رقم الترتيب:..........
رقم التسلسل:.........

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي-
كلية العلوم الدقيقة
قسم الكيمياء

مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص: كيمياء عضوية
من إعداد:
كرطي يسرى
نصير إيمان

تحت عنوان:

دراسة بعض المستخلصات الخام لنواتج الايض الثانوي لنبات *Origamun majorana L* المزروعة بمنطقة وادي سوف ودراسة فاعليتها البيولوجية

نوقشت يوم: 2023/6/5

أمام لجنة المناقشة:

ربيعي عبد الكريم	استاذ تعليم عالي	رئيسا
تامة نور الدين	أستاذ محاضر (أ)	مشرفا
مصباحي محمد عادل	أستاذ مساعد (أ)	مناقشا

السنة الجامعية: 2023/2022

بسم الله الرحمن الرحيم

وَقُل رَّبِّ زِدْنِي عِلْمًا

إهداء

لم تكن الرحلة قصيرة ولا ينبغي لها ان تكون لم يكن الحلم قريبا ولا الطريق كان محفوفا بالتسهيلات لكني فعلتها.

اهدي ثمرة تخرجي إلى من بلغ الرسالة وأدى الامانة.. ونصح الامة .. إلى نبي الرحمة ونور العالمين .. إلى سيدنا محمد " عليه أفضل الصلاة وأزكى السلام "

إلى من كلله الله بالهيبة والوقار، إلى من علمني العطاء دون إنتظار، إلى من أحمل إسمه بكل إفتخار، أرجو من الله أن يمد في عمرك لترى ثمارا قد حان قطافها بعد طول إنتظار،إلى القلب الكبير، إليك يا والدي العزيز فاروق "حماك الله لي وأدامك تاجا فوق رأسي".

الى من كان دعاؤها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي، إلى بسمة الحياة وسر الوجود، إلى التي أرضعتني الحب والحنان، إلى رمز الحب وبلسم الامان، إلى القلب الناصع بالبياض إلى الشمعة التي تحترق لتنير دربنا، إلى التي تسبق دمعتها دمعتي وفرحتها فرحتي، إلى جوهرة حياتي، وإلى التي كبرتني وسهرت الليالي من أجل راحتي إليك ياأمي الغالية، فأنا لو كتبت كل صفحات الدنيا لكي أعبر لك عن مدى حبي وتقديري وإحترامي لك فلن تكفي هذه الصفحات في أن توصل ولو القليل من حبي الكبير والعظيم لك، فمن حنانك ومن سماحتك الجنة تحتك .. وهذا ما قاله الرحمان عنك والدتي الغالية سهام، "حماك الله لي وأدامك تاجا فوق رأسي".

إلى مصدر سعادتي وقوتي في هذه الحياة، إلى من كانوا ولازالوا سندا لي في مشواري الحياتي والدراسي، إلى من تكتمل فرحتي بفرحتهم، إلى من تحلو الحياة بوجودهم إخوتي الاحباء: " ايمن، صفاء، مروة " أسأل الله أن يوفقكم في حياتكم ويديم الفرحة والبسمة على وجوهكم.

إلى جدتي الغالية على قلبي جدا امي الزهرة، إلى من يبتسم قلبي بوجودها في حياتي أسأل الله أن يديم عليك الصحة والعافية ويطيل في عمرك ويحفظك لنا يا شمعة البيت من كل مكروه وشر إلى كل من أحبهم قلبي ولم يذكرهم قلمي.

الى جنود الخفاء دمتم سندا لي ودمت سندا لكم

إيمان

اهداء

افتتح كلامي بقوله تعالى " ولئن شكرتم لأزيدنكم "

احمد الله واشكره على كرمه وفضله ومنه وعونه على إتمام هذا البحث.

الى بؤرة النور التي عبرت بي نحو الامل والاماني الجميلة الى الذي روض الصعاب من أجلي ولطالما حلم ان يرى ثمرة جهده وطيب غرسه في اعلى المراتب الى الذي احمل اسمه بكل افتخار الى من تمنيت ان يكون بين الحضور الى حبيب قلبي ابي الغالي "السعيد" رحمه الله.

الى من تتسابق الكلمات لتعبر عن مكنوني ذاتها الى من تمتهن الحب وتغزل الامل عصفورا يرفرف فوق ناصية الاحلام الى التي طالما كانت دعواتها عنوان دربي الى التي كانت كلما غشيتني الهموم تكون اول من يربت على قلبي الى الداعم الأول لي في مسيرتي الى سيدة القلب والحياة امي الحبيبة "حكيمة" أهديك بحثي لتهديني الرضاء والدعاء.

الى رفيق الروح الى سندي بعد غياب ابي الى الذي كلما تكاثرت عليا مشاكل الحياة اجده امامي دعما بكل ما لديه خالي العزيز "عبد الحاكم".

الى عصفوري الصغير " السعيد"

الى اخوتي " عبد الحي، عبد الجبار، عواطف، وهيبة، نجاح، هناء، عائشة "

والى اجدادي وجداتي واعمامي وعماتي واخوالي وخالاتي كل باسمه.

والى رياحين الحب والوفاء صديقاتي: "شروق، نسرين، فاطمة، ابتسام، صبرين، ايمان، مريم"

والى كل من تساهم قلمي ولم ينساهم قلبي الى كل هؤلاء جميعا اهدي ثمرة جهدي المتواضع.

يسرى

شكر وعرفان

الشكر الله أولا وأخرا كما ينبغي لجلال وجهه وعظيم سلطانه فلولاه لما حملت يدانا قلما ولا خطت حرفا في سبيل العلم والتعلم.

الشكر بعد الله إلى من لا يسعنا رد الجميل لهما إلا بالشكر إلى من أغلى في الوجود والدينا.

الشكر الجزيل إلى من حملوا أقدس رسالة في الحياة إلى الذين مهدوا لنا طريق العلم والمعرفة إلى جميع أساتذتنا الأفاضل وعلى رأسهم أستاذنا د. تامة نور الدين الذي أشرف عل هذا العمل من خلال توجيهاته وإرشاداته فجزاه الله عنا كل خير.

كما نتوجه بالشكر الجزيل إلى أساتذتنا أعضاء لجنة المناقشة ربيعي عبد الكريم ومصباحي محمد عادل لقبولهم مناقشة هذه المذكرة

واستفادتنا بتصحيحاتهم ونصائحهم وتوجيهاتهم القيمة.

كما نتقدم بجزيل الشكر إلى طلبة دكتوراه: فوحمة عبير، دركي مروة، تي سهام على كل النصائح والمساعدات التي قدموها لنا ولهم منا كل الحب والاحترام.

ولا ننسى أن نشكر كل من ساعدنا على إتمام هذا العمل من قريب أو بعيد.

الملخص

يهدف هذا العمل إلى دراسة كيميائية للمستخلصات العضوية لنبات *Origanum majorana L* للمنتجات الطبيعية الفينولية والقلويدية المتحصل عليها عن طريق النقع في مزيج من المذيبات المناسبة للاستخلاص وبنسب حجمية متفاوتة، ودراسة مقارنة لمجموعة دراسات سابقة التي تثري أهمية وفاعلية مستخلصات نبتة المردقوش في القضاء ومواجهة الجذور الحرة وفعاليتها التثبيطية كمضادات حيوية طبيعية للعديد من السلالات البكتيرية الممرضة.

ولتحقيق هذا قمنا كمرحلة أولية بالكشف كيميائي عن المنتجات الفعالة بطرق لونية بالإضافة الى استخلاصها وحساب المردود، وكذلك التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية للفينولات والفلافونويدات والتقدير الكمي للفينولات بواسطة اختبار الفولطاامبيرومتري الحلقي ، وتوصلنا من خلال هذه الدراسة إلى أن نبتة المردقوش غنية بمواد الأيض الثانوي المتمثلة في عديدات الفينول والفلافونويدات والزيوت الأساسية ولكن فقيرة من املاح القلويدات. وبعد الاستناد إلى بعض المراجع السابقة تم تحديد الفاعلية المضادة للأكسدة، بطريقة كيميائية DPPH وتبين من خلال ذلك أن ان مستخلصات البوتانول واسيتات الايثيل غنية بمضادات الاكسدة ولها قدرة عالية في كبح ومكافحة الجذور الحرة.

وكخطوة أخيرة، وبعد تقييم اختبار الفاعلية المضادة للبكتيريا للمستخلصات اتجاه سلالتين بكتيريتين مزروعتين في وسط جيلوزي (MH)، وهذا بالاعتماد على طريقة الانتشار بالأقراص، لوحظ أن النتائج كانت جد إيجابية خاصة مع مستخلصات الزيوت الأساسية اذ سجل أعلى قطر تثبيط لبكتيريا *staphylococcus aureus* ب55 مم عند التركيز 50%

وبالمقارنة الإجمالية والشاملة لهذه الدراسة مع مجموعة دراسات أخرى في نفس السياق تبين أن لنبات *Origanum majorana L* قدرة معتبرة على التثبيط الجذري والبكتيري.

الكلمات المفتاحية:

نبتة المردقوش (*Origanum majorana L*)، المنتجات الفعالة (عديدات الفينول، الفلافونويدات، املاح القلويدات، الزيوت الأساسية)، الفاعلية المضادة للأكسدة، الفاعلية المضادة للبكتيريا.

Abstract

This work aims at a chemical study of the organic extracts of *Origanum majorana L*. for natural phenolic and alkaloid products obtained by soaking in a mixture of suitable solvents for extraction and in varying volume ratios, and a comparative study of a group of previous studies that enrich the importance and effectiveness of the extracts of the Marjoram plant in eliminating and confronting free radicals and their inhibitory effectiveness as antioxidants Normal viability of many pathogenic bacterial strains.

To achieve this, we did, as a preliminary stage, chemical detection of the active products by color methods, in addition to extracting them and calculating the yield, as well as quantitative assessment by ultraviolet and visible spectroscopy of phenols and flavonoids, and quantitative assessment of phenols by means of the ring voltammetric test. Through this study, we concluded that the marjoram plant is rich in secondary metabolites. Represented in polyphenols, flavonoids and essential oils, but poor in alkaloid salts. And after relying on some previous references, the antioxidant activity was determined by a DPPH chemical method. It was found through this that the extracts of butanol and ethyl acetate are rich in antioxidants and have a high ability to curb and combat free radicals.

As a final step, and after evaluating the antibacterial activity of the extracts against two bacterial strains cultured in a gel medium (MH), depending on the method of diffusion by tablets, it was noted that the results were very positive, especially with the essential oil extracts, as the highest inhibition diameter of Staphylococcus aureus was recorded at 55 mm at The concentration is 50%.

In the overall and comprehensive comparison of this study with a group of other studies in the same context, it was found that *Origanum majorana L*. has a significant ability to inhibit radical and bacterial growth.

key words :

(*Origanum majorana L*), effective products (polyphenols, flavonoids, alkaloid salts, essential oils), antioxidant activity, antibacterial activity.

الفهرس

فهرس المحتويات

المحتويات	
الاهداء	I
شكر وعرفان	III
الملخص	IV
فهرس المحتويات	VIII
قائمة الأشكال	XI
قائمة الجداول	XIII
قائمة الرموز والاختصارات	XV
المقـدمة العامة	1
الجزء النظري	
الفصل الأول: دراسة عامة حول نبات المردقوش *Origanum majorana L*	
I–دراسة عامة لنبات المردقوش	6
I–1–التعريف بالعائلة الشفوية	6
I –2–دراسة عامة لجنس*Origanum*	6
I–3–الأنواع التابعة لجنس*Origanum*	7
I –4–التعريف بنبات*Origanum Majorana L*	7
I –5–الأسماء الشائعة للمردقوش*Origanum Majorana L*	8
I –6–التصنيف النباتي لـ*Origanum Majorana L*	8
I –7–الوصف المورفولوجي لـ*Origanum Majorana* L	8
I –8–التوزيع الجغرافي لنبات المردقوش*Origanum Majorana L*	9
I –9–الاستعمالات الطبية للمردقوش	10
I –10–دراسات سابقة لنبات المردقوش*Origanum Majorana L*	10
مراجع الفصل الأول	
الفصل الثاني: دراسة منتجات الايض الثانوي	
II –1–تعريف المنتجات الطبيعية	15
II –1–1–المنتجات الأولية(Métabolites Primaires)	15

II–1–2–المنتجات الثانوية(Métabolites Secondaires)	15
II-2-القلويدات	16
II-2-1- تعريف القلويدات	16
II-2-2- تسمية القلويدات	16
II-2-3- تصنيف القلويدات	17
II –2–4– تواجد وتوزيع القلويدات	19
II-2-5- خصائص القلويدات	19
II-2-6- فوائد القلويدات وأهميتها	20
II-3- الفينـولات	21
II-3-1- تعريف المركبـات الفينـولية	21
II-3-2- مصـدر المركبـات الفينـولية	22
II-3-3- تصنيف المركبـات الفينـولية	22
II-3-4- الخواص الفيزيائية والكيميائية للمركبات الفينولية	35
II-3-5- أهمية الفينولات	35
II-4- الزيوت الأساسية	36
II-4-1- نبذة تاريخية على الزيوت الأساسية	36
II-4-2- تعريف الزيوت الأساسية	36
II-4-3- التواجد والتوزيع	37
II-4-4- الخصائص الفيزيائية للزيوت الأساسية	38
II-4-5- استعمالاتها	38
مراجع الفصل الثاني	
الفصل الثالث: الفاعلية البيولوجية	
III–الفاعلية المضادة للبكتيريا	45
تمهيد	45
III–1–البكتيريا	46
III–2– المضادات الحيوية	52
III–3– الجذور الحرة ومضادات الاكسدة	56
مراجع الفصل الثالث	
الجزء التطبيقي	
الفصل الرابع: الطرق والوسائل	

IV-1- جمع النبات قبل المسح الفيتو كيميائي	69
IV-1-1- الموقع الجغرافي لمنطقة القطف	69
IV-1-2- مرحلة التجفيف	70
IV-1-3- الحفظ	70
IV-2- الاجهزة والمواد المستعملة	70
IV-2-1- الاجهزة	70
IV-2-2- المواد	71
IV-3- الكشف عن مواد الايض الثانوي لنبتة المردقوش	72
IV-3-1- الكشف عن القلويدات العامة	72
IV-3-2- الكشف عن الفينولات	72
IV-3-3- الكشف عن الفلافونويدات	73
IV-3-4- الكشف عن الزيوت الأساسية	73
IV-4- استخلاص المنتجات الفعالة	73
IV-4-1- تعريف الاستخلاص	73
IV-4-2- انواع الاستخلاص	73
IV-4-3- بروتوكول استخلاص المنتجات الفعالة	74
IV-5- حساب مردود الإنتاجية للمستخلصات	81
IV-6- التقدير الكمي للمركبات الفينولية والفلافونويدية	83
IV-6-1- التقدير الكمي للمركبات الفينولية والفلافونويدية بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية	83
IV-6-1-1- مطيافية الأشعة فوق البنفسجية المرئية	83
مبدأ لعمل	83
مكونات الجهاز	84
IV-6-1-2- التقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة UV-Visible	84
IV-6-1-2-1- المنحنى القياسي لحمض الغاليك	85
IV-6-1-2-2- التقدير الكمي للفينولات الكلية في المستخلصات	86
IV-6-1- 3-التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة UV-Visible	86
IV-6-1-3-1-المنحنى القياسي لحمض الكريستين	87
IV-6- 1-3-2-التقدير الكمي للفلافونويدات الكلية في المستخلصات	88

IV-6-2- التقدير الكمي للمركبات الفينولية بطريقة (إختبار الفولطاامبيرومتري الحلقي (VMC	89
IV-6-2-1-التقنية الفولطاامبيرومترية الحلقية	89
IV-6-2-2-الخصائص الكهروكيميائية للفينولات	90
IV-6-2-3-طريقة التقدير الكمي للفينولات	91
المبدأ	92
خطوات العمل	94
IV-7-تقدير الفاعلية المضادة للاكسدة بالطرق الكيميائية	94
IV-7-1-اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH	95
IV-8-دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا	96
IV-8-1-جمع السلالات البكتيرية المستهدفة	97
IV-8-2-طريقة العمل	98
مراجع الفصل الرابع	
الفصل الخامس: النتائج والمناقشة	
V-1- الكشف عن مواد الايض الثانوي في نبات المردقوش *Origanum majorana L*	105
V-2- حساب مردود المستخلصات	108
V-3- التقدير الكمي للفينولات والفلافونويدات	110
V-3-1- التقدير الكمي للفينولات والفلافونويدات بواسطة جهاز UV-visible	110
V-3-1-1- التقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز UV-visible	110
V-3- 1-2- التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة جهاز UV-visible	113
V-3-2- التقدير الكمي للمركبات الفينولية بطريقة (إختبار الفولطاامبيرومتري الحلقي (VMC	115
V-4- تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة	117
V-4-1-نتائج قدرة التثبيط للجذر DPPH	117
V-4-3- الفعالية المضادة للبكتيريا	120
مراجع الفصل الخامس	
خلاصة عامة	130
الملاحق	134

قائمة الأشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	الصفحة
الفصل الأول: دراسة عامة حول نبات المردقوش *Origanum majorana L*		
الشكل (I-1)	صورة لنبات المردقوش	7
الشكل (I-2)	رسم تخطيطي لمورفولوجيا نبات المردقوش	9
الشكل (I-3)	الانتشار الجغرافي للجنس *Origanum* في العالم	10
الفصل الثاني: دراسة منتجات الايض الثانوي		
الشكل (II-1)	نموذج لمركب فينولي	21
الشكل (II-2)	نموذج لمركب غير فينولي	21
الشكل (II-3)	بعض بنى الفينولات البسيطة	23
الشكل (II-4)	توضح الهيكل الأساسي للفلافنويدات	26
الشكل (II-5)	تصنيف الفلافونويدات	27
الشكل (II-6)	امثلة عن الليغنان	32
الشكل (II-7)	بنية اللغنين	33
الشكل (II-8)	بنية تانين قابل للتحلل	34
الشكل (II-9)	بنية تانين مكثف	34
الفصل الثالث: الفاعلية البيولوجية		
الشكل (III-1)	تركيب الخلية البكتيرية	47
الشكل (III-2)	صورة موضحة بالفحص المجهري لـ E.coli	51
الشكل (III-3)	صورة موضحة بالفحص المجهري لـSt a	52
الشكل (III-4)	قطر منطقة التثبيط للبكتيريا	55
الشكل (III-5)	صورة موضحة بالفحص المجهري للجذور الحرة	57
الشكل (III-6)	يوضح التراكيب الرنينية في جزيء DPPH	58
الشكل (III-7)	مخطط يوضح اقسام الاكسدة	61
الفصل الرابع: الطرق والوسائل		
الشكل (IV-1)	خريطة موقع بلدية البياضة	69
الشكل (IV-2)	عملية التجفيف والطحن	70

الشكل (IV-3)	اهم مراحل استخلاص المركبات الفينولية بطريقة التنقيع	76
الشكل (IV-4)	مخطط يوضح مختلف الخطوات المتبعة في عملية استخلاص المركبات الفينولية	77
الشكل (IV-5)	اهم مراحل استخلاص القلويدات بطريقة التنقيع	79
الشكل (IV-6)	مخطط مراحل استخلاص املاح القلويدات	80
الشكل (IV-7)	رسم تخطيطي يوضح جهاز كليفنجر المستخدم في عملية التقطير المائي للزيت	81
الشكل (IV-8)	رسم تخطيطي يوضح مكونات ومبدأ عمل جهاز مطيافية الاشعة فوق البنفسجية	83
الشكل (IV-9)	المنحنى القياسي لحمض الغاليك	84
الشكل (IV-10)	المحاليل بعد إضافة كاشف الفولين	85
الشكل (IV-11)	تفاعل تشكيل معقد بين كلوريد الالمنيوم الثلاثي $AlCl_3$ والفلافونيدات	86
الشكل (IV-12)	المنحنى القياسي لحمض الكريستين	87
الشكل (IV-13)	المحاليل بعد إضافة ثلاثي كلوريد الالمنيوم $AlCl_3$	87
الشكل (IV-14)	المقادير الأساسية لمنحنى الفولطا امبيرومتري الحلقي	89
الشكل (IV-15)	الية اكسدة حمض الغاليك او أحد مشتقاته	90
الشكل (IV-16)	المنحنيات الفولطاامبيرومترية الحلقية لحمض الغاليك	91
الشكل (IV-17)	المنحنى القياسي لحمض الغاليك حسب الطريقة الفولطاامبيرومترية الحلقية	92
الشكل (IV-18)	ألية ارجاع الجذر $DPPH^{\bullet}$ في وجود عامل مضاد للأكسدة	93
الشكل (IV-19)	المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك	95
الشكل (IV-20)	صورة لبعض المستخلصات بعد إضافة DPPH	95
الفصل الخامس: النتائج والمناقشة		
الشكل (V-1)	الكشف عن القلويدات	104
الشكل (V-2)	الكشف عن الفينولات	104
الشكل (V-3)	الكشف عن الفلافونويدات	105
الشكل (V-4)	الكشف عن الزيوت الاساسية	105
الشكل (V-5)	أعمدة بيانية تمثل مردود المستخلصات المستعملة في الدراسة	109
الشكل (V-6)	أعمدة بيانية تمثل كمية الفينولات للمستخلصات المدروسة	111
الشكل (V-7)	أعمدة بيانية تمثل كمية الفلافونويدات للمستخلصات المدروسة	113

الشكل (V–8)	المنحنى الفولطاامبيرومتري الحلقي للمستخلص الفينولي PHa	115
الشكل (V–9)	المنحنى الفولطاامبيرومتري الحلقي للمستخلص الفينولي PHb	115
الشكل (V–10)	منحنى اختبار DPPH لمستخلص PHa	115
الشكل (V–11)	منحنى اختبار DPPH للمستخلص PHb	118
الشكل (V–12)	منحنى القياسي لحمض الاسكوربيك	118
الشكل (V–13)	اعمدة بيانية توضح الفرق في الحساسية لسلالات البكتريا المدروسة بالنسبة للمستخلصات الفينولية	123
الشكل (V–14)	أعمدة بيانية توضح الفرق في الحساسية لسلالات البكتيريا المدروسة بالنسبة لمستخلص الزيوت الاساسية	123

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجداول	الصفحة
الفصل الأول: دراسة عامة حول نبات المردقوش *Origanum majorana L*		
جدول (I-1)	التصنيف النباتي لـ *Origanum Majorana L*	8
الفصل الثاني: دراسة منتجات الايض الثانوي		
جدول (II-1)	يمثل تصنيف القلويدات	18
جدول (II-2)	تصنيف المركبات الفينولية حسب بنيتها	22
جدول (II-3)	يوضح بعض الاحماض المشتقة من حمض البنزويك	24
جدول (II-4)	يوضح بعض الأمثلة عن احماض السينامك	24
جدول (II-5)	يوضح بعض أنواع الكومارينات	25
جدول (II-6)	يوضح بعض امثلة عن الستلبينات	25
جدول (II-7)	يوضح بعض أنواع الفلافونات	27
جدول (II-8)	يوضح بعض أنواع ايزوفلافونات	28
جدول (II-9)	يوضح بعض أنواع الفلافونولات	28
جدول (II-10)	يوضح بعض أنواع الفلافانولات	29
جدول (II-11)	يوضح أنواع الفلافانونات	29
جدول (II-12)	يوضح أنواع انثوسينات	30
الفصل الثالث: الفاعلية البيولوجية		
جدول (III-1)	يمثل التصنيف العلمي E.coli	51
جدول (III-2)	يمثل التصنيف العلمي لـSt a	52
الفصل الرابع: الطرق والوسائل		
جدول (IV-1)	السلالات البكتيرية المختبرة	96
الفصل الخامس: النتائج والمناقشة		
جدول (V-1)	نتائج الكشف الكيميائي للمنتجات الطبيعية الفعالة في نبات *Origanum majorana L*	106
جدول (V-2)	قيم مردود الاستخلاص	107
جدول (V-3)	قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة	109
جدول (V-4)	كمية الفينولات الكلية في المستخلصات	110
جدول (V-5)	قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة	112

