



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمدة لخضر - الوادي

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا

مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي

ميدان: علوم الطبيعة والحياة

شعبة: علوم بيولوجية

تخصص: التنوع الحيوي و فزيولوجيا النبات

**النشاط المضاد للأكسدة والبكتيريا لأكسيد الزنك
النانوي المركب من المواد الفعالة لنبات الضرو
Pistacia lentiscus L.**

من إعداد: مدلل عبد القادر - بكاري أمين محمد علي - بشير لعج

ناقشها:

شمسه أحمد الخليفة	أستاذ محاضر أ	رئيساً	جامعة الوادي
جهرة علي بوتليليس	أستاذ التعليم العالي	مؤطراً	جامعة الوادي
بنين شيماء	طالب دكتوراه	مساعد مؤطر	جامعة الوادي
قادري منيرة	أستاذ محاضر أ	مناقشاً	جامعة الوادي

الموسم الجامعي: 2023/2022

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشهيد حمزة لخطير - الوادي
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا
مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي
ميدان: علوم الطبيعة والحياة
شعبة: علوم بيولوجية
تخصص: التنوع الحيوي و فزيولوجيا النبات

**النشاط المضاد للأكسدة والبكتيريا لأكسيد الزنك
النانوي المركب من المواد الفعالة لنبات الضرو
*Pistacia lentiscus L.***

من إعداد: مدلل عبد القادر - بكاري أمين محمد علي - بشير لعج

ناقشها:

شمسه أحمد الخليفة	أستاذ محاضر أ	رئيساً	جامعة الوادي
جهرة علي بوتليليس	أستاذ التعليم العالي	مؤطراً	جامعة الوادي
بنين شيماء	طالب دكتوراه	مساعد مؤطر	جامعة الوادي
قادري منيرة	أستاذ محاضر أ	مناقشاً	جامعة الوادي

التشكرات

الحمد لله حمداً كثيراً، نحمده بكرة وأصيلاً،
كما ينبغي لجلال وجهك وعظيم سلطانك

نقدم جزيل تشكرنا إلى الأستاذ الدكتور
جهرة علي بوتليليس الذي لم يقصر بتوجيهنا
بحكمته ونصائحه القيّمة التي ساعدتنا على إنجاز هذا العمل

وأتقدم بالشكر إلى جميع من ساعدنا طوال إنجاز هذه المذكرة
وعلى وجه الخصوص مسؤولي المخابر سلمي، عمر وبثري

وكذلك الأستاذة نتمسة أحمد الخليفة
والأستاذة بنين تتيما، الأستاذة بن عمر صفية، الأستاذة قوبي سناء،
والأستاذ صايبي منير مدير مؤسسة "Aromabioil"

وإلى جميع زملائنا الذين دعمونا طوال الطريق
كما أشكر أيضاً رئيس اللجنة وأعضائها لقبولهم مناقشة هذا البحث

الإهداء

إلى أمي الحبيبة وأبي الكريم واخوتي الأكارم

إلى رفاقي الأعزاء وكل العائلة

إلى جميع أساتذتنا الذين علمونا

وإليهم كلهم أهدي هذا العمل المتواضع

نسأل الله أن يجعل هذا العمل خالصاً لوجهه عزّ وجل

الفهرس

	ملخص بالعربية
	ملخص بالإنجليزية
	قائمة الأشكال
	قائمة الجداول
	قائمة المختصرات
	مقدمة
1	❖ الجزء النظري
	دراسة النوع النباتي لنبات الضرو. <i>Pistacia lentiscus</i> L.
6	1- العائلة <i>Anacardiaceae</i>
6	2- دراسة عامة للجنس <i>Pistacia</i>
7	2-1- الأنواع التابعة للجنس <i>Pistacia</i>
7	3-دراسة عامة للنوع النباتي المدروس
7	3-1- الوصف المورفولوجي للنبات
8	3-2- الأسماء الشائعة للنبات
8	3-3- التصنيف العلمي للنبات
8	3-4- التوزيع الجغرافي للنبات
9	3-5- استعمالات النبات
10	4- مدخل تقنية النانو
11	5- إيجابيات وسلبيات تقنية النانو
12	6- تطبيقات تقنية النانو
12	6-1- في مجال الطب الإحيائي
13	6-2- في مجال الغذاء
13	6-3- في مجال البيئة
13	6-4- في مجال الصناعة
	❖ الجزء التطبيقي: الفصل الأول مواد وطرق العمل
	المواد وطرق العمل
15	1-المواد المستعملة
15	1-1-المادة النباتية
15	1-2- منطقة القطف
16	1-3- التجفيف
16	1-4- السلالات البكتيرية
18	1-5- المضادات الحيوية
18	2- الطرق المتبعة
18	2-1- الكشف الكيميائي
19	2-1-1- الفينولات
19	2-1-2- الستيرويدات

19	2-1-3- الفلافونويدات
19	2-1-4- الأنتوسيانين
19	2-1-5- الكومارين
20	2-1-6- التانينات
20	2-1-7- القلويدات
20	2-1-8- الصابونين
20	2-2- التقدير الكمي للفينولات
20	2-3- التقدير الكمي للتانينات
20	2-4- التقدير الكمي للفلافونويدات
21	3- الاستخلاص
21	3-1- تحضير المستخلص المائي لنبات الضرو
21	3-2- استخلاص الزيت الطيار من نبات الضرو
22	4- تعريف المركبات في المستخلص والزيت الطيار
22	4-1- تعريف مركبات المستخلص المائي بواسطة HPLC/MS
22	4-2- تعريف مركبات الزيت الطيار بواسطة GC/MS/FID
23	5- تحضير المستخلصات النانوية
23	5-1- تحضير جزئية أكسيد الزنك النانوي من المستخلص المائي
23	5-2- تحضير جزئية أكسيد الزنك النانوي من الزيت الطيار
24	5-3- تعريف المركبات في أكسيد الزنك النانوي
24	6- الأثر البيولوجي للعينات المدروسة
24	6-1- النشاطية المضادة للأكسدة
24	6-1-1- تثبيط جذر 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•)
25	6-1-2- اختبار Ferric ion Reducing Antioxidant power (FRAP)
25	6-1-3- اختبار β -Carotene
26	6-2- دراسة النشاطية المضادة للبكتيريا
	❖ الفصل الثاني – النتائج والمناقشة
29	1- نتائج اختبارات الكشف الكيميائي للمواد الفعالة لنبات <i>Pistacia lentiscus</i> L.
29	2- تقدير نسبة الاستخلاص
29	3- التقدير الكمي للفينول
30	4- التقدير الكمي للتانينات
31	5- التقدير الكمي للفلافونويدات
32	6- تعريف المركبات في المستخلص والزيت الطيار
32	6-1- تعريف مركبات المستخلص المائي بواسطة HPLC/MS
33	6-2- تعريف مركبات الزيت الطيار بواسطة GC/MS/FID
35	7- تقدير مردود المركبات النانوية
35	8- تعريف المركبات في أكسيد الزنك النانوي
37	9- الأثر البيولوجي للعينات المدروسة

37	1-9- دراسة النشاطية المضادة للأكسدة
37	1-2-9- اختبار تثبيط جذر DPPH•
39	2-2-9- اختبار FRAP
40	3-2-9- اختبار β -Carotene
41	10- النشاطية المضادة للأحياء للبكتيريا
46	المناقشة
52	الخلاصة
54	قائمة المراجع
72	الملحق

الملخص

تمحورت دراستنا في تقييم التأثير المضاد للأكسدة والمضاد للبكتيريا للمستخلص المائي لأوراق نبات *Pistacia lentiscus* L. المقطوف من منطقة الشافية (الطارف) والزيت الطيار وتحضير جزيئات أكسيد الزنك النانوي انطلاقاً منهما وتم الاستعانة بتحليل عديدة نذكر منها HPLC/MS، GC/MS/FID، UV-vis، XRD، SEM-EDS، FT-IR وقد أجريت الاختبارات الكيميائية الأولية للأوراق بهدف الكشف عن مركبات الأيض الثانوي، وأظهرت وجود التانينات والقلويدات وعديدات الفينول والستيرولات والصابونين وغياب كل من الكومارين والأنثوسيانين.

أظهرت نتائج التقدير الكمي للفينولات احتواء المستخلص المائي على ($61.703 \pm 10.041 \mu\text{g EAG/ml}$)، وأما بالنسبة للتانينات فقد احتوى على ($118.7272 \pm 2.07 \mu\text{g EC /ml}$) وكانت نسبة الفلافونويدات ($32 \pm 3.791 \text{ QE/g DM}$).

كشفت اختبارات النشاطية المضادة للأكسدة، والتي أجريت بثلاث طرق مختلفة متمثلة في (DPPH، FRAP، β -carotene) عن استجابة مضادة للأكسدة. أبدت نتائج النشاطية المضادة لجذر • DPPH أعلى قيم تثبيط عند المستخلص المائي ($169.61 \pm 9.35 \mu\text{g EAA/mg}$)، أما الزيت الطيار فقد كانت ($358.53 \pm 15.73 \text{ EAA/mg}$)، وفي ما يتعلق بقيم كل من أكسيد الزنك للمستخلص المائي وأكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار فكانت قيمهما أقل من IC50 لذا تعدّر حسابهما. نفس الشيء بالنسبة لاختبار FRAP، قدرت قيمة المستخلص المائي ($318.091 \pm 7.2 \mu\text{g/mg}$) والزيت الطيار ($138.13 \pm 8.41 \mu\text{g/mg}$) وأما بالنسبة لمستخلصات أكسيد الزنك فتعدّر وجود نشاطية بعد عدة تكرارات. وكذلك بالنسبة لاختبار β -carotene حيث استطاع المستخلص المائي تثبيط نسبة (83.33%) وكانت نسبة الزيت الطيار ذو قريية لها (80.68%) وبيّن اختبار النشاطية لكل من أكسيد الزنك النانوي للمستخلص المائي قدرت تثبيط بنسبة (40%) وأكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار قدرت تثبيط تساوي (20%).

تم تقييم النشاطية المضادة للبكتيريا على سبع سلالات بكتيرية ممرضة للإنسان: *Pseudomonas aeruginosa*، *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus hominis*. جميع المستخلصات نتائج مقاربة، ولكن الزيت الطيار أعطى أفضل النتائج.

الكلمات المفتاحية: *Pistacia lentiscus* L.، النشاطية المضادة للأكسدة، النشاطية المضادة للبكتيريا، أكسيد الزنك النانوي، الزيت الطيار، المستخلص المائي.

Abstract

Our study focused on evaluating the antioxidant and antibacterial effect of the aqueous extract of leaves of *Pistacia lentiscus* L. harvested from the Shafia region (El-Tarif) and essential oil, and preparing zinc oxide nanoparticles based on them. Several analyzes were used, including HPLC/MS, GC/MS/FID, UV-vis, XRD, SEM-EDS, FT-IR.

The Chemical Screening tests revealed the leaves' richness in secondary metabolite compounds, including tannins, alkaloids, polyphenols, and sterols. The results of the quantitative estimation of phenols showed that the aqueous extract contained (61.703 ± 10.041 μg EAG/ml), and as for tannins, it contained (118.7272 ± 2.07 μg EC/ml), and the flavonoids was (32 ± 3.791 μg QE/g DM).

As for the antioxidant activity tests, which were conducted with three different methods (DPPH, FRAP, β -carotene), revealed an antioxidant response. The results of the anti-radical activity of DPPH• showed the highest inhibition values when the aqueous extract (169.61 ± 9.35 μg EAA/mg), while the essential oil was (358.53 ± 15.73 μg EAA/mg) and for the values of each of the zinc oxide for the aqueous extract and the zinc oxide nanoparticles for the essential oil, their values were less than IC_{50} , so we couldn't calculate it.

The same for the FRAP, the value of the aqueous extract was estimated to be (318.091 ± 7.2 μg /mg) and the essential oil was (138.13 ± 8.41 μg /mg). As for the zinc oxide extracts, there was no activity after several repetitions. As well as for the β -carotene test, where the aqueous extract was able to inhibit (83.33%), and the percentage of essential oil was close to (80.68%).

The antibacterial activity was evaluated on seven bacterial strains pathogenic to humans: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus homonis*. All extracts showed similar results, But the essential oil gave the best results.

Keywords: *Pistacia lentiscus* L., antioxidant activity, antibacterial activity, zinc oxide nanoparticles, essential oil, aqueous extract

قائمة الأشكال

رقم الصفحة	الشكل
6	الشكل (01): الانتشار الجغرافي للجنس <i>Pistacia</i> في العالم (OpenMapTiles, GBIF,) (2023)
7	الشكل (02): بعض أهم الأنواع التابعة لجنس <i>Pistacia</i>
9	الشكل (03): خريطة تمثل توزيع نبات الضرو شمال الجزائر (Bacchetta Gianluigi et al,) 2011
15	الشكل (04): صورة لشجرة <i>Pistacia lentiscus</i> L. (صورة أصلية).
16	الشكل (05): صورة تبين منطقة القطف وموقعها على مستوى ولاية الطارف والجزائر.
30	الشكل (06): المنحنى القياسي للتراكيز المختلفة لحمض الغاليك لمستخلص لنبات الضرو.
30	الشكل (07): المنحنى القياسي للتراكيز المختلفة لحمض الكاتيشين للمستخلص لنبات الضرو.
31	الشكل (08): المنحنى القياسي للتراكيز المختلفة الكرسيتين للمستخلص لنبات الضرو.
32	الشكل (09): المنحنى يبين المركبات التي التعرف عليها في المستخلص المائي بواسطة HPLC/MS.
33	الشكل (10): التركيب الكيميائي للمركبات الكيميائية ذات أكبر نسبة في المستخلص المائي.
33	الشكل (11): منحنى طيف الفصل الكروماتوغرافي الغازي GC/MS/FID للزيت الطيار لنبات الضرو.
38	الشكل (12): التركيب الكيميائي للمركبات الكيميائية ذات أكبر نسبة في الزيت الطيار.
36	الشكل (13): التقنيات المتبعة في تعريف المركبات النانوية المشكلة من المستخلص المائي.
37	الشكل (14): التقنيات المتبعة في تعريف المركبات النانوية المشكلة من الزيت الطيار.
37	الشكل (15): المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأكسدة لكبح جذر DPPH• للمستخلص المائي.
38	الشكل (16): المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأكسدة لكبح جذر DPPH• للزيت الطيار لنبات الضرو.
38	الشكل (17): المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأكسدة لكبح جذر DPPH• أكسيد الزنك النانوي للمستخلص المائي.
38	الشكل (18): المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأكسدة لكبح جذر DPPH• لأكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار.
39	الشكل (19): المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأكسدة لكبح شوارد الحديد للمستخلص المائي.
39	الشكل (20): المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأكسدة لكبح شوارد الحديد للزيت الطيار.
40	الشكل (21): نسبة أكسدة β -carotene من طرف المستخلص المائي والزيت الطيار.
58	الشكل (22): جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC/MS (صورة أصلية)
58	الشكل (23): جهاز Energy Dispersive Spectroscop (صورة أصلية)
58	الشكل (24): جهاز X-ray diffraction (صورة أصلية)
59	الشكل (25): جهاز FT-IR (صورة أصلية)
59	الشكل (26): جهاز UV-Vis (صورة أصلية)

قائمة الجداول

رقم الصفحة	عنوان الجدول
8	جدول (01): التصنيف العلمي لنبات <i>Pistacia lentiscus</i> L.
11	الجدول (02): جدول يمثل إيجابيات وسلبيات بعض طرق تقنيات النانو.
17	الجدول (03): البكتيريا المتعلقة بالدراسة.
17	الجدول (04): تعريف، مكان تواجد والأمراض التي تسببها البكتيريا المتعلقة بالدراسة.
29	الجدول (05): نتائج الكشف الكيميائي عن بعض المركبات الفعالة للأبيض الثانوي لنبات <i>Pistacia lentiscus</i> L.
29	جدول (06): نتائج مردود الاستخلاص للمستخلص المائي والزيت الطيار.
30	جدول (07): محتوى الفينولات الكلية في المستخلص المائي.
31	جدول (08): محتوى التانينات الكلية في المستخلص المائي.
31	جدول (09): محتوى الفلافونويدات الكلية في المستخلص المائي.
35	جدول (10): نتائج مردود أكسيد الزنك النانوي للمستخلص المائي وأكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار.
39	الجدول (11): جدول يمثل نتائج النشاطية المضادة للأكسدة • DPPH لكل من المستخلص المائي والزيت الطيار وأكسيد الزنك النانوي للمستخلص وأكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار.
40	الجدول (12): جدول يمثل نتائج FRAP لكل من المستخلص المائي والزيت الطيار وأكسيد الزنك النانوي للمستخلص وأكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار.
41	الجدول (13): تأثير المستخلص المائي على السلالات البكتيرية المدروسة.
42	الجدول (14): تأثير الزيت الطيار لنبات الضرو على السلالات البكتيرية المدروسة.
43	الجدول (15): تأثير أكسيد الزنك النانوي لنبات الضرو على السلالات البكتيرية المدروسة.
44	الجدول (16): تأثير أكسيد الزنك للزيت الطيار على السلالات البكتيرية المدروسة.

قائمة المختصرات:

ATCC: American Type Culture Collection.

CIP: Ciprofloxacin.

DMSO: Dimethylsulfoxide.

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

FRAP: Ferric ion Reducing Antioxidant power.

FT-IR: Fourier-transform infrared spectroscopy.

GC/MS/FID: Gas chromatography-Electroantennographic detection.

HPLC/MS: High-performance liquid chromatography - Mass Spectrometry

MH: Mueller Hinton.

OX: Oxacillin.

SEM-EDS: Scanning Electron Microscopy / Energy Dispersive Spectroscopy.

UV-vis: Ultraviolet-visible spectroscopy.

XRD: X-ray diffraction.

مقدمة

مقدمة:

منذ القدم أعتبرت النباتات الطبية من بين أهم المصادر الأساسية للأدوية المستعملة للشفاء وعلاج العديد من الأمراض وهذا نظرًا لقدرتها على مقاومة هذه الأمراض، حاليًا فإن دراسة التنوع النباتي خاصةً النباتات الطبية منها منتشر في جميع أنحاء العالم والذي يثبت من جهة أخرى أهمية استعمال النباتات الطبية في العلاج. إن البحث عن جزيئات ومواد فعالة من خلال مصادر طبيعية خاصةً النباتية منها أصبح من بين التوجهات الحديثة للعلم (Pelt, 2001) وإلى غاية الآن من بين 300000 نوع نباتي مكتشف فقد تم دراسة نسبة قليلة من هذا الكم والمقدرة بـ15% (دراسة كيميائية نباتية)، في حين أنّ 6% فقط من مجموع نباتات تم اجراء دراسة بيولوجية (Verpoorte, 2002)، وهذا ما يعني أنّ النباتات عبارة عن خزان للمواد الطبيعية الفعالة التي لم تكتشف بعد.

المواد الطبيعية الفعالة المتواجدة على مستوى النباتات توفر منبع للتنوع الكيميائي والتي قد يكون بتراكيب كيميائية أصلية صعبة التركيب في المخابر، من هذا المنطلق فقط وجد ارتفاع متزايد واهتمام كبير من أجل استهلاك هذه المواد الفعالة الطبيعية ذات المصدر النباتي، كما أنّ هناك توجهًا في الصناعة كذلك للحصول على مستخلصات غنية بالمواد الفعالة. من بين المواد التي تحتوي قدرة كبيرة في المجال الصيدلاني هي المواد المضادة للأكسدة وعلى وجه الخصوص المتعدد الفينولات، الفلافونويدات والتانينات حيث تم اجراء العديد من الدراسات على هذه المواد في المجال الطبي، التجميلي، الغذائي، وحتى الصناعي إلى غاية يومنا هذا. أكثر من 3000 مركب فلافونويدي تم تعريفه موجود بصفة خاصة في الصبغات الزهرية أو الورقية (Marfak, 2003)، إنّ المستخلصات النباتية الغنية بالمركبات الفينولية، الفلافونويدية والتانينية هي مركبات فعالة كمركبات مضادة للبكتيريا (Djahra, 2020)، مضادة للفطريات (Djahra, 2019)، مضادة للسكري (Benkherara, 2021)، حماية للخلايا الكبدية (Djahra, 2020)، حماية خلايا الدم (Zeghib, 2021)، إضافةً إلى فائدتها كمواد التجميل والغذاء (Chebil, 2006).

تعتبر الجزائر بموقعها المتوسطي وطبيعتها مناخها المعتدل من بين البلدان التي تتميز بغناها بالمصادر النباتية حيث تتراوح الأنواع النباتية التي تم التعرف عليها حوالي 3000 نوع نباتي تنتمي إلى عائلات نباتية مختلفة (Gaussen, 1982)، لوحظ أنّ لهذه الأنواع النباتية واسعة الاستعمال في الطب الشعبي كمصدر كبير للمواد الفعالة الطبيعية والتي يمكن أن تستغل في مجال الصناعة الصيدلاني وبالتالي تثمين الثروة النباتية في هذا البلد (Djahra, 2020).

وفي هذا الإطار تم اختبار نبات الضرو *Pistacia lentiscus* L. كمحور لهذه الدراسة والذي يعتبر من بين أكثر النباتات استعمالاً وهذا لخصائصه العلاجية المستخدمة في الطب التقليدي الجزائري.

