**الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية**
**وزارة التعليم العالي و البحث العلمي**


**جامعة فرحات عباس، سطيف 1**
**كلية علوم الطبيعة و الحياة**

**Université Ferhat Abbas Sétif 1**
**Faculté des Sciences de la**
**Nature et de la Vie**

**قسم البيولوجيا والبيئة النباتية**


N°...../SNV/**2016**

# أطروحة

مقدمة من طرف

**بوخبتي حبيبة**

**للحصول على شهادة**

# دكتـــوراه علـــوم

**فـرع: البيولوجيا**

**تخصص: بيولوجيا النبات**

الموضوع

## دراسة الخصائص البيولوجية لمستخلصات بعض النباتات الطبية

نوقشت بتاريخ ...../...../2016

## أمام لجنة المناقشـــة

| | | |
|---|---|---|
| الرئيس | حرزالله داوود | أستاذ جامعة فرحات عباس سطيف 1 |
| المشرف | عادل نجيب شاكر | أستاذ جامعة فرحات عباس سطيف 1 |
| الممتحنون | يحي عبد الوهاب | أستاذ المركز الجامعي عبدالحفيظ بوصوف ميلة |
| | غراف نور الدين | أستاذ جامعة ام البواقي |
| | دحية مصطفى | أستاذ محاضر أ جامعة الجلفة |

مخبر تثمين الموارد النباتية

**الملخص**:

التحليل الكيميائي لثلاث عينات من زيت الزيتون (مخزنة لمدة سنة، 12، و33 سنة سمحت بإحصاء 16، 18 و31 مركبا دهنيا، المركبات الغالبة كانت Acide oléique وAcide palmitique؛ بينما أظهرت نتائج التحليل الكيميائي للزيت الأساسي المستخلص من الأجزاء الهوائية لنفس النبات *Olea europea* L. وجود 38 مركبا أما العنصر الغالب كان acide Hexadecanoique (acide palmitique)، أما التحليل الكيميائي للزيت الأساسي للنوع *Mentha aquatica* L. فقد كشف عن وجود 43 مركبا، أما المركبات الغالبة فكانت linalyl acetate 26,10 %، α-pinene 22,7 %، linalol 13,75 %. تنائج النشاطية ضد البكتيرية كانت مختلفة، هذه النتيجة كانت حسب الزيت والتركيز المستعمل.

**الكلمات المفتاحية:** النباتات الطبية، زيت الزيتون، الزيوت الأساسية، النشاطية البكتيرية، *Olea europea* L.، *Mentha aquatica* L.

**Abstract :**

Chemical analysis of three olive oil Samples Stored for (1 year, 12 and 33 years) allowed to us count 16, 18 and 31 fatty compound, the major compounds were oleic acid and palmitic acid. While the essential oil Analysis by GC and GC/MS of aerial parts of the same plant *Olea europea* L. allowed the identification of 38 compounds, the main compound was palmitic acid, whereas the analysis of the essential oils of *Mentha aquatica* L. by GC and GC / MS has identified 43 compound, the major compound were Linalyl acetate (26.10%), α-pinene (22.7%), linalol (13.75%). Results of the antibacterial activity were different, this activity depend on the oil and concentration used.

**Key words:** medicinal plants, olive oil, essential oil, antibacterial activity, *Olea europea* L., *Mentha aquatica* L.*.*

# تشكرات

أتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذ عادل نجيب شاكر الذي لم يبخل على بإرشاداته وراقب عن كثب الدراسة التي أجريت في هذه الأطروحة ومنحها الكثير من وقته.

كما أتقدم بالشكر إلى الأستاذ حرز الله داود أستاذ جامعة فرحات عباس بسطيف 1 لقبوله ترأس لجنة مناقشة المذكرة، كما أتقدّم بالشّكر الجزيل الأساتذة الآتية أسماؤهم: الأستاذ يحي عبد الوهاب أستاذ المركز الجامعي عبد الحفيظ بوصوف ميلة، الأستاذ غراف نور الدين أستاذ جامعة ام البواقي و الأستاذ دحية مصطفى أستاذ محاضر قسم أ جامعة الجلفة لقبولهم مناقشة هذا العمل وتشريفهم لنا بحضورهم.

أتقدم بالشكر الجزيل للأستاذة: حسين لعور أستاذ بجامعة فرحات عباس بسطيف 1، الأستاذ مسعود رمضاني أستاذ بجامعة فرحات عباس بسطيف 1 والأستاذة تقية رمضاني أستاذة بجامعة فرحات عباس بسطيف على المساعدة والنصائح والتوجيهات التي لم يبخلوا علي بها.

لا أنسى أن أشكر الأساتذة الذين أكن لهم كل التقدير والاحترام على المساعدة والإرشادات وهم الأستاذة فريدة ساحلي رئيسة مخبر bactériologie بالمستشفى الجامعي لسطيف (CHU) و الأستاذة مريم القلي أستاذة مساعدة بجامعة فرحات عباس بسطيف.

أشكر عمال مخبر مراقبة الجودة والنوعية CACQE على المساعدة التي قدموها لي

كما أشكر كل من قدم لي يد المساعدة لإنجاز هذا العمل .

# قائمة الجداول

**الجدول (01):** المركبات الدهنية المكونة للزيوت الثابتة الزيتية 01،02 و03 .....54

**الجدول (02):** المركبات الكيميائية المكونة للزيت الأساسي للأجزاء الهوائية لـ*Olea europea* .....63

**الجدول (03):** المركبات الكيميائية المكونة للزيت الأساسي لـ *Mentha aquatica*.....68

**الجدول (04):** الخصائص الفيزيائية-الكيميائية للعينات الزيتية 01،02 و03 .....74

**الجدول (05):** النشاطية ضدّ البكتيرية للعينة رقم 01 المعبر عنها بأقطار التثبيط المقاسة بالميليمتر. .....77

**الجدول (06):** النشاطية ضدّ البكتيرية للعينة رقم 02 المعبر عنها بأقطار التثبيط المقاسة بالميليمتر. .....77

**الجدول (07):** النشاطية ضدّ البكتيرية للعينة رقم 03 المعبر عنها بأقطار التثبيط المقاسة بالميليمتر.....77

**الجدول (08):** النشاطية ضدّ البكتيرية للزيت الاساسي لـ *Olea europea* المعبر عنها بأقطار التثبيط المقاسة بالميليمتر.....84

**الجدول (09):** النشاطية ضدّ البكتيرية للزيت الاساسي لـ *Mlea aquatica* المعبر عنها بأقطار التثبيط المقاسة بالميليمتر. .....85

## قائمة الرموز:

**UFC**: وحدة مشكلة للمستعمرات

**MH** : وسط ميلرهنتن milieu de Mueller Hinton

**DMSO**: مركب الديميثيل سلفوكسيد Dimethyl sulfoxide

**NCCLS:** National Committee for Clinical Laboratory Standards

**CPG:** كروماتوغرافيا الطور الغازي .

**(CCM):**كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة .

**SM:** المطيافية الكتلية .

**RT**: وقت الاحتباس.

**°م**: درجة مئوية.

**ملل**: ميليلتر.

**ملم**: ميليمتر.

**غ**: غرام.

**ح**: الحجم.

**N**: نظامية

# قائمـــــــــة الأشكال


**الشكل (01):** بنية Acétate de linalyle.....17

**الشكل (02):** بنية بعض الأحماض الدهنية .....26

**الشكل(03):** بنية الدهون الثلاثية .....27

**الشكل (04):** شجرة الزيتون .....36

**الشكل (05):** أغصان مزهرة ومثمرة لشجرة الزيتون .....36

**الشكل (06):** نبات *Mentha aquatica* L.....37

**الشكل (07):** جهاز التقطير Clevenger .....40

**الشكل (08)** : حوجلة الكثافة النسبية "Pycnomètre " .....44

**الشكل (09)** المنحنى الكروماتوغرافي لزيت العينة 01 .....55

**الشكل (10):** المنحنى الكروماتوغرافي لزيت العينة 02 .....56

**الشكل (11):** المنحنى الكروماتوغرافي لزيت العينة 03 .....57

**الشكل (12):** المركبات الدهنية المكونة للعينات 01، 02 و03 .....58

**الشكل (13):** الأحماض الدهنية المشبعة وغير المشبعة في العينات الزيتية 01، 02 و03.....59

**الشكل (14):** المنحنى الكروماتوغرافي للزيت الأساسي المستخلص من الأجزاء الهوائية لـ *Olea europea* .....64

**الشكل (15):** المنحنى الكروماتوغرافي للزيت الأساسي المستخلص من الأجزاء الهوائية لـ *Mentha aquatica* .....69

**الشكل (16):** الكثافة النسبية للعينات 01، 02 و03 (20 °م / الماء في 20 °م).....70

**الشكل (17):** مؤشر التصبن للعينات 01، 02 و03 (mg KOH/gr de huile).....71

**الشكل (18):** مؤشر اليود للعينات 01، 02 و03 ($gI_2$/100g). .....71

**الشكل (19):** مؤشر البيروكسيد للعينات 01، 02 و03 (mmol $o_{2Kg}^{-1}$ de huile).....72

**الشكل (20):** مؤشر البيروكسيد للعينات 01، 02 و03 (meq $O_{2Kg}^{-1}$ de huile) .....72

**الشكل (21):** مؤشر الحموضة للعينات 01، 02 و03 (meq $O_{2Kg}^{-1}$ de huile) .....73

**الشكل (22):** مؤشر الحموضة (% acide oléique) للعينات 01، 02 و03.....73

**الشكل (23):** النّشاطية ضدّ البكتيرية للعينات الزيتية 01، 02 و03 ضد السلالة *C. freundii* ATCC 8090 .....79

**الشكل (24):** النّشاطية ضدّ البكتيرية للعينات 01، 02 و03 ضد السلالة *S. aureus* ATCC 25923.....79

**الشكل (25):** تأثير زيت العينة رقم 03 على *S. aureus* ATCC 25923. .....79

**الشكل (26):** النشاطية ضدّ البكتيرية للعينات الزيتية 01، 02 و03 ضد *S. sonnei*.....80

**الشكل (27):** النّشاطية ضدّ البكتيرية للعينات الزيتية 01، 02 و03 ضد *E. coli* ATCC 25922 .....80

**الشكل (28):** نشاطية الزيت الأساسي للنوع النباتي *Olea europea* ضد السلالة *S. aureus* ATCC25923 ، *E. coli* ATCC 25922، *P. aeruginosa* ATCC27853، *C. freundii* ATCC 8090..... 84

**الشكل (29) :** تأثير الزيت الأساسي لـ *M.entha aquatica* L. على السلالة *S. aureus* ATCC25923 ، *E. coli* ATCC 25922، *P. aeruginosa* ATCC 27853، *C. freundii* ATCC 8090، *S. sonnei* و *K. pneumoniae* ATCC 700603..... 86

**الشكل (30):** تأثير الزيت الأساسي لـ *Mentha aquatica* ضد السلالة *S. aureus* ATCC25923 بالتراكيز 20%، 50% و100% .....86

**الشكل (31):** تأثير الزيت الأساسي والزيت الثابت (العينة 01) لنبات *Olea euroupea* على *S. aureus* ATCC 25923. 89.....

**الشكل (32):** تأثير الزيت الأساسي والزيت الثابت (العينة 01) لنبات *Olea euroupea* على *P. aeruginosa* ATCC27853.....89

**الشكل (33):** تأثير الزيت الأساسي والزيت الثابت (العينة 01) لنبات *Olea euroupea* على *C. freundii* ATCC 8090 90.....

**الشكل (34):** تأثير الزيت الأساسي *Mentnha aquatica* وزيت (العينات 01، 02،03) على السلالة *C. freundii* ATCC 8090 ..... 91

**الشكل (35):** تأثير الزيت الأساسي *Mentha aquatica* وزيت (العينات 01، 02،03) على *E. coli* ATCC 25922.92

**الشكل (36):** تأثير الزيت الأساسي *Mentha aquatica* وزيت (العينات 01، 02،03) على *S. sonnei*.....92

**الشكل (37):**تأثير الزيت الأساسي *Mentha aquatica* وزيت (العينات 01، 02،03) على *K. pneumoniae* ATCC700603.....93

**الشكل (38):** تأثير الزيت الأساسي *Mentha aquatica* وزيت (العينات 01، 02،03) على *S. aureus* ATCC 25923 94.....

# الفـــــهرس

مقدمة.....1

**الجـــزء النظري**

1- النباتات الطبية.....3
1-1- تعريف النباتات الطبية .....3
1-2- النباتات الطبية في حياتنا اليومية.....3
1-3-المواد الفعالة في النباتات الطبية .....4
1-4-جمع النباتات الطبية .....4
1-5-الحفظ والتجفيف .....6
2-النباتات المدروسة .....7
1-2 العائلة الزيتونية *Oleaceae*.....7
1-2- 2- جنـــس الزيتون *Olea*.....7
1-2- 3-استعمال نباتات جنس *Olea*.....7
1-2- 4-أصل شجرة الزيتون.....8
1-2- 5-انتشار شجرة الزيتون في الجزائر.....8
1-2- 6- تصنيف جنس *Olea*.....9
1-2- 7-فترة جني ثمار الزيتون .....10
2-2-العـائلة الشفوية .....10
2-2-1- جنس *Mentha*.....11
2-2-2-استعمال نباتات جنس *Mentha*.....11
2-2-3-انتشار نبات *Mentha aquatica*.....12
2-2-4- تصنيف جنس *Mentha*.....12
3- الزيوت النباتية.....14
3-1- الزيوت الأساسية .....14
3-1-1 تعريف الزيوت الأساسية .....14
3-1-2 تمركز الزيوت الأساسية .....15
3-1-3 الخواص الفيزيائية للزيوت الأساسية .....15
3-1- 4- التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية .....15
3-1- 5- خصائص الزيوت الأساسية و استعمالاتها .....18

3-1-6 - طرق استخلاص الزيوت الأساسية.....20
3-2- الدهون .....21
3-2-1- تقسيم الدهون .....21
3-2-2- مميزات الدهون .....22
3-2-3- الأحماض الدهنية .....23
3-2- 4- أكســدة الدهون .....28
3-2-5- التركيب الكيميائي لثمار وزيت الزيتون .....28
3-2-6-الخصائص العلاجية لزيت الزيتون .....29
3-2-7- الخصائص الفيزيائية-الكيميائية للزيوت الثابتة .....30
3-2-8- طرق استخلاص الزيوت الثابتة .....32
3-3- طرق تحليل الزيوت .....32
3-3- 1- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM).....32
3-3- 2- كروماتوغرافا الغازية (CPG).....33
3-3- 3- كروماتوغرافيا الغازية-السائلة (CLG).....34
3-3- 4-الدمج بين كروماتوغرافيا الغازية والمطيافية الكتلية CPG/SM.....34

**الجـــزء التطبيقي**

1- الأدوات والطرق المستعملة .....35
1-1-الأدوات .....35
1-1-1- المادة النباتية .....35
1-1-2- السلالات البكتيرية .....38
1-1-3- أوساط الزرع والمضادات الحيوية .....38
1-1-4- المذيبات والمحاليل .....38
1-2- طرق العمل .....39
1-2-1- استخلاص الزيوت الأساسية .....39
1-2-2- تحليل محتوى الزيوت الثابتة من الأحماض الدهنية .....41
1-2-3- تحليل الزيوت الأساسية .....42
1-2-4- الخصائص الفيزيائية-الكيميائية للزيوت الثابتة .....43
1-2-4-1- حساب الكثافة النسبية .....43
1-2-4-2- حساب مؤشر الحموضة .....44

1-2-4-3- حساب مؤشر التصبن .....46
1-2-4-4- حساب مؤشر البيروكسيد .....47
1-2-4-5- حساب مؤشر اليود.....48
1-2-4-6- قياس pH العينات الزيتية الثابتة .....49
1-2-5- اختبار النشاطية ضد البكتيرية للمستخلصات الزيتية .....50
2- النتائج والمناقشة .....52
2-1- استخلاص الزيوت .....52
2-1-1- استخلاص الزيوت الثابتة .....52
2-1-2- استخلاص الزيوت الأساسية .....52
2-2- التحليل الكيميائي للزيوت .....53
2-2-1- التحليل الكيميائي للزيوت الثابتة .....53
2-2-2-التحليل الكيميائي للزيوت الأساسية .....62
2-3-الخصائص الفيزيائية-الكيميائية للعينات الزيتية .....70
2-3- النشاطية ضد البكتيرية .....76
2-3-1- النشاطية ضد البكتيرية للزيتوت الثابتة لـ *O. europea* L. .....76
2-3-2- النشاطية ضد البكتيرية للزيوت الأساسية .....82
النتيجة العامة.....95
المراجع.....97

**مقدمة**

تعتبر النباتات الطبية جزءا من الحياة اليومية للإنسان، استخدمها منذ العصور القديمة لتخفيف وعلاج الأمراض التي تصيبه. إن تاريخ النباتات الطبية والعطرية يرتبط مع تطور الحضارات في جميع مناطق العالم، فقد بين تاريخ الشعوب أن التداوي بالأعشاب هو أول طريقة علاجية عرفها البشر. بعض النباتات لها مكانة خاصة لما تركته من آثار معروفة وواضحة على الإنسان، إلى درجة أن بعضها قد تكون مقدسة دون أن يتساءلوا كيف تترك هذه النباتات ذلك الأثر الفعال عليهم؟ أو كيف تعمل؟ لكن التطور العلمي الذي أحدث تغيرا في حياة الإنسان في كل المجالات جعله يبحث أكثر عن أسرار هذه النباتات وخصائصها العلاجية خاصة للتعرف على دورها ومكانتها. بمرور الزمن تخصص بعض الأفراد الذين عرفوا بالعشابين في جمع الأعشاب والنباتات الطبية، وكان من مهامهم تحضير الأدوية باستعمال الأعشاب ووصفها للحالات المرضية. أسهم الرومان والإغريق في التطور العلمي للنباتات الطبية حيث تضمنت مراجعهم عدد كبير من النباتات الطبية، ثم جاء العلماء العرب والمسلمون إذ كان لهم الدور المرموق في إثراء المعرفة عن الأعشاب والنباتات الطبية مثل ابن سينا ومرجعه القانون في الطب و ابن بيطار وكتابه مفردات الأدوية والأغذية.

مع أن تطور العلم في الوقت الحالي حقق انتصارات علمية كبيرة في مجال الدواء ودراسات الطب العلاجي الحديث إلا أن منظمة الصحة العالمية تطالعنا بآخر الاكتشافات الجديدة عن الدراسات الخفية والدور المجهول الذي تلعبه هذه المركبات المصنعة والعقاقير الكيميائية التي تم تخليقها داخل شركات الأدوية الكبرى وعن التأثيرات الجانبية السلبية على الأنشطة البيولوجية والتغيرات الفيزيولوجية التي تحدث في جسم المريض، إذ صارت معظم الأدوية ذات خطر داهم وضرر بالغ على صحة الإنسان، كما أصبحت معظم حكومات الدول المتقدمة متيّقظة لاستعمال هذه المواد والأدوية خوفا على صحة مواطنيها فأصدرت بعض القوانين بعدم تناولها و سجلت ضمن

القائمة السوداء باحتوائها على مواد ضارة، كما اتخذت العديد من التوصيات الصادرة عن المؤتمرات الصيدلانية والدوائية وعمدت إلى التنفيذ الفوري بالبدء الفعلي بالعودة لاستخدام النباتات الطبية والعطرية والمواد ذات المصادر الطبيعية سواء كانت نباتية، حيوانية أو معدنية، لأن تأثيراتها الجانبية أقل عند تناولها بالرغم أن معظم النباتات قد تحتوي على أكثر من مركب واحد من هذه المواد الفعالة التي تتعاون معا وتنشط بعضها البعض لتأدية فعاليتها باقتدار من النواحي البيولوجية، الفيزيولوجية والكيميائية داخل جسم الإنسان مؤدية في النهاية إلى معالجة المريض .

في عملنا هذا قمنا بدراسة عينات من الزيوت الثابتة مختلفة الأعمار (فترات التخزين) المستخلصة من ثمرة الزيتون لمعرفة ما الذي يحدث لزيت الزيتون أثناء تخزينه لفترات مختلفة وطويلة؟ و ما تأثير هذه الأعمار على تركيبها الكيميائي من الأحماض الدهنية، إضافة إلى دراسة بعض خصائصها الفيزيائية-الكيميائية والنشاطية ضد البكتيرية لها، وكذلك التعرف على المحتوى الكيميائي والنشاطية ضد البكتيرية للزيت الأساسي المستخلص من الأجزاء الهوائية في مرحلة الإزهار لنفس النيات قصد التعرف على الفرق الموجود بين مختلف أجزاء نفس النبات في نوع الزيت وتركيبه الكيميائي، كما تم إجراء دراسة لنبات له نفس الاستعمالات الطبية تقريبا لزيت الزيتون- وهو النعناع المائي *Mentha aquatica* L.؛ النباتان من عائلتين مختلفتين ورتبة واحدة هي الزيتونيات " Lamiales"؛ تم الطرق فيها للتركيب الكيميائي والنشاطية ضد البكتيرية لزيته الأساسي قصد إجراء مقارنة بين النشاطية ضد البكتيرية لهما والتي تعتبر جزء من القدرة العلاجية للنبتتين وهذا محاولة لفهم الدافع لتخزين زيت الزيتون لسنوات طويلة قصد التداوي به دون باقي النباتات.

# الجــــزء النـــظري

# النباتات الطبية

## 1- النباتات الطبية

### 1-1- تعريف النباتات الطبية

النباتات الطبية هي تلك التي تحتوي في عضو ما منها على الأقل على مركبات كيميائية نباتية لها خصائص علاجية ( Elqaj وآخرون، 2007)، أما Schauenberg (2006) فقد عرف النبات الطبي أنه كل نبات يحتوي على مادة فعالة أو أكثر يمكن أن تق أو تخفف أو تعالج مرضا ما.

تحتوي هذه النباتات على عدة مكونات مهمة التي تعتبر من مركبات الأيض الثانوية مثل الفلافونويدات، القلويدات (Guignard وآخرون، 1985)، الزيوت، التّانينات، الغليكوزيدات، الموادّ المـــرّة ومكونات أخرى مثل الراتنجات، الأصماغ، المعادن، الأحماض، الفيتامينات والهرمونات (Duverge، 2009).

### 1-2- النباتات الطبية في حياتنا اليومية

من الواضح أن النباتات الطبية والعطرية كانت وما زالت تمثل عنصًرا أساسًيا في حياة الإنسان، فبنظرة سريعة ندرك أننا نستخدم الكثير منها في حياتنا اليومية العادية، فمعظمنا يتناول كأًسا من الشاي أو قدحًا من القهوة لما يحتويانه من الكافين ذي التأثير المنبه والمنشط، ونعلم كذلك فوائد النعناع والبابونج والهيل لما تحتويه من زيوت عطرية، ولا يخلو منزل الأم المرضعة من بذور الحلبة لفائدتها في إدرار اللبن، أما ثمار الكراوية فتستخدم بعد غليها مع الماء لتخفيف وعلاج المغص المعوي لدى الأطفال، تلك أمثلة من النباتات الطبية شائعة الاستخدام إلا أن هناك المئات من العقاقير والنباتات الطبية التي تستخدم لعلاج الأمراض والأسقام المختلفة والكثير منها شديد السمية ومن الواجب والضروري استعمالها بحذر وبجرعات محددة، كما أن عدم اتخاذ الحذر والحيطة في استخدامها يكون عادة مصحوًبا بمخاطر كبيرة (علي والحسن، 2002).

### 1-3- المواد الفعالة في النباتات الطبية

معظم الأنواع النباتية التي تنمو في العالم تمتلك خصائص علاجية لأنها تحتوي على مكونات فعالة تؤثر مباشرة على الجسم (Iserin، 2001). وهي تنقسم وفقا لتركيبها الكيميائي لعدة مجموعات، أهمها الفلافونويدات، القلويدات، التربينات... (Guignard وآخرون، 1985؛ Bruneton، 1999)، و تعتبر الزيوت النباتية من أهم هذه المواد الفعالة ذات رائحة مميزة وخصائص علاجـية مهمة (Duverge، 2009)

الزيوت الأساسية من مركبات الأيض الثانوية، الدور الوظيفي الحقيقي لها يبقى في غالب الأحيان غامضا إلا أنه يحتمل أن يكون لها دور في مجال التفاعلات النباتية (كابح الإنتاش أو مقاومة المواد السامة بيولوجيا لبعض المركبات الناتجة عن عمليات الهدم الكيميائي داخل أنسجة النبات، تعتبر كمصدر للطاقة لبعض التفاعلات الكيميائية...)، أو التفاعلات النباتية-الحيوانية: الحماية من بعض مسببات الاضرار (حشرات، فطريات.. ) وجذب حشرات مساعدة على التلقيح، كما يمكن أن تلعب هذه الإفرازات دورا مساعدا على الاتصال "رسائل بيو لوجية" انتخابية (Bruneton، 1999).

### 1-4- جمع النباتات الطبية

تختلف عملية جمع المادة النباتية من عضو لآخر من حيث الوقت والطريقة، ففي حالة الجذور والريزومات يكون جمع العينات في فترة راحة النمو النباتي أي في فصل الخريف أو في الربيع قبل بداية النمو النباتي، تتم عملية القلع عادة في العام الثاني أو الثالث بالنسبة للنباتات المعمرة، في الخريف للعام الأول بالنسبة للنباتات ثنائية الحول. قبل التجفيف، يتم غسل الجذور والريزومات من التربة والرمال العالقة والأجزاء الميتة من النبات بالماء (Rubin, 2004).

أما اللحاء (القلف) فيجمع القلف عادة في فصل الربيع حتى بداية الصيف ونادرا في الخريف، الأشجار المسنة غير صالحة لجمع القلف لكونها تحتوي على مادة الفلين وينقص محتواها من المواد الفعالة (Rubin, 2004)، لكن الخشب نادرا ما يتم استعماله، يتم بشره عادة "نجارة" أو قطعه حطيبات (Rubin, 2004).

بالنسبة للأوراق والسيقان العشبية فتجمع الأوراق والقمم النامية للنبات في الوقت الذي تكون فيه غنية جدا بالمكونات الفعالة، وهذا الوقت هو الذي تكون فيه عملية التمثيل الضوئي أكثر نشاطا وهو فصل الربيع. تعتبر المرحلة التي تسبق تكوين الأزهار أو قبل تمام تكوينها هي الفترة التي تكون فيها الأوراق غنية بالمكونات الفعالة وهذه هي أنسب مرحلة يمكن فيها جمع أوراق غنية بمكوناتها (حجاوي آخرون، 2004). تجمع الأوراق "الأجزاء الهوائية" في وقت تكون محتوياتها من المواد الفعالة قد ازدادت أي بعد طلوع الشمس حيث تكون عملية التركيب الضوئي في أوج نشاطها ، يفضل أن لا تجمع وهي ندية رطبة لأن ذلك يجعلها سهلة التعفن. تتم عملية جمع الأوراق عادة باليد، أحيانا تقص الفروع كاملة بالمقص وفيما بعد تجمع الأوراق من هذه الأغصان بعد عملية التجفيف. يجب تفادي فرك الأوراق أو تكديسها في سلة أو كيس (Rubin, 2004 ).

تختلف الأزهار عن باقي أجزاء النبات في أن فترة جمعها قصيرة جدا وتحتاج إلى دقة وعناية في اختيار الوقت المناسب لجمعها، على العموم تجمع الأزهار قبل أو بمجرد بداية الإزهار (حجاوي آخرون، 2004)، ومع ذلك يؤخذ كذلك بعين الاعتبار طبيعة المواد الفعالة الموجودة في الازهار المراد جمعها، لذلك قد يكون الوقت المناسب لجمعها في منتصف النهار أين تكـون متفتحة كلية وجافة، وفي بعض الأحيان يتم قطفها صباحا بعد أن تجف من قطرات الندى حتى لا تفقد مكوناتها الفعالة بفعل الحرارة، أحيانا الجمع يقتصر على بعض الأجزاء مثل البتلة بالنسبة للخباز والخشخاش. (Rubin، 2004؛ Schauenberg، 2006).

تكون عملية جمع الثمار عند اكتمال نموها وتمام نضجها ولكن قبل تفتحها وانتشار بذورها (حجاوي وآخرون، 2004). قد تستعمل الثمرة كلها وفي بعض الأحيان تستعمل قشور الفواكه فقط مثل قشور الرمان، إذا

كانت لحمية تجمع عند النضج أو قبله بقليل، أما بالنسبة للثمار الجافة فتجمع ناضجة عندما تبدأ بالاصفرار مثل الكراوية (Rubin، 2004).

تستعمل البذور عادة مع الثمار وفي بعض الأحيان قد تستعمل وحدها، تتم عملية الجمع بعد النضج، لكن إذا كانت متواجدة داخل ثمار متفتحة لا يجب الانتظار حتى تتفتح هذه الأخيرة تلقائيا مثل الكتان والخرذل (Rubin، 2004 ).

بالنسبة للأصماغ، الراتنجات و لبن النبات التي تعتبر من المواد الخام التي تفرزها بعض النباتات كما في صمغ الصنوبر التي عادة ما يتم الحصول عليها عن طريق شق النبات أو قطعه بواسطة المشرط، يفضل أن تكون عملية الجمع في الصباح و الأوقات الجافة (Rubin، 2004).

**1-5- التجفيف**

يتم تجفيف النباتات الطبية تحت درجة حرارة ما بين (40-50) م° كحد أقصى، فإذا كان النبات عطريا تتم عملية الجمع في الصباح ويجفف تحت درجة حرارة لا تتعدى 50°م (Schauenberg، 2006).

تختلف سرعة تجفيف النباتات الطبية حسب بنية العضو ودرجة الحرارة، فالنباتات الطبية تحتوي على نسبة مهمة من الماء تختلف باختلاف العضو النباتي، حيث أن الأزهار والثمار الأكثر غنا بالماء (70- 90%)، الجذور والريزومات تحتوي بين (30-50 %)، الأوراق تحتوي (50- 70 %)، القشرة (20 %)، البذور والثمار الجافة يكون محتواها هو الأضعف (10 %) (Rubin، 2004).

## 2- النباتات المدروسة

### 2-1- العائلة الزيتونية *Oleaceae*

نباتات العائلة الزيتونية *Oleaceae* خشبية "شجرية" ذات أوراق بسيطة أو مركبة، متقابلة، الإزهار على شكل نورات عنقودية أو محدودة، الزهرة منتظمة، لها أربعة محيطات زهرية، الكأس بأربع سبلات ملتحمة أو سائبة، التويج بأربع بتلات ملتحمة أو سائبة، الأسدية اثنتان قد تكونان ملتحمتان مع التويج ملتحم البتلات، المبيض علوي يتكون من كربلتان ( Quezel وSanta، 1963؛ Crété، 1965).

### 2-1- 2- جنس الزيتون *Olea*

تتميز نباتات جنس الزيتون *Olea* بأوراق بسيطة بيضوّية أو إهليجية الشكل، ذات لون أخضر شاحب، فضية من الجهة السفلية، دائمة الاخضرار سميكة وجلدية، ذات معلاق، النورة عنقودية، تتشكل في قمم الفروع القصيرة الجانبية "فروع فتية"، الثّمرة بيضوّية الشكل وحيدة البذرة ( Quezel وSanta، 1963؛ Ali-Delille، 2013). تنمو شجرة الزيتون بشكل بطيئ، قد يصل طولها إلى عشرة أمتار، تحب التربة الطينية التي تحتفظ بالرطوبة لفترات طويلة والصخرية ، قد تعمر حتى ألف سنة (العكيدي، 2000؛ Ali-Delille، 2013).

### 2-1- 3-استعمال مستخلصات نباتات جنس *Olea*

أكثر مستخلص يستعمل من هذه النباتات في الطب الشعبي العالمي هو الزيت، إما كعلاج في حد ذاته، أو كقاعدة لمستحضرات أخرى للاستخدام الداخلي أو الخارجي. استخدم زيت الزيتون كمطهر لعلاج الجروح الصغيرة وتهيج الجلد، آلام الروماتيزم، آلام البطن، الأذن، الحلق وتورم الغدد،كما يستخدم كترياق للسموم، أما في مجال التجميل فقد استعمل زيت الزيتون للحماية من أشعة الشمس في فصل الصيف، بالإضافة إلى أنه استعمل كوقود (Boskou، 2006؛ العكيدي، 2000) كما يستعمل في إعداد مختلف الأطعمة (Ali-Delille، 2013).

**2-1- 4- أصل شجرة الزيتون**

أصل شجرة الزيتون هو بلدان حوض البحر المتوسط خاصة منطقة الشرق الأوسط مثل سوريا، فلسطين وتركيا.. وكذا اليونان وإيطاليا، ثم انتشر بمساعدة عدة عوامل منها الطيور والحيوانات لباقي مناطق حوض البحر الأبيض المتوسط ثم إلى مناطق أخرى كأمريكا والتشيلي ومناطق كثيرة في العالم. وجدت بعض آثار لبقايا شجرة الزيتون "أوراق متحجرة" في اليونان تعود إلى 50000-60000 سنة، يعتقد أن زراعة أشجار الزيتون بدأت منذ 4000 سنة قبل الميلاد في سوريا وفلسطين. شجرة الزيتون دائمة الخضرة واسعة ومتفرعة، اعتمادا على النوع والظروف البيئية يختلف ارتفاع هذه الشّجرة من ثلاثة أمتار إلى عشرين مترا. في الزراعة الحديثة ظهرت أشكال منخفضة "4-5 أمتار في الارتفاع" منتشرة بكثرة عند المزارعين في العديد من البلدان المنتجة للزيتون. شجرة الزيتون لديها العديد من الأصناف ذات اختلافات رئيسية أو ثانوية شكلية ووراثية. من أكثر الاختلافات في الحجم واللون، محتوى الزيت، تكوين الأحماض الدهنية، وغيرها (العكيدي، 2000؛ Boskou، 2006).

**2-1- 5- انتشار شجرة الزيتون في الجزائر**

تنتشر شجرة الزيتون *Olea europea* L. في معظم مناطق الجزائر، ينتشر الصنف المستوطن *Olea europea* L. Var. *Oleaster* DC. (synonyme: Var. *sylvestris*)، أمّا الصّنف المزروع المنتشر فهو *Olea europea* L. Var. *Sativa* DC.، هذا النوع نادر الانتشار في شمال الصحراء، كما ينتشر نوع آخر مستوطن في وسط الصحراء مثل الهقار، التاسيلي.. هو *Olea laperrini* Batt. et Tr. ( Quezel وSanta، 1963).

تعرف بأسماء مختلفة باختلاف المناطق مثل الزيتون، ازمور ، زينون بالنسبة للأنواع المزروعة، زبوج بالنسبة للأنواع المستوطنة ( Quezel وSanta، 1963؛ Ali-Delille، 2013).

### 2-1- 6- تصنيف جنس *Olea*

حسب تصنيف APG3 (2009) "يعرف هذا التصنيف بأنه تصنيف النشوء والتطور classification phylogénétique وهو نظام حديث يصنف النباتات وفقا لعلاقات القرابة بينها في إطارها التطوري" لـ Chase وآخرون (2009) و Chase و Reveal (2009)، و حسب Cronquist (1981) الذي اعتمد في تصنيفه للنباتات خاصة على خصائصها المورفولوجية، التشريحية و تركيبها الكيميائي، صنف النبات *Olea europea* L. كالآتي:

**تصنيف جنس *Olea***

| **تصــنيف APG3 (2009)** | **تصــنيف Cronquist A. (1981)** |
|---|---|
| **Clade :** Spermatophytes | **Règne** : Plantae |
| **Clade** : Angiospermes | **Sous-règne** : Tracheobionta |
| **Clade** : Eudicotylédones"Dicotylédones vraies" | **Division** : Magnoliophyta |
| **Clade** : Astéridées | **Classe**: Magnoliopsida (Angiospermes) |
| **Clade** : Lamiidées ou Euastéridées | **Sous-classe** : Asteridae |
| **Ordre** : Lamiales | **Ordre** : Scrophulariales |
| **Famille :** *Oleaceae* | **Famille** : *Oleaceae* |
| **Genre** : *Olea* | **Genre** : *Olea* |

**2-1- 7- فترة جني ثمار الزيتون**

تعتبر فترة قطف ثمار الزيتون مهمة حسب استعمال الثمار للأكل أو لاستخلاص الزيت ولأنها تؤثر على كمية الزيت ونوعيته وفي غلة السنة وانتاج العام المقبل، فإذا كان المحصول موجها للأكل تكون عملية القطف في بداية النضج مباشرة أوقبلها بقليل، أما إذا كان المحصول موجها لاستخلاص الزيت فإن عملية الجني تكون عند نضج الثمار وإذ تمت قبلها أو بعد النضج بفترة فإن ذلك يوثر سلبا على الانتاج (العكيدي، 2000).

**2-2- العائلة الشفوية**

عرف Quezel و Santa (1963) و Hilan وآخرون (2006) نباتات العائلة الشفوية بأنها شجيرية أو نباتات عشبية أغلبها عطرية، الأوراق عادة متقابلة بدون أذينات، الإزهار إبطي، تكون الأزهار دائرية أو سوارية على الساق "المحور الحامل لها"، وهي أكثر كثافة عند القمة" نهاية الساق"، أو تكون نورة سنبلية، غير محدودة أو محدودة وقد تكون زهرة منفردة.

تتميز أزهار العائلة الشفوية بكأس يتكون من خمسة سبلات "وفي حالات نادرة من 4 إلى 10 سبلات"، عادة يكون مستديما، التويج بصفة عامة ثنائي الشفة، طويل أنبوبي أحيانا يتكون من أربعة إلى خمسة فصوص "بتلات" ملتحمة، الشفة السفلية متكونة من ثلاثة فصوص، بينما الشفة العلوية تتكون من فصين. عدد الأسدية أربعة و قد توجد سداة خامسة ضامرة أو عقيمة أو جد مختزلة، و أحيانا توجد سداتان، المتاع علوي يتكون من كربلتين ملتحمتين، المبيض يتكون من حجرتين يفصل بينهما حاجز كاذب، القلم قاعدي أي ينشأ من انخفاض موجود بين حجرتي المبيض يكون منشطر (مشقوق) عادة ينتهي بميسمين، الأزهار خنثى سفلية وحيدة التناظر غالبا، الثمرة جافة متكونة من أربعة أكينات ملتحمة من الجهة الداخلية تحتوي كل واحدة على بذرة ( Quezel و Santa، 1963).

