دراسة حول الخصائص الفيزيائيّة والكيميائيّة والبيولوجيّة للزّيوت الأساسيّة لليمون الهنديّ (Citrus maxima L.)

محديد محمد[1*]، أراشيش ماريّة[2]، فرحات أمين[1]
لعماري ليندة[1] و باديس عبد المالك[2].

تاريخ الإرسال 19 أكتوبر 2019 تاريخ القبول 06 ديسمبر 2019

1- مخبر الإثنيّة النّباتيّة والمواد الطّبيعيّة، قسم العلوم الطّبيعيّة، المدرسة العليا للأساتذة، القبة، الجزائر.
2- قسم هندسة الطّرائق، فريق التّحكّم الصّناعي والتّكنولوجيا، جامعة سعد دحلب، البليدة.

الملخّص Abstract :

تملك الزّيوت الأساسيّة نشاطا ضدّ قسم من الميكروبات الهامّة، يمكنها أن تعوّض بنجاح المضادّات الحيويّة التي أثبتت عدم فعاليّتها ضدّ البكتريا المقاومة لها، لذلك قمنا باستخلاص الزّيت الأساسيّ لقشور ثمرة اللّيمون الهنديّ الطّازجة.L *Citrus maxima* بواسطة التّقطير المائي، فأعطى مردودا قارب 1.58%. بين التّحليل الكيميائيّ الفيزيائيّ للزّيت الأساسيّ مطابقته للمعايير الدّوليّة AFNOR. كما بيّن التّحليل بواسطة كروماتوغرافيا الطّور الغازيّ المقترن بمطيافيّة الكتلة، هيمنة مركب اللّيمونين بنسبة 86.42%مع قليل من البيتا ميرسين وآلفا بينين بـ 3.65 و 1.35% على التّرتيب. بالرّغم من الفعاليّة الضّعيفة المضادّة للأكسدة للزّيت بطريقتي DPPH و beta-carotène، فإنّ الفعاليّة المضادّة للبكتريا أعطت قدرة تثبيطيّة مهمّة خاصّة بكتيريا (ATCC 25923) ***Staphylococcus aureus***، و بنفس الأهميّة للفطريّات خاصّة فطر ***Aspergillus flavus***.

الكلمات المفتاحيّة: اللّيمون هندي، الزّيوت الأساسيّة، نشاط مضادّ للأكسدة، نشاط مضادّة للبكتيريّ

Title : Study on the physical, chemical and biological properties of the essential oils of lemon (Citrus maxima L.)

[*]المدرسة العليا للأساتذة، القبة، الجزائر Email mahdid_m@yahoo/fr.

Abstract: Essential oils have an activity against a section of important microbes that can successfully compensate antibiotics, that have proven ineffective against their resistance to bacteria. So, we extracted the Essential oil of the fresh pomelo fruit peel citrus Maxima L. with hydro distilation, giving a yield of about 1.58%. The physico-chemical analysis of primary oil has shown that it meets the international standards of AFNOR. Analysis by GC-MS chromatography showed the dominance of the limonene compound by 86.42% with a few betamyrcene and alpha pinene of 3.65 and 1.35% respectively Despite the low antioxidant efficiency of the DPPH and the beta Carotene method, the. anti-bacterial efficiency has given important inhibition of the Staphylococcus aureus bacteria (ATCC 25923), and the same importance of fungi especially Aspergillus flavus.

Key words: pomelo, Essential oils, Antioxidant activity, Antibacterial activity.

المدخل Introduction:

الزّيوت الأساسيّة أو المستخلصات العطريّة من مختلف أجزاء النّبات هي مزيج معقّد من موادّ الأيض الثّانويّ. غنيّة بالمشتقات التّربينيّة، والعطريّة المتمثّلة في الفينولات والكحولات والكيتونات والاسترات والالدّهيدات، وقليل من الأحماض العضويّة. هي مركّبات كارهة للماء متبخّرة، يتمّ استخلاصها بعدّة طرق مناسبة؛ بغيّة تحليلها ودراسة خواصّها المختلفة، مثل التّقطير المائيّ، والتّقطير بالبخار، والانتشار المائيّ والاستخلاص المتزامن للتّقطير، وغيرها من الطّرق. ومع ذلك، من المعروف أنّ المركّبات المتطايرة حسّاسة للحرارة وعرضة للتّفاعلات الكيميائيّة. إنّ فقدان بعض المكوّنات وتدهور بعض المركّبات غير المشبّعة عن طريق التّأثير الحراريّ أو التّحلّل المائيّ، وكذلك وجود مخلّفات متباينة في التّركيز من المذيبات العضويّة السّامّة النّاتجة من تقنيّات الاستخلاص هذه (Amarti et al 2010) .

تكمن أهمّيّة الزّيوت الأساسيّة في استخداماتها المتنوّعة، نظرا لخصائصها الفيزيائيّة والكيميائيّة المتنوّعة. تعتبر مادّة أوّليّة في الصّناعة الغذائيّة كمنكّهات ومضافات، وفي صناعة مستحضرات التّجميل وكمواد صيدلانيّة في الطّبّ البديل (Bruneton 1999). لا يخفى على أحد، التّأثيرات غير المرغوبة التي تسبّبها المضادّات الحيويّة على صحّة المريض المعالج، خاصّة في تراكيزها العاليّة، وأيضا خاصّيّة المقاومة التي تكتسبها مع الوقت، كما هو الحال عند بعض السّلالات البكتيريّة، إضافة إلى الأعراض الثّانويّة التي تسبّبها باقي الأدويّة، لذا كان من اللازم، العودة إلى الطّب البديل والعلاج بموادّ طبيعيّة المصدر من مستخلصات نباتيّة، (Vijaylakshmi & Radha 2015)

