] كما إنه يمكن الاستعانة باستخدام الأشعة فوق بنفسجية (U.V) عند طول موجة 365 نانوميتر.

طريقة كروماتوجرافيا الغاز المدمج بمطياف الكتلة للزيوت العطرية (GC/MS):-
- تم التعرف على مكونات كل زيت من الزيوت الطيارة المتحصل عليها من النباتات تحت الدراسة بواسطة GC/MS في قسم تصنيف النبات، كلية العلوم، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا. طبقاً لطريقة [22].

3. النتائج والمناقشة

3.1 استخلاص الزيوت الطيارة وتحضير المستخلصات المختلفة :

احتوت الأجزاء الهوائية لنبات الزعتر البري موقع أبو ذراع على 1.5% زيت طيار بينما الزعتر البري موقع سيدي الحمري على 1.06% زيت طيار، جدول (2) يوضح أن هناك فروق معنوية عالية في النسب المئوية للزيوت العطرية المستخلصة من نباتي الزعتر البري بين الموقعين. كانت هذه الزيوت مشابهة في اللون والرائحة والإذابة مع الاختلاف في الكثافة النوعية.

جدول (2) يوضح الخواص الطبيعية والنسبة المئوية للزيت الطيار في الوزن الجاف للشب

Thymus capitatus		الخواص الطبيعية
موقع سيدي الحمري	موقع أبو ذراع	
1.06c %	15b %	النسبة المئوية
0.8373	0.7792	الكثافة النوعية
اصفر فاتح		اللون
عطرية نفاذة		الرائحة
لا يذوب في الماء والإيثانول - يذوب في الأثير والهكسان والكلوروفورم		الإذابة

الحروف المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية ، والغير متشابهة تعني وجود فروق معنوية.

كذلك تبين زيادة في عائد الاستخلاص بزيادة قطبية المذيب حيث أن الاستخلاص بالطريقة المباشرة (الخلاصة الكحولية الكلية الخام) يعطي عائداً أعلى مقارنة بالاستخلاص بالمذيبات بالطريقة المتتابعة جدول (3)، وكانت عائد الخلاصة الكحولية الكلية الخام مع كل من الزعتر البري موقع (أبو ذراع — وسيدي الحمري) بنسبة (7.88% ، 13.22%)، على التوالي، ويتضح من ذلك أن المواقع المرتفعة تعطي أعلى عائد من المواقع المنخفضة، أما نتائج عائد الاستخلاص باستخدام المذيبات بالطريقة المتتابعة (هكسان، الكلوروفورم، إيثانول) لوحظ أن خلاصة الهكسان لنبات الزعتر البري من الموقعين (أبو ذراع - سيدي الحمري) نسبتها (3.8% ، 3.82%) تليه خلاصة كلوروفورم بنسبة (3.22% ، 3.36%) ثم خلاصة الإيثانول بنسبة (5.73% ، 9.32%) على التوالي، حيث لوحظ أن خلاصة الإيثانول تعطي أعلى عائد يليها خلاصة الهكسان ثم الكلوروفورم، يلاحظ أيضاً في الطريقة المتتابعة أن عائد الزعتر البري أعلى بالمواقع الأعلى ارتفاعاً في حالة خلاصة الإيثانول.

جدول (3) النسب المئوية المختلفة للخلاصات النباتية التي قد تم تحضيرها من النباتين تحت الدراسة.

النسبة المئوية	الخلاصات	الموقع
7.88%	A	موقع أبو ذراع
3.8%	B	
3.22 %	C	
5.73 %	D	
13.22 %	A	موقع سيدي الحمري
3.82 %	B	
3.36 %	C	
9.32 %	D	

A - خلاصة الكحولية الكلية الخام .

B - خلاصة الهكسان الناتجة من الاستخلاص المتتابع بواسطة السوكسلت.

C - خلاصة الكلوروفورم الناتجة من الاستخلاص المتتابع بواسطة السوكسلت.

D - خلاصة الأيثانول الناتجة من الاستخلاص المتتابع بواسطة السوكسلت.

3.2 توصيف الزيوت العطرية والمستخلصات المختلفة من نبات الزعتر البري بواسطة (TLC) (كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة) :

تم فصل مكونات الزيوت الطيارة لنبات الزعتر البري التي قد تم تحضيرها بالتقطير المائي وذلك باستخدام كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة (TLC)، تم استخدام نسب مختلفة من بعض المذيبات العضوية كطور متحرك وذلك لتحديد الخليط الأفضل لفصل مكونات الزيت جدول (4). أوضحت النتائج أن أفضل النظم المستخدمة هو خليط الهكسان: خلات الإيثانيل (10:90 v/v) تحت نفس الظروف. أظهرت نتائج الفحص الكروماتوجرافي عدم ظهور حزم ملونة عند الفحص في الضوء المنظور للمواقع تحت الدراسة، أما عند الرش بالجور الكاشف فانيلين/حمض الكبريتيك، بينت النتائج جدول (5) ظهور عدد من الحزم الملونة يتراوح عددها من (8، 9) للزعتر البري من موقع أبو ذراع وسيدي الحمري على التوالي، وتتراوح قيم RF (معدل الاحتباس)