### 2-2-1- جنس *Mentha*

نباتات هذا الجنس عشبية معمرة، لها رائحة عطرة، الأوراق جالسة أو شبه جالسة أو معنقة, الكأس أنبوبي أو على شكل جرس له أربعة إلى خمسة أسنان شبه متساوية، التويج قمعي الشكل، أبيض اللون أو بنفسجي فاتح، له أربعة فصوص شبه متساوية، الكرابل ملساء، الأزهار مجتمعة لتكون نورة سنبلية طرفية في النهاية أو تكون جملة من الأزهار المتشابهة محلقة حول المحور "الساق"، حيث تتوضع هذه الأزهار دائريا على المحور الطرفي أو النهائي في إبط الأوراق (Quezel وSanta، 1963)، قد يصل طول بعض الأنواع إلى 1م مثل *M. piperita* (Bupesh وآخرون، 2007). تتميز أنواع هذا الجنس برائحة جد عطرة تتواجد خاصة في الأماكن الرطبة، واسعة الانتشار في مختلف أنحاء العالم (Gracindo وآخرون، 2006)، عدد من أنواع هذا الجنس موجودة في الجزائر ينمو بصفة تلقائية كما يمكن زراعتها، وهي واسعة الاستعمال في الطب التقليدي (Beloued، 1998؛ Mahmoudi، 1990).

يشتمل جنس *Mentha* أكثر من 25 نوع نباتي معظمها تعتبر أنواعا غنية بالتربينات خاصة التربينات الأحادية (Li وآخرون، 2001؛ Arumugam وآخرون، 2008).

### 2-2-2- استعمال نباتات جنس *Mentha*

تعتبر نباتات أنواع جنس *Mentha* ذات أهمية اقتصادية كونها غنية ومنتجة للزيوت الأساسية (Khanuja وآخرون، 2000؛ Li وآخرون، 2001)، إذ تستعمل نباتات عدة أنواع من هذا الجنس طرية أو جافة كمنكهات وتوابل في مختلف أنواع الأغذية (Edris وآخرون، 2003؛ Gracindo وآخرون، 2006؛ Abd El-Wahab، 2009)، تملك نشاطية ضد ميكروبية وضد تأكسدية مهمة (Sweetie وآخرون، 2008؛ Kanatt وآخرون، 2008)، كما تستعمل في صناعة المستحضرات الصيدلانية (Khanuja وآخرون، 2000؛ Arumugam

وآخرون، 2006)، و تستعمل بعضها موضعيا لبعض أمراض الحساسية (Mahmoudi، 1990)، ومنها ما هو مفيد في بعض أمراض الجهاز الهضمي، طارد للرياح، منشط فعال، مساعد على التنخم (مقشر)، السعال، الإفلونزا والزكام، مضاد للالتهاب، له تأثير جيد في حالات التقيؤ، التشنج المعدي، آلام الرأس (Leclerc، 1994؛ Beloued، 1998)، ذكر كل من (Shirazi وآخرون، 2004؛ Patra وآخرون، 2001؛ Sweetie وآخرون، 2008؛ G´omez-Prieto وآخرون، 2007؛ Houdref، 1999) أن أوراق بعض هذه النباتات تستعمل في تحضير الطعام وفي تحضير بعض المشروبات، كما يستعمل في صناعة الصابون والصناعات التجميلية وعطور البيوت وبعضها طاردة للحشرات.

### 2-2-3- انتشار نبات *Mentha aquatica*

حسب (Quezel و Santa، 1963)، فإن نبات *Mentha aquatica* ينتشر في المناطق الرطبة وبصفة أقل في التلال، يعرف باسم حبق الماء "*Habaq el ma*".

### 2-2-4- تصنيف جنس *Mentha*

أغلب أنواع جنس *Mentha* تتميز بتباين مورفولوجي كبير، الأمر الذي انعكس عنه الاختلاف الكبير في تصنيف أسماء النباتات التابعة لهذا الجنس خلال القرنين الماضيين (Tucker وآخرون، 2007؛ Gracindo وآخرون، 2006؛ Gobert وآخرون، 2002؛ Silva وآخرون، 2006). حسب تصنيف APG3 (2009) (Chase وآخرون، 2009؛ Chase و Reveal، 2009) وحسب Cronquist A. (1981) يصنف النوع النباتي *M. aquatica* L. كالآتي:

**تصنيف جنس *Mentha***

| تصنيف **Cronquist A. (1981)** | تصيف APG3 **(2009)** |
|---|---|
| **Règne** : Plantae | **Clade** : Spermatophytes |
| **Sous-règne** : Tracheobionta | **Clade** : Angiospermes |
| **Embranchement** : Magnoliophyta | **Clade** : Eudicotylédones"Dicotylédones vraies" |
| **Classe** : Magnoliopsida (Angiospermes) | **Clade** : Astéridées |
| **Sous-classe** : Asteridae | **Clade** : Lamiidées ou Euastéridées |
| **Ordre** : Lamiales | **Ordre** : Lamiales |
| **Famille** : *Lamiaceae* | **Famille** : *Lamiaceae* |
| **Genre** : *Mentha* | **Genre** : *Mentha* |

# الزيوت النباتية

## 3- الزيوت النباتية

### 3-1- الزيوت الأساسية

#### 3-1-1- تعريف الزيوت الأساسية

تعرف بأنها مركبات عطرية، طيارة، يتم إنتاجها طبيعيا من طرف بعض النباتات المعروفة تحت اسم النباتات العطرية، تو جد في مختلف أجزاء النباتات (أزهار، أوراق، ساق، جذور، قشور، ثمار..)، تعتبر من مركبات الأيض الثانوية (Bakkali وآخرون، 2008؛ Da Porto وDecorti، 2009) وهي مزيج من المركبات المعقدة الطيارة المتواجدة في النبات بتراكيز ضئيلة (Adam وآخرون، 2009). تختلف نسبة تواجدها من نبات إلى آخر، فقد تصل من 16-17% في نبات القرنفل، وتكون 0,2 % في نبات الياسمين، يتم استخلاصها بعدة طرق، لكن للأغراض الدوائية يتمّ استعمال طريقتين هما: التقطير إذ تنجذب هذه الزيوت مع اندفاع بخار الماء بواسطة التقطير (المائي أو بالبخار) للنبتة كاملة أو جزء منها، والطريقة الثانية تكون بالضغط البارد: أو العصر لغلاف ثمار بعض أنواع الحمضيات (Bakkali وآخرون، 2008؛ Bruneton، 1999).

تختلف الزيوت الأساسية عن الزيوت الثابتة مثل زيت الزيتون، فالزيوت الأساسية هي مواد دهنية توجد في النباتات تتميز بكونها طيارة، هذه الأخيرة صفة تجعلها تتميز عن الزيوت الثابتة والدهون، وهي مختلفة أكثر بتركيبها الكيميائي وخصائصها الفيزيائية، غالبا ما تكون مرتبطة مع مواد أخرى مثل الأصماغ (Belaiche، 1979).

الزيوت الأساسية توجد غالبا عند النباتات الراقية، أهم الأجناس النباتية المنتجة أو المصنعة للزيوت الأساسية مقسمة إلى عدد محدود من العائلات مثل: Myrtaceae، Lauraceae، Rutaceae، Lamiaceae،

Asteraceae، Apiaceae، Cupressaceae، Poaceae، Zingiberaceae، Piperaceae... (Bruneton، 1999؛ Bakkali وآخرون، 2008).

### 3-1-2- تمركز الزيوت الاساسية

الزيوت الأساسية يمكن أن تتواجد في كل الأعضاء النباتية كما يمكن أن يقتصر وجودها في بعض الأعضاء مثل الأزهار كما في مسك الروم (Tubéreuse)، أو الأوراق مثل الكالبتوس (Eucalyptus)، و بصفة أقل في: القــشرة مثل القرفة (Cannelle)، الجذور مثل نجيل الهند (vétiver)، الريزومات مثل الزنجبيل (Gingembre)، والبذور (Muscade) (Bruneton، 1999).

### 3-1-3- الخواص الفيزيائية للزيوت الاساسية

تكون الزيوت الأساسية سائلة في درجة الحرارة الطّبيعيّة المعتدلة و قد تكون صلبة مثل الكافور، وهي طيارة في درجة حرارة عادية، كثافتها عادة أقل من كثافة الماء، تذوب في الكحول الإيثير والمذيبات العضوية المعروفة، كما أنها قابلة للذوبان في الدسم. الزيوت الأساسية قليلة الذوبان في الماء، لكنها نسبة كافية لتكسب الماء رائحتها المميزة والواضحة (Bruneton، 1999).

### 3-1-4- التركيب الكيميائي للزيوت الاساسية

يستطيع أن ينتج نفس النوع النباتي المصنف -في بعض الأحيان- مركبات مختلفة باختلاف المنطقة التي ينمو فيها، أو باختلاف مرحلة نمو النبات، كما أن للطريقة المستعملة في استخلاص الزيوت الأساسية والتحليل الكيميائي لها قد يجعل محتوى الزيت الأساسي متغيرا وكذلك لمدة وظروف الحفظ تأثير على تركيبها الكيميائي (Lamendin وآخرون، 2004؛ Rhayour، 2002).

إذا كانت كل الأعضاء في نفس النوع النباتي تحتوي على زيوت أساسية فإن تركيب هذه الأخيرة يمكن أن يكون متغيرا حسب موضع تمركزه (Bruneton، 1999).

تتكون الزيوت الأساسية من خليط من المركبات المعقدة، أغلبها المركبات التربينية صيغتها العامة: $(C_5H_8)_n$ والمركبات العطرية المشتقة من الفينيل بروبان phénylpropane ومركبات مشتقة أخرى مختلفة (Bouaoun وآخرون، 2007؛ Rhayour، 2002).

**3-1- 4-1- المركبات التربينية Terpénoïdes**

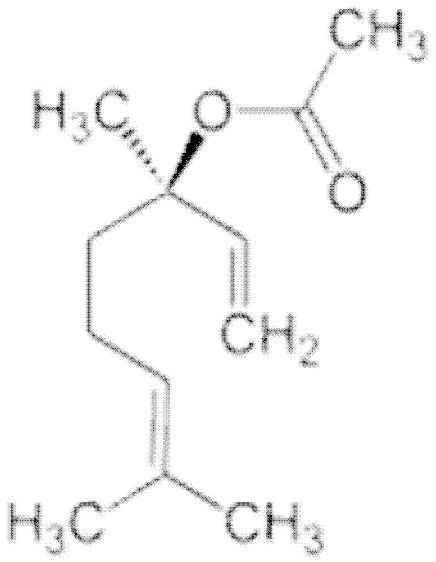
عرفت التربينات بأنّها تتكوّن من خليط من المركبات الهدروكربونية و المركبات الأوكسجينية المشتقة ( Da Porto وDecorti، 2009؛ Laouer، 2004). تتشكل التربينات من وحدات إيزوبرينية "unités isopréniques" $(C_5H_8)_n$ وتشمل:

... les triterpènes ($C_{30}$) les diterpènes ($C_{20}$) ، les sesquiterpènes ($C_{15}$) ،les monoterpènes ($C_{10}$) (Bruneton، 1999؛ Rhayour، 2002).

التربينات الأكثر وجودا في الزيوت الطيارة هي تلك التي يكون وزنها الجزيئي غير مرتفع "أي طيارة" وهي monoterpènes وsesquiterpènes (Bruneton، 1999)، تدخل التربينات الأحادية في تركيب الزيوت الأساسية بنسبة 90 % (Bakkali وآخرون، 2008).

### 3-1- 4-2- التربينات الأحادية Monoterpènes

يمكن أن تكون غير أحادية: myrcène، ocimènes، linalol، géraniol، أو أحادية الحلقة *p*-cyméne، menthol، limonène، carvone، pulégone، thymol، carvacrol أو ثنائية الحلقة pinénes، camphéne، sabinéne، صيغتها العامة ($C_{10}H_{16}$)، تحمل وظائف أكسجينية ذات درجة أكسدة مختلفة alcool، cétone.. (Bruneton، 1999؛ Belhattab، 2005)، مثل Acétate de linalyle "الشكل (01)".




**الشكل (01):** بنية Acétate de linalyle (Bruneton، 1999)

### 3-1- 4-3- السيسكوتربينات Sesquiterpènes

صيغتها العامة ($C_{15}$ $H_{24}$)، قد تكون غير حلقية، أو حلقية "أحادية أو ثنائية الحلقة" (Belhattab، 2005)، أو متعددة الحلقات ( β- caryophylène, β-bisabolène, longifolène) وقد تحتوي على المركبات الكحولية (farnésol, carotol)، أو كيتونية (nootkatone, β-vétivone)، أو ألدهيد (sinensals)، أو إيستر (acétate de cédryle) (Bruneton، 1999).

### 3-1-4 -4- المركبات العطرية Composés aromatiques

هي مشتقات من فينيل بروبان phénylpropane ($C_6$-$C_3$)، وهي تختلف عن المركبات السابقة في طريقة تخليقها، وهي أقل تواجدا من التربينات في الزيوت الأساسية، غالبا ما تكون allyl- et propénylphénols وأحيانا ألدهيد، تصنف حسب الوظيفة التي تحملها: ألدهيد، أيستر، حمض، الايثر الفينولي، فينول، خاصة ببعض زيوت العائلة الخيمية Apiaceae (البقدونس، القرنفل...) مثل: apiol, anéthol، وكذلك (القرنفل، الريحان، القرفة) مثل: eugénol، safrole، asarones ، cinnamaldéhyde... وقد نجدها في الزيوت الأساسية للمركبات المتكونة من C6-1C مثل: vanilline (Bruneton، 1999).

### 3-1- 4-5- مركبات أخرى

هي مركبات تكونت نتيجة تحول في الجويئات غير الطيارة، تتكون نتيجة تخريب التربينات أو الأحماض الدهنية (Bruneton، 1999).

## 3-1-5- خصائص الزيوت الأساسية و استعمالاتها

### 3-1-5 -1- مجال استعمال الزيوت الأساسية

من المعروف منذ القدم أن الزيوت الأساسية تظهر قدرة علاجية لا يستهان بها، وقد تم استعمالها في مختلف المجالات: الطب والصيدلة كمستحضرات طبية أو مسوغات للأدوية، التجميل، صناعة مواد التنظيف، التطهير، والصناعات الغذائية كمعطرات و منكهات (Adam وآخرون، 2009؛ Amarti وآخرون، 2008؛ Kaloustian، 2008).

### 3-1-5 -2- الخصائص العلاجية للزيوت الأساسية:

لم يكن الإهتمام بمكونات النباتات وزيوتها الأساسية حديث العهد، فقد قام Martindale (1910) بدراسة النشاطية ضد البكتيرية للزيت الأساسي للزعتر "Origan" ضد *Colibacille*، وفي سنة 1919 قام Bonnaure بدراسة الخاصية التطهيرية لنبات الخزامى"lavande"، أما Rideal وWalker (1930) فقد قاما بدراسة النّشاطيّة ضدّ البكتيرية للزيت الأساسي لنبات الزعتر " Origan" (Belaiche، 1979)، كما استعمل من قبل Clou de Girofle "سنة 1623" في فرنسا في طب الأسنان كمطهر ومسكن للألم (Rubin، 2004).

معظم الزيوت الأساسية التي تحتوي على مركبات تربينية تتميز بقدرة ضد ميكروبية كبيرة، كما أنها مسكنة للآلام، منشطة للقلب ومساعدة على الهضم (Rubin، 2004).

أثبتت التجارب أن للزيوت الأساسية قدرة على مكافحة الأمراض المعدية التي تتنقل بسهولة في المكاتب، الأماكن العامة، المدارس والمستشفيات بفضل خاصيتها التطهيرية و ضدّ التّعفّنية، كما أن الزيوت الأساسية تستطيع تطهير الهواء المحيطي "أسلوب التهوية" والحد من انتشار الكائنات الميكروبية المسببة للأمراض ذات الأصل البكتيري أو الفطريات، كما يمكنها التخفيف من الحالات المرضية الفيروسية (De Billerberck، 2007). تعمل النشاطية ضدّ المكروبّية للزيوت الأساسية وفق المكونات الكيميائية لهذه الزيوت، أو بشكل أدق وفق المكونات الطيارة لها (Bouaoun وآخرون، 2007).

### 3-1-5 -3- سمية الزيوت الأساسية والجرعة اللازمة:

تحتوي بعض الزيوت الأساسية على مركبات تعتبر سامة وخطيرة (Rubin، 2004)، فمركب pulégone يعتبر ساما للخلايا الكبدية، الكلية والخلايا في الدماغ (Thulasiram وآخرون، 2001؛ French، 2002). إن استعمال الزيوت الأساسية له ضوابط معينة، فهي قد تسبب الخطر الكبير لأنها غنية بالمواد الفعالة، لذلك حددت

الجرعة من خلال العديد من الدراسات بـ ( 0,3 إلى 0,80 غرام/اليوم كحد أعلى) للاستعمال الداخلي و1 غرام للاستعمال الخارجي (Rubin، 2004).

### 3-1-6- طرق استخلاص الزيوت الأساسية

حسب (Bruneton، 1999؛ Burt، 2004؛ Rubin، 2004؛ Laouer، 2004) هناك العديد من الطرق التي تتبع لاستخلاص الزيوت منها:

#### 3-1-6-1- التقطير

مبدأ عمل هذه الطريقة هو انبعاث الزيوت بفعل الحرارة ثم يتم تحصيلها بواسطة بخار الماء وأثناء مرورها بأنبوب يحتوي على مبرد تتكاثف جزيئات الزيت الأساسي ولأن كثافة الماء والزيت الأساسي مختلفة تبقى المادة الزيتية طافية فوق الماء. تستخدم هذه الطريقة لاستخلاص الزيوت الأساسية التي لا تتأثر مكوناتها بالحرارة المرتفعة.

#### 3-1-6-2- الاستخلاص بالضغط (العصر)

تعتمد هذه الطريقة على الوخز أو العصر، تستخدم هذه الطريقة للزيوت التي تتأثر بالحرارة والتي تحتوي على الزيت في غدد خاصة على الطبقة السطحية لغلاف الثمرة مثل الحمضيات.

#### 3-1-6-3- الاستخلاص بالمذيبات العضوية الطيارة

تستخدم هذه الطريقة لاستخلاص الزيوت الحساسة للحرارة أو إذا كانت تتواجد في أجزاء النبات بكميات قليلة جدا مثل زيت الياسمين، البنفسج و الزنبق.

**3-1-6-4- الاستخلاص بالشحوم والدهون**

تستخدم هذه الطريقة لاستخلاص الزيوت الأساسية الثمينة والحساسة للحرارة، يستخدم عدة أنواع من الشحوم النباتية و الحيوانية ويعمد المستخلص إلى وضع طبقات متناوبة من المادة النباتية والمادة الشحمية ليتم جمع الزيت الأساسي في المادة الشحمية لأن المركبات العطرية لها قابلية الذوبان في الشحوم وباستعمال الكحول يستخلص الزيت الطيار. تستخدم خاصة في حالة النباتات التي تتواجد زيوتها الطيارة في الأزهار.

**3-1-6-5- الاستخلاص بواسطة الموجات المغناطيسية**

تعتبر من أحـدث الطرق المبتكرة، يتم تسخـين النبات الطري داخـل هذا الجهاز بواسطة الموجات micro-ondes مؤديا إلى تسخين الماء الموجود داخل النبات و بالتالي يتحرر الزيت الطيار الموجود في الغدد أو الأوعية النباتية الذي يمتزج مع مذيب شفاف بارد ويذوب فيه ثم يصفى المستخلص.

**3-2- الدهون**

هي مركبات عضوية تتواجد في الحيوانات والنباتات، تتميز بصعوبة الذوبان في الماء، تكون صلبة أو سائلة، يعرف النوع الأول بأنه تلك الدهون التي تكون صلبة "شحوم صلبة" في درجة حرارة 20مْ، أما النوع الثاني فهي تلك الدهون التي تكون سائلة "زيوت" في درجة حرارة 15مْ (Apfelbaum وآخرون، 2004).

**3-2- 1- تقسيم الدهون**

تنقسم الدهون حسب تركيبها إلى:

**3-2- 1- 1- دهون بسيطة**

هي عبارة عن استر حمض دهني وكحول "الذي يمكـن أن يكون:

**1-** غليسيرول "Glycérol" ليعطي دهونا ثلاثية "Triglycérides" أو "Triacylglycérols"

**2-** كحول أليفاتي ذو كتلة جزيئية عالية (سلسلة كربونية طويلة) مكونا مواد شمعية les cérides.

**3-** ستيرول stérol مكونا الستيريدات stérides مثل الكلستيرول cholestérol.

**3-2- 2-1 دهون مركبة**

لهذه المجموعة نفس التركيب الذري السابق مرتبطة أو مضافا إليها فسفور أو آزوت أو كبريت مثل الفوسفوليبيدات، الغليكوليبيدات (Bruneton، 1999؛ Masson، 2007).

**3-2- 2- مميزات الدهون**

- ❖ تتميز الدهون بصعوبة الذوبان في الماء وسهولة الذّوبان في المذيبات العضوية مثل الكلوروفورم، إيثر البترول، الإيثانول والهكسان (Voet D. و Voet J.G.، 2005).
- ❖ تتواجد الدهون في شكلين بارزين: الشكل الأول صلب "دهون صلبة" والثاني سائل "الزيوت" (Marcusson ، 1929؛ Apfelbaum وآخرون، 2004).
- ❖ محتوى الدهون من الماء يقارب 15% بالنسبة الزبدة والمرغرين و0% بالنسبة للزيوت (Apfelbaum وآخرون، 2004).
- ❖ للدهون أهمية كبيرة فهي تعتبر من اهم مصادر الطاقة، تستعمل لأغراض علاجية، غذائية، تجميلية وغيرها (Voet D. و Voet J.G.، 2005؛ Masson، 2007؛ Bruneton، 1999).
- ❖ تتواجد الدهون الثلاثية "Triglycérides" في مختلف أعضاء النباتات كالأوراق والثمار التي يمكن أن تتواجد بها بنسبة 50% من الحجم الجاف، حيث تزداد نسبة الزيوت بها كلما زادت عملية النضج (Bruneton، 1999).

❖ تعتبر الدهوم مادةحاملة للفيتامينات الذائبة فيها مثل K، A، D، كما تساعد على امتصاصها لذلك اي نقص في كمية الدهون يقابله نقص في استفادة الجسم من هذه الفيتامينات.

❖ تحفز الدهون على افراز العصارات الهاضمة ، كما أن كثافتها المنخفضة تساعدها على البقاء مدة أطول في المعدة فتعمل على الاحساس بالرضى وبالشبع مدة أطول.

**3-2-3- الأحماض الدهنية**

تعتبر الاحماض الدهنية الوحدة البنائية الاساسية للدهون والزيوت، يوجد أكثر من 200 حمض دهني لكن حوالي 20 منها فقط لها أهمية اقتصادية، تتكون من سلسلة كربونية أليفاتية قصيرة أو طويلة تحمل وظيفة كربوكسيلية، لها في غالب الأحيان عدد زوجي من ذرات الكربون، الأحماض الدهنية الأكثر انتشارا هي تلك التي تحتوي على 14- 20 ذرة كربون، أما الاحماض الدهنية التي تحتوي على عدد مختلف "أي أكثر من 20 أو أقل من 14 ذرةكربون" فهي قليلة التواجد أو نادرة. الأحماض الدهنية المتواجدة بوفرة عند النباتات والحيوانات الراقية هي تلك التي تحتوي على 16 و18 ذرة كربون، الأحماض الدهنية غير المشبعةأغلبها من الشكل *cis* (Bruneton، 1999؛ Voet D. و Voet J.G.، 2005؛ Boskou، 2006؛ Masson، 2007).

**1-3-2-3- تصنيف الاحماض الدهنية**

تنقسم الأحماض الدهنية إلى قسمين (الشكل 02): مشبعة "هي تلك التي تحتوي على 12 إلى 24 ذرة كربون تكون صلبة في درجة حرارة المحيط" وغير مشبعة تحتوي على رابطة مزدوجة واحدة "Monoinsaturés" أو أكثر "Polyinsaturés" أو على ثلاث روابط "Triples liaisons"، هذه الأخيرة جد نادرة. الصيغة العامة للأحماض الدهنية المشبعة من الشكل: **$CH3-(CH2)_n-COOH$** مثل حمض البالمتيك acide palmitique صيغته العامة: $CH_3 - (CH_2)_{14} - COOH$ أما الصيغة العامة للاحماض الدهنية غير المشبعة الاحادية هي من

الشكل: $CH_3-(CH_2)_n-CH=CH-(CH_2)_n-COOH$ (Voet 2005; Denis, 1994 ; Bruneton, 1999).

مثل:

- حمض الأوليك acide oléique صيغته العامة:

$$CH3 - (CH2)7 - CH = CH - (CH2)7 – COOH$$

- حمض اللينوليك « $\omega_6$ » Acide γ- linoléique صيغته العامة:

$$CH3 - (CH2)4 - CH = CH - CH - CH = CH - (CH2)7 – COOH$$

- حمض اللينولينيك « $\omega_3$ » acide α- linolénique صيغته العامة :

$$CH3 – CH2 - CH = CH – CH2 - CH = CH – CH2 - CH = CH - (CH2)7 - COOH$$

تتميز الأحماض الدهنية باحتوائها على قطبين الأول كاره للماء hydrophobe يتمثل في السلسلة الكربونية والثاني محب للماء hydrophile يتمثل في الوظيفة الكربوكسيلية **COOH** (Masson, 2007). أهم الأحماض الدهنية المشبعة والغير المشبعة (Bruneton، 1999؛ Masson، 2007؛ Voet D. و Voet J.G.، 2005):

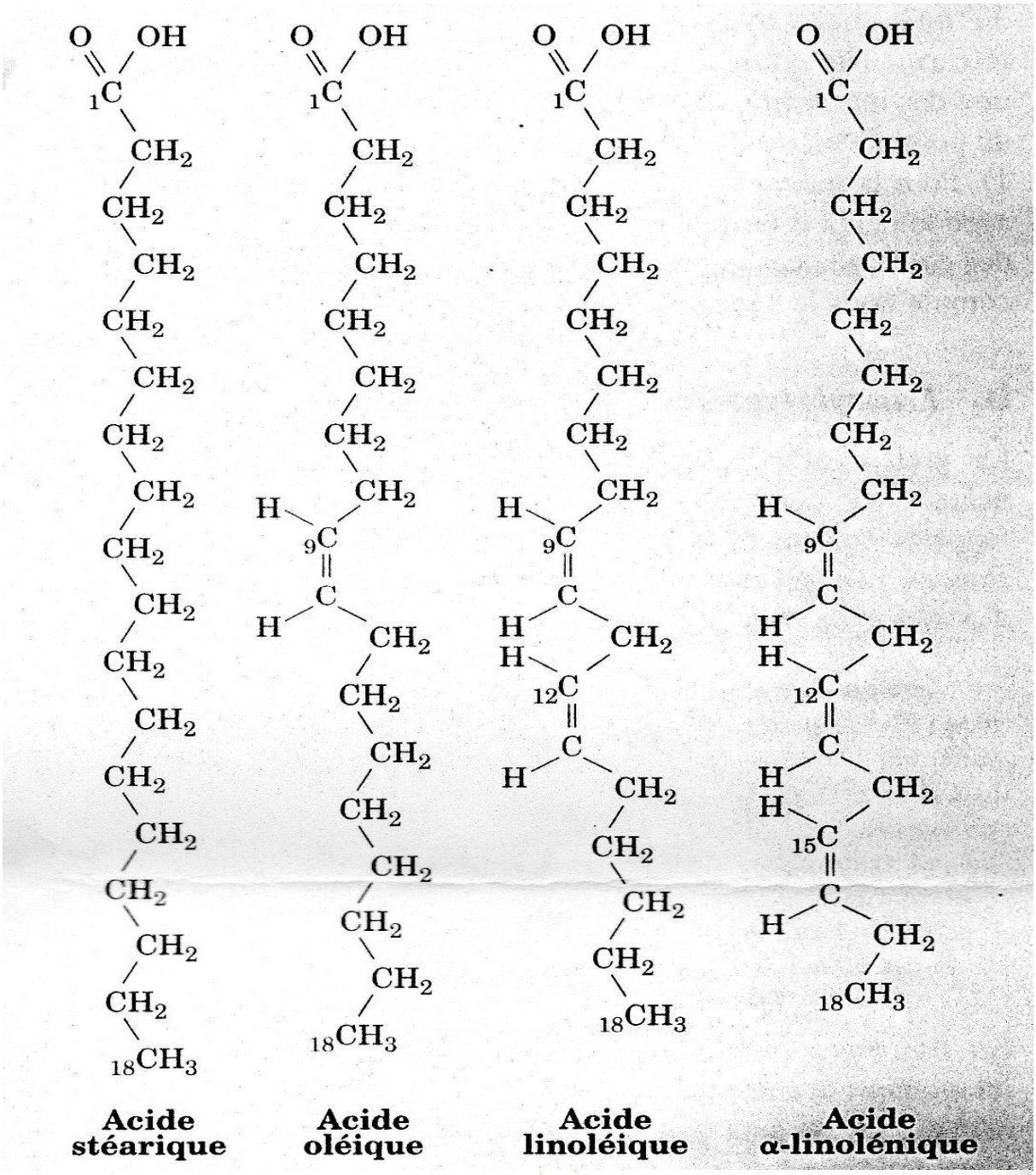
✓ **الأحماض المشبعة** مثل:

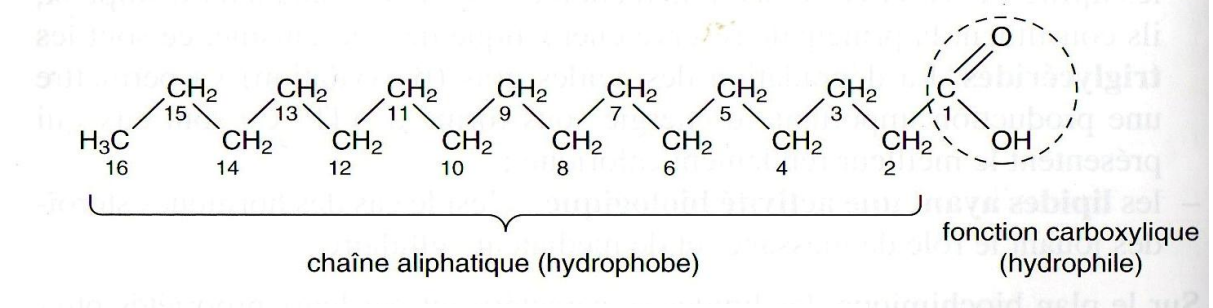
| | | |
|---|---|---|
| **C6 :0** | Acide hexanoïque | (Acide caproïque) |
| **C8 :0** | Acide octanoïque | (Acide caprylique) |
| **C10 :0** | Acide décanoïque | (Acide caprique) |
| **C12 :0** | Acide dodécanoïque | (Acide laurique) |
| **C14 :0** | Acide tétradécanoïque | (Acide myristique) |
| **C16 :0** | Acide hexadécanoïque | (Acide palmitique) |
| **C18 :0** | Acide octadécanoïque | (Acide stéarique) |
| **C20 :0** | Acide eicosanoïque | (Acide arachidique) |
| **C22 :0** | Acide docosanoïque | (Acide béhénique) |

| | | |
|---|---|---|
| **C24 :0** | Acide tétracosanoïque | (Acide lignocérique) |
| **C26 :0** | Acide hexacosanoïque | (Acide cérotique) |
| **C28 :0** | Acide octacosanoïque | (Acide montanique) |
| **C30 :0** | Acide triacontanoïque | (Acide mélissique) |

✓ **الأحماض غير المشبعة** مثل:

| | | |
|---|---|---|
| **C14 :1** | Acide 9-tétradécénoïque | (Acide myristoléique) |
| **C16 :1** | Acide 9-hexadécénoïque | (Acide palmitoléique) |
| **C18 :1** | Acide 9-octadécénoïque | (Acide oléique) |
| **C18 :2** | Acide 9,12-octadécadiénoïque | (Acide linoléique ) |
| **C18 :3** | Acide 9,12,15-octadécatriénoïque | (Acide α-linolénique) |
| **C20 :1** | Acide 9-eicosénoïque | (Acide gadoléique) |
| **C22 :1** | Acide 13-docosénoïque | (Acide érucique) |




**Acide palmitique (16 :0)**

**الشكل (02):** بنية بعض الأحماض الدهنية (Voet D. وVoet J.G.، 2005؛ Masson، 2007).

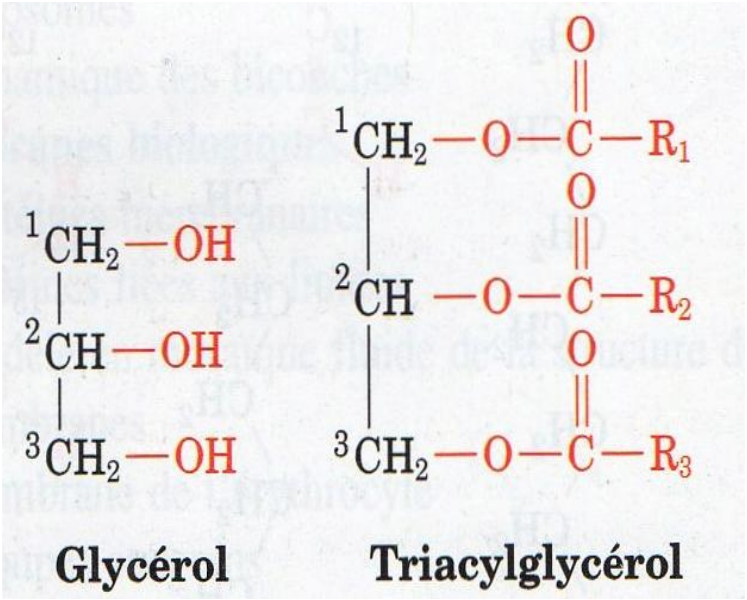
**3-2-3-2- الاحماض الدهنية الطيارة**

هي تلك الاحماض التي لها سلسلة كربونية جد قصيرة (2-4 ذرات كربون)، وبالتالي تمر بسهولة للطور الغازي، مثل حمض الخل Acide acétique (2:0) "acide éthanoïque"، حمض بروبيونيك Acide propionique (3:0) "acide propanoïque"، حمض البوتيريك Acide butyrique (4:0) "butanoïque acide" (Masson، 2007).

**3-3-2-3- الدهون الثلاثية**

هي استرات غليسيرول و ثلاثة أحماض دهنية كما هو مبين في الشكل **(03)**، أي أحماض كربوكسيلية أليفاتية مختلفة الطول، ذات عدد زوجي من ذرات الكربون (Bruneton، 1999).

تعتبر الدهـون الثلاثية مركـبات مهمة لأن الأحماض الدهنية توجد بشكل أساسي على هذا الشكـل في مختلف الأغـذية، وعلى هذا الشكـل تخـزن داخـل العضية وأحيانا تنقل على هـذه الهيئة في الدم كذلك (Masson، 2007).




**الشكل(03):** بنية الدهون الثلاثية (Triacylglycérol) Triglycérides ( Voet D. و Voet J.G.، 2005).

### 3-2-4- أكسدة الدهون

تعرف الدهون بأنها سريعة التلف بالحرارة، الماء، مختلف الميكروبات وبعض المعادن، كما تعتبر الزيوت الأكثر تعرضا للاكسدة أو ما يسمى بالتزنخ التأكسدي وهو نوعان:

- ✓ **التزنخ التحللي:** يلعب الماء دورا مهما فيه، حيث يعمل على تحليل جزيئات الدهن إلى أحماض دهنية وغليسرول
- ✓ **التزنخ التاكسدي:** يحدث نتيجة تفاعل الاكسجين عند مواضع الروابط المزدوجة للاحماض الدهنية غير المشبعة، حيث ينتج مركبات بروكسيدية (العكيدي، 2000).

### 3-2-5- التركيب الكيميائي لثمار و زيت الزيتون

تتكون ثمار الزيتون من الماء 40-45%، السكريات 10-20% ودهون 30-50% (Bruneton، 1999). كلما كانت ثمار الزيتون ناضجة كان محتواها من الزيت أكبر، ففي بداية تكون الثمار تكون كمية الزيت فيها حوالي 30% وترتفع مع نضجها إلى 60% من الوزن الجاف، على عكس السكريات التي تنخفض من30% في بداية تكوين الثمرة إلى 10% في الشهر الرابع من تكون الثمرة، في حين تحافظ البروتينات على نسبتها بـ 05% من الوزن الجاف (العكيدي، 2000).

أما زيت الزيتون فيتكون أساسا من أحماض دهنية مشبعة وغير مشبعة (Bruneton، 1999)، تختلف نسب هذه الأحماض الدهنية من زيت لآخر، فالأحماض الدهنية المشبعة تمثل 7-27% من مجموع الأحماض الدهنية، أما الأحماض الدهنية غير المشبعة الاحادية تمثل 55-73% بينما الأحماض الدهنية غير المشبعة المتعددة تمثل 3.5-22% (العكيدي، 2000). كما تتواجد هذه الأحماض الدهنية في زيت الزيتون بنسب مختلفة حسب المناطق ونوع الشجرة: Acide palmitique (7.5-20%)، Acide palmitoléique (< 3.5%)، Acide stearique (< 0.5-

Acide arachidique ،(%1.2>) linolénique ،(%20-3.5) linoléique ،(%85-56) acide oleique،(%5 (%0.7>) (Bruneton، 1999).

يمكن التفصيل في مكونات زيت الزيتون إذ يمكن القول بأنه يتكون بشكل رئيسي من دهون ثلاثية triacylglycérols أو triglycérides (~99%) "أو استرات احـماض دهنية وغليسيرول"، كما تسمى بالمواد القابلة للتصبن ثم في المرتبة الثانية وبكمية جد قليلة من الأحماض الدهنية الحرة، الدهون الأحادية والثنائية mono- et diacylglycérols ومركبات أخرى مثل الستيرولات، الكحولات الأليفاتية، بعض الأصباغ مثل الكلوروفيل والكاروتين التي تساهـم في تحـديد لون الزيت، مركبات طيارة تؤثر في الطعم والرائحة (Boskou، 2006) ومركبات فينولية تساهم كذلك في طعم الزيت واستقراره كمادة حافظة ضد الاكسدة (العكيدي، 2000).

تنقسم الزيوت النباتية التي يتم الحصول من بذور وثمار النباتات إلى:

1- **الزيوت الجافة:** تكون قيمة اليود فيها ما بين 130- 190 مثل زيت الكتان.

2- **الزيوت شبه الجافّة:** تكون قيمة اليود فيها ما بين 95-130 مثل زيت السمسم

3- **الزيوت غير الجافّة:** يكون مؤشر اليود فيها أقل من 95 مثل زيت الزيتون والفول السوداني، تتميز هذه الزيوت باحتوائها على نسبة عالية من الاحماض الدهنية غير المشبعة (Marcusson، 1929).

**3-2-6- الخصائص العلاجية لزيت الزيتون**

لزيت الزيتون فوائد صحية كثيرة أهمها:

1- يخفض نسبةالكليسترول في الدم

2- يخفض من احتمال الاصابة بتصلب الشرايين

3- يقلص من احتمال الاصابة بالنوبة القلبية والسكتة الدماغية

4- زيادة البروتينات الدهنية عالية الكثافة (HDL-chol) المفيدة للجسم، وتخفيض البروتينات الدهنية القليلة الكثافة (LDL-chol) الضارة للجسم (العكيدي، 2000).

5- يعالج بعض مشاكل الكبد حيث يعتبر منشطا للافرازات الصفراوية (Ali-Delille، 2013).

6- يستعمل لحفظ ومنع تساقط الشعر ومنع الشيب (العكيدي، 2000).

