مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الهندسية المجلد (5) العدد(4) 2021

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies - engineering Sciences Series Vol. (5) No. (4) 2021

الفعالية المضادة للزيت العطري لأوراق نبات الصنوبر البري Pinus sylvstrisومستخلص لحاءه في بقاء كل من بكتريا Escherichia coli وStaphylococcus aureus

أحمد تريسي*

عامر انجق**

(تاريخ الإيداع 24 /2 /2021 . قُبِل للنشر في 26 /5 /2021)

□ ملخّص □

أجريت هذه الدراسة في مخابر الهيئة العامة للتقانة الحيوية بهدف تحديد تأثير الزيت العطري لأوراق نبات الصنوبر البري *Pinus sylvstris* ومستخلص لحاءه في بقاء كل من بكتريا *Escherichia coli* و*Staphylococcus aureus* عام 2020، وذلك على عينات جمعت من منطقة زرزر بريف دمشق في العام نفسه وكانت نسبة الرطوبة في الأوراق الإبرية واللحاء (60.82 و8.46)% على التتالي، وبلغ النشاط المضاد للأكسدة (84.32 و74.83)% لعينات الأوراق الإبرية واللحاء على التتالي. وجد أن تركيز الزيت العطري لأوراق الصنوبر البري المثبط لبكتيريا *E. coli* كان 1.2%، فيما كان التركيز الأدنى من الزيت العطري لأوراق الصنوبر البري المثبط لبكتريا *Staph. aureus* فقط 0.05%. فيما أظهر مستخلص لحاء الصنوبر البري فعالية مضاد للبكتريا عند تركيز 0.05% لكل من بكتيريا *E. coli* و*Staph. aureus*. وتشير النتائج إلى أن فعالية الزيت العطري ضد بكتريا *Staph. aureus* كانت أعلى من فعاليته ضد بكتيريا *E. coli*. وقد تفوق مستخلص لحاء الصنوبر البري على الزيت العطري للأوراق من حيث قدرة التضاد البكتيري.

الكلمات المفتاحية: نبات الصنوبر البري، الزيت العطري، الفعالية المضادة للبكتريا، *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*.

* باحث مساعد في الهيئة العامة للتقانة الحيوية وطالب ماجستير في قسم علوم الأغذية –كلية الزراعة– جامعة دمشق

** طالب ماجستير في قسم علوم الأغذية –كلية الزراعة– جامعة دمشق

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الهندسية المجلد (5) العدد(4) 2021

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies - engineering Sciences Series Vol. (5) No. (4) 2021

Antimicrobial Effect of Pinus sylvstris Needles Essential Oil and Bark Extract in Escherichia coli and Staphylococcus aureus Survival

Ahmad Trissi*
Amer Anjack**

(Received 24 / 2 / 2021 . Accepted 26 / 5/ 2021)

□ ABSTRACT □

This Study was carried out in National Commission for Biotechnology labs to determine the effect of *Pinus sylvstris* leaves essential oil and bark extract in survival of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria, in 2020, that was on samples collected from Zarzar area in Damascus countryside. The moisture content was 60.82, 8.46 % for needles and bark consequently, and antioxidant activity was 84.32, 74.83 % for needles and bark consequently. The inhibitory effect concentration of needles essential oil was 1.2% for *E. coli* and 0.05% for *Staph. aureus*, while the bark extract showed antimicrobial effect at 0.05% for each of *E.coli* and *Staph. aureus*. The results showed that needles essential oil effectiveness against each of *E.coli* and *Staph. aureus* was higher than its effect against each of *E.coli* and *Staph. aureus*, whereas the bark extract had the highest antimicrobial effect in comparison with essential oil.

Keywords: *Pinus sylvstris*, Essential Oil, Antimicrobial, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

1- المقدمة:

تمّ استخدام الزيت العطري لعديد من النباتات في مجالات مختلفة مثل تحسين نكهة بعض المنتجات الغذائية، واستخدامه صناعياً لإنتاج العطور المختلفة، بالإضافة إلى استخداماته الطبية والعلاجية للعديد من الأمراض والآلام.

يعدّ نبات الصنوبر البري من النباتات الحراجية المنتشرة على شكل تجمعات صغيرة أو بشكل مفرد على أطراف الطرقات مضيفة عليها مظهراً جذاباً وقيمة بيئية عالية (Stravinskiene وزملاؤه، 2018)، وهو من الأنواع المتوفرة والمنتشرة في الطبيعة بحسب الاتحاد العالمي لحماية الطبيعة ومواردها (IUCN، 2020). ويتركز انتشار الأنواع التابعة لجنس الصنوبر التي تضم أكثر من 100 نوع في نصف الكرة الشمالي (Pfeifhofer، 2000).