بين (0.2 - 0.79) بالنسبة لموقع أبو ذراع، (0.19 – 0.79) موقع سيدي الحمري، ولوحظ وجود 6 مكونات أساسية تتشابه في زيت الزعتر البري *T. capitatus* من موقعي أبو ذراع وسيدي الحمري ولهم قيم Rf (0.25، 0.36، 0.55، 0.65، 0.75، 0.79) ذات ألوان مختلفة بعضها بنفسجي، وردي، أزرق، بنفسجي غامق.

جدول (4) النتائج المتحصل عليها من الفصل الكروماتوجرافي بواسطة TLC (كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة) للزيوت الطيارة المستخلصة من نباتي الزعتر البري *Thymus capitatus* من مواقع تحت الدراسة باستخدام الطور المتحرك Hexan : ethyl acetate (10 : 90).

الموقع وعدد الحزم		الضوء المنظور Visible light		استخدام الجوهر الكشاف محلول فنيلين/حمض الكبريتيك
الموقع (أبو ذراع)	لون الحزمة	R F (معدل السريان)	لون الحزمة	R F (معدل السريان)
1	-	-	أزرق فاتح	0.2
2	-	-	بنفسجي	0.25
3	-	-	أزرق غامق	0.36
4	-	-	أزرق	0.41
5	-	-	بنفسجي فاتح	0.48
6	-	-	بنفسجي فاتح	0.55
7	-	-	وردي	0.65
8	-	-	وردي	0.75
9	-	-	بنفسجي فاتح	0.79
الموقع (سيدي الحمري)	لون الحزمة	R F	لون الحزمة	R F
1	-	-	أزرق فاتح	0.19
2	-	-	بنفسجي فاتح	0.25
3	-	-	أزرق فاتح	0.36
4	-	-	أزرق غامق	0.44
5	-	-	بنفسجي فاتح	0.56
6	-	-	وردي	0.64
7	-	-	وردي	0.75
8	-	-	بنفسجي فاتح	0.79

ومما هو جدير بالذكر أن هناك العديد من الدراسات قد أشارت إلى أهمية استخدام كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة في تحديد وفصل محتوى الزيت الطيار والمركبات العطرية الرئيسية [23]، أما بقية النظم التي تم اختبارها بواسطة كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة فقد أظهرت عدد أقل من الحزم بعد الرش بالجوهر الكشاف فانيلين/حمض الكبريتيك كما هو موضح في الجدول (4) ، (5) ، ويتضح من ذلك أن توصيف الزيوت الطيارة بواسطة (TLC) أسهمت في فصل الحزم الرئيسية الموجودة في زيت نبات الزعتر تحت الدراسة وأن عامل الارتفاع عن سطح البحر لم يكن له تأثير معنوي على تركيب الزيوت الطيارة، ولم ينتج عنه اختلاف من حيث عدد الحزم وقيم معدلات السريان RF المختلفة في المواقع تحت الدراسة، لوحظ تشابه واضح بين كل من الموقعين أبو ذراع وسيدي الحمري.

جدول (5) النتائج المتحصل عليها من الفصل الكروماتوجرافي بواسطة TLC (كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة) للزيوت الطيارة المستخلصة مواقع تحت الدراسة وذلك باستخدام الطور المتحرك Hexan : ethyl acetate (5 : 95).

الزعتر البري <i>Thymus capitatus</i>				الموقع وعدد الحزم
استخدام الجوهر الكشاف محلول فنيلين/حمض الكبريتيك		الضوء المنظور Visible light		الموقع (أبو ذراع)
R F (معدل السريان)	لون الحزمة	R F (معدل السريان)	لون الحزمة	
0.4	بنفسجي فاتح	-	-	1

0.53	بنفسجي غامق	-	-	2
0.71	بنفسجي فاتح	-	-	3
RF	لون الحزمة	RF	لون الحزمة	الموقع (سيدي الحمري)
0.4	بنفسجي فاتح	-	-	1
0.55	بنفسجي غامق	-	-	2
0.66	بنفسجي فاتح	-	-	3

جدول (6) النتائج المتحصل عليها من الفصل الكروماتوجرافي بواسطة TLC (كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة) للزيوت الطيارة المستخلصة من مواقع تحت الدراسة باستخدام الطور المتحرك (benzen : ethyl acetate) (86 : 14 v/v) .