لقد عرف المجال الطبي حديثاً ثورة من خلال استخدام المركبات النانوية في العلاج حيث تعتبر تطبيقات تكنولوجيا النانو التي تعالج إشكاليات العديد من المجالات مثل البيوكيمياء التطبيقية والبيولوجيا والبيوتكنولوجيا... (Gnanasangeetha And Thambavani, 2014; Wiesner, 2007). في المقابل فإن التركيب الحيوي لجزيئات النانو تأخذ صبغة هامة في مجال تكنولوجيا النانو إضافة إلى تطوير المعارف الحديثة في استغلال المصادر الحيوية البيولوجية لتشكيل هذه المواد من بينها المستخلصات النباتية (Kavitha et al, 2013)، إن التركيب البيولوجي للمواد النانوية انطلاقاً من المستخلصات النباتية الغنية بالمواد الفعالة أصبح ذو استغلال كبير من أجل تطوير هذه المركبات كونها تحافظ على البيئة وتمنع تلويثها خلال تكوين هذه المركبات خاصةً وأنها تستهلك العديد من المركبات والمواد الكيميائية، هذه الأخيرة تملك العديد من التأثيرات السلبية سواءً على صحة الإنسان أو البيئة المحيطة به، إن ما اصطلح عليه بالتركيب الأخضر Green Synthesis لجزيئات النانو يشمل تكوينها انطلاقاً من كل ما هو طبيعي (Rehana et al, 2017). من بين مركبات النانو التي نالت قسطاً كبيراً من الدراسات في السنوات الأخيرة هي مركبات أكسيد الزنك النانوية وهذا نظراً لتطبيقات هذه المركبات في العديد من المجالات خاصةً التطبيقات الصناعية (Zaman, 2012) حيث بينت بعض هذه الدراسات أنّ هذه المركبات تحديداً ZnO-NPs غير سامة بالنسبة لخلايا الإنسان ويمكنها أن تتأقلم مع هذه الخلايا لتكون ذات فائدة بالنسبة للإنسان (Sirelkhatim, 2013).

على ضوء ما سبق فإنّ دراستنا هذه تهدف إلى تكوين مركبات النانوية لأكسيد الزنك انطلاقاً من المستخلصات النباتية لنبات الضرو *Pistacia lentiscus* L. النامي في شمال شرق الجزائر على مستوى الحظيرة الوطنية للقالبة ودراسة الفعالية البيولوجية لهذه المستخلصات حيث تم تقسيم هذا العمل إلى:

1- الجزء النظري والذي اشتمل على مفاهيم أساسية حول النبات قيد الدراسة إضافةً إلى تكنولوجيا النانو.

2- الجزء التطبيقي فقد اشتمل هذا الجزء على فصلين أساسيين:

مواد وطرق العمل، حيث تم التعرض إلى المواد المستعملة كالمادة النباتية، السلالات البكتيرية والمضادات الحيوية بالإضافة للطرق المتبعة لتحقيق الدراسة والتي نبينها كما يلي:

• جرد المركبات الأيضية الثانوية في النبات.

- التقدير الكمي للمواد الطبيعية الفعالة وعلى وجه الخصوص عديدة الفينولات، التانينات والفلافنويدات.
- استخلاص هذه المواد الفعالة الذوابة في الماء إضافة إلى الزيوت الطيارة.
- تعريف المركبات الطبيعية الفعالة في المستخلص بواسطة HPLC/MS والزيوت الطيار بواسطة GC/MS/FID
- تعريف مركبات أكسيد الزنك المركبة من المستخلص والزيوت الطيار بعدة تقنيات تتمثل في SEM-EDX ،UV-vis ،XRD ،FT-IR
- دراسة النشاطية البيولوجية لكل من المستخلص المائي، الزيت الطيار، المركبات أكسيد الزنك للمستخلص المائي وأكسيد الزنك للزيت الطيار بواسطة النشاطية المضادة للأكسدة التي تشمل ثلاثة اختبارات والنشاطية المضادة للبكتيريا.

الجزء النظري

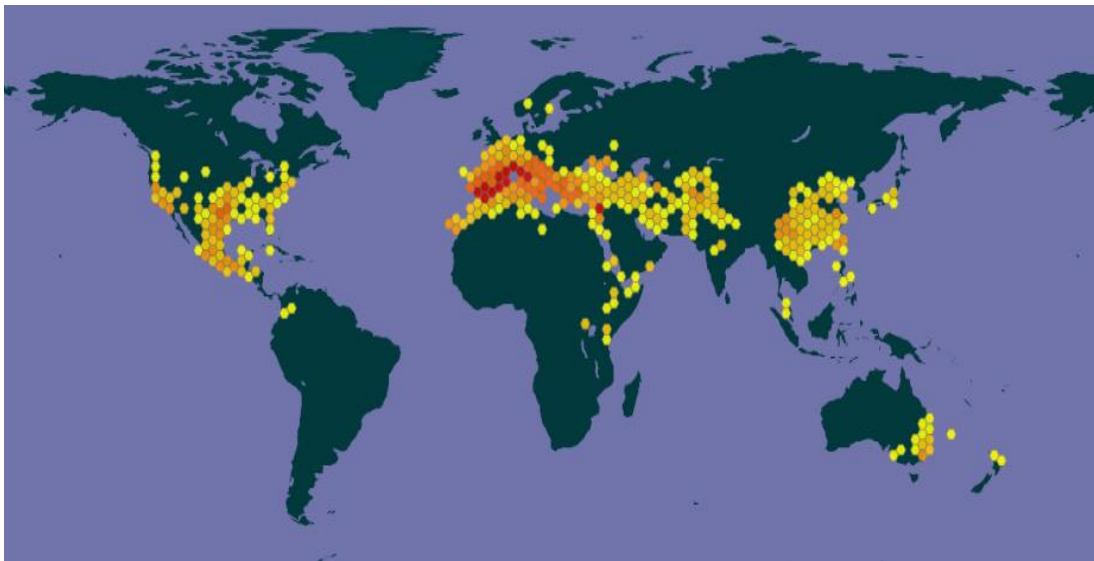
دراسة النوع النباتي لنبات الضرو *Pistacia lentiscus* L.

1- العائلة *Anacardiaceae*

هي عبارة عن أشجار أو شجيرات أو مُتسلِّقات تضم حوالي 80 جنسًا و870 نوعًا، تختلف ما بين أنواع دائمة الخضرة ومتساقطة الأوراق حيث يتوزع أفراد هذه العائلة في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية ويوجد قليل من الأنواع الأخرى تتوزع في المناطق المعتدلة. أوراقها عادةً ما تكون متبادلة ووريقات بترتيبات مختلفة، العديد من الأنواع ثنائية المسكن مما يعني أن الفرد ينتج أزهارًا أحادية الجنس وأزهارها غالبًا تكون صغيرة الحجم جدًا، ثمارها عادةً لحمية. الأوراق متبادلة ونادرًا ما تكون متقابلة وعادةً ما تكون مركبة ريشية ونادرًا ما تكون بسيطة أو كاملة أو مسننة، أذيناتها غائبة أو ضامرة. الأزهار ذات قنابات إما ثنائية الجنس أو أحادية بسبب انخفاض عدد الأسدية أو الكرابل وغالبًا ما يكون تحتها منتفخًا، صغيرة الحجم، وتعتبر زهرة سفلية (Gurcharan, 2013).

2- دراسة عامة للجنس *Pistacia*

يحتوي جنس *Pistacia* على حوالي 20 نوعًا حيث صنّفت ووصفت خمسة أنواع منها بأنها مهمة وذات أهمية اقتصادية. أزهار هذا الجنس موجودة على شكل عناقيد، وحيدة الجنس، صغيرة الحجم، عديمة التويج، يقابلها من 1~3 قنابات ومن 2~7 قنابات صغيرة. عادة ما تكون الأوراق المتساقطة أو دائمة الخضرة ريشية الشكل وأحيانًا تكون بسيطة أو ثلاثية الأوراق أو جلدية أو غشائية. والشكل (01) يمثل خريطة للانتشار الجغرافي للجنس *Pistacia* في العالم (Egle, 2021).



الشكل (01): الانتشار الجغرافي للجنس *Pistacia* في العالم (OpenMapTiles, GBIF, 2023)

1-2- الأنواع التابعة للجنس *Pistacia*

يعتبر جنس *Pistacia* من النباتات الزهرية التابعة لعائلة *Anacardiaceae* حيث يحوي حوالي 20 نوعًا، ويدخل هذا الجنس في العديد من المجالات مثل مجال الصحة والتغذية وتستخدم تطبيقاته كذلك في كمواد طبية وفي هذا الجنس يوجد خمسة أنواع أكثرها شيوعًا والتي يمكن عرضها:

Pistacia vera L. ❖

Pistacia atlantica Mt. ❖

Pistacia terebinthus L. ❖

Pistacia khinjuk ar. ❖

Pistacia lentiscus L. (Bozorgi, 2013) ❖

ويتم استعراض بعض أشهر الأنواع التابعة لجنس *Pistacia* في العالم في الشكل (02):



الشكل (02): بعض أهم الأنواع التابعة لجنس *Pistacia*

[أ]: *Pistacia vera* L. || [ب]: *Pistacia atlantica* Mt. || [ج]: *Pistacia terebinthus* L.

(Nigel, 2011; Zakarry, 2009; K. Metodiev, 2007)

3-دراسة عامة للأنواع النباتية المدروس

1-3- الوصف المورفولوجي للنبات

وهي عبارة عن شجرة أو شجيرة يتراوح طولها من 2 إلى 6 أمتار، دائمة الخضرة وثمارها ذات لون أحمر ثم أسود، أوراقها مركبة، وهي شجيرات محبة للحرارة وتفضل المناطق المنخفضة المحصورة ما بين مستوى سطح البحر حتى ارتفاع 300 متر (بوشعشوع وعناب، 2021).

3-2- الأسماء الشائعة للنبات

يعتبر نبات الضرو نباتاً معروفاً وقد أُستغل لآلاف السنين من قبل سكان البحر الأبيض المتوسط وهذا راجع لامتلاكه نشاطية مضادة للالتهابات و ضد الأكسدة والميكروبات أيضاً وهذا مما ساهم في معرفة وانتشار هذه النبتة (Milia, 2021).

وفي ما يلي أسماء للنبات في لغات مختلفة:

- بالعربية في الجزائر وتونس: الضرو
- بالإنجليزية: Mastic, Masticktree
- بالإيطالية: Lentisco, Sondro, Sondrio
- بالإسبانية: Lentisco, Charnecacomun (Ouzzir, 2020)

3-3- التصنيف العلمي للنبات

حسب (Itis, 2011) يمكن تصنيف نبات *Pistacia lentiscus* L. كما هو موضح في الجدول (01):

جدول (01): التصنيف العلمي لنبات *Pistacia lentiscus* L.

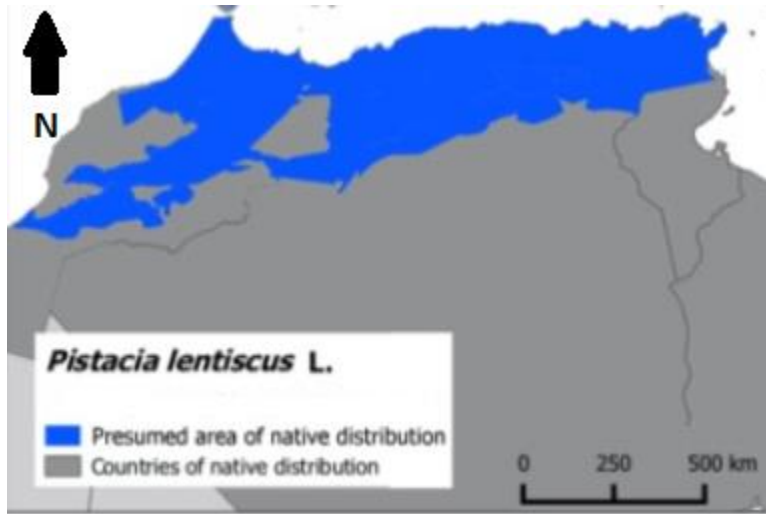
Kingdom:	Plants
Subkingdom:	Viridiplantae
Infrakingdom:	Streptophyta
Superdivision:	Embryophyta
Division:	Tracheophyta
Subdivision:	Spermatophytina
Class:	Magnoliopsida
Superorder:	Rosanae
Order:	Sapindales
Family:	Anacardiaceae
Genus:	<i>Pistacia</i>
Species:	<i>Pistacia lentiscus</i> L.

3-4- التوزيع الجغرافي للنبات

أنواع هذه الفصيلة هي مقاومة للحرارة والبرودة والملوحة حيث تتواجد بكثرة على شواطئ البحر الأبيض المتوسط. توجد بشكل رئيسي في المناطق المدارية إلى شبه الاستوائية وفي المناطق المعتدلة في نصف الكرة

الشمالي. تفضل شجرة الضرو التربة السليسية والجافة، كما أنها تنمو في التربة الجيرية. (AL-Saghir, Porter, 2012)

حيث يبدو أن هذا الجنس من النبات قد امتد في الأصل إلى مناطق الغابات شبه الاستوائية في منطقة البحر الأبيض المتوسط. تنتشر شجرة الضرو في جميع أنحاء التل الجزائري والتونسي، وتوجد بكثافة في الغابات والمناطق الريفية الباردة. تفضل شجرة الضرو المناخ الشبه رطب والشبه جاف والدافئ. وفي الشكل (03) عرض لخريطة توزع الضرو في شمال الجزائر (Mohannad, and Duncan, 2011).



الشكل (3): خريطة تمثل توزع نبات الضرو في شمال الجزائر (FAO, 2016)

3-5- استعمالات النبات

يحمي نبات الضرو التربة من التعرية ويخلق ظروفًا مواتية لترطيب المواد العضوية وإثراء خصائصها البيولوجية وتساعد هذه الأشجار في السيطرة على المناخ وتنظيم الحرارة في الغلاف الجوي، كما أنها تنقي الهواء من الغازات السامة مثل ثاني أكسيد الكربون والغازات الدفيئة الأخرى عن طريق امتصاصها، وإنتاج الأكسجين الضروري لحياة الكائنات الحية، مما يساعد في التخلص من ملوثات الهواء كذلك (خطاب، 2021).

كما أنّ لها فوائد صحية حيث يوصي أخصاء الأعشاب الذين يسوّقون أوراق الضرو باستعمالها على شكل نقيع للتسكين، ولالتهاب الحلق وآلام المعدة وحرقة المعدة، وتعتبر الأوراق أيضًا ذات خصائص خافضة لسكر الدم وخافضة للضغط. تعتبر الخصائص العلاجية للزيت الطيار أكثر تنوعًا، سواء تم استخدامها

بمفردها أو مع منتجات طبيعية أخرى، مثل العسل وشمع النحل وزيت الزيتون. يتفق جميع الصيادلة وأخصاء الأعشاب الذين شملهم الاستطلاع على اثنين من الاستخدامات العلاجية الرئيسية لهذا الزيت: الاستخدام الأول هو استخدامه كتطبيق موضعي لعلاج الأمراض الجلدية مثل الحروق والجروح والأكزيما. الاستخدام الرئيسي الآخر هو بصفته دواء عن طريق الفم لمشاكل الجهاز التنفسي مثل: التهاب الحلق والتهاب الشعب الهوائية والربو والحساسية التنفسية. تشمل المؤشرات الأخرى الأقل انتشارًا لهذا الزيت استخدامه لعلاج آلام المفاصل والبواسير واليرقان واضطرابات الجهاز الهضمي (Bouzeraa and Kherbouche, 2022).

وكذلك كتب الطبيب وعالم النبات اليوناني في القرن الأول "ديوسكوريدس" لأول مرة عن الخصائص الطبية لمنتجات الضرو في أطروحته بعنوان "De Materia Medica". حيث أستعمل الضرو كدواء منذ العصور القديمة ولا يزال يستخدم في الطب البشري والطب البيطري التقليدي حول حوض البحر الأبيض المتوسط. ففيما يتعلق بالإنسان أعتبر صمغ النبات وأوراقه جيدة للوقاية من مشاكل الجهاز الهضمي وصحة الأسنان والصداع الناجم عن نزلات البرد والرقان (Fatima et al, 2014).

• جرعات وأساليب استخدام نبات الضرو:

يتم قطف ثمار الضرو وتبخيرها بواسطة الماء الساخن لمدة ساعة، ثم يتم طحن هذه الحبوب ويتم عجنها جيداً وتُغلف هذه العجينة التي يتم استخراجها بواسطة قطعة من القماش وتلف وتعلق في إناء حتى يخرج من خلالها قطرات الزيت المستخرج (راندا، 2022).

ويستعمل لزيادة لمعان الشعر حيث يستخدم يومياً قطرات من الزيت بعد تدفئته قليلاً وغسل الشعر بعد تدليك الشعر جيداً بالزيت لمنع تراكم الزيت على فروة الرأس، وفي علاج حروق الشمس بوضع الزيت على بشرة الوجه 3 مرات أسبوعياً وفي حالة الرغبة في الاستمرار على استخدامه يمكن استخدامه مرة أسبوعياً، كما يستعمل لعلاج حساسية الجلد عن طريق دهن الجسم أو المنطقة المصابة يومياً قبل النوم بالزيت وتدليكها بحرص (ونام، 2022).

4- مدخل تقنية النانو

تسمح تقنية النانو بإنتاج منتجات ذات تطبيقات متعددة جداً قياساً بما هو متوفر اليوم، كما تتيح شبكة استعمالات واسعة تشمل مجالات متعددة. تعد تقنية النانو من التقنيات الحديثة التي ما زالت تحتاج الكثير من الأبحاث والدراسات، وهي كما ذكرت الكثير من مراكز الأبحاث أنها تقنية العصر القادم، فيمكن أن نطلق على عصرنا القادم «عصر النانو»، فسيكون لهذه التقنية التأثير الكبير في كثير من مجالات الحياة الصناعية

والعسكرية والطبية والزراعية، وفي مجال النقل والطيران وفي أبحاث الفضاء وفي كثير من المجالات الحيوية الهامة. كما أن تقنية النانو واسعة الاستخدام في علم الصيدلة بدءًا من طرق إنتاج الدواء ومرورًا بوسائل حفظه وانتهاءً بكيفية إعطائه للمريض في هيئة تتفوق بمراحل على الطرق الحالية. تقنية النانو تجاوزت اليوم في الأبحاث وضع طرق أفضل مما يؤدي لمعالجة أمراض عجز الطب التقليدي عن معالجتها (يوسف العوضي، 2022).

لا وجود لتعريف متفق عليه حتى الآن لتقنية النانو في الحقيقة وذلك لأنّ التعريفات المطروحة لهذه التقنية تختلف حسب طبيعة التعامل مع هذه التقنية وكذلك تختلف بالمجال الذي تطبق فيها هذه التقنية وعمومًا يمكن تعريف تقنية النانو على أنها "التقنية التي تعطينا القدرة على التحكم المباشر في المواد والأجهزة التي أبعادها تقل عن 100 نانومتر وذلك بتصنيعها وبمراقبتها وقياس دراسة خصائصها"، وهذا التعريف هو الأشمل والأكثر قبولاً في الأوساط العلمية، وأيضًا يمكن أن نعرّف تقنية النانو بأنها "القدرة والتقنيات والأدوات اللازمة للتعامل ولمراقبة وقياس وتصنيع الأشياء في مستوى مقياس النانو" وبناءً على أهداف هذه التقنية يمكن أن نقول أنّ جوهر تقنية النانو هو الاهتمام بتصنيع مواد وأجهزة ذات خصائص مختلفة وجديدة وذلك من خلال التحكم في الذرات والجزيئات المنفردة وكذلك تجمعاتها (هلور، 2013).

5- إيجابيات وسلبيات تقنية النانو

إن التطور التكنولوجي للعلم في الآونة الأخيرة أدى إلى ظهور عدة أنواع مختلفة من طرق النانو التكنولوجية، ولكل منها تطبيقاتها وخصائصها الفريدة. وفي الجدول (02) تم ذكر بعض الأمثلة من حيث إيجابياتها وسلبياتها في ما يلي:

الجدول (02): جدول يمثل إيجابيات وسلبيات بعض طرق تقنيات النانو.

الطريقة	الإيجابيات	السلبيات
الترسيب الكيميائي للبخار (CVD)	- إنتاج جزيئات نانوية عالية النقاء.	- تتطلب درجات عالية من الحرارة. (فوق 300 درجة مئوية) - تعتمد على المواد الكيميائية.
تكثيف الغاز	- إنتاج معادن وسبائك نانوية متناهية الصغر.	- تحتاج أجهزة خاصة. - بطيئة جدًا.
التذرية الليزرية	- إنتاج جزيئات نانوية	- تحتاج أجهزة خاصة.

عالية النقاء.	- صعوبة التحكم في وتكتل والهيكل البلورية.
الصل-جل	- طريقة بسيطة.
- تسمح بإنتاج مجموعة كبيرة من المواد.	- تعتمد على المواد الكيميائية.
- تستخدم درجات حرارة منخفضة.	- تُنتج مواد غير مرغوب فيها.
- مجدية اقتصاديًا.	- قد تكون تكلفة المعدات باهظة الثمن.
الأكسدة والارجاع	- ذات معدل انتاج جيد.
- تستخدم المواد السامة.	- خطرة جدًا بسبب المواد الناتجة.

6- تطبيقات تقنية النانو

فيما يتعلق بالخصائص الخاصة للنانو التي تمت مناقشتها من قبل، فإن لها تطبيقات مختلفة قد ساهمت بشكل كبير في تطويرها وهنا نتحرى عن بعض هذه التطبيقات بإلقاء نظرة خاصة على عدة مجالات:

6-1- في مجال الطب الإحيائي

شمل استخدام تقنية النانو العديد من المجالات الطبية ومنها علاج السرطان حيث يعتبر السرطان هو سبب في أكثر من 10 ملايين حالة وفاة سنويًا مما يجعله ثاني سبب رئيسي للوفاة حول العالم. تتمثل إحدى العوائق الرئيسية للطرق والعلاجات الطبية التقليدية في صعوبة التمييز بين الخلايا السرطانية والخلايا السليمة. ومع ذلك، هناك خصائص مميزة أخرى للخلايا السرطانية، مفيدة في توفير استراتيجيات استهداف جديدة. بدأ استخدام الجسيمات النانوية في هذا المجال لعدة خصائص حيث يمكن تعديلها بسهولة ومعالجتها بالحجم والنمط المطلوب وتحضير هذه الجسيمات النانوية حسب الحجم المطلوب بين 10 و200 نانومتر حيث تتيح مثل هذه الاستراتيجيات تحسينات في حصر وتوصيل الأدوية في جزيئات التعرف على السرطان من أجل استهدافه الفعّال (Rezić, 2022).