معظم خصائص النّباتات وخاصّة النّباتات الطّبّيّة ناتجة عن الزّيوت الأساسيّة التي تنتجها عمليّة التّمثيل الغذائيّ للأيض الثّانويّ، والتي تعتبر ذات ملامح تركيبيّة كيميائيّة مختلفة تسمح باستخدامها في كثير

من الوظائف. اللّيمون الهندي، اسمه العلميّ *Citrus maxima* اسمه الشّائع بالانكليزيّة pomelo, أو grapefruit chineseو بالفرنسيّة pamplemousse هي فاكهة حمضيّة ، مستديرة كبيرة الحجم نسبيّا صفراء القشرة تتميّز بطعمها المرّ والحامض أحيانا. يقبل النّاس في أنحاء كثيرة في العالم على تناولها في وجبة الصّباح مسكّرة، كفاكهة وفي السّلطات والمقيّات الجافة لمعادلة قلويّة الزّيوت، كما تعتبر من العصائر المفضّل شربها خاصّة وقت الحرّ، نظرا لطعمها الهجين بين الحلاوة والمرارة. لها فوائد بيولوجيّة وغذائيّة هامّة. تعتبر هذه الفاكهة ذات فوائد صحيّة نظرا لغناها بفيتامين C الذي هو عبارة عن مساعد انزيميّ مهمّ في أيض العديد من التّفاعلات في جسم الإنسان، كما أنّ نقصه يمكن أن يؤدّي إلى نزيف اللثّة وتباطؤ شفاء الجروح. إضافة إلى خصائصه المطهّرة، المضادّة للاكتئاب وهشاشة العظام إضافة إلى إعطاء النّشاط والحيويّة في حالات الإرهاق والتّعب. كما تحتوي الفاكهة أيضا على فيتامينات B2،B1 وB12، إضافة إلى البروتين والكالسّيوم. يستخدم بكتين الثّمار في صناعة الهلام والحلويّات ومراهم ضدّ الحروق الجلديّة وغيرها من الاستخدامات (Singh and Navneet 2017).

تستخدم بذور وثمار وأوراق نبات الليمون الهنديّ في الفليبّين وجنوب شرق آسيا كعلاج للسّعال والحمى واضطرابات المعدّة. تعتبر الثّمار مسهّلة للهضم ومطهّرة ضدّ الجراثيم السّامة. يستعمل منقوع الأوراق والأزهار والقشور كمهدّئ عصبيّ في حالة الصّرع والسّعال الحادّ التّشنجيّ. كما تستخدم عجينة البذور في علاج أمراض اللّثة (Orwa et al 2009).

أظهر الاستعمال الشّعبيّ التّقليديّ لكلّ من الأوراق والأزهار والثّمار والبذور وجود أنشطة كيميائيّة وبيولوجيّة هامّة لنبات الليمون الهنديّ، ووجود خصائص مسكّنة ومضادّة للأورام والالتّهابات ومحافظة للكبد ولها تأثير على نشاط الجهاز العصبيّ المركزيّ. يستعمل شراب قشرة ساق النّبات لمرض السّكريّ؛ نبات طبّي عالي القيمة. حثّ وحرص العالمان Vijaylakshmi & Radha سنة 2015 على المزيد من الدّراسة عليه مستقبلا، بتقييم المواد الأساسيّة المعزولة من النّبات بطريقة علميّة باستخدام نماذج حيوانيّة تجريبيّة وعلميّة وتجارب سريريّة لفهم آليّة العمل الجزيئيّة بدقّة.

الغرض من عملنا هذا هو استخلاص ووصف الخواصّ الفيزيائيّة والكيميائيّة للزّيت الأساسيّ لنبات الليمون الهنديّ وتحديد تركيبه الكيميائيّ وتقييم قدرته البيولوجيّة. بتفصيل الجوانب المختلفة لنشاطها وفي النّهاية تقييم التّأثيرات المضادّة للأكسدة والجراثيم (بكتريا وفطريّات) للزّيت الأساسيّ لهذا النّبات. كما تمّت مناقشة كلّ هذه النّتائج مع استنتاج عامّلها.

الأدوات والطّرائق Materials and methods

الليمون الهنديّ *Citrus maxima* من أشجار الحوامض أو الموالح، تتّبع رتبة الصّابونيداتSapindales والفصيلة السّذابيّة Rutaceae، حيث تنتشر زراعتها في شمال الجزائر حيث مناخ البحر الأبيض المتوسّط. تمّ حصاد الثّمار شهر مارس 2018 من مزرعة قريبة من مدينة بوفاريك جنوب الجزائر العاصمة.

تمّ وضع 100 غ من قشور ثمار الفاكهة الطّازجة المفتّتة مع 200 مل من الماء المقطر في بالون تسخين زجاجيّ لغرض التّقطير المائيّ لاستخلاص الزّيت الأساسيّ عند 100°م لمدّة حوالي 3 ساعات.

الخصائص الفيزيائيّة والكيميائيّة:

تمثّلت في دراسة مردود الزّيت في النّبات والمتمثّلة في نسبة كتلة الزّيت المستخلص مقارنة بكتلة المادّة النّباتيّة الجافّة.

قيس مؤشر الانكسار بجهاز قياس الانكسار من نوع Bellinghame، وتمّ تحديد الكثافة بواسطة قارورة بيكنومتر، أمّا مؤشّر الحموضة

تمّ وضع 1 غ من الزّيت في دورق ارلن، وإضافة 5 مل من الإيثانول وقطرتين من الفينوفتالين. تمّت معايرة الخليط بمحلول هيدروكسيد البوتاسيوم الإيثانولي (0.1N) إلى غايّة ظهور اللون الورديّ.

حسب مؤشّر الحموضة حسب المعادلة التّاليّة:

$$IA = \frac{N\ 56.1\ V}{m}$$

حيث IA مؤشّر الحموضة، N = نظاميّة KOH، V= حجم KOH المستهلك، 56.1= الوزن الجزيئيّ لـKOH. أمّا m فهو وزن الزّيت المأخوذ(غ).