استخدام الجوه الكشاف محلول فليلين/حمض الكبريتيك		الضوء المنظور Visible light		الموقع وعدد الحزم
RF (معدل السريان)	لون الحزمة	RF (معدل السريان)	لون الحزمة	موقع أبودراع
0.2	أصفر	-	-	1
0.23	بنفسجي فاتح	-	-	2
0.35	بنفسجي	-	-	3
0.47	أزرق فاتح	-	-	4
0.63	أحمر فاتح	-	-	5
0.77	بنفسجي فاتح	-	-	6
0.84	بنفسجي	-	-	7
RF	لون الحزمة	RF	لون الحزمة	موقع سيدي الحمري
0.19	أصفر	-	-	1
0.36	بنفسجي غامق	-	-	2
0.47	أزرق فاتح	-	-	3
0.63	أحمر فاتح	-	-	4
0.78	بنفسجي فاتح	-	-	5
0.84	بنفسجي فاتح	-	-	6

3.3 توصيف المستخلصات المختلفة لنباتي الزعتر بواسطة TLC :

استخدمت كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة TLC لفصل المستخلصات النباتية المختلفة لنبات الزعتر البري وهي الخلاصة الكحولية الكلية والمستخلصات المتحصل عليها بطريقة الاستخلاص المتتابع وهي الهكسان والكلوروفورم والإيثانول وللحصول على فصل جيد بواسطة TLC استخدمت أنظمة مختلفة في هذه الدراسة توضح المكونات القطبية ، والمكونات الغير قطبية جدول (7) [24] وتم فحص الألواح الكروماتوجرافية في الضوء المنظور وتحت الأشعة فوق بنفسجية (U/V) وبعد الرش بالجوه الكشاف حمض كبريتيك/ميثانول وأيضاً بعد تعرض الألواح لأبخرة الأمونيا. والجدول (8) يبين النتائج المتحصل عليها من الخلاصة الكحولية الكلية الخام (A) وخلاصة الهكسان (B) ، خلاصة الكلوروفورم (C)، وخلاصة الإيثانول (D) وفقاً للمركبات الغير قطبية لنباتي الزعتر البري موقع أبو ذراع باستخدام الطور المتحرك Benzen: ethyle acetate (86 : 14 v/v) . أظهرت النتائج عدم وجود حزم في الضوء المنظور بالنسبة لنبات الزعتر البري موقع أبو ذراع. عند الرش بالجوه الكشاف حمض الكبريتيك/ميثانول مع التسخين عند درجة حرارة 110 م° لمدة 5 دقائق لوحظ ظهور حزم ملونة مختلفة كان عددهم (3، 8، 7) للخلاصات (A، B، C) أما الخلاصة (D) لم تظهر فيها حزم ملونة وتتراوح قيم RF ما بين (0.92-0.36) للخلاصة A، (0.91-0.26) للخلاصة B، (0.91-0.17) للخلاصة C بالنسبة للزعتر البري موقع أبو ذراع.

تبين من الجدول (8،7) بعد الرش بالجوه الكشاف الخلاصة (A، B، C) لنباتي الزعتر البري بعد الرش بالجوه الكشاف لوحظ اختلاف في عدد الحزم وألوانها وقيم RF من الموقعين (أبو ذراع — سيدي الحمري) حيث كانت الخلاصة الكحولية الكلية الخام (A) بها 8 حزم من موقع سيدي الحمري يقابلها 3 حزم من موقع أبو ذراع، وخلاصة الهكسان (B) ظهر بها عدد 6 حزم ملونة من موقع سيدي الحمري، و 8 حزم من موقع أبو ذراع، أما خلاصة الكلوروفورم (C) تبين وجود 6 حزم من موقع سيدي الحمري يقابلها 7 حزم من موقع أبو ذراع. ومما هو جدير بالذكر أن هذه الدراسة الكروماتوجرافية للمستخلصات المختلفة تحت الدراسة والمواقع المذكورة أوضحت وجود حزم مشتركة وأخرى مختلفة.

جدول (7) نتائج وقيم RF (معدل السريان) المتحصل عليها من الفصل الكروماترافي TLC للمستخلصات المختلفة من نبات الزعتر البري موقع أبو ذراع وذلك باستخدام الطور المتحرك (86:14 v/v) benzen : ethyl acetate

نوع الخلاصة	الوزن بالجرام	عدد الحزم	معدل RF السريان	الضوء المنظور	محلل H ₂ SO ₄ /ميثانول
الخلاصة A	5.16	3	0.92	-	بني
			0.45	-	أصفر
			0.36	-	زيتوني
الخلاصة B	2.52	8	0.91	-	بني
			0.77	-	بنفسجي فاتح
			0.55	-	بنفسجي فاتح
			0.45	-	أصفر
			0.4	-	بنفسجي
			0.35	-	زيتوني
			0.28	-	زيتي
الخلاصة C	2.9	7	0.26	-	زيتوني
			0.91	-	بني
			0.57	-	بنفسجي فاتح
			0.45	-	أصفر
			0.4	-	أخضر
			0.35	-	زيتي
			0.27	-	أصفر
الخلاصة D	7.1	-	0.17	-	أصفر
			-	-	-
			-	-	-

A - خلاصة الكحولية الكلية الخام.