كما بات انتشار الأنواع البكتيرية المقاومة للمضادات الحيوية تهديدًا واضحًا لصحة الإنسان، حيث هناك مشكلة خاصة تتمثل في تطور البكتيريا المقاومة للعديد من فئات المضادات الحيوية (Kumar et al, 2018). وتطورت تقنيات تصنيع الجسيمات النانوية المضادة للميكروبات بشكل كبير بسبب استخدامها في كل من التطبيقات الطبية الحيوية والصناعية (Xiaoning et al, 2014).

6-2- في مجال الغذاء

في هذا المجال، يمكن استخدام المستشعرات النانوية للكشف عن وجود مسببات الأمراض في الغذاء أو المركبات النانوية لتحسين إنتاج الغذاء عن طريق زيادة المقاومة الميكانيكية والحرارية وتقليل نقل الأكسجين في المنتجات المعبأة. وتستعمل أيضاً تقنية النانو لتعزيز نكهة وملمس الأطعمة، أو لتقليل محتوى الدهون، أو لتغليف العناصر الغذائية مثل الفيتامينات لضمان عدم تدهورها خلال فترة صلاحية المنتج. علاوةً على ذلك، يمكن استخدام المواد النانوية لصنع عبوات تحافظ على المنتج بالداخل طازجاً لفترة أطول (Cordis, 2017).

6-3- في مجال البيئة

تكنولوجيا النانو لديها القدرة على أن يكون لها تأثير كبير على البيئة من خلال توفير المواد الخام إلى تقليل الغازات المسببة للاحتباس الحراري التي يمكن أن تساعدنا في إصلاح البيئة ويمكن أن تساعدنا بشكل كبير في الحفاظ على المياه عن طريق تنظيفها بواسطة جزيئات الحديد النانوية لإزالة المذيبات العضوية كما يمكن أن تستخدم أيضاً في تنقية الهواء وذلك بتقليل معدل إنتاج غازات الاحتباس الحراري الناتج عن مستخدمي الوقود الأحفوري، ومن أحد استعمالاتها الحديثة هو إعادة تدوير البطاريات حيث تتكون البطاريات من معادن ثقيلة مثل الزئبق والرصاص والنيكل والكاديوم والتي يمكن أن تلوث البيئة ويمكن أن تسبب تهديدات محتملة لصحة الإنسان، لكن بمساعدة تقنية النانو، أتاح استخدام جزيئات القطب السالب (Cathode) من بطاريات الليثيوم لإعادة تدوير البطاريات وتجديدها لاستخدامها كبطاريات جديدة (Kajal, 2022; Kerry, 2020).

6-4- في مجال الصناعة

تقترب الألياف النانوية الكربونية من استبدال ألياف السيليكون كمواد لصنع الرقاقات وأجهزة أصغر حجماً وأسرع وأكثر كفاءة، بالإضافة إلى أسلاك نانوية أخف وزناً وأكثر قدرة على التوصيل. تجعل خصائص مادة الجرافين منه مرشحاً مثالياً لتطوير شاشات اللمس المرنة. تعمل تقنية النانو أيضاً على خفض التكاليف، وإنتاج توربينات رياح أقوى وأخف وزناً وتحسين كفاءة الوقود، وبفضل العزل الحراري لبعض المكونات النانوية يمكنها توفير الطاقة (Ulwali, 2021; Hüseyin, 2021).

الجزء التطبيقي

الفصل الأول

مواد وطرق العمل

المواد وطرق العمل

1-المواد المستعملة

1-1-المادة النباتية

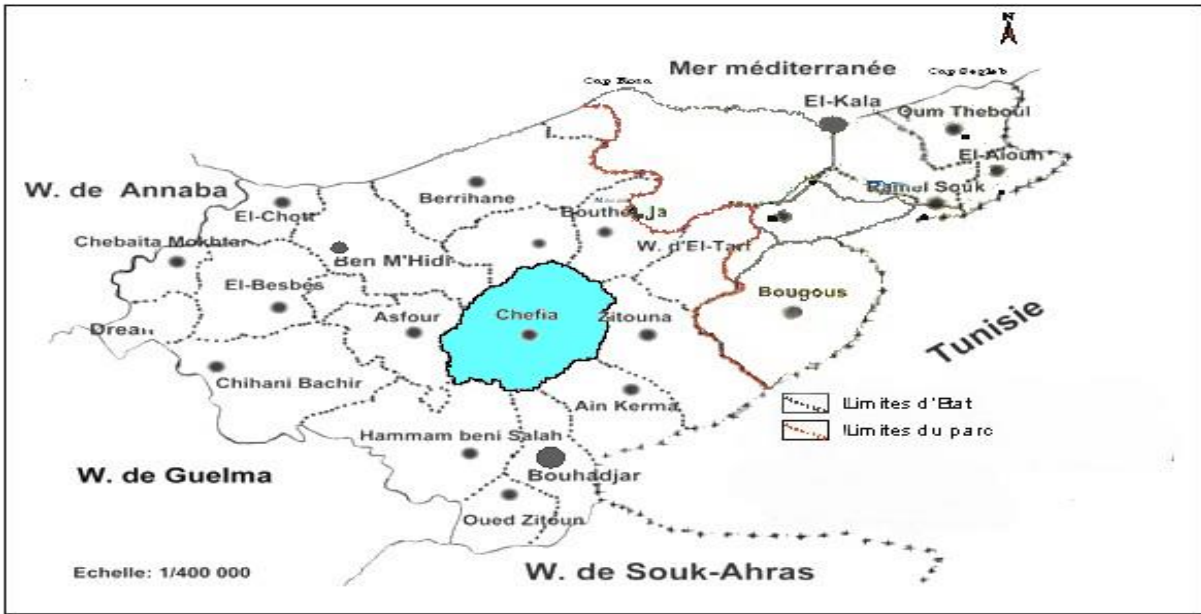
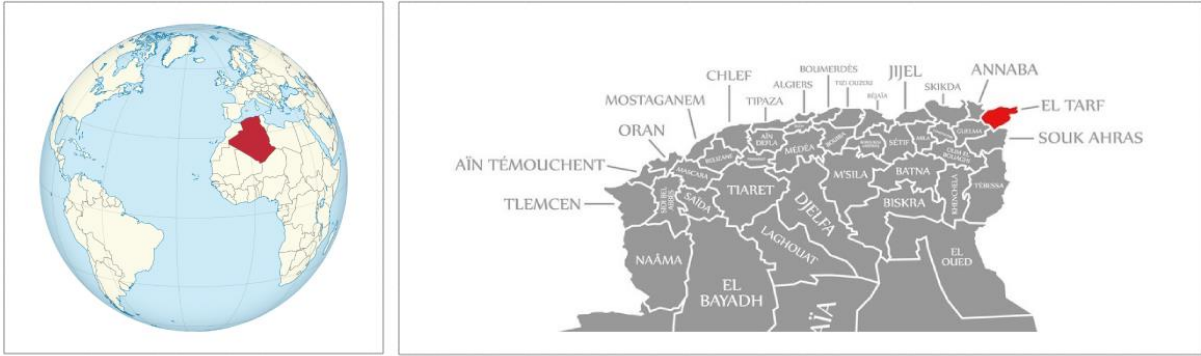
تم استعمال الأوراق من نبات *Pistacia lentiscus* L. (الشكل 04) كون الأوراق هي مكان تواجد معظم المواد الطبيعية الفعالة في نبات الضرو. حيث تم القطف بتاريخ 29 أكتوبر 2022 من منطقة الشافية ولاية الطارف (شمال شرق الجزائر)، وذلك باستعمال مقص تشذيب زراعي حادّ معقم مع التخلص من الأجزاء المصابة والميتة وبعدها وضعت الأجزاء المقطوع في أكياس قماشية ذات تهوية جيدة، بعدئذٍ نقل النبات مباشرةً ليجهز لعملية التجفيف.



الشكل (04): صورة لشجرة *Pistacia lentiscus* L. (صورة أصلية).

1-2- منطقة القطف

تقع منطقة القطف (الشافية) في ولاية الطارف شمال شرق الجزائر وذلك بدائرة عرض [36.611] درجة شمالاً وبين خط طول [8.03888] درجة شرقاً كما توضحه الخريطة في الشكل (05).



الشكل (05): صورة تبين منطقة القطف وموقعها على مستوى ولاية الطارف والجزائر (Djhra, 2014).

3-1- التجفيف

تعتبر هذه المرحلة مهمة جداً حيث يجب القيام بها بسرعة بعد عملية الجمع، فمن الضروري غسل النبتة بعد الجمع لتخليصها من الغبار ثم تجفيفها بهواء حار نسبياً، بعدها تجفف في الظل وفي مكان جيد التهوية وجاف وحر، مع الانتباه أن تعرض النباتات لأشعة الشمس يؤدي إلى فقدان بعض المواد الفعالة في النبات مثل الزيوت الطيارة لخصائصها، وتنتشر النبتة بشكل طبقات رقيقة فوق حصائر خشبية، مع قلب النبات من حين لآخر لتجنب التتعن والتخمر (شويخ، 2018).

4-1- السلالات البكتيرية

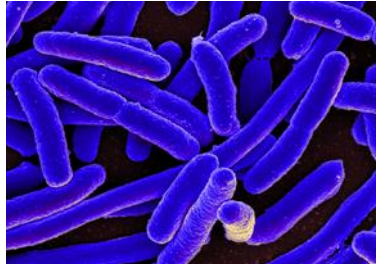

في هذه الدراسة تم اختيار 7 سلالات من البكتيريا نظراً على قدرتها المرضية الخطيرة على البشر. ومنهم سلالات سالبة الغرام وموجبة الغرام ومنها المقاومة للمضادة الحيوية. تم الحصول عليها من مختبر التحاليل

الطبية التابع لمستشفى رزقي بشير لعلاج مرضى السرطان - الوادي، ومختبر التحاليل الطبية الخاص (المجد) - الوادي ومعهد باستور - الجزائر. المعلومات المتعلقة بهذه البكتيريا المدروسة موضحة في الجدول (03) كما تم العرض السلالات ومعلوماتها في الجدول (04).

الجدول (03): البكتيريا المتعلقة بالدراسة.

Family	Genus and species		Gram type
Enterobacteriaceae	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Negative
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8787	Negative
Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	Positive
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Positive
	<i>Staphylococcus hominis</i>	-	Positive
Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Negative
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Negative

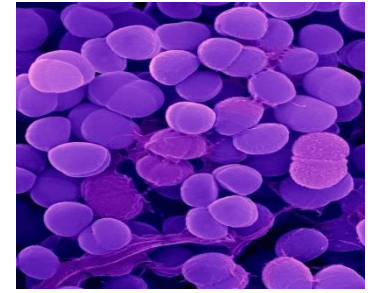
الجدول (04): تعريف، مكان تواجد والأمراض التي تسببها البكتيريا المتعلقة بالدراسة.

أمراضها	مكان التواجد	تعريف	السلالات
التهابات المسالك البولية والتهابات الأمعاء وعدوى تصبني حديثي الولادة متمثل في التهاب السحايا (Khalidi, 2018)	تتواجد بشكل شائع في أمعاء الانسان والحيوانات ذوات الدم الدافئ (WHO, 2018).	هي عبارة عن بكتيريا سالبة الغرام، عصوية الشكل، ولا هوائية بشكل اختياري (Lim et al, 2010).	 <i>Escherichia coli</i>
التهابات الجهاز التنفسي والتهاب الجلد وتجرثم الدم، والتهابات العظام والمفاصل. (EHA, 2018)	تتواجد عمومًا في التربة والماء والنباتات. (Barbara, 1996)	بكتيريا سالبة الغرام، عصوية الشكل وهوائية. (Mina, 2022)	 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

تعتبر السبب الرئيسي للعدوى الجلدية وأمراض النسيج اللين والتهابات الهلل.	تتواجد بشكل شائع في التربة والماء والهواء وتتواجد كذلك في أنف وجلد الانسان.	بكتيريا موجبة الغرام، دائرية الشكل وغير متحركة.
(MDHS, 2010)	(FDA, 2012)	(Ananya, 2018)

*Staphylococcus aureus*

تسبب التهاب السحايا والتهاب الشغاف والتهابات المفاصل الاصطناعية.	تتواجد في المناطق الابطية والمناطق الأربية من جسم الانسان.	بكتيريا موجبة الغرام، كروية الشكل وتعتبر لا هوائية.
(Omar, 2020)	(Takeuchi, 2005)	(Hartmann, 2015)

*Staphylococcus hominis*

5-1- المضادات الحيوية

في هذه الدراسة تم استعمال مضادين حيويين هما Ciprofloxacin و Oxacillin

▪ Ciprofloxacin - سيبروفلوكساسين: هو مضاد حيوي في فئة الفلوروكينولون يستخدم لعلاج الالتهابات البكتيرية مثل التهابات المسالك البولية والالتهاب الرئوي. السيبروفلوكساسين حاصل على موافقة إدارة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA) لعلاج التهابات المسالك البولية، والجد والعظام، وداء السلمونيلات. بالإضافة إلى ذلك، يعد السيبروفلوكساسين خيارًا علاجيًا مناسبًا للمرضى الذين يعانون من عدوى مختلطة أو المرضى الذين لديهم عدوى من بكتيريا سالبة الجرام. (Thai et al, 2021)

▪ Oxacillin - أوكسيسيلين: هو مضاد حيوي من مضادات الـ "بيتا-لاكتام" يستخدم في علاج الالتهابات البكتيرية الناجمة عن البكتيريا موجبة الغرام (Komatsuzawa, 1994).

2- الطرق المتبعة

1-2- الكشف الكيميائي

بهدف معرفة احتواء النبات المدروس *Pistacia lentiscus* L. على المركبات الفعالة يتم اتباع عدة طرق للكشف عن مدى تواجد أو غياب مركبات الأيض الثانوي، حيث تم استخدام طريقة الغلي وذلك بأخذ 10 غرام من أوراق النبات ووضعها في 100 مل من الماء المقطر وغلبيها لمدة 15 دقيقة، هذه الطرق نلخصها في ما يلي:

2-1-1- الفينولات

يتم أخذ كمية 1 مل مغلى الأوراق ووضعها في أنبوب اختبار وإضافة من 1 إلى 2 قطرة من كلوريد الحديد الثلاثي (FeCl₃). يعد ظهور اللون الأزرق أو الأخضر أو الأحمر أو الأرجواني اختبارًا إيجابيًا (Tepal, 2016). (Pelarut, 2016).

2-1-2- الستيروولات

تم إضافة 5 مل من الكلوروفورم إلى 2 مل من عينة المستخلص النباتي متبوعة بعدها تضاف إليه قطرات من H₂SO₄ على طول جدران الأنبوب. يشير اللون البني المحمر في الطبقة السفلية إلى وجود الستيروولات (Sazon, 2022).

2-1-3- الفلافونويدات

في 1 ml من المستخلص المائي للنبات نضيف 1 ml من حمض كلور الماء HCl وحببيات من المغنسيوم Mg. حيث ظهور اللون البرتقالي يدل على وجود الفلافون، الأحمر البنفسجي يدل على وجود الفلافونون، الأحمر يدل على وجود الفلافونول، الألوان الأقل كثافة دليل على وجود جليكوسيدات الفلافونويدات (Hossain et al, 2013).

2-1-4- الأنثوسيانين

يتم الكشف عنه بإضافة 2ml من المستخلص النباتي مع 2 ml من HCl. يشير ظهور اللون الوردي والأحمر الذي يتحول إلى اللون الأزرق الأرجواني بعد إضافة الأمونيا إلى وجود الأنثوسيانين (Obouayeba et al, 2015).

2-1-5- الكومارين

يتم إضافة 3 ml من هيدروكسيد الصوديوم (10%) إلى 2 ml من مستخلص النبات المائي وإذا لوحظ ظهور اللون الأصفر فهذا يعني أنّ النتيجة إيجابية (Salim et al. 2019).

2-1-6- التانينات

يتم ترشيح كمية 1 ml من المستخلص المائي وإضافة قطرتين من كلوريد الحديدك. يشير اللون الأخضر المائل للأسود إلى وجود التانينات (Egbonu et al 2011).

2-1-7- القلويدات

وذلك بإضافة 1 ml من كاشف Dragendorff إلى 2 ml من المستخلص المائي، عندئذٍ إذا تكوّن راسب أحمر برتقالي فهذا يشير إلى وجود قلويدات (Kancherla et al 2019).

2-1-8- الصابونين

ويتم خلط 5 ml من الماء المقطر مع المستخلص النباتي الخام في أنبوب اختبار ومن ثم يتم رجه بقوة وبعد ذلك يترك لمدة زمنية فعند تشكل الرغوة وبقائها لفترة زمنية، يكون الاختباري إيجابي (Gul et al 2017).

2-2- التقدير الكمي للفينولات

تم التقدير الكمي للفينولات بطريقة القياس اللوني وفق (Zhou et al (2011). حيث تم إضافة 0.2 ml من كاشف Folin Ciocalteu إلى 2 ml من المستخلصات المخففة. وبعد 3 دقائق، تمت إضافة 750 µL من محلول كربونات الصوديوم (7.5%) وتم الحاق التراكيز إلى 10 ml. بعد ساعتين، تم تسجيل الامتصاص عند 765 nm. تم إنشاء منحنيات المعايرة باستخدام حمض الغاليك كمنحنى قياسي. يتم التعبير عن الكمية المقدرّة بالملغ المكافئ مع حمض الغاليك لكل غرام من المستخلص (Dranca et al, 2016).

2-3- التقدير الكمي للتانينات

تم التقدير الكمي للتانينات بواسطة طريقة (Broadhurst et al. (1978 مع تعديل طفيف، باستخدام الكاتشين كمركب مرجعي. يضاف حجم 400 µL من المستخلص إلى 3 ml من محلول فانيلين (4% في ميثانول) و1.5 ml من حمض الهيدروكلوريك المركز. بعد 15 دقيقة من الحضانة تمت قراءة الامتصاصية عند 500 nm. يتم التعبير عن الكمية المقدرّة بالملغ المكافئ مع الكاتشين لكل غرام من المستخلص (Benine and Tlili, 2022).

2-4- التقدير الكمي للفلافونويدات

تم تحديد المحتوى الكلي للفلافونويدات وفقاً للبروتوكول الذي وضعه (Kaewnarin et al. (2014) وتم استعمال مادة الكيرسيتين مركب مرجعي. تم خلط 0.5 ml من المستخلص مع 2 ml من الماء المقطر، ثم تمت إضافة 0.15 ml من NaNO₂ (5%). بعد 5 دقائق، تمت إضافة 0.15 ml من AlCl₃ (10%). تم تحضن الخليط عند درجة حرارة الغرفة لمدة 15 دقيقة. ثم تمّ قياس الامتصاصية عند 415 nm. تم بعد ذلك

استخدام المنحنى القياسي للكيرسيتين لحساب إجمالي محتوى الفلافونويدات في العينة. تم التعبير عن المحتوى الكلي للفلافونويدات بالملغ المكافئ الكيرسيتين (Kumla, 2021).

3- الاستخلاص

3-1- تحضير المستخلص المائي لنبات الضرو

تم وزن 100 g من أوراق نبات الضرو المجففة والمطحونة ثم وضعت في دورق فيه 1 L من الماء المقطر وغلقت بورق الألمنيوم حيث وضعت في الظلام لمدة 24 ساعة في درجة حرارة الغرفة، وبعد انتهاء المدة الزمنية تم ترشيح المستخلص في إناء زجاجي كبير ووضع في جهاز التبخير الدوراني في درجة حرارة 60°م حتى تجف كلياً ثم يتم كشط الطبقة المتشكلة وحفظها في قارورة زجاجية معتمة وتوضع في ثلاجة في درجة حرارة 4°م إلى غاية الاستخدام.
تم حساب المردود وفق المعادلة التالية:

$$R\% = (m1/M2) \times 100$$

حيث أن:

- R% : المردودية الانتاجية للمستخلص بـ% .
- m1: كتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة بعد التبخير.
- M2: كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة في الاستخلاص.

3-2- استخلاص الزيت الطيار من نبات الضرو

تم وزن 100 g من أوراق نبات الضرو الجافة وذلك بعد تقطيعها إلى أجزاء صغيرة، وإضافة 700 ml من الماء المقطر إليها ووضعها في جهاز استخلاص الزيت الطيار نوع كليفنجر، حيث تمت عملية الاستخلاص في مدة زمنية تقدر بـ 4 ساعات، كررنا العملية 3 مرات وبعدها تم جمع الزيت ووضعها في قارورة عاتمة سعتها 10 مل محكمة الاغلاق.

تم حساب المردود وفق المعادلة التالية:

$$R\% = (m1/M2) \times 100$$

حيث أن:

- R% : المردودية الانتاجية للمستخلص بـ% .
- m1: كتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة بعد التبخير.
- M2: كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة في الاستخلاص.

4- تعريف المركبات في المستخلص والزيت الطيار

4-1- تعريف مركبات المستخلص المائي بواسطة HPLC/MS

تم تعريف المركبات الطبيعية المتواجدة على مستوى المستخلص المائي لنبات الضرو بواسطة جهاز الكروماتوغرافيا السائلة ذات الأداء العالي على مستوى فرع CRAPC الموجود في ولاية ورقلة وفق الشروط المبينة التالية:

Equipement UPLC-ESI-MS-MS Shimadzu 8040 Ultra-High sensitivity with UFMS technology was employed and equipped with binary bump Nexera XR LC-20AD.

The ESI conditions were as follows: CID gas, 230 KPs; conversion dynode, -6.00 Kv; C; DL temperature, 250 °C; nebulizing gas flow, 3.00 L/min; heat block, 400 °C; drying gas flow, 15.00 L/min.

The ion trap mass spectrometer was used in both **negative** and **positive** ions with MRM mode (multiple reaction monitoring).

The mobile phase : solvent water, 0.1% formic acid, and solvent B methanol.