استخدمت العديد من أجزاء نبات الصنوبر في الطب التقليدي لمعالجة أمراض مختلفة، وخاصة ما يتعلق بالجهاز التنفسي مثل السعال والتهاب القصبات وانتفاخ الرئة وغيرها، وثبت علمياً احتواء الزيت العطري للصنوبر على فعالية مضادة للبكتيريا، ومضادة للأكسدة ومضاد تسرطن، بالإضافة إلى إظهار خواصه كمضاد للحشرات والأعشاب الضارة (Mitić وزملاؤه، 2017).

أوضح Raal وزملاؤه (2018) أن العديد من الباحثين في مجال مرض الأسقربوط (نزف اللثة) أشاروا إلى استخدام مستخلصات نبات الصنوبر في علاج حالات الأسقربوط الناجمة عن نقص فيتامين C، ومنهم الهنود القدماء، كما أشار إلى استخدام مستخلص الأوراق الإبرية لنبات الصنوبر البري *P. sylvstris* أثناء حصار لينغراد الشهير في علاج عوز فيتامين C.

أشار Sinkkonen وزملاؤه (2007) إلى استخدام مستخلص لحاء الصنوبر البري في الطب الشعبي، واستمرار استخدامه علاجياً كمتمم غذائي في أوروبا بالإضافة إلى امتلاكه لنشاط قوي كمضاد أكسدة وكمضاد ميكروبي، وأظهر إمكانية استخدام المركبات الفينولية المستخلصة من لحاء الصنوبر كمادة فعالة حيوياً وآمنة يمكن إضافتها إلى الأغذية الوظيفية.

تعدّ بكتيريا *Escherichia coli* وهي بكتيريا عصوية، غير متبوغة، سالبة غرام، متحركة بواسطة سياط محيطية، مؤشر أساسي ومؤكد لحدوث تلوث بمياه المجاري، بالإضافة إلى مسؤوليتها عن حدوث التهاب السحايا الوليدي والالتهابات والخراجات، كما تسبب الإسهال الدموي والتهاب الأمعاء عند الإنسان (Percival و Williams، 2014).

تعدّ بكتريا *Staphylococcus aureus* وهي بكتيريا مكورة، غير متبوغة، موجبة غرام، غير متحركة، المسؤول الرئيس عن إفراز إنزيم تخثر الدم لدى كل من الأشخاص ضعيفي المناعة والأصحاء، بالإضافة إلى تسببها بحدوث إنتانات في الجلد والأنف والمعدة، كما تم تأكيد وجود سلالات مقاومة للمضاد الحيوي methicillin (Harris وزملاؤه، 2002).

نظراً لتزايد الحاجة إلى إيجاد بدائل طبيعية للأدوية والعقاقير الكيميائية لعلاج الأمراض واللجوء إلى أساليب الطب الشعبي التقليدية في العديد من المناطق، ونظراً لأهمية الزيت العطري ومستخلصات الصنوبر

البري فقد دعت الحاجة إلى دراسة تأثير الزيت العطري لأوراق نبات الصنوبر البري ومستخلص لحاءه في بقاء كل من بكتريا *E. coli* و*Staph. aureus* .

أهداف البحث:

- دراسة تأثير الزيت العطري لأوراق نبات الصنوبر البري في بقاء كل من بكتريا *E. coli* و *Staph. aureus*.
- دراسة تأثير مستخلص لحاء نبات الصنوبر البري في بقاء كل من بكتريا *E. coli* و *Staph. aureus*.

2- مواد البحث وطرائقه:

2-1- جمع العينات:

جمعت عينات أغصان (مع الأوراق) ولحاء الصنوبر البري من منطقة نموها الطبيعي بالقرب من بحيرة زرزر بريف دمشق، بحيث تم اختيار الأشجار عشوائياً وأخذت عينات متقاربة بالنضج من الثلث السفلي لتاج الشجرة، ووضعت ضمن أكياس بلاستيكية مفرغة من الهواء، ثم حفظت في الثلاجة حتى إجراء الاختبارات.