7- يعالج امراض اللثة والاورام والقروح وقروح المعدة والأمعاء (العكيدي، 2000).

**3-2-7- الخصائص الفيزيائية-الكيميائية للزيوت الثابتة**

إن تحديد جودة زيت الزيتون تتطلب استخدام أساليب تحليلية إختبارية، تقوم أساسا على القياس بالمعايرة؛ من بين الخصائص والمؤشرات الكيميائية التي يتم قياسها قيم الحموضة التي تظهر محتوى الأحماض الدهنية الحرة، البيروكسيد، اليود الذي يقيس محتوى الأحماض الدهنية غير مشبعة و التصبن الذي يقيس قدرة التشبع من مجموع الأحماض الدهنية الموجودة به إضافة إلى قياس الكثافة ( Flavia وآخرون، 2014).

**3-2-7- 1- الكثافة النسبية**

تتميز الزيوت بكثافة نسبية أقل من كثافة الماء وهذا ما يجعلها تطفو فوق سطح هذا الأخير (Masson، 2007)، وهذا ينطبق على زيت الزيتون، إذ أن كثافته تتراوح بين 0.910 و0.916 (العكيدي، 2000)

**3-2-7- 2- مؤشر الحموضة**

يعبر مؤشر الحموضة عن كمية هيدروكسيد البوتاسيوم KOH بالميليغرامات اللازمة لتعديل الأحماض الدهنية الحرة الموجودة في غرام واحد من المادة الدهنية المراد دراستها. نسبة الأحماض الدهنية الحرة متغيرة لأنها تتأثر بشدة وتتغير قيمتها بطريقة إنتاج الدهون وبحسب عمر الزيت وطريقة الحفظ (Bruneton، 1999؛ Masson، 2007؛ Marcusson، 1929).

**3-2-7- 3- مؤشر التصبن**

قيمة التصبين تعبر عن عدد المليغرامات اللازمة من هيدروكسيد البوتاسيوم KOH لتصبين كامل لـ 1غرام من المادة الدهنية المدروسة (Masson، 2007). مؤشر التصبن يقيس قدرة التشبع لمجموع الأحماض الدهنية الموجودة في العينة (Marcusson، 1929).

تنقسم الزيوت إلى ثلاثة أقسام حسب قيمة مؤشر التصبن:

*زيوت ذات مؤشر تصبن منخفض ما بين 171 -181 مثل زيت اللفت والعنب

*زيوت ذات رقم تصبن متوسط قريب من 193 وهو رقم معظم الزيوت والدهون.

*زيوت ذات رقم تصبن مرتفع 205-290، يرجع سبب ارتفاع هـذا الرقم إلى وجود كمية كبر ة من الأحماض الطيارة مثل زيت جوز الهند (Marcusson، 1929).

**3-2-7- 4- مؤشر اليود**

هو عدد غرامات اليود اللازمة لتشبع الروابط الزوجية الغير مشبعة في 100 غرام من مادة دهنية، أو أن مؤشر اليود يدل على محتوى الدهون من الأحماض الدهنية غير المشبعة (Masson، 2007؛ Marcusson، 1929). تعتبر قيمة مؤشر اليود مهمة جدا في تقسيم الزيوت النباتية إلى جافة وشبه جافة وغير جافة، فالزيوت الجافة تكون قيمة مؤشر اليود فيها ما بين 130- 200، أما الـــــزيوت الشبه جافة تكون قيمة مؤشر اليود فيها ما بين 95-130، في حين الزيوت غير الجافة يكون مؤشر اليود فيها أقل من 95، كما يساعد مؤشر اليود على تحديد زيوت الحيـوانات المائية والبرية فالأولى تكـون قيمة اليود فيها ما بين 100-170 بينما في الثانية تكون أقل من 80، كما تستعمل قيمة اليود في تقسيم الدهون الصلبة (Marcusson، 1929).

**3-2-7- 5- مؤشر البيروكسيد**

هو عدد الميليمكافئ من الاكسيجين المنشط لكمية البيروكسيد في 1000غ من المادة المدروسة، يتم التعبير في كثير من الأحيان بالميليمكافئ milliequivalents (Bruneton، 1999).

**3-2-8- طرق استخلاص الزيوت الثابتة**

تستخلص الزيوت الثابتة بطريقتين مختلفتين هما:

**3-2-8-1- العصر:** تعتبر هذه الطريقة من أقدم الطرق ومردودها أوفر. هذه الطريقة لها تقنيات مختلفة قديمة وحديثة، تقليدية ومتطورة.

**3-2-8-2- الاستخلاص بالمذيبات:** المذيب عادة هو الهكسان، معدّل استرجاع الزّيت يكون حوالي 95 إلى 99% (العكيدي، 2000).

**3-3- طرق تحليل الزيوت**

**3-3-1- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM)**

كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة من أبسط أنواع الكروماتوغرافيا، تكون المكونات المفصولة منتشرة بين الطور الثابت والمتحرك، الطور الثابت مشكل عادة من صفيحة (زجاجية، بلاستيكية أو من الألمنيوم) مغطاة بطبقة رقيقة من مادة ماصة (gel de silice أو gel de cellulose)، الطور المتحرك هو سائل مذيب للعينة المراد تحليل مكوناتها، حيث يهاجر هذا السائل على طول الطور الثابت و يجذب المكونات معه، تفصل وتنتشر المواد المكونة للعينة بفضل صعود الطور المتحرك على طول الطور الثابت، يعتمد فصل المكونات على درجة امتصاص الطور الثابت ونسبة ذوبان العينة في الطور المتحرك.

توضع السبيكة في حوض ذو غطاء بحيث يكون طرفها السفلي مغمور في المذيب "الطور المتحرك" من دون تلامس بين العينة المراد دراستها والمذيب، حيث يتحرك هذا الاخير تحت تأثير الخاصية الشعرية حاملا معه مكونات العينة المختلفة. يتم الكشف على الجزيئات المكونة للعينة إما بعرض الصفيحة تحت مصباح للأشعة فوق البنفسجية، أو برش ورذ مختلف الكواشف (Belhattab *in* Kamoun, 1977، 2005 ؛ Kamoun ، 1997و Douglas وآخرون، 2003 *in* دحية، 2007).

**3-3-2- كروماتوغرافا الغازية (CPG)**

هي طريقة للتحليل تعتمد على الفصل الذي يطبق على المركبات الطيارة أو القابلة لتكون طيارة بواسطة تحويل كيميائي سابق "التسخين" دون أن يؤدي ذلك إلى فسادها أو تفككها، وهي من الطرق الشائعة في تحليل الزيوت الأساسية. من مزايا هذه الطريقة أنها تتم في وقت قصير وذات نتائج موثوق فيها (Bruneton، 1999؛ Belhattab *in* Kamoun, 1977، 2005 )، كما أنها معروفة باحتوائها على كواشف التأين (FID) Flame "Ionisation Detectors".

يتميز هذا النمط من الكروماتوغرافيا بأن الطور المتحرك غاز يمكن أن يكون الهليوم، الآزوت أو الهيدروجين وغيرها حيث يسمى بالغاز الناقل. مبدأ عمل الكروماتوغرافيا الغازية يعتمد على فصل مختلف المحاليل المذابة الغازية بواسطة الهجرة التفاضلية على طول الطور الثابت، حسب الطور الثابت يوجد نمطان من الكروماتوغرافيا الغازية: كروماتوغرافيا غاز- صلب، الطور الثابت في هذه الحالة يكون صلب كالسليس "Silice" أو الألومين "Alumine"، والنمط الثاني هو كروماتوغرافيا غاز-سائل تدعى بالكروماتوغرافيا التوزيعية، الطور الثابت يكون سائل غير طيار (Desjobert وآخرون، 1997 *in* Bencheikh، 2005 ودحية، 2007).

في حالة الزيوت الثابتة لا تجرى التحاليل على الزيت إلا إذا حول إلى استرات مثيل الأحماض الدهنية، حيث تجرى للزيوت عملية أسترة (Bruneton، 1999).

### 3-3-3- كروماتوغرافيا السائلة CLG

تستعمل لتحليل المواد الطبيعية غير الطيارة وتلك التي تتأثر بالحرارة، يكون الطور الثابت فيها مكونا من جزيئات دقيقة، قد يصل قطر الواحدة منها 5 ميكرومتر، محشوة في عمود مغلق، تحقن كمية جد صغيرة من العينة المراد تحليلها (بالميكرولتر) في المحلول وتحت الضغط. بعد فصل المكونات يتم الكشف عنها في مخرج العمود بواسطة جهاز يقوم بمعالجة المعطيات (Audigie وآخرون، 0995 *in* دحية، 2007).

### 3-3-4- الدمج بين كروماتوغرافيا الغازية والمطيافية الكتلية CPG/SM

مبدأ عمل هذه الطريقة هو نقل المكونات المفصولة باستعمال الكروماتوغرافيا الغازية بواسطة الغاز الناقل إلى جهاز المطيافية الكتلية، هناك يتم تجزئة وتفكيك مكونات العينة إلى أيونات ذات كتل مختلفة، عملية الفصل تتم حسب كتلها، التعرف على المكونات يتم بواسطة مقارنة الأطياف الكتلية المتحصل عليها بأخرى معروفة ومعدة سابقا "بنوك المعلومات" (Desjobert وآخرون، 1997 Bencheikh *in*، 2005 و دحية، 2007).

# الجزء التطبيقي

# الأدوات والطرق المستعملة

## 1- الأدوات والطرق المستعملة

### 1-1- الأدوات

#### 1-1-1- المادة النباتية

تمت الدراسة على ثلاث عينات من زيت الزيتون .*Olea europea* L المستخلصة من ثمار شجرة الزيتون (الشكل 04، 05) بطريقة تقليدية و مخزنة في درجة حرارة الغرفة وفي مكان مظلم لفترات مختلفة من الزمن وهي كالآتي: عينة مخزنة لمدة سنة، عينة ثانية مخزنة لمدة اثني عشر عاما و عينة ثالثة مخزنة لمدة ثلاثة وثلاثين عاما. تم الحصول عليها من نفس المزرعة "نفس الأشجار" شمال ولاية سطيف.

كما تم جمع عينات من الأجزاء الهوائية لنفس النيات الزيتون .*Olea europea* L "أوراق + أزهار" في فصل الربيع من منطقة شمال ولاية سطيف، إضافة إلى ذلك نبتة أخرى ثانية من جنس *Mentha* هي النعناع المائي .*Mentha aquatica* L (الشكل 06) تم الحصول عليها "الأجزاء الهوائية" وهي في مرحلة الإزهار عن طريق العشابين، تـمّ التّعرّف على العيّنتين النّباتيّتين بمختبر تثمين الموارد الطبيعية، جامعة سطيف1، أجريت عملية التجفيف في الظل بطريقة طبيعية في درجة حرارة الغرفة، ثم جزئت العينات إلى قطع صغيرة.

الشكل (04):شجرة الزيتون

الشكل (05): أغصان مزهرة ومثمرة لشجرة الزيتون

**الشكل (06): نبات *Mentha aquatica* L.**

### 1-2-2- السلالات البكتيرية

لدراسة النشاطية ضد البكتيرية للعينات الزيتية استعملت ستة سلالات بكتيرية مجلوبة من المستشفى الجامعي بسطيف ومخبر الميكروبيولوجيا التطبيقية بجامعة سطيف1 ويتعلّق الأمر بـــ:

*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853,
*klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923,
*Citrobacter freundii* ATCC 8090

و*Schigella sonnei* (تم عزلها سريريا من المرضى)

### 1-2-3- أوساط الزرع و المضادات الحيوية

من أجل اختبار النشاطية ضد البكتيرية استعمل وسطان للزّرع هما:

1. وسط MH-Meuller Hinton
2. المرق المغذي "Bouillon nutritif"

مكونات الوسطين مذكورة في الملحق رقم **(02)**.

أما بالنسبة للمضادات الحيوية تم استعمال Gentamicine (GM) (30µg).

### 1-2-4- المذيبات والمحاليل

لدراسة النشاطية ضد البكتيرية للزيوت تم استخدام المذيبين: الديمثيل سلفوكسيد Dimethyk sulfoxide (DMSO)و الهكسان Hexane.

أما لحساب مؤشر اليود، الحموضة، البيروكسيد والتصبن تم استعمال المحاليل التالية: رابع كلوريد الكربون $CCL_4$، هيدروكسيد البوتاسيوم Hydroxyde de potassium، إيثانول Ethanol، كاشف فينولفتاليين Phénolphtaléine، الهكسان Hexane، حمض كلور الهيدروجين Acide chlorhydrique، ايودات البوتاسيوم Iodate de potassium، ثيو كبريتات الصوديوم $Na_2S_2O_3$، محلول هانوس IBr Hanus.

## 2-1- طرق العمل

### 1-2-1- استخلاص الزيوت الأساسية

تم الحصول على زيت الزيتون –حسب المصدر- باستعمال الطريقة التقليدية " الطحن، العجن والعصر"، أما الأجزاء الهوائية لنباتي *Olea europea* L. و *Mentha aquatica* L. المجففة في الظل و المقطعة إلى قطع صغيرة فقد تم استخلاص الزيوت الأساسية منها باستعمال طريقة التقطير المائي بواسطة جهاز كليفنجر (Clevenger) كما هو موضح في الشكل (07).

يعتمد التقطير المائي على قدرة بخار الماء على حمل الزيت الأساسي للنبات، حيث توضع كمية من النبات في الماء المقطر الذي يكون داخل دورق زجاجي سعته 05 لتر على أن لا يملأ هذا الأخير كليا (يملأ ثلثان من حجم الدّورق على الأكثر) قصد تجنب تجاوز ساحة الغليان وفوران الخليط.

بعد الغليان تحت تأثير منبع حراري يتشبع بخار الماء بالزيت الأساسي للنبتة فينقل معه عبر أنبوبة عمودية متصلة بجهاز تبريد أين تحدث عملية تكثف للبخار وتتكون القطيرات الصغيرة التي تتراكم بأنبوبة بها ماء مقطر، و بسبب الفرق الموجود بين كثافة الماء المقطر والزيت الأساسي يبقى الزّيت طافيا فوق سطح الماء المقطر الذي يكون إلى الأسفل، عملية التقطير تستغرق مدة ثلاث ساعات بعد الغلي.

يجمع الزيت الأساسي المتكون في قارورة زجاجية مغلقة بإحكام ومعتمة، يمكن التخلص من الماء الذي يمكن أن يبقى في أسفل القارورة بواسطة سولفات الصوديوم، تحفظ القارورة بعيدا عن الضوء وفي درجة حرارة ما بين 4- 6 مْ.

**الشكل (07):** جهاز التقطير Clevenger

**1-2-2- تحليل محتوى الزيوت الثابتة من الأحماض الدهنية:**

عملية تحليل مكونات الزيوت الثابتة من الأحماض الدهنية تمت بعد أسترة و تحويل الدهون الثلاثية إلى أحماض استيرات المثيل باستعمال الميثانول في محلول مثيلات الصوديوم méthylate de sodium.

تمت التحاليل لاستيرات المثيل المذابة في الهكسان باستعمال كروماتوغرافيا الطور الغازي مدمجة مع المطيافية الكتلية " GC-MS" باستعمال جهاز "Clarus 600 C MS ". من أهمّ شروط العمل:

-الكروماتوغرافيا مزودة بأنبوب شعري BPX-70 أبعاده 30 مم، قطره الداخلي 0.25مم، الطّور الثّابت سمك طبقته الداخلية 0.25 ميكرومتر".

-الغاز الناقل هو الهيليوم بسرعة تدفق مقدارها 0.75 مللتر/دقيقة.

-حجم العينة 0.5 ميكرولتر، مذابة في الهكسان 1:40 ح/ح

- درجة حرارة الحقن 230 ْم.

- درجة الحرارة الابتدائية 100 ْم لمدة دقيقتين، ثم ترفع بالتدريج حتى بمعدل 05 ْم في كل دقيقة ثم تثبت لمدة 10 دقائق في درجة حرارة 185 ْم. التقدير الكمي تم اعتمادا على نتائج كاشف التأين باللهب (230 ْم).

تحديد أستيرات المثيل تم إعتمادا على نتائج المطيافية الكتلية، ترفع درجة الحرارة من 180 ْم حتى 200 ْم، التوتر الأيوني 70 الكتروفولط.

**1-2-3- تحليل الزيوت الأساسية:**

عملية تحليل الزيوت الأساسية لنباتي *Olea europea* و*Mentha aquatica* أجريت بواسطة كروماتوغرافيا الطور الغازي(CG)و كروماتوغرافيا الطور الغازي المدمج بالمطيافية الكتلية CG/SM. تم التعرف على مكونات الزيوت الأساسية باستعمال طريقة المقارنة، حيث يتم مقارنة الأطياف الكتلية ومعاملات احتباسها مع مثيلاتها من الأطياف الكتلية ومعاملات الاحتباس المعدّة سابقا والمعترف بها في المكتبة العلمية (البنوك العلمية).

تم استخدام كروماتوغرافيا الطور الغازي Hewlett-Packard HP 7890 المدمجة مع المطيافية الكتلية صنف HP 5975. الكروماتوغرافيا مزودة بأنبوب شعري أبعاده 30م، قطره الداخلي 0.25مم، سمك طبقته الداخلية 0.25 ميكرومتر"، متصلة بجهاز المطيافية الكتلية المذكور سابقا. أهمّ شروط العمل:

-الغاز الناقل هو الهيليوم بتدفق مقداره 01 مللتر/دقيقة.

- درجة الحرارة ترفع درجة الحرارة في مدة خمسة دقائق لتصل 50 °م، ثم بالتدريج من 50 °م حتى 300 °م حيث ترفع بـ 05 °م في كل دقيقة ثم تثبت لمدة 05 دقائق في درجة حرارة 300 °م. شروط العمل:

- طاقة التأين 70 الكتروفولط

- درجة حرارة الحقن 250 °م.

- درجة حرارة الكاشف 280 °م.

تمت التحاليل باستعمال كروماتوغرافيا الطور الغازي (CG) صنف Hewlett-Packard HP 6890 مزودة بكاشف تأين باللهب. تمت عملية التحليل في الظروف التجريبية التالية: أنبوب شعري أبعاده 30 م، قطره الداخلي 0.25مم، سمك طبقته الداخلية 0.25 ميكرومتر"، مجهزة بكاشف تأين باللهب (FID)

-الغاز الناقل هو الهيدروجين بتدفق مقداره 01 مللتر/دقيقة.

- درجة حرارة الحقن 280 ْم.

- درجة حرارة الكاشف 300 ْم.

- ترفع درجة الحرارة في مدة خمسة دقائق لتصل 50 ْم، ثم بالتدريج من 50 ْم حتى 300ْم حيث ترفع بـ 05 ْم في كل دقيقة ثم تثبت لمدة 05 دقائق في درجة حرارة 300 ْم.

**1-2-4- الخصائص الفيزيائية-الكيميائية للزيوت الثابتة**

**1-4-2-1- حساب الكثافة النسبية**

تم حساب الكثافة النسبية بمخبر مراقبة الجودة والنوعية بإتباع نموذج **"المدونة الجزائرية 1995"**. الكثافة النسبية عند درجة حرارة 20 ْم لزيت أو دهن هو حاصل الكتلة "في الجو" لحجم معين لهذا الزيت أو الدهن في درجة الحرارة معينة على كتلة نفس الحجم من الماء في نفس درجة الحرارة.

**الكثافة النسبية عند درجة حرارة 20 ْم تساوي:**

$$D = \frac{m_2}{m_1[1 + \alpha + (t - 20)]}$$

$m_2$: كتلة الزيت أو المادة الدهنية المستعملة للاختبار بالغرام

$m_1$: كتلة الماء المستعمل في اختبار المعايرة بالغرام

t: درجة حرارة الغرفة أو المحيط

α: هو معامل التمدد المكعبي للزجاج في درجة حرارة معينة، وهو يساوي :

0.00003: بالنسبة للزجاج العادي

0.00001 : بالنسبة لزجاج البورسيليكات "Verre au Borosilicate".

## ❖ طريقة العمل

تحضر حوجلة الكثافة النسبية زجاجية « Pycnomètre » سعتها 25 مل "الشكل (08)" تكون نظيفة وجافة توزن وهي فارغة ثم تملأ بالماء المقطر ذو درجة حرارة 20 ْم "بوضعها في حمام مائي"، تترك لبعض اللحظات ثم توزن، تكرر العملية بملأ قنينة الكثافة النسبية بالزيت مع قياس درجة حرارته و وزنها. في الأخير تجرى العملية الحسابية المذكورة سابقا.

**الشكل (08)** : حوجلة الكثافة النسبية "Pycnomètre"

### 1-2-4-2- حساب مؤشر الحموضة

تم اجراء التحاليلو حساب مؤشر كل من الحموضة، التصبن والبيروكسيد بمخبر تحليل المستخلصات النباتية والمعطرات **"Lexva Analytique"** بفرنسا.

أجريت عملية حساب مؤشر الحموضة حسب معيار (NF EN ISO 660 de Juillet 1999).

مؤشر الحموضة هو عدد الغرامات اللازمة من هيدروكسيد البوتاسيوم (KOH) لمعادلة الأحماض الحرة الموجودة في 01 غرام من المادة المختبرة.

❖ **المحاليل المستعملة**

-هيدروكسيد البوتاسيوم KOH عياريته N 0.1

-ايثانول 96%

-كاشف ملون Phénolphtaléine 01% في الايثانول

❖ **تحضير العينة وعينة التجربة المقارنة "الشاهد"**

في دورق مخروطي "Erlen" توضع العينة المراد دراستها (من 3 إلى 7 غرامات) تضاف إليها 80 مل من الإيثانول وبعض القطرات من الفينولفتاليين Phénolphtaléine "كاشف ملون" ثم تجرى عملية المعايرة بمحلول KOH. بنفس الطريقة تحضر العينة الشاهد لكن بدون استعمال العينة الزيتية.

تم حساب مؤشر الحموضة وفق المعادلة التالية:

$$IA = V_e \times [KOH] \times \frac{56.11}{m_e}$$

$V_e$: حجم محلول المعايرة الذي تم استعماله KOH (مل)

[KOH] : تركيز محلول المعايرة (مول\ل) أو عياريته

$m_e$: كتلة العينة الزيتية بالغرام

56.1 : الكتلة الجزيئية لـ KOH

**1-2-4-3- حساب مؤشر التصبن**

لإيجاد قيمة مؤشر التصبن استعمل معيار (NF ISO 3657 de Février 1990.).

مؤشر التصبن هو عدد الميليغرامات اللازمة من هيدروكسيد البوتاسيوم لمعايرة الفائض من الأحماض الدهنية الناتجة من تحلل 01 غ من المادة الدهنية.

❖ **المحاليل المستعملة**

- هيدروكسيد البوتاسيوم KOH عياريته N 0.5
- حمض كلوريد الهيدروجين HCL عياريته N 0.5
- كاشف ملون Phénolphtaléine 01% في الايثانول

❖ **طريقة العمل**

توضع عينات من الزيت في أنبوب اختبار بكميات مختلفة (بالغرام) ثم تضاف إليها بدقة 25 ملل من محلول KOH المحضر سابقا. ثم توضع تحت منبع حراري مع التحريك لمدة ساعة من الزمن ثم يضاف إليها قطرتين أو ثلاث قطرات من المحلول الكاشف فينولفتاليين « phénolphtaléine » ثم تجرى المعايرة مع التسخين بمحلول كلوريد الهيدروجين (HCl 0.5N)، كما تحضر العينة الشاهد بنفس الطريقة بدون وضع عينة الزيت.

تم حسب مؤشر التصبن وفق المعادلة التالية

$$\text{IS} : \frac{28.05\times(V1-V2)}{PE}$$

***PE***: كتلة عينة الاختبار (الزيت) بالغرام

***V1:*** حجم محلول HCl 0.5N المستعمل في التجربة الشاهد.

***V2***: حجم HCl 0.5N المضاف للمعايرة "الحجم اللازم لتعديل المحلول الصابوني".

**1-2-4-4- حساب مؤشر البيروكسيد**

تم حساب مؤشر البيروكسيد حسب معيار (NF ISO 3960 de Juin 2010).

❖ **المحاليل المستعملة**

- ايوديد البوتاسيوم Iodure de potassuim KI
- محلول النشاء
- محلول ثيوسلفات الصوديوم $Na_2S_2O_3$ Thiosulfate de sodium (0.01 N)
- خليط من 10 مل iso-hexane و15 مل من acide acétique

❖ **تحضير العينة وعينة التجربة المقارنة "الشاهد"**

نحضر من 3- 7غ من العينة الزيتية، نضيف لها 50 ملل من مزيج إزوهكسان/حمض الخل iso-hexane/acide acétique"، نضيف لها القليل من KI ثم يحرك المزيج لمدة 60 ثانية، نضيف بسرعة 100ملل من الماء المقطر لتوقيف التفاعل، نضيف كاشف ملون "محلول النشاء"، في الأخير يعاير المزيج بمحلول ثيوكبريتات الصوديوم « thiosulfate de sodium 0.01 N » حتى يختفي اللون البنفسجي. تحضر عينة شاهد "التجربة المقارنة" بنفس الطريقة والشروط ولكن بدون وضع عينة الزيت.

تم حساب مؤشر البيروكسيد وفق المعادلة:

$$IP = 80 \times \frac{v2 - v0}{m2} \times \frac{[Na2S2O3]}{0.01}$$

$V_0$: حجم ثيوكبريتات الصوديوم $Na_2S_2O_3$ المستعمل في التجربة الشاهد (مول)

$V_2$ :حم ثيوكبريتات الصوديوم $Na_2S_2O_3$ المستعمل في المعايرة (مول)

$m_2$: كتلة العينة الزيتية بالغرام

**1-2-4-5- حساب مؤشر اليود**

❖ **المحاليل المستعملة**

- ايوديد البوتاسيوم Iodure de potassuim KI بتركيز 2 غ/100مل
- محلول النشاء بتركيز 1 غ/100مل
- محلول ثيوسلفات الصوديوم $Na_2S_2O_3$ Thiosulfate de sodium (0.05 N)
- رابع كلوريد الكربون $CCl_4$
- محلول هانوس Hanus وهو أحادي البرومير IBr

❖ **تحضير العينة وعينة التجربة المقارنة "الشاهد"**

حساب قيمة مؤشر اليود تمت باستعمال طريقة هانوس Hanus (Flavia وآخرون، 2014) حيث توضع في دورق حوالي 0.02 غرام من المادة الزيتية مذابة في 01 مل من رابع كلوريد الكربون $CCl_4$ و2 مل من محلول هانوس Hanus ثم يغلق الدورق باحكام بعد الخلط الجيد للمحاليل ويوضع في الظلام لمدة نصف

ساعة، خلال هذه المدة يضم اليود على الرابطة المزدوجة في الأحماض الدهنية غير المشبعة. بعد نصف ساعة يضاف للدورق 10 مل من محلول أيوديد البوتاسيوم KI بتركيز (200غ/ل) و01 مل من محلول النشاء بتركيز (01غ\100مل). يغلق الدورق بإحكام ويرج جيدا ثم يعاير المحلول بثيو كبريتات الصوديوم $Na_2S_2O_3$ حتى يختفي اللون البنفسجي. تحضر نفس التجربة بنفس الخطوات لكن بدون المادة الدهنية كتجربة شاهد.

قيمة مؤشر اليود من أجل 100غ من المادة الدهنية تحسب بالمعادلة:

$$I = \frac{(V1 - V2) \times 0.00635 \times 100}{P} \text{ mg } I_2/g$$

**ثابت المعايرة** = كتلة اليود × 0.05 (N)\2 × 1000 = 0.00635

**P**: كمية الحمض الدهني المستخدمة بالغرام.

**V1**: حجم $Na_2S_2O_3$ المستخدم لمعايرة الشاهد أي معايرة اليود الكلي.

**V2**: حجم $Na_2S_2O_3$ المستخدم لمعايرة الأحماض الدهنية "أي معايرة اليود الفائض الذي لم يضم للروابط المزدوجة".

**1-2-4-6- قياس pH العينات الزيتية الثابتة**

تم قياس pH للعينات الزيتية الثلاثة باستعمال جهاز pH-mètre

### 1-2-5- اختبار النشاطية ضد البكتيرية للمستخلصات الزيتية

تم اختبار النشاطية ضد البكتيرية لكل العينات باستعمال طريقة التماس المباشر و الانتشار على وسط صلب "Technique de diffusion" (Rahal، 2005).

لإجراء هذا الاختبار يستعمل وسط الزرع Mueller-Hinton، مع جميع الانواع السلالات البكتيرية المختبرة يصب الوسط في أطباق بتري ذات قطر09 سم بسمك 04 ملم أي بمعدل 20 مل في كل طبق بيتري، ثم تترك حتى تتصلب وتجفيفها من بقايا الماء ليتم الزرع عليها.

يتم تحضير اللقاح أو المعلق البكتيري انطلاقا من مزرعة بكتيرية حديثة عمرها بين 18 إلى 24 ساعة في ماء فيزيولوجي معقم، ثم تضبط العكارة على 0,5 Mc Farland (ما يعادل $10^8$ وحدات مشكلة لمستعمرات بكتيرية CFU/ ml) أو بقياس الكثافة الضوئية للمعلق في طول الموجة 625 نانومتر و ضبطها بين 0,08 و0,1، كما يجب أن يستعمل هذا اللقاح خلال 15 دقيقة الاولى من تحضيره لتفادي زيادة نمو البكتيريا.

يغمس ماسح قطني معقم (Ecouvillon) في المعلق البكتيري ثم يمسح به على كامل وسط الزرع الصلب بشكل خطوط متلاصقة مع تكرار العملية ثلاث مرات وذلك بتدوير الطبق 60° في كل مرة، يتم تشبيع الأقراص المعقمة، ذات القطر 06 ميليمتر بـ 10 ميكرولتر من المستخلصات الزيتية النباتية المخففة في المذيب إلى تراكيز مختلفة (1\1، 2\1، 5\1، و10\1 ح\ح) أي ما يعادل 100 %، 50 %، 20 % ، 10 % على التوالي، ثم توضع على وسط الزرع. تحضر أقراص مشبعة بـ 10 ميكرولتر من المادة المذيبة للمستخلصات الزيتية النباتية الهكسان « Hexane » بالنسبة للزيوت الثابتة و«DMSO» بالنسبة للزيت الأساسي" وقرص آخر فارغ كشاهد للتأكد ما إذا كان لها نشاطية أو تأثير على نمو السلالات البكتيرية المدروسة، كما تم استعمال المضاد الحيوي Gentamicine (GM) (30µg) كشاهد إيجاب للمقارنة.

ذكر Duraffourd وآخرون، 1990 أن حساسية سلالة ما منعدمة إذا كان قطر التثبيط أقل أو يساوي 08 ملم، وتكون محدودة أو ضعيفة عندما يتراوح قطر التثبيط بين 08- 14 ملم، بينما تكون متوسطة عند قطر تثبيط يتراوح بين 14- 20 ملم لكنها تكون حساسة عندما يكون قطر التثبيط أكبر من 20 ملم.

من أجل تحديد نوعية تأثير الزيت (تثبيط أو مبيد) نقوم بتمرير أو مسح بماصة باستور معقمة ثم ندخلها في أنبوب اختبار به سائل مغذي ثم تحضن هذه الأنابيب هي الأخرى في حاضنة درجة حرارتها 37°م لمدة 18-24 ساعة ، فإذا تعكر محتوى الأنابيب هذا يعني أن نوع التأثير تثبيطي أما إذا لم يتعكر فالتأثير قاتل أو مبيد.

# النتائج والمناقشة

## 2- النتائج والمناقشة

### 2-1- استخلاص الزيوت

#### 2-1-1- استخلاص الزيوت الثابتة

تم استخلاص زيت الزيتون "العينات 01، 02 و03" -حسب المصدر- باستعمال الطريقة التقليدية أي الطحن والعصر، هذه العينات ذات خصائص فيزيائية مميزة فالعينة الأولى "المخزنة لمدة سنة" كانت ذات لون أخضر مصفر وبرائحة الزيتون المعروفة، أما العينة الثانية "مخزنة لمدة 12 سنة" كانت ذات لون أخضر مصفر جد فاتح وذات رائحة زبدية قوية "Forte odeur butyrique" لكن العينة الثالثة "مخزنة لمدة 33 سنة" كانت بيضاء تميل إلى الشفافة "باهتة" برائحة الزنخ جد قوية "Très rance odeur"، إضافة إلى أنها تكون نصف سائلة "أقل ميوعة".

#### 2-1-2- استخلاص الزيوت الأساسية

نتج عن عملية استخلاص الزيوت الطيارة من الأجزاء الهوائية لنبات الزيتون التي استغرقت ثلاث ساعات زيت أساسي ذو لون أصفر جد فاتح بمردود يساوي 0,01 %.

في دراسة Haloui وآخرون، (2010) للزيت الأساسي لنبات *Olea europea* في تونس كان المردود أقل إذ قدر بـ (0.05%)، في حين وجد Brahmi وآخرون، (2012) نتائج متباينة لمردود استخلاص الزيوت الاساسية من ثلاثة أصناف مختلفة للأوراق الغضة "0.07، 0.15 و0.16 %"، أما نفس الأوراق المجففة فكان المردود يتراوح بين 0.1، 0.22 و0.23% على التوالي، تظهر هذه النتائج اختلاف واضح في المردود المتحصل عليه من منطقة إلى أخرى، قد يعود السبب للعوامل البيئية من مناخ وتربة أو لأسباب أخرى متعلقة بظروف عملية الاستخلاص.

أما عملية استخلاص الزيوت الاساسية من الأجزاء الهوائية لنبات *Mentha aquatica* التي استغرقت كذلك ثلاثة ساعات، تم الحصول اثرها على زيت أساسي أصفر مخضر فاتح اللون بمردود يعادل 0.98 %.

من خلال دراسات سابقة يلاحظ تباين في المردود المتحصل عليه من استخلاص الزيوت الأساسية لنباتات من جنس *Mentha*، إذ تحصل Benayad وآخرون، (2007) عند استخلاصهم للزيت الأساسي لـ *Mentha pulegium* على مردود أكبر يعادل 2,33 %، بينما كان مردود الزيت الأساسي لـ *Mentha aquatica* L. في الدراسة الحالية أكبر من ذاك الذي تحصل عليه Mahboubi وآخرون، (2008) الذي قدر بـ 0,27 %. استنتج Brada وآخرون، (2007) عند استخلاصه بالتقطير المائي للزيت الأساسي لنوع آخر من جنس *Mentha* "*Mentha rotundifolia*" أن المردود يختلف حسب الفترة جني النبات وأن أفضل مردود كان في فترة الإزهار. في دراسة لمردود ومكونات النوع *Mentha pulegium* وجدت Karray-Bouraoui وآخرون، (2009) أن استخلاص الزيت الأساسي بالمذيبات العضوية "diethyl-ether" كان المردود جد ضعيف يساوي 0.04 %.

هناك الكثير من العوامل التي تؤثر على محتوى النبات من المواد الفعالة مثل العوامل البيئية، العضو النباتي المستخدم، وقت جني النبات وعمر النبات وطريقة الاستخلاص (Rubin، 2004؛ Lamendin وآخرون، 2004).