Flow rate was : 0.3 mL/min

Volume injection : 10 µL

COLUMN : Restek Ultra AQ C18 3µm 150x4.6mm

Oven Temp: 40°C

The gradient :

0.1min to 1 min A 80%

1 min to 30min A 20%

30 min to 40min A 0%

40 min to 45min A 0%

45 min to 60min A 80%

4-2- تعريف مركبات الزيت الطيار بواسطة GC/MS/FID

تم تعريف المركبات الطبيعية المتواجدة على مستوى الزيت الطيار النبات الضرو بواسطة جهاز الكروماتوغرافيا ذات الطور الغازي على مستوى مخبر "Pyrenessences Analyses" بفرنسا وفق الشروط المبينة التالية:

- GC/MS Agilent 7890 / 5977 – Colonne : VF WAX (polaire) 60 m * 0.25 mm * 0.25 µm
- GC/FID Agilent 6890 – Colonne : VF WAX (polaire) 60 m * 0.25 mm * 0.25 µm

- Program. de T° : 5 min à 60°C - 2°C/min jusqu'à 250°C - 15 min à 250°C . Gaz vecteur : He (23 psis/MS – 30 psis/FID)
- Injection / split : 1 µl d'une solution à 10 % dans l'hexane . Gamme de masse : 30 à 350 - Les composés sont identifiés par une recherche combinée des temps de rétention et des spectres de masse (bibliothèque interne + bibliothèque commerciale NIST).
- Les pourcentages sont calculés à partir des surfaces de pics données par le GC/FID sans l'utilisation de facteur de correction
- Limite d'identification des pics : 0.03 %

5- تحضير المستخلصات النانوية

5-1- تحضير جزئية أكسيد الزنك النانوي من المستخلص المائي

تم تحضير جزئية أكسيد الزنك النانوي كما يلي:

تم وزن 2.5 g من المستخلص الجاف مع إضافة 50 ml من الماء المقطر، وتحضير أسيتات الزنك بوزن 4.93 g منه وإضافته إلى 100 ml من الماء المقطر ثم خلط المزيجين في دورق ونضعهما في خلاط مغناطيسي عند درجة حرارة 70°م إلى أن يتغير اللون لمدة ساعة، من بعدها يُغلف الدورق بعد الانتهاء بورق الألمنيوم وحفظه لمدة 24 ساعة في الظلام، وبعد انقضاء المدة نضعه في جهاز الطرد المركزي لمدة 20 دقيقة/3900 دورة لنتحصل على راسب ثم نجفف الراسب عند درجة حرارة 60°م، ويطحن المستخلص المتحصل عليه طحنًا جيدًا بعد التجفيف لمدة 30 دقيقة. ويتم حساب المرودود كالتالي:

$$R\% = (n1/E2) \times 100$$

حيث أن:

- R% : المرودودية الانتاجية للنانو المستخلص بـ % .
- n1 : كتلة النانو للمستخلص الجاف المتحصل عليه بعد تبخير.
- E2 : كتلة للمستخلص الجاف المستعمل في العملية.

5-2- تحضير جزئية أكسيد الزنك النانوي من الزيت الطيار

تم تحضير جزئية أكسيد الزنك النانوي كما يلي:

أخذ 245 µL من الزيت الطيار مع إضافة 11 ml من حمض الأسيتون، ثم تحضير أسيتات الزنك وذلك بوزن 1 g منه وإضافته إلى 80 ml من الماء المقطر، وبعدها يتم خلط المزيجين في دورق ونضعهما في

خلط مغناطيسي عند درجة حرارة 70م° إلى أن يتغير اللون لمدة ساعة، ثم تغليف الدورق بعد الانتهاء بورق الألمنيوم وحفظه لمدة 24 ساعة في الظلام، ونضعها في جهاز الطرد المركزي لمدة 20 دقيقة/3900 دورة لتتحصل على راسب ثم نجفف الراسب عند درجة حرارة 60م°، ثم يُطحن المستخلص المتحصل عليه طحناً جيداً بعد التجفيف لمدة 30 دقيقة.

5-3- تعريف المركبات في أكسيد الزنك النانو

بعد تحضير مركبات النانو لأكسيد الزنك انطلاقاً من المستخلص النباتي المائي والزيت الطيار، تم تعريف خصائص هذه المركبات النانوية بواسطة التقنيات المخبرية التالية: FT-IR ، XRD ، UV-vis ، SEM-EDS.

6- الأثر البيولوجي للعينات المدروسة

6-1- النشاطية المضادة للأكسدة

6-1-1- تثبيط جذر 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•)

الجذور الحرة DPPH• هي جذور نيتروجينية عضوية طويلة العمر ذات لون أرجواني غامق. عندما يتم خلط محلول DPPH مع أحد مضادات الأكسدة، يتحول لونه من اللون الأرجواني إلى الأصفر. يمكن تقييم القدرة المخفضة لمضادات الأكسدة تجاه DPPH من خلال مراقبة انخفاض امتصاصه عند طول موجة 517 nm. يتم التعبير عن النتائج في صورة IC₅₀ أو كنسبة مئوية لكسح جذر DPPH• بتركيز ثابت مضاد للأكسدة لجميع العينات (Brand-Williams et al.، 1995؛ Sanchez-Mareno، 2002). يحفظ المحلول عند درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة. ثم يتم تسجيل الامتصاصية للمحلول عند طول موجة 517 nm (Xiao, 2020).

وبعدها يتم حساب نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH للتراكيز المختلفة للمستخلصات المدروسة والمعروفة بـ IC₅₀ وفق المعادلة:

$$I\% = ((A_0 - A_1) / A_0) \times 100$$

حيث أن:

A₀: امتصاصية الشاهد.

A₁: امتصاصية العينة.

I%: نسبة تثبيط الجذر الحر.

2-1-6- اختبار Ferric ion Reducing Antioxidant power (FRAP)

حدّدت القدرة الإرجاعية للمستخلصات بطريقة (Jayanthi (2011). حيث تتفاعل المستخلصات التي تملك قدرة على الاختزال مع فريسيانيد البوتاسيوم لتشكيل فريسيانيد البوتاسيوم ويتفاعل الأخير مع كلوريد الحديد لإعطاء مركب يمتص في طول موجة 700 nm. يتم مزج 250 µL من تراكيز مختلفة المستخلصات مع 625 µL من المحلول المنظم فوسفات (pH=6.6 , 0.2 M) و 625 µL من محلول فريسيانيد البوتاسيوم (1%). بعد حضن لمدة 20 دقيقة في حمام مائي في درجة حرارة 50°م، يضاف للمزيج 625 µL من حمض الخل الثلاثي الكلورور (trichoroacetic acid) ويُعرض بعدها المزيج للتردد المركزي 3000 دورة/خلال 10 دقائق ويضاف إليه 625 µL من الجزء الطافي و 625 µL من الماء المقطر. و 125 µL من كلوريد الحديد ثم تقاس الامتصاصية عند طول الموجة 700 nm (Liaqat et al, 2021).

3-1-6- اختبار β-Carotene

تم إجراء اختبار بيتا-كاروتين باتباع الطريقة الموصوفة بواسطة Miraliakbari و Shahidi مع تعديل طفيف. تم تحضير خليط من بيتا-كاروتين وحمض اللينوليك بإذابة 0.5 mg كاروتين في 1 ml كلوروفورم و 25 µL من حمض اللينوليك في 200 µL مع Tween 20. تم بعد ذلك تبخير الكلوروفورم تمامًا في درجة حرارة عالية، وتمت إضافة 100 ml من الماء المقطر لاحقًا إلى المادة المتبقية، ثم يُرج الخليط بقوة لتكوين مستحلب. من هذا المستحلب، تم نقل 2.5 ml إلى أنابيب اختبار مختلفة تحتوي على 350 µL من ALE بتركيزات مختلفة. تم تدوير جميع العينات لمدة دقيقة واحدة ووضعها عند 50°م في حمام مائي لمدة ساعتين. تم قياس امتصاص العينات عند 470 nm باستخدام مقياس الطيف الضوئي عند توقيت زمنية مختلفة "t=0/t=1h/t=2h/t=24h". وتم استخدام BHT كشاهد إيجابي (Dufera et al, 2021). وتم حساب النشاطية وفق المعادلة التالية:

$$\left[1 - \frac{A_0 - A_{2h}}{A_{0BHT} - A_{2hBHT}} \right] \cdot 100$$

حيث أنّ:

A_0 : امتصاصية العينة عند الفترة الأولى.

A_{2h} : امتصاصية العينة بعد ساعتين.

A_{0BHT} : امتصاصية BHT عند الفترة الأولى.

A_{2BHT} : امتصاصية BHT بعد ساعتين.

6-2- دراسة النشاطية المضادة للبكتيريا

في هذه الدراسة نهدف إلى معرفة مدى تأثير المستخلصات لدينا من نبات الضرو *Pistacia lentiscus* L. على البكتيريا المدروسة والمقارنة فيما بينها. وقبل البدء بهذا العمل يجب اتخاذ الاحتياطات اللازمة من أجل الوقاية، والتأكد من نظافة المكان وتعقيم الأدوات المستعملة جيداً.

تحضير الأقراص:

تُحضّر الأقراص من ورق Watheman ويتم تحويله إلى عدة أقراص صغيرة ذات قطر يقدر 6 ملم.

تحضير وسط الزرع:

تُحضّر أطباق بيتري معقمة قطر 9 سنتيمتر ونصب فيها الوسط المغذي Mueller Hinton المحضر مسبقاً وذلك بإذابته في حمام مائي ذو درجة حرارة 95°م ويتم وضعه في حاضنة ذات درجة حرارة 37°م قبل الاستعمال (Aiman, 2022).

تنشيط البكتيريا:

في البداية يتم تحضير علب بيتري بوسط مغذي Nutrient Agar ثم نأخذ مسحة من البكتيريا المراد تنشيطها و يتم زراعتها في هذا الوسط الجديد ثم يتم الحضانة في درجة حرارة 37 م⁰ لمدة 24 ساعة لتصبح جاهزة للدراسة.

زرع البكتيريا:

نأخذ مستعمرة من كل سلالة بكتيرية محضرة مسبقاً بواسطة ماصة باستور معقمة، ووضعت في أنابيب اختبار معقمة تحتوي على ماء فيزيولوجي بحجم 10 ml، وترج للحصول على معلق بكتيري ويغمس ماسح قطني معقم ثم يمسح به على سطح الوسط الجاف على شكل خطوط متلاصقة، وتكرر لثلاث مرات وتدوير الطبق 60°م في كل مرة.

تحضير تراكيز المستخلص:

تم دراسة النشاط المضاد للبكتيريا المدروسة والمقدرة بسبع سلالات بكتيرية مقاومة ومسببة للأمراض، انطلاقاً من المستخلصات النباتية وجزيئات أكسيد الزنك النانوي المركب من هذه المستخلصات (المستخلص والزيت) وفق طريقة الانتشار في الوسط الصلب حيث شمل ذلك المراحل التالية:
تم تحضير أربعة تراكيز مختلفة لكل من المستخلص والزيت الطيار وأوكسيد الزنك النانوي للمستخلص وأوكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار وفق ما يلي:

بالنسبة للمستخلص المائي لنبات الضرو فقد تم اماهة المستخلص في المذيب DMSO وفق ثلاث تراكيز أساسية انطلاقاً من المستخلص الأم الذي تركيزه 5mg/ml لتتحصل على التراكيز التالية (Pure ، 1/2 ، 1/4 ، 1/8 ،

بالنسبة للزيت الطيار لنبات الضرو فقد تم اماهة الزيت في الطيار في المذيب DMSO وفق ثلاث تراكيز أساسية انطلاقاً من المستخلص الأم حيث التركيز الأم كان 25µL/ml لتتحصل على التراكيز التالية (Pure ، 1/2 ، 1/4 ، 1/8 ،

بالنسبة للجزيئات النانوية لمستخلص نبات الضرو فقد تم اماهة المستخلص في المذيب DMSO وفق ثلاث تراكيز أساسية انطلاقاً من المستخلص الأم ذو تركيز 1 mg/ml لتتحصل على التراكيز التالية (Pure ، 3/4 ، 1/2 ، 1/4 ،

بالنسبة للجزيئات النانوية للزيت الطيار نبات الضرو فقد تم اماهة المستخلص في المذيب DMSO وفق ثلاث تراكيز أساسية انطلاقاً من المستخلص الأم 1 mg/ml لتتحصل على التراكيز التالية (Pure ، 3/4 ، 1/2 ، 1/4 ، تم تكرار المعاملات السابقة ثلاث مرات لتقليل الارتياب.

زرع الأقراص

في كل علبه بيترى سنزرع 4 أقراص، كل قرص يحمل أحد التخفيف المحضرة مسبقاً، البداية تكون بتعليم على علبه بيترى المحضرة سابقاً والتي تحتوي على البكتيريا مكان التخفيف الأم بواسطة قلم اللباد، بعدها وبالمقطن المعدني المعقم نأخذ أحد الأقراص ونغمسه في الزجاج ذات التخفيف الأم دون تركه من المقطن، ونضعه في علبه بيترى قرب العلامة المحددة سابقاً ونعقم المقطن بوضعه للحظات على نار موقد بنزن وبقرص آخر نعيد الكرة مع التخفيف الثاني ووضع القرص الثاني بجانب القرص الأول جهة عقارب الساعة أو عكس عقارب الساعة (اختياري) ونفس الطريقة مع القرص الثالث والرابع وبعد الانتهاء من العلبه أولى نعيد بنفس الطريقة مع باقي علب البترى المتبقية لدينا.

قراءة النتائج

بعد الانتهاء من زرع الأقراص، يتم تغليفها بورق الألمنيوم أو ورق بلاستيكي شفاف من أجل الحماية ونضعها بالمقلوب (بحيث غطاء علبه بترى يكون في الأسفل، لتجنب سقوط قطرات الماء على البكتيريا) في وسط مُتحكَّم به في درجة حرارة 37° و نتركها لمدة 18 إلى 24 ساعة. بعد مرور الفترة الزمنية المحددة نقيس قطر مجال التثبيط بواسطة المسطرة وتدوينها في جدول.

الفصل الثاني

النتائج والمناقشة

النتائج

1- نتائج اختبارات الكشف الكيميائي للمواد الفعالة لنبات *Pistacia lentiscus* L.

يمثل الجدول (05) نتائج الكشف الكيميائي لنبات الضرو حيث نلاحظ منه أن النبات غني بمواد الأيض الثانوي:

الجدول (05): نتائج الكشف الكيميائي عن بعض المركبات الفعالة للأبيض الثانوي لنبات *Pistacia lentiscus* L.

النتيجة	المركب الفعال
+	التانينات
+	القلويدات
+	الفلافونويدات
+	الصابونين
-	الكومارين
+	الستيرويدات/التربينات
-	الأنثوسيانين
+	الفينول

(+): تعني وجود المادة الفعالة. (-): تعني غياب المادة الفعالة.

2- تقدير نسبة الاستخلاص

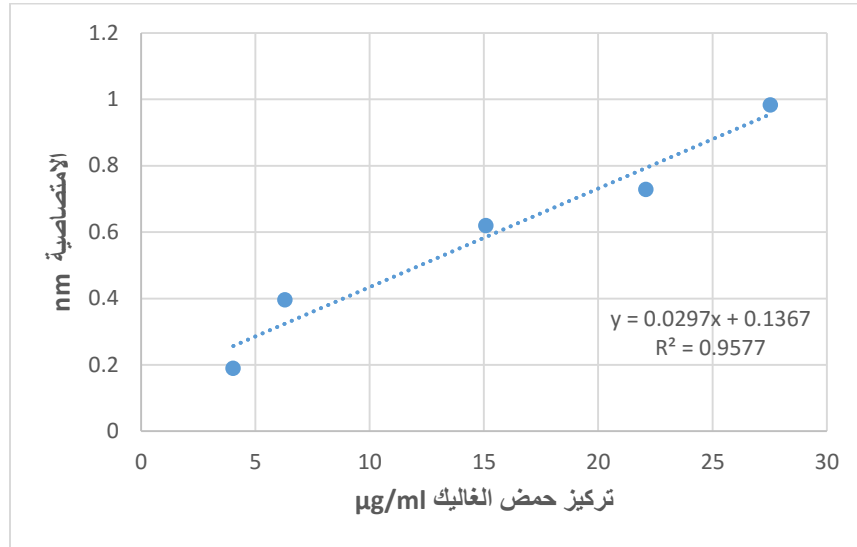
نتائج الاستخلاص للمركبات الطبيعية الفعالة المتمثلة في المستخلص المائي والزيت الطيار لنبات الضرو *Pistacia lentiscus* L. ممثلة في الجدول (06):

جدول (06): نتائج مردود الاستخلاص للمستخلص المائي والزيت الطيار.

النسبة %	وزن/حجم المستخلص	الاستخلاص
5.1 %	5.176 g	المستخلص المائي
0.44 %	0.44 ml	الزيت الطيار

3- التقدير الكمي للفينول

يُقدّر تركيز الفينول المتحصّل للمستخلص المائي لنبات *Pistacia lentiscus* L. عن طريق المنحنى القياسي للتركيز المختلفة لحمض الغاليك. قدّرت النتائج المتحصّل عليها μg المكافئ لحمض الغاليك لكل ملغ من المستخلص ($\mu\text{g EAG/ml}$) نتائج المنحنى القياسي لحمض الغاليك ممثلة في الشكل التالي:



الشكل (06): المنحنى القياسي للتركيز المختلفة لحمض الغاليك للمستخلص المائي لنبات الضرو.

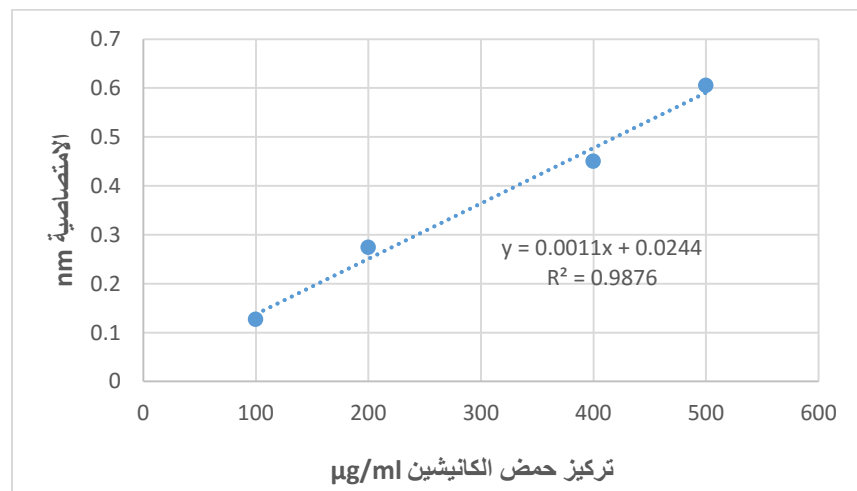
بناءً على ما سبق، قدرت الكمية الكلية للفينولات في الجدول (07).

جدول (07): محتوى الفينولات الكلية في المستخلص المائي.

محتوى الفينولات الكلية في المستخلص (µg GAE/ml)	المستخلص المائي
61.703 ± 10.041	

4-التقدير الكمي للتانينات

يُقدَّر تركيز التانينات لمستخلص نبات الضرو عن طريق المنحنى القياسي للتركيز المختلفة لحمض الكاتيشين. قدرت النتائج المتحصل عليها بـ µg لحمض الكاتيشين لكل ml من المستخلص (µg EC /ml) نتائج المنحنى القياسي لحمض الكاتيشين ممثلة في الشكل (07) التالي:



الشكل (07): المنحنى القياسي للتركيز المختلفة لحمض الكاتيشين للمستخلص لنبات الضرو.

6- تعريف المركبات في المستخلص والزيت الطيار

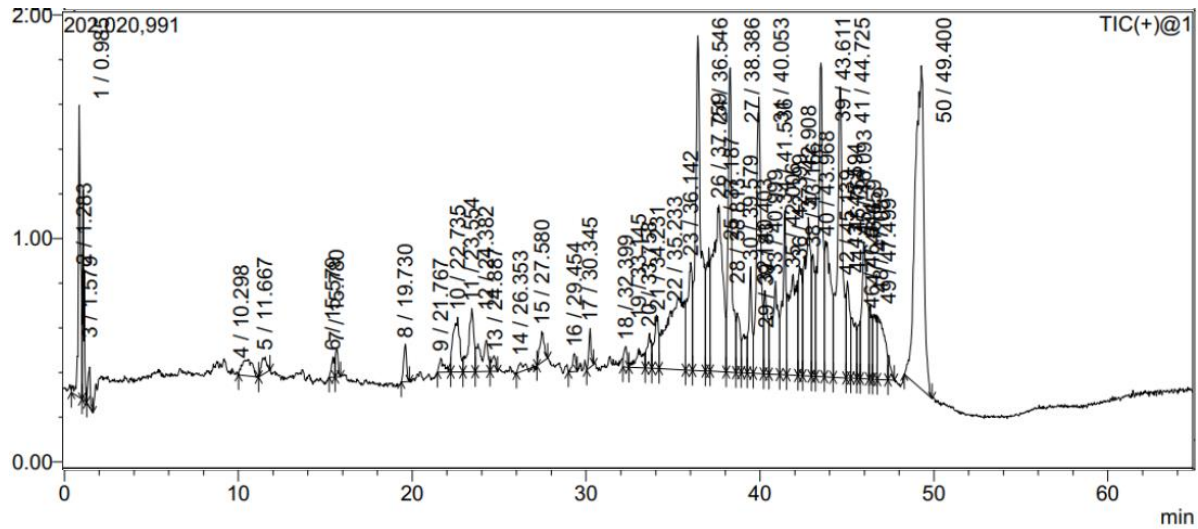
بينت النتائج المتحصل عليها أنّ المستخلص المائي والزيت الطيار لنبات الضرو يحتويان على العديد من المركبات ذات الأيض الثانوي، بعد استعمالنا تقنية الـ HPLC/MS للكشف عن المركبات الطبيعية الفعالة في المستخلص المائي، وتقنية الـ GC/MS/FID للكشف عن المركبات الطيارة التي يحتويها الزيت الطيار.

