

Valorisation de la Carotte Cultivée en vue d'une Application Biotechnologique

O. Bouchenak ^a, K. Yahiaoui ^b, N. Benhabyles ^c, R. Laoufi ^d, S. Boumaza ^c, S. Toubal ^c,
Dj. Blizak ^a, K. Arab ^c

^aLaboratoire Bioinformatique, Microbiologie appliquée et Biomolécules, Faculté des Sciences, Université M'Hamed Bougara de Boumerdes, Algérie.

^bLaboratoire Technologie Alimentaire, Faculté de Technologie, Université M'Hamed Bougara de Boumerdes, Algérie.

^cLaboratoire Valorisation et Conservation des Ressources Biologiques, Faculté des Sciences, Université M'Hamed Bougara de Boumerdes, Algérie.

^dLaboratoire de Technologies Douces, Valorisation, Physico-Chimie des Matériaux Biologiques et Biodiversité, Faculté des Sciences, Université M'Hamed Bougara de Boumerdes, Algérie.

Email of corresponding author: o.bouchenak@univ-boumerdes.dz

Received: 9 April 2020

Accepted: 25 June 2020

Published: 30 June 2020

Abstract

As part of the development of the Algerian flora, this study relates to a species of the Apiaceae family cultivated carrot (*Daucus carota* L.). The objective of this work is to enhance the integration of essential oils from carrots grown in cosmetics. Thus, a physicochemical analysis, followed by an evaluation of the antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil was carried out. With a yield of around $0.74 \pm 0.05\%$, the essential oil obtained was found to comply with standards dictated by AFNOR. Furthermore, the antioxidant activity has shown an ability to reduce the DPPH radical with an IC50 of 502.25 ± 0.060 mg / ml. As for antimicrobial activity, the aromagram revealed a sensitivity of the bacterial strains and a resistance of fungi and yeasts to the essential oil of the seeds of cultivated carrots. Thus, and in order to better enhance the goods made from this cultivated plant, HE is incorporated into a cosmetic product, toilet soap.

Keywords: *Daucus carota* L., essential oil, antioxidant activity, microbial activity.

Résumé:

Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, cette étude porte sur une espèce de la famille des Apiacées la carotte cultivée (*Daucus carota* L.). L'objectif de ce travail consiste à valoriser l'intégration des huiles essentielles de la carotte cultivée en cosmétique. Ainsi, une analyse physicochimique, suivie d'une évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne de l'huile essentielle a été réalisé. Avec un rendement de l'ordre de $0,74 \pm 0,05\%$, l'huile essentielle obtenue s'est révélée conforme aux normes dictées par AFNOR. Par ailleurs, l'activité antioxydante a montré une capacité à réduire le radical DPPH avec un IC50 de $502,25 \pm 0,060$ mg/ml. Quant à l'activité antimicrobienne, l'aromatogramme a fait ressortir une sensibilité des souches bactériennes, d'une part et une résistance des champignons et des levures à l'huile essentielle des graines de la carotte cultivée. Ainsi, et afin de mieux valoriser les biens faits de cette plante cultivé, l'HE est intégrer dans un produit cosmétique, un savon de toilette.

Mots clés : *Daucus carota* L., huile essentielle, activité antioxydante, activité microbienne.

INTRODUCTION

La valorisation des huiles essentielles des plantes médicinales passe inévitablement par des criblages phytochimiques, l'étude de leurs caractéristiques physico-chimiques et l'évaluation de leurs propriétés antioxydantes, et antimicrobiennes. Ces huiles représentent une nouvelle source de composés bioactifs à forte valeur ajoutée en

industries agro-alimentaires et pharmaceutiques [1,2]. L'Algérie est un pays riche en plantes aromatiques et médicinales susceptibles d'être valorisées dans différents domaines, notamment en cosmétologie. Ce dernier se base sur des normes précises d'ordre biologique et physicochimique [3]. Les produits cosmétiques naturels renferment une majorité d'ingrédients issus du monde végétal (plantes, fruits, fleurs...) exploités sous différentes formes (huiles essentielles, huiles végétales, poudres...) [4]. Dans cette étude on s'intéresse à la famille des Apiacées et plus précisément à l'espèce *Daucus carota* L. très répandue dans le bassin méditerranéen, et connue pour sa richesse en huiles essentielles et en caroténoïdes.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal

Les graines de la carotte cultivée proviennent de la wilaya de Sétif. Ces dernières sont conservées dans un flacon hermétiquement fermé et à température ambiante pour être utilisées dans les extractions et les évaluations de leurs activités biologiques.

Souches microbiennes

Les souches microbiennes testées proviennent de l'hôpital de Thénia et de l'institut Pasteur d'Alger. Au total, l'effet antimicrobien des huiles essentielles est évalué sur quatre souches bactériennes, deux levures et un champignon (**Tab. 1**).

Tableau 1. Souches microbiennes testées.

Microorganisme	Souches	Gram	Référence	Origine
Bactéries	<i>Staphylococcus aureus 1</i>	+	ATCC 25925	IPA
	<i>Staphylococcus aureus 2</i>	+	ATCC 25923	IPA
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	ATCC 4352	Hôpital de Thénia
	<i>Escherichia coli</i>	-	ATCC 25922	Hôpital de Thénia
Levures	<i>Saccharomyces kudriavzevii</i>	/	ATCC 2601	/
	<i>Candida albicans</i>	/	ATCC 2091	IPA
Champignon	<i>Aspergillus niger</i>	/	ATCC 20567	IPA

IPA : Institut Pasteur d'Alger, ATCC : American Type Culture Collection

Extraction de l'HE

Afin d'obtenir l'huile essentielle, nous avons opté pour l'hydrodistillation. Pour cela, 100g de graines sèches sont introduits dans 600ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 4h. L'huile essentielle obtenue est conservée à 4°C. Le rendement (R_{HE}), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue (HE) après extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M).

Caractérisations organoleptiques et physico-chimiques

L'appréciation organoleptique de l'huile essentielle se base sur l'aspect, la couleur et l'odeur [5]. Les indices physico-chimiques recherchés renferment la densité relative à 20°C, l'indice de réfraction, l'indice d'acide, l'indice d'ester et l'indice de peroxyde. Ces derniers sont déterminés selon les normes citées par AFNOR (2000) [5].

Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH

Le test de DPPH est fait selon la méthode décrite par Burits et Bucar (2000) [6]. Ainsi, 25µl de chaque concentration de l'HE testée (100µg, 200µg/ml, 400 µg/ml, 600 µg/ml, 800 µg/ml et 1000µg/ml) est mélangées avec 975µl d'une solution méthanolique de DPPH (0,0024%). L'ensemble est incubé pendant 30minutes à température ambiante et à l'obscurité, puis l'absorbance est lue à 517nm. L'acide ascorbique, préparé dans les mêmes conditions, est utilisé comme contrôle positif. En parallèle, une solution méthanolique de DPPH est prise comme contrôle négatif. Le pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH est calculé par la formule suivante :

$$I\% = (A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}) \times 100 / A_{\text{blanc}}$$

Tel que:

- A_{blanc} : absorbance du blanc (DPPH dans le méthanol) ;
- $A_{\text{échantillon}}$: absorbance du composé d'essai.

La cinétique des réactions de l'huile essentielle et de la vitamine E avec le DPPH est notée à chaque concentration examinée, dans le but de déterminer la concentration de l'huile essentielle et de la vitamine C nécessaire pour réduire 50% des radicaux libres dans le milieu réactionnel (IC50). Les tests sont répétés trois fois.

Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne de l'HE est réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé citée par Celitkas *et al.* (2007) [7], en utilisant des disques stériles absorbants de 6mm de diamètre préalablement imprégnés de 5µl de l'huile essentielle. Dans un premier temps, les souches bactériennes conservées à 4°C sont revivifiées sur gélose nutritive pendant 24h à 37°C, les levures et les champignons sont repiqués sur milieu sabouraud pendant 48h à 28°C. A partir des boites revivifiées, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées et mises dans 5ml d'eau physiologique à 0,9%. La suspension bactérienne est bien homogénéisée et la densité optique est lue à 625 nm. Les concentrations microbiennes des inocula sont évaluées par turbidité à 10^7 - 10^8 germes/ml, soit une absorbance comprise entre 0,2 et 0,3 pour les bactéries et entre 2 et 3 pour les levures et les champignons. Après solidification du milieu de culture préalablement coulé dans des boites de Petri, 100µl de la suspension microbienne à tester sont étalés sur la totalité de la surface du milieu Mueller Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les levures et les champignons. Dans un deuxième temps, des disques en papier Wattman imbibés par l'HE sont déposés en contact avec la gélose. Après une incubation de 24 heures à 37°C pour les bactéries et de 48 heures à 25°C pour les levures et les champignons, les résultats de l'effet antimicrobien de l'HE sont exprimés par la mesure du diamètre des halos d'inhibitions. La sensibilité des microorganismes testés à l'huile essentielle des graines de carotte cultivées est établie en se basant sur les normes données par Ponce *et al.* (2003) [8]. Trois essais sont effectués pour chaque microorganisme testé.

Incorporation de l'huile essentielle dans la composition d'un savon de toilette

Pour l'incorporation des HEs dans la composition du savon, et afin de mieux préserver leur qualité, nous avons opté pour la méthode à froid sans chauffage ni cuisson (entre 35 et 45°C). Cette dernière est rapide et nécessite des réactifs courants. La matière primaire

(blocs de savon) est confectionnée à partir d'un mélange de soude caustique dissoute dans l'eau, l'huile de palme, huile d'amande douce, et la glycérine. Ces derniers sont ensuite bien mélangés avec les autres ingrédients : extrait de parfum, colorant, quelque goutte d'huile essentielle de carotte (1 à 2 %), et du miel. L'estimation de la qualité du produit est basée sur un test d'appréciation appliqué sur 50 personnes. Il a porté essentiellement sur la couleur, l'aspect, l'odeur, la forme et l'effet adoucissant.

RESULTATS ET DISCUSSION

Rendement et propriétés organoleptiques

Le rendement moyen en HE obtenu montre la faible teneur en ces métabolites secondaires, soit $0,74 \pm 0,05$ %. Ce faible rendement reste tout de même supérieur à celui obtenu par El Kolli en 2008 [9] pour la carotte sauvage (*Daucus crinitus* L.), soit 0,3 %. Quant aux propriétés organoleptiques, les graines de la carotte cultivée possèdent une huile essentielle incolore, d'aspect liquide avec une odeur aromatique acidulée caractéristique. Ces résultats sont en accord avec ceux donnés par AFNOR (1989) [10].

Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques sont des critères très importants pour l'appréciation de la qualité d'une huile essentielle. Les valeurs des différents indices recherchés sont portées sur le tableau 2.

Tableau 2. Indices physico-chimiques caractérisant l'huile essentielle des graines de carotte cultivée.

Paramètres	Indices chimiques		
	Indice d'acide	Indice d'ester	Indice de peroxyde
HEs	2,103	155,40	6,82 méq O ₂ /Kg
Paramètres	Indices physiques		
	Densité à 20°C	Indice de réfraction à 20°	
HEs	0,923	1,481	