2-2- تحضير العينات:

فصلت الأوراق الإبرية عن الاغصان وقطعت إلى أجزاء صغيرة ثم جففت على درجة حرارة الغرفة (Kupcinskiene وزملاؤه، 2008)، ثم قدرت النسبة المئوية للرطوبة والرماد حسب طريقة AOAC (2000)، وقدرت الفينولات الكلية حسب طريقة Folin-Ciocalteu المتبعة من قبل Xie وزملاؤه (2015) واستعمل حمض غاليك كمحلول عياري مرجعي لتحضير المنحني العياري بتراكيز 0.0، 5.0، 10.0، 20.0، 30.0 مغ/ل (الشكل 1)، وكذلك فقد عين النشاط المضاد للأكسدة الكلي في عينات الأوراق واللحاء وفق طريقة الجذر الحر باستعمال DPPH (4,4-diphenyl-1-picrylhydrazyl) لقياس النشاط الكابح للجذور الحرة المتبعة من قبل Zulaica-Villagomez وزملاؤه (2005).

2-3- استخلاص الزيت العطري لأوراق الصنوبر البري الإبرية:

حسب الطريقة المتبعة من قبل Pfeifhofer (2000) مع التعديل حيث أخذ 100 غ من الأوراق الإبرية المقطعة إلى أجزاء صغيرة، ووضعت ضمن حوجلة الاستخلاص بجهاز كلفنجر Clevenger وأكمل الحجم إلى 1 لتر بالماء المقطر وتركت مع الغليان لمدة 6 ساعات، ثم فصل الزيت العطري عن الماء بواسطة التثفيل.

2-4- تحضير مستخلص اللحاء لنبات الصنوبر البري:

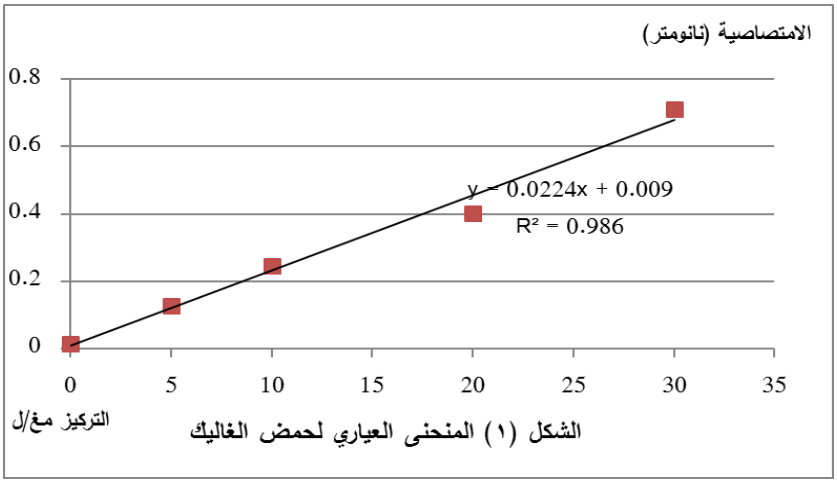
حضر مستخلص اللحاء وفق الطريقة المذكورة أعلاه لتقدير محتوى الفينولات الكلية والمتبعة من قبل Xie وزملاؤه (2015)، حيث أخذ 100 غ من مسحوق اللحاء وأضيف إليها 100 مل من الماء المقطر الساخن، وتركت لتبرد إلى درجة حرارة الغرفة ثم تم تبخير الماء في المبخر الدوراني تحت تفريغ لحماية الفينولات من التخريب بالحرارة.

2-5- دراسة التأثير المضاد للبكتريا للزيت العطري ومستخلص اللحاء لنبات الصنوبر البري:

حضرت أوساط الزرع حسب تعليمات الشركة المزودة، وتم قياس الفعالية المضادة للبكتيريا بطريقتي التنمية على الأغار الجامد، والزراعة في وسط سائل حسب الطريقة المتبعة من قبل (Bachir Raho وBenali، 2012) مع التعديل، وتتلخص الزراعة على الأغار بتحضير 3 تخفيفات متتالية من المزرعة البكتيرية (1 مل من المزرعة 10^8 خلية/مل إلى 9 مل ماء مقطر معقم)، ثم لقح طبق الأغار بواسطة 1 مل من التخفيف، ثم وضعت ورقة ترشيح بقطر 6 مم سبق نقعها باستخدام 13 ميكرولتر من الزيت العطري، وتركت لتجف على الطبق مدة (5، 10، 15) دقيقة، ثم حضنت الأطباق على الدرجة 37 °م لمدة 24 ساعة وقيس قطر الإعاقة بالميليمتر ثم حولت إلى نسبة مئوية، أما من أجل الزرع في بيئة سائلة فقد حضرت 3 تخفيفات متتالية من الزيت العطري بواسطة الإيتانول النقي، بإضافة 1 مل من الزيت العطري إلى 9 مل إيتانول، وحضرت عينة شاهد بمزج 1 مل من الماء المقطر المعقم إلى 9 مل إيتانول، ثم أضيف 1 مل من كل تخفيف مع 0.5 مل من المزرعة البكتيرية (10^8 خلية/مل) إلى 8 مل من البيئة السائلة، ثم حضنت على الدرجة 37 °م لمدة 24 ساعة، ثم زرعت على الأغار الجامد وحضنت على الدرجة 37 °م لمدة 24 ساعة. وكررت نفس العمليتين بالنسبة لمستخلص اللحاء.

2-6- التحليل الاحصائي:

حللت النتائج باستخدام برنامج SPSS v25.0 لمعرفة التباين (ANOVA)، حيث حسب المتوسطات والانحراف المعياري، ثم قورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات عند مستوى ثقة ($p \leq 0.05$) باستخدام طريقة أقل فرق معنوي (LSD).



الشكل (١) المنحنى العياري لحمض الغاليك

3- النتائج والمناقشة:

3-1- النسبة المئوية للرطوبة والرماد في أوراق ولحاء نبات الصنوبر البري:

بينت النتائج كما هو موضح في الجدول (1) النسبة المئوية للرطوبة والرماد في أوراق ولحاء نبات الصنوبر البري، اذ بلغت النسبة المئوية للرطوبة في أوراق الصنوبر البري 60.82%، وكانت متوافقة مع النتائج التي وجدها Jolly وزملاؤه (2014) في دراسة اجراها على أوراق نبات الصنوبر الأحمر (الراتينجي) *Pinus resinosa*، وبلغت النسبة المئوية للرطوبة في عينات لحاء الصنوبر البري 8.46% وهي متوافقة مع ما وجده Paukkunen وزملاؤه (2015) التي تراوحت بين 8.29-8.38% باختلاف المجموعة المدروسة.

بلغت النسبة المئوية للرماد في أوراق الصنوبر البري 2.41% على أساس الوزن الجاف، وهي متوافقة مع النتائج التي حصل عليها Muñiz وزملاؤه (2014) على نبات الصنوبر وبلغت فيها نسبة الرماد 2.32%، أما النسبة المئوية للرماد في اللحاء فقد بلغت 1.62% على أساس الوزن الجاف، وهي أعلى من النتائج التي حصل عليها Miranda وزملاؤه (2017) في دراسة على لحاء الصنوبر الثمري *Pinus pinea* وهي 1.1-1.5% بحسب حجم أجزاء مجروش اللحاء المدروسة، ولكنها توافقت مع ما وجده Dibdiakova وزملاؤه (2015) بالنسبة إلى لحاء ساق الصنوبر البري وهي 1.56-1.78% بحسب جزء الساق المأخوذ منه اللحاء.

الجدول (1) النسبة المئوية للرطوبة والرماد في أوراق ولحاء نبات الصنوبر البري

التركيب المدروس	الأوراق الإبرية	LSD	اللحاء	LSD
النسبة المئوية للرطوبة %	60.82±0.51	0.42	8.46±0.52	0.32
النسبة المئوية للرماد %	2.41±0.02	0.13	1.62±0.01	0.003

* تعبر النتائج عن المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري لثلاث مكررات

3-2- محتوى الفينولات الكلية في أوراق ولحاء نبات الصنوبر البري:

بينت النتائج كما هو موضح في الجدول (2) محتوى الفينولات الكلية في أوراق ولحاء نبات الصنوبر البري، إذ بلغ المحتوى الفينولي في أوراق الصنوبر البري 1060.36 مغ مكافئ غاليك/100 غ وهذا يتوافق مع ما وجده Karapandzova وزملاؤه (2015) وهي 1141-1217 بحسب العمر مغ مكافئ غاليك/100 غ، وبلغ محتوى الفينولات الكلية في لحاء الصنوبر البري 1981.73 مغ مكافئ غاليك/100 غ، مقدراً على أساس الوزن الجاف، وحصل Ferreira-Santos وزملاؤه (2020) على نتائج مشابهة عند دراسة الصنوبر البحري أو العنقودي *Pinus pinaster* وهي 1870-1986 مغ مكافئ غاليك/100 غ مع الأخذ بالاعتبار مدة الاستخلاص.

