



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة قاصدي مرباح ورقلة

كلية الرياضيات وعلوم المادة

قسم الكيمياء

رسالة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه في العلوم

تخصص: كيمياء عضوية تطبيقية

اعداد : عبادي عبد الرزاق

بعنوان

Extraction, composition, propriétés anti oxydantes et l'activité biologique de l'huile essentielle de *Ruta graveolens L*, *Brocchia cinerea* collectée dans les régions saharienne

نوقشت يوم : 2019/06/18

أمام اللجنة المكونة من :

رئيساً	أستاذ تعليم عالي بجامعة قاصدي مرباح ورقلة	أ. د . سعدي مختار
مشرفا ومقررا	أستاذ تعليم عالي بجامعة حمه لخضر الوادي	أ. د . العائز التهامي
مناقشة	أستاذة تعليم عالي بجامعة قاصدي مرباح ورقلة	أ. د . صالح نسرين
مناقشا	أستاذ تعليم عالي بجامعة حمه لخضر الوادي	أ. د . وهراني محمد رضا
مناقشا	أستاذ محاضر-أ. بجامعة حمه لخضر الوادي	د . ربيعي عبد الكريم
مناقشة	أستاذة محاضرة-أ. بجامعة قاصدي مرباح ورقلة	د . حمادة جميلة

العام الجامعي 2019/2018

الإهداء

إلى الذين يبحثون عما أودع الله تعالى في الطبيعة من وسائل نقية خالية من التلوث، ووضعها تحت تصرف الإنسان غذاء وكساء وشفاء.

إلى كل من عرفني من قريب أو من بعيد وأخص بالذكر:

الوالدين علي ومباركة رحمهما الله وأسكنهما فسيح جنانه.

الزوجة مريم رفيقة الدرب والأبناء رياض ويونس والزهراء وأنفال .

الإخوة محمد وعبد الغني وأحمد ورشيد والساسي والأختين الزهرة وفضيلة .

كل الأهل والأقارب من بعيد أو قريب .

إلى من أحب الخير ويعمل من أجل إعلاء كلمة الله .

إليهم جميعا أهدي ثمرة هذا الجهد

عبد الرزاق عبادي

شكر و عرفان

نحمد الله سبحانه وتعالى الذي وفقنا لإنجاز هذا العمل ونسأله الإستمرارية .
تم إنجاز هذا العمل في مخبر الموارد الصحراوية و تثمينها و
تكنولوجياتها (VTRS) وكذلك في مخبر تثمين وترقية الموارد الصحراوية لقسم
الكيمياء بجامعة قاصدي مرباح ورقلة (VPRS)
، ومركز البحث العلمي والتقني في التحليل الفيزيوكيميائي (CRAPC) ، وكذلك
مخبر الميكروبيولوجيا بالمدرسة العليا للأساتذة (ENS) بالقبة .
أقدم جزيل الشكر للأستاذ تهامي العانز ، أستاذ تعليم عالي بجامعة حمه لخضر
الذي لم يبخل علي بأي جهد لمساعدتي في انجاز هذا العمل وأقدر له كل الاحترام
وأمد الله الصحة والعافية .
كما أشكر الأستاذ المحترم مختار سعدي، أستاذ تعليم عالي بجامعة قاصدي مرباح
بورقلة رئيسا .
كما أشكر جزيل الشكر للأستاذة نسرين صالح، أستاذة تعليم عالي بجامعة قاصدي
مرباح بورقلة لتلبية الدعوة كونها مناقشة .
كذلك أشكر الأستاذ المحترم محمد رضا وهراني، أستاذ تعليم عالي بجامعة حمه
لخضر الذي يشرفنا بحضوره في مناقشة هذه المذكرة .
والشكر الموصول للأستاذة جميلة حمادة، أستاذة محاضرة-أ- بجامعة قاصدي مرباح
بورقلة لتلبية الدعوة كونها مناقشة .
كما أشكر جزيل الشكر للأستاذ عبد الكريم ربيعي، أستاذ محاضر-أ- بجامعة حمه
لخضر الوادي لتلبية الدعوة كونه مناقشا .
كما أشكر الأستاذ عبد الغني زيتوني ، أستاذ تعليم عالي بالمدرسة العليا للأساتذة
بالقبة على وقوفه معي في انجاز تجربة CMI.
كذلك أقدم الشكر لكل من المخبري علي طليبة والأستاذ بوراس اسماعيل على
وقوفهما معي في هذا العمل.

تم استخلاص ومعرفة التركيب الكيميائي والقدرة المضادة للتأكسد والنشاط البيولوجي لكل من

Ruta .G و *Brocchia.C* المأخوذة من المناطق الصحراوية.

المركبات الكيميائية للزيت الطيار لكل من *Ruta .G* و *Brocchia.C* للجزء الهوائي منهما ، تم

استخلاصهما بواسطة التقطير المائي بمردود 0.85 % و 0.73 % على الترتيب وتحليلهما بواسطة

الكروماتوغرافية الغازية المرتبطة بمطيافية الكتلة (GC/MS) تم التعرف على 25 مركب لكل منهما حيث

تمثل نسبة 91.99 % من المكونات الكلية للزيت الطيار لـ *Ruta .G* ، أما مكوناته السائدة تتمثل في:

. Nonanone<2-> (22.381%), Undecanone<2-> (21.711%), 2-Heptanol acetate (14.828%) ,

Camphor (9.629%), Acetylacetophenone<p-> (8.777%).

وتمثل نسبة 95.04% من المكونات الكلية للزيت الطيار لـ *Brocchia.C* ، أما مكوناته السائدة تتمثل في:

β -Thujone (32.01%), Isobornyl acetate (16%), Cineole< 1,8> (15.31%) % , Santalina triene

(9.35%) , Camphor (3.92%), Terpinen-4-ol (2.91%), p-cymene (2.27%) .

ثم تم التعرف عن الخصائص المضادة للتأكسد للزيت الطيار . واستخدمنا طريقة واحدة لتقدير النشاط

المضاد للتأكسد وهي طريقة تفخيخ الجذر الحر (DPPH) .

كما تبين أن للزيت الأساسي لكل من *Ruta .G* و *Brocchia.C* نشاط مضاد للتأكسد ضعيف إذا

ما قارناه بمضادات التأكسد التجارية مثل فيتامين E هذا من جهة ومن جهة أخرى تم تقدير الفاعلية

البيولوجيا لكل من الزيت الطيار للنبتين باختبار سلالات باستخدام التركيز الأدنى المثبط (CMI) .

الكلمات المفتاحية

Ruta .G ، *Brocchia.C* ، الزيت الأساسي ، الكروماتوغرافية الغازية المرتبطة بمطيافية الكتلة ، مضاد

التأكسد ، التركيز الأدنى المثبط .

Abstract

Extraction, composition, antioxidant properties and biological activity of the essential oil of *Ruta graveolens L*, *Brocchia cinerea* collected in the Saharan regions

The chemical compounds of the basic volatile oil from the aerial parts of *Ruta G* and *Brocchia.C* Were extracted by water distillation with a yield of 0.85% and 0.73%, respectively. They were analyzed by gas chromatography associated with mass spectrometry (GC / MS). A total of 25 compounds were identified, representing 91.99% of the total components of *Ruta G* oil. Its predominant components were:

Nonanone<2-> (22.381%), Undecanone<2-> (21.711%), 2-Heptanol acetate (14.828%) , Camphor (9.629%), Acetylacetophenone<p-> (8.777%).

These represented 95.04% of the total components of *Brocchia.C* volatile oil. Its predominant components were:

β -Thujone (32.01%), Isobornyl acetate (16%), Cineole< 1,8> (15.31%) % , Santalina triene (9.35%) , Camphor (3.92%), Terpinen-4-ol (2.91%), p-cymene (2.27%) .

After that, the antioxidant properties of the essential oil were examined . the antioxidant activity was investigated with one method : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging method.

It was found that the essential oil of *Ruta G* and *Brocchia.C* had a low antioxidant activity when compared with commercial antioxidants such as vitamin E. On the other hand, the biological efficiency of both volatile oils was assessed by testing strains using the lowest inhibitory concentration (CMI)).

Key words:

Ruta G, *Brocchia.C*, Essential oil, GC/MS, Antioxidant activity, CMI .

Résumé

Les compositions chimique de l'huile essentielle de base des parties aériennes de Ruta G et Brocchia.C extraite par distillation avait un rendement de 0,85% et 0,73%, respectivement. Elle était analysée par chromatographie en phase gazeuse associée à la spectrométrie de masse (GC / MS). Les 25 composés qui ont été identifiés, représentaient 91,99% du total des composants de l'huile de Ruta G. Les composants prédominants étaient:

. Nonanone<2-> (22.381%), Undecanone<2-> (21.711%), 2-Heptanol acetate (14.828%) , Camphor (9.629%), Acetylacetophenone<p-> (8.777%).

Ces composants représentaient 95,04% du total des composants de l'huile volatile de Brocchia.C. Ses composants prédominants étaient:

β -Thujone (32.01%), Isobornyl acetate (16%), Cineole< 1,8> (15.31%) % , Santalina triene (9.35%) , Camphor (3.92%), Terpinen-4-ol (2.91%), p-cymene (2.27%) .

Après, les propriétés antioxydantes de l'huile essentielle ont été examinées. L'activité anti-oxydante a été étudiée après avoir adopté une seule méthode: la méthode d'élimination des radicaux 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH).

L'huile essentielle de Ruta G et de Brocchia.C présentait une activité antioxydante faible par rapport aux antioxydants commerciaux, tels que la vitamine E. Par ailleurs, l'efficacité biologique des deux huiles volatiles a été évaluée en testant des souches en utilisant le facteur inhibiteur le plus faible concentration (CMI).

Mots clés

Ruta G, Brocchia.C, Huile essentielle , GC/MS, Activité antioxydante , CMI .

قائمة الاختصارات

الرمز (Symbole)	المعنى (Signification)
AT.C.C	American Type Culture Collection
C.U.R.Z.A	Collection de l'Unité de Recherche sur les Zones Arides (Alger).
C.I.P	Collection de l'Institut Pasteur de France.
C.I.N.R.R	Collection de l'Institut National de Recherche Agronomique Dijon,
N.R.RI	Northern Regional Center(U.S.A).
C.L.M	Collection du Laboratoire de Microbiologie de l'ENS de Kouba
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
GC/MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
RMN	Resonance Magnetic Nuclear
t_R	temps de rétention
ICN	Ionisation Chimique Négative
ICP	Ionisation Chimique Positive
IE	Ionisation Impact Electronique
SOD	Superoxide Dismutase
TBA	Thiobarbituric acid
SD	Steam Distillation
UV	Ultra Violet
TLC	Thin layer Chromatography
TBARS	Thiobarbituric Acid Reactive Substances
IR	Indice de Retention
ROS	Reactive oxygen species

d₂₀	Densité relative à 20 °C.
R	Rendement (%)
R_{HE}	Rendement en huile essentielle (%).
Ir	Indice de réfraction
Ie	Indice d'ester.
Ia	Indice d'acide.
α	Le pouvoir rotatoire
G+	Gram positive
G-	Gram négative
CMI	Concentration Minimale d'Inhibition
vit	vitamine
BHT	3,5 ditertiobutyl-4-hydroxytoluène
BHA	3-tertiobutyl-4hydroxyanisole
TBHQ	Tertio Butyl Hydroxy Quinone
PG	gallate de propyle
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
ORAC	Oxygen Radical Absorbant Capacity
MCC	minimum candidicidal concentration
MRSA	Methicillin-resistant Staphylococcus aureus
ATP	Adenosine Tri Phosphate
MH	Monoterpene hydrocarbon
MO	Oxygenated monoterpene
SH	Sesquiterpene hydrocarbon
CO	other compounds

قائمة الأشكال

الصفحة	عنوان الشكل	رقم الشكل
4	العلاقة ما بين الأيض الأولي والثانوي	1
7	VitaminA1 (Retinol)	2
8	وحدة الإيزوبرين (Isoprene)	3
9	β - Pinène	4
9	α - Pinène	5
9	Myrcene	6
9	Camphen	7
9	الانتقال من المونوتربينات الهيدروجينية إلى المونوتربينات الأكسجينية	8
10	Artemisine	9
10	Matricine	10
10	α -caryophyllene	11
10	Zingiberene	12
10	Guaiazulene	13
10	α - Cadinene	14
11	Phytol	15
11	Vitamine A	16
12	أنواع التربينات الثلاثية	17
12	β - Carotène	18
13	linalol	19
13	menthol	20
13	fenchol	21
13	neral	22
13	Citronellal	23
13	Citral	24
14	Menthone	25
14	carvone	26

14	camphre	27
14	thuyone	28
14	أنواع الأسترات	29
14	1,8-cineole	30
26	تفاعل أكسدة الليبيدات	31
27	أهم المركبات الفينولية المضادة للتأكسد الاصطناعية	32
28	الصيغة الكيميائية لفيتامين E	33
32	قرص المضاد الحيوي ذو تركيز CMI	34
41	السذاب <i>Ruta graveolens</i>	35
47	الشبحة <i>Brocchia Cinerea</i>	36
54	مخطط الاستخلاص بالتقطير المائي	37
55	جهاز التقطير المائي من نوع (Clevenger)	38
56	جهاز Micro-onde	39
60	تفاعل الجذر الحر DPPH مع مركب مضاد للتأكسد	40
61	علبة بتري بها الوسط المغذي والعينات	41
63	تغير المردود حسب طريقة الاستخلاص للزيت العطري لـ <i>Brocchia. C.</i>	42
63	تغير المردود حسب طريقة الاستخلاص للزيت العطري لـ <i>Ruta. G.</i>	43
65	تغير مردود الزيت الطيار لبعض أنواع جنس <i>Ruta</i>	44
66	تغير مردود الزيت الطيار لبعض أنواع جنس <i>Brocchia</i>	45
67	كروماتوغرام الزيت الطيار لنبته <i>Brocchia. C.</i> بواسطة GC-MS	46
69	العائلات الكيميائية المتواجدة في الزيت الطيار لـ <i>Brocchia. C.</i>	47
70	العائلات الكيميائية المتواجدة في الزيت الطيار لـ <i>Brocchia. C.</i>	48
70	كروماتوغرام الزيت الطيار لنبته <i>Ruta. G.</i> بواسطة GC-MS	49
73	العائلات الكيميائية المتواجدة في الزيت الطيار لـ <i>Ruta. G.</i>	50
74	الوظائف الكيميائية المتواجدة في الزيت الطيار لـ <i>Ruta. G.</i>	51
76	طيف الكتلة لـ β -Thujone	52
76	طيف الكتلة لـ Camphor	53
76	طيف الكتلة لـ 1-8-cineole	54
76	طيف الكتلة لـ santolina triene	55

77	طيف الكتلة لـ Isobornyl acetate	56
77	طيف الكتلة لـ Terpinen-4-ol	57
77	طيف الكتلة لـ p-cymene	58
80	طيف الكتلة لـ Nonanone<2->	59
80	طيف الكتلة لـ Nonanone<2->	60
80	طيف الكتلة لـ 2-Decanone	61
83	تأثير CMI لـ <i>Ruta.G</i>	62
83	تأثير CMI لـ <i>B. cinerea</i>	63
83	العينات بدون H.E	64
84	تركيب الجدار البكتيري	65

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
1	تقسيم التربينات	13
2	الأمراض التي تسببها الميكروبات المختبرة من طرف الزيت الطيار كمضاد حيوي لها	33
3	تغيرات النمط الكيميائي لجنس <i>Ruta</i>	36
4	تغيرات النمط الكيميائي لجنس <i>Brocchia</i>	43
5	CMI لمستخلص <i>Brocchia .C</i>	49
6	السمية الحادة لمستخلص <i>Brocchia .C</i>	50
7	النشاط المضاد للخمائر للزيت الأساسي لـ <i>Brocchia .C</i>	50
8	النشاط المضاد للبكتيريا للزيت الطيار لـ <i>Ruta. G</i>	52
9	مردود الزيت الطيار باختلاف طريقة الاستخلاص	62
10	مردود الزيت الطيار لبعض أنواع جنس <i>Ruta</i> المستخلص في بعض الدول وضواحي الوطن	64
11	مردود الزيت الطيار لبعض أنواع جنس <i>Brocchia</i> المستخلص في بعض الدول وضواحي الوطن	65
12	مكونات الزيت الطيار لـ <i>Brocchia .C</i>	67
13	الترتيب التنازلي للمكونات السبعة السائدة لـ <i>Brocchia .C</i> والتي تفوق نسبتها 2%	68
14	العائلات الكيميائية المتواجدة في الزيت الطيار لـ <i>Brocchia .C</i>	69
15	وظائف العائلات الكيميائية المتواجدة في الزيت الطيار لـ <i>Brocchia .C</i>	70
16	مكونات الزيت الطيار لـ <i>Ruta.G</i>	71
17	الترتيب التنازلي للمكونات الخمسة السائدة لـ <i>Ruta.G</i> والتي تفوق نسبتها 2%	72
18	العائلات الكيميائية المتواجدة في الزيت الطيار لـ <i>Ruta.G</i>	72
19	وظائف العائلات الكيميائية المتواجدة في الزيت الطيار لـ <i>Ruta.G</i>	73
20	النمط الكيميائي السائد لجنس <i>Brocchia</i> المتواجدة في انحاء الوطن والعالم	74
21	النمط الكيميائي السائد لجنس <i>Ruta.G</i> المتواجدة في انحاء الوطن والعالم	78
22	تغيرات نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة تركيز <i>B. cinerea</i>	81

81	تغيرات نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة تركيز <i>Ruta.G</i>	23
81	تغيرات نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة تركيز BHT و Vit. E	24
81	قيم التركيز الأدنى المثبط IC_{50} لكل من <i>B. cinerea</i> و المرجعين BHT و Vit E	25
82	قيم الخصائص الفيزيوكيميائية للزيت الطيار لكل من <i>Ruta.G</i> و <i>B. cinerea</i>	26
86	تقييم التركيز الأدنى المثبط (CMI) للزيت الطيار لـ <i>Ruta.G</i>	27
87	تقييم التركيز الأدنى المثبط (CMI) للزيت الطيار لـ <i>B. cinerea</i>	28

الفهرس

الصفحة	الموضوع
	الإهداء
	شكر و عرفان
	ملخص
	اختصارات
	قائمة الأشكال
	قائمة الجداول
	الفهرس
1	مقدمة عامة
الجزء النظري	
الفصل الأول: عموميات حول الزيوت الطيارة	
3	1-I. مقدمة
4	2-I. تعريف الزيوت العطرية
6	3-I. الخصائص الفيزيوكيميائية للزيوت الطيارة
7	4-I. تركيب الزيوت العطرية
7	1-4-I. التربينات
8	2-4-I. التركيب العام للتربينات
13	5-I. الوظائف الكيميائية للزيوت الطيارة
13	1-5-I. الكحولات
14	2-5-I. الألدهيدات
14	3-5-1-I. الكيتونات
14	4-5-I. الأسترات
15	5-5-I. الإيثيرات
15	6-5-I. البيروكسيدات
15	7-5-I. الفينولات
15	7-5-I. المركبات العطرية

15	8-5-I.مركبات أخرى
15	6-I.طرق استخلاص الزيوت العطرية
16	1-6-I.التقطير
17	2-6-I.الاستخلاص بواسطة مذيب عضوي طيار
17	3-6-I.الاستخلاص بالنقع
17	4-6-I.الاستخلاص من الأزهار
17	5-6-I.الاستخلاص بواسطة غاز CO2
18	6-6-I.الاستخلاص بواسطة جهاز الموجات الدقيقة
18	7-I.طرق التحليل
18	1-7-I.الكروماتوغرافيا الغازية
19	1-7-I-2.الكروماتوغرافيا الغازية المرتبطة بمطيافية الكتلة
20	8-I.سمية الزيوت الطيارة
	الفصل الثاني: مضادات التأكسد
21	1-II.القدرة المضادة للتأكسد
22	1-1-II.المركبات المضادة للتأكسد
22	2-1-II.تعريف الجذور الحرة
22	3-1-II.المركبات الأوكسجينية النشطة ROS
23	4-1-II.مكافحة الجذور الحرة
24	5-1-II.الليبيدات Lipids ودورها في الأكسدة
24	6-1-II.الأحماض الدهنية
25	7-1-II.تقسيم الليبيدات
25	8-1-II.الهيدروبيروكسيدات
26	9-1-II.مضادات التأكسد
26	10-1-II.استعمالات مضادات التأكسد
27	11-1-II.مضادات الأكسدة الطبيعية
28	12-1-II.إجهاد التأكسد
28	13-1-II.طرق تقويم النشاط المضاد للتأكسد
29	14-1-II.الإختبارات المستعملة في تقويم النشاط المضاد للتأكسد للزيوت الطيارة

	الفصل الثالث: النشاط البيولوجي
31	III-1. النشاط البيولوجي
31	III-1-1. المضادات الحيوية
34	III-1-2. البكتيريا
35	III-1-3. الخميرة
35	III-1-4. الفطر
	الفصل الرابع: الأعمال الخاصة بجنس <i>Ruta</i> و <i>Brocchia</i>
36	IV-1. جنس <i>Ruta</i>
36	IV-1-1. تعريف العائلة المركبة Rutaceae
36	IV-1-2. الزيوت الطيارة لجنس <i>Ruta</i>
41	IV-1-3. سذاب <i>Ruta graveolens</i>
43	IV-2. جنس <i>Brocchia</i> أو <i>Cotula</i>
43	IV-2-1. تعريف العائلة المركبة Asteraceae
43	IV-2-2. الزيوت الطيارة لجنس <i>Brocchia</i> أو <i>Cotula</i>
47	IV-2-3. الشيحة <i>Brocchia .C</i>
48	IV-3. القدرة المضادة للتأكسد لكل من <i>Brocchia .C</i> و <i>Ruta. G</i>
49	IV-4. النشاط المضادة للمكروبات لكل من <i>Brocchia .C</i> و <i>Ruta. G</i>
	IV-4-1. النشاط المضادة للمكروبات لـ <i>Brocchia .C</i>
51	IV-4-2. النشاط المضادة للمكروبات لـ <i>Ruta. G</i>
	الجزء العملي
	الفصل الخامس : أجهزة وطرق
53	V-1. مقدمة
53	V-2. الاستخلاص بواسطة التقطير المائي
55	V-3. الاستخلاص بواسطة التقطير المائي بإضافة حمض الفوسفوريك
56	V-4. الاستخلاص بواسطة جهاز الموجات الدقيقة
56	V-5. مردود الزيت الطيار
56	V-6. الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيت الطيار

56	V-6-1. الكثافة النوعية
57	V-6-2. القدرة الدورانية
57	V-6-3. قرينة الحموضة
58	V-6-4. قرينة الأستر
58	V-6-5. قرينة الإنكسار
59	V-7-7. تحليل الزيت الطيار: التحليل النوعي وشبه الكمي للزيت الطيار بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المرتبطة بمطيافية الكتلة CPG/SM/IE
59	V-7-1. التحليل النوعي وشبه الكمي للزيت الطيار بواسطة GC/MS
59	V-8. القدرة المضادة للتأكسد للزيت الطيار
60	V-9. النشاط المضاد للمكروبات بتقدير التركيز الأدنى المثبط CMI
	الفصل السادس : نتائج ومناقشة
62	VI-1. نتائج إستخلاص الزيت الطيار
62	VI-1-1. الخواص الطبيعية للزيت الطيار
62	VI-1-2. مردود الزيت الطيار
63	VI-1-3. تغير مردود الزيت الطيار لبعض أنواع جنس <i>Ruta</i> و <i>Brocchia</i> في العالم
63	VI-1-3-1: بالنسبة لجنس <i>Ruta</i>
65	VI-1-3-2: بالنسبة لجنس <i>Brocchia</i>
66	VI-1-3-3. بعض أسباب تغير مردود الزيت الطيار لبعض أنواع جنس <i>Ruta</i> و <i>Brocchia</i> في العالم
66	VI-2. تحليل الزيت الطيار لكل من <i>Brocchia .C</i> و <i>Ruta .G</i> بواسطة GC-MS
66	VI-2-1. تحليل الزيت الطيار لـ <i>Brocchia .C</i>
68	VI-1-2-1. تحليل نتائج الكروماتوغرافيا ومناقشتها
69	VI-2-1-2. العائلات الكيميائية لزيوت <i>Brocchia .C</i>
69	VI-2-1-3. الوظائف الكيميائية لـ <i>Brocchia .C</i>
70	VI-2-2. تحليل الزيت الطيار لـ <i>Ruta.G</i>
72	VI-2-2-1. تحليل نتائج الكروماتوغرافيا ومناقشتها

72	العائلات الكيمائية لزيت <i>Ruta.G</i> 2-2-2-VI
73	الوظائف الكيمائية لـ <i>Ruta.G</i> 3-2-2-VI
74	دراسة مقارنة للنتائج التحليلية 3-2-VI
74	دراسة مقارنة للنتائج التحليلية لـ <i>Brocchia .C</i> 1-3-2-VI
78	دراسة مقارنة للنتائج التحليلية لـ <i>Ruta.G</i> 1-3-2-VI
80	الخصائص الفيزيائية والكيمائية للزيت الطيار 4-VI
81	التعليق على النتائج 1-4- VI
81	القدرة المضادة للتأكسد 3-VI
82	نتائج نسبة التثبيط الـ DPPH بدلالة تركيز كل من <i>Ruta.G</i> و <i>B. cinerea</i> و Vit. E و BHT 1-3-VI
82	التعليق على النتائج: 2-3-VI
83	الخلاصة 3-3-VI
83	النشاط المضاد للميكروبات للزيت الطيار لـ <i>Ruta.G</i> و <i>B. cinerea</i> 5-VI
83	التعليق على النتائج 1-5-VI
85	الخلاصة 2-5-VI
88	خلاصة عامة وآفاق
	المراجع



المقدمة العامة

منذ أن وجد الإنسان في هذا الكون وجدت معه الأدوية والأمراض التي تصيبه بالرغم من أن هذا المخلوق يمتلك وسائل دفاعية هائلة، ومناعة قوية والتي مازالت لحد الآن محل اهتمام لدا العلماء ويجهلون سرها، ويحاولون كشف غموضها واصطناع ما يشابهها، فالمناعة والمقاومة هما بعض ما تزود به الجسم في معركته الدائمة مع المرض، فالكثير من الناس يصابون بالأمراض سنويا نتيجة لعدم تحكم وتنظيم للأطعمة التي يتناولها، مما يترتب عليه أعراض منها الإسهال أو ارتفاع في درجة الحرارة أو اضطرابات في الجهاز الهضمي التي تترتب عليه أعراض مرضية أخرى، فيبدأ الإنسان بالبحث عن هذه أسباب، ولكن في أغلب الأحيان فإن السبب الحقيقي يكمن في أمراض الغذاء الذي يتناوله الإنسان، لهذا السبب نجد أن الإنسان يستعمل المنكهات أو المضادات الحيوية أو مضادات التأكسد في المواد الغذائية، لكي يحافظ على هذه المواد من التعرض للميكروبات أو للتأكسد الناتج عن وجود المركبات العضوية المكونة لها وخاصة الأحماض الدهنية، حيث تفقد المادة الغذائية قيمتها من حيث الذوق والرائحة والفائدة الصحية لها خلال مدة الحفظ التي تكون نسبيا طويلة .

ومن أهم المركبات نستخدم المواد المضادة للتأكسد التي أخذت مكانة هامة في الصناعة الغذائية، فهي إما مواد مصنعة بالمخبر، وإما مواد أو مركبات طبيعية تستخلص من المادة النباتية أو الحيوانية، وذلك من أجل حماية صحة المستهلك التي أصبحت محل اهتمام المختصين .

ومضادات التأكسد الاصطناعية تعتبر حاليا مضررة لصحة الإنسان، لهذا أصبح الاهتمام أكثر بمضادات التأكسد الطبيعية لما تتمتع به من نشاط فعال ومميز وهو غير مضر بالصحة شرط أن تكون بنسب معقولة. وتعتبر النباتات ورغم اختلافها في العائلات مخزونا مهما للمركبات الكيميائية العديدة التي لها دور كبير من جهة في قتل أو تثبيط الميكروبات مثل البكتيريا والخمائر والفطر، ومن جهة أخرى كمضادات للتأكسد، ومنكهة للأغذية مثل الفيتامين Vit C .

تتمتع الجزائر بمساحات واسعة وبغطاء نباتي متنوع ومميز وجذاب بالمقارنة مع باقي دول حوض البحر الأبيض المتوسط، وتنوع مناخها وبيئتها منها السهول والهضاب والصحراء والتلال... الخ، لذلك تتميز بالعديد من الأنواع النباتية منها المحلي والإقليمي، وتم التعرف على *Ruta graveolens* و *cinerea*

Matthiola Livida و *Brocchia*

وركزنا دراستنا على *Ruta graveolens* التي تعرف بالسذاب و *Brocchia cinerea* التي تسمى شبيحة الإبل لاحتوائهما على الزيت الطيار.

ونظرا للاستعمالات الطبية والصيدلانية والغذائية الكبيرة للنبتين شجعنا لدراستهما علميا، وذلك من خلال تحديد التركيب الكيميائي، ومعرفة النشاط المضاد للتأكسد والفعالية البيولوجيا لزيتيهما الطيار، لاختبار صلاحية استعمالهما كحافظ للأغذية ومحسن لها، حيث قمنا باستخلاص الزيت الطيار لكل منهما وذلك باستعمال التقطير المائي، ثم فصلنا وحددنا مكونات هذا الزيت باستعمال طريقة والكروماتوغرافيا الغازية

المرتبطة بمطيافية الكتلة GC/MS، والخصائص الفيزيوكيميائية لكل زيت، ثم حددنا القدرة المضادة للتأكسد والنشاط البيولوجي لهما، حيث قسمنا المذكرة إلى جزء نظري وجزء عملي و هي:

الجزء النظري : يتمثل في الدراسة البيولوجية الجغرافية والتي قسمناها إلى أربع فصول.

حيث يشمل الفصل الأول عموميات حول الزيوت الطيارة، تعريفها، وخصائصها الفيزيوكيميائية، وتركيبها، وطرق استخلاصها، وطرق تحليلها، أما الفصل الثاني فيشمل مضادات التأكسد، تكلمنا عن القدرة المضادة للتأكسد ومن خلالها تعرفنا على الجذور الحرة وكيفية مكافحتها، والاختبارات المستعملة في تقويم النشاط المضاد للتأكسد، وفي الفصل الثالث تكلمنا عن المضادات الحيوية والمكروبات منها البكتيريا والخميرة والفطر، أما الفصل الرابع تطرقنا الأعمال الخاصة بجنس *Ruta* و *Brocchia* وفيها تكلمنا عن المادة النباتية و صفها و تصنيفها و استعمالاتها قديما و حديثا وأضرارها، والأعمال المنجزة .

الجزء العملي: ويحتوي على فصلين حيث الفصل الخامس المتمثل في أجهزة وطرق تناولنا فيه الشروط التجريبية، وخطوات العمل، والأجهزة المستعملة في كل من طرق الاستخلاص، وطرق التحليل، والخصائص الفيزيوكيميائية للزيت الطيار، والنشاط المضاد للتأكسد والبيولوجي. أما في الفصل السادس المتمثل في نتائج ومناقشة وفيه قمنا بحساب مردود استخلاص الزيت الطيار، وتحديد المركبات الكيميائية له، وتحديد الخصائص الفيزيوكيميائية، والقدرة المضادة للتأكسد، وكذلك التركيز الأدنى المثبط (CMI)، مع مناقشة كل النتائج السابقة.

الجزء النظري





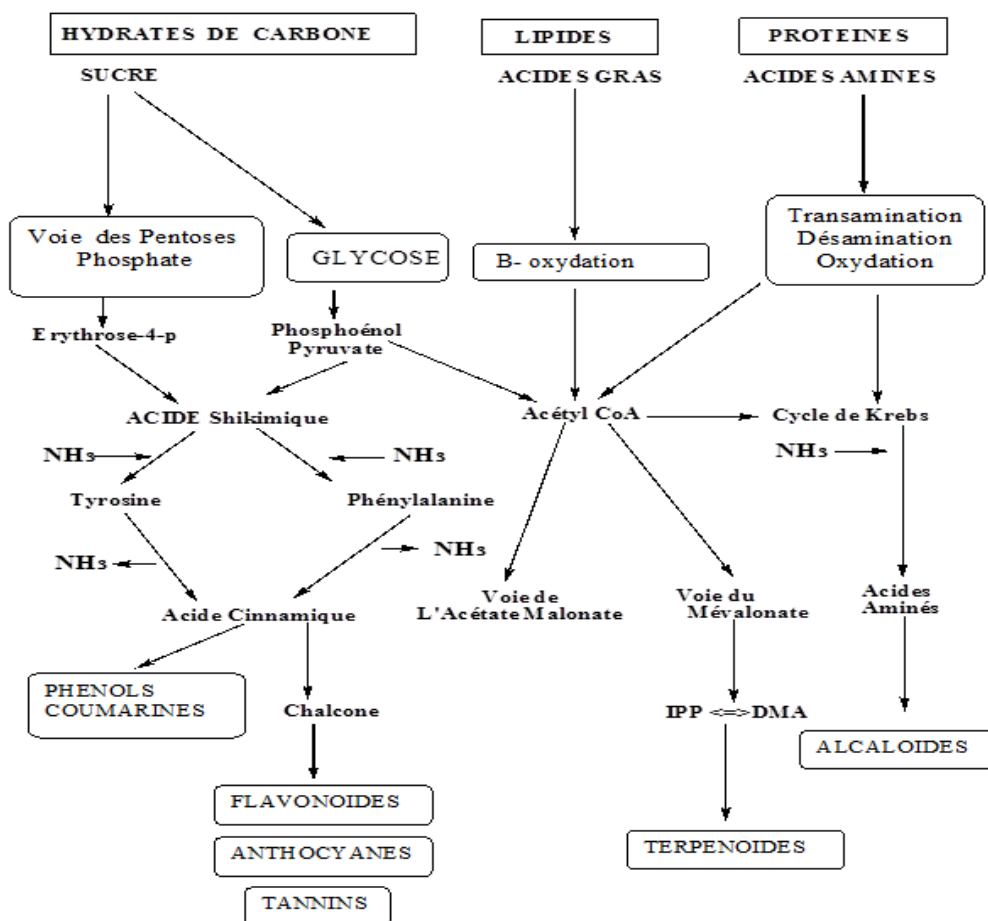
الفصل الأول: عموميات حول الزيوت الطيارة

إن للنباتات الطبية فوائد عديدة نظرا لاحتوائها على مواد كيميائية التي تؤثر فيزيولوجيا وبيولوجيا على جسم الإنسان والحيوان، وتتكون هذه المواد من النواتج الأولية للأبيض الأولي المتواجد في جميع الحالات لتصنيع الوحدات الأساسية للخلية من أحماض نووية وبروتينات وسكريات معقدة الخ... أو كنواتج ثانوية التي تتم بصورة طبيعية في الأنسجة النباتية والتي تسمى بالمنتجات الطبيعية المتمثلة في الفلافونويدات، التربينات، الفينولات، القلويدات، الستيرويدات، الدهون، التانينات والأحماض الراتنجية وكذا الكاروتينيدات، وهي من أهم المركبات المعروفة في الأبيض الثانوي [1،2] حيث أنها تملك خواص كيميائية وفيزيائية وبيولوجية مختلفة، لذلك فقد تبين أن لهذا الأبيض أهمية واسعة في العلاقات البيئية المختلفة [1،3].

بالرغم مما تقدمه العديد من المركبات المستخلصة من مصادرها الطبيعية من فوائد عظيمة للإنسان، إلا أن دورها في النبات لم يكن محددًا من قبل، غير أنه في السنوات الأخيرة تبين أن من ضمن وظائفها تأمين العيش لكائن حي معين في ظروف حياتية قاسية [4]. كما تعبر منتجات الأبيض الثانوي ذات خصائص علاجية متنوعة إذ تؤدي دورا كبيرا في ميدان الطب والصيدلة، لما لها من تأثيرات فيزيولوجية على الكائن الحي سيما الإنسان.

إن المواد الفعالة المستخلصة من النباتات الطبية أكثر فعالية من نفس المادة المصنعة مخبريا، علما أن النباتات الطبية تحتوي على أكثر من مادة فعالة تعمل مع بعضها البعض بشكل متوازن لعلاج الحالات المرضية، ويقولونا قديما أن النبتة إذا لم تنفع فإنها لا تضر باستثناء النباتات السامة، وهذا ما لا نجده في المركبات الدوائية المصنعة مخبريا، وأن العقاقير النباتية تحتوي على مواد غذائية وفيتامينات فضلا عن المكونات الفعالة، كما يخلو استعمال هذه العقاقير من الآثار الجانبية الضارة التي تصاحب استعمال الأدوية المصنعة كيميائيا، لذا اعتمدت في تحضير الكثير من الأدوية والعقاقير الطبية، وتمتاز الأدوية الشعبية بقوة وسرعة تأثيرها العلاجي وقلة كلفتها وسهولة تحضيرها، بينما يصعب تحضير بعض مواد النباتات الفعالة بالطرق الكيميائية، مع العلم أن النباتات الطبية متوفرة ومنشرة ويمكن غرسها بتكاليف بسيطة.

كما نشير إلى وجود علاقة تجمع بين الأبيض الأولي والثانوي [5] كما هي موضحة في الشكل (1).



الشكل-1.العلاقة بين الأيض الأولي والثانوي

I- 2. تعريف الزيوت العطرية

هي مزيج من مركبات مختلفة منحدره من أصل نباتي، تمر مع نسب من الماء وذلك بعد تقطير يجرى بتيار من بخار الماء [6] . هي منتجات الأيض الثانوي التي تنتج في عدة أماكن من الخلية وتخزن خاصة في الفجوات [7] ، لا يعرف لها دور فسيولوجي داخل النبات، ولها توزع غير متجانس تبعاً للنباتات وأحياناً تختلف من فرد إلى آخر في نفس النوع النباتي، وأخيراً تتميز بعبالة بيوكيميائية، حيث بمجرد إنتاجها من قبل النبات وتخزينها، من النادر أن تجدد نشاطها [8].

تعرف الجمعية النظامية (Association Française de Normalisation) الزيوت الأساسية كما يلي: الزيت الأساسي هو مركب متحصل عليه انطلاقاً من مادة أولية نباتية، سواء بواسطة التقطير ببخار الماء، أو بطريقة ميكانيكية انطلاقاً من قشور الحمضيات (èpicarpe de citrus) والذي يفصل فيما بعد عن المحلول بطرق فيزيائية [9،10] .

لقد دلت الدراسات على أن كثير من الزيوت الطيارة تصنع وتخزن في أوبار غدية، وتلك التي تنتجها أوراق بعض النباتات، تبعد عنها الحيوانات العاشبة، تحميها من الإصابات الفطرية الطفيلية والبكتيرية، بل إن بعض

الزيوت الطيارة المفرزة من الأزهار تجذب إليها الحشرات التي تساهم في عملية التلقيح ، كما أنها تثبط نمو الأعشاب الضارة [7] ، كما يعتقد أنها من فضلات الاستقلاب النباتي [11] .
 إن الزيوت الطيارة شائعة الوجود لدى النباتات العليا، ولكنها تتركز في المخروطيات (Conifères) ، وفي الفصائل السذابية (Rutacées) والكرفسية (Apiacées) والأسية (Myrtacées) والفاغرة (Lamiacées) (Asteracées) والنجمية (Lauracées) والغارية (Poacées) والزنجبيلية (Zingibaracées).

توجد الزيوت العطرية في غدد دقيقة في أحد أجزاء النباتات العطرية أو في أكثر من جزء: في الأوراق (الريحان) وفي الأزهار (الورد) وفي الثمار (الليمون) وفي البذور (الكزبرة) وفي الخشب (خشب الصندل) وفي المواد الراتنجية (Résine) (البخور- اللبان) وفي اللحاء (القرفة) وفي الجذور (السعد) وتتبخر هذه الزيوت بالحرارة فتشكل حول الشجرة هالة واقية يبدو أنها تكافح البكتيريا والفطريات والآفات الحشرية كما أنها تعمل كمصد واق من التغيرات القصوى في درجات الحرارة [205] .

لقد تم إحصاء حوالي 50 فصيلة نباتية على الأقل، تنتج زيوتاً طيارة. ومن حيث وجودها داخل النبات [12]، لوحظ وجودها في النهايات الزهرية وفي الأزهار وفي الأوراق وفي القشور وفي الجذور وفي الثمار والبذور [13، 14] ، فهي لا توجد فقط في الأنسجة الخضرية فحسب، ولكن أيضا في غدد زهرية [15]. وأنه بمجرد الإزهار تبدأ كميات الزيوت الطيارة في التناقص على مستوى الأجزاء الخضراء من النبات [16] . تعرف بأنها الزيوت التي تتبخر أو تتطاير دون أن تتحلل وهذا ما يميزها عن الزيوت الثابتة حيث أن هذه الأخيرة لا تتطاير ، وإذا عرضت للتبخير أو التسخين فإنها تتحلل ، ويطلق عليها الزيوت العطرية Aromatic Oils لرائحتها العطرية أو الزيوت الإيثيرية لذوبانها في الإيثر كما تسمى بالزيوت الأساسية Essential Oils [206] .

في داخل النبات، تصنع النواة الأساسية للزيوت الطيارة، وهي الأيزوبرين (isoprène) الظاهر في الشكل 3 ، في الصانعات الخضراء مباشرة بعد تحول ثاني أكسيد الكربون الى مركبات عضوية بواسطة التركيب الضوئي، وخاصة في الأيام شديدة الحرارة كوسيلة من وسائل التكيف [7]. توجد الزيوت الطيارة في مختلف الأعضاء داخل النبات، وإجمالا، وحسب ما أورده كل مؤلف، فهي تنتج وتخزن في تراكيب نسيجية خاصة، عادة ما تكون متوضعة على مقربة من الجزء الخارجي للنبات، خلايا للزيوت، جيوب مفرزة، قنيات إفرازية وممرات زيتية [12، 17، 18].

للكثير من العوامل تأثير على التركيب الكيميائي للزيوت وكميات انتاجها، كالحرارة والرطوبة [19، 20] والارتفاع عن سطح البحر والموقع [21، 22] أو طبيعة التربة التي ينمو فيها النبات [22، 23، 24] .