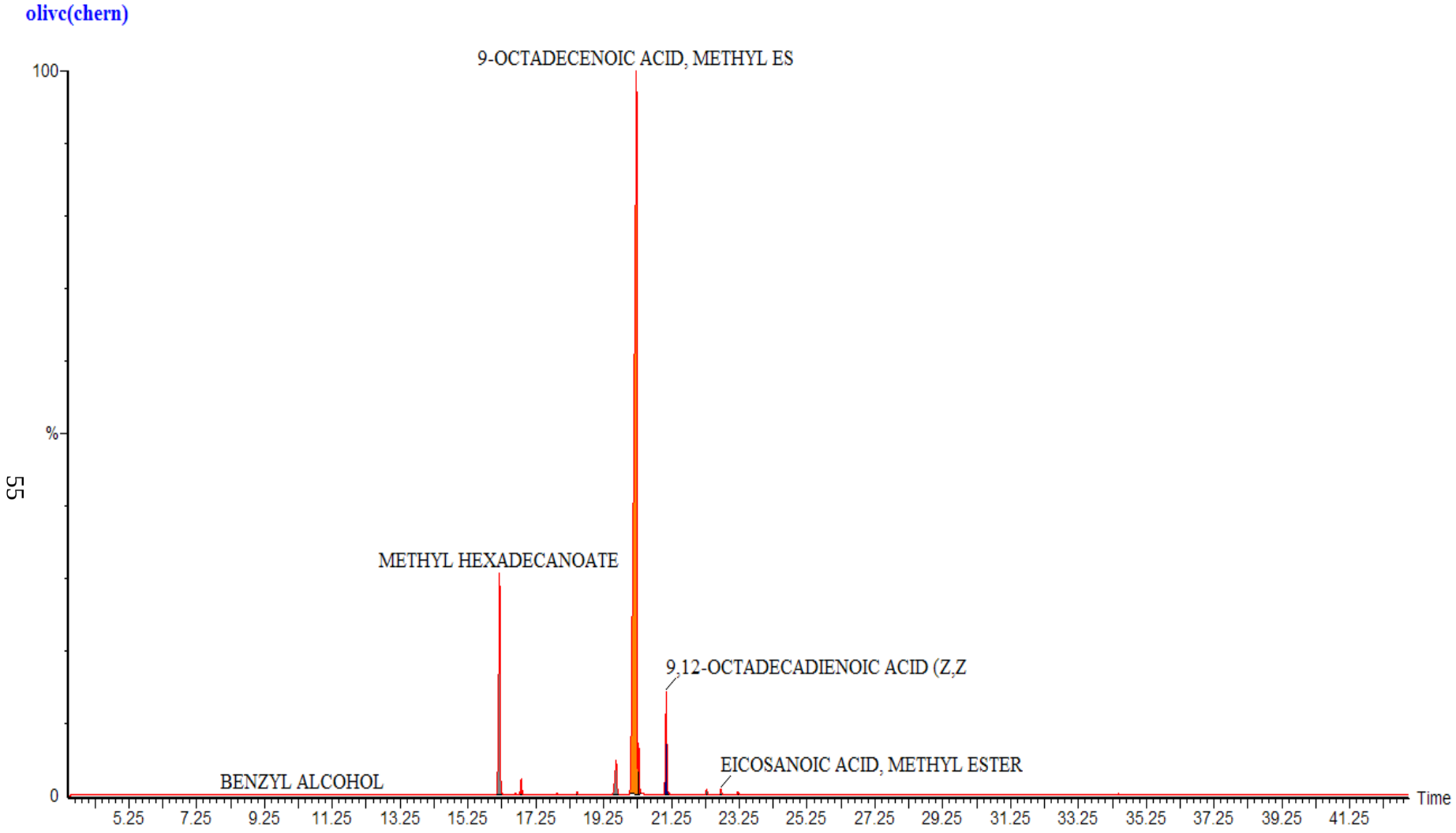
## 2-2- التحليل الكيميائي للزيوت

### 2-2-1- التحليل الكيميائي للزيوت الثابتة

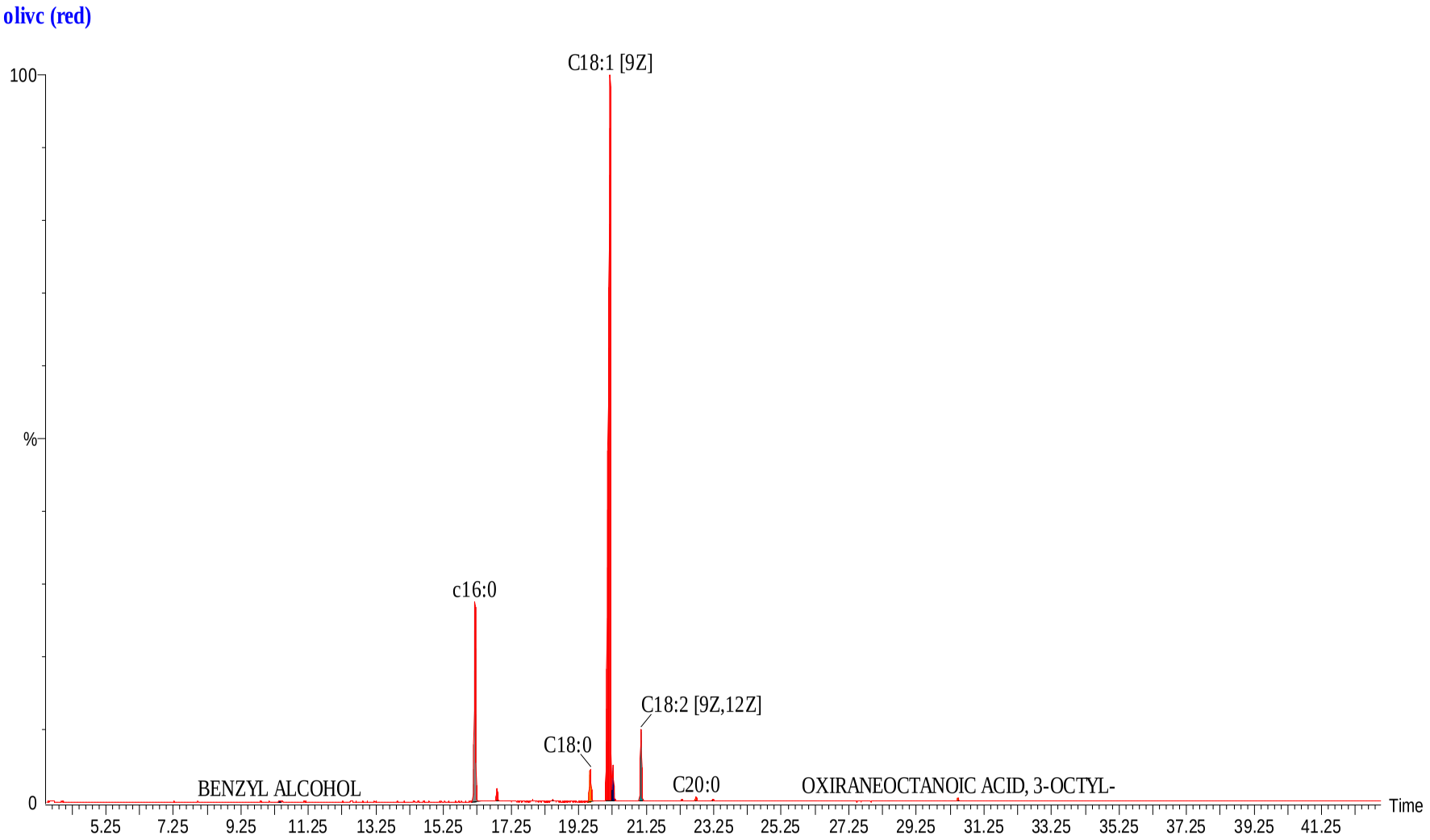
التحليل الكيميائي للعينات الزيتية 01، 02 و03 باستعمال الكروماتوغرافيا الغازية المدمجة مع المطيافية الكتلية GPC-MS سمح بتحديد 16، 18 و 30 مركبا بالترتيب، النتائج مدونة في الجدول (01) والأشكال (09، 10 و11) تمثل المنحنى الكروماتوغرافي للعينات المذكورة على التوالي، أما المطيافية الكتلية لبعض المركبات الكيميائية فهي مدرجة في الملحق (01).

**الجدول (01):** المركبات الدهنية المكونة للزيوت الثابتة 01، 02 و03 .

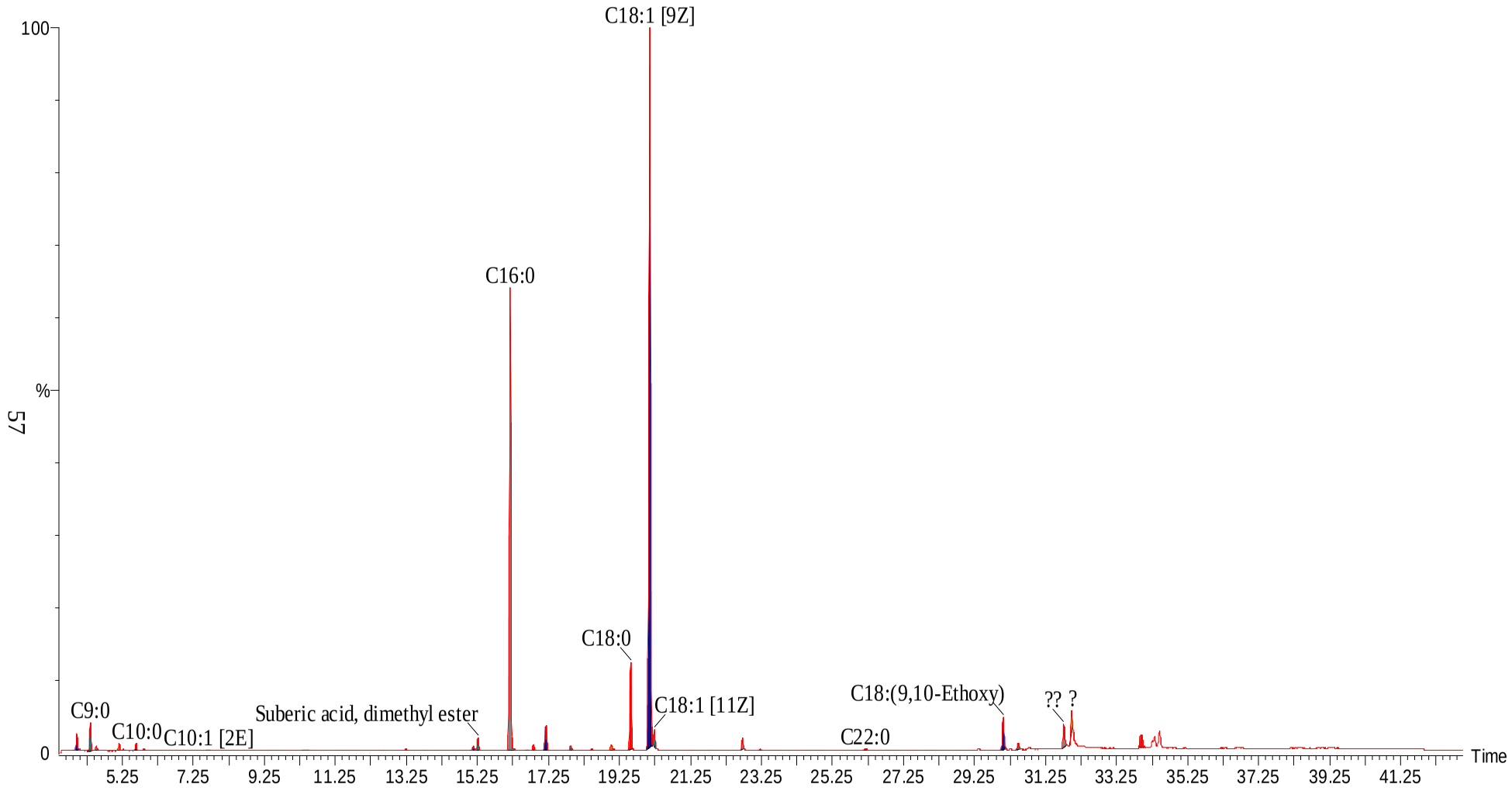
| الرقم | المركبات | الصيغة الكيميائية | العينة1 (%) | العينة 2 (%) | العينة 3 (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Benzyl alcohol | C7H8O | 0,01 | 0,01 | 0,09 |
| 2 | Myristic acid, methyl ester | C14:0 | 0,01 | 0,01 | 0,02 |
| 3 | Palmitic acid, methyl ester | C16:0 | **12,59** | **13,32** | **29,22** |
| 4 | 7-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)- | C16:1 [7Z] | 0,06 | 0,06 | 0,04 |
| 5 | Palmitoleic acid, methyl ester | C16:1 [9Z] | 0,78 | 0,78 | 0,39 |
| 6 | Margaric acid methyl ester | C17:0 | 0,09 | 0,08 | 0,31 |
| 7 | Cyclopropaneoctanoic acid, 2-hexyl-, methyl ester | C18H34O2 | 0,14 | 0,10 | 0,09 |
| 8 | Stearic acid, methyl ester | C18:0 | **2,61** | **2,67** | **5,57** |
| 9 | Oleic acid, methyl ester | C18:1 [9Z] | **75,36** | **75,48** | **48,31** |
| 10 | cis-Vaccenic acid methyl ester | C18:1 [12Z] | 2,13 | 2,10 | 0,87 |
| 11 | Linoleic acid Methyl ester | C18:2 [9Z,12Z] | **5,37** | **4,50** | - |
| 12 | Linolenic acid Methyl ester | C18:3 [9,12/15] | 0,30 | 0,10 | - |
| 13 | Arachidic acid methyl ester | C20:0 | 0,29 | 0,30 | 0,65 |
| 14 | 11-Eicosenoic acid Methyl ester | C20:1 [11Z] | 0,14 | 0,13 | 0,08 |
| 15 | Behenic acid, methyl ester | C22:0 | 0,07 | 0,06 | 0,21 |
| 16 | Squalene | C30H50 | 0,07 | 0,03 | - |
| 17 | cis-9,10-Ethoxystearic Acid, methyl ester | C19H36O3 | - | 0,20 | 2,26 |
| 18 | Nonanoic acid, 9-oxo-, methyl ester | C10H18O3 | - | 0,01 | - |
| 19 | Nonanal | C9H18O | - | - | 0,93 |
| 20 | Nonanoic acid, methyl ester | C9:0 | - | - | 1,57 |
| 21 | Octanol-1 | C8H18O | - | - | 0,27 |
| 22 | Decanal | C10H20O | - | - | 0,42 |
| 23 | 2-Decanone | C10H20O | - | - | 0,08 |
| 24 | Capric, methyl ester | C10:0 | - | - | 0,41 |
| 25 | 1-Nonanol | C9H20O | - | - | 0,1 |
| 26 | 2-Decenoic acid, methyl ester, (E)- | C10:1 [2E] | - | - | 0,08 |
| 27 | Heptanedioic acid, dimethyl ester | C9H16O4 | - | - | 0,1 |
| 28 | Methyl 8-oxooctanoate | C9H16O3 | - | - | 0,24 |
| 29 | Suberic acid, dimethyl ester | C10H18O4 | - | - | 0,77 |
| 30 | Azelaic acid, dimethyl ester | C11H20O4 | - | - | 1,88 |
| 31 | Decanedioic acid, dimethyl ester | C12H22O4 | - | - | 0,35 |
| 32 | cis-11,12-Ethoxystearic Acid, methyl ester | C19H36O3 | - | - | 0,41 |
| 33 | Chaulmoogric acid, methyl ester , D- | C19H34O2 | - | - | 1,58 |
| 34 | trans-9,10-Epoxystearic Acid, methyl ester | C19H36O3 | - | - | 1,16 |
| | **المجموع** | | 99.99% | 99,94% | 98,46% |
| | **مجموع الأحماض الدهنية المشبعة** | | 15,80% | 16,76% | 46,18% |
| | **مجموع الأحماض الدهنية غير المشبعة** | | 84,19% | 83,18% | 52,28% |



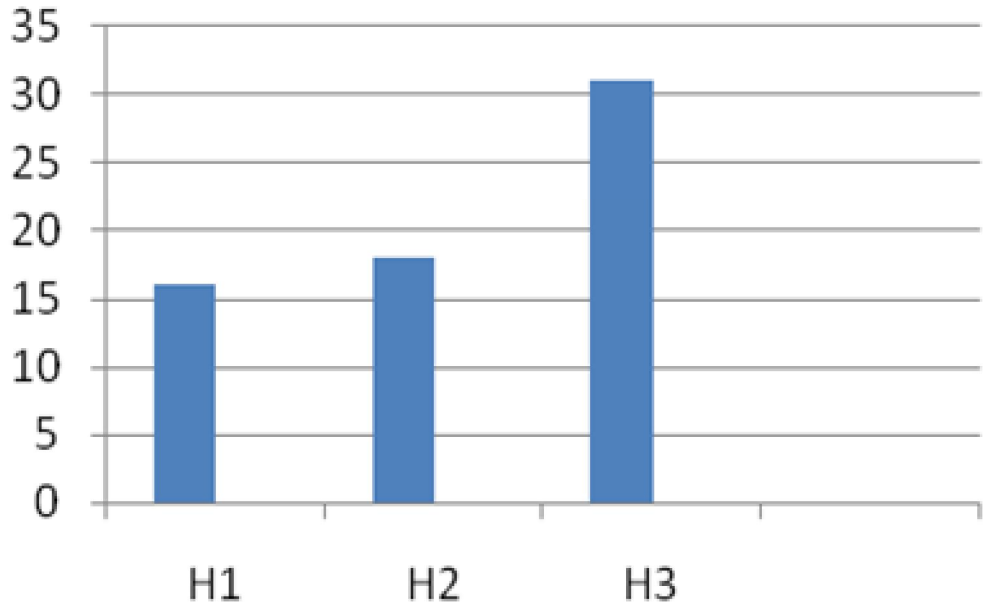

**الشكل (09):** المنحنى الكروماتوغرافي لزيت العينة 01




**الشكل (10):** المنحنى الكروماتوغرافي لزيت العينة 02



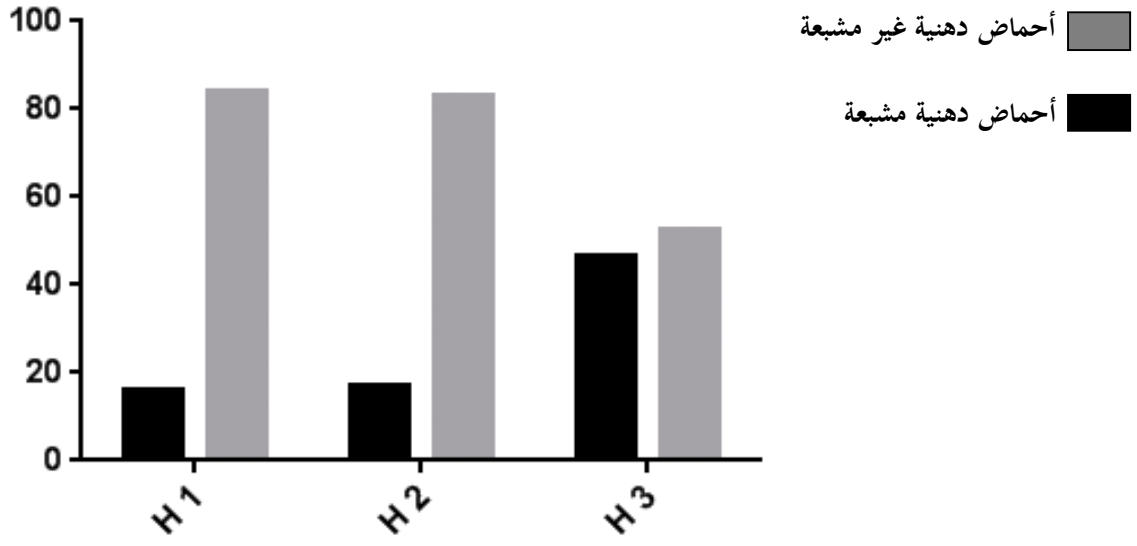

**الشكل (11):** المنحنى الكروماتوغرافي لزيت العينة 03




**الشكل (12):** المركبات الدهنية المكونة للعينات 01، 02 و03

تظهر النتائج أن Acide oléique المركب الغالب في العينة 01، 02 و03 بنسبة 75.36%، 75.48% و48.31 % بالترتيب متبوعا بـ Acide palmitique 12.59%، 13.32% و29.22 % بالترتيب، كما أن عدد المركبات المكونة في ازدياد كلما زادت مدة التخزين إذ قدر بـ 16، 18 و 30 مركبا بالترتيب، الشكل (12).

قدرت نسبة الأحماض الدهنية المشبعة والغير مشبعة في العينة01 بـ 15.80 % و84.19 % على التوالي، أما في العينة 02 فقدرت بـ 16.76% و83.18 % على التوالي بينما في العينة 03 كانت نسبها ما يقارب 46.18 % و52.28% على الترتيب كما هو مبين في الشكل (13).




**الشكل (13):** الأحماض الدهنية المشبعة والغير مشبعة في العينات الزيتية 01، 02 و03

من خلال هذه النتائج تم ملاحظة اختفاء بعض المركبات وظهور أخرى مثل Squalène و Acide linoléique و Acide linolénique التي ظهرت في العينة 01 و02 واختفت في العينة 03 ، كذلك ظهرت مركبات جديدة مثل: Acide 9-oxo-nonanoïque و Acide cis-9, 10-ethoxystéarique في العينة 02 التي تمثل 0.21 % من مجموع المركبات الدهنية المكونة لها،كما سجل ظهور 17 مركب دهني جديد في العينة 03 التي تمثل 10,35 % من مجموع المواد الدهنية المكونة لها وهي:

Nonanal, Acide nonanoïque, Octanol-1, Décanal, 2-Decanone, Acide caprique, 1-Nonanol, Acide 2-décénoïque, Acide heptanedioique, Méthyle 8-oxooctanoate, acide subérique, Acide azelaique, Acide décanedioique, Acide cis-11,12-ethoxystéarique, Acide chaulmoogrique, acide 2-Cyclopentene-1-tridecanoique, Acide trans-9,10-epoxystéarique

لا يوجد اختلاف كبير بين العينة 01 و02 في نسب الأحماض الدهنية المكونة لهما، لكن كانت نسب العينة 03 مختلفة عن العينتين السابقتين، يتمثل هذا الاختلاف في تباين أو انخفاض نسب بعض الأحماض الدهنية غير المشبعة في العينات 01، 02 و03 مثل Acide oléique (75.36%، 75.48% و48.31%)، حمض Acide

linoléique (05.37%، 04.50% و 00.00%) بالترتيب ، وزيادة في نسب الأحماض الدهنية المشبعة مثل حمض Acide palmitique (12.59%، 13.32% و 29.22%) و Acide stéarique (02.61%، 02.67% و05.57%) بالترتيب كذلك.

العديد من الدراسات منها المذكورة فيما يلي تشير إلى أنه تم وضع معايير عالمية متفق عليها لحديد جودة زيت الزيتون حسب قيم الأحماض الدهنية المكونة له هي: Acide Palmitique 7.5–20.0، Acide Palmitoleique 0.3–3.5 ، Acide Stearique 0.5–5.0، Acide Oleique 55.0–83.0، Acide Linoleique 3.5–21.0، Acide Linolenique <1.0، Acide Arachidique <0.6.

أظهرت نتائج دراسة Chehab وآخرون (2013) أن Acide oleique أهم مركب كيميائي لزيت الزيتون، أما Hashempour وآخرون (2010) فقد ذكروا أن الأحماض: Acide oléique، Acide palmitique، Acide linoléique و Acide stéarique كانت الأحماض الدهنية الغالبة لزيت الزيتون لـ 05 عينات زيتية مختلفة من إيران، كذلك Matthäus وآخرون (2011) و Shahat وآخرون (2013) وجدوا في تحليلهم لعينات من زيت الزيتون أن Acide oleique، Acide linoleique، Acide palmitique كانت المركبات الغالبة بالترتيب، و في دراسة لـ Gorinstein وآخرون (2003) وجدوا أن عينات لزيت الزيتون البكر تتكون من Acide oleique بنسب 72.28% و78.14%، يليه Acide palmitique بـ (09.1%- 12.47%)، acide stearique بـ (1.39%- 3.5%)، acide palmitoleique بـ (0.49%-1.15%)، و حمض Acide linolénique بنسبة تتراوح بين (0.51% - 0.78%)، أما في عينتين لـ ( Guerfel وآخرون 2012) تبين أن أهم مركبين هما Acide oleique (60.16- 63.86 %) و Acide linoleique (16- 19.84%) ثم Acide palmitique (14.32- 17.51%).

تختلف مكونات زيت الزيتون ونسب هذه المكونات من زيت لآخر ففي العديد من الدراسات لزيت الزيتون قدرت نسب الأحماض الدهنية المشبعة وغير المشبعة بـ 17.72 % و81.09 % ( Guerfel وآخرون 2012)،

24.90 % و74.78 % ( Borchani وآخرون، 2010)، 12.7% و 86.6% (Muik وآخرون، 2005) بالترتيب.

وجد Hemida وآخرون (2014) أثناء دراستهم لـ 04 عينات من زيت الزيتون من مناطق مختلفة من السعودية أن نسب الأحماض الدهنية غير المشبعة المكونة لها كانت مختلفة وأكبر من نسب الأحماض الدهنية المشبعة وأن أعلى قيمة سجلت كانت تساوي 86% تليها عينة أخرى بـ 84.5%.

إن تخليق المواد الدهنية في زيت الزيتون له علاقة بدرجة الحرارة خلال فصل نمو الثمار، و انخفاض درجات الحرارة خلال فصل النمو ينقص من تصنيع الأحماض الدهنية، كما أن لمحصول الفصل والظروف المناخية والبيئية وفترة جني المحصول تأثير على التركيب الكيميائي من الأحماض الدهنية، قيم البيروكسيد والأحماض الدهنية الحرة لزيت الزيتون وكذلك عمر العينة و حالة التخزين (Paz Romero وآخرون، 2003؛ Beltran وآخرون، 2004 ؛ Esmaeili وآخرون، 2012).

تؤثر درجة الحرارة، الأكسجين والضوء على مكونات زيت الزيتون واستقرارها وتساهم في تغيرها بمرور الوقت "التخزين" ، كما تؤثر المادة المصنوع منها العلب المستعملة للتخزين (Belcadi-Haloui وآخرون، 2015؛ Dabbou وآخرون، 2011). استنتج (Cossignani وآخرون، 2007) أنه كلما تم تخزين زيت الزيتون في درجة حرارة مرتفعة كلما زادت نسب الأحماض الدهنية المشبعة مثل Acide palmitique و Acide stéarique كما يقابل ذلك نقص في نسب الأحماض الدهنية غير المشبعة مثل Acide oléique، Acide linoléique،

تبين نتائج Xueqi وآخرون (2014) أن ظروف التخزين الباردة (4.5 و -27°م) كانت كافية لتؤخر الأكسدة والتحلل المائي أثناء تخـزين زيت الزيتون مع عدم ملاحظة أي تغير ملموس في النكهة لمدة أكثر من 18 أسبوع من التخزين، بالإضافة إلى ذلك فإن الزيادة في كمية الأحماض الدهنية الحرة في العينات المخزنة في درجات الحرارة المنخفضة كانت طفيفة، في حين أن تلك المخزنة في درجات حرارة مرتفعة كانت الزيادة فيها كبيرة.

تعتبر الأحماض الدهنية الغير مشبعة متعددة الروابط الثنائية أكثر تأثرا بالتحول والأكسدة (Lo´pez-Lo´pez وآخرون، 2010)، استنتج Noureddini و Kanabur (1999) أن الأكسدة المحفزة ببيروكسيد الهيدروجين للأحماض الدهنية غير المشبعة تنتج أحماض كربوكسيلية أحادية وثنائية Acides mono-et dicarboxyliques مثل ($C_{17}$, $C_{19}$) وأن Acide azelaique و Acide nonanoique كانت المركبات الغالبة الناتجة عن أكسدة Acide oléique، كما أشاروا أن العديد من الأحماض الكربوكسيلية القصيرة السلسلة الكربونية الأحادية والثنائية ($C_5$-$C_8$) قد تشكلت خلال عملية التفاعل وكذا الطويلة منها.

الكحولات، الألدهيدات المشبعة، الألدهيدات غير المشبعة والمركبات الايبوكسية من أهم المركبات الناتجة عن أكسدة الدهون، كأكسدة acide linoléique التي ينتج عنها 2,4-Decadienal و 2-heptenal وأكسدة Acide linolenique ينتج عنها 2,4-Heptadienal و2,4,7-decatrienal (Frankel وآخرون، 1992)، أما أكسدة حمض اللينوليك acide linoléique وحمض اللينولينيك Acide linolenique فتنتج عنه مركبات غير مشبعة ألدهيدية أكبر منه في اكسدة حمض الأوليك acide oleique (Muikو آخرون، 2005).

### 2-2-2-التحليل الكيميائي للزيوت الأساسية

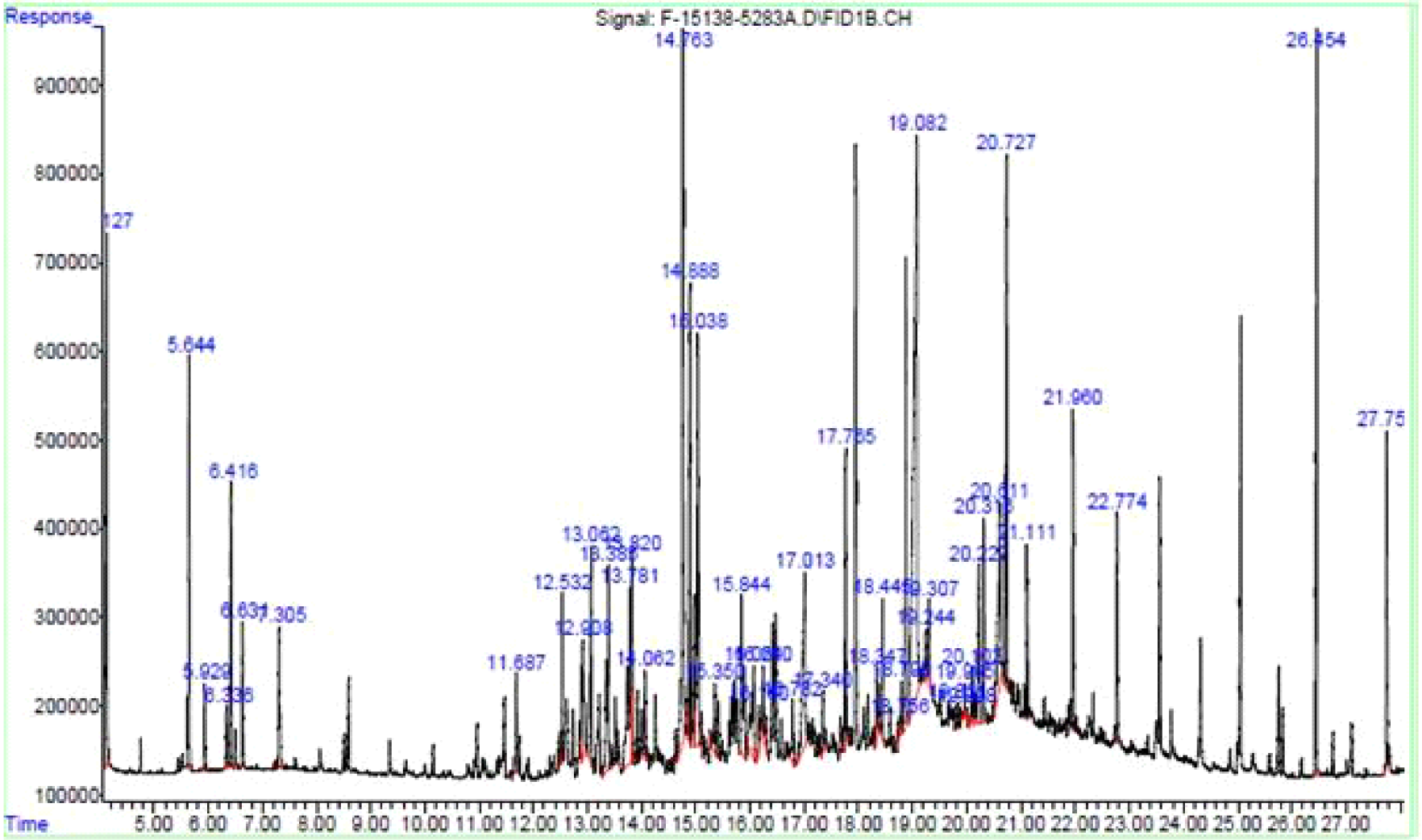
#### 2-2-2-1-التحليل الكيميائي للزيت الأساسي لـ *Olea europea*

أظهرت نتائج التحليل الكيميائي للزيت الأساسي للأجزاء الهوائية لنبات الزيتون أنه يتكون من 38 مركب كيميائي، تمثل 94,10 % من لزيت الطيار، كان حمض النخليك Acide palmitique هو المكون الغالب بنسبة 14.71%، يليه: Z-nerolidol (9.45%), octacosane (6.32%), caryophyllene oxide (4.77%), tetracosane (4.06%), 4-hydroxy-4-methyl-2-Pentanone (4.04%). المركبات المكونة لهذا الزيت الأساسي والمنحنى الكـروماتوغرافي موضحة في الجدول (02) والشكل (14).

**الجدول (02):** المركبات الكيميائية المكونة للزيت الأساسي للأجزاء الهوائية لـ*Olea europea* L.

| الرقم | المركب | % | KI |
|---|---|---|---|
| **1** | 4-hydroxy-4-methyl-2- Pentanone | **4.04** | 852 |
| **2** | α-pinene | 2.76 | 939 |
| **3** | γ-pinene | 1.93 | 980 |
| **4** | Myrcene | 0.91 | 991 |
| **5** | Limonene | 1.30 | 1031 |
| **6** | 2-undecanone | 0.76 | 1293 |
| **7** | γ-Damascenone | 1.18 | 1381 |
| **8** | γ-Damascone | 1.76 | 1411 |
| **9** | Intermedeol-neo | 0.82 | 1665 |
| **10** | 2-hexyl-cinnamaldehyde-(Z) | 0.79 | 1748 |
| **11** | Isopropyl tetradecanoate | 3.60 | 1769 |
| **12** | Nonadecane C19 | 0.41 | 1801 |
| **13** | Phytol | 2.17 | 1842 |
| **14** | Isophytol | 0.33 | 1947 |
| **15** | Palmitic acid | **14.71** | 1978 |
| **16** | Eicosene (1) | 0.45 | 1994 |
| **17** | Caryophyllene | 1.98 | 1424 |
| **18** | Geranyl acetone | 2.77 | 1448 |
| **19** | γ-Ionone | 2.99 | 1481 |
| **20** | Germacrene-D | 1.49 | 1485 |
| **21** | Butylatedhydroxytolene | 0.75 | 1505 |
| **22** | Nerolidol-(Z) | **9.45** | 1564 |
| **23** | Hexenyl benzoate-(3Z) | 3.31 | 1575 |
| **24** | Caryophyllene oxide | **4.77** | 1589 |
| **25** | Humulene epoxide II | 0.82 | 1617 |
| **26** | α-Murrolol-epi | 1.80 | 1649 |
| **27** | α-Cadinol | 0.59 | 1661 |
| **28** | Eicosane C20 | 0.20 | 2101 |
| **29** | n- Octadecanol | 0.50 | 2119 |
| **30** | Linoleic acid | 1.67 | 2148 |
| **31** | Phytol acetate | 1.62 | 2166 |
| **32** | Tricosane | 3.50 | 2300 |
| **33** | Tetracosane | **4.06** | 2330 |
| **34** | Pentacosane | 1.19 | 2400 |
| **35** | Hexacosane | 2.18 | 2501 |
| **36** | Heptacosane | 1.61 | 2599 |
| **37** | Octacosane | **6.32** | 2651 |
| **38** | Nonacosane | 2.57 | 2799 |
| | **المجمـوع** | 94.10% | |

KI: indice de Kovats، % نسبة المركب.




**الشكل(14):** المنحنى الكروماتوغرافي للزيت الأساسي المستخلص من الأجزاء الهوائية لـ *Olea europea*

حسب دراسة للزيت الأساسي لأوراق الزيتـون *Olea europea* في تونس فإنه يتكون من 21 مركبا، أما المركبات الغالبة فكانت: α-pinene (52.7%) و2,6-Dimethyloctane (16.6%) (Haloui وآخرون، 2010)، أما تنائج Brahmi وآخرون، (2012) فقد بينت أن عينات من الزيت الأساسي المستخلص من الأوراق الغضة تتكون أساسا من (E)-3-hexenol (16-28%)، 3-Ethenylpyridine (2.2-18.1%)، أما تلك المستخلصة من الأوراق المجففة من نفس الأنواع فقد وجد أن alcool phényléthylique (15.1-22.3%) هو أهم مركب يليه Benzyl alcohol (alcool benzylique) (7.4-13.2%).

توصل (Brahmi وآخرون، 2015) أن الزيت الأساسي لأوراق *Olea europaea* L. cultivar *chetoui*. يتكون من 32 مركب وتحتل المركبات الكحولية النسبة الأكبر 39.5%، إذ يشغل phenylethyl alcohol نسبة 30.8%، دراسة أخرى لـ (Brahmi وآخرون، 2013) للزيت الأساسي لـ *Olea europaea* L. var. *chemchali* كان الزيت الأساسي المستخلص من ثمار النبات يتكون أساسا من (E)-2-decenal (12.5%) و2-ethylbenzaldehyde (7.7%)، أما الزيت الأساسي المستخلص من سيقان نفس النبات فيتكون من Nonanal (9.9%)، (E)-2-decenal (09.6%) وbenzyl alcohol (09.00%).

تختلف دراسة Campeol وآخرون (2001) لثلاثة أصناف مختلفة لـ *Olea europea* حيث تشير إلى عدد المركبات المكونة للزيوت الأساسية المستخلص من الأوراق للأصناف الثلاثة حوالي 41 مركبا وأن E,E-R-farnesene (31.1-38.5%)، kongol (13.7-28.00%)، (*E*)-2-hexenal (12.7-13.2%)، *n*-nonanal بنسبة (10.2-12.1%) من أهم المركبات الموجودة في العينات الزيتية، كما وجد Campeol وآخرون (2003) أن التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية لأوراق *Olea europea* لثلاثة أصناف مختلفة حسب فترة جني المادة النباتية، إذ تراوحت عدد المركبات الكيميائية من 32 مركب إلى 46 مركب، أما nonanal (08- 18.2%) و (*E*)-2-hexenal (3.4- 23.8%) فكانا من أهم العناصر المكونة للعينات، في المقابل تظهر نتائج دراسة ( Guerfel وآخرون 2012)

أن أهم مركب للزيت الاساسي المستخلص من عينتين مختلفتين من ثمار *Olea europea* هو (*E*)-2-hexenal بنسب تساوي 56.8% و66.1%، يليه (*E,Z*)-2,4-heptadienal بـ 9.2% و11.9% .

**2-2-2-2-التحليل الكيميائي للزيت الأساسي لـ *Mentha aquatica***

أما التحليل الكيميائي للزيت الأساسي لنبات *Mentha aquatica* فقد بينت النتائج أنه يتكون من 43 مركبا تمثل هذه النسبة 97.76 % من مجموع الزيت الاساسي، هذه النتائج مدونة في الجدول رقم (15)، المركبات الغالبة كانت linalyl acetate (26.1%)، α-pinene (22.7%)، linalool (13.755%)، α-terpeneol (3.42%) وgeranyl butyrate (3.39%).

هذه النتيجة تختلف عن تلك التي وجدها Esmaeili وآخرون، (2006) إذ أن الزيت الأساسي لسيقان نفس النبات كانت المركبات الغالبة هي β-caryophyllene (22.4%)، viridiflorol (11.3%) و1, 8-cineole (10.9%)، أما الزيت الأساسي لاوراقه فكانت أهم مركباته piperitenone oxide (25.7%)، β-caryophyllene (12.0%) و1.8-cineole (10.3%). كما أن هذه النتائج تختلف عن تلك التي وجدها كل من Agostini وآخرون، (2009) وBhat وآخرون، (2002).

لم تكن النتيجة التي تحصل عليها Benayad وآخرون (2007) مختلفة كثيرا إذ وجد في تحليله للزيت الأساسي لـ *M. pulegium* بالتقطير المائي أن نسبة مركب pulégone تساوي 33,03 %؛ غير أن Mahboubi وآخرون (2008) تحصّلوا في تحليلهم للزّيت الأساسي لنفس النبات على المركبات: piperitone 38,0 %، piperitenone 33,0 %، α-terpineol 04,7 %، pulégone 02,3 %، وفي دراسات سابقـة كان مركب pulégone هو المكون المهيمن في الزيت الأساسي لنبات *Mentha pulegium* (Lorenzo وأخرون، 2002؛ Ouraini وآخرون 2005)، أما الزيت الاساسي لـ *Mentha spicata* فإن carvone هو أهم مركب فيه ( Vian

وآخرون، 2008؛ Hadjiakhoondi وآخرون، 2000؛ El Hassani وآخرون، 2009؛ Chauhan وآخرون، 2006)، أما piperitenone oxide فكان أهم مركب في نبات *Mentha longifolia* حسب (Gulluce وآخرون، 2007).

إن للطريقة المستعملة في استخلاص الزيوت الأساسية من النباتات الطبية والتحليل الكيميائي تأثير على محتوى الزيت الأساسي كذلك مدة وظروف حفظ الزيت الأساسي (Bruneton، 1999؛ Belaiche، 1979).

يمكن لنفس النوع النباتي المصنف أن ينتج مركبات مختلفة التأثير التي قد تكون أقل أو أكثر أهمية، فالمركبات التي ينتجها النوع الذي ينمو في منطقة ما تختلف عن تلك التي ينتجها نفس النوع النباتي الذي ينمو في منطقة أخرى، أي أن لنفس النوع النباتي وظائف وخصائص مختلفة حسب (التربة، التعرض للشمس، فصل الجني، والجزء النباتي المستعمل)، بسبب هذه الظروف كلها يمكن أن تكون الزيوت الأساسية لنفس النوع النباتي ذات تراكيب مختلفة (Lamendin وآخرون، 2004)، كما أن لعمر النبات تأثيرا في نوعية وكمية الزيوت الأساسية (Chauhan وآخرون، 2009).