في حين تمّ قياس الأسّ الهدروجيني بأشرطة pH.

ـ دراسة النّشاط المضاد للأكسدة بتثبيط الجذر الحرّ المستقرّ DPPH

تمّ الاعتماد على طريقة (Blois,1958) من أجل دراسة تثبيط الجذر الحرّDPPH حيث يتمثّل أساس التّجربة على قدرة بعض المركّبات المضادّة للأكسدة على تحرير الهيدروجين الذي يعمل على إرجاع الجذر الحرّDPPH إلى جذر غير حرّ، فيتغيّر لونه البنفسجيّ إلى اللون الأصفر. عمليّا تمّ وضع 1 مل من المستخلص النّباتيّ الزّيتيّ بتراكيز مختلفة (10، 20، 30، 40، 50 ميكروغرام/مل ميثانول) في أنابيب اختبار مع إضافة 1مل من المحلول الميثانولي لـ DPPH. حضر محلول تصفير الجهاز(blanc) بنفس التّراكيز السّابقة للمستخلص الميثانوليّ في كلّ مرّة مع تعويض حجم الـ DPPH بالميثانول. أخلط المزيج جيّدا في جهاز الرّجّ الكهربائيّ، بعد ذلك ترك لمدّة 30 دقيقة في الظّلام وفي درجة حرارة المخبر. بعد مرور هذه المدّة، قيست الكثافة الضّوئيّة باستعمال طول الموجة 517 نانومتر، حيث تمّ إنجاز التّجربة بثلاثة تكرارات. تمّ تحضير مركّب Trolox كشاهد إيجابيّ بالموازاة مع ظروف قياس العيّنات.

ـ الاختبار النوعيّ للبيتا كاروتين

تمّ هذا الاختبار وفق طريقة (Tepe et al 2006) التي تعتمد على قدرة أيّ مركّب على محو التّلوّن (الأكسدة) لمحلول البيتا كاروتين في نظام مستحب اللينولييك. يحتوي الخليط 0.5 ميكروغرام من بيتا

كاروتين / 1مل من الكلوروفورم و 25 ميكرولتر من حمض اللينولييك و 200 مغ من التّوين 40. أضيفت 400 مل من الماء مباشرة للخليط بعد تبخير الكلوروفورم مع الرّجّ الشّديد. تمزج 5 مل من المستحلب مع 0.2 مل من العيّنة أو مضاد الأكسدة Butyl Hydroxy Toluène (BHT) و(Vit) الفيتامين كشواهد في أنابيب اختبار، ثمّ قيست مباشرة الكثافة الضّوئيّة عند 490 نانومتر بالنّسبة للشّاهد والعيّنة خلال كلّ 30 د إلى غايّة زوال اللون.

تمّ قياس وحساب النّشاط المضادّ للأكسدة للزّيت الأساسيّ حسب المعادلة التّاليّة:

النّشاط المضادّ للأكسدة: (Rs –Rc) / Rcx . 100

حيث Rc و Rs= معدّل تبييض الكاروتين لكلّ من الشّاهد والعيّنة على التّرتيب (Al-Saikhan et al 1995)).

ـ النّشاط المضادّ للميكروبات:

تمّ تقييم نشاط مادّة الزّيت الأساسيّ لنبات الليمون الهنديّ بنمطين من الدّراسة هما الدّراسة النّوعيّة والتي تمثّلت في اختبار حساسيّة البكتيريا للمادّة المضادّة مثل طريقة الأقراص، والدّراسة الكمّيّة والتي تمثّلت في تقدير التّركيز الأدنى المثبّط (Belaiche, 1979).

الأروماتوغرام أو قابليّة تأثير الزّيت أو العطر النّباتيّ:

هي طريقة في المختبر لقياس القدرة المضادّة للبكتيريا للزّيوت الأساسيّة. تتلخّص قدرتها في 3 أوجه:

- التّأثير على الجدار البكتيريّ، ممّا تسبّب في زيادة نفاذيّته وفقدان المكوّنات الأساسيّة.

- تحمّض داخل الخليّة، ومنع إنتاج الطّاقة الخلويّة وتركيب المكوّنات الهيكليّة.

- تدمير المادّة الوراثيّة، ممّا يؤدّي إلى موت البكتيريا.

السّلالات المكروبيّة المستعملة:

-البكتريا:

السّلالات المستخدمة هي سلالات مرجعيّة على أساس ATCC (American Type Culture Collection) جلبت من مختبر علم الأحياء الدّقيقة، المدرسة العليا للأساتذة القبّة الجزائر. التي تمّ تخزينها في 4 درجات مئويّة في أنابيب الاختبار التي تحتوي على جيلوز مائل السّطح.

بكتريا غرام سالب: *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606، *Citrobacter freundii* ATCC 8090، *Salmonella typhimurium* ATCC 13311: *Escherichia coli* ATCC 25922، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853، *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 و *Proteus mirabilis* ATCC 35659

بكتريا غرام موجب: *Liisteria monocytogenes* ATCC 15313، *Enterococcusfa ecalis* ATCC 49452، *Bacillus cereus* ATCC 10876 و *Staphylococcus* aureus ATCC 25923

-الفطريّات:

خمائر *Candida albicans*، و عفن *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger*.

تّم تقدير النّشاط المضادّ للبكتريا من المستخلص الزّيتيّ لنبات الليمون الهنديّ بنشر المستخلص في الأقراص بواقع 10 ميكرولتر في كلّ قرص عن طريق الدّراسة النّوعيّة والتي تتمثّل في اختبار حساسيّة البكتيريا للمادّة المضادّة أو المستخلص النّباتيّ.

وسط الزّراعة من نوع Muller-Hinton موزّع في أطباق بتري، تمّت عمليّة التّلقيح عن طريق المسح على أطباق بتري، وتمّ غمس المسحة في نظام التّعليق الجرثوميّ، ثمّ فركها بالضّغط بشدّة على الجدار الدّاخلي للأنبوب. وتمّ تخطيط المسحة على سطح أجار بأكمله، من أعلى إلى أسفل في خطوط ضيّقة.