1-6- تعريف مركبات المستخلص المائي بواسطة HPLC/MS

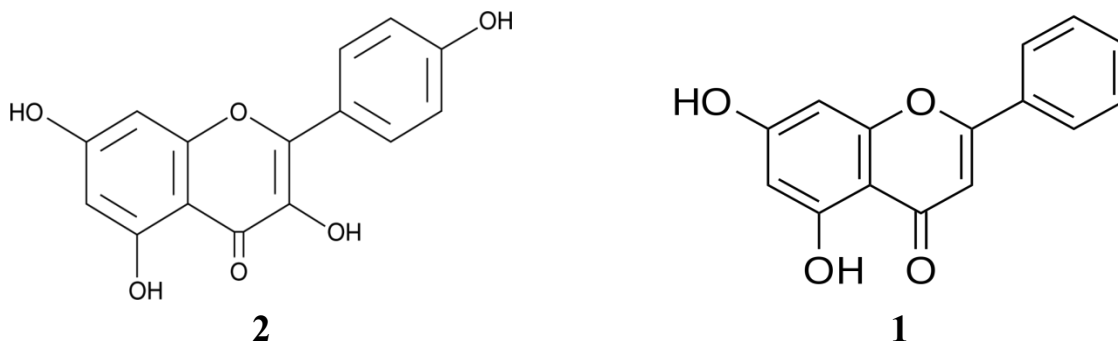
اثبتت نتائج الـ HPLC/MS وجود 14 مركب أيضا في المستخلص المائي وتتمثل في:

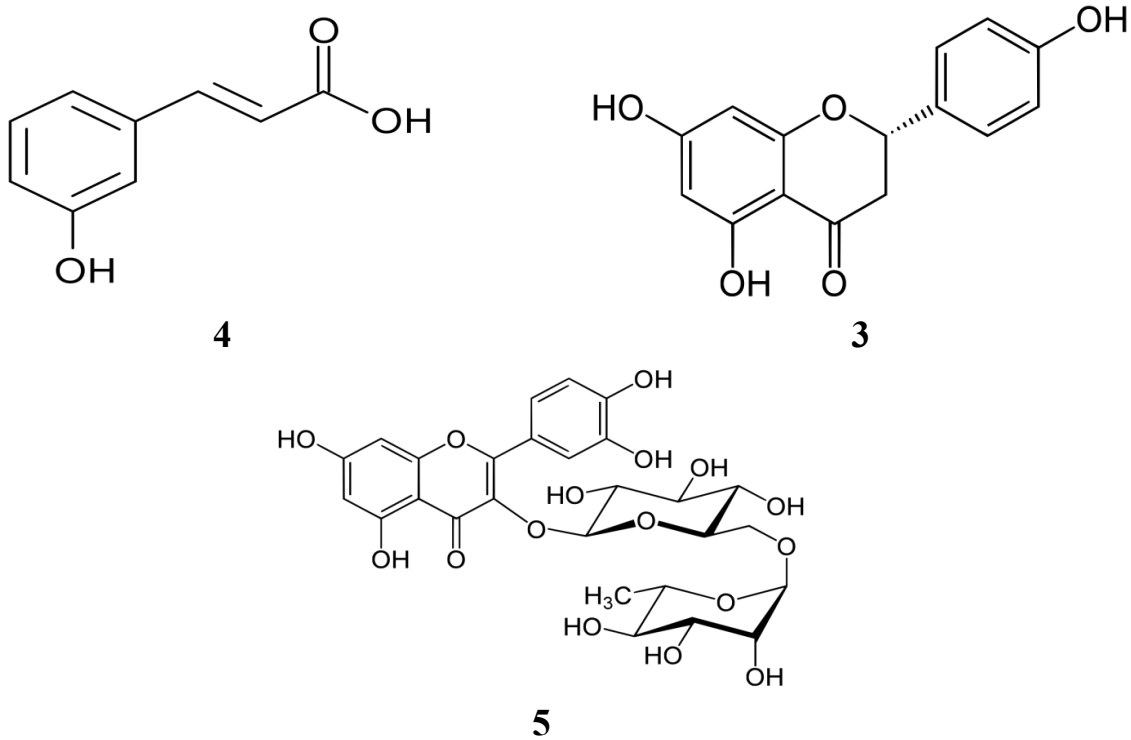
Rutine, Chrysin, Keampferol, Narangenin, Coumaric Acid, Beta-Carotene, Valinin, Quercitin, Ferulic acid, Acide ascorbic, Maleic acid, Hepertin, Thymol, Folic acid

وفي الشكل رقم (09) يبين المركبات التي التعرف عليها في المستخلص المائي وفي الشكل (10) يبين التركيب الكيميائي للمركبات الكيميائية الخمس ذات أكبر نسبة في المستخلص المائي



الشكل (09): المنحنى يبين المركبات التي التعرف عليها في المستخلص المائي.



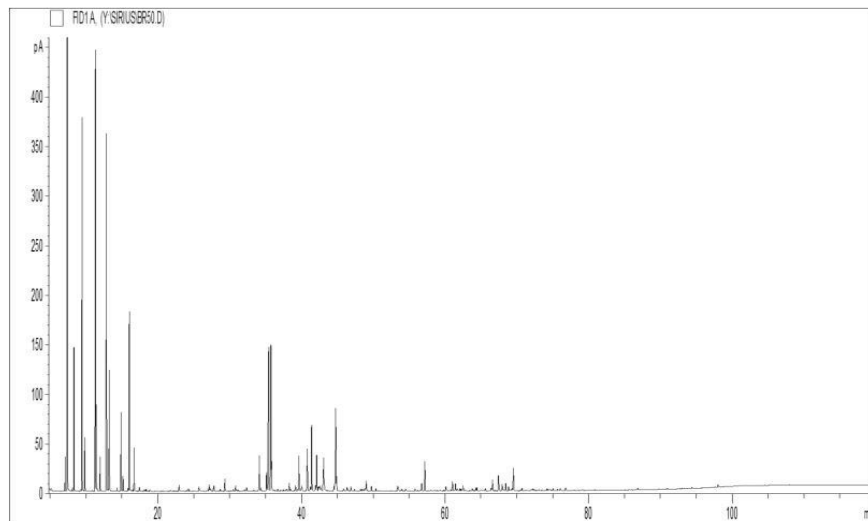


الشكل (10): التركيب الكيميائي للمركبات الكيميائية ذات أكبر نسبة في المستخلص المائي.

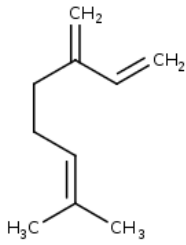
1: Chrysin – 2: Keampferol – 3: Naringenin – 4: Coumaric Acid – 5: Rutin

2-6- تعريف مركبات الزيت الطيار بواسطة GC/MS/FID

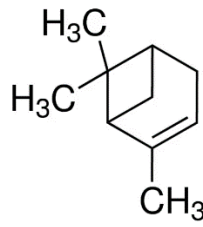
بناءً على نتائج التحليل الكروماتوغرافي للزيوت الطيارة لنبات الضرو، فقد أظهرت وجود العديد من المركبات بنسب مختلفة، وتواجد 9 مركبات كيميائية ذات نسبة مرتفعة، النتائج المتحصل عليها ممثلة في الشكل (11) والشكل (12) يحوي على التركيب الكيميائي للمركبات الكيميائية ذات نسبة كبيرة في الزيت الطيار.



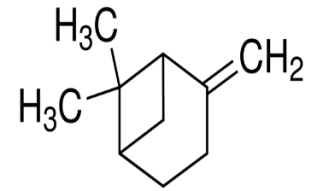
الشكل (11): منحنى طيف الفصل الكروماتوغرافي الغازي GC/MS/FID للزيت الطيار لنبات الضرو.



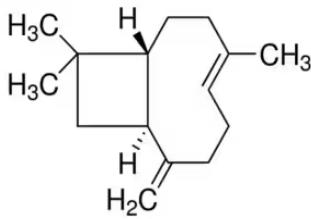
3



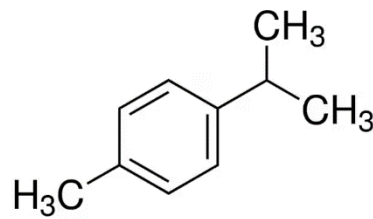
2



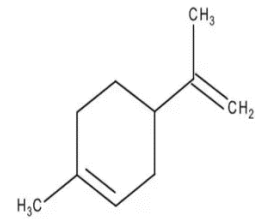
1



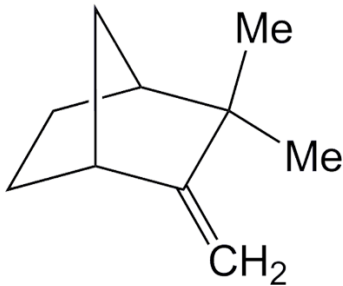
6



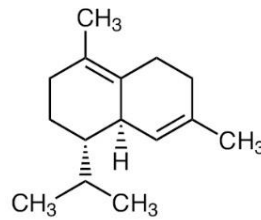
5



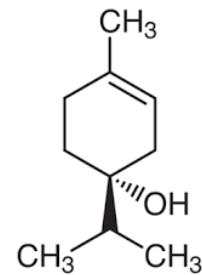
4



9



8



7

الشكل (12): التركيب الكيميائي للمركبات الكيميائية ذات أكبر نسبة في الزيت الطيار.

1: α -Pinene – 2: β -Pinene – 3: β -myrcene – 4: Limonene – 5: p-Cymene – 6: β -caryophyllene

7: Terpinen-4-ol – 8: Delta-Cadinene – 9: Camphene.

7- تقدير مردود المركبات النانوية

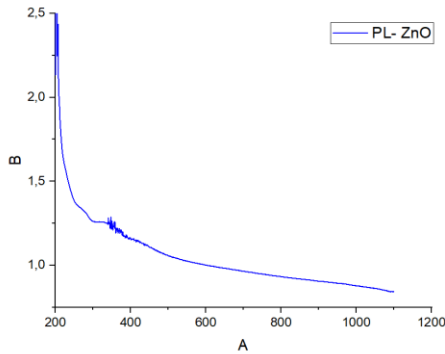
نتائج الاستخلاص للمركبات الطبيعية الفعالة المتمثلة في أكسيد الزنك النانوي للمستخلص المائي وأكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار لنبات الضرو ممثلة في الجدول (10):

جدول (10): نتائج مردود أكسيد الزنك النانوي للمستخلص المائي وأكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار.

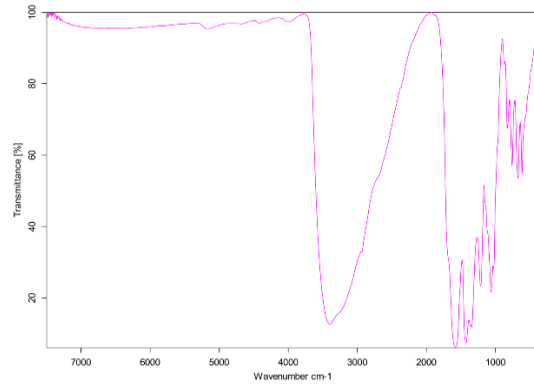
النسبة %	وزن/حجم المستخلص	الاستخلاص
10.5 %	1.165g	أكسيد الزنك النانوي للمستخلص المائي
2.44 %	0.769 g	أكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار

8- تعريف المركبات في أكسيد الزنك النانوي

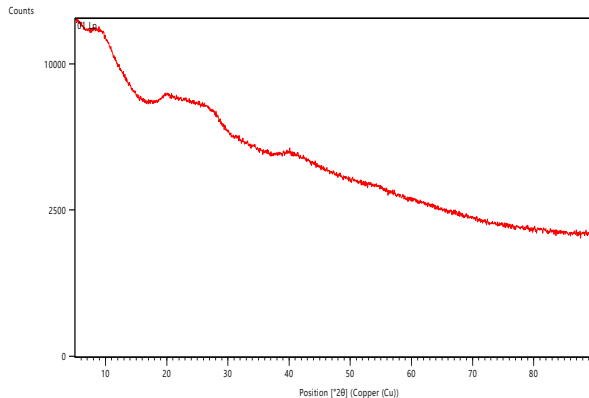
باستخدام التقنيات المتبعة في تعريف المركبات النانوية المشكلة من المستخلص المائي حيث تم ذكرها في جزء طرق ومواد العمل فإن النتائج المتحصل عليها ممثلة في الشكل (13):



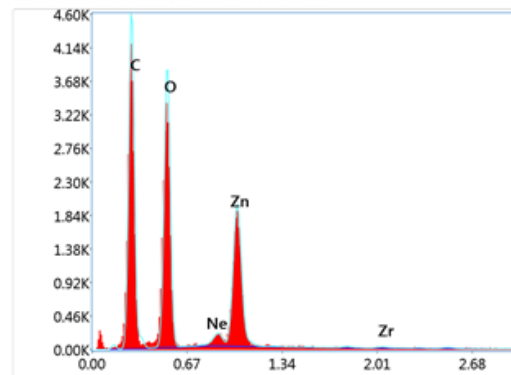
2



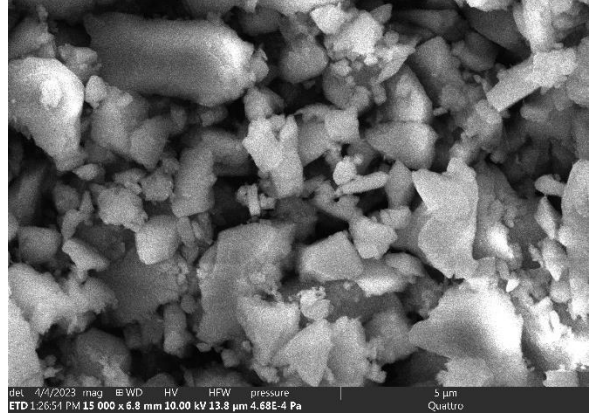
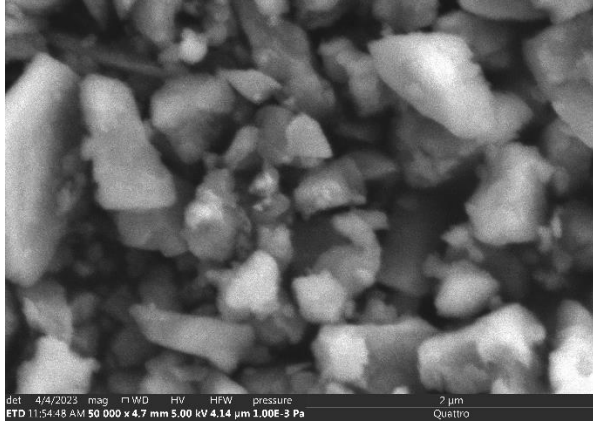
1



4



3

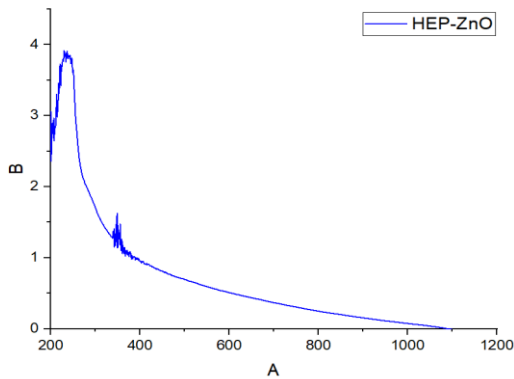


5

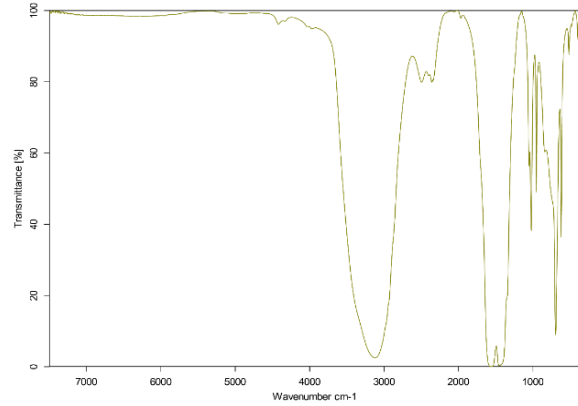
الشكل (13): التقنيات المتبعة في تعريف المركبات النانوية المشكلة من المستخلص المائي.

1: FT-IR – 2: UV-vis – 3: EDS – 4: XRD – 5: SEM

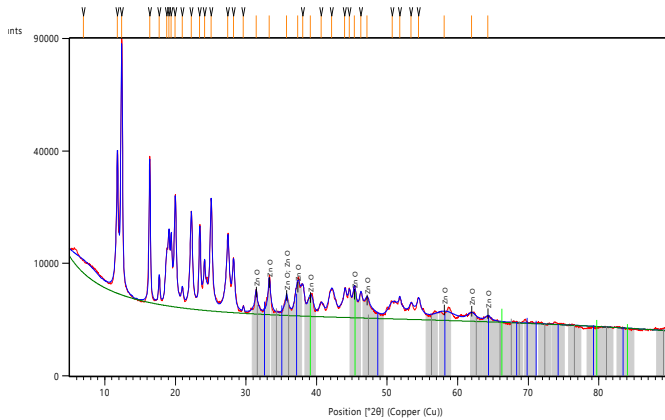
وباستعمال التقنيات المتبعة في تعريف المركبات النانوية المشكلة من الزيت الطيار حيث تم ذكرها في جزء طرق ومواد العمل فإن النتائج المتحصل عليها ممثلة في الشكل (14).



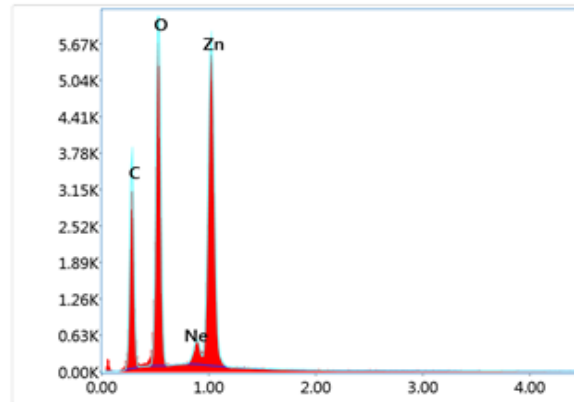
2



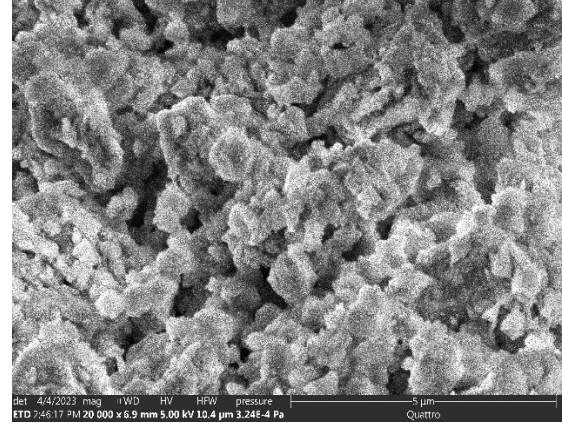
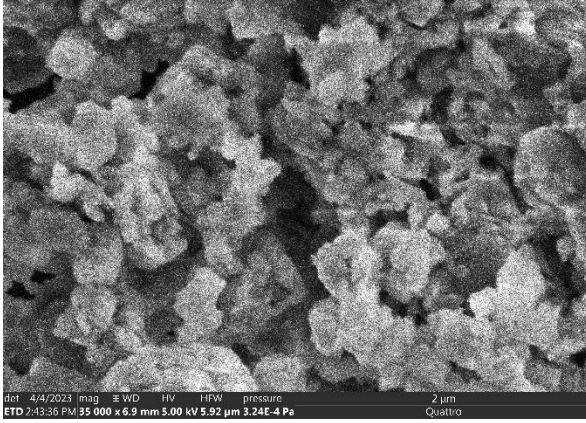
1



4



3



5

الشكل (14): التقنيات المتبعة في تعريف المركبات النانوية المشكلة من الزيت الطيار.