Vue d'ensemble, les résultats obtenus renseignent sur la bonne qualité de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de 100 g de graine de carotte cultivée. La densité relative est comparable aux valeurs signalées par Saha *et al.* (2016) [11] pour le cumin (0,90), et la Pharmacopée Européenne (2001) [12] pour le fenouil (0,960-0,970). L'indice de réfraction permet de classer l'HE des graines de carotte comme demi-siccative. La valeur obtenue est proche de celle de l'huile de cumin (1.52) [11]. Concernant les propriétés chimiques, l'HE des graines de carotte est caractérisé par un indice d'acide faible lui conférant ainsi une bonne stabilité et un degré de conservation élevé. Une valeur similaire est notée par Lazouni *et al.* (2006) [13] pour l'HE du fenouil (0,9). L'indice d'ester vient confirmer la stabilité de l'huile essentielle, soit une valeur de 155,40. Enfin, la valeur de l'indice de peroxyde notée lors de cette étude est de 6,82 méq O₂/Kg d'huile, ce qui vraisemblablement la classe parmi les huiles conventionnelles.

Activité antioxydante

A travers les résultats représentés par la figure 1, il ressort que le pouvoir réducteur de l'HE est proportionnel avec la concentration. Le pourcentage le plus élevé est noté pour une concentration de 1000 mg/ml, soit 69%. Toutefois, cette valeur reste inférieure à celle de l'acide ascorbique (96%). Ces valeurs s'inversent lorsqu'on dépasse la concentration 400mg/ml, et se rapproche de l'effet de balayage de l'acide ascorbique pour des concentrations plus élevées.

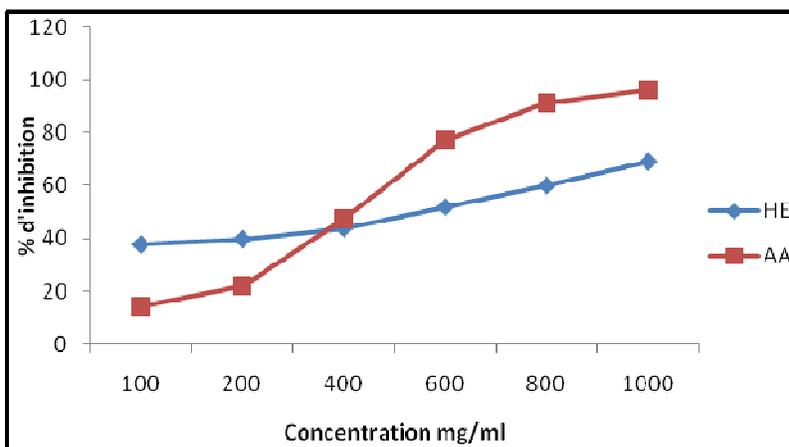


Figure 1. Pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle et de l'acide ascorbique en fonction des concentrations.

Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Dib *et al.* (2010) [14] sur les racines (60,26%) et la partie aérienne (53,12%) de la carotte sauvage : *Daucus crinitus* L., pour des concentrations respectives de 24 et 36 mg/ml. La capacité antioxydante d'un extrait est mesurée par l'IC50. Cet indice est inversement lié au pourcentage d'inhibition. L'huile essentielle des graines de Carotte et la vitamine C ont pu réduire le radical DPPH avec des valeurs d'IC50 de $502,25 \pm 0,060$ mg/ml et de $415,64 \pm 0,040$ mg/ml respectivement. L'inhibition du DPPH par l'HE peut être induite par sa capacité donatrice d'un atome d'hydrogène, ou par des réactions d'addition covalente, ou encore par la réduction de radicaux ou de peroxydes [15,16]. Les antioxydants sont qualifiés d'agents de prévention. En effet, leur action consiste à bloquer l'initiation de l'oxydation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou avec des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres. Les résultats de ces multiples actions résident dans la formation de produits finis non radicalaires [17,18].

Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *Daucus carota* L. était évaluée par un test de diffusion sur gélose. Les résultats indiqués dans la figure 2 indiquent le diamètre d'inhibition de la zone de croissance des microorganismes par l'HE.