الجدول (2) النسبة المئوية للفينولات الكلية في أوراق ولحاء نبات الصنوبر البري

التركيب المدروس	الأوراق الإبرية	LSD	اللحاء	LSD
محتوى الفينولات الكلية مغ GAE/100غ	1060.36±3.12	2.13	1981.73±2.49	1.25

* تعبر النتائج عن المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري لثلاث مكررات

3-3- النشاط المضاد للأكسدة في أوراق ولحاء نبات الصنوبر البري:

بينت النتائج كما هو موضح في الجدول (3) النشاط المضاد للأكسدة في أوراق ولحاء نبات الصنوبر البري، مقدراً وفق طريقة DPPH على أساس الوزن الجاف مقدراً كنسبة مئوية، حيث وصلت نسبة النشاط المضاد للأكسدة في الأوراق الإبرية إلى 84.32%، وقد تفوقت على النتائج التي وجدها Dziedziński وزملاؤه (2020) في دراسة على أغصان وبراعم الصنوبر البري وهي 64.90%، وكانت متوافقة مع ما وجده Karapandzova وزملاؤه (2019) في دراسة على نبات الصنوبر الجبلي *Pinus mugo* وهي 78.54-87.45% بحسب العمر، بينما وصل النشاط المضاد للأكسدة في لحاء الصنوبر البري إلى 74.83 %، وهذا يتوافق مع ما وجده Yesil-Celiktas وزملاؤه (2009) في دراسة على مستخلص لحاء الصنوبر البري وهو 78.5%.

الجدول (3) النشاط المضاد للأكسدة في أوراق ولحاء نبات الصنوبر البري

التركيب المدروس	الأوراق الإبرية	LSD	اللحاء	LSD
النشاط المضاد للأكسدة % (DPPH)	84.32±0.61	0.16	74.83±0.53	0.35

* تعبر النتائج عن المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري لثلاث مكررات

3-4- نتائج دراسة التأثير المضاد للبكتريا للزيت العطري للأوراق ومستخلص لحاء الصنوبر البري:

بينت النتائج كما هو موضح في الجدول (4) نتائج دراسة التأثير المضاد للبكتريا للزيت العطري للأوراق الإبرية للصنوبر البري، وتشير النتائج إلى امتلاك الزيت العطري للصنوبر البري فعالية مثبطة ضد كل من بكتيريا *E. coli* و*Staph. Aureus*، إذ أدت إضافة الزيت العطري بالتركيز الأدنى للتثبيط إلى تثبيط نمو بكتيريا *E. coli* بنسبة 7.31% وتثبيط نمو بكتيريا *Staph. aureus* بنسبة 12.43% في البيئة السائلة، بالإضافة إلى تقلص قطر النمو على طبق بتري بمقدار 6.72 مم لبكتريا *E. coli* و5.98 مم لبكتريا *Staph. Aureus*، وهذا يتوافق مع ما وجده Rohraff و Morgan (2014)، وقد وجد أن التركيز الأدنى اللازم من الزيت العطري للتثبيط بالنسبة لبكتريا *Staph. aureus* يبلغ 500 µغ/مل وارتفعت نسبة التثبيط لبكتريا *Staph. aureus* بزيادة تركيز الزيت العطري، وقد توافق ذلك مع Thielmann وزملاؤه (2019) عند دراسة

الزيت العطري للصنوبر البري، أما التركيز الأدنى اللازم من الزيت العطري للتثبيط بالنسبة لبكتريا *E. coli* بلغ 12000 µغ/مل، وهذا يتوافق مع ما وجده Kurti وزملاؤه (2019) في دراسة على الزيت العطري للصنوبر البري، وارتفعت نسبة التثبيط لبكتريا *E. coli* بزيادة تركيز الزيت العطري، وقد توافق ذلك مع Bachir Raho و Benali (2012) في دراسة أجراها على الزيت العطري لأوراق نبات الكينا *globulus Eucalyptus*. وربما يعود تأثير التضاد البكتيري للزيت العطري لأوراق الصنوبر إلى احتوائه على مركبات التربينات الأحادية التي أظهرت خواص مضادة للبكتيريا (Dzaferovic وزملاؤه، 2019).