I- 3. الخصائص الفيزيائية للزيوت الطيارة

- ❖ تكون الزيوت العطرية في حالة سائلة في درجات الحرارة العادية، كثافتها عموماً أقل من كثافة الماء ولها قرينة انكسار مرتفعة ومعظمها يحرف الضوء المستقطب.
- ❖ إن تخفيف الزيت العطري المتحصل عليه يعطي رائحة شبيهة برائحة الجزء من النباتات المستخرج منه هذا الزيت، وتحتوي الكثير من الزيوت العطرية على مركبات تربينية سهلة التأكسد والتجمع، مما يؤدي إلى تكوين راتنجيات ذات رائحة شبيهة بالتربينتين، وتكون الزيوت العطرية عديمة اللون أو مصفرة قليلاً، وخصوصاً عقب تقطيرها مباشرة، غير أنها قد تأخذ لونا أحمر أو أخضر بتأثير المواد الغريبة التي قد توجد بها، و يدكن اللون عادة بطول مدة التخزين.
- ❖ إن جميع الزيوت العطرية تتطاير في درجة الحرارة العادية، وتتبخر تماماً بالتسخين، وهذا ما يميزها عن الزيوت الثابتة. وجميع الزيوت الطيارة تذوب بسهولة في الكحول وبدرجة أقل في محلول الكحول المائي خصوصاً عندما تكون الزيوت محتوية على نسبة مرتفعة من التربينات، وبدرجة ضعيفة في الماء والكحول المخفف، وترتفع درجة ذوبان الزيت العطري في المحلول السكري عنها في الماء [25].
- ❖ يتغير لون الزيوت الطيارة وتسوء رائحتها وتزداد لزوجتها وتصبح مادة راتنجية عديمة الرائحة إذا تعرضت للهواء، ويساعد الضوء على سرعة هذا التفاعل، وهي سريعة الاحتراق والالتهاب.
- ❖ يجمع الباحثون على أن جملة من الصفات الفيزيائية تميز الزيوت الطيارة [14، 26] الزيوت الطيارة مكونة من مركبات لا قطبية ومركبات قطبية تعطي الزيت الرائحة والمذاق والنشاط، لا تحتوي على أحماض دهنية ولا أملاح معدنية، ولا تترك أثراً على الورق بعد تطايرها.
- ❖ الغالبية العظمى من هذه الزيوت تتميز برائحتها العطرة ونكهتها الجيدة، لاحتوائها على مركبات ذات أوزان جزيئية صغيرة وسريعة التطاير في درجة الحرارة العادية مثل الألدهيدات والكحولات والكيثونات والأسترات.
- ❖ عادة ما تكون عديمة اللون أو مصفرة شاحبة، زرقاء مخضرة، وتتحول إلى اللون الأصفر عن طريق التأكسد، معظم الزيوت الطيارة سائلة تحت درجة الحرارة الغرفة، والقليل منها يتجمد بين 5°C إلى 8°C ، أو تنصهر تحت ظروف الحرارة المرتفعة بين 17°C إلى 19°C .
- ❖ كثافتها النوعية أقل من 1، ما عدا زيوت القرفة والقرنفل التي كثافتها أكبر من 1، مما يعطي مؤشر على أنها مكونة من مركبات ذات حلقات عديدة.
- ❖ لها معامل انكسار عال جداً يتراوح بين 1.45 و 1.69 مقارنة مع الماء الذي يساوي 1.333 في درجة الحرارة العادية 20°C .
- ❖ لكثير من الزيوت الطيارة خاصية الدوران الضوئي، مما يساعد على معرفة المغشوش منها. مثل الدوران الضوئي للبابونج 1° إلى 4° وللقرنفل 0 إلى 1° .

❖ قليلة الذوبان في الماء، تذوب في المذيبات العضوية والزيوت الثابتة، تتأكسد بسهولة في الضوء وتميل الى التبلر مشكلة مركبات صمغية، ونتيجة لذلك تتغير بعض خصائصها الفيزيائية كالرائحة ودرجة الغليان والذوبانية .

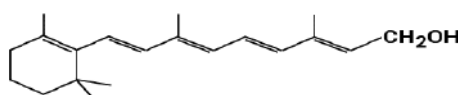
I-4. تركيب الزيوت العطرية

الزيوت العطرية هي عبارة عن خلائط معقدة من مختلف المكونات بتراكيز مختلفة ومحددة تنتمي رئيسيا إلى مجموعتين مميزتين للمصادر الحيوية المختلفة هما: التربينويدات والتي يتم اصطناعها الحيوي انطلاقا من حمض الميفالونيك والعطريات بواسطة حمض السكسينيك، إلا أنها لا تنحصر في هذين النوعين [27] . كما يمكنها أن تحتوي على مركبات ناتجة عن عملية الهدم [14، 26]. ويتغير التركيب الكيميائي تبعاً للنبات (النوع والعضو)، وطريقة الاستخلاص ومدة التسخين [26]، وأن للزيوت الطيارة عدة صفات كيميائية منها دليل الحموضة ودليل التصبن ودليل الأستر ودليل اليود .

إن جميع الزيوت العطرية عبارة عن مخاليط معقدة لعدة مركبات، لكنها تتكون أساسا من قسمين أحدهما هو الهيدروكربون الذي يكون الجزء الأساسي للزيت العطري، والآخر عبارة عن مركبات أكسجينية. وهذه المكونات الأكسجينية تتبع أي مجموعة عضوية من الأحماض والكحولات والاسترات والألدهيدات والكيونات والايثيرات، وقد تتضمن هذه المكونات أيضا مركبات كبريتية أو نتروجينية بنسب ضئيلة، غير أن هذه الكميات الضئيلة تؤثر في رائحة ونكهة الزيت العطري بشكل ملحوظ، مثال ذلك عصير الأناناس الذي تتأثر نكهته إلى حد كبير بوجود آثار ضئيلة من الاستر الايثيلي للمركب Methyl-B-thiopropionic acid والجزء الهيدروكربوني في الزيت العطري أساسه التربينات [3، 206] .

I-4-1. التربينات Terpenes

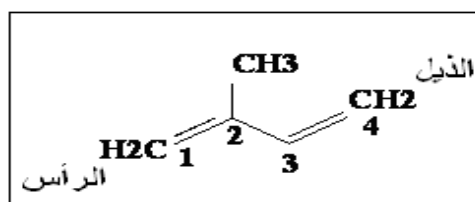
هي منتجات طبيعية توجد في أجزاء مختلفة من النبات وتمثل النسبة الكبيرة من منتجات الأيض الثانوي ولها رائحة زكية مميزة لكثير من النباتات، وقد اشتق اسم التربينات من المركبات التي أمكن فصلها من زيت التربينتين Turpentine [28] ، ومعظم التربينات عبارة عن زيوت طيارة يتم فصلها من النباتات ، وأهمية التربينات كأهمية الزيوت العطرية من الناحية الصناعية والعلمية، وبعضها يلعب دورا هاما في حياتنا اليومية، مثل فيتامين A1 وهو من التربينات ويؤدي نقصه في الجسم إلى ضعف الإبصار عند الإنسان [207] .



الشكل-2: (Retinol) Vitamin A1

I -4-2. التركيب العام للتربينات

يرجع الفضل لمعرفة التربينات إلى الدراسات الكبيرة التي قام بها العالم Owflach من جامعة جوتنجن بألمانيا، حيث أوضح في عام 1877م أن التربينات تعود إلى عدد الوحدات الإيزوبرينية (Isoprene)، إذ أن كل وحدة إيزوبرين هي خماسية الكربون (2-ميثيل بيوتا-1-3ديين) متصلة ببعضها البعض، بحيث ترتبط رأس كل وحدة إيزوبرين أي (C1) بذيل الوحدة الثانية (C4) وهكذا كما هو موضح في الشكل (3) [3].



الشكل-3. وحدة الإيزوبرين (Isoprene)

وهي مركبات عديدة، توجد خاصة في خاصة لدى النباتات، وحتى الحيوانات والبكتيريا، وقد تم التعرف على أكثر من 22000 مركبا [7].

تنقسم التربينات إلى عدة أقسام حسب عدد الوحدات الإيزوبرينية التي تدخل في تكوين هيكلها الكربونية، كما هو موضح في الجدول (1) الذي يوضح أنواع التربينات [1، 3]، وكل نوع من أنواع هذه التربينات إما أن يكون هيدروكربون مفتوح أو حلقي وبعضها يحتوي على بعض المجموعات الوظيفية مثل مجموعتي الهيدروكسي أو مجموعة الكربونيل.

أ/- التربينات الأحادية (المونوتربينات) Monoterpens

تعتبر المونوتربينات أكثر الأنواع التربينية انتشارا في المملكة النباتية [29]، وهي مركبات تتكون من وحدتي إيزوبرين، وقد تكون هيدروكربونات فقط لا تحتوي على مجموعة وظيفية سواء رابطة أو أكثر من الروابط الثنائية، وبعضها يحتوي على مجموعة الهيدروكسي أو الألدريد أو الكتون [3]. صيغتها الجزيئية $C_{10}H_{16}$ ، وهي تتكون من وحدتين إيزوبرين أي وهي مركبات طيارة لها الرائحة الزكية التي تتميز بها الكثير من النباتات، وأيضا لها أهميتها التجارية لأنها تستخدم في العطور وبعضها يستخدم في المجال الطبي وفي أغراض أخرى مختلفة، وتم التعرف على أكثر من 1000 منها [14].

أما بالنسبة للنبات ذاته فيعتقد أنها تلعب دورا تنافريا اتجاه الأحياء التي تأكلها مثل الحشرات أو الإوز الذي لا يأكل أوراق النعناع، وكذلك الحيوانات المجترة لا تأكل أوراق الأشجار الغرائية بسبب وجود تربينات أحادية مثل: البينين، كما تلعب دورا جذابا للحشرات لإتمام عملية التلقيح. ومن أهم المركبات المونوتربينية الأحادية الحلقة نجد ال- Limonene، أما المونوتربينات الثنائية الحلقة فهي واسعة الانتشار بمقادير معتبرة

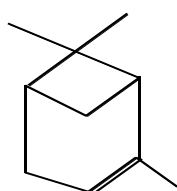
أهمها: Camphene، β -pinene، α -pinene [30]، ويمكن أن تكون غير حلقيّة مثل Myrcene، أو ثلاثيّة الحلقات مثل Tresantalol [17].

وتوجد المونوتربينات الكحولية والألدهيدية في الزيوت الطيارة ذات الرائحة، مثلاً يحتوي زيت الورد على Geraniol بنسبة 40-60% و Citronelol بنسبة 20-40%، أما المونوتربينات الثنائيّة الحلقيّة فهي واسعة الانتشار في النباتات، وهي متوفرة بأعداد كبيرة ويمكن تقسيمها حسب الهيكل الكربوني للهيدروكربونات إلى أربع مجموعات:

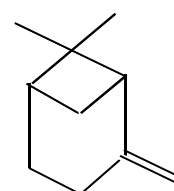
1* مجموعة الثوجان Thujene، 2* مجموعة الكاران Carene

3* مجموعة البايينين Pinene، 4* مجموعة الكامفان Camphene

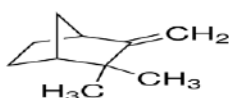
وتوجد المشتقات من نوع Thujene و Carene في زيت خشب الأرز (Cedar) والعترة (Majoram) وهو نبات عطري من الفصيلة الشفوية، والكزبرة (Cardamon) وكذلك الثوجا وهو عشب إفريقي، أما أهم مصدر للـ Pinene فهو زيت التربنتين الخام، والذي يمكن الحصول عليه من لحاء أشجار الصنوبر وتقطير الكتل الخشبية لأشجار الصنوبر.



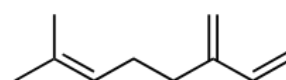
الشكل-5: α - Pinène



الشكل-4: β - Pinène

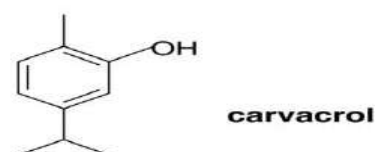
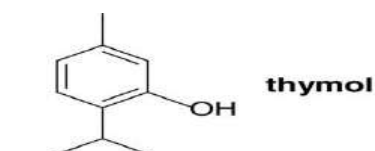
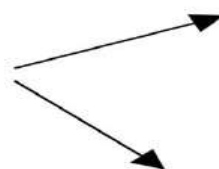
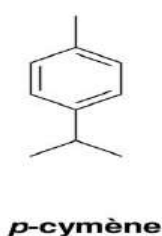
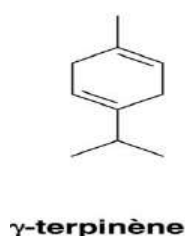


الشكل-7: Camphen



الشكل-6: Myrcene

ويمكن أن نتحصل على المونوتربينات الأوكسيجينية انطلاقاً من المونوتربينات الهيدروجينية كما هو موضح في الشكل التالي:

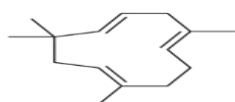
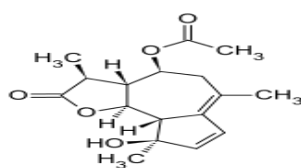


الشكل 8. الانتقال من المونوتربينات الهيدروجينية إلى المونوتربينات الأوكسيجينية [32،31]

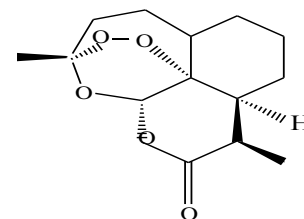
ب- التربينات النصف ثلاثية Sesquiterpens

وهي التي يفوق عددها 2500 جزيئة مكونة من ثلاثة وحدات من الإيزوبرين، أي كل منها يحتوي على 15 ذرة كربون (C_{15})، صيغتها المجملية $C_{15}H_{24}$ وهي مركبات هشة. والتربينات النصف ثلاثية ثنائية الحلقة تقسم عادة إلى صنفين حسب الهيكل الكربوني لها، حيث تتميز المجموعة الأولى بأنها تعطي كادالين (Cadalin) عند أرومتها بينما تعطي المجموعة الثانية عند أرومتها أودالين (1-ميثيل-6-إيزوبروبايل نفتالين (1-Methyl-6-Isopropyl Naphthalene) ومن بين أمثلة النوع الأول التربين المعروف باسم كادينين Cadinene، ومن أمثلة النوع الثاني التربين المعروف باسم سيلينين الذي يتواجد في زيت الكرفس. وهناك صنف ثالث من التربينات النصف ثلاثية ثنائية الحلقة تعطي عند أرومتها مشتقات الإيزوبرين ومن أمثلتها التربين المعروف باسم زيرون Zierone السدران الذي يتواجد في زيت السدر. كما تتشكل (C_{15}) في بنى مختلفة فقد تكون مفتوحة مثل farnesol أو حلقيّة، أحادية Cadinene، zingiberene، ثنائية cadinene، guaiazulene أو ثلاثية الحلقة مثل matricine وتعد الأحادية الحلقة أكثر انتشارا في الطبيعة وتوجد على هيئة سيسكتربينات لاکتونية، يمكن تواجدها في الزيوت الطيارة [33].

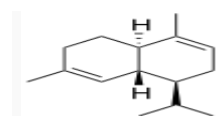
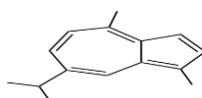
إن معظم سيسكتربينات اللاكتونية شديدة المرارة والكثير منها سام، وهذه الخصائص توحى بأنها تتضمن حماية ضد آكلات الأعشاب والطفيليات النباتي باستثناء مشتقات Artemisine الذي لا يستعمل في الإستطباب المعاصر سيسكتربينات اللاكتونية، ولا يحتفظ إلا بعدد قليل من الأدوية ذات الأساس سيسكتريني اللاكتوني. وإن كان الطب الشعبي والتداوي بالأعشاب يستعيان ببعض العقاقير ذات المواد المرّة، فإنه لا شيء يثبت على الأقل بالنسبة لبعضها إن النجاعة المنسوبة لها مردها لوجود هذا النمط من المكونات في تركيبها، ورغم ذلك فالفائدة الكامنة للسيسكتربينات أبعد من أن تكون مهمة وهو المنطق الذي يتماشى وأهمية فعاليتها. غير أن مشتقات مصنعة مشابهة لـ Artemisine أثبتت فعاليتها وأدت تجربتها السريرية لنتائج مرضية.

الشكل -11- α -caryophyllene

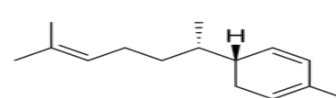
الشكل-10: Matricine



الشكل-9: Artemisine

الشكل-14: α -Cadinene

الشكل-13: Guaiazulene

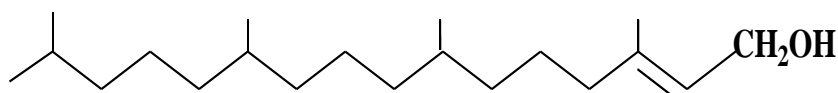


الشكل-12: Zingiberene

ومما تجدر ملاحظته بهذا الخصوص أن وجود السمية والفعالية معا لا يعني بوجه من الوجوه وجود تناقض.

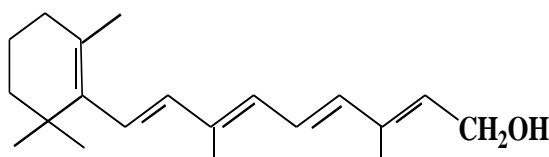
ج- التربينات الثنائية Diterpens

تحتوي كل من هذه التربينات على 20 ذرة كربون التي تقابل أربع وحدات إيزوبرين معظمها مواد صلبة وقد تكون هذه التربينات مركبات مفتوحة ومن أمثلتها الفيتول (*Phytol*) الذي ينحل في تركيب الكلوروفيل، وقد تكون ذات صيغ حلقية؛ إما أحادية أو ثنائية أو حتى رباعية الحلقة، ويتم فصلها من فصائل نباتية مختلفة، إلا أن معظمها يتمركز في نباتات الفصيلة الشفوية، مثل أنواع كل من نبات الجعدة (*teucrium polium*) ونبات السدر، ومن أمثلة التربينات الثنائية الحلقة هو فيتامين A الذي يوجد في نبات البقدونس (*Petroselinum crispum*).



الشكل-15: لـ Phytol

كما يدخل الـ Phytol في تركيب E، K، أما الفيتامين A له الصيغة الكيميائية التالية:

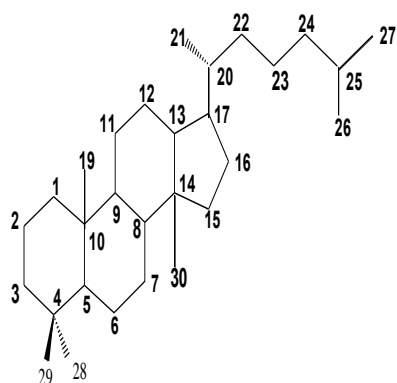


الشكل-16: لـ Vitamine A

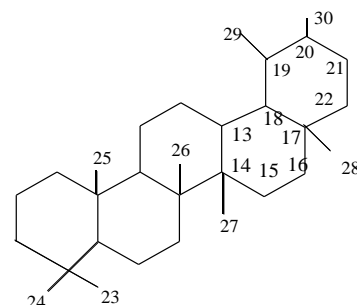
د- التربينات الثلاثية Triterpens

ومن أمثلتها المركب المعروف باسم سكوالين *squalene* ، والذي يمثل المركب الأم لمختلف التربينات الثلاثية والذي يتواجد بكمية كبيرة في زيت كبد القرش ويعتبر هذا التربين اللبنة الأساسية المكونة للكولسترول .

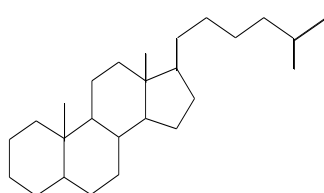
تتكون التربينات الثلاثية من ست (6) وحدات إيزوبرين (C_{30}) وهي مركبات عديمة اللون صلبة أغلبها ينصهر عند الدرجة حرارة عالية، وهي مواد فعالة ضوئيا (متعدد المراكز الكيرالية)، وتتواجد في الطبيعية في صورة حرّة أو على هيئة إيثروزيدية، وهي تحتوي في أغلب الأحيان مجموعة هيدروكسيل في الموقع (C_3) بسبب فتح الأبيوكسيد، وتمثل التربينات وحدة بنائية كبيرة معقدة نسبيا، تشمل حلقات متعددة مندمجة مع بعضها البعض.



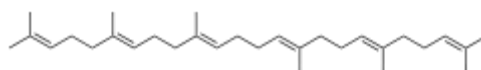
ترين ثلاثي رباعي الحلقة



ترين ثلاثي خماسي الحلقة



ستيرويد



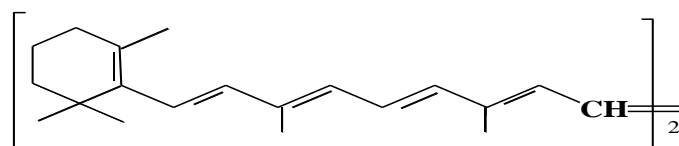
squalene

الشكل-17: أنواع التربينات الثلاثية

وتتميز بعض التربينات الثلاثية بخواص المذاقية البارزة بالأخص مرارتها الحادة، فالليمون limonine هو الأساس المرّ لثمار الحمضيات ينتمي إلى سلاسل التربينات الثلاثية خماسية الحلقة [34].

هـ- التربينات الرباعية Tetraterpens

يتكون كل منها من ثماني (8) وحدات إيزوبرين، أهمها المواد الملونة المنتشرة في النباتات المختلفة تسمى هذه المجموعة ذات (C₄₀) من التربينات حسب ما ذكره Guignard [35]، وهي تلك المواد المسؤولة عن الألوان: الأصفر، البرتقالي أو الأحمر في العديد من الفواكه والأزهار وقد اشتق اسمها من جذور الجزر من قبل الصيدلي Arnaud سنة 1885. كما تلعب دورا وقائيا للنبات ضد الإشعاعات المضرة كالأشعة فوق البنفسجية [36] ويطلق عليها اسم الكاروتينات، ولقد أمكن فصل ثلاثة متشكلات من الكاروتينات من الجزر وهي: α-carene، β-carene، δ-Carene. والصيغة -β- كاروتين هي:



الشكل-18: β- Carotène

و- متعددة التربينات Polyterpens

ومن أهم أمثلة متعددة التربينات المطاط الطبيعي، ويوجد في الطبيعة على هيئة مستحلب لبني يحصل عليه من أشجار المطاط في بعض المناطق الإستوائية، وهو عبارة عن متعدد إيزوبرين والشكل الفراغي حول الروابط الثنائية فيه تشكل مقرون (Cis) [207].

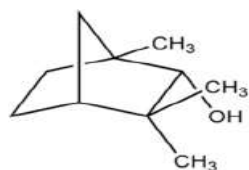
عدد ذرات الكربون	اسم التربين	وحدات الايزوبرين
10	وحدات التربين MonoTerpènes	2
15	سيسكوترابينات SesquiTerpènes	3
20	ثنائي التربين Diterpènes	4
30	الثلاثي التربين tri terpènes	6
40	رباعي التربين Tètra terpènes	8
أكبر من 40	متعدد التربين poly terpènes	أكبر من 8

الجدول 1. تقسيم التربينات

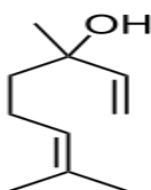
5-I. الوظائف الكيميائية للزيوت الطيارة

1-5-I. الكحولات

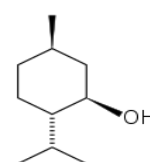
منها غير الحلقية وهي (geraniol, linalol, citronellol) ، وتحتوي حلقة واحدة (borneol, fenchol) ، ثنائية الحلقة (menthol, α -terpineol, terpin-1-4-ol) . كما هو في الصيغ



الشكل-21: fenchol



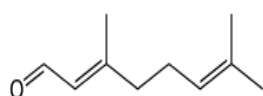
الشكل-20: menthol



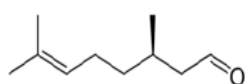
الشكل-19: linalol

2-5-I. الألهيدات

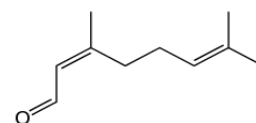
غالبًا ما تكون غير حلقية ومن أمثلتها (citral ou geranial, neral, citronella) كما في الصيغ



الشكل-24: Citral



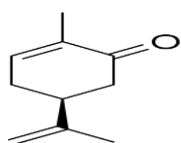
الشكل-23: Citronellal



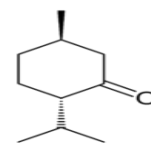
الشكل-22: neral

I-3-5 الكيتونات

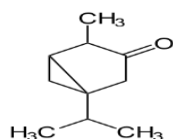
غير حلقيه (tagetone) ، وحيدة الحلقة، مثل (carvone, menthone) ، أو ثنائية الحلقة مثل (camphre, thuyone) كما هو موضح في الصيغ الكيميائية التالية :



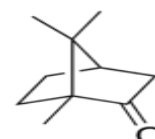
الشكل-26: carvone



الشكل-25: Menthone



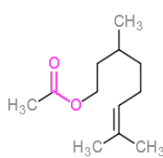
الشكل-28: thuyone



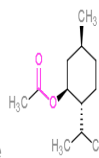
الشكل-27: camphre

I-4-5 الأسترات

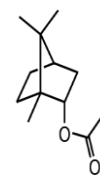
ومنها غير حلقيه مثل (acétate de citronellyle) ، وحيدة الحلقة مثل (acétate de menthyle) ، ثنائية الحلقة مثل (L'acétate de bornyle) كما هو مبين في الشكل التالي:



Acétate de citronellyle



Acétate de menthyle



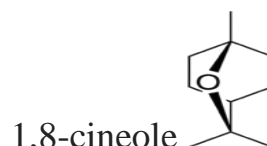
L'acétate de bornyle

الشكل 29 : أنواع الأسترات

I-5-5 الإيثيرات

ومن أمثلتها 1,8-cineole أو يسمى Eucalyptol إيثيرات حلقيه

الشكل-30: 1,8-cineole



1,8-cineole



I-6-5 البيروكسيدات : ومن أمثلتها (ascaridole)

I-7-5 الفينولات : ومن أمثلتها (thymol, carvacrol) كما هو موضح في الشكل-8.

I-5-8. المركبات العطرية :

من بين المركبات الطيارة في الزيوت العطرية الأنيثول (anéthole) في نبات الباديان الياباني (Badiane) والألدهيد الأنيزي (anisique) والألدهيد في نبات اليانسون والأبيول (apiole) في نباتات الفصيلة الكرفسية والأوجينول eugénoI في نبات القرنفل، وأن نسبة هذه المركبات في الزيوت الطيارة أقل من التربينات [14] ، وهي مشتقات الفينيل بروبان (C₆C₃) phénylpropane .
طريقة تخليقها مختلفة عن المركبات السابقة، حيث تتم بواسطة حمض البيروفيك، ويعطي حمض الشيكيميك ((acide shikimique) حمض اليريفينيك (acide préphénique)، وهو المركب الذي يسبق تشكل مركبات (C₆-C₃) وهي مشتقات الفينيل بروبان [18] ، فهي تصنف حسب الوظائف الموجودة بها، إما حمض ، أستر، ألدهيد، فينول أو إيثر فينولي [26].

I-5-9. مركبات أخرى

وهي جزيئات غير متطايرة تتواجد في الزيوت العطرية في أثناء حملها ببخار الماء [14]. ومن أمثلتها الأحماض الكربوكسيلية ذات الوزن الجزيئي الخفيف كحمض الخل والسيتونات والكومارينات [13] .

I-6. طرق استخلاص الزيوت العطرية

تخضع طريقة استخلاص الزيوت الطيارة من النباتات لعدة عوامل أهمها:

- ❖ التركيب الكيميائي للزيت الطيار، فعند استخلاص الزيت من النبات يجب اختيار الطريقة التي تضمن الحصول عليه بحالته الطبيعية، دون حدوث أي تحلل أو تغير في صفاته الكيميائية وبالتالي لا تتغير رائحته أو طعمه.
- ❖ الجزء من النبات الذي يحتوي على الزيت الطيار، ومكان وجود خلايا الزيت به ومدى حساسيته وسمك جدران هذه الخلايا، فطريقة استخلاص الزيت من بتلات الأزهار تختلف عن طريقة استخلاصه من الثمار، أو الأوراق، أو الجذور وهكذا.
- ❖ كمية الزيت الموجودة في النبات تحدد الطريقة التي يتم استخلاصه بها، فإذا كانت نسبة الزيت ضئيلة يجب استخلاصه بطريقة المذيبات حتى لا تفقد هذه الكمية إذا ما استخدم طريقة التقطير بالماء أو البخار.
- ❖ مراعاة الجانب الاقتصادي في طريقة الاستخلاص وخصوصا على المستوى التجاري إذ يجب الحصول على كمية الزيت الموجودة في النبات بأكملها، وبأقل تكاليف ممكنة.
- ❖ يعتبر وقت جمع محصول النباتات العطرية وطرق معاملتها وإعدادها قبل عملية الاستخلاص من أهم العوامل التي تؤثر في الناتج النهائي من الزيت، سواء من الناحية الكمية أو من ناحية المواصفات للزيت وعموما يلاحظ أن النباتات العطرية التي نتحصل على الزيت من أوراقها وأزهارها لا تتحمل التخزين لفترات طويلة قبل استخلاصه منها، في حين أن النباتات التي يستخرج الزيت من بذورها أو ثمارها فإنها تتحمل التخزين لمدة قد تصل إلى ستة أشهر [206، 208، 209].

أما طرق استخلاص الزيت العطري تكون كالاتي :

I-6-1. التقطير / Distillation:

وهي الأكثر انتشارا وأقدم الطرائق لاستخلاص الزيوت الطيارة ومعظمها تستخرج بهذه الطريقة باستثناء بعض الزيوت التي تتأثر بالحرارة، وتعتمد هذه الطريقة على تبخير الزيت الطيار، وبالتالي يتم فصله عن باقي المكونات غير المتطايرة وهي مكونات أخرى للنبات [37] ، ثم يتم تكثيف الزيت بخفض درجة حرارته فيتحول من الحالة الغازية إلى سائل لا يذوب في الماء فيتم فصله، وللتقطير عدة طرق منها:

أ. التقطير المائي Hydro distillation

في هذه الطريقة توضع النباتات المراد تقطيرها في وعاء التقطير إما مغمورة مباشرة في ماء التقطير أو توضع في وعاء شبكي، ثم يغمر هذا الوعاء كلية داخل الماء بحيث لا تلامس المادة النباتية جدران وعاء التقطير، وعادة يصنع وعاء التقطير من معدن لا يصدأ مثل: النحاس أو يصنع من الزجاج، ويتم التسخين إما بواسطة النار أو بواسطة مسخن كهربائي [210].

وتستخدم طريقة التقطير بالماء للنباتات التي تتحمل الغليان والمجففة، والتي تحتوي على نسب عالية من الزيت في بعض أجزائها مثل الجذور والأوراق والثمار وبعض الأزهار، حيث يوضع النبات مع الماء في دورق كروي ويتم التسخين حتى الغليان، فيحمل البخار الزيت معه ثم يتم تكثيفه بواسطة مكثف خاص، ثم يفصل الزيت عن الماء بقمع الفصل وذلك لاختلاف الكثافة .

ب. التقطير بالبخار / Entraînement à la vapeur d'eau:

يتخلل بخار الماء النبات المراد تقطيره ساحبا معه الزيوت الطيارة، التي تكون ممزوجة مع بخار الماء، وبعد ذلك يكثف البخار الصاعد في أنابيب التكثيف المثبتة في نهاية آلة التقطير، فتنحدر إلى الحالة السائلة وتنفصل عن الماء وتستقبل في أواني تسمى Vase- florentin التي تسمح بإبانة " Décantation " الماء والزيت الطيار، هذا الأخير الذي يكون ذا كثافة أكبر أو أقل من الماء [9، 210].

I-6-2. الاستخلاص بواسطة مذيب عضوي طيار/ Extraction par solvant organique volatil:

تعتبر أكثر تقدما من طريقة التقطير المائي، ومبدأ هذه الطريقة تتمثل في إضافة المذيب العضوي إلى النبات العطري (كزهر الياسمين أو الورد) الذي يوضع في طبقات رقيقة تسمح بنفاذ المذيب داخل الخلايا المحتوية على الزيت العطري، فتذيبه وتحمله إلى الخارج في صورة محلول من المذيب والزيت، ثم يفصل الاثنان عن بعضهما بواسطة عملية التقطير تحت ضغط منخفض. [210] ومن المذيبات المستعملة في هذه العملية:- مذيبات هيدروكربونية أليفاتية: بروبان، بنتان، هكسان.

- مذيبات هيدروكربونية أروماتية: بنزن، تولوين [9].

وتتمتاز هذه المذيبات بانخفاض درجة غليانها، وبسهولة فصلها عن الزيت الطيار بعملية التقطير في درجة حرارة منخفضة، فلا يتأثر الزيت، كما تتمتاز بسهولة ذوبان الزيوت الطيارة فيها [210].

I-6-3. الاستخلاص بالنقع / Extraction par macération:

الاستخلاص بالنقع هو إحدى طرائق استخلاص الزيوت العطرية باستعمال المذيبات العطرية، وفي هذه الطريقة تنقع الأجزاء النباتية المراد استخلاصها في المذيب في أوعية كبيرة ولمدة تكفي لإذابة الزيوت الطيارة في المذيب، وفي بعض الأجزاء ترفع درجة حرارة المذيب للمساعدة على ذوبان الزيوت الطيارة ولكن يراعى عند ارتفاع درجة الحرارة ألا تصل إلى الحد الذي يؤثر على مكونات الزيت أو صفاته، وقبل تعبئة جهاز الاستخلاص يراعى أن تكون النباتات مجزأة إلى أجزاء صغيرة تسمح بتعرض أكبر مساحة ممكنة من الخلايا بتأثير المذيب، ويستحسن استبدال المذيب مرتين أو ثلاث مرات بكمية أخرى منه نقية حتى يتم التأكد من استخلاص كل ما في النباتات من زيت.

بعد سحب المذيب بما فيه من الزيت من وعاء الاستخلاص، يرشح للتخلص مما قد يكون عالقا به من شوائب نباتية، ثم يقطر على درجة حرارة منخفضة وتحت ضغط منخفض فيفصل المذيب الذي يعاد استعماله في عملية استخلاص جديدة، ويبقى الزيت العطري المطلوب استخلاصه [9،210].

I-6-4. الاستخلاص من الأزهار/ Extraction par enfleurage:

في هذه الطريقة يكون الاستخلاص من الأزهار وليس من الأوراق كما في الطرق السابقة، وتعتبر الأزهار أضعف جزءا من أجزاء النبات، وتتمثل في إدراج أو إدخال أزهار النبات (البتلات) المراد استخلاص زيتة، بين طبقات من الشحوم أو الدهون الحيوانية، هذه الأخيرة تبقى أو تحجز الزيت العطري بداخلها، ليكون ما يعرف بـ (المرهم العطري - Pommade parfumée) بعد ذلك يفصل الزيت العطري عن الشحوم بواسطة غسل المرهم بالكحول.

I-6-5. الاستخلاص بواسطة غاز CO₂/ Extraction par dioxyde de carbone:

هذه الطريقة تعتمد في أساسها على أن بعض الغازات لا سيما غاز ثاني أكسيد الكربون CO₂ في شروط الضغط الحرج تظهر قوة إذلال متزايدة اتجاه عدة مركبات مثل الزيوت العطرية، الملونات الطبيعية، والطور، إن ميزة هذه الطريقة هي بلا شك فصل المذيب بعملية سهلة، بالإضافة إلى أن الاستخلاص يتم في درجات حرارة منخفضة مما لا يعرض مكونات الزيت للتحلل الحراري.

I-6-6. الاستخلاص بواسطة جهاز الموجات الدقيقة Micro-ondes

توضع النبتة من الأحسن طازجة داخل الجهاز وإذا كانت يابسة يضاف الماء، وتسخن بواسطة أشعة ميكروموجية، والمدة على الأكثر 30 دقيقة. ويجب ضبط القيم الخاصة بالجهاز قبل الانطلاق وبعدها يتم سحب الزيت الطيار الناتج عن النبتة المدروسة، وهي طريقة سريعة جدا في بعض الحالات تدوم 10 دقائق للاستخلاص، وأنها توفر زيتا بكمية عالية.

I-7. طرائق التحليل Méthodes d'analyse

بفضل التطور التكنولوجي الحديث شهد مجال التحليل الكهربائي كغيره من المجالات تطورا ملحوظا من حيث الأجهزة والطرق المستخدمة، فقد أمكن الحصول على أجهزة ذات دقة وحساسية عاليتين

وسبل جديدة في التحليل الكيميائي مثل: الكروماتوغرافيا السائلة عالية الجودة HPLC، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM، CPG، GC/MS مطيافية الأشعة تحت الحمراء IR، والـ RMN... الخ [41،40،39،38].

ومن بين طرائق التحليل السابقة، نوضح كل من الكروماتوغرافيا الغازية CPG، والكروماتوغرافيا الغازية مرتبطة بمطيافية الكتلة GC/MS.

1-7-I الكروماتوغرافيا الغازية (CPG) Chromatographie en phase Gazeuse

تعرف الكروماتوغرافيا الغازية بأنها طريقة لفصل وتحديد مكونات المزيج المختلفة، اعتمادا على مبدئها الذي يركز على توزيع العينة المراد تحليلها بين طورين، الأول عبارة عن طور متحرك (Phase mobile) غازي يدعى الغاز الحامل (gaz porteur /gaz vecteur)، والثاني طور ساكن مؤلف من مادة مسامية تضيف عليه سطحاً نوعياً كبير نسبياً [180]. ونحصل حسب توزع عوامل هذه المواد على مناطق مفصولة في العمود، وتتقدم هذه المناطق عبر العمود محمولة ضمن الغاز الحامل لتمر على كاشف مناسب مثل كاشف الناقلية الحرارية TCD كاشف التشرّد بالهلب FID، الذي يسجل المركبات المفصولة على شكل قمم تابعة لحجم الاحتفاظ V_R أو لزمن الاحتفاظ t_R [211].

بما أننا سوف نستخدم GC في تحليل الزيوت الطيارة، فإن اختيار الطور الثابت جد هام، لأن الزيوت الطيارة عبارة عن مزائج مركبة ومعقدة، فهي تتألف من عدد كبير من التربينات (terpènes) المختلفة كما تحتوي على مركبات أكسجينية مثل الكحولات، الأحماض، الألدهيدات، الأسترات، الكيتونات، والإثيرات [9].

لقد أجريت عدة محاولات لحساب معامل الحجز (الاحتفاظ) لمكونات المزيج المعقد، الذي أجري تحليله تحت معالجة حرارية مبرمجة [44،43،42].

والنظام الأكثر استعمالاً والأكفاً والأكثر إرضاء هو الذي وضع من طرف VAN DEN DOOL وKRATZ [46،45].

إن العلاقة المعمول بها حالياً هي العلاقة التي توصل إليها VAN DEN DOOL وKRATZ والمعطاة كما يلي:

$$I_R = 100Z + 100n \frac{t_{R(s)} - t_{R(z)}}{t_{R(z+n)} - t_{R(z)}} \dots(1)$$

Z : عدد ذرات الكربون للمركب المدروس.

$t_{R(s)}$: زمن الاحتفاظ للمركب المدروس.

$t_{R(z)}$: زمن الاحتفاظ للألكان الذي له Z ذرة كربون.

$t_{R(z+n)}$: زمن الاحتفاظ للألكان الذي له Z+n ذرة كربون.

n : الفرق في عدد ذرات الكربون بين الألكانين (عموما n=1).

I-7-2. الكروماتوغرافيا الغازية المرتبطة بمطيافية الكتلة (GC/MS) :

هذه الطرق المزدوجة تسمح بالحصول على معلومتين مستقلتين زمن الاحتفاظ temps de rétention والطيف (spectre)، وبهذا يمكننا تحديد وبدقة تركيب المزيج المعقد المراد تحليله أو تركيز بعض المركبات انطلاقا من كمية لا تتجاوز بعض النانوغرامات [9,211].

إن التطور المهم لمطيافية الكتلة في تحديد وتمييز مكونات العطور والزيوت الطيارة جعل من الممكن استعمالها بالموازاة مع الكروماتوغرافيا الغازية لتحليل كميات صغيرة من العينة لا تتعدى بعض الميكروغرامات وهكذا وبفضل هذا التجديد المهم فإن مطيافية الكتلة أصبحت التقنية الأكثر استعمالا في الحصول على معلومات حول تركيب وبنية مركب عضوي مجهول [45، 46، 47، 48].

ومن بين طرق التأين المستعملة بكثرة في تحليل المزيج المعقدة نذكر:

"التأين الكيميائي السالب (ICN) Ionisation Chimique Négative"، "التأين الكيميائي الموجب

(ICP) Ionisation Chimique Positive"، و "التأين بالصدمة أو التأثير الإلكتروني (IE)

"Ionisation Impact Electronique". حيث تمر مكونات المزيج المحقون في الجهاز عبر العمود في

حالتها الغازية بسرعة مختلفة، تحجز بأزمنة احتفاظ t_R مختلفة حسب انحلاليتها في الطور الثابت. ثم تمر

مكونات المزيج المركب المفصولة داخل عمود الكروماتوغراف، داخل غرفة التأين أين تقذف بسيل (flux)

أو فيض من الإلكترونات له طاقة حوالي (70ev) هاته الطاقة تسبب تشتت أو تأين وتكسر

(fragmentation) الجزيئات المختلفة، بعد ذلك تتجه الشوارد الموجبة الناتجة نحو المحلل

مغناطيسي Magnétique أو رباعي القطبية (Quadripôle). التيار الشاردي المحصل عليه يتحول إلى

تيار إلكتروني الذي يكبر ويوسع لإعطاء طيف الكتلة [9].

I-8. سمية الزيوت الطيارة

إن استعمال الزيوت الطيارة الصرفة يعد خطر في غالب الأحيان، إذ يمكن أن يسبب اضطرابات

عصبية وتشنجات (زيت الإكليل) أو إجهاض والموت أحيانا (زيت السذاب) أو التهابات جلدية وحروق

(زيت الليمون). ولزيت اليانسون أثر مخرر بالمعنى الطبي للكلمة [49].

عند تناول جرعات كبيرة من الزيت الطيارة له مخاطره على الجسم قد يسبب اسهالا حادا، وتقيئ ومغص

الأمعاء ووجع شديد في المعدة، ويؤدي أحيانا الى اضطرابات في الدم. وتبعاً لنوع النبات المحتوي على

الزيت الطيار، فإن الاستهلاك غير المضبوط، سيضر بالكلية والجهاز العصبي والعضلي وقد يؤدي

اضطراب في الجهاز التنفسي [50].

فأغلب الزيوت الطيارة المستعملة، لها جرعة مميتة (Dose létale) DL_{50} بين 2 الى 5g/kg (اليانسون، الكلتوس، القرنفل) ، وتكون الجرعة المميتة أكثر من 5g/kg (البابونج ، الخزامى ، والمردقوش)، وتوجد زيوت طيارة لها جرعة مميتة بين 1 الى 2g/kg (الحبق ، الزوفاء ، الزعتر).