B - خلاصة الهكسان الناتجة من الاستخلاص المتتابع بواسطة السوكسلت.

C - خلاصة الكلوروفورم الناتجة من الاستخلاص المتتابع بواسطة السوكسلت.

D - خلاصة الأيثانول الناتجة من الاستخلاص المتتابع بواسطة السوكسلت.

جدول (8) نتائج وقيم RF (معدل السريان) المتحصل عليها من الفصل الكروماترافي TLC للمستخلصات المختلفة من موقع سيدي الحمري وذلك باستخدام الطور المتحرك (86:14 v/v) benzene : ethyl acetate

نوع الخلاصة	الوزن بالجرام	عدد الحزم	معدل RF السريان	الضوء المنظور	محلل H ₂ SO ₄ /ميثانول
الخلاصة A	11.9	8	0.92	-	بني
			0.78	-	بنفسجي فاتح
			0.47	-	أصفر
			0.41	-	بنفسجي
			0.37	-	زيتوني
			0.3	-	زيتي
			0.2	-	أصفر

بنفسجي	-	0.11			
بنّي	-	0.9	6	3.44	B الخلاصة
بنفسجي فاتح	-	0.6			
بنفسجي	-	0.37			
أخضر	-	0.3			
زيتوني	-	0.17			
زيتوني	-	0.11			
أصفر	-	0.47	6	3.03	C الخلاصة
أخضر	-	0.4			
زيتي	-	0.35			
أصفر	-	0.27			
زيتوني	-	0.16			
-	-	-	-	8.39	D الخلاصة

A - الخلاصة الكحولية الكلية الخام.

B - خلاصة الهكسان الناتجة من الاستخلاص المتتابع بواسطة السوكسلت.

C - خلاصة الكلورفورم الناتجة من الاستخلاص المتتابع بواسطة السوكسلت.

D - خلاصة الأيثانول الناتجة من الاستخلاص المتتابع بواسطة السوكسلت.

وبالنسبة لنظام الكلورفورم: ميثانول: حمض الخليك (80 : 20 : 2 v/v/v) لمستخلصات من جميع المواقع جدول (9، 10)، كانت الصورة الكروماتوجرافية لمستخلصات نبات الزعر البري من موقعي أبو ذراع وسيدي الحمري عند تعرضها للأشعة فوق البنفسجية عند طول موجة (365nm) أظهرت عدد (3، 2، 4، 2) حزم ملونة في كلا الموقعين لكل من الخلاصات وكانت الخلاصة الكحولية الكلية (A) من موقعي أبو ذراع وسيدي الحمري مُشابهة من حيث عدد الحزم، قيم RF والألوان عند تعرضها للأشعة فوق البنفسجية وأبخرة الأمونيا، أما خلاصة الهكسان فظهرت حزمة واحدة متشابهة في قيمة RF (0.89) واللون، بينما خلاصة الكلورفورم كان لها حزمتان متشابهتان في قيم RF وهما (0.38، 0.84) على التوالي، وبينت النتائج بالنسبة لخلاصة الإيثانول ظهور حزمة مشابهة في قيمة RF وهي (0.48) للموقعين.

مما سبق يتضح أن TLC لها أهمية في تحديد عدد المكونات الرئيسية لنبات الزعر وهذا يتفق مع ما نشره [24] عن أهمية استخدام الكروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة TLC في التعرف على بعض المركبات الموجودة في النبات.

جدول (9) نتائج وقيم RF (معدل السريان) المتحصل عليها من الفصل الكروماتوجرافي TLC للمستخلصات المختلفة من موقع أبو ذراع وذلك باستخدام الطور المتحرك Chloroform: methanol: acetic acid (20 : 2 : 80 v/v/v)

التعرض لأبخرة الأمونيا			التعرض للأشعة فوق بنفسجية (nm365)			الضوء المنظور			الوزن بالجرام	نوع الخلاصة
الألوان	RF	عدد الحزم	الألوان	RF	عدد الحزم	الألوان	RF	عدد الحزم		
أصفر	0.86	4	أخضر	0.86	3	-	-	-	5.16	A الخلاصة
أصفر	0.52		أصفر فاتح	0.40						

أصفر فاتح	0.39		أصفر فاتح	0.17						
أصفر فاتح	0.18									
أصفر فاتح	0.51	2	أحمر	0.89	2	-	-	-	2.52	الخلاصة B
أصفر فاتح	0.39		أحمر	0.75						
أصفر فاتح	0.82	5	أحمر	0.91	4	-	-	-	2.9	الخلاصة C
أصفر فاتح	0.8		أخضر	0.82						
أصفر فاتح	0.51		أصفر فاتح	0.38						
أصفر فاتح	0.37		أصفر فاتح	0.15						
أصفر فاتح	0.14									
أصفر فاتح	0.84	3	أزرق	0.48	2	-	-	-	7.1	الخلاصة D
أصفر فاتح	0.57		أصفر فاتح	0.55						
أصفر فاتح	0.18									

A - الخلاصة الكحولية الكلية الخام .