كرّرت العمليّة مرّتين عن طريق التّدوير المربّع بدرجة 60° في كلّ مرّة. يتمّ الانتهاء من التّلقيح عن طريق مسح آخر لمرّة واحدة على سطح الأجار بأكمله. تمّ إعادة تحميل المسحة في كلّ مرّة تزرع فيها العديد من أطباق بتري بنفس السّلالة. وضعت الأقراص المشبّعة بالمستخلص بلطف على سطح الآجار الملقّح بالاستعانة بملقط معقّم. وأخيرا، تمّ تحضين أطباق بيتري لمدّة 18 إلى 24 ساعة عند 37°م. تمّ اختيار المضادّات الحيويّة حسب توصيّات Rahal سنة 2005، تعتبر حساسيّة سلالة ما منعدمة إذا كان قطر التّثبيط أقل أو يساوي 08 ملم، وتكون محدودة عندما يتراوح قطر التّثبيط بين 08-14ملم، بينما تكون متوسّطة عند قطر تثبيط يتراوح بين 14-20 ملم، وتكون جدّ حسّاسة عندما يكون قطر التّثبيط أكبر من 20 ملم (Duraffourd et al 1990).

-تحديد التركيز الأدنى المثبط CMI

استخدمت طريقة التّخفيف المضاعف انطلاقا من التّركيز 50 ملغ/مل للمستخلص الزّيتيّ لثمرة النّبات *Citrus maxima* بحجم 5 ملل. بأخذ 2.5 مل من المستخلص السّابق أضيف لها 2.5 مل من الوسط المغذّي بعد مزج الخليط، تمّ أخذ 2.5 مل من الخليط ووضع في طبق بتري الأوّل والباقي خفّف بالوسط المغذّي بنفس الطّريقة.

تكون حساسيّة الجرثوم منعدمة في حالة تركيز أدنى مثبّط بين قطر أقل أو يساوي 8 مم. وتكون حساسيّة محدودة عند قطر ما بين 8 و 14 ملم، حساسيّة متوسّطة في قطر بين 14 و 20 مم. وتكون حسّاسة للغايّة بالنّسبة لقطر أكبر من أو يساوي 20 مم.

-التحليل الكروماتوغرافيّ للطور الغازيّ(GC) والمقترنة مع المطيافيّة الكتليّة (GC/MS)

تمّ الفصل الكيميائيّ لمكوّنات المستخلص الزّيتي النّباتي بواسطة جهاز الكروماتوغرافيا الغازيّة من نوعHewlett Packard6890 باستعمال عمود فصل شعريّ قطبي من نوع Stabilwax وبالاقتران مع جهاز مطياف الكتلة من نوع Hewlett Packard 5973A باستعمال عمود فصل شعري قطبي من نوع

StabilwaxHP5 MSوكلا التّحليلين كانا وفق برامج محدّد من حرارة الفرن، حرارة الحاقن، سرعة التّدفّق وطريقة الحقن.

النتائج Results:

ـ الخواصّ الفيزيائيّة والكيميائيّة:

بيّنت تحاليل الخواصّ الفيزيوكيميائيّة المتحصّل عليها بالطّرق الخاصّة بها والآنفة الذّكر في المستخلص الزّيتيّ النّباتي أنّها مطابقة لمعايير AFNOR التّابعة للجمعيّة الفرنسيّة للقياسة، من حيث المردود ومؤشّرا الانكسار والحموضة والكثافة النّسبيّة وpH. حسب الجدول التّالي:

الجدول 1: الخواصّ الفيزيوكيميائيّة للزّيت الأساسيّ لقشور ثمرة الليمون الهنديّ

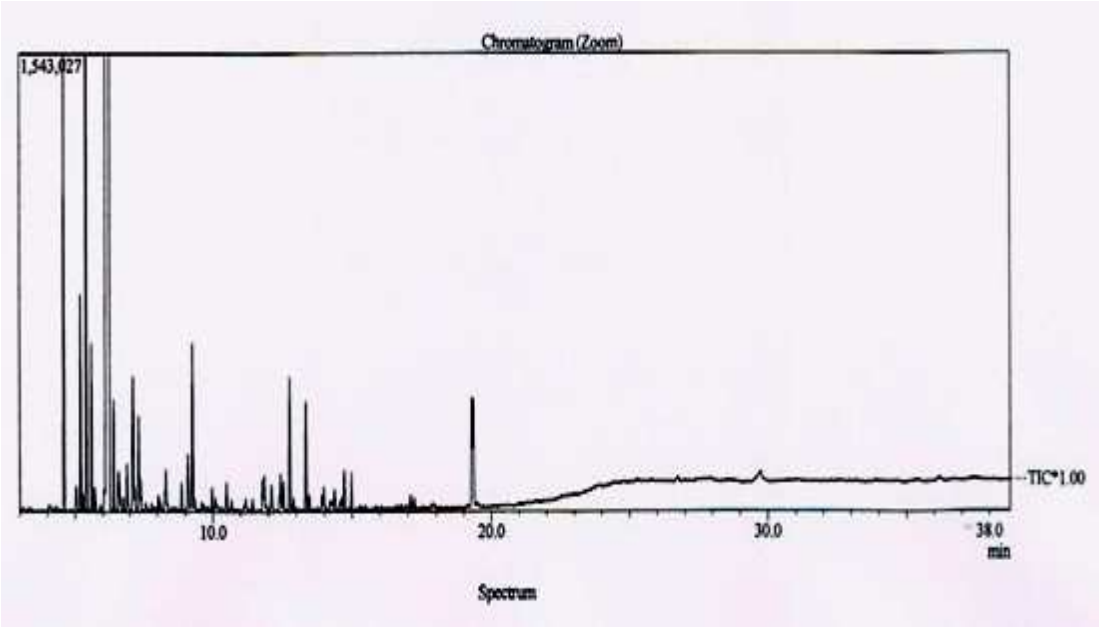
الخواصّ	القيم التّجريبيّة	القيم حسب معيار AFNOR
مؤشّر الانكسار	1,4768	$1,465 \leq n^{20}_{D} \leq 1,470$
الكثافة النّسبيّة عند 20° (غ/مل)	0,91015	0,907 – 0,920
مؤشّر الحموضة	1,66	0.5 – 3.00
pH	5	حمض ضعيف
المردود (%)	1.58	0.5-2