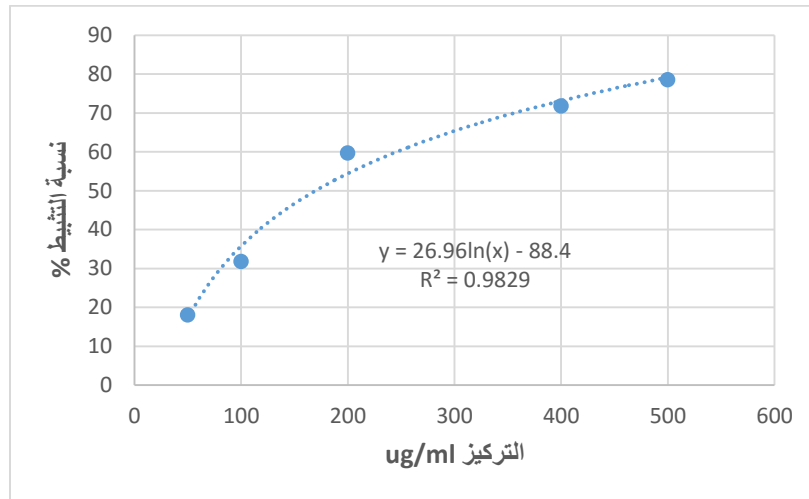
1: FT-IR – 2: UV-vis – 3: EDS – 4: XRD – 5: SEM

9- الأثر البيولوجي للعينات المدروسة

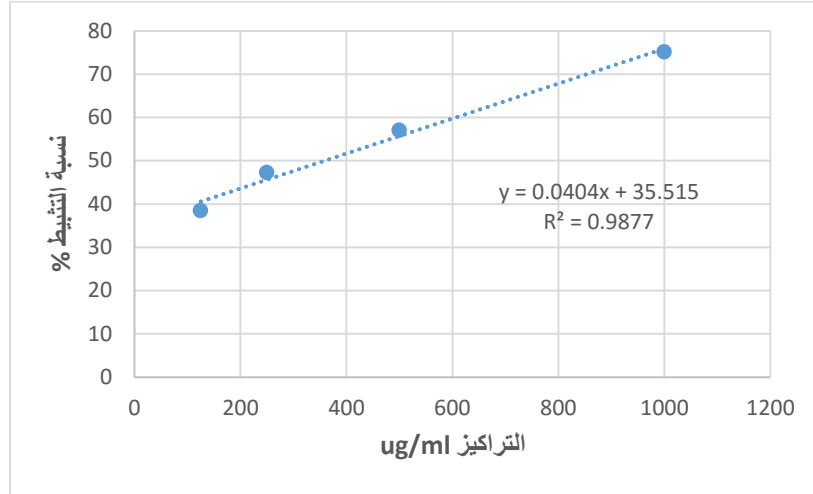
9-1- دراسة النشاطية المضادة للأكسدة

9-1-2- اختبار تثبيط جذر DPPH•

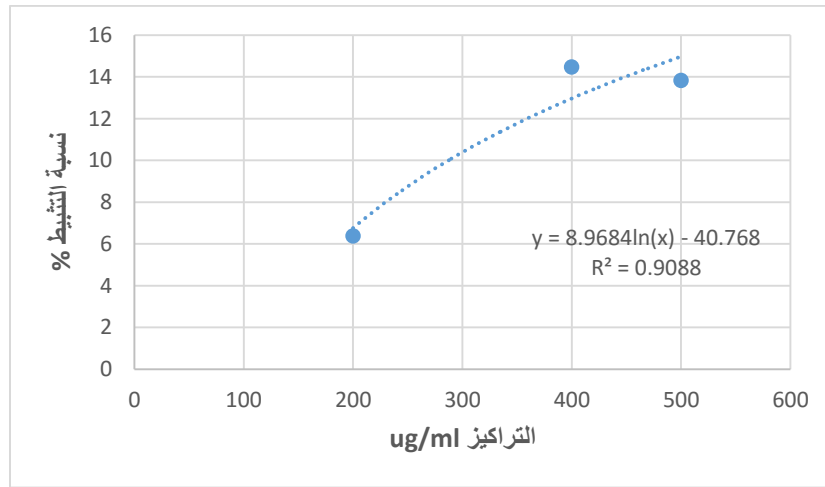
بالنسبة إلى المستخلص المائي والزيت الطيار وأكسيد الزنك للمستخلص المائي وأكسيد الزنك للزيت الطيار، حُدثت نسبة تثبيط مستخلص نبات الضرو لجذر الـ DPPH•، وتم تمثيل النتائج في الشكل (15)، والشكل (16)، الشكل (17)، الشكل (18):



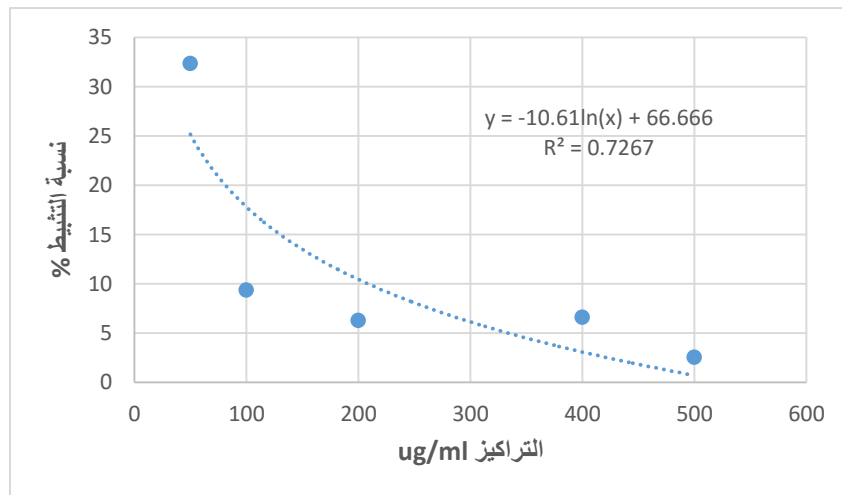
الشكل (15): المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأكسدة لكبح جذر DPPH• للمستخلص المائي.



الشكل (16): المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأوكسدة لكبح جذر DPPH• للزيت الطيار لنبات الضرو.



الشكل (17): المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأوكسدة لكبح جذر DPPH• أكسيد الزنك النانوي للمستخلص المائي.



الشكل (18): المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأوكسدة لكبح جذر DPPH• لأكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار.

وتم تمثيل قيم النشاطية في الجدول (11) كما يلي:

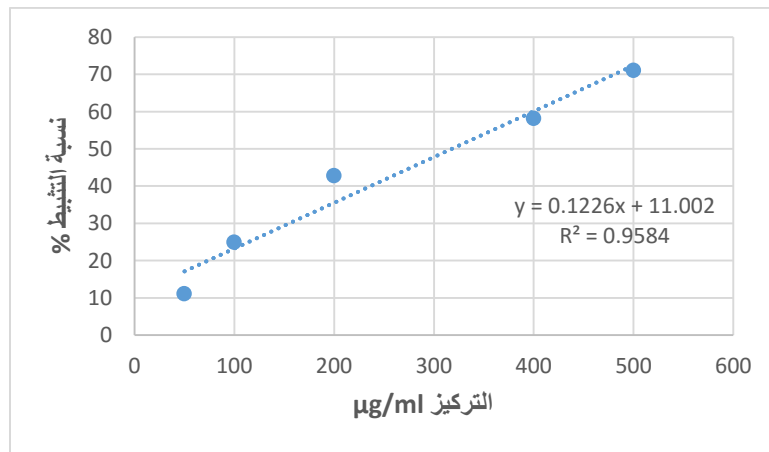
الجدول (11): جدول يمثل نتائج النشاطية المضادة للأكسدة DPPH• لكل من المستخلص المائي والزيت الطيار وأكسيد الزنك النانوي للمستخلص وأكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار.

النشاطية المضادة للأكسدة $\mu\text{g EAA/mg}$	المستخلصات
(169.61 \pm 9.35)	المستخلص المائي
(358.53 \pm 15.73)	الزيت الطيار
IC50 >	أكسيد الزنك النانوي للمستخلص المائي
IC50 >	أكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار

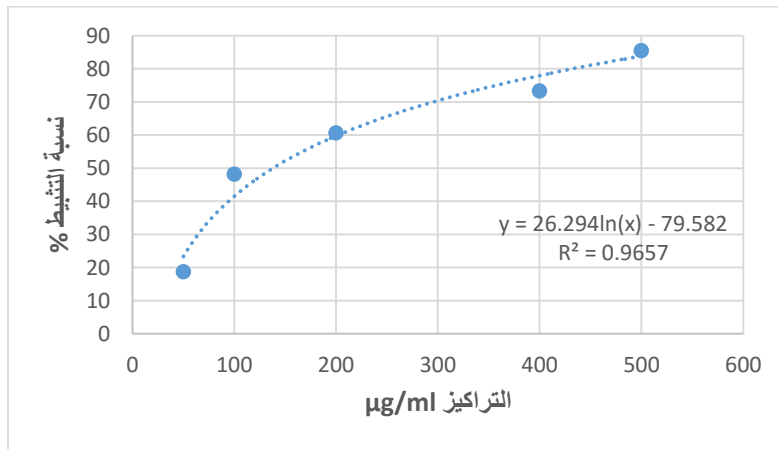
9-2-2- FRAP اختبار

بالنسبة إلى المستخلص المائي والزيت الطيار، حُدِّت القدرة المستخلص على إرجاع شوارد الحديد، وتم

تمثيل النتائج في الشكل (19) والشكل (20) كما يلي:



الشكل (19): المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأكسدة لكبح شوارد الحديد للمستخلص المائي.



الشكل (20): المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأكسدة لكبح شوارد الحديد للزيت الطيار.

وتم تمثيل نتائج النشاطية لهذا الاختبار في الجدول (12) كما يلي:

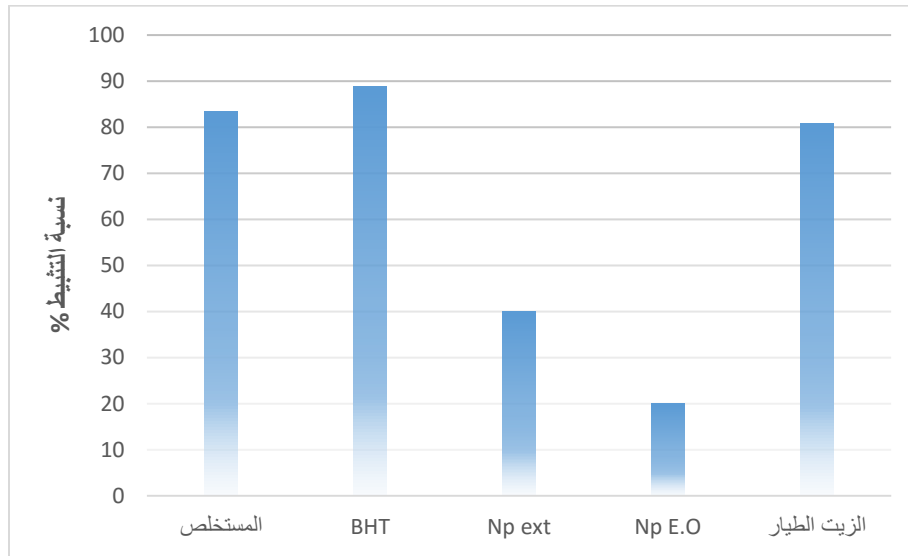
الجدول (12): جدول يمثل نتائج FRAP لكل من المستخلص المائي والزيت الطيار وأكسيد الزنك النانوي للمستخلص وأكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار.

المستخلصات	IC ₅₀ (µg/mg)
المستخلص المائي	(318.091±7.2)
الزيت الطيار	(138.13±8.41)
أكسيد الزنك النانوي للمستخلص المائي	/
أكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار	/

وفيما يتعلق بأكسيد الزنك للمستخلص المائي وكذلك لأكسيد الزنك للزيت الطيار وبعد تكرار التجارب عدة مرات لم يعطي أي نشاطية في هذا الاختبار.

3-2-9- اختبار β-carotene

هذا النوع من الاختبارات يعتمد على الحمض الدهني لينوليك الذي يعتبر من بين الأحماض الدهنية الغير مشبعة، حيث ينتج من أكسدة هذا الحمض تشكل جذور حرة تهاجم ال-β-caroten مما يؤدي إلى انخفاض تدرج اللون البرتقالي الذي يميزه. ونتائج هذا الاختبار ممثلة في الشكل (21).



الشكل (21): نسبة أكسدة β-carotene من طرف المستخلص المائي والزيت الطيار.

من خلال تحليل نتائج نسب الكسح بدلالة الزمن كما هو موضح في الشكل (21)، يتضح أنّ المستخلص المائي ذو تركيز 1mg/ml يملك القدرة على تثبيط أكسدة β-carotene من خلال مقارنة نسبة تثبيطه مع BHT الذي يعتبر أحد أقوى مضادات الأكسدة بعد مرور 24 ساعة. تبين أن المستخلص المائي يملك نسبة تثبيط مرتفعة قدرت بـ (83.33±6.17%) مقارنة مع النسبة المسجلة عند BHT والتي قدرت بـ

(88.76 ± 14.44 %) وكانت قدرة التثبيط للزيت الطيار ذو تركيز 100µl/900µl (80.68 ± 8.89 %) وهي نسبة قريبة من المستخلص المائي، وفيما يتعلق بنشاطية أكسيد الزنك النانوي للمستخلص المائي ذو تركيز 1ml/mg أعطت نسبة تثبيط تصل إلى 40% وقد كانت أعلى من أكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار حيث أعطى نسبة تثبيط 20% في تركيز 1ml/mg.

10- النشاطية المضادة للبكتيريا

بالنسبة للمستخلص المائي لنبات الضرو *Pistacia lentiscus* L. عند وسط الزرع Muller Hinton لاحظنا أنّ هناك تأثير على جميع أنواع البكتيريا التي تم الاختبار عليها وبتأثير متقارب عند جميع التراكيز، حيث لاحظنا أنّ التراكيز العالية لها تأثير أقوى من التراكيز الضعيفة في معظم الاحوال، كما وجد أنّ البكتيريا الأقل تأثراً بالمستخلص المائي لنبات الضرو هي البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 والأكثر تأثراً هي البكتيريا *Staphylococcus homonis*. كما سجلت أكبر مساحة تثبيط لدى البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 عند المحلول الأم، حيث يصل القطر إلى 12.5 mm، وأقل قطر سجل عند البكتيريا *Escherichia coli* ATCC 8787 يصل الى 6 mm عند التركيز (1/8). كما اظهر المضاد البكتيري CIP فعالية اكبر من أي تركيز من المستخلص المائي أو المضاد البكتيري OX، بحيث يصل أكبر قطر للـ CIP الى 32 mm ضد البكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

الجدول (13): تأثير المستخلص المائي على السلالات البكتيرية المدروسة.

سلالات البكتيريا	متوسط قطر التثبيط (mm)						
	محلول الأم	1/2	1/4	1/8	CIP	OX	DMSO
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10 ±1.15	9.5 ±2.3	8.5 ±2.88	6.5 ±0.28	32	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	7 0.57±	7.5 ±1.04	7.5 ±0.57	6.5 ±0.5	28	0	0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8787	10 ±2.3	11 ±6.24	6.5 ±0.5	6 ±0.57	30	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	8 ±0	8.5 ±0.57	8 ±1.73	9.5 ±1.52	28	18	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12.5 ±2.3	8.5 ±1.15	7.5 ±0.57	7.5 ±0.57	18	0	0
<i>Escherichia coli</i>	8.5 ±1.15	8.5 ±1.15	11.5 ±0.57	10 ±1.15	27	0	0

<i>Staphylococcus homonis</i>	10 ±4.04	9.5 ±2.08	10.5 ±3.51	10.5 ±1.52	31	0	0
-------------------------------	-------------	--------------	---------------	---------------	----	---	---

وفي حالة الزيت الطيار، تظهر نتائج الزيت الطيار لنبات الضرو *Pistacia lentiscus* L. عند وسط الزرع Muller Hinton لاحظنا نتائج مقارنة لنتائج المستخلص، حيث تم التأثير على جميع أنواع البكتيريا التي تم الاختبار عليها لوحظ أنّ التراكيز العالية لها تأثير أقوى من التراكيز الضعيفة في أغلب الحال، وتشير النتائج إلى أنّ البكتيريا الأقل تأثراً بالمستخلص المائي لنبات الضرو هي البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 و *Staphylococcus aureus*، والأكثر تأثراً هي البكتيريا *Escherichia coli* Ref المسجلة أكبر مساحة تثبيط لدى البكتيريا *Escherichia coli* عند تركيز المحلول الأم، حيث يصل القطر إلى 15mm، وأقل قطر سجل عند البكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و *Staphylococcus aureus* يصل إلى 6.5 mm عند التركيز (1/4). وجد أنّ المضاد البكتيري CIP فعالية أكبر من أي تركيز من المستخلص المائي أو المضاد البكتيري OX، بحيث يصل أكبر قطر للـ CIP إلى 32 mm ضد البكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 .

الجدول (14): تأثير الزيت الطيار لنبات الضرو على السلالات البكتيرية المدروسة.

سلالات البكتيريا	متوسط قطر التثبيط (mm)						
	محلول الأم	1/2	1/4	1/8	CIP	OX	DMSO
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	9.5 ±1.15	10 ±5.19	6.5 ±0.28	7.5 ±0.57	32	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	7.5 ±0.57	7.5 ±0.86	7.5 ±1.15	8 ±1.44	28	0	0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8787	15 ±6.11	10 ±0.57	9.5 ±2.78	9 ±2.51	30	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	7.5 ±2.17	7.5 ±2.17	6.5 ±1.04	9 ±1.73	28	18	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11.5 ±1.15	10.5 ±3.05	15 ±5.03	11 ±4.35	18	0	0
<i>Escherichia coli</i>	13.5 ±5.77	12.5 ±3.21	10 ±2	14.5 ±2.3	27	0	0
<i>Staphylococcus homonis</i>	10 ±2	10 ±3.17	12 ±5.29	9.5 ±2.51	31	0	0

وفيما يتعلق بأكسيد الزنك النانوي للمستخلص، عند وسط الزرع Muller Hinton وجد أنّ النتائج تختلف عن نتائج المستخلص المائي والزيت الطيار لنبات الضرو، حيث تشير النتائج إلى أنّ نانو مستخلص النبات

له فعالية أقل من كلا المستخلص والزيت الطيار. مع ذلك كان التأثير الأقوى لنانو مستخلص الضرو عند البكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و *Pseudomonas aeruginosa*، حيث سجلت أعلى قيمة لقطر التثبيط عند البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* بقطر يصل إلى 11.5 mm عند التركيز (3/4). والبكتيريا الأقل تأثرًا هي *Staphylococcus homonis* وسجل عندها أقل قطر تثبيط وهو 3 mm عند التركيز (1/2) وهو أقل قطر تثبيط تم تسجيله لدينا من بين المستخلصات الأربعة لدينا. كما لاحظنا أيضا المضاد البكتيري CIP فعالية أكبر من أي تركيز من المستخلص المائي أو المضاد البكتيري OX، بحيث يصل أكبر قطر للـ CIP إلى 32 mm ضد البكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

الجدول (15): تأثير أكسيد الزنك النانوي لمستخلص نبات الضرو على السلالات البكتيرية المدروسة.

سلالات البكتيريا	متوسط قطر التثبيط (mm)						
	محلول الأم	3/4	1/2	1/4	CIP	OX	DMSO
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	7.5 ±5.77	8 ±2	9 ±1.73	7 ±1.04	32	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	6.5 ±4.61	6 ±0.57	7 ±4.35	6.5 ±3.78	28	0	0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8787	7 ±4.25	8 ±1.73	7.5 ±0.57	7.5 ±1.52	30	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	7 ±4.35	6.5 ±1.15	7.5 ±1.15	7 ±0.76	28	18	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9.5 ±10.06	11.5 ±4.61	6.5 ±4.04	7.5 ±2.17	18	0	0
<i>Escherichia coli</i>	7 ±0.76	8 ±1	8 ±1.89	6.5 ±0.5	27	0	0
<i>Staphylococcus homonis</i>	7.5 ±4.76	6 ±3.46	7 ±4.61	8 ±3.32	31	0	0

وفي حالة أكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار، نلاحظ تشابه كبير بينها وبين نتائج نانو المستخلص النباتي عند جميع أنواع البكتيريا باستثناء البكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923، حيث سجل أكسيد الزنك للزيت الطيار أعلى النتائج عند البكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 من بين المستخلصات الأربعة لدينا. وقدمت لنا أعلى قيمة تثبيط للمستخلصات لدينا حيث يصل قطر التثبيط إلى 14.5mm عند التركيز للمحلول الأم. وأقل قيمة تثبيط سجلها أكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار تكون عند

بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* عند التركيز (1/2) بطول قطر 4mm. وأظهر المضاد البكتيري CIP فعالية أكبر من أي تركيز من المستخلص المائي أو المضاد البكتيري OX، بحيث يصل أكبر قطر للـ CIP إلى 32 mm ضد البكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. الجدول (16): تأثير أكسيد الزنك للزيت الطيار على السلالات البكتيرية المدروسة.

سلالات البكتيريا	متوسط قطر التثبيط (mm)						
	محلول الأم	3/4	1/2	1/4	CIP	OX	DMSO
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	14.5 ±2.3	14 ±4.72	8 ±1.73	8 ±1.73	32	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	6.5 ± 4.04	7.5 ±1.32	7.5 ±0.57	7 ±1.15	28	0	0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8787	8.5 ±2.36	8 ±1	7 ±1.44	9.5 ±5.5	30	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	7.5 ±0.57	7 ±0.28	6.5 ±3.78	7.5 ±1.52	28	18	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7 ±4.61	9.5 ±2.3	6 ±3.46	7.5 ±2.08	18	0	0
<i>Escherichia coli</i>	8 ±1.89	7 ±5.03	9 ± 2.02	8 ±8	27	0	0
<i>Staphylococcus hominis</i>	8 ±0.76	7.5 ±5.13	7 ±0.5	7 ±4.35	31	0	0

المذيب الذي استعملناه لإذابة جميع مستخلصاتنا هو الـ DMSO وهو أيضاً عبارة عن الشاهد السلبي لدينا، ومن النتائج المتحصل عليها تجد أنه لم يقم بالتأثير على تجربتنا، أما بالنسبة إلى الشواهد الإيجابية هما CIP و OX. حيث قام الـ CIP بتأثير كبير على جميع أنواع البكتيريا التي لدينا بنتائج أفضل من جميع مستخلصاتنا وحتى OX وسجل أكبر منطقة تثبيط عند البكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 بقطر 32mm، ونلاحظ أنّ الـ OX ليس لديه أي تأثير يذكر على جميع البكتيريا ما عدا البكتيريا *Staphylococcus aureus* حيث قام بتثبيط قطره 18mm وهو أقل من CIP والذي قام بتثبيط قطره 28mm وكلاهما أعلى من المستخلصات لدينا. وكما لاحظنا ان المضاد البكتيري الـ CIP قد اظهر التثبيط الأكبر عند جميع سلالات البكتيريا لدينا وبذلك قد تفوق على جميع المستخلصات لدينا. أما المضاد البكتيري OX فإنه لم يسجل أي تثبيط ما عدى عند البكتيريا *Staphylococcus aureus* بقطر يصل إلى 18mm

بحيث تفوق على جميع مستخلصاتنا في تلك الحالة، ثم لاحظنا أنّ جميع مستخلصاتنا قد تفوقت عليه في باقي الحالات.

المنافسة

المناقشة:

من خلال التحليل واختبارات الكشف الكيميائي للمواد الفعالة للنبات المدروس فقد تبين أنّ نبات الضرو يحوي العديد من المركبات الكيميائية والمتمثلة تحديداً في تواجد كل من التانينات، القلويدات، الفلافونويدات، الصابونين، الستيروولات/التربينات، إضافةً إلى مركبات الفينول، وهذه جاءت مماثلة نوعاً ما للنتائج المتحصل عليها من قبل (Bougherara, 2015)، ففي دراستها على نفس النوع النباتي من نفس منطقة الدراسة وهي الحاضرة الوطنية للقالة الجزائر تحصلت على وجود كل من الفلافونويدات، التانينات، الستيروولات/التربينات، ومركبات الأنتيوسيانين وغياب كل من الصابونين والقلويدات التي وجدناها خلال دراستنا وهذا ما يبين غياب وجود مركبات لنفس النوع النباتي ومن نفس منطقة القطف، حيث قد يعود ذلك إلى الظروف المحيطة بالنبات وعلى سبيل المثال التربة والمناخ خلال سنة معينة (Djahra, 2014). وفي دراسة لنبات *Pistacia lentiscus* L. النامي في مدينة مكناس المغرب وجد احتواء المستخلص أوراق هذا النبات على كل من التانينات، الفلافونويدات، المركبات المرجعة، الستيروولات/التربينات، إضافةً إلى الصابونوزيدات (Bammou, 2015).