**الجدول (03)**: المركبات الكيميائية المكونة للزيت الأساسي لـ *Mentha aquatica*

| الرقم | المركبات | % | RT |
|---|---|---|---|
| **1** | α-Thujene | 0,137 | 9,981 |
| **2** | α- Pinene | **22,708** | 10,263 |
| **3** | Fenchene | 0,115 | 10,775 |
| **4** | Camphene | 0,084 | 11,671 |
| **5** | Sabinene | 1,096 | 11,730 |
| **6** | β- Pinene | 0,636 | 11,830 |
| **7** | Myrcene | 2,235 | 12,277 |
| **8** | Delta-3-Carene | 0,410 | 12,919 |
| **9** | α-Terpinene | 0,111 | 13,219 |
| **10** | Para-cymene | 0,109 | 13,492 |
| **11** | Limonene | 0,673 | 13,641 |
| **12** | Eucalyptol | 2,851 | 13,758 |
| **13** | Z- β- Ocimene | 1,593 | 13,884 |
| **14** | E- β- Ocimene | 1,230 | 14,234 |
| **15** | Gamma Terpinene | 0,624 | 14,620 |
| **16** | Terpinolene | 1,591 | 15,504 |
| **17** | Linalol | **13,755** | 16,025 |
| **18** | α-Terpinolene | 0,453 | 16,092 |
| **19** | 1-Terpineol | 0,188 | 16,958 |
| **20** | Terpinene-4-ol | 0,296 | 18,488 |
| **21** | α-Terpeneol | **3,429** | 18,928 |
| **22** | Trans-geraniol | 0,559 | 19,744 |
| **23** | Pulégone | 1,835 | 20,166 |
| **24** | Acétate de linalyle | **26,109** | 20,473 |
| **25** | Acétate de lavandulyle | 0,970 | 21,366 |
| **26** | Geranyl octanoate | 1,634 | 23,354 |
| **27** | Geranyl butyrate | **3,390** | 23,862 |
| **28** | Mentha-1,4,8-triene | 0,626 | 24,056 |
| **29** | Elemene<BETA-> | 0,170 | 24,190 |
| **30** | β- Caryophyllene | 1,263 | 24,973 |
| **31** | Trans-b –Farnesene | 0,254 | 25,705 |
| **32** | α- Humulene | 0,132 | 25,846 |
| **33** | Germacrene-D | 0,984 | 26,455 |
| **34** | β- Cadinene | 0,177 | 27,295 |
| **35** | Elemol | 3,003 | 28,004 |
| **36** | Gamma-cadinene | 0,119 | 28,664 |
| **37** | Epi-globulolemophilene | 0,368 | 29,084 |
| **38** | α-Selinene | 0,223 | 29,891 |
| **39** | Eudesmol | 0,699 | 30,412 |
| **40** | Abietatriene | 0,154 | 38,289 |
| **41** | Sandra copimarinal | 0,259 | 40,598 |
| **42** | Zierene | 0,346 | 41,068 |
| **43** | Ferruginol | 0,146 | 42,867 |
| | **المجموع** | **97,764%** | |

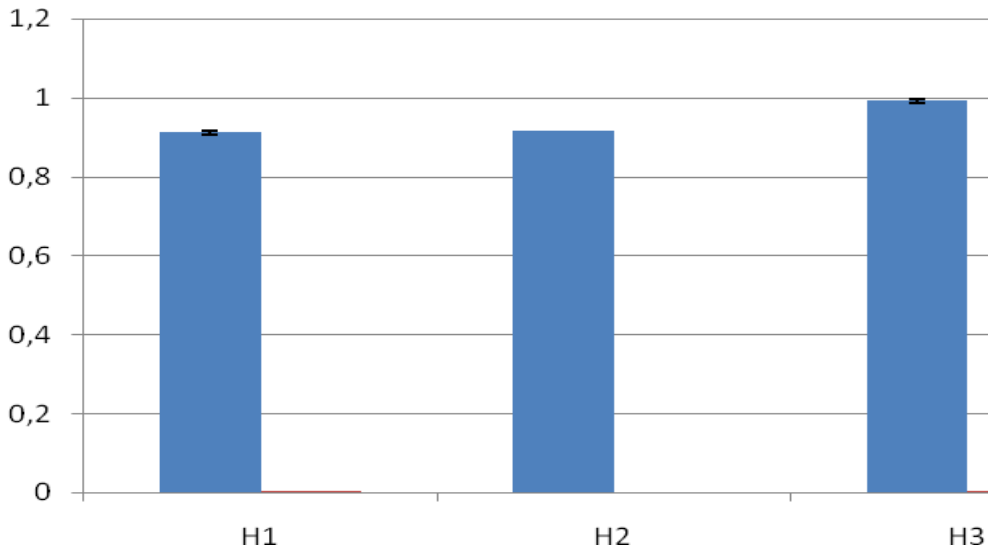
RT: وقت الاحتباس، % نسبة المركب

**الشكل (15)**: المنحنى الكروماتوغرافي الزيت الأساسي المستخلص من الأجزاء الهوائية لـ *Mentha aquatica*

### 2-3- الخصائص الفيزيائية-الكيميائية للعينات الزيتية

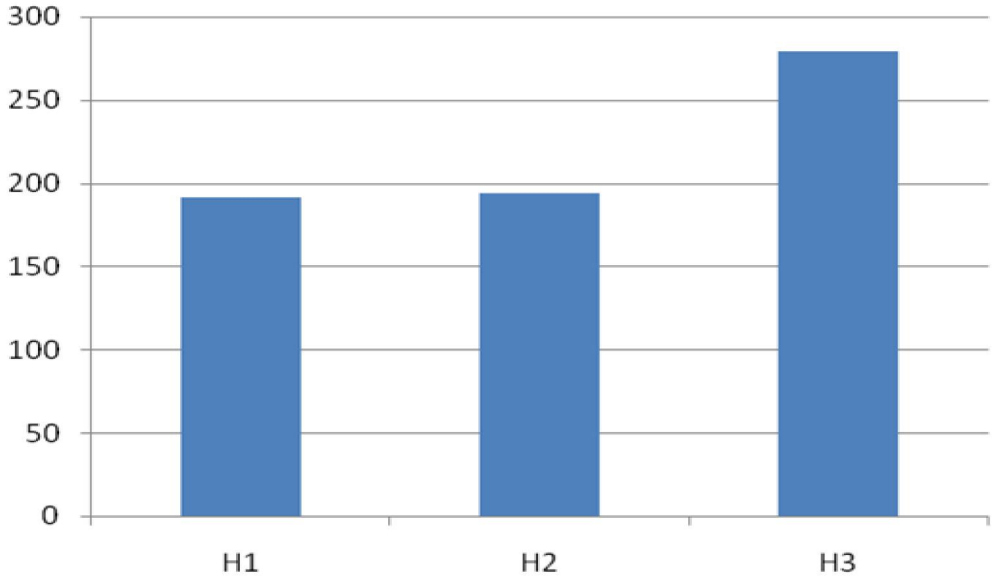
لوحــظ عند حساب الكثافة النسبية للعينات الزيتية زيادة في هذه الأخيرة بالنسبة للعينات الثلاثة إذ قــدرت بـ 0.912± 0.005 (20°م/ ماء 20°م) في العــينة الأولى، 0.916 ±0.001 (20°م/ ماء 20°م) في العـينة الثانية و0.993± 0.005 (20°م/ ماء 20°م) في العـينة الثالثة على الترتيب كماهو موضح في الجدول (04)و الشكل (16).

لوحظ أن الزيادة في الكثافة النسبية يتناسب مع الزيادة في نسب الأحماض الدهنية المشبعة في العينات الثلاثة المدروسة.



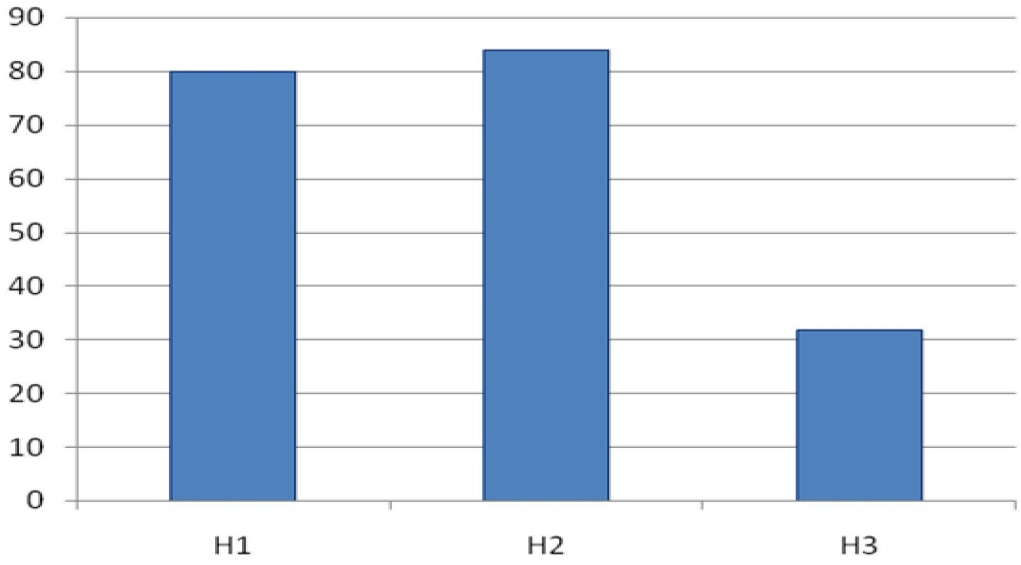

**الشكل (16):** الكثافة النسبية للعينات 01، 02 و03 (20 °م / الماء في 20 °م)

نتائج قيم التصبن العينات الثلاث مختلفة من عينة لأخرى إذ كانت قيمة العينة الأولى 191 والقيمة الثانية بـ 194 أما قيمة العينة 03 تقدر بـ 279، الجدول رقم (04)، الشكل (17)، هذا الاختلاف في قيم رقم التصبن قد يعود سببه للإختلاف في التركيب الكيميائي للعينات الزيتية الثلاث.



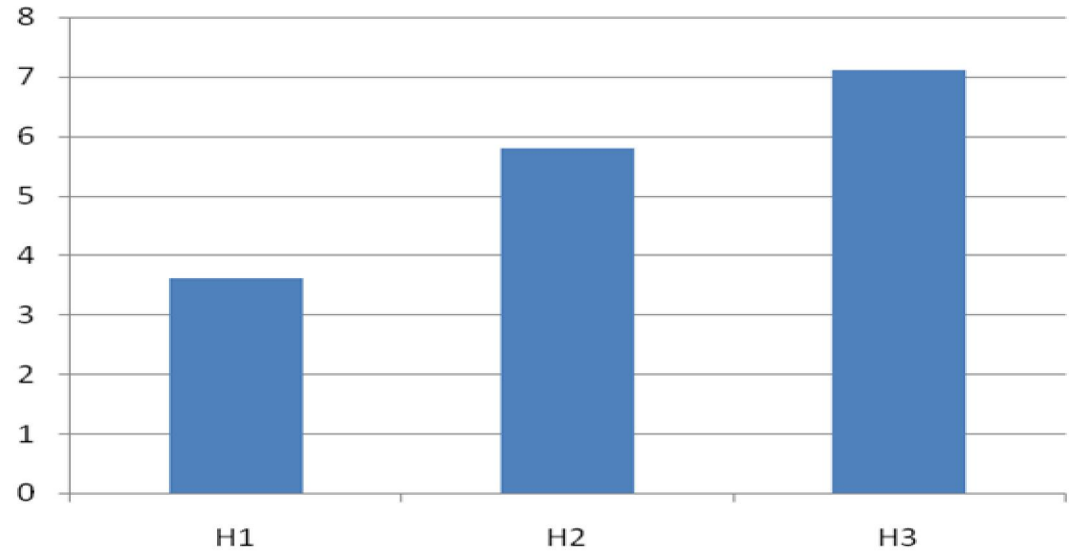

**الشكل (17):** مؤشر التصبن للعينات 01، 02 و03 (mg KOH/gr de huile)

بينما كانت قيم الرقم اليودي تساوي 10.77±79.96 بالنسبة للعينة الأولى و9.71±84.07 و 7.05±31.74 (mg $I_2$/g) بالنسبة للعينتين الثانية والثالثة على التوالي النتائج في الجدول (04)و الشكل (18) .



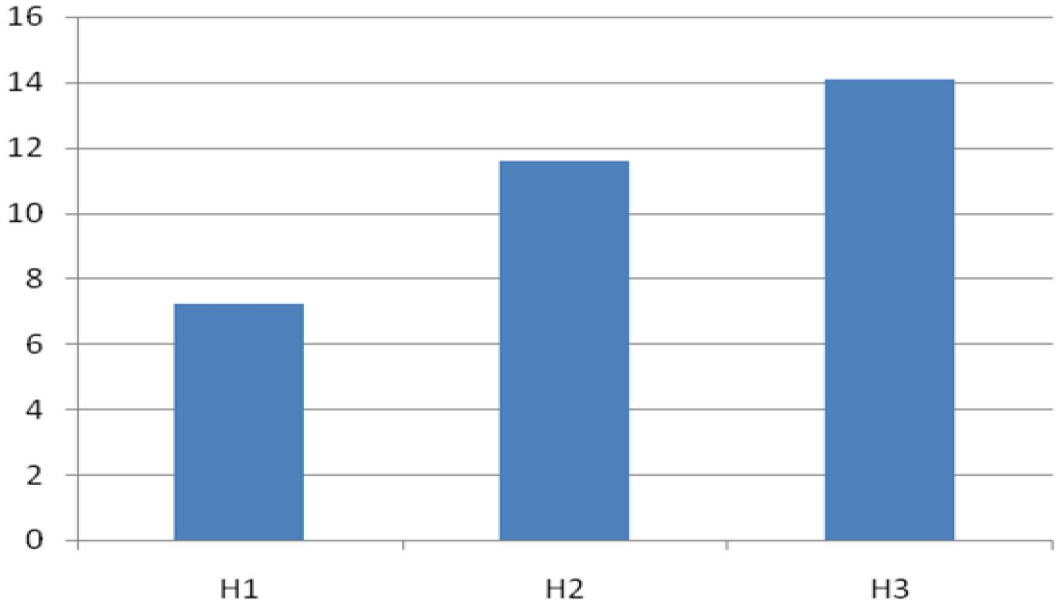

**الشكل (18):** مؤشر اليود للعينات 01، 02 و03 ($gI_2$/100g).

كذلك قيم مؤشر البيروكسيد قدرت بـ 3.6، 5.8 و7.1 $mmol\ O_2\ Kg^{-1}$ بالنسبة للعينات 01، 02 و03 بالترتيب و 7.2، 11.6 و14.1 $meq\ O_2\ Kg^{-1}$ بالترتيب كذلك، الجدول رقم (04)و الشكـلين (19،20).



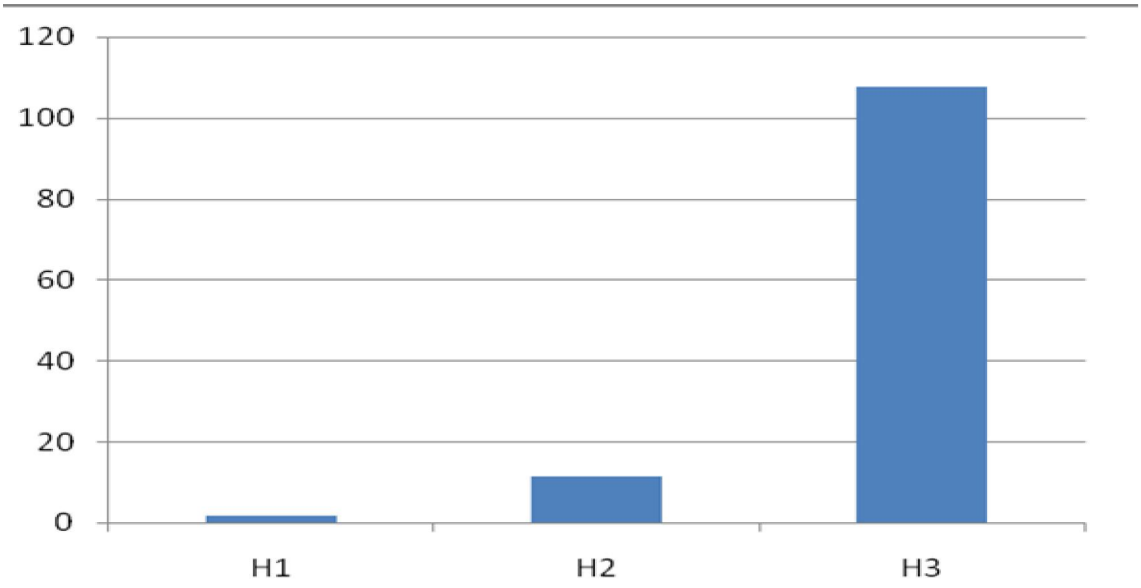

**الشكل (19):** مؤشر البيروكسيد للعينات 01، 02 و03 (mmol $O_2Kg^{-1}$ de huile)

.

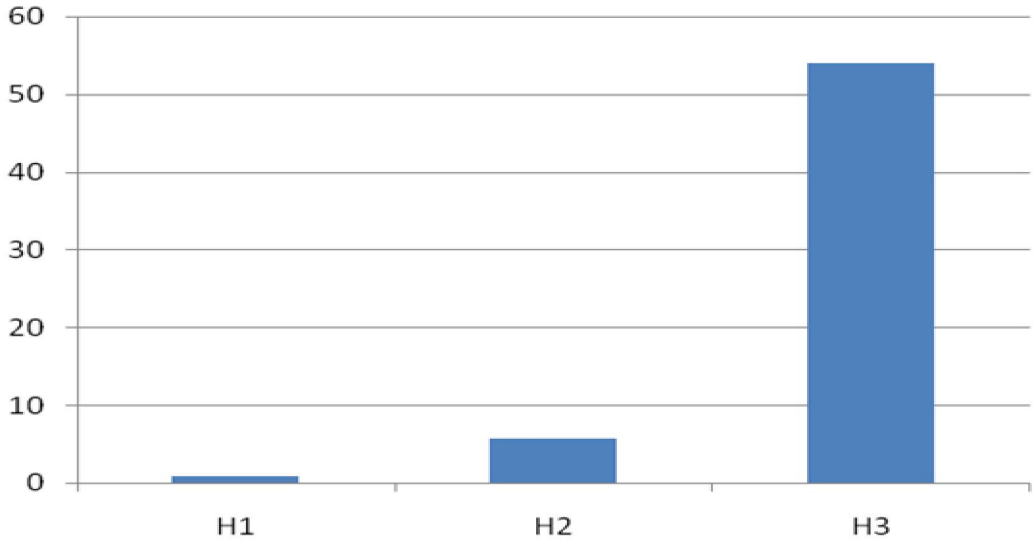



**الشكل (20):** مؤشر البيروكسيد للعينات 01، 02 و03 (meq $O_2Kg^{-1}$ de huile)

بينما مؤشر الحموضة يساوي 1.7، 11.3 و107.5 mg KOH/gr بالنسبة للعينات 01، 02 و03 على التوالي ومؤشر الحموضة (% acide oléique) يساوي 0.9، 5.7 و54 بالترتيب كما هو مبين في الجدول (04) والشكلين (21،22).




**الشكل (21):** مؤشر الحموضة للعينات 01، 02 و03 (meq $O_{2Kg}^{-1}$ de huile)




**الشكل (22):** مؤشر الحموضة (% acide oléique) للعينات 01، 02 و03

أما قيم **pH** فقد كانت مختلفة جدا، إذ قدرت بـ 5.8، 3.6، 1.7 بالنسبة للعينات 01، 02، 03 على التوالي.

**الجدول (04):** الخصائص الفيزيائية-الكيميائية للعينات الزيتية 01، 02 و03

| الاختبار | العينة 03 | العينة 02 | العينة 01 |
|---|---|---|---|
| **الكثافة (20 °م / الماء في 20 °م)** | 0.993 ± 0.005 | 0.916 ± 0.001 | 0.912 ± 0.005 |
| **مؤشر اليود (Hanus) ($gI_2/100g$)** | 31.74 | 84.07 | 79.96 |
| **مؤشر التصبن (mg KOH/gr de huile)** | 279 | 194 | 191 |
| **مؤشر البيروكسيد ($mmol\ o_{2Kg}^{-1}$ de huile)** | 7.1 | 5.8 | 3.6 |
| **مؤشر البيروكسيد ($meq\ O_{2Kg}^{-1}$ de huile)** | 14.1 | 11.6 | 7.2 |
| **مؤشر الحموضة (mg KOH/gr)** | 107.5 | 11.3 | 1.7 |
| **مؤشر الحموضة الحرة (% acide oléique)** **(g d'acide oléique libre /100g de huile)** | 54.00 | 5.7 | 0.9 |
| **pH** | 1.7 | 3.6 | 5.8 |

حددت معظم الدول وهيئات مختصة عالمية قيم معينة تستعمل كمعيار لمعرفة جودة زيت الزيتون، في الجزائر حدد المركز الجزائري لمراقبة النوعية والرزم قيم الكثافة بـ 0,916 – 0,910 (20 °م / الماء في 20 °م)، مؤشر التصبن 184 - 196 (mg KOH/g d'huile) ، مؤشر الحموضة الحرة % 1 - 0,3 (% acide oléique)، مؤشر البيروكسيد ≤20 ($meq\ O_{2Kg}^{-1}$ de huile).

أجريت العديد من الدراسات حول الخصائص الفيزيائية-الكيميائية لزيت الزيتون وكانت النتائج متباينة من زيت لآخر ومن منطقة لأخرى، كانت نسبة الحموضة (% acide oléique) لعينات من زيت الزيتون المتحصل عليها في دراسة (Meftah وآخرون، 2014) تتراوح بين 0.7 و1.29%، قيم البيروكسيد ($meq\ O_2\ kg^{-1}$ d'huile) تتراوح بين 12.07 و18.66، أما في ثلاث عينات من زيت الزينون في المغرب كانت قيم الحموضة (% acide oléique) لاتتعدى 1.06% و قيم البيروكسيد 6.65 و16.57 ($meq\ O_2$/kg d'huile) (Tanouti وآخرون، 2010)، في حين تحصل (Boulfane وآخرون، 2015) على قيم أكبر للحموضة (% acide oléique) 1.77-5.83%، وكذا قيم البيروكسيد 10.96-18.7 ($meq\ O_2\ kg^{-1}$ d'huile)،كذلك كانت قيم البيروكسيد أكبر في

عينتين من زيت الزيتون قدرت بـ 15 و17 (meq $O_2$ $kg^{-1}$ d'huile ) فيما كانت قيم الحموضة ( % acide oléique) أقل إذ قدرت بـ 0.64 و0.8 ( Guerfel وآخرون، 2012).

تراوحت قيم الحموضة (1: C18 %) في دراسة لـ H Hemida. وآخرون (2014) لعينات زيت الزيتون بين 0.22 و0.72 ، قيم البيروكسيد بين 07 و12 meq $O_2Kg^{-1}$، قيم مؤشر اليود بين 76 و91، قيم التصبن بين 184 و195، كما أن قيم الـ pH ليست مختلفة كثيرا تتراوح بين 7.85 و7.89، تحصل (Salvador وآخرون، 2003) في دراستهم لعينات من زيت الزيتون مستخلصة بطرق مختلفة على قيم للحموضة مشابهة (% acide oléique) وللبيروكسيد (meq $O_2$/kg d'huile) هي 0.58-0.86 و9.4-11.1 على الترتيب؛ أما ( Borchani وآخرون، 2010) فقد توصلوا إلى القيم التالية: الحموضة 1.12 (mg KOH/gr) و0.56 (% acide oléique)، البيروكسيد 0.99 (meq $O_2$/kg d'huile)، التصبن 97.94 (mg KOH/gr de huile)، اليود 81.23 ($gI_2$/100g)، كذلك خلص (Muik وآخرون، 2005) إلى نتيجة مشابهة لقيمة اليود تقدر بـ 80 ($gI_2$/100g)، كذلك في عينة من باتنة في الجزائر كانت قيم الحموضة 6.76 (mg KOH/gr) ، البيروكسيد 6.50 (meq $O_2$/kg d'huile)، التصبن 185.72 (mg KOH/gr de huile)، اليود 76.91 ($gI_2$/100g)، الكثافة النسبية 0.914 (Ferhat وآخرون، 2005).

وجد (Gharbi وآخرون، 2015) أن لدرجة نضج الزيتون وكذا لطريقة جني الزيتون تأثير على درجة الحموضة "مؤشر الحموضة" حين قاموا بدراسة عينات من زيتون سقط على الأرض، عينات مقطوفة باليد وأخرى مقطوفة باستعمال العصى، كما وجدوا أن لطريقة تخزين الزيتون تأثير كذلك، أما (Ammar وآخرون، 2015) فقد و جدوا أن لطريقة استخلاص الزيت تأثير كذلك على قيم الحموضة والبيروكسيد.

تبينت نتائج تخزين عينات من زيت الزيتون في شروط محددة لمدة سنة في الظلام في درجة حرارة غرفة وفي درجة حرارة 37 °م قام بها Gambacorta وآخرون (2004) أن حموضة العينات لم تتغير وبقيت أقل من < 01 إلا في تلك المخزنة في درجةحراة 37 °م حيث بدأ التغير ابتداءا من اليوم 195 من التخزين حتى نهاية مدة التخزين،

كذالك دراسة (Del Caro وآخرون، 2015) لعينات من زيت الزيتون مخزنة في درجةحرارة الغرفة لمدة 16 شهر أظهرت أن قيم الحموضة لم تتأثر كثيرا بل بقيت أقل من 0.8 في حين قيم البيروكسيد كانت القيم تزداد حتى الشهر الرابع ثم بقيت في انخفاض حتى الشهر 16 من 6.18 إلى 7.26 ثم 4.81. خزن (Gallardo-Guerrero وآخرون، 2005) زيت الزيتون لمدة سنة في الظلام وفي درجة حرارة 15°م مع قياس نسب الأحماض الدهنية الحرة (acide oléique %)، كانت النسب كلها أقل من 01 في جميع مراح التخزين وهذا يتطابق مع المعايير المتفق عليها لزيت الزيتون، تم تسجيل استقرار كبير في الثلاثة أشهر الأولى،ثم لوحظت زيادة طفيفة في الستة أشهر الثانية، لكن بعد سنة تم ملاحظة زيادة واضحة.

**2-3- النشاطية ضد البكتيرية**

**2-3-1- النشاطية ضد البكتيرية للزّيوت الثابتة لـ *Olea europea* L.**

أظهرت دراسة النشاطية ضد البكتيرية باستعمال طريقة الانتشار على وسط صلب للزيوت الثابتة نشاطية متفاوتة ضد السلالات البكتيرية المختبرة. نتائج النشاطية ضد البكتيرية للعينات الزيتية مدونة في الجداول (05)، (06) و(07)و ممثلة في الاشكال (23)، (24)، (25) و(26).

حددت النشاطية ضد البكتيرية في هذه الدراسة بحساب قطر التثبيط حول القرص المشبع بالزيت بالمليمتر، وقد أظهرت النتائج أن البكتيريا الموجبة الغرام $Gram^+$ كانت الأكثر حساسية للزيوت ويتعلق الأمر بالسلالات: *Staphylococcus aureus* ATCC25923 و*Citrobacter freundii* ATCC 8090 التي أظهرت حساسية عالية تجاه الزيوت المدروسة، أما السلالات البكتيرية السالبة الغرام $Gram^-$ فقد كانت أقل حساسية *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853، *Escherichia coli* ATCC 25922، *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 و *Schigella sonnei* إذ كانت حساسيتها تجاه العينات الزيتية المدروسة تتراوح بين الضعيفة والمنعدمة.

**الجدول (05):** النّشاطيّة ضدّ البكتيريّة للعينة رقم 01 المعبر عنها بأقطار التثبيط المقاسة بالميليمتر.

قيم النتائج = 3 تكرارات ± SD.

| تركيز العينة رقم 1 | | | | |
|---|---|---|---|---|
| %50 | %20 | %10 | GM | السلالات البكتيرية |
| - | - | - | 25.83±0.76 | *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 |
| - | - | - | 25.16±0.70 | *Escherichia coli* ATCC 25922 |
| - | - | - | 22.50±0.50 | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 |
| 20.05±0.42 | 18.85±0.54 | - | 20.33±0.57 | *Citrobacter freundii* ATCC 8090 |
| - | - | - | 12.16±0.28 | *Schigella sonnei* |
| - | - | - | 22.66±0.28 | *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603 |

**الجدول (06):** النّشاطيّة ضدّ البكتيريّة للعينة رقم 02 المعبر عنها بأقطار التثبيط المقاسة بالميليمتر.

قيم النتائج = 3 تكرارات ± SD.

| تركيز العينة رقم 02 | | | | |
|---|---|---|---|---|
| %50 | %20 | %10 | GM | السلالات البكتيرية |
| - | - | - | 25.83±0.76 | *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 |
| - | - | - | 25.16±0.70 | *Escherichia coli* ATCC 25922 |
| - | - | - | 22.50±0.50 | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 |
| 36.59±1.96 | 20.12±0.79 | 17.55±0.63 | 20.33±0.57 | *Citrobacter freundii* ATCC 8090 |
| - | - | - | 12.16±0.28 | *Schigella sonnei* |
| - | - | - | 22.66±0.28 | *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603 |

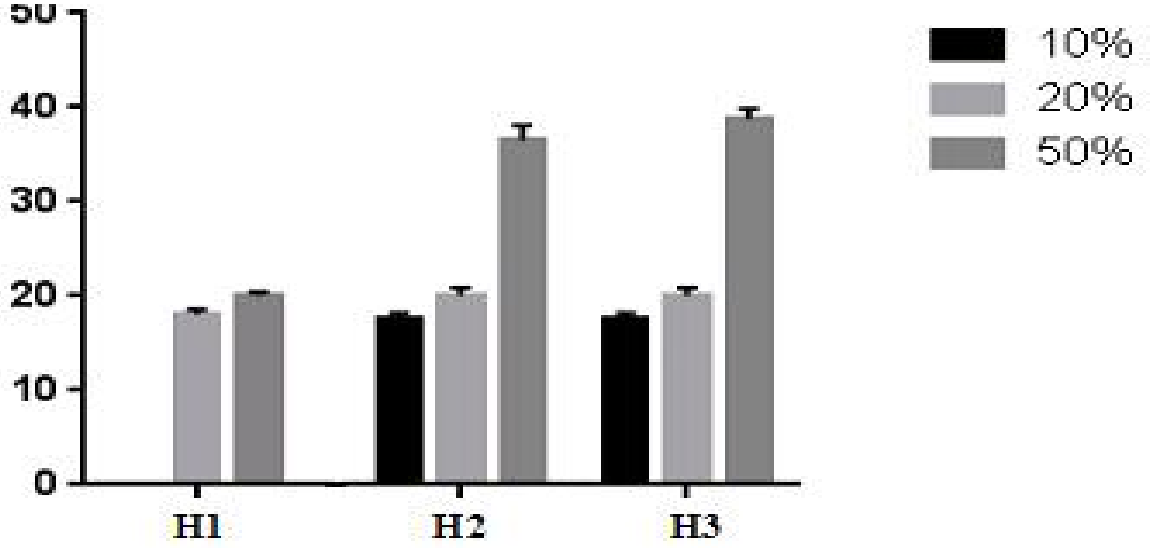
**الجدول (07):** النّشاطيّة ضدّ البكتيريّة للعينة رقم 03 المعبر عنها بأقطار التثبيط مقاسة بالميليمتر.

قيم النتائج = 3 تكرارات ± SD.

| تركيز العينة رقم 03 | | | | |
|---|---|---|---|---|
| %50 | %20 | %10 | GM | السلالات البكتيرية |
| 25.67±0.49 | 10.10±0.65 | 7.96±0.95 | 25.83±0.76 | *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 |
| 10.29±0.70 | 08.15±1.06 | - | 25.16±0.70 | *Escherichia coli* ATCC 25922 |
| - | - | - | 22.50±0.50 | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 |
| 38.76±1.08 | 27.60±2.09 | 22.05±0.68 | 20.33±0.57 | *Citrobacter freundii* ATCC 8090 |
| 9.73±0.80 | 10.22±0.31 | 8.97±0.72 | 12.16±0.28 | *Schigella sonnei* |
| - | - | - | 22.66±0.28 | *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603 |

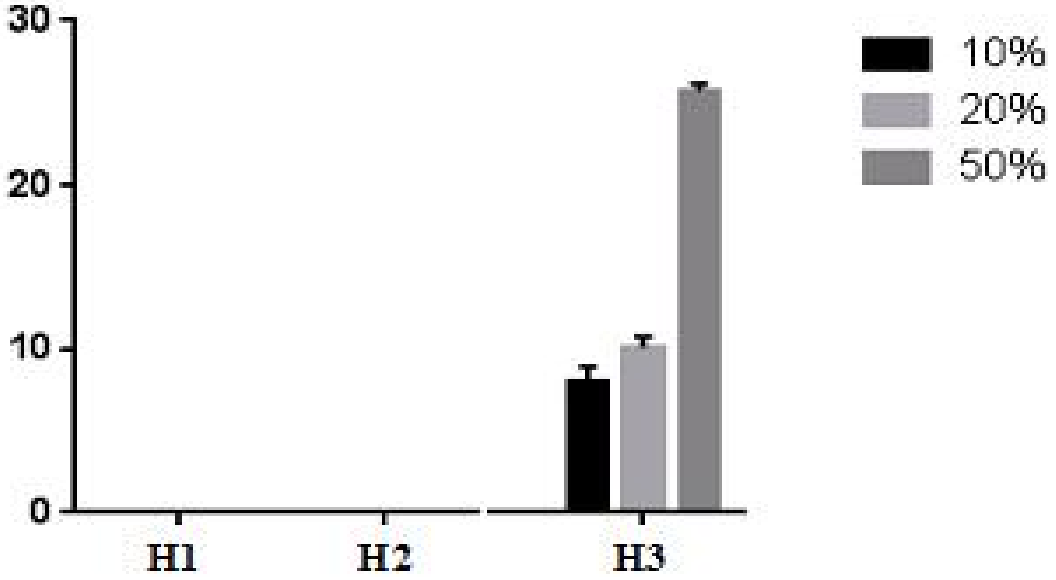
من أجل تحديد نوعية تأثير الزيوت (تثبيط أو إبادة) تم تمرير أو مسح على منطقة هالة التأثير على السلالة البكتيرية بماصة باستور معقمة ثم ادخلها في أنبوب اختبار به سائل مغذي لتحضن هذه الأنابيب هي الأخرى في حاضنة درجة حرارتها 37°م لمدة 18-24 ساعة، فكانت النتيجة تعكر محتوى الأنابيب و هذا يعني أن كل العينات الزيتية لها تأثير تثبيطي على نمو السلالات البكتيرية المدروسة، كما أن اختبار تأثير المذيب المستعمل "Hexane" (شاهد سلبي) على نمو السلالات البكتيرية المدروسة لم يسجل أي نشاطية ضد بكتيرية.

أبدت السلالتان *P. Aeruginosa* ATCC 27853 و*K. Pneumoniae* ATCC 700603 مقاومة تامة تجاه كافة العينات الزيتية مع كل التراكيز المستعملة، بينما كان قطر تثبيط المضاد الحيوي (GM) لهاتين السّلالتين يساوي 22.50 ± 0.5 ملم و22.66 ± 0.28 ملم على الترتيب، في حين كانت السلالة *C. feundii* ATCC 8090 الأكثر حساسية اتجاه كل الزيوت المدروسة إذ قدر قطر التثبيط في التركيز 50% بـ 20.05 ± 0.42، 36.59 ±1.96 و38.76± 1.08ملم مع العينات 01، 02 و03 على التوالي، بينما في التركيز 20% كانت أقطار التثبيط تساوي 18.85±0.54، 20.12±0.79 و27.60±2.09 ملم، هذه النتيجة متقاربة أو تفوق تلك المتحصل عليها في نشاطية المضاد الحيوي (GM) التي كانت تساوي 20.33±0.57 ملم النتائج ممثلة في الشكل (23)، تليها السلالة *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 التي أظهرت حساسية تجاه العينة رقم 3 بقطر تثبيط يقدر بـ 25.67 ± 0.49 ملم في التركيز 50% و10.10 ± 0.65 ملم في التركيز 20%، بينما كان قطر تثبيط المضاد الحيوي يساوي 25.83±0.76 ملم كما هو مبين في الشكلين (24-25) أما العينتان 01 و02 فلم يكن لهما أي تأثير على هذه السلالة.