الجدول (4) التأثير المضاد للبكتريا للزيت العطري للأوراق الإبرية للصنوبر البري

	الزيت العطري للأوراق الإبرية				
التركيز ($\times 10^2$ µغ/مل)	5	10	100	120	240
النسبة المئوية للتثبيط *E. coli* في بيئة سائلة %	–	–	–	7.31	8.47
LSD	–	–	–	0.52	0.64
النسبة المئوية للتثبيط *Staph.* aureus في بيئة سائلة %	12.43	13.16	35.15	37.64	46.33
LSD	0.71	0.62	0.58	0.57	0.61
تقلص قطر النمو *E. coli* على طبق بتري (مم)	–	–	–	6.72	8.02
LSD	–	–	–	–	0.54
تقلص قطر النمو *Staph. aureus* على طبق بتري (مم)	5.98	6.24	17.32	19.45	21.78
LSD	0.53	0.59	0.61	0.58	0.57

* تعبر النتائج عن المتوسط الحسابي لثلاث مكررات

وبينت النتائج كما هو موضح في الجدول (5) نتائج دراسة التأثير المضاد للبكتريا لمستخلص لحاء الصنوبر البري، حيث أدت إضافة مستخلص لحاء الصنوبر البري بالتركيز الأدنى للتثبيط إلى تثبيط نمو كل من بكتريا *E. coli* و*Staph. aureus* بنسبة 4.37% و25.71% على التتالي في البيئة السائلة، وهذا يتوافق مع نتائج النسبة المئوية للتثبيط التي وجدها Välimaa وزملاؤه (2007) في دراسة على مستخلص لحاء الصنوبر البري، بالإضافة إلى تقلص قطر النمو على طبق بتري بمقدار 2.35 مم لبكتريا *E. coli*، وهذا يتوافق مع ما وجده Rauha وزملاؤه (2000) في دراسة على مستخلص لحاء الصنوبر البري، وبلغ تقلص قطر النمو على طبق بتري بمقدار 17.52 مم لبكتريا

Staph. Aureus، وهذا يتوافق مع ما وجده Dziedziński وزملاؤه (2020) في دراسة على مستخلص أغصان وبراعم الصنوبر البري.

الجدول (4) التأثير المضاد للبكتريا للزيت العطري لمستخلص لحاء الصنوبر البري

	مستخلص لحاء الصنوبر البري				
التركيز ($\times 10^2$ µغ/مل)	5	10	100	120	240
النسبة المئوية للتثبيط *E. coli* في بيئة سائلة %	4.37	4.91	10.07	10.82	12.73
LSD	0.58	0.61	0.59	0.63	0.57
النسبة المئوية للتثبيط *Staph.* aureus في بيئة سائلة %	25.71	27.14	61.34	64.57	68.76
LSD	0.53	0.65	0.58	0.61	0.62
تقلص قطر النمو *E. coli* على طبق بتري (مم)	2.35	2.74	6.02	6.71	7.42
LSD	0.57	0.64	0.58	0.59	0.60
تقلص قطر النمو *Staph. aureus* على طبق بتري (مم)	17.52	18.52	42.6	47.68	54.46
LSD	0.57	0.59	0.63	0.61	0.64

* تعبر النتائج عن المتوسط الحسابي لثلاث مكررات

بلغ التركيز الأدنى المثبط من مستخلص لحاء الصنوبر البري 500 µغ/مل لكل من بكتريا *E. coli* و*Staph. aureus*، وتوافق ذلك مع ما وجده Rauha وزملاؤه (2000)، وقد ازداد الأثر المثبط بزيادة تركيز المستخلص، ويعود ذلك إلى احتواء مستخلص لحاء الصنوبر على مركبات فعالة حيوياً مثل مركبات 3-O-methylquercetin و p-Coumaric acid التي تلعب دوراً في القضاء على كل من بكتريا *E. coli* و *Staph. aureus* عند وجوده بتراكيز مختلفة (Metsamuuronen و Siren، 2019).