B - خلاصة الهكسان الناتجة من الاستخلاص المتتابع بواسطة السوكسلت.

C - خلاصة الكلوروفورم الناتجة من الاستخلاص المتتابع بواسطة السوكسلت.

D - خلاصة الإيثانول الناتجة من الاستخلاص المتتابع بواسطة السوكسلت.

جدول (10) نتائج وقيم RF (معدل السريان) المتحصل عليها من الفصل الكروماتوجرافي TLC للمستخلصات المختلفة من موقع سيدي الحمري باستخدام الطور المتحرك Chloroform: methanol: acetic acid (80 :20 :2v /v/v).

التعرض لأبخر مونيا	التعرض للأشعة فوق بنفسجية (365nm)	الضوء المنظور	الوزن بالجرام	نوع الخلاصة
--------------------	-----------------------------------	---------------	---------------	-------------

الألوان	RF	عدد الحزم	الألوان	RF	عدد الحزم	الألوان	RF	عدد الحزم		
أصفر	0.86	4	أخضر	0.86	3	-	-	-	11.9	الخلاصة A
أصفر	0.54		أصفر فاتح	0.36						
أصفر	0.37		أصفر فاتح	0.17						
أصفر فاتح	0.18									
أصفر	0.86	2	أحمر	0.89	2	-	-	-	3.44	الخلاصة B
أصفر	0.81		أصفر فاتح	0.83						
أصفر	0.84	5	أخضر	0.84	4	-	-	-	3.03	الخلاصة C
أصفر	0.82		أصفر فاتح	0.55						
أصفر	0.52		أصفر فاتح	0.38						
أصفر	0.39		أصفر فاتح	0.20						
أصفر فاتح	0.19									
أصفر فاتح	0.84	3	أزرق	0.48	2	-	-	-	8.39	الخلاصة D
أصفر	0.59		أصفر فاتح	0.23						
أصفر فاتح	0.21									

A - الخلاصة الكحولية الكلية الخام.

B - خلاصة الهكسان الناتجة من الاستخلاص المتتابع بواسطة السوكسلت.

C - خلاصة الكلوروفورم الناتجة من الاستخلاص المتتابع بواسطة السوكسلت.

D - خلاصة الإيثانول الناتجة من الاستخلاص المتتابع بواسطة السوكسلت.

3.4 التعرف على مكونات الزيوت الطيارة لبناتي الزعتر البري بواسطة GC/MS:

أمكن التعرف على مكونات الزيوت الطيارة لنبات الزعتر المستخلصة بالتقطير المائي للأجزاء الهوائية بواسطة GC/MS وأظهرت نتائج تحليل مكونات الزيت الطيار المستخلص من نبات الزعتر البري تفاوتاً في عدد ونسب المركبات جدول (11) ونظراً لوجود عدد كبير من المركبات المختلفة ولسهولة التعامل معها تم تقسيم هذه المركبات إلى ستة مجموعات كيميائية مختلفة وهي (هيدروكربونات أحادية التربين، هيدروكربونات أحادية التربين المؤكسجة، هيدروكربونات السيسكوترابين، هيدروكربونات ثنائية التربين، هيدروكربونات ثنائية التربين المؤكسجة)، وقد تتواجد هيدروكربونات أخرى غير تربينية. وتم فصل عدد 12 مركب من زيت الزعتر البري موقع أبو ذراع تمثل 95.97% من إجمالي المركبات وعدد 20 مركب من زيت الزعتر البري موقع سيدي الحمري تمثل 87.53% من إجمالي المركبات، فيما يتعلق بالهيدروكربونات أحادية التربين تم التعرف على مركبين مشتركين في زيت الزعتر البري موقع أبو ذراع وسيدي الحمري α -thujene بنسبة (1.64%)، γ -terpinene بنسبة (0.76%)، α -pinene بنسبة (16.18%)، وتبين من الجدول أن نسبة المركبات الهيدروكربونية أحادية التربين في زيت الزعتر البري موقع سيدي الحمري كانت أعلى من نسبة المركبات في موقع أبو ذراع (24.11%، 2.4%) على التوالي، أما هيدروكربونات أحادية التربين المؤكسجة فقد تم التعرف على مركبان من زيت الزعتر البري موقع أبو ذراع وسيدي الحمري وهما Carvacrol ، Thymol بنسبة (48.56%، 21.28%)، (1.77%، 0.07%) على التوالي.