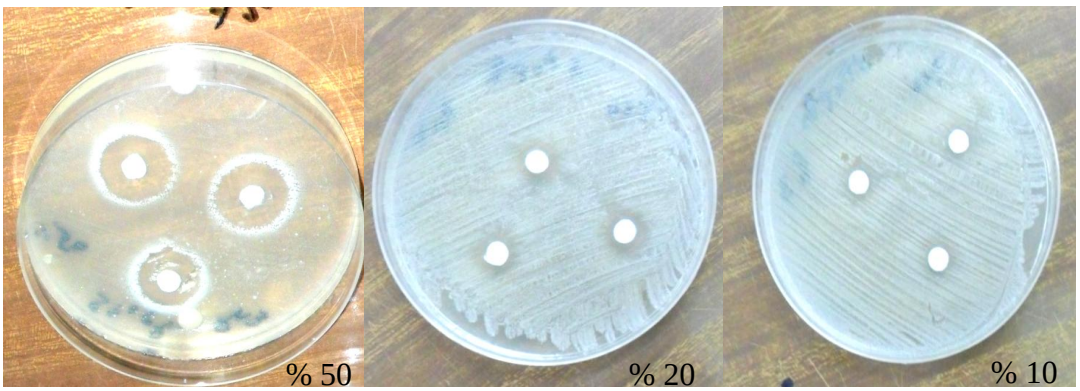

**الشكل (23):** النشاطية ضد بكتيرية للعينات الزيتية 01، 02 و03 ضد السلالة *C. freundii* ATCC 8090

قيم النتائج = 3 تكرارات ± SD



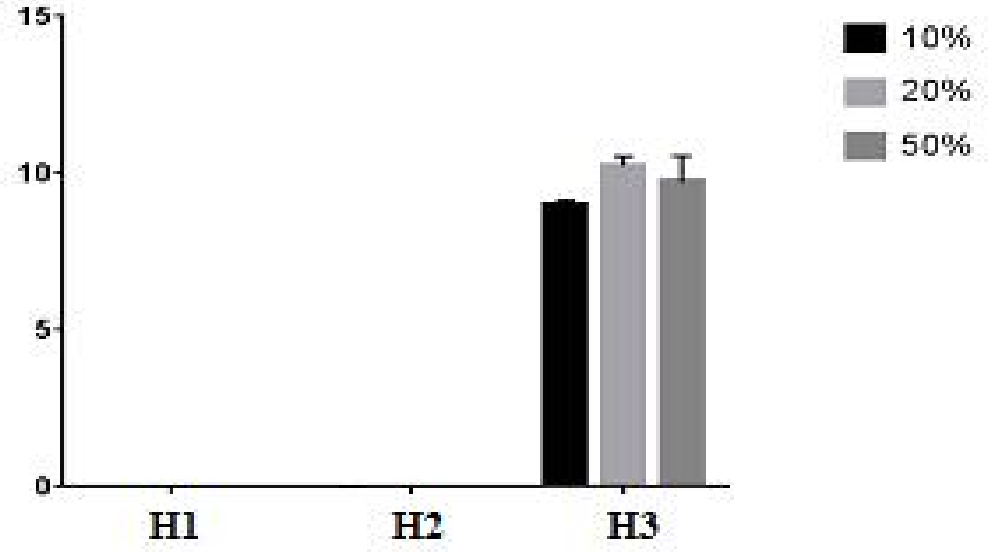

**الشكل (24):** النشاطية ضد بكتيرية للعينات 01، 02 و03 ضد السلالة *S. aureus* ATCC 25923

قيم النتائج = 3 تكرارات ± SD



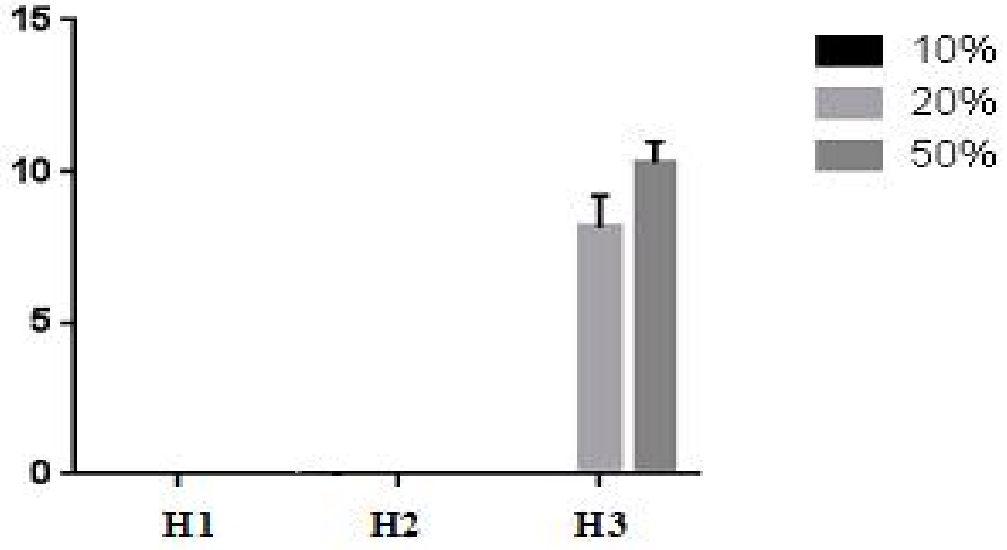

**الشكل (25):** تأثير زيت العينة رقم 03 على *S. aureus* ATCC 25923 بالتراكيز 10%، 20% و 50%.

أبدت السلالتان *E. coli* ATCC 25922 و*Schigella sonnei* حساسية ضعيفة تجاه زيت العينة رقم 3 تراوحت ما بين 08.97±0.72 و10.22 ±0.31 و09.73±0.80 ملم في التراكيز 10، 20 و50% على الترتيب، في حين لم يكن لبقية العينات الزيتية أي تأثير على هاتين السلالتين البكتيريتين، بينما كان تأثير المضاد الحيوي (GM) يساوي 25.16 ±0.70 و12.16 ± 0.28 ملم على الترتيب، الشكلين (26-27).




**الشكل (26):** النشاطية ضد بكتيرية للعينات الزيتية 01، 02 و03 ضد *Schigella sonnei*

قيم النتائج = 3 تكرارات ± SD




**الشكل (27):** النشاطية ضد بكتيرية للعينات الزيتية 01، 02 و03 ضد *E. coli* ATCC 25922

قيم النتائج = 3 تكرارات ± SD

من خلال هذه الدراسة أبدت العينة رقم 03 نشاطية ضد بكتيرية أكبر من باقي العينات الزيتية الأخرى تجـاه معظم السلالات البكتيرية المدروسة، بينما كانت العينة رقم 01 الأقل نشاطية من بين باقي العينات.

أشار Perry وآخرون، (2004) أن السبب في حساسية السلالات البكتيرية الموجبة الغرام أكثر من السلالات البكتيرية السالبة الغرام يعود إلى كون جدار الخلية البكتيرية عند هذه الأخيرة أكثر سمكا من جدار الخلية البكتيرية الموجبة الغرام، إذ وجد أن هذا الجدار يتكون من غشائين بلازميين تفصل بينهما طبقة من البيبتيدوغليكان peptidoglycane عند البكتيريا السالبة الغرام بينما في البكتيريا الموجبة الغرام يتكون من غشاء بلازمي واحد وطبقة واحدة من البيبتيدوغليكان. من خلال دراسة Hussain وآخرون، (2014) وجدوا أن عينات مختلفة من زيت الزيتون *Olea europaea* مستخلصة من ثمار ناضجة وغير ناضجة لها نشاطية محدودة على السلالات الموجبة الغرام والسالبة الغرام مثل *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* (لاتتجاوز 17 ملم)، وتأثيرها على البكتيريا السالبة الغرام أفضل من الموجبة الغرام، كما لوحظ أن مستخلصات الأوراق من نفس النبات أكبر نشاطية من زيوت نفس الثمار.

استنتج كل من McGaw وآخرون، (2005) أن الحمضين الدهنيين acide linolenique و methyl 5,11,14,17-eicosatetraenoate لهما تأثير ضد السلالات الموجبة الغرام مثل *Staphylococcus aureus* لكن كانا أقل نشاطية ضد السلالات السالبة الغرام مثل *Escherichia coli*، وفي دراسة Agoramoorthy وآخرون (2007) تبين أن البكتيريا الموجبة الغرام أكثر حساسية من البكتيريا السالبة الغرام. تظهر دراسة Q.A. Shah وآخرون، (2013) أن زيت الزيتون ذو نشاطية ضد بكتيرية مهمة ضد السلالات *Salmonella enteriditis* 13076 و25922 ATCC *E. coli*. أما Seidel وآخرون (2004) فقد استنتجوا أن النشاطية ضد البكتيرية للأحماض الدهنية غير المشبعة مثل oleique acide وacide linoleique ذات صلة بدرجة عدم التشبع، طول

السلسلة الكربونية والسلالة البكتيرية المختبرة، كما أن المركب acide Chaulmoogrique نافع و يستعمل في علاج الجذام (Trémoléires، 1998).

في دراسة لـ Michener وآخرون (1957) متعلقة بالنشاطية ضد بكتيرية لبعض المستخلصات كانت الأحماض الدهنية المشبعة ذات السلاسل الكربونية القصيرة منعدمة النشاطية أما الأحماض الدهنية ذات السلاسل الكربونية الطويلة فقد أظهرت نشاطية واضحة، بينما كانت نشاطية acide oleique قليلة. قام Maczulak وآخرون (1981) بدراسة تأثير الأحماض الدهنية الطويلة السلسلة "Acide palmitique و Acide stéarique" على نمو سبعة أنواع (13) سلالة من بكتيريا الجهاز الهضمي فوجدوا أن معظمها لم يتأثر نموها إلى حد كبير من قبل أي من هذه الأحماض.

**2-3-2- النشاطية ضد البكتيرية للزيوت الأساسية**

**2-3-2-1- النشاطية ضد البكتيرية للزيت الأساسي. لـ *Olea europea* L.**

لدراسة النشاطية ضد البكتيرية للزيت الأساسي للأجزاء الهوائية لنبات *Olea europea* تم استعمال نفس الطريقة السابقة "طريقة الانتشار على وسط صلب باستعمال الأقراص"، هذه الدراسة هي الأخرى أظهرت نشاطية تتراوح بين الضعيفة والمنعدمة ضد أربع سلالات بكتيرية "*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ، *Escherichia coli* ATCC 25922، *Citrobacter freundii* ATCC 8090 و *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853" كما هو مبين في الجدول (08)و الشكل (28).

حددت النشاطية ضد البكتيرية في هذه الدراسة بحساب قطر التثبيط حول القرص المشبع بالزيت بالمليمتر، وقد لوحظ أن البكتيريا الموجبة الغرام $Gram^+$ كانت الأكثر حساسية نسبيا للزيوت، إذ أبدت السلالة *Escherichia coli* ATCC 25922 مقاومة تامة للزيت الأساسي، أما *Pseudomonas aeruginosa*

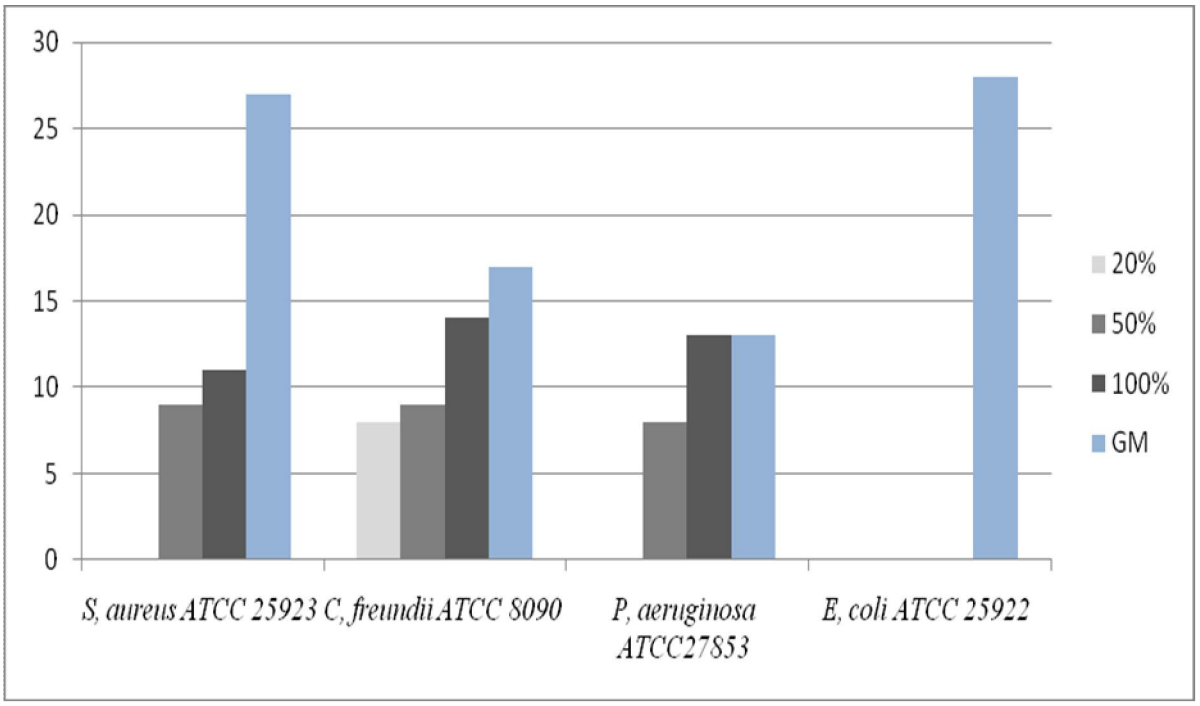
ATCC27853 فقد أبدت حساسية ضعيفة تقدر بـ 08 ملم و13 ملم في التركيزين 50% و 100% بالترتيب، في كذلك كانت النشاطية ضعيفة ضد السلالتين *Staphylococcus aureus ATCC* 25923 بقطري تثبيط 09ملم و11ملم في التركيزين 50% و 100%، بالترتيب و*Citrobacter freundii* ATCC 8090 بقطري تثبيط 08 ملم، 09 ملم و14ملم في التراكيز 10%، 05% و 100% بالترتيب.

كانت نتائج النشاطية ضد البكتيرية لـ (Keskın وآخرون، 2012) مشابهة جدا ضد سلالات عديدة منها السلالات *Staphylococcus aureus* ATCC43300، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853، *Escherichia coli* ATCC 29998، *Klebsiella pneumoniae* CCM 2318.

أظهر الزيت الأساسي للأجزاء الهوائية لـ *Olea europea* ذو نشاطية ضد بكتيرية معتبرة ضد عدة سلالات بكتيرية أهمها *Escherichia coli* و*Staphylococcus aureus* في دراسة Ravi وآخرون(2010)، كذلك كان للزيت الأساسي لنفس النوع النباتي نشاطية ضد بكتيرية معتبر ضد عدة سلالات أهمها *S. aureus*، *E. coli* و*P. aeruginosa* (Chehab وآخرون، 2013)، كذلك وجد (Brahmi وآخرون، 2013) أن للزيت الأساسي لسيقان و ثمار *Olea europaea* L. var. *chemchali* نشاطية ضد بكتيرية مهمة ضد *S. aureus*، *P. aeruginosa* و*E. coli* بهذا الترتيب.

**الجدول (08):** النشاطية الضد بكتيرية للزيت الاساسي لـ *Olea europea* المعبر عنها بأقطار التثبيط مقاسة بالميليمتر.

| | تركيز الزيت الأساسي لـ *Olea euroupea* (ح/ح) | | | |
|---|---|---|---|---|
| السلالات البكتيرية | 20% | 50% | 100% | GM |
| *Staphylococcus aureus ATCC* 25923 | 0 | 09 | 11 | 27 |
| *Citrobacter freundii* ATCC 8090 | 08 | 09 | 14 | 17 |
| *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 | 0 | 8 | 13 | 13 |
| *Escherichia coli* ATCC 25922 | 0 | 0 | 0 | 28 |



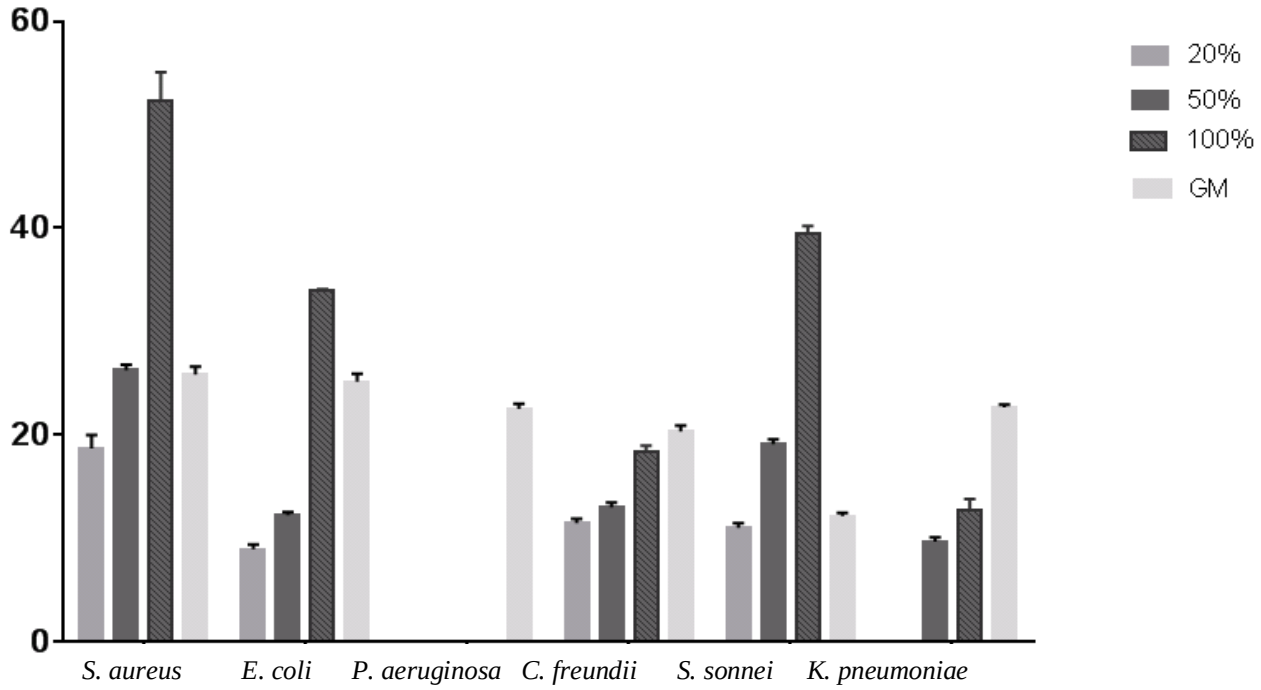

**الشكل (28):** نشاطية الزيت الأساسي لـ *Olea europea* ضد السلالة *S. aureus* ATCC25923 ، *E. coli* ATCC 25922، *P. aeruginosa* ATCC27853، *C. freundii* ATCC 8090.

### 2-2-3-2- النشاطية ضد البكتيرية للزيت الأساسي لـ *Mentha aquatica* L.

تظهر النتائج أن للزيت الأساسي لـ *Mentha aquatica* نشاطية واضحة ضد مختلف السلالات البكتيرية، كما هو مبين في الجدول (09) والشكل (29)، فالسلالتان *Citrobacter freundii* ATCC 8090 و *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 أظهرتا حساسية متوسطة تجاه الزيت الأساسي إذ قدر قطر التثبيط في التركيز 100% بـ 18.34±0.62 و12.67±1.13 ملم على التوالي بينما أبدت السلالات *Staphylococcus aureus* ATCC 25923، *Escherichia coli* ATCC 25922 و*Schigella sonnei* حساسية واضحة تجاه هذا الزيت تقدر في التركيز 100% بـ52.35 ±2.71، 34.01±0.95 و 39.41±0.78 ملم على التوالي، وفي التركيز 50% كانت أقطار التثبيط تساوي 26.24±0.53، 12.23±0.32 و19.11±0.42 ملم على التوالي، الشكلين (29-30) يبين النشاطية ضد البكتيرية لهذا الزيت الأساسي ضد السلالة *S. aureus* ATCC 25923، في حين أظهرت السلالة *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 مقاومة تامة تجاه الزيت الأساسي.

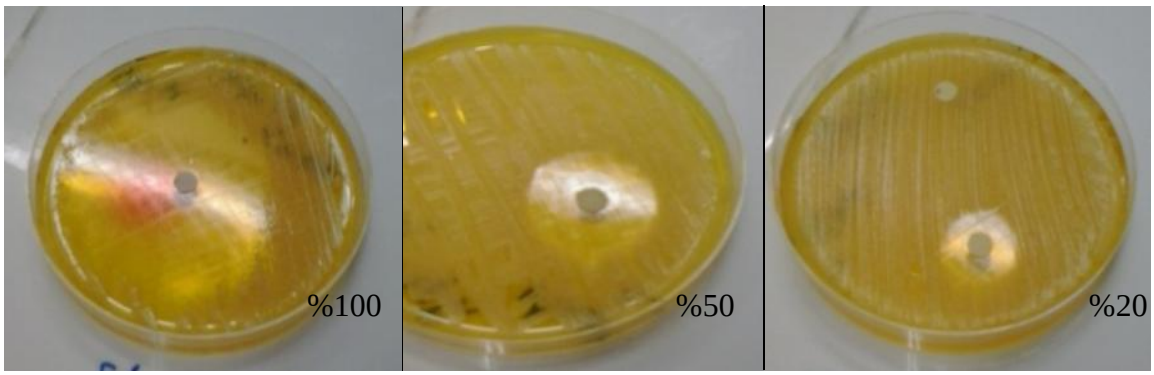
**الجدول (09):** النشاطية ضد البكتيرية للزيت الاساسي لـ *Mentha aquatica* المعبر عنها بأقطار التثبيط مقاسة بالميليمتر.

| السلالات البكتيرية | المضاد الحيوي | تركيز الزيت الأساسي لـ *Mentha aquatica L.* (ح/ح) | | |
|---|---|---|---|---|
| | GM | 20% | 50% | 100% |
| *Staph ylococcus aureus*ATCC 25923 | 25.83±0.76 | 18.68±1.29 | 26.24±0.53 | 52.35±2.71 |
| *Escherichia coli* ATCC 25922 | 25.16±0.76 | 8.96±0.45 | 12.23±0.32 | 34.01±0.95 |
| *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 | 22.5±0.5 | - | - | - |
| *Citrobacterfreundii* ATCC 8090 | 20.33±0.57 | 11.44±0.43 | 12.97±0.45 | 18.34±0.62 |
| *Schigella sonnei* | 12.16±0.28 | 11.01±0.47 | 19.11±0.42 | 39.41±0.78 |
| *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 | 22.66±0.29 | - | 9.67±0.4 | 12.67±1.13 |




**الشكل (29):** تأثير الزيت الأساسي لـ *Mentha aquatica* L. على السلالات *S. aureus* ATCC25923 ، *E. coli* ATCC 25922، *P. aeruginosa* ATCC 27853، *C. freundii* ATCC 8090، *S. sonnei* و*K. pneumoniae* ATCC 700603

قيم النتائج = 3 تكرارات ± SD




**الشكل (30):** تأثير الزيت الأساسي لـ *Mentha aquatica* ضد السلالة *S. aureus* ATCC25923 بالتراكيز 20%، 50% و100%.

من أجل تحديد نوعية تأثير الزيوت (تثبيط أو إبادة) تم تمرير أو مسح على هالة التثبيط بماصة باستور معقمة ثم ادخلها في أنبوب اختبار به سائل مغذي لتحضن هذه الأنابيب هي الأخرى في حاضنة درجة حرارتها 37°م لمدة 18-24 ساعة، فكانت النتيجة عدم تعكر محتوى الأنابيب و هذا يعني أن تأثير كل من الزيتان الاساسيان كان تأثير قاتل للسلالات البكتيرية المدروسة.

أظهر اختبار تأثير المذيب المستعمل "DMSO" والأقراص الفارغة (شاهد سلبي) على نمو السلالات البكتيرية المدروسة عدم وجود أي نشاطية ضد بكتيرية لهذا المذيب ضد جميع الأنواع البكتيرية المدروسة.

تختلف هذه النتيجة عن تلك التي تحصل عليها De Billerberck (2007) إذ وجد في دراسته للنشاطية ضد البكتيرية للزيت الأساسي للنوع *M. piperita* بدون تخفيف ضد السلالتين *P. Aeruginosa* و*S. Aureus* أن أقطار التثبيط تساوي 10ملم و40 ملم على التوالي.

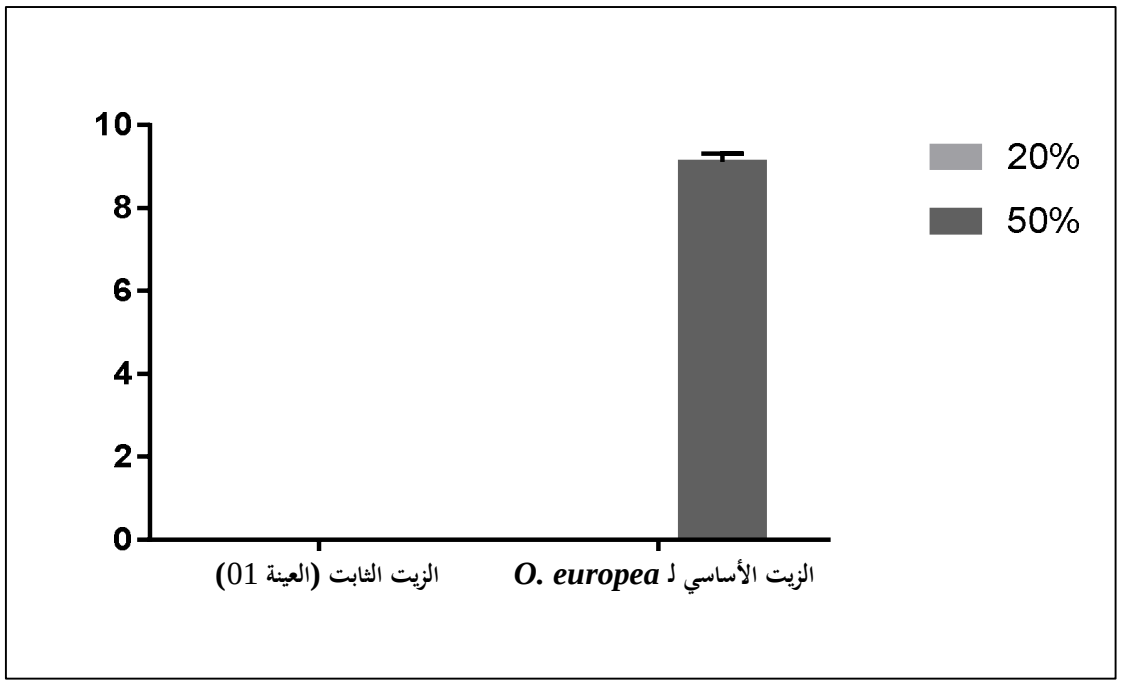
تحصل Saeed وآخرون (2006) على نتيجة أخرى عند دراسته لنشاطية الزيت الأساسي (بدون تخفيف) للنوع *M. piperita* ضد عدة سلالات بكتيرية، مستعملا طريقة الأقراص، إذ كان قطر تثبيط الزيت الأساسي للسلالة *E.coli* يساوي 13ملم، كما استنتج أن البكتيريا السالبة الغرام أكثر مقاومة للزيت الأساسي، بينما أظهرت دراسة Mahboubi وآخرون (2008) للنشاطية ضد البكتيرية للزيت الأساسي للنوع *M. pulegium* أن السلالة *E. coli* لم تبدي أي حساسية تجاه هذا الزيت الأساسي،و خلص إلى أن السلالات الموجبة الغرام أكثر حساسية للمستخلص الزيتي، بينما السلالات السالبة الغرام أبدت مقاومة كاملة.

أظهرت دراسة Hajlaouiوآخرون (2009) أن نشاطية الزيت الأساسي لكل من النوعين *M. Pulegium* و*M. longifolia* ضد عدة سلالات مثل *P. aeruginosa* ATCC *27853* و*S. aureus* ATCC *25923* كانت تتراوح بين الضعيفة والمتوسطة.

فسرت Burt (2004) طريقة تأثير الزيوت الأساسية على بعض السلالات البكتيرية، بأن للزيوت الأساسية خاصية مهمة وهي الذوبان في الدهون المتواجدة على سطح غشاء البكتيريا مما يجعله يتلف تركيبه ويفككه كما يغير من نفاذيته التي تصبح غير منظمة وعشوائية في الاتجاهين.

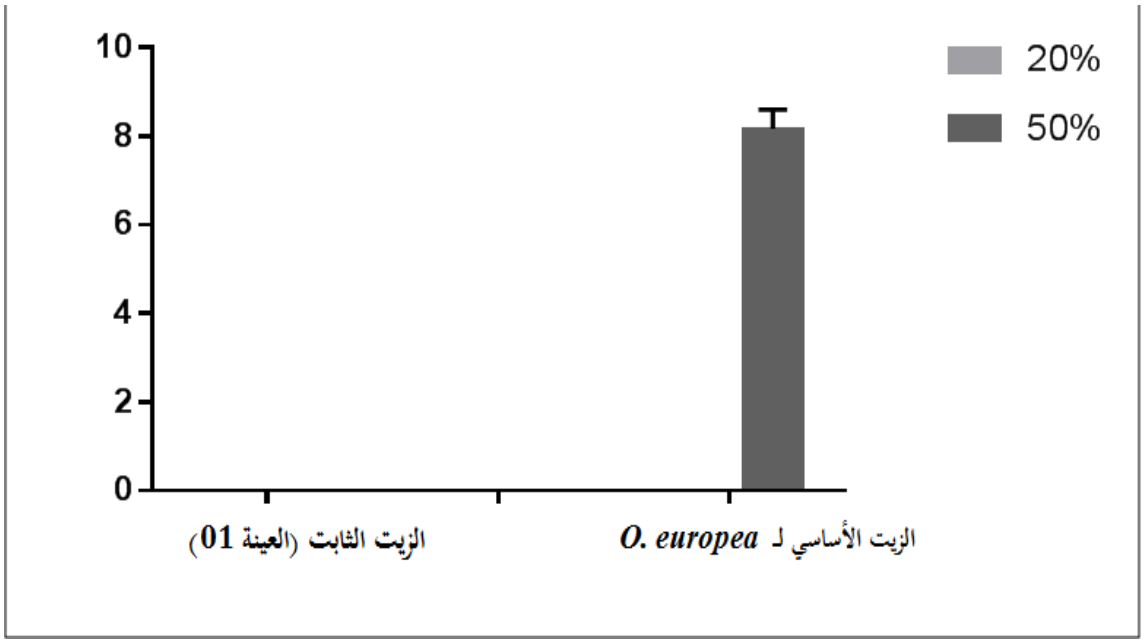
أما Belaiche (1979) فقد أرجع السبب إلى أن بعض الزيوت الأساسية تحتوي على مكونات هي المسؤولة عن الخاصية ضد البكتيرية مثل الكحولات: géraniol، الفينولات: eugénol، الكيتونات: carvone، thuyone، الألدهيدات: citral والأكسيدات والتربينات مثل: terpinène، limonène، pinène...

كانت نتائج النشاطية ضد البكتيرية للزيت الزيتون المستخلص من ثمار شجرة *Olea euroupea* (العينة 01) والزيت الأساسي المستخلص من الأجزاء الهوائية من نفس النبات ضد السلالات *Staphylococcus aureus* ATCC 25923، *Escherichia coli* ATCC 25922، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 و*Citrobacter freundii* ATCC 8090 متباينة حسب التركيز والسلالة البكتيرية المستعملة، فالسلالة *E. coli* ATCC 25922 كانت مقاومة تامة اتجاه العينتين الزيتيتين، فيما أبدت كلا السلالتان *S. aureus* ATCC 25923 و *P. aeruginosa* ATCC 27853 حساسية ضعيفة (09ملم) و(08ملم) على التوالي تجاه الزيت الأساسي في التركيز 50% ومنعدمة في التركيز 20% كما هو مبين في الشكلين (31، 32)، بينما كانت مقاومة لزيت العينة رقم01.




**الشكل (31):**تأثير الزيت الأساسي والزيت الثابت (العينة 01) لنبات *Olea europea* على *S. aureus* ATCC 25923

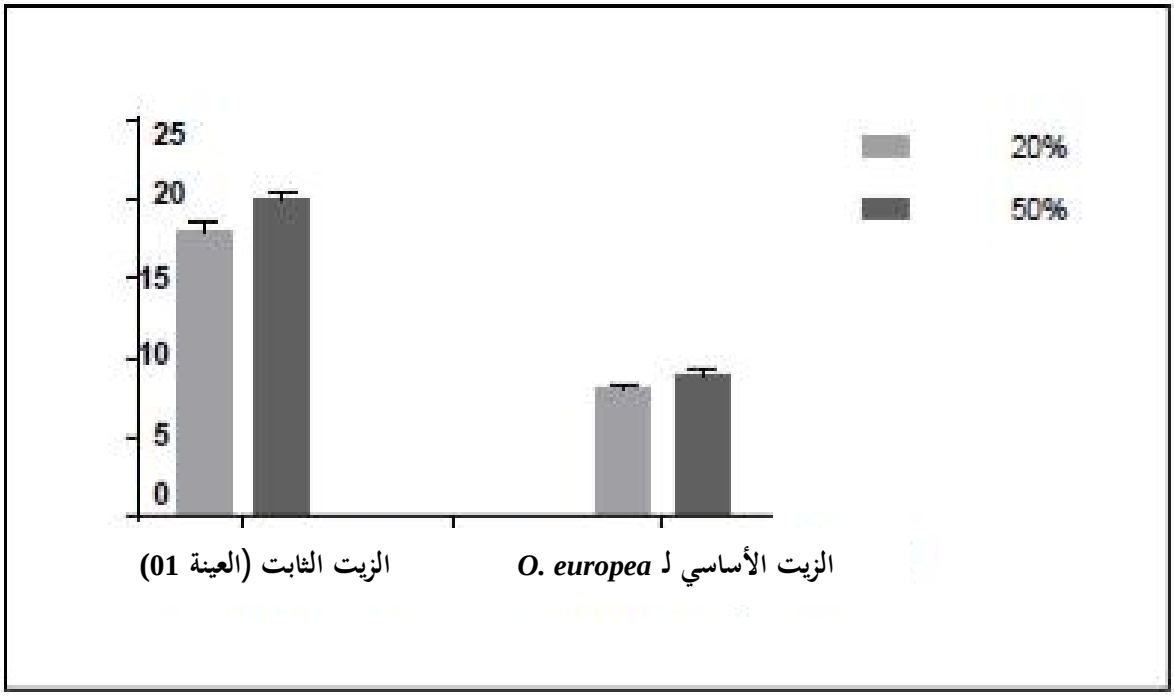
قيم النتائج = 3 تكرارات ± SD




**الشكل (32):** تأثير الزيت الأساسي والزيت الثابت (العينة 01) لنبات *Olea europea* على *P. aeruginosa* ATCC27853

قيم النتائج = 3 تكرارات ± SD

كما أبدت السلالة *C. freundii* ATCC 8090 حساسية متوسطة اتجاه زيت الزيتون (العينة 01) وضعيفة اتجاه الزيت الأساسي *Olea europea* إذ قدر قطر تثبيط تأثير الزيت الأساسي والزيت الثابت للعينة 01 بـ 08 ملم و 18.85 ملم في التركيز 20%و بـ 09 ملم و20.05 ملم على التوالي في التركيز 50%، الشكل (33).

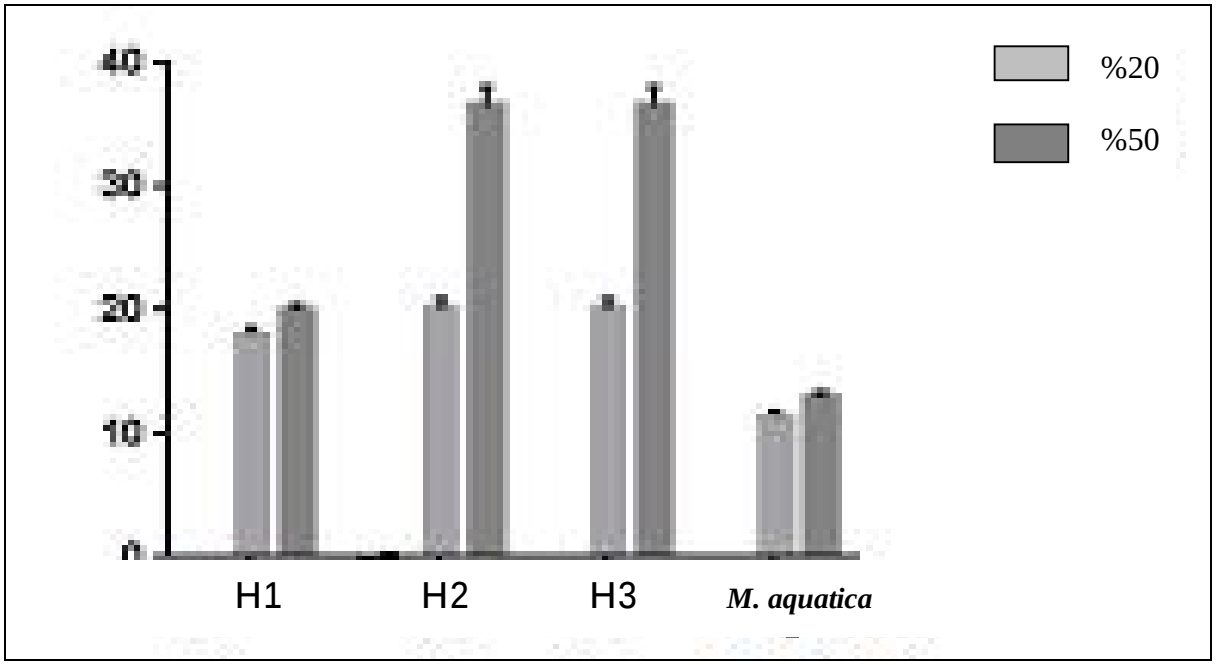



**الشكل (33):** تأثير الزيت الأساسي والزيت الثابت (العينة 01) لنبات *Olea euroupea* على *C. freundii* ATCC 8090

قيم النتائج = 3 تكرارات ± SD

من جهة أخرى تظهر نتائج النشاطية ضد البكتيرية لعينات الزيوت الزيتون: (01، 02، 03) والزيت الأساسي لـ *M. aquatica* اختلافا في أقطار التثبيط لمختلف السلالات البكتيرية، فالسلالة *C. freundii* ATCC 8090 كانت حساسة تجاه عينات زيت الزيتون الثلاث أكبر من حساسيتها تجاه الزيت الأساسي لـ*M. aquatica* كما هو مبين في الشكل (34)، إذ كانت أقطار التثبيط 20.05± 0.42 ملم، 36.59±1.96 ملم و38.76± 1.08 ملم في التركيز 50% و18.85±0.54 ملم، 20.12± 0.79 ملم و27.60±2.09 ملم في التركيز 20% بالنسبة

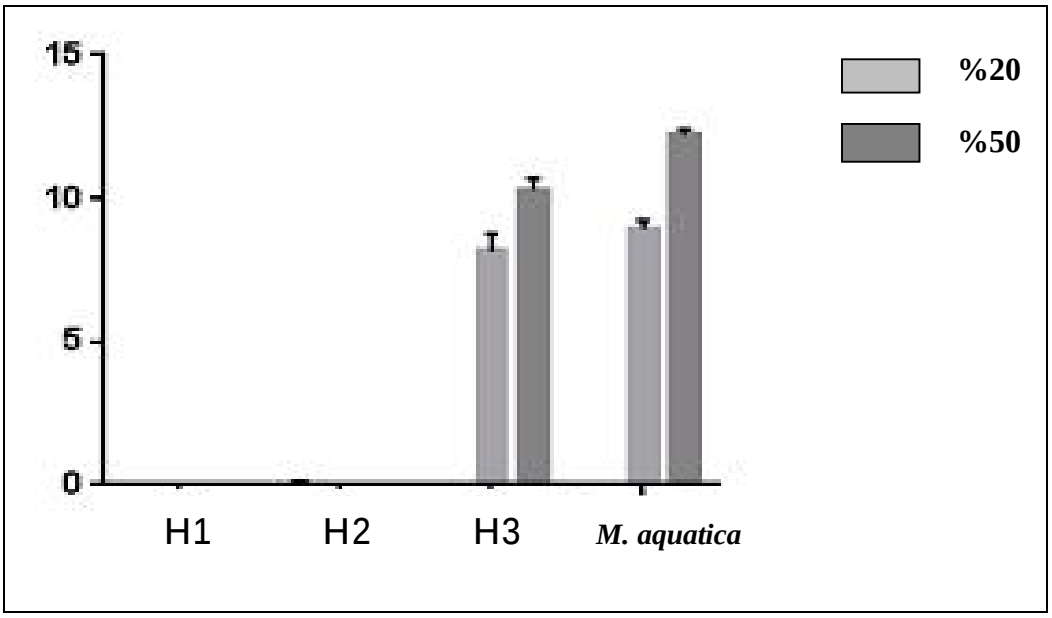
للعينات 01، 02 و03 على الترتيب؛ أما بالنسبة لـ *M. aquatica* كانت اقطار التثبيط تساوي 12.97±0.45 ملم و11.44±0.43 ملم في التركيز50% و20% بالترتيب .