وترجع سمية الزيوت الطيارة لوجود مكونات سامة به منها الكيتونات مثل الثيون والبينوكامفون، كلها سامة للجهاز العصبي المركزي وتسبب نوبات من الصرع والكزاز واضطرابات نفسية [26] . وإذا تناولها الإنسان لوحدها في حالات العلاج كاستعمال داخلي يمكن أن تسبب له التسمم [13].

خطر السمية الحاد معروف جيدا وخاصة عند ابتلاع كمية كبيرة من الزيوت الأساسية، التي تسبب مثلا في تسمم الأعصاب وهذا لاحتوائها على thuyone وهي كيتونات تسبب أزمات تشبه الصرع ، وتسبب اضطرابات نفسية وحسية والتي تتطلب العلاج بالمستشفيات. وهناك تربينات أحادية monoterpéne هي الأخرى سامة عند ابتلاعها بجرعات عالية مثل Camphene ، Menthol الذي يسبب تشنج في لسان المزمار glotte عند الأطفال الصغار، Cineole وAnéthole. هذه السمية التي لا يمكن تجاهلها تجعلنا نتخذ موقفا حذرا عند استخدامنا للزيوت العطرية وخاصة عندما تناولها عن طريق الفم وهي نقية وبتراكيز عالية [14].

الفصل الثاني: مضادات التأكسد



II-1. القدرة المضادة للتأكسد

تتميز المركبات الفينولية بخصائص مضادة للتأكسد منها الفلافونويدات ومشتقات حمض السياميك، والتي يمكن أن تستخلص من النباتات والتي كانت محل عدة دراسات [51].

كذلك وجد أن النباتات بمختلف أنواعها يمكن أن تحوي كمية كبيرة من مضادات للتأكسد مثل فيتامين E و C والكارنتويدات...، رغم أن أغلب المقالات العلمية تؤكد أن السبب في الفعل المضاد للتأكسد هو وجود المركبات الفينولية مثل الفلافونويدات، والأحماض الفينولية والفينولات ثنائية التربين، إلا أن بعض الدراسات أثبتت أن النباتات التي لا تحوي على المركبات الفينولية يمكن أن يكون لها أثر أو فعل مضاد للتأكسد [52، 53].

فهناك عدة دراسات أنجزت في السنوات الماضية لنشاط بعض النباتات الطبية المضاد للأكسدة التي تحدث في وجود الجذور الحرة مثل الهيدروكسيل والبيروكسيدات [54، 55]. والنشاط المضاد للتأكسد لعدة فواكه والشاي درست بشكل كبير في عدة مقالات علمية [56، 57] ومصدره وجود فيتامينات منها فيتامين C، بيتا كاروتان أو الفلافونويدات وحسب Abaga et al فإن مزيج من عدة مضادات التأكسد التي هي من أصل طبيعي الموجودة في الفواكه والخضر يمكن أن يكون له فعالية أحسن من أن يستعمل مضاد واحد فقط للتأكسد، أو مزيج بسيط من حمض الاسكروبيك والفاثوكوفيرول وبيتا كاروتان [35].

تحوي بعض الفواكه والخضر مجموعة من مضادات التأكسد والتي ليس لها نشاط عالي فقط، بل هي تتميز بنوعية عالية جدا، فعلى سبيل المثال قام من قبل Abaga et al سنة 1998 بدراسة أثبت فيها أن مستخلص عصير العنب يمكن أن يملك حماية عالية لتأكسد الليوبروتينات (*liporotiene*) [57]، من جهة أخرى متعددات الفينولات الموجودة في مستخلصات ندى البحر هي السبب في نشاطها المضاد للتأكسد في زيت الزيتون (*huile d'olive*) [58]، كذلك معروف أن زيت الرنتج لعباد الشمس (*Helianthus annuus*) يملك نشاطا مضادا للتأكسد مرتفع بالمقارنة مع زيت الرانتج لندى البحر (*Ros marinus officinalis*) ولكن أقل نشاطا من BHT (3,5 ditertiobutyl-4-hydroxytoluène) وBHA (3-tertiobutyl-4hydroxyanisole) [59].

كما نشر Yin Chen سنة 1998 أن استعمال النباتات التي تنتمي إلى عائلة *alliaceae* يمكن أن تعتبر مصدر طبيعي لمضادات التأكسد والبكتيريا في المواد الغذائية ممكن جدا [60]. وأخيرا أثبتت النتائج المتحصل عليها من طرف Varder et al سنة 2003 أن الزيت الطيار للزعر (*Thymus pectinatus*) يمكن أن يعتبر مصدر طبيعي لمضادات التأكسد والبكتيريا في الأغذية [61].

II-1-1. المركبات المضادة للتأكسد

تعتبر تفاعلات الأكسدة الإرجاعية عملية مهمة جدا في الحياة اليومية ولجسمنا خصوصا أثناء عملية التنفس، حيث أن جزيء الأكسجين له القدرة لاكتساب إلكترون وينتج طاقة في شكل ATP، ولكن هذه العملية لا تتم أو لا تحدث دائما بنفس الشكل والسبب هو تشكل مركبات سامة ذات إلكترونات عزباء تسمى الجذور الحرة.

II-1-2. تعريف الجذور الحرة

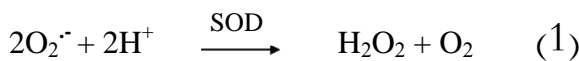
عبارة عن ذرة أو مجموعة ذرات تحوي إلكترونات أعزبا أو أكثر. الجذور الحرة يمكن أن تكون ذرات أو جزيئات ذات شحنة موجبة أو سالبة أو عديمة الشحنة، وتعتبر كوسيط مهم في بعض التفاعلات البيوكيميائية، فهي تتمتع بنشاط كبير.

هناك عدة أنواع من الجذور الحرة، ولكن أهم الجذور الحرة الموجودة في الأنظمة البيولوجية (أي الكائن الحي) مصدرها الأكسجين أو مشتقة منه، وتعرف باسم المركبات الأكسجينية النشطة Active oxygen substances)، ويرمز لها اختصارا بـ ROS. وذلك بسبب وجود زوج إلكترون في المدار الخارجي لجزيء الأكسجين مما يجعل له القابلية تشكيل الجذور الحرة، أي يحدث تفاعل إرجاع للجزيئات.

II-1-3. المركبات الأكسجينية النشطة ROS [62]

أ. جذر سيبرالبيروكسيد O_2^-

يعتبر جذر نشط وله عدوانية كبيرة، ويمكن أن يتفاعل في وسط حمضي لينتج وفي وجود محفز إنزيمي وهو SOD (Superoxide dismutase) وفق المعادلة رقم (1)

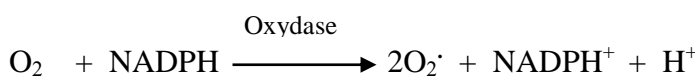


يمكن أن يتشكل الجذر السابق في وجود:

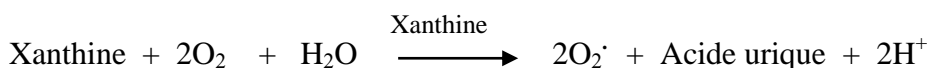
- الإنزيم سيتوكروم اوكسيداز الميتوكوندري :



- اوكسيداز :



- النظام الانزيمي Xanthine / Xanthine oxydase :



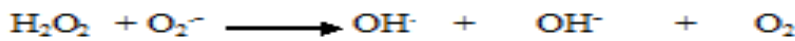
ب. الماء الأوكسجيني H_2O_2 :

يتشكل وفق المعادلة (1) هذا المركب الأوكسجيني النشط، محب للماء يمكن أن يتفاعل في وسط مائي ويعتبر سام جدا .

ج. جذر الهيدروكسيل $OH\cdot$:

من أهم الجذور غير المستقرة والأكثر فعالية ونشاط بالمقارنة مع باقي المركبات الأوكسجينية النشطة ROS. يمكن أن يتشكل وفق الآليتين التاليتين :

-تفاعل Fenton:



- تفاعل Haber-Wiessh

وهو تفاعل بطيء .

د. جذور البيروكسيل $ROO\cdot$

يمكن أن تكون جذور حرة، يمكن كذلك أن تتوزع داخل الأغشية البيولوجية، يتم الحصول عليها بتفاعل الجذور الحرة الكربونية R مع جزيء الأوكسجين .

هـ. الهيدروبيروكسيدات العضوية $ROOH$

عبارة عن متفاعلات تتفكك ثانية إلى جذور البيروكسيل أو إلى جذور الأوكسيل .

و. جذور الأوكسيل $RO\cdot$

نشط جدا يتم الحصول عليه من تفكك البيروكسيدات العضوية ، عدة دراسات أثبتت أن ROS تؤكسد الليبيدات، البروتينات، الإنزيمات و الـ ADN تسبب عدة أمراض كالسرطان وأمراض القلب والشرابييين... [63، 64] .

تعتبر الأغذية المحتوية على الليبيدات حساسة جدا لتفاعلات الأوكسدة الآلية. هذا التفاعل اللحظي (الأنبي) لليبيدات أو الأحماض الدهنية مع الأوكسجين يؤدي إلى إتلاف المادة الغذائية من حيث اللون والرائحة والطعم، بسبب الأوكسدة ويمكن للجذور الحرة أن تفقد المادة الغذائية من قيمتها الغذائية بالتفاعل مع الفيتامينات بالخصوص مع الفيتامين E-vit [65].

II-1-4. مكافحة الجذور الحرة

إن جسمنا يستعين ببعض المركبات الجزيئية المضادة للتأكسد لها القدرة للتفاعل مع الجذور الحرة لمكافحة هذه الجذور الخطيرة ، وبذلك تضع حدا لتفاعل الجذور وبدون أن تتلف المادة الحية ، حيث أن كل جزيء من مضادات التأكسد يمكن أن يتفاعل مع جذر واحد فقط ، ولهذا يجب توفير أكبر عدد من مصادر مضادات التأكسد [66] . يملك الجسم نظامين من مضادات التأكسد تسمح بتعديل إنتاج هذه الجذور والحد من أضرارها .

أ.نظام الدفاع داخل العضوية

والذي يتشكل من الإنزيمات التي تتفاعل فيما بينها لتشكل نظام ضد التأكسد مثل غلوتاتيون أو أكسيداز، الكاتالاز.

ب.نظام الدفاع خارج العضوية

يمكن الحصول عليه من الجزيئات الناتجة عن الأغذية الغنية بمضادات التأكسد مثل الفيتامينات A،E،C وكذلك BHT،BHA والبولىفينولات [62].

5-1-II. الليبيدات Lipids ودورها في الأكسدة

الليبيدات هي مركبات عضوية غير قطبية ذات ملمس دهني، حيث تضم عدة مركبات تختلف من حيث التركيب الكيميائي والوظيفة، وتشارك من حيث بأنها شحيحة الذوبان في الماء، ولكنها تذوب في المذيبات العضوية مثل البنزين، والإيثر، والكلوروفورم وغيرها... ، ولليبيدات (الدهون) عدة وظائف نذكر منها:

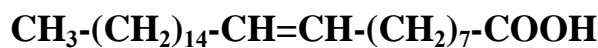
- ❖ مخزونات طويلة الأمد للطاقة، وتعطي عند احتراقها كمية من الطاقة أكبر من السكريات والأحماض الدهنية.
 - ❖ ولها وظيفة تركيبية في الخلية، حيث تدخل في تركيب الغشاء الخلوي، حيث تكون الطبقة المزدوجة التي تحافظ على سلامة الخلية والعضيات...
 - ❖ لا يحتاج تخزين المادة الدهنية إلى الماء نظرا لطبيعتها الكارهة للماء، عكس ما يحدث في السكريات البروتينات.
 - ❖ بعض المواد الدهنية عبارة عن فيتامينات، ومساعدات إنزيم.
 - ❖ الكثير من الليبيدات لها دور هرموني مثل الغلوكاغون الذي يعمل على رفع نسبة السكر في الدم .
- الليبيدات أو الدهون تضم في غالبيتها أسترات لأحماض دهنية بالإضافة إلى الستيرويدات، إن أهم مكونات الليبيدات هي الأحماض الدهنية، والتي تحدد الكثير من خصائص المادة الدهنية.

6-1-II. الأحماض الدهنية (Fatty Acids)

هي عبارة عن أحماض عضوية تحتوي من 4 الى 36 ذرة كربون، لكن المنتشرة منها تحتوي من 12 إلى 24 ذرة كربون، وخاصة تلك المحتوية على 16 و 18 ذرة كربون المستخدمة لصنع المركبات ثلاثية الجلسيرول . وهي تحتوي على مجموعة كربونيل واحدة في سلسلة غير متفرعة وهي نوعان المشبعة وهي التي لا تحوي روابط مزدوجة، صيغتها العامة $C_nH_{2n}O_2$ ، وغير المشبعة وهي التي تحوي رابطة مزدوجة أو أكثر صيغتها العامة $C_nH_{2n-x}O_2$ ، حيث x يمثل عدد الروابط المزدوجة في الحمض الدهني. في الوسط المتعادل تكون الأحماض الدهنية الحرة متأينة (متشردة) بنسبة عالية، وذلك لأن ثابت التأين

لمجموعة الكربوكسيل منخفض $pka = 4.8$ ، وفي الحالة الطبيعية تكون الأحماض الدهنية مرتبطة بصورة أسترات كحولية أو أميدية ، مما يفقدها صفة التآين .

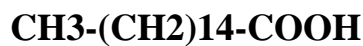
تختلف الأحماض الدهنية في خواصها الفيزيائية (قابلية الذوبان، نقطة الانصهار)، حيث يقل الذوبان وترتفع نقطة الانصهار بزيادة طول السلسلة الهيدروكربونية، بينما يقل وجود الروابط المزدوجة من نقطة الانصهار. وتكون الأحماض الدهنية المشبعة في الحالة الصلبة عند درجة حرارة الغرفة ($25^{\circ}C$)، بينما تكون الأحماض غير المشبعة في صورة سائلة عند نفس الدرجة [212] .



حمض الأوليك OLIEC ACID



حمض اللينوليك LINOLIEC ACID



حمض البالميتيك PALMETIC ACID

II-1-7. تقسيم الليبيدات

تقسم الدهون إلى عدة أقسام حسب تركيبها الكيميائي، أو حسب درجة القطبية (الكرهة للماء)، و من الناحية الوظيفية تقسم الدهون عادة إلى دهون تخزينية وتركيبية (مكونة للأغشية).

II-1-8. الهيدروبيروكسيدات

تتشكل الهيدروبيروكسيدات في الأنظمة التي تحوي الأحماض الدهنية غير المشبعة، حسب ثلاثة طرق مختلفة وذلك حسب طبيعة الوسط والعوامل المحفزة لتفاعل الأوكسدة [67، 68] .

أ. الأوكسدة الآلية : هي التفاعل اللحظي والآني للجذور الحرة مع المركبات العضوية غير المشبعة المحفزة من طرف درجة الحرارة والشوارد المعدنية والجذور الحرة [69].

ب. الأوكسدة الضوئية : هو تفاعل أكسدة الليبيدات المحتوية على الأحماض الدهنية نتيجة تعرضها للضوء (خصوصا الأشعة فوق البنفسجية UV)، وفي وجود مستقبلات الضوء مثل (الكوروفيل، مركبات الهيم) [68] .

ج. الأوكسدة الإنزيمية : تحدث في وجود إنزيم lipoxenase [70]

أثناء عملية الأوكسدة الآلية تكون التفاعلات متعلقة فيما بينها، ونوع الفعل المحفز أثناء تعاقب التفاعلات التي تنقسم إلى ثلاثة (03) أطوار هم :

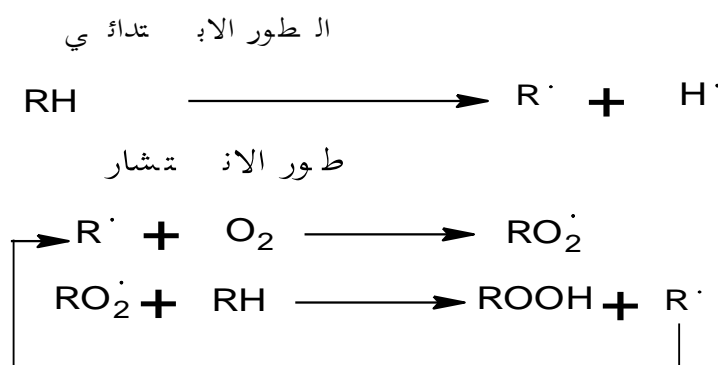
الطور الابتدائي (Initiation)

طور الانتشار (Propagation)

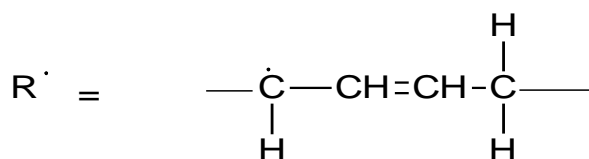
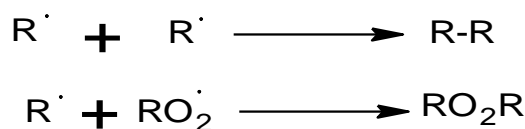
طور الانتهاء (Termination)

حيث نميز :

- اختفاء متفاعلات الأوكسدة (الأكسجين، الحمض الدهني).
 - ظهور مركبات أو نواتج أولية للأوكسدة (البيروكسيدات) .
 - ظهور مركبات أو نواتج ثانوية ناتجة عن الاتحادات انطلاقا من البيروكسيدات (الايبيوكسيدها، المركبات الطيارة).
- الشكل (2) يوضح تسلسل هذه المراحل.



النهاية



الشكل-31. تفاعل أكسدة الليبيدات [71]

9-1-II مضادات التأكسد

مضادات التأكسد هي جزيئات لها القدرة على تثبيط أكسدة الجزيئات وتعمل على تأخير مدة أكسدة الليبيدات، وتستهلك حاليا في بعض الأغذية منزوعة الماء أو التي يتواجد بها بكمية متوسطة من الماء [72]

10-1-II استعمالات مضادات التأكسد

هناك عدة مركبات عضوية جزيئية حساسة جدا لتفاعلات الأوكسدة، لهذا من الضروري إضافة بعض المركبات التي بها خاصية التثبيت السريع للأكسجين الهوائي والتي تساهم في حماية فعالة

مضادات التأكسد هذه أو مضادات الأوكسجين إن صح التعبير، مستعملة بشكل كبير في الصناعة الغذائية نذكر على سبيل المثال لا الحصر التوكوفورولات، التي تتواجد في الطبيعة من خلال الزيوت والأجسام أو المواد الدهنية ذات الأصل الحيواني [73].

مضادات التأكسد تستعمل من أجل استباق عملية الأوكسدة التي يحدثها بصفة عامة وجود الأوكسجين.

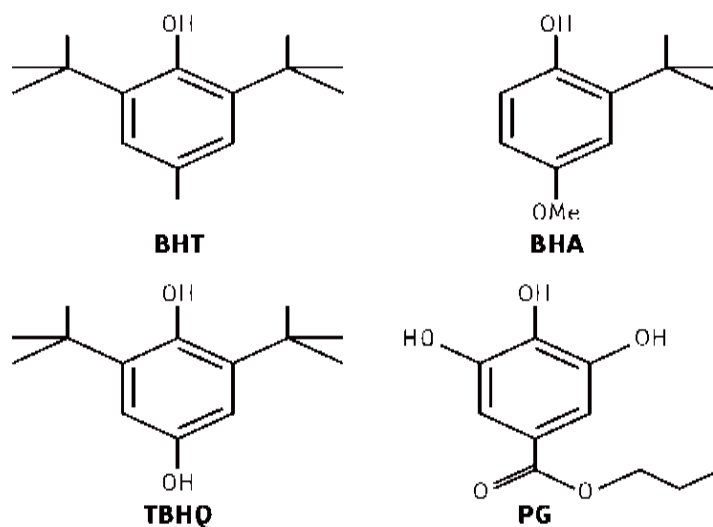
يمكن القول أن الفعل المضاد للأوكسجين احتمال أن يحدث بطريقتين :

(أ)-إزالة العوامل التي تساعد في عملية التأكسد من درجة حرارة و الأوكسجين وتركيز المحفزات (المعادن والإنزيمات) ووجود الضوء.

(ب)-إضافة محفز عكسي الذي يوقف التفاعل في مرحلة الانتشار، معناه إضافة مضاد للأوكسجين، يمكن أن يكون مركب طبيعي (الفا توكوفرول، حمض الأوسكوربيك) أو مركب اصطناعي أشتق من الفينولا [74].

درست المركبات المضادة للتأكسد والتي يكون مصدرها اصطناعي من حيث سميته عند الحيوان، من بين النتائج المتحصل عليها أن هذه المركبات لها تأثير على الرئة والمعدة والغدة الدرقية وتحدث مرض السرطان ولها كذلك نتيجة سلبية على صحة الإنسان [75]. ومن بين هذه المركبات الفينولية الاصطناعية التي تستعمل كمضادات للتأكسد وكذلك كمضادات للبكتيريا بسبب فعاليتها الكبيرة نذكر منها BHT،

PG (gallate de propyle) ، BHA،(tertiobutylhydroxyquinone) TBHQ



الشكل-32. أهم المركبات الفينولية المضادة للتأكسد الاصطناعية

II-1-11. مضادات الأوكسدة الطبيعية:

هناك عدة مضادات للأوكسدة ذات المصدر الطبيعي ومنها:

أحمض الأوسكوربيك أو فيتامين C

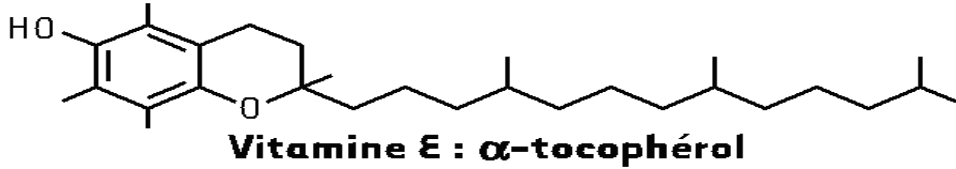
يملك عدة خصائص إلى جانب قدرته الكبيرة المضادة للتأكسد فهو مضاد للزكام وله القدرة على تعديل

الجزور الحرة وتكوين النيتروز أمين [76].

ب-فيتامين E (α -tocophérol)

يستعمل بكثرة في مواد التجميل لما له من خصائص مضادة للتأكسد على مستوى الأغشية (الجلد) ، فهو مفخخ للجذور الحرة [77] .

ويعتبر من أهم مضادات الأكسدة الذي يحمي الخلايا ضد التخریب الناتج عن الجذور الحرة ، حيث ينتج عنه تمديد حياة الخلية وتبطين عملية الشيخوخة . [78]
ويتواجد في القمح والخضر والأجسام الدسمة . [79]



الشكل-33. الصيغة الكيميائية لفيتامين E

ج-بيتا كاروتان

الذي يملك تسعة روابط مضاعفة مترافقة فله إمكانية تحفيز الوظيفة المناعية للجسم ، وذلك بتجميد عمل الجذور الحرة حيث يقوم بتعطيل عملية الأكسدة الضوئية [80] .

II-1-12. إجهاد التأكسد (Oxidative stress)

الجذور الحرة لها تأثير سلبي على الصحة ، والتي مصدرها الأوكسجين ، بسبب مصادرها الداخلية والخارجية التي تسبب سهولة ظهورها ، من المصادر الخارجية نذكر منها التلوث والدخان الناتج عن السجائر ، وطبقة الأوزون والأشعة فوق البنفسجية UV ، ومن جهة أخرى المصادر الداخلية تأتي من الأغذية التي تحوي مركبات مؤذية كالموبيدات والمواد المطهرة والمياه الملوثة... الخ.
تصبح هذه الوضعية أكثر تعقيدا عندما تصبح الأنظمة داخل وخارج العضوية لا تكفي لحماية الجسم من أخطار تهدده بسبب المركبات الأوكسجينية النشطة ROS التي ذكرت سابقا، هذا الاختلال في التوازن يسبب إجهاد التأكسد [81].

يعرف إجهاد التأكسد كنتاج عدم التوازن بين نظام الدفاع ضد التأكسد (antioxidant) وأنظمة الإنتاج للمركبات المؤكسدة (pro-oxidants) ، لصالح هذه الأخيرة كنتيجة لعدم التوازن هذا يمكن أن تسبب أضرار للخلية [82] ، ويمكن كذلك أن تسبب أضرار للـ ADN ، وتسبب طفرة لها علاقة بأمراض القلب، السكر [83 ، 84] .

II-1-13. طرق تقويم النشاط المضاد للتأكسد :

أكسدة الليبيدات والنشاط المضاد للتأكسد يتعلق أو مرتبط بالوسط وتركيبه ومكوناته ودرجة الحرارة والمحفزات (الإنزيمات والمعادن مثل الحديد ..) .
عدة طرق استعملت لتحديد حالة أكسدة غذاء [85] نذكر منها :

أ. تحليل المركبات المتأكسدة

والتي تتم بـ :

- معايرة الأحماض الدهنية التي لم تتأكسد والمتبقية خصوصا بالكروماتوغرافيا الغازية.

ب. تحليل البيروكسيدات

وذلك بـ:

- حساب نسبة البروكسيد بواسطة معامل البيروكسيد (IP) .
- تحديد الديانات المترافقة بواسطة بواسطة المطيافية فوق البنفسجية UV.
- تحليل المركبات الثانوية الناتجة عن عملية الاكسدة بالطرق التالية :
- بمعايرة المركبات الالديهيدية بواسطة اختيار حمض ثيو باروتيريك TBA
- معايرة الأحماض المؤكسدة بقياس وفصل باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة
- قياس المركبات الطيارة باستعمال الكروماتوغرافيا الغازية.

من خلال ما سبق نستنتج أنه لا توجد طريقة معينة ومحددة لتقويم فعالية مضادات التأكسد، فكل هدف طريقة خاصة به تميزه عن الأخرى، فتقويم حالة أكسدة المادة الغذائية، ينجز بعدة تقنيات تعتمد أساسا على الكروماتوغرافيا الغازية و المطيافية فوق البنفسجية [86] ، والرنين النووي المغناطيسي والكروماتوغرافيا السائلة عالية الجودة HPLC.

طريقة النشاط المضاد للتأكسد الكلية، أو القدرة على إلغاء أو حذف كل منابع الجذور الحرة [87]، هذه الأخيرة يمكن أن تقاس بعدة طرق من بينها:

قياس القدرة الامتصاصية للجذور الحرة الأوكسجينية ORAC [89،88].

II-1-14. الإختبارات المستعملة في تقويم النشاط المضاد للتأكسد للزيوت الطيارة

تعددت الدراسات ومن ثمة تعدده الطرق المستعملة في الكشف عن النشاط المضاد للتأكسد الذي يتعلق بالوسط وتركيبه ومكوناته ودرجة الحرارة والمحفزات (الإنزيمات والمعادن مثل المغنزيوم والحديد ...) وهو القدرة على حذف أو إلغاء كل منابع الجذور الحرة [89] ومن بين هذه الطرق أو الاختبارات الخاصة بالزيوت الطيارة منها مايلي:

- اختبار DPPH assay [90]
- نظام حمض اللينوليك Acid linoleic system [91].
- اختبار TBA assay [92]
- إخبار TBARS assay [93،94]
- إخبار TBARS المعدلة Modified TBARS assay [95،91]
- نظام بتا كاروتان / حمض اللينوليك β -carotene/linoleic acid system [90].
- طريقة التيوسيانات thiocyanat method [97]

- طريقة الديينات المترافقة [91] conjugated diene method .
- اختبار تغير لون بيتا كاروتان β -carotene bleaching test [96].
- تفخيخ الجذر الحر DPPH [93] scavenging effect on DPPH .
- اختبار DPPH بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة [90] TLC DPPH assay by .

الفصل الثالث: النشاط البيولوجي



III-1. النشاط البيولوجي

هو وصف لتأثير نافع أو ضار لدواء أو عقار على الكائن حي ، عندما يتناول الشخص دواء يحتوي على خليط من المركبات الكيميائية، فإن الفعالية تأتي من مكون فعال أو حامل الخاصة الدوائية لكن يمكن تغييرها بمكونات أخرى. توجد مواد كيميائية كثيرة ذات خواص مختلفة ولديها نشاط حيوي أو دوائي ولها دور مهم وتستعمل استعمالات طبية. كما أن هنالك مواد كيميائية أخرى تمتلك نفس الخواص، لكن تأثيراتها الضارة أو تأثيراتها السمية تمنع استعمالها في الطب. من الناحية العامة فإن النشاط الحيوي يعتمد على الجرعة، وهذا يعني أن التأثير يتراوح من التأثير المفيد إلى الضرر اعتمادا على الجرعة من الجرعة الأدنى إلى الأعلى .

III-1-1. المضادات الحيوية

يعتبر اكتشاف هذه المواد المضادة في يومنا الحاضر أساس النضال ضد الجراثيم، والمضادات الحيوية، وهي مواد كيميائية تفرزها بعض النباتات الابتدائية كـ بعض الفطور والرجبيات، وتفيد في وقف حياة الجراثيم الممرضة.

البنسيلين: أول مادة عرفت من المضادات الحيوية، أكتشفه العالم الإنجليزي "فليمينغ: Fleming" سنة 1929 بفضل ملاحظة بسيطة حدثت صدفة.

فقد وجد هذا العالم أن مزارع المكورات العنقودية التي يستولي عليها نوع من العفن يدعى العفن المرقت (*Penicillium Notatum*) قد توقفت عن النمو ولاحظ أيضا أن المكورات العنقودية قد زالت حول كل بقعة من بقع العفن فتكونت دوائر ظاهرة حول العفنات، فكان هذه العفنات تفرز مادة تبيد الجراثيم حولها، ولم تعزل هذه المادة إلا بعد عشر سنين من كشفها.

ومادة البنسيلين مثبطة للجراثيم أكثر منها قاتلة لها، وهي غير سامة، ويمكن إعطاؤها للمرضى بكميات كبيرة جدا دون أن تضر البدن.

أ. أنواع المضادات الحيوية:

تنقسم المضادات الحيوية:

1- مضادات حيوية قاتلة للبكتيريا (Bactericidal) مثل: أمبيسيلين، جنتاميسين، بنسيلين.

2- مضادات حيوية كابحة للبكتيريا (Bacteriostatic) نوع يوقف نمو البكتيريا مثل:

سلفوناميد، كلورامفينيكول .

ب. عمل المضادات الحيوية:

عرف علماء البكتيريا عمل المضاد الحيوي بأنه ذلك التأثير أو الفعالية البيولوجية التي تعمل على كبت أو قتل البكتيريا [98] تختلف المضادات الحيوية في الطرق تبعا لكيفية تأثيرها على البكتيريا [99] .

1- مضادات تعمل على الغلاف الخارجي للبكتيريا :

وهي مضادات تؤثر وتعيق عمل الخلية البكتيرية وبالتالي إيقاف عملها ونموها مثل البنسيلين Penicilline، سيفلوسبورين Cephalasporine، فانكوميسين Vanacomicine، سيكلوسبورين Ciclosporine.

2- مضادات تعمل على الغلاف الداخلي للبكتيريا:

هناك مضادات حيوية تعمل لإذابة الأغشية الخلفية للبكتيريا مثل: نيساتين (Nistatin)

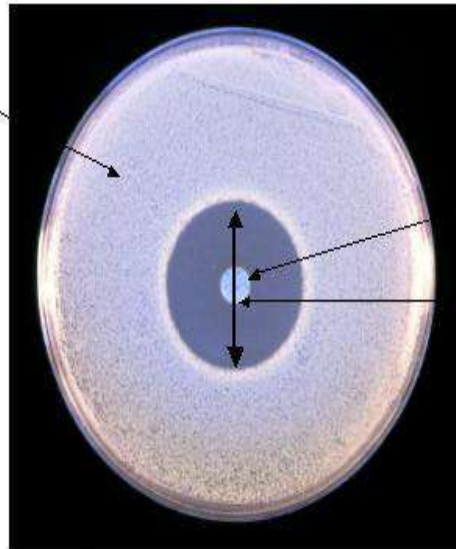
3- مضادات لإيقاف صناعة البروتين:

وهي مضادات حيوية توقف وتعيق ، تؤثر على تكوين وتصنيع بروتين الخلية مثل: سبترين (Septrin).

ج. طريقة تأثير المضاد الحيوي على البكتيريا:

هناك طرق متعددة لمعرفة تأثير الحيوي على البكتيريا والتي تعرف بـ antibiogramme، أشهرها طريقة الانتشار (Méthodes de diffusion) وهي الأكثر استعمالاً في مستشفيات تشخيص الأمراض . والتي تتم في وسط غليكوزي ومن أهم هذه الأوساط ، وسط (Mueller Hinton) وسط حضر في سنة 1941 من طرف Mueller Hinton من أجل تحديد مقاومة أو حساسية بعض الأجناس المضرة من المضادات الحيوية وتحديد التركيز الأدنى لهذا المضاد المؤثر على البكتيريا والذي يعرف بـ (CMI) ، [100]. كما هو مبين في الشكل 7

وسط غني
بالبكتيريا



قرص المضاد الحيوي
ذو التركيز CMI

قطر منطقة
التثبيط لعمل
البكتيريا

الشكل- 34. قرص المضاد الحيوي ذو تركيز CMI

CMI: إنها أصغر تركيز ممكن من المضاد الحيوي. يؤدي وفي خلال 18 إلى 24 ساعة من الحضانة في درجة الحرارة إلى تثبيط النمو أو تضاعف البكتيريا [99،100].

د. استخدام الزيوت الطيارة كمضادات حيوية

في الأصل المضاد الحيوي يضم كل منتج حيوي دقيق (ميكروبيان) الذي حتى بتراكيز قليلة أو ضعيفة يثبط أو يقتل الكائنات الدقيقة .

والآن يستخدم المصطلح بمفهوم أوسع يضم كل المواد الصناعية أو نصف الصناعية والمستخلصات منها النباتية مثل الزيوت الطيارة التي تمتلك هذه الخاصية [101].

هـ. الأمراض التي تسببها الميكروبات المختبرة

تتعرض هذه الأمراض على الإنسان والكائن الحي بصفة عامة وقد تؤدي إلى موته وتبدي بعض

الميكروبات مقاومة للمضادات الحيوية كما مبين في الجدول التالي [102، 103، 104، 105، 106، 107]

الجدول 2. الأمراض التي تسببها الميكروبات المختبرة من طرف الزيت الطيار كمضاد حيوي لها

الأمراض التي تسببها	الميكروبات المختبرة	
غير ممرضة لكن يمكن أن تسبب التهابات في العين	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC6663)	Bactéries à Gram +
التهابات الحنجرة والأنف والأذن	<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC9314)	
تسبب تسلمات قاتلة عادة	<i>Listeria monocytogene</i> (CIP82110)	
-تسبب التهابات معوية وبولية و التهابات سحايا المخ قبل الولادة أو المواليد الجدد - ممرضة للجهاز الهضمي والبولي و تسبب تعفنات للمجاري البولية - ويمكن التعرف عليها عمليا من خلال اختبارات تخمر سكر اللاكتوز، المانيتول و السوربيتول	<i>Escherichia Coli</i> (CIP54.8).	Bactéries à Gram -
-وهي مسؤولة عن عدد كبير من الامراض وعدوى في المستشفيات -غير متحركة وتصيب الجهاز التنفسي والهضمي للإنسان - وتظهر كفاءة عالية في مقاومة العديد من المضادات الحيوية	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (CIP82.91)	
-طفوح جلدية -التهابات الجروح والحروق -التهابات الشعب الهوائية والرئوية -التهابات في الجهاز الهضمي -التهابات بولية وعينية والسحايا	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CIPA22).	
ممرضة للنباتات ومسؤولة عن اورام للكثير من المحاصيل	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> (N°2410)	
التسممات الغذائية	<i>Salmonella enterica</i> (CIP 81.3)	
التهابات عينية وقلبية ورئوية وعصبية وهضمية	<i>Candida albicans</i> (CLM)	
تعفنات وإنتانات	<i>Mucor ramannianus</i> NRRL 6606	

III-1-2. البكتيريا

يطلق اسم البكتيريا (الميكروبات) على مجموعة من الأحياء الدقيقة المجهرية، تقاس أبعادها بالميكرون، ولا تحتوي اليخضور، منها النافع الذي لا تقوم الحياة بدونه، ومنها الضار الذي يعتبر السبب الأول في إزهاق الأرواح، وقد اكتشفها لأول مرة العالم (لويس باستور) 1822-1895 بعد اكتشاف المجهر. تتواجد البكتيريا في كل مكان، في التربة والماء والهواء والأغذية، ونجد الملايين منها على سطح جلدنا وأغشيتنا المخاطية وداخل قناتنا الهضمية، وجهازنا التنفسي. [108،109].

أ. تصنيف البكتيريا

صنف العلماء البكتيريا إلى عدة تصنيفات من أهمها:

1- تصنيف البكتيريا من حيث الشكل

يمكن حصرها بأربعة زمر شكلية أساسية [108،110،111].

- * بكتيريا عصوية (Bacilli) التي تأخذ شكل العصيات تحت المجهر.
- * بكتيريا كروية (Cocci) التي تأخذ شكل الكروي تحت المجهر.
- * بكتيريا حلزونية (Spiral) التي تأخذ شكل الحلزوني تحت المجهر.
- * بكتيريا واوية (Vibrio) التي تأخذ شكل الواو تحت المجهر.

2- من حيث الوسط الذي تعيش فيه

وتقسم إلى ثلاثة أنواع:

- بكتيريا هوائية (Aérobic) وهي البكتيريا التي تعيش في وجود الهواء، وتعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية. [111].
- بكتيريا لا هوائية (Anaerobic) وهي البكتيريا التي تعيش في غياب الهواء.
- بكتيريا لا هوائية اختيارية (Facultative Anaerobic) وهي البكتيريا التي يمكنها العيش والنمو في وجود الهواء أو عدمه.

3- من حيث التغذية

يمكن تقسيمها إلى قسمين:

- بكتيريا ذاتية التغذية : وهي البكتيريا التي تستهلك الكربون من أجل النمو والتكاثر.
- بكتيريا عضوية التغذية : تتحصل على الكربون من تحليل المواد المغذية مثل السكر [111].

4- من حيث طريقة التلوين (غرام)

يوضح الاختلاف في تركيب جدارا لخلية بالتلوين، حسب التقنية المسماة (grams stain) نسبة إلى

العالم J.GRAM، المكتشف سنة 1884، واستنتج نوعين من خلال هذه الطريقة .

- بكتيريا غرام موجب (gram positive) عند تلوينها تمتص اللون وتظهر أرجوانية .
- بكتيريا غرام سالب (gram négative) عند تلوينها تحرر أصبغة وتظهر حمراء [112].

5- من حيث تأثيرها على الإنسان

يمكن تقسيمها إلى نوعين:

- البكتيريا النافعة

وهي التي تقدم خدمات جليلة للإنسان والحيوان والنبات والبيئة. نظرا للتقدم العلمي السريع وخاصة في العلوم التطبيقية أظهرت أن البكتيريا تؤدي دورا هاما في الكثير من الصناعات الغذائية، والدوائية والتخلص من المواد العضوية وغيرها، وكذلك معالجة مياه الصرف الصحي، والمعالجة الحيوية لمخلفات المزارع واستخدامها في إنتاج الطاقة وغاز الميثان [113]. كما تعمل البكتيريا على حماية جسم الإنسان من الكائنات الحية الأخرى المسببة للأمراض.

- البكتيريا الضارة

وهي المسؤولة على العديد من الامراض الدخيلة على الجسم، وهي تنتقل عن طريق العدوى من الأشخاص المرضى، والحيوانات وتلوث الماء والغذاء [113]. تسبب البكتيريا الممرضة، العديد من الأمراض الخطيرة للإنسان. فساد الكثير من الأطعمة تعمل على تسوس الأسنان، بتحويلها لبقايا المواد السكرية على سطح الأسنان إلى حمض اللبن، الذي يعمل على تحليل كالسيوم الأسنان [213].

III-1-3. الخميرة Levure

وهي إحدى شعب مملكة الفطريات أو الكائنات الحية حقيقية النوى. تتميز بأنها تهضم طعامها خارجيا (و ليس داخليا ضمن جوف هضمي) وتمتص الجزيئات المغذية إلى ضمن خلاياها بعد إتمام عملية الهضم وهي فطر وحيد الخلية قادر على إحداث تخمر للمواد العضوية حيوانية أو نباتية وتستخدم في صناعة الخمور والجعة والكحولات الاصطناعية والخبز والمضادات الحيوية مثل البنسلين

III-1-4. الفطر Champignon

هي مخلوقات حية حقيقية النواة غير متحركة لا تحتوي على اليخضور لذلك فهي غير ذاتية التغذية معظمها عديد الخلايا ومنها ما هو وحيد الخلية.

الفصل الرابع: الأعمال الخاصة بجنس

Brocchia و Ruta



1-IV. جنس *Ruta*

ينتمي جنس *Ruta* إلى العائلة السذابية Rutaceae family ، قد يكون هناك 8 إلى 40 نوعا في هذا وهي موزعة في جميع أنحاء العالم ، يوجد 5 أنواع منها في الجزائر وهي *R. graveolens* و *R. angustifolia* و *R. chalepensis* و *R. tuberculata* و *R. montana* [115،114] ، بينما في تونس وإيران تضم فقط نوعين من *Ruta* وهما *R. chalepensis* و *R. graveolens* [117،116] .

1-1-IV. تعريف العائلة المركبة Rutaceae

تتألف عائلة Rutaceae من أكثر من 2000 نوع عبر 160 جنسًا ، معظمها شجيرات وأشجار خشبية. الزهور بشكل عام مبهرجة وعطرة ، والعديد من الأنواع لديها أوراق الشجر العطرية الجذابة. عدد من هذه النباتات ، ولا سيما أعضاء جنس الحمضيات ، هي محاصيل غذائية مهمة ، وبعضها يزرع كزخارف نباتية

2-1-IV. الزيوت الطيارة لجنس *Ruta*

فيما يخص الزيوت الطيارة فقد تمت عدة دراسات عبر أنحاء العالم لجنس *Ruta* في البلدان التي تنمو بها خصوصا في تونس [121،120،119] وكذلك في الجزائر [115،114] وكذلك في إيطاليا [118] وكذلك في البرازيل [122] وكذلك في إيران [123] وكذلك في المغرب [124] وفي تركيا [125] وكذلك في الأردن [126].