جدول (V–6)	كمية الفلافونويدات الكلية في المستخلصات	112
جدول (V–7)	التقدير الكمي للفينولات في المستخلصات باستعمال الفولطاامبيرومتري الحلقي	114
جدول (V–8)	نسبة التثبيط لمستخلص PHa	114
جدول (V–9)	نسبة التثبيط لمستخلص PHb	116
جدول (V–10)	نسبة التثبيط المئوية للمستخلصات PHa، PHb	119
جدول (V–11)	يوضح تراكيز المستخلصات المحضرة للدراسة	120
جدول (V–12)	يوضح قيم اقطار التثبيط لبكتيريا *Escherichia coli*	120
جدول (V–13)	يوضح قيم اقطار التثبيط لبكتيريا *Staphylococcus aureus*	122

قائمة الرموز والاختصارات

الرمز	بالعربية	بالاجنبية
%	النسبة المئوية	Pourcentage
C°	درجة مئوية	Degré celsius
A	الامتصاصية	Absorbance
AG	حمض الغاليك	Acide Gallique
AA	حمض الاسكوربيك	Acide Ascorbique
AQ	حمض الكرستين	Acide Qurcitine
UV-vis	طيف الاشعة فوق البنفسجية والمرئية	Spectrophotomètre ultraviolet et visible
DPPH	جذر فينيل بكريل هيدرازيل	2,2-Diphenyl-1- picrylhydrazyl
A_0	الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلصات	
A_i	الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر + المستخلصات)	
I%	نسبة تثبيط العامل المضاد للأكسدة لجذر DPPH	Pourcentage de d'inhibitrice du radical DPPH
IC_{50}	تثبيط نسبة 50% من تركيز الجذور الحرة	Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH
BHT	بيوتيل هيدروكسي تولين	Butylated hydroxytoluene
BHA	بيوتيل هيدروكسي الانيسول	Butylated hydroxyanisole
ADN	حمض نووي ريبوزي منقوص الاكسجين	Acide Désoxyribonucléique
E-coli	اشيريشيا كولي	*Escherichia coli*
St a	ستافيلوكوكيز اروز	*Staphylococus aureus*

المقـــدمة العامة

المقــدمة العامة:

منذ القدم عرف الانسـان العلاج بالنباتات والاعشـاب الطبية، فهي تلعب دورا رئيسـيا في الغذاء والدواء، وفي العصـــر الحديث اعتقد الكثيرون ان الادوية المصـــنعة ســـوف تحل محل النباتات الطبية المستعملة في الطب الشـعبي، حيث عرف الانسـان امراضـا لم تكن معروفة او منتشرة من قبل، بل دخل عصر الامراض المزمنة، ويرجع ذلك الى الاستعمال اللامحدود للمواد الكيميائية في جميع مجالات الحياة فلوثت بيئة الانسان واثرت على صحته ومناعته في مقاومة الامراض فهي تحمل الكثير من الاثار الجانبية. [1]

تم تعريف النبات الطبي على انه "كل شـــيء من أصـــل نباتي ويســـتعمل طبيا فهو نبات طبي" وطبقا لهذا التعريف او المفهوم، الشامل للنبات الطبي يهيئ فرصا عديدة لاكتشاف المزيد والجديد من المواد الكيميائية العلاجية، ذات أصـــل النباتي [2] وهي تمتاز عن الادوية الكيميائية بفاعليتها العلاجية العالية، وكذلك قلة تأثيراتها الجانبية. [3]

اثبتت الدراســـات العديدة انه يوجد بالجزائر مالا يقل عن 3500 نوع من النباتات وهذا راجع الى المســاحات الواســعة ومناخاتها المتعددة: بحرية، قارية، صــحراوية وما تتميز به، من تربة متنوعة خصـــبة للغاية في معظمها ولا شـــك ان لهذه المناخات والتربة أثر بالغ ليس فقط على شـدة التنوع النباتي ولكن على تركيب النباتات واعطائها المميزات الخاصـة، ومن بين هذا العدد منها حوالي 1900 نوع يمكن العثور عليه في اســـبانيا وما يقارب 1500 نوع في إيطاليا وأخرى لا نعثر عليها الا في البلدان الصـــحراوية وأخرى اصـــلية لا نجدها الا في بلدان شـــمال افريقيا، بل هناك اشـــكال نباتية لا تظهر الا في أماكن معدودة او محدودة للغاية بالجزائر.[1] ومن هنا فقد تطرقنا في هذا البحث الى دراسة إحدى النباتات الطبية التي تنمو في ولاية الوادي، والتي تعرف باسم المردقوش، المعروفة علميا باسم*Origanum Majorana L* .

ونهدف من خلال هذه الدراســـة الى اختبار المنتجات الطبيعية الفعالة الموجودة في هذا النبات بتقييم الفعاليـــة المضـــادة للأكسدة والفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلصات الخام لنواتج الايض الثانوي للنبات، وفي هذا الصدد طرحنا الإشكاليات التالية:

- ما مدى احتوى نبات *Origanum Majorana L* للمنتجات الطبيعية الفعالة؟
- ما تأثير المنتجات الطبيعية المستخلصة من النبات على نمو السلالات البكتيرية؟
- هل لهذه المركبات تأثير على تثبيط الجذور الحرة؟

وقصد الإجابة عن الإشكاليات المطروحة قسمنا بحثنا إلى جزئين:

جزء نظري يحوي ثلاثة فصول:

- ✓ **الفصل الأول:** دراسة عامة حول نبتة المردقوش.
- ✓ **الفصل الثاني:** دراسة منتجات الايض الثانوي.
- ✓ **الفصل الثالث:** الفعالية البيولوجية.

أما الجزء التطبيقي فيحوي فصلين:

- ✓ **الفصل الرابع:** الطرق والوسائل.
- ✓ **الفصل الخامس:** النتائج والمناقشة.

وفي الأخير خاتمة تلخص النتائج المتحصل عليها.

المراجع باللغة العربية:

[1] بلفار آسيا2018. دراسة القدرة المضادة للاكسدة وللبكتيريا والتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات limosniastrum guyonianum (Dur). مذكرة دكتوراه ل.م.د. تخصص التحاليل الفيزيوكيميائية وفعالية العينات الجزيئية. جامعة قاصدي مرباح. ورقلة.

[2] سعيد خليفة عثمان سعد2012. حصر النباتات الطبية في منطقة الجبل الغربي في ليبيا والدراسة التشريحية لأكثر النباتات استخداما. جامعة امدر مان الإسلامية. السودان.

[3] بن عمر محمد العربي2019.دراسة فيزيوكيميائية وبيولوجية للزيت الأساسي لبعض النباتات الطبية cotulacinerea،origanummajoranaL، mentha piperita،ammudaucus leucotrichus،مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتوراه علوم،تخصص كيمياء عضوية تطبيقية،جامعة حمه لخضر،الوادي.

الجزء النظري

الفصل الأول

دراسة عامة حول نبات المردقوش

Origanum majorana L

I. دراسة عامة لنبات المردقوش :

I.1. التعريف بالعائلة الشفوية:

تعد العائلة الشفوية سادس أكبر عائلة من النباتات المزهرة في العالم، تحوي حوالي 236 جنس و7200 نوع ومن اجناسها جنس *Mentha*، *Origanum*، *Thymus*، *Teucrium* ، *Lamium*. [1]

تكون نباتات هذه العائلة حولية او معمرة، موطنها الأصلي المناطق المعتدلة، وبالرغم من ان نباتات العائلة الشفوية موزعة في انحاء العالم الا انها تتواجد بنسبة كبيرة في مناطق البحر الأبيض المتوسط، تتميز النباتات العشبية منها بانها ذات سيقان مربعة الشكل، ومجموع خضري يغلب عليه وجود الزغب، تسميتها منسوبة الى شكل تويجها الشفوي، وتسم حاليا Lamiaceae نسبة الى أشهر اجناسها Lamium. [2]

I.2. دراسة عامة لجنس *Origanum*:

يعتبر نبات المردقوش *origanum* من النباتات الطبية المهمة الذي ينتمي للفصيلة الشفوية Lamiaceae، له أكثر من ثلاثين جنسا، عشرون منها تزرع للزينة طلبا لأزهارها القرمزية الارجوانية الجذابة، والاسم *Origanum* اشتق من اليونانية وهو بمعنى العشب المر، يعيش في الجبال الجافة صيفا، يستعمل النبات الغض كثيرا في تحضير التوابل.

الازهار والاوراق والزيت والحبوب والسوق الرفيعة من النبات الغض جميعها غنية بالفلافنويدات والزيوت الطيارة التي تحوي بشكل رئيسي Thymol و Carvacol وكحولات وعفصا وفيتامين C. أفضل البلدان عناية به وبتصديره حاليا مصر، وله أصناف تجارية مجففة محضرة من العديد من اجناسه) مصرية، تركية، مكسيكية، يونانية، سورية...).[3] والشكل (I-1) يوضح صورة ملتقطة لنبات المردقوش.

الشكل (I-1): صورة لنبات المردقوش

I.3. الأنواع التابعة لجنس *Origanum* :

يعد البردقوش *Origanum* من النباتات الطبية والعطرية المهمة في جميع انحاء العالم ويضم عدد من الأنواع نذكر بعضها: [4]

- *Origanum Onites L*
- *Origanum Syriacum L*
- *Origanum Heracleoticum L*
- *Origanum Vulgare L*
- *Origanum Libanoticum L*
- *Origanum Ductidens L*

I.4. التعريف بنبات *Origanum Majorana L* :

عرف *Origanum Majorana L* سابقا باسم Majoranahortensis Moench هو عشب معمر يتميز الجنس بالتنوع المورفولوجي والكيميائي الكبير وله تسعة واربعون تصنيفا مقسمة الى محليا موزعة حول البحر الأبيض المتوسط. جنس عشب معروف بشكل شائع باسم المردقوش الحلو والموطن الأصلي في الاناضول (تركيا) وقبرص ومتجنس في أجزاء من منطقة البحر الأبيض المتوسط خاصة مصر، استخدم المردقوش في البداية من قبل ابقراط كعامل مطهر. فهو علاج منزلي جيد للعدوى الصدرية والسعال والتهاب الحلق. [5]

I.5. الأسماء الشائعة للمردقوش *Origanum Majorana L*:

تختلف تسمية النوع النباتي *Origanum Majorana L* من منطقة الى أخرى ومن هذه الأسماء:

الاسم العربي: مرزنجوش، الوزاب، البردقوش[6]

الاسم الأجنبي: *Marjolaine* [7]

الاسم العلمي: *Origanum Majorana L*

I.6. التصنيف النباتي لـ *Origanum Majorana* L:

يتم تصنيف نبات *Origanum Majorana L* حسب الجدول التالي: [5]

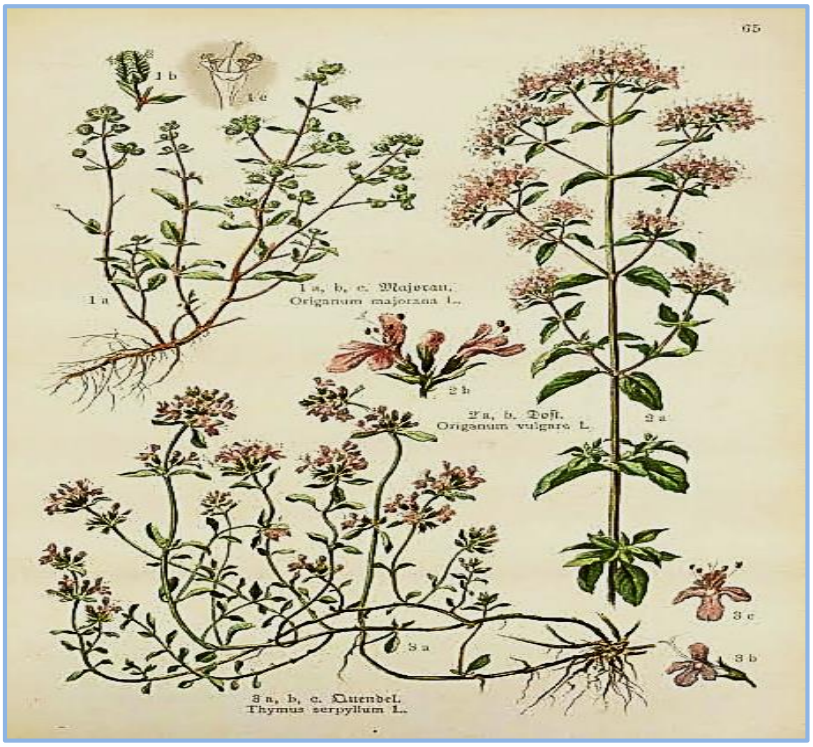
جدول (I-1): التصنيف النباتي لـ *Origanum* Majorana L

Régne	végétales	**المملكة**
Embranchement	Mangnoliophyta	**الشعبة**
Classe	Mangnoliopsida	**الطائفة**
Ordre	Lamiales	**الرتبة**
Famille	Lamiaceae	**العائلة**
Genre	*Origanum*	**الجنس**
Espèce	*Majorana L*	**النوع**

I.7. الوصف المورفولوجي لـ *Origanum Majorana L* :

النبات ذو جذمور متفرع اسود، وساق قائمة ترتفع بحدود 30-70 سم، الأوراق تكون قصيرة متقابلة سطحها السفلي مزغب، وتكون خضراء داكنة تشبه اذان الفأر، [3] طولها 0.5-1.5 سم وعرضها 0.2-0.8 سم، مع قمة منفرجة، وحافة كاملة، وقاعدة متناظرة ولكنها مستقيمة، وعروق شبكية. لها زهور صغيرة انبوبية، بيضاء او وردية شاحبة. يبلغ طولها اقل من 0.3 سم. الزهور هي خنثى في الطبيعة بذوره دقيقة، بيضاوية داكنة وبنية اللون التي تنضج من أغسطس الى سبتمبر، وله جذور يبلغ قطرها 0.2 مم الى 0.6 مم وهي شبه اسطوانية. [8] -[9]-[10]

والشكل (I -2)يوضح رسم تخطيطي لمورفولوجيا نبات *Origanum Majorana L*.



الشكل (I-2): رسم تخطيطي لمورفولوجيا نبات المردقوش

I.8. التوزيع الجغرافي لنبات المردقوش *Origanum Majorana L*:

ينمو البردقوش بريا في مناطق مختلفة من العالم وموطنه الأصلي حوض البحر المتوسط خاصة الجزء الجنوبي من قارة أوروبا والجزء الشمالي لقارة افريقيا، وانتشرت زراعته منذ زمن بعيد في معظم القارات، هناك 49 تصنيفا مقسمة الى 10 اقسام تنتمي الى هذا الجنس موزعة محليا حول البحر الأبيض المتوسط بالشكل الاتي: 3 أصناف مقصورة على المغرب واسبانيا، 2 في الجزائر وتونس ،3 مستوطنة في برقة (منطقة في شرق ليبيا)و 9 مقتصرة على اليونان واسيا الصغرى 21 في تركيا وقبرص وسوريا ولبنان واهم البلدان المنتجة له مصر، المغرب، فرنسا، تركيا، بلغاريا، المجر، المانيا [11]-[12]، والشكل (I-3) يبين الانتشار الجغرافي لنبات *Origanum*

الشكل (I-3): الانتشار الجغرافي للجنس *Origanum* في العالم [7]

I.9. الاستعمالات الطبية للمردقوش :

يعتبر نبات البردقوش ذو تأثيرات طبية متعددة نذكر منها: [3]

- يعتبر مطهرا وقاتلا للعديد من الزمر الجرثومية.
- يعمل على زيادة افرازات الهضم.
- تستخدم ازهاره في تهدئة الاعصاب المركزية وفي حالات التشنج.
- لا يجب إعطائه للحوامل ومرضى الفشل الكلوي لأنه مدر للبول لذلك يمنع من استعماله.
- مسكن لآلام عسر الطمث، طارد للغازات، مفرزة للعرق.
- مسكن فعال في الم الاسنان.
- مسكن للسعال.
- يستخدم على شكل بخار او حمام مائي للقدمين، او يمكن استخدامه بشكل موضعي عند الأطفال المصابين بالرثية الحادة (الحمى الروماتيزمية) والكساح وداء الخنازير.

I.10. دراسات سابقة لنبات المردقوش *Origanum Majorana L*:

تم تقدير التركيب الكيميائي والعناصر المعدنية لأوراق نبات المردقوش حيث كانت النسبة المئوية لمحتوى الرطوبة والبروتين والدهن والرماد والكاربوهيدرات / 6.6 / 8.4 / 18.7 / 66.3)% (5.7 بينما كانت تراكيز العناصر المعدنية Ba . Fe . K. Co . Na (0.6/5.1/0.039/0.49/0.01) جزء من المليون على التوالي. وشخصت المجموعات الفعالة من خلال الكشوفات النوعية على مستخلصات العشبة المائية والكحولية اذ لوحظ احتوائها على التانينات والفينولات والفلافونويدات

والصابونيات والكاربوهيدرات والقلويدات وتمت دراسة الفحوصات الفيزيائية والكيميائية كالحرق والذائبية اذ لوحظ ذوبانها جزئيا في المذيبات القطبية وكليا في المذيبات الغير قطبية.

وتم أيضا دراسة تأثير أوراق نبات المردقوش المطحون كمادة حافظة للحم البقري بتراكيز %(1-0.5) المخزن بالتبريد بدرجة 5 درجة مئوية لمدة (7-10) أيام وتم متابعة التغيرات التي تطرا على قطع اللحم من خلال تقدير رقم البيروكسيد حيث بينت النتائج انخفاض قيمته في العينات المعاملة بمسحوق أوراق النبات بالمقارنة مع العينة الطازجة خلال فترة الخزن وكذلك درس تأثيره على اعداد البكتريا الكلي وبكتيريا الكولون الموجودة في اللحم بنفس فترة الخزن والتراكيز السابقة أظهرت نتائج ان للنبات دور في تقليل اعداد الاحياء المجهرية في نماذج اللحم المفروم وكذلك امتلاكها فعالية مضادة للأكسدة من خلال إطالة عمر التخزين لقطع اللحم. [5]

كما ان دراسة قام بهاEl-Shintinawy ومعاونوه(2021)، حيث وجد ان التحليل البيوكيميائي لمستخلصات أوراق نبات المردقوش (***Origanum Majorana L***) في كل من الاسيتون والميثانول اظهر وجود اربع مكونات وهما كالاتي: (الكومارين، ستروبد، الفلافونويد والتانين). بالإضافة الى ذلك اظهر مستخلص الميثانول حوالي 92% من تثبيط تفاعل DPPH مما يشير الى مستوى عالي من النشاط المضاد للاكسدة لمستخلص هذا النبات.[13]

كما تم الكشف على المكونات النشطة بيولوجيا بواسطة التحليل الطيفي GC-MS حيث بينت النتائج عن وجود 30 مكونا، والمكونات الرئيسية التي تم اكتشافها في مستخلص الايثانول لنبات المردقوش هي: سيتوسيترول (12.93)%، حمض تريونيك (8.65)%، حمض هيكساديكانويك (6.64)%، نيوفيتادين (6.47 %)، حمض يوراسيلك (5.48)%، حمض فيثاليك (5.06)%، فينانثرين ميثانول (4.69)%، تتراكوزان (3.85)%، تترا ميثيل هيكسادين (3.75)%، توكوفيرول (3.46)%[13].

المراجع باللغة العربية:

[1] دركي إشراق، (2020). المساهمة في دراسة تأثير العوامل المناخية والترابية على الخصائص البيوكيميائية لنبات النعناع المائي Mentha aquatica L، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في البيولوجيا، تخصص التنوع الحيوي وفيزيولوجيا النبات، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[2] بن عمر جهاد، بن عتوس مسعودة، (2017). دراسة بيئية وبيولوجية لنبات المردقوش Origanum majorana، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في البيولوجيا، تخصص بيولوجيا وتثمين النبات، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[3] توفيق الحاج يحي، ت،أ(2003). النبات والطب البديل.الدار العربية للعلوم.

[5] بن عمر محمد العربي2019.دراسة فيزيوكيميائية وبيولوجية للزيت الأساسي لبعض النباتات الطبية ammudaucus leucotrichus،mentha piperita ،origanummajoranaL،cotulacinerea،مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتوراه علوم،تخصص كيمياء عضوية تطبيقية،جامعة حمه لخضر،الوادي.

[6] محمد السيد.، عبد الله حسين (2010).الموسوعة الام للغلاج بالنباتات والاعشاب الطبية.دار الفا للنشر.

[11] طلبة.، يوسف ن.، (2015). امكانات تنمية الصادرات المصرية من محصول البردقوش، المجلة المصرية للبحوث الزراعية، –دقي –جيزة، المجلد(93) العدد (1) ص:273

المراجع باللغة الأجنبية:

[4]Jnaid, Y., Yacoub, R., & Al-Biski, F. (2016). Antioxidant and antimicrobial activities of Origanum vulgare essential oil. International Food Research Journal, 23(4), 1706.

[7] BIA, S. (2019). Etude des activités biologiques de trois espéces du genre Origanum. Thème Master Academique.Université Echahid Hamma Lakhdar , el-oued.

[8] Vasudeva, N. (2015). Origanum majorana L.-Phyto-pharmacological review.

[9] Vagi, E., Rapavi, E., Hadolin, M., Vasarhelyine Peredi, K., Balazs, A., Blazovics, A., & Simandi, B. (2005). Phenolic and triterpenoid antioxidants from Origanum majorana L. herb and extracts obtained with different solvents. Journal of agricultural and food chemistry, 53(1), 17-21.

[10] Prerna, S., & Neeru, V. (2014). Pharmacognostical and quality control parameters of Origanum majorana Linn. stem and root. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (WJPPS), 3(6), 1428-1437.

[12] Neeru, V. (2015). Origanum majorana L.-phyto-pharmacological review. Indian Journal of Natural Products and Resources, 6(4), 261-267.

[13] El-Shintinawy, F., Elfiky, S., El-Esawy, M. A., & Abo-Hamad, S. (2021). Phytochemical analysis of Origanum majorana leaf extract and its effect on flax seedling growth. THE EGYPTIAN JOURNAL OF EXPERIMENTAL BIOLOGY (Botany), 17(1), 11-11.

الفصل الثاني

دراسة منتجات الايض الثانوي

1.II.تعريف المنتجات الطبيعية:

المنتجات الطبيعية الفعالة هي مركبات عضوية من أصل طبيعي، فهي مواد انتجتها الكائنات الحية، وأكثر هذه المكونات أهمية تلك التي تؤدي دورا في التفاعلات الايضية، والتي يتم فصلها من النباتات والكائنات الحية الدقيقة. وهي جزيئات تنتج انطلاقا من عمليات الايض، ونميز منها قسمين: منتجات اولية ومنتجات ثانوية. [1]

1.1.II. المنتجات الأولية (Métabolites Primaires):

تتميز المنتجات الأولية بخاصيتها الحيوية والضرورية لبقاء الخلية والجسم، فهي مركبات تدخل في التفاعلات الأولية وتشير في الغالب الى العمليات الايضية الأساسية التي ينتج عنها الاحماض الكربوكسيلية البسيطة والاحماض الامينية، السكريات، الدهون والبروتين. [2]

2.1.II. المنتجات الثانوية (Métabolites Secondaires):

هناك العديد من المركبات التي تنتج في النبات يطلق عليها اسم المشتقات الثانوية لعمليات الايض الثانوية وتشمل كل من التربينات والفينولات والقلويدات وغيرها.