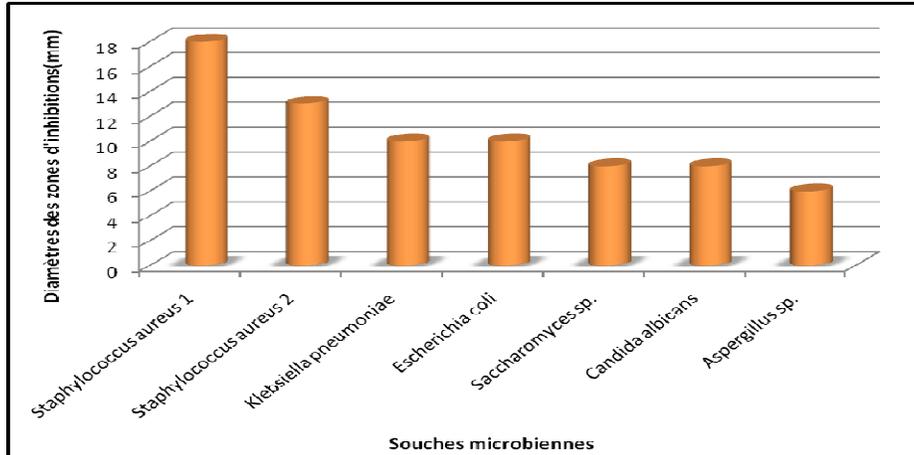


Figure 2. Diamètres (mm) des zones d'inhibition de la croissance des microorganismes par l'huile essentielle de carotte cultivée.

L'huile essentielle de la carotte cultivée présente une activité sur quelques souches microbiennes testées, avec des zones d'inhibition allant de 10 à 18 mm. Selon la classification de Ponce *et al.* (2003) [8], nos résultats montrent l'existence d'une activité modérée contre *Staphylococcus aureus* 1 et *Staphylococcus aureus* 2 avec des diamètres de zone d'inhibition respectivement de 18 et 13mm. De plus, il ressort que *Staphylococcus aureus* 1 est considérée comme étant la souche la plus sensible à l'HE. Ce diamètre de 18 mm et 13 mm reste toutefois inférieur à celui obtenu par Dib *et al* en 2010 [14] en exposant ces bactéries à l'HE de la partie aérienne de la carotte sauvage : *Daucus crinitus* L. (21mm) et de l'HE des racines de *Daucus* épineux : *D. muricatus* L. (22mm). Ces mêmes auteurs signalent des valeurs inférieures relevées sur des souches de *S. aureus* en utilisant l'HE des racines et de la partie aérienne de la carotte d'Espagne *Daucus carota* ssp. *hispanicus* (6mm). D'autre part, la souche *E. coli* a présenté un diamètre d'inhibition de 10mm, une valeur qui reste supérieur à celle obtenu par Dib *et al* en 2010 [14] avec l'HE des parties aériennes de *Daucus crinitus*, *Daucus muricatus* L. et *Daucus carota* ssp. *hispanicus* soit de 6mm. Cependant, les deux levures *Saccharomyces kudriavzevii* et *Candida albicans* ainsi que le champignon *Aspergillus niger* semblent être résistants à notre HE (diamètre <8). Par contre Dib *et al* en 2010 [14] ont prouvés que *Candida albicans* est une souche extrêmement sensible à l'HE de la partie aérienne de *Daucus crinitus* L. et *Daucus carota* ssp. *hispanicus* avec un diamètre d'inhibition de 30mm, et sensible a très sensible à l'HE des racines et de la partie aérienne de *Daucus muricatus* L. avec 12 et 16 mm de diamètre respectivement. Ces observations peuvent être attribuées à la nature et la structure chimique des composants actifs présents dans les huiles essentielles. En effet, l'activité biologique d'une HE est liée aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) en particulier le caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et le caractère hydrophile de leurs groupes fonctionnels qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Ainsi, ils peuvent induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K⁺) [15,16]. La composition de l'huile essentielle des graines de la carotte est caractérisée par la présence de plusieurs éléments principaux : carotol (alcool sesquiterpénique jusqu'à

