رقم الترتيب :

رقم التسلسل :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبي

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا

مذكرة تخرج

لنيل شهادة ماستر أكاديمي

ميدان: علوم الطبيعة والحياة

شعبة :علوم بيولوجيا

تخصص: بيولوجيا وتثمين النبات

الموضوع

دراسة النشاطية المضادة للأكسدة والمضادة للأحياء الدقيقة لزيت الأساسي لأزهار نبات اللبين (*Euphorbia guyoniana*) بمنطقة وادي سوف

من إعداد:

الأسود سارة – عدايكة صبرينة

نوقشت يوم 2015/05/31 من طرف لجنة المناقشة:

شويخ عاطف	أستاذ مساعد أ	رئيسا	جامة الوادي
شمسه أحمد الخليفة	أستاذ مساعد أ	مؤطرا	جامعة الوادي
خراز خالد	أستاذ مساعد أ	ممتحنا	جامعة الوادي

الموسم الجامعي :2017/2016

بسم الله الرحمن الرحيم

الإهداء

بعد الحمد لله رب العالمين و الصلاة والسلام على

النبى الصادق الأمين

نهدي تحياتنا إلى الأستاذ الفاضل الدكتور شمة

أحمد الخليفه

و إلى الوالدين الكريمين

وكافة الأخوه والأخوات

وإلى زوج الزميله عدايكة صبرينه

وإلى كل من كان عونا لنا لإتمام هذا العمل

الأسود سارة

عدايكة صبرينة

شكر و عرفان

الحمد لله جل وعلا الذي وفقنا وسدد خطنا لإتمام هذا العمل

نتقدم بالشكر الجزيل للأستاذ الفاضل الدكتور شمسة أحمد الخليفة الذي لم يدخر أي

جهد من خلال توجهاته ونصائحه القيمة طيلة إشرافه على هذا العمل

ونتقدم بالشكر الجزيل إلى الأعضاء المشرفه على مناقشة هذا العمل الأستاذ الدكتور

شويخ عاطف و الأستاذ الدكتور خراز خالد

ونتقدم بفائق عبارات الشكر والعرفان إلى

الوالدين الكريمين على تشجيعهما المتواصل لنا

وإلى الأخوه والأخوات والأصدقاء

الـملخـص

تم خلال هذه الدراسة إستخلاص الزيت الأساسي لأزهار نبات *E.guyoniana* بطريقة التقطير Hydrodistilation وقدر المردود بـ 0.003%، تم تحليل الزيت بواسطة GC/MS ، وتم تحديد والكشف عن 37 مركب تمثلت في 99.88 % من إجمالي الزيت، وتم تحديد Tetratetracontane (31.40%)، 1-Pentacontanol (9.22%) و 1-Heptacosanol (6.33 %) كموكونات رئيسة. تم تحديد النشاطية المضادة للأكسدة بإستخدام إختبار الـ $DPPH^{\bullet}$، حيث أظهر الزيت نشاطية ضعيفة مقارنة مع حمض الأسكوربيك، كانت قيمة الـ IC_{50}= 1.83±0.01 mg/mL و 0.062±0.01 mg/mL على التوالي. وقد تم دراسة النشاطية المضادة للبكتيريا للزيت الأساسي بإستخدام طريقة الإنتشار بالأقراص ضد ستة سلالات بكتيرية، وأظهرت النتائج أن الـ *Serratia sp* حساس ضد الزيت، وكانت *S. aureus* مقاومة تقريبا، بينما كانت P. aeruginosa وE. Coli وS. typhi و Micrococus sp مقاومة للزيت.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، مضادات الأكسدة، النشاطية المضادة للبكتيريا، $DPPH^{\bullet}$، *Euphorbia guyoniana*، GC/MS.

Résumé

L'huile essentielle des fleurs d'Euphorbia guyoniana a été obtenue en utilisant la méthode d'hydrodistillation par l'appareil Clevenger. Le rendement en huile essentielle était de 0,003%, l'huile a été analysée par GC-MS. Trente-sept composés ont été détectés et identifiés, représentant 99,88% de l'huile totale. Tetratetracontane (31,40%), 1-pentacontanol (9,22%) et 1-heptacosanol (6,33) ont été identifiés comme constituants principaux. L'activité antioxydante a été déterminée à l'aide de la purification de DPPH, l'huile a montré une activité d'inhibition de la semaine comparée à l' acide ascorbique, où nous avons montré la valeur de IC50 = 1,83 ± 0,01 mg / mL et 0,062 ± 0,01 mg / mL, respectivement. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle a été étudiée en utilisant une méthode de diffusion du disque contre six souches bactériennes. Les résultats ont montré que Serratia sp est sensible à l'huile essentielle et S. aureus était presque résistant. Tandis que les autres souches bactériennes étaient la résistance à l'huile.

Mots-clés: huile essentielle, les antioxydants, activité antibactériene, $DPPH^{\bullet}$, *Euphorbia guyoniana*, GC/MS.

Abstract

The essential oil of the flowers of *Euphorbia guyoniana* obtained using hydrodistillation method by Clevenger apparatus. The yield of essential oil was 0.003%, the oil was analyzed by GC-MS. Thirty Seven compounds were detected and identified, representing 99.88% of the total oil. Tetratetracontane (31.40%), 1-Pentacontanol (9.22%) and 1-Heptacosanol (6.33) were identified as the main constituents. The antioxidant activity was determined using $DPPH^{\bullet}$ scavenging, the oil exhibited week inhibition activity comparing with acide ascorbique, where we showed the value of IC_{50} = 1.83 ± 0.01 mg/mL and 0.062 ± 0.01 mg/mL, respectively. Antibacterial activity of essential oil has been investigated by usind disk diffusion method against six bacterial strains. The results showed that *Serratia sp* is sensitive against the oil and *S. aureus* was almost resistance. whereas, the other bacterial strains were resistance to the oil.

Keywords: essential oil, antioxidant, antibacterial activity, $DPPH^{\bullet}$, *Euphorbia guyoniana*, GC/MS.

الفــهــرس

المـقـدمة	
الجـزء النظـري	
الفـصل الأول: مضادات الاكسدة	**الصفحة**
I-1- المضادة للأكسدة	03
I-1- مفهوم الأكسدة Oxidation	03
I-2- الإجهاد التأكسدي	03
I-3- الأضرار الناتجه عن الإجهاد التأكسدي	03
I-3-1- أكسدة الليبيدات	04
I-3-1-1- المرحلة الأبتدائية	04
I-3-1-2- مرحلة الإنتشار	04
I-3-1-3- المرحلة النهائية	04
I-3-2- أكسدة الـ ADN	05
I-4- مفهوم مولدات الأكسدة (الجذور الحرة)	05
I-5- أنواع الجذور الحرة	06
I-5-1- التصنيف حسب الأنواع	06
I-5-2- التصنيف حسب الأستقرار	07
I-6- مصادر الجذور الحرة	07
I-6-1- المصادر الداخلية	07
I-6-1-1- الأغشية الميتوكندرية	07
I-6-1-2- انزيم NADPH oxidase	08
I-6-1-3- انزيم NOS	08
I-6-2- المصادر الخارجية	08
I-7- أضرار الجذور الحرة	08
I-8- مضادات الأكسدة	09
I-8-1- مضادات الأكسدة الإنزيمية Enzymatic antioxidants	09
I-8-2- مضادات الأكسدة الغير إنزيمية Non-enzymatic antioxidants	09
I-8-3- مضادات الأكسدة الصناعية	09
I-8-4- مضادات الأكسدة الطبيعية	09
10- أهمية مضادات الأكسدة	10
11- عائلة الجزيئات ذات الفاعلية المضادة للأكسدة	10
12- النشاطية المضادة للأكسدة	10
الفـصل الثـاني: الزيوت الأساسية	
II- الزيوت الأساسية	12
II-1- تعريف الزيوت الأساسية	12
II-2- إستخدمات الزيوت الأساسية	12
II-3- فوائد الزيت الأساسي	12
II-4 - مكونات الزيت الأساسي	13
II-4-1 - التربينات	13
II-4-2- المركبات العطرية	18
II-4-3- مركبات أخرى	20

II-5- الخواص الفيزيائية لزيوت الأساسية	21
II-6- الخصائص الفرماكولوجية للزيوت الأساسية	21
II-7- نشاطية الزيوت الأساسية المضادة للأكسدة	21
II-8- طرق إستخلاص الزيت الأساسي	21
II-9- طرق التعرف على الزيت الأساسي	22
II-10- سمية الزيوت الأساسية	22
II-11- طرق تحليل الزيوت الأساسية	22
II-11-1- كروماتزغرافيا الغاز CPG	22
II-11-2- الدمج بين كروماتوغرافيا الغاو والمطيافية الكتلة CPG/MS	23
II-11-3- كروماتوغرافيا السائل عالية الآداء HPL C	23
الجـزء العمـلي	
الفـصل الأول: المـواد والطـرق	
III- المواد و الطرق	24
III-1 - نبات *E. guyoniana*	24
III-1-2- تصنيف نبات *E. guyoniana*	24
III-1-3- أماكن تواجد النبات	25
III-1-4- استعمالات النبات	26
III-1-5- مكان و وقت جمع النبات و الجزء المستعمل	26
III-1-6- درسات سابقة حول نبات *E. guyoniana*	26
III-2)- الأنـواع البكتيريـة المستـعملـة أثنـاء الـدراسـة	28
III-2-1- تعريف البكتيريا	28
III-2-2- *Escherichia coli*	28
III-2-3- *Staphylococcusau aureus*	29
III-2-4- *Salmonella typhi*	29
III-2-5- *Micrococcus sp*	30
III-2-6- *Serratia sp*	30
III-2-7- *Pseudomonas aeruginosa*	31
III-3)- الأدوات والمـواد المستعملـة	31
III-4)- طـريقـة إستخـلاص الزيـت الأسـاسـي	32
III-5)- طـريقـة الكشـف وتحليـل مكـونـات الزيـوت الأسـاسية	34
III-6)- النشـاطيـة المضـادة للأكسـدة	35
III-6-1)- تحضيـر محلول الـ $DPPH^{\bullet}$	35
III-6-2)- تحضيـر تراكيـز	35
III-6-2-1)-تحضير تراكيز الزيـت الأسـاسي المستخلـص	35
III-6-2-2)- تحضير تراكيز حمض الأسكوربيك (فيتامين C)	36
III-6-3)- تحضيـر عينـات الزيـت مـن أجـل قـراءة النشـاطيـة المضـادة للأكسـدة	36
III-6-4)- قـراءة نتـائـج النشـاطيـة المضـادة للأكسـدة	37
III- 7)- النشـاطيـة المضـادة للبكتيـريا	37
III-7-1)- قـراءة نتـائـج النشـاطيـة المضـادة للبكتيـريـا	38
الـفصل الثـاني: النتائج و المناقشة	

IV- النتائج والمناقشة	40
IV-1- النتائج	40
IV-1-1- تحليل GC/MS	40
IV-1-2- النشاطية المضادة للأكسدة	43
IV-1-3- النشاطية المضادة للبكتيريا	46
IV-2- المناقشة	47
الملخص	
قائمة المراجع	

فـهـرس الأشكال

الرقم	عـنـوان الـشكـل	الصفحة
01	تأثير الإجهاد التأكسدي	03
02	فوق أكسدة اللبيدات	04
03	بنية الجذر الحرة جزيئة الـ (DPPH)	05
04	طريقة أكسدة الجذور من الصورتها الحرة على الصوره المستقره	11
05	طريقة تشكل التربينات	13
06	مركبات تربينيه أحادية غير حلقية هيدروكربونية	14
07	تربينيه أحادية (أحادية الحلقة الهيدروكربونية)	14
08	مركبات تربينيه أحادية (ثنائية الحلقة هيدروكربونية)	15
09	مركبات تربينيه أحادية غير حلقية كحولية	15
10	مركبات تربينيه أحادية (أحادية الحلقة كحولية)	16
11	مركبات تربينيه أحادية (ثنائية الحلقة الكحولية)	17
12	مركبات تربينيه أحادية ألدهيديه وكتيونية	17
13	مركبات تربينيه نصف ثلاثية (السيسكوتيربينات)	18
14	مركبات سينولية	18
15	مركبات ألدهيدية	19
16	فينولي (القرنفلين)	20
17	مركب إيثرات- أكسيد Ethers-Oxydes	20
18	نسب تواجد المركبات الكيميائية في الزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana*	40
19	التركيب الكيميائي للمركبات السائدة في الزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana*	42
20	منحنى نسبة تثبيط الجذور الحرة AA 1 لزيت أزهار نبات *E.*	43

	guyoniana	
21	منحنى نسبة تثبيط الجذور الحرة AA 2 لزيت أزهار نبات *E. guyoniana*	44
22	منحنى نسبة تثبيط الجذور الحرة AA 3 لزيت أزهار نبات *E. guyoniana*	44
23	منحنى نسبة تثبيط الجذور الحرة Vit. C لزيت أزهار نبات *E. guyoniana*	45
24	منحنى نسبة تثبيط الجذور الحرة AA % لزيت أزهار نبات *E. guyoniana*	45
25	نسبة تواجد المركبات الكيميائية في الزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana* بعد تصنيفها	48

فـهـرس الجـداول

الرقم	عنوان الجدول	الصفحة
01	تصنيف نبات *E. guyoniana*	23
02	بعض المركبات الكيميائية التي يحتويها نبات *E. guyoniana*	26
03	الأدوات و الموادالمستعملة خلال الدراسة	31
04	المركبات الكيميائية التي يحتويها الزيت الأساسي لأزهار طازجه لنبات *E. guyoniana*	39
05	الإمتصاصية و النشاطية المضادة للأكسدة لزيت نبات *E. guyoniana* وحمض الأسكوربيك	43
06	يوضح النشاطية المضاد للأحياء الدقيقة لزيت الأساسي أزهار نبات *E. guyoniana*	47
07	تصنيف المركبات الكيميائية المحتوية بزيت أزهار نبات *E. guyoniana*	47

فـهـرس الـوثـائق

الرقم	عـنـوان الـوثيـقة	الصفحة
01	مخطط يوضح طريقة فصل الزيت الأساسي	33
02	مخطط يوضح طريقة تحضير الـ DPPH	35
03	مخطط يوضح طريقة التحضير تراكيز الزيت	36

04	مخطط يوضح طريقة تحضير العينات للقراءة	37

فـهرس الصـور

الرقم	عـنـوان الصـورة	الصفحة
01	نبات *E. guyoniana*	24
02	خريطة توزيع النبات في إفريقيا	25
03	*Escherichia coli*	28
04	*Staphylococcus eureus*	29
05	*Salmonella typhi*	30
06	*Serratia sp*	30
07	*Pseudomonas aeruginosa*	31
08	جهاز Clevenger	33
09	جهاز الـ (GC/MS)	34
10	حساسية البكتيريا ضد الزيت الأساسي لأزهار لنبات *E. guyoniana*	47

قـائمـة المـختـصرات

AND Acide Désoxyribonucléique

CAT Catalase

CPG Chromatographie en phase gazeuse

DMSO Dimethyl sulfoxide

DPPH 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

DPPH –H dipheny lpicrylhydrazine

E. coli *Escherichia coli*

E. macroclad *Euphorbia macroclad*

E. gaillardotii *Euphorbia gaillardotii*

eNOS Enzyme nitric oxide synthase

EtOH Ethanol

FID Détecteur à ionisation de flamme

GC Chromatographie en phase gazeuse

GC/MS Gas Chromatograph/ Mass Spectrometer

GPx Glutathion peroxidase

HPL C High performance liquide chromatographie

IC_{50} Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH

iNOS inducible nitric oxide synthase

MeOH Methanol

MS Mass spectrometry

NADPH Nicotinamide adenine dinucliotide phosphate

NOS Nitric oxide synthase

$O_2^{\bullet-}$	Superoxide anion
$OH^{\bullet}$	Hydroxyl radical
P. aeruginosa	*Pseudomonas aeruginosa*
RI	Retention index
ROS	Reactive oxygen species
S. aureus	*Staphylococcusau aureus*
S. typhi	*Salmonella typhi*
SOD	Superoxide dismutase
UV	Ultraviolet
Vit C	Vitamin C (Acide ascorbique)

المقدمة

مـقدمـة

تستعمل النباتات منذ القدم في الطب التقليدي لعلاج عدة أمراض في الطب التقليدي عبر العصور العابره فقد شهد الطب التقليدي عدة تطورات، حيث تؤكد البُرديات والأعشاب التي وجدت بجانب الجثث المحنطة أن المصريون هم أقدم من إستعمل النبات في علاج بعض الأمراض وذلك منذ 3000 سنة ق م فقد إستعملو المر ووالآفيون والصبار والشكوران كنباتات طبية لعلاج المرضى. (بوديار ط.، 2008)

يمكن تعريف النبات الطبي على أنه النبات الذي يحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه على مادة كيميائية أو أكثر بتركيز منخفض أو مرتفع ولها القدرة الفسيولوجية على معالجة مرض معين، أو على الأقل التقليل من حدة أعراضه إذا ما أعطيت للمريض إما في صورتها النقية بعد إستخلاصها من المادة النباتية، أو إستخدامها وهي مازالت على سيرتها الأولى في صورة عشب نباتي طازج أو مجففة أو مستخلصة جزئيا. وتحتل النباتات الطبية مكانة كبيرة في صناعة الأدوية فهناك الكثير من الدول التي تبدى أهمية بالغة في إنتاجها لأنها المصدر الأساسي للعقاقير والمواد الفعالة التي تدخل في صناعة الأدوية التي تكون على شكل مستخلصات (مواد فعالة وأو مواد خام) لإنتاج بعض المركبات الكيميائية لصناعة الأدوية وهذا ما يجعلنا لا نستطيع الإستغناء عن النباتات الطبية. ومن أجل الإستفاده من المواد الفعالية المحتويه بالنباتات الطبية بدأ خلال القرن التاسع عشر إستخلاص تلك المواد (ميثاق ج.، 2010)، قد يكون المستخلص على شكل مستخلصات مائية، كحولية أو على شكل زيوت أساسية.

إستخدمت المستخلصات النباتية لعلاج الكثير من الأمراض التي غالبا ما يكون السبب الرئيسي لها هو عمليات الأكسده الحاصلة بالجسم، حيث ترتبط وظائف الجسم بتفاعلات الأكسدة والإرجاع إلى إنتاج الأنواع الأكسجينية النشطة ومضادات الأكسدة الطبيعية، فالتوازن بين إنتاج هذه الجزيئات والتخلص منها يضمن الحفاظ على الوظائف الفيزيولوجية الطبيعية للجسم (Ozgen U et *al*., 2006) إلا أن الإفراط في إنتاجها يؤدي إلى أضرار على المستوي الجزيئي مسببة ضرر للأنسجة وحدوث العديد من الأمراض، ويمكن حماية الجسم من أضرار هذه الجزيئات عن طريق مضادات الأكسدة والتي تستعمل بكثرة كإضافات في الأغذية أو أشكال صيدلانية مختلفة (شمسة ب.،2015).

بالإضافه الى ذلك تعد الإصابات البكتيرية من أهم مسببات المرض لذلك إهتم الإنسان بالبحث عن مواد وأدوية طبيعية معالجة من خلال إجراء عدة تجارب وبحوث حول المستخلصات النباتية وخاصة الزيوت الأساسية، التي تتواجد بكثير عند النباتات الراقية، مثل الصنوبريات les conifères والسودبيات Rutaceae والآسيات Myrtaceae والشفوية Lamiaceae والمركبة Asteraceae وتعد نسبة الزيوت الأساسية ضعيفة فغالباً ما تكون أقل من 1% وهناك حالات شاذة تكون نسبة الزيوت الأساسية بها معتبرة كالقرنفل تصل لـ 15% ، وقد استخدمت الزيوت الأساسية لأول مرة من طرف المصريون القدمى في العديد من المجالات كالطب وصناعة العطور، ويظهر الباحثين مدى فعاليتها في علاج عدة

أمراض وإمكانية إستعمالها كمضادات للبكتيريا والفطريات وأهميتها في تثبيط الخلايا السرطانية التي تعدة عمليات الأكسدة السبب الرئيسي لها (زعتر ل.، 2010؛ قبيي ح.، 2002).

تعرف النباتات المنتمية لعائلة Euphorbiaceae بفعاليتها لعلاج عدة أمراض الناتج عن عمليات الأكسدة أوالإصابات البكتيرية وتنتمي هذه العائلة لشعبة كاسيات البذور، وتضم حوالي 10000 نوع موزع على 300 جنس نباتي تقريبا، تتميز هذه العائلة بإحتوائها على مادة اللاتكس Latex وهي نباتات معمره تعيش أكثر من سنتين وتكون غالباً على شكل شجيرات أو أشجار وقد تبدى بعض الأنواع منها المظهر العصاري أخذتاً شكل ثمار الصبار، والأوراق تكون متساوية بسيطة في بعض الأنواع العصارية فيما تمتلك الأنواع والأجناس الأخرى أوراقاً إما متقابلة أو راحيه مثل أوراق النخيل أو متقابله وراحيه في نفس الوقت مثل نبات الخروع، أما الأزهار فتكون ذات شكل متغير فقد تكون مقلصه بدون تويج في شكل سنابل أو في شكل عناقيد زهرية تنتهي بأزهار في القمة، تظهر الثمار غالبا فيشكل كبسولة ذات ثلاث فصوص وقد تضم أحياناً فصين فقط ونادراً ما تحتوي من 4- 6 فصوص ويحتوي كل فص على بذرة واحده، بالعوده لإهمية نباتات هذه العائلة نجدها قد أستعملت في الطب القديم لعلاج العديد من الأمراض مثل الأمراض المعدية والمعوية، حيث تمتلك هذه الأنواع خواص مضادة للبكتيريا والفطريات ومضادة للإلتهابات المختلفة، وقد استخدمت في قارة افريقيا بعض أنواع هذه العائلة كمضادات لدودة المعوية ومثبطه أو قاطعه لنزيف ومانعة للحمل ولعلاج الملاريا والروماتيزم والزهري.(بوديار ط.، 2008؛ Ounissa S., 2014؛ Haba H., 2008)

وقد تم إختيار خلال هذه الدراسة نبات *Euphorbia guyoniana* الذي ينتمي إلى عائلة Euphorbiaceae وذلك لكثرة إنتشارة بمنطقة وادي سوف ولغياب درسات حول فعالية الزيت الأساسي لأزهار هذا النبات، وهذا العمل قائم على تثمين فعالية الزيت الأساسي لأزهار نبات *Euphorbia guyoniana* ضد النشاطية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا، وبصدد ذلك قسمت هذه الدراسة لجزيئين كالتالي:

الجزء النظري يضم فصلين:

- الفصل الأول حول مضادات الأكسدة.
- الفصل الثاني حول الزيوت الأساسية.

الجزء العملي يضم فصلين:

- الفصل الأول يشمل المواد و الطرق
- الفصل الثاني يتمثل في النتائج والمناقشة.