بيّنت نتائج الكروماتوغرافيا الغازيّة المقترنة مع مطيافيّة الكتلة للزّيت الأساسيّ لليمون الهنديّ هيمنة مركب الليمونين Limonène بنسبة 86.42% متبوع بخمسة مركّبات وهي: البيتا ميرسينβ-myrcene بنسبة 3.65%; آلفا بينين α-pinène بنسبة 1.35 % والصّابينان Sabinène بنسبة 0.65 % والتيتراديكانال tetradecanal بنسبة 0.63% و الدّيكانال decanal بنسبة 0.62%.

الجّدول 2: تشكيلة المركّبات المفصولة بواسطة الكروماتوغرافيا الغازيّة المقترنة مع المطيافيّة الكتليّة GC-MS

RI apolaire	RI polaire	Composésالمركّبات	%
4.600	4.655	Pinene<alpha->	1,35
5.210	5.245	Sabinene	0,65
5.425	5.470	beta-Myrcene	3,65

5.605	5.645	Octanal	0,51
6.230	6.245	Limonene	86,42
6.420	6.465	Ocimene<(E)-, beta->	0,33
6.590	6.635	Terpineol<alpha->	0,21
7.130	7.155	Tetradecanal	0,63
7.345	7.380	Linalool	0,33
9.115	9.175	Terpineol<alpha->	0,28
9.275	9.320	DECANAL	0,62
12.765	12.815	Humulen-(v1)	0,55
13.340	13.395	Caryophyllene	0,43
19.300	19.310	Nootkatone	0,5
-----	------	مركّبات أخرى Others	2,5



الشّكل1: تركيب الزّيت الأساسيّ لقشور ثمرة الليمون الهنديCitrus maxima عن طريق الكروماتوغرافيا الغازيّة باستعمال عمود فصل شعري قطبي من نوع Stabilwax المقترنة مع المطيافيّة الكتليّةGC-MS باستعمال عمود شعري Hewlett Packard 5973A

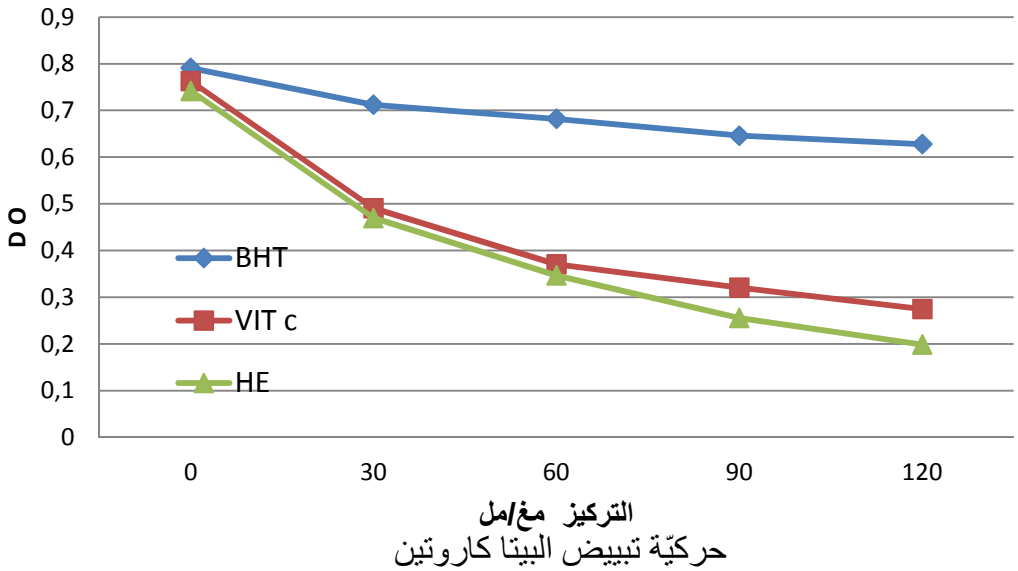
- النّشاطيّة المضادة للأكسدة بطريقتيDPPH والبيتاكاروتين

أثبتت النّتائج المتحصّل عليها باستعمال طريقة الجذر الحرّ المستقرDPPH، عليها أنّ الزّيت الأساسيّ عادة ما يكون قليل الفعاليّة المضادّة للأكسدة لا يمتلك فعلا مضادّا للأكسدة. فحسب النّتائج لم تختزل الفعاليّة الاختزاليّة مع التّركيز (الجدول 3)،

الجدول 3: تحليل النّشاط المضادّ للأكسدة للزّيت الأساسيّ لنبات الليمون الهنديّ بطريقة DPPH

C (µg/ml)	0	0.4	0.6	0.8	1	3	4	5	10	20	50
تثبيط % الجذر الحر التّرولوكس	0	5,2	8,2	11,1	17,2	26,5	41,6	46,4	94,93	99,97	99,97
تثبيط % الجذر الحر التّجربة	0,00	0,00 ±0.00	0,77 ±0.00	1,35 ±0.01	11,54 ±0.02	8,65 ±0.02	4,81 ±0.01	6,92 ±0.01	8,27 ±0.01	0,58 ±0. 02	12,50 ±0.03

وبيّن اختبار محو التّلوين بطريقة البيتا كاروتين عدم زوال لون الزّيت الأساسيّ مقارنة بـ BHTو VIT، بالتّالي كانت النّتيجة سلبيّة.