أما أهم الأنواع التي تمت دراستها نذكرها وهي: *Ruta graveolens* و *Ruta angustifolia* و *R. chalepensis* و *R. tuberculata* و *R. montana* ، والجدول التالي يجسد الاختلاف في النمط الكيميائي لنفس النوع والمردود المتحصل عليه في كل دراسة، وكذلك أهم المركبات الكيميائية الموجودة وطرق الاستخلاص والأجزاء المستعملة منها.

الجدول 3. تغيرات النمط الكيميائي لجنس *Ruta*

المرجع	النمط الكيميائي (المركبات الساندة) %	المردود %	طريقة الاستخلاص والمدة	الجزء المستعمل	النبذة	البلد
[118]	1. 2-Undecanone 46.8 2. 2-Nonanone 18.8 3. α -pinene 1.3 4. limonene 3.0 5. 1,8-cineole 2.9 6. 2-Decanone 2.2 7. tridecan-2-one 2.5	0.74	التقطير المائي 3سا	الجزء الهوائي	<i>Ruta graveolens</i>	إيطاليا

تلمسان	<i>Ruta angustifolia</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي 3سا	1.49	1. 2-Undecanone 82.46 2. 2-Decanone 10.03 3. 2-Dodecanone 1.51	[114]
عناية الجزائر	<i>R. graveolens</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي 3سا	0.18	1. 2-Undecanone 55.4 2. 2-Nonanone 21.62 3. 1-Nonene 4.35 4. α -Limonene 4.26 5. 5,6-Diethenyl-1-methyl-cyclohexene 3.24 6. 1-Tetradecanol methacrylate 2.22	[114]
عين تيموشنت الجزائر	<i>R. chalepensis</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي 3سا	0.9	1. 2-Nonanone 32.79 2. 2-Undecanone 32.58 3. 1-Nonene 13.95 4. α -Limonene 5.27 5. 1-Tetradecanol methacrylate 3.29	[114]
بشار الجزائر	<i>R. tuberculata</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي 3سا	0.11	1. Piperitone 13.62 2. trans-p-Menth-2-en-1-ol 13.14 3. cis-p-Menth-1-en-3-ol (cis-Piperitol) 12.31 4. cis-p-Menth-2-en-1-ol 11.22 5. Germacrene-B 7.32 6. 3-Carene 5.45 7. trans-p-Menth-1-en-3-ol 4.12	[114]
تونس	<i>R. chalepensis</i>	الأوراق المزروعة	التقطير المائي 3سا	1.73	1 2-Nonanol 45.11 2. 2-Undecanone 36.58 3. Limonene 4.16 4. Trans-Linalool oxide 3.6	[119]
تونس	<i>R. chalepensis</i>	السيقان المزروعة	التقطير المائي 3سا	-0.39 0.57	1. 2-Undecanone 33.54 2. 2-Nonanol 28.05 3. 2-Decanone 21.56 4. α -Terpenyle acetate 3.88 5. Limonene 2.92	[119]

تونس	<i>R. chalepensis</i>	الأزهار المزروعة	التقطير المائي 3سا	-0.49 0.66	1. 2-Undecanone 60.46 2. 2-Nonanol 21.45 3. Trans-Linalool oxide 3.58 4. 2-Decanone 3.11 5. 2-Dodecanone 2.80 6. Tridecanone 1.97	[119]
تونس	<i>R. chalepensis</i>	البذور المزروعة	التقطير المائي 3سا	2.46	1. 2-Dodecanone 60.46 2. 2-Nonanol 11.59 3. Linalyl acetate 1.93 4. Limonene 1.22	[119]
تونس	<i>R. chalepensis</i>	الأوراق البرية	التقطير المائي 3سا	1.73	1. 2-Undecanone 33.54 2. 2-Nonanol 28.05 3. 2-Decanone 21.56 4. α -Terpenyle acetate 3.88 5. Limonene 2.92 6. Tridecanone 1.97 7. Camphor 1.72 8. Trans-Linalool oxide 1.58	[119]
تونس	<i>R. chalepensis</i>	السيقان البرية	التقطير المائي 3سا	-0.39 0.57	1. 2-Nonanol 40.47 2. 2-Undecanone 26.68 3. 2-Dodecanone 13.62 4. p-Cymene 4.90 5. 2-Nonanone 2.39 6. cis-Linalool oxide 1.87	[119]
تونس	<i>R. chalepensis</i>	الأزهار البرية	التقطير المائي 3سا	-0.39 0.57	1. 2-Undecanone 44.14 2. 2-Nonanol 36.40 3. Trans-Linalool oxide 6.40 4. Limonene 2.67 5. α -Terpenyle acetate 2.40 6. 2-Decanone 1.60 7. 2-Nonanone 1.58	[119]
تونس	<i>R. chalepensis</i>	البذور البرية	التقطير المائي 3سا	1.73	1. 2-Undecanone 41.06 2. Trans-Linalool oxide 36.80 3. 2-Dodecanone 5.79 4. Linalool 2.72	[119]

					5. Limonene 2.42 6. inalyl acetate 1.65 7. Tridecanone 1.51	
صديرة تونس	<i>R. chalepensis</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي سا4	1.25	1. Octyl acetate 33.16 2. 2-Undecanone 23.82 3. 2-Nonanone 16.97 4. Decyl acetate 9.89	[120]
صديرة تونس	<i>R. chalepensis</i>	الجزء الهوائي	التقطير بالبخر سا4	1.25	1. 2-Nonanone 41.61 2. Octyl acetate 32.88 3. 2-Undecanone 15.07 4. Decyl acetate 4.05 5. 2-Nonanol 2.37 6. 2-Octyl acetate 1.93 7. 2-Decanone 1.24	[120]
توجان تونس	<i>R. chalepensis</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي سا4	2.32	1. Octyl acetate 28.61 2. 2-Undecanone 22.59 3. 2-Nonanone 14.11 4. Decyl acetate 10.48 5. Isomaturin 2.64 6. 2-Decanone 1.49 7. 2-Dodecanone 1.38	[120]
توجان تونس	<i>R. chalepensis</i>	الجزء الهوائي	التقطير بالبخر سا4	2.32	1. 2-Nonanone 24.38 2. Octyl acetate 24.22 3. Di(ethylhexyl) phthalate 12.73 4. 2-Undecanone 12.43 5. Hexadecanoic acid 10.2 6. Decyl acetate 4.79 7. 2-Nonanol 3.57	[120]
الفحص تونس	<i>R. chalepensis</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي سا3	5.51	1. 2-undecanone 77.18 2. 2-decanone 8.96 3. 2-dodecanone 2.37	[121]
البرازيل	<i>R. chalepensis</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي سا3	0.77	1. 2-undecanone 47.21 2. 2-nonanone 39.17	[122]
المدينة الجزائر	<i>R. montana</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي سا3	0,8	1. 2-Undecanone 94 2. 2-Decanone 3.3	[115]

طهران ايران	<i>R. graveolens</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي سا3.5	0.4	1. 2-undecanone 33.9 2. 2-Heptanol acetate 17.5 3. ,1-dodecanol11.0 4. geyrene10.4 5. 2-nonanone8.8	[123]
مراكش المغرب	<i>R. chalepensis</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي سا3	0.56	1. 2-undecanone 49.08 2. 2-nonanone 33.15 3. limonene 4.19 4. decanone 2.71	[124]
تركيا	<i>R. chalepensis</i>	السيقان	التقطير المائي سا3	0.46	1. 2-undecanone 66.49 2. 2-nonanone 16.24	[125]
الأردن	<i>R. graveolens</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي سا4	0.27	1- 2-nonanone (37.13%) 2- undecanal (34.69%) 3- 2-acetoxydodecane (5.0%) 4- 2-decanone (3.31%)	[126]

نلاحظ أن أغلب طرق استخلاص الزيت الطيار الخاص بنوع *Ruta* هي التقطير المائي، وأن أهم جزء مستعمل فيها هو الجزء الهوائي، وتدوم مدة الاستخلاص أغلبها 3 ساعات، وفيما يخص تغيرات النمط الكيميائي أو المركب السائد لجنس *Ruta* تشترك في 2-Undecanone بنسب مختلفة حيث تشكل أكبرها 94% في *Ruta montana* بالمدينة وأقلها 12.43% في *R. chalepensis* المتواجدة في توجان بتونس وأغلب جنس *Ruta* تشترك في المركبات التالية :

2-Nonanone و 2-Nonanol و 2-Decanone و 2-Dodecanone و α -Limonene ، وتختلف فقط في النسبة حيث تشكل *R. chalepensis* أعلى النسب لـ 2-Nonanone وتمثل 41.61% بالصدية في تونس بالتقطير البخاري و39.17% بالبرازيل بالتقطير المائي وكذلك أعلى نسب 2-Nonanol وتمثل 45.11% بالنسبة للأوراق لـ *R. chalepensis* المزروعة بتونس وأعلى النسب لـ 2-Decanone وتمثل 21.56% بالنسبة للأوراق البرية والسيقان المزروعة لـ *R. chalepensis* بتونس وأعلى نسبة لـ 2-Dodecanone وتمثل 13.62% للسيقان البرية لنفس النبتة وأعلى نسبة لـ α -Limonene 5.27% لنفس النبتة المتواجدة في عين تيموشنت أما فيما يخص المردود المتحصل عليه أعلى نسبة له هي 5.51% لـ *R. chalepensis* بتونس على العموم يتراوح بين 0.11% إلى 2.46% ، أما فيما يخص المجموعات

الكيميائية بالنسبة للمركبات السائدة أغلبها ينتمي إلى عائلة الكيتونات وهي: 2-Undecanone و 2-Nonanone و 2-Decanone و 2-Dodecanone و tridecan-2-one و Tridecanone و .
Piperitone و tridecan-2-one وكذلك إلى عائلة الكحولات وتتمثل في: 2-Nonanol و 1,8-cineole و 1-dodecanol وكذلك المونوترربينات الهيدروجينية المتمثلة في α -Limonene و α -pinene وكذلك الأسترات الممثلة في: α -Terpenyle acetate و inalyl acetate و Octyl acetate و Decyl Heptanol acetate و acetate

3-1-IV. *Ruta graveolens* سذاب

أ. تعريف نبتة *Ruta graveolens*

هي السذاب المخزني، الفيجن، الفيجل، الفيجن النتن، أبو غنس، ويسمى عندنا الفيجل، الفيجلة، وفي مصر الفيجن وبالأمازيغية أورمي، إيسن، أروما، زنت، وعند القدماء السذاب، وهو من المفردات المستعملة في الطبابة منذ القدم، حيث يذكر عنها الطبيب الإغريقي بقراط أنها من العقاقير الداخلة في صناعة الترياق ضد سموم الأفاعي، ويقول الرازي أن السذاب يدخل في تركيب ترياق الحلتيت ضد السموم الباردة. وقال ابن الجزار أن السذاب (بالدال) هو الفيجن منه البري والبستاني والبري أقوى. وقال الأنطاكي السذاب المعجمة هو الفيجن باليونانية، وأشتق الاسم *Ruta* من اليونانية Rhutos بمعنى حجاب أو تميمة إشارة إلى استعماله التقليدي كعلاج نوعي Antidote للسحر، لهذا دعي قديما بعشبة الكهان [214] وتعرف الـ Rue، [127].

ب. التصنيف النباتي لـ *Ruta graveolens*

العائلة: السذابية Rutaceae [130، 129، 128]

الجنس: *Ruta*

النوع: *Ruta graveolens*

النطاق: حقيقيات النوى

المملكة: النباتية

الشعبة: البذريات

الشعبية: مستورات البذور

الرتبة: الصابونيات

الإسم المحلي: السذاب أو الفيجل

الشكل-35. السذاب *Ruta graveolens*



ب- وصفها: عشبة معمرة، برية وبستانية، من فصيلة السذابيات، موزعة بشكل واسع على حوض البحر الأبيض المتوسط [132، 131] ولكنها تتوزع في أوروبا وكثير من الدول الآسيوية مثل الهند واليابان والصين [127]. وتنبت في أماكن جافة وصخرية

وهي عشبة دائمة ، كريهة الرائحة، لاذعة، حريفة، تعلق أقل من المتر مستقيمة الساق الليفية، المتصلبة، الفرعاء في جزئها الأعلى، المرطاء، أوراقها منقطة بغدد متعاقبة، مركبة، سبطية، نصلها عميق التفريص، لونها الى الخضرة المائل الى الزرقة، أزهار نجمية صفراء اللون خنثوية، خماسية السبلات، المقعرة الشكل، المتجمعة الصفحة، مسننة الحافة، خماسية البتلات تتراوح أسديتها من 8 الى 10 ، متراسة على قرص سميك، محيطة بالبويض الخارج منه قلم يعلوه ميسم بسيط . أزهارها هامى الارتكاز يخرج في أوت ويخلف بذورا في القم [131,132,133,134,135,214] .

ج - الاستخدامات الطبية : مدر للبول والطمث، معرق، طارد للديدان، منق العروق، مزيل للروائح الكريهة وصديد المعادن، وينفع من الصرع وأنواع الجنون كيفما استعملت وشرب 3 غرامات منه كل يوم يبرئ من الفالج واللقوة والرعدة والتشنج ، وإذا طبخ السذاب في الزيت فتح الصم وأذهب الدوي والطنين قطورا، ويعجن مع العسل ويتضمد به لوجع المفاصل ويضمد به مع التين لمرض البروستات ، وعصارته المخلوطة بالشمع تزيل داء الثعلبة طلاء على الرأس . [214]

أما زيت العطري فيستعمل لإزالة الضغط الدموي وأمراض الجلد والتهابات الأنف [137,136,131] ، وكانت عدة دراسات هامة لهذا الزيت فهو يحتوي على مثبطات ومضادات الهرمونات الذكورية [138] ، وقاتلة للخلايا ، ومضادة للنشاط الفطر [139,140] وإيقاف تقطيع الشعيرات الدموية المسبب للنزيف ، والشربة من هذا الزيت لا تتعدى 0.2 غ ثلاث مرات في اليوم، ودهن السذاب له منافع كثيرة وقد جربناه فأعطى نتائج في غاية النفع ضد وجع الظهر والورك والمثانة والساقين طلاء، وأوجاع الأذن قطورا، ويحضر كالآتي : 100 غ من السذاب الطري المزهر توضع في وعاء زجاجي ويصب عليه 500 غ من زيت الزيتون ثم يترك في الشمس شهرا كاملا مع خلطه من يوم الى آخر، ثم يصفى ليحتفظ بالزيت وترمى الثفالة ثم يرفع ويستعمل . [214]

وفي المغرب يبخرون بالسذاب مع الحرمل وبذور الكسير والقطران ضد الصرع والعين. أما ضد أمراض الكبد فيشربون مقدار كأسين في اليوم من نقيع السذاب . [214]

Ruta graveolens توجد بها مادة الفيرانوكيمارينس وهي موجودة في أربع أنواع من *Ruta* والدراسة تمت لمعرفة إنتاج هذه المادة من *Ruta graveolens* لكونها تستخدم في علاج الأمراض الجلدية وخاصة البهاق [141].

هـ. أضرار نبتة الـ *Ruta graveolens*

وبما أن السذاب من النباتات السامة المنفطة يجب أخذه بحذر خاصة داخليا بحيث لا تتعدى الشربة الواحدة من نقيعه : 2 غ من الأوراق لكل كأس من الماء المغلي مرتين في اليوم لمدة 5 الى 10 أيام، أما الاستعمالات الخارجية فيطبخ من 30 الى 40 غ في لتر من الماء، والإكثار من أكله يبيلد الفكر شأنه في ذلك سائر العقاقير التي لها رائحة كريهة ، وقد يؤدي الى التسمم والإجهاض بل حتى الموت [214].

IV-2. جنس *Brocchia* أو *Cotula*

جنس *Brocchia* الذي يحتوي على 80 نوعا منتشرة بكثرة في النصف الجنوبي و متمثلة بثلاث أنواع في الجزائر التي من بينها *Brocchia C* تابع للعائلة المركبة ، وكذلك *C. coronopifolia* و *C. anthemoides*

IV-2-1. تعريف العائلة المركبة *Asteraceae*

وهي كثيرة الانتشار في المملكة النباتية [142] ومعظمها نباتات عشبية حولية أو معمرة ، والبعض الآخر يشكل نحو 2% أشجارا أو شجيرات تضم حوالي 800 جنس 20000 نوع موزعة في مناطق العالم جميعها تمثل 10% من نباتات العالم [143] منها جنس *Brocchia* ، حيث تنتشر هذه العائلة في المناطق الاستوائية والمعتدلة وعادة ما تنمو في المناطق الجافة أو شبه الجافة، تتميز بعض نباتاتها باحتوائها اللبني النباتي [144]، وقد توصلت الأبحاث الحديثة أن لهذه النباتات أهمية طبية ودوائية كبيرة ، وتعتبر هذه الفصيلة أرقى الفصائل وأكبرها عدد وأكثرها انتشارا [143] .

IV-2-2. الزيوت الطيارة لجنس *Brocchia* أو *Cotula*

فيما يخص الزيوت الطيارة فقد تمت عدة دراسات عبر أنحاء العالم لجنس *Brocchia* في البلدان التي تنمو بها خصوصا في الجزائر [145,146,147] وفي تونس [148] وكذلك في مصر [149] وأخرها المغرب [150,151] .

أما أهم الأنواع التي تمت دراستها نذكرها وهي: *C. cinerea* و *C. coronopifolia* و *C. anthemoides* ، والجدول التالي يجسد الاختلاف في النمط الكيميائي لنفس النوع والمردود المتحصل عليه في كل دراسة، وكذلك أهم المركبات الكيميائية الموجودة وطرق الاستخلاص والأجزاء المستعملة منها.

الجدول 4. تغيرات النمط الكيميائي لجنس *Brocchia*

المرجع	النمط الكيميائي (المركبات السائدة) %	المردود %	طريقة الإستخلاص والمدة	الجزء المستعمل	النبتة	البلد
[145]	1. (E)-citral 24.01 2. limonene epoxide cis- 18.26 3. thymol methyl ether 15.04 4. carvacrol 15.03 5. trans-carveol 13.79 6. carvone 3.06 7. trans-piperitol 2.54	0.282	التقطير المائي 6سا	الجزء الهوائي مجفف	<i>C. cinerea</i>	بشار الجزائر
[148]	1. β-Agrofurane 9.65 2. Agarospirol 10.4	11.34 × 10 ⁻³	التقطير المائي 5-6سا	أوراق غير مجفف	<i>C. coronopifolia</i>	Monastir تونس

					<p>3. Ethyl oleate 7.22</p> <p>4. Heptacosane 6.19</p> <p>5. Cinnamyl caproate 5.94</p> <p>7. Nanocosane 3.14</p> <p>8. 1-Docosene 2.75</p>	
Monastir تونس	<i>C. coronopifolia</i>	أزهار غير مجفف	التقطير المائي 6-5سا	39.35×10^{-3}	<p>1. Hexacosane 31.7</p> <p>2. Ethyl octadecanoate 21.7</p> <p>3. Acorenone 4.5</p> <p>4. Ethyl oleate 4.1</p> <p>5. Linoleic acid 3.3</p> <p>6. Heptacosane 3.3</p> <p>7. γ-cadinene 2.9</p> <p>8. Totarol 2.7</p> <p>9. Triacontane 2.7</p> <p>10. 1-Docosene 2.6</p> <p>11. Cinnamyl coproate 2.5</p>	[148]
Monastir تونس	<i>C. coronopifolia</i>	السيقان غير مجفف	التقطير المائي 6-5سا	$\times 4.05 \times 10^{-3}$	<p>1. 1-Eicosanol 17.1</p> <p>2. Benzyl benzoate 10.6</p> <p>3. Triacontane 7.6</p> <p>4. γ-Amorphen 5</p> <p>5. Ethyl oleate 4.4</p> <p>6. Acorenone 3.3</p> <p>7. Heptacosane 3.3</p> <p>8. Dodecanoic acid 3.1</p> <p>9. Cinnamyle cinnamate 3</p> <p>10. Phytol acetate 2.9</p> <p>11. Heptacosane 2.2</p>	[148]
Monastir تونس	<i>C. coronopifolia</i>	الجزور غير مجفف	التقطير المائي 6-5سا	$\times 1.23 \times 10^{-3}$	<p>1. Heptacosane 28.4</p> <p>2. 1-Eicosanol 14.6</p> <p>3. Octacosane 5.4</p> <p>4. α-Amorphen 5.2</p> <p>5. Hexacosane 3.7</p> <p>6. Triacontane 3.3</p> <p>7. Ethyl oleate 3</p> <p>8. Methyl octadecanoate 2.8</p>	[148]

					9. Ethyl octadecanoate 2	
مصر	<i>C. cinerea</i>	الجزء الهوائي مجفف	التقطير المائي سا3	0.30	1 Camphor 50.1 2. Thujone 14.4 3. Camphene 9.8 4 α -Pinene 7.7 5. 1, 8-Cineole 3.4	[149]
الوادي الجزائر	<i>C. cinerea</i>	flowering الإزهار مجفف	التقطير المائي سا5	0.080	1. 3-Carène 30.99 2. Thujone 21.73 3. Santolina triene 18.58 4. Camphor 6.21 5 Eucalyptol 2.79 6. tricyclo[3.3.1.0(6,8)]nonan-2'-one] 2.98 7. Terpinen-4-ol 3.64 8. ρ -Menth-1-en-8-ol 3.01 9. Trans-Pinocarveol 1.28	[146]
الوادي الجزائر	<i>C. cinerea</i>	Fruiting الإثمار مجفف	التقطير المائي سا5	0.391	1. Thujone 28.78 2. 3-Carène 15.90 3. Eucalyptol 15.13 4. Santolina triene 13.38 5. Camphor 7.49 6. M-Cymene 3.34 7. tricyclo[3.3.1.0(6,8)]nonan-2'-one] 3.31 8. 4(10)-Thujen-3-ol, stereoisomer 1.47 9. Terpinen-4-ol 4.26 10. p-Menth-1-en-8-ol 1.65	[146]
Moroc	<i>C. cinerea</i>	الجزء الهوائي مجفف	التقطير المائي سا4	0.64	1. iso-3-thujanol 47,38 2. santolina triene 11,67 3. amphre 10,95 4. santolina alcohol 7,68 5. borneol 5,49 6. neo-iso-3-thujanol 3,74 7. β -pinene 2,98	[150]
Moroc	<i>C. cinerea</i>	الجزء الهوائي مجفف	التقطير المائي سا3	0.87	1. thujone 41.4 2 cis-verbenyl acetate 24.7	[151]

					3. 1,8-cineole 8.2 4. santolina triene 7.2 5. camphor 5.5	
الجزائر	<i>C. anthemoides.</i>	الجزء الهوائي مجفف	التقطير المائي سا3	0.7	1. camphor (27.4%), 2. santolina triene (13.0%), 3. thujone (12.9%), 4. camphene (10.7%), 5. α -curcumene (5.3%) 6. α -Pinene 4.4 7. β -Cymone 3.7 8. Bornyl acetate 3.6 9. p-Menth-1-en-4-ol 3.6 10. β -Phellendrene 2.2 11. β -Pinene 1.6	[147]

نلاحظ أن طرق استخلاص الزيت الطيار الخاص بنوع *Brocchia* هي التقطير المائي، وأن أهم جزء مستعمل فيها هو الجزء الهوائي، وتدوم مدة الاستخلاص بين 3 إلى 6 ساعات، وفيما يخص تغيرات النمط الكيميائي أو المركب السائد لجنس *Brocchia* تشترك في Camphor بنسب مختلفة حيث تشكل أكبرها 50% في *C. cinerea* بمصر وأقلها 5.5% في نفس النبتة المتواجدة في المغرب وكذلك thujone أكبر نسبة له 41.4% في المغرب وأقلها 6.21% في الوادي بالجزائر بالنسبة لـ *C. cinerea* وهذا بالنسبة للأجزاء الهوائية المختلفة الجافة لهذه النبتة أما بالنسبة لنبتة *Cotula coronopifolia* غير المجففة التي أجريت لها الدراسة في المنستير بتونس فنلاحظ أن الزيت الطيار يختلف في مكوناته حسب أجزاء النبات الهوائية المتمثلة في الأوراق والسيقان والأزهار والجزء التراي المتمثل في الجذور، بالنسبة للأوراق أكبر النسب لـ Agarosprol هي 10.43% ثم تليها 9.65% لـ β -Agrofurane. أما السيقان فأكثر النسبة فيها لـ 1-Eicosanol و Benzyl benzoate تمثلا 17.1% و 10.6% على الترتيب، أما الأزهار أكبر النسب فيها هي 31.7% لـ Hexacosane و 21.7% لـ Ethyl octadecanoate أما الجذور أكبر نسبها في Heptacosane 28.4% و 1-Eicosanol 14.6%. أما فيما يخص المردود المتحصل عليه أعلى نسبة له هي 0.87% بالنسبة لـ *C. cinerea* المتواجدة في المغرب ويكون ضعيف خاصة عند *Cotula coronopifolia* المتواجدة في المنستير بتونس وهذا في كل أجزائها غير المجففة حيث يتراوح بين 1.23×10^{-3} و 39.35% أما فيما يخص المجموعات الكيميائية بالنسبة للمركبات السائدة أغلبها ينتمي إلى عائلة الكيتونات.

IV-2-3. الشيحة *Brocchia .C*أ. تعريف نبتة *Brocchia .C*

يختلف اسم هذه النبتة من منطقة الى منطقة أخرى ومن أهم هذه الأسماء :

الاسم بالعربية : شيحة الإبل ، الشيحية، القرطوفة ، الشويحية ، الروبيطة [152]

الاسم العلمي : *Brocchia .Cinerea vis* مرادفه *Cotula .Cinerea Del* [153]

الاسم بالفرنسية : Comomille du sahara

الاسم بالإنجليزية : Saharan camomile [154]

ب. التصنيف النباتي لـ *Brocchia Cinerea*

العائلة : النجمية Asteraceae [155]

الجنس: *Brocchia*

النوع : *Brocchia Cinerea*

النطاق : حقيقيات النوى

المملكة : النباتية

الشعبة : البذريات

الشعبية : مستورات البذور

الرتبة : النجميات

الإسم المحلي: شيحة الإبل أو الشيحة

ج/- الوصف النباتي لـ *Brocchia .C*

هي عبارة عن نبتة تنمو في المناطق الجافة متواجدة بكثرة على الأراضي الرملية والصحراوية [156، 157] من بين هذه الأراضي منطقة وادي سوف ، تنمو في الربيع ويزهر في نهاية هذا الفصل ، الشيحية معروفة برائحتها القوية وهي رائحة زكية تشبه رائحة الشيح وهي نبتة عشبية حولية [158]، كثيرة الزغب سيقانها متشعبة ومنتصبة [159] ، وهي متوسطة الطول تتراوح بين 10 الى 40 سم ، أقطارها ما بين 6 الى 7 مم ، أوراقها سميكة ومخملية البشرة مائلة الى البياض [160]، وأن لديها أغصان خضراء مبيضة مغطاة بزغب قصير وكثيف، أوراق مخملية صغيرة الورقة الواحدة مفصصه من ثلاث الى سبع أسنان ، وتوجد في قمة النصل نواراة صفراء [158] .



الشكل-36. الشيحة *Brocchia Cinerea*

د-الاستعمالات الطبية لـ *Brocchia .C*

كما في باقي مناطق المغرب ، تستخدم *Brocchia .C* في الطب الشعبي الجزائري كمضاد للالتهاب ، ومسكن للألام ومخفض للحمى ، وفي علاج الكثير من الأمراض بما فيها المشاكل الهضمية كالإسهال والإمساك والتهابات المسالك البولية والرئوية .
هي مرغوبة بكثرة في الشاي الأخضر أو كتابل في بعض الأطعمة [162,161].
في الصحراء الجزائرية خاصة الجهة الشرقية الجنوبية (وادي سوف ، ورقلة) تستخدم هذه النبتة لعلاج الإسهال الحاد ، والتهاب المفاصل والعقم [163,162] .
لها استعمال خارجي كضمادات على الجبين لإسكان الحمى ، وكذلك في النزلات الرئوية والروماتيزم [154] ، نافعة لضربة الشمس والصداع النصفي [160] ، وتستعمل كمطهر [156، 164] .

3-IV. القدرة المضادة للتأكسد لكل من *Ruta .G* و *Brocchia .C*

منذ 1980م ظهر اهتمام بالغ للبحث واستخدام مضادات الأوكسدة الطبيعية عوضا عن المصنعة ذلك بناء على طلب المستهلك للإضافات الطبيعية الغذائية التي ازداد الانتغال حولها لأنها أقل ضررا من استخدام مضادات الأوكسدة المصنعة [166،165]، حيث أجريت عدة دراسات لاكتشاف مضادات التأكسد الطبيعية منها حمض الأسكوربيك والتكوفيرول وهما أهم مضادات التأكسد الموجودة في الأسواق.
وتوجد مصادر طبيعية أخرى لمضادات التأكسد تشمل الكاروتنويد، الفلافونويد، أحماض أمينية البروتينات، تفاعل مايار، الفوسفوليبيدات والستيرولات والإنزيمات، الكثير من مضادات التأكسد الفينولية والتي تقوم بعمليات التأكسد ولديها مقدرة على التخفيض من التأكسد الذاتي اكتشفت في مصادر نباتية ومستخلصاتها [168،167] .

أغلب المقالات العلمية تؤكد أن السبب في الفعل المضاد للتأكسد هو وجود المركبات الفينولية مثل الفلافونويدات، والأحماض الفينولية والفينولات ثنائية التربين.
إن الوظيفة المضادة للتأكسد عند الكثير من النباتات قد درست [170،169]، ولكن للعلم إكليل الجبل والسويقة هما الوحيدان الذين تتوفر في السوق كمستخلصات مضادة للتأكسد دون طعم أو رائحة أو لون.
لقد أظهرت العديد من الدراسات أن معظم المواد المضادة للتأكسد موجودة في النباتات، غير أن هناك بعض الزيوت الطيارة جربت، على أنها تؤخر تأكسد الدهون، مثل التي تحتوي على Eugenol و Isoeugenol و Thymol و Carvacrol وغيرها من المركبات الفينولية ذات وظيفة مضادة للتأكسد العالية، ولكن هذه المركبات محددة الاستخدام نظرا لطبيعتها العطرية [171]، ومستخلصات الأستون العديمة الرائحة عند بعض النباتات تذكر على أن لديها خصائص مضادة للتأكسد مقارنة مع Oleoresins (أستونات صمغية) من نفس النوع [172،171]، وهذا يرفع من احتمال استخدام بقايا مستخلص الزيوت الطيارة كمصدر قيم لمضادات التأكسد.

وهناك العديد من الطرق لقياس درجة التأكسد مثل تغيير رائحة الشحوم والزيوت والتي درست بشكل جيد من ناحية الجودة [173]، ولحد علمنا لم ينشر أي عمل عن الخاصية المضادة للتأكسد للزيت الطيار لـ *Brocchia .C* و *Ruta .G* بالطرق الموضحة في الجزء العملي لهذا كان هدفنا هو تقييم هذه الخاصية.

4-IV . النشاط المضادة للمكروبات لكل من *Brocchia .C* و *Ruta .G*

1-4-IV . النشاط المضادة للمكروبات لـ *Brocchia .C*

أجريت دراسة من طرف محمد مركوك وآخرون في المغرب على عينات من البكتيريا بإضافة مستخلص من *Brocchia .C* لتحديد التركيز الأدنى المثبط CMI لها، بعد حضن العينات البكتيريا 24 سا ، وتكرر كل اختبار 3 مرات [157] والنتائج موضحة في الجدول التالي :

Species النوع	Strain السلالة	Ethyl acetate extract	n-Butanol extract	Novobiocine (standard)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	456-2	200	12	1
<i>Pseudomonas savastanoui</i>	T12-10	200	100	1
<i>Pseudomonas savastanoui</i>	73-29/88	200	50	1
<i>Bacillus sp.</i>	VP5	200	25	20
<i>Bacillus brevis</i>	VP7	200	25	20
<i>Bacillus sp.</i>	326	200	25	20
<i>Bacillus sphaericus</i>	324	200	200	20
<i>Bacillus sp.</i>	459-1	200	12	20

الجدول 5. CMI لمستخلص *Brocchia .C*

مستخلص Ethyl acetate فقد أظهر تأثير ضد جميع الجراثيم التي تم اختبارها حيث كان التركيز الأدنى المثبط 200µg/ml جميعها. وقد اثبت المستخلص n-Butanol فعالية كبيرة للغاية اتجاه جميع عينات البكتيريا ، خاصة ضد *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus sp.* 459-1 ، حيث كان CMI 12 µg/ml

أجريت دراسة كذلك من طرف محمد مركوك وآخرون في مراكش بالمغرب للنشاط المضاد للبكتيريا المسببة للأمراض لنباتة *Brocchia .C* ، حيث جمعت عينة من هذا النبات في معشبة كلية العلوم واستخدم مستخلص هذا النبات المجفف بتجريبه على 21 من الفئران السويسرية البيضاء وزنها يتراوح بين (20-22) غ وتم حضن الفئران في أقفاص بلاستيكية عند درجة الحرارة من 22-24 درجة مئوية ، وحرموها من الطعام لمدة 14 ساعة قبل الاختبار [174].

حيث أجريت عملية الاختبار بثلاث مستخلصات لهذه النبتة ، مستخلص ethyl ether ، ethyl acetate ، n-butanol ،

حيث أظهرت الجرعات المحقونة (10ml/kg) للفئران من المستخلصات سمية حادة ، فقد مات عدد الفئران وأخرى ظهر عليها أمراض سريرية مختلفة .

Oral dose (g/kg)	Number of animals	Clinical symptoms (decrease of weight, oedema, hair loss, convulsion)/No. tested					
					Mortality		
		EE	EAc	EB	EE	EAc	EB
Vehicle control (10 mL/kg)	6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
1	6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
2	6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
3	6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
4	6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
5	6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
6	6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6

EE, ethyl ether extract;
EAc, ethyl acetate extract;
EB, *n*-butanol extract.

الجدول 6- السمية الحادة لمستخلص *Brocchia .C*

لم تظهر عينة الفئران المدروسة اعراض للسمية (نقص في الوزن، تشكل بلغم، تساقط الشعر، تشنجات) فلا توجد وفيات بين الفئران كما كان سلوكها طبيعيا في الجرعات من (1-6g/kg) ، أي أن الفئران تتحمل أعلى تركيز الذي يوافق 6g/kg في الجرعة كما هو موضح في الجدول 6. أظهرت النتيجة ان *Cotula .c* تنتج مادة مسكنة للألام تشبه حمض الساليساليك. أكثر من ذلك أن الفئران تحملت جيدا جرعات تعدت 6g/kg .

أجريت دراسة كذلك من طرف محمد مركوك وآخرون في مراكش بالمغرب [175]

اختبار سلالات	Essential oil			Fluconazol		
	ZI ^a	CMI ^b	MCC ^b	ZI ^c	CMI ^d	MCC ^d
<i>C. albicans</i> CCMM L4	25.3±0.6	3.2	5.9	26.3±1.2	24	24
<i>C. albicans</i> CCMM L5	20.3±0.6	4.7	5.9	28.7±0.6	24	24
<i>C. krusei</i>	19.3±0.6	4.7	5.9	25±0	32	32
<i>C. glabrata</i>	21.3±1.5	4.7	5.9	26±0	32	32
<i>C. parapsilosis</i>	24.3±0.6	3.2	5.9	28±0	24	24

الجدول 7 : النشاط المضاد للخمائر للزيت الأساسي لـ *Brocchia .C*

حيث ZI: قطر منطقة التثبيط (mm) بما في ذلك قطر القرص 6 mm

CMI: تركيز الأدنى المثبط و MCC: التركيز الأدنى للخميرة

a: اختبار تركيز 10 ميكرو لتر / قرص

B: القيم الممنوحة ملغ / مل.

c: اختبار تركيز 40 ميكرو غرام / قرص.

d القيم الممنوحة على شكل ميكروجرام / مل.

أظهر الزيت الأساسي نشاط قوي ضد كل اختبار الخمائر (الجدول 7) ، مع مناطق التثبيط ضد اختبار أنواع كنديدا (الخمائر) تتراوح بين 19.3 إلى 25.3 ملم ومع قيم CMI تتراوح من 3.2 إلى 4.7 ملجم / مل. أظهرت النتائج أن جميع قيم MCC كانت أكبر بدرجتين من قيم CMI .

قيم CMI للـ Fluconazol المكتسبة في دراستنا أعلى بالمقارنة مع العمل السابق [176] ، والتي ذكرت قيم تتراوح من 3 إلى 6 µg / mL من أجل *C. albicans* ، 2.5 إلى 4 µg / mL لـ *C. glabrata* من 5 إلى 7.5 µg / mL من أجل *C. Parapsilosis* . على حد علمنا ، فإن النشاط المضاد للخمائر للزيت العطري للـ *C. cinerea* لم يتم دراستها من قبل.

استنادا إلى هذه النتائج ، يمكن أن نستخلص إلى أن هذا الزيت الأساسي له نشاط قوي وواسع ضد العدوى. وكذلك فإن المنشورات السابقة أظهرت النشاط المضاد للميكروبات من الزيوت الأساسية الغنية في trans thujone [177] و ذلك cineole-1،8 و camphor ، والتي تم العثور عليها في كميات ملموسة في الزيت العطري للـ *C. cinerea* ، حيث أظهرت خاصية تآزرية ضد *C. albicans* [178].

يحتوي الزيت الأساسي الذي تم تقييمه في هذا العمل على مجموعة كبيرة ومتنوعة من المكونات التي يمكن اعتبارها مسؤولة عن النشاط المضاد للميكروبات. بالرغم أن الزيوت العطرية تكون عادة على شكل مزيج معقد النشاط عموما يمكن اعتبارها من حيث مكونات المونوتربينات الرئيسية [179]. ومع ذلك فإن العمل التآزري للمكونات الثانوية الأخرى لا يمكن تجاهله.

IV-4-2 . النشاط المضاد للمكروبات لـ *Ruta.G*

نتائج قرص الانتشار الممثلة في الجدول 8 تعطي معلومات عن التأثير الكابح للزيت العطري ضد العديد من البكتيريا ، تبين النتائج أن الزيت العطري لـ *Ruta.G* لديه قدرة على التأثير ضد كل الأنواع البكتيرية المدروسة ، وكان أكثر نشاطا من المضادات البكتيرية التي جربت على Gram- MRSA positive (بكتيريا مقاومة) وكان أقوى من neomycin وأقل تأثيرا من nitrofurantoin عند استخدامه ضد Gram-négative *E. coli* ، وكذلك كان أكثر تأثيرا من ceftazidime ومتماثلا مع cefotaxime عند استخدامه ضد Gram-positive *P. aeruginosa* ، وكان الزيت الطيار لـ *Ruta .G* أكثر تأثيرا على البكتيريا Gram-positive من البكتيريا Gram-négative ، ومنه فإن الزيت الطيار يمكن أن يكون مضادا بكتيريا متوفرا وفعال ضد الالتهابات البكتيرية. [180]

Bacterial species	<i>Ruta graveolens</i> essential oil zone of inhibition (mm); Mean±SD	Antimicrobial agent	Antimicrobial agent zone of inhibition (mm); Mean±SD
MRSA	20±0.20	Vancomycin	5±0.15
		Rifampicin	16±0.19
<i>S. epidermidis</i>	22±0.23	Cefuroxime	5±0.11
		Cefotaxime	11±0.17
<i>B. subtilis</i>	28±0.65	Vancomycin	20±0.45
		Chloramphenicol	26±0.21
<i>E. coli</i>	14±0.2	Neomycin	12±0.29
		Nitrofurantoin	16±0.15
<i>E. aerogenes</i>	26±0.26	Neomycin	20±0.40
		Nitrofurantoin	22±0.25
<i>P. aeruginosa</i>	10±0.11	Ceftazidime	6±0.10
		Cefotaxime	10±0.14

الجدول 8 : النشاط المضاد للبكتيريا للزيت الطيار لـ *Ruta. G*

النتائج تشير إلى أن الزيت الأساسي لـ *Ruta. G* وسيلة فعالة وبأسعار معقولة لمكافحة البكتيرية العدوى. الخلطات المعقدة من مركبات مختلفة من الزيت توفر آليات متعددة لنشاط مضاد للميكروبات. هذا يمكن أن يفسر لماذا هذه التركيبة من الزيت ، و بالتالي كيف أن الزيوت الأساسية الأخرى ، لديها مثل هذا النشاط القوي. طرق عمل بعض مكونات الزيوت المحدودة فقط تمت دراستها. ويعتقد أن أغلب المكونات الرئيسية لزيت أساسي تلعب دورا أكثر أهمية في النشاط المضاد للميكروبات ، في حين يعتقد أن المكونات الثانوية تؤدي إلى التأزر من أجل مردود فعال [181].

تظهر الدراسات المنشورة أن معظم مكونات الزيوت الأساسية النشطة هي الفينول ، والكحول ،

والألدهيدات و الكيتونات والإثيرات ، في حين أن الأقل نشاطا هي الهيدروكربونات [182].

المكونات الرئيسية للزيت الأساسي *Ruta. G* كانت كيتونات (43.02%) والألدهيدات (37.12%) [183]. هذين المكونين يظهران عادة كمضادات للميكروبات معتدلة النشاط [181] ، ذكروا ذلك 70% من الزيت العطري *Litsea cubeba* (الكبابة) ، والتي لديها نشاط جيد مضاد للجراثيم ، كانت الألدهيدات. وكذلك النشاط المضاد للبكتيريا لـ *Ruta. G* يكمن في الألدهيدات والكيتونات، في حين أن المكونات الثانوية يمكن أن تكون مسؤولة للآثار التأزرية الأخرى.