جدول (11) نتائج تحليل كروماتوجرافيا الغاز المدمج مع مطياف الكتلة GC/MS للزيوت المستخلصة من نبات الزعتر البري من المواقع تحت الدراسة

الرقم	الاسم	النسبة المئوية
-------	-------	----------------

موقع سيدي الحمري	موقع أبوزراع	الكيميائي	الرمز الكيميائي	وقت الاحتجاز (دقيقة)	
7.93	1.64	Alpha-thujene	C10H16	6.8	1
16.18	0.76	Gamma-terpinene	C10H16	8.74	2
21.28	48.56	Carvacrol	C10H14O	12.37	3
0.07	1.77	Thymol	C10H14O	14.93	4
8.59	7.41	Trans-caryophyllene	C15H24	17.77	5
0.78	-	Aromadendrene	C15H24	18.12	6
1.82	5.20	Alpha-humulene	C15H24	18.20	7
1.63	6.57	Ledene	C15H24	18.32	8
0.69	1.93	Gamma cadinene	C15H24	18.41	9
0.79	-	Delta- cadinene	C15H24	18.45	10
1.03	-	(-) – spathulenol	C15H24O	18.90	11
10.43	6.26	Caryophyllene oxide	C15H24O	19.00	12
0.25	-	Alpha cadinol	C15H26O	19.54	13
0.62	2.27	Iso aromadrene epoxide	C15H24O	19.60	14
1.08	0.71	Cis- alpha bisabolene	C15H24	19.70	15
1.11	-	Vulgarol B	C15H24O	19.81	16
2.63	-	2-ethyl- 4-methyl anisole	C10H14O	21.8	17
0.84	-	Hexanoic acid, oct – 3 –en – zyl ester	C14H26O2	22.78	18
8.54	12.18	Phenol,2,3,5,6 tetramethyl	C10H14O	23.96	19
1.24	-	Anisole	C7H8O	25.35	20
20	12	عدد المركبات التي تم التعرف عليها			
%24.11	%2.4	* هيدروكربونات أحادية التربين			
%21.35	%50.33	* هيدروكربونات أحادية التربين المؤكسجة			
%15.38	%21.82	* هيدروكربونات السيسكوترابين			
%13.44	%9.24	* هيدروكربونات السيسكوترابين المؤكسجة			
-	-	* هيدروكربونات ثنائية التربين			
-	-	* هيدروكربونات ثنائية التربين المؤكسجة			
%13.25	%12.18	* هيدروكربونات غير تربينية			
%87.53	%95.97	* النسبة المئوية الكلية للمواد العطرية التي قد تم التعرف عليها			

ولم يتم التعرف على مركبات هيدروكربونية ثنائية التربين، هيدروكربونات ثنائية التربين المؤكسجة، وتم التعرف على عدد 4 مركبات هيدروكربونية غير تربينية في الزيت من موقع سيدي الحمري ومركب واحد من موقع أبو ذراع وكان هناك مركب مشترك من موقع أبو ذراع وسيدي الحمري هو مركب phenol,2,3,5,6 tetramethyl كما هو موضح في الجدول (11)، وتتفق هذه النتائج مع ما ذكره [10] الذي قام بدراسة المحتوى الكيميائي للزيت الطيار المستخلص من أربعة أنواع من الزعتر ومن بينهم الزعتر البري ولقد وجد أن الزيت العطري لنبات الزعتر البري يحتوي على 4 مركبات وهم:

p-cymene (20-13%)، gamma-terpinene (14-7%)، Thymol (34-0.4%)، Carvacrol (63-5%)، وتتوافق مع ما نشره [25] عند تحليل الزيت الطيار الذي تم تحضيره من نبات الزعتر *T. capitatus* الذي ينمو في جنوب إيطاليا باستخدام GC/MS يحتوي على 75 مركب ويمثل Carvacrol، Thymol، أكثر من 50% من محتوى الزيت الطيار، ووجد أن borneol، p-cymene، alpha-terpinene يشغلون الغالبية من محتوى الزيت وكذلك وجود علاقة بين هذه المركبات حيث قلة المحتوى من Thymol يكون مصحوب بزيادة تركيزات gamma-terpinene، alpha-terpinene، myrcene والعكس صحيح ومع ما ذكره [26] عند تحليل الزيت العطري المستخلص من نبات *T. capitatus* باستخدام GC/MS وجد أنه يحتوي على المركبات العطرية الأتية: Carvacrol (83-62%)، p-cymene (17-5%)، gamma-terpinene (14-2%)، B-caryophyllene (4-1%) وأشارو [27] بعد دراسة وتحليل الزيوت العطرية المستخلصة من نبات *T. caramanicus* النامي في إيران بواسطة GC/MS عن وجود اختلافات كمية وكيفية للزيوت المستخلصة من النبات في مراحلها المختلفة (أثناء النمو الخضري، بداية التزهير، التزهير الكامل، وخلال مرحلة تكوين الثمار والبدور) وكانت نسب الزيت في مراحلها المختلفة هي (1.9%، 2.1%، 2.5%، 2.0%) على التوالي وعند تحليلها بواسطة GC/MS وجد (37، 37، 29، 35) مركبات عطرية على التوالي وكان المحتوى الرئيسي في كل العينات مركب Carvacrol أما المركبات العطرية الرئيسية الأخرى هي Thymol، alpha-terpinene، borneol، p-cymene، وقد أتضح في