الجزء النظري

الفصل الأول:

مضادات

الأكسدة

I- مضـادات الأكسدة:

I-1)- مفهوم الأكسدة Oxidation:

هي عملية إرجاع الجزيئات أو الذرات الغير متزنه لإلكترون من مركب آخر في الخلية لإستعادة توازنها، كما يمكن تعريف الأكسدة على أنها مجموعة من التفاعلات الهامة التي توفر الطاقة الضرورية للخلايا على شكل ATP. (بنت عصام بن صالح الباز ن.، 2009؛ بولوطة ح.، 2009)

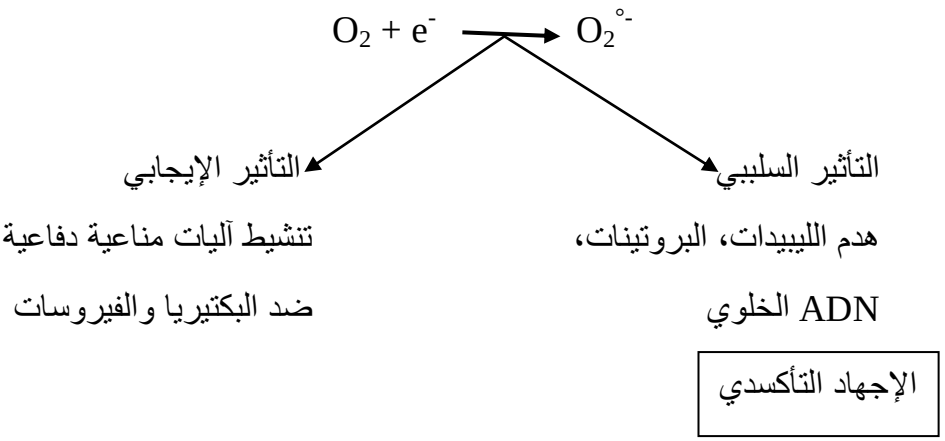
I-2)- الإجهاد التـأكسـدي:

يعرف الإجهاد التأكسدي (oxidative stress) في النظام البيولوجي على أنه إختلال في التوازن بين مضادات الأكسدة ومولدات الأكسدة، ويعود ذلك الإختلال إلى الإنتاج المفرط لمولدات الأكسدة و/أو نقص في مضادات الأكسدة، حيث تسبب الجزيئات المؤكسدة أضرار خلوية ونسيجية غالبا غير عكسية. (بن سلامة ع ر.،2012؛ بولوطة ح.، 2009)

يرتبط الإجهاد التأكسدي بالشيخوخه والعديد من الأمراض مثل الالتهاب، تصلب الشرايين (قندولي ش.، 2009) وأمراض القلب، إرتفاع الضغط الدموي، حوادث المخ الوعائية ومرض السكري (ابن الشيخ ع.، 2008). السرطان الروماتيزم، الإلتهابات المعدية- المعوية، والقرحة المعدية. (Atawodi., 2005 ; Georgetti et al., 2003)

I-3)- الأضـرار النـاتجـة عـن الإجـهـاد التـأكسـدي:

يؤثر الأجهاد التأكسدي على الوظائف الخلوية سلبياً وإيجابياً:



الشكـل (1): تأثير الإجهاد التأكسدي (Joanny M et Bourg F., 2005)

I-3-1)- أكسدة اللبيدات:

تحتوي المركبات اللبيدية على عدة روابط غير مشبعة، تتأثر بالأكسجين حيث تتهدم اللبيدات بواسطة آلية فوق أكسدة اللبيدات مسببة رائحة مزعجة، وينقسم هذا التفاعل إلى ثلاث مراحل:

I-3-1-1)- المرحلة الأبتدائية:

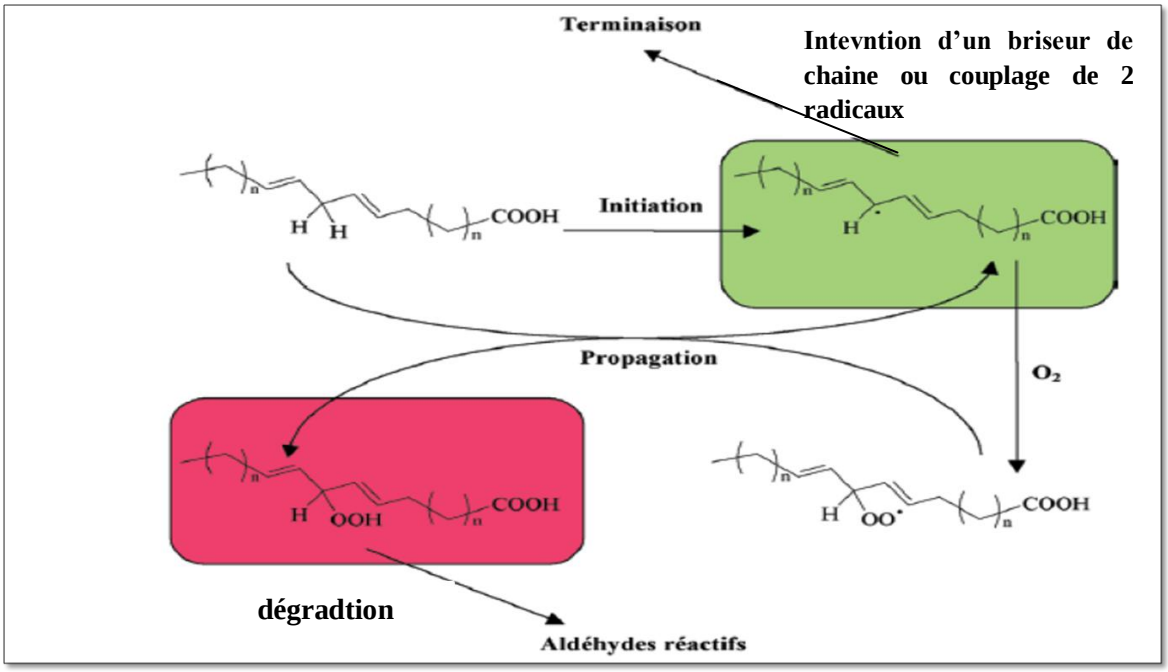
تحدث هذه المرحلة بتحفيز جذري للرابطة C-H لسلسة الأحماض الدهنية وتتشكل جذور جد فعالة في وجود الأكسجين وهي جذور بيروكسيلة. (لبنى ع.، 2010)

I-3-1-2)- مرحلة الأنتشار:

وهي إمتداد للمرحلة الأولى، الجذر البيروكسيلي يأخذ هيدروجين من جزيئة أخرى من الأحماض الدهنية وبالتالي جذر جديد يتحويل الحمض الدهني إلى هيدروبيبروكسيد. (لبنى ع.، 2010)

I-3-1-3)- المرحلة النهائية:

تتعرض الهيدروبيروكسيدات الناتجة إلى عدة تحولات، إما ترجع بواسطة إنزيم GPx أو تستمر أكسدتها وتتجزأ إلى ألدهيدات سامة. تتوقف هذه التفاعلات المتتالية إما بتدخل مركب مضاد للأكسدة والذي يقوم بدور كاسر للسلسة، أو بتفعال جذرين مع بعض لإنتاج جزيئة مستقرة. (Hannebelle T et al., 2004)



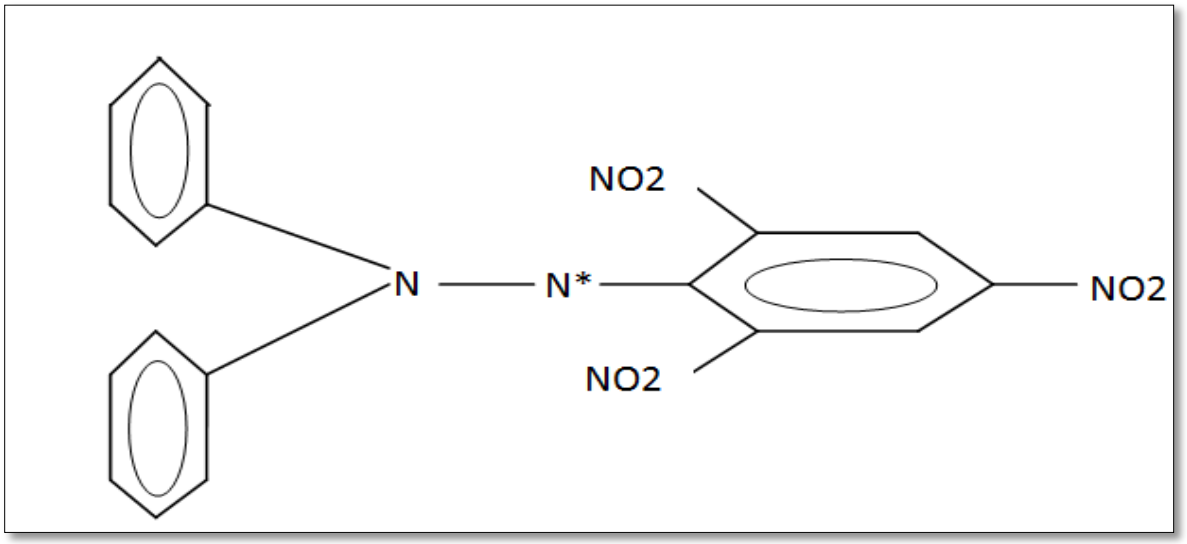
الشكل (2): فوق أكسدة اللبيدات (Hannebelle T et al., 2004)

I-2-3)- أكسدة الـ ADN:

تحرض الجذور الحرة على الطفرات وتوقف تضاعف الـ ADN وتؤدي إلى أكسدة القواعد المكونة لـ ADN، قطع الجسور بين ADN والبروتينات (Krippeit D et al., 1994). وتشكل الألدهيدات الناتجة من أكسدة اللبيدات إضافات للقواعد Guanine. (Rahman A et al.,1999)

I-4)- مفهوم مولدات الأكسدة (الجذور الحرة):

الجذر الحرهوعبارة عن جزيء أو ذرة تحتوي على إلكترون حر في مداره الخارجي، وقد تكون تلك الشوارد عضوية أو غير عضوية، ويطلق بعض العلماء مصطلح العامل المؤكسد على الجذر الحر.
تبقى الإلكترونات فى الحالة العادية في الجزيئات مزدوجة، وحين يفقد الجزيء أحدها فإنه يصبح غير مستقر ويصبح في حالة نشاط وبحث دائم عن الإلكترون المفقود ليكون زوجاً من الإلكترونات المستقرة وهذا ما يجعله ينتزع إلكتروناً من الجزيئات المجاورة مما يسب أحياناً إتلاف جزيئات الخلية الطبيعية في الجسم. وبالرغم من قصر فترة حياة الجذر الحر التي لا تتجاوز أجزاء من الثانية، إلا أن جذراً حراً واحداً قد ينشر حالة من الفوضى أو عدم التوازن وبالتالي نشوء الأمراض مثل الأمراض الإنحلالية وأمراض القلب والأوعية الدموية والسرطان والشيخوخة. (محمد بو عبد الله س.،2011؛ بو القندول ر.، 2011)
تنتج الجذور الحرة طبيعيا من خلال التفاعلات الحيوية داخل الجسم والذي يحاول أن ينظم تركيزها، ولذلك فإن تواجدها في الدم بتركيز منخفض يعتبر أمرا طبيعيا ولكن المشكلة تكمن عندما يزيد تركيزها داخل الجسم البشري. (بن مرعاش ع.، 2012)



الشكل (3): بنية الجذر الحرة جزيئة الـ (DPPH)

I-5) أنواع الجذور الحرة:

تنتج الجذور الحرة من خلال العمليات الأيضية الحاصله في الجسم وتصنف على أساس الأستقرار أو النوع:

I-1-5)- تصنيف حسب الأنوع:

- **جذر فوق الأكسيد Superoxide:**

و هو عبارة عن جذر أحادي مشحون بشحنه سالبة، وينتج عن إختزال الأكسجين الجزيئي الذي يستقبل إلكترونا أثناء التفاعل ويتطلب طاقة. (محمد بو عبد الله س.، 2011)

$$O_2 + 1é \xrightarrow{\text{Oxydases}} O_2^{\bullet -}$$

- **جذر فوق أكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide:**

ينتج H_2O_2 عن عملية دسمته (dismutation) أيون $O_2^{\bullet -}$ بواسطة إنزيم Superoxide dismutase (SOD) حسب التفاعل التالي: (بن سلامة ع ر.، 2012)

$$2O_2^{\bullet -} + 2H \xrightarrow{\text{SOD}} H_2O_2 + O_2$$

- **جذور الهيدروكسيل ($OH^{\bullet}$):**

إن جذر **$OH^{\bullet}$** هو جزيء نشط جدا ويمكن أن يتفاعل مع البروتينات والأحماض النووية والليبيدات وغيرها من الجزيئات ليغير من تركيبها ويسبب تلفاً للأنسجة. (جبالي هـ.، 2012)

$$H_2O_2 + Fe^{+2} \longrightarrow OH^{\bullet} + Fe^{+3} + OH^-$$

- **الجذور الحرة النيتروجينية:**

تشتمل على أكسدة النتريك وثنائي أكسيد النتروجين وبيروكسيد النتروجين الهيدروجيني وبيروكسيد النتريت وهو الأكثر خطورة. (حوة إ.، 2013)

- **الجذور الحرة الدهنية:**

تتميز الدهون بكونها أعلى درجة إختزال من عناصر الجسم، وبالتالي فهي عرضة أكثر من غيرها للتأكسد بجذور الأوكسجين والنتيروجين منها الدهون غير المشبعة، وهي أطول عمراً لذا تعتبر خطيرة. (أبو سمرة ر وأبو عسلي ع.، 1999)

- **جذور السموم الحرة:**

و هي تتمثل في معظم المواد السامة والمطفرات والمسرطنات الكيميائية. (حوة إ.، 2013)

I-5-2)- تصنيف حسب الأستقرار:

- **الجذور الغير مستقرة:**

و هي التي لها عمر قصير يقدر بالبيكوثانية ولها أوزان جزيئية صغيرة من أمثلتها جذر $Cl^{\bullet}, H^{\bullet}, F^{\bullet}$, $NO^{\bullet -}, HO^{\bullet}, I^{\bullet -}_{2}, CH^{\bullet}_{3}$. (حوة إ.، 2013)

- **الجذور المستقرة:**

و تكون لها عمر طويل يقدر بالثواني ويمكن أن تصل إلى أيام من أمثلة ذلك جذر ثلاثي أمين وجذر ثنائي فينيلل بكريل هيدرازيل (DPPH). (حوة إ.، 2013).

I-6)- مصادر الجذور الحرة:

I-6-1)- مصادر داخلية:

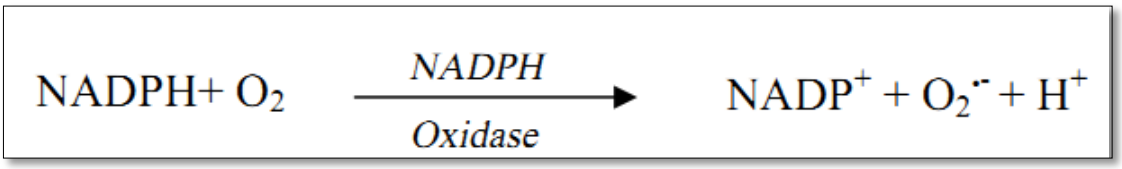
تنتج الأنواع الأكسجينية النشطة داخل العضوية كآلية لحماية ضد الجزيئات الغريبة أو كجزء من نواتج الأيضية عبر عدة آليات موجودة داخل الجسم والتي منها:

I-6-1-1)- الأغشية الميتوكوندرية:

وهي المصدر الرئيسي للأنواع الأكسجينية النشطة في الفيزيولوجيا (Balaban R S et al., 2005)، أثبت Gutierrez في دراسته أن كل من المركبين NADH – ubiquinone oxidoreductase و ubiquinone – cyt c reductase من الإنزيمات الميتوكندرية التي تنتج $O^{\bullet -}$ وH_2O_2. (Gutierrez J et., 20066)

I-6 -1-2)- إنزيم NADPH oxidase:

يتواجد إنزيم NADPH oxidase في العديد من الخلايا عل مستوي الغشاء البلازمي، يلعب دوراً أساسيا في الإستجابة المناعية ضد العضيات الدقيقة وذلك بإنتاج كميات عالية من جذر $O^{\bullet}_{2}$ وفق التفاعل التالي: (جرموني م.، 2009)



I-6-1-3)- إنـزيـم NOS:

ينتج هذا الإنزيم جذر $NO^{\bullet}$ في العديد من الخلايا حيث يتشكل هذا الجذر بكميات قليلة من طرف إنزيم eNOS، أما في حالة حدوث إستجابة مناعية ينشط إنزيم iNOS التحريضي الذي يحفز إنتاج كميات عالية من $NO^{\bullet}$. (جرموني م.، 2009)

I-6-2)- المصـادر الخـارجيـة:

وهي تنتج من نشاط بعض الأنواع الأوكسجينية النشطة والتي مصدرها من الأشعة المؤينة (X وY) والأشعة فوق البنفسجية UV، وبعض المعادن السامة مثل الكروم Cr والنحاس Cu والأيونات التي تكون بشكل حر مثل Fe كما ينتج بشكل أساسي من أكسدة بعض المواد في الكبد كالكحول والأدوية (بوبلوطة.، 2009 ؛ جرموني.، 2009 ؛ بن سلامة ع ر.، 2012) وتدخل عدة سموم المنتشرة في الغذاء والمحيط كالتبغ والمبيدات والإضافات الغذائية في إنتاج الجذور الحرة.(Abdollahi M et al., 2004). كما تنتج من المعادن الثقيلة كالزئبق والرصاص وتنتج من التدخين والدهون المشبعة والمواد الكيميائية التي تلوث الماء. (لبيب على سعيد ن.، 2010)

I-7)- أضـرار الجـذور الحـرة:

يؤدي نشاط الجذور الحرة إلي زيادة سرعة أعراض الشيخوخة وتسبب أمراض القلب والأوعية الدموية، أمراض الجهاز الهضمي والعيون وإضطرابات الرؤية، أمراض الكلى والأمراض الجلدية، الإضطرابات العصبية، وأمراض القلب، الزهايمر، السرطان، إلتهاب المفاصل. (بوديار ط.، 2008؛ لبيب على سعيد ن.، 2010)

I-8)- مضادات الأكسدة:

مضادات الأكسدة وهي كل مادة أو مركب له فعالية ضد الأضرار التأكسدية ويعمل على تأخير أو الوقاية من فعل الجذور الحرة، تعمل مضادات الأكسدة على الحماية بعدة طرق إما بالتثبيط المباشر لإنتاج ROS أو منع انتشارها أو هدمها. (بن سلامة ع ر.، 2012) وتنقسم مضادات الأكسدة لعدة أقسام:

I-8-1)- مضادات الأكسدة الإنتزيمية Enzymatic antioxidants:

وهي مضادات الأكسدة الإنزيمية داخلية المنشأ التي تنتج من طرف العضوية وهي تتواجد بصفة تناسبية مع زيادة الجذور الحرة، حيث تقوم بإزاحة الجذور الحرة قبل أكسدتها وهي واحد من أهم خطوط الدفاع الخلوي المضاد للجذور الحرة أهمها، إنزيم الكتلاز Catalase (CAT)، و Superoxide dismutase (SOD)، وGlutathione preoxidase (GPX). (لبيب على سعيد ن.، 2010؛ ابن الشيخ ع.، 2008؛ بن سلامة ع ر.، 2012؛ بولوطة ح.، 2009؛ وبنت عصام بن صالح الباز ن.، 2009؛ بنت هزاع ا.، 2004)

I-8-2)- مضادات الأكسدة الغير إنزيمية Non-enzymatic antioxidants:

على عكس مضادات الأكسدة الإنزيمية، معظم هذه المركبات لا تنتج من طرف العضوية بل تأتي من الأغذية وتشمل هذه المركبات كل من الجزيئات الصغيرة مثل الفيتامينات C،E وGlutathion وUbiquinon. كما يمكن أن تكون داخلية المنشأ مثل Coenzme Q والميلاتونين وحمض اليوريا. تتميز مضادات الأكسدة غير الإنزيمية بأوزان جزئية منخفضة والقدرة على الوقاية و/أو الحد من أضرار الإجهاد التأكسدي. (بن سلامة ع ر.، 2012)

I-8-3)- مضادات الأكسدة الصناعية:

وهيا عبارة عن مكملات غذائية تباع في الصيدليات على شكل حبوب أو شراب، كما أنها تحضر وتستعمل في حفظ المنتجات الطبيعية وكذا في مجال الصناعة. (بن سلامة ع ر.، 2012)

I-8-4)- مضادات الأكسدة الطبيعية:

يتم الحصول عليها من الأغذية كالإنزيمات الجلوتاثيون والكتلاز والبيروكسيداز والفيتامينات مثل الفيتامين C والفيتامين E والفيتامينات ذات الأصل بيتاكتروتين وهي حوالي 600 مركب. (حوة إ.، 2013)

I-9)- أهمية مضادات الأكسدة:

يتعرض جسم الإنسان للعديد من الأضرار التي تسببها الجذور الحرة قد تستهدف الجذور الحرة المادة الوراثية في أغلب الأحيان مسببة عدة طفرات في الجسم، حيث يؤدي ذلك لحدوث السرطان.

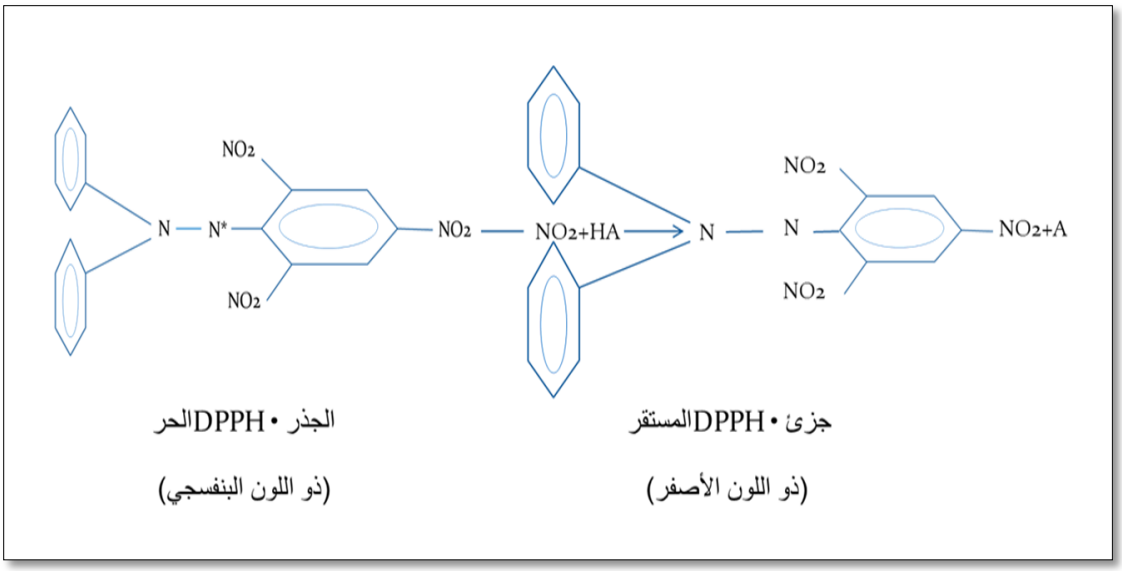
ينتج جسم الإنسان خلال 70 سنة حوالي 17 طن (17,000 Kg) من الجذور الحرة وأمام هذا الكم الهائل من الجذور الحرة تنقص فاعلية مضادات الأكسدة داخلية المنشأ كالإنزيمات التي تفرزها الخلايا وهنا تكمن أهمية مضادات الأكسدة خارجية المنشأ. تعتبر الأغذية الطبيعية المصدر الأساسي لها كالفيتامينات (A,E,C) المتواجدة في الكبد والبيض والفواكه الحمضية والمكسرات والذرة واللحوم، والكاروتينات المتواجدة في الجزر والقرع والسبنانخ والطماطم، والسيلينيوم وإنزيم Q10 المتواجد في الخضر والفواكه وبعض الأعشاب الطبيعية. (بنت هزاع ا.، 2004)

I-10)- عائلة الجزيئات ذات الفاعلية المضادة للأكسدة :

تحتوي الأنظمة الخلوية الدفاعية ضد الهجومات الجذرية على بعض الإنزيمات (CAT,SOD,GPX) وبعض الجزيئات الصغيرة ذات المصدر الغذائي كفيتامين E,C وهناك مركبات أخرى من مصادر غذائية مثل الكاروتينويدات والمركبات الفينولية. (بوديار ط.، 2008)

I-11)- النشاطية المضادة للأكسدة:

تتم النشاطية المضادة للأكسدة بأكسدة الجذور الحرة من طرف المواد المضادة للأكسدة الداخلية المنشأ أو خارجية المنشأ، حيث تعد المواد المضادة للأكسدة من أهم خطوط الدفاع في الجسم فهي تحمي الجسم من عملية الأكسدة والأضرار الناجمة عنها جراء التعرض إلى عوامل عديدة مثل الأشعة البنفسجية، التدخين، تلوث الهواء وإلتهاب الأنسجة، كما تقلل من الإصابة بأمراض كثيرة وذلك من خلال منع تكوين أو تأثير أصناف الأوكسجين والنيتروجين الفعال الناشئين داخل الجسم واللذين يؤديان إلى أضرار في الأحماض النووية والدهون والبروتينات والجزيئات الحيوية الأخرى. (لبيب على سعيد ن.، 2010)



الشكـل (4): طريقة أكسدة الجذور من الصورتها الحرة على الصوره المستقره

الفصل الثاني

الزيوت

الأساسية

II- الزيوت الأساسية:

II-1)- تعريف الزيوت الأساسية:

الزيوت الأساسية أو ما يسمي بالزيوت الإيثريه أو العطرية هي عبارة عن خلائط من المركبات العطرية والطيارة ذات المصدر النباتي والتي تنتج عن عملية التحول الأيضي الثانوي في النبات. وتتواجد الزيوت الأساسية في أكثر من 3000 نوع حيث تكون موزعه على مستوي الأجزاء الهوائية لنبات كالأزهار والأوراق والبذور والثمار والأجزاء الترابية كالجذور وهي تتجمع داخل تراكيب خاصة مثل الشعيرات الغدية (Glandular hairs) كما في العائلة الشفوية أو القنوات الزيتية (Oil vittae) كما في العائلة الخيمية أو الغدد الزيتية (Oil glands) كما في العائلة السذبية، ولزيوت الأساسية كثافة أقل من كثافة الماء ما عدا زيت القرفة والقرنفل، وهي قابلة للذوبان في المذيبات العضوية كالإيثر والكحول والأسيتون والكلوروفورم وقليلة الذوبان في الماء. (Djhaide H et Kherraz M ., 2016؛ ميثاق ج.، 2010؛ آيت كاكي ف.، 2011؛ لبيب على سعيد ن.، 2010؛ طويل ن وفار س.، 2015)