الجزء العملي

الفصل الخامس : أجهزة وطرق



1-V. مقدمة:

في هذا الفصل قمنا بإجراء عملية استخلاص الزيت الطيار لكل من نبتة شايحة الإبل *Brocchia .C* والتي تم جنيها في فصل الربيع أبريل 2014 في مرحلة النمو الخضري ، من منطقة المنشية بلدية حاسي خليفة تقع شرق ولاية الوادي وتبعد عنها بحوالي 30 كلم ، والنبتة الثانية وهي السذاب *Ruta.G* وتم جنيها في ماي 2014 في مرحلة النمو الخضري ، من بلدية البيضاء جنوب الولاية وتبعد عنها بحوالي كلم، وقد تمت عملية الاستخلاص بطريقتين:

- طريقة التقطير المائي (Hydrodistillation)، ودراسة تأثير حمض H_3PO_4 على عملية التقطير.
- الاستخلاص بواسطة جهاز الموجات الدقيقة (Micro-onde).
- ثم تطرقنا الى تحليل الزيت الطيار لكل نبتة بواسطة :
- الكروماتوغرافيا الغازية المرتبطة بمطيافية الكتلة (GC/SM).
- ثم تطرقنا إلى حساب كل من قرينة الانكسار n (indice de refraction) وقرينة الحموضة والأستر (I_A, I_E) وكذلك القدرة الدورانية α وكثافة d لكل زيت لمعرفة :
- الخواص الفيزيائية للزيت الطيار
- ولمعرفة القدرة المضادة للتأكسد للزيت الطيار للنبتين قمنا بدراسة :
- اختبار تقيح الجذر الحر DPPH
- وللكشف عن القدرة المضادة للمكروبات للزيت الطيار للنبتين قمنا بدراسة :
- النشاط المضاد للمكروبات بتقدير التركيز الأدنى المثبط (La concentration minimale d'inhibition) CMI

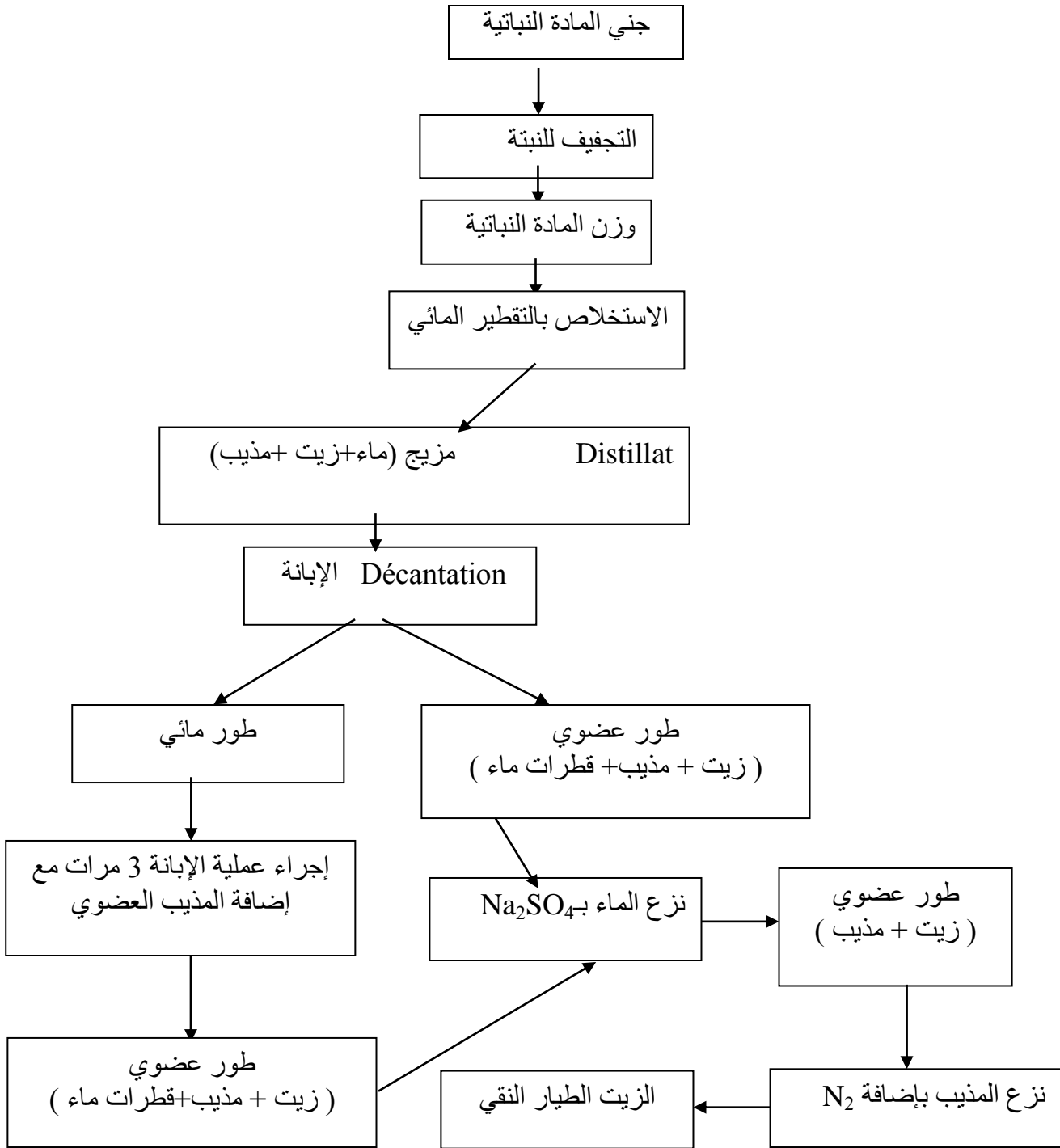
2-V. الاستخلاص بواسطة التقطير المائي:

قبل الاستخلاص قمنا بالتجفيف على تيار هوائي طبيعي و في الظل وبعيدا عن الرطوبة وجميع الملوثات وفي درجة حرارة الغرفة مدة 15 يوما للنبتين وهذا بأخذ الأجزاء الهوائية فقط. نأخذ كمية 100 غ من كل نبتة مجففة ونضعها في حوالة كروية سعته 2ل ليضاف إليها 1500 مل من الماء المقطر، ثم نضيف لها قطع صغيرة منظم الغليان (Pierre ponce)، تترك العملية لمدة 3 ساعات في درجة حرارة الغليان حيث تحسب هذه المدة من بداية نزول أول قطرة في جهاز التقطير المائي من نوع (Clevenger) كما هو موضح في الشكل 38.

بعدها ننتقل إلى طريقة الإبانة (Décantation) التي يتم فيها فصل الزيت الطيار عن الماء وذلك بإضافة المذيب العضوي ثنائي إيثيل إيثر (Diethyl éther) أي فصل (سائل- سائل)، ويتم بوضع الماء المتحصل عليه بعد التقطير في قمع الفصل أو حبابة الإبانة ليضاف إليها الإيثر ، نرج جيدا وبعد حوالي 10 دقائق نفصل الطورين: طور بهيئة مستحلب وهو عبارة عن خليط عضوي ، و طور مائي يكون أسفل الطور السابق ، تعاد عملية الإبانة بنفس الطريقة .

ولنزع الماء من الطور العضوي نضيف كبريتات الصوديوم اللامائية (Na_2SO_4) الصلبة ثم يرشح هذا الطور بإمراره عبر ورق الترشيح لمنع مرور جزيئات Na_2SO_4 . وللتخلص من المذيب نقوم بتعريض القارورة التي بها الطور العضوي إلى غاز الأزوت N_2 الخامل فيتم تطاير الإيثر.

وفي الأخير نجمع الزيت الطيار المتحصل عليه في قارورة صغيرة بنية اللون ونقوم بحفظها داخل ثلاجة ($+4^\circ\text{C}$) كما هو موضح في الشكل 37.



الشكل-37. مخطط الاستخلاص بالتقطير المائي



الشكل-38. جهاز التقطير المائي من نوع (Clevenger)

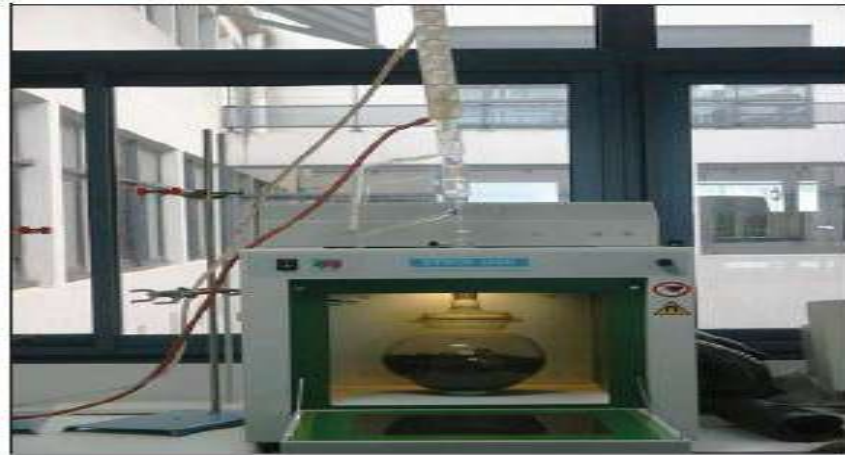
1. حوالة بها النبتة + ماء مقطر
2. مسخن حوالة
3. Clevenger
4. مبرد
5. حامل

3-V. الإستخلاص بواسطة التقطير المائي بإضافة حمض الفوسفوريك

لتحقيق مردود جيد للزيوت الطيارة عموماً والزيوت الطيارة خصوصاً نستعمل هذه الطريقة حيث نأخذ 100 ملل H_3PO_4 ونظيف لها 1ل ماء مقطر ثم نفرغها في حوالة 1ل بها 100غ من النبتة، ثم نقوم بنفس الخطوات الموضحة في الشكل 37 لطريقة الاستخلاص .

4-V. الاستخلاص بواسطة جهاز الموجات الدقيقة Micro-onde

نأخذ 100غ من كل نبتة وهي طازجة في حوالة زجاجية 1ل مع إضافة كمية قليلة من الماء لتفادي حرق النبتة ثم نضعها داخل الجهاز الشكل 39، مع ضبطه عند 800w و 100p والمدة 30min، ونتبع بعدها نفس الخطوات الموضحة في الشكل 37 لطريقة الاستخلاص .



الشكل-39. جهاز Micro-onde

5-V. مردود الزيت الطيار:

نزن القارورة وهي فارغة بميزان حساس (10^{-3}) نوعه (Adventurer – Pro AV53 MAX) ثم نزن القارورة التي تحتوي على الزيت الطيار ثم نحذف وزن القارورة . نحصل على المردود بحساب النسبة المئوية بين كتلة الزيت الطيار المتحصل عليه بعد الاستخلاص وكتلة المادة النباتية المستعملة، وتعطى بالعلاقة التالية:

$$R_{HE} = \frac{m}{m_0} \times 100$$

R_{HE} : مردود الزيت الأساسي.

m : كتلة الزيت الأساسي.

m_0 : كتلة العينة النباتية المستعملة بالغرام.

6-V. الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيت الطيار:

1-6-V الكثافة النوعية (Norme AFNOR NF T75-111) Densité relative

نحسب الكثافة بأخذ 1ml من الزيت الطيار ثم نضعه في بيكنومتر بعدها نزنه ونفس الشيء بالنسبة للماء المقطر وذلك في درجة حرارة 20م°، وتعطى الكثافة بالعلاقة التالية:

$$d_{20} = \frac{m_1 - m}{m_2 - m}$$

m : كتلة الأنبوبة بالغرام وهي فارغة

m₁ : كتلة الأنبوبة بالغرام بها الزيت الطيار

m₂ : كتلة الأنبوبة بالغرام بها ماء مقطر

2-6-V القدرة الدورانية (Norme AFNORE NF T75-133) Le pouvoir rotatoire

نملاً أنبوب طوله 20 سم بالإيثانول (95%) ونضعها في جهاز بولاريمتري لكي يتم ضبطه (الدائرة نصفها مضيء والآخر مظلم) ثم نفرغ الأنبوب ونملأه بالزيت الطيار المذاب في الإيثانول نحسب عندها زاوية الدوران θ من الجهاز لكل من الإيثانول ثم المصححة وهذا عند تركيزين مختلفين للزيت الطيار ، ثم نحسب القدرة الدورانية بالعلاقة التالية:

$$\alpha = \frac{100 \cdot \theta}{L \cdot C}$$

حيث:

L: طول الأنبوب

C: تركيز المحلول

θ: زاوية الدوران

α: القدرة الدورانية

3-6-V قرينة الحموضة (Norme AFNOR NF T75-133) Indice d'acide

هي عدد المليغرامات من الـ KOH اللازمة لتعديل الأحماض الحرة المتواجدة في 1غ من الزيت الطيار. طريقة العمل :

- نضع 0.5 من الزيت الطيار في حوجة ثم نظيف 2ملل من الإيثانول و 2 إلى 3 قطرات من فينول فتالين .
- نعاير بعدها بمحلول الـ KOH (0.1N) المحضر بالإيثانول حتى ظهور اللون الوردي الفاتح.
- نحسب قرينة الحموضة بالعلاقة التالية:

$$I_a = \frac{56,11V \cdot C}{m}$$

V : حجم محلول الـ KOH المسحح بالملل.

C : تركيز الـ KOH

m : الكتلة المستعملة بالغرام.

4-6-V. قرينة الأستر (Norme AFNOR NF T75-104) Indice d'ester

وهي عدد المليغرامات من الـ KOH اللازمة لتصبين الأحماض الدهنية المرتبطة على شكل أستر

الموجودة في 1 غ من الزيت الطيار.

طريقة العمل:

- نضع 0.5 غ من الزيت الطيار في حوجلة
- نضيف لها 6.5 ملل من الـ KOH تركيزه 0.5N .
- نضع الحوجلة في حمام مائي طارد للغازات لمدة زمنية معينة .
- نتركه يبرد ثم نضيف له 0.5 ملل من الماء المقطر و 3 قطرات فينول فتالين.
- نعاير الكمية الزائدة للـ KOH بحمض HCl تركيزه 0.5N .
- نعاير بالموازات محلول الـ KOH تركيزه 0.5N وحجمه 6.5 ملل بحمض HCl 0.5N دون العينة.
- نحسب قرينة الأستر بالعلاقة التالية :

$$I_e = \frac{28,05}{m} \cdot (V_0 - V_1) \cdot I_a$$

V_0 : حجم الـ HCl المعايير بدون العينة

V_1 : حجم الـ HCl المعايير في وجود العينة

I_a : قرينة الحموضة

I_e : قرينة الأستر

m : الكتلة المستعملة بالغرام.

5-6-V. قرينة الانكسار (Norme AFNOR NF T75-112) Indice de refraction

قرينة الانكسار للزيت الطيار تقرأ مباشرة من جهاز استقطاب الضوء (Réfractomètre) عند

درجة حرارة مرجعية وتعطى بالعلاقة التالية :

$$I_r = \eta_D^{20} = \eta_D^\theta + (\theta - 20) \cdot 0,00045$$

حيث:

قرينة الانكسار : n_D^θ

درجة الحرارة للمادة في الحالة السائلة : θ

7-V. تحليل الزيت الطيار: التحليل النوعي وشبه الكمي للزيت الطيار بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المرتبطة بمطيافية الكتلة CPG/SM/IE

من أجل معرفة مكونات الزيت الطيار لكل من *Ruta. G* و *Brocchia .C*، قمنا بتحليله وتحديد مكوناته باستخدام الكروماتوغرافيا الغازية المرتبطة بمطيافية الكتلة (GC/SM). استخدامنا تقنية الكروماتوغرافيا الغازية المرتبطة بمطيافية الكتلة GC/SM ، وقد أستعمل عمود الشعري غير قطبي Apolair المبرمج حراريا من أجل تقليص زمن التحليل وظهور جيد للعصابات، هذه التقنية تسمح لنا بتحديد عدد كبير من مكونات الزيت الطيار ويتميز هذا النوع بالموصفات التالية:

النوع: HP5

الطول: 30m

السلك: 0.25 μ m

القطر الداخلي: 0.25mm

أقصى درجة حرارة للعمود: 325° م

*- يتم برمجة الكروماتوغراف حراريا عند 60° م لمدة 8 دقائق، ثم تتم الزيادة بمعدل 2° م لكل دقيقة إلى أن تصل 250° م وتترك بعد ذلك لمدة 30 دقيقة، هذا بالنسبة للعمود غير القطبي HP5 .
*- إن الطور المتحرك (الحامل) هو غاز الأروت ويتدفق بـ 1مل/د، ودرجة حرارة المحقن 250° م أما درجة حرارة الكاشف هي 320° م.

*- إن الطريقة المتبعة في الحقن هي طريقة (Split) 1/50، وهي طريقة تعتمد على تجزئة العينة إلى دفعات عبر العمود الكروماتوغرافي.

*- تبلغ كمية العينة المحقونة $V=1\mu$ L .

*- تحقن سلسلة الألكانات (C_5-C_{25}) في نفس الشروط السابقة.

حسب نموذج التأثير الإلكتروني IE (Impact électronique) بـ 70 ev.

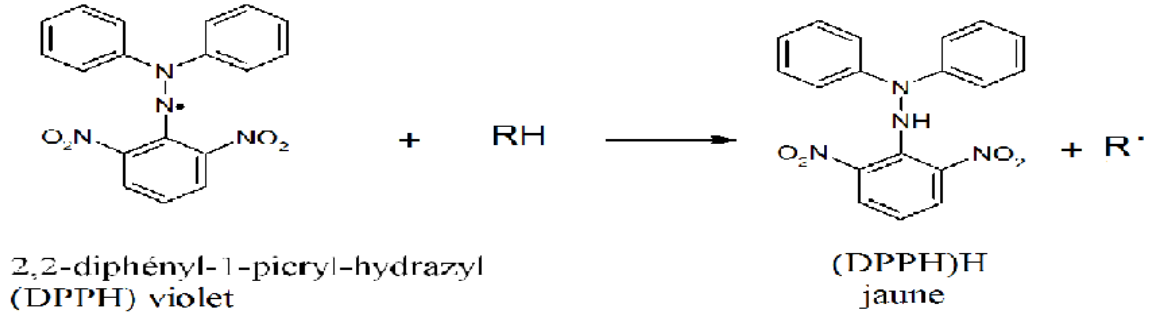
8-V. القدرة المضادة للتأكسد للزيت الطيار (Propriétés antioxydantes)

توجد عدت اختبارات لمعرفة النشاط المضاد للتأكسد وركزنا دراستنا على DPPH .

• اختبار تفخيخ الجذر الحر DPPH :

تستخدم الكثير من الطرق لقياس النشاط المضاد للتأكسد لمستخلصات النباتات العطرية لتقييم الأنشطة المضادة للجذور الحرة والمضادة للتأكسد، استخدمنا طريقة DPPH .

تعتمد هذه الطريقة على تغير لون الجذر الحر DPPH من اللون البنفسجي في محلول إيثانولي إلى اللون الأصفر [184]، بعد أن يحدث له إرجاع وذلك باكتسابه إلكترون من مركب آخر كما هو موضح في المعادلة الكيميائية الممثلة في الشكل 40.



الشكل-40. تفاعل الجذر الحر DPPH مع مركب مضاد للتأكسد

من أجل الدراسة الكمية نستعمل هذه الطريقة وهي غير معقدة، وتستغرق نصف ساعة من الاحتضان وفي درجة حرارة الغرفة وذلك باستعمال UV-Visible من النوع SHIMADZU-1800 من مخبر VTRS، وتتضمن الطريقة الخطوات التالية:

أ/- نقوم بتحضير المحلول الأم من كل عينة مدروسة (BHT، H.E، Vit-E).

ب/- بعدها نتحصل على التراكيز التالية: (5، 10، 25، 50، 100، 200، 500) µg/ml لكل عينة مدروسة ثم أكملنا تحضير تراكيز (1000، 10000، 70000، 140000، 280000) للزيت الطيار للنبنتين .

ج/- نحضر محلول DPPH وذلك بإذابة 2mg منه في 50ml من الإيثانول [185].

د/- نمزج 2ml من DPPH المحضر سابقا مع 1ml من كل تركيز للعينات السابقة في أنابيب محكمة لمدة 30 دقيقة في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة [185].

ه/- بعدها نقيس الامتصاصية عند طول موجة 517nm لكل عينة مدروسة .

و- نأخذ 2ml من محلول DPPH ونضيف له 1ml من الإيثانول الخالي من أي عينة ونتركه كذلك 30min ثم نقيس الامتصاصية A0 عند نفس طول الموجة السابقة.

ي/- ثم نحسب نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH وفق العلاقة التالية [186] :

$$I\% = (1 - A_t/A_0) \times 100$$

حيث :

I% : نسبة تثبيط الجذر الحر.

A₀ : امتصاصية محلول DPPH بدون العينة المدروسة.

A_t : امتصاصية محلول DPPH في وجود العينة.

ل/- بعدها نعين التركيز الذي يثبط 50% من الجذر الحر لكل عينة IC₅₀ من البيان.

8-V. النشاط المضاد للمكروبات بتقدير التركيز الأدنى المثبط CMI

- نقوم بتحضير الوسط المغذي الذي يتكون من :

- 1.2 غ من الغلوكوز

- 1.2 غ من الخميرة

- 3 غ مالت

- 300 ملل ماء مقطر

- PH=7.2

- نقوم بعملية التعقيم للوسط المغذي في جهاز التعقيم autoclave في درجة حرارة 120م° لمدة 20 دقيقة والغرض منها قتل أي ميكروب ، ثم نتركه يبرد عندها نوزعه على 13 علبه بتري كل منها قطرها 6سم معقمة بحيث تحتوي كل علبه على 3ملل من الوسط المغذي .

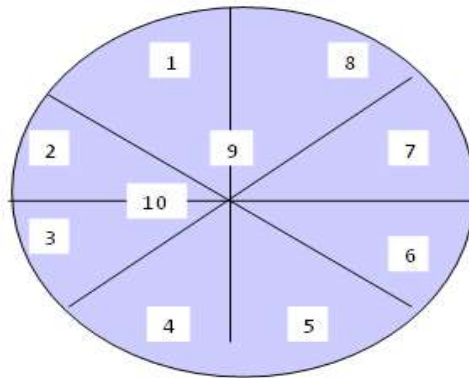
- نقوم بتحضير عدة تراكيز (0.1 ، 0.2 ، 0.3 ، 0.4 ، 0.5 ، 1 ، 2 ، 3 ، 4 ، 5 ، 10 ، 15) ميكرو لتر/ملل التي نحضرها من المحلول الأم الذي يحتوي على 100 ميكرو لتر من الزيت العطري لكل من *Ruta. G* و *Brocchia .C* و 900 ميكرو لتر من الميثانول المذيب وذلك باستعمال عملية التخفيف .

- نوزع التراكيز السابقة على 12 علبه بتري التي تحتوي الوسط المغذي ونترك علبه واحدة بدون تركيز كشاهدة.

- وعندما يبرد الوسط ويصبح صلب نقوم بتوزيع 10 عينات الميكروبية في كل علبه بتري موزعة على أرقام (1 ، 2 ، 3 ، 4 ، 5 ، 6 ، 7 ، 8) تمثل أنواع البكتيريا و 9 تمثل خميرة 10 تمثل فطر كما هو موضح في الشكل 12.

- نترك علب بتري السابقة في درجة الحرارة 38م° ولمدة 24 ساعة هذا بالنسبة لأنواع البكتيريا و 48 ساعة للخميرة والفطر

- تم أخذ العينات من مخبر الميكروبيولوجيا المدرسة العليا للأساتذة بالقبة - الجزائر العاصمة وكررت العملية 3 مرات .



الشكل- 41. علبه بتري بها الوسط المغذي والعينات

الفصل السادس : نتائج ومناقشة



1-VI. نتائج استخلاص الزيت الطيار

ركزنا دراستنا على كل من *Ruta. G* و *Brocchia .C* لاحتوائهما على الزيت الطيار .

1-1- VI. الخواص الطبيعية للزيت الطيار

بعد استخلاص الزيت الطيار لكل من *Ruta. G* و *Brocchia .C* وجدنا أنه يحمل كل منهما الخواص التالية:

- يكون سائلا في درجة حرارة الغرفة.
- لونه أصفر مخضر بالنسبة لـ *Ruta.G* أما *Brocchia.C* فلونها أصفر شاحب
- لكل زيت طيار له رائحة مميزة له.

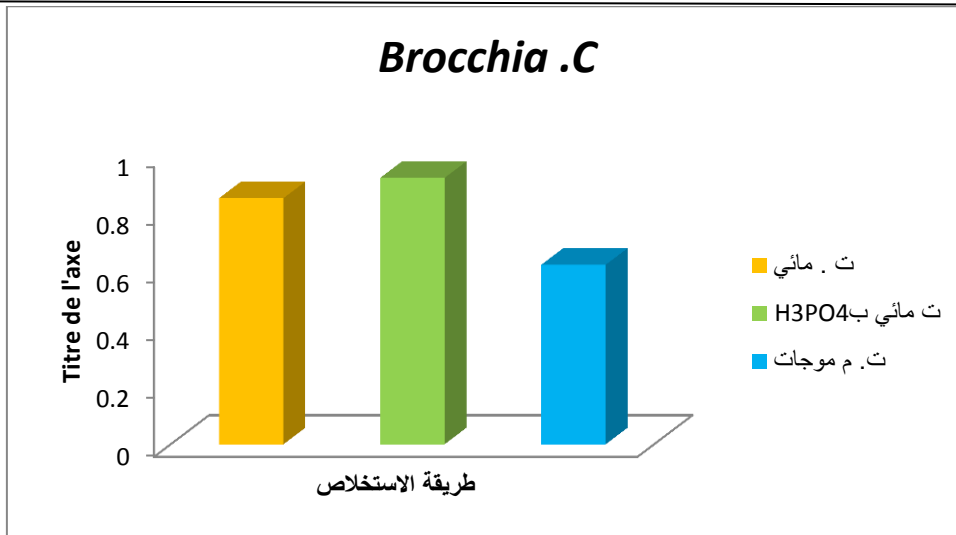
2-1-VI. مردود الزيت الطيار

استخدمنا 3 طرق لاستخلاص الزيت الطيار لكل من *Ruta. G* و *Brocchia .C* لدراسة المردود وهي:

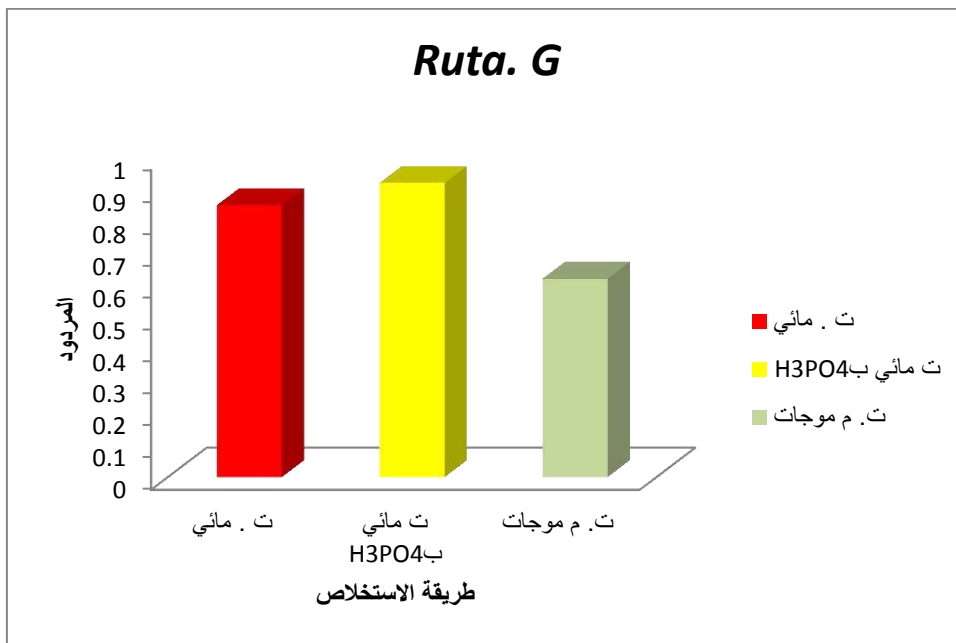
- الاستخلاص بواسطة التقطير المائي
 - الاستخلاص بواسطة التقطير المائي بإضافة حمض الفوسفوريك
 - الاستخلاص بواسطة جهاز الموجات الدقيقة *Micro-onde*
- وتم حساب المردود لكل طريقة انطلاقا من العلاقة المعطاة في الجزء العملي، والنتائج موضحة في الجدول التالي :

الجدول 9. مردود الزيت الطيار باختلاف طريقة الاستخلاص

الموجات الدقيقة Micro-onde	التقطير المائي بإضافة H_3PO_4	التقطير المائي	(المردود) %RHE
0,56	0,88	0,73	<i>Brocchia .C</i>
0,62	0,92	0,85	<i>Ruta. G</i>



الشكل-42. تغير المردود حسب طريقة الاستخلاص للزيت العطري لـ *Brocchia .C*.



الشكل-43. تغير المردود حسب طريقة الاستخلاص للزيت العطري لـ *Ruta . G*.

• مقارنة نتائج مردود الاستخلاص

نلاحظ أن مردود الاستخلاص بالتقطير بإضافة حمض H3PO4 أكبر من مردود الاستخلاص بالتقطير ومردود الاستخلاص بالموجات الدقيقة لكل من النباتين وهذا راجع إلى وجود حمض الفوسفوريك الذي يتضاعف به المردود حسب Antonios K و Antonios N [187].

VI-1-3. تغير مردود الزيت الطيار لبعض أنواع جنس *Brocchia* و *Ruta* في العالم

VI-1-3-1: بالنسبة لجنس *Ruta*

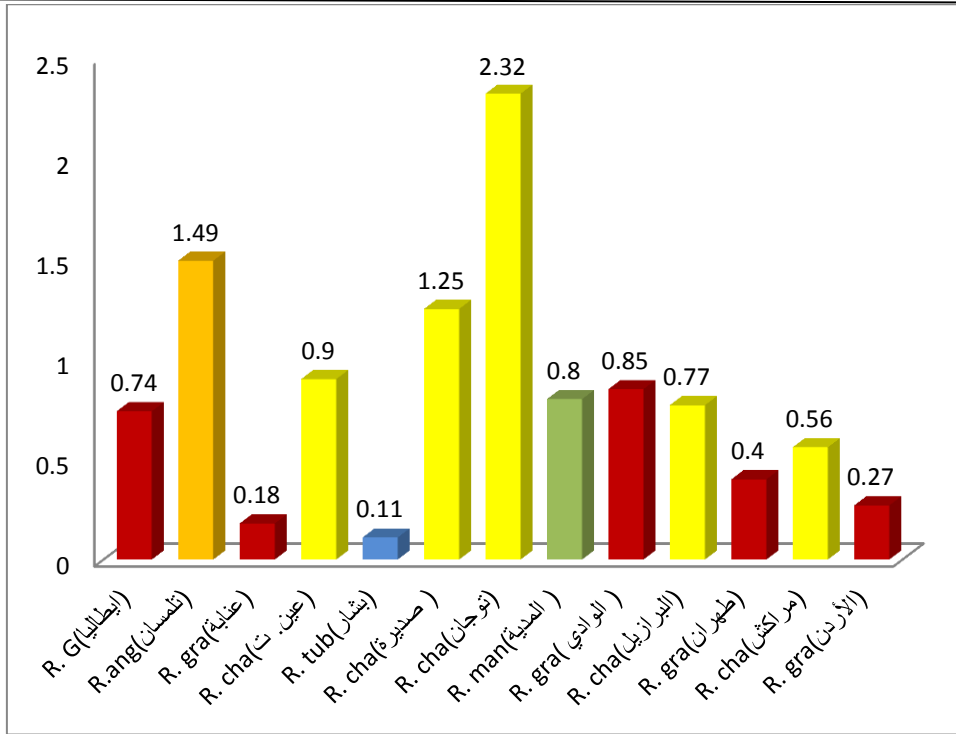
تغيير مردود الزيت الطيار المستخلص بواسطة التقطير المائي لبعض أنواع جنس *Ruta* في بعض الدول ومختلف الوطن موضح في الجدول 10 كالتالي:

الجدول 10 . مردود الزيت الطيار لبعض أنواع جنس *Ruta* المستخلص في بعض الدول وضواحي الوطن

المرجع	البلد	المردود %	النبته
[118]	ايطاليا	0.74	<i>Ruta. g</i>
[114]	تلمسان	1.49	<i>Ruta. a</i>
[114]	عنايه الجزائر	0.18	<i>Ruta. g</i>
[114]	عين تيموشنت الجزائر	0.9	<i>Ruta. c</i>
[114]	بشار الجزائر	0.11	<i>Ruta. t</i>
[120]	صديرة تونس	1.25	<i>Ruta. c</i>
[120]	توجان تونس	2.32	<i>Ruta. c</i>
[115]	المديه الجزائر	0.8	<i>Ruta. m</i>
عملنا هذا	الوادي الجزائر	0.85	<i>Ruta. g</i>
[122]	البرازيل	0.77	<i>Ruta. c</i>
[123]	ايران طهران	0.4	<i>Ruta. g</i>
[124]	المغرب مراكش	0.56	<i>Ruta. c</i>
[126]	الأردن	0.27	<i>Ruta. g</i>

● مناقشة نتائج مردود جنس *Ruta*

من الجدول السابق يتضح أن المردود المتحصل عليه متوسط على العموم كما هو الحال مع باقي الأنواع من جنس *Ruta* ، وأن المردود المتحصل عليه في إستخلاص الزيت الطيار لـ *Ruta* التي تنمو في توجان بتونس جيد الذي يساوي 2.32% ، إذا ما قورن مع المردود المتوسط لنفس النبتة المساوي 1.25% التي تنمو بالصديرة بتونس نفسها ، نلاحظ كذلك أن مردود نبتتنا *Ruta. graveolens* مساوي تقريبا مردود *Ruta montana* التي تنمو بـ المديه و *Ruta. graveolens* التي تنمو بإيطاليا *R. chalepensis* التي تنمو بالبرازيل ، اختلاف مردود الزيت الطيار لـ *Ruta. G* وبعض الأنواع من جنس *Ruta* موضح في الشكل 44:



الشكل-44. تغير مردود الزيت الطيار لبعض أنواع جنس *Ruta*

VI-1-3-2: بالنسبة لجنس *Brocchia*

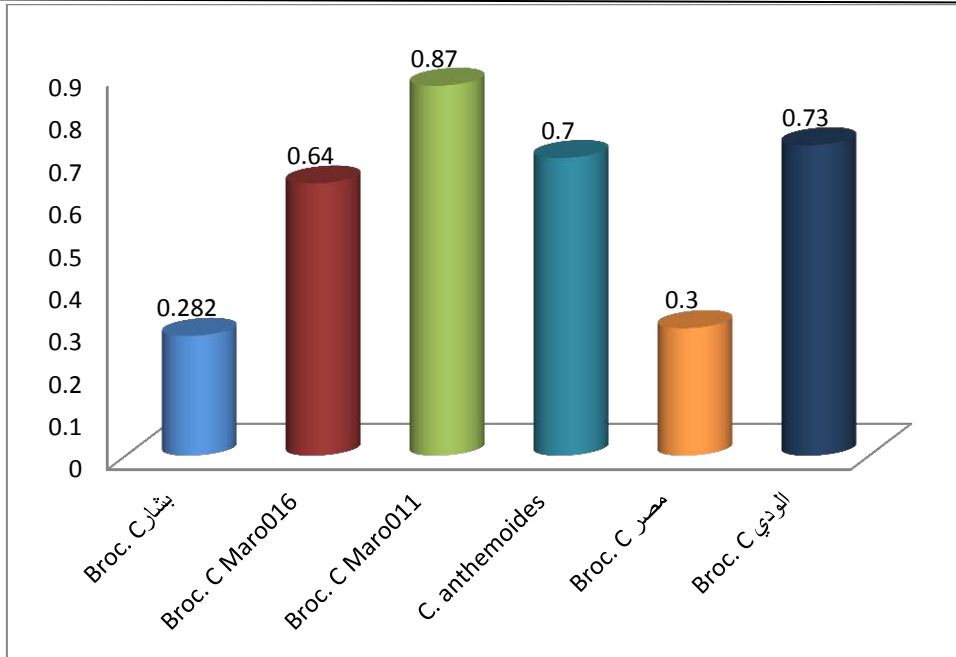
وتغير مردود الزيت الطيار المستخلص بواسطة التقطير المائي لبعض أنواع جنس *Brocchia* في بعض الدول ومختلف الوطن موضح في الجدول 11 كالتالي:

الجدول 11 . مردود الزيت الطيار لبعض أنواع جنس *Brocchia* المستخلص في بعض الدول وضواحي الوطن

المرجع	البلد	المردود %	النبتة
[145]	بشار الجزائر	0.282	<i>Brocchia. C</i>
[150]	Moroc2016	0.64	<i>Brocchia. C</i>
[151]	Moroc2011	0.87	<i>Brocchia. C</i>
[147]	Algeria2014	0.7	<i>anthemoides. C</i>
[149]	مصر	0.30	<i>Brocchia. C</i>
عملنا هذا	الوادي الجزائر	0.73	<i>Brocchia. C</i>

● مناقشة نتائج مردود جنس *Brocchia*

من الجدول السابق يتضح أن المردود المتحصل عليه متوسط على العموم كما هو الحال مع باقي الأنواع من جنس *Brocchia* ، وأن المردود المتحصل عليه في استخلاص الزيت الطيار لـ *Brocchia. C* التي تنمو في المغرب هي أكبر مردود الذي يساوي 0.87% في سنة 2011، إذا ما قورن مع المردود لنفس النبتة المساوي 0.64% التي تنمو في نفس البلد في سنة 2016 ، نلاحظ كذلك أن مردود نبتتنا *Brocchia. C* مساوي تقريبا مردود *C. anthemoides* التي تنمو بالجزائر. اختلاف مردود الزيت الطيار لـ *Brocchia. C* وبعض الأنواع من جنس *Brocchia* موضح في الشكل 45:



الشكل-45. تغير مردود الزيت الطيار لبعض أنواع جنس *Brocchia*

VI-1-3-3. بعض أسباب تغير مردود الزيت الطيار لبعض أنواع جنس *Ruta* و *Brocchia* في العالم

وجود الاختلاف في مردود الزيت الطيار لمختلف جنس *Ruta* و جنس *Brocchia* يمكن أن يفسر من جهة بسبب الشروط البيئية التي تنمو فيها كل نبتة من حيث درجة الحرارة ، وكمية الأمطار الموجودة ، كذلك الرطوبة ، الارتفاع عن سطح البحر وطبيعة التربة ونوع المعادن التي تحتويها الخ.

ومن جهة أخرى فإن مرده كذلك لعوامل تؤثر على عملية الأيض الثانوي ، ومن ثم التأثير على المردود والفترة التي قطفت فيها تلك النبتة (قبل أثناء أو بعد فترة الإزهار) والجزء المدروس من النبات (الأزهار ، الأوراق ، الأغصان ، كل الجزء الهوائي) إلى جانب الطريقة المستعملة في استخلاص الزيت الطيار كما ذكرناه سابقا ، وكذلك الأخطاء المرتكبة أثناء إجراء عملية الاستخلاص من طرف المجرب نفسه

VI-2- تحليل الزيت الطيار لكل من *Brocchia .C* و *Ruta .G* بواسطة GC-MS

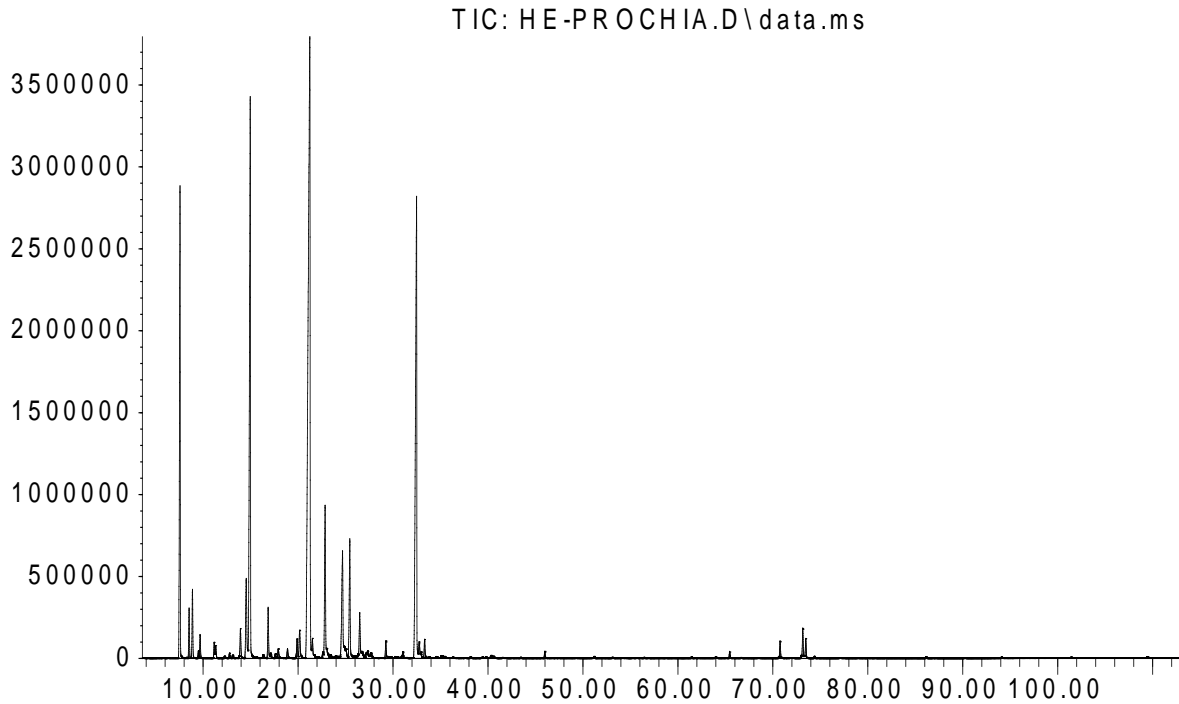
قمنا بتحليل الزيت الطيار لـ *Brocchia .C* و *Ruta .G* باستعمال GC-MS بعمود غير قطبي Apolair من نوع HP-5 (وذلك بتحقيق نفس الشروط التحليلية المستعملة المذكورة في الجزء العملي) بنموذج التأين الإلكتروني IE بـ 70ev .

لقد تم تحديد التركيب الكيميائي لمكونات الزيت الطيار لكل نبتة بمقارنة أطياف الكتلة الموافقة لكل عصابة في الكروماتوغرام بتلك الواردة في المقالات العلمية والمقارنة بـ Adams2007 و Wiley كما يلي :

VI-2-1. تحليل الزيت الطيار لـ *Brocchia .C*

تم جمع المركبات المحددة في الزيت الطيار لـ *Brocchia .C* مع أهم الشظايا (m/z) الأكثر شدة لكل طيف والشكل 46 يبين الكروماتوغرام وهو على عصابات التي تمثل كل عصابة منها مركب كيميائي موجود في الزيت الطيار والجدول (12) يوضح ذلك .