بالنسبة إلى استخلاص المركبات الكيميائية فقد بنيت النتائج المتحصل عليها أنّ أوراق نبات الضرو تحتوي على نسبة تقدر بـ 5.1% في 100 g من المادة النباتية، تم استخلاصها بمركب قطبي الذي هو الماء حيث تعتبر هذه الكمية أقل مما تم الحصول عليه في دراسة أجريت بواسطة مركب قطبي المتمثل في الميثانول في كمية تقدر بـ 250 g من المادة النباتية (Souad, 2020)، هذا الاختلاف في النسبة المئوية تتحكم فيه عدة عوامل رئيسية لا ترتبط فقط بنوع النبات والعائلة التي ينتمي إليها لكن كذلك بشروط نمو، نضج، شروط التخزين وطرق الاستخلاص (Zang and Hamauru, 2003).

وبخلاف ذلك فلا تعتبر طريقة الاستخلاص الوحيدة التي قد تؤثر على مردود الاستخلاص وإنما يتدخل كذلك نوعية المواد الفعالة المراد استخلاصها. ففي دراستنا تم استخدام المذيب القطبي المتمثل في الماء كون المواد الفعالة الفينولية هي مركبات قطبية ففي دراسة (Souad, 2020) وجد أنّ الاستخلاص بواسطة الإيثير (مركب لا قطبي) أعطى نسبة ضئيلة للمستخلص النباتي تتمثل في نسبة 6.84%. النتائج المتحصل عليها بالنسبة لاستخلاص الزيوت الطيارة وجد أنّ كمية الزيت المستخلص تقدر بـ 0.44% حيث تعتبر هذه النسبة كبيرة مقارنةً بما تحصل عليه (Bammou, 2015) والذي تحصل على كمية تقدر بـ 0.16% ويعود هذا الاختلاف إلى شروط سابقة الذكر (Zang and Hamauru, 2003).

من خلال نتائج تحاليل الكروماتوغرافي HPLC/MS للمستخلص النباتي لنبات الضرو وجد أنّ المستخلص المائي يحتوي على 14 مركب والمتمثلة في: Rutine, Chrysin, Keampferol, Narangenin, Coumaric Acid, Beta-Carotene, Valinin, Quercitin, Ferulic acid, Acide ascorbic, Maleic acid, Hepertin, Thymol, Folic acid ويتعبر مركب الروتين هو المركب الغالب حيث جاءت هذه النتائج مقارنة للنتائج المتحصل عليها من قبل (Koutsoudaki et al, 2005) وكذلك نتائج (Pushpendra et al, 2011)، إضافةً إلى أعمال (Tanbonca et al, 2012) والتي أظهرت وجود العديد من المركبات مثل α -Pinene و p-Cymene.

بعد الاستخلاص بواسطة جهاز استخلاص الزيوت الطيارة نوع كليفنجر وتحليل الزيوت الطيارة بواسطة GC/MS/FID فإننا حصلنا على وجود 9 مركب والمتمثلة في α -Pinene, β -Pinene, β -myrcene, Limonene, p-Cymene, β -caryophyllene, Camphene, Delta-Cadinene, Methyleugenol من أصل 171 مركب بمختلف التراكيز حيث جاءت هذه النتائج مماثلة للنتائج التي تحصل عليها (Dob et al, 2006) حيث وجد كل من α -Pinene, β -Pinene، في العينات التي تم دراستها في منطقة وهران، ففي دراسة أخرى (Amhamdi et al, 2009) للزيوت الطيارة المتواجدة في أوراق الضرو وجد كل من β -Myrcene، Limonene، Germacrene.

بينت جميع المقارنات للمركبات الأيضية المتواجدة في الزيوت الطيارة لنبات الضرو في اشتراكها في ثلاث مركبات أساسية المتمثلة أساساً في α -Pinene, β -Pinene, β -myrcene والتي كانت من بين المركبات الغالبة في الزيوت الطيارة لنبات الضرو في دراستنا هذه.

إن المركبات الفينولية وتحديدًا الفلافونويدات والتانينات مركبات أيضية مهمة جداً وتحتوي على العديد من الأنشطة البيولوجية ذات الفائدة لصحة الانسان (Xia end al, 2010) حيث تعتبر المركبات الفينولية لها دور كمضاد للالتهاب، مضادة للأكسدة، حماية الخلايا عموماً من الجذور الحرة (Agurre, 2007) وهذا ما يؤدي بطريقة غير مباشرة إلى زيادة وتدعيم النظام المناعي (Henk et al, 2003). تمتلك الفلافونويدات قدرة مضادة للأكسدة كبيرة جداً هذا لاحتوائها على مركبات تحوي جزيء الهيدروجين كما تعمل على تثبيط انزيم Cytocrome P450 الذي يتم تنشيطه خلال انتاج الجذور الحرة (Djahra, 2014)، من جهة أخرى فإن تواجد التانينات في نبات الضرو يعطي له أهمية علاجية كون أنّ هذه المواد تعتبر من أهم المواد الطبيعية لمقاومة الاسهال والجلطات (Asquith And Butler, 1986).

إن التقدير الكمي للفينولات لنبات الضرو قيد الدراسة بين وجود كمية تقدر بـ $\pm 10.04 \mu\text{g EAG/ml}$ (61.70) هذه الكمية تعتبر قريبة من الكمية المتحصل عليها من قبل (Bougherara, 2015) حيث وجدت

كمية تساوي ($79.35 \pm 0.01 \mu\text{g EAG/ml}$) من المركبات الفينولية المتواجدة في الضرو وكمية تقدر بـ 61.34% من المستخلص الفينولي لثمار نفس النبات للمستخلص الفينولي وهذا حسب دراسة (Arab et al, 2014).

التحليل الطيفية لمركبات النانو بينت أنّ أكسيد الزنك المركب انطلاقاً من المستخلصات النباتية والزيوت الطيارة لنبات الضرو بواسطة الأشعة تحت الحمراء FT-IR وجود العديد من أطيف الامتصاص لهذه المركبات حيث أنّ أكبر طيف امتصاص في جزيئات أكسيد النانو على مستوى المستخلص متواجدة بين 1000 cm^{-1} و 2000 cm^{-1} وهذا يبين وجود الوظيفة C-O-C (Güler et al., 2020)، كما لاحظنا وجود طيف امتصاص المقدر بـ 1384 cm^{-1} والذي يدل كذلك على وجود الوظيفة C-N حسب (Zargor et al, 2014) كما لاحظنا وجود الوظيفة OH عند طيف الامتصاص 3000 cm^{-1} و 3600 cm^{-1} وهذا دليل على الاهتزاز الخاص بالوظيفة OH تحديداً الخاصة بالماء والكحول البولي فينول (Senthilkumar et al, 2017). إضافةً إلى ما سبق فإنّ التحليل الطيفي لجزيئة النانو المتحصل عليها بينت وجود أطيف امتصاص محصورة في المجال ما بين 980 cm^{-1} و 700 cm^{-1} والذي يدل على وجود خصائص جزيئات أكسيد الزنك أما في ما يخص طيف الامتصاص 1650 cm^{-1} فهو يدل على وجود الوظيفة الكربوكسيلية C=O و C=C في الحلقة العطرية (Singha et al, 2016).

أظهرت الصور المجهرية الملتقطة للنانو الناتجة عن تركيب بواسطة المستخلص المائي و الزيت الطيار وجود تجمعات بأشكال مختلفة وبقياسات من رتبة النانو وهذا يثبت كم جهة أخرى قدرت المستخلصات النباتية على تكون مركبات نانوية لأكسيد الزنك كما يثبت أنّ الطريقة المنتهجة في تكوين هذه المركبات مكّنت من تفاعل المستخلصات لتكون أكسيد الزنك النانوي انطلاقاً من الوظيفة OH و CO والمتواجدة على مستوى المستخلصات النباتية (Senthilkumar et al, 2017). وما زاد تأكيد النتائج المتحصل عليها هو نتائج تحليل EDX والتي بينت وجود كل من جزيئات الأوكسجين (37%) والزنك (11%) والكربون (50%). بناءً على نتائج طيف الأشعة فوق البنفسجية UV-Vis المستخدمة في تحليل المستخلصات فقد بينت وجود طيف الامتصاص عند طول موجي يقدر بـ 347 بالنسبة لأكسيد الزنك النانوي الناتج من المستخلص المائي و 349 لأكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار وهذه الأطوال الموجية هي الأطوال الخاصة بأكسيد الزنك النانوي عند تحليله بواسطة تقنية UV-Vis (Bala et al, 2015).

ومن خلال النتائج التي توصلنا إليها من دراسة النشاطية المضادة للأوكسدة، أظهرت نتائج تثبيط جذر DPPH• أنّ قدرت تثبيط المستخلص المائي لنبات الضرو بـ ($169.61 \pm 9.35 \mu\text{g/mg}$) وكانت أقل من النتائج التي توصل إليها كل من (George et al, 2015) حيث تحسّل على ($387.6 \pm 16.8 \mu\text{g/mg}$).

وفي دراسة أخرى أجراها (Hemma et al, 2018) حيث استخدمت مستخلص ميثانولي وتحصلت على نتائج أفضل حيث قدرت بـ $(121 \pm 1 \mu\text{g}/\text{mg})$. وبالنسبة للزيت الطيار فقد أجرى (Chabha et al 2022) دراسة حول نفس النبات وأعطت نتائج زيت الطيار له نتيجة قدرت بـ $(440 \pm 10 \mu\text{g}/\text{mg})$ وهي أعلى بقليل مما توصلنا إليه $(358.53 \pm 15.73 \mu\text{g}/\text{mg})$ ، وفي حالة كل من أكسيد الزنك للمستخلص المائي وأكسيد الزنك للزيت الطيار فقد أعطيا نتائج ضعيفة للغاية. وفيما يتعلق باختبار FRAP فقد كانت نتائج المستخلص المائي أفضل مما تحصل عليه (George et al, 2015) حيث تحصل على $(510.3 \pm 6.6 \mu\text{g}/\text{mg})$ وتحصلنا في دراستنا هذه على $(318 \pm 7.2 \mu\text{g}/\text{mg})$ وأما في حالة الزيت الطيار فقد كانت النتائج المتحصل عليها (138.13 ± 8.41) وكان أكثر من نتائج (Djebari et al, 2021) حيث تحصل في دراسته على (1.41 ± 55.54) ، وفي حالة كل من أكسيد الزنك للمستخلص المائي وأكسيد الزنك للزيت الطيار فلا يوجد نشاطية. وفي اختبار β -carotene كانت نتائج المستخلص المائي $(83.33 \pm 6.17 \mu\text{g}/\text{mg})$ وهي مقارنة دراسة أجراها (Djidel, 2013) تحصل على $(91.12 \pm 3.64 \mu\text{g}/\text{mg})$ وكما كانت نتائج الزيت الطيار مقارنة للنتائج المذكورة سابقاً حيث قدرت بـ $(80.68 \pm 8.89 \mu\text{g}/\text{mg})$ وفيما يتعلق بأكسيد الزنك النانوي للمستخلص فقد كانت النتائج ضعيفة مقارنةً بالمستخلصات الأخرى حيث كانت وصلت نسبة التثبيط إلى 40% وفي أما أكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار كانت أضف نسبة وقدرت نسبة التثبيط بـ 20%.

أظهرت نتائج اختبار النشاطية المضادة للبكتيريا للمستخلص المائي نتائج ضعيفة على بكتيريا *Staphylococcus aureus* مقارنةً لما توصلت إليه (Benhammou, 2008) ففيها أعطى مستخلص الضرو قطر تثبيط يصل إلى 21.5 mm بينما يصل متوسط قطر التثبيط في الدراسة عند بكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 إلى $(10 \pm 1.15 \text{mm})$ ولاحظنا أنّ المستخلص المائي المدروس لم يقم بأي تأثير على بكتيريا *Escherichia coli* وأما المستخلص المائي أعطى تأثيراً مشابه للبكتيريا السابقة بمتوسط قطر يصل إلى 10 mm وفي دراسة أخرى توصل (Noushin, 2016) بالمستخلص الميثانولي لنبات الضرو على *Escherichia coli* إلى قطر تثبيط وصل إلى 17 mm. وفيما يتعلق بالنشاطية المضادة للبكتيريا للزيت الطيار لنبات الضرو فقد أعطى نتائج أعلى بقليل من مستخلص الدراسة المقارن بها، حيث وصل متوسط قطر التثبيط لدى البكتيريا *Escherichia coli* ATCC 8787 إلى $(15 \pm 6.11 \text{mm})$ وهو أعلى مما توصل إليه (Prokopios et al, 1999) حيث وصل قطر التثبيط إلى 10 mm، وعند البكتيريا *Staphylococcus aureus* فقد أعطى الزيت الطيار قطر تثبيط مماثل لما سبق هو 10 mm، والزيت الطيار في الدراسة قدم نتيجة مشابهة على بكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 تصل إلى $(10 \pm 5.19 \text{mm})$ ولاحظنا أنّ الزيت الطيار في الدراسة المقارن بها

لم يؤثر على *Pseudomonas aeruginosa* بينما قام الزيت الطيار لنبات الضرو في دراستنا بتثبيط قطر (15±5.03 mm) على بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* وكانت النتائج مقارنة مع (Faouzia et al, 2004). أعطت نتائج النانو أكسيد الزنك لمستخلص نبات الضرو نتائج ضعيفة مقارنة بالمستخلص المائي لهذا النبات، بينما مستخلص نانو الفضة لنبات الضرو أعطى نتائج أكبر حيث توصل (Ghadir and Abeer, 2011) عند البكتيريا *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* على حد سواء إلى قطر تثبيط يصل إلى 13 mm بينما نانو أكسيد الزنك للمستخلص قدم متوسط قطر تثبيط طوله (9±1.73 mm) عند *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ومتوسط قطر تثبيط يصل إلى (8±1 mm) عند البكتيريا *Escherichia coli*. وبالنسبة لأكسيد الزنك النانوي للزيت الطيار لنبات الضرو قدم نتائج أكبر من نتائج النانو أكسيد الزنك لمستخلص نبات الضرو. حيث ظهر متوسط قطر تثبيط يصل إلى (14.5±2.3 mm) عند البكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923، وكانت هذه النتيجة أعلى مما توصل إليه نانو الفضة لنبات الضرو من طرف (Ghadir and Abeer, 2011).

الخلاصة

الخلاصة

تهدف دراستنا إلى دراسة التأثير المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا من نبات الضرو *Pistacia lentiscus* L. وزيته الطيار المستخلص من الأوراق وتحضير جزيئات أكسيد الزنك النانوي منهما. حيث أبرزت اختبارات الكشف الكيميائي التي تم إجراؤها على العديد من مركبات الأيض الثانوي في أوراق هذا النبات وأظهرت غناه بالصابونين، القلويدات، الفلافونويد، والتانينات.

وتم القيام بالتقدير الكمي للمستخلص المائي لأوراق نبات الضرو لكل من الفينولات والتانينات والفونويدات. وتم الاستعانة بكل من تحليل HPLC/MS لتحليل المستخلص المائي حيث أظهر احتواؤه على 14 مركب من أهمها مركب Rutine، وتحليل GC/MS/FID للزيت الطيار لأوراق نبات الضرو وتحصلنا على 171 مركب من بينها 15 مركب ذو نسبة عالية.

بعدها تم تحضير نانو أكسيد الزنك من المستخلص المائي والزيت الطيار وإجراء تحاليل عليهما وتتمثل في UV-vis، XRD، SEM-EDS، FT-IR وأثبتت تشكل جزيئات النانو لكليهما.

وتم دراسة الأثر البيولوجي من ناحية النشاطية المضادة للأكسدة بثلاث طرق تتمثل في DPPH, FRAP, β -carotene وأظهرت النتائج فعالية لكل من الزيت الطيار والمستخلص المائي ونتائج ضعيفة عند المستخلصات النانوية لأكسيد الزنك. وبعدها تم التطرق إلى دراسة النشاطية المضادة للبكتيريا على 7 سلالات بكتيرية حيث أعطت كل منهم نتائج متفاوتة *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus hominis*.

من خلال هذه النتائج يمكن الاستنتاج أنّ دراسة النشاط البيولوجي للمستخلص المائي لنبات *Pistacia lentiscus* L. وزيت الطيار المستخلص من الأوراق وأكسيد الزنك النانوي للمستخلص والزيت الطيار تشير إلى أن هذا النبات يمثل مصدرًا واعدًا للمركبات الطبيعية التي لها أنشطة بيولوجية مهمة جدًا. ويمكن توسيع دراستنا هذه في المستقبل لتشمل:

- دراسة معمقة للأثر البيولوجي للمستخلصات النباتية لهذا النبات إضافةً إلى أكسيد الزنك النانوي مثل الدراسة المخبرية لآثاره المضاد للسكري، الاختبار المضاد لمرض الزهايمر، الاختبار المضاد للخلايا السرطانية.
- دراسة احيائية على أنماط مختلفة لحيوانات المخبر مثل فئران التجارب للتعرف على سمية جزيئات النانو.
- صنع أنواع أخرى من النانو من الفضة والمغنيزيوم انطلاقاً من هذه المستخلصات والزيوت الطيارة لنبات الضرو

قائمة المراجع العربية

- بوشعشوع راضية و عناب رميسة، 2021، مذكرة تخرج طور ماستر بعنوان "دراسة نظرية لتأثير بعض النباتات الطبية ونبته المريوة على التكاثر عند الثدييات"، ص08
- راندا عبد الحميد، 2022، مقال بعنوان: منافع عشبة الضررو.
- شويخ عاطف، 2020، محاضرات مقياس النباتات الطبية والعطرية، ص 13.
- هلور سارة، 2013، تحضير ودراسة الخصائص الفيزيائية للأنابيب النانومترية لأكسيد التيتانيوم، لنيل شهادة الماجستير في الفيزياء، ص15.
- يوسف العوضي، 2022، موضوع بحث شامل عن النانو تكنولوجيا، ص02.
- وئام رضا، 2022، مقال بعنوان: فوائد زيت الضررو وكيفية استعماله.

قائمة المراجع الأجنبية

- Amhamdi, Hassan, Fatima Aouinti, Jean Paul Wathelet, and Ali Elbachiri. "Chemical Composition of the Essential Oil of *Pistacia lentiscus* L. from Eastern Morocco." *Records of Natural Products* 3, no. 2 (2009).
- Arab, K., O. Bouchenak, and K. Yahiaoui. "Phytochemical study and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L." *Journal of Fundamental and Applied Sciences* 6.1 (2014): 77-91.
- Asquith, Thomas N., and Larry G. Butler. "Interactions of condensed tannins with selected proteins." *Phytochemistry* 25.7 (1986): 1591-1593.
- Bala, Niranjana, S. Saha, M. Chakraborty, M. Maiti, S. Das, R. Basu, and P. Nandy. "Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Hibiscus subdariffa leaf extract: effect of temperature on synthesis, anti-bacterial activity and anti-diabetic activity." *RSC Advances* 5, no. 7 (2015): 4993-5003.
- Bammou, Mohamed, Amine Daoudi, Ikram Slimani, Mariam Najem, E. H. Bouiamrine, J. Ibijbjen, and Laila Nassiri. "Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.»: Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien." *Journal of applied biosciences* 86 (2015): 7966-7975.
- Bechir And Hidja, 2020, Etude bibliographique sur *Pistacia lentiscus* L., Mémoire De Fin De Cycle En Vue De L'obtention Du Diplôme MASTER.
- Ben Douissa, Faouzia. Étude chimique et biologique de *Pistacia lentiscus* L. Diss. Université Joseph Fourier (Grenoble; 1971-2015), 2004.
- Benhammou, Nabila, F. Atik Bekkara, and Tatjana Kadifkova Panovska. "Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts." *African journal of pharmacy and pharmacology* 2.2 (2008): 022-028.
- Benkherara Salah, Bordjiba Ouahiba et DJAHRA Ali Boutlelis (2013). Action des principes actifs naturels d'une plante aromatique algérienne vis-à-vis des entérobactéries pathogènes. *Algerian Journal of Arid Environment*. vol. 3 : (2) : 15-23.
- Benkherara Salah, Bordjiba Ouahiba et DJAHRA Ali Boutlelis (2015). Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*. *Phytothérapie*. 13:14-18. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0925-3>

- Benkherara Salah, Bordjiba Ouahiba et DJAHRA Ali Boutlelis (2015). Phytochemical screening and biological activity of essential oils and flavonoïds of aromatic plant *Salvia officinalis* L. in north-eastern Algeria. *PhytoChem & BioSub Journal* Vol. 9 (2) : 39-48.
- Benkherara, Salah, Ouahiba Bordjiba, Samiha Harrat, and Ali Boutlelis Djahra. "Antidiabetic potential and chemical constituents of *Haloxylon scoparium* aerial part, an endemic plant from Southeastern Algeria." *International Journal of Secondary Metabolite* 8, no. 4 (2021): 398-413.
- Bordjiba, Samiha Harrat, Ali Boutlelis Djahra. (2021). Antidiabetic Potential and Chemical Constituents of *Haloxylon scoparium* Aerial Part, An Endemic Plant from Southeastern Algeria. *International Journal of Secondary Metabolite*.
- Botsaris, George, Antia Orphanides, Evgenia Yiannakou, Vassilis Gekas, and Vlasios Goulas. "Antioxidant and antimicrobial effects of *Pistacia lentiscus* L. extracts in pork sausages." *Food technology and biotechnology* 53, no. 4 (2015): 472-478.
- Bouacida Chaima, Brouk Sarra Bouguerra Roumaïssa, and Haloui Hadjer. "Activité antibactérienne de nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO)." (2022).
- Bougherara Merzougui Imène, 2015, Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait de *Pistacia Lentiscus* et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques., Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat 3ème cycle (LMD).
- Boutlelis, Djahra Ali. Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. Diss. Université Badji Mokhtar de Annaba, Département de Biologie, 2014.
- Bouzeraa Randa and Kherbouche Hiba, 2022, Activités biologiques de *Psidium guajava* L., Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de Master.
- Bozorgi, Mahbubeh, Zahra Memariani, Masumeh Mobli, Mohammad Hossein Salehi Surmaghi, Mohammad Reza Shams-Ardekani, and Roja Rahimi. "Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): a review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology." *The Scientific World Journal* 2013 (2013).