وهي جزيئات كبيرة العدد، لها شكل بنيوي ولها استعمالات دوائية عديدة، وتسمى بالمنتجات الطبيعية الفعالة، اذ تعتبر مركبات القسم الأول هي المواد البادئة لها، فهي تمثل مركبات الايض الثانوي، وهناك ثلاث مواد أولية وهي: حمض الشيكميك، الاسيتات، والاحماض الامينية. [1] ومن اهم منتجات الايض الثانوي نذكر منها:

II.2. القلويدات:

II.2.1. تعريف القلويدات:

تعتبر القلويدات أحد اهم المنتجات الطبيعية التي ينتجها النبات الطبي [3] فمنذ حوالي 4000 سنة استخدم الانسان القلويدات في صورتها الطبيعية كمواد مخدرة، وفي سنة 1803 تمكن العالم Derosne من استخلاص قلويد من نبات الافيون، اما في عام 1805 تمكن العالم Sertumer بعزل ودراسة مادة المورفين لتتوالى بعدها عدة دراسات أخرى. [4]

تم اقتراح مصطلح القلويد سنة 1818 من طرف الباحث Meisser [5] القلويدات هي عبارة على قواعد أزوتية معقدة التركيب ذات أصل نباتي، تحتوي على عنصر النيتروجين كعنصر أساسي مما يعطي الصفات القلوية لها، معظم القلويدات يحتوي التركيب البنائي لها على مجموعات فعالة بها ذرة اكسجين مثل مجموعات الهيدروكسيل او المجموعة الكيتونية، كما يحوي الكثير منها في البنية التركيبية على حلقة غير متجانسة او أكثر، قد يحتوي النبات أكثر من 100 من القلويدات المختلفة، الا ان تركيزها لا يتجاوز 10% من الوزن الجاف للنبات. [6]

II.2.2. تسمية القلويدات:

بما انه يوجد اختلاف في التراكيب الكيميائية للقلويدات فانه يتعذر توفر نظام تسمية موحد لهذه المركبات الطبيعية.

تم الاتفاق على ان تنتهي اسماء القلويدات بالمقطع ineولذلك يتم تسمية القلويدات حسب الطرق التالية:

1.تسمى بعض القلويدات حسب الاسم اللاتيني الأول للنبات المستخلص منه ومثال ذلك:

قلويد Atropine المستخلص من أوراق نبات Atropiabelladona.

2.تسمى بعض القلويدات حسب الاسم اللاتيني الثاني للنبات المستخلص منه ومثال ذلك:

قلويد Belladonine المستخلص من أوراق نبات Atropiabelladona

3.تسمى بعض القلويدات حسب تأثيرها الفسيولوجي (العلاجي) ومثال ذلك:

قلويد (مخدر Narcotine=Narcotic) و(مقيء Emetine= Emetic).

4.تسمى بعض القلويدات حسب خواصه الفيزيائية كما في قلوية ماص للرطوبة (Hygroscopic = Hygrine).

5.تسمى بعض القلويدات حسب اسم مكتشفيها مثل قلويد Pelletierine باسم العالم Pelleter.

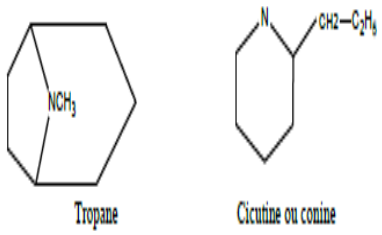
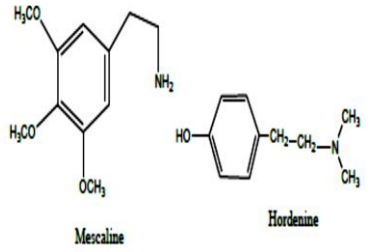
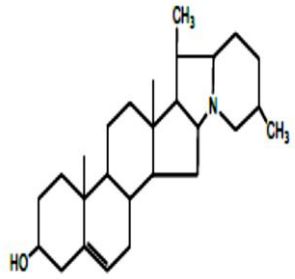
6.تسمى بعض القلويدات حسب اسم النبات الشائع مثل ذلك قلويد Ergometrine المستخلص من جذور فطر ClavicepsPurpura المعروف باسم الشائع له فطر Ergot [7]-[8]

II.3.2. تصنيف القلويدات:

توجد العديد من التصنيفات للقلويدات تبعا لمصادرها وتأثيراتها وكذلك للأحماض الأمنية المخلقة منها وقد تلجا بعض المصادر الى تصنيف القلويدات وفقا للفصائل النباتية المستخلصة منها ولكن تزايد اكتشاف المئات من هذه المركبات في الوقت الحاضر حال دون استخدام مثل هذا التقسيم. وهناك تصنيف جامع الى حد ما للأنواع المختلفة من القلويدات وينقسم الى ثلاثة اقسام: [9]-[10]

حسب الجدول(II-1) التالي الذي يمثل تصنيف القلويدات: [11]

جدول (II-1): يمثل تصنيف القلويدات

القلويدات الحقيقية (les alcaloidesvrais)	تحتوي على ذرة أزوت داخل الحلقة الكربونية (hétérocyclique) وهي مركبات قاعدية وتتواجد في الحالة الطبيعية كأملاح، وهي تتشكل انطلاقا من احماض امينية.	 Tropane Cicutine ou conine
القلويدات الأولية (Les protoalcaloide)	هي امينات بسيطة لها ذرة أزوت خارج الحلقة وهي مركبات قاعدية تنتج من ايض الاحماض الأمنية.	 Mescaline Hordenine
القلويدات غير الحقيقية (الكاذبة) (Les pseud-lcaloïde)	لها كل خصائص القلويدات، لكنها ليست مشتقة من احماض امينية هذا القسم يحوي القلويدات الستيرويدية والقلويدات البيرينية	

II.4.2. تواجد وتوزيع القلويدات:

لقد كان المصدر الرئيسي للقلويدات في الماضي النباتات الزهرية، الا انه في الوقت الحاضر قد تم عزل الكثير من هذه المركبات من مصادر مختلفة مثل: الحشرات، الكائنات البحرية الدقيقة، ولايزال عدد القلويدات التي تم استخلاصها من النباتات الزهرية يفوق عدد القلويدات التي تم استخلاصها من المصادر الأخرى، وتنتشر هذه المركبات في الكثير من الاجناس المختلفة في فصائل نباتية مختلفة. [12]

II.5.2. خصائص القلويدات:

- ✓ تحتوي القلويدات بإضافة الى الازوت (N) على عنصري (H.C) وبعضها يحتوي على عنصر (O).
- ✓ معظم القلويدات غير الطيارة صلبة الملمس، اما القلويدات الطيارة فهي سائلة ولا تحتوي على عنصر (O).
- ✓ القلويدات عديمة اللون يمكن ان تكون املاح ملونة مثل:
  - Saguinarine salt احمر اللون.
  - Hydrastine salt اصفر اللون.
- ✓ معظم القلويدات متبلورة صلبة الا: قلويد Nicotine، Pilocarpine، Spartine وغيرها عبارة عن سوائل.
- ✓ معظم القلويدات لا تذوب في الماء او تذوب بشكل جزئي ما عدا قلويد colchicine الا انها تذوب جيدا في الكحول والكلوروفورم، كما انها تشكل املاح ذائبة في الماء.
- ✓ معظم القلويدات لها تأثير فسيولوجي ومنها ما هو سام جدا.
- ✓ من الممكن ترسيب قلويدات باستعمال المواد التالية:

May's Reagen – Marne's Reagent – Tannic acid – Picric acid – cd K13 – Wagner's Regent-Dragendorff's Reagent.

- ✓ لمعظم القلويدات خاصية التناظر Stéréo isoméries.

✓ معظم القلويدات تؤثر على الضوء المستقطب.

✓ تتوزع القلويدات في المملكة النباتية وتوجد في المملكة الحيوانية والفطريات.

✓ تشتق القلويدات من خمسة احماض امينية أساسية هي: [13]

Tyrosine –Tryptamine –Phenylalanine –Lysine –Ornithine

II.6.2. فوائد القلويدات وأهميتها:

- **في النبات:**

✓ تعتبر مواد مخزنة للنتروجين ولمواد اخرى يحتاجها النبات في نموه.

✓ تلعب دور دفاعي للنبات لما تحتويه من مواد سامة بحيث تقوم بحمايته من الحشرات واكلات الأعشاب والكائنات الدقيقة.

✓ تحمي القلويدات النبات من التلف الذي تسببه اشعة الشمس فوق البنفسجية UV.

- **في الطب:**

ان التأثير الطبي للقلويدات يختلف حسب نوع القلويدات حيث: [14]

✓ يعد المورفين والكودايين قلويدان مسكنان ومخدران.

✓ الكافيين يعتبرمنبها ومزيل للتعب.

✓ يعتبر البابافيرين مخفف للآلام.

✓ يعد الفلفلين مقو للمعدة.

✓ يستعمل الكولشيسين لعلاج الروماتيزم.

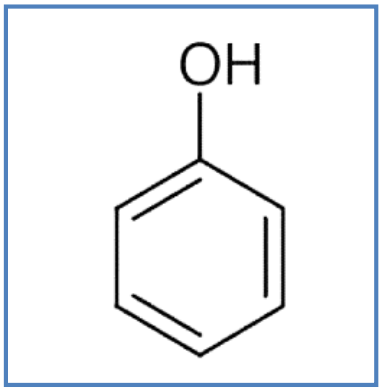
✓ الافديرين يسبب ارتفاع ضغط الدم.

✓ يستعمل قلويد الاتروبين في جراحة العيون حيث يعمل على توسعة حدقة العين.

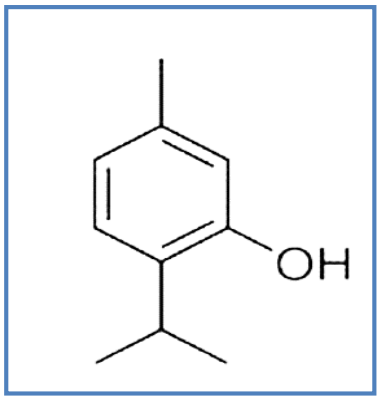
3.II. الفينـولات:

1.3.II. تعريف المركبـات الفينـولية:

تمثل المركبات الفينولية قسما بالغ الأهمية في حقل المنتجات الطبيعية وذلك لتعددها وتباين هياكلها البنائية [15] ،من اجل هذا فان نسبة 80% من هذه المركبات توجد على مستوى انسجة (القشرة) للفواكه ،هذه المركبات هي المسؤولة عن ظهور الالوان (اصفر، اخضر، احمر، برتقالي) في النبات [16] ومنه يمكن تعريف المركبات الفينولية على انها واحدة من اكبر المجموعات والمواد الموزعة على نطاق واسع في النبات ويوجد ما يقارب حوالي 8000 مركب موجود في جميع الانسجة النباتية، فهي لا توجد حرة داخل خلايا النبات بل توجد مرتبطة بشكل جليكوزيدات، ايثرات، استرات وتوجد عدة مسارات للاصطناع الحيوي واهمها: مسار حمض الشكيميك Shikimique ومسار خلات Acétate، وتحتوي على مجموعة هيدروكسيل او اكثر متصلة مباشرة بحلقة عطرية (البنزين) والفينول هو الهيكل التي تقوم عليه المجموعة بأكملها (Phinolic Compound Biochimistry). [17]



الشكل (II-1): نموذج لمركب فينولي



الشكل (II-2): نموذج لمركب غير فينولي

II.2.3. مصـدر المركبـات الفينـولية:

تعرف للمركبات الفينولية انتشارا واسع في المملكة النباتية كنواتج ثانوية لعملية التركيب الضوئي، وتعد الفاكهة واحدة من اغنى المصادر لهذه المركبات فضلا عن كون هذه المركبات مصدرا غذائيا فان لها تأثيرات فيزيولوجية عديدة، وبصورة أكبر تتواجد في الأجزاء الهوائية خاصة الازهار والأوراق وذلك بشكل ايتروزيدات تذوب في الماء وتتمركز في حويصلة الخلية، وتتواجد بصورة اقل في الخضر والحبوب. [18]-[19]

II.3.3. تصنـيف المركبـات الفينـولية:

يمكن تصنيف المجموعات الكبيرة والمتنوعة من المركبات الفينولية على أساس عدد ذرات الكربون في الجزيء وحسب البنية وعدد الحلقات الاروماتية والعناصر المرتبطة بها ونلخص عملية التصنيف في جدول(II-2) الذي يوضح تصنيف المركبات الفينولية [20]

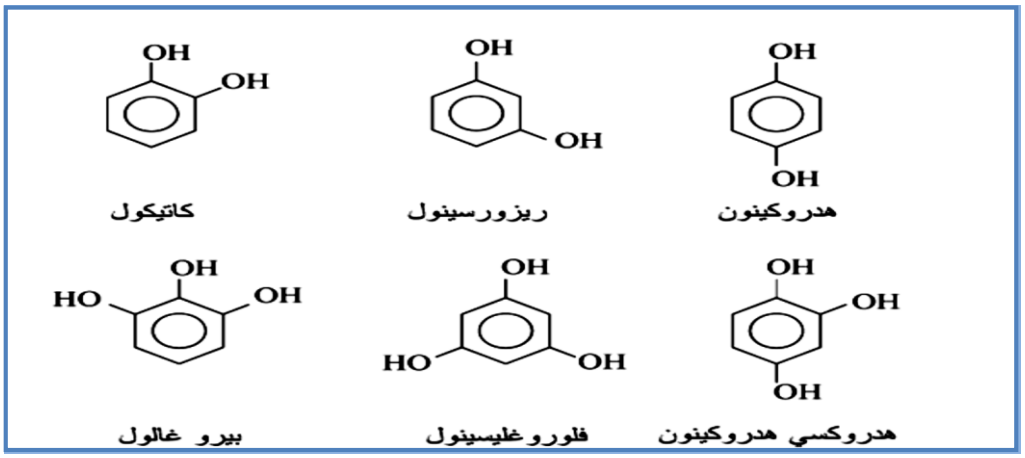
جدول (II-2): تصنيف المركبات الفينولية حسب بنيتها

الهيكل الكربوني الاساسي	الصنف
C_6	**الفينولات البسيطة**
$C_6 - C_1$ $C_6 - C_3$	**الاحماض الفينولية الكربوكسيلية** **احماض هيدروكسي سينماميك**
$C_6 - C_3$	**الكومارينات**
$C_6 - C_2 - C_6$	**الستلبينات**
$C_6 - C_3 - C_6$	**الفلافانويدات** **الفلافونات** **الفلافونولات** **الفلافانولات** **الفلافانونات** **ايزوفلافونات** **انثوسيانات**

$(C_6 – C_3)_2$	**الليغنان**
$(C_6 – C_3)$ n	**اللغنين**
التانينات Tanin	**تانينات قابلة للتحلل وهي احماض فينولية مرتبطة بجزيء سكر** **تانينات مكثفة على شكل $(C_6 – C_3 – C_6)$ n**

II.3.3.1. الفينولات البسيطة Phénols Simple (C_6):

هي مركبات ذات الهيكل (C_6) والتي تحوي حلقة بنزين مرتبطة بواحدة او أكثر من مجموعات الهيدروكسيل ومن ضمنها الفينول نفسه، [21] فهي نادرة في الطبيعة باستثناء الهيدروكينون موجود في كثير من العائلات، والشكل (II-3) يبين بعض بنى الفينولات البسيطة. [22]



الشكل (II-3): بعض بنى الفينولات البسيطة

II.3.3.2. الأحماض الكربوكسيلية الفينولية Acides Phénols carboxyliques:

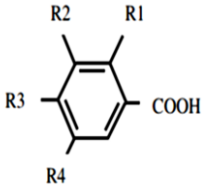
تحتوي الاحماض الكربوكسيلية الفينولية على مجموعة حامضية وهي مجموعة الكربوكسيل COOH وكذلك واحد او أكثر من مجموعات الهيدروكسيل OH وتنقسم الى مجموعتين:

II.3.3.2.1. الاحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك($C_6 – C_1$) :

في هذا النوع تكون حلقة الفينول الاروماتية التي تحتوي على مجموعة هيدروكسيل او أكثر مرتبطة مباشرة بمجموعة الكربوكسيل COOH أي هيكله الأساسي حمض البنزويك هذه الاحماض

هي شائعة جدا سواء في شكل حر او في شكل استرات او جليكوسيدات. هذه الفئة هي وفيرة في النباتات والأغذية والجدول (I-3) يوضح بعض البنى المشتقة من حمض البنزويك. [23]

جدول (II−3): يوضح بعض الاحماض المشتقة من حمض البنزويك

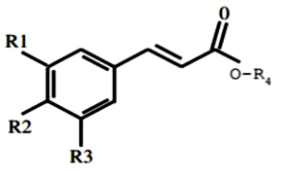


الاسم	R_4	R_3	R_2	R_1	الهيكلة الأساسية
Acide benzoique	H	H	H	H	 II
Acide m-hydroxybenzoique	H	H	OH	H	
Acideprotocatechine	H	OH	OH	H	
Acidevanillique	H	OCH_3	OH	H	

II .2.2.3.3..احماض هيدروكسي سيناميك ($C_6 – C_3$):

في هذا النوع تكون الحلقة الفينولية التي تحتوي على مجموعات الهيدروكسيل مرتبطة بمجموعة الكربوكسيل عن طريق سلسة اليفاتية غير مشبعة تتكون من 3 كربونات وهيكلها الأساسي حمض السيناميك. نادرا ما توجد في شكل حر وغالبا ما تقترن مع سكريات او البوليولات مثل حمض الكينيك وحمض الكافييك هو الممثل الرئيسي لهذه الفئة يوجد في العديد من النباتات [24] والجدول (II-4) يوضح بعض الأمثلة عن احماض السيناميك.

جدول (II−4): يوضح بعض الأمثلة عن احماض السيناميك

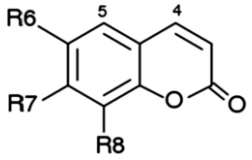


الاسم	R_4	R_3	R_2	R_1	الهيكلة الأساسية
Acide cinnamique	H	H	H	H	
Acide p-coumarine	H	H	OH	H	
Acide caféique	H	H	OH	OH	
Acide férulique	H	H	OH	OCH_3	

II.3.3.3. الكومارينات ($C_6 - C_3$):

تم عزل الكومارينات سنة 1820، واشتقت هذه التسمية من النبات الذي فصل منه اول مرة من قبل الباحث Vogel (1820) [25]، وهي عبارة عن نواة بنزنية وحلقة سداسية بها ذرة اكسجين، وهي تنتمي الى مجموعة من مركبات α-benzopyrone. [26]-[27] والجدول (II-5) يوضح بعض أنواع الكومارينات.

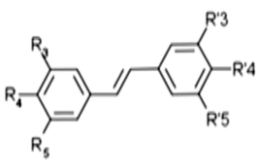
جدول (II-5): يوضح بعض أنواع الكومارينات

الاسم	R_8	R_7	R_6	الهيكلة الاساسية
Coumarine	H	H	H	
Ombelliférone	H	OH	H	
Scopolétol	H	OH	OH	

II.3.3.4. الستلبينات Stilbénes ($C_6 - C_2 - C_6$) :

هي مركبات تحتوي على حلقتين عطريتين ويربطها رابطة ثنائية وهيكلها هو $C_6 - C_2 - C_6$ وتشكل نظام مترافق، هذه الميزة تعطي لها فعالية عالية نظرا للرنين الالكتروني في الجزيء كله ومن بينها مركب ريسفيراترول resvératrolوهي تحمي من الاشعة فوق البنفسجية والجدول التالي يوضح بعض امثلة عن الستلبينات [28] والجدول (II-6) يوضح بعض الأمثلة عن الستلبينات.

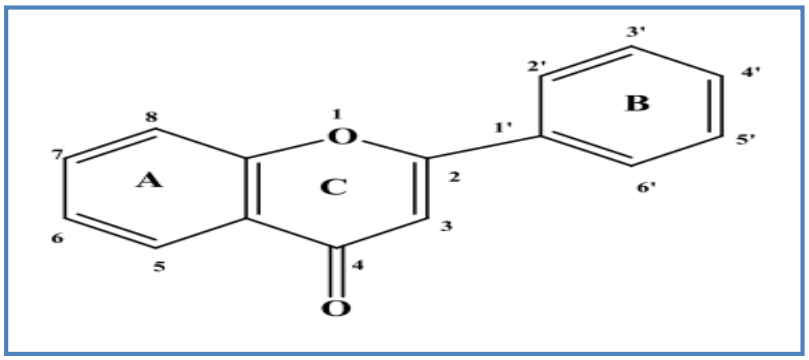
جدول (II-6): يوضح بعض امثلة عن الستلبينات

الاسم	R_3	R_4	R_5	R'_3	R'_4	R'_5	الهيكلة الاساسية
Resvératrol	H	OH	H	H	H	OH	
Pinosylvine	H	H	H	OH	H	OH	

II.5.3.3.الفلافونويدات:

II.1.5.3.3. تعريف الفلافونويدات (flavonoïde):

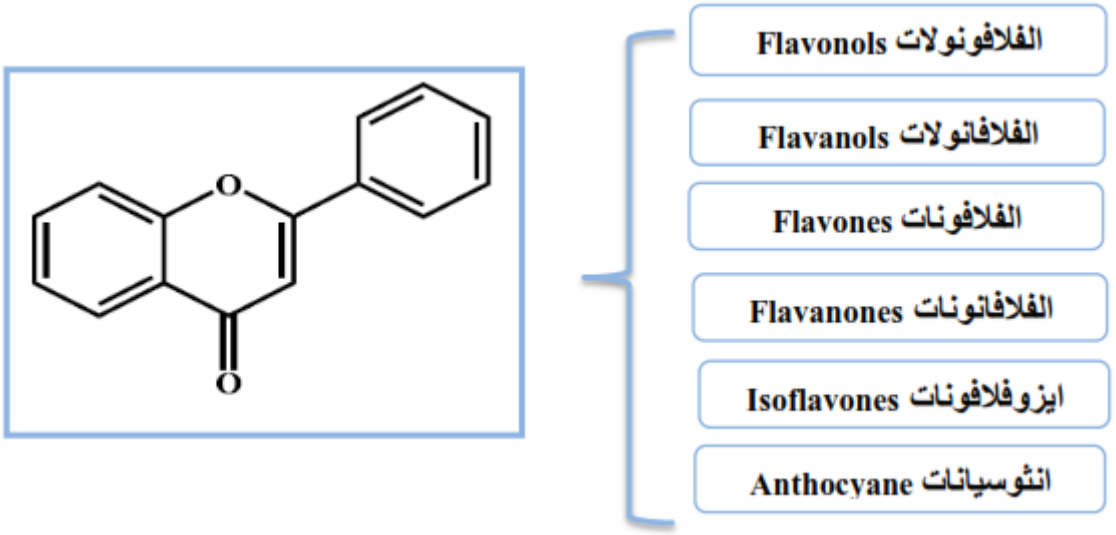
عرف مصطلح ال flavonoïde منذ 1952 من طرف العالمان (HINREINER GEISSMAN), وهو في اللغة اللاتينية مشتق من الكلمة اليونانية Flavus والتي تعني اصفر والفلافونويدات تمثل القسم البالغ أهمية في عمليات الايض الثانوي وهي عبارة عن عائلة واسعة من المركبات الفينولية التي ينتجها النبات، تمتلك جميع الفلافونويدات بنية كيميائية مشتركة يتكون هيكلها الكربوني من 15 ذرة كربون في هيكلها الأساسي موزعة على حلقتين عطريتين سداسيتين (حلقة A و B) تفصلهما حلقة غير متجانسة من نوع البيران تدعى بالحلقة C ونظام الترقيم يبدا من الحلقة C [29]-[30] تنتشر الفلافونويدات في الأجزاء النباتية المختلفة، خاصة الأوراق والبراعم والازهار، توجد في معظم الأصناف النباتية ومنعدمة تقريبا عند الطحالب. [31]-[32]-[33] والشكل (II-4) يوضح الهيكل الأساسي للفلافونويدات.