4- الاستنتاجات:

- ✓ أظهر الزيت العطري لأوراق الصنوبر البري فعالية مضادة لبكتريا *Escherichia coli* و*Staphylococcus aureus*.
- ✓ أدت زيادة تركيز الزيت العطري لأوراق الصنوبر البري إلى زيادة الفعالية المضادة لكل من بكتريا *E. coli* و*Staph. aureus*.
- ✓ أظهر مستخلص لحاء الصنوبر البري فعالية مضادة لكل من بكتريا *E. coli* و *Staph. aureus* عند تراكيز مختلفة.
- ✓ أدت زيادة تركيز مستخلص لحاء الصنوبر البري إلى زيادة الفعالية المضادة لكل من بكتريا *E. coli* و*Staph. aureus*.
- ✓ تفوق مستخلص لحاء الصنوبر البري على الزيت العطري للأوراق من حيث قدرة التضاد البكتيري.

5- المراجع:

AOAC (2000). *Official Method of Analysis of the Association of the Analytical Chemists*. USA, Association of Official Analytical Chemists, Inc.

Bachir-Raho, G. and M. Benali (2012). *Antibacterial Activity of the Essential Oils from the Leaves of Eucalyptus Globulus against Escherichia Coli and Staphylococcus Aureus*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, Vol. 2, 739-742.

Dibdiakova, J., L. Wang and H. Li (2015). *Characterization of Ashes from Pinus Sylvestris Forest Biomass*. The 7th International Conference on Applied Energy - ICAE2015, United Arab Emirates. Energy Procedia, Vol. 75,186-191.

Dzaferovic, A., T. Gavric, S. H. Nazari, M. Stojanova, M. Bezdrob, B. Lalevic and S. Hamidovic (2019). *Antimicrobial Activity of Three Essential Oils against Several Human Pathogens* Journal of Environmental Treatment Techniques, Vol. 7, 501-505.

Dziedziński, M., J. Kobus-Cisowska, D. Szymanowska-Powałowska, K. Stuper-Szablewska and M. Baranowska (2020). *Polyphenols Composition, Antioxidant and Antimicrobial Properties of Pinus Sylvestris L. Shoots Extracts Depending on Different Drying Methods*. Emirates Journal of Food and Agriculture, Vol. 32, 229-237.

Ferreira-Santos, P., Z. Genisheva, C. Botelho, J. Santos, C. Ramos, J. A. Teixeira and C. M. R. Rocha (2020). *Unravelling the Biological Potential of Pinus Pinaster Bark Extracts*. Antioxidants, Vol. 9, 234-255.

Harris, L. G., S. J. Foster and R. G. Richards (2002). *An Introduction to Staphylococcus Aureus, and Techniques for Identifying and Quantifying S. Aureus Adhesins in Relation to Adhesion to Biomaterials: Review*. European Cells & Materials, Vol. 4, 39-60.

IUCN (2020). The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2020-3, https://www.iucnredlist.org.

Jolly, W. M., J. Hintz, R. C. Kropp and E. T. Conrad (2014). *Physiological Drivers of the Live Foliar Moisture Content 'Spring Dip' in Pinus Resinosa and Pinus Banksiana and Their Relationship to Foliar Flammability*. VII International Conference on Forest Fire Research D. X. Viegas. Coimbra, Portugal.

Karapandzova, M., G. Stefkov, I. Cvetkovikj, J. P. Stanoeva, M. Stefova and S. Kulevanova (2015). *Flavonoids and Other Phenolic Compounds in Needles of Pinus Peuce and Other Pine Species from the Macedonian Flora*. Natural Product Communications, Vol. 10, 987-990.

Karapandzova, M., G. Stefkov, I. C. Karanfilova, T. K. Panovska, J. P. Stanoeva, M. Stefova and S. Kulevanova (2019). *Chemical Characterization and Antioxidant Activity of Mountain Pine (Pinus Mugo Turra, Pinaceae) from Republic of Macedonia*. Records of Natural Products, Vol. 13, 50-63.

Kupcinskiene, E., A. Stikliene and A. Judzentiene (2008). *The Essential Oil Qualitative and Quantitative Composition in the Needles of Pinus Sylvestris L. Growing Along Industrial Transects*. Environmental Pollution, Vol. 155, 481-491.

Kurti, F., A. Giorgi, G. Beretta, Behxhet Mustafa, F. Gelmini, C. Testa, S. Angioletti, L. Giupponi, E. Zilio, D. Pentimalli and A. Hajdari (2019). *Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils of Different Pinus Species from Kosovo*. Journal of Essential Oil Research: 13.

Metsamuuronen, S. and H. Siren (2019). *Bioactive Phenolic Compounds, Metabolism and Properties: A Review on Valuable Chemical Compounds in Scots Pine and Norway Spruce*. Phytochem Rev, Vol. 18, 623-664.