Abundance



Time-->

Nov 29 14:28:41 2016

الشكل- 46. كروماتوغرام الزيت الطيار لنبته *Brocchia .C* بواسطة GC-MS

الجدول 12. مكونات الزيت الطيار ل *Brocchia .C*

NO	IR _A	IR _{cal}	المركبات	%	M+	أهم الشظايا
1	906	908	Santolinatriene	9.35	136	<u>93,121,105,79,67,55,41</u>
2	924	925	α -Thujene	0.98	136	<u>93, 105,77,65,53,41</u>
3	932	931	α - pinene	1.36	136	<u>93,121,105, ,77,41</u>
4	946	945	camphene	0.49	136	<u>93,121,107,79,67,53,41</u>
5	969	971	Sabinene	0.33	136	<u>93, 121,77,69,53,41</u>
6	974	974	β - pinene	0.294	136	<u>93,121,79,69,41</u>
7	1000	999	Mentha-1(7),8-diene	0.12	136	<u>79,121,108,93,67,53,41</u>
8	1014	1016	α -Terpinene	0.72	136	<u>121,136,105,93,77,51</u>
9	1020	1025	p-cymene	2.27	134	<u>119,103,91,77,65,39</u>
10	1026	1031	1-8-cineole	15.31	154	<u>81,139,125 ,108,93,71,55</u>
11	1054	1058	γ -Terpinene	1.14	136	<u>93,121,105,77,65</u>
12	1065	1069	trans-Sabinene hydrate	0.11	154	<u>43,111,93,81,67,55</u>
13	1086	1087	Terpinolene	0.23	136	<u>93,121,105,79,67</u>

14	1100	1102	Isopentyl2-methylbutanoate	0.52	172	70,103,85,57,43
15	1101	1105	α -Thujone	0.85	152	81,110,95,67,55,41
16	1112	1120	β -Thujone	32.01	152	81,110,95,67,55,41
17	1118	1124	Menth-2-en-1-ol<cis-p>	0.42	154	43,139,121,111,93,79,71
18	1141	1143	Camphor	3.92	152	95,108,81,69,55,41
19		1169	Unknown	3.56		
20	1174	1179	Terpinen-4-ol	2.91	154	71,136,111,93,86,55,43
21	1186	1194	α -Terpineol	1.18	154	59,121,93,81,67,43
22	1207	1211	Piperitol<trans>	0.21	154	84,139,93,77,55,41
23	1232	1234	Hexenyl3-methyl butanoate<(3Z)->	0.36	184	41,82,67,57
24	1283	1285	Isobornyl acetate	16.0	196	43,136,121,108,95,55
25	1288	1293	Lavandulyl acetate	0.4	196	43,121,93,69,53

IR_{cal} : معامل الحجز المحسوب IR_A : معامل الحجز بالنسبة للمرجع Adams

VI-2-1-1. تحليل نتائج الكروماتوغرافيا ومناقشتها

فيما يخص المركبات السائدة والتي تفوق نسبتها 2% من مكونات هذا الزيت فهي موضحة في الجدول التالي حيث تم تحديد 07 مركبات من بين 25 مركبا ، حيث تمثل نسبة 81.77% من نسبة المردود الكلي للزيت الطيار المتحصل عليه وهو 95.04% .

الجدول 13. الترتيب التنازلي للمكونات السبعة السائدة لـ *Brocchia .C* والتي تفوق نسبتها 2% .

1	1120	β -Thujone	32.01
2	1538	Isobornyl acetate	16
3	1285	1-8-cineole	15.31
4	908	Santolinatriene	9.35
5	1143	Camphor	3.92
6	1179	Terpinen-4-ol	2.91
7	1025	p-cymene	2.27

يتضح من خلال الجدول أن ثلاث مركبات سائدة بكثرة وهي :

β -Thujone و Isobornyl acetate و 1-8-cineole و Santolinatriene وتمثل لوحدها 72.67%

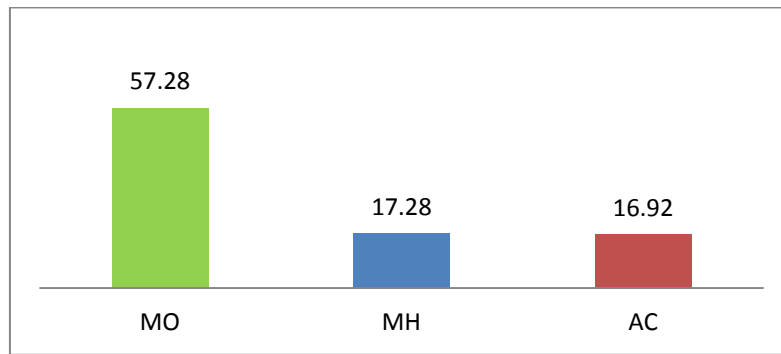
VI-2-1-2. العائلات الكيميائية لزيوت *Brocchia .C*

العائلات الكيميائية التي يتميز بها الزيت الطيار لـ *Brocchia .C* موضحة في الجدول التالي

الجدول 14. العائلات الكيميائية المتواجدة في الزيت الطيار لـ *Brocchia .C*

النسبة المئوية %	المركبات	العائلات الكيميائية
17.28	Santolina triene , α - pinene, Camphene, Sabinene, Myrecene, , γ -Terpinene, p-Cymene, β - pinene Mentha-1(7),8-diene, Terpinolene , α -Thujene	المونوتربينات الهيدروجينية (MH)
57.28	1-8-cineole, α -Thujone, β -Thujone, Camphor, Terpinen-4-ol, α -Terpineol, Piperitol<trans> , trans-Sabinene hydrate, Menth-2-en-1-ol<cis-p>	المونوتربينات الأوكسيجينية (MO)
16.92	Lavandulyl acetate, Isobornyl acetate , Hexenyl3-methyl butanoate<(3Z)-> , Isopentyl2-methylbutanoate	مركبات أخرى (AC)

نلاحظ من الجدول أن المونوتربينات الأوكسيجينية (MO) هي السائدة بكثرة ، حيث تمثل 57.28% من المجموع الكلي للزيت الطيار ثم تليها المونوتربينات الهيدروجينية (MH) بنسبة أقل والتي تمثل 17.28% وكذلك مركبات أخرى (AC) والتي تمثل 16.92%. يمكن أن نمثل النسب المئوية للزيت الطيار لـ *Brocchia .C* كما في الشكل التالي:

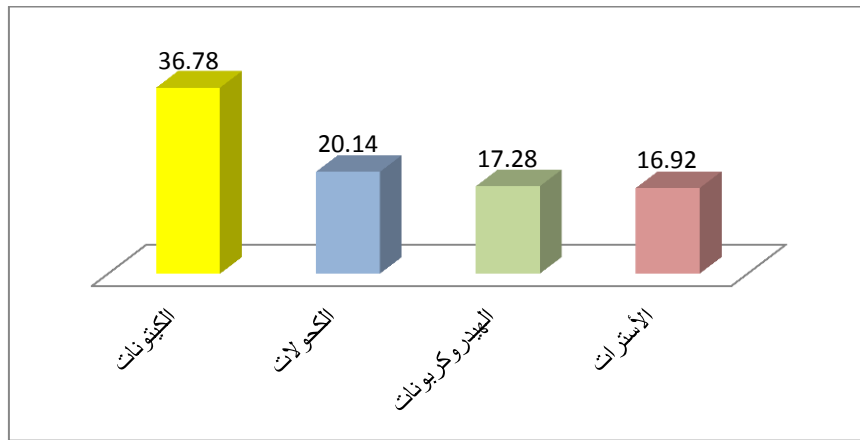
الشكل-47. العائلات الكيميائية المتواجدة في الزيت الطيار لـ *Brocchia .C*3-1-2-VI. الوظائف الكيميائية لـ *Brocchia .C*

الوظائف الكيميائية للمركبات المتواجدة في زيت *Brocchia .C* موضحة في الجدول التالي :

الجدول 15. وظائف العائلات الكيميائية المتواجدة في الزيت الطيار لـ *Brocchia .C*

النسبة المئوية %	المركبات الكيميائية	الوظائف الكيميائية
20.14	1-8-cineole Terpinen-4-ol, α -Terpineol, Piperitol<trans> , trans-Sabinene hydrate, Menth-2-en-1-ol<cis-p>	الكحولات
36.78	α -Thujone, β -Thujone, Camphor	الكتونات
16.92	Lavandulyl acetate , Isobornyl acetate, Hexenyl3-methyl butanoate<(3Z)-> , Isopentyl2-methylbutanoate	الاسترات
17.28	Santolina triene , α - pinene, Camphene, Sabinene, Myrecene, , γ -Terpinene, p-Cymene, β - pinene Mentha-1(7),8-diene, Terpinolene , α -Thujene	الهيدروكربونات

يتضح من الجدول أن الكيتونات هي السائدة، وتمثل %36.78 من الكتلة الكلية للزيت الطيار، ثم تليها الكحولات بنسبة %20.14. حيث تتوزع مكونات الزيت الطيار كما هو موضح في الشكل 48.

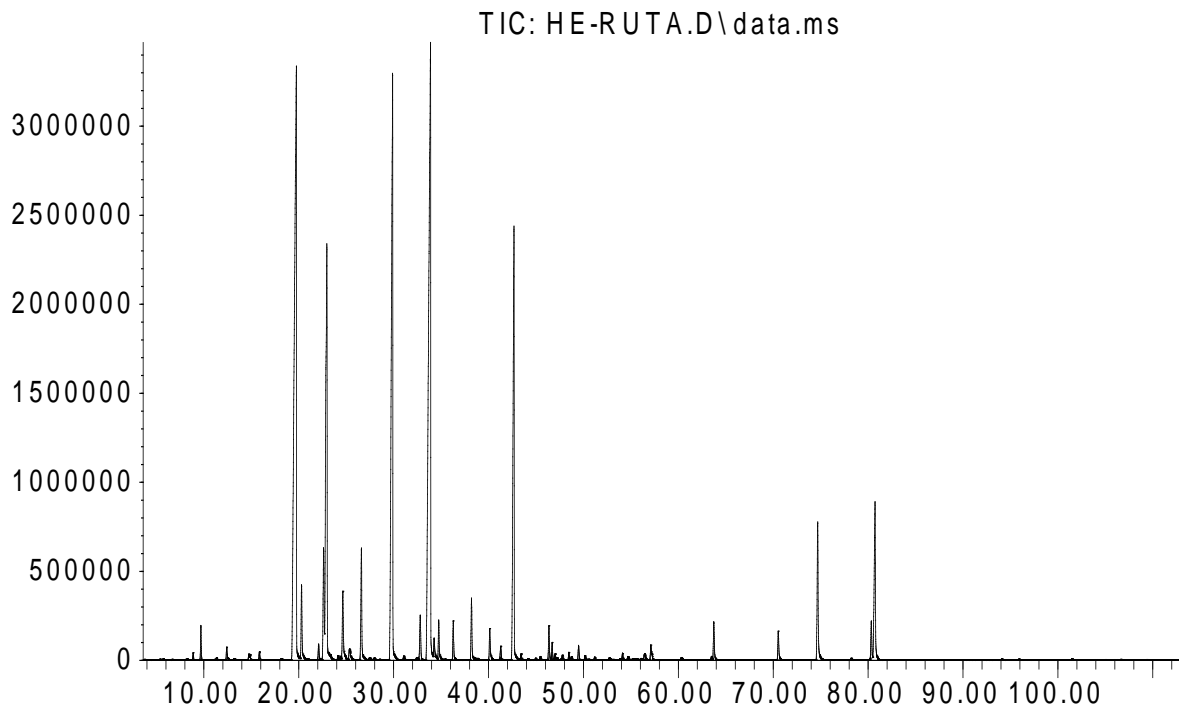


الشكل-48. العائلات الكيميائية المتواجدة في الزيت الطيار لـ *Brocchia. C*

VI-2-2. تحليل الزيت الطيار لـ *Ruta.G*

تم جمع المركبات المحددة في الزيت الطيار لـ *Ruta.G* مع أهم الشظايا (m/z) الأكثر شدة لكل طيف والجدول (16) يوضح ذلك.

Abundance



Time-->

Nov 29 14:28:41 2016

الشكل-49. كروماتوغرام الزيت الطيار لنبتة *Ruta.G* بواسطة GC-MS

الجدول 16. مكونات الزيت الطيار لـ *Ruta.G*

N0	IR _A	IR _{cal}	المركبات	%	M+	أهم الشظايا
1	932	931	α - Pinene	0.094	136	<u>93,121,105, ,77,41</u>
2	946	945	Camphene	0.446	136	<u>93,121,107,79,67,53,41</u>
3	988	993	Octanone<2->	0.213	128	<u>43,71,58</u>
4	1024	1028	Limonene	0.086	136	<u>68,121,107,93,79,53,41</u>
5	1087	1100	Nonanone<2->	22.381	142	<u>43,127,71,58</u>
6	1100	1107	Nonanal<n->	1.215	142	<u>41,98,82,70,57</u>
7	1141	1145	Camphor	9.629	152	<u>95,108,81,69,55,41</u>
8	1165	1168	Borneol	1.359	154	<u>95,110,67,55,41</u>
9	1165	1178	Nonanol<n->	0.271	144	<u>41,97,83,70,56</u>
10	1190	1195	Decanone<2->	1.752	156	<u>43,71,58</u>
11	1239	1243	2-Heptanol acetate	14.828	158	<u>45,69,55</u>
12	1285	1285	Pregeijerene	0.811	162	<u>79,105,94,53</u>
13	1293	1301	Undecanone<2->	21.711	170	<u>58,85,71,43</u>
14	1301	1307	Undecanol<2->	0.504	172	<u>45,83,69,55</u>
15	1389	1397	Dodecanone<3->	0.588	184	<u>57,155,85,72,43</u>
16	1417	1415	Caryophyllene<(E)->	0.253	204	<u>41,161,133,105,93,79,69,55</u>
17	1444	1438	Acetylacetophenone<p->	8.777	162	<u>147,162,119,91,50,43</u>
18	1452	1450	Humulene< α ->	0.093	204	<u>93,147,121,80,67</u>
19	1495	1498	Tridecanone<2->	0.562	198	<u>43,85,71,58</u>
20	1505	1509	Farnesene<(E,E)- α >	0.088	204	<u>41,119,107,93,79,69,55</u>
21	1522	1521	Cadinene<&->	0.082	204	<u>161,134,119,105,91,</u>
22	1548	1550	Elemol	0.247	222	<u>59,161,121,107,93,43</u>
23	1685	1686	Bisabolol< α ->	0.054	222	<u>43,119,109,93,69</u>
24		1949	Unknown	2.491		
25		2163	Unknown	3.455		

VI-2-2-1. تحليل نتائج الكروماتوغرافيا ومناقشتها

فيما يخص المركبات السائدة والتي تفوق نسبتها 2% من مكونات هذا الزيت فهي موضحة في الجدول التالي حيث تم تحديد 05 مركبات من بين 25 مركبا ، حيث تمثل نسبة 77.326% من نسبة المردود الكلي للزيت الطيار المتحصل عليه وهو 91.99% .

الجدول 17. الترتيب التنازلي للمكونات الخمسة السائدة لـ *Ruta.G* والتي تفوق نسبتها 2% .

1	1100	Nonanone<2->	22.381
2	1301	Undecanone<2->	21.711
3	1243	2-Heptanol acetate	14.828
4	1145	Camphor	9.629
5	1438	Acetylacetophenone<p->	8.777

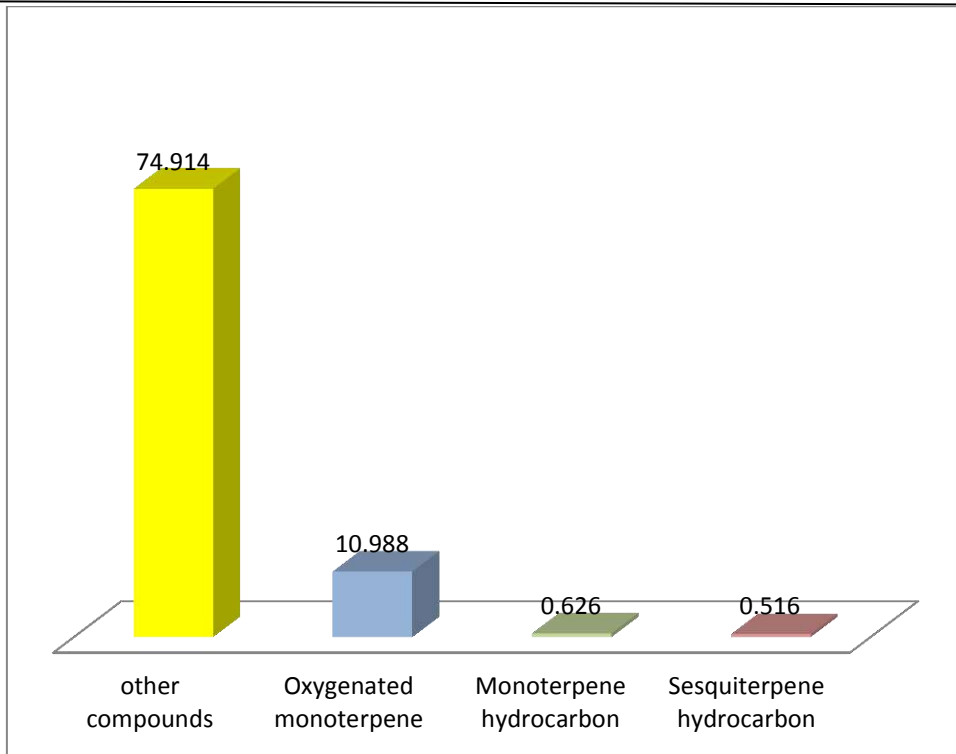
VI-2-2-2. العائلات الكيميائية لزيت *Ruta.G*

العائلات الكيميائية التي يتميز بها الزيت الطيار لـ *Ruta.G* موضحة في الجدول التالي

الجدول 18. العائلات الكيميائية المتواجدة في الزيت الطيار لـ *Ruta.G*

النسبة المئوية %	المركبات	العائلات الكيميائية
0.626	α - Pinene, Camphene, Limonene,	المونوتربينات الهيدروجينية (MH)
10.988	Camphor, Borneol	المونوتربينات الأوكسيجينية (MO)
0.516	Cadinene<&-> , Farnesene<(E,E)- α > , Humulene< α -> , Caryophyllene<(E)-> ,	السكيتربينات الهيدروجينية (SH)
74.914	2-Heptanol acetate, Octanone<2->, Nonanone<2->, Nonanal<n-> , Nonanol<n->, Decanone<2->, Pregeijerene, Undecanone<2->, Undecanol<2->, Dodecanone<3->, Acetylacetophenone<p->, Tridecanone<2->, Elemol, Bisabolol< α ->	مركبات أخرى (AC)

نلاحظ من الجدول أن مركبات أخرى هي السائدة بكثرة ، حيث تمثل 74.914% من المجموع الكلي للزيت الطيار ثم تليها المونوتربينات الأوكسيجينية بنسبة أقل والتي تمثل 10.988% ، أما المونوتربينات الهيدروجينية و السكيتربينات الهيدروجينية فنسبتهما ضعيفة .
يمكن أن تمثل النسب المئوية للزيت الطيار لـ *Ruta.G* بالشكل 50 .



الشكل-50 . العائلات الكيميائية المتواجدة في الزيت الطيار لـ *Ruta. G*

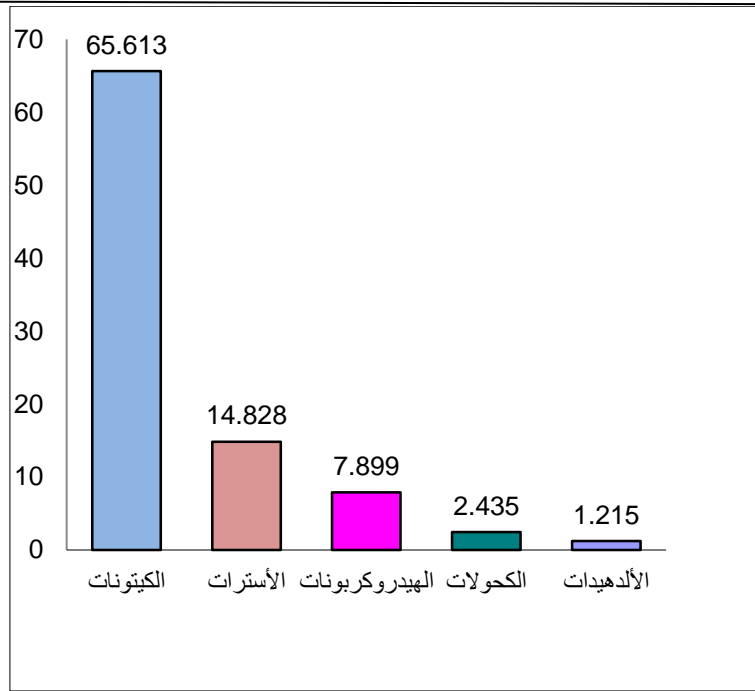
3-2-2-VI. الوظائف الكيميائية لـ *Ruta.G*

الوظائف الكيميائية للمركبات المتواجدة في زيت *Ruta.G* موضحة في الجدول التالي :

الجدول 19. وظائف العائلات الكيميائية المتواجدة في الزيت الطيار لـ *Ruta.G*

النسبة المئوية %	المركبات الكيميائية	الوظائف الكيميائية
2.435	Nonanol<n->, Undecanol<2->, Bisabolol<α->, Elemol, Borneol	الكحولات
65.613	Octanone<2->, Nonanone<2->, Camphor, Decanone<2->, Undecanone<2->, Dodecanone<3->, Tridecanone<2->, Acetylacetophenone<p->	الكيثونات
1.215	Nonanal<n->,	الألدهيدات
14.828	2-Heptanol acetate	الأسترات
7.899	α- Pinene, Camphene, Limonene, Cadinene<&-> , Farnesene<(E,E)-α> , Humulene<α-> , Caryophyllene<(E)->, Pregeijerene	الهيدروكربونات

يتضح من الجدول أن الكيثونات هي السائدة، وتمثل حوالي 65.613% من الكتلة الكلية للزيت الطيار ، ثم تليها مباشرة الأسترات بنسبة 14.828% . حيث تتوزع مكونات الزيت الطيار كما هو موضح في الشكل 51



الشكل-51. الوظائف الكيميائية المتواجدة في الزيت الطيار لـ *Ruta.G*

3-2-VI. دراسة مقارنة للنتائج التحليلية

1-3-2-VI. دراسة مقارنة للنتائج التحليلية *Brocchia.C*

لمقارنة النمط الكيميائي لـ *Brocchia.C* التي تنمو بالجزائر مع باقي النتائج المتحصل عليها في

أنحاء العالم المختلفة ، كما هي موضحة في الجدول 20 .

الجدول 20. النمط الكيميائي السائد لجنس *Brocchia* المتواجدة في أنحاء الوطن والعالم

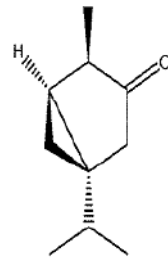
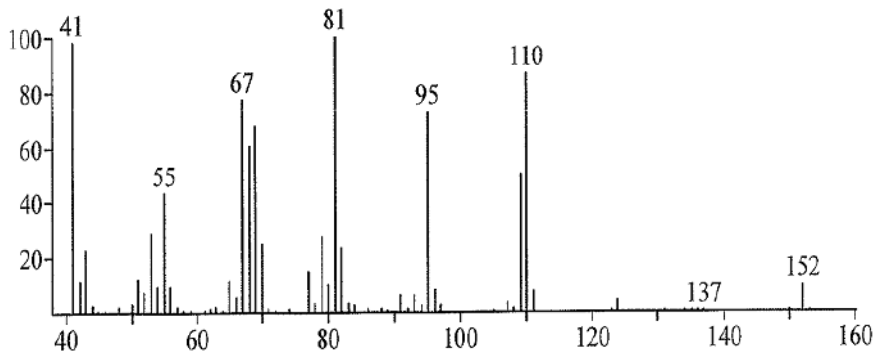
المرجع	النمط الكيميائي السائد	طريقة الاستخلاص	الجزء المستعمل	النبته	البلد
[151]	1. thujone 41.4 2 cis-verbenyl acetate 24.7 3. 1,8-cineole 8.2 4. santolina triene 7.2 5. camphor 5.5	التقطير المائي	الجزء الهوائي	<i>Cotula. c</i>	المغرب 2011
[147]	1. camphor (27.4%), 2. santolina triene (13.0%), 3. thujone (12.9%), 4. camphene (10.7%), 5. α -curcumene (5.3%) 6. α -Pinene 4.4	التقطير المائي	الجزء الهوائي	<i>Cotula. a</i>	الجزائر 2014

				7. β -Cymone 3.7 8. Bornyl acetate 3.6 9. p-Menth-1-en-4-ol 3.6 10. β -Phellendrene 2.2	
مصر	<i>Cotula. c</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي	1 Camphor 50.1 2. Thujone 14.4 3. Camphene 9.8 4 α -Pinene 7.7 5. 1, 8-Cineole 3.4	[149]
الوادي عملنا هذا	<i>Brocchia .C</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي	1. β -Thujone 32.01 2. Isobornyl acetate 16 3. 1-8-cineole 15.31 4. Santolina triene 9.35 5. Camphor 3.92 6. Terpinen-4-ol 2.91 7. p-cymene 2.27	

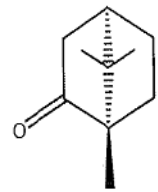
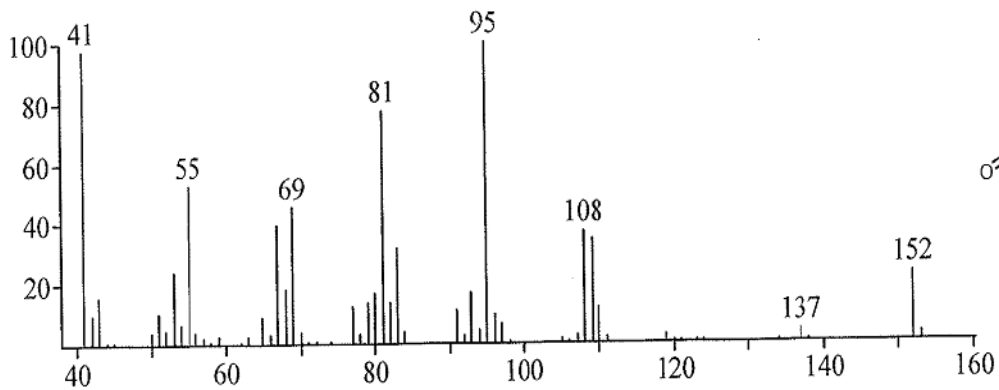
● مناقشة نتائج النمط الكيميائي السائد لجنس *Brocchia*

بالنسبة للجدول 13 والذي يوضح تغيرات النمط الكيميائي للزيت الطيار لجنس *Brocchia* في العالم وفي الجزائر ، فإن النمط السائد والمشارك هو المركبات التالية :

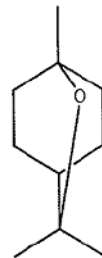
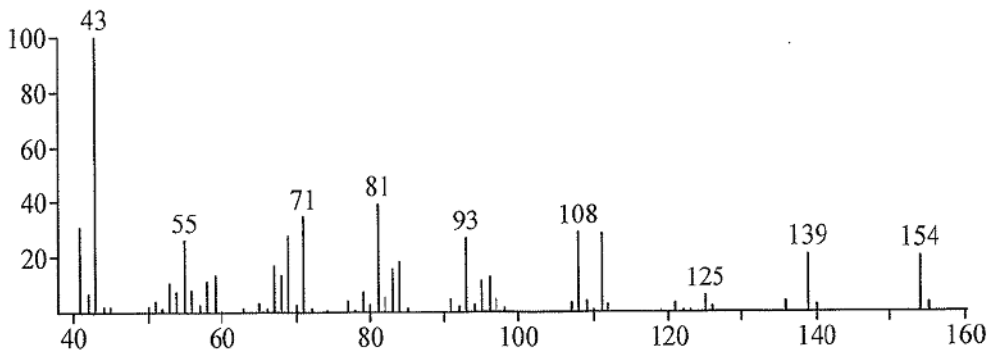
β -Thujone أعلى نسبة له في المغرب وهي %41.4 ، ثم Camphor أعلى نسبة له في مصر وتمثل %50.1 ، وكذلك 1-8-cineole أعلى نسبة له في نبتتنا وهي %15.31 حيث تنتمي هذه المركبات الثلاثة الى عائلة المونوتربينات الأوكسجينية ، ثم santolina triene توجد أكبر نسبة له في الجزائر حيث بلغت %13 ماعد مصر فهي منعدمة وهو من عائلة المونوتربينات الهيدروجينية وفي مايلي أشكال أطياف كتل المركبات السائدة لـ *Brocchia .C* .



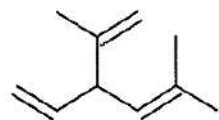
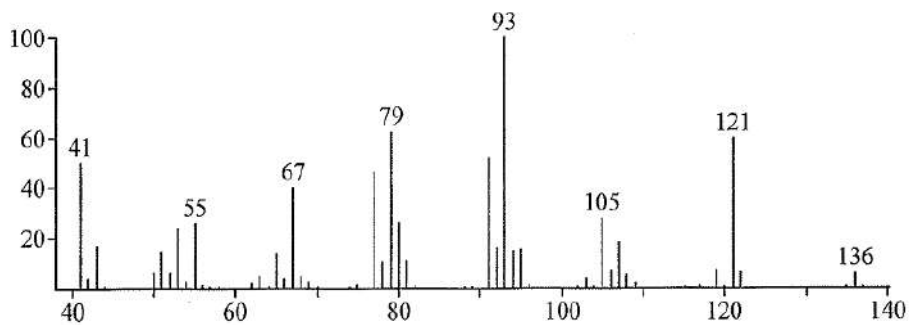
الشكل-52. طيف الكتلة لـ β -Thujone



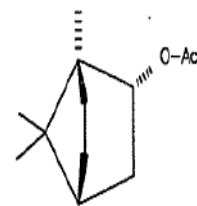
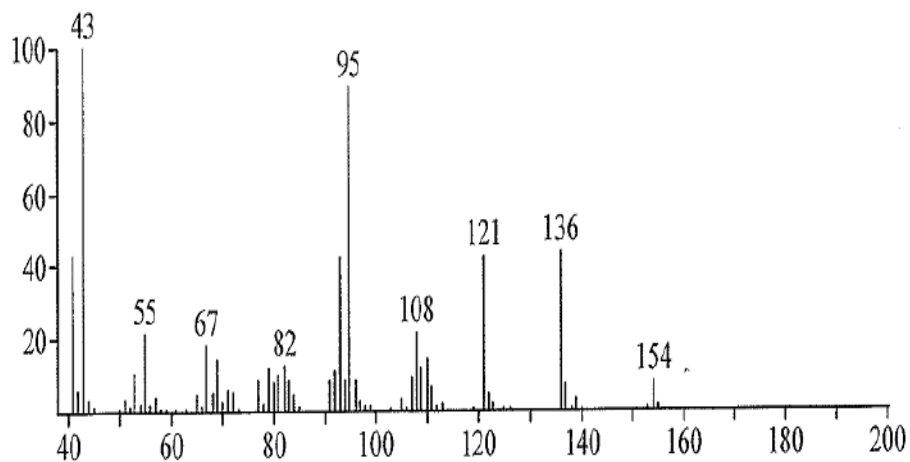
الشكل-53. طيف الكتلة لـ Camphor



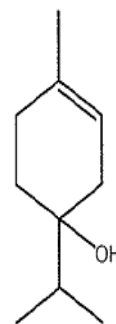
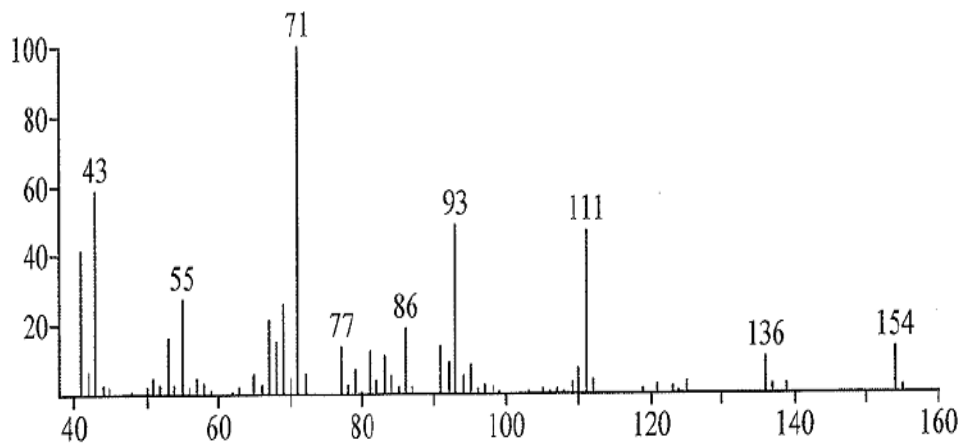
الشكل-54. طيف الكتلة لـ 1-8-cineole



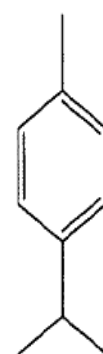
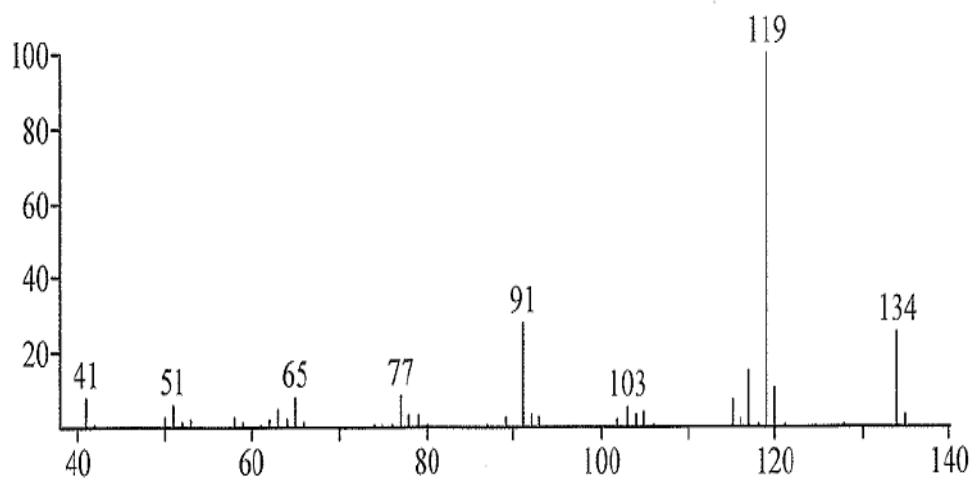
الشكل-55. طيف الكتلة لـ santolina triene



الشكل-56. طيف الكتلة لـ Isobornyl acetate



الشكل-57. طيف الكتلة لـ Terpinen-4-ol



الشكل-58. طيف الكتلة لـ p-cymene

VI-2-3-2. دراسة مقارنة للنتائج التحليلية لـ *Ruta.G*

لمقارنة النمط الكيميائي لـ *Ruta.G* التي تنمو بالجزائر مع باقي النتائج المتحصل عليها في أنحاء العالم المختلفة ، كما هي موضحة في الجدول 21 .

الجدول 21. النمط الكيميائي السائد لجنس *Ruta.G* المتواجدة في أنحاء الوطن والعالم

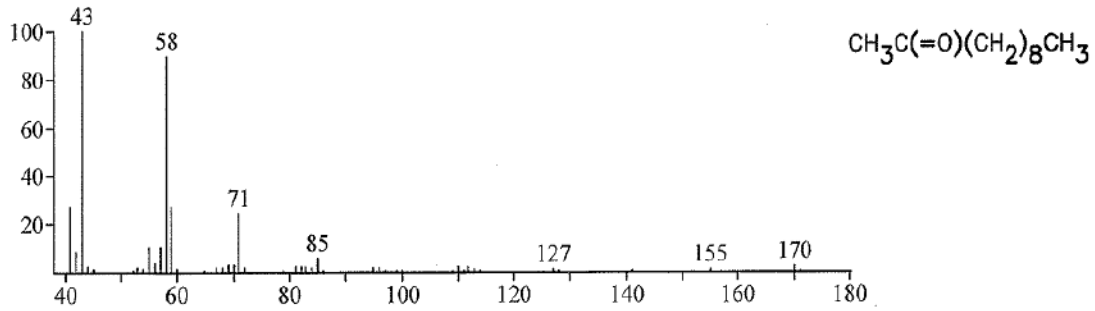
المرجع	النمط الكيميائي السائد	طريقة الاستخلاص	الجزء المستعمل	النبته	البلد
[118]	1. 2-Undecanone 46.8 2. 2-Nonanone 18.8 3. α -pinene 1.3 4. limonene 3.0 5. 1,8-cineole 2.9 6. 2-Decanone 2.2 7. tridecan-2-one 2.5	التقطير المائي	الجزء الهوائي	<i>Ruta. g</i>	ايطاليا
[115]	1. 2-Undecanone 82.46 2. 2-Decanone 10.03 3. 2-Dodecanone 1.51	التقطير المائي	الجزء الهوائي	<i>Ruta. a</i>	تلمسان
[119]	1. Octyl acetate 33.16 2. 2-Undecanone 23.82 3. 2-Nonanone 16.97 4. Decyl acetate 9.89	التقطير المائي	الجزء الهوائي	<i>Ruta. c</i>	الصديرة تونس
[120]	1. Octyl acetate 28.61 2. 2-Undecanone 22.59 3. 2-Nonanone 14.11 4. Decyl acetate 10.48 5. Isomaturin 2.64 6. 2-Decanone 1.49 7. 2-Dodecanone 1.38	التقطير المائي	الجزء الهوائي	<i>Ruta. c</i>	توجان تونس
[121]	1. 2-undecanone 77.18 2. 2-decanone 8.96 3. 2-dodecanone 2.37	التقطير المائي	الجزء الهوائي	<i>Ruta. c</i>	الفحص تونس

البرازيل	<i>Ruta. c</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي	1. 2-undecanone 47.21 2. 2-nonanone 39.17	[122]
طهران ايران	<i>Ruta. g</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي	1. 2-undecanone 33.9 2. 2-Heptanol acetate 17.5 3. ,1-dodecanol11.0 4. geyrene10.4 5. 2-nonanone8.8	[123]
مراكش المغرب	<i>Ruta. c</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي	1. 2-undecanone 49.08 2. 2-nonanone 33.15 3. limonene 4.19 4. decanone 2.71	[124]
تركيا	<i>Ruta. c</i>	السيقان	التقطير المائي	1. 2-undecanone 66.49 2. 2-nonanone 16.24	[125]
الأردن	<i>Ruta. g</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي	1- 2-nonanone (37.13%) 2- undecanal (34.69%) 3- 2-acetoxydodecane (5.0%) 4- 2-decanone (3.31%)	[126]
الوادي عملنا هذا	<i>Ruta. g</i>	الجزء الهوائي	التقطير المائي	1- Nonanone<2-> 22.381 2- Undecanone<2-> 21.711 3- 2-Heptanol acetate 14.828 4- Camphor 9.629 5- Acetylacetophenone<p-> 8.777 6- 2-Decanone 1.75	

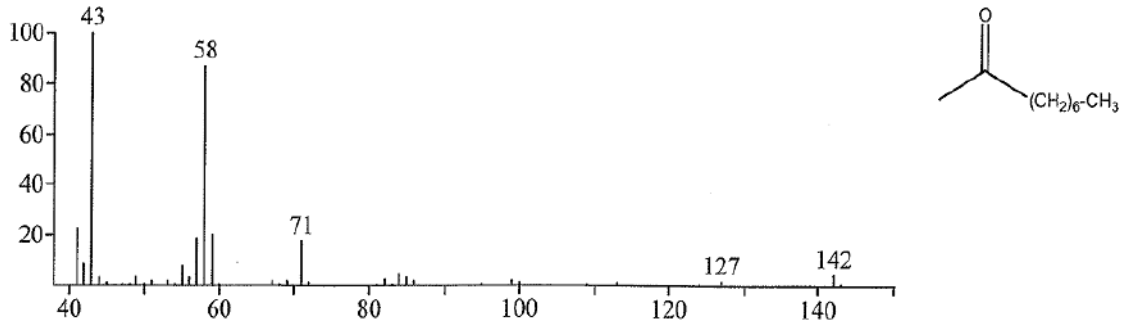
● مناقشة نتائج النمط الكيميائي السائد لجنس *Ruta*

بالنسبة للجدول 21 والذي يوضح تغيرات النمط الكيميائي للزيت الطيار لجنس *Ruta* في العالم وفي الجزائر ، فإن النمط السائد والمشارك هو المركبات التالية :

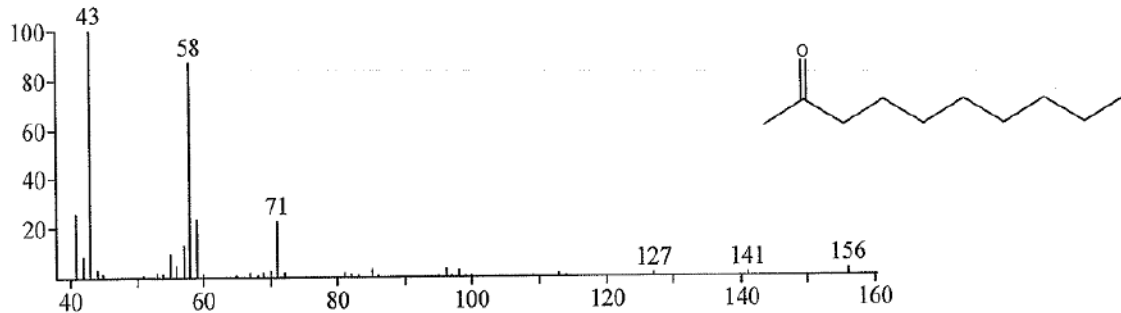
2-Undecanone أعلى نسبة له في تلمسان وهي %82.46، ثم Nonanone<2-> أعلى نسبة له في البرازيل وتمثل %39.17 ، وكذلك 2-Decanone أعلى نسبة له في تلمسان وهي %10.03 حيث تنتمي هذه المركبات الثلاثة الى عائلة السيتونات وفي مايلي أشكال أطياف كتل المركبات السائدة لـ *Ruta.G*.



الشكل-59. طيف الكتلة لـ 2-Nonanone



الشكل-60. طيف الكتلة لـ 2-Nonanone



الشكل-61. طيف الكتلة لـ 2-Decanone

4-VI. الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيت الطيار

إن الخصائص المؤثرة على الحواس والتي تسمح لنا بتقييم الزيوت الطيارة (الشفافية، اللون، الرائحة، الذوق... الخ) فهي غير كافية ولا نحصل إلا على معلومات محدودة عن الزيوت لهذا نلتجئ إلى تقنيات مميزة لتحديد نوعية والقيمة التجارية لها، والمعرفة حسب معايير السلم العالمية والتي تسمح لنا على العموم بتصنيف المستخلصات عند المراقبة الروتينية في الميدان الصناعي وذلك باستعمال القرائن الفيزيوكيميائية.