الشكل (II-4): توضح الهيكل الأساسي للفلافنويدات

II.2.5.3.3. تصنيف الفلافونويدات:

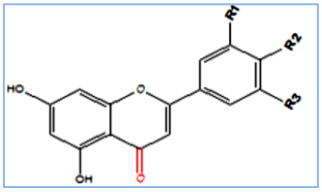
هناك عدة فئات للفلافونويدات تصنف حسب درجة تأكسد نواة البيرونC (cyclepyrone) وحسب موضع ارتباط الحلقة B بالحلقة C والشكل (II-5) يوضح تصنيف الفلافونويدات.



الشكل (II-5): تصنيف الفلافونويدات

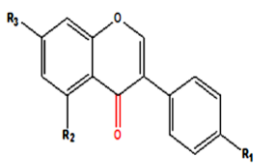
- **الفلافونات Flavones:** تحتوي الحلقة الغير متجانسة Pyrane على مجموعة كربونيل ورابطة غير مشبعة للكربون $C_2 - C_3$ وارتباط الحلقة B مع الحلقة C انطلاقا من الكربون 2 [34] والجدول (II-7) يوضح بعض أنواع الفلافونات.

جدول (II-7): يوضح بعض أنواع الفلافونات

الاسم	R_3	R_2	R_1	الهيكل الاساسي
Apigénine	**H**	**OH**	**H**	
Lutéoline	**OH**	**OH**	**OH**	
Diosmétine	**H**	**OH**	**OCH_3**	

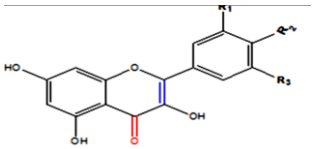
- **ايزوفلافونات Isoflavones:** الاختلاف بينها وبين الفلافونات هو ارتباط الحلقة B مع الحلقة C انطلاقا من الكربون 3 [35] كما يوضحه الجدول (II-8) التالي:

جدول (II-8): يوضح بعض أنواع ايزوفلافونات

الهيكلة الأساسية	R_1	R_2	الاسم
	H	OH	Daidzein
	OH	OH	Genistein
	OCH_3	OH	Glycitein

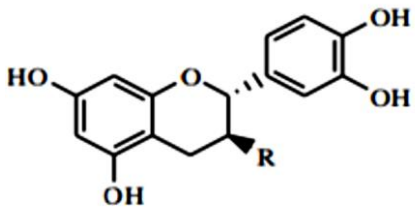
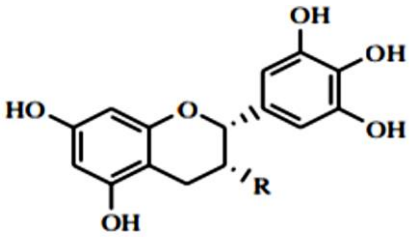
- **الفلافونولاتFlavonols:** هيكلها الأساسي مثل الفلافونات بالإضافة الى مجموعة هيدروكسيل في الموضع 3 [34]، وهو كما يوضحه الجدول(II-9) التالي:

جدول (II-9): يوضح بعض أنواع الفلافونولات

الهيكل الاساسي	R_1	R_2	الاسم
	H	OH	Daidzein
	OH	OH	Génistein

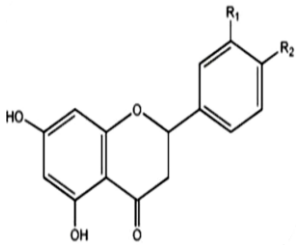
- **الفلافانولات Flavanols:** ارتباط الحلقة B يكون في الموضع 2 بالإضافة الى مجموعة هيدروكسيل في الموضع 3 وتكون الرابطة $C_2 - C_3$ مشبعة [36] كما في الجدول (II-10) التالي:

جدول (II–10): يوضح بعض أنواع الفلافانولات

	
R = OH Catéchine	**R = OH épigallocatéchine**

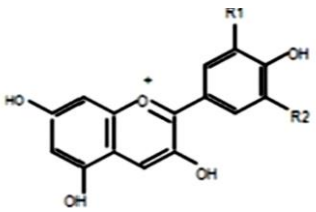
- **الفلافانونات Flavanones:** تتميز الفلافانونات بعدم وجود الرابطة المزدوجة بين C_2 وC_3، المصدر الرئيسي للفلافانونات هي الفواكه الحمضية واهمها هي l'ériodictyol في الليمون و l'hespéritine في البرتقال[37] كما في الجدول (II-11) التالي:

جدول (II–11): يوضح أنواع الفلافانونات

الهيكل الاساسي	R_1	R_2	الاسم
	**H**	**OH**	**Naringénine**
	OH	**OH**	**Eriodictyol**
	H	**OCH_3**	**Hésperitine**

- **انثوسينات Anthocyanes:** في هذه المجموعة تكون الحلقة الغير متجانسة كاتيونية في الموضع 1 وهي اصباغ وتوجد في شكل جليكوسيدات مستقرة وقابلة للذوبان في الماء ،وتكون حمراء في الوسط الحمضي، وتتحول الى اللون الأزرق البنفسجي في وسط معتدل او قاعدي ضعيف [13] والجدول(II-12) يوضح أنواع انثوسينات.

جدول (II-12): يوضح أنواع انثوسينات

الاسم	R_2	R_1	الهيكل الأساسي
Pélargonidine	OH	H	
Cyanidine	OH	OH	
Péonidine	OH	OCH_3	

II.3.5.3.3. تواجد الفلافونويدات:

تتوزع الفلافونويدات في جميع أجزاء النباتات الراقية: جذور، سيقان، ازهار، حبوب غبار الطلع والفواكه، فهي واسعة الانتشار عند كاسيات البذور، قليلة عند عاريات البذور، وتوجد عند عائلات معينة مثل: العائلة الروتاسية، البقولية، المركبة والشفوية، لكنها لا تصنع عند الكائنات الدقيقة والفطريات والاشنات [38] وتتواجد على مستوى الخلية النباتية في صورة ايتروزيدات ذوابة في الماء متمركزة في حويصلة الخلية، اما الفلافونويدات الذوابة في المذيبات الغير قطبية (كالفلافونويدات عديدة الميتوكسيل) فتتواجد في سيتوبلازما الخلية، وتتموضع الفلافنويدات حالة وجودها في صورة اجليكونات (aglycons) على الانسجة السطحية للأوراق حيث تكون ملازمة لمواد مفرزة، وهي الأخرى ليبوفيلية وهو حال نباتات المناطق الجافة والشبه جافة، وعموما توجد اغلب الفلافونويدات في النباتات بشكل محمي (اتروزيدات) بينما توجد الاجليكونات في الانسجة النباتية الميتة وكذلك في خشب الأشجار، وتحتوي معظم الأغذية ذات الأصل النباتي (بصل، تفاح، توابل، ليمون ...) وبالأخص المشروبات(شاي، عصير الفواكه ...) على كميات معتبرة من الفلافنويدات .[13]

II.4.5.3.3. الخواص الفيزيائية والكيميائية للفلافونويدات:

تتميز الفلافونويدات بالخصائص التالية:

- ✓ عبارة على بلورات صلبة ذات ألوان متغيرة بين ابيض عاجي الى اصفر.
- ✓ تذوب في الماء خاصة الساخن والكحولات والمذيبات المعدنية القطبية ولا تذوب في غير القطبية وتذوب في المحاليل القلوية (الامونياك، البوتاس) لتعطي لون اصفر يختفي بعد إضافة حمض. [39]
- ✓ تحتوي على طيف امتصاص فوق بنفسجي مع خصائص متغيرة بتغير كل نوع فلافونويدي.[40]
- ✓ قابلة للذوبان في الماء والكحولات وذلك راجع الى وجود شق سكري بها. [39]

II.5.5.3.3. أهمية الفلافونويدات:

- **في عالم النبات:**

النبات هو كائن حي عديم الحركة يملك نظام مقاومة يسمح له بمكافحة اثار البيئة من اجل المحافظة على شكله وانتزاع حق العيش، قلب هذا النظام هو احدى اهم نواتج الايض الثانوي وهي " المركبات الفلافنويدية " حيث لوحظ انها تلعب دور في وقايته من الامراض التي تسببها الفطريات والبكتريا [41]، الحماية من الاشعة فوق البنفسجية (UV) وضد الاكسدة، كما يمكنها التحكم في نشاط الهرمونات المسئولة عن النمو مثل الاوكسينات، أيضا أهميتها في تلوين الازهار والفواكه، ففي الازهار تكون المسؤلة عن إعطاء اللون المميز الذي يكون بمثابة العامل المساعد على جلب مختلف ملقحات النبات [42]، كما انها تحمي النبات من اكلات الأعشاب من خلال طعمها المر.

- **في عالم الانسان:**

في الوقت الحاضر تم دراسة خصائص العلاجية للفلافونويدات، حيث تم التعرف على العديد من الأنشطة البيولوجية والدوائية لها وتتمثل في:

✓ مضادات الاكسدة [42] حيث اثبتت الدراسات تواجد مستبدلات كمجموعات الهيدروكسيل على الحلقة B لها تأثير كبير في زيادة هذه الخاصية بينما تواجد هذه المجموعات على الحلقتين A و C لها تأثير ضعيف، كما اثبتت الدراسات ان هذه الخاصية تزداد ببلمرة الفلافنويدات (بوليمر الكاتشين) مضاد للأكسدة قوي لأنه يملك عدد كبير من المجموعات الهيدروكسيلية، بينما وجود المستبدلات السكرية، له تأثير سلبي في هذه الخاصية.[41]

✓ كما انها تقوي وتحسن أداء عضلة القلب وتقلل من مخاطر امراض القلب. [43]

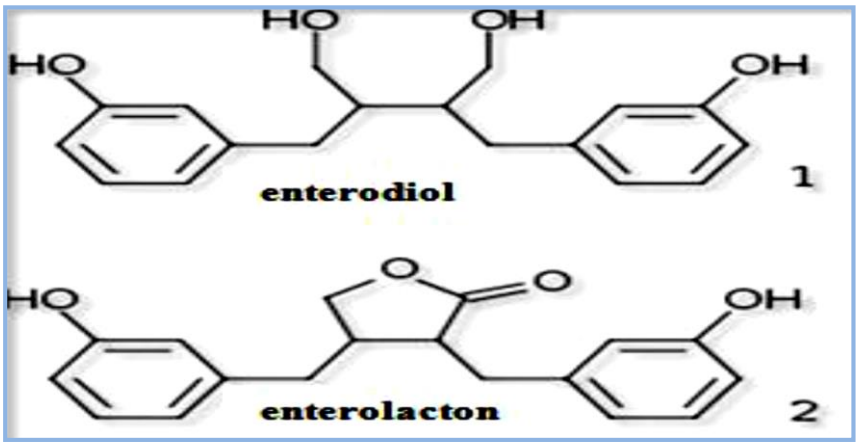
✓ البعض منها له تأثير مضاد للالتهاب. [43]

✓ تستعمل أيضا كمسكنات ومدرات للبول ومخفضات لنسبة الكوليسترول. [43]

✓ بالإضافة الى ذلك كشفت الدارسات على انها مضادة لارتفاع ضغط الدم، للحساسية، مضادة للتسمم الكبدي، وذات فعالية ضد الملاريا. [43]

II.6.3.3. الليغنان Lignane $(C_6 - C_3)_2$:

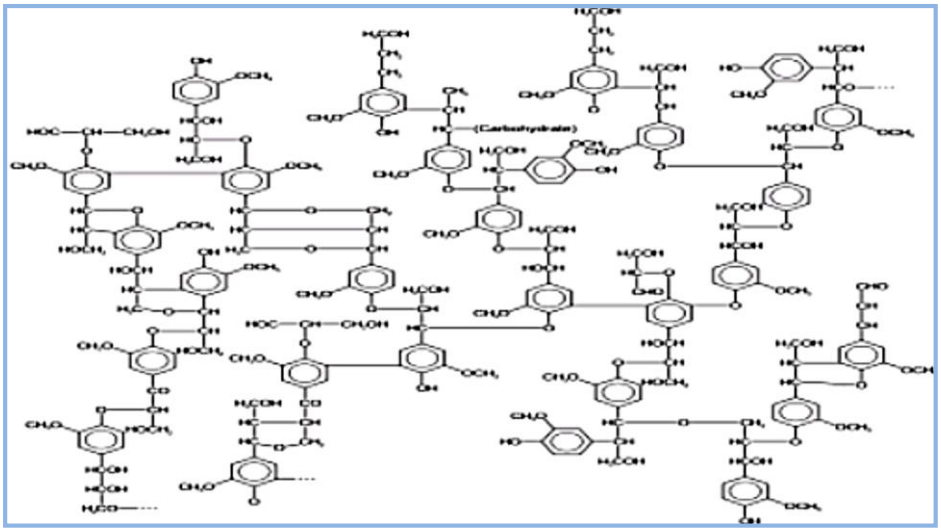
وهي مركبات تتكون من ثنائي وحدات فينيل بروبان $C_6 - C_3$ وتنتج عن طريق تفاعل ديمرة Dimérisation للفينولات المستبدلة والمشتقة من حمض السينامیك[13]، كما يوضحه الشكل (II-6) التالي:



الشكل (II-6): امثلة عن الليغنان

II.7.3.3. الليغنين $(C_6 - C_3)n$ Lignines:

يعتبر اللغنين اهم ثاني مركب عضوي بعد السيليلوز وحيث انه يساعد على صلابة النباتات وتحملها الظروف الجوية على الأرض وقد وضع Freudenberg , Nrish سنه 1968 تصور لمركب اللجنين[13] كما في الشكل (II-7) التالي :



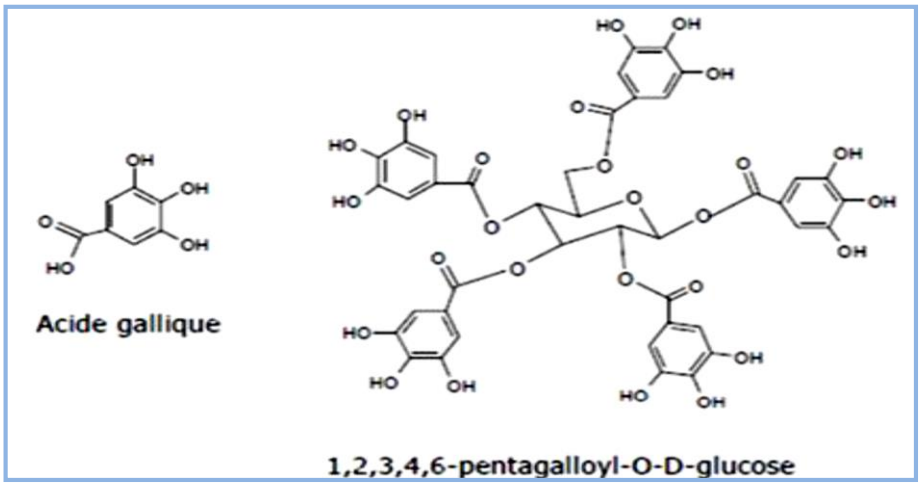
الشكل (II–7): بنية اللغنين

II.8.3.3. التانينات Tannins:

التانينات او ما تسمى بالعفص هي محتويات فجوية ذات خواص فينولية، تكون ذائبة او مترسبة في خلايا النسيج الضام او الحشوي للعديد من الأنواع النباتية، ومن مميزاتها ترسيب البروتين ودباغة الجلود، تنقسم الى نوعين تانينات قابلة للتحلل وتانينات مكثفة غير قابلة للتحلل. [44]

- **تانين قابل للتحلل Tannins hydrolysables:**

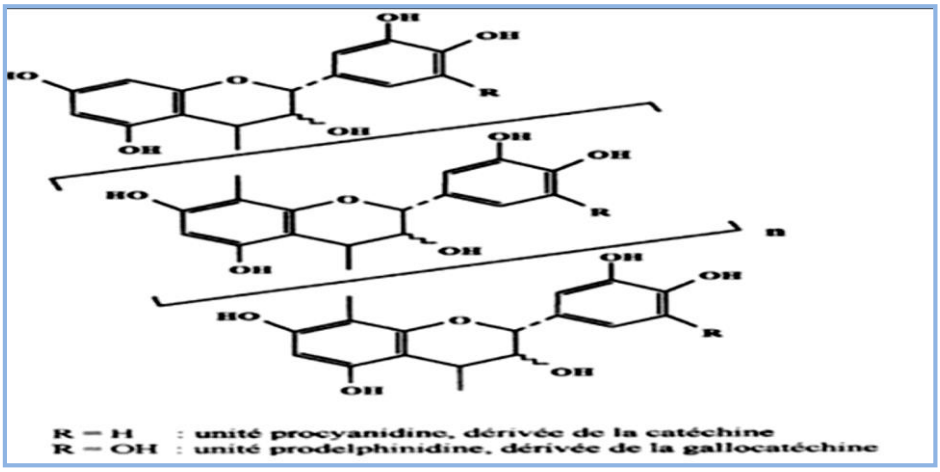
وهي عبارة عن جزيئات معقدة لاسترات السكر(عديد الهيدروكسي) وعدد متغير من جزيئات حمض الفينول، تحللها ينتج شقا سكريا في اغلب الأحيان يكون الغلوكوز وشقا فينوليا متشكلا أساسا من حمض الغاليك او من حمض الايلاجيك .[45] كما هو موضح في الشكل (II-8) التالي:



الشكل (II-8): بنية تأنين قابل للتحلل

- **تانينات مكثفة Tannins condensés:**

وهي مركبات فلافونويدية مكثفة في شكل بوليمر Polymère، وهي تتكون من وحدات فلافانول (Chatéchine) وترتبط هذه الوحدات في الكربون C_4 للوحدة العليا وC_8 للوحدة التي تليها[46]، كما في الشكل(II-9) التالي:



الشكل (II-9): بنية تأنين مكثف

II.4.3. الخواص الفيزيائية والكيميائية للمركبات الفينولية:

تتميز المركبات الفينولية بـ: [47]

✓ الفينولات تنحل أساسا في المذيبات العضوية القطبية، وتذوب كذلك في محاليل هيدروكسيد الصوديوم وكربونات الصوديوم.

✓ الاحماض الفينولية تذوب وتستخلص بمذيبات عضوية قطبية في وسط حمضي مخفف، كذلك كل الصيغ المستبدلة (hétérosidiques) للمركبات الفينولية تذوب في الماء.

✓ كل الفينولات قابلة للتأكسد بسهولة خاصة في الأوساط القلوية، حيث ان احماض السينامك تعطي تراكيب تظهر تحت تأثير الاشعة فوق البنفسجية.

✓ عندما يتأكسد حمض السينامك في الوضع Ortho للسلسلة الجانبية له وتكوين حلقة اللاكتون مع نزع جزيء من الماء سوف يؤدي ذلك لتكوين الكومارين الذي يعتبر فسيولوجيا انشط من الفينولات فهو المسؤول عن تثبيط نمو الكائنات الدقيقة التي قد تهاجم النبات.

II.5.3. أهمية الفينولات:

✓ تلعب دور في وقاية النباتات من الامراض التي تسببها البكتيريا والفطريات، فهي مبيدات للحشرات او مضادات حيوية. [48]

✓ تملك المركبات الفينولية خصائص مضادة للأكسدة تعد كمخالب (مفخخة) لتثبط عملية انتشار الجذور الحرة الناجمة عن التلوث. [48]

✓ تملك الفينولات خصائص علاجية متنوعة، اذ تؤدي دورا كبيرا في ميدان الطب والصيدلة لما لها من تاثير على الكائنات الحية عامة وعلى الانسان خاصة، فهي تحمي الاوعية الدموية ومضادة للالتهابات. [48]

✓ تعمل على التقليل من نفاذية وهشاشة الشعيرات الدموية، اذ انها ضرورية للبنية الطبيعية والوظيفية للشعيرات الدموية، وكذلك فان لها دور مضاد للالتهابات. [48]

II.4. الزيوت الأساسية:

II.4.1. نبذة تاريخية على الزيوت الأساسية:

تعتبر الزيوت الأساسية من اهم منتجات الايض الثانوية تم التعرف عليها منذ القدم اذ فصلت لأول مرة من قبل الفراعنة في صورة مستخلصات مائية وبذلك كانت تستخدم من طرفهم كمواد حافظة للذبائح وكانت المفتاح لحفظ المومياوات المصرية حيث انها أي الزيوت العطرية تستطيع الحفاظ على مكونات الجسم بصورة مدهشة تصل الى 5000 سنة، وانبثقت من " مصر " فكرة تطوير وحدات التقطير المائية الخاصة بها، ومنذ بداية العصور الوسطى تطورت أجهزة استخلاص الزيوت الأساسية بواسطة البخار وأصبحت الدول الإسلامية هي المسيطرة تماما على تجارة وتوزيع الأعشاب العطرية.

لم يولي هذا النوع من المركبات اهتمام الغرب الا في بداية القرن السابع عشر اذ ركز الكثير من المتخصصين في الكيمياء والصناعة والطب على فصل مكونات الزيوت الأساسية، ولقد استخدمت الروائح العطرية في بداية 1928 من قبل " رينيه موريس جاتيفون " وهو صيدلي فرنسي احترقت يده بصورة غير معتمدة في تجربة ومن شدة ذعره نقع يده في زيت الخزامى وبعد ساعات قليلة وبمداولة الاستخدام التأم الحرق بدون ندوب، وبذلك اعتبر المحترف الأول لاكتشاف نظرية الشفاء بالزيوت النباتية العطرية.