حركيّة تبييض البيتا كاروتين

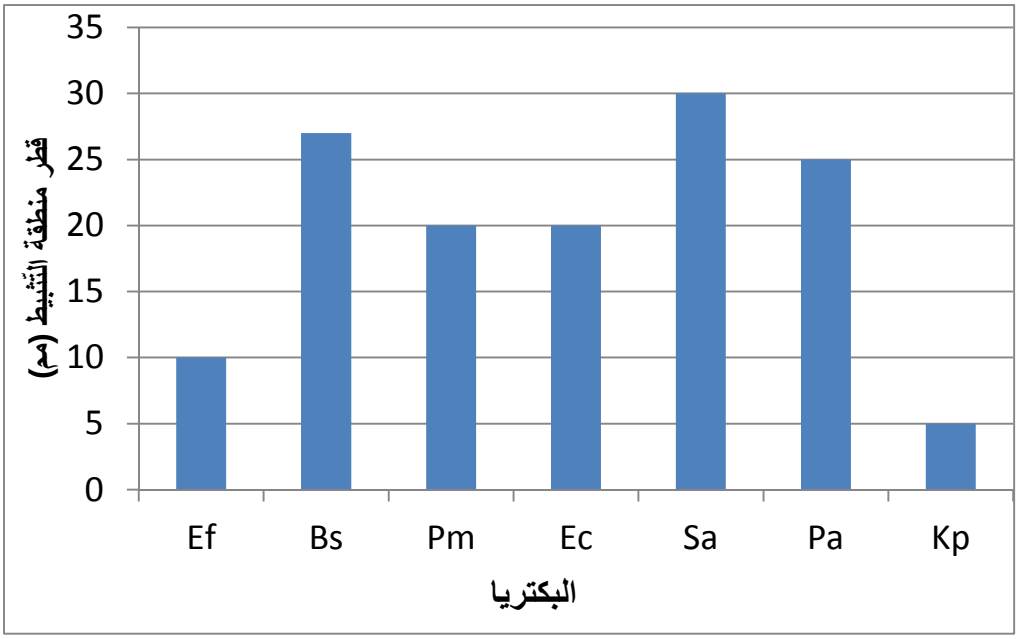
الشّكل 2: حركيّة تثبيط ابيضاض البيتاكاروتين

بواسطة مستخلص الزّيت الأساسيّ لثمرة الليمون الهنديّ و الشّاهد الإيجابيّ لـ BH

ـ النّشاط المضادّ للميكروبات:

نتائج قياس مناطق تثبيط الزّيوت الأساسيّة لنبات الليمون الهنديّ ضدّ البكتيريا والفطريّات

يوضّح الشّكل التّالي القوّة المثبّطة لزيت الليمون الهنديّ ضد السّلالات البكتيريّة العشرة التي تمّ اختبارها:



الشّكل 3: تأثير الزّيت الأساسيّ و النّشاط المضادّ لسلالات بكتيريّة

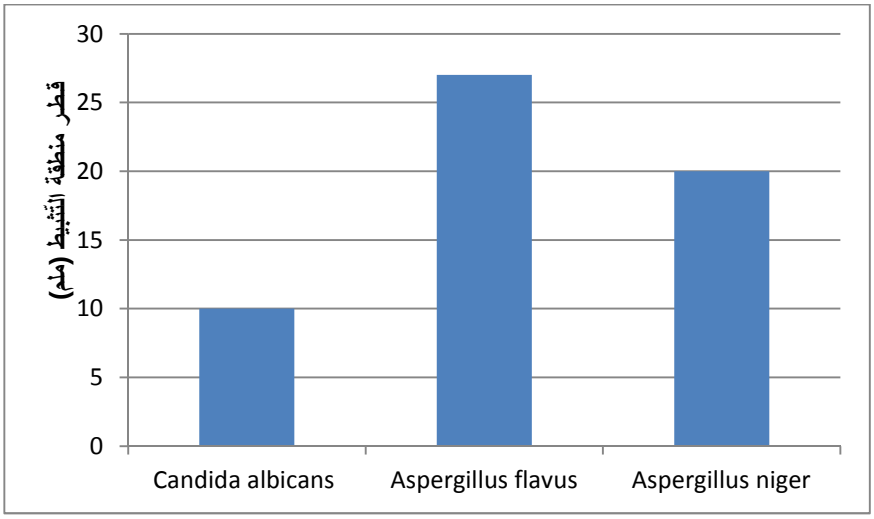
عن طريق قطر التّثبيط لثمرة نبات الليمون الهنديّ Citrus maxima

الزّيت الأساسيّ لثمرة النّبات، كان له تأثير بالخصوص على 3 سلالات بكتيريّة هي: Staphylococcus aureus و Bacillus subtilis و Pseudomonas aeruginosa وبدرجة معتدلة كلّ من Proteus mirabilis و E. coli.