**الشكل (34):** تأثير الزيت الأساسي *Mentha aquatica* وزيت (العينات 01، 02،03) على السلالة *C. freundii* ATCC 8090

قيم النتائج = 3 تكرارات ± SD

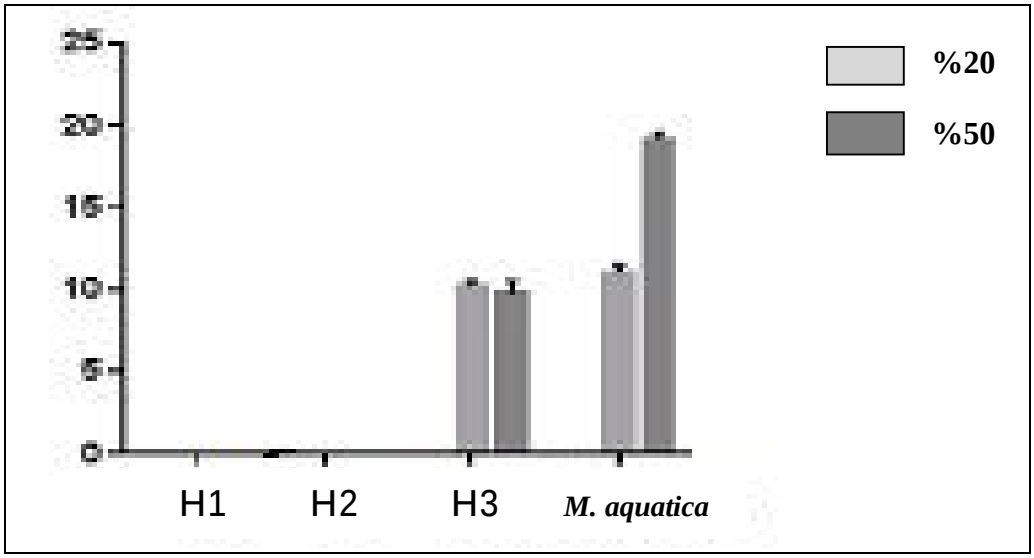
أما السلالة *E. coli* ATCC 25922 فكانت حساسيتها ضعيفة اتجاه الزيت الأساسي لـ *M. aquatica* إذ قدرت أقطار تثبيط بـ 08.96±0.45 و12.23±0.32 ملم في التركيزين 20%، 50% على التوالي، كما كانت حساسيتها ضعيفة أيضا اتجاه العينة رقم 03 من زيت الزيتون بأقطار تثبيط 08.15±1.06ملم و10.29±0.70 ملم في التركيزين 20%، 50% على التوالي كذلك، لكنها كانت مقاومة للعينتين الزيتيتين 01 و02، الشكل (35).




**الشكل (35):** تأثير الزيت الأساسي*Mentha aquatica* وزيت (العينات 01، 02،03) على *E. coli* ATCC 25922

قيم النتائج = 3 تكرارات ± SD

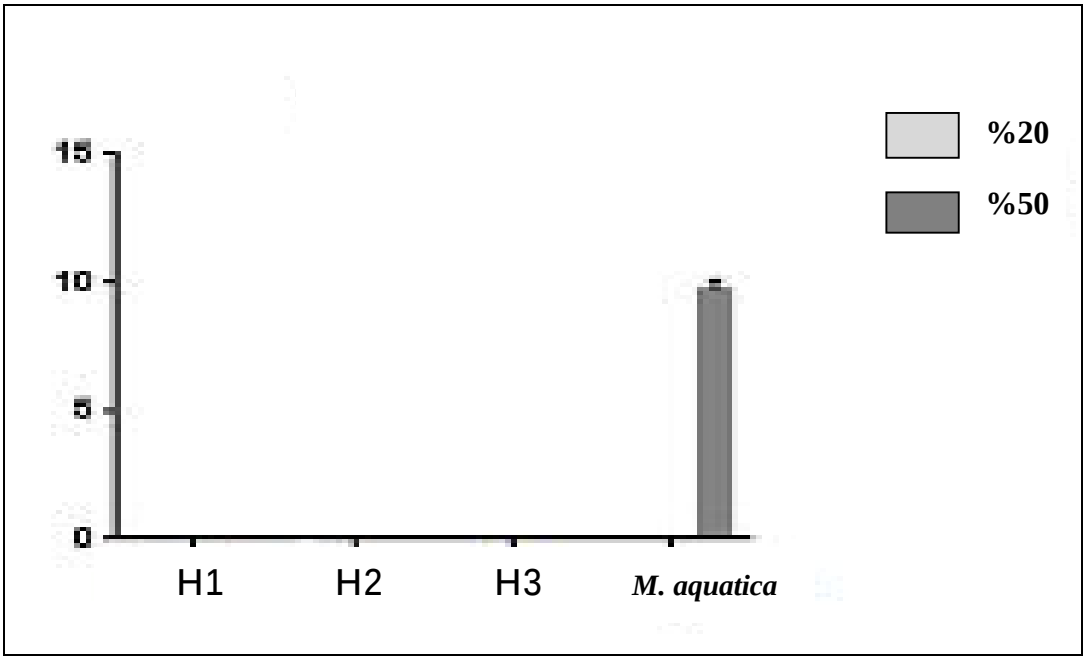
بدورها السلالة *Schigella sonnei* أظهرت حساسية اتجاه الزيت الأساسي والعينة رقم 03 تقدر بـ 10.22± 0.31 ملم و 09.73 ± 0.80 ملم في التركيزين 20% و50% بالترتيب، لكنها أبدت مقاومة للعينتين 01 و02 كما هو مبين في الشكل (35).




**الشكل (36):** تأثير الزيت الأساسي*Mentha aquatica* وزيت (العينات 01، 02،03) على *Schigella sonnei*

قيم النتائج = 3 تكرارات ± SD

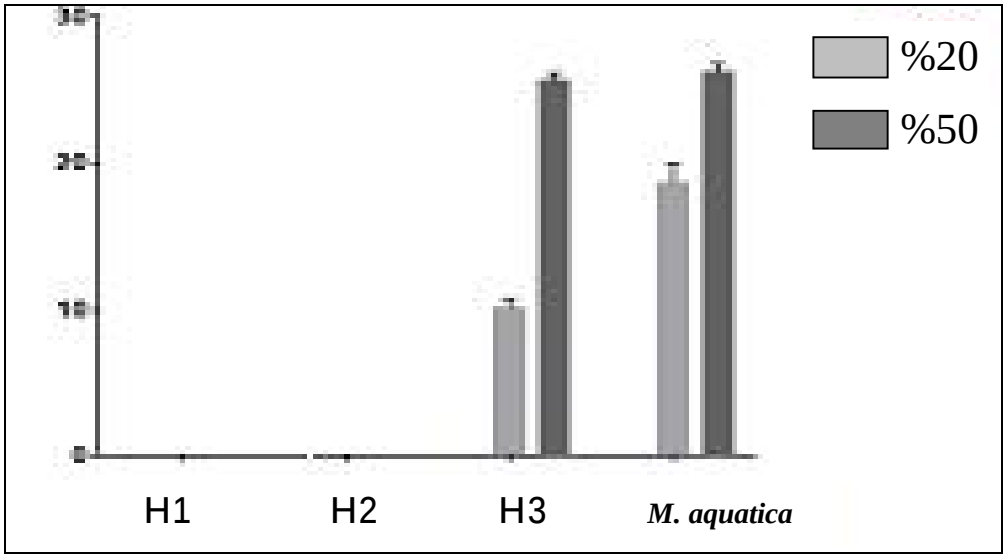
في حين كان للزيت الأساسي لـ *M. aquatica* تأثير ضعيف ضد السلالة *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603 بقطر تثبيط يساوي 09.67 ± 0.4 ملم في التركيز 50% ومنعدم في التركيز 20%، عكس العينات الزيتية 01،02 و03 التي لن يكن لها أي تأثير ضد هذه السلالة البكتيرية كما هو موضح في الشكل (36).




**الشكل (37):** تأثير الزيت الأساسي*Mentha aquatica* وزيت (العينات 01، 03،02) على *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603

قيم النتائج = 3 تكرارات ± SD

كانت السلالة *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 مقاومة لزيت العينتين 01 و02 وحساسة تجاه العينة 03 والزيت الأساسي لـ *M. aquatica* بأقطار تثبيط 10.10±0.65 ملم و18.68±1.29ملم بالترتيب في التركيز 20% و25.67±0.49 ملم و26.24±0.53 ملم بالترتيب في التركيز 50%، النتائج موضحة في الشكل رقم (37)، هاتين النتيجتين الأخيرتين متقاربتان مع بعضهما ومع نتيجة الشاهد الإيجابي.




**الشكل (38):** تأثير الزيت الأساسي *Mentha aquatica* وزيت (العينات 01، 02،03)

على *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

**النتيجة العامة:**

تهدف هذه الدراسة إلى التعرف على بعض المستخلصات النباتية وطرق استعمالها في الطب الشعبي المعتمدة على التجريب والتي تقودنا تحسين طرق استغلال هذه الثروة النباتية.

سمحت عملية التحليل الكيميائي للمواد الدسمة المكونة لزيت الزيتون المخزنة لمدة سنة من التعرف على 16 حمضا دهنيا 8 منها مشبعة تمثل 15.81 % و 08 مركب دهنية غير مشبعة تمثل 84.19 %، أما العينة الثانية المخزنة لمدة 12 سنة فكانت تحتوي على 18 مركبا دهنيا 10 منها مشبعة تمثل 16.76 % منها مركبان اثنان جديدان لم يظهرا في العينة الأولى و8 أحماض دهنية غير مشبعة تمثل 83.18 % ، أما العينة الثالثة والمخزنة لمدة 33 عاما وجد أنها تتكون من 30 حمضا دهنيا، 08 منها غير مشبعة تمثل 52.28 % و22 حمضا دهنيا مشبعا يمثل 46.35 % منها 14 حمضا دهنيا جديدا لم يظهر في العينة الأولى .

أظهر التحليل الكيميائي للزيت الأساسي المستخلص من الأجزاء الهوائية لنفس النبات *Olea europea* L. من وجود 38 مركبا أما العنصر الغالب كان acide Hexadecanoique (acide palmitique) بنسبة 14.71 % ثم Nerolidol-(Z) بنسبة 09.45%. هذه النتائج تظهر بعض اختلافات في التركيب الكيميائي للزيت الثابت المستخلص من ثمار نبات *Olea europea* L. والزيت الأساسي المستخلص من الأجزاء الهوائية لنفس النبات. أما التحليل الكيميائي للزيت الأساسي للنوع *Mentha aquatica* فقد كشف عن وجود 43 مركبا، أما المركبات الغالبة فكانت linalyl acetate 26,10 %، α-pinene 22,7 %، linalol 13,75 %.

من خلال نتائج النشاطية ضد البكتيرية لهذه العينات الزيتية نلاحظ أن العينة رقم 03 من زيت الزيتون والزيت الأساسي لـ *M. aquatica* كان لهما تأثير هام ضد مختلف السلالات البكتيرية المدروسة السالبة والموجبة الغرام مثل *Staphylococcus aureus* ATCC 25923، *freundii* ATCC 8090 و *E. coli* ATCC 25922، *Schigella sonnei* بالترتيب بالنسبة للنباتين المذكورين، منها ماهو أفضل من نشاطية المضاد الحيوي أما الزيت

الأساسي لـ *Olea europea* فقد أظهر نشاطية متفاوتة تراوحت بين الضعيفة والمنعدمة ضد مختلف السلالات البكتيرية، إذ كان الأقل نشاطية مقارنة بالعينات الأخرى.

إن اختيار هذه العينات الزيتية لم يكن مصادفة، فهي من أشهر الأنواع النباتية الطبية في منطقة سطيف والجزائر ككل، كما أن الأنواع النباتية معروفة بالاختلاف مورفولوجيا وبيولوجيا وفي المكونات الكيميائية حسب البيئة التي تتواجد فيها والظروف المناخية السائدة وكذلك طرق استعمال هذه النباتات الطبية التي تعتبر السر الاكبر لفعاليتها، هذه العوامل وغيرها تؤثر في فعالية النبات ونشاطاته البيولوجية مما يوحي بدراسة هذه النباتات حسب المناطق الموجودة فيها وحسب طرق استعمالها.

## المراجع:


- **محمود صالح سراج علي، يونس محمد الحسن** (2002). تأثير استزراع النباتات الطبية البرية على خواصها الكيميائية والحيوية، التقرير النهائي المقدم إلى عمادة البحث العلمي،جامعة الملك فيصل.

-**العكيدي حسن خالد حسن** (2000). الزيتون وزيت الزيتون تكنولوجيا الزراعة والتصنيع. دار زهران للنشر والتوزيع، عمان.

- **حجاوي غسان ، المسيمي حياة ، محمد جميل قاسم رولا** (2004). علم العقاقير، الطبعة الأولى، مكتبة دار الثقافة للنشر والتوزيع –عمان – الأردن..

- **دحية مصطفى** (2007). النباتات الطبية في مناطق الجلفة، بوسعادة ومسيلة. دراسة نبات القزاح : أنواعه، التركيب الكيميائي والنشاطية البيولوجية للزيوت الطيارة للسيقان. أطروحة دكتوراه العلوم، كلية العلوم- جامعة فرحات عباس، سطيف.

**-المدونة الجزائرية "1995"**

- **Abd El- Wahab M. A.** (2009). Evaluation of Spearmint (*Mentha Spicata* L,) Productivity Grown in Different Locations under Upper Egypt Conditions. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5(3): 250-254,

- **Adam M., Dobiáš P., Pavlíková P., Ventura K.** (2009). Comparison of solid-phase and single-drop microextractions for headspace analysis of herbal essential oils. *Cent, Eur, J, Chem*, 7(3) : 303-311,

- **Agoramoorthy G., Chandrasekaran M., Venkatesalu V. and Hsu M.J.** (2007). Antibacterial and antifungalactivities of fattyacidmethyl esters of the blind-your-eye mangrove fromIndia. *Brazilian Journal of Microbiology*, , 38:739-742.

- **Agostini F., Santos A.C.A.d., Rossato M., Pansera M.R., Santos P.L.d., Serafini A., Molon R., Moyna P. (2009).** Essential oil yield and composition of Lamiaceae species growing in southern Brazil. *Braz. Arch. oil. Technol*; vol.52 no.2 :473–478.

- **Ali-Delille L.** (2013). Les plantes médicinales d'Algérie. 3 ème éd., *BERTI Edition* . p8,183.

- **Alitonou G., Avlessi F., Wotto V. D., Ahoussi E., Dangou J., Sohounhloué D. C.K.** (2004). Composition chimique propriétés antimicrobiennes et activité sur les tiques de l' huile essentielle d'*Eucalyptus tereticornis.* Sm. C, R, *Chimie*, 7, 1051-1055,

- **Amarti F., Satrani B., Aafi M., Ghanmi A., Farah A., Abechane M., El ajjouri M., El Antry S., Chaouch A.** (2008). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* du moroc, *phytothérapie*, 6, 342-347.

- **Ammar S., Zribi A., Ben Mansour A., Ayadi M., Abdelhedi R. and Bouaziz M.** (2014). Effect of Processing Systems on the Quality and Stability of Chemlali Olive Oils. *Journal of Oleo Science*, 63(4) : 311-323.

- **Apfelbaum M., Romon M., Dubus M.** (2004). Diététique et nutrition. 6e édition., *Masson*, Paris. Pp 535.

- **Arumugam P., Gayatri Priya N., Subathra M., Ramesh A.** (2008). Anti-inflammatory activity of four solvent fractions of ethanol extract of *Mentha spicata* L, investigated on acute and chronic inflammation induced rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26, 92–95.

- **Arumugam P., Ramamurthy P., Sathiyavedu T.S. and Ramesh A.** (2006). Antioxidant activity measured in different solvent fractions obtained from *Mentha spicata* Linn,: An analysis by ABTS.+ decolorization assay, *Asia Pac J Clin Nutr*, 11, 119-124,

- **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (**2008**).** Biological effects of essential oils, - *Review- Food and Chemical Toxicology*, 46, 446–475.

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

- **Belcadi-Haloui R., Zekhnini A., El Hadek M., Hatimi A.** (2015). Effect of Light and Oxygen on Argan Oil Stability during a Long-Term Storage. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology* , 4(2): 8-14.

- **Belhattab R.** (2005). Composition chimique et propriétes antioxydantes, antifongiques et antiaflatoxinogenes d extrais de *Origanum glandulosum* Desf, et *Marrubium vulgare* L,(famille des *Lamiaceae*),thèse de doctorat d ètat, Département de biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.

- **Beloued A.** (1998). Les plantes médicinales d Algérie,Ed, O,P,U, Alger, p136,

- **Beltran G., Rio C.D., Sanchez S., Martinez L.** (2004).Influence of harvest data and cropyield on fattyacid composition of virgin olive oilsfromcv. Picual. *J, agric. Foodchem.* 52: 3434-3440.

- **Benayad N., Mosaddak M., Hakiki A.** (22 Juin 2007). Evaluation Chimique et Insecticide de l'huile essentielle de *Mentha pulégium*, Journée Scientifique « Ressources Naturelles et Antibiothérapie», Faculté des Sciences – Kenitra.

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

- **Bhat S., Maheshwari P., Kumar S. and Kumar A. (2002).** Mentha species: In vitro Regeneration and Genetic Transformation. *Molecular Biology Today*; 3(1): 11–23.

- **Borchani C., Besbes S., Blecker Ch., and Attia H.** (2010). Chemical Characteristics and Oxidative Stability of Sesame Seed, Sesame Paste, and Olive Oils. *J. Agr. Sci. Tech.*, Vol. 12, 585-596.

- **Boskou D..** (2006). Olive Oil Chemistry and Technology. 2nd Edition, *Library of Congress Cataloging-in-Publication Data,* pp253.

- **Bouaoun D., Hilan C., Garabeth F., Sfeir R.** (2007). Etude de l activité antimicrobienne de huile essentielle d une plante sauvage *Prangos asperula* Boiss. *Phytothérapie*, 5, 129-134.

- **Boulfane S., Maata N., Anouar A. et Hilali S.** (2015). Caractérisation physicochimique des huiles d'olive produites dans les huileries traditionnelles de la région de la Chaouia-Maroc. *Journal of Applied Biosciences*, 87, 8022– 8029

- **Brada M., Mouhamed B., Michel M., Annabelle C., Georges L.** (2007). Variabilité de la composition chimique des hiules essentielles de *Mentha rotundifolia* du nord dalgérie. *Biotechnol, Agron, Soc,* 11(1) : 3-7.

- **Brahmi F., Flamini G., Dhibi M., Mastouri M. and Hammami M.** (2013). Composition and Antioxidant and Antimicrobial Activity of the Volatile Oils from *Olea europaea* L. Fruit and Stem. *American Journal of Drug Discovery and Development*, 3: 235-244.

-**Brahmi F., Flamini G., Issaoui M., Dhibi M., Dabbou S., Mastouri M. et Hammami M.** (2012). Chemical composition and biological activities of volatile fractions from three Tunisian cultivars of olive leaves. *Med Chem Res,* 21 : 2863–2872.

- **Brahmi F., Flamini G., Mechri B., Dhibi M. and Hammami M.** (2015). Antioxidant Activity of the Leaf Volatile Oil and Extracts of *Olea europaea* L.cv. Chetoui from Northern Tunisia. *J Food Nutr Disor,* 4:3, 1-5.

- **Bruneton J.** (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, . TEC et DOC, Paris.

- **Bupesh G., Amutha C., Nandagopal S., Ganeshkumar A., Sureshkumar P., Saravana Murali K.** (2007). Antibacterial activity of *Mentha piperita* L. (peppermint) from leaf extracts – a medicinal plant, *Acta agriculturae Slovenica,* 89 (1): 73 – 79.

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

- **Campeol E., Flamini G., Chericoni S., and Catalano S.** (2001). Volatile Compounds from Three Cultivars of *Olea europaea* from Italy. *J. Agric. Food Chem., 49,* 5409-5411.

- **Campeol E., Flamini G., Luigi Cioni P., and Morelli I.** (2003). Volatile Fractions from Three Cultivars of *Olea europaea* L. Collected in Two Different Seasons. *J. Agric. Food Chem.***,** 51, 1994-1999.

- **Cantino P.D., Olmstead R.G., Wagstaff S.J.** (1997). A comparison of phylogenetic nomenclature with the current system: a botanical case study. Syst *Biol,* 46(2) : 313-331.

- **Chase M. W. and Reveal J. L. (2009).** A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III**.** *Botanical Journal of the Linnean Society,* vol.161, 122–127.

- **Chase M. W. and The angiosperm phylogeny group** (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society,* vol.161: 105–121.

- **Chauhan R.S., Kaul M.K., Shahi A.K., Kumar A., Ram G., Tawa A.** (2009). Chemical composition of essential oils in *Mentha spicata* L. Accession [IIIM(J)26] from North-West Himalayan region, India. *Industrial crops and products,* 2 9, 654–656.

- **Chehab H., Issaoui M., Flamini G., Mechri B., Attia F., Luigi C. P., Boujnah D. And Hammami M.** (2013). Oil quality and aroma composition of 'Chemlali' olive trees (*Olea europaea* L.) under three irrigation regimes. *African Journal of Agricultural Research,* Vol. 8(48), pp. 6291-6299.

- **Cossignani L., Luneia R., Damiani P., Simonetti M. S., Riccieri R., Tiscornia E.** (2007). Analysis of isomeric diacylglycerolic classes to evaluate the quality of olive oil in relation to storage conditions. *Eur Food Res Technol.,* 224: 379–383.

- **Crété P.,** (1965). Précis de botanique. Tome 2 Systématique des angiospermes, 2 ème édition, *Masson et C^ie. P 323-324.*

- **Cronquist A.** (1981). An integrated systemof classi.cation of owering plants. *Columbia Univ*. Press, New York.

- **Da Porto C., Decorti D.** (2009). Ultrasound-assisted extraction coupled with under vacuum distillation of oil i compounds from spearmint (carvone-rich) plants: Comparison with conventional hydrodistillation. *Ultrasonics Sonochemistry,* 16, 795–799.

- **Dabbou S., Gharbi I., Dabbou S., Brahmi F., Nakbi A. and Hammami M. (2011).** Impact of packaging material and storage time on olive oil quality. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(74): 16937-16947.

- **De Billerberck V,G,** (2007)- Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques, *Phytothérapie*, 5, 249-253.

- **Del Caro A., Vacca V., Poiana M., Fenu P., Piga A.** (2005). Influence of technology, storage and exposure on components of extra virgin olive oil (Bosana cv) from whole and de-stoned fruits. *Food Chemistry*, 98, 311–316.

- **Denis Doré Ph. D.** (1994). Biochimie Clinique. *Maloine,Paris, France*. Pp878.

- **Desjobert J.M., Bianchini A., Tommy P., Costa J. et Bernardini A.F.** (1997). Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse/ spectrométrie de masse, Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis*, 25(6) : 13-16.

- **Duraffourd C., D'Hervicourt L., Lapraz J.C.** (1990). Cahier de phytothérapie clinique examen de laboratoire galénique, élément thérapeutiques synergiques. Tome 1, 2$^{éme}$ oil ic, *Masson, Paris.*

- **Duverge J.** (2009). La pharmacie végétale à l'usage des particuliers.1$^{er}$ éd., *Pein des sens,* p 3.

- **Edris A.E., Shalaby A.S., Fadel H.M., Abdel-Wahab M.A.** (2003). Evaluation of a chemotype of spearmint (*Mentha spicata* L,) grown in Siwa Oasis. Egypt. *Eur Food Res Technol*, 218, 74–78.

- **El Hassani F.Z., Zinedine A., Bendriss Amraoui M., Errachidi F., Mdaghri Alaoui S., Aissam H., Merzouki M., Benlemlih M**. (2009. Characterization of the harmful effect of olive mill wastewater on spearmint. *Journal of Hazardous Materials,* 170, 779–785.

- **Elqaj M, Ahami A, et Belghyti D.** (2007). La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires .*Journée scientifique ressources naturelles et antibiotiques. Maroc.*

- **Esmaeili A, Rustaiyan A, Masoudi S, Nadji K.** (2006)**.** Composition of the essential oils of *Mentha oil ic* L. and *Nepeta meyeri* Benth. From Iran. *Journal of Essential oil Research*: JEOR; 18(3): 263–265.

- **Esmaeili A., Shaykhmoradi F. and Naseri R.** (2012). Comparison of oil content and fatty acid composition of native olive genotypes in different region of Liam, Iran. *Intl J Agri Crop Sci.* Vol., 4 (8), 434-438.

- **Ferhat R., Laroui1 S., Zitouni B., Lekbir A., Abdeddaim M., Smaili N. and Mohammedi Y.** (2014). Experimental study of solid waste olive's mill: Extraction modes optimization and physicochemical characterization. *J. Nat. Prod. Plant Resour.*, 4 (2):16-23.

- **Flavia P., Zorica V. and Delia B.** (2014). Effects of temperature and storage time on the quality of alimentary animal fats. *International Food Research Journ*al 21(4): 1507-1514.

- **Frankel, E.N., Selke, E., Neff, W.E., Miyashita, K.** (1992). Autoxidation of polyunsaturated triacylglycerols. IV. Volatile decomposition products from triacylglycerols containing linoleate and linolenate. *Lipids,* 27 (6): 442–446.

- **French L.G.,** (2002). Isolation of I-(+)-Pulegone from the European Pennyroyal Mint. *Mentha Pulegium*. *Chem. Educator*, 7, 270-277.

- **G´omez-Prieto M.S., Ruiz del C.M.L., Flores G., Santa-Maria G., Gracia P.B.** (2007). Application of Chrastil's model to the extraction in SC-CO2 of β-carotene and lutein in *Mentha spicata* L.. *J, of Supercritical Fluid*s, 43, 32–36.

- **Gallardo-Guerrero L., Gandul-Rojas B., Roca M., and Mª Mínguez-Mosquera I.** (2005). Effect of Storage on the Original Pigment Profile of Spanish Virgin Olive Oil. *JAOCS*, Vol.82(1), 33-39.

- **Gambacorta G., Del Nobile M.A., Tamagnone P., Leonardi M., Faccia M. and Lanotte E.** (2004). Shelf-life of extra virgin olive oil stored in packages with different oxygen barrier properties. *Ital. J.Food Sci.*, n. 4 vol. 16, 417- 428.

- **Gharbi I., Issaoui M., Mehri S., Cheraief I., Sifi1 S., Hammami M.** (2015). Agronomic and Technological Factors Affecting Tunisian Olive Oil Quality. *Agricultural Sciences*, 6, 513-526.

- **Gobert V., Moja S., Colson M., and Taberlet P.** (2002). Hybridization in the section *Mentha* (Lamiaceae) inferred from AFLP MARKERS. *American Journal of Botany*, 89(12) : 2017–2023.

- **Gorenflot R.** (1994). Biologie végétale plantes supérieures 1, appareil végétatif, 4e édition, . Masson , Paris.

- **Gorinstein S., Martin-Belloso O., Katrich E., Lojek A., Cˇ ı´zˇ M., Gligelmo-Miguel N., Haruenkit R.,.Park Y., Jung S., Trakhtenberg S.** (2003). Comparison of the contents of the main biochemical compounds and the antioxidant activity of some Spanish olive oils as determined by four different radical scavenging tests. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14, 154–159.

- **Gracindo L. A. M. B., Grisi M.C.M., Silva D.B., Alves R.B. N., Bizzo H.R., Vieira R.F.** (2006). Chemical characterization of mint (*Mentha* spp,) germplasm at Federal District, Brazil. *Rev, Bras, Pl, Med,, Botucatu,* 8, 5-9.

- **Guerfel M., Mansour M.B., Ouni Y., Guido F., Boujnah D.** and **Zarrouk M.** (2012). Chemical composition of virgin olive oils from the Chemlali cultivar with regard to the method of the olive tree propagation. *Grasas y aceites*, 63 (3), 290-295.

- **Guignard J .L, Cosson L, et Henry M.** (1985). Abrégé de phytothochimie .Edition Masson Paris, pp : 155-174.

- **Guignard J .L. Cosson L. et Henry M**. (1985). Abrégé de phytothochimie. *Masson Paris*, pp 155-174.

- **Gulluce M., Sahin F., Sokmen M., Ozer H., Daferera D., Sokmen A., Polissiou M., Adiguzel A., Ozkan H.** (2007)**.** Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *Longifolia*. *Food Chemistry,* 103, 1449–1456.

- **H Hemida M., AE Ibrahim A., M Al-Bahnsawy R., R Al-Shathly M**. (2014). Influence of Environmental factors on Olive Oil Production and Quality in the Northern Region of Kingdom of Saudi Arabia. *Journal of American Science*, 10(1), 61-66.

- **Hadjiakhoondi A., Aghel N., Zamanizadeh-Nadgar N. and Vatandoost H.** (2000). Chemical and biological study of *Mentha spicata* L. essential oil from Iran. *Daru*, 8(01):19-21.

- **Hajlaoui H., Trabelsi N., Noumi N., Snoussi M., Fallah H., Ksouri R., Bakhrouf A.** (2009)- Biological activities of the essential oils and methanol extract of tow cultivated mint species (Mentha longifolia and Mentha pulegium) used in the Tunisian folkloric medicine. *World J Microbiol Biotechnol*, 25, 2227–2238.

- **Haloui E., Zohra M., Belsem M., Ibtissem B., Abderrahman B. and Nadia F.** (2010). Pharmacological activities and chemical composition of the *Olea europaea* L. leaf essential oils from Tunisia. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8(2), 204 – 208.

- **Hashempour A., Ghazvini R. F., Bakhshi D., Sanam S.A.** (2010). Fattyacids composition and pigments changing of virgin olive oil (*Olea europea* L.) in five cultivars grown in Iran. *Australian Journal of Crop Science*, 4(4):258-263.

- **Hilan C., Sfeir R., Jawish D. et Aitour S.** (2006). Huiles essentiélles de certaines plantes médicinales Libanaises de le famille des *lamiaceae, Lebanese Science Journal,* 7 ( 2) : 13-22.

- **Hseini S., Kahouadji A., Lahssissene H. et Tijane M.** ( 2007). Analyses floristique et ethnobotanique des plantes vasculaires médicinales utilisées dans la région de Rabat (Maroc occidental). *LAZAROA,* 28, 93-100.

- **Hussain A., Iqbal A.Q., Rabia L., Saeed A., Irum A., Ikram U., Zabta K.S.** (2014). Antimicrobial potential of leaf and fruit extracts and oil of wild and cultivated edible olive. *Pak. J. Bot*., 46(4), 1463 – 1468

- **Iserin P.** (2001). Encyclopédie des plantes médicinales.2eme éd. *Larousse,* Londres.

- **Kahraman A., Celep F. and Dogan M.** (2009). Morphology, Anatomy and Palynology of *Salvia indica* L, (Labiatae). *World Applied Sciences Journal*, 6 (2) : 289-296.

- **Kaloustian J., Chevalier J., Martino C., Abou L., Vergnes M.F.** (2008). Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie,* 6, 160–164.

- **Kanatt R., Sweetie R., Ramesh C., Arun S.** (2008). Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products, *Food Chemistry*, 107, 845–852.

- **Karray-Bouraoui N., Rabhi M., Neffati M., Baldan B., Ranieri A., Brahim M., Lachaâl M., Smaoui A.** (2009). Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *Mentha pulegium. Industrial Crops and Products*, 30, 338–343.

- **Keskın D., Ceyhan N., U**ğur **A.and Durgan Dbeys A.** (2012). Antimicrobial activity and chemical constitutions of West Anatolian olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Journal of Food, Agriculture & Environment* Vol.10 (2): 99-102.

- **Khanuja S.P.S., Shasany A.K., Srivastava A. and Kumar S.** (2000). Assessment of genetic relationships in *Mentha* species. *Euphytica,* 111, 121–125.

- **Lamendin H., Toscano G., Rquirand p.** (2004). Phytothérapie et aromathérapie buccodentaires. *EMC-Dentisterie*, 1, 179-192.

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

- **Leclerc H**. (1994). Précis de phytothérapie essai de thérapeutique par les plantes francaises. *Masson, paris,* p170-171.

- **Li X., Gong Z., Koiwa H., Niu X., Espartero J., Zhu X., Veronese P., Ruggiero B., Bressan R.A., Weller S.C. and Hasegawa P.M.** (2001). *Bar*-expressing peppermint (*Mentha* × *Piperita* L, var, Black Mitcham) plants are highly resistant to the glufosinate herbicide Liberty. *Molecular Breeding*, 8, 109–118.

- **Lo´pez-Lo´pez A., Rodrı´guez-Go´mez F.** (2010). Effect of the Previous Storage of Ripe Olives on the Oil Composition of Fruits. *J. A.m. OilChem Soc*, 87, 705–714.

- **Lorenzo D., Paz D., Ellacassa E., Davies P., Vila R. and Canigueral S.** (2002). Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. *oil ic archives of biology and technology*,45(4): 519-524.

- **Maczulak A. E., Dehority B. A., and Palmquist D. L.** (1981). Effects of Long-Chain Fatty Acids on Growth of Rumen *Bacteria. Applied and environmental microbiology*, Vol. 42, N. 5, 856-862.

- **Maffei M., Bertea C.M., and Mucciarelli M.,** (2007). Mint The Genus *Mentha* Anatomy, Physiology, Biosynthesis, Molecular Biology, Tissue Culture, and Biotechnology of Mint Essential Oil Production.*CRC Press Taylor & Francis Group*.

- **Mahboubi M., Haghi G.** (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*, 119, 325–327.

- **Mahmoudi Y.** (1990). La thérapeutique par les plantes communes en Algérie. Palais du livre, Blida. P71.

- **Marcusson J..** (1929). Manuel de Laboratoire pour L'industrie des Hui1es et Graisses. *PARIS & LÏÉGE*, pp 153.

- **Masson O.** (2007). Biochimie bases biochimiques de la diététique. 2 e édition. *Lavoisier*. P85

- **Matthaus B. And Özcan M. M**. (2011). Determination of FattyAcid, Tocopherol, Sterol Contents and 1,2- and 1,3-Diacylglycerols in Four Different Virgin Olive Oil.*J Food ProcessTechnol*, 2:4, 1-4.

- **McGaw L.J., Jäger A.K. and Staden J. van** (2002). Isolation of antibacterial fattyacids from *Schotiabrachypetala. Fitoterapia*, Vol. 73, 431–433.

- **Meftah H., Latrache H., Hamadi F., Hanine H., Zahir H., El louali M.** (2014). Comparaison des caractéristiques physicochimiques des huiles d'olives issus de

différentes zones de la région Tadla Azilal (Maroc) [Comparison of the physico-chemical characteristics of the olive oil coming from different zones in Tadla Azilal area (Morocco)]. *J. Mater. Environ. Sci.*, 5 (2): 641-646.

- **Michener H. D., Thompson P. A., and Lewis J. C.** (1958). Search for Substances WhichReduce the HeatResistance of Bacterial Spores. Presented in part before the symposium on Food Preservation, Society for IndustrialMicrobiology, American Institute of Biological Sciences, StanfordUniversity, August 29, 1957, and in part before the 57th General Meeting of the Society of American Bacteriologists, Detroit, Michigan, April 28 to May 2, 1957.

- **Muik B., Lendl B., Molina-Diaz A., Canada M. J. A.** (2005). Direct monitoring of lipid oxidation in edible oils by Fourier transform Raman spectroscopy. *Chemistry and Physics of Lipids*, 134, 173–182.

- **Noureddini H. and Kanabur M.** (1999). Liquid-Phase Catalytic Oxidation of Unsaturated Fatty Acids. *JAOCS*,vol. 76, n.03, 305-312.

- **Ouraini D., Agoumi A., Alaoui M.I., Alaoui K., Cherrah Y., Benlemlih M., Belabbas M.** (2005). Approche thérapeutique des dermatophyties par les huiles essentielles de plantes médicinales aromatiques marocaines. *Phytothérapie*, Vol.1, 3-12.

- **Patra N.K., Tanveer H., Khanuja S.P.S., Shasany A.K., Sing H.P.h. Singh V.R., Kumar S.** (2001). A unique interspecific hybrid spearmint clone with growth properties of Mentha arvensis L. and oil qualities of Mentha spicata L.. *Theor Appl Genet* , 102, 471–476.

- **Pavlidou V,, Karpouhtsis I,, Franzios G,, Zambetaki A,, Scouras Z,, and Mavragani-Tsipidou P.** (2004). Insecticidal and Genotoxic Effects of Essential Oils of Greek sage, *Salvia fruticosa*, and Mint, *Mentha pulegium*, on *Drosophila melanogaster* and *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae). *J, Agric, Urban Entomol*, ( 21): 1, 39-49.

- **Paz Romero M., Tovar M. J., Ramo T., and Motilva M. J.** (2003). Effect of Crop Seas on on the Composition of Virgin Olive Oil with Protected Designation of Origin “Les Garrigues”.*JAOCS*, Vol. 80 : 5, 423-430.

- **Perry J.J., Staley J.T., Lory S**. (2004). Microbiologie, Cours et questions de révision, Dunod.

- **Q.A. Shah Ph.D.; F. Bibi M.Sc.; and A.H. Shah, Ph.D. D.Sc. (2013).** Anti-Microbial Effects of Olive Oil and Vinegar against *Salmonella* and *Escherichia coli. The Pacific Journal of Science and Technology,* Vol. 14, 479-486.

- **Quezel P. et Santa S.** (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et méridionales, Tome 2, . Centre National de la Recherche Scientifique. Paris, 1963.

- **Rahal K.** (2005). Standardisation de L'antibiogramme en Médecine Humaine à l'Echelle Nationale selon les recommandations de l'OMS. 4ème édition, *Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière.*

- **Ravi K.U., Pratibha D. and Shoeb A.** (2010). Screening of Antibacterial Activity of Six Plant Essential Oils against Pathogenic Bacterial Strains. *Asian Journal of Medical Sciences,* 2(3), 152 – 158.

- **Rhayour K.** (2002). Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli, Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum,* Thèse de Doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté des Sciences Dhar Mehraz –Fès.

- **Rubin M.** (2004). Guide pratique de phytothérapie et d'aromathérapie. *Ellipses Edition Marketing* S,A, pp 183.

- **Saeed S., Naim A. And Tariq P.** (2006). *In VITRO* antibacterial activity of peppermint. *Pak. J. Bot.*, 38(3) : 869-872.

- **Salvador M.D., Aranda F., Go´ mez-Alonso S., Fregapane G.** (2003). Influence of extraction system, production year and area on Cornicabra virgin olive oil: a study of five crop seasons. *Food Chemistry*, 80, 359–366.

- **Schauenberg P.** (2006). Guide des plantes médicinales, anlyse, description et utilisation de 400 plantes. 2èmeEd, *Delachaux et niestlé*, Paris. Pp489.

- **Seidel V., TaylorPeter W.** (2004). *In vitro* activity of extracts and constituents of *Pelagonium* against rapidly growing mycobacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents,* Vol.23, 613–619.

- **Shahat M., Salama A., Abul-Fadl M.M. and Akasha M.M.** (2013). Quality Evaluation of SomeLibyan Olive OilVarieties. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(2): 1147-1160.

- **Shanker S., Ajayakumar P.V., Sangwan N.S., Kumar S. And Sangwan R.S.** (1999). Essential oil gland number and ultrastructure during *Mentha arvensis* leaf ontogeny**.** *Biologia Plantarum,* 42(3): 379-387.

- **Shirazi F.H., Ahmadi N. and Kamalinejad M.** (2004). Evaluation of northern Iran *Mentha pulegium* L. cytotoxicity. *DARU*, 12(3): 106-110.