ومن بين هذه المعايير التي يمكن أن تحدد هذه القرائن بواسطة عدة منظمات عالمية معتمدة

والمعروفة في السلم العالمي منها : (International Organization for Standardization) ISO،

AOAC(the Association of Official) ، AFNOR(Association Française de Normalisation)

[191] (Agricultural Chemistry ; USA).

تم تحديد الخصائص الفيزيوكيميائية وذلك على ما هو معتمد من طرف A.F.N.O.R بحساب كل من الكثافة، القدرة الدورانية، قرينة الانكسار ، قرينة الحموضة ، قرينة الأستر . والطرق التي تحدد هذه الخواص موضحة في الفصل الثاني .

الجدول 26. قيم الخصائص الفيزيوكيميائية للزيت الطيار لكل من *Ruta.G* و *B. cinerea*

المرجع [192]	للزيت الطيار لـ <i>Ruta.G</i>	للزيت الطيار لـ <i>Brocchia. C</i>	الخصائص
0,942	0.873	0,978	الكثافة عند 20°C
1,4630	1.3610	1,4868	قرينة الانكسار
-	+0.34°	+0,25°	القدرة الدورانية
4.330	2.244	5.611	قرينة الحموضة
41.55	43.523	42.621	قرينة الأستر

VI-4-1. التعليق على النتائج

نلاحظ أن الكثافة لكل من *B. cinerea* و *Ruta.G* تقارب القيمة التي وجدت في الشلف للزيت الطيار لـ *M.vulgare* [192] ، وكذلك أيضا ما هو ملاحظ بالنسبة لقرينة الانكسار ، وكذلك قرينة الحموضة وهي كلها قيم مسموح بها لأنها محصورة بين 2 الى 6 ووجود اختلاف نوعا ما طفيف في قرينة الأستر حيث كلما ارتفعت I_e كلما كان الزيت الطيار جيدا عكس I_a .

أما بالنسبة للقدرة الدورانية فنلاحظ قيمتها موجبة وبالتالي فإن الزيت الطيار لكل من *B. cinerea* و *Ruta.G* يميني التدوير *Un pouvoir rotatoire dextrogyre* لذلك نقول أن لديه نشاط ضوئي نظرا لوجود المركبات الكيميائية فيه التي تحتوي ذرة كربون غير متناظرة تمتلك هذه الخصائص .

VI-3. القدرة المضادة للتأكسد

قمنا بدراسة القدرة المضادة للتأكسد للزيت الأساس لكل من *Ruta.G* و *B. cinerea* مع وجود مركبين مرجعية وهما BHT و Vit. E ، تمت الدراسة باستعمال طريقة تفخيخ الجذر الحر DPPH، والتي تم توضيحها سابقا، تم قياس الامتصاصية لهذا الجذر عند طول الموجة 517nm لمحلول إيثانولي مختلف التراكيز للعينة المدروسة مع تكرار القياس ثلاث مرّات لكل تركيز مع أخذ معدل الامتصاصية في النهاية، والنتائج موضحة فيما يلي.

VI-3-1. نتائج نسبة تثبيط الـ DPPH بدلالة تركيز كل من *B. cinerea* و *Ruta.G* و BHT و Vit. Eالجدول(22): تغيرات نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة تركيز *B. cinerea*

<i>B. cinerea</i>	C($\mu\text{g/ml}$)	500	1000	10000	70000	140000	280000
	I(%)	4.22 \pm 0.025	5 \pm 0.03	7.6 \pm 0.045	34.2 \pm 0.2025	54.13 \pm 0.32	75 \pm 0.444

الجدول(23): تغيرات نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة تركيز *Ruta.G*

<i>Ruta.G</i>	C($\mu\text{g/ml}$)	500	1000	10000	70000	140000	280000
	I(%)	4.13 \pm 0.015	4.138 \pm 0.005	13.51 \pm 0.0034	54.39 \pm 0.0036	78 \pm 0.03	89.86

الجدول(24): تغيرات نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة تركيز BHT و Vit. E

Reference compounds	C($\mu\text{g/ml}$)	5	10	25	50	100	200	500
BHT	I(%)	0.5 \pm 0.001	1 \pm 0.003	3.4 \pm 0.002	7.8 \pm 0.008	18.5 \pm 0.002	51.3 \pm 0.004	67 \pm 0.007
Vit. E	I(%)	15.4 \pm 0.016	31 \pm 0.002	79.5 \pm 0.008	89.9 \pm 0.0014	93.1 \pm 0.0014	91.1 \pm 0.008	-

حيث:

C($\mu\text{g/ml}$): تركيز العينة المدروسة في كل أنبوب

I(%): نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH لكل عينة مدروسة

من خلال 3 جداول (24,23,22) نحدد التركيز المثبط لنسبة 50% من الجذر الحر DPPH لكل عينة

مدروسة ، وذلك بالإسقاط على محور التركيز ، وبعد ذلك نحصل على النتائج التالية:

الجدول(25): قيم التركيز الأدنى المثبط IC_{50} لكل من *B. cinerea* و *Ruta.G* و المرجعين BHT و Vit. E

Vit-E	BHT	HE <i>Ruta.G</i>	H.E <i>B. cinerea</i>	الزيت الطيار أو المرجع
15	180	64000	120500	IC_{50} $\mu\text{g/ml}$

VI-3-2. التعليق على النتائج:

يتضح من خلال الأشكال السابقة أن نسبة التثبيط I(%) تتزايد بتزايد تركيز العينة المثبطة، ويلاحظ في أشكال المواد المرجعية أن تغيرات نسبة التثبيط تكون كبيرة عند تراكيز صغيرة، مما يدل على القدرة المضادة للتأكسد الكبيرة لهذه المواد ويمكن ترتيبها حسب قوتها كالتالي Vit. E ثم BHT ، أما الزيت الأساسي فنلاحظ أن نسبة التثبيط تتزايد عندما تكون تغيرات التراكيز كبيرة مما يدل على ضعف القدرة المضادة للتأكسد للزيت الأساسي لكل من *B. cinerea* و *Ruta.G* .

من خلال النتائج السابقة، يمكن أن نستنتج أن Vit. E له قدرة كبيرة على إرجاع الجذر الحر مما يفسر تناقص امتصاصيته ومن ارتفاع نسبة التثبيط حتى ولو تم استعماله بتركيز صغيرة، وهذا لوجود مجموعة الفينول التي لها القدرة الكبيرة على إرجاع الجذور الحرة. وكذلك عندما تكون IC_{50} أصغر ما يمكن فإن نسبة التثبيط تكون كبيرة أي تناسب عكسي ، وهذا يفسر كله بوجود مجموعة الفينول التي لها القدرة الكبيرة على إرجاع الجذر الحر.

VI-3-3. الخلاصة

حسب Remarthan و Ahmed فإن القدرة المضادة للتأكسد للزيوت الطيارة مرتبطة بوجود المركبات الفينولية (Carvacrol ، thymol ، phytol.... الخ) [188، 189] وكذلك وجود المركب 4,8,12,16-Tetramethyl heptadecan-4-olid (γ -lactone) من أهم المركبات المضادة للتأكسد الموجود في فيتامين E [190].

وبما أن الزيت الطيار لكل من *B. cinerea* و *Ruta.G* لا توجد به هذه المركبات كما تطرقنا إليه سابقا يمكن القول أن الزيت الطيار له قدرة مضادة للتأكسد ضعيفة مقارنة مع Vit-E و BHT.

VI-5. النشاط المضاد للميكروبات للزيت الطيار لـ *B. cinerea* و *Ruta.G*

تمت معرفة الفاعلية للزيت الطيار ضد كل من البكتيريا والفطر والخميرة، وهذا انطلاقا من تقييم CMI عند ملاحظتنا لعلب بتري السابقة وهذا بعد الحضانة 24 ساعة للبكتيريا و48 ساعة للخميرة والفطر، كما هو موضح في الصور التالية:



الشكل-64. العينات بدون H.E



الشكل-63. تأثير CMI لـ *B. cinerea*

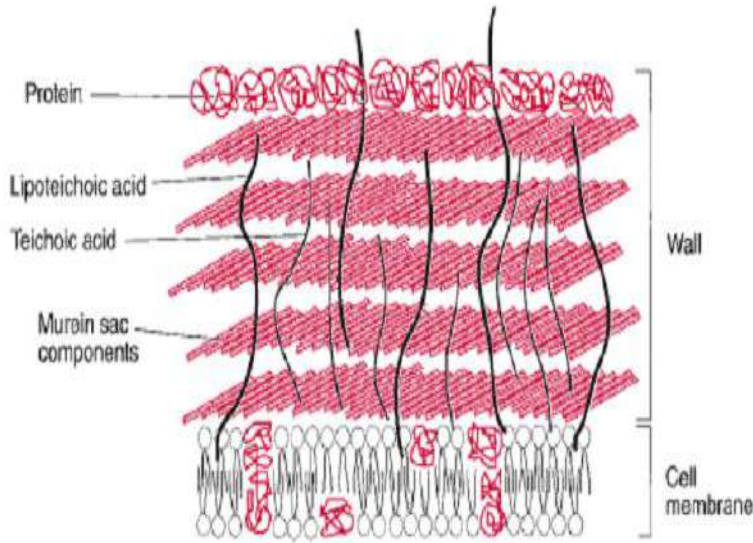


الشكل-62. تأثير CMI لـ *Ruta.G*

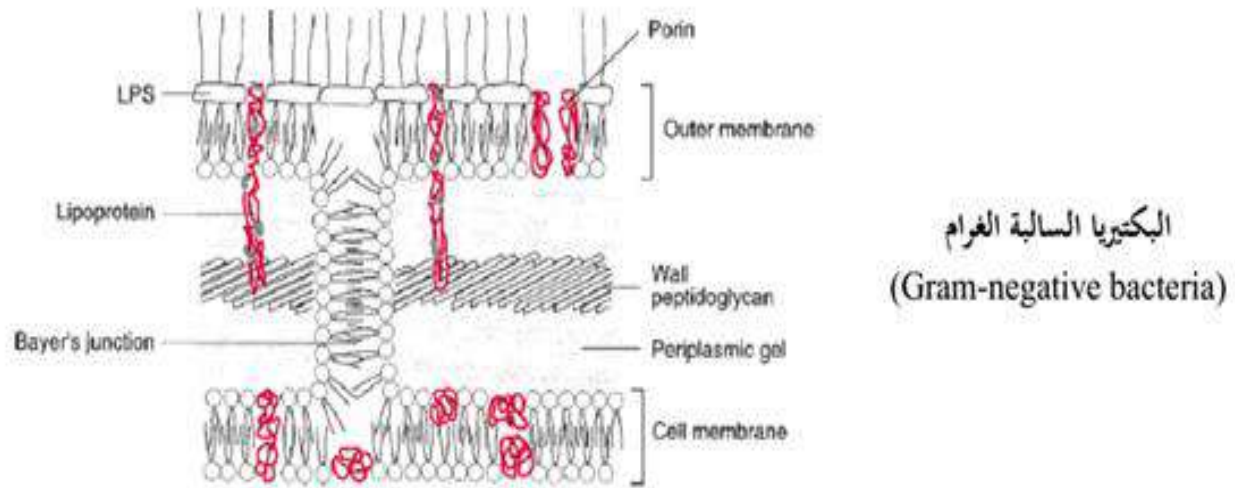
VI-5-1. التعليق على النتائج

من خلال نتائج الجدول 27 والجدول 28 نلاحظ أن التركيز الأدنى المثبط للأنواع السابقة سواء كانت بكتيريا أو خميرة أكبر أو يساوي $15 \mu\text{L/ml}$ في كل من للزيت الطيار لـ *Ruta.G* و *B. cinerea* باستثناء البكتيريا *Listeria monocytogenes* (Gram+) و *Micrococcus luteus* (Gram+)، فإن

التركيز الأدنى المثبط يكون أكبر أو يساوي 10 µL/ml وهذا عند *Ruta.G* بينما يكون أكبر أو يساوي 5 µL/ml عند *B. cinerea* ، وفي المقابل لم تظهر أية نتيجة بالنسبة للفطر *Mucor ramannianus* . بما يخص لماذا الزيت الأساسي لكل من *Ruta .G* و *B. cinerea* أكثر فعالية على Gram-positive أكثر من البكتيريا Gram- negative ، تجدر الإشارة إلى أن هياكل جدار الخلية من البكتيريا Gram-positive والبكتيريا Gram- negative مختلفة ، كونها أكثر تعقيدا في هذا الأخير. جدار الخلية للبكتيريا Gram-negative لديه غشاء خارجي يرتبط بطبقة الببتيدوجليكان (peptidoglycan) أدناه . [193، 194، 195]. هذا الغشاء الخارجي يمتلك مسامًا للسماح فقط بجزيئات صغيرة محبة للماء لتتمر من خلاله وهي تقريبا غير نفوذة للجزيئات الكارهة للماء الشكل (25). هذا الغشاء الخارجي غائب في البكتيريا Gram-positive. هذا قد يفسر سبب نشاط الزيت الكاره للماء ضد البكتيريا Gram-positive أكثر منه في Gram-negative [193، 194، 195، 196، 197]. مع ذلك ، فإن حساسية البكتيريا-Gram-negative قد تختلف وفقا للجنس والمحيط. على سبيل المثال ، زيت أساسي من القرفة يمنع نمو *E. aerogenes* من خلال التفاعل مع مختلف الأحماض الأمينية ديكاربوكسيلاز. وبالتالي ، قد يختلف نشاط الزيوت الأساسية اعتمادًا على وجود أو عدم وجود بعض الأهداف [198] هذا قد يفسر لماذا زيت *Ruta .G* أنتج نشاطا مضادا للميكروبات مرتفعًا تجاه *E. aerogenes*.



البكتيريا الموجبة الغرام
(Gram-positive bacteria)



الشكل- 65 : تركيب الجدار البكتيري [199]

2-5-VI. الخلاصة

على حسب النتائج فإنه وجد أن صمغ اللوتيسيك الغني بـ α - pinene لديه أعلى مستويات CMI [200] ، وهذا المركب مردوده 1.36% في الزيت الطيار لـ *B. cinerea* بينما مردوده 0.094% في الزيت الطيار لـ في الزيت الطيار لـ *Ruta.G* وبالتالي نستطيع القول أن لديه نفس المفعول ، ومن جهة أخرى فإن المركبات التي تمتلك الخاصية المضادة للتأكسد هي أيضا تمتلك نشاط مضاد للمكروبات مثل: *B. cinerea* و *Ruta.G* لذلك فإن التركيز الأدنى المثبط نوعا ما كبير في كلا الزيتين.

الهدف الرئيسي لمركبات الزيت الأساسي لكل من *B. cinerea* و *Ruta.G* هو غشاء الخلية. حيث أنها تؤدي إلى تلف غشاء الخلية مما تسبب في زيادة نفاذية الغشاء ، تسرب الأيونات ، وتثبيط الإنزيمات والبروتينات المختلفة [193 ، 194 ، 201].

إن أنواع البكتيرية الأكثر تأثرا هي النوع من البكتيريا موجبة لصبغة الغرام والتي تعرف بضعف مقاومتها بسبب طبيعة تركيب الغشاء الخلوي وعدم وجود البلازميدات المسؤولة عن المقاومة [202]، بينما أنواع البكتيرية الأقل تأثرا هي النوع من البكتيريا سالبة لصبغة الغرام حيث تمتلك اليات لمقاومة المضادات الحيوية فمثلا تستطيع *P.aerogenosa* إفراز إنزيم بروتياز حيث يعمل على تكسير المضادات الحيوية ، كما تمتلك العديد من البلازميدات التي تحمل صبغات مقاومة للمضادات الحيوية [203] ، ويعود كذلك الى امتلاكها طبقة من الغشاء الخارجي (Outer membrane) المكونة من السكريات الدهنية المتعددة (Lipopolysaccharide) تحيط بالغشاء الخلوي البكتيري [204] والتي تجعل نفاذية المواد أقل مقارنة بالبكتيريا Gram+ .

الجدول 27. تقييم التركيز الأدنى المشبط (CMI) للزيت الطيار لـ *Ruta.G*

Les concentration(µl/ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	1	2	3	4	5	10	15
Bactéries à Gram +												
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC6663)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC9314)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>Listeria monocytogene</i> (CIP82110)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Bactéries à Gram -												
<i>Escherichia Coli</i> (CIP54.8).	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (CIP82.91)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CIPA22).	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> (N°2410)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Salmonella enterica</i> (CIP 81.3)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Champignons												
<i>Mucor ramannianus</i> NRRL 6606	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Levures												
<i>Candida albicans</i> (CLM)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

الجدول 28. تقييم التركيز الأدنى المشبط (CMI) للزيت الطيار لـ *B. cinerea*

Les concentration(μ l/ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	1	2	3	4	5	10	15
Bactéries à Gram +												
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC6663)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC9314)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>Listeria monocytogene</i> (CIP82110)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Bactéries à Gram -												
<i>Escherichia Coli</i> (CIP54.8).	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (CIP82.91)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CIPA22).	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> (N°2410)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Salmonella enterica</i> (CIP 81.3)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Champignons												
<i>Mucor ramannianus</i> NRRL 6606	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Levures												
<i>Candida albicans</i> (CLM)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

الخلاصة العامة

إن الإنسان تفاعل مع النباتات الخضراء عبر العصور، واهتم بها وكانت له معها تجارب واسعة ولكنها سطحية، ولكن حالياً عدة أبحاث علمية سخرت وتطورت مع وجود الأجهزة الدقيقة، وأصبح بالإمكان تحديد المركبات الكيميائية التي من أصل نباتي وتحديد خصائصها البيولوجية مثلاً.

من أجل هذا قمنا بإنجاز هذا العمل، حيث حاولنا أن نساهم في دراسة التركيب الكيميائي للزيت الطيار المستخلص لكل من *Ruta.G* و *B. cinerea*، ثم تقويم النشاط المضاد للتأكسد لهذا الزيت، وكذلك النشاط البيولوجي، من خلال معرفة التركيز الأدنى المثبط (CMI)، ثم تحديد الخصائص الفيزيوكيميائية لهذا الزيت.

في البداية قمنا باستخلاص الزيت الأساسي لكل من *Ruta.G* و *B. cinerea* وذلك باستعمال ثلاث طرق وهي:

✓ الاستخلاص بواسطة التقطير المائي.

✓ الاستخلاص بواسطة التقطير المائي بإضافة H_3PO_4 .

✓ الاستخلاص بواسطة جهاز الموجات الدقيقة *Micro-onde*.

حيث ميزنا ما يلي :

- لهذا لكل زيت رائحة مميزة له .
- المرذود المتحصل عليه عموماً متوسط لكل من *Ruta.G* و *B. cinerea*.
- ثم تعرفنا على مكونات هذا الزيت *Ruta.G* و *B. cinerea* باستعمال الكروماتوغرافيا المرتبطة بمطيافية الكتلة GC/MS، حيث تم التعرف على 95.04% و 91.99% على الترتيب من التركيب الكلي للزيت الطيار وتحديد 25 مركباً لكل منهما .
- التركيب الكيميائي للزيت الطيار *B. cinerea* يتميز بـ 7 مركبات سائدة حيث تمثل 81.77% من نسبة المرذود الكلي أما *Ruta.G* يتميز بـ 5 مركبات سائدة نسبتها 77.326%.
ثم تحديد القدرة المضادة للتأكسد للزيت الطيار حيث لاحظنا مايلي :
- قدرة مضادة للتأكسد ضعيفة بالمقارنة مع مضادات التأكسد التجارية مثل Vit-E وهذا لعدم وجود المركبات الفينولية في الزيت الطيار لكل من *Ruta.G* و *B. cinerea* .
- وتمت معرفة الخصائص الفيزيوكيميائية وذلك بحساب كل من الكثافة وقرينة الانكسار والقدرة الدورانية وقرينة الحموضة وقرينة الأستر.
- وفي الأخير تطرقنا إلى الفاعلية البيولوجية للزيت الطيار لكل من *Ruta.G* و *B. cinerea* من خلال تحديد التركيز الأدنى المثبط (CMI) للعينات الميكروبية .

تطلعات وأفاق

- بناء على الدراسة المرجعية، والعمل الشخصي الذي قمنا به لاحظنا أن هناك غياب كلي في دراسة نواتج الأيض الثانوي من فلافونويدات وقلويدات والتانينات... الخ، لذا نتطلع مستقبلاً إلى ما يلي :
- استعمال طرق تحليلية أخرى منها HPLC في الكشف عن المواد الفعالة مثل الفلافونويدات في كل من *B. cinerea* و *Ruta.G* .
 - الكشف عن المعادن المتواجدة في كل من *B. cinerea* و *Ruta.G* وعلاقتها بالنشاط الإنزيمي.
 - استخدام طرق استخلاص أخرى للزيت الطيار مثل الطريقة البخارية .
 - استعمال أكبر عدد من المركبات المعيارية والمتعارف عليها في تقويم النشاط المضاد للتأكسد مثل Vit-C ، TBA ، حمض الغاليك ، GA ، TBHQ ، PG... الخ.
 - استعمال أكبر عدد من اختبارات النشاط المضاد للتأكسد.



المراجع

- [1]. R.Paris, Chemiotaxonomie et biogenèse des huiles essentielles. Rivista italiana Essenze., 3, 279-282, (1972).
- [2]. R.G.Otto, Phytochemicals: differentiation and function. Phytochemistry., 29, 1715-1724 (1990).
- [3]. E.Seguín, A.Ghestem and M.Paris Ovecehioni, Le préparateur en pharmacie Botanique Phannacogn OSie PhYtOthéraPW)). édition Tec & Doc., 143-146 (2001).
- [4]. El-khaffagy, Arabe of drugs and medicinal Plants, Alixendria, P:1-31 (1995).
- [5]. Merghem.R. Origine et biogenèse des Molécules d'origine naturelle, importantes pour L'industrie pharmaceutique Sèminaire national sur les Substances bioactives d'origine végétale. Jijel, Inpress. (2001)
- [6]. Naves Y. R. - Qu'est ce qu'une huile essentielle?, Masson. (1974)
- [7]. Raven P. H., Evert R. F. et Eichhorn S. E. - Biologie végétale. Ed. De Boeck Université, Bruxelles, pp. 28 - 30. (2007)
- [8]. Macheix J. J., Fleuriet A. et Jay-Allemand Ch. - Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. P. P. U. R., Lausanne, 192 p(2005).
- [9]. F.Abdellatif, Analyse de L'huile Essentielle de La Mélisse Officinale Par Chromatographie en Phase Gazeuse Couplée à la Spectrométrie de Masse, Thèse de Magister, Juin 2005
- [10]. J.Bruneton, Pharmacognosie: Phytochimie – Plantes médicinales, , EMI (édition médicale internationale). 3^{ème} édition 1999
- [11]. Delaveau P., Lorrain M., Mortier F., Rivolier C., Rivolier J. et Schweitzer A. R. - Secrets et vertus des plantes médicinales. Sélection du Readers Digest, S. A., Paris, pp. 11 - 12(1985).
- [12]. Bruneton J. - Plantes toxiques – Végétaux dangereux pour l'homme et pour les animaux. Ed. Lavoisier Tec & Doc, Paris, p. 513(1996).
- [13]. Paris M. et Hurabielle M. - Abrégé de matière médicale (pharmacognosie). T1, Ed. Masson, Paris, pp. 182 - 194(1981).
- [14]. Bruneton J., - Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. Tec & Doc, Paris, pp. 484 – 510(1999).
- [15]. Judd W. S., Campbell C. S., Kellogg E. A. et Stevens P. - Botanique systématique. Une perspective polygénétique. Ed. DeBoeck Université, Paris, pp. 86 - 87(2002)
- [16]. Gattefossé R. M. - Aromathérapie. Les huiles essentielles, hormones végétales. Librairie des sciences Girardot & Cie, Paris, p.23(1937).

- [17]. Guignard J. - L. - Abrégé de biochimie végétale. Ed. Masson, Paris, 263p.
- [18]. Paris M. et Hurabielle M. (1981) - Abrégé de matière médicale (pharmacognosie). T1, Ed. Masson, Paris, pp. 182 - 194(1979).
- [19]. Boira H. et Blanquer A. – Environmental factor affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 26: 811 – 822(2005) .
- [20]. Pala-paul J., Perez-Alonso M. J., Velasco-Neguerel A., Pala-paul R., Sanz J. and Conejero F.– Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia* L. ssp. *Rosmarinifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29: 663 – 672(2001).
- [21]. Azvedo N. R., Campos I. F. P., Ferreira H. D., Port T. A., Santos S. C., Seraphin J. C., Paula J. R. and Ferri P. H.– Chemical variability in the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Phytochemistry*, 57: 733 – 736(2001).
- [22]. Oliveira M. J., Iani F., Campos P., Oliveira C. B. A., Santos M. R., Souza P. S., Santos S. C., Seraphin J. C. and Ferri P. H. – Influence of growth phase of the essential oil composition of *Hyptis suaveolens*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33, 275 – 285(2005).
- [23]. Pen H. Y. and Yang X. E– Volatile constituents in the flowers of *Elsholtzia argyi* and their variation: a possible utilization of plant resources after phytoremediation. *Journal of Zhejiang University Science*, 6B, (2): 91 – 95. (2005).
- [24]. Zheljzkov V. D., Craker L. E..Effects of Cd, Pb and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint and basil. *Environmental and experimental botany*. (2005).
- [25]. www.arasi-freeservers-12/10/2010
- [26]. Ghestem A., Seguin E., Paris M. et Oorecchioni A-M., *Le préparateur en pharmacie. Botanique – Pharmacognosie – Phytothérapie – Homéopathie*. Ed. Tec & Doc et E. M. Internationales, pp(99-191). 2001
- [27]. *Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles*, 143/147, bd Anatole France - F-93285 Saint-Denis cedex
- [28]. B.A.Arthur Riffer and R Wong,. *Monoterpenes, Fatly and Resin acids of Pinus ponderosa and Pinus jeffreyi*. *phytochemistry*., 8, 873-875 (1969).
- [29]. Ekundayo, *Review volatile constituents of Pinus needle oils, Flavour fragr.* .1. ,3, 1-11 (1988).
- [30]. G.T.Forrest, K.Burg and Ri(lump, *Genetic markers: Tools for identifying and characterising Scots pine populations*, *Invest. Agr. sist. Recur. For.:* Fuerade de serie n. 1 (2000).

- [31]. F. Seaz, J. Herbs, Spices & Medicinal Plants 5 (1998) 65.
- [32]. A.J. Poulouse, R. Croteau, Arch. Biochem. Biophys. 187 (2) (1978) 307.
- [33]. Wichtl M. et Aanton R. (2002) - Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, sciences et thérapeutiques, Editions Tec & Doc, Paris, 694p.
- [34]. Richter.E.(1993)Metabolisme Des végétaux. Physiologie et Biochemie .pp:37
- [35]. Guignard.J.LBiochimie végétale. 2ème Ed. De l'Abrégé.pp.274.(2000).
- [36]. Guignard.jean-louisBiochimie végétale,Masson-Paris;(1996).
- [37]. Benjilali B. , Extraction des plantes aromatiques et médicinales. Cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique: huiles essentielles: de la plante à la commercialisation. pp. 61 – 80(2004) .
- [38]. G.Janicsak, K.Veres , M. Kallai, I.Mathé ; J.of chromatographia,(2003) 58,295-299 [39].
- [39]. F. Augusto, A Sartoratto. J. of Chromatographia ,(2003)57, 351-356
- [40]. F. Hichri, H . Ben Jannet , P .J. M. Abreu et Z .Mighri ; J .Soc. Alger. Chim,(2003) 13(2),187-196.
- [41]. S .Nacef, M. Msaddek, H.Ben Jannet,S.Atlla, A. Bakhrouf and Z. Mighri ;J .Soc. Alger. Chim, (2003) 13(2), 163-175.
- [42]. Kobachi ;the essential oils florida ,(1994) vol 3, 396-398.
- [43]. N. W .Davies; journal of chromatography A ,(1990) 50, 31-24.
- [44]. R. P .Adams; Identifiction of Essential oil Components by Gaz Chromatography/Masse spectrométrie, Allured publishing Co . Illionois(U.S.A),(2007).
- [45]. J . Tranchant ; Manuel Pratique de Chromatographie en Phase Gazeuse,4ème Edition Masson Paris(1995).
- [46]. L. S. Etre; Jornal of Chromatographia , (2003)58, 491-494.
- [47]. L. Boudarene, thèse de Doctorat és-science ; USTHB (2004).
- [48]. Ch. Franz. Actual problems on the quality of medicinal and aromaticplants. Acta Hortic. 188(1986) .21-34.
- [49]. Debelmas A. - M. et Delaveau P. Guide desplantes dangereuses. 2ème éd., Maloine S. A. éditeur, Paris, p. 45(1983).
- [50]. Hallard F. Phytothérapie. Ed. Masson, France, pp. 9 – 10(1988)
- [51]. D.E.Pratt and BJ .Hudson, In “Foo4 antioxidants”. edited by BJ.F. Hudson, Elsevier Scienc e Publisher, Ltd London .,171-191 (1990).
- [52]. P.G. Pietta. Flavonoids, in medicinal plants, in ‘Flavonoids in health and disease”, C.A, Rice-Evans, L. Packer Edition (New York)., 61-110(1998).
- [53]. F.Shahidi, P.KJanitha and P.D.Wanasufldara , Phenolic antioxidants. Crit. Rev. Food Sci. Nutr .32(1),67-103 (1992).

- [54]. I-LMasaki. S.Sakaki. T.Atsumi and H.Sakurai. Active oxygen scavenging activity of plant extracts. *Biol. Pharm. Bull.*, 18. 162-166 (1995).
- [55]. G.C.Yen and H.Y.Chen, Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* ., 43, 27-32 (1995).
- [56]. W.Bors and M.Saran. Radical scavenging for flavonoid antioxidants. *Free Radical Res. Commun.* 2.289-294 (1987).
- [57]. G.Cao, E.Sofi and R.L.Prior, Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* . 44.3426-3431(1996).
- [58]. T.H.Gamel and A.Kiritsakis, Effect of methanol extracts of rosemary and olive vegetable water on the stability of olive oil and sunflower oil. *Grasas y Aceites*.,50 (5)345-350 (1999).
- [59]. M.E.Cuvelier, C.Berset and H.Richard, Use of a new test for determining comparative antioxidative activity of butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, alpha and gamma-tocopherols and extracts from rosemary and sage. *Sciences des aliments* .10, 797-806 (1990).
- [60]. M.C.Yin and W.S.Cheng. Antioxidant activity of several Allium members. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* .,46.4097-4101(1998).
- [61]. G.Vardar-Unlu. F.Candan. A.Sekmen. D.Daferera. M.Polissiou. M.Sekmea E. Denmez and B.Tepe. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fish. et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). *Journal of Agriculture and Food Chemistry* .51(1). 63-67 (2003)
- [62]. V.Bankova, Determining quality in propolis samples. *The journal of the American apitherapy society*.. 7,(2) (2000).
- [63]. A.B.Silva, F.Ferreres, J.O.Malva and C.P.Alberto Dias. phytochemical and antioxidant characterization of hypericum perforatum alcoholic extract. *Food Chemistry* .90. 157-167 (2005).
- [64]. H.Vang. G.Muteedharan, M.Gale.Strasbourg. M.Boonen. J.I.Gray and Nove! antioxidant compounds from tart cherries (*Prunus cerasus*). *L.Nat.prod* .,62, 86-88 (1999).
- [65]. K.Peli and M.Lyles, Antioxydants dans l'alimentation. *Consommateur* .,3,4-28 (2003).
- [66]. M.E.Cuveliers. C.Berse and H.Richard, Use of a new test for determining comparative antioxidative activity of butylated hydroxytoluene alpha and gamma tocopherols extract from rosemary and sage. *Science des aliments*..16, 796 -808 (1990).
- [67]. D.T.Coxon, K.R.Price and H.W.Chan, isolation and structure determination of methyl linolenate diperoxides. *Chem. Phys. Lipids* ., 28, 365-378 (1981).
- [68]. E. N. Frankel, *Lipid Oxidation*. The Oily Press Ltd., Dundee (1998).
- [69]. T. P. Labuza Kinetics of lipid oxidation in foods, *Rev Food Technol.*, 355-405 (1971).
- [70]. M.Hamberg and B.Samuelsson, On the specificity of the oxygenation of unsaturated fatty acids catalyzed by soybean lipoxidase, *J. Biol. Chem* .,242, 5329-5335 (1967).

- [71]. J.M.Deman. Principe of food chemistry. The AVipublishing company. Inc., Westport, Connecticut (1980)
- [72]. J.C.Cheftel and H.Cheftel, Fruits et légumes dans Ingroduction à la biochimie et à la technologie des aliments”.volunie 1, Technique et Documentation — Lavoisier.. (Paris) 381, (1992).
- [73]. CDemanze. A.Karleskind, Analyse des anti xygè nes dans les corps gras alimentaires, dans “Actualités scienflfiques et techniques en industries agroalimentaireS”. CDIUPA, No 28, p. 3.
- [74]. C.Alais and G.Linden, Abrégé de biochimie alimentaire, édition Masson, 4ième édition., .236-237 (2001).
- [75]. A.L.Braflem, P.M.Davidson and B.Katz, Antimicrobial properties of phenolic antioxidants and lipids. Food Technologie., may. 42-63 (1980).
- [76]. K.B.Gimme. A “C”, Vitainin C’s powerful antioxidant properties are getting new appreciation. Food Processing ..34. 126-127. (1998).
- [77]. J.C.Guilland and B.Lequeu, Vitamines, du nutriment au médicament - invention sur les ingestats alimentaires. Technique et Documentation — Lavoisier (Paris).., 357. (1992).
- [78]. Maydani M. (2000) Effect of functional food ingredients: vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly. Am J Clin Nutr. 71(suppl), 1665S-1668S.
- [79]. Maydani M. Vitamin E and prevention of heart disease in high-risk patients. Nutr Rev. 58, 278-281(2000).
- [80]. M. C. Yin and W .S. Cheng Oxymyoglobin ami lipid oxidation in phosphatidylcholine liposomes retarded by alpha tocopherol and beta carotene. Journal of Food Science .,62(6). 1095-1097 (1991).
- [81]. B. Hallivel and J.M.C.Gutteridge, Role offree radicaïs and catal ylic metai ions in human disease: an overview. Parcker L.P. Glayer. A.N, Edition, Methods in Enzymology. Academic Press (New York).. 186. 1-85 (1990).
- [82]. E.J.Oliveira and D.G.WaLson Review: chromatographic techniques for the determination o! putative dietarv anticancer compounds in biologici fluids. Journal of chromatography .. 764.3-25 (2001).
- [83]. B.J.Harborne and A.C.Williuizms, Review advances in flavonoids research smce 1992. Phytochemi try .,55. 48 1-504 (2000).
- [84]. 1.F.F.Benzie and JJ.Strain, Diet andAntioxidant Defence. Elsevier Ltd ., (2005).
- [85]. C.Bers and M.E.Cuvelier. Méthode d ‘évaluation du degré d ‘oxydation des lipides et de mesure du pouvoir antioxidant. Sciences des aliments ..16..19-245 (1996).
- [86]. M.Nishikimi. N.A.Rao and K.Yagi, 17w occurrence of superoxide anion in the

- reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. Biochem. Biophys. Res. Commun ...46. 849-853 (1972).
- [87]. P.G.Pietta, Flavonoids in medicinal plants, in "Flavonoids in health and disease". Edition (New York) ..61-110 (1998).
- [88]. H.Wang, G.Cao. and R.Prior, Total antioxidant capacity of fruits. Journal of Agriculture and Food Chemistry.,44. 701-705 (1996).
- [89]. N.C.Miller and C.Rice-Evans. Spectrophotometric determination of antioxidant activity. Redox Rep .2(3). 161-171 (1996).
- [90]. B.Tepe. D.Daferera, M.Sokmen, M.Polissiou and A.Sokmen, The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and various extracts of *Origanum onites* L var *bevanii* L. J. Food Agr ..84, 1389-1399 (2004).
- [91]. G.Ruberto and M.T.Baratta, Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. Food Chemistry ..69,167-174 (2000).
- [92]. K.A.Youdim and S.G.Deans, The antioxidant properties of thyme (*thymus zygis* L.) essential oil: an inhibitor of lipid peroxidation and a free radical scavenger. J.Essent.Oil Res., 14,210-215 (2005).
- [93]. K.Tolossa, K.Asres, F.K.E1-Fiky. A.Nassr and B.Singab, Composition of the Essential Oils of *Satureja abyssinica* ssp. *abyssinica* and *Satureja paradoxica* Their Antimicrobial and Radical Scavenging Activities. J.Essent.Oil Res ..19, 295-300 (2007).
- [94]. H.L.Madsen B.Sorensen, L.H.Skibsted and G.Bertelsen. The antioxidant activity of summer savory (*Satureja hortensis* L) in dressing stored exposed to light or in darkness. Food chemistry .. 63, 173-180 (1998).
- [95]. G.Migel. M.Simos. A.C.Figueiredo, J.G.Barroso. L.G.Pedro and L.Carvalho, Composition and antioxidant activities of essential oils of *Thymus Caespitius*, *Thymus Camphoratus* and *thymus mastichina*. Food Chemistry .. 86, 183-188(2004).
- [96]. Randonic et al. M.Milos, Chemical composition and antioxidant test of free and glycosidically bound volatile compounds of savon' (*Satureja montana* L. subsp.*montana*) from Croatia. Nahrung (Food ..47,236-237 (2003).
- [97]. K.F.El-Massry. A.H.E1-Ghorab and A.Farouk, Antioxidant activity of volatile components of Egyptian *Artemisia judaica* L. Food Chemistry .39. 331-336(2002).
- [98]. Guerin-Fauble. V. Carret.C.(1999) .L'antibiogramme: Principes, méthodologie, intérêt et limites. Journées nationales CTV-INRA .pp.5-12
- [99]. Ericsson.H.M.Osherris.J.C.(1971).Antibiotic Sensitivity Testing. Report of an International Collaborative Study.-Actes .path. microbiol. Scand., BSuppl.pp. 90,217
- [100]. Baures .A, W., Kirry. W.M.M.,Sherris.J.C.A., Turch .M.Antibiotic susceptibility

- testing by a standardized single Disk method. – Amer.J. Clin.Pathol., 45:493-496 (1966)
- [101]. Soiation.PBactériologie.4éme edition,P; 331.(1999).
- [102]. D-Dahmane Extraction ,analyse et activité antimicrobienne des H-E de deux plantes Médicinales algériennes;Juniperus Phoenicea L. et Juniperus Oxycedrus L.
Thèse de Magister 2005
- [103]. Berche.P.Guillard.J.I.,Semaneq,MBacteriologie .les bacteries des infection humanies.ad.flamarion(1ere edition) paris.(1989).
- [104]. Singleton.PBactériologie.4éme édition.P:(325-330) .(1999)
- [105]. Ericsson.H.M.OSheris.J.CAntibiotic .(1971).
- [106]. G. Gislene, F. Nascimento, J. Locatelli, P.C. Freitas, G. L. Silva; Braziliam Journal of Microbiology (2000) 31, 247-256
- [107]. A. Pieroni , L. Cassandra . Quave; Journal of Ethnopharmacology(2004)91, 331-344
- [108]. Rozier.J.Bolnot.F. Carlier .VBases Microbiologique de l'Hygiene des Aliments .Maisson Alfort Pairs.P75-203.(1985).
- [109]. Dr.Lidija Kosychova .,Dr.Habil.Benediktq D.Puodziunaite.,Dr.Regina Janciene, Dr.Zita Stumbreviciute. On the synthetic zqy to novel peri-qnnelqted imidazo[1.5]benzodiazepinones as the potent non-nucleoside reverse trqnscripqtse inhibitors. Arkivoc .1:521-522.(2000).
- [110]. Courvalin.PInterpretativereading of antimicrobial Susceptibility tests. ASM News.58:368-375.(1992)..
- [111]. Jorgensen .J.H. Ferrqro .M.J. Antimicrobial Susceptibility testing: general principles and contemporary Practices. Clin. Infect. Dis. 26:973-980(1998)..
- [112]. Robert-Dernmet .SAntibiotiques et antibiogrammes Dècarie Vigot,. Montréal .p322.(1995).
- [113]. Feron.ABacteriologie a l'usage des étudiante en médecine.édition gouan et roques (8 éme édition) .(1976).
- [114]. Farah .Haddouchi, Tarik. Mohammed Chaouche , Yosr. Zaouali , Riadh .Ksouri , Amina. Attou , Abdelhafid . Benmansour; Food Chemistry. , 141. 253–258(2013)
- [115]. Hazzit M., Benchabane A., Baaliouamer A., Alloun K., Kaci M RECHERCHE AGRONOMIQUEN° 27 – 2015
- [116]. Mojtaba. Soleimani, Parviz . Aberoomand Azar, Mohammad. Saber.Tehrani1 , Abdolhossein . Rustaiyan, World Applied Sciences Journal 7 (1): 124-126, 2009
- [117]. Mouna . Ben Hadj Fredj , Belsem . Marzouk , Imed. Chraief , Kamel. Boukef , Zohra Marzouk , Journal of Food, Agriculture & Environment Vol.5 (1) : 52-55. 2007

- [118]. Vincenzo. De Feoa, Francesco. De Simone , Felice Senatore, *Phytochemistry* 61 (2002) 573–578
- [119]. Moufida Saidani Tounsia, Wissem Aidi Wannas, Ines Ouerghemmi, Kamel Msaada, Abderrazak Smaoui, Brahim Marzouk, *Industrial Crops and Products* 33, 617–623, (2011).
- [120]. Nahed Fakhfakh, Sami Zouari, Mohamed Zouari, Chrifa Loussayef, Nacim Zouari, *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 6(4), pp. 593-600, 30 January, 2012
- [121]. Jamel. Mejri, Manef. Abderrabba, Mondher. Mejri , *Industrial Crops and Products* Volume 32, Issue 3, November 2010, Pages 671-673
- [122]. J.F, França. Orlanda, A.R.Nascimento, *South African Journal of Botany* Volume 99, July 2015, Pages 103-106 Brazil .
- [123]. Mojtaba. Soleimani, Parviz. Aberoomand. Azar, Mohammad. Saber. Tehrani1, Abdolhossein. Rustaiyan, *World Applied Sciences Journal* 7 (1): 124-126, 2009 .
- [124]. Sana Bouajaj, Abderrahmane Romane, Abdennaji Benyamna, Ismail Amri, Mohsen Hanana, Lamia Hamrouni, *Natural Product Research Formerly Natural Product Letters* Volume 28, 2014 - Pages 1910-1914.
- [125]. K. H. C. Baser, T. Özek , S. H. Beis *Journal of Essential Oil Research* Volume 8, 1996 Pages 413-414 .
- [126]. Jehad. M, Al.Shuneigat, Ibrahim. N. Al-Tarawneh, Mahmoud A. Al-Qudah, Sameeh A. Al-Sarayreh1, Yousef M. Al-Saraireh , Khalid Y. Alsharafa, *Jordan Journal of Biological Sciences* Volume 8, Number 2, June .2015 Pages 139 – 143.
- [127]. Sunil Kumar Raghav, Bhawna Gupta, Anju Shrivastava, Hasi Rani Das, *European Journal of Pharmacology* 560 (2007) 69–80.
- [128]. Mojtaba Soleimani, Parviz Aberoomand Azar, Mohammad Saber-Tehrani1 and Abdolhossein Rustaiyan *World Applied Sciences Journal* 7 (1): 124-126, 2009 Volatile Composition of *Ruta graveolens* L. of North of Iran.
- [129]. Mouna . Ben Hadj Fredj , Belsem Marzouk, Imed Chraief, Kamel Boukef , Zohra Marzouk *Journal of Food, Agriculture & Environment* Vol.5 (1) : 52-55. 2007.
- [130]. A. Dzhurmanski, G. Zhekova, D. Angelova, *agricultural science and technology* , vol. 3, No 4, pp 343 - 345, 2011.
- [131]. Iserin, P. *Encyclopédie des Plantes Médicinales*. 335pp. 2001.
- [132]. Gaussen, H., Leroy, J. F. and Ozenda, P. *Précis de Botanique*. Tome II Végétaux supérieurs. 2ème édition, 579 pp. 1982.
- [133]. Pottier-Alapetite, G.. *La Flore de la Tunisie: Angiospermes- Dicotylédones- Apétales- Dialypétales*. 651 pp. 1979