II-2)- إستخدمات الزيوت الأساسية:

تستخدم الزيوت الأساسية في مجال صناعة الروائح والعطور ومستحضرات التجميل وحافظات الطعام ومحسنات لطعم والنكهة والرائحة للأطعمة وتستخدم لصناعة الأدوية، كما إستخدمت الزيوت الأساسية لعلاج عدة أمراض منها الأمراض الصدرية والتخفيف من التشنجات العصبية والأمراض التنفسية وتقوية المناعة ومقاومة البرد وآلام الروماتيزم، العين، الأذن وعلاج الإكزيما وحب الشباب وهي مضادة للطفيليات والبكتيريا وطارده للغازات ومضاده للإلتهابات ومضاده لتعفن، (آيت كاكي ف.، 2011؛ ميثاق ج.، 2010؛ لبيب على سعيد ن .، 2010؛ منيب ط س.، 2000؛ دحية م.، 2009) تعمل الزيوت الأساسية على جذب الحشرات لإتمام عملية التلقيح في النبات وتساعد على إلتئام الجروح النباتية وتعمل كعامل دفاع لنبات ضد الحشرات والحيوانات ولها دور في تنظيم نمو النبات. (ميثاق ج.، 2010)

II-3)- فوائد الزيت الأساسي:

هناك عدة فوائد طبيعية لزيوت الأساسية منها جذب الحشرات بواسطة الروائح العطرية التي يطلقها النبات وذلك للقيام بعمليات التلقيح الحشري لنبات والتخلص من الأوراق العائل بواسطة يرقات بعض الحشرات التي تبيض على تلك الأوراق، وطرد بعض الحشرات والحيوانات لتفادي الضرر الذي تسببه لنبات وتثبط نمو الأعشاب الضارة، كما تعد الزيوت الأساسية من أهم العوامل المقاومة للفطريات والبكتيريا التي تستهدف بعض الأنواع النباتية وتساعد على إلتئام جروح النبات. كما لها دور في مجال التفاعلات النباتية، حيث تعمل على كبح الإنتاش أو مقاومة المواد السامة بيولوجيا لبعض المركبات

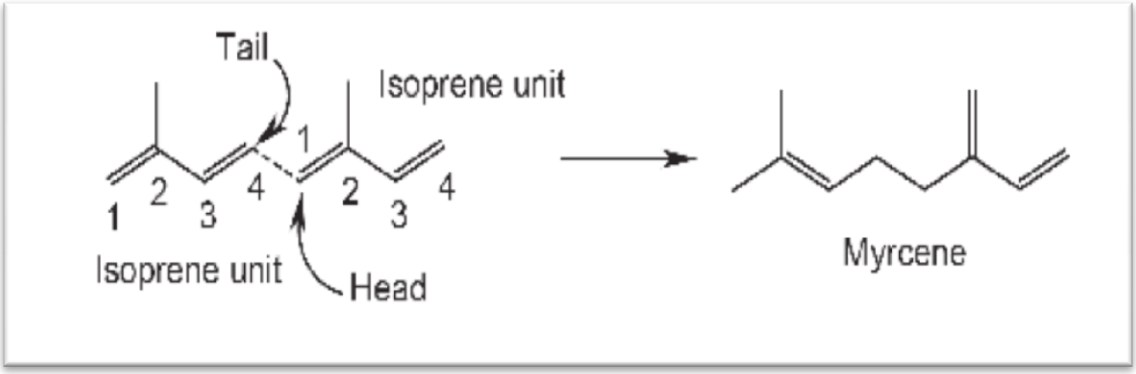
الناتجة عن عمليات الهدم الكيميائي داخل أنسجة النبات، وهي تعتبر مصدر للطاقة لبعض التفاعلات الكيميائية. (Kemassi A et al., 2015؛ بوختي ح.، 2010؛ طويل ن وفارس.، 2015)

II-4)- مكونات الزيت الأساسي:

تتميز الزيوت الأساسية بمجموعتين هما التربينات والمركبات العطريه ومركبات أخرى

II-4-1)- التربينات:

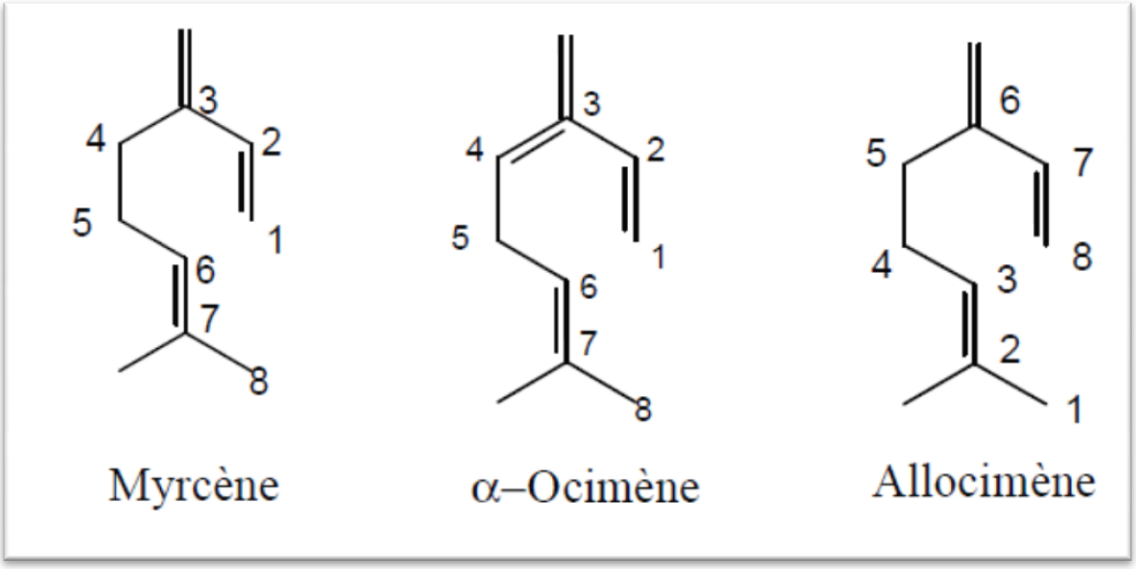
وهي مركبات هيدروكربونية، الوحدة البنائية لها هي الأيزوبرين Isoprène (C5H8) التي تتكون من خمسة ذرات كربون تحت الإسم الكيميائي 2- ميثيل–3,1- البيوتاديين -2 - methylduta-1,3) (butadiène كما تعتبر مجموعة هائلة من المنتجات الطبيعية ذات الهياكل الكربونية المتنوعة بدءاً من السلاسل الخطية البسيطة وإنتهاء إلى بنى متعددة الحلقات الكربونية (حوة إ.، 2013؛ العابد إ.، 2008)، حيث تتكون التربينات حسب (وديار ط.،2008) من إتحاد الرأس مع الذيل كما هو موضح في الشكل التالي:



الشكل (5): طريقة تشكل التربينات

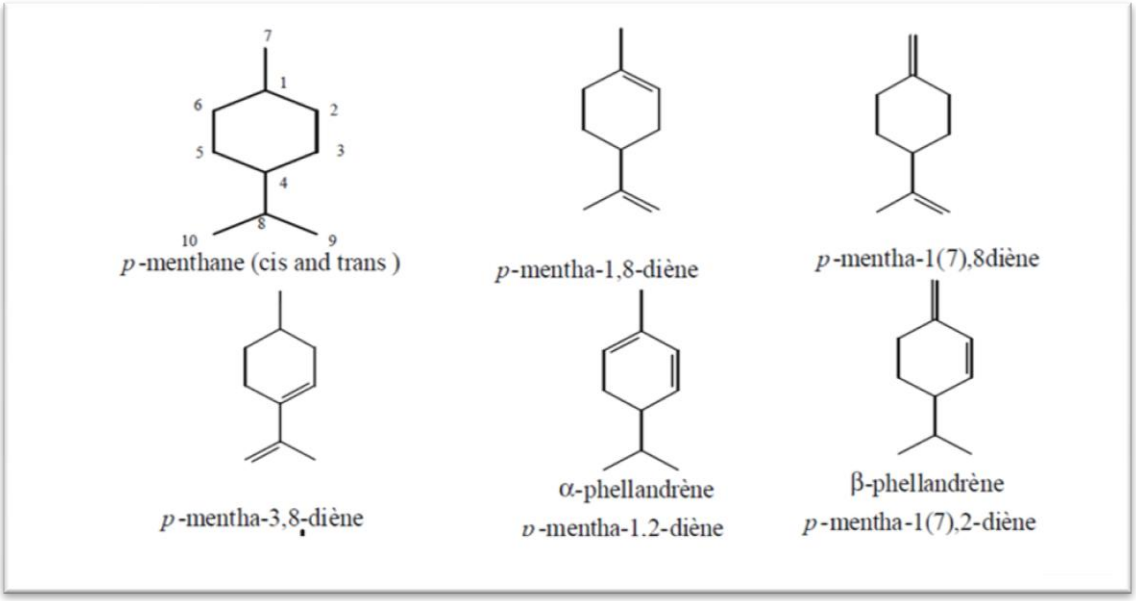
و قد تم إحصاء 30000 مركب لتشكل بذلك المنتج الأعظم في المملكة النباتية (حوة إ.، 2013؛ العابد إ.، 2008) وتقسم التربينات إلى (آيت كاكي ف.، 2011):

- تربينات أحادية غير حلقية هيدروكربونية:



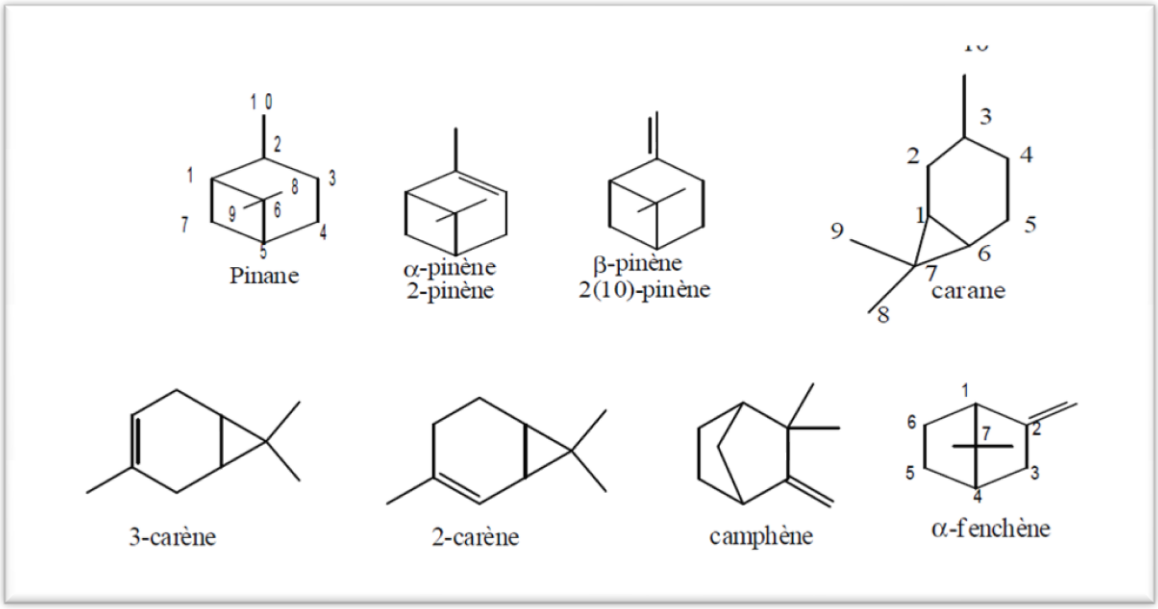
الشكل (6): مركبات تربينيه أحادية غير حلقيه هيدروكربونية

- تربينات أحادية، أحادية الحلقة هيدروكربونية:



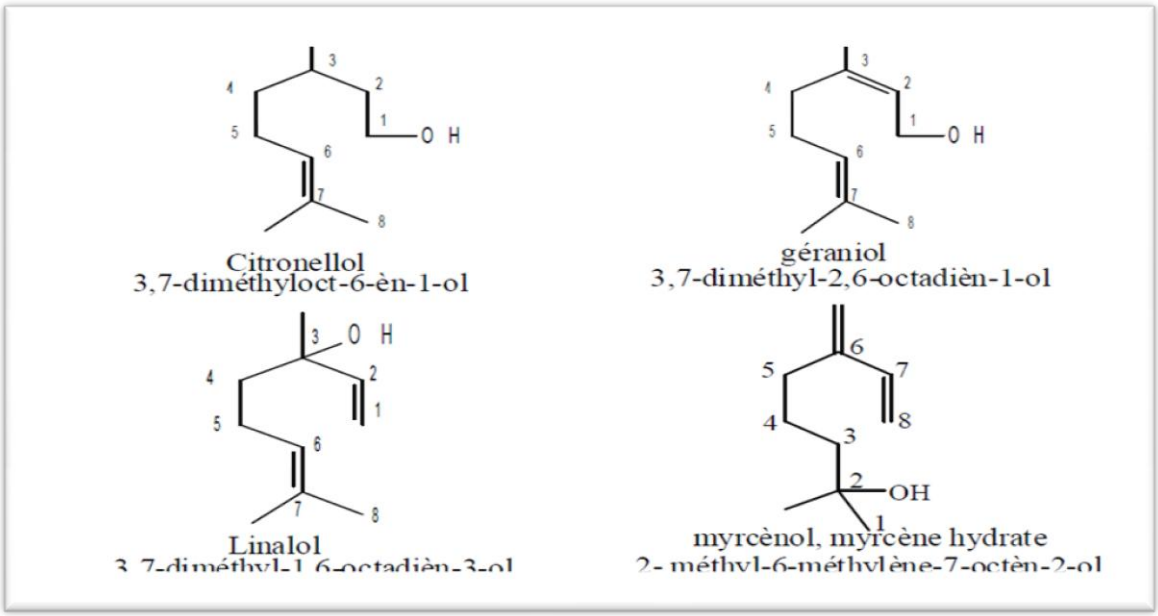
الشكل (7): مركبات تربينيه أحادية (أحادية الحلقة هيدروكربونية)

- تربينات أحادية، ثنائية الحلقة هيدروكربونية:



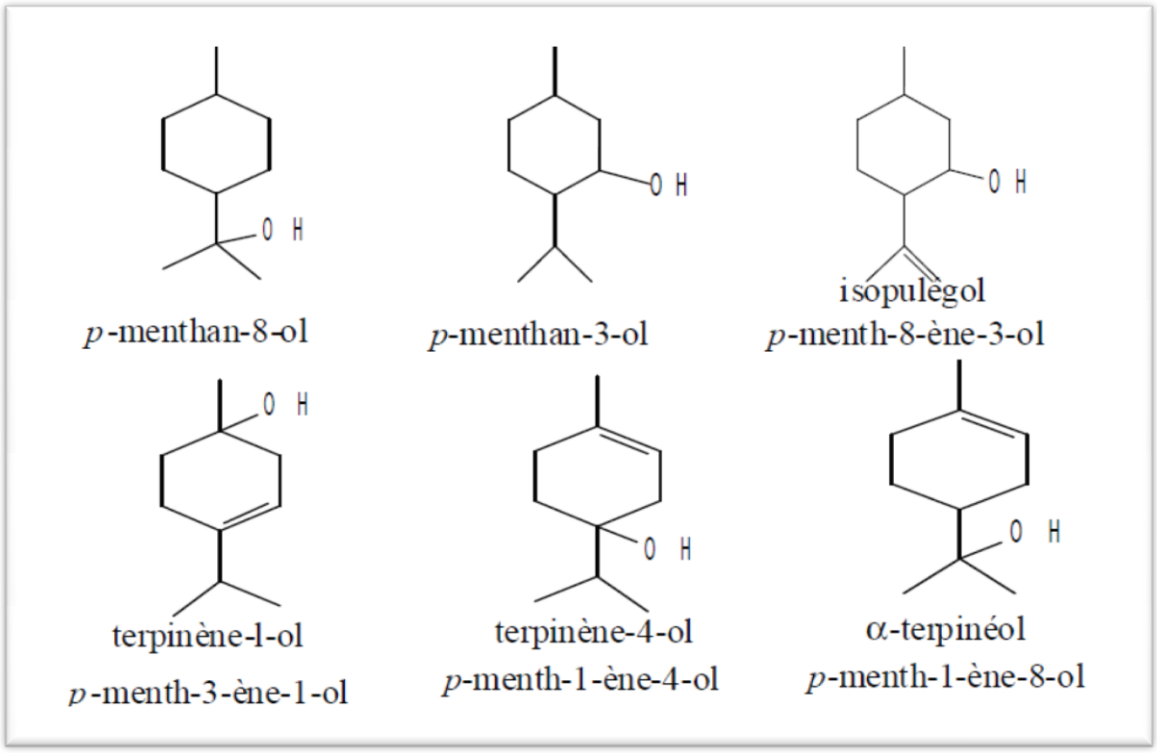
الشكل (8): مركبات تربينيه أحادية (ثنائية الحلقة هيدروكربونية

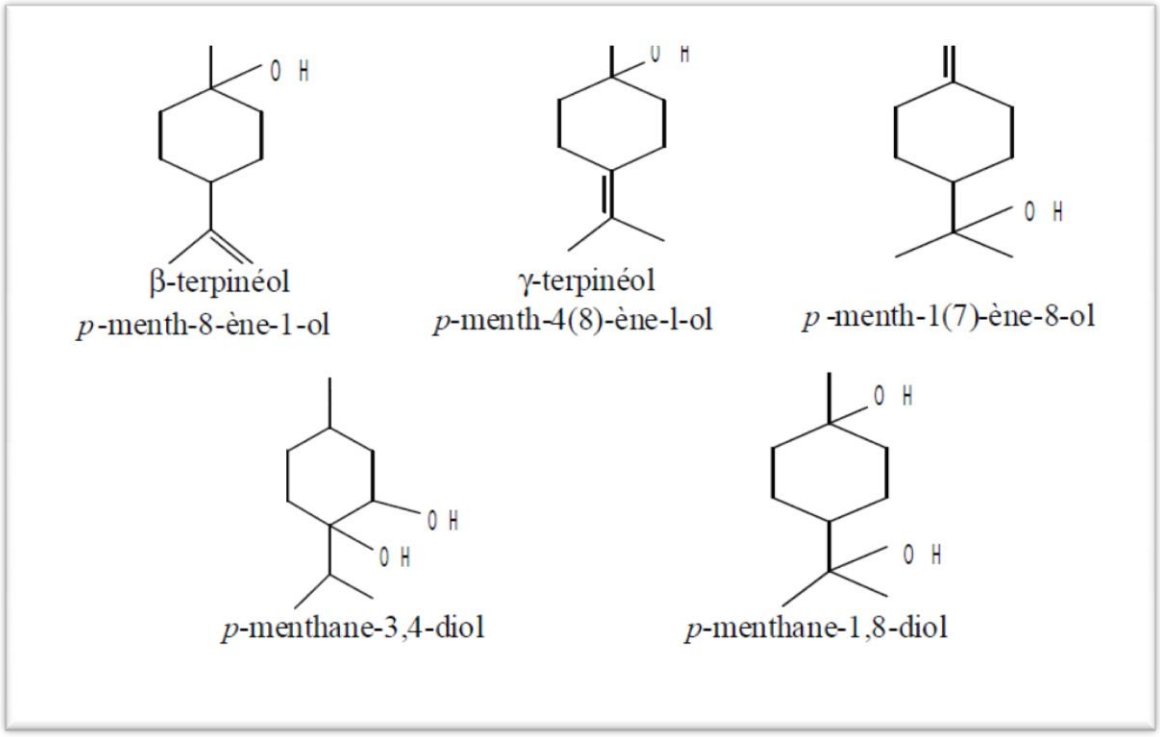
- تربينات أحادية غير حلقية كحولية:



الشكل (9): مركبات تربينيه أحادية غير حلقية كحولية

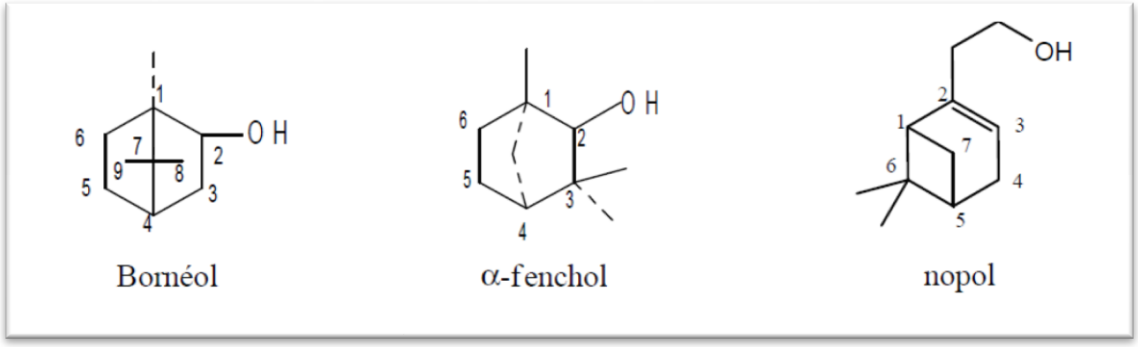
- تربينات أحادية، أحادية الحلقة كحولية:





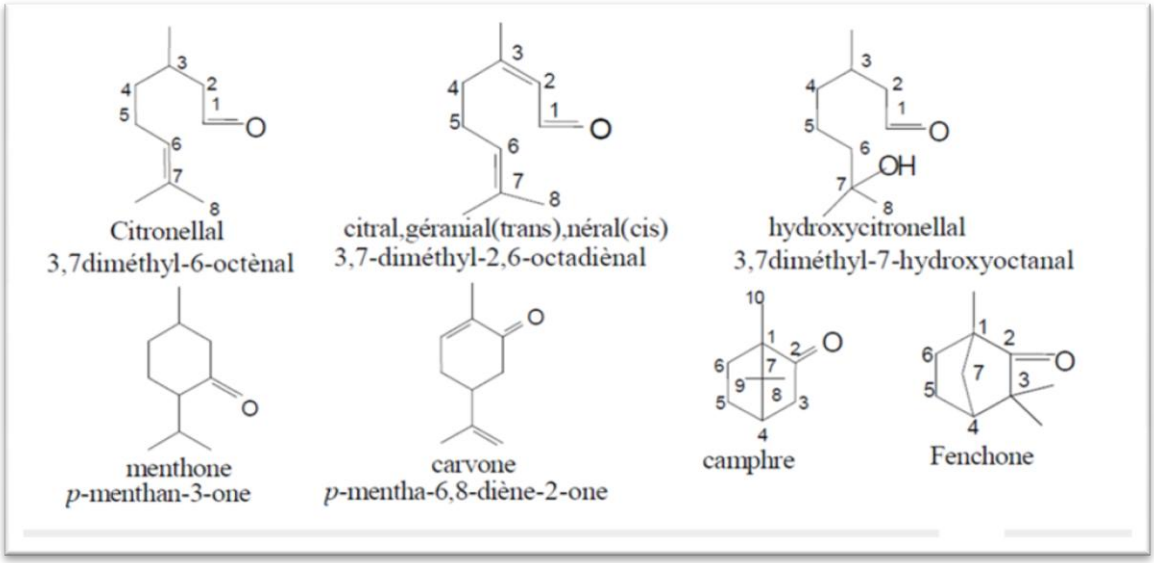
الشكل (10): مركبات تربينيه أحادية (أحادية الحلقة كحولية)

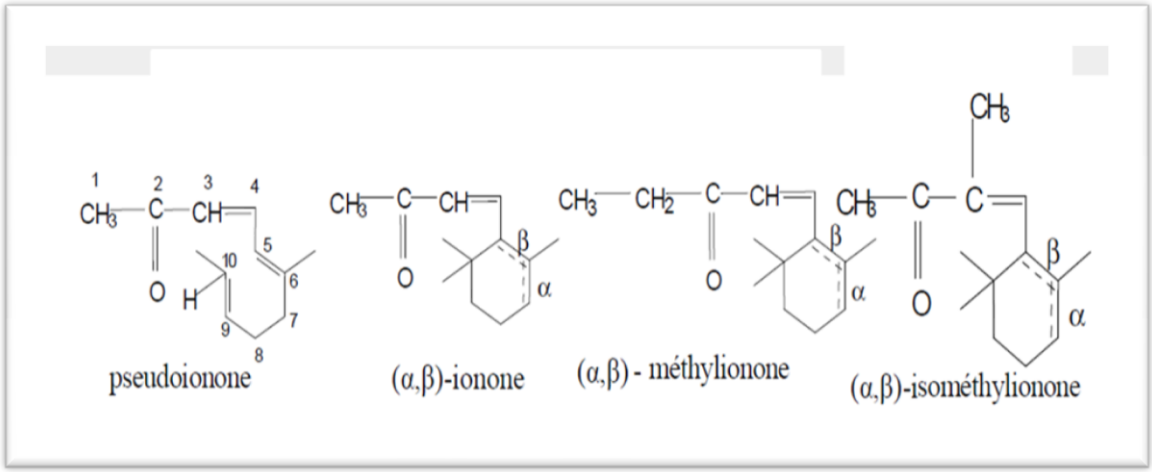
- تربينات أحادية، ثنائية الحلقة الكحولية:



الشكل (11): مركبات تربينيه أحادية (ثنائية الحلقة الكحولية)

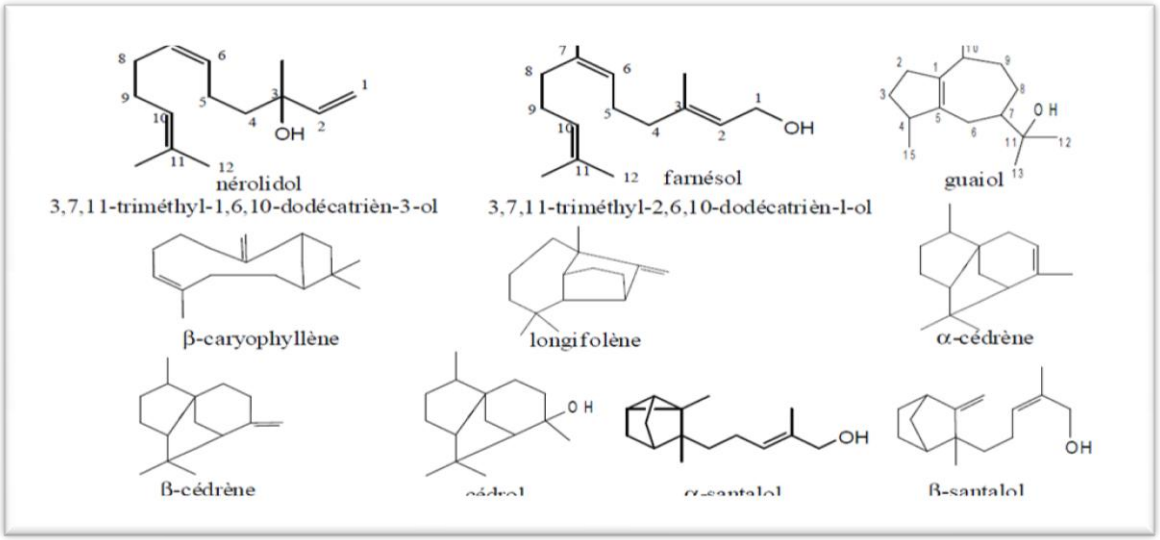
- تربينات أحادية ألدهيدية وكيتونية:





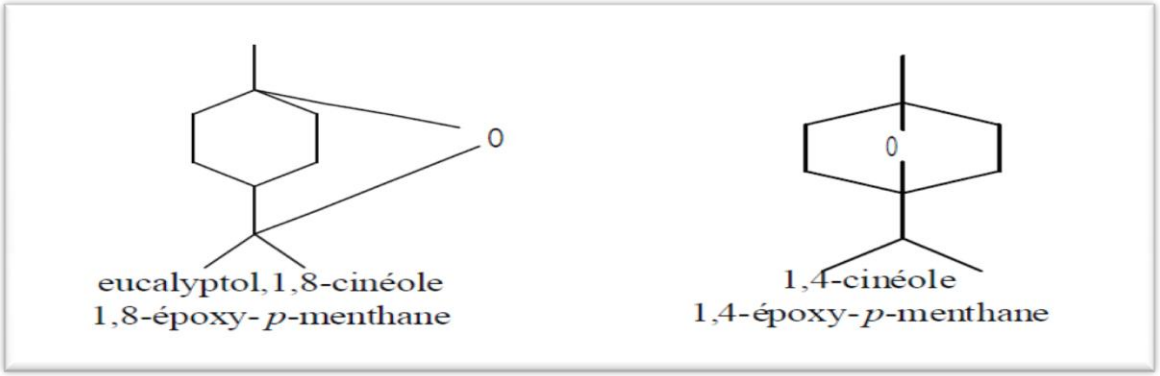
الشكل (12): مركبات تربينيه أحادية ألدهيديه وكتيونية

- تربينات نصف ثلاثية (السيسكوتيربينات):



الشكل (13): مركبات تربينيه نصف ثلاثية (السيسكوتيربينات)

- السينولات:



الشكل (14): مركبات سينولية

II-2-4)- المركبات العطرية:

تتواجد هذه المركبات في الزيوت الطيارة بنسب أقل من التربينات وهي مشتقات الفينيل بروبان (C_6C_3) phénylpropane. ومن أمثلة المركبات العطرية في الزيوت الطيارة، نذكر الأنيثول (anéthole) في نبات الباديان الياباني (Badiane) والألدهيد الأنيزي (aldéhyde anisique) في نبات اليانسون (anis) والأبيول (apiole) في نباتات الفصيلة الكرفسية والأوجينول (eugénol) في نبات القرنفل Girofle والسافرول (safrol) في نبات الساسافراس الأمريكي Sassafras (زعتر ل.، 2010؛ دحية م.، 2009). وتصنف حسب زعتر الى مايلي:

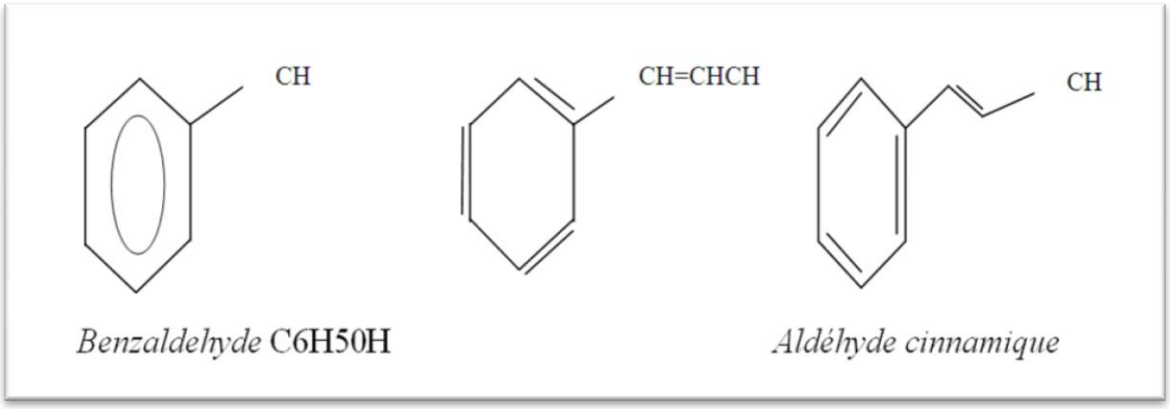
- **الكحولات العطرية الحلقية Alicyclic:**

وتتواجد هذه الكحولات عادة بشكل حر أو في صورة استرات Esters ومن أمثلتها:

- المنثول Menthol، الموجودة في زيت النعناع الفلفلي ذو الحلقة الواحدة.

- البورونيول Boroneol ذو الحلقتين.

- **ألدهيدات Aldéhydes:**



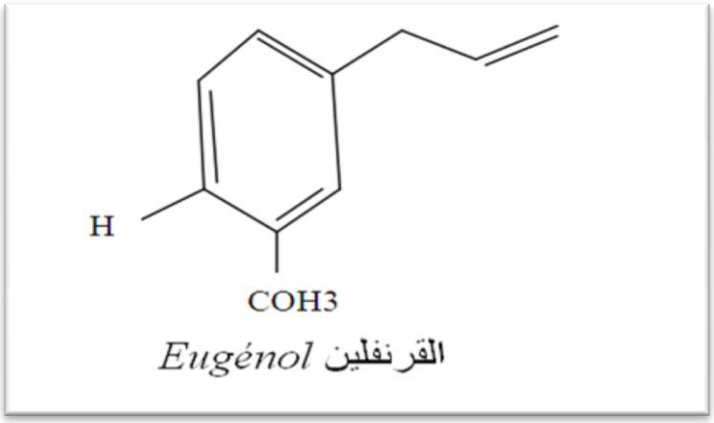
الشكل (15): مركبات ألدهيدية

- **فينولات Phenols:**

هناك العديد من الفينولات التي تتواجد بالزيوت الأساسية مثل Tlymol، Carvacrol ومن أشهرها:

القرنفلين: هو سائل عطري لا لون له، يتمير برائحة التوابل يستخلص من زيت القرنفل يستعمل عادة في تحضير المنكهات والعطور والمواد الطبية.

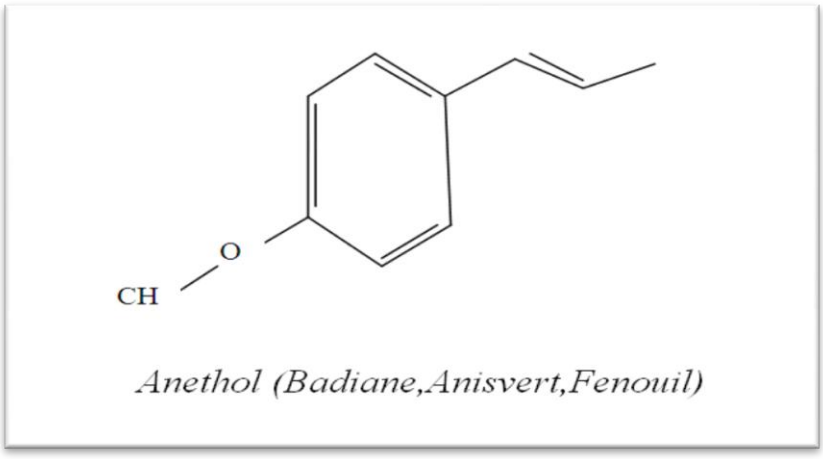
يتواجد هذا المركب بصفة عالية في زيت القرنفل والقرفة وفي كثير من الزيوت الأخرى لكن بصفة ضئيلة، ويعد من المركبات ذات الحلقة الواحدة.



الشكل (16): فينولي (القرنفلين)

- **إيثرات- أكسيد Ethers-Oxydes:**

يتواجد هذا المركب مختلط ببعض التربينات في زيت الينسون Aniseoil، وهو مركب ذو حلقة واحدة (كافور الينسون).



الشكل (17): مركب إيثرات- أكسيد Ethers-Oxydes

II-3-4)- مركبات أخرى:

و هي ناتجة عن تحول جزيئات غير طيارة، تتواجد في الزيوت الأساسية في أثناء حملها ببخار الماء ومن أمثلتها، الأحماض العضوية ذات الألوان الجزيئية الضعيفة كحمض الخل والكيتونات والكومارينات. (دحية م.، 2009)

II-5)- الخواص الفيزيائية لزيوت الأساسية:

تتميز الزيوت الأساسية في تراكيبها الكيميائي بأنها عديمة اللون قبل تحللها وتأكسدها، وقد يكون لون البعض منهم أصفر فاتح أو أحمر خفيف، وهي سائلة عند درجة الحرارة العادية عدا زيت الورد واليانسيون فهما يتجمدان عند درجة الحرارة المنخفضه، كما أنها تتميز برائحتها العطرية المتميزة، للزيت الأساسي معامل إنكسار ضوئي عالي وخاصية الدوران الضوئي يعد أهم إختبار لمعرفة نوعية الزيت ونقاوته وتترسب الزيوت الأساسية بالتبريد تاركتاً جزءاً سائلاً مثل نبات الزعتر والنعناع. (ميثاق ج.، 2010؛ بوختي ح.، 2010)

II-6)- الخصائص الفرماكولوجية للزيوت الأساسية:

تمتلك الزيوت الأساسية خاصية علاجية و تطهيرية مهمة، حيث تملك الزيوت الأساسية لكل من نبات Sarriette، Cannelle، thym، Giroflei، Lavande، Eucalyptus، خاصية مضادة للتعفن لإحتوائها على مركبات thymol، géraniol، citral،linalol، فيما إستعمل الزيت الأساسي للبابونج كمضاد للإلتهابات ومسكن ومهدئ للجهاز العصبي، كما أن زيت نبات النعناع *Mentha rotundifolia* الغني بالتربينات الأحادية له تأثير على شرايين القلب (مخفض للضغط، موسع للعروق، يبطئ خفقان القلب)، كما أنه مهدئ، له نشاطية ضد فطرية، ضد بكتيرية، هذا وقد أكدت العديد من الدراسات أن للكثير من الزيوت الأساسية خاصية ضد تأكسدية مثل نباتات جنس Menthe (بوختي ح.، 2012)

II-7)- نشاطية الزيوت الأساسية المضادة للبكتيريا:

تمتلك الزيوت الأساسية نشاطية مضادة للميكروبات، هذه النشاطية تقوم بحماية كيميائية ضد الأمراض النباتية. جربت هذه النشاطية على نبات *Myrica gala* بإستعمال عدة أنواع من الفطريات، حيث لوحظ أنه عند إحداث أي جرح في الأغصان يتدفق الزيت الأساسي من خلاله و هذا يؤدي إلى منع دخول الميكروبات التي بإمكانها إختراق الجروح بسرعة وهذا ما يفسر عدم إصابة النباتات الطبية والعطرية بعدة أمراض نباتية شائعة. (لبنى ع.، 2010)

II-8)- طرق إستخلاص الزيت الأساسي:

هناك عدة طرق تستعمل من أجل إستخلاص الزيوت الأساسية منها التقطير بالبخار والتقطير بالماء والبخار والإستخلاص بالمذيبات العضوية الطيارة والإستخلاص بإستعمال ثاني أكسيد الكربون CO_2 ذو الطور الحرج والإستخلاص بالدهون والشحوم والإستخلاص بالضغط البارد والإستخلاص بواسطة الأمواج وكل هذه الطرق تؤدي إلى نفس الهدف في إستخلاص الزيوت الأساسية ولكنها تختلف من حيث النوعية والكمية المتحصل عليها وتعد طريقة الإستخلاص بالبخار أكثر الطرق إستعمالاً لسهولة إجرائها

ولأنها تعطي مردود مقبول من الزيت الأساسي المستخلص. (آيت كاكي ف.، 2011؛ ميثاق ج.، 2010؛ Laouer H., 2004)

II-9)- طرق التعرف على الزيت الأساسي:

يتم أولا التعرف على رائحة الزيت عن طريق الشم بالأنف من أجل تحديد وجود الرائحة أو عدمها، وقوتها، وإن كانت عطرية أو عفنة، ومقارنتها بالروائح المعروفة سابقاً. ثم يتم إختبار المذاق وذلك بوضع كمية قليلة على طرف اللسان، ليلفظ الزيت بعدها ويغسل الفم مراعين بذلك سمية بعض المواد، لنتعرف بذلك على مذاق الزيت مر، حامض، حلو. ويتم التعرف على المظهر إن كان لزج والتعرف على اللون.(دحية م.، 2009)

II-10)- سمية الزيوت الأساسية:

ذكر دحية مصطفي في دراسته أنه يمكن إستعمال النبات الذي يحتوي على الزيوت الأساسية وإستعمال الزيوت الأساسية بصفة خالصة، حيث أنه لا يخشي من إستعمالها بالصفه الأولى ولكن إن كانت خالصه فيجب التأكد من سميتها أولاً لتجنب الأثار الجانبية التي قد يسببها إستعمال الزيوت الأساسية (دحية م.، 2009)، وقد أكد (Rubin M., 2004) يحتوي على مركبات سامة وخطيرة وأثبت (Veronique L., 2001) أن المركبات التربينية المحتوية في الزيت الأساسي هيا المسؤلة عن حدوث التسمم عند الحيوانات ومن هذه المركبات pulégon، thuyon، limonene ويظهر (Thulasiram V et al., 2001) في دراسته أن مركب pulégon يعتبر ساماً للخلايا الكبدية والخلايا في الدماغ.

II-11)- طرق تحليل الزيوت الأساسية:

هناك طرق عديدية لتحليل و كشف مكونات الزيوت الأساسية والتي منها:

II-11-1)- كروماتوغرافيا الغاز CPG:

وهي من الطرق المفضلة في تحليل الزيوت الأساسية، حيث يتميز هذا النمط من الكروماتوغرافيا بأن الطور المتحرك هو غاز قد يكون غاز الهليوم أو غاز الأزوت أو غاز الهيدروجين حيث يسمى بالغاز الناقل، مبدأ عمل الكروماتوغرافيا الغازية يعتمد على فصل مختلف المحاليل المذابة الغازية بواسطة الهجرة التفاضلية على طول الطور الثابت. يوجد نمطان من الكروماتوغرافيا الغازية: كروماتوغرافيا غاز- صلب و تدعى أيضا الكروماتوغرافيا الإمتصاصية، الطور الثابت في هذه الحالة يكون صلب كالسيليس أو الألمنيوم، والنمط الثاني هو كروماتوغرافيا غاز- سائل تدعى الكروماتوغرافيا التوزيعية، الطور الثابت يكون سائل غير طيار. (Bencheikh H.,2005)

II-11-2)- الدمج بين كروماتوغرافيا الغاز و المطيافية الكتلية Le couplage CPG/ SM:

مبدأ عمل هذه الطريقة هو نقل المكونات المفصولة بإستعمال الكروماتوغرافيا الغازية بواسطة الغاز الناقل جهاز المطيافية الكتلية، هناك يتم تجزئة وتفكيك مكونات العينة الى أيونات كتلية مختلفة، عملية الفصل تتم حسب كتلها، التعرف على المكونات يتم بواسطة مقارنة الأطياف الكتلية المتحصل عليها بأخرى معروفة سابقا. (بوخبتي ح.،2010)

II-11-3)- كروماتوغرافيا السائل عالية الآداء HPIL C:

تطبق هذه التقنية على المواد الطبيعية الغير طيارة و التي تتأثر بالحرارة، يكون الطور الثابت فيها مكون من جزيئات دقيقة جداً قد يصل قطر الواحدة منها 5 مكرومتر، محشوة في عمود مغلق. نقوم بحقن كمية قليلة جدا من العينة المراد تحليلها في المحلول و تحت الضغط. بعد فصل المكونات يتم الكشف عنها في مخرج العمود بواسطة جهاز يقوم بمعالجة المعطيات. (دحية م.،2008)

الجزء العملي

الفصل الأول:

المـواد

و

الطـرق

III- المواد والطرق:

III-1)- نبات *Euphorobia guyoniana*:

وهو نبات معمر مستوطن في الجزائر حيث يتواجد في الكثبان الرملية، يتميز بسيقان قائمة ملساء غنية باللبن النباتي (Latex وهي مادة سامه تستخدم لتخفيف من لدغات الثعابين) أسطوانيه لونها أخضر مزرق قد يصل طوله إلى 1 متر، الأوراق خضراء جد صغيرة لاطئة ملساء متبادله على الساق والأزهار خضراء تتجمع في نورات نهائية كثيرة التفرع حيث أن الغلاف الزهري ملتحم ينتهي بأربعة فصوص يزهر النبات في فصل الربيع والثمار عبارة على كبسولات ثلاثية الفصوص 4-5 ملتميتر تحتوي على بذور مجنحة. (بوديار ط.، 2008؛ Haba H., 2008؛ Djaber H et Kherraz M., 2016)

الصور(1): نبات *E. guyoniana*

III-2-1)- تصنيف نبات *E. guyoniana*:

الأسم الشائع : اللبين، العماية، اللبينة

الأسم الفرنسي: *Euphorbe de Guyon*

الأسم العلمي : *Euphorbia guyoniana*

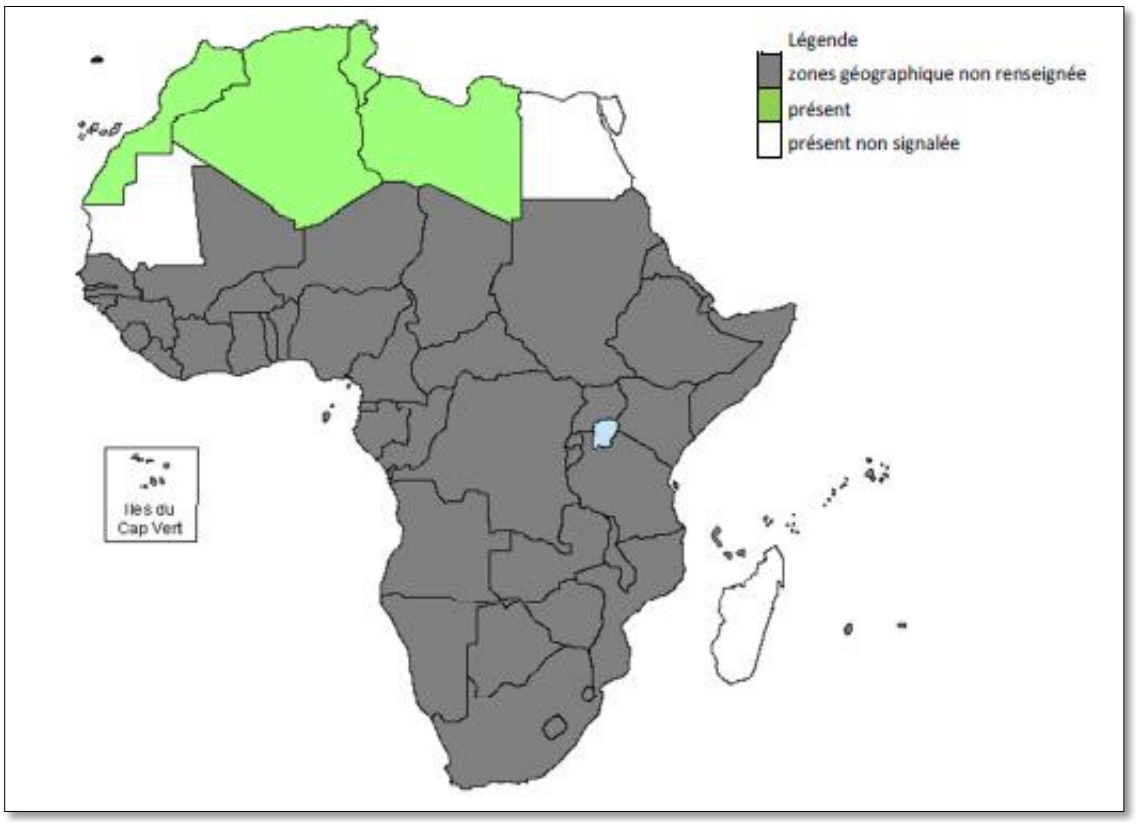
جدول (1): تصنيف نبات *E. guyoniana*

Règne	Plantae-plants	**المملكة**
Embranchement	Spermaphytes	**الشعبة**
S/Embranchement	Angiospermes	**تحت الشعبة**
Classe	Dicotylidones	**القسم**
Ordre	Euphorbiales	**الرتبة**
Famille	Euphorbiaceae	**العائلة**
Genre	Euphorbia	**الجنس**
Espèce	*Euphorbia guyoniana*	**النوع**

(Djaber H et Kherraz M., 2016 ؛Haba M., 2008)

III-1-3)- أماكن تواجد النبات:

يتواجد النبات في مناطق العرق ونادراً ما نجده ينمو في التربة القاسية مثل الصحن، كما أنه لا يتحمل الملوحه وقلما نجده على حواف الشطوط والأماكن المالحة. (حليس ي.، 2007)



صورة (2): خريطة توزيع النبات في إفريقيا

III-1-4)- إستعمالات النبات:

إستخدم نبات *E. guyoniana* لعلاج الثالول واللدغات، وأمراض الجهاز الهضمي وكمضاد للجراثيم ومضاد للفطريات، مضاد للإلتهابات والديدان (Kemassi A et al., 2015 ؛Haba M., 2008) ويعد اللبن الذي يخرج من الأغصان المقطوع مضر للعيون وقد يؤدي إلى فقدان البصر ولهذا يطلق عليه السكان المحليون بمنطقة وادي سوف – جنوب الجزائر- العماية. (حليس ي.، 2005)

III-1-5)- مكان ووقت جمع النبات والجزء المستعمل:

تم جمع النبات من منطقة حاسي خليفه - الوادي- خلال شهري مارس وأفريل 2015، وقد تم إستخدام الأزهار الطازجه خلال هذه الدراسة.