- Capek, I. "Chapter 1 Nanotechnology and nanomaterials." Studies in Interface Science; Nanocomposite Structures and Dispersions; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands 23 (2006): 1-69.
- Chebil, Latifa. Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia*: études cinétique, structurale et conformationnelle. Diss. Thèse en vue de l'obtention du grade de Docteur de l'institut national polytechnique de Lorraine. INPL, Nancy, 2006.
- Chhanda, Bhattacharyya, De Sarmishtha, Basak Ananya, Banerjee Maitreyee, Maitra Snigdha, and N. Samajpati. "Antimicrobial activities of some Basidiomycetous fungi." Journal of Mycopathological Research 44, no. 1 (2006): 129-135.
- Djahra Ali Boutlelis, Benkaddour Mounia, Benkherara Salah, Belkhalifa Hakim, Abdelkrim Rebiai, Ibtissam Laib, Benine Chaima, Ferhat Djemaa, Redouani Islam (2022). Bio-Synthesis of Zinc Nanoparticle Using *Helianthemum Lippii* L. Extract and Improving in Rats Their Hepatoprotective Effects against Carbon Tetrachloride Induced Liver Damage. Annals of the Romanian Society for Cell Biology 26 (01):1949-63.
- Djahra Ali Boutlelis, Benkaddour Mounia, Benkherara Salah, Shaib Inass, Laib Ibtissam, Benine Chaima, And Bdida Soumaya (2022). Phytochemical Profile, Antioxidant and Antibacterial Activities of *Ephedra alata* Extract against Pathogenic Bacteria. Journal of Complementary and Alternative Medical Research, 19(3), 16-23.
- DJAHRA Ali Boutlelis, BENKADDOUR Mounia, BENKHERARA Salah. (2020). Evaluation of antimicrobial activity of medicinal plant *Cotula cinerea* against pathogenic strains. PONTE International Scientific Researches Journal. Vol. 76 (4) : 316-322.
- DJAHRA Ali Boutlelis, BENKADDOUR Mounia, ZEGHIB Khaoula, BENKHERARA Salah, SHAIEB Inas, GHANIA Ahmed, BDIDA Soumaia. (2019). Biofungicide Activity of *Datura stramonium* Leaf Extract Against Phytopathogenic Fungi. International Journal of Biological and Agricultural Research. Vol. 2(1) : 1-5.
- DJAHRA Ali Boutlelis, BENKADDOUR Mounia, ZEGHIB khaoula, BENKHERARA Salah, OUALABI Katrenada, GHANIA Ahmed, JDIDI Khaoula (2018). Evaluation of total phenolic contents and Antioxidant potentials of ten medicinal plants from Algerian Sahara. International Journal of Biological and Agricultural Research. Vol 1(2) : 28-36.

- Djahra Ali Boutlelis, Lmhanat Iman, Benkaddour Mounia, Benkherara Salah, Laib Ibtissam, Benine Chaima, (2023). Traditional Herbal Remedies from Algeria for Treating Digestive Disorders. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 13(1):84-92.
- Djahra Ali Boutlelis, Zoubiri Fatia, Benkaddour Mounia, Gouasmia Soulaf. (2023). Antioxidant and Hepatoprotective Activity of Ephedra alata Extracts against Intoxication with Deltamethrin Pesticide in Male Rats. *Pharmacophore*. 14(1):19-24.
- Dob, Tahar, Dahmane Dahmane, and Chaabane Chelghoum. "Chemical composition of the essential oils of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria." *Journal of Essential Oil Research* 18.3 (2006): 335-338.
- Dranca, Florina, and Mircea Oroian. "Optimization of ultrasound-assisted extraction of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) from eggplant (*Solanum melongena* L.) peel." *Ultrasonics sonochemistry* 31 (2016): 637-646.
- Dranca, Florina, and Mircea Oroian. "Optimization of ultrasound-assisted extraction of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) from eggplant (*Solanum melongena* L.) peel." *Ultrasonics sonochemistry* 31 (2016): 637-646.
- Egbuonu, Anthony Cemaluk C. "Ukoha PO, Egbuonu, ACC, Obasi NL, Ejikeme PM (2011). Tannins and other phytochemicals of the *Samanea saman* pods and their antimicrobial activities." Available at SSRN 3965366 (2011).
- El-Chaghaby, Ghadir A., and Abeer F. Ahmad. "Biosynthesis of silver nanoparticles using *Pistacia lentiscus* leaves extract and investigation of their antimicrobial effect." *Oriental journal of chemistry* 27.3 (2011): 929.
- Eltwisy, Hala O., Medhat Abdel-Fattah, Amani M. Elsis, Mahmoud M. Omar, Ahmed Aly Abdelmoteleb, and Mohamed A. El-Mokhtar. "Pathogenesis of *Staphylococcus haemolyticus* on primary human skin fibroblast cells." *Virulence* 11, no. 1 (2020): 1142-1157.
- FAO, UNEP. "Maximize the production of goods and services of Mediterranean forest ecosystems in the context of global changes–Regional synthesis, June 2016."

- Fatima, Aouinti, Imelouane. "New study of the essential oil, mineral composition and antibacterial activity of *Pistacia lentiscus* L. from Eastern Morocco." *Research on Chemical Intermediates* 40 (2014): 2873-2886.
- Fatma ALIA, Atef CHOUIKH, Ali Boutlelis DJAHRA, Aida BOUSBIA BRAHIM, Sadok NANI, Ali TLIBA. (2021). Comparative study of some physicochemical and biological properties of effect host species variation on the relationship Saharan parasitic plant *Cistanche violaceae* (Desf.) Beck. *Notulae Scientia Biologicae*. Vol 13. N 04.
- Geetha, T. S., and N. Geetha. "Phytochemical screening, quantitative analysis of primary and secondary metabolites of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. leaves from Kodaikanal hills, Tamilnadu." *International Journal of pharmtech research* 6.2 (2014): 521-529.
- Gnanasangeetha And Thambavani S., An Assortment of Herbal Plants in the Fabrication of Zinc Oxide Nanoparticles, *International Journal of Green and Herbal Chemistry*, (2014), Vol.3, No.2, 771-783.
- Gul, Rahman, Syed Umer Jan, Syed Faridullah, Samiullah Sherani, and Nusrat Jahan. "Preliminary phytochemical screening, quantitative analysis of alkaloids, and antioxidant activity of crude plant extracts from *Ephedra intermedia* indigenous to Balochistan." *The Scientific World Journal* 2017 (2017).
- Gurcharan, Singh. "Plant systematics: an integrated approach." *Plant systematics: an integrated approach*. (2004).
- Hamimed, 2020, Caractérisation phytochimique des feuilles de *Pistacia lentiscus*, MEMOIRE Pour l'obtention du diplôme de Master en chimie
- Henk, J., E. Zwir, and L. Rik. "Caroténoïdes et flavonoïdes contre le stress oxydatif." *Arômes Ingrédients Additifs* 44 (2003): 42-45.
- Hossain, Mohammad Amzad, Khulood Ahmed Salim AL-Raqmi, Zawan Hamood Al-Mijizy, Afaf Mohammed Weli, and Qasim Al-Riyami. "Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown *Thymus vulgaris*." *Asian Pacific journal of tropical biomedicine* 3, no. 9 (2013): 705-710.
- Ibtissam LAIB, DJAHRA Ali Boutlelis, Ouafa BOUDEBIA. (2023). Green synthesis of silver nanoparticles using *Helianthemum lippii* extracts (HI-NPs): Characterization, antioxidant and antibacterial activities, and study of interaction with DNA. *Journal of Organometallic Chemistry*.

- Infectious Disease Epidemiology, Prevention and Control 651-201-5414 – TDD/TTY 651-201-5797
- Jalayer-Naderi, Noushin, Mohammad Niakan, and Maryam Mohamadi-Motlagh. "The antibacterial activity of methanolic *Anacyclus pyrethrum* and *Pistacia lentiscus* L. extract on *Escherichia coli*." Iranian journal of microbiology 8.6 (2016): 372.
- K. Zeghib, D. A. Boutlelis, S. Menai, M. Debouba. (2021). Protective effect of *Atriplex halimus* extract against benzene-induced haematotoxicity in rats.. Ukr. Biochem. J., 2021, Vol. 93, N 4. 66-76.
- Kajal Ahuja and Aarati Panchbai, , Nano Robotic Dentistry-Transforming Fiction into Reality., Journal of Research in Medical and Dental Science 2022, (2022), Vol 10, Issue 7, Page No: 042-046.
- Kancherla, Nagaraju, Anusha Dhakshinamoothi, K. Chitra, and Ravi Babu Komaram. "Preliminary Analysis of Phytoconstituents and Evaluation of Anthelmintic property of *Cayratia auriculata* (In vitro)." Maedica 14, no. 4 (2019): 350.
- Kavitha, K. S., Syed Baker, D. Rakshith, H. U. Kavitha, H. C. Yashwantha Rao, B. P. Harini, and S. Satish. "Plants as green source towards synthesis of nanoparticles." Int Res J Biol Sci 2, no. 6 (2013): 66-76.
- Khaldi, Sami. EVALUATION DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DE RHAPONTICUM ACAULE L. Diss.
- Koutsoudaki, Christina, Martin Krsek, and Alison Rodger. "Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus* Var. chia." Journal of agricultural and food chemistry 53.20 (2005): 7681-7685.
- Laguerre, Mickaël, Jérôme Lecomte, and Pierre Villeneuve. "Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges." Progress in lipid research 46.5 (2007): 244-282.
- Laib Ibtissam, Djahra Ali Boutlelis, (2022). Phytochemical investigation of *Helianthemum lippii* L. aerial Dum.Cours part and evaluation for its Antioxidant activities. International Journal of Secondary Metabolite. Vol. 9, No. 2, 229–237. Salah Benkherara, Ouahiba
- Li, Xiaoning, Sandra M. Robinson, Akash Gupta, Krishnendu Saha, Ziwen Jiang, Daniel F. Moyano, Ali Sahar, Margaret A. Riley, and Vincent M. Rotello. "Functional gold nanoparticles as potent antimicrobial agents

- against multi-drug-resistant bacteria." ACS nano 8, no. 10 (2014): 10682-10686.
- Liaqat, Humna, Kyeong Jin Kim, Soo-yeon Park, Sung Keun Jung, Sung Hee Park, Seokwon Lim, and Ji Yeon Kim. "Antioxidant effect of wheat germ extracts and their antilipidemic effect in palmitic acid-induced steatosis in hepg2 and 3t3-l1 cells." Foods 10, no. 5 (2021): 1061.
 - Lim, Ji Youn, Jang W. Yoon, and Carolyn J. Hovde. "A brief overview of *Escherichia coli* O157: H7 and its plasmid O157." Journal of microbiology and biotechnology 20.1 (2010): 5.
 - Magiatis, Prokopios, Eleni Melliou, Alexios-Leandros Skaltsounis, Ioanna B. Chinou, and Sofia Mitaku. "Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* var. chia." Planta medica 65, no. 08 (1999): 749-752.
 - Mharti, Fatima Zohra, Badiia Lyoussi, and Abdelfattah Abdellaoui. "Antibacterial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* used in Moroccan folkloric medicine." Natural product communications 6.10 (2011): 1934578X1100601024.
 - Milia, Egle, Simonetta Maria Bullitta, Giorgio Mastandrea, Barbora Szotáková, Aurélie Schoubben, Lenka Langhansová, Marina Quartu, Antonella Bortone, and Sigrun Eick. "Leaves and fruits preparations of *Pistacia lentiscus* L.: a review on the ethnopharmacological uses and implications in inflammation and infection." Antibiotics 10, no. 4 (2021): 425.
 - Mounia Benkaddour, Soraya Slimani, Imene Nedjeh, Mourad Bourouhou, Ali Boutlelis DJAHRA, Ali Ladjama and Mokhtar Boudelaa (2013). Effet du NaCl sur les paramètres physiologiques et les enzymes antioxydantes de blé dur *Triticum Durum*. Desf durant la croissance. European Journal of Scientific Research. Vol 108 (2) : 240-252.
 - Obouayeba, Abba Pacôme, Moussa Diarrassouba, Eric Francis Soumahin, and Tanoh Hilaire Kouakou. "Phytochemical analysis, purification and identification of Hibiscus anthocyanins." J Pharm Chem Biol Sci 3, no. 2 (2015): 156-68.
 - Pelt, J. M. "Les nouveaux actifs naturels." Ed., Marabout, Paris (2001).
 - Raj, L. F. A., and E. Jayalakshmy. "Biosynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using root extract of *Zingiber officinale*." Orient. J. Chem 31.1 (2015): 51-56.

- Rehana D., Mahendiran D., Senthil Kumar R., Kalilur Rahiman A., (2017), In vitro antioxidant and antidiabetic activities of zinc oxide nanoparticles synthesized using different plant extracts. *Bioproc. Biosyst. Eng.* 4: 943-957.
- Rezic, I. "Nanoparticles for Biomedical Application and Their Synthesis. *Polymers* 2022, 14, 4961." (2022).
- Saliha, D., Seddik, K., Djamila, A., Abdrrahmane, B., Lekhmici, A., & Noureddine, C., Antioxidant proprieties of *Pistacia lentiscus* L. leaves extracts. *Pharmacognosy Communications*, (2013). 3(2), 28.
- Salim, M. A., Ranjitkar, S., Hart, R., Khan, T., Ali, S., Kiran, C., ... & Xu, J. (2019). Regional trade of medicinal plants has facilitated the retention of traditional knowledge: case study in Gilgit-Baltistan Pakistan. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 15, 1-33.
- Sazon, Marnie. "Phytochemical Analysis, Sensory Evaluation And Acceptability Of Plant Leaves For Herbal Tea: Towards Intellectual Property Asset." *Journal of Pharmaceutical Negative Results* (2022): 622-641.
- Sehaki, Chabha, Nathalie Jullian, Elodie Choque, Rebecca Dauwe, Jean Xavier Fontaine, Roland Molinie, Fadila Ayati, Farida Fernane, and Eric Gontier. "Profiling of essential oils from the Leaves of *Pistacia lentiscus* Collected in the Algerian Region of Tizi-Ouzou: evidence of Chemical Variations Associated with climatic contrasts between Littoral and Mountain samples." *Molecules* 27, no. 13 (2022): 4148.
- Senthilkumar, N., Nandhakumar, E., Priya, P., Soni, D., Vimalan, M., & Potheher, I. V. (2017). Synthesis of ZnO nanoparticles using leaf extract of *Tectona grandis* (L.) and their anti-bacterial, anti-arthritic, anti-oxidant and in vitro cytotoxicity activities. *New Journal of Chemistry*, 41(18), 10347-10356.
- Singh, Ajey, N. B. Singh, Imtiyaz Hussain, Himani Singh, Vijaya Yadav, and S. C. Singh. "Green synthesis of nano zinc oxide and evaluation of its impact on germination and metabolic activity of *Solanum lycopersicum*." *Journal of Biotechnology* 233 (2016): 84-94.
- Sirelkhatim, Amna, Shahrom Mahmud, Azman Seeni, Noor Haida Mohamad Kaus, Ling Chuo Ann, Siti Khadijah Mohd Bakhori, Habsah Hasan, and Dasmawati Mohamad. "Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism." *Nano-micro letters* 7 (2015): 219-242.

- Takeuchi, Fumihiko, Shinya Watanabe, Tadashi Baba, Harumi Yuzawa, Teruyo Ito, Yuh Morimoto, Makoto Kuroda. "Whole-genome sequencing of *Staphylococcus haemolyticus* uncovers the extreme plasticity of its genome and the evolution of human-colonizing staphylococcal species." *Journal of bacteriology* 187, no. 21 (2005): 7292-7308.
- Tepal, Pelarut. "Phytochemical screening, total flavonoid and phenolic content assays of various solvent extracts of tepal of *Musa paradisiaca*." *Malaysian Journal of Analytical Sciences* 20.5 (2016): 1181-1190.
- Tlili, Mohammed Laid, and Chaima Benine. "Comparison of ultrasound and maceration methods on antioxidant and antimicrobial efficacy of phenolic compounds extracted from L. of Algeria." *Ovidius University Annals of Chemistry* 33.2: 121-128.
- Ulwali, Ruqayah A., Heba Kh Abbas, Noor Yasoob, and Hanan Abed Alwally. "Nanotechnology and the Most Important Characterization Techniques for Nanomaterial's: A Review." *NeuroQuantology* 19, no. 8 (2021): 42.
- Valot, Benoît, Christophe Guyeux, Julien Yves Rolland, Kamel Mazouzi, Xavier Bertrand, and Didier Hocquet. "What it takes to be a *Pseudomonas aeruginosa*? The core genome of the opportunistic pathogen updated." *PloS one* 10, no. 5 (2015): e0126468.
- Velumani, M., Thirupathi, G., Mohankumar, A., Kalaiselvi, D., Sundararaj, P., & Premasudha, P. (2022). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Cananga odorata* essential oil and its antibacterial efficacy in vitro and in vivo. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 262, 109448.
- Wilson, Mina G., and Shivlal Pandey. "*Pseudomonas aeruginosa*." *StatPearls* [Internet]. StatPearls Publishing, 2022.
- Woods, Donald E., and Barbara H. Iglewski. "Toxins of *Pseudomonas aeruginosa*: new perspectives." *Reviews of infectious diseases* 5.Supplement_4 (1983): S715-S722.
- Xia, En-Qin, Gui-Fang Deng, Ya-Jun Guo, and Hua-Bin Li. "Biological activities of polyphenols from grapes." *International journal of molecular sciences* 11, no. 2 (2010): 622-646.
- Xiao, Fan, Tao Xu, Baiyi Lu, and Ruihai Liu. "Guidelines for antioxidant assays for food components." *Food Frontiers* 1, no. 1 (2020): 60-69.

- Zaman, Saima. Synthesis of ZnO, CuO and their composite nanostructures for optoelectronics, sensing and catalytic applications. Diss. Linköping University Electronic Press, 2012.
- ZEGHIB Khaoula, DJAHRA Ali Boutlelis (2019). Protective role of aqueous extract of *Atriplex halimus* Laganist benzene-induced damage on renal function and glomerular cells in rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. Vol. 12 (3) : 387-392.
- ZEGHIB Khaoula, DJAHRA Ali Boutlelis (2020). Preventive and Curative Effects of *Atriplex Halimus* L. Aqueous Extract on Benzene Provoked Hepatic Injury in Rats. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. Vol. 10 (3) : 217-222.
- ZEGHIB Khaoula, DJAHRA Ali Boutlelis (2021). Food Additive (Sodium benzoate)-induced Damage on Renal Function and Glomerular Cells in Rats; Modulating Effect of Aqueous Extract of *Atriplex halimus* L. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* , 20 (1): 296-306.
- Zeghib, K., D. A. Boutlelis, S. Menai, and M. Debouba. "Protective effect of *Atriplex halimus* extract against benzene-induced haematotoxicity in rats." *Ukrainian Biochemical Journal* 93, no. 4 (2021): 66-76.
- Zhang, Donglin, and Yasunori Hamazu. "Phenolic compounds, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant properties of green, red and yellow bell peppers." *J. Food Agric. Environ* 1.2 (2003): 22-27.

المواقع الالكترونية

- Aiman Fatima, 2022, Microbial Culture Media- Definition, Types, Examples, Uses. <https://microbenotes.com/types-of-culture-media/>
- Cordis, Taking Nanotechnological Remediation Processes from Lab Scale to End User Applications for the Restoration of a Clean Environment, 2017, Date: 06/05/2023, <https://cordis.europa.eu/project/id/309517>
- Hüseyin Alagöz, 2021, Nanotechnology and renewable energy | Interview to Hüseyin Alagöz, <https://www.norvento.com/en/blog/nanotechnology-and-renewable-energy/>
- Kerry Taylor-Smith, 2020, How Does Nanotechnology Address Problems in the Environment?, <https://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=5597>
- OpenMapTiles, GBIF, 2023, Date: 10/03/2023 <https://www.gbif.org/species/3190583>
- *Pistacia lentiscus* L., Taxonomic, Date: 16/03/2023 https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506468#null
- WHO: World Health Organization, 2018. *E. coli*, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

الملحق



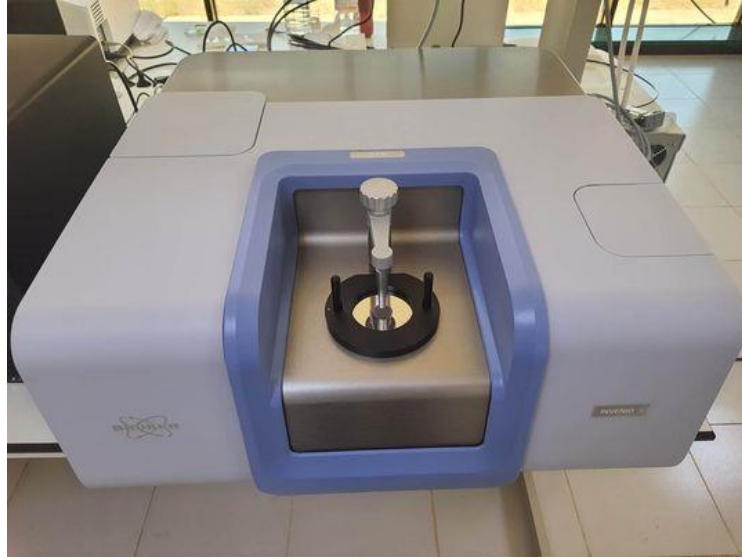
الشكل (22): جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC/MS (صورة أصلية)



الشكل (23): جهاز Energy Dispersive Spectroscopy (صورة أصلية)



الشكل (24): جهاز X-ray diffraction (صورة أصلية)



الشكل (25): جهاز FT-IR (صورة أصلية)



الشكل (26): جهاز UV-Vis (صورة أصلية)