- **Silva D.B., Vieira R.F., Alves R.B.N., Mendes R.A., Cardoso L.D., Queiroz L., Santos I.R.I.** (2006). Mint (*Mentha spp* ) germplasm conservati on in Brazil. *Rev.Bras. Pl. Med., Botucatu, v.8, n. esp*., 27-31.

- **Spencer A,, Hamill J,D,, and Rhodes M,J,C,** (1990). Production of terpenes by differentiated shoot cultures of *Mentha oil ic* transformed with *Agrobacterium tumefaciens* T37, *Plant Cell Reports,* 8, 601- 604,

- **Sweetie K.R., Chander R., Sharma A.** (2008). Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. *Food Chemistry*, 107, 845–852.

- **Tanouti K., Serghini Caid H., Chaieb E., Benali A., Harkous M., Elamrani A**. (2010). Amelioration qualitative d'huiles d'olive produites dans le maroc Oriental, Quality Improvement of Olive Oils Produced In The Eastern Morocco. *Les technologies de laboratoire,* 6(22): 1-12.

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

- **Trémoléires A.** (1998). Les lipids végétaus. *De boeck et larcier*,department de Boeck Université, paris, Bruxelles.

- **Tucker A. O., Naczi Robert F.C.** (2007). Mint The Genus *Mentha* Mentha: An Overview of Its Classification and Relationships. *CRC Press Taylor & Francis Group.*

- **Valerija D., Nada B., Nikola L., and Ivana B.** (2007). Glandular hair ultrastructure and essential oils in *Satureja subspicata* VIS. SSP. *SUBSPICATA* and SSP. *LIBURNIC*A ŠILIĆ. *ACTA BIOLOGICA CRACOVIENSIA Series Botanica*, (49)2: 45–51.

-**Veronique S. and TaylorPeter W.** (2004). *In vitro* activity of extracts and constituents of *Pelagonium* against rapidlygrowingmycobacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol 23, 613–619.

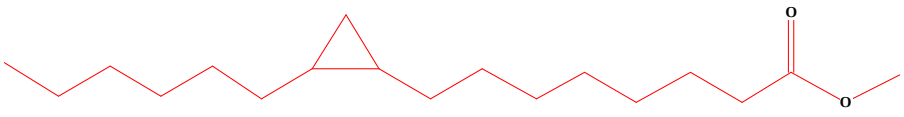
- **Vian M.A., Fernandez X., Visinoni F., Chemat F.** (2008). Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. *Journal of Chromatography* A. 1190, 14–17.

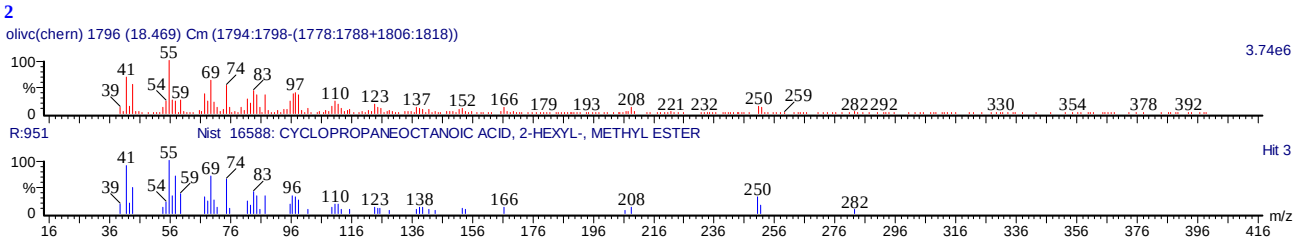
- **Voet D. et Voet J.G.** (2005).Biochimie. 2ème éd., *de Boeck*. Pp 382-909.

- **Xueqi Li. Hanjiang Z., Charles F., Shoemaker. Selina C. Wang** (20014). The Effect of Different Cold Storage Conditions on the Compositions of Extra Virgin Olive Oil. *J.A.m. OilChem Soc.*, 91:1559–1570.

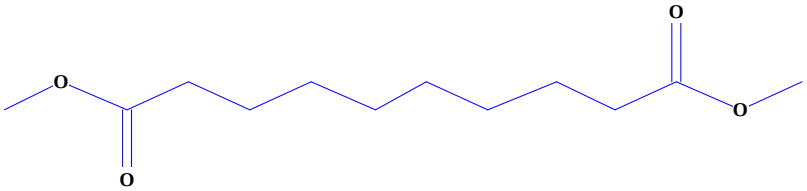
- **Zizovic I. Stameni M. Orlovi A. Skala D.** (2005). Supercritical carbon dioxide essential oil extraction of Lamiaceae family species: Mathematical oil ic on the micro-scale and process optimization. *Chemical Engineering Science*, 60, 6747– 6756.

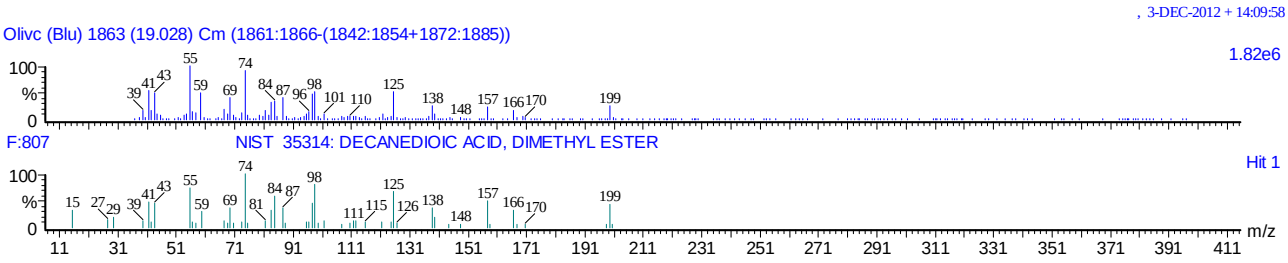
# الملحق (01)



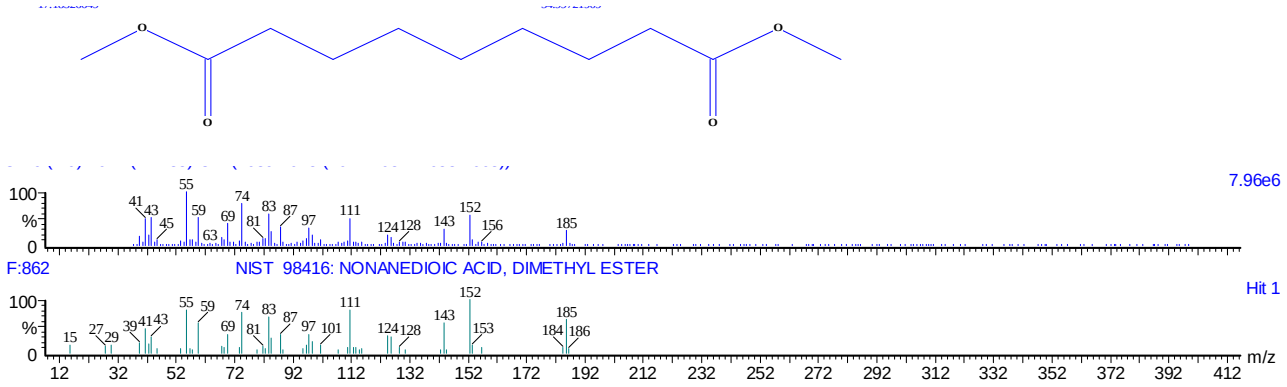




**Cyclopropaneoctanoic acid, 2-hexyl- methyl ester المطيافية الكتلية لـ**

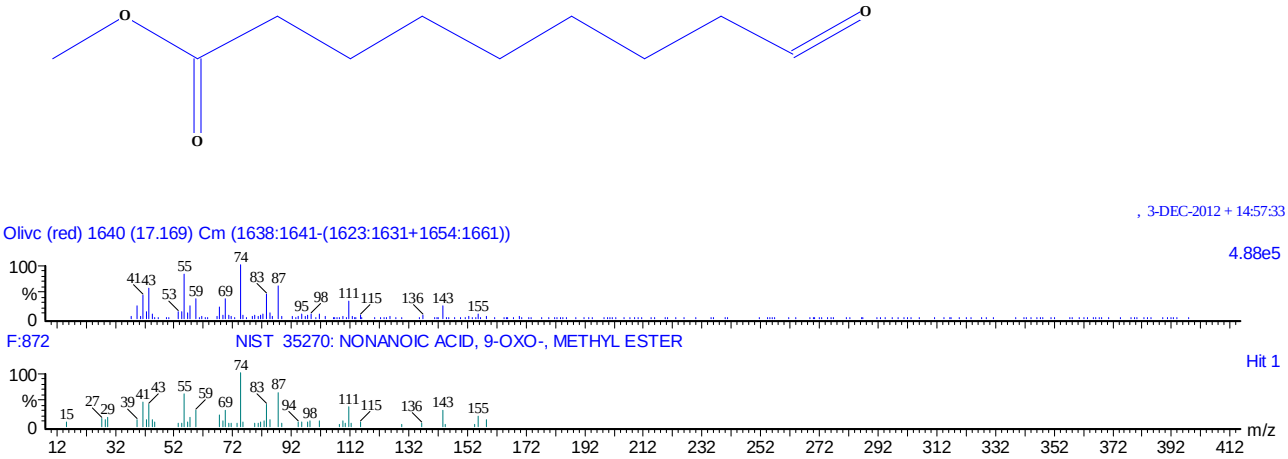


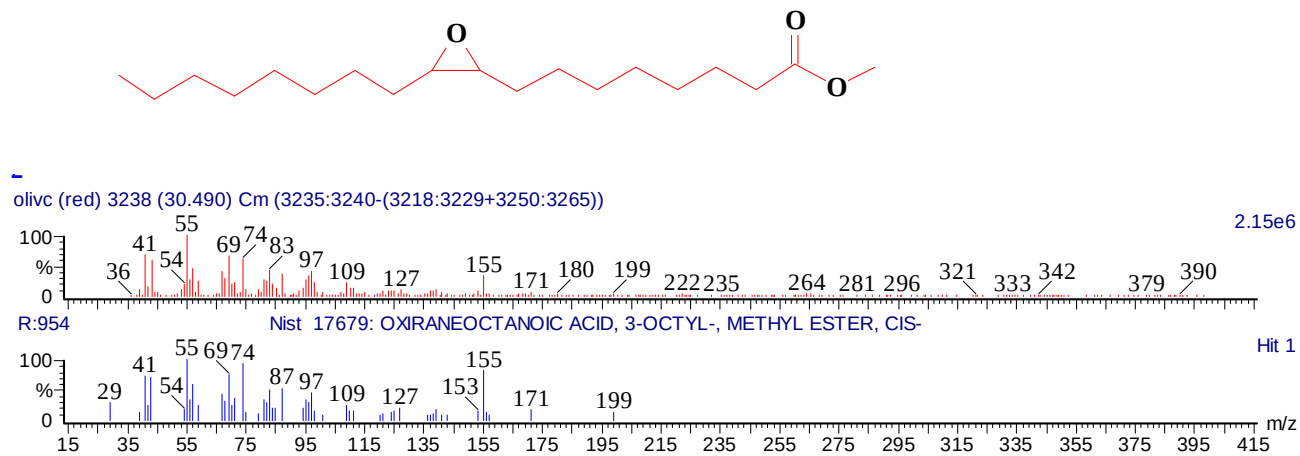

**Decanedioic acid dimethyl ester المطيافية الكتلية لـ**




**Nonanedioic acid dimethyl ester المطيافية الكتلية لـ**




**Nonanoic acid 9-oxo- methyl المطيافية الكتلية لـ**




**Oxiraneoctanoic acid 3-octyl- methyl ester cis- المطيافية الكتلية لـ**

**الملحق (02)**

## مكونات أوساط الزرع:

**ميلر هلتن: MH agar**

| | |
|---|---|
| منقوع لحم بقر مجفف | 300غ ..... |
| Hydrolysat de caséine | 17.5غ ..... |
| نشاء الذرى | 1.5غ ..... |
| آغار-آغار | 13غ ..... |
| ماء مقطر | 1000ملل..... |

**المرق المغذي (Bouillon nutritif )**

| | |
|---|---|
| مواد حية مهضومة | 5غرام ..... ..... |
| مستخلص لحمي | 1غرام ..... |
| مستخلص خميرة | 2غرام..... |
| كلورير الصوديوم | 5غرام..... |
| ماء مقـطر | 1000ملي لتر..... |

*Available online at* www.scholarsresearchlibrary.com

Scholars Research Library

**Der Pharmacia Lettre, 2016, 8 (2):73-78**
*(http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html)*

ISSN 0975-5071
USA CODEN: DPLEB4

# Longue time storage at room temperature increases the chemical composition of olive oil

**Habiba Boukhebti[1], Adel Nadjib Chaker[1], Hani Belhadj[2] and Daoud Harzallah[2]**

*[1]Laboratory of Natural Resources Valorization, Faculty of Natural and Life Sciences, University Ferhat Abbas Sétif1, Sétif, Algeria*
*[2]Laboratory of Applied Microbiology, Faculty of Natural and Life Sciences, University Ferhat Abbas Sétif1, Sétif, Algeria*

---

**ABSTRACT**

*In Algerian traditional medicine, the old olive oils were used especially, to treat respiratory and digestive system diseases. This study aimed to evaluate the decomposition degree of three samples at different ages of olive oils. The analysis and identification of the fatty acids (FA) composition of samples were performed using the (GLC-MS). This analysis led to the identification of 16, 18 and 30 fatty acids. This increase in the number of fatty acids in the samples was especially in the saturated fatty acids, As noted a decrease in the value of some unsaturated acids like oleic acid (75.36% in sample 01, 75.48% in sample 02 and 48.31% in sample 03) and increase in values of saturated fatty acids as palmitic acid (12.59% in sample 01, 13. 75.32% in sample 02 and 29.22% in sample 03). Some physicochemical properties were determined (Density, Iodine, Peroxide, Saponification and Acid values). The values of these properties were changed according to the chemical composition of the samples.*

**Keywords:** Olive oil, chemical composition, saturated fatty acid, unsaturated fatty acid.

---

## INTRODUCTION

Olive oil is obtained from the fruits of *Olea europea* L. by mechanical or other physical means that do not lead to any chemical change. It contains acylglycerols, mainly triacylglycerols and in a lesser extent diacylglycerols, and other minor components represented by wax esters, free fatty acids, triterpenic alcohols, hydrocarbons, sterols, phenols, flavonoids, pigments, tocopherols, and volatile compounds. It is well established that olive oil quality is influenced by several factors such as variety, environmental conditions, cultural and harvesting practices and technological processes (1).

The chemical composition of olive oil is also influenced by genetic factors (cultivar) and environmental (edaphological characteristics and climatic conditions), for this reason the production area is largely responsible for the characteristics of the olive oil. Besides the quality of olive oil is strongly related to the physiological conditions of the fruit from which it was extracted. The stage of ripening may directly or indirectly affect oil quality. The fruit physiology undergoes changes directly related to the age, and these changes alter the oil quality (2). Furthermore, there is an indirect effect provided by the action of external agents of deterioration which increase during fruit ripening. In fact, as ripening advances certain metabolic processes which involve changes in the profile of certain compounds such as triglycerides, fatty acids, polyphenols, tocopherols, chlorophylls and carotenoids occur (3).

These variations are reflected in the sensory characteristics, especially in the aroma, the oxidative stability and/or the nutritional value of the final product, and of course, in the quality degree (4).

Storage conditions are considered critical variables that influence the quality of olive oil and its shelf life which is attributable to lipid oxidation mechanisms which lead to rancidity. Glass and metal bottles were used for packaging olive oils (5). The major function of packaging materials is related to their barrier properties against moisture, oxygen and light. It is known that these reactions are catalyzed by light and heat and are partly slowed down by compounds belonging to the un-saponifiable fraction. Polyphenols and tocopherols are the two main groups of compounds acting as primary antioxidants to inhibit oxidation in olive oils (6).

In Algerian traditional medicine the old olive oil was used widely to treat respiratory diseases and some digestive system diseases. Therefore, this research aimed to determine the chemical composition, mainly the fatty acid content, of three olive oil samples stored for different times under the same conditions.

## MATERIALS AND METHODS

### *Oil samples and physicochemical analysis*

Oil samples, one year old sample (OL1), 12 year old sample (OL2) and 33 year old sample (OL3) were provided by local farmers (from same trees). The oils were extracted using traditional method. Some physicochemical properties of the samples (color; density; PH, acid, saponification, peroxide and iodine indices) were also measured.

### *Methylation and GLC-MS analysis*

The oil triglycerides were transferred into methyl ethers of acids by esterification with methanol solution (7, 8, 9). The chromatography of the methyl ethers solution in hexane was carried on the instrument "GLC-MS complex Clarus 600 C MS". Conditions for the analysis: capillary column with the length of 30 m, with the diameter of 0,25 mm; fixed phase BPX-70 with thickness of the film of 0,25 μm. Helium (He) was the carrier gas with velocity of 0,75 ml/min. Applied sample volume of 0,5 μl, and split (1:40). Temperature of the injector was 230°C. Program temperature of the columns thermostat: initial temperature,100°C for 2 min; followed by a rise to 185°C with the speed of 5°C/min, and then an isotherm step of 185°C for 10 min. Quantitative determination was accomplished according to the data of the flame-ionization detector (temperature, 230°C) and the methyl ethers identification was conducted according to the data of the mass-spectrometric of the detector (temperature of the interface of introduction,180°C, the source temperature, 200°C, ion current, 1.5 A, electrons energy -70 eV). Analyses were carried out in triplicates, and confidence intervals with the level of significance 95% were determined.

### *Physicochemical properties determination*

Density value (DV) was determined according to the Algerian center of quality control and packaging (10). Iodine index was determined using Hanus method (Flavia et *al*., 2014)"with some modification" (11). Peroxide (PI), Saponification (SI) and Acid (AI) indices were determined in Analytical Laboratory of Vegetable Extracts and Fragrances LEXVA Analytique-France).

## RESULTS AND DISCUSSION

The studied oil samples were analyzed for their color and odor. OL1 sample (one year old) was green-yellowish with olive odor, and OL2 sample (stored for 12 years) was very clear green-yellowish and with strong butyric odor. Whereas, OL3 sample (stored for 33 years) was transparent-whitish and was characterized by highly rancid odor.

Oil samples of *Olea europea* L. (OL1, OL2 and OL3) were analyzed by GC-MS leading to the identification of 16, 18 and 30 compounds for oil samples respectively (Table 1). Oleic acid methyl ester was the major compound for samples OL1, OL2, OL3, with percentage of 75.36%, 75.48% and 48.31%; followed by Palmitic acid methyl ester (12.59%, 13.32% and 29.22%) respectively. These results showed that the concentration of Oleic acid methyl ester decreases with respect to the increase in storage period of samples. The same observation was recorded for palmitic acid methyl ester, where its percentage increased with the increase in storage period. By the same word, the number of the compounds identified in analyzed samples increases according to the increase in storage time (16, 18 and 30 compounds for OL1, OL2 and OL3 respectively). For example, the occurrence of squalene in OL1 and OL2 samples, while, it disappeared in OL3 sample. Furthermore, the occurrence of new compounds in OL2 and OL3

samples such as cis-9, 10-Ethoxystearic Acid methyl ester and nonanoic acid 9-oxo-methyl ester in sample 02, while in OL3 sample, other 17 new compounds representing (10.35%) were detected such as cis-11-12-Ethoxystearic acid methyl ester, octanol-1, nonanoic acid methyl ester and trans-9-10-Epoxystearic acid methyl ester. Furthermore, linoleic acid methyl ester and linolenic acid methyl ester appeared in OL1 and OL2 samples, but disappeared in the third sample.

No significant difference in the percentages of chemical compounds between samples 01 and 02, this small difference is probably due to the different climatic conditions and rainfall during the growing seasons or to another factor such as sample age and storage condition.

**Table 1: Chemical composition (%) of the three samples of olive oils. One year old sample (OL1), 12 year old sample (OL2) and 33 year old sample (OL3).**

| | Compounds | Chemical Formula | OL1 | OL2 | OL3 |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Benzyl alcohol | C7H8O | 0.01 | 0.01 | 0.09 |
| 2 | Myristic acid, methyl ester | C14:0 | 0.01 | 0.01 | 0.02 |
| 3 | Palmitic acid, methyl ester | C16:0 | 12.59 | 13.32 | 29.22 |
| 4 | 7-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)- | C16:1 [7Z] | 0.06 | 0.06 | 0.04 |
| 5 | Palmitoleic acid, methyl ester | C16:1 [9Z] | 0.78 | 0.78 | 0.39 |
| 6 | Margaric acid methyl ester | C17:0 | 0.09 | 0.08 | 0.31 |
| 7 | Cyclopropaneoctanoic acid, 2-hexyl-, methyl ester | C18H34O2 | 0.14 | 0.10 | 0.09 |
| 8 | Stearic acid, methyl ester | C18:0 | 2.61 | 2.67 | 5.57 |
| 9 | Oleic acid, methyl ester | C18:1 [9Z] | 75.36 | 75.48 | 48.31 |
| 10 | cis-Vaccenic acid methyl ester | C18:1 [12Z] | 2.13 | 2.10 | 0.87 |
| 11 | Linoleic acid Methyl ester | C18:2 [9Z,12Z] | 5.37 | 4.50 | - |
| 12 | Linolenic acid Methyl ester | C18:3 [9,12/15] | 0.30 | 0.10 | - |
| 13 | Arachidic acid methyl ester | C20:0 | 0.29 | 0.30 | 0.65 |
| 14 | 11-Eicosenoic acid Methyl ester | C20:1 [11Z] | 0.14 | 0.13 | 0.08 |
| 15 | Behenic acid, methyl ester | C22:0 | 0.07 | 0.06 | 0.21 |
| 16 | Squalene | C30H50 | 0.07 | 0,03 | - |
| 17 | .cis-9,10-Ethoxystearic Acid, methyl ester | C19H36O3 | - | 0.20 | 2.26 |
| 18 | Nonanoic acid, 9-oxo-, methyl ester | C10H18O3 | - | 0,01 | - |
| 19 | Nonanal | C9H18O | - | - | 0,93 |
| 20 | Nonanoic acid, methyl ester | C9:0 | - | - | 1,57 |
| 21 | Octanol-1 | C8H18O | - | - | 0,27 |
| 22 | Decanal | C10H20O | - | - | 0,42 |
| 23 | 2-Decanone | C10H20O | - | - | 0,08 |
| 24 | Capric, methyl ester | C10:0 | - | - | 0,41 |
| 25 | 1-Nonanol | C9H20O | - | - | 0,1 |
| 26 | 2-Decenoic acid, methyl ester, (E)- | C10:1 [2E] | - | - | 0,08 |
| 27 | Heptanedioic acid, dimethyl ester | C9H16O4 | - | - | 0,1 |
| 28 | Methyl 8-oxooctanoate | C9H16O3 | - | - | 0,24 |
| 29 | Suberic acid, dimethyl ester | C10H1804 | - | - | 0,77 |
| 30 | Azelaic acid, dimethyl ester | C11H20O4 | - | - | 1,88 |
| 31 | Decanedioic acid, dimethyl ester | C12H22O4 | - | - | 0,35 |
| 32 | cis-11,12-Ethoxystearic Acid, methyl ester | C19H36O3 | - | - | 0,41 |
| 33 | Chaulmoogric acid, methyl ester , D- | C19H34O2 | - | - | 1,58 |
| 34 | trans-9,10-Epoxystearic Acid, methyl ester | C19H36O3 | - | - | 1,16 |
| | Total | | 100% | 99.94% | 98.46% |
| | Total saturated acids | | 15.80% | 16.76% | 46.18% |
| | Total unsaturated acids | | 84.19% | 83.18% | 52.28% |

There was a decrease in the concentration of some unsaturated acids in OL1, OL2 and OL3 samples such as oleic acid (75.36%, 75.48% and 48.31%) respectively; Linoleic acid (05.37%, 04.50% and 00.00%) and increase in values of saturated fatty acids as palmitic acid (12.59%, 13. 32% and 29.22%) and Stearic acid (02.61%, 02.67% and 05.57%).

In oil sample 01, saturated and unsaturated fatty acids were recorded with 15.81% and 84.21% respectively; Comparable concentrations were observed for OL2 (16.76% and 83.18%) respectively. In contrast, an increase in saturated fatty acids (46.18%) and a decrease in unsaturated fatty acids (52.28%) were noticed in OL3; in this oil sample, saturated (07.76%) and unsaturated (2.59%) new fatty acids (18 compounds) were detected, (Figure 1).

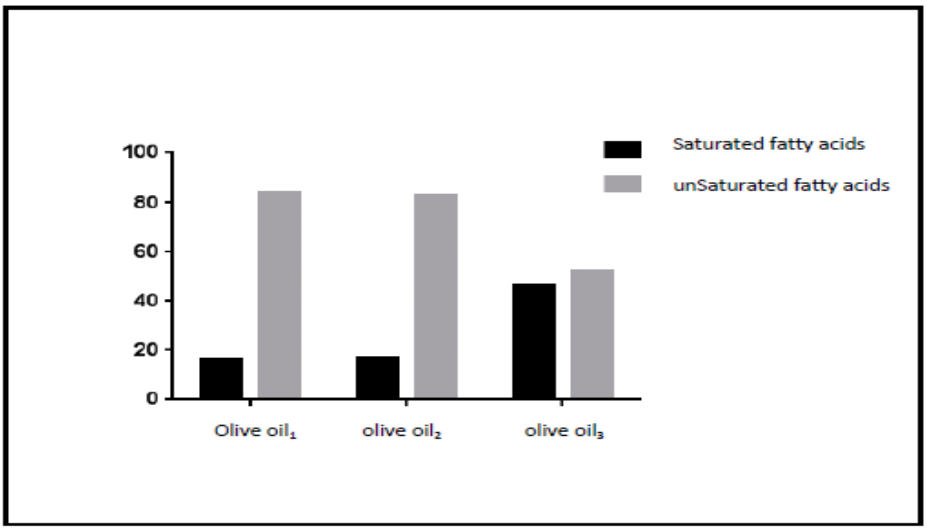



**Figure 1: Saturated and unsaturated fatty acids in olive oil samples. One year old sample (olive $oil_1$), 12 year old sample (olive $oil_2$) and 33 year old sample (olive $oil_3$)**

The increase in saturated fatty acids may be was the reason for increasing in the density of the OL1, OL2 and OL3 samples 0.912 ± 0.005, 0.916 ± 0.001 and 0.993 ± 0.005 (20°C/water in 20°C) respectively, (Figure 2).

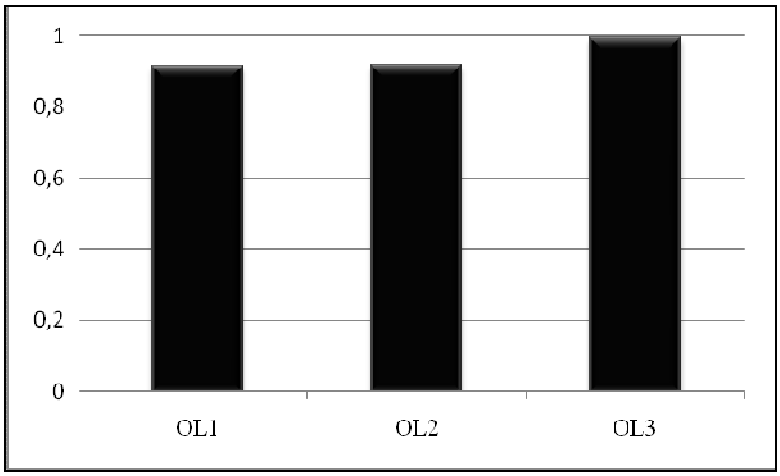



**Figure 2: Density of olive oil simpales. One year old sample (OL1), 12 year old sample (OL2) and 33 year old sample (OL3)**

Similar results were found by Hashempour et *al.*, (12) with those found in present study in sample 01, whereas the major compounds in five samples of Iranian olive oils were oleic and palmitic acids followed by linoleic and stearic acids**.** According to Matthäus et *al*., (13)**,** the major fatty acids found in Turkish olive oil were oleic, linoleic, palmitic, and stearic acids. Shahat et *al*., (14) Observed in their studies that oleic acid was the predominant fatty acids, followed by linloeic and palmitic acids in three Libyan samples tested of olive oils.

Beltran et *al.* (15) reported that the major saturated fatty acid in virgin olive oils is palmitic acid and they return this result to that low growth temperature may increase membrane lipid unsaturation in order to maintain membrane fluidity at low temperatures. The lower temperatures decrease fatty acid biosynthesis during the June-November period**.**

In the study of Xueqi et *al*., (16) the results showed that cold storage conditions (4.5 and -27˚C) was sufficient to retard oxidation and hydrolysis during extra virgin olive oils storage with no significant change in these flavor

aspect over 18-week of storage. In addition, concentrations of free fatty acids of oil samples stored at 4.5 ˚C and -27 ˚C increased slightly during storage period while the ones stored at 25 ˚C had a significant increase. For higher initial values of FFA, there were higher rates of accumulation of free fatty acids, especially at higher storage temperature**.**

Lo´pez-Lo´pez et *al*., (17) concluded that the polyunsaturated fatty acids are the most sensitive to transformation and oxidative deterioration in some storage conditions. Furthermore, it's well known that fatty Acids compositions of olive oils are affected by crop season, climatological conditions and environmental factors (18)**.**

The effects of the agronomic factors are different for each fatty acid. Fatty acids that are influenced by temperature fluctuations and rainfall registered during oil biosynthesis and summer, are palmitic and oleic acids. In addition, harvesting period and thus, ripening stage affected palmitic, steraric, linoleic, and linolenic acids (15)**.**

In the study of Noureddini and Kanabur (19)**,** the azelaic and nonanoic acids are the main products of oleic acid oxidation reactions, as the unsaturation bond in oleic acid is effectively cleaved, yielding mainly the corresponding mono- and di-carboxylic acids (C17-C19).

The Acid indices (mg KOH/g oil) of the samples 01, 02 and 03 ranged from 1.7, 11.3 to 107.5 respectively (Table 2), and the Acid indices (% Oleic acid) were 0.9, 5.7 and 54.0 respectively, whereas, Peroxide indices (meq $O_2$/kg oil) ranged from 7.2, 11.6 and 14.1 respectively. In addition, the content of saponification indices from these samples were 191, 194 and 279. Samples pH values measured by pH-meter apparatus was changed and decreased by a large margin with values of 5.8, 3.6 and 1.7 for OL1, OL2 and OL3 respectively. Changes in chemical composition between the olive oil samples was the reason for the pH changing and other chemical indices (Iodine, Acid, Peroxide and Saponification indices), which indicates that the quality of these oil samples changed**.** These results are different with those found by other investigations (16, 18, 20)**,** where the values obtained were lower than those obtained in present study. In addition the values of free acidity «given as the percentage of oleic acid» in the present study were different from those found by Gallardo-Guerrero et *al.* (21).

In studies of Mabroka et *al*., (2014) the acid values (% oleic acid ) were wobbled between 0.22 and 0.72, whereas the peroxide values were wobbled between 07 and 12 (meq $O_2$Kg-1), while the iodine values were wobbled between 76 and 91. The results of Gambacorta et *al*., (2004) showed that the acid values of olive oils were less than 01; these results did not changed while the olive oils stored since one year in ambient temperature, but the values of another sample stored in 37 ℃ were changed.

Storage of olive oil in room temperature for longue period increases the chemical composition and the saturation of the olive oil and affects some physicochemical properties such as color, density, acid, saponification, peroxide and iodine indices. No significant difference in chemical composition between one year olive oil sample and olive oil stored

**Table 2: Physicochemical properties of the three samples of olive oils. One year old sample (OL1), 12 year old sample (OL2) and 33 year old sample (OL3)**

| Test | Olive oil 01 | Olive oil 2 | Olive oil 3 |
|---|---|---|---|
| Density (20˚C/water in 20˚C) | 0.912 ± 0.005 | 0.916 ± 0.001 | 0.993 ± 0.005 |
| Iodine index (Hanus) | 79.962 ± 10.77 | 84.078 ± 9.71 | 31.749 ± 7.05 |
| Saponification index (mg KOH/g of oil) | 191 | 194 | 279 |
| peroxide index (mmol $o_2Kg^{-1}$ of oil) | 3.6 | 5.8 | 7.1 |
| peroxide index (meq $O_2Kg^{-1}$ of oil) | 7.2 | 11.6 | 14.1 |
| acid index (mg KOH/g) | 1.7 | 11.3 | 107.5 |
| acid index (% oleic acid) | 0.9 | 5.7 | 54.00 |
| pH | 5.8 | 3.6 | 1.7 |

for 12 years. Whereas in olive oil stored for 33 years, 17 new compounds were detected and significant difference in its chemical composition compared to the first sample. This change in the chemical composition may create a change in the therapeutic properties of olive oil. Thus, deeper studies should be addressed to understand the effects of storage period and conditions as well as packaging materials on bioactivity of olive oil.

**Acknowledgement**
We are grateful to Professor Przhevalski N. M. and Professor Dmitiriev L. B. (Department of Physical and Organic Chemistry, University Timiryazev Agricultural Academy, Moscow) for all their help.

## REFERENCES

[1] K. Ben-Hassine, A. Taamalli, S. Ferchichi, A. Mlaouah, C. Benincasa, E. Romano, G. Flamini , A. Lazzez, N. Grati-kamoun , E. Perri , D. Malouche , M. Hammami, *Food Research International*, **2013**, 54, 1915–1925.
[2] M. Fuentes, C. De Miguel, A. Ranalli, M.N. Franco, M. Martinez, D. Martin-Vertedor, *Grasas Aceites* **2015**, 66 (1): e061. doi: http://dx.doi.org/10.3989/gya.0702142.
[3] P. Inglese, F. Famiani, F. Galvano, M. Servili, S. Esposto, S. Urbani. *Horticultural Reviews*, **2011**, 38, pp83–148. [4] E.Wąsowicz, A. Gramza, M. Hęś, H.H. Jeleń, J. Korczak, M. Małecka, S. Mildner-Szkudlarz, M. Rudzińska, U. Samotyja, R. Zawirska-Wojtasiak, *J. Food Nutr. Sci.* **2004**, 13/54, pp 87-100.
[5] M.L. Clodoveo, S. Camposeo, B. De Gennaro, S. Pascuzzi, L. Roselli, *Food Research International* **2014,** 62, 1062–1068.
[6] M. Servili, B. Sordini, S. Esposto, S. Urbani, G. Veneziani, I. Di Maio, R. Selvaggini, A. Taticchi, *Antioxidants* **2014**, 3, 1–23.
[7] GOST 30418 - 96. Vegetable oils. Method for determination of fatty acid composition. (Interstate standard). **2008**.
[8] GOST 51486 - 99. Vegetable oils and animal fats. Preparation of fatty acid methyl esters. (State Standard of the Russian Federation). **2008**.
[9] O.B. Rudakov, A.N. Ponomarev, K.K. Polianskii, A.V. *Liubar Zhiry*, Fats. Chemical composition and quality expertise. Moscow, (in Russ.), **2005**.
[10] The Algerian Center of Quality Control and Packaging **1995**.
[11] P. Flavia, V. Zorica, B. Delia, *International Food Research Journal* **2014,** 21(4), 1507-1514.
[12] H. Abouzar, G.R. Fotouhi , B. Davood, S.S. Asadi, *Australian Journal of Crop Science*, **2010**, 4(4), 258-263.
[13] M. Bertrand, Ö. Mehmet Musa, *J Food Process Technol*, **2011**, 2, 1-4.
[14] M. Shahat, A. Salama, M.M. Abul-Fadl, M.M. Akasha, *Journal of Applied Sciences Research*, **2013**, 9(2), 1147-1160.
[15] G. Beltran, C.D. Rio, S. Sanchez, L. Martinez, *J agric food chem.*, **2004**, 52, 3434-3440.
[16] X. Li, H. Zhu, C.F. Shoemaker, S.C. Wang, *J Am Oil Chem Soc.*, **2014**, 91,1559-1570.
[17] A. Lo´pez-Lo´pez, F. Rodrı´guez-Go´mez, *J Am Oil Chem Soc.*, **2010**, 87, 705–714.
[18] R.M. Paz, T.M. Jesús, R. Tomas, M.M. José, *JAOCS*, **2003**, 80, 5, 423-430.
[19] H. Noureddini, M. Kanabur, *JAOCS*, **1999**, 76, 305-312.
[20] A. Gohari Ardabili, R. Farhoosh and M. H. Haddad Khodaparast, *Eur J Lipid Sci Technol*, **2010**, 112, 871–877.
[21] L. Gallardo-Guerrero, B. Gandul-Rojas, M. Roca, M.I. Mínguez-Mosquera, *JAOCS* **2005**, 82, 33-39.
[22] H. Mabroka H., I. Amal A.E., A. Rasha M. and A. Mona R., *Journal of American Science*, **2014**, 10(1), 61-66.
[23] G. Gambacorta, M.A. Del Nobile, P. Tamagnone, M. Leonardi, M. Faccia and E. Lanotte, *Ital. J. Food Sci.*, **2004**, n. 4 vol 16, 417- 428.

**الملخص**

التحليل الكيميائي لثلاث عينات من زيت الزيتون (مخزنة لمدة سنة، 12، و33 سنة سمحت بإحصاء 16، 18 و31 مركبا دهنيا، المركبات الغالبة كانت Acide oléique وAcide palmitique؛ بينما أظهرت نتائج التحليل الكيميائي للزيت الأساسي المستخلص من الأجزاء الهوائية لنفس النبات *Olea europea* L. وجود 38 مركبا أما العنصر الغالب كان acide Hexadecanoique (acide palmitique)، أما التحليل الكيميائي للزيت الأساسي للنوع *Mentha aquatica* L. فقد كشف عن وجود 43 مركبا، أما المركبات الغالبة فكانت linalyl acetate 26,10 %، α-pinene 22,7 %، linalol 13,75 %. تنائج النشاطية ضد البكتيرية كانت مختلفة، هذه النتيجة كانت حسب الزيت والتركيز المستعمل.

**الكلمات المفتاحية:** النباتات الطبية، زيت الزيتون، الزيوت الأساسية، النشاطية البكتيرية، *Olea europea* L.، *Mentha aquatica* L.

**Abstract**

Chemical analysis of three olive oil Samples Stored for (1 year, 12 and 33 years) allowed to us count 16, 18 and 31 fatty compound, the major compounds were oleic acid and palmitic acid. While the essential oil Analysis by GC and GC/MS of aerial parts of the same plant *Olea europea* L. allowed the identification of 38 compounds, the main compound was palmitic acid, whereas the analysis of the essential oils of *Mentha aquatica* L. by GC and GC / MS has identified 43 compound, the major compound were Linalyl acetate (26.10%), α-pinene (22.7%), linalol (13.75%). Results of the antibacterial activity were different, this activity depend on the oil and concentration used.

**Key words:** medicinal plants, olive oil, essential oil, antibacterial activity, *Olea europea* L., *Mentha aquatica* L..