III-1-6)- دراسات سابقة حول نبات *E. guyoniana*:

تتميز نباتات جنس *Euphorbia* بإحتوائها على التربينات الثنائية والثلاثية وتتميز التربينات الثنائية المستخلصه من هذا الجنس بفعاليتها البيولوجية المميزة وهذا مايجعله أكثر أهميه دون الأجناس الأخرى من نفس العائلة، ويحتوي كذلك على القلويدات Alkaloids، الفلافونيدات flavonoids عموما نجد الفلافونولات flavonols، وكذلك مركبات Cyanogenetic، وكذلك السيانيدين دولفينيدين Cyanidins and delphinidine، وحمض الإلآجيك Ellagic acid، والصابونيات Saponins. (بوديار ط.، 2008)

وتثبت بعض الدرسات أن نبات *E. guyoniana* يحتوي على المركبات الموضحه بالجدول:

جدول (2): بعض المركبات الكيميائية التي يحتويها نبات *E. guyoniana*

المركب	المرجع
β-Stigmasterol	(بوديار ط.،2008)
1,5-Diphenyl-3-styrrl-2-pyrazoline	
5–β-methoxy-4α-hydroxy-methylene-α-pyrrolidinone	
5-b-methoxy-4b-hydroxy-3methylene-a-pyrrolidinone	
2-(5-methyl-1H-indol-3-yl)ethanol	
5-b-butoxy-4a-hydroxy-3-methylene-a-pyrrolidinone	
11-Hydroxy-*ent*-abieta-8,11,13-trien-15-one	(Qi-Cheng Wu.,2009)
Guyonianin B	

(Haba H.,2008)	Guyonianin A
	28-hydroxy-24-méthylènecycloartanol
	4,12-dideoxy(4α)phorbol-13-hexadécanoate
	jolkinolide E
	3-benzoyloxy-5,15-diacétoxy-9,14-dioxojatropha
	Jolkinolide A
	3-hydroxycycloartan-24-one
	24-méthylènecycloartanol
	lanostérol
	cycloarténol
	euferol
	butyrospermol
	obtusifoliol
	cycloeucalénol
	multiflorenyl acétate
	acide 3-hydroxytaraxer-14-èn-28-oïque
	β-sitostérol
	multiflorenyl palmitate
	peplusol
	β-sitostéryl-3β-glucopyranoside-6'-O-palmitate
	4,12-dideoxy(4α)phorbol-13-hexadécanoate

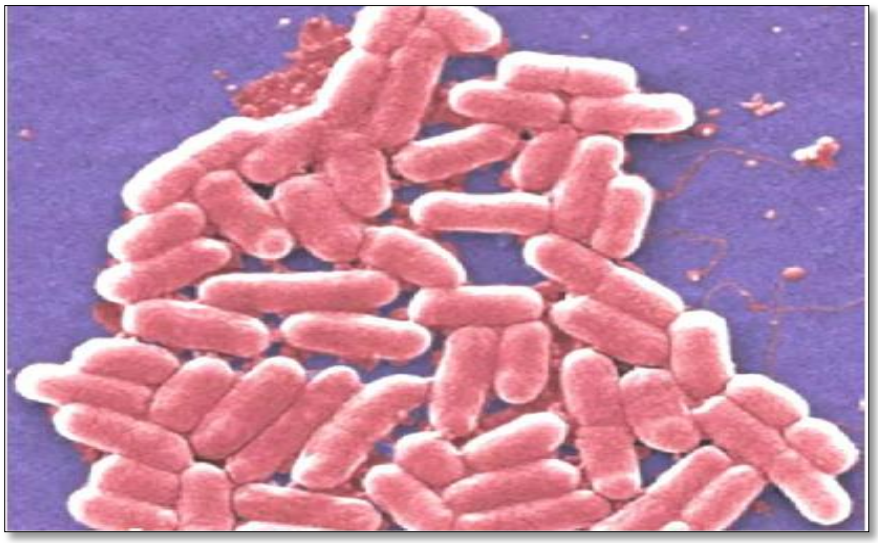
III-2)- الأنواع البكتيرية المستعملة أثناء الدراسة:

III-2-1)- تعريف البكتيريا:

هي مجموعة من الأحياء الدقيقة المجهرية، وتقاس أبعادها بالميكرون حيث أن عرضها ما بين 0.2 و2 ميكرون، وطولها ما بين 2 و10 ميكرون. لا تحتوي على اليخضور، وتكون على عدة أشكال منها الكروية والعصوية ومنها النافع الذي نعتمد عليه في حياتنا اليومية، أما الضارة فهي سبب الأمراض والأوبئة، وقد إكتشفها العالم لويس باستر 1822- 1985م، وذلك بعد إكتشاف المجهر، وتتواجد البكتيريا في كل من التربة، الماء، الهواء، الأغذية، وتكون أيضا على سطح الجلد والأغشية المخاطية وداخل القناة الهضمية، والجهاز التنفسي، حيث تستطيع العيش لأعوام طويلة متحملة لجميع الظروف غير الملائمة من إرتفاع درجة الحرارة، أو إنخفاضها، وغير ذلك من الظروف البيئية القاسية، وعند توفر الظروف المحيطة تتخلص من غشاءها السميك وتستعيد نشاطها الحيوي. (حوة إ.، 2013).

III-2-2)- *Escherichia coli* :

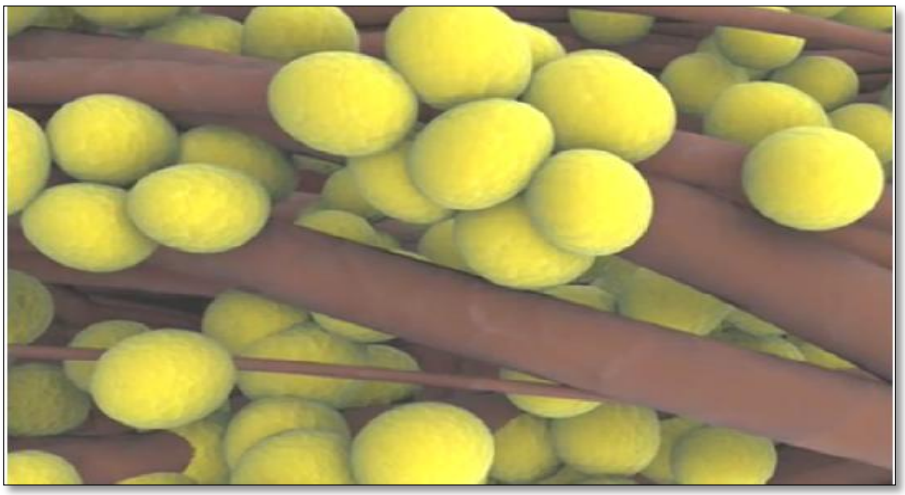
هي بكتيريا هوائية سالبة الغرام تنتمي إلى عائلة Enterobacteriaceae، طولها يتروح مابين 2-6 ميكرومتر أما العرض من 1.1-1.5 ميكرومتر تعيش في جسم الأنسان والحيوان والنبات وفي التربة، تكون متحركة على شكل عصيات، مسببة لعدة أمراض كأمراض الجهاز البولي، إلتهاب السحايا وتسمم الدم. (زيدي م ف.، 2012؛ الشيب أ ش وأخرون؛ 2009 ؛ Harra A., 20212).



صورة (3): بكتيريا *Escherichia coli* (حوة إ.، 2013)

III-2-3)- *Staphylococcusau aureus*:

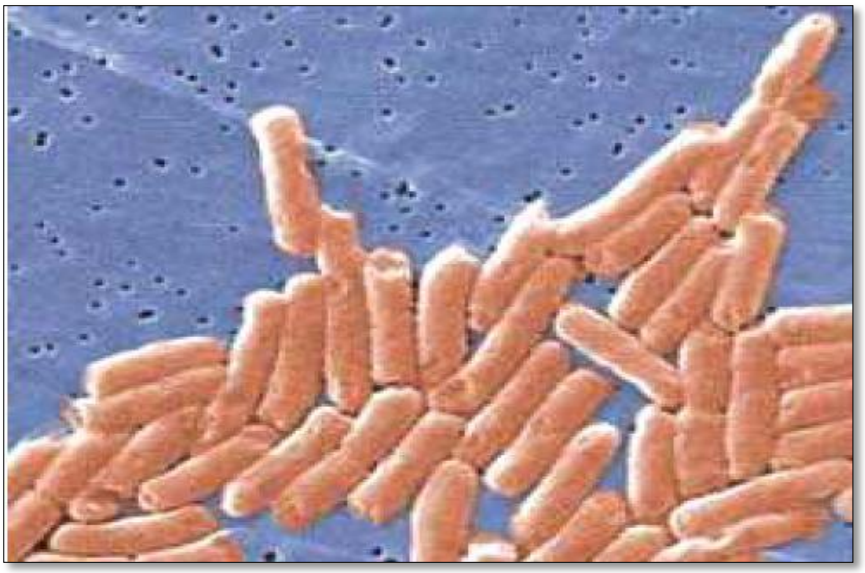
هي بكتيريا موجبة الغرام ،كروية الشكل، يتروح قطرها مابين 0.5 -1.5، ذات لون أصفر براق عديمة الحركة، تكون عناقيد على شكل أكوام وتتواجد لدى الأنسان في الجلد والأمعاء، يمكن أن تتسبب في إلتهابات جلدية خطيرة، ويسبب أيضا هذا النوع من البكتيريا بالعديد من الإتهابات التي تسهل إنتشار في الأماكن المزدحمة. (الشبيب أ ش وأخرون.، 2009؛ Harrar A ،.2012 ؛ A et al., 2009 Adegoke)



الصورة (4): بكتيريا *Staphylococcus eureus* (حوة إ.، 2013)

III-2-4)- *Salmonella typhi*:

بكتيريا لا هوائية إختيارية، سالبة الغرام عصوية حركية ضارة بالإنسان حيث تسبب هذه البكتريا مرض يتميز بإلتهابات حاد في الأمعاء والقلون في بداية الأمر. بعد وقت من الإصابة تنتشر البكتريا مع الدم لتسبب الإتهابات في أي عضو تستقر فيه، مسببتاً مرض يعرف بحمى اليتفويد. Zhang X L et al., (2008)



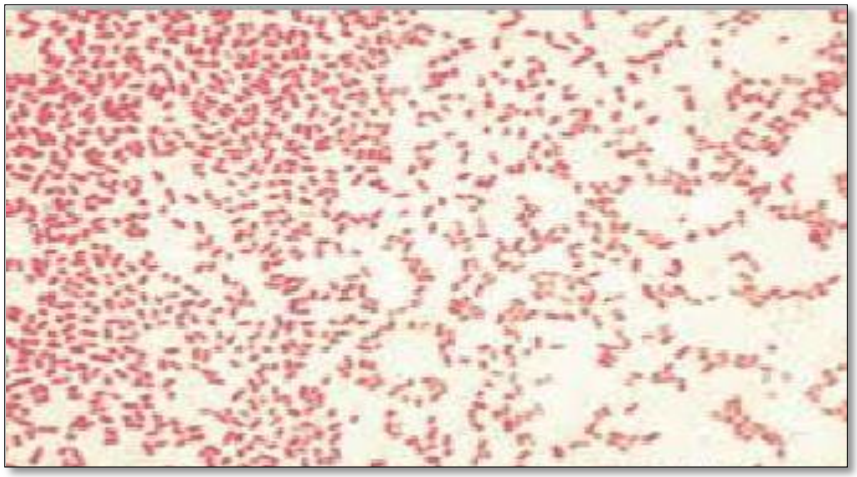
صورة (5): بكتيريا *Salmonella typhi* (حوة إ.، 2013)

III-5- 2)- *Micrococcus sp*:

بكتيريا ذات غرام الموجب، نادرة ماتكون متحركة، تتواجد على مستوى البشرة للإنسان (Hajek V., 2014)

III-6-(2- *Serratia sp*:

بكتيريا عصوية سالبة الغرام غير بوغية لا هوائية متحركة بعض الأنواع تشكل صبغة حمراء تتواجد في التربة والمياه وكذا على النباتات وتتواجد أيضا عند الإنسان والحيوان. (Singleton P., 2004)



صورة (6): بكتيريا *Serratia sp*

III-2-7)- *Pseudomonas aeruginosa*:

هي بكتيريا عصوية سالبة الغرام كثيرة الحركة وهوائُية، تنتمي إلى عائلة Pseudomonaceae ، لها القدرة على التكيف في كل البيئات، تعمل على إتلاف الأغذية وتعد من المكروبات المحللة للدهون باللبن مما يؤدي الى تغير طعمه ولونه، وهي مقاومة لعديدة من المضادات الحيوية والمطهرات مما يفسر تكاثرها في الأوساط الاستشفائية حيث تنمو في الأجهزة الطبية وهي مسوؤلة عن التعفنات الخطيرة بعد العمليات الجراحية، وتكون ممرضة بضعف الجهاز المناعي للجسم. (العباد إ.، 2009؛ P A،. 2002 Lambert؛ 2013.، Shaan G L et Hancock R E W)

صورة (7): بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*

III-3)- الأدوات والمواد المستعملة:

جدول (3): الأدوات و المواد المستعملة خلال الدراسة

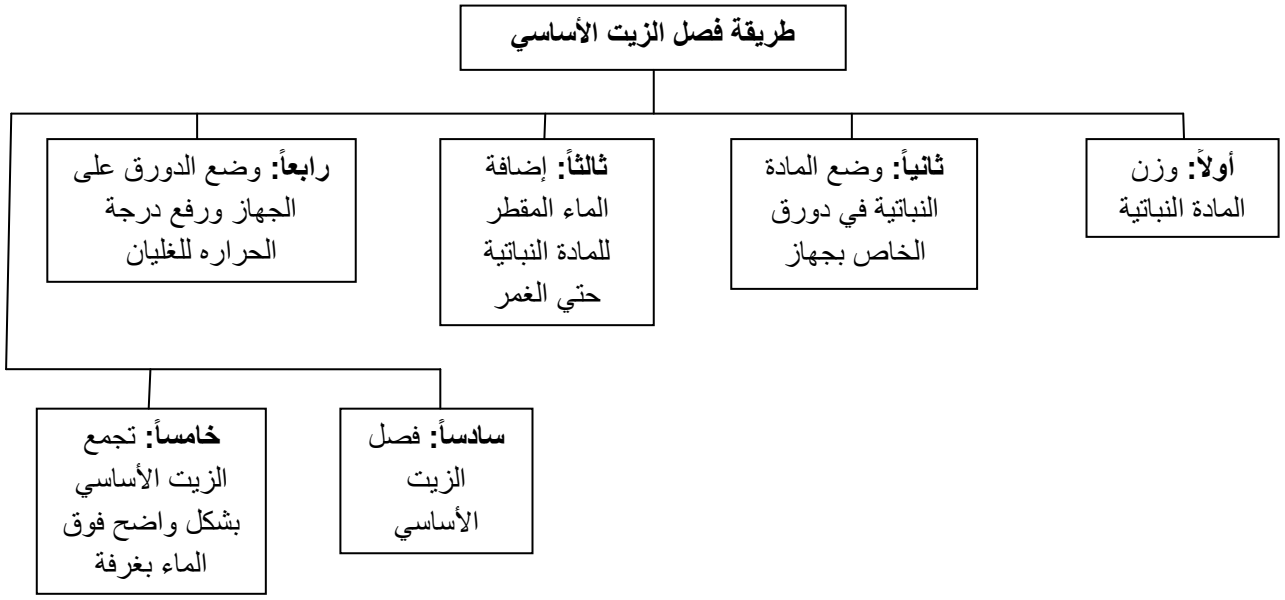
الأدوات والأجهزة	المواد
جهاز التقطير Clevenger	أزهار نبات *E. guyoniana*
ميزان حساس Balance	ماء مقطر
أنابيب إختبار	مادة الـ $DPPH^{\bullet}$
ميزان حساس Balance	MeOH
ملعقة مخبرية Spatule	EtOH
Micropepette	أنواع بكتيرية
بيشر مدرج	محلول الـ $DPPH^{\bullet}$

حامل أنابيب جهاز المطياف الضوئي جهاز المخلاط الكهربائي الزيت الأساسي المستخلص من نبات *E. guyoniana* ماصة باستور ملقط أقراص ورق Wath main موقد Bee Benzen Miller Hinton أطباق بيتري حاضنة	

III-4)- طريقة إستخلاص الزيت الأساسي:

خلال هذه الدراسة إستعملنا طريقة الإستخلاص بالتقطير Hydrodistilation لإنها تعد الطريقة الأمثل لإستخلاص الزيت الأساسي قمنا بوزن 50 g (قمنا بتكرار العملية حتي الوصول إلى وزن 1Kg) من أزهار نبات *E.guyoniana* وهي في الحالة الطازجه وغمرها بالماء المقطر ووضعها في جهاز Clevenger و رفع درجة الحرارة تدرجيا حتي الغليان لمدة 3 ساعات وخلال ذلك يبدأ البخار بالإرتفاع حاملا معه الزيت الأساسي لتمر بغرفة التبريد، حيث تبرد بواسطة الماء البارد لتتجمع بعدها في قمع التجميع الخاص بها وتتشكل طبقة زيته طافيه فوق الماء ليتم بعدها فصل الزيت وحفظه في أنبوب زجاجي بعيداً عن الضوء تحت درجه حرارة منخفظة تتراوح من 0 C° إلى 4 C°.(BRUNETON., 1999)

صورة (8): جهاز Clevenger



الوثيقة (1): مخطط يوضح طريقة فصل الزيت الأساسي

ويتم بعد عملية الإستخلاص حساب المردود حسب الطريقة التالية:

$$R = [Pb/Pa]\times 100$$

R: مردود الزيت الأساسي (%)

Pb: وزن الزيت المستخلص (g)

Pa: وزن المادة النباتية المعالجة (g)

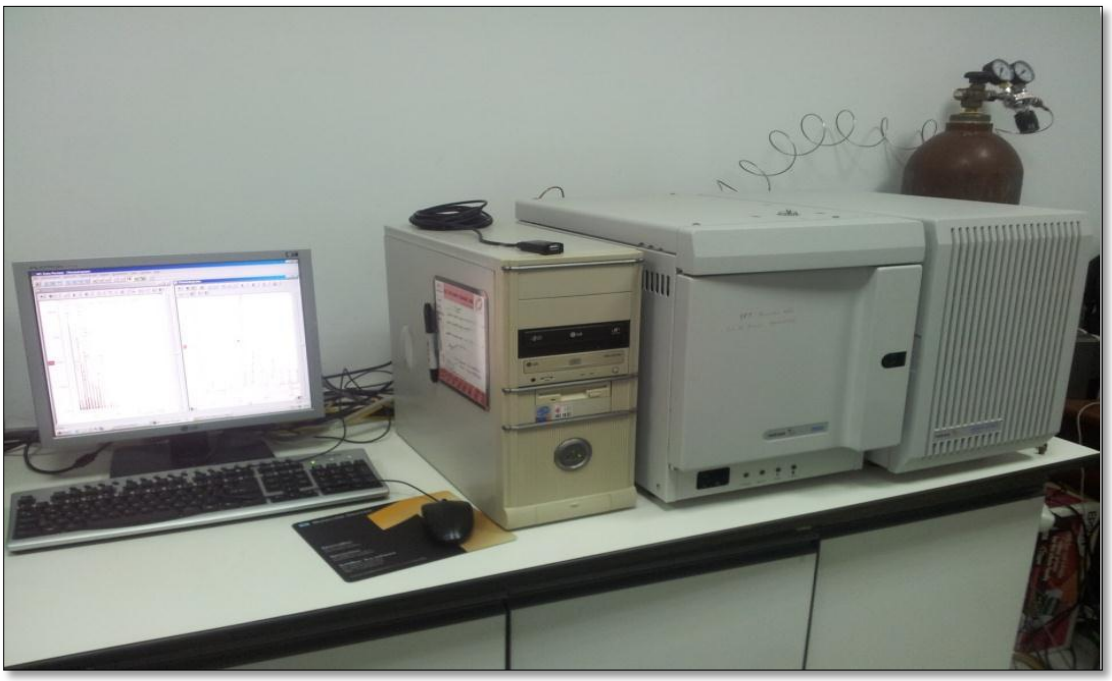
وبها يكون مردود الزيت الأساسي لنبات *E. guyoniana* :

$$R = ((30/1000)/1000)\times 100 = 0.003\%$$

III-5)- طريقة الكشف وتحليل مكونات الزيوت الأساسية :

من أجل التعرف على المواد الداخلة في التركيب الكيميائي للزيت الأساسي المتحصل عليه يتم إخضاع الزيت إلى عملية التحليل الكروماتوغرافيا بالطور الغازي المتزاوج بطيف الكتلة (GC/MS) من نوع (saturn 2100) على عمود (DB1) ، حيث كان طول العمود (30 mx 0.25 mm) -DB1 و السمك الداخلي للغشاء (0.25 µm) والطور الثابت في هذه الحالة عبارة عن السليكا ترتبط بجدران العمود الشعيرية الداخلية، أما الغاز الناقل فهو الهليوم ومعدل تدفقه كان بمقدار (1.4 ml/min)، وقد تم ضبط

درجة الحرارة من ° 60 C إلى °C 240 بسرعة تسخين قدرها (4 C°/min) لمدة 10 دقائق، يسمح جهاز GC/MS بالتعرف على نسبة تواجد وبنية المركبات الكيميائية الموجودة في العينة النباتية، حيث يتمثل مبدؤه على تحويل المركبات التي تم فصلها بواسطة GC/MS، وبواسطة الغاز الناقل تهاجر إلى القياس الطيفي للكتلة، فتتجزأ إلى أيونات مختلفة الكتلة، ويتم فصلها بحسب الكتله وثم التعرف على المكونات تبعا لمقارنة أطيافها مع أطياف أخرى موجودة في بنوك معطيات أعدت لهذا الغرض. (Desjobert J et al.,1997)



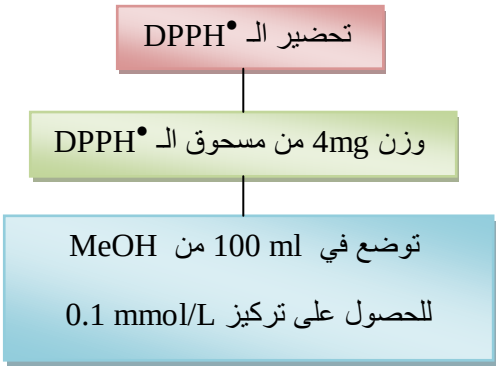
صورة (9): جهاز الـ (GC/SM)

III-6)- النشاطية المضادة للأكسدة:

III-6-1)- تحضير محلول الـ $DPPH^{\bullet}$:

تعرف جزيئة الـ $DPPH^{\bullet}$ بثنائي بكريل فنيل هايدرازيل (diphenyl picrylhydrazyl) وهي مادة صلبة لونها بنفجسي مسودة، وعند إكتسبها للألكترون تتحول إلى DPPH-H ثنائي فينيل بكريل هايدرازين (dipheny lpicrylhydrazine) وهو محلول غير جذري لونه بنفسجي، تم إختيار إختبار الـ $DPPH^{\bullet}$ لأنه الإختبار الأكثر إستخداماً لقايس قدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذر الحر (العابد إ.، 2009).

يتم تحضير محلول الـ $DPPH^{\bullet}$ بوزن 4 mg من مسحوق الـ $DPPH^{\bullet}$ وإذابته في 100 ml من الميثانول (MeOH) من أجل الحصول على تركيز 0.1 mmol/L ويوضع بحوجله مغطاة بورق الألمنيوم على جهاز المخلاط الكهربائي ويترك لمدة 15 دقيقة من أجل ذوبان الـ $DPPH^{\bullet}$ كلياً.