هذه الدراسة أن مركب Carvacrol يوجد بنسب عالية في كلا الموقعين تحت الدراسة أما مركب Thymol يوجد بنسب منخفضة على خلاف ما ذكره [6] عند تحليل الزيوت العطرية باستخدام GC/MS من نباتي الزعتر البري والجبلي تم جمعها من مناطق جزيرة كريت تبين وجود مركب Carvacrol بنسبة مرتفعة في الزيت العطري من المناطق المنخفضة للنباتين ومركب Thymol يمثل المكون الرئيسي للنباتين من المناطق المرتفعة.

4. الخلاصة

أوضحت النتائج وجود اختلاف كمي وكيفي في المحتوى الكيميائي للزيوت العطرية لنبات الزعتر البري نتيجة اختلاف مواقع الدراسة، فقد أجريت دراسات كروماتوجرافية باستخدام كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة TLC لكل من الزيوت العطرية والخلاصات المختلفة، وكروماتوجرافيا الغاز المدمج مع مطياف الكتلة GC/MS لكل زيت من الزيوت العطرية. كانت النسبة المئوية للزيت العطري المتحصل عليه من نبات الزعتر البري من موقعي أبو ذراع وسيدي الحمري (1.5%، 1.06%) على التوالي. أسفرت نتائج GC/MS عن التعرف على عدد 12 مركب عطري بنسبة (95.97%) من إجمالي مكونات الزيت العطري لنبات الزعتر البري من موقع أبو ذراع، وعدد 20 مركب عطري بنسبة (87.53%) في زيت الزعتر البري من موقع سيدي الحمري علاوة على ذلك استخلاص عدد 7 مركبات عطرية للنبات في مواقع الدراسة وهي Aromadendrene, Gamma-terpinene, Alpha-thujene, Thymol, Carvacrol, Delta-cadinene, Alpha-humulene، ولقد كان مركب Carvacrol له نسبة تواجد مرتفعة في الموقعين أبو ذراع وسيدي الحمري لزيت نبات الزعتر البري (48.56%، 21.28%) كذلك تم فصل محتويات الخلاصات النباتية على ألواح من السيلكاجل بواسطة عدة أنظمة للفصل كما تم تحديد عدد الحزم المفصولة في كل خلاصة وحساب قيم RF لكل حزمة.

5. تضارب المصالح:

يعلن المؤلفون أنه لا يوجد تضارب في المصالح.

6. المراجع العربية:-

- [1] جامعة عمر المختار. 2005. دراسة وتقييم الغطاء النباتي الطبيعي في منطقة الجبل الأخضر التقرير النهائي. البيضاء.
- [5] أبو زيد، الشحات نصر. 1992. النباتات العطرية ومنتجاتها الزراعية والدوائية، الدار العربية للنشر والتوزيع، الطبعة الثالثة، القاهرة.
- [20] فيفي، فتحي عبد العزيز، خالد عبد العزيز محمد . 2000 . التحليل الدقيق لمتبقيات السموم والملوثات البيئية في مكونات النظام البيئي، دار الفجر للنشر والتوزيع - القاهرة.
- [23] العجيلي ، وصال حسن . 2007 . تأثير النشاط المضاد للأوكسدة لمستخلصات بعض النباتات العطرية المستوطنة على ثباتية زيت عباد الشمس . دراسة ماجستير من جامعة عمر المختار، كلية الموارد الطبيعية وعلوم البيئة.