استمر الاهتمام بالزيوت العطرية الى وقتنا الحالي اذ تسعى معظم الدول الصناعية الكبرى للحصول على التربينات المفصولة من النباتات العطرية نظرا لعدم خطورتها على الجسم. [49]

II.4.2. تعريف الزيوت الأساسية:

الزيوت الأساسية احدى منتجات الايض العضوي الغذائي، وهي اهم المنتجات الثانوية وذلك بسبب الافرازات الأولية التي تفرزها او تنتجها طبيعيا بعض النباتات الخاصة، والمعروفة باسم النباتات العطرية (Aromatique plantes) حيث تفرز هذه الزيوت في غدد داخلية وفي تركيبات تشبه الشعيرات، تتكون الزيوت الأساسية من 20 الى 100 مركب كيميائي مختلف

،حيث تم تقسيمها الى ثلاث مجموعات رئيسية مختلفة مجموعات تربينية، مجموعة فنيل بروبانويد، مجموعة الليبيدات الناتجة عن هدم الاحماض الدهنية والتربينات، من خواصها التبخر والتطاير عند تعرضها للهواء، لها طعم مميز ورائحة عطرية قوية وهي تتميز بسهولة فصلها بواسطة طرق التقطير والاستخلاص المختلفة ،حيث يتم الحصول عليها في شكل سوائل تسمى الزيوت الطيارة او الزيوت العطرية . [49]-[50]

II.3.4.التواجد والتوزيع:

غالبا ما تكون الزيوت الأساسية ذات مصدر نباتي، تتواجد في أنواع عديدة من النباتات الراقية لذلك فان هناك ما يقارب 60 عائلة نباتية تضم تحتها نحو 3000 نوع نباتي يحتوي على الزيوت الأساسية ومن اهم العائلات المنتجة لها العائلة المركبة (Compositae)، العائلة الشفوية (Lamiaceae)، العائلة الصنوبرية (Pinaceae)، العائلة القرفية (Lauraceae)

تخزن هذه الزيوت في مختلف الأجزاء النباتية:

- ✓ الأوراق العطرية كما في الحبق Basilic.
- ✓ الازهار كما في الورد La rose.
- ✓ الفواكه كما في الليمون Citron.
- ✓ الحبوب كما في الكزبرة. Coriandre
- ✓ القشرة كما في القرفة La cannelle.
- ✓ الجذور عند بعض النباتات.
- ✓ وتتركز في غدد تسمى خلايا الزيوت الأساسية. [49]

في بعض الأحيان قد تصنع الزيوت الأساسية في اكثر من موضع واحد من النبات فنجد مثلا انه يتم تصنيع نوعين من الزيوت الأساسية في شجرة القرفة (الورقة واللحاء)، وثلاث أنواع مختلفة في شجرة البرتقال (الازهار، الأوراق، القشور).[50]

II.4.4. الخصائص الفيزيائية للزيوت الأساسية:

تم الاتفاق على انه بالرغم من اختلاف التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية فإنها تشترك في عدة خصائص منها:

- ✓ عادة ما تكون سائلة في درجة الحرارة العادية (الغرفة).[44]
- ✓ جد ضعيفة الذوبان في الماء كما تعطيه رائحة مميزة تم حصر ذوبانيتها [0.3 – 0.5 %] .
- ✓ الزيوت الأساسية عبارة عن جزيئات عطرية وطيارة وذلك راجع لكتلتها المولية جد المنخفضة.
- ✓ عادة ما تكون شفافة او تميل الى الأصفر الشاحب.
- ✓ قابلة للذوبان في معظم المذيبات العضوية (الكحول، الكلوروفورم، ايثير) والزيوت الثابتة.
- ✓ حساسة للأكسدة وبالتالي تخزينها محدود.
- ✓ لديها معامل انكسار عالي واغلبها تجعل الضوء مستقطب.
- ✓ جد سريعة الاشتعال اما درجة غليانها فأكبر من 100°C. [51]

II.5.4. استعمالاتها:

للزيوت الأساسية استعمالات عديدة ومتنوعة منها:

- ✓ استعملت في حالتها المخففة في صناعة العطور.
- ✓ استعملت كمضادات حيوية كما تمت اضافتها الى للمنتجات الدوائية لإخفاء الطعم السيء للأدوية كما أظهرت الدراسات الحديثة ان الزيوت الأساسية مقاومة للعديد من السلالات البكتيرية.
- ✓ استخدمت لعلاج حب الشباب والحروق، والآم المفاصل والعضلات، ونزلات البرد، التهاب الأمعاء، والقصبات الهوائية.
- ✓ تستعمل الزيوت الأساسية كنكهات غذائية كما يمكن ان تستخدم في نفس الوقت كعوامل حفظ الأغذية وذلك بسبب فعاليتها ضد البكتيريا وكثيرا ما تعتبر كمواد صحية. [50]

المراجع باللغة العربية:

[1] عثماني منال، واري بسمة، (2019). دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات الخام لثمار وبذور القناوية Abelmoschus esculentus L، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[2] زيدان محمد 2018. دراسة الفعالية المضادة للأكسدة والبكتيريا لمستخلصات الرمان Punica L granatum. مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتوراه في العلوم. تخصص علوم الكيمياء. جامعة قاصدي مرباح – ورقلة.

[3] بلقسام عبد الوهاب، (2009). تأثير عوامل المناخ على أحد الأيوض الثانوية في نبات طبي رسالة قدمت لنيل شهادة الماجستير، تخصص فيزيولوجيا نبات البيئية في المناطق الشبه الجافة، معهد علوم الطبيعة والحياة، جامعة العربي بن مهيدي، ام البواقي.

[5] حوة ابراهيم 2013. دراسة الفاعلية لبيولوجية لبعض نبات العائلة الشفوية الفعالية ضد الاكسدة مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.

[6] هارون منية، حنكة مروة، (2020). دراسة النشاطية المضادة للبكتيريا لمستخلصات ميثانولية لنباتي عنب الذئب Solanum nigrum L والارطى Calligonum comosum L'Her في ولاية الوادي، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في البيولوجيا، تخصص علم السموم، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[9] كروش عبد الرزاق، حشيفة علي، (2017). مساهمة في دراسة بعض الخصائص (الفيزيولوجية والأيكوفيزيولوجية) لنبات الأرطى Calligonum comosum L'Her النامي في منطقة وادي سوف، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في البيولوجيا، تخصص البيولوجيا وتثمين النبات، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[12] شبوعات الياقوت، (2003). دراسة القلويدات في شجرة السدر(Zizyphus Mauritiana) ، مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية تطبيقية، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.

[13] تامة نور الدين، 2018. الدراسة الفيتو كيميائية للمنتجات الفعالة (القلويدات، الفينولات والفلافونويدات، التربينات الثلاثية) والنشاط المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات لنبات الباقل والحمير التي تنمو في جنوب شرق الجزائر، مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتوراه علوم، تخصص كيمياء نباتية، جامعة العربي بن مهيدي أم البواقي.

[14] بن صغير صالحة، بهلول هالة، ماضوي صابرينة، (2020). المساهمة في الدراسة النظرية الفيتوكيميائية لثلاثة نباتات طبية Hyoscyamus muticus L Datura stramonium L Pituranthos scoparius، مذكرة مقدمة لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخصص كيمياء المنتجات الطبيعية، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.

[15] كنوش سميرة، (2017). إستخلاص، فصل وتحديد بنيات منتوج الأيض الثانوي عند نبات جنس Centaurea، C Involucrata ، مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في العلوم، تخصص كيمياء عضوية، جامعة منتوري، قسنطينة.

[17] ربيعي عبد الكريم 2010. المساهمة في دراسة الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصات بروبوليس، جنوب الجزائر بالطرق الكميائية والكهرو كميائية، مذكرة ماجيستير في الكمياء التحليلية، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.

[18] زمالي جعفر، (2007). دراسة فيتوكيميائية وبيولوجية لنبتة الصحراوية Solanum Nigrum ، مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، تخصص تحضير عضوي وفيتوكيمياء، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.

[21] عزري خضرة، (2013). دراسة الليبيدات والفينولات في بعض أنواع التمر المحلي، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، تخصص الكيمياء العضوية وفيزيوكيميائية الجزيئات، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.

[27] زبيدي فاطمة الزهراء، (2018). كشف واستخلاص الفينولات والتربينات الثلاثية والستيرويدات لطلع النخيل ودراسة فعاليته البيولوجية، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[28] موساوي امال، عماري هيفاء، (2022). دراسة المنتجات الفعالة والخواص البيولوجية لنبتة Bunuim mauritanicumالذي ينمو في الهضاب العليا الجزائرية، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[29] بن ســلامة عبد الرحيم، (2012). النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق Hertia cheirifolia L، مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء، تخصص البيوكيمياء والفيزيولوجيا التجريبية، جامعة فرحات عباس، سطيف.

[32] لفحل مصطفى، (2008). فصل وتحديد الفلافونيدات لنبات(Tamaricaceae) Tamarix gallica ، مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية، جامعة منتوري، قسنطينة.

[38] بكار زينب، بودابة حنان، (2008). دراسة مواد الأيض الثانوي المستخلصة من نبتة Trigonella foenum greacum، مذكرة التخرج لنيل شهادة الدراسات العليا DES في البيوفيزيولوجيا النباتية، جامعة محمد الصديق بن يحيى، جيجل.

[41] الأبيض ليلى، ميموني سمية، (2019). فصل نواتج الأيض الثانوي الفلافوني لنبات moltkia ciliataوتقييم الفعالية المضادة للأكسدة، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[42] بسمة شمسة، (2015). دراسة مقارنة للمردودية والنشاطية المضادة للأكسدة في المستخلص الكحولي والمائي عند نبات Zygophyllum album L، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في البيولوجيا، تخصص البيولوجيا وتثمين النبات، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[43] سبوعي عفاف، دركي مروة، (2019). دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات الفينولية والقلويدية لعشبة العلندة، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[47] مود صليحة، (2016). إستخلاص المركبات الفينولية من قشور البرتقال ودراسة فعاليتها البيولوجية، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية تحليلية، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[48] باي سمية، ذويب اسراء، (2021). دراسة مقارنة للتركيب الكيميائي والخواص البيولوجية لنباتات الزعتر البري التي تنمو في السهول العليا الجزائرية، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[49] ميمون نوال، مرابط بديعة، دراحي عباس، (2005). دراسة النشاط المضاد للبكتيريا للزيت الأساسي لنبتة طبية منتمية للجنس Thymus ، مذكرة التخرج لنيل شهادة الدراسات العليا DES في البيولوجيا، جامعة محمد الصديق بن يحيى، جيجل.

[50] بوعروج كنزة، مراكشي مريم، (2015). مساهمة في الكشف عن نواتج الأيض الثانوي في نبات centaurea calcitrapa Lمن العائلة المركبةasteraceae) ودراسة تأثير مردود الفينولات المتعددة ببعض طرق الإستخلاص، مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماستر في البيولوجيا، تخصص بيوتكنولوجيا النبات، جامعة العربي بن مهيدي، ام البواقي.

المراجع باللغة الأجنبية:

[4] Douro, A. (2010). Chestnut (Castanea sativa Mill.) Fruit Composition & Quality (Doctoral dissertation, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro).

[7] Riche, D., & Binder, P. (2011). Les armes chimiques et biologiques. Archipel

[8] Fettah, A. (2019). Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante-antibactérienne) des extraits de la plante Teucrium polium L sous espèce Thymoïdes de la région Beni Souik, Biskra. Thèse de Doctorat en chimie. Université Mohamed Khider, Biskra.

[10]Boukri, N. E. H. (2014). Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Thème Master Academique. Université Kasdi Merbah Ouargla, 99.

[11]Hoggui, A. (2008). Etude de l'activité antibactérienne de quelques plantes sahariennes. Mémoire de magister en chimie. Université Kasdi Merbah, Ouargla.

[16] Harborne, J. B. (1964). Biochemistry of phenolic compounds. London: Academic Press.

[19]BENHAMMOU, N. (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse pour l'obtention d'un Doctorat en Biologie. Université Aboubaker Belkaid, Tlemcen.

[20]Sarni-Manchado, P., & Cheynier, V. (Eds.). (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Techniques & documentation.

[22]Laraoui, H. (2007). Etude phytochimique de l'extrait chloroformique de bupleurum atlanticum . Mémoire Pour l'obtention de du diplôme de Magister en chimie organique .Université El Hadj Lakhdar. Batna.

[23]Lee, K. W., Hur, H. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2005). Antiproliferative effects of dietary phenolic substances and hydrogen peroxide. Journal of agricultural and food chemistry, 53(6), 1990-1995.

[24] Andreasen, M. F., Christensen, L. P., Meyer, A. S., & Hansen, Å. (2000). Content of phenolic acids and ferulic acid dehydrodimers in 17 Rye (Secale c ereale L.) Varieties. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(7), 2837-2842.

[25] Ford, R. A., Hawkins, D. R., Mayo, B. C., & Api, A. M. (2001). The in vivo dermal absorption and metabolism of [4-^{14}C] coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. Food and Chemical Toxicology, 39(2), 153-162.

[26] Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème éd. Lavoisier, Paris, 1120.

[30]Marfak, A. (2003). Radiolyse gamma des flavonoïdes, Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de Doctorat en Biophysique. Université de Limoges, Limoges.

[31] Durst, T. (1979). Comprehensive Organic Chemistry. by DHR Barton and WD Ollis, Pergamon, Oxford, 3, 197.

[33]Chaudhry, P. S., Cabrera, J., Juliani, H. R., & Varma, S. D. (1983). Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin. Biochemical Pharmacology, 32(13), 1995-1998.

[34]Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomas-Barberan, F. A., Datta, N., Singanusong, R., & Chen, S. S. (2004). Flavonoids in food and their health benefits. Plant foods for human nutrition, 59, 113-122.

[35]McNaught, A. D., & Wilkinson, A. (1997). The Orange Book, IUPAC Compendium of Chemical Terminology. London, Black well Scientific Publications.

[36]Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacology & therapeutics, 96(2-3), 67-202.

[37] Edenharder, R., & Grünhage, D. (2003). Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in Salmonella typhimurium TA102. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 540(1), 1-18..

[39] Herbert, R. B. (1989). The biosynthesis of secondary metabolites. Springer Science & Business Media.

[40]Clifford, A. J., Ebeler, S. E., Ebeler, J. D., Bills, N. D., Hinrichs, S. H., Teissedre, P. L., & Waterhouse, A. L. (1996). Delayed tumor onset in transgenic mice fed an amino acid–based diet supplemented with red wine solids. The American journal of clinical nutrition, 64(5), 748-756.based diet supplemented with red winesolids»,Am.clim.natri;vol 46.p:748.

[44]Jean, B. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Lavoisier.

[45]Mueller-Harvey, I. (2001). Analysis of hydrolysable tannins. Animal feed science and technology, 91(1-2), 3-20.

[46] Schofield, P., Mbugua, D. M., & Pell, A. N. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. Animal feed science and technology, 91(1-2), 21-40.

[51]RAYANE , B., AMIRA,S. Etude théorique sur l’activité antibactérienne et antioxydant des extraits (Huile essentielle et hydrolat) de Salvia officinalis. Mémoire de master en Biochimie .Université des frères Mentouri, Constantine.

الفصل الثالث

الفاعلية البيولوجية

III –الفاعلية المضادة للبكتيريا:

تمهيد:

إن الكائنات الحية الدقيقة مثل البكتيريا، الفطريات، والفيروسات الممرضة، تعتبر من أهم الأسباب المؤدية إلى الإصابة بالامراض، فهي في كل مكان حولنا، كما تعيش في الأغذية وداخل وخارج أجسامنا وفي أي نظام بيئي، حيث تعتبر الكائنات الدقيقة أكثر عددا من الكائنات الحية إذ ما قورنت بالكائنات الأخرى، وتمثل البكتيريا أبسط أنواع الكائنات الخلوية، والتي تضم مجموعة كبيرة من المجهريات الواسعة الانتشار في الكرة الأرضية. وأول من قام بوصف البكتيريا، العالم الألماني Antoni van Leewenhoek وذلك عقب تطويرها لجهاز مبسط من العدسات يشبه المجهر، وقد اعتقد العلماء في بداية الأمر أن البكتيريا ما هي إلا ناتج مواد غير حية إلى أن اثبت العالم الفرنسي لويس باستور Louis Pasteur في نهاية القرن الثامن عشر أن البكتيريا كائن حي لا يولد إلا من كائن حي أخر. ثم توالت بعد ذلك مجموعة من الأبحاث والأعمال العظيمة التي قام بها كل من لويس باستور والعالم الألماني روبورت كوخ اللذين يعزى إليهما الفضل في إنشاء علم دراسة البكتيريا في العصر الحديث. [1]

III.1.البكتيريا:

III.1.1.تعريفها:

هي عبارة عن كائنات حية دقيقة أحادية الخلية بدائية النواة، لا ترى إلا بالمجهر الإلكتروني ($X\ 10^6$) أو المجهر الضوئي ($X\ 10^3$) . تلعب البكتيريا دورا هاما في الدورة الحياتية على سطح الأرض، حيث تتواجد في كل مكان (ماء، هواء، تربة والفتحات الهوائية للإنسان والحيوان)، لها دور كبير في التحلل البكتيري الذي قد يكون مفيدا في عمليات التخمر، المناعة، تكوين الفيتامينات الهرمونات والإنزيمات.[2]

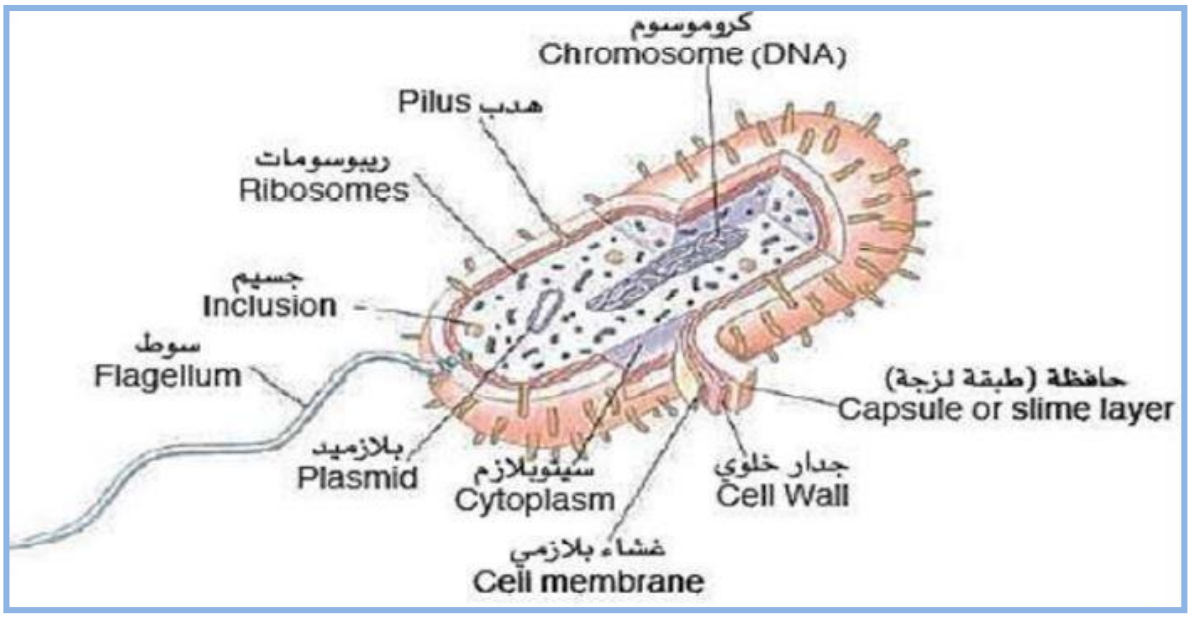
وتستطيع البكتيريا العيش لأعوام طويلة متحملة جميع الأحوال غير الملائمة من ارتفاع درجة الحرارة، أو انخفاضها، أو غير ذلك من الظروف البيئية القاسية، وعند تحسن الظروف البيئية المحيطة تتخلص من الغشاء السميك، وترجع إلى سابق عهدها نشاطا وحيوية.[3]

III.1.2.تسمية البكتيريا:

تأخذ البكتيريا أسماء ثنائية binominal بحيث يشير المقطع الأول من الاسم إلى الجنس genre والمقطع الثاني إلى نوع espèce وقد يحمل اسم الجنس شكل البكتيريا كما هو الحال في *streptocoque staphylocoque* أو اسم المكتشف مثل *Escheriche.coli*.[4]

III.1.3.بنية البكتيريا:

تتكون الخلية البكتيرية النموذجية من مكونات خلوية بعضها أساسي موجود في جميع أنواع البكتيريا والبعض الآخر يقتصر وجوده على أنواع معينة. تضم المكونات الأساسية كل من الجدار الخلوي والغشاء البلازمي والسيتوبلازم النواة البدائية، وما يحتويه من مادة وراثية وريبوسومات، أما المكونات غير أساسية فتشمل الأسواط والعلبة أو الكبسولة والأهداب الجراثيم الداخلية. [5]



الشكل (III-1): تركيب الخلية البكتيرية

III.1.3.1.التركيبة الأساسية للخلية البكتيرية:

تتكون الخلية البكتيرية من اربع أجزاء أساسية وهي:

- **الجدار الخلوي Pari Cellulaire:**

جدار خلوي سميك صلب يتركب من مادتين هما الكربوهيدات والبيبتيدات، وظيفته الحماية والدعامة وإعطاء البكتيريا الشكل المميز لها وهو الذي يحدد نوعية صبغة البكتيريا وكذلك يوجد به السم الداخلي للبكتيريا.[6]

- **الغشاء البلازمي Plasma membrane:**

غشاء رقيق له نفاذية اختيارية يحيط بسيتوبلازم الخلية ويقع تحت الجدار الخلوي ويبلغ سمكه 7.5 نانومتر. يتكون الغشاء البلازمي من الفوسفوليبيدات والبروتينات . [6]

- **السيتوبلازمCytoplasme :**

الستيوبلازم كتلة بروتينية هلامية تحتوي على غذاء مدخر وتدور فيها المواد الغذائية والفضلات لإخراجها، وكذلك توجد بها حبيبات من مادة الـ ARN تعرف بالريبوزومات وظيفتها تكوين البروتينات سواء كانت تركيبية أو وظيفية مثل الإنزيمات والهرمونات، وكذلك يوجد بها حبيبات مكونة من الـ ADN تحمل صفات (جينية) معينة وتعرف بالبلازميدات.[6]

•**نواة بدائية Nucleoide:**

نواة البكتيريا بسيطة تتكون من كروموزوم واحد ملتف حول نفسه يوجد في مركز الخلية وليست محاطة بغشاء نووي ولا توجد بها نويات أو سائل نووي، وظيفتها السيطرة على جميع عمليات الخلية وصفاتها بما تحتويه من جينات وكذلك بدء عملية التكاثر.[6]

✓ بالإضافة الى وجود عناصر أخرى غير أساسية لحياة البكتيريا ويختلف وجودها من بكتيريا الى أخرى مثل المحفظة (capsule) التي تحيط بالخلية من الخارج وتحميها من عملية البلعمة بالإضافة الى الاسواط التي تساعدها على عملية الحركة اذا كانت من البكتيريا المتحركة وكذلك وجود الزوائد الخلوية التي تسمى بالهدبيات (pili)التي تساعد على عملية التصاق الخلية في الوسط الذي تتواجد فيه .[6]

III.4.1. تصنيف البكتيريا:

صنف العلماء البكتيريا على اعتبار عدة معايير:

III.1.4.1. من حيث توزيع أسواطها:

فيمكن تقسيمها إلى:

- ✓ بكتيريا وحيدة السوط.
- ✓ بكتيريا ذات أسواط عديدة: متجمعة عند طرف واحد.
- ✓ بكتيريا ذات أسواط عديدة: موزعة على كل الخلية.[7]

III.2.4.1. من حيث الشكل:

•البكتيريا العصوية: (Bacilli)التي تأخذ خلاياها شكل العصويات الصغيرة تحت المجهر.

•البكتيريا الكروية(Cocci) : التي تأخذ خلاياها شكل الكريات الصغيرة.

•البكتيريا الحلزونية: (Spiral)التي تأخذ الشكل الحلزوني.

•البكتيريا الواوية (Vibrio): التي تأخذ شكل الواو أو الضمة العربية.[7]

III.4.1.3. من حيث الوسط التي تعيش فيه: فيمكن تقسيمها إلى ثلاثة أنواع:.

•بكتيريا هوائية: :(Aerobic)وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الهواء الجوي وهي تعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية .

•بكتيريا لا هوائية إجبارية (Anaerobic): وهي البكتيريا التي تعيش فقط، في غياب الهواء الجوي.