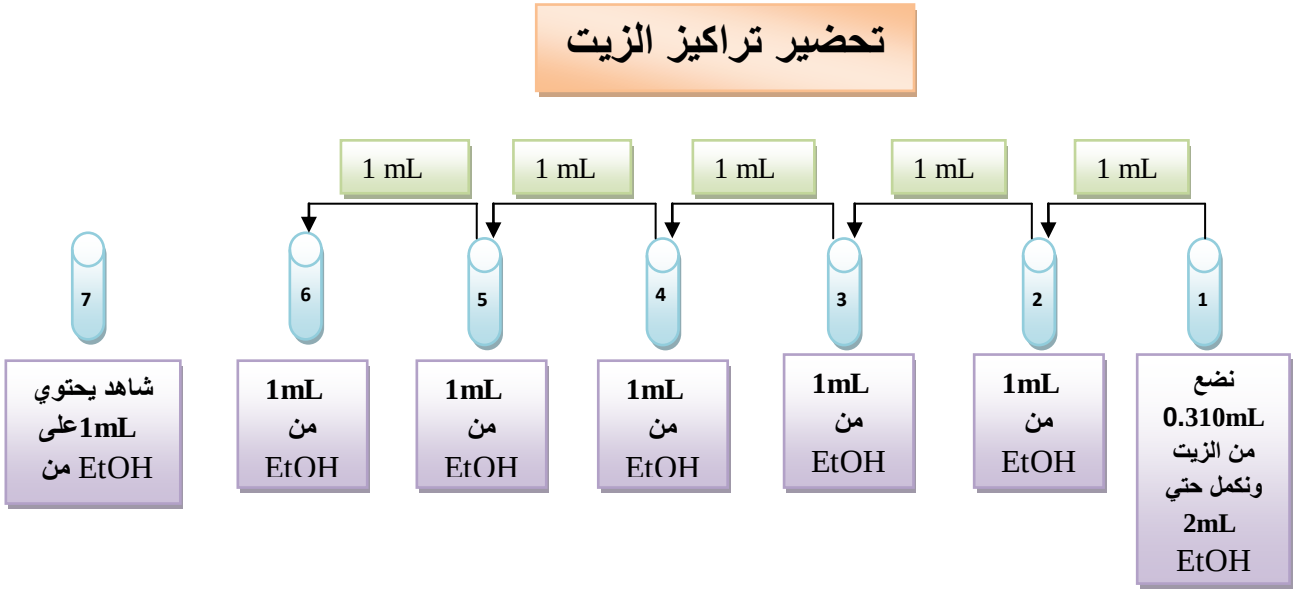


الوثيقة (2): مخطط يوضح طريقة تحضير الـ $DPPH^{\bullet}$

III-6-2)- تحضير تراكيز:

III-6-2-1)- تحضير تراكيز الزيت الأساسي المستخلص :

من أجل ذلك يتم أولاً تحضير محلول الأم بالزيت وذلك بإذابة 25.7 mg من الزيت في 1 mL من DMSO. ثم نضع في كل أنبوب 1 mL من الإيثانول، ثم نضع بالأنبوب الأول 0.310 mL من محلول الأم ونكمل حتي 2 mL بالإيثانول (EtOH)، ثم نأخذ 1 mL من محلول الأنبوب الأول ونضعه في الإنبوب الثاني ونكمل بنفس الطريقة مع باقي الأنابيب، حيث نضع في كل أنبوب 1 mL من EtOH مع 1 mL من الأنبوب الذي يسبقه، لتصبح تراكيز الأنابيب كالتالي 0.125mg/mL, 0.25mg/mL, 0.5mg/mL, 1mg/mL, 2mg/mL, 4 mg/mL على الترتيب من الأنبوب الأول إلى الأنبوب السادس ونبقي الأنبوب السابع كشاهد حيث يحتوي على 1 mL من إيثانول فقط.



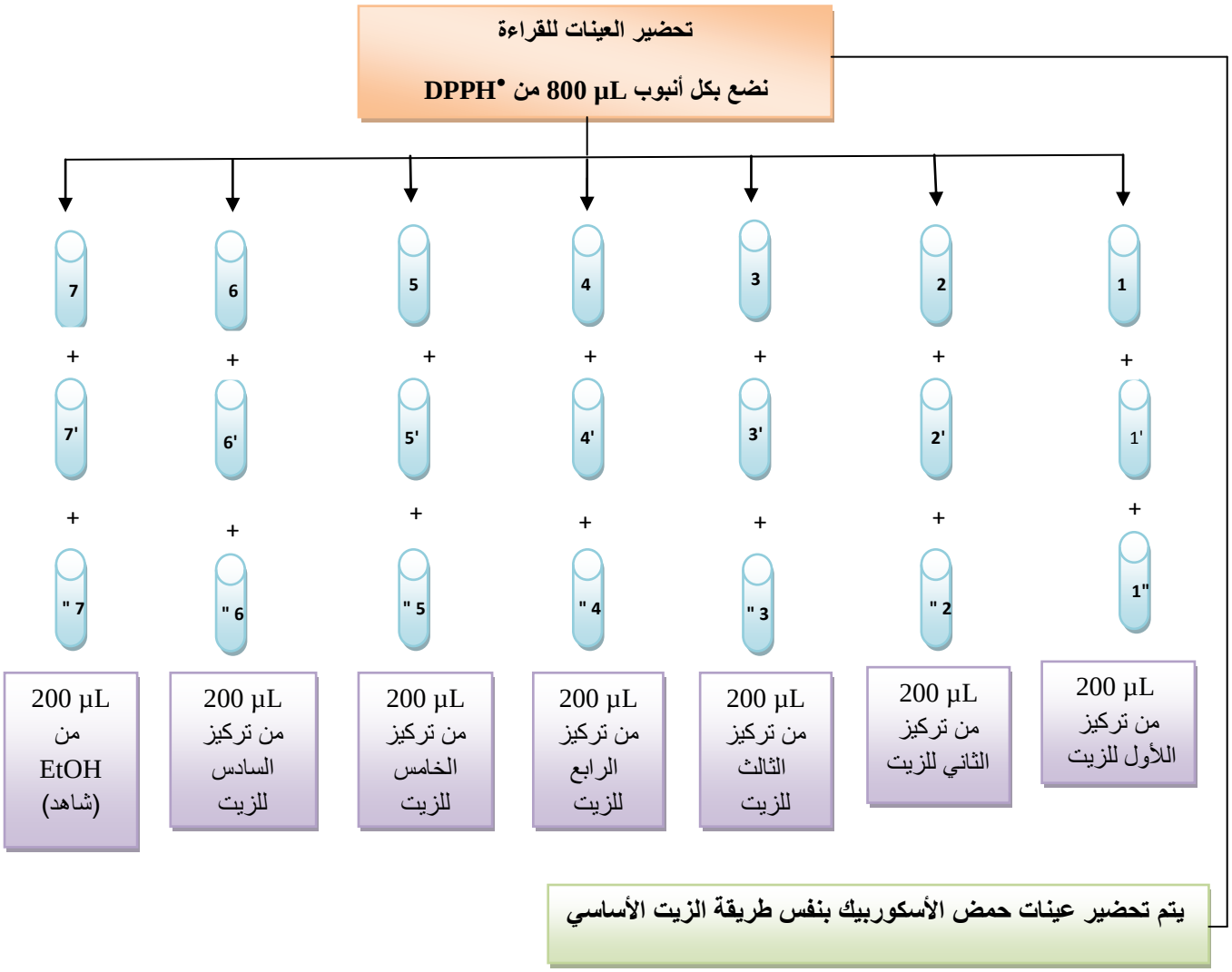
الوثيقة (3): مخطط يوضح طريقة التحضير تراكيز الزيت

III-6-2-2)- تحضير تراكيز حمض الأسكوربيك (فيتامين C):

يتم تحضير تراكيزحمض الأسكوربيك Acide ascorbique بنفس الطريقة التي تم بها تحضير تراكيز الزيت الأساسي.

III-6-3)- تحضير العينات من أجل قراءة النشاطية المضادة للأكسدة:

لقراءة النشاطية المضادة للأكسدة نضع في كل أنبوب 800 µL من $DPPH^{\bullet}$ المحضر سابقا ثم نضيف للأنبوب 200 µL من (حمض الأسكوربيك، أحد من تراكيز الزيت التالية: (4mg/mL، 2mg/mL، 1mg/mL 0.125mg/mL, 0.25mg/mL, 0.5 mg/mL)، ونضع في الأنبوب الشاهد 200 µL من EtOH مع 800 µL من $DPPH^{\bullet}$، تم تحضير 3 تكرارات لكل تركيز من أجل تفادي الأخطاء التي يمكن أن تحدث خلال مختلف مراحل التجربة.



الوثيقة (4): طريقة تحضير العينات للقراءة

III-6-4)- قراءة نتائج النشاطية المضادة للأكسدة:

بعد تحضير العينات نحفظها في مكان مظلم وبعيداً عن الضوء لمدة 30 min، وبعدها نخرجها ونبدأ بالقراءة بالأنبوب المحضر أولاً بعد أن نقوم بتصفير الجهاز بـ 1 mL من EtOH وضبطه على طول موجه 517nm.

III- 7)- النشاطية المضادة للبكتيريا:

تم الحصول عل الأنواع البكتيرية من مستشفى الحكيم سعدان – بسكرة – ولدراسة النشاطية المضاده للبكتيريا نقوم بتحضير المعلقات البكترية وذلك بأخذ القليل من البكتريا بواسطة ماصة باستور ووضعها في ماء فيزيولوجي بأنبوب خاص بذلك وتحريكها جيداً وقد إستخدمنا خلال درستنا 6 أنواع من البكتريا (*Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus* ، *Salmonella typhi*، *Micrococcus sp*، *Serratia sp*، *Pseudomonas areuginosa*) ثم نقوم بعدها بتحضير وسط زرع البكتيريا بإستخدم Miller Hinton حيث تمت إذابته في حمام مائي ونسكب القليل منه في أطباق بيتري الستة لنتركها بعد ذلك تبرد، بعدها نقوم بوسم كل طبق بيتري بنوع من البكتيريا بواسطة ماسح قطني ووضع على الطبق الأسم البكتيري الموسومه به ونتركها قليلاً ثم نضع في كل طبق بيتري 3 أقراص من ورق Wath main المشبعة بالزيت وقرص رابع بالوسط مشبع بـ DMSO بواسطة ملقط، بحيث في كل مره نضع فيها قرص في الطبق نعقم الملقط بالنار وبعدها نغلق أطباق بيتري ونحفظها في الحاضنة لمدة 24 ساعة تحت درجة حرارة 37 C° وتتم كل هذه الخطوات حول موقد Bee Benzen من أجل التعقيم.

III-7-1)- قراءة نتائج النشاطية المضادة للبكتيريا:

بعد مرور 24 ساعة من تحضير العينات ووضعها في الحاضنة نخرجها ونلاحظ بالعين تشكل أو عدم تشكل الأقطار التثبيطة حول الأقراص المشبعة بالزيت وقياس حجم قطرها، حيث يدل تشكل القطر على وجود نشاطية مضادة للبكتيريا والعكس صحيح.

الفصل الثاني :

النتـائـج

و المنـاقشـة

IV- النتـائـج والمنـاقشـة:

IV -1)- النتـائـج :

IV -1-1)- تحليل GC/MS:

خلال هذه الدراسة تطرقنا لدراسة الزيوت الأساسية حيث قمنا بإستخلاص الزيت الأساسي من أزهار النبات وقد تم الحصول على كمية ضئيلة جداً حيث كان المردود 0.003 %.

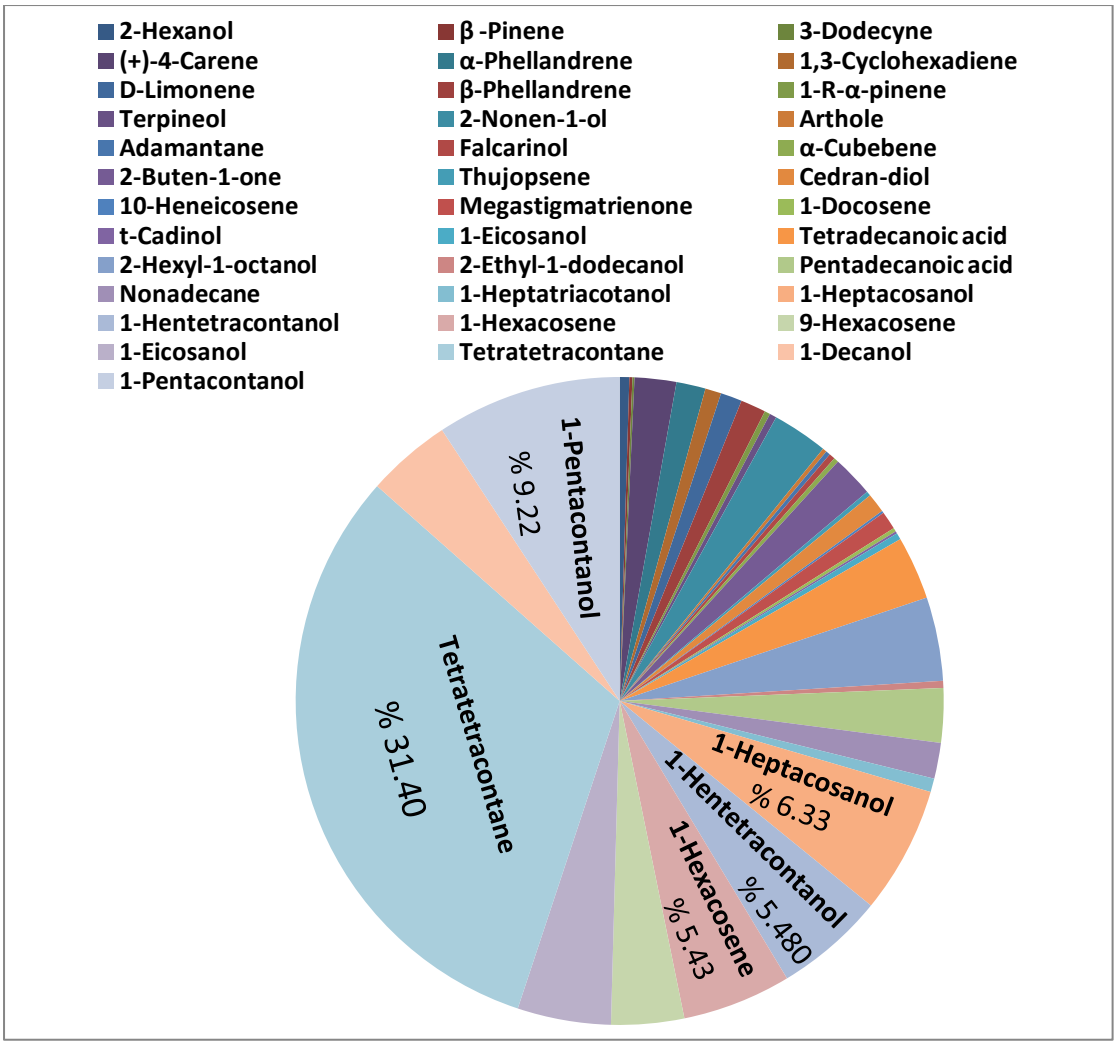
سمح تحليل GC/SM على التعرف على 99.88 % من المركبات الكيميائية المحتوية بالزيت وبلغ عدد المركبات التي تم التعرف عليها 37 مركب وكان Tetratetracontane متواجد بأكبر نسبة ليليه كل من 1-Pentacontanol ، 1-Heptacosanol ، 1-Hentetracontanol ، 1-Hexacosene بنسبة تواجد قدرت بـ 31.40 %، 9.22 % 6.33, % 5.48 % 5.43 % على الترتيب، يوضح في الجدول الآتى جميع المركبات الكيميائية بالزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana* والتي تم تعرف عليها:

جدول (3): المركبات الكيميائية التي يحتويها الزيت الأساسي لأزهار طازجه لنبات *E. guyoniana*

Peaks	Peak Name	Composition%
1	2-Hexanol	0.470
2	β –Pinene	0.15
3	3-Dodecyne	0.10
4	(+)-4-Carene	2.07
5	α-Phellandrene	1.46
6	1,3-Cyclohexadiene	0.80
7	D-Limonene	1.07
8	β-Phellandrene	1.26
9	1-R-α-pinene	0.28
10	Terpineol	0.35
11	2-Nonen-1-ol	2.77
12	Arthole	0.21

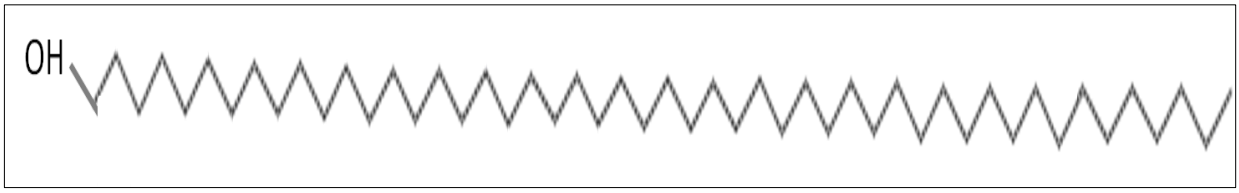
13	Adamantane	0.22
14	Falcarinol	0.30
15	α-Cubebene	0.24
16	2-Buten-1-one	2.06
17	Thujopsene	0.23
18	Cedran-diol	0.97
19	10-Heneicosene	0.11
20	Megastigmatrienone	0.91
21	1-Docosene	0.19
22	t-Cadinol	0.11
23	1-Eicosanol	0.33
24	Tetradecanoic acid	3.15
25	2-Hexyl-1-octanol	4.17
26	2-Ethyl-1-dodecanol	0.35
27	Pentadecanoic acid	2.71
28	Nonadecane	1.78
29	1-Heptatriacotanol	0.68
30	**1-Heptacosanol**	**6.33**
31	**1-Hentetracontanol**	**5.48**
32	**1-Hexacosene**	**5.43**
33	9-Hexacosene	3.63
34	1-Eicosanol	4.66
35	**Tetratetracontane**	**31.40**
36	1-Decanol	4.22

37	**1-Pentacontanol**	**9.22**
		Σ = % 99.88

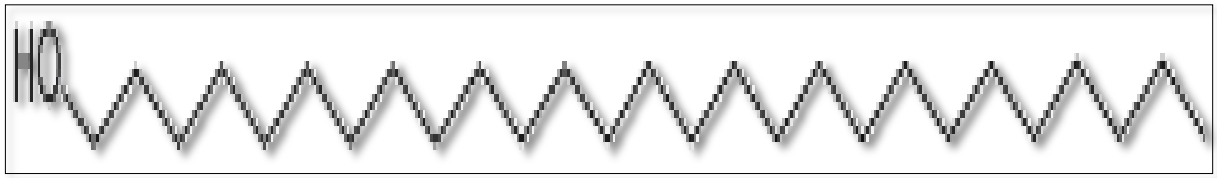


الشكل (18): نسب تواجد المركبات الكيميائية في الزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana*

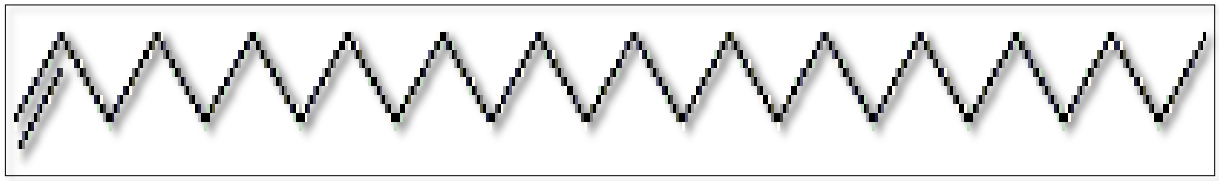
Tetratetracontane



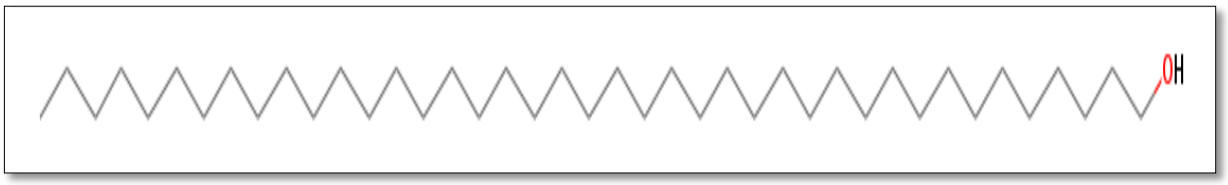
1-Pentacontanol



1-Heptacosanol



1- Hexacosene



1-Hentetracontanol

الشكل (19): التركيب الكيميائي للمركبات السائدة في الزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana*

IV -2-1)- النشاطية المضادة للأكسدة:

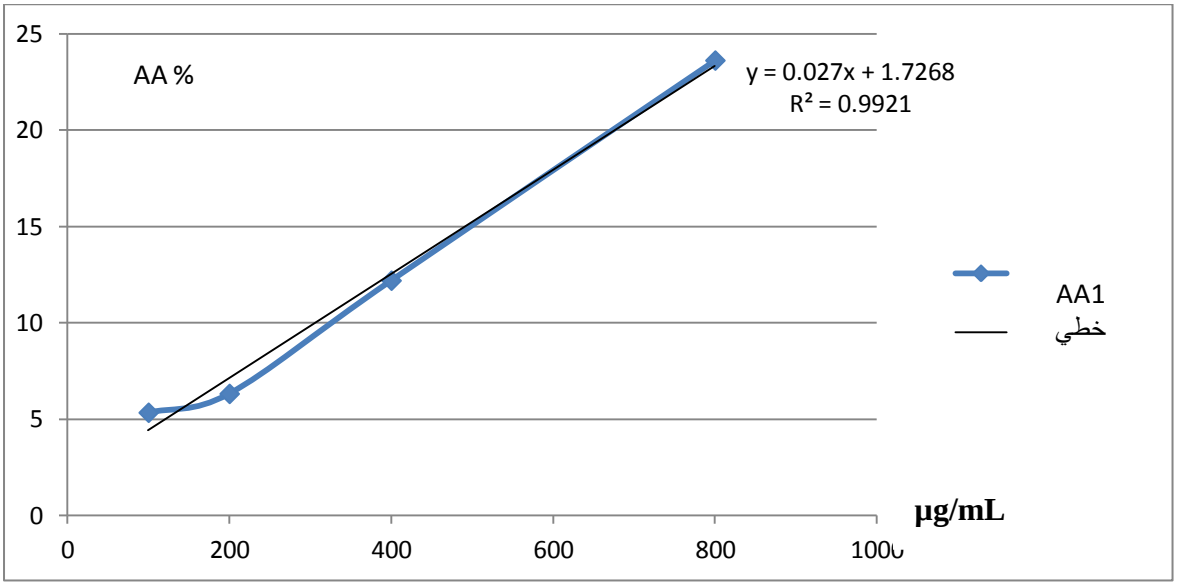
وقد أظهرت دراسة النشاطية المضادة للأكسدة لزيت الأساسي لنبات *E. guyoniana* بإستعمال الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ نشاطية ضعيفة مقارنة بنشاطية حمض الأسكوربيك وكانت النتائج كما هيا موضحه في الجدول التالي:

جدول (5): الإمتصاصية و النشاطية المضادة للأكسدة لزيت أزهار نبات *E. guyoniana* وحمض الأسكوربيك

Concentration mg/mL	Abs1	Abs2	Abs3	AA1	AA2	AA3	AA %	AA % (Vit. C)
Control	0.919							
0.8	0.702	0.71	0.708	23.61262	22.74211	22.95974	23.10±0.36	93.43±0.13
0.4	0.807	0.82	0.815	12.18716	10.77258	11.31665	11.42±0.58	87.13±1.13
0.2	0.861	0.848	0.857	6.311208	7.725789	6.746464	6.92±0.59	84.59±0.98
0.1	0.87	0.879	0.882	5.331882	4.352557	4.026115	4.57±0.55	70.14±0.63
IC_{50} (mg/mL)	-	-	-	1.82	1.87	1.80	1.83±0.01	0.062±0.01