- [134]. Deysson, G., Guignard, J. L. and Mestre, J. C. Aide Mémoire du Cours de Botanique. p. 93. 1976.
- [135]. Bezanger-Beauquesne, L., Pinkas, M., Torck, M. and Trotin, F. Plantes Médicinales des Régions Tempérées. 2ème éd., Maloine, 395 pp. 1990.
- [136]. Boukef, M. K. Les Plantes dans la Médecine Traditionnelle Tunisienne. ACCT, 350 pp. 1986.
- [137]. aris, R. and Moyse, H. 1965, 1967, 1971. Matière Médicale. Masson et Cie, Paris, Tome 1, 416 pp., 1965; Tome 2, 511 pp., 1967; Tome 3, 509 pp., 1971.
- [138]. Khouri, N. A. and El Kawi, Z. 2005. Antiandrogenic activity of *Ruta graveolens*L. in male Albino rats with emphasis on sexual and aggressive behaviour. *Neuro Endocrinol. Lett.* 26(6).
- [139]. Trovato, A., Monforte, M. T., Rossitto, A. and Forestieri, A.M. 1996. In vitro cytotoxic effect of some medicinal plants containing flavonoids. *Boll. Chim. Pharm.* 135(4):263-266.
- [140]. Oliva, A., Meepagala, K.M., Wedge, D. E., Harries, D., Hale, A. L., Aliotta, G. and Duke, S. O. 2003. Natural fungicides from *Ruta graveolens*L. leaves, including a new quinolone alkaloid. *J. Agric. Food Chem.* 51(4):890-896.
- [141]. S. Milesi, B. Massot, E. Gontier, F. Bourgaud, A. Guckert, *Plant Science* 161 (2001) 189–199
- [142]. MOUFFOK S., Etude des métabolites secondaires de *Centaurea pubescens*ssp (Asteraceae). Mémoire de Magister. Université Hadj Lakhdar. Batna. 203 P 2011 .
- [143]. EL KALAMOUNI C., Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse du Doctorat. Université de Toulouse. 263p. 2010
- [144]. BITAM F., Etude phytochimique de *launaea arborescens* et *Halophila Stipulacea*. Thèse de doctorat en sciences. Université de Batna 290 p. 2012
- [145]. Mohammed Djellouli et al./Asian Pac J Trop Biomed 2015; 5(10): 870–873.
- [146]. Chouikh Atef , Mayache Boualem , Maazi Mohamed Cherif , Hadeef Youcef , Chefrou Azzedine, *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol. 5 (03), pp. 029-034, March, 2015.
- [147]. Wafa Tadrent, Mounira Benteldjoune, Souheila Laggoune, Abbes Benmerache, Ahmed Kabouche, Zahia Semra, Zahia Kabouche, *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 50, No. 4, September, 2014.
- [148]. Fethi Bel Hadj Kether, Mohamed Ali Mahjoub, Samia Ammar Mahjoub, Karima Belhaj Salah, Ahmed Nouredine Helal, Zine Mighri, *African Journal of Microbiology Research* Vol. 6(20), pp. 4388-4395, 30 May, 2012.
- [149]. G. Fournier, H. Ba,ghdadi, S. S. Ahmed, M. Paris, *Planta Medica* 55(1989)

- [150]. Boussoula Ekhilil, Ghanmi Mohamed, Satrani Badr , Alaoui Moulay Brahim, Rhafouri Rachid, Farah Abdellah , Nadine Amusant, Abdelaziz Chaouch, ESAIJ, 12(5) 2016.
- [151]. Leila El Bouzidi, Abdelaziz Abbad, Karine Fattarsi, Lahcen Hassani, David Leach, Mohammed Markouka, Laurent Legendre, Khalid Bekkouche, Natural Product Communications Vol. 6 (10) 2011.
- [152]. ABDENBI A., BDELWAHED D., BOUAAZA M., TOUATI B., screening phytochimique et activiteantibacterienne de l'huile essentielle de Cotula cinerea(gartoufa) dans la region de bechar. International Journal of Research in Engineering & Technology. Volume 2. Number 2.p: 50-53. 2014
- [153]. CHOUIKH A., CHEFROUR A., Seasonal, biometric and dynamic monitoring of the Shihia plant Cotula cinerea Del (1831) and its accompanying plants in the Saharan region Oued- Souf (south-east of Algeria). International Journal of Science and Research (IJSR). vol:3.826-833. 2012
- [154]. BENHOUHOU S ., Cotula cinerea Del. Compositae (Asteraceae). A Guid to Medicinal plants in North Africa. p: 99-100. 2000
- [155]. Jahandiez E, Maire R. In: Catalogue des plantes du Maroc. Tome III ed. Paris: Le Chevalier SARL, 1932.
- [156]. Bensizerara, D.; Menasria, T.; Melouka, M.; Cheriet, L.; Chenchouni, H. *JJBS*, 6 , 266 - 271, 2013
- [157]. Markouk, M.; Redwane, A.; Lazrek, HB.; Jana, M.; Benjama, A. *Fitoterapia*, 70, 314-316 1999
- [158]. . Halis, Y. Plant Encyclopedia in area Oued Souf: desert plants common in the Big East race. El oued, Algeria: El walid, 2007, 154-155.
- [159]. Bensizerara, D.; Menasria, T.; melouka, M.; Cheriet, L.; Chenchouni, H. *J Trop Biomed*, 2012,1-5.
- [160]. BELABBES A.,Djellouli M., Moussaoui A., Benmehdi H., Benmehdi L., et al., Ethnopharmacological studyand phytochemical screening of three plants (Asteraceae family) from the region of south west Algeria. Asian journal of natural & applied sciences. Volum e 2. (n°)2. 59-65. 2013
- [161]. Beloued, A. Les Plantes médicinales d'Algérie. Ed. Office des publications universitaires (OPU), Algiers ; 2005. P. 284.
- [162]. Hammiche, V.; Maiza, K. Traditional medicine in Central Sahara Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *J Ethnopharmacol* 2006, 105, 358-367.
- [163]. Ould El Hadj, M.; Hadj-Mahammed, D.; Zabeirou, M.; H.. (Sahara eptentrional Est). Courrier du Savoir 2003 , 3, 47-51.

- [164]. DENDOUGUI H., SEGHIR S., JAY M., BENAYACHE F., BENAYACHE S., Flavonoids from *Cotula cinerea* Del. *Int.J.Med .Arom. Plants.* p: 589-595. 2012
- [165]. Ch. Franz. Actual problems on the quality of medicinal and aromatic plants. *Acta Hort.* 188(1986) .21-34.
- [166]. J. Giese, Antioxidants : tools for preventing lipid oxidation . *Food Technol.* 50(1996).72
- [167]. D. W. Reiche , D.A. Lillard. And R.R . Eitenmiller : Antioxidants, in: *Food Lipids, Chemistry, Nutrition and Biotechnology* , Eds. C.C. Akoh and D.B. Min. Marcel Dekker Inc.. New York 1998, pp.423-448.
- [168]. L. Langsth, Oxidants , Antioxidants and Disease prevention, JL.SI Europe, Brussels,1995.
- [169]. A. Dapkevicius. R. Venskutonis. T. A. Van Beak, and J.P.H .Linszen, Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *J.Sci. Food Agric.* 77(1998), 140-146.
- [170]. J. Pokorny, H.T.T. Nguyen, and J. Korezak, Antioxidants activities of rosemary and sage extracts in sunfloweroil. *Nahrung-food* 41(1997), 176-177.
- [171]. S.S. Chang, B. Ostric-Mtjasevie. O.A.L. Hsieh. And C.L. Huang, Natural Antioxidant from rosemary and sage . *J. FOOD Sci.* 42(1977), 1102-1106.
- [172]. K.Svoboda and S. G. Deans, A study of the variability of rosemary and sage and their volatile oils on the British market, *Flavour Fragr. J.*7(1992), 81-87.
- [173]. F. Shahidi and U. N. Wanasundara: Methods of measuring oxidative rancidity, in: *Fats and oils in food Lipids*, Eds.C.C. Akoh and D.B. Min, Marcel Dekker, Inc., New York, 1997, pp.377-396.
- [174] .M. Markouk, H. B. Lazrek and M. Jana *PHYTOTHERAPY RESEARCH Phytother. Res.*13, 229–230 (1999)
- [175] .Leila El Bouzidi , Abdelaziz Abbad, Karine Fattarsi, Lahcen Hassani, David Leach, Mohammed Markouka , Laurent Legendre and Khalid Bekkouche 2011 Vol. 6 No. 10 ;1491 - 1494
- [176] .Amber K, Aijaz A, Immaculata X, Luqman KA, Nikhat M Anticandidal effect of *Ocimum sanctum* essential oil and its synergy with fluconazole and ketoconazole. *Phytomedicine*, 17, 921-925. (2010)
- [177] .Lopes-Lutz D, Alviano DS, Alviano CS, Kolodziejczyk PP. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*, 69, 1732-1738. (2008)
- [178] .Viljoen A, Vuuren SV, Ernst E, Klepser M, Demirci B, Baser H, Wyk BV. *Osmitopsis asteriscoides* (Asteraceae) the antimicrobial activity and essential oil composition of a Cape-Dutch remedy. *Journal of Ethnopharmacology*, 88, 137-143. (2003)

- [179]. Matasyoh JC, Kiplimo JJ, Karubiu NM, Hailstorks TP. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Tarhchonanthus camphoratus*. *Food Chemistry*, 101, 1183-1187. (2007)
- [180]. Jehad M.Al-Shuneigat,Ibrahim N.Al-Tarawneh, Mahmoud A.Al-Qudah, Sameeh A.Al-Sarayreh,Yousef M. Al-Saraireh and Khalid Y. Alsharafa , *JJBS*, Volume 8, Number 2, June .2015, Pages 139 - 143
- [181]. Li W, Shi Q, Liang Q, Xie X, Huang X and Chen Y.. Antibacterial activity and kinetics of *Litsea cubeba* oil on *Escherichia coli*. *PLOS ONE*, 9: 1-6. 2014
- [182]. Kalembe D and Kunicka A.. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem*, 10(10): 813-29. 2003
- [183]. Fredj MBH, Marzouk B, Chraief I, Boukef K and Marzouk Z.. Analysis of Tunisian *Ruta graveolens* L. oils from Jemmel. *J Food, Agriculture Environ.*, 5(1): 52-55. 2007
- [184]. A.E.Squillace, *AnalysL of monoterpenes of confers by Gas-Liquid chromatography*. Chapter 6 Berlin Heibelberg New York., (1976).
- [185]. Z . Kowalewski and L . Mathlwiaska . Flavonoids in *Marrubium vulgare* herbage . *herba polonica* 24 (1978), 183-186 .
- [186]. J. Anio-Kwiatkowska, S. Kwiatkowski , and W. Berdowski , *Rosliny Lecznicze Atlas* , Arkady , Warsaw, 1993.
- [187]. Antonios K. Kokolakis, Antonios N. KouvarakisEffect of hydrodistillation with phosphoric acid on the yield of chios mastic gum essential oil. *Falavour Fragr.J.* 2010,25.48-53
- [188]. H.Aluned El-Ghorab, M.Hoda Fade! and F.El-MasSrY, The Egyptian *EucalyptiLs camaldulensis* var. *brevirostris*: chemical composition ofthe fruit volatile ou andantioxidant activity . *Food chemistry*. 56,731-738(2001).
- [189]. N.Ramarathflam T.Osawa and M.Namiki, T. Tashiro Studies on the relationship between antioxidative activity of rice huit and germination abilibly of rice seeds.*J. Sci. Food Agric .*, 37,719-726(1986).
- [190]. Jean-Francois Rontani and Mina Nassiry and Abdelkrim Mouzdahir, Free radical oxidation (autoxidation) of a-tocopherol (vitamin E): A potential source of 4, 8, 12, 16-tetramethylheptadecan-4-olide in the environment*J.-F. Rontani et al. / Organic Geochemistry* 38, 37-47(2007)
- [191] . Anonyme , *Huile Essentielle ; Echantillonnage et méthode d'analyse* , Tome1 , Normes AFNOR(2000).
- [192]. *Mr BENDRISS. Houari* Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de *Ruta chalepensis* et *Marrubium vulgare* , Thèse de Magister, page87(2003)

- [193] . Saad NY, Muller CD and Lobstein A.. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour Fragr J*, 28: 269–279 , 2013.
- [194]. Hyldgaard M, Mygind T and Meyer RLEssential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiol.*, 3(12): 1-24. . 2012.
- [195]. Nazzaro F, Fratianni F, De Martino L, Coppola R and De Feo V. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 6: 1451-1474. 2013.
- [196]. Kavanaugh and Ribbeck; , Kavanaugh NL and Ribbeck K. 2012. Selected antimicrobial essential oils eradicate *Pseudomonas* spp. and *Staphylococcus aureus* biofilms. *Appl Environ Microbiol*, 78(11): 4057-4061 , 2012 .
- [197]. Gao Y, Van Belkum MJ and Stiles ME. The outer membrane of Gram negative bacteria inhibits antibacterial activity of brochocin-C. *Appl Environ Microbiol*, 65: 4329-4333. 1999.
- [198]. Boire NA, Riedel S and Parrish NM. Essential oils and future antibiotics: new weapons against emerging superbugs. *J Anc Dis Prev Rem*, 1: 1-5. 2013.
- [199]. Ryan, K. J. and C. G. Ray "Sherris Medical Microbiology: An introduction to infectious diseases. " McGraw-Hill, New York: 992. (2004).
- [200]. Mme Mecherara-Idjeri Samira-Faiza Extraction des huiles essentielles de trois especes de *Pistacia*: *P. Lentiscus* L., *P. Terebinthus* L. Et *P. Atlantica* desF. Et caracterisation Par CPG, CPG-SM et RMN ¹³C. 17 / 12 /2007 [201]
- [201]. Cox SD, Mann CM, Markham JL, Bell HC, Gustafson JE, Warmington JR andWyllie SG. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J Applied Microbiol.*, 88: 170–175. 2000.
- [202]. Betty A. Forbes, A. S. W., Daniel F. Sahn (2007). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology* Mosby; 12 edition (January 24, 2006).
- [203]. Huovinen, P., L. Sundström, et al. "Trimethoprim and sulfonamide resistance." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 39(2): 279. (1995).
- [204]. Ratledge, C. and S. G. Wilkinson *Microbial lipids*. London [etc.], Academic Press. (1988).

- [205] – صالح بن الطاهر وأحمد سامي عبد الشكور شوالين ، أسس الكيمياء العضوية المعاصرة دار زهران ، 1994 .
- [206] – فوزي طه قطب حسين ، النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها ، دار المريخ 1981.
- [207] م. ماكنير، أ.ج. بونيللي، أسس الكروماتوغرافيا الغازية، ترجمة سبيع مراد، د. عبد اللطيف يوسف، 1979، جامعة دمشق، سوريا، دمشق.
- [208] – د . علي منصور حمزة ، النباتات الطبية العالمية (وصفها – مواصفاتها) ، دار النشر منشأة المعارف الإسكندرية 2006 .
- [209] – المهندس علي الدجوي ، موسوعة النباتات الطبية العطرية (الكتاب الثاني) ، دار النشر مكتبة مدبولي 1996.
- [210] – د . حسان قيسي ، معجم الأعشاب والنباتات الطبية ، دار الكتب العلمية ، لبنان ، بيروت .
- [211] محمد لحمق، تحضير حامل كروماتوغرافي من البنتونيت الجزائري واستخدامه في التحليل الكروماتوغرافي، رسالة دكتوراه USTHB2006
- [212] . د. كاملي عبد الكريم ، أساسيات الكيمياء الحيوية ، دار هومه 143-144(2007).
- [213]. عمر عبد الرحمن البناء، الأحياء الدقيقة و فساد التغذية، 2001، مكتبة المعارف المدنية -مصر-.
- [214] – د . حليمي عبد القادر، النباتات الطبية في الجزائر، منشورات برتي(BERTI)، 196-198(2004)

ANTIOXIDANT ACTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL OF *RUTA GRAVEOLENS* GROWING WILD IN SOUTH EAST ALGERIA

ABDERRAZZAK ABADI^{1,2} * , TOUHAMI LANEZ¹ , REKIA CHERBI² ,
SMAIL BOURAS¹

¹University of El Oued, VTRS Laboratory, B.P.789, 39000, El Oued, Algeria

²University of Ouargla, Chemistry Department, PO Box 511, 30000, Ouargla, Algeria

*E-mail address: ryadabadi@gmail.com ; Tel: +213 666 374 202

ABSTRACT

The essential oil of the aerial parts of *Ruta graveolens*, obtained by hydrodistillation, was analyzed by a gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) method, in order to determine its chemical composition.. Twenty-Five elements were identified in *Ruta. G* essential oil. The findings showed that the main components of the essential oil were : Nonanone<2-> (22.381%), Undecanone<2-> (21.711%), 2-Heptanol acetate (14.828%) , Camphor (9.629%), Acetylacetophenone<p-> (8.777%). It is the first report on the chemical composition of the essential oil extracted from the *Ruta graveolens* cultivated in Algeria, as well as an original study on the antioxidant activity of *Ruta graveolens* essential oil. After investigating the antioxidant properties of *Ruta graveolens* essential oil with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging method, the findings displayed that this oil has low efficiency as an antioxidant; nevertheless, it can be considered as an important natural source of antioxidants in comparison with other medicinal plants.

KEYWORDS: *Ruta graveolens*, Undecanone<2->, Sesquiterpene , Monoterpene , antioxidant

1. INTRODUCTION

Ruta belongs to the familia Rutaceae. There may be 8 to 40 species spread all over the world. There are 5 species in Algeria: *R. gravelolens*, *Ruta angustifolia*, *R. chalepensis*, *R. tuberculata*, *R. montana* (Farah et al ., 2013 ; Hazzit et al .,2015), whereas in Tunisia and Iran there are only two species of *Ruta* namely *R. chalepensis* and *R. graveolens* (Mojtaba et al ., 2009 ; Mouna et al .,2007)

It is a herbaceous perennials plant, a wild and horticultural herb of the Rutaceae family, widely distributed on the Mediterranean basin (Iserin et al ., 2001) but, also, could be found in Europe and many Asian countries such as India, Japan and China. It grows in dry and rocky places It is a perennial plant, stinky, pungent, just less than a meter height straight stem. Green to blueish leaves dotted with glands with yellow star-like hermaphrodite flowers. Each flower has five-stranded concave petals, with eight to ten stamina crammed on a thick disk, surrounding the ovary that extends to a style and ends with a stigma . the flowers bloom in August and give seeds on the peaks (Iserin et al ., 2001).

Concerning its volatile oils, several studies have been carried out around the world for *Ruta* species in the countries where they grow, particularly in Tunisia (Moufida et al ., 2011 ; Nahed et al .,2012; Jamel et al .,2010), in Algeria (Farah et al ., 2013 ; Hazzit et al .,2015), in Italy (Vincenzo et al ., 2002) and in Brazil [França et al ., 2015) Iran (Mojtaba et al ., 2009) as well as in Morocco (Sana et al ., 2014) and in Turkey as well as in Jordan (Jehad et al ., 2015).

Its essential oil is used to remove blood pressure, skin diseases and rhinitis (Iserin et al ., 2001). Several important studies were on this oil since it contains inhibitors and anti- male hormone substances (Khouri et al ., 2005), anti-fungal activity (Oliva et al ., 2003), and blood coagulator.

Ruta .G contains an effective substance found in four types of *Ruta* and studies were carried out to understand the process of the production of this substance from *Ruta .G* for this substance is used in the treatment of skin diseases especially vitiligo (Milesi et al ., 2001).

For essential oil or “essences” it is a mixture of volatile compounds which are compiled of terpenes and their oxygenated derivatives like ethers or oxides, aldehydes, alcohols, ketones, esters, phenols, amines, amides and heterocycles. They possess a high potential bioactivity like antibacterial, antifungal anti-Inflammatory, cancer chemoprotective (anticancer), cytotoxicity, antioxidant, antimicrobial, antiviral, repellent and insecticidal activity (properties). These essential oils can be extracted by steam distillation or by mechanical processes, or dry distillation (by using steam and hydrodistillation).

Biological activity of essential oils depends on their chemical composition and structure activity relationship (presence of hydroxyl group) (Joshi et al ., 2016; Ghoorchibeigi et al .,2017; Wissal et al., 2016, Najwa et al., 2014).

Through our short description of *Ruta*. *G*and its medicinal qualities and uses came the interest in studying this specie for other unknown qualities mainly its antioxidant properties which have not been uncovered yet.

1. MATERIAL AND METHODS

2.1. Plant material

Plant materials (aerial organs) of *Ruta G.* were yielded during the period of May – June 2015 in the zone of Bayadha Wilaya of Oued Souf, South East of Algeria.

2.2. Essential oil extraction

The specimens were desiccated far from humidity and all pollutants for two weeks in the shade in open air at room temperature.

A quantity of ground plant (100 g) were processed, for 3 hours, by water distillation using a Clevenger. The essential oils were dried by anhydrous sodium sulfate. Then, filtered and stored at 4°C.

2.3. The conditions of the Gas Chromatography and Mass Spectrometry analysis ((GC/MS analysis)

The essential oils were analyzed on an apparatus of gas chromatography coupled to mass spectrometry brand Hewlet Packard 5973A, equipped with an apolar capillary column (HP5MS, 30m x 0.25mm, phase thickness: 5µm). the detection mode: electronic impact, ionization current: 70 eV, carrier gas: helium, flow rate: 0.7ml/min, the source pressure: 10-7mbar, interface temperature: 280 ° C, injection: 250 ° C, the programming of the oven: 2 ° C / min from 60 ° C to 280 ° C, with isothermal: 8min at 60 ° C. and 15 minutes at 280 ° C. 0.1 to 0.2µl of pure essential oil and 1µl absolutely were injected in split mode 1: 20.

We identified the nature of the essential oil elements by comparing their retention times to *n*-alkanes, and to previous issued results and spectra of authentic mixtures using their mass spectra compared to Wiley (Adams , 2007 ; Macchioni et al .,2003).besides comparing the mass spectra fragmentation

patterns with those mentioned in other works ((Adams , 2007). The chromatographic conditions and GC analysis were analogic.

For the determination of the indices of retention a line of n-alkanes (C5–C28) combinations were studied in the same operational circumstances on HP device. The specimen indices were reckoned according to Van den Dool and Kratz (Adams , 2007) .

2.4. DPPH Radical scavenging assay

The aptitude of the *Ruta graveolens* extracted oil in scavenging the free radicals were evaluated by using a synthetic free radical element, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), conferring to the method used by Bersuder (Tep et al

Ksouri et al., 2015) , 500 µl of each sample was blended to 50ml of ethanol and (0.02%, w/v) of DPPH in 99.5% ethanol. The solution was quivred briskly and incubated in the black. A spectrophotometer was used to measure the absorbance at 517 nm after 30 min. the evaluation of the DPPH was calculated using the formula below:

$$\text{Radical-scavenging activity} = [(A_{blank} - A_{sample})/A_{blank}] \times 100$$

A_{sample} and A_{blank} : the sample and the absorbance of the control (blank), respectively.

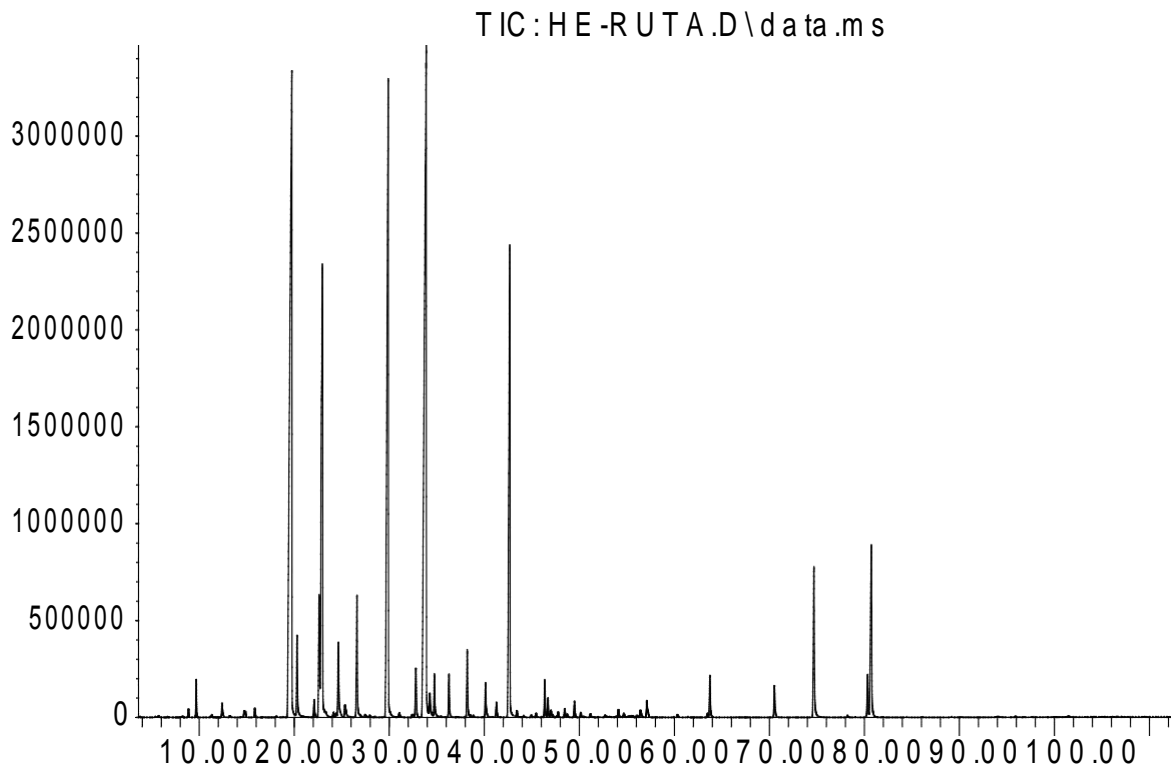
The value IC_5 is the quantity of antioxidant needed in the inhibition of the DPPH by 50%. The BHT as a positive test. The findings are given as the means of triplicate analysis.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Chemical composition

the spectrum of GC-MS is shown in figure 1 displays. The rates and the RI of the branded elements are recorded in Table 1 according to their extraction order on the HP device column. GC-MS of the studied plant (*Ruta. G*) essential oil helped identify twenty-five (25) components , about 91.99 % of the total oil. The essential oil income eluted from the aerial organs was 0. 85 %.

Abundance



Time-->

Time=min, Tue Nov 29 14:28:41 2016

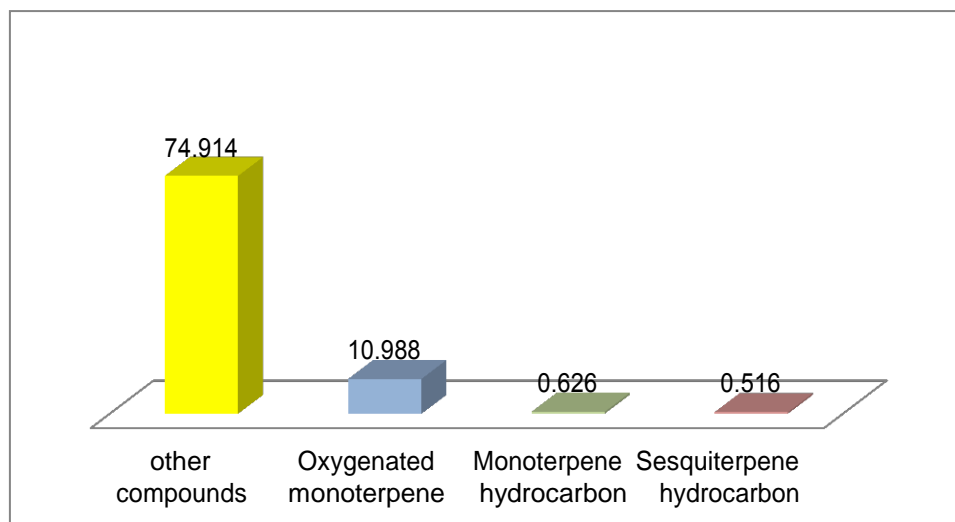
Fig 1: *Ruta. G* essential oil GC-MS**Table 1:** The chemical composition of the *Ruta. G* (RI) and percentages of essential oil composition.

Nº	IR _A	IR _{cal}	compounds	%	M+	The most important fragments
1	932	931	α - Pinene	0.094	136	<u>93</u> ,121,105, ,77,41
2	946	945	Camphene	0.446	136	<u>93</u> ,121,107,79,67,53,41
3	988	993	Octanone<2->	0.213	128	<u>43</u> ,71,58
4	1024	1028	Limonene	0.086	136	<u>68</u> ,121,107,93,79,53,41
5	1087	1100	Nonanone<2->	22.381	142	<u>43</u> ,127,71,58
6	1100	1107	Nonanal<n->	1.215	142	<u>41</u> ,98,82,70,57
7	1141	1145	Camphor	9.629	152	<u>95</u> ,108,81,69,55,41
8	1165	1168	Borneol	1.359	154	<u>95</u> ,110,67,55,41
9	1165	1178	Nonanol<n->	0.271	144	<u>41</u> ,97,83,70,56
10	1190	1195	Decanone<2->	1.752	156	<u>43</u> ,71,58

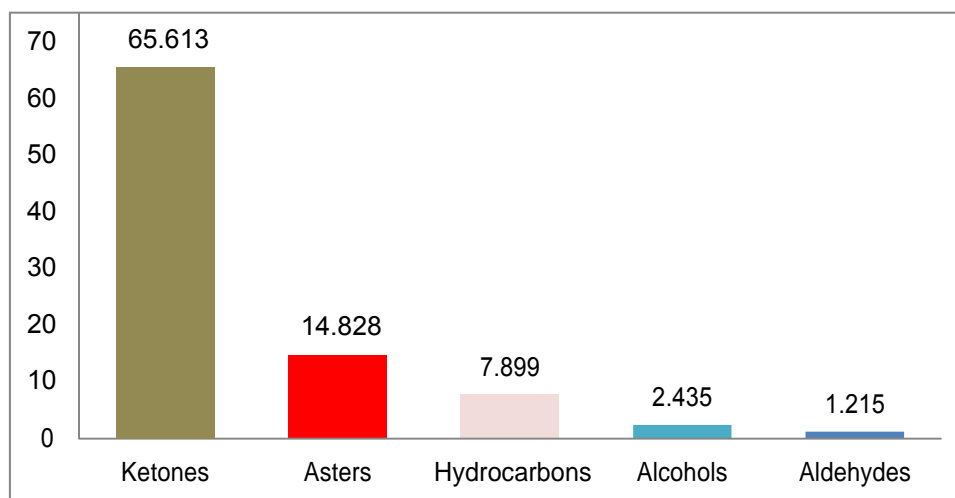
11	1239	1243	2-Heptanol acetate	14.828	158	<u>45,69,55</u>
12	1285	1285	Pregeijerene	0.811	162	<u>79,105,94,53</u>
13	1293	1301	Undecanone<2->	21.711	170	<u>58,85,71,43</u>
14	1301	1307	Undecanol<2->	0.504	172	<u>45,83,69,55</u>
15	1389	1397	Dodecanone<3->	0.588	184	<u>57,155,85,72,43</u>
16	1417	1415	Caryophyllene<(E)->	0.253	204	<u>41,161,133,105,93,79,69,55</u>
17	1444	1438	Acetylacetophenone<p->	8.777	162	<u>147,162,119,91,50,43</u>
18	1452	1450	Humulene< α ->	0.093	204	<u>93,147,121,80,67</u>
19	1495	1498	Tridecanone<2->	0.562	198	<u>43,85,71,58</u>
20	1505	1509	Farnesene<(E,E)- α >	0.088	204	<u>41,119,107,93,79,69,55</u>
21	1522	1521	Cadinene<&->	0.082	204	<u>161,134,119,105,91,</u>
22	1548	1550	Elemol	0.247	222	<u>59,161,121,107,93,43</u>
23	1685	1686	Bisabolol< α ->	0.054	222	<u>43,119,109,93,69</u>
24		1949	Unknown	2.491		
25		2163	Unknown	3.455		

IR_{cal}: calculated IR_A: (Adams, 2007)

Table1 shows also the Five components with a predominance of : Nonanone<2-> (22.381%), Undecanone<2-> (21.711%), 2-Heptanol acetate (14.828%) , Camphor (9.629%), Acetylacetophenone<p-> (8.777%), respectively which correspond to about 77.326% of 86.044% and express the various chemical groups with a supremacy of other compounds (74.914 % of the total rate of volatile oil), ensued by Oxygenated monoterpene (10.988%), and Monoterpene hydrocarbon (0.626%) , and Sesquiterpene hydrocarbon (0.516%) respectively as shown in Figure 2.

Fig 2: The chemical groups of *Ruta. G* essential oil

the functions of chemical to the mentioned above chemical present in the essential oil are Ketones 65.613%, Asters 14.828%, Hydrocarbons 7.899%, Alcohols 2.435%, and Aldehydes 1.215 % respectively as shown in Figure 3.

Fig 3: the functions of chemical families of *Ruta. G* essential oil

These results are not very different from those found in Italy for the *Ruta. G*. which essential oil major components rates were: 2-Undecanone (46.8%), 2-Nonanone (18.8%) , limonene (3.0%), 1,8-cineole (2.9%), 2-Decanone (2.2%), tridecan-2-one(2.5%) (Vincenzo et al ., 2002) , The two common and strong drivers are 2-Undecanone and 2-Nonanone .

3.2. Radical scavenging assay (DPPH)

We studied the antioxidant capacity of *Ruta. G* essential oil with two-components references, namely BHT and Vit. E, the study has been achieved via free radical DPPH trapping, which has been explained previously. The absorbance measurement of this radical was done at the length of a 517nm wave of the ethanolic solution at different concentrations of the sample with a three times repetition for each concentration yielding absorbance rate at the end. The results are described below⁷

From the two tables (Table 2 and 3) we fix the inhibitory concentration of the rate 50% of the DPPH free radical for each studied sample by the projection on the concentration axis. The findings are shown as following.

Table 2: the changes of the free radical DPPH inhibitory rate in relation with the *Ruta. G* concentration.

<i>Ruta.G</i>	C(µg/ml)						
	I(%)	4.13±0.015	4.138±0.005	13.51±0.0034	54.39±0.0036	78±0.03	

Table 3: the changes of the free radical DPPH inhibitory rate in relation with the BHT and Vit. E concentration.

Reference compounds	C(µg/ml)							
BHT	I(%)	0.5±0.001	1±0.003	3.4±0.002	7.8±0.008	18.5±0.002	51.3±0.004	67±0.007
Vit. E		15.4±0.016	31±0.002	79.5±0.008	89.9±0.0014	93.1±0.0014	91.1±0.008	-

C(µg/ml) equals the studied sample concentration in each test tube. I(%): the inhibitory rate.

Table 4: *Ruta. G* lowest inhibitory concentration IC₅₀ and the two references BHT and Vit. E.

	IC ₅₀ (µg/ml)
<i>Ruta .G</i>	64000
BHT	180
Vit. E	15

From the previous tables, it is shown that the inhibition ratio I(%) is increasingly growing with the increase of the inhibitory sample concentration. It is also noted that from the Table 4 of the reference components that the inhibitory rate changes are high at low concentrations, which shows the antioxidant capacity of these materials that can be arranged according to their strength as follows Vit. E and BHT. However, we note that for the essential oil inhibition ratio increases when the changes in concentrations are significant, indicating the weakness of the antioxidant capacity of this essential oil for *Ruta. G* .

4. CONCLUSION

Essential oil chemical composition of the *Ruta. G*, yielded from Algeria, is significantly different from that brought from other countries . This can be attributed to several factors like soil, climate, water quality...etc

The findings showed that the essential oil major components rates were: Nonanone<2-> (22.381%), Undecanone<2-> (21.711%), 2-Heptanol acetate (14.828%) , Camphor (9.629%), Acetylacetophenone<p-> (8.777%).

Antioxidant ability is exclusive to our work since our study is pioneer concerning *Ruta. G* . Our results showed a low antioxidation ability for this latter in comparison with the reference compounds and other plants antioxidation ability. This is essentially due to the presence of phenols that redox free radicals.

ACKNOWLEDGMENTS

The author acknowledge the support of M. Ali Tliba from *University of El Oued, VTRS Laboratory*.

REFERENCES

- Adams R.P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured publishing corporation .
- Farah .Haddouchi, Tarik. Mohammed Chaouche , Yosr. Zaouali , Riadh .Ksouri , Amina. Attou , Abdelhafid . Benmansour; Food Chemistry. , 141. 253–258(2013)

- Ghoorchibeigi, M., Larijani, K., Azar, P., Zare, k., Mehregan, I.(2017). Chemical Composition and Radical Scavenging Activity of Citrus Limon Peel Essential Oil. *Orient. J. Chem.*, 33: 458-461.
- Hazzit M., Benchabane A., Baaliouamer A., Alloun K., Kaci M Recherche AGRONOMIQUE^o 27 – 2015.
- Iserin, P. 2001. Encyclopédie des Plantes Médicinales. 335 pp.
- J.F, França. Orlanda, A.R.Nascimento, South African Journal of Botany Volume 99, July 2015, Pages 103-106 Brazil .
- Jamel. Mejri, Manef. Abderrabba, Mondher. Mejri , Industrial Crops and Products Volume 32, Issue 3, November 2010, Pages 671-673
- Jehad. M, Al.Shuneigat, Ibrahim. N.Al-Tarawneh, Mahmoud A. Al-Qudah, Sameeh A. Al-Sarayreh¹,Yousef M. Al-Sarairah , Khalid Y. Alsharafa, Jordan Journal of Biological Sciences Volume 8, Number 2, June .2015 Pages 139 – 143.
- Joshi, A., Sharma, A., Bachheti, R.K., Pandey, D.P.(2016). A comparative study of the chemical composition of the essential oil from Eucalyptus globulus growing in Dehradun (India) andaround the world. *Orient. J. Chem.*, 32: 331-340.
- Khouri, N. A. , El Kawi, Z. 2005. Antiandrogenic activity of Ruta graveolensL. in male Albino rats with emphasis on sexual and aggressive behaviour. *Neuro Endocrinol. Lett.* 26(6) .
- Ksouri, A., Dob, T., Belkebir, A., Krimat, S., Chelghoum, C.(2015). Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil and the methanol extract of Algerian wild carrot *Daucus carota L. ssp. carota. (L.) Thell. J. Mater. Environ. Sci.*, 6: 784-791.
- Macchioni, F., Cioni,P. L., Flamini,G. Morelli,I., Maccioni, S., Ansaldi, M.(2003). Chemical composition of essential oils from needles, branches and cones of *Pinus pinea*, *P. halepensis*, *P. pinaster* and *P. nigra*from central Italy. *Flavour Frag. J.*, 18 : 139–143.
- Mojtaba. Soleimani, Parviz . Aberoomand Azar, Mohammad. Saber.Tehrani¹ , Abdolhossein . Rustaiyan, *World Applied Sciences Journal* 7 (1): 124-126, 2009 .

- Mojtaba. Soleimani, Parviz. Aberoomand. Azar, Mohammad. Saber. Tehrani1, Abdolhossein. Rustaiyan, World Applied Sciences Journal 7 (1): 124-126, 2009 .
- Moufida Saidani Tounsia, Wissem Aidi Wannas, Ines Ouerghemmi, Kamel Msaada, Abderrazak Smaoui, Brahim Marzouk, Industrial Crops and Products33, 617–623,(2011).
- Mouna . Ben Hadj Fredj , Belsem . Marzouk , Imed. Chraief , Kamel. Boukef , Zohra Marzouk , Journal of Food, Agriculture & Environment Vol.5 (1) : 52-55. 2007 .
- Nahed Fakhfakh, Sami Zouari, Mohamed Zouari, Chrifa Loussayef, Nacim Zouari, Journal of Medicinal Plants Research Vol. 6(4), pp. 593-600, 30 January, 2012 .
- Najwa. Nasser, AL-Jabri. Mohammad, Amzad. Hossain Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences3, (2014), 247-253.
- Oliva, A., Meepagala, K.M., Wedge, D. E., Harries, D., Hale, A. L., Aliotta, G. and Duke, S. O. 2003. Natural fungicides from *Ruta graveolens*L. leaves, including a new quinolone alkaloid. J. Agric. Food Chem. 51(4):890-896.
- S. Milesi, B. Massot, E. Gontier, F. Bourgaud, A. Guckert, Plant Science 161 (2001) 189– 199 .
- Sana Bouajaj, Abderrahmane Romane, Abdennaji Benyamna, Ismail Amri, Mohsen Hanana, Lamia Hamrouni, Natural Product Research Formerly Natural Product Letters Volume 28, 2014 : 1910-1914.
- Tep, B., Daferera, D., Tepe, A.S., Polissiou, M., Sokmen, A.(2007). Antioxidant activity of the essential oil and various extracts of *Nepeta flavida* Hub.-Mor. from Turkey. *Food Chem.*, 103: 1358-1364.
- Vincenzo. De Feoa, Francesco. De Simone , Felice Senatore, Phytochemistry 61 (2002) 573–578 .
- Wissal. Dhifi, Sana. Bellili, Sabrine. Jazi, Nada. Bahloul , Wissem. Mnif Medicines, (2016), 3, 25 .