المراجع الأجنبية

- [2] Bounatirou, S., S. Smiti, M. G. Miguel, M. N. Rejeb, M. Neffati, M. M. Costa, L. Faieiro, A. C. Figueireao, J. G. Barroso and L. G. Pedro. 2008. *Thymus capitatus* grown in Tunisia: antioxidant ability of the essential oils on linolic acid evaluated by different methods. Acta Horticulture.765:315-323.
- [3] Kulisic, T., V. Dragouic – uzelac and M. Milos. 2006a. Antioxidant Activity of aqueous Tea infusions prepared from Oregano Thyme and wild Thyme. Food Technology Biotechnology 44(4): 485 – 492 .
- [4] Goren, A.C., G. Bilsel, M. Bilsel, H. Demir and E. E. kocabas. 2003. Analysis of essential oil of *Coridothymus capitatus* (L.) and its antibacterial and antifungal activity. Zeithchrift for naturforschung. 58: 687 – 690 .
- [6] Karousou, R., D. N. Koureas and S. Kokkini. 2005 . Essential oil composition is related to the natural habitats : *Coridothymus_Capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 Site of Crete. Phytochemistry. 66 (22) : 2668-2673 .

- [7] Kaileh, M., W. V. Berghe, E. Boone, T. Essawi and G. Heageman. 2007. Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti-inflammatory and cytotoxic activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 113 (3) : 510-516.
- [8] Mathew, N., S. Misra-Bhattacharya, V. Perumal and K. Muthuswamy. 2008. Anti-filarial lead molecules isolated from *Trachyspermum ammi*. *Molecules*. 13 : 2156-2168.
- [9] Ozguven, N. and S. Tansl. 1998. Drug yield and essential oil of *Thymus vulgaris* L. as influenced by ecological and ontogenetical variations. *Journal of Agriculture and forestry*. 22: 537- 542.
- [10] Skoula, M., R. J. Grayer and G. C. Kite. 2005. Surface flavonoids in *Satureja thymbra* and *Satureja Spinosa* (Lamiaceae). *Biochemical Systematic and Ecology*. 33 : 541-544.
- [11] Adiguzel, A., H. Ozer, H. Kili and B. Cetin. 2007. Screening of antimicrobial activity of essential oil and methanol extract of *Satureja hortensis* on food borne bacteria and fungi. *Czech, Journal Food Science*. 25 (2) : 81-89.
- [12] Sokovic, M. D., J. Vukojevic, P. D. Marin, D. D. Brkic, and V. Vajs. 2009. Chemical Composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. *Molecules*. 14(1):238-249.
- [13] Kandil, O., N. M. Redwan, A. B. Hassan, A. M. M. Amer, H. A. El-Bama and W. M. M. Amer. 1994. Extracts and fraction of *Thymus capitatus* exhibit antimicrobial activities. *Journal of Ethnopharmacology*. 44(1): 19 – 24.
- [14] Cosentino, S., C.I. Tuberoso, B. Pisano, M. Satta, V. Mascia, E. Arzedi and F. Palmas. 1999. *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Letters of Applied Microbiology*. 29 (2) : 130-135.
- [15] Sherif, A. S. and A. El-Taife. 1986. *Flora of Libya* : Gymnosperms Al Fateh University.
- [16] AOAC. 1990. *Official methods of analysis* 13th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington. DC.
- [17] David, P. 1976. *The chemical analysis of foods*. 7th ed. Churchill livingston Edinburgh, London. and New York.
- [18] Balbaa, S. I. H., S. Hilal and A. Y. Zaki. 1981. *Medicinal plant constituents*. 3th ed General Organization for University and School Books.
- [19] Dob, T., D. Dahamane and C. Chelghom. 2008. Chemical composition of the essential oil of *Juniperus phoenicea* L. from Algeria. *Journal of Essential oil Research*. 20 (1) : 15-20.
- [21] Vekiari, S., A., V. Orcopulo, C. Tzia and C.D. Thompoulos. 1993. Oregano flavonoids as lipid antioxidants. *Journal of American Oil Chemists Society*. 70 (5) : 384-487.
- [22] Adams, R. P. 2001. *Identification of essential oil components by GC/MS*. Allured Publ. Crop. Carol stream. Illinois.
- [24] Shabana, M. M., E. Abdelsattar, M.H. Gonaid, M.M. Salama and A.A. Sleem. 2006. Phytochemical and biological investigation of *Leptadenia heterophylla* Decne. fruit and its latex. *Bull. Faculty Pharmacy Cairo University*. 44 (1) : 59-74.
- [25] Miceli, A., C. Negro and L. Tommasi. 2006. Essential oil variability in *Thymbra capitata* (L.) Cav. growing wild in Southern Apulia (Italy). *Biochemical Systematics and Ecology*. 34 (6) : 528 – 535
- [26] Bounatirou, S., S. Smiti, M. G. Miguel, L. Faleiro, M. N. Rejeb, M. Neffati, M. M. Costa, A. C. Figueiredo, J. G. Barroso and L. G. Pedro. 2007. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et link. *Food Chemistry*. 105: 146 – 155.

- [27] Ebrahimi S.N., J.Hadian , M.H. Mirijalili , A.Sonboli and M.Yousefzadi. 2008. Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. Food chemistry. 110(4):927-931..