•بكتيريا لا هوائية اختيارية (Anaerobic Facultative): وهي البكتيريا التي يمكنها العيش والنمو، في ظل وجود الهواء الجوي أو عدمه.[7]

III.4.1.4. من حيث التغذية: فيمكن تقسيمها إلى نوعين:

•بكتيريا ذاتية التغذية: هي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو

•بكتيريا عضوية التغذية: هي البكتيريا التي تحصل على الكربون من تحليل المواد الذائبة كالسكر[7]

III.4.1.5. من حيث طريقة التلوين (Gram):

تصنف البكتيريا عن طريق إستخدام الفروق في بنية الجدار الخلوي وهذا بإستخدام التقنية المسماة صبغة الغرام (Gram Stan) نسبة إلى العالم البلجيكي J.GRAM المخترعة سنة 1884 وعن طريقها يمكن أن نقسم البكتيريا إلى:

•بكتيريا (gram positive): ويرمز لها بالرمز +GRAM عند تلوينها تمتص اللون وتظهر أرجوانية.

•بكتيريا (gram negative): ويرمز لها بالرمز-GRAM لا تمتص أو قليلة الامتصاص للون وتحرر صبغ وتظهر حمراء .

وتعود هذه الفروق إلى بنية الجدار الخلوي فالخلية سالبة الغرام تحتوي على غشاء خارجي مشكل من الفسفوليبيدات Phospholipides وهذا ما لا نجده في البكتيريا موجبة الغرام، نتيجة لهذا الفرق تعطي البكتيريا ألوانا مختلفة مع صبغة الغرام، عند تلوين البكتيريا (G^+) بكاشف خاص

ذو لون أرجواني تمتص اللون وتظهر أرجوانية، أما البكتيريا (G^-) عند تلوينها بنفس الكاشف فإنها لا تحافظ على اللون وتصبح ذات لون احمر .[8]-[9]

III.6.4.1. من حيث الأثر على الإنسان:

يمكن تقسيمها إلى ثلاثة أنواع:

- **بكتيريا نافعة (Beneficial Bacteria):**

وهي التي تقدم خدمات جليلة للإنسان والحيوان والبيئة، فهناك نوع من البكتيريا يعيش في أمعاء الإنسان، يساعده على هضم الطعام، ويفرز بعض المواد المفيدة للجسم، مثل الفيتامينات ويعمل على تدمير البكتيريا الضارة. وهناك نوع آخر من البكتيريا يعيش في التربة، ويلعب دوراً هاما في غذاء النبات، إذ يقوم بتثبيت النيتروجين الموجود في الهواء الجوي، ليكون بمثابة عنصر أولي، يستطيع من خلاله النبات أن يكون البروتين، كما تقوم بكتيريا التربة بتحليل أجسام الكائنات الحية بعد موتها، وكذا المواد العضوية المعقدة وتحويلها إلى صور بسيطة تستفيد منها التربة والنبات والحيوان ولا يقتصر الأمر على ذلك فحسب، بل إن هناك صناعات كاملة تقوم على استخدام بعض أنواع البكتيريا النافعة. فصناعة بعض منتجات الألبان، وبعض الأدوية ما هي إلا نتاج عمل البكتيريا النافعة.[10]

- **البكتيريا الانتهازية(Opportunistic Bacteria):**

هناك أنواع من البكتيريا تعيش في جسم الإنسان، من دون أن تسبب له أي أضرار صحية إلا أنها عند انخفاض مناعة جسم الإنسان لأي سبب من الأسباب تهاجم الجسم، متحولة إلى بكتيريا ضارة تسبب عديداً من الأمراض، وذلك على نحو ما هو شائع في الإصابة بالتهاب الحلق أو التهاب اللوزتين.[10]

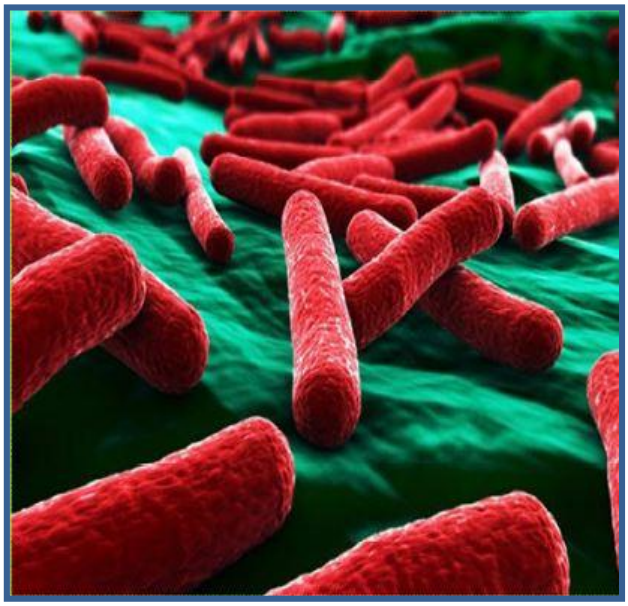
- **البكتيريا الضارة(Pathogenic Bacteria):**

توجد بكتيريا ضارة تهاجم الإنسان، فتسبب له أمراضاً ومشاكل صحية عديدة، وذلك على نحو ما يحدث في أمراض ؛ السل والكوليرا والتيفويد والسعال الديكي والزهري والسيلان . ومن بين البكتيريات الضارة والمسببة للأمراض: [10]

❖ **بكتيريا:** ***Escherichia coli*** هي بكتيريا ذات غرام سالب، تنتمي إلى:

جدول (III-1): يمثل التصنيف العلمي E.coli

التصنيف	العلمي
المملكة	**Bacteria**
التصنيف	**Proteobacteria**
القسم	**Gammaproteobacteria**
الرتبة	**Enterobacteriales**
العائلة	**Enterobacteriaceae**
النوع	***Escherichia***
الصنف	***Escherichia coli***



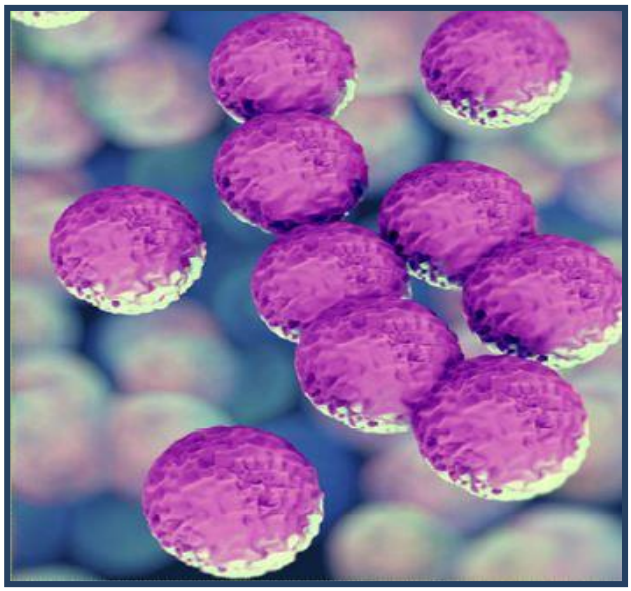
الشكل (III-2): صورة موضحة بالفحص المجهري لـE.coli

وهي بكتيريا معوية اختيارية الهواء، متحركة على شكل عصيات ذات أبعاد من 1 إلى 3 ميكرومتر، تعيش في جسم الإنسان والحيوان والنبات وفي التربة، تتكاثر بسرعة كبيرة للغاية عند درجة حرارة 37°C، تسبب هذه البكتيريا: أمراض الجهاز البولي، الإسهال الطفيلي، التهاب القلب والتهاب السحايا وتسمم الدم. [11]-[12]

❖ **بكتيريا *Staphylococcus aureus*** :هي بكتيريا ذات غرام موجب، تنتمي الى:

جدول (III-2): يمثل التصنيف العلمي لـSt a

التصنيف	العلمي
المملكة	**Bacteria**
التصنيف	**Firmicutes**
القسم	**Bacilli**
الرتبة	**Bacillales**
العائلة	**Staphylococcaceae**
النوع	***Staphylococcus***
الصنف	***Staphylococcus aureus***



الشكل (III-3): صورة موضحة بالفحص المجهري لـ St a

وهي بكتيريا لاهوائية اختيارية، تنتشر في مختلف الأوساط البيئية وجسم الانسان والحيوان (الجلد الأغشية المخاطية الشعر)، كروية الشكل ذات قطر حوالي1µm، عديمة الحركة تتجمع على شكل ثنائيات أو عناقيد، تسبب هذه البكتيريا: تسمم الغذاء، التهابات جلدية خطيرة، أمراض السحايا والتهاب الرئيتين، وتسمم الدم. [13]-[14]

III.2. المضادات الحيوية:

III.2.1. تعريف المضادات الحيوية:

استعملت كلمة المضادات الحيوية لأول مرة من طرف العالم "Vullemin"سنة 1889 وعرفها بأنها الظروف التي يقتل تحتها كائن حي من طرف كائن حي أخر ليحتفظ هذا الأخير بحياته ووجوده، وفي سنة 1945 عرفها Waksman بأنها ظاهرة ترجع إلى إفراز مواد كيماوية توثر سلبا عن الميكروبات. [15]

III.2.2. أنواع المضادات الحيوية:

يعتمد تصنيف المضادات الحيوية على حسب الوظيفة الأساسية في الجسم والتي تنقسم إلى قسمين: [16]

- **مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية:**

تمنع تكاثر الخلية البكتيرية وهو ما يساعد في القضاء عليها مثل سلفوناميد وكلورامفينكول

- **مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية:**

بالتأثير على جدار خليتها، أو تتسبب في انتفاخ خليتها وانفجارها، أو بمنع تكوين مادة البروتين داخل خليتها مثلPenicillin, Gentamicin, Ampicillin .:

III.2.3. مصدر المضادات الحيوية:

تلعب الكائنات المجهرية دورا مميزا في إنتاج المضادات الحيوية فأكثر من 85% من المضادات الحيوية التي تم التعرف عليها تكونها الميكروبات فحوالي 60% تنتج من الاكتينوميستات Actinomycetes (وهي جنس بكتيري له شكل خيطي مثل الفطريات) و10% من البكتيريا 10% الفطريات والباقي من الكائنات الأخرى.[17]

III.2.4. طرق تأثير المضادات الحيوية:

تعمل المضادات الحيوية على قتل الميكروب، أو كبح الميكروبات، وقد يكون مفعول المضاد على الغلاف الخارجي للميكروب (Paroi cellulaire) أو الغلاف الداخلي (Cellulaire Membrane)، أو يعمل على مستوى الخلية لإيقاف تصنيع البروتين (Synthese Proteins) [18]

III.2.4.1. العمل على جدار الخارجي للبكتيريا:

المضاد الحيوي يوقف تركيب الجدار بتثبيط transpeptidase هذا ما يمنع من تركيب peptidoglycane. وهذا يوقف نموها وعملها [19]

III.2.4.2. العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا:

المضاد الحيوي له خواص سطحية التي تمكنه من تخريب عمل نفاذية الغشاء الداخلي (زيادة غير طبيعية)، ويسمح بطرح المواد السائلة خارج البكتيريا، هذا ما يسمح بتدميرها. [19]

III.3.4.2. العمل على تثبيط نمو ADN:

يعمل المضاد الحيوي على المعقد، ADN-ADN، ويعمل على التثبيط الأيضي لنمو ADN البكتيريا مما يمنع الخلية من الانقسام وتكوين الإنزيمات الخاصة بذلك.[20]

III.4.4.2. مضادات تعمل على تخريب بنية الغشاء الستيوبلازمي:

بعض المضادات الحيوية تؤثر على هندسة Apidoprotine لهذا الغشاء وتحللها مما يؤدي إلى فقد الستيوبلازم الكروموزومي.[21]

III.5.2. المقاومة البكتيرية للمضاد الحيوي:

III.1.5.2. تعريف المقاومة:

هي قدرة الميكروبات (البكتيريا، الفطريات، الفيروسات والطفيليات) الممرضة على البقاء والتأقلم بشتى الطرق لملائمة البيئة المحيطة على الرغم من إعطاء أكثر من نوع من المضادات الحيوية.[11]

III.2.5.2. طرق التعرف على حساسية أو مقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي:

III.1.2.5.2. خواص الجذمة البكتيرية:

تعتبر الجذمة البكتيرية مقاومة للمضاد الحيوي على حسب تركيزه، أي كلما ارتفع التركيز قلت المقاومة لإعطاء أفق لكي تتم المعالجة .[21]

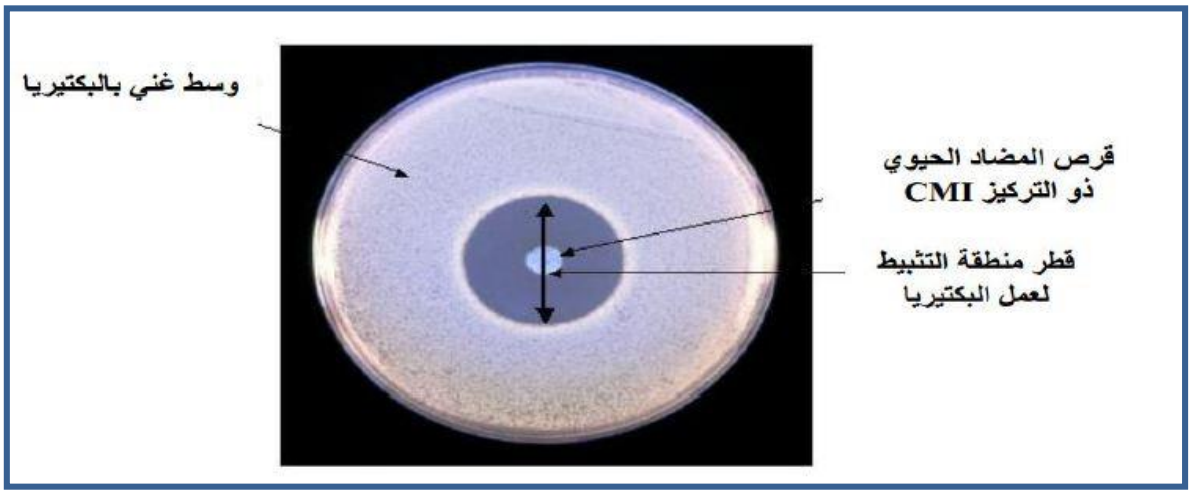
III.2.2.5.2. كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي:

ومن أهم الطرق لمعالجة البكتيريا طريقة الانتشار:

•طريقة الانتشار (Méthode de diffusion):

من أجل تحديد مدى حساسية السلالات البكتيرية للعوامل المضادة للبكتيريا وهي تقدير جرعة (تركيز) المضاد الحيوي القادر على إحداث هذا التأثير، نلجأ إلى طريقة Antibiogramme عن طريق الانتشار على وسط صلب، حيث تحضر الأقراص بورق واتمان التي تشبع بالتركيز المحدد من المضادات الحيوية أو (المواد المراد معرفة تأثيرها على البكتيريا) وتوضع في أحواض بترية على الوسط الصلب تكون مشبعة مسبقا بلقاح بكتيري بطريقة المسح، وتعتبر هذه الطريقة شائعة الاستعمال في مخابر المكروبيولوجيا وهذا راجع لسهولة تحقيقها وتعتبر كذلك طريقة غير مكلفة بالمقارنة مع الطرق الأخرى وبالمقابل تعطي نتائج جيدة حيث تمكننا من معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي ويمكن القول أن:[22]

- ✓ البكتيريا مقاومة (غير حساسة) للمضاد الحيوي إذا كان القطر أقل من 8 ملم.
- ✓ البكتيريا متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي إذا كان القطر ما بين 09 و14 ملم.
- ✓ البكتيريا حساسة للمضاد إذا كان القطر ما بين 15 و20 ملم.
- ✓ البكتيريا حساسة جدا للمضاد الحيوي إذا كان القطر أكبر من 20 ملم.[23]



الشكل (III-4): قطر منطقة التثبيط للبكتيريا

III.3.الجذور الحرة ومضادات الاكسدة:

III.3.1.مقدمة:

إن كل خلية من خلايا جسم الإنسان الذي يتكون من حوالي تريليون (10^{12}) خلية تعاني من حوالي 10.000 هجمة من الجذور الحرة في اليوم الواحد. وهذا الهجوم يتركز في الغالب على المادة الوراثية ومن إحدى نتائج هذا الهجوم زيادة معدل التطفر. ويتراوح معدل تكرار التطفر الخلوي لدى الأشخاص المتقدمين في السن بحوالي 9 أضعاف مقارنة بالأطفال، وهذه الطفرات تزيد من خطورة حدوث السرطان. بالإضافة إلى ذلك فإن الأغشية الخلوية والبروتينات والدهون تتعرض أيضاً للهجوم بواسطة الجذور الحرة وعلى مدى سبعين سنة اعتيادية من عمر الإنسان، فإن الجسم يولد ما يعادل حوالي سبعة عشر طنا (17.000 كيلوجرام) من الجذور الحرة . لذا فإن جسم الإنسان يحتاج إلى دفاعات فعالة مضادة للأكسدة في كل الأوقات.

إن إزالة الجذور الحرة بواسطة مضادات الأكسدة تبدو مهمة لصحة وحياة الإنسان ومع ذلك، فإننا لا يمكن أن نعيش بدون الجذور الحرة. فالجسم يستخدم الجذور الحرة لتحطيم الجراثيم، بالإضافة إلى استخدامها لإنتاج الطاقة، لذلك تقوم مضادات الأكسدة الغذائية بالمساعدة على إعادة التوازن. [24]

III.3.2.الجذور الحرة:

III.3.2.1.تعريف الجذور الحرة:

الجذور الحرة هي جزيئات شديدة التفاعل (مشتقة عادة من الأكسجين) تحمل على مدراها الخارجي إلكترونا غير مزدوج أو أكثر. والجزيئات في هذه الحالة ميالة إلى إكتساب الإلكترونات على أو إلى انتزاعها من أي مركب تواجهه. وفى هذه الحالة تتحول المركبات التي فقدت الكترونا الى جذور حرة تبحث عن الاستقرار بادئة سلسلة من التفاعلات تتفاقم لتهاجم غشاء الخلية الحية ومكوناتها حتى جزيء الحمض النووي بالخلية (ADN).[25]

الشكل (III-5): صورة موضحة بالفحص المجهري للجذور الحرة

III.2.2.3.انواع الجذور الحرة:

III.1.2.2.3.التقسيم على أساس الاستقرار: [26]

تقسم الجذور الحرة بصورة عامة من حيث استقرارها الى نوعين:

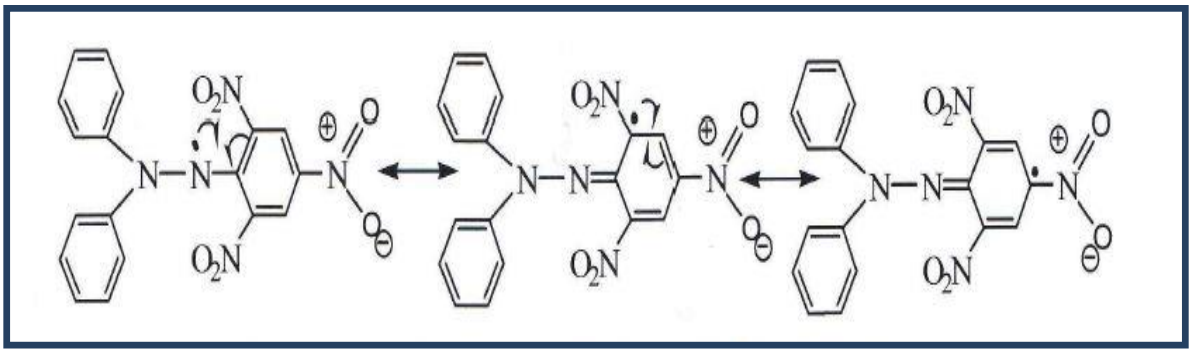
III.1.1.2.2.3. الجذور النشطة التي لها أعمار قصيرة جدا:

أي غير مستقرة في الظروف الاعتيادية، يشمل هذا النوع الجذور الحرة ذات العناصر مثل ذرات الهيدروجين والنيتروجين والفلور والكلور والبروم واليود والجذور التي لها وزن جزيئي صغير بصورة عامة مثل المثيل (CH_3) والإيثيل (C_2H_5) والفينيل (C_6H_5) والهيدروكسيل (OH)، يتراوح أعمار حياة هذه الجذور من رتبة الميكروثانية وأقل، وتصل حتى البيكوثانية (10^{-12}ثانية)

III.2.1.2.2.3. الجذور المستقرة (الصامدة) التي لها أعمار طويلة:

حيث تقدر أعمارها بالثواني أو الدقائق أو الساعات أو حتى بالأيام مثل جذر DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)، فمثلا محلول الجذر الأول يكون ذو لون أصفر ومستقرا بدرجة حرارة الغرفة لبضع ساعات، أما الجذر الثاني فيكون مادة صلبة ذات لون بنفسجي مسود ويكون مستقر لعدة أيام.

وتستطيع القول بأن معظم الجذور الأروماتية التي تشتمل على تراكيب رنينية متعددة في تركيبها الجزيئي تكون مستقرة في أغلب الأحيان ويعزى استقرار هذا النوع من الجذور لعدم تمركز الإلكترون المنفرد بموقع معين في تركيب الجذر، وخير مثال على هذه الحالة عدم تمركز الإلكترون المنفرد بجذر DPPH.



الشكل (III-6): يوضح التراكيب الرنينية في جزيء DPPH

III.3.2.3. مصادر الجذور الحرة:

يتم إنشاء الجذور الحرة من مصادر داخلية نتيجة عدة وظائف داخلية للجسم من قبل الخلايا الحية نتيجة العمليات الفيزيولوجية والبيوكيميائية في الجسم مثل تنشيط الخلايا المناعية، التهابات الإجهاد العقلي، الخلايا البالعة، الميتوكوندريا وفقر الدم، ومصادر خارجية عند تعرض الجسم لبعض المواد البيئية السامة تنتج عن تلوث الهواء، المياه والتدخين، تناول الكحول، المعادن الثقيلة (الكادميوم، الزئبق، الرصاص والحديد)، مخدرات، المذيبات العضوية، الأشعة فوق البنفسجية، الأدوية ومبيدات الحشرات.[27]

III.4.2.3. آلية تشكل الجذور الحرة: [28]

الجذور الحرة يمكن أن تتشكل كما يلي:

✓ انشطار الرابطة التساهمية من الجزيء الطبيعي مع احتفاظ كل جذر بالإلكترونات المقترنة

$$A : X \longrightarrow A^{\cdot} + X^{\cdot}$$

✓ إضافة إلكترون منفرد لجزيء طبيعي

$$X^{\cdot} + e^{-} \longrightarrow X^{-\cdot}$$

III.5.2.3.ادوار الجذور الحرة:

للجذور الحرة دور مزدوج اما ان تكون نافعة واما ان تكون ضارة:

✓ **نافعة:** في حالة انخفاض الجذور الحرة ووجودها في شروط معتدلة، تلعب هذه الأخيرة دورا حيويا يتمثل في:

- قتل الجراثيم باستخدام إنزيم الميليوبروكسيداز وذلك عن طريق تحفيز من بيرو كسيد الهيدروجين.
- تمايز الخلايا بشكل عام تؤدي إلى ارتفاع معدلات التنفس المقاومة للسيانيد.
- للحفاظ على الوظائف الفسيولوجية الطبيعية للجسم أساسا في الجهاز المناعي، إنضاج هيكل الخلية، اليات عمل الخلايا.

✓ **ضارة:** في حالة وجود الجذور الحرة بنسب عالية في جسم الانسان ينجم عن هذا العديد من الامراض منها:

- اضطرابات الاعصاب والرئة والكلى.
- التهاب المفاصل وامراض الجهاز الهضمي وارتفاع ضغط الدم.
- الأورام السرطانية وامراض القلب والاوعية الدموية.[27]

III.3.3.مضادات الاكسدة:

III.3.3.1.تعريف مضادات الاكسدة:

مضادات الأكسدة نظام دفاعي ضد الأكسدة التي تسببه أنواع الأكسجين النشطة لحماية الخلايا من اضرار هذه الأنواع وتتكون مضادات الاكسدة من بعض الانزيمات التي يصنعها الجسم بالإضافة الى بعض العناصر الغذائية التي يتناولها الانسان ضمن وجبته اليومية وتعمل عناصر مضادات الاكسدة جميعها معا او بشكل منفرد ضد هذه الجذور الحرة كما تعمل مضادات الأكسدة في عدة جهات:

- فقد تقلل من الأكسجين النشط.
- او تكبح الجذور الحرة من الاكسدة.