77%), α -pinène 55%, sabinène 60%, géraniol 50% [17,18]. Les composés terpéniques et les alcools présents dans l'HE ont déjà montré une activité antibactérienne forte à modérée contre les bactéries Gram positives mais en général, une activité plus faible a été observée contre les bactéries Gram négatif [19,20]. Cependant, des composants mineurs interviennent dans l'activité antibactérienne, éventuellement en produisant un effet synergique entre les autres composants [21]. De cette manière, la valeur d'une huile essentielle tient à son « totum », c'est-à-dire à l'intégralité de ses composants et non seulement à ses composés majoritaires. Certaines études ont montré que l'activité des huiles essentielles est supérieure à celle de ses composés majoritaires testés séparément [22].

Intégration des HEs de la carotte cultivée dans la confection d'un savon de toilette

Le produit fini à base de l'huile essentielle de carotte, est de forme rectangulaire ou ronde, d'une couleur orange ou blanche, d'un aspect homogène et lisse, d'une odeur douce et avec un pH compris entre 6 et 7 (Fig. 3).



Figure 3. Aspect général du savon de toilette à base d'HE des graines de carotte cultivée.

Afin d'avoir une appréciation sur le produit fini, nous avons demandé à 50 personnes de tester le produit selon les cinq critères probablement établis : couleur, aspect, forme, odeur et caractère adoucissant. Les résultats de ce test sont consignés sur la figure suivante :

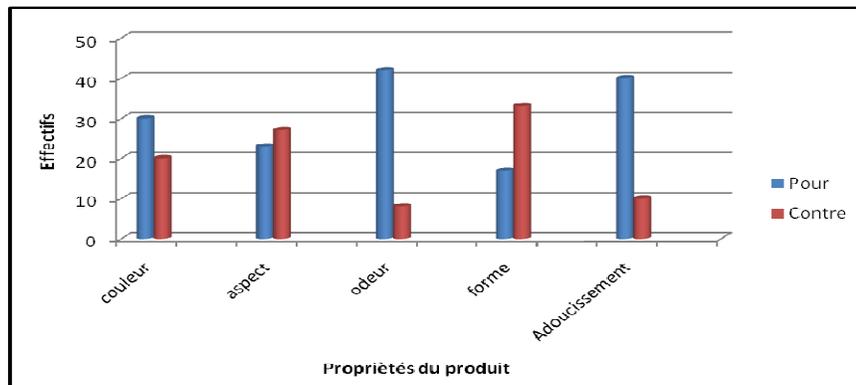


Figure 4. Appréciation de 50 personnes sur les propriétés du produit.

Il ressort des appréciations recueillies qu'à l'exception de la forme, qui reste toutefois un avis personnel, les autres paramètres sont satisfaisants.

CONCLUSION

Avec un rendement voisinant $0,74 \pm 0,05\%$, l'HE obtenue est incolore, d'un aspect liquide fluide et une odeur aromatique acidulée. Les composants de cette dernière ont réduit le radical DPPH avec une IC50 de 502,25 mg/ml, ce qui la qualifie d'un antioxydant puissant. Par ailleurs, quatre bactéries testées semblent être sensibles à l'huile essentielle avec des zones d'inhibition variant entre 10 et 18mm. Il s'agit des deux souches de *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*. Enfin, l'huile des graines de carotte est valorisée dans la conception d'un savon de toilette. Ainsi, cette étude a fait ressortir la nécessité de prévoir une éventuelle production cosmétique ou pharmaceutique à base d'huile essentielle de carotte riches en élément antioxydants.