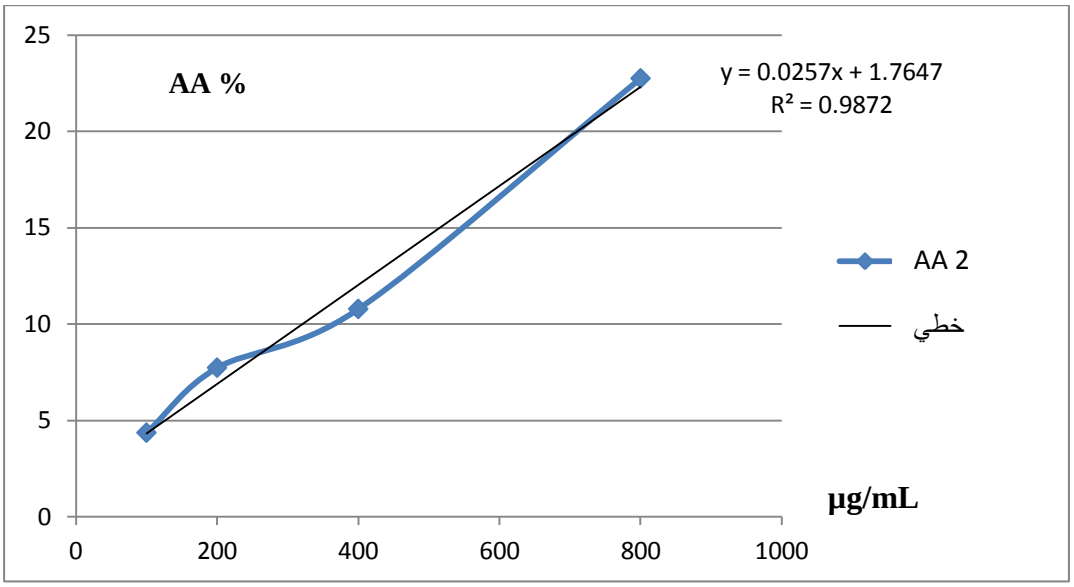
AA: Antioxdant activite

Vit C: Vitamin C



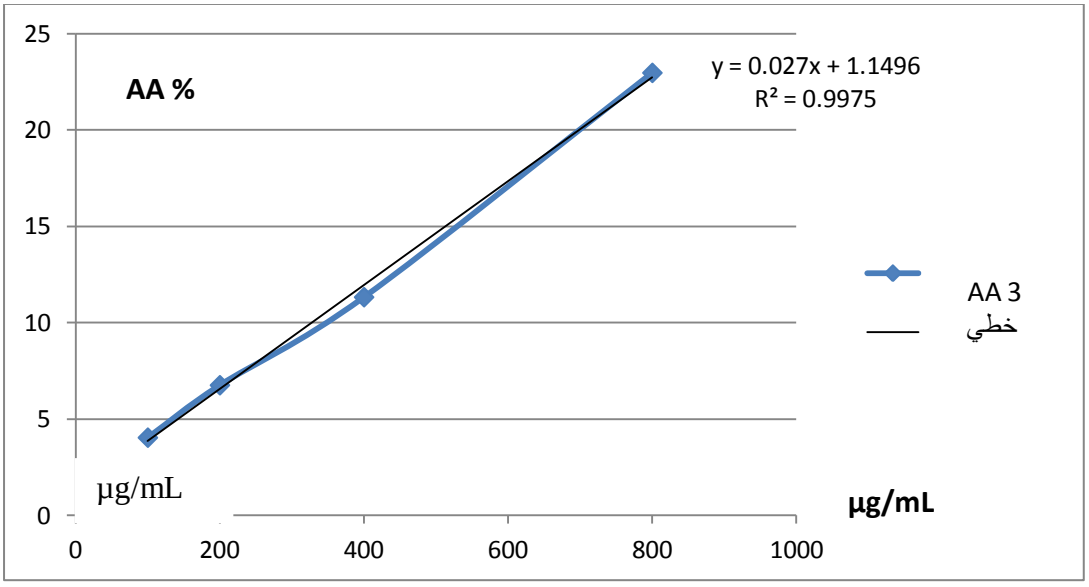
IC_{50} { 1824.93 µg/mL ; 1.82 mg/mL

الشكل (20): منحنى نسبة تثبيط الجذور الحرة AA 1 لزيت أزهار نبات *E. guyoniana*



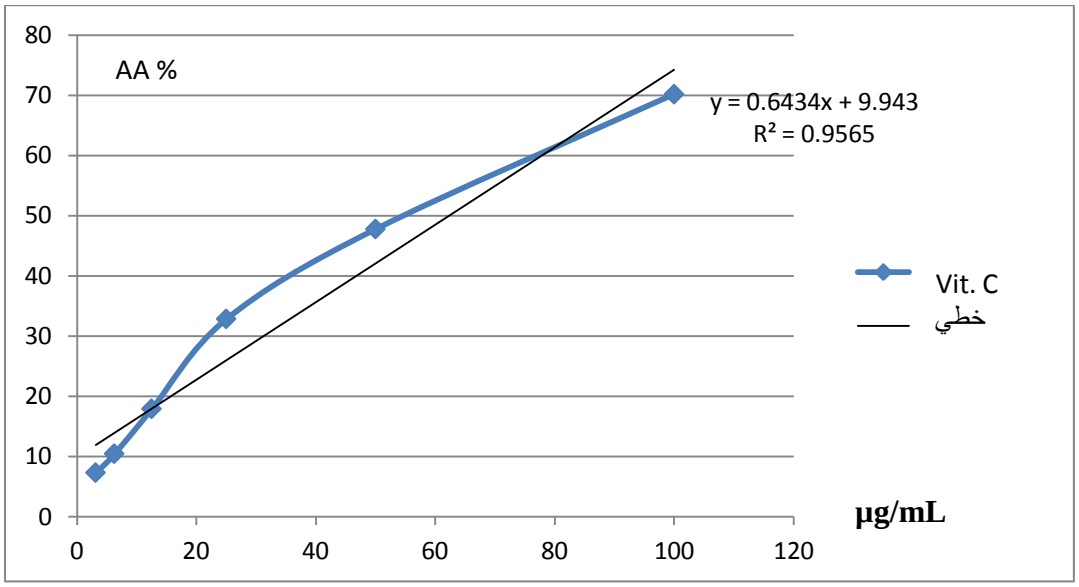
IC_{50} { 1876.85 µg/mL ; 1.87 mg/mL

الشكل (21): منحنى نسبة تثبيط الجذور الحرة AA 2 لزيت أزهار نبات *E. guyoniana*



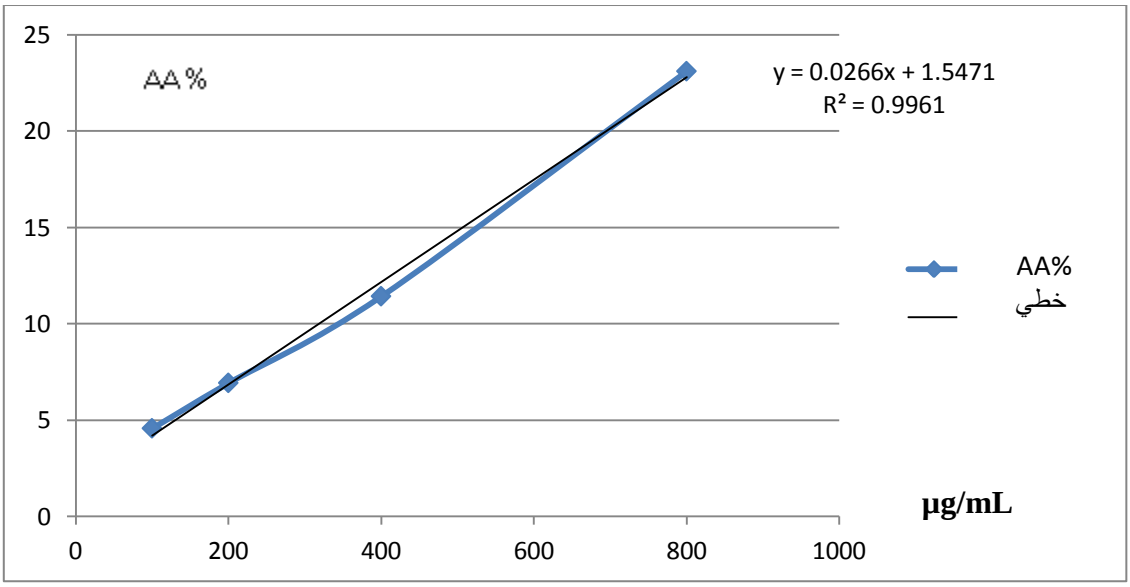
IC_{50} { 1809.27 µg/mL ; 1.80 mg/mL

الشكل (22): منحنى نسبة تثبيط الجذور الحرة AA 3 لزيت أزهار نبات *E. guyoniana*



IC_{50} { 62.24 µg/mL ; 0.062 mg/mL

الشكل (23): المنحنى البياني للنشاطية المضاد للأكسدة بدلالة التراكيز للشاهد المرجعي Vit. C



IC_{50} { 1821.537 µg/mL ; 1.83 mg/mL

الشكل (24): منحنى نسبة تثبيط الجذور الحرة AA % لزيت أزهار نبات *E. guyoniana*

يتم تحديد قيمة الـ IC_{50} من معادلة المحنى حسب الطريقة التالية:

- حساب الـ IC_{50} للزيت الأساسي:

$$Y = a\,x + b$$

تقدر نسبة الإرجاع بـ % 50، بحيث تكون قيمة الـ لزيت IC_{50} الزيت الأساسي لنبات *E. guyoniana*:

$$X = (50 - b)/a = IC_{50}$$

$$IC_{50} = (50 - 1547)/0.026 = 1863.557$$

$$IC_{50} = 1.86\ mg/mL$$

- حساب الـ IC_{50} للحمض الأسكوربيك:

تم حسابها بنفس الطريقة السابقة حيث بلغت قيمة الـ الـ IC_{50}:

$$IC_{50} = 0.062\ mg/mL$$

IV -1-3)- النشاطية المضادة للبكتيريا:

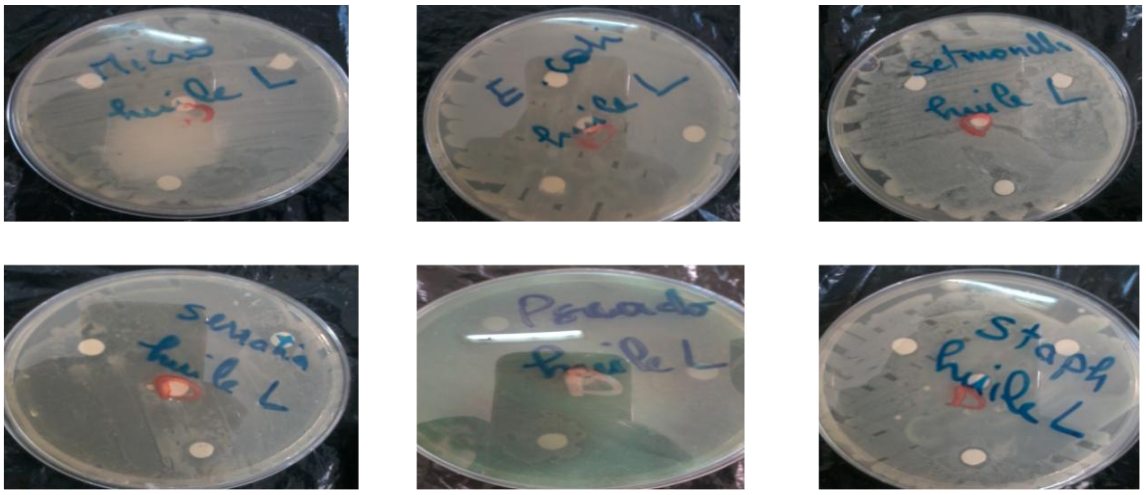
وخلال دراسة النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة بينت النتائج أن الزيت الأساسي لنبات قد أبدى نشاطية مضادة لبعض أنواع البكتيريا كما هو موضح في الجدول التالي:

جدول (6): يوضح النشاطية المضاد للأحياء الدقيقة لزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana*

الأنـواع البكتيـرية المستعمـلة	نشـاطيـة الزيـت الأسـاسي لنبـات *E. guyoniana* ضـد البكتيريـا	نشـاطيـة الـ DMSO ضـد البكتيريـا
E. coli	- - -	-
S. aureus	- - +	-
S. typhi	- - -	-
Micrococcus sp	- - -	-
Serratia sp	- + +	-
P. aeruginos	- - -	-

● فعالية ضعيفة + - - ●لا توجد فعالية - - - ● فعالية متوسطة + + -

تظهر النتائج حساسية معتبره لـ *Serratia sp* ضد الزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana* حيث ظهرت أقطار بكل الأقراص قدرة بحوالي 9/7 mm فيما أبدت *S. aureus* حساسية ضعيفة إتجاه الزيت فقد ظهر قطر تثبيطي واحد فقط قدر بـ 7 mm ، بينما لم تبدى باقي الأنواع (*E. coli*، *S. typhi*، *Micrococcus sp*، *P. aeruginos*) أي حساسية ضد الزيت ولم يتم تشكل أي أقطار تثبيطيه بها، كما كانت جميع الأنواع البكتيريه مقاومة لـ DMSO.



صـورة (10): حساسية البكتيريا لزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana*

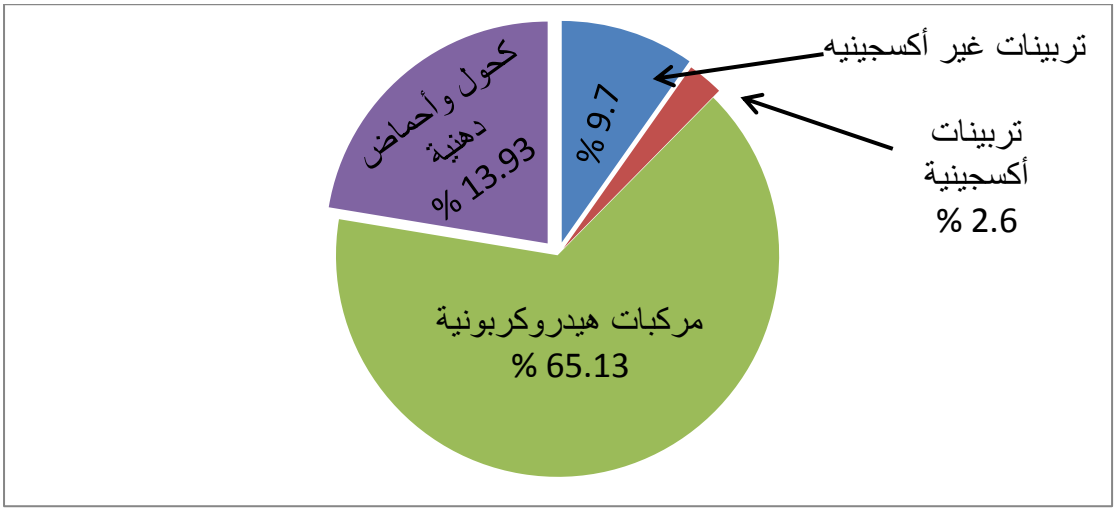
2-IV)- المنـاقشة:

إحتوي زيت أزهار نبات *E. guyoniana* على 37 مركب والتي تصنف كيميائيا الجدول التالي:

جـدول (7): تصنيف المركبات الكيميائية المحتوية بزيت أزهار نبات *E. guyoniana*

تربينـات غيـر أكسجينية	تربينـات أكسجينيـة	مركبـات هيـدروكربونيـة	مركبـات أخـرى (كحول وأحماض دهنية)
β-Pinene	Terpineol	2-Hexanol	1-Decanol
(+)-4-Carene	Arthole	3-Dodecyne	1-Eicosanol
α-Phellandrene	2-Buten-1-one	10-Heneicosene	Pentadecanoic acid
β-Phellandrene		1-Docosene	2-Ethyl-1-dodecanol
1,3-Cyclohexadiene		1-Eicosanol	2-Hexyl-1-octanol
D-Limonene		Nonadecane	Tetradecanoic acid
1-R-,α,-pinene		1-Heptatriacotanol	Falcarinol
Adamantane		1-Heptacosanol	2-Nonen-1-ol
α-Cubebene		1-Hentetracontanol	
Thujopsene		1-Hexacosene	

	9-Hexacosene Tetratetracontane 1-Pentacontanol		Cedran-diol Megastigmatrienone t-Cadinol
نسبـة تواجـدها في الزيـت الأسـاسي لأزهـار نبـات *E. guyoniana*			
% 13.93	% 65.13	% 2.6	% 9.7



الشكل (25): نسبة تواجد المركبات الكيميائية في الزيت الأساسي لنبات *E. guyoniana* بعد تصنيفها

تظهر عملية إستخلاص الزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana* أن مردود الزيت كان ضعيف حيث قدر بـ 0.003 % وربما يعود ذلك لشح النباتات الصحراوية عموماً للزيوت الأساسية، حيث يوضح تحليل GC/MS للزيت الأساسي أن المركبات الهيدروكربونية تواجدت بنسبة عالية حيث تقدره بـ % 65.13، بينما بلغت التربينات الغير أكسيجينية نسبة 9.7 %، والتربينات الأكسيجينية نسبة 2.6 %، ومركبات أخرى نسبة تواجد 13.93 %.

إن المركبات السائدة في الزيت الأساسي لنبات *E. guyoniana* تنتمي إلى المركبات الهيدروكربونية وهي لا تحتوي على حلقات أروماتية أو وظيفة كربوكسيلية فهي عبارة عن سلاسل هيدروكربونية تواجدة بنسبة 65.13 % من النسبة الكلية للمركبات بالزيت، كما توضح النتائج أن المركب السائد من بين كل المركبات المتواجده في الزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana* هو Tetratetracontane بنسبة تواجد 31.40 % بينما تراوحت نسبة تواجد المركبات السائده الأخرى بين 5 % و9 %، وقد وجد (Ertsa A et al., 2015) أن المركب Tetratetracontane كان سائد في الزيت الأساسي لنبات *E.macroclad* بنسبة تواجد قدرت بـ 42.7 % بينما تواجد نفس المركب في زيت الأساسي لنبات *E.gaillardotii* بنسبة 6.2 % فيما لم تظهر باقي المركبات -1

Pentacontanol، 1-Heptacosanol ، 1-Hentetracontanol، 1-Hexacosene في زيت نبات تلك الأنواع.

هناك أوجه تشابه وإختلاف في مكونات الزيوت الأساسية لجنس Euphorbia ويرجع ذلك لإختلاف النوع النباتي ضمن نفس الجنس وأيضا إختلاف الطبيعة الفيزيولوجية لكل نبات، كما تختلف الزيوت الأساسية المستخلصه من النوع النباتي بسبب إختلاف العضو النباتي المستخلص منه الزيت أو الوقت الذي تم جني النبات به.

وتجدر الأشاره إلى أن هذه الدراسة هي الأولى حول إستخلاص و التعرف على تركيبه الكيميائيه للزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana* ولهذا لا يمكننا المقارنة بين نتائج تحليل GC/MS بدراسات سابقة.

تظهر دراسة النشاطية المضادة للأكسدة للزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana* أنه كلما زاد التركيز زادت النشاطية المضادة للأكسدة حيث أعطي التركيز 0.8mg/mL أحسن نشاطية قدرت بـ % 23.10، وقدرت النشاطية بـ 11.42 % ,6.92 % ,4.57 % في كل من التراكيز 0.4 mg/mL ، 0.2 mg/mL، 0.1 mg/mL، ورغم ذلك تعتبر نسبة النشاطية مضادة للأكسدة ضعيفة جداً مقارنة بقيمة النشاطية للمركب المرجع حمض الأسكوربيك التي قدرت بـ 93.43 %.

بما أن أعلى قيمة الـ IC_{50} تمثل أفضل نشاطية المضادة للأكسدة فإن نشاطية الزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana* تعد ضعيفه مقارنة بحمض الأسكوربيك حيث قدرت قيمة الـ IC_{50} لكل منهما بـ 1.83 mg/mL، 0.062 mg/mL على الترتيب، ويمكن أن نرجع ضعف فعالية الزيت الأساسي في هذه الدراسة لإفتقاره إلى المواد التي لها فعالية مضادة للأكسدة كالفلافونويدات والفينولات (acides phénolique) والأنتوسيانين وtannins وحمض الأسكوربيك (فيتامين C) وفيتامين E مثل ما يشير إليه كل من (محب طه ص) و(رزاق زغير ز.، 2011) و(Ouanissa S., 2014).

و بدراسة قام بها Ertsa يظهر أن الزيت الأساسي لنبات *E. macroclad* الذي يحتوي على نسبة تواجد لمركب Tetratetracontane المقاربة لنسبة تواجده في الزيت الأساسي لنبات *E. guyoniana* المقدره بـ 42.7 % و 31.40 % على الترتيب، يملك فعالية مضادة للأكسدة عالية حيث قدرة قيمة الـ IC_{50} بـ 0.057 mg/mL على عكس زيت الأساسي المدروس حيث تشير القيمة المرتفعه لـ IC_{50} المقدرة بـ 1.83 mg/mL إلى ضعف النشاطية المضادة للأكسدة، حيث أنه كلما زادة قيمة الـ IC_{50} كلما قلة النشاطية المضادة للأكسدة العابد، إن تواجد المركب Tetratetracontane بنسبة عالية في كل من الزيت الأساسي لنباتين *E. macroclad* و*E. guyoniana* و إختلاف الـ IC_{50} يدل على أن النشاطية المضادة للأكسدة لا تعود لهذا المركب إنما قد تعود إلى مركبات أخرى. (العابد إ.، 2009 ؛ Ertsa A et al., 2015)

إن الإختلاف الظاهر في نشاطية الزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana* ضد الأنواع البكتيرية المستعملة أثناء الدراسة يعود إلى نوعية المركبات التي يحتويها الزيت وإختلاف تركيبة البكتيريا.

فقد أكد Brut أن الزيوت الأساسية تملك خاصية النفاذية السريعة في الدهون المتواجده على سطح أغشية البكتيريا وهذا ما يجعلها تتلف تركيبة البكتيريا وتغير من نفاذية أغشيتها لتصبح غير منتظمة، أما Belaiche أظهر أن بعض المركبات المحتوية بالزيوت الأساسية هي المسؤلة عن الفعالية المضادة للبكتيريا مثل الكحولات والفينولات والألدهيدات والأكسيدات والتربينات مثل α-pinene وlimonene والكتيونات مثل الـ carvone حيث يعمل هذا الأخير على نزع تدرج الـ pH وهذا يؤثر بشكل مباشر في نمو البكتيريا خاصة *E. coli* .

ويظهر رضوان في دراسة قامو بها ان كل من β-Cubebene وα-Phellandrene لهما تأثير مضاد لبكتيريا *E. coli* وخلال دراستنا لم يبدى الزيت أي نشاطية ضد هذا النوع البكتيري وهذا يعود لعدم إحتواء الزيت على كل من المركبين carvone وβ-Cubebene وتواجد α-Phellandrene بنسبة ضعيفة تقدر بـ % 1.46 والمركب المماكب له β–Phellandrene بنسبة تواجد 1.26 % و قد يفسر ذلك عدم فعالية الزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana* إتجاه بكتيريا *E. coli* وذلك لعدم إحتواء الزيت الأساسي لأي مواد لها فعالية بيولوجية إتجاه *E. coli*. (Brut S., 2004 ; Belaiche P., 1979 ؛ رضوان ب وأخرون.، 2012)

و بنفس الدراسة يشير كل من (رضوان ب وآخرون) إلى أن المركبين β-Pinene وα-Pinene لها تأثير مضاد لبكتيريا *S. aureus*، نلاحظ غياب المركب α-Pinene بزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana* لكن يحتوي على مماكب له وهو مركب 1-R-α-pinene بنسبة تواجد قدرت بـ 0.28 % بينما يتواجد β-Pinene بنسبة قدرت بـ 0.15 % لهذا أظهر الزيت الأساسي المدروس نشاطية ضعيفه مضادة لـ *S. aureus*. (رضوان ب وآخرون.،2012)

و أشارو أيضا أن لكل من β–Phellandrene وα–Phellandrene فعالية مضادة للبكتيريا من نوع *Salmonella*، فيما لم تبدي *S. typhi* أي حساسية إتجاه الزيت الأساسي المدورس، وقد يفسر ذلك بضعف نسبة تواجد هذين المركبين بالزيت آلأساسي التي تقدر بنبستهما معاً بـ 2.72 % أو لإختلاف في البنية التركيبة للبكتيريا التي تندرج تحت نوع *Salmonella*.

بينما يشير (Sonboli A., 2005) أن لـ Limonene تأثير مضاد لبكتيريا *P. aeruginos* كما أنها تتأثر بالمركبات الأكسجينية التي تتواجد بالزيت الأساسي المدروس بنسبة 2.6 % فيما يتواجد D-Limonene بنسبة 1.07 % بشكل مماكب لـ Limonene، حيث لم يبدى الزيت الأساسي أي فعالية

مضادة لهذه البكتيريا ربما يعود ذلك لعدم وجود مركب Limonene بالزيت وكما قد يفسر عدم حساسية *P. aeruginos* لزيت الأساسي أما لعدم تأثير D-Limonene والمركبات الأكسجينية على نمو هذه البكتيريا.

وفي دراسة قام بها (Nehad M., 2015) أن مركب الـ Tetratetracontane له نشاطية مضادة للبكتريا، فيما أبدى الزيت الأساسي فعالية مضادة لبكتيريا *Serratia sp* ويمكننا ترجيح ذلك لحساسيتها لمركب Tetratetracontane الذي يتواجد بنسبة كبيرة قدرة بـ 31.40 % أو للمركبات الأوكسجينية المتواجده بنسبة ضئيلة نوعاً ما بالزيت الأساسي المستخلص من أزهار نبات *E. guyoniana*، أو حساسيتها ضد المركبات التربينية التي يحتويها الزيت، فقد أشار (Mann C M., 2000) إلى أن المركبات التربينية تدخل للأغشية السيتوبلازمية فتؤدي إلى إيقاف آلية النقل الفعال وعملية الفسفرة التأكسدية في البكتيريا.

لم يبدي الزيت الأساسي خلال هذا الدراسة تأثيراً نوعي على البكتيريا سالبة أو موجبة الغرام وهذا يدل على أن فعالية الزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana* على الأنواع البكتيرية مرتبط بأنواع المركبات الموجود بالزيت الأساسي وطريقة تأثيرها على البكتيريا، كما تلعب البنية التركيبية للبكتريا دوراً هاماً في فعالية الزيوت الأساسية ضد الأنواع البكتيرية المختلفه.