وتعمل مضادات الأكسدة بالدرجة الأولى كمانحات للهيدروجين أو مستقبلات للجذور الحرة، أو أنها تتحد مع الجذر وتحوله إلى مركب مستقر كما هو موضح في الآلية التالية:

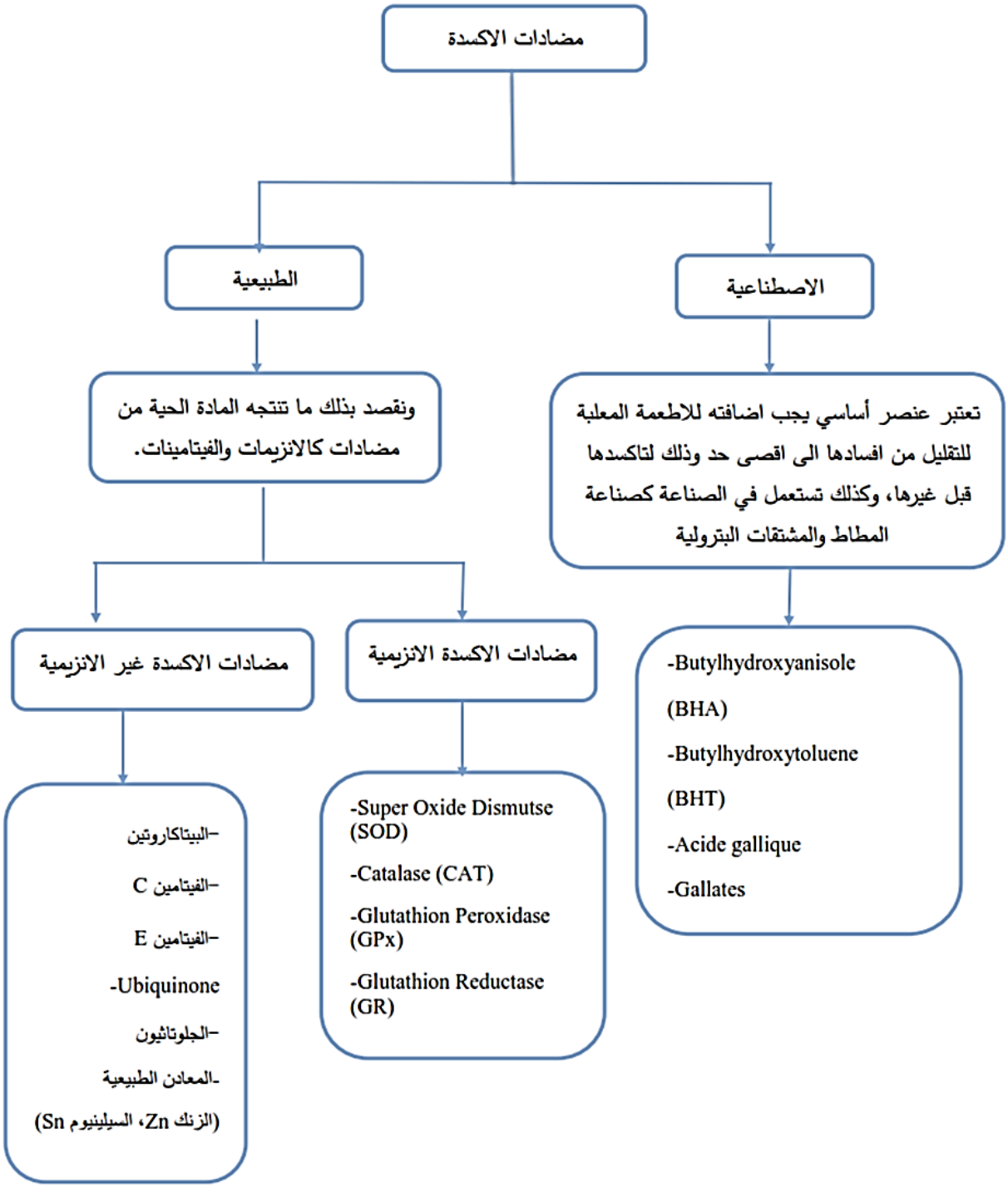
$$ROO^{\bullet} + AH_2 \longrightarrow ROOH + AH^{\bullet}$$

$$AH^{\bullet} + AH \longrightarrow A^{\bullet} + AH_2$$

خلاصة القول أن مضادات الأكسدة تعتبر خط الدفاع الأول والأساسي للخلية وهي تلعب دورا أساسيا حيث تعمل بطريقة أنها تتعرض لهجمات الشقوق الحرة بدلا من مهاجمة خلايا جسم الإنسان.[29]

III.2.3.3. تصنيف مضادات الأكسدة:

تقسم الأنظمة للمضادة للأكسدة حسب مصدرها إلى طبيعية واصطناعية وذلك حسب المخطط التالي: [30]-[31]



الشكل (III-7): مخطط يوضح اقسام الاكسدة

III.3.3.3. ادوار مضادات الأكسدة:

لمضادات الأكسدة العديد من الأدوار تتمثل في:

- ✓ قدرتها على تحصين الجسم ضد غزو الجراثيم والقضاء عليها.
- ✓ كسر سلسلة التفاعلات الجذرية.
- ✓ تحمي ADN من الضرر وتثبط الجذور الحرة.
- ✓ تعمل على توقيف انتقال الالكترونات وإزالة المعادن الثقيلة بالاستخلاب.
- ✓ امتصاص الأشعة فوق البنفسجية.
- ✓ إخماد الأكسجين الأحادي وتفكك الهيدروبيركسيد. [32]

المراجع باللغة العربية:

[1] بابا عربي إلياس، (2009). دراسة بعض أملاح الفوسفونيوم ودراسة فعاليتها البيولوجية على بعض أنواع البكتيريا عند مزجها مع البنيسلين V، مذكرة لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء عضوية تطبيقية، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.

[2] بن بوط أ، 2005.مساهمة لدراسة النشاط الحيوي لمستخلصات المادة الفعالة في نبات الحرمل Peganumharmala L، مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير، تخصص المواد الحيوية الفعالة، المنتجات الطبيعية من أصل نباتي، ص14.

[3] حميدي ن، 2015. الدراسة الفيتوكيميائية والتقييم البيولوجي للفاقونيا لونجيسبينا، نبات من الجنوب الغربي للجزائر FagonialLongispina(Zygophylaceae) .

[5]د.رافت حسن عبد الوهاب د. فضاء ادعيج العون 2018. تصنيف عالم نبات والأحياء الدقيقة شركة دارالعلم للنشر والتوزيع، الكويت.

[11] تامة نور الدين، 2018. الدراسة الفيتوكيميائية للمنتجات الفعالة (القلويدات، الفينولات والفلافونويدات، التربينات الثلاثية) والنشاط المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات لنبات الباقل والحمير التي تنمو في جنوب شرق الجزائر، مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتوراه علوم، تخصص كيمياء نباتية، جامعة العربي بن مهيدي أم البواقي.

[17] عبد الوهاب، محمد.ع. ح، د.محمد.ص.م. مبارك، د.سعد.ع.ر.م 1996. الميكروبيولوجيا التطبيقية، الطبعة الأولى، المكتبة الأكاديمية.

[21] د عادل نوفل 1981.كتاب الكيمياء الصيدلانية (الجزء النظري)، جامعة دمشق.

[26] م. بوقوادة،2008. «دراسة فيتو كيميائية لليبيدات والفينولات في بعض أنواع نوى التمر المحلي»، مذكرة ماجيستير، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.

[27] بلفار آسيا 2018. دراسة القدرة المضادة للأكسدة وللبكتيريا والتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات limosniastrum guyonianum (Dur). مذكرة دكتوراه ل.م.د. تخصص التحاليل الفيزيوكيميائية وفعالية العينات الجزيئية. جامعة قاصدي مرباح. ورقلة.

[29] ربيعي عبد الكريم 2016.تقدير المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للأكسدة لمنتجات النحل في الجزائر بالطرق الكهروكيميائية. مذكرة دكتوراه في العلوم. تخصص كيمياء. جامعة قاصدي مرباح. ورقلة.

[30] زيدان محمد 2018. دراسة الفعالية المضادة للأكسدة والبكتيريا لمستخلصات الرمان Punica L granatum. مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتوراه في العلوم. تخصص علوم الكيمياء. جامعة قاصدي مرباح – ورقلة.

[31] بن ساسي ش.، 2018. تقييم الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا للمركبات الفينولية لبعض أصناف التمور من منطقة وادي ريغ بطرق مختلفة، مذكرة لنيل شهادة الدكتوراه، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص: 162.

[32] بالفار م 2015. المساهمة في دراسة القدرة المضادة للأكسدة لبروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية، رسالة محضرة لنيل شهادة دكتوراه، تخصص كيمياء، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.

المراجع باللغة الأجنبية:

[4]J.P.Euzeby:Abrégé de Bacteriologie Générale Médicale,à l'usage des étudiants de l'école Nationale Vétérinaire de Toulouse Courriel CV SBSV Pseudomonas.

[6]Hamidi, N., Lazouni, H. A., Moussaoui, A., Ziane, L., Djellouli, M., & Belabbesse, A. (2014). Ethnopharmacology, antibacterial and antioxidant activities, phytochemical screening of bioactive extracts from the aerial parts of Fagonia longispina. Asian Journal of Natural & Applied Sciences Vol, 3, 3.

[7] Courvalin, P. (1992). Interpretive reading of antimicrobial susceptibility tests. Molecular analysis and therapeutic interpretation of in vitro tests to improve antibiotic therapy. ASM American Society for Microbiology News, 58(7), 368-375.

[8] Leclere, H. Izard D., Husson M.O., Watter P,.jakbczak E.. (1983). Microbiologie générale. Nouvelle édition Doin édition-paris.

[9] House, H.O; Respess. W. L; Whitseides, G. M. J .1996. Org. Chem, 36, 3128-3148.

[10]Robert-Dernmet . S. (1995) . Antibiotique et antibiogrammes .Décarie Vigot, Montréal . p 322.

[12] Michanie, S. (2003). Eschericchia coli 0157: H7: la bacteria que disparó el HACCP en la industria de la carne. Ganados y Carnes (Argentina).

[13] Benzahi, K. (2001). Contribution a l'étude des flavonoides dans la plante Cynodon dactylon-L Chiendent (Doctoral dissertation, Ouargla, Université Kasdi Merbah. Institut des Sciences Exactes).

[14] Sanné, C., Sauvin, H.,1952-colored flowers and fruits anthocyannes and flavones,Edition of museum; Paris p.58.

[15] Ericsson, H. M., & Sherris, J. C. (1971). Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. Acta pathologica et microbiologica scandinavica, (Suppl. 217).

[16] Finberg, R. W., Moellering, R. C., Tally, F. P., Craig, W. A., Pankey, G. A., Dellinger, E. P., ... & Rybak, M. J. (2004). The importance of bactericidal drugs: future directions in infectious disease. Clinical infectious diseases, 39(9), 1314-1320.

[18] Guérin-Faublée, V., & Carret, G. (1999). L'antibiogramme : principe, méthodologie intérêt et limites. Journées nationales GTV-INRA, 5-12.

[19]Kanner, J., Frankel, E., Granit, R., German, B., & Kinsella, J. E. (1994). Natural antioxidants in grapes and wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42(1), 64-69.

[20] Sharan, R., Chhibber, S., & Reed, R. H. (2011). Inactivation and sub-lethal injury of salmonella typhi, salmonella typhimurium and vibrio cholerae in copper water storage vessels. BMC infectious diseases, 11(1), 204.

[22] Baurer .A , W ., Kirry . W.M.M.,Sherries.J.C.A., Turch .M (1966) . Antibiotic susceptiblity testing by a standardized single disk method.-Amer. J. Clin. Pathol., 45:493-496.

[23]Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. LWT-Food Science and Technology, 36(7), 679-684.

[24] C.Enrique, P.Lester.2002. «Handbook of Antioxidants», 2eme ed, New York. Basel.Marcel Dekker, Inc.

[25] Sies, H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. Experimental Physiology: Translation and Integration, 82(2), 291-295.

[28] Kumar, S.(2011). Free radicals and Antioxidants: Human and Food System. Advances in Applied Science Research, 2 (1), 129-135.

الجزء التطبيقي

الفصل الرابع

الطرق والوسائل

IV.1. جمع النبات قبل المسح الفيتو كيميائي:

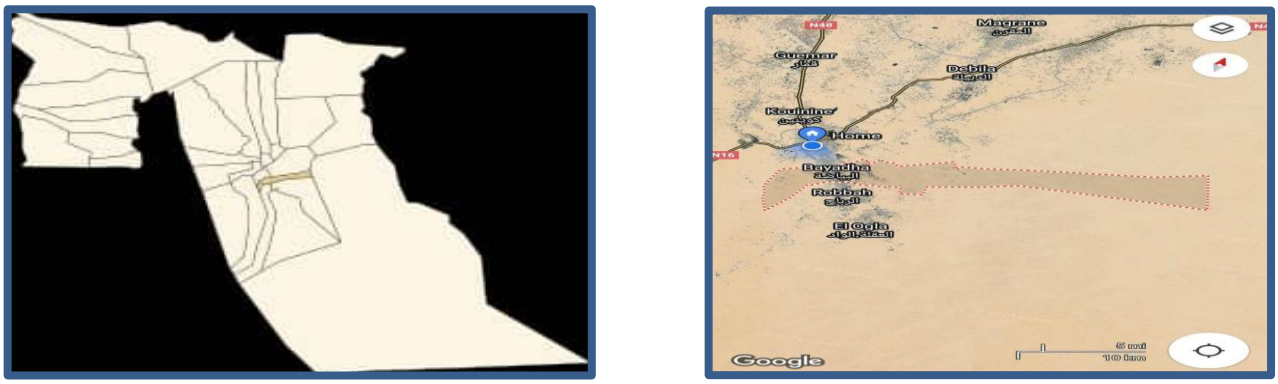
مدخل:

يعتبر المسح الفيتو كيميائي من أقدم الدراسات في مجال الكيمياء النباتية، والفائدة من عملية المسح الفيتو كيميائي البحث على المنتجات الطبيعية في مختلف أعضاء النبات قبل إجراء الفصل الكمي، ولذلك يعتبر دراسة كيميائية بحتة، لكن استغلت حديثا إلى جانب أدوات وطرق الفصل مثل HPLC، UV، في تعزيز عمليات تصنيف النباتات المنتمية لنفس الفصائل النباتية.

قبل الشروع في عملية المسح الفيتو كيميائي لأي نبات يجب التطرق لبعض الأساسيات كموعد القطف ومراحله ثم التجفيف ومن بعد ذلك تبدأ عملية الكشف عن المنتجات الفعالة المتواجدة فيها. [1]

IV.1.1.الموقع الجغرافي لمنطقة القطف:

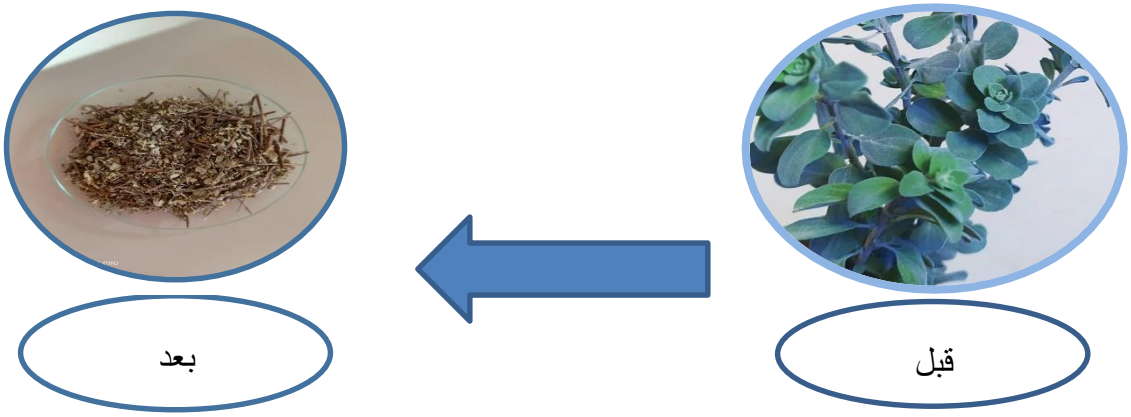
تعتبر عملية القطف من أهم خطوات عملية استخلاص المواد الكيمائية الفعالة، حيث تم قطف الأجزاء الهوائية (السيقان والأوراق) في شهر جانفي، لنبتة المردقوش والمزروعة بولاية وادي سوف (تحديدا بمنطقة البياضة) التي تقع بين الإحداثيات الجغرافية التالية، في الاحداثية 33˚ 20' 5" شمال خط الاستواء، وفي الاحداثية 6˚ 54' 53" شرق خط غرينتش.



الشكل (IV-1): خريطة موقع بلدية البياضة

2.1.IV.مرحلة التجفيف:

قبل الشروع في عملية التجفيف تجزأ مختلف أعضاء النبات وتغسل بالماء المقطر ثم تنقى من الغبار والطفيليات ...الخ، ويتم تقسيمها إلى أجزاء صغيرة لكي تسهل عملية التجفيف، ثم نقوم بوضعها في الظل على قطعة من القماش أو الورق مع تقليبها من حين لآخر وبعد التأكد من جفافها يتم طحنها، حيث تدوم مدة التجفيف لأسبوعين.[1]-[2]



الشكل (IV-2): عملية التجفيف والطحن

3.1.IV.الحفظ:

بعد سحق العينات في الهاون يتم حفظها في أوعية زجاجية محكمة الغلق، ويجب التأكد من عدم تعفن النبات.

2.IV.الاجهزة والمواد المستعملة:

1.2.IV. الاجهزة:

- ✓ جهاز مطيافية الاشعة فوق البنفسجية المرئية (Spectrophotometre UV-Visible)
- ✓ جهاز التبخير الدوار (Rotavapeur)
- ✓ جهاز كليفنجر (Clevenger)
- ✓ مخلاط مغناطيسي
- ✓ ميزان الكتروني حساس
- ✓ مضخة

- ✓ Voltalab
- ✓ حاضنة
- ✓ معقمة (Autoclave)

2.2.IV.المواد:

- ✓ حمض الغاليك (A.G)
- ✓ حمض الاسكوربيك (A.A)
- ✓ محلول الكريستين
- ✓ محلول كلوريد ثلاثي الالمنيوم ($AlCl_3$ ، 2%)
- ✓ محلول كربونات الصوديوم (Na_2CO_3،7.5%)
- ✓ كاشف فولين (Folin)
- ✓ DPPH
- ✓ حمض كلور الماء (HCl, 2%،1%)
- ✓ المغنزيوم (Mg)
- ✓ الكلورفورم ($CHCl_3$)
- ✓ كاشف ماير (Mayer)
- ✓ الايثانول (EtOH) (EtOH: eau،70%:30%)
- ✓ الميثانول (MeOH)
- ✓ ثنائي ايثيل الايثر $(C_2H_5)_2O$
- ✓ الايثر البترولي (R-O-R')
- ✓ محلول الامونياك (NH_3)
- ✓ اسيتات الايثيل (AcOEt)
- ✓ البوتانول (nBuOH)
- ✓ محلول كلوريد الحديد الثلاثي ($FeCl_3$; 5%)
- ✓ DMSO

المستخلصات المدروسة:

- ❖ مستخلص املاح القلويدات لنبتة المردقوش ونرمز لها بالرمز Alc
- ❖ مستخلص البوتانول لنبتة المردقوش ونرمز لها بالرمز PHb
- ❖ مستخلص اسيتات الايثيل لنبتة المردقوش ونرمز لها بالرمز PHa
- ❖ مستخلص الزيوت الطيارة لنبتة المردقوش ونرمز لها بالرمز HE

IV.3.الكشف عن مواد الايض الثانوي لنبتة المردقوش:

IV.3.1.الكشف عن القلويدات العامة:

نأخذ 5غ من المسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات،ونضيف لها 25مل من حمض الكلور (1٪) HCl ونرشح، نضيف الى الرشاحة محلول الأمونياك) (NH_3 حتى يصل الى درجة قاعدية (pH = 9) .

نستخلص المحلول بواسطة الكلورفورم ($CHCl_3$) من 1−3 مرة، نقوم بتبخير الكلورفورم ($CHCl_3$) والراسب نضيف له 2 مل من حمض الكلور (1٪) HCl .

نقوم بإضافة ثلاث قطرات من كاشف ماير، عند تعكر المحلول أو وجود راسب برتقالي يدل عن وجود القلويدات بصفة عامة. [3]

IV.3.2.الكشف عن الفينولات:

بإضافة قطرات من كلوريد الحديد الى المستخلص الكحولي فيتحول لون المحلول الى اللون الداكن [4]

IV.3.3.الكشف عن الفلافونويدات:

يتم غلي 0.5غ من الجزء النباتي في 10 مل من الايثانول، يرشح المزيج، نضيف للرشاحة بعض القطع من Mg وقطرات من HCl المركز، نلاحظ عند ظهور اللون الأحمر دلالة على وجود الفلافونيدات.[5]

IV.4.3.الكشف عن الزيوت الأساسية:

يتم نقع 1غ من المادة النباتية في 10 مل من ثنائي ايثيل الايثر لمدة 24 ساعة، ثم يتم اخذ 10 مل من المستخلص الايثري وتبخيره حتى الجفاف، ثم يذوب الراسب في 3 مل من الايثانول ثم تبخيره من جديد، عند انبعاث رائحة عطرية زكية دلالة على وجود الزيوت الطيارة.[6]

IV. 4.استخلاص المنتجات الفعالة:

IV.1.4.تعريف الاستخلاص:

هو عزل مركب أو عائلة مركبات من المادة الخام باستعمال المذيبات العضوية، وإن كانت المادة المراد فصلها سائلة فنطلق عليها استخلاص سائل–سائل وأما إذا كانت المادة صلبة فنطبق استخلاص صلب –سائل، ولهذا الأخير عدة أشكال ترتبط بعدة عوامل مختلفة منها درجة الحرارة والضغط والمذيب المناسب.[7]

IV.2.4.انواع الاستخلاص:

IV.1.2.4.استخلاص (سائل– صلب):

- **الاستخلاص على البارد (النقع):**

له عدة أشكال ترتبط بعدة عوامل مختلفة منها درجة الحرارة، الضغط، واستعمال المذيب المناسب وتعتمد هذه التقنية على وضع النبات داخل إناء يحتوي على كمية محددة من المذيب، بحيث يكون مستوى المذيب السائل فوق مستوي المادة النباتية الصلب في الظروف العادية،

وتحرك من حين إلى آخر، تترك مدة زمنية، يتم خلالها إنتقال المادة من النبات إلى المذيب، ثم نرشح لفصل المادة الصلبة عن السائل، وهذه طريقة للمواد التي تتأثر بالحرارة. [8]

- **الاستخلاص على الساخن:**

هذه الطريقة سريعة نسبيا عن سابقتها، حيث يتم غمس المادة الخام في المذيب مع التسخين وتستعمل هذه الطريقة للمواد التي لا يمكن إستخلاصها إلا تحت درجة حرارة عالية ولا تتأثر بإرتفاعها.[9]

2.2.4.IV.استخلاص (سائل– سائل):

وهي الطريقة التي يتم بها عزل مادة ما من مزيج يحوي على مواد أخرى، ويعتمد مبدأ الاستخلاص على عامل توزع المواد بين سائلين غير قابلين للامتزاج كالطور الماني والطور العضوي فإذا كانت المادة موجودة في طور ماني غير منحلة فيه وأضيف إلى هذا المحلول مذيب عضوي فهو لا يمتزج معه ويستطيع أن يذيب المادة، فإن المادة ستنتقل إلى المذيب العضوي مشكلا طبقتين من سائلين غير ممتزجين.