Miranda, I., I. Mirra, J. Gominho and H. Pereira (2017). *Fractioning of Bark of Pinus Pinea by Milling and Chemical Characterization of the Different Fractions* Maderas. Ciencia y tecnología, Vol. 19, 185-194.

Mitić, Z. S., B. Jovanović, S. Č. Jovanović, T. Mihajilov-Krstev, Z. Z. Stojanović-Radić, V. J. Cvetković, T. L. Mitrović, P. D. Marin, B. K. Zlatković and G. S. Stojanović (2017). *Comparative Study of the Essential Oils of Four Pinus Species: Chemical Composition, Antimicrobial and Insect Larvicidal Activity*. Industrial Crops & Products, Vol. 111, 55-62.

Muñiz, G. I. B. d., E. C. Lengowski, S. Nisgoski, W. L. E. d. Magalhães, V. T. d. Oliveira and F. Hansel (2014). *Characterization of Pinus Spp Needles and Evaluation of Their Potential Use for Energy* Cerne, Lavras, Vol. 20, 245-250.

Paukkunen, S., L. Sikanen and R. Ikonen (2015). *Ash Content of Wood Pellets Made from Small Scots Pine (Pinus Sylvestris) Trees with Bark*. Forest Products Journal. Vol. 65, 337-345.

Percival, S. L. and D. W. Williams (2014). *Escherichia Coli*. Microbiology of Waterborne Diseases. S. L. Percival, D. W. Williams, N. F. Gray, M. V. Yates and R. M. Chalmers, Elsevier Ltd, 89-117.

Pfeifhofer, H. W. (2000). *Composition of the Essential Oil of Pinus Canariensis Sweet Ex Sprengel*. Flavour And Fragrance Journal, Vol. 15, 266-270.

Raal, A., K. Nisuma and A. Meos (2018). *Pinus Sylvestris L. And Other Conifers as Natural Sources of Ascorbic Acid* Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research, Vol. 6, 89-95.

Rauha, J.-P., S. Remes, M. Heinonen, A. Hopia, M. Kahkonen, T. Kujala, K. Pihlaja, H. Vuorela and P. Vuorela (2000). *Antimicrobial Effects of Finnish Plant Extracts Containing Flavonoids and Other Phenolic Compounds*. International Journal of Food Microbiology, Vol. 56, 3-12.

Rohraff, D. and R. Morgan (2014). *The Evaluation of Essential Oils for Antimicrobial Activity*. Student Summer Scholars, Vol. 124.

Sinkkonen, J., J. Liimatainen, M. Karonen, K. Wiinamki, P. Eklund, R. Sjholm and K. Pihlaja (2007). *A Sesquineolignan with a Spirodienone Structure from Pinus Sylvestris L.* Angew. Chem., Vol. 119, 4226-4228.

Stravinskiene, V., E. Bartkevicius, J. Abraitiene and A. Dautarte (2018). *Assessment of Pinus Sylvestris L. Tree Health in Urban Forests at Highway Sides in Lithuania*. Global Ecology and Conservation, Vol. 16.

Thielmann, J., P. Muranyi and P. Kazman (2019). *Screening Essential Oils for Their Antimicrobial Activities against the Foodborne Pathogenic Bacteria Escherichia Coli and Staphylococcus Aureus*. Heliyon, Vol. 5.

Välimaa, A.-L., U. Honkalampi-Hämäläinen, S. Pietarinen, S. Willför, B. Holmbom and A. v. Wright (2007). *Antimicrobial and Cytotoxic Knotwood Extracts and Related Pure Compounds and Their Effects on Food-Associated Microorganisms*. International Journal of Food Microbiology, Vol. 115, 235-243.

Xie, Q., Z. Liu and Z. Li (2015). *Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil of Six Pinus Taxa Native to China*. Molecules, Vol. 20, 9380-9392.

Yesil-Celiktas, O., M. Ganzera, I. Akgun, C. Sevimli, K. S. Korkmaz and E. Bedir (2009). *Determination of Polyphenolic Constituents and Biological Activities of Bark Extracts from Different Pinus Species*. J Sci Food Agric, Vol. 89, 1339-1345.

Zulaica-Villagomez, H., D. M. Peterson, L. Herrin and R. A. Young (2005). *Antioxidant Activity of Different Components of Pine Species*. Holzforschung, Vol. 59, 156-162.