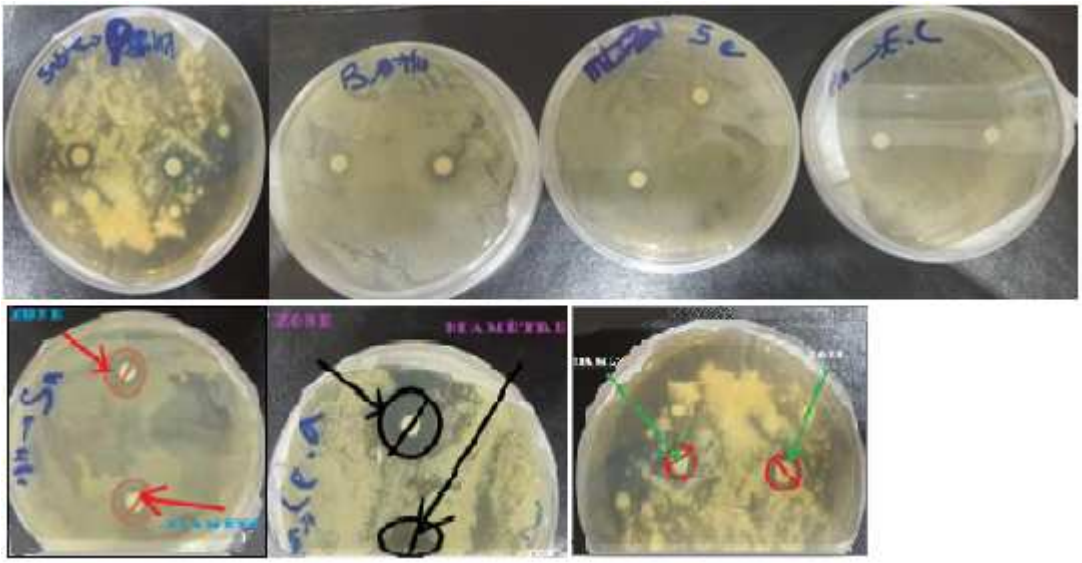
النّوع Enterococcus faecalis له حساسيّة محدودة للزّيت. والنّوع Klebsiella pneumonia جدّ حسّاس لتأثير الزّيت النّباتيّ.

في ما يتعلّق بالفطريّات فإنّ فطر Aspergillus flavus، احتوى على منطقة تثبيط مهمّة أيضا، في حين أنّ خميرة Candida albicans لديها تثبيط ضعيف.

وعلى ضوء كلّ ما سبق تمّ تحليل وتفسير النّتائج المحقّقة في المناقشة



شكل4: تأثير الزّيت الأساسيّ والنّشاط المضاد لسلالات فطريّة عن طريق قطر التّثبيط لثمرة نبات الليمون



الهنديّ Citrus maxima

شكل5: بعض نتائج دوائر المنع الخاصّة بالتّركيز الأدنى المثبّط لنموّ السّلالات البكتيريّة والفطريّة باستعمال الزّيت العطريّ لنبات الليمون الهنديّ Citrus maxima L.

المناقشة Discussion

من الواضح من التّحليل الكروماتوغرافيّ هيمنة المشتقّات التّربينيّة بالأخصّ الليمونين، وغياب الفينولات والفلافونيدات والتي تعتبر من المركّبات المضادّة للأكسدة. هذا لا ينفي وجود الفينولات والفلافونيدات في المستخلصات المائيّة للثّمار والتي تعتبر من المركّبات المضادّة للأكسدة. لأنّ طريقة استخلاص الزّيوت الأساسيّة لا تسمح باستخراج الفينولات والفلافونيدات.

من النّتائج السّابقة، تبيّن أنّ مناطق تثبيط الزّيوت الأساسيّة مهمّة، ممّا يعني قوّتها المضادّة للبكتيريا. هذه النّتائج مرضيّة، خاصّة في ما يتعلّق بالمكوّرات العنقوديّة الذّهبيّة *Staphylococcus aureus*، حيث لوحظت مناطق تثبيط كبيرة. هذه النّتائج متطابقة تماما مع ما توصّل إليه Vasek وفريقه سنة 2015. وأيضا Okungbowa & Oviasogie سنة 2009.

وكشفت الدّراسة التي أجراها Ionescu وفريقه سنة 1990 على 794 سلالة بكتيريّة النّقاب على أنّ مستخلص بذور الليمون الهند قد ثبّط نموّ بكتريا غرام موجب بشكل لافت للانتباه مقارنة ببكتريا غرام سالب وأنّ بكتريا *Pseudomonas* لم تكن حسّاسة للمستخلص. إضافة إلى ذلك، فإنّ التّأثير المضادّ للبكتريا لبذور الليمون الهنديّ قد تمّت مقارنته مع 30 مضادّحيويّ ساري العمل به في الطّبّ، إذ بيّنت أنّ التّركيز الأعلى من 0,1% كان له نفس الفعاليّة مع أيّ من المضادّ الحيويّ. كما بيّنت الدّراسة أنّ مستخلص بذور النّبات كان له نشاط معتبر ضدّ بكتريا غرام موجب وغرام سالب معا.

أظهرت دراسة سابقة أنّ الفعاليّة المضادّة للفطريات لمستخلص بذور اللّيمون الهنديّ، إذ عرضوا 200 سلالة من فطر كانديداألبيكنس *Candida albicans*و 7 سلالات من *Candida non albicans* و 12 سلالة من الفطريّات الجلديّة *Dermatophytes* مكوّنة من *Trichophyton sp* و*Epidermophyton floccosum*

و 20 سلالة من فطريّات العفن moisissures،(Krajewska- Kulaket al 2003). كان التّأثير الهيدرو غليسيريني لبذور الليمون الهنديّ جدّ فعّال على السّلالات المدروسة بتّثبيط نموّها لكن باختلاف دائرة المنع من سلالة إلى أخرى. إذ تباين التّركيز الأدنى للتّثبيط CMIبين 1.8 و 5.9 ملغ/ل بالنّسبة لفطر *Candida albicans*وبين 18.2 و 36.6 ملغ/ل بالنّسبة لفطر *Candida non albicans* وبين 90 و 200 ملغ/ل بالنّسبة للفطريّات الجلديّة من نوع *Dermatophytes* و بين 6.25 و 200 ملغ/ل بالنّسبة لفطريّات العفن. في حين أظهرت دراسة أخرى أنّ منطقة المنع في وسط زراعة حول أقراص مبلّلة بمستخلص بذور اللّيمون الهنديّ المنزليّ كانت في حدود 10-16 ملم بالنّسبة لبكتريا غرام موجب، أمّا بكتيريا غرام سالب لم تكن حسّاسة. مستخلص بذور الليمون الهنديّ عامل مهمّ مضادّ للميكروبات، مع نشاط أكبر على بكتيريا موجبة غرام. كمّا يعتبر كمادّة طبيعيّة حافظة ضد الأعفان والفطريّات والبكتريا. خاصّة مع تأكيد العديد من الدّراسات خلو الزّيوت الأساسيّة للحمضيّات بشكل عامّ من أيّ أخطار تسميميّة للعضويّة وللبشر أثناء استعمالاتها المتعدّدة (Dosoky&. Setzer, 2018). نفس الاستنتاجات خلص إليها Vasek وفريقه سنة2015، حول تأثير الزّيت