REFERENCES

- [1] A. Crozier, M.N. Clifford, H. Ashihara- 2006. Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Blackwell Publishing Ltd, USA.
- [2] S. Hampikian- 2007. Créez vos cosmétiques bio. Terre Vivante, France.
- [3] R. Stiens- 2006. La vérité sur les cosmétiques naturels Leduc, France.
- [4] M.C. Martini- 2011. Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie. Lavoisier, France.
- [5] AFNOR- 2000. Huiles essentielles : échantillonnages et méthodes d'analyse. Recueil des normes françaises, France.
- [6] FM. Pirisi, P. Cabras, CF. Cao, M. Migliorini, M. Magelli- 2000. Phenolic compounds in virgin oil. Journal of Agricultural and food Chemistry, 48, 1770-1775.
- [7] O.Y. Celitkas, E. Bedir, F. Vardar Sukan- 2007. *In vitro* antioxidant activities of *Rosmarinus binus* L. seed oil: a potential solvent-free and high antioxydative edible oil. Food chemistry, 6, 1291-1296.
- [8] A.G. Ponce, R. Fritz, C.E. Del Valle, S.I. Roura- 2003. Antimicrobial activity of essential oils on native microbial population of organic Swiss Chard. LWT-Food Science and Technology, 36(7), 679-684.
- [9] M. El Kolli- 2008. Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Athemis pedunculata* Desp., d'*Athemis punctata* Vahl, et de *Daucus crinitus* Desf. Mémoire de Magister, UFA de Sétif.
- [10] AFNOR- 1989. Recueil des normes françaises (huiles essentielles), France.
- [11] S. Saha, S. Walia, A. Kundu, K. Sharma, J. Singh, B. Tripathi, A. Raina- 2016. Compositional and functional difference in cumin (*Cuminum cyminum*) essential oil extracted by hydro-distillation and SCFE. Cogent Food & Agriculture, 2: 1-9.
- [12] Pharmacopée Européenne- 2001. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de santé.
- [13] H.A. Lazouni, A. Benmansour, D. Chabane Sari, M.Dj.E. Smahi- 2006. Valeurs nutritives et toxicité de *Foeniculum vulgare* Miller. Afrique SCIENCE, 2(1), 94-101.
- [14] H. Dib, E. Hajj Semaan, R. Mrad, J. Ayoub, L. Choueiry, H. Moussa, G. Bitar- 2010. Identification et évaluation de l'effet probiotique des bactéries lactiques

- isolées dans des fromages caprins traditionnels. Lebanese Science Journal, 13(1), 43-58.
- [15] A. Favier- 2006. Stress oxydant et pathologies humaines oxidative stress in human diseases. Annales Pharmaceutiques Françaises, 64(6), 390-396.
- [16] F. Conforti, G. Statti, D. Uzunov, F. Menichini- 2006. Comparative chemical composition and antioxidant activities of wild and cultivated *Laurus nobilis* L. leaves and *Foeniculum vulgare* subsp. *piperitum* (Ucria) coutinho seeds. Biol Pharm Bull., 29(10), 2056-2064.
- [17] R. Yaacoub- 2009. Impact nutritionnel et sanitaire de la torréfaction des fruits et graines oléagineux. Intérêt de la fluorescence comme outil de contrôle des composés néoformés. Thèse de doctorat, Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (agro paris tech), France.
- [18] Z. Hellal- 2011. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie.
- [19] D. Kalemba, A. Kunicka- 2003. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. Current Medicinal Chemistry, 10, 813-829.
- [20] E.L. Souza, T.L.M. Stamford, E.O. Lima- 2006a. Sensitivity of spoiling and pathogen foodrelated bacteria to *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) essential oil. Brazilian Journal of Microbiology, 37, 527-532.
- [21] M. Gonny, P. Bradesi, J. Casanova- 2004. Identification of the components of the essential oil from wild Corsican *Daucus carota* L. using ¹³C-NMR spectroscopy. Flavour and Fragrance Journal, 19(5), 424-433.
- [22] M. Staniszewska, J. Kula, M. Wiczorkiewicz, D. Kusewicz- 2005. Essential oils of wild and cultivated carrots-the chemical composition and antimicrobial activity. Journal of Essential Oil Research, 17(5), 579-583.