بالرغم من أن نبات *E. guyoniana* يملك فعالية عالية مضادة للبكتيريا كما أوضح (Ionut F et al., 2015) إلا أن الزيت الأساسي لأزهار هذا النبات لم يبدى فعالية كبيره إتجاه الأنواع البكتيرية المستعملة خلال الدراسة، ويمكن تفسير ذلك بإختلاف المستخلصات المدروسه لهذا النبات أو إلى العضو التي تم إستخراج الزيت الأساسي منه أو لخلوه من المركبات الفعالة المضادة للبكتيريا كـ Limonene وcarvone والغائبين تماماً بالزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana* أو المتواجده بنسب ضعيفه كـ β−Phellandrene وα–Phellandrene وβ-Pinene، وكذلك لإختلاف البنى التركيبية للبكتيريا.

وعموما لا يمكننا الجزم بذلك لأنه لم يتم التطرق لدراسة فعالية الزيت الأساسي لأزهار نبات *E. guyoniana* من قبل، أو إلى قلة نسبة تواجد التربينات الأحادية به حيث يؤكد (Mann C M., 2000) أن التربينات الأحادية تكون محبة للدهون فكلما زادت نسبة تواجدها بالزيوت الأساسية زادة فعاليها تجاه البكتيريا حيث تصبح بذلك أكثر قابلية لذوبان في الأغشية الخلوية، أو غياب كل من الفينولات والصابونينات التي لها نفس تأثير التربينات الأحادية على البكتيريا مثل ما أوضح (Tylor r S et al., 1996 ;).

الخـاتمـة

كانت النباتات الطبية ولازالت محط اهتمام العديد من العلماء بغية اكتشاف مواد طبيعة فعالة تستعمل في الطب والصيدالة والتجميل، حيث ان اغلب سكان العالم يستعملون هذه الأدوية، وأكثر مواد التجميل رواجا هي تلك المصنوعة من مواد طبيعة.

يهدف هذا العمل إلى دراسة الفعالية المضادة للأكسدة والأحياء الدقيقة ومعرفة التركيب الكيميائي باستعمال كروماتوغرافيا الغاز الوصول بطيف الكتلة GC/MS للزيت الأساسي لأزهار طازجة لنبات *E. guyoniana* والمعروف في الأوساط الشعبية باسم البين وهو نبات معمر مستوطن في الجزائر حيث يتواجد في الكثبان الرملية، ويتميز بسيقان قائمة ملساء غنية باللبن النباتي (Latex وهي مادة سامه تستخدم لتخفيف من لدغات الثعابين)، يستخدم نبات اللبين في الطب التقليدي لعلاج الثالول واللدغات، أمراض الجهاز الهضمي، مضاد للجراثيم والفطريات ومضاد للإلتهابات والديدان ويعد اللبن الذي يخرج من الأغصان المقطوع مضر للعيون وقد يؤدي إلى فقدان البصر ولهذا يطلق عليه السكان المحليون بمنطقة وادي سوف – جنوب الجزائر- العماية.

تم في هاته الدراسة إستخلاص الزيت الأساسي من الأزهار للنبات المدروس بإتباع طريقة التقطير Hydrodistilation لإنها تعد الطريقة الأمثل لإستخلاص الزيوت الأساسية وتحصلنا على مردود 0.003%، ثم قمنا بتحليله كيميائيا لمعرفة تركيبة الكيميائي بواسطة GC/MS ودراسة النشاطية المضادة للأكسدة بواسطة الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ وأيضا دراسة النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة بإستخدام طريقة الانتشار بواسطة الأقراص وذلك من أجل تثمين زيت أزهار نبات *E. guyoniana* ومدى أهمية فعاليته البيولوجية، وقد توصلنا خلال هذا العمل إلى أن الزيت يحتوي على 37 مركب كيميائي وقد كانت المركبات الهيدروكربونية هيا السائدة بنسبة 89.57% وهذا ما يفسر ضعف الفعالية البيولوجية لزيت حيث أرجعنا ذلك إلى عدم إحتوائه على المركبات المسؤلة عن الفعالية البيولوجية لزيوت الأساسية كالفينولات والكروتنويدات والتنينات وكذلك لأختلاف حساسية البكتيريا للمركبات المحتوية على الزيت ولإختلاف البنى التركيبية للبكتيريا.

قـائـمـة المـراجـع العـربيـة

1)- ابن الشيخ ع.، 2008 - التأثير الضد الميكروبي والضد التأكسدي لمادة البروبوليس، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير، جامعة فرحات عباس، سطيف، 86 ص.

2)- ابو ذهب م ، الكشير ح ، القزاز س ، عاية ش .، 1997- البكتيريا دار المعارف، الجزاء الأول ص 20.

3)- أبو سمرة ر وأبو عسلي ع .،1999 - الجذور الحرة جملة مضادات المؤكسدات وداء إلتهاب المفاصل الرثياني. مجلة دمشق المجلد 15، العدد 2.

4)- الشبيب أ ش .، 2009 - علم الأحياء المجهرية الطبي دار الثقافة للنشر والتوزيع، ص308.

5)- العابد إ.،2009- دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران *Traganum nudatum*.مذكرة لنيل شهادة الماجستير،جامعة قاصدي مرباح، ورقلة،9 ص.

6)- آيت كاكي ف.، 2011- فصل وتحديد نواتج الأيض الثانوي ودراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتريا لمستخلص خلات الإثيل لنبتة *Origanum vulgare* L.SBSP.مذكرة لنيل شهادة ماجستير، جامعة منتوري، قسنطية، 31 ص.

7)- بن سلامة ع ر.، 2012- النشاطات المهبخضادة للأكسدة والمثبطة للأنزيم المؤكسد للكزايين لمستخلصات أوراق *Hertia cheirfolia* L. مذكرة لنيل شهادة ماجستير، جامعة فرحات عباس، سطيف، 15ص.

8)- بن مرعاش ع.،2012- دراسة نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي والفاعلية المضادة الأكسدة للنبتة *Cnvolvulus supinus Coss.&* kral (connvolvulaceae).مذكرة لنيل شهادة ماجستير، جامعة منتوري، قسمطينة، 91 ص.

9)- بنت عصام بن صالح الباز ن.،2009- العلاقة بين محتوي الأغذية من مضادات الأكسدة والحالة الصحية للحوامل The relationship betven content of food's anntioxidant and health status of pregnant. مذكرة لنيل شهادة ماجستير، جامعة أم القرى، المملكة العربية السعودية،13 ص.

10)- بنت هزاع ا.،2004- تأثير التشعيع في وجود الألفاتوكوفيرول على الأكسدة الإنزيمية في كبد فئران الألبينو. مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة الملك سعود' المملكة العربية السعودية، 58 ص.

11)- بو القندول ر.،2011- الدور الوقائي لبعض المستخلصات الفلافونيدية ضد الألتهاب الكبدي المحرض بالباراسيتامول لدى الجذران. مذكرة لنيل شهادة ماجستير، جامعة منتوري، قسنطينة،33 ص.

12)- بوبلوطة ح.، 2009 - النشاطية المضادة للتأكسد وامكانية وقاية المستخلصين الميثانوليين لنبتتي *Matricaria pubescens* و *Centaurea incan*على السمية الكبدية. مذكرة لنيل شه ادة الماجستير، جامعة منتوري، قسنطينٌة، 094 ص.

13)- بوختي ح.، 2010- النباتات الطبية المتداولة في المنطقة الشمالية لولاية سطيف دراسة تشريحية لنوعين من جنس Mentha والنشاطية ضد البكترية لزيوتها الأساسية. مذكرة لنيل شهادة ماجستير، جامعة فرحات عباس، سطيف، 116ص.

14)- بوديار ط.، 2008 - فصل وتحديد نواتج الأيض الثانوي ودراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبتة *Euphorbia gugoniana*. مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة منتوري قسنطٌينة، 128 ص.

15)- جبالي ه.،2012- التقدير المخبري النشاطية المضادة للأكسدة والجذور الحرة لبعض المركبات الكبريتية. مذكرة لنيل شهادة ماستير، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة،23-24 ص.

16)- جرموني م.،2009 - النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة الخياطة *Teucrium polium* مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء والفيزيولوجيا التجريبية .جامعة فرحات عباس . سطيف. الجزائر 95 .ص.

17)- حليس ي - 2007 **.,**الموسوعة النباتية لمنطقة سوف ، النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير . مطبعة الوليد . الوادي 248 .ص.

18)- حوه إ - 2013 **.,**دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة.مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، جامعة. قاصدي مرباح .ورقلة 109 .ص.

19)- دحية م.،2009- النباتات الطبية في مناطق الجافة بوسعادة والمسيلة. دراسة نبات القزاح *Pituranthos*، ظانواعه التركيب الكيميائي والنشاطية البيولوجية.مذكرة لنيل شهادة الدكتوراه، جامعة فرحات عباس، سطيف،62-53 ص.

20)- رزاق زغير ز.،2011 – دراسة تأثير المستخلصات الخام لنبات المرير *Sonchus olereaceus* على الجراثيم الممرضة في الزجاج in vitro.كلية الطب، جامعة بغداد، مجلة الأنبار للعلوم البيطرية، المجلد 4، العدد 2، 6 ص.

21)- رضوان ب د؛ العقلة ب؛ الأمير ل.، 2012- دراسة التركيب الكيميائي والتضاد البكتيري للزيوت العطرية المستخلصة من قشور ثمار الحمضيات. قسم التقانات الصناعية والغذائية ، الهيئة العامة للتقانة الحيوية ، سورية،16-14ص.

22)- زعتر ل.،2010- تحديد المكونات الكيميائية لأطوار الكلوروفورمو الزيت الأساسية لأنواع من العائلتين المركبة Compositas والسيتية Cistaceae. مذكرة لنيل شهادة دكتوراه، جامعة منتوري، قسنطينة،140 ص.

23)- زيدي م ف.،2012- المساهمة في الدراسة الفيتوكيميائية لنبات *Deverra scoparia* (البسباس البري) - الزيوت الطيارة والليبيدات-. مذكرة لنيل شهادة ماستر،جامعة قاصدي مرباح،ورقلة،72 ص.

24)- شمسة ب.،2015- دراسة مقارنة للمردودية والنشاطية المضادة للأكسدة فيالمستخلص الكحولي والمائي عند نبات *Zygophyllum album* L. مذكرة لنيل شهادة ماستر، جامعة الشهيد حمه لحضر، الوادي، 95 ص.

25)- طاهر سلمان م.، 2000 – إستخدام المذيبات العضوية في إستخلاص وتقدير نسبة الزيوت الأساسية والمستخلصات الأخرى لأعمار مختلفة من أوراق اليوكالبتوس *Eucalyptus camadulensis*.المعهد التقني كركوك ، 2 ص.

26)- طويل ن وفار س.،2015- المساهمة في دراسة تأثير مستخلص قشور ثمار نبات الرمان *Punica granatum* L على تثبيط نمو بعض من السلال البكترية الممرضة ودراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص التانينات، مذكرة لنيل شهادة الماستير، الشهيد حمه لحضر، الوادي،40 ص.

27)- عبد الغني النسر ن.،2013- دور مضادات الأكسدة وعلاقتها بالصحة العامة. مجلة أسيوط لدراسات البيئية، العدد مجلة أسيوط لدراسات البيئية، العدد .33، 12 ص.

28)- فرحات س.، 2013 - دراسة مقارنة فعالية المواد المضادة للأكسدة للبروبوليس لمناطق مختلفة في الجزائر حسب الخريطّة المناخية بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية. مذكرة لنيل شهادة الماستر اكاديمي، جامعة الوادي، الجزائر، 51 ص.

29)- قبيي ح.، 2002 - معجم الأعشاب والنباتات الطبية .دار الكتب العلمية بيروت، 340 ص.

30)- قندولي ش.، 2009 - دراسة تأثير النشاط المضاد للسكري والتأكسدي للأبوين Aloin في جرذان مصابة بالسكري المحرض بـ streptozotocin. مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة منتوري، قسنطينة، 97 ص.

31)- لبنى ع.،2010- دراسة بعض الخصائص البيوكيميائية لنبات الشيح *Artemisia herba alba* Asso. مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة فرحات عباس، سطيف،90 ص.

32)- لبيب على سعيد ن.،2010- دراسة فيتوكيميائية لنبات *Thymelaea microphylla* !! Coss. Et Dur. وتثمين الفعالية البيولوجية، جامعة منتوري قسنطينة، 14-13 ص.

33)- محب طه ص.، بدون سنة- فيسيولوجيا الاجهاد. كلية الزراعة، جامعة المنصورة.

34)- محمد بو عبد الله س.،2011- دراسة بعض التأثيرات البيولوجية لمستخلص نبات الشاي الأخضر *Camellia sinensis* على النشاطية المضادة للأكسدة والنشاطية المضادة للبكتيريا. مذكرة لنيل شهادة ماجستير، جامعة منتوري، قسنطينة،11-12 ص.

35)- مصطفى ب.، 2008 - دراسة فيتوكيميائية والفينولات في بعض أنواع التمر المحلي.مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، 59 ص.

36)- منيب ط س.،2000- إستخدام المذيبات العضوية في إستخلاص وتقدير نسبة الزيوت الأساسية والمستخلصات الأخرى لإعمار مختلفة من الأوراق اليوكاليبتوس *Eucalyptus camdulensis*. المعهد التقني كركوك،11 ص.

37)- ميثاق ج 2010 **- .,**بحث وتحديد نواتج الأيض الثانوي لنبات القات *Catha edulis* من العائلة (Celastraceae) ونبات البوليكاريا *Pulicaria jaubertii* من العائلة (Asteraceae) وتقييم الفعالية البيولوجية .رسالة مقدمة لنيل شهادة دكتوراه علوم في الكيمياء العضوية .جامعة منتوري – قسنطينة 142 .ص.

38)- ناجي وادي أ ومحمود عبد الله ز.،2013- تطبيق المواد البلورية السائلة في كروماتوغرافيا الغاز السائل.مجلة جامعة النهرين،المجلد 16، العدد 2.

قـائمـة المـراجـع الأجـنبيـة

1)- Abdollahi M and Ranjbar A and Shadnia S and Nikfar S and Rezaie A.,2004- Pesticides and oxidative stress. Med Sci Monit. 10: RA141-RA147.

2)- Adegoke A and Komolafe A., 2009- Multidrug resistant Stahylococcus aureus in clinical cases in Ile-Ife, Southwest Nigeria. International Journal of Medicine and Medical Sciences. Vol. 1 (3), p: 68-72.

3)- Atawodi s E.,2005- Antioxidant potential of African plants.*African J. of Biotec.*4 :(2):128-133.

4)- Balaban R S and Nemoto S and Finkel T.,2005- Mitochondria, oxidants, and aging. Cell. 120: 483-495.

5)- Belaiche P.,1979- Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, Tome 1, L'aromatogramme.éd. Maloine.

6)- Bencheikh H., 2005- Contribution à l'étude de la composition, de l'activité antimicrobienne et de la cytotoxicité des huiles essentielles de Thymus fontanesii et de *Foeniculum vulgare*. Mémoire de Magistère, UFA de Sétif,p85.

7)- BRUNETON J., 1999- Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Éd 3. TEC et DOC, Paris.

8)- Burt S.,2004- Essential oils : their antibacterial properties and potential application in foods-a review. *International journal of food microbiology*, 94, 223-253.

9)-Desjobert J et Bianchini A et Tommy P et Costa J et Bernardini A., 1997-Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse.Analysis.vol. 25(6): p13-16.

10)- Djaber H et Kherraz M., 2016-effet de la phytothérapie sur les modifications métaboliques et histologiques des certaines plantes médicinales sur l'envinémation scorpionique. Mémoire de master, Université Echahid Hamma Lakhdar, El OUED, 116p.

11)- Ertas A and Yilmaz m A and Firat M.,2015- Chemical profile by LC–MS/MS, GC/MS and antioxidant activities of the essential oils and crude extracts of two Euphorbia species.natural product research,7, 529-534.

12)- Georgetti S R and Casagrande R and Di Mambro v M and Azzolini A and Fonseca M J V.,2003-Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence medhod.*AAPS Pharm Sci.* 5(2):5p.

13)- Gutierrez J and Ballinger S W and Darley-Usmar V M and Landar A.,2006- Free radicals, mitochondria, and oxidized lipids: the emerging role in signal transduction in vascular cells. Circ Res. 99: 924-932.

14)- Qi cheng W and Yu-Ping T and An-Wei D and Fen-Qiang Y and Li Zhang and Jin-Ao Duan.,2009- C-NMR Data of Three Important Diterpenes Isolated from
Euphorbia Species. Affiliated Hospital, Nanjing University of Chinese Medicine, Kunshan, China, 1420-3049,p22.

15)- Haba H.,2008- etude phytochimique de deux euphorbiaceae saharienenes: *Euphorbia guyoniana* Biss . et Rut. Et *Euphorbia retnsa* fsork.these de doctorat en sciences,universite el hadi lakedar, batna,15p.

16)- Hajek V., 2014- Identification staphylococcus specis micrococcus specis and rothiaspecis. Public health england .N. 3 :2-32.

17)- Harrar A ., 2012- activités anti oxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus alaternus L. Mémoire magister ,Université Farhat Abbas Sétif,95p.

18)- Hennebelle T., Sahpaz S and Bailleul F.,2004-Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie* 1: 3-6.

19)- Iount F et Palici et al.,2015- study of *in vitro* antimicrobial and antiproliferative activities of selected saharan plants. Department of

Pharmaceutical Botany, University of Medicine and Pharmacy, 66(4), pp. 385–394.

20)- Joanny M et **Bourg F .**,2005 -la superoxyde dismutase ,puissant antioxydant natural , disponible par voie orale .Phytothérapie 3 :118-121 .

21)- Kemassi A et al.,2015- evalutuion de l'effet larvicide de l'extrait aqueux d'*Euphorbia guyoniana* (Boiss. & Reut.) (Euphorbiaceae),vol 8 n°1.

22)- Krippeit D and Lang F and Haussinger D and Drews G.,1994-H2O2 induced hyperpolarization of pancreatic B-cells .*Pflugers Arch* 426:552-554**.**

23)- Lambert P.A .,2002- Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-positive bacteria and mycobacteria. Journal of applied microbiology .Vol. 95.N (41): 22 -26.

24)- Laouer H.,2004- Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de M sila et de djelfa. composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d *Ammoides pusilla (Brot) Breistr*. et de *Magydaris pastinacea (Lamk) Paol* .thèse de doctorat d état. Département de biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.

25)- Mann C M; cox S D & Markham J L., 2000-The outer membrane of pseudomonas aeruginosa NCTC6749 contribted to its tolerance to the essental oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). Lett, APPl, Microbial, 30 : 294 – 297.

26)- Nehad M G and Abdulrahaman S H.,20015- antibacterlal activiec and GC-MS analysis of phytocomponents of *Ehretia Abyssinica* r.br. ex fresen.V 6-I 2,P 236-241.

27)- Ounissa S.,2014- euted ethnobotanique et chimique d'*Euphorbia guyoniana* Biss. Doctorat, et rut badji mokhtar annba,29 p.

28)- Ozgen U and Mavi A and Terzi Z and Yildirim A and Coskun M and Houghton P J., 2006- Antioxidant properties of some medicinal Lamiaceae (Labiatae) species. Pharm Biol. 44: 107-112.

29)- Rahman A and Nourooz J and Moller W et al.,1999-Increased oxidative damage to all DNA bases in patients with type II diabetes mellitus. *FEBS Lett.*448:120-122.

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

31)- Sonboli A and Eftekhar F and Yousefzadi M and Kanani M R., 2005- Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of Grammosciadium platycarpum Boiss. from *Iran. Z. Naturforsch*., V. 60, pp30–34.

32)- Shaan G L et Hancock R E W ., 2013 - Pseudomonas aeruginosa: new insights into pathogenesis and host defenses . Pathogens and Disease :159173.

33)- Singleton P., 2004 - Bactériologie pour la médecine ,la biologie et les biotechnologies .6eédition. France.240 p.

34)- Thulasiram h V and Bhat V B and Madyastha M K.,2001 - Effect of ring size in *R*-(1)- Pulegone-mediated hepatotoxicity: studies on the metabolism of *R* (1)-4-methyl-2-(1- methylethylidene)-cyclopentanone and dl-camphorone in rats. *Drug metabolism and disposition*, 6 (29): 821-829.

35)- Tylor R S and Manadhar N P and Hudson J B and Towers G H N.,1996- Anti microbial activity of Nepalese medicinal plants. J.Ethnopharmacol, 52 : 157-163.

36)- Veronique L C.,2001- Toxicité des huiles essentielles. Thèse pour obtenir legrade de docteur vétérinaire, diplôme d'état. Ecole nationale vétérinaire, Toulouse.

37)- Zhang X L and Jeza V T and Pan Q., 2008 - Salmonella Typhi: from a Human Pathogen to a Vaccine Vector. Cellular & Molecular immunology. Vol .5.N (2): 91-97.

الملخـص

تم خلال هذه الدراسة إستخلاص الزيت الأساسي لأزهار نبات *E.guyoniana* بطريقة التقطير Hydrodistilation وقدر المردود بـ 0.003%، تم تحليل الزيت بواسطة GC/MS ، وتم تحديد والكشف عن 37 مركب تمثلت في 99.88 % من إجمالي الزيت، وتم تحديد Tetratetracontane (%31.40)، 1-Pentacontanol (%9.22) و 1-Heptacosanol (% 6.33) كموكونات رئيسة. تم تحديد النشاطية المضادة للأكسدة بإستخدام إختبار الـ $DPPH^{\bullet}$، حيث أظهر الزيت نشاطية ضعيفة مقارنة مع حمض الأسكوربيك، كانت قيمة الـ IC_{50}= 1.83±0.01 mg/mL و 0.062±0.01 mg/mL على التوالي. وقد تم دراسة النشاطية المضادة للبكتيريا للزيت الأساسي بإستخدام طريقة الإنتشار بالأقراص ضد ستة سلالات بكتيرية، وأظهرت النتائج أن الـ *Serratia sp* حساس ضد الزيت، وكانت *S. aureus* مقاومة تقريبا، بينما كانت P. aeruginosa وE. Coli وS. typhi و Micrococus sp مقاومة للزيت.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، مضادات الأكسدة، النشاطية المضادة للبكتيريا، $DPPH^{\bullet}$، *Euphorbia guyoniana*، GC/MS.

Résumé

L'huile essentielle des fleurs d'Euphorbia guyoniana a été obtenue en utilisant la méthode d'hydrodistillation par l'appareil Clevenger. Le rendement en huile essentielle était de 0,003%, l'huile a été analysée par GC-MS. Trente-sept composés ont été détectés et identifiés, représentant 99,88% de l'huile totale. Tetratetracontane (31,40%), 1-pentacontanol (9,22%) et 1-heptacosanol (6,33) ont été identifiés comme constituants principaux. L'activité antioxydante a été déterminée à l'aide de la purification de DPPH, l'huile a montré une activité d'inhibition de la semaine comparée à l' acide ascorbique, où nous avons montré la valeur de IC50 = 1,83 ± 0,01 mg / mL et 0,062 ± 0,01 mg / mL, respectivement. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle a été étudiée en utilisant une méthode de diffusion du disque contre six souches bactériennes. Les résultats ont montré que Serratia sp est sensible à l'huile essentielle et S. aureus était presque résistant. Tandis que les autres souches bactériennes étaient la résistance à l'huile.

Mots-clés: huile essentielle, les antioxydants, activité antibactérienne, $DPPH^{\bullet}$, *Euphorbia guyoniana*, GC/MS.

Abstract

The essential oil of the flowers of *Euphorbia guyoniana* obtained using hydrodistillation method by Clevenger apparatus. The yield of essential oil was 0.003%, the oil was analyzed by GC-MS. Thirty Seven compounds were detected and identified, representing 99.88% of the total oil. Tetratetracontane (31.40%), 1-Pentacontanol (9.22%) and 1-Heptacosanol (6.33) were identified as the main constituents. The antioxidant activity was determined using $DPPH^{\bullet}$ scavenging, the oil exhibited week inhibition activity comparing with acide ascorbique, where we showed the value of IC_{50} = 1.83 ± 0.01 mg/mL and 0.062 ± 0.01 mg/mL, respectively. Antibacterial activity of essential oil has been investigated by usind disk diffusion method against six bacterial strains. The results showed that *Serratia sp* is sensitive against the oil and *S. aureus* was almost resistance. whereas, the other bacterial strains were resistance to the oil.

Keywords: essential oil, antioxidant, antibacterial activity, $DPPH^{\bullet}$, *Euphorbia guyoniana*, GC/MS.