الأساسيّ لـ *Citrus paradisi* على قسم كبير من بكتيريا غرام موجب وغرام سالب و بكتريا Lactococcuslactic. وقد اقترح بعض العلماء آليّة هامّة في تنقيّة جوّ البيت والغرفة من العدوى الجرثوميّة والبكتريا الممرّضة والطّفيليّات بمرشّحات (مصفاة) الهواء باستعمال مستخلصات بذور الليمون الهندي وهي مستخلصات طبيعيّة فعّالة مقارنة بموادّ اصطناعيّة أخرى (Han et al 2015).

وقد خلصت مناقشة النّتائج إلى الخلاصة التّاليّة:

الخلاصة Conclusion

من خلال مناقشتنا للنتائج المتحصّل عليها، يمكننا تلخيص أهمّ ما جاء به البحث في ما يلي:

- بيّنت الخواصّ الفيزيوكيميائيّة للزّيت الأساسيّ لثمرة نبات الليمون الهنديّ تطابقه لمعايير الزّيوت الأساسيّة التّجاريّة، حسب معايير الجمعيّة الفرنسيّة للقياسة من حيث المردود ومؤشّرا الانكسار والحموضة والكثافة النّسبيّة وpH.

- يعتبرزيتا مطهّرا ومضادا فعّالا للأعفان البكتريا الممرّضة، بالتّالي ينصح باستعماله كمخلّلات إضافيّة في السّلطات والأغذيّة المطهيّة في الصّحون و كحافظ بيولوجيّ مهمّ للأغذيّة المصبّرة.

- يعتبر كعلاج لشتّى البكتريا والفطريّات التي تصيب شتّى الأعضاء في جسم الإنسان، و خصوصا الجلد والفم؛ لذا يمكنه أن يكون هذا الزّيت كمادّة أوليّة لمستحضرات التّجميل والمراهم.

قائمة المراجع References

Al-shaikhan MS, Howard LR, Miller JC Jr. (1995) antioxidantactivity and total phenolics in differentgenotypes of potato.J.foodSci. 60, 341-343.

Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Aarab, L., El Ajjouri, M., Chaouch, (2010) A., « Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de Thymus algeriensisBoiss. &Reut. et Thymus ciliatus (Desf.) Benth. Du Maroc », Phytothérapie,V.14 n°1, 342-347.

Belaïche, P. (1979). Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. l'aromatogramme. Tome1. Ed.Maloine S.A., Paris,204 p.

Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 181, 1199-1200

Bruneton J. (1999) « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales ». Editions Tec & Doc, Paris, éditions médicales internationales, pp: 483-560.

Dosoky N S ; Setzer W N (2018),BiologicalActivities and Safety of Citrus spp. Essential Oils, International science of Molecular Science, 19, 1966

Duraffourd C., Dhervicourt L. et Laparaz J.C., (1990), Examen de laboratoire galémique, Eléments thérapeutiques synérgiques, T.1.2éme édition, Masson, Paris, p.10

Edmond D. H., Jean C,Vincet S.(1999), 'Spectrométrie de masse cours et exercices corrigés', 2e éd, Dunod, Paris, , 105.

HanB, Kang JS, Kim HJ, Woo CG, Kim YJ (2015) Investigation of Antimicrobial Activity of Grapefruit SeedExtract and Its Application to Air FilterswithComparison to Propolis and Shiitake. Aerosol and Air QualityResearch, 15: 1035–1044,

Ionescu G., R. Kiehl, F. Wichmann-Kunz, Ch. Williams, L. Ba S. Levine (1990) Oral Citrus SeedExtract in AtopicEczema: In Vitro and In Vivo Studies on Intestinal Microflor ; Journal of OrthomolecularMedicine Vol. 5, No. 3

OkungbowaF.I ; Oviasogie F.E (2009) Antimicrobialeffect of grapefruit crudeextracts on selectedbacterialisolates, Int. J. medical&pharmaceutical Sciences ; 5 (1) 68-70

Orwa C, A Muta, R Kindt, R Jamnads and A Simons (2009) Agro-forestryDatabase: version 4.0.http://www.worldagroforestry.org/treedb/AFTPDFS/Citr us_maxima.PDF.

Rahal, K., Belouni, R., and Benslimani, A. (2005). Standardisation de l'antibiogramme en médicine humaine à l'échelle nationale. Rec de L'OMS. 4éme édition. Algérie. 46-52.

Singh Ajeet and Navneet (2017) Citrus maxima (Burm.)Merr. A TraditionalMedicine: ItsAntimicrobialPotential And Pharmacological Update For Commercial Exploitation in HerbalDrugs – A Review. International Journal of ChemTechResearch. Vol.10 No.5, pp 642-651.

Tepe B., Sokmen M., Akpulat H. A. and Sokmen A (2006). Screening of the antioxidantpotentials of six SalviaspeciesfromTurkey. *Food Chem.*; 95: 200-204.

Vasek O.M.,. Cáceres L.M,. ChamorroE.R,.Velasco G.A (2015) Antibacterialactivity of *Citrus paradisi*essential oil Journal of Natural Products, 8 : 16-26

Vijaylakshmi P., Radha R. (2015) Citrus maxima ; an revew The Journal of Phytopharmacology, 4(5): 263-267

Vital Durand D. & Le Jeunne C. (2016) - *Dorosz : Guide Pratique des Médicaments* - 35ème édition - Ed.Maloine - p. 1833-1835.