وتعتمد نسبة الانحلال للمادة في المذيب العضوي على:

– قابلية انحلال المادة في المذيب العضوي.

– حجم المذيب المستخدم.[10]

3.4.IV.بروتوكول استخلاص المنتجات الفعالة:

1.3.4.IV. استخلاص المركبات الفينولية بطريقة النقع على البارد:

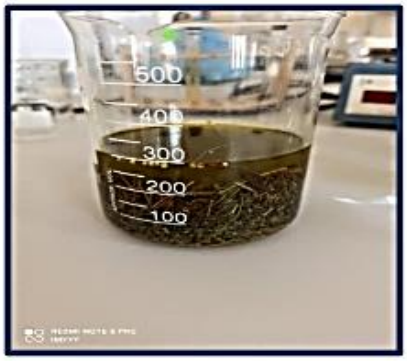
بعد طحن للأجزاء النباتية الجافة (50 غ)، نقوم بوضعها في 250 ملل من الايثر البترولي مع التحريك لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة الغرفة وذلك للتخلص من الدهون والكلورفيل ومن ثم نضيف لمسحوق النبات بعد الترشيح خليط من الايثانول والماء بنسبة (7/3)، ثم تترك لمدة 24 ساعة أخرى ونرشح ونركز المحلول الهيدرو كحولي تحت ضغط منخفض أعيدت هذه العملية 3 مرات متتالية مع تجديد المذيب في كل مرة، إلى أن تحصلنا على المستخلص الخام في حالة

الجفاف عاملنا هذا الأخير بـ 200ملل من الماء المقطر الدافئ وترك ليلة كاملة للراحة، بعدها نرشح للحصول على الطبقة المائية أجريت عليها عمليات الاستخلاص (سائل – سائل) وذلك باستعمال مذيبات متفاوتة القطبية بداية باسيتات الإيثيل، وأخيرا البوتانول النظامي وفي النهاية تحصلنا على مستخلصين وهذا بعد عملية التبخير وهم على التوالي:

- مستخلص اسيتات الايثيل.
- مستخلص البوتانولي [11]

ثم يتم وزن هذه المستخلصات للحصول على مردود الاستخلاص.

ويلخص الشكل (3.IV): اهم مراحل استخلاص المركبات الفينولية بطريقة التنقيع



1-عملية النقع

2-عملية الترشيح

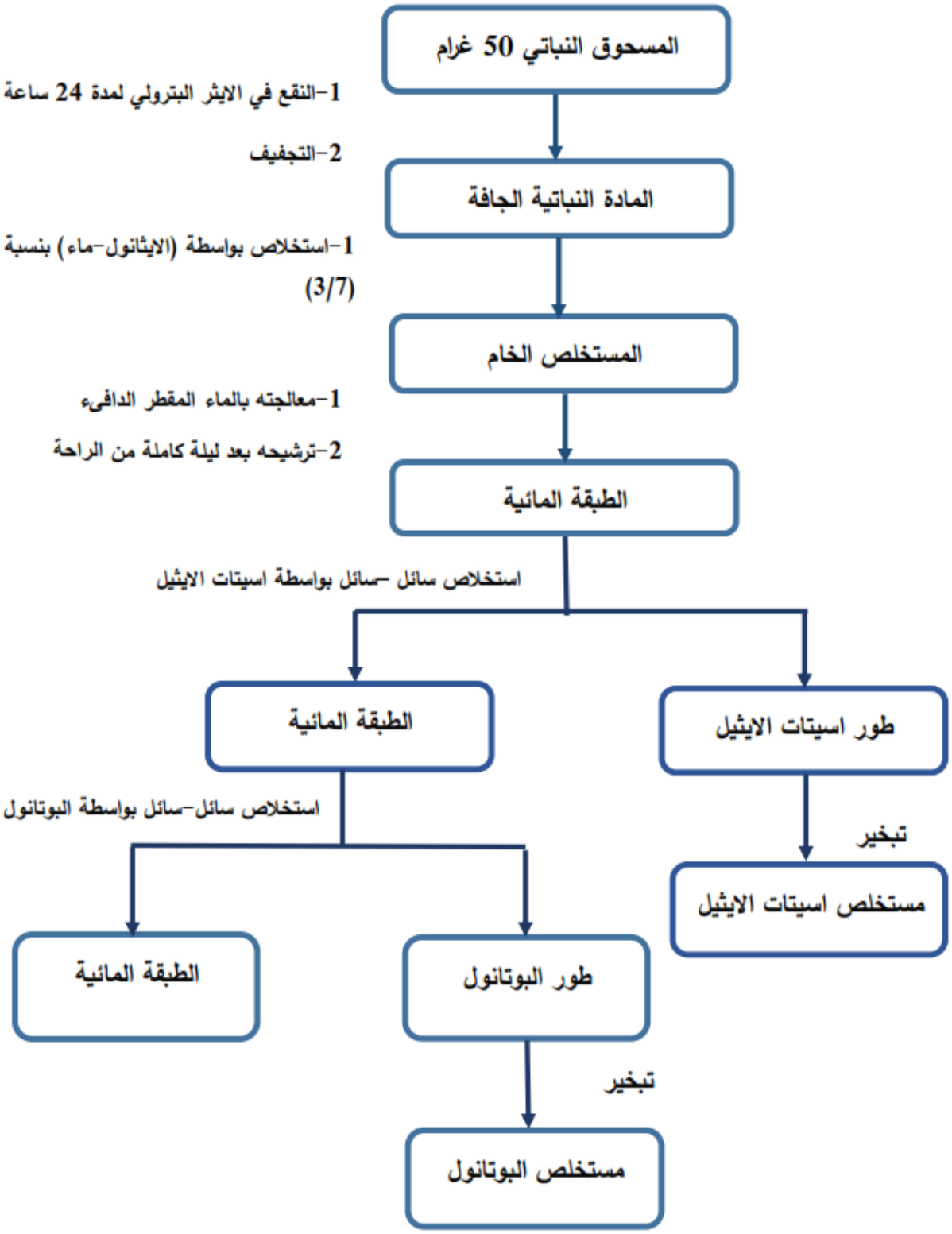
3-عملية الاستخلاص

4-عملية التبخير

5-عملية التجفيف

الشكل (IV-3): اهم مراحل استخلاص المركبات الفينولية بطريقة التنقيع

والملخص التالي يوضح اهم خطوات العمل:



الشكل (IV-4): مخطط يوضح مختلف الخطوات المتبعة في عملية استخلاص المركبات الفينولية

IV.2.3.4.استخلاص المركبات القلويدية بالنقع على البارد:

IV.1.2.3.4. تحرير القلويدات بشكلها القاعدي وإستخلاصها:

نأخذ وزن قدره 50 غ من مسحوق المردقوش ونقوم بنقعها في حجم قدره 500 مل من الأمونياك بتركيز 1% لمدة 24 ساعة وبهذه الطريقة تتحرر القلويدات ثم نستخلصها بمذيب عضوي متوسط القطبية مثل الكلوروفورم ($CHCl_3$) ليتم استخلاصه على البارد بالنقع نحصل على حثالة مسحوق نبات (مستنفذ) ومحلول عضوي للقلويدات في صورته القاعدية [12]

IV.2.2.3.4.التنقية:

المحلول العضوي السابق ذكره يحتوي على شوائب عديدة بالإضافة إلى القلويدات، ولتنقيتها نمرر القلويدات من الطور العضوي إلى الطور المائي وذلك بمعاملتها بحمض الكبريت المخفف (H_2SO_4) ذو تركيز 2%حتى الحامضية (pH=5) للتخلص من الشوائب الذائبة في المذيب العضوي (كلوروفيل دهون وصمغ)

يركز المستخلص بتبخير الماء لنتحصل في الاخير على املاح القلويدات

ويلخص الشكل (**5.IV**): اهم مراحل استخلاص القلويدات بطريقة التنقيع:

1-عملية النقع

2-عملية الترشيح

3-عملية الاستخلاص

4-عملية التجفيف

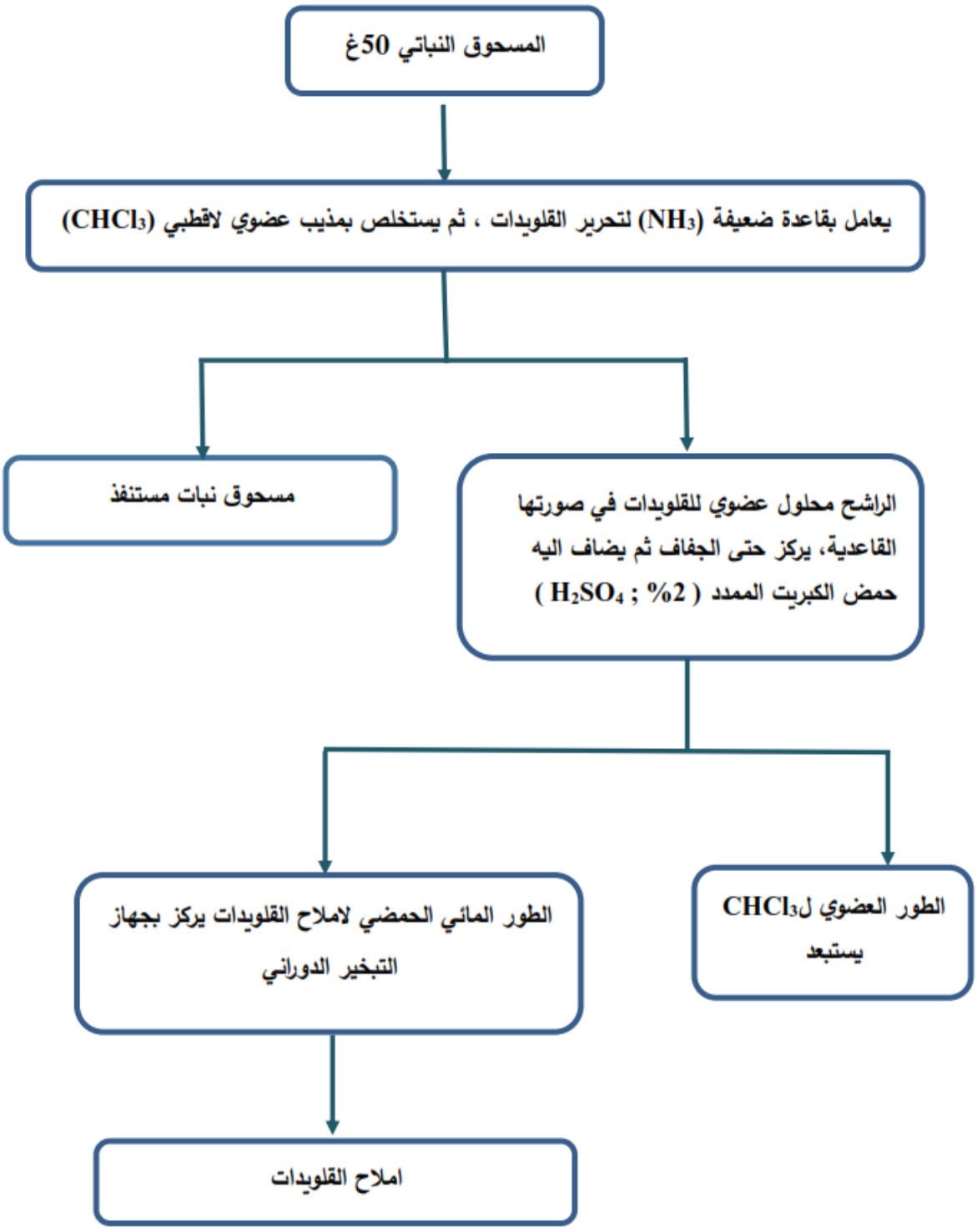
5-عملية التحميض

6-عملية الاستخلاص

7-عملية التجفيف

الشكل (IV-5): اهم مراحل استخلاص القلويدات بطريقة التنقيع:

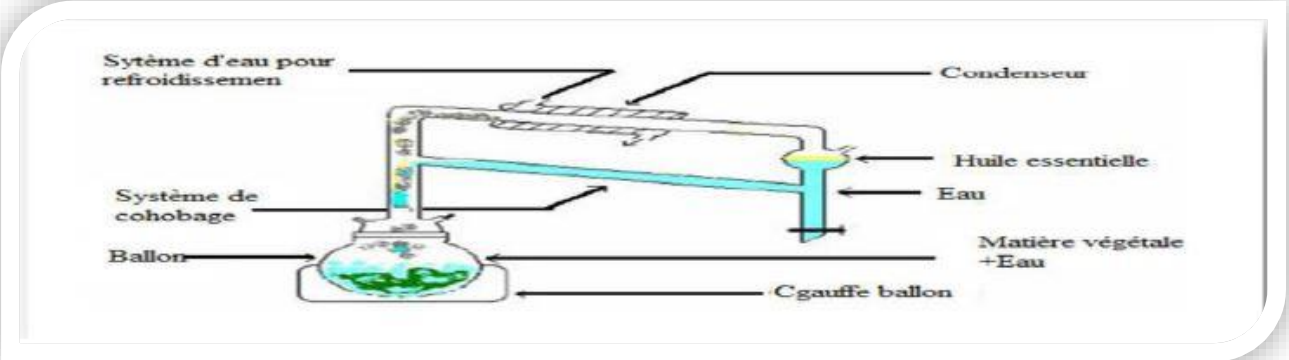
الشكل (6.IV): مراحل استخلاص القلويدات بطريقة النقع



الشكل (6–IV): مخطط مراحل استخلاص املاح القلويدات

IV.3.3.4. استخلاص الزيوت الأساسية:

تم إستخلاص الزيت الأساسي باستعمال التقطير المائي عبر جهاز لاستخلاص الزيوت الأساسية يدعى كليفنجر (Clevenger) وذلك بوضع 50 غ من المادة النباتية (الجزء الهوائي) في 750 ملل من الماء المقطر في جهاز كليفنجر لمدة ثلاث ساعات تحت درجة حرارة 80°C[13]



الشكل (IV-7): رسم تخطيطي يوضح جهاز كليفنجر المستخدم في عملية التقطير المائي للزيت

IV.5. حساب مردود الإنتاجية للمستخلصات:

مردود الإنتاجية للمستخلصات هي النسبة بين وزن المادة المستخلصة والتي ترمز لها m_f على وزن المادة الابتدائية للنبتة ونرمز لها m_i حسب العلاقة التالية:

$$R\% = mf/mi.100$$

- **mf:** الكتلة النهائية.
- **mi:** الكتلة الإبتدائية.
- **R %:** مردودية الانتاجية للمستخلصات ب% [14]

6.IV. التقدير الكمي للمركبات الفينولية والفلافونويدية :

1.6.IV التقدير الكمي للمركبات الفينولية والفلافونويدية بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية:

1.1.6.IV مطيافية الأشعة فوق البنفسجية المرئية:

هذه التقنية من أقدم الطرق استعمالا في التحليل الكمي والكيفي، ومن أهم الوسائل التي تساعد في تحديد البنى الكيميائية للمركبات، تشمل على منطقة الضوء المرئي ومنطقة الأشعة فوق البنفسجية ومن أهم الطرق التقدير الكمي طريقة قياس الامتصاصية الكثافة الضوئية للمحاليل حيث مجالها الكهرومغناطيسي (طول الموجي) ما بين 400–700 نانومتر [15]

مبدا العمل:

يتكون الجهاز من قسمين رئيسيين هما المصدر الضوئي لأي طول موجي محدد ومقياس الكثافة الضوئية (Photometer)، حيث يتم وضع المحاليل المراد قياس إمتصاصيتها داخل أنبوب خاص (Cuve) يسمح بمرور الضوء بين المصدر الضوئي والـPhotometre، وبالتالي فإن كمية الضوء المار خلال العينة يعبر عنها بالامتصاصية [16]، وعند تعرض الكاشف الضوئي للضوء فانه يتولد على اقطابه اشارة كهربائية تتغير بتغير كمية الضوء الممتصة من قبل السائل ،حيث تعتمد تغير امتصاص العينة للضوء على تغير تركيز المادة في المحلول وبالتالي يمكن حساب التركيز بالاعتماد على امتصاص الضوء عند طول موجي محدد حسب قانون Beer Lambert [17]

$$A=\varepsilon \times \ell \times C$$

$$A=\log\frac{I0}{I}$$

ε: معامل الامتصاصية المولاري A : الامتصاصية

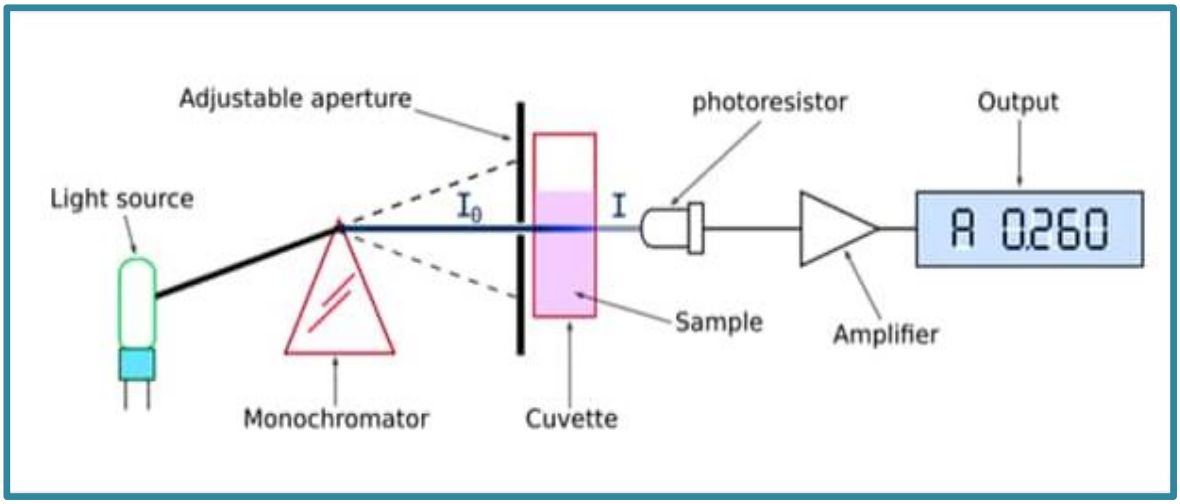
I_0: شدة الضوء الوارد. ℓ:سمك الخلية

I: شدة الضوء الصادر. C:تركيز المحلول

مكونات الجهاز:

توجد مجموعة مختلفة من الأجهزة والتي تختلف عن بعضها في التصميم منها الفوتوميتر والاسبكتروفوتوميتر وهذه الأجهزة تتكون أساسا من أربعة أجزاء رئيسية وهي:

- المصدر (source)
- وحدة التحكم في الأطوال الموجية (monochromator)
- وحدة العينات (cells)
- الكاشف أو المقدر (detector)



الشكل (IV-8): رسم تخطيطي يوضح مكونات ومبدأ عمل جهاز مطيافية الاشعة فوق البنفسجية

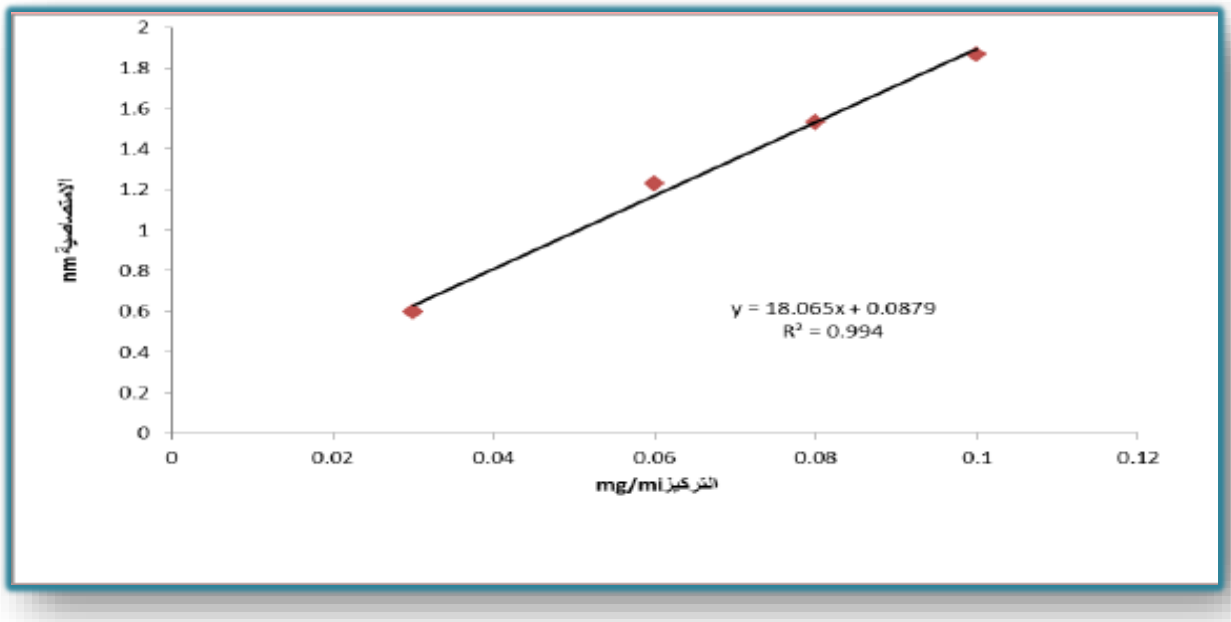
IV. 2.1.6 التقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة UV-Visible:

يتم تقدير كمية المركبات الفينولية الكلية باستخدام الطريقة اللونية (1965) Singleton Rossi باستعمال كاشف الفولين (Folin- Ciocalteu)، حيث ان هذا الكاشف عبارة عن حمض اصفر يتكون من حمض فوسفوتنغستينيك ($H_3PW_{12}O_{40}$) وحمض فوسفو موليبيديك ($H_3PMo_{12}O_{40}$) الذي يرجع بواسطة اكسدة الفينولات معطية اكاسيد التغنستين (W_8O_{23}) والموليبيدين (Mo_8O_3) ذات اللون الأزرق، يتم تقدير المركبات الفينولية كميا بواسطة جهاز UV-Visibleوباستعمال حمض الغاليك كفينول مرجعي تقاس امتصاصيته الضوئية عند طول موجي 765nm [18]

IV.1.2.1.6 المنحنى القياسي لحمض الغاليك:

نقوم بتحضير محاليل ممددة لحمض الغاليك تراكيزه تتراوح ما بين(0.02− 0.1) ملغ/مل في أنابيب إختبار، ثم نأخذ 0.2 مل من المحاليل الممددة ونضيف لها 1 مل من كاشف Folin Ciocalteuالممدد عشر مرات ثم نضيف 0.8 مل من محلول كربونات الصوديوم (7.5%) Na_2CO_3، ونضع المحاليل في الظلام لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة المخبر، ثم تقاس الامتصاصية عند طول موجي $\boldsymbol{\lambda = 765\ nm}$

انطلاقا من قيم الامتصاصية لمحاليل حمض الغاليك، نرسم منحنى القياسي للكثافة الضوئية (الامتصاصية) بدلالة التركيز A=f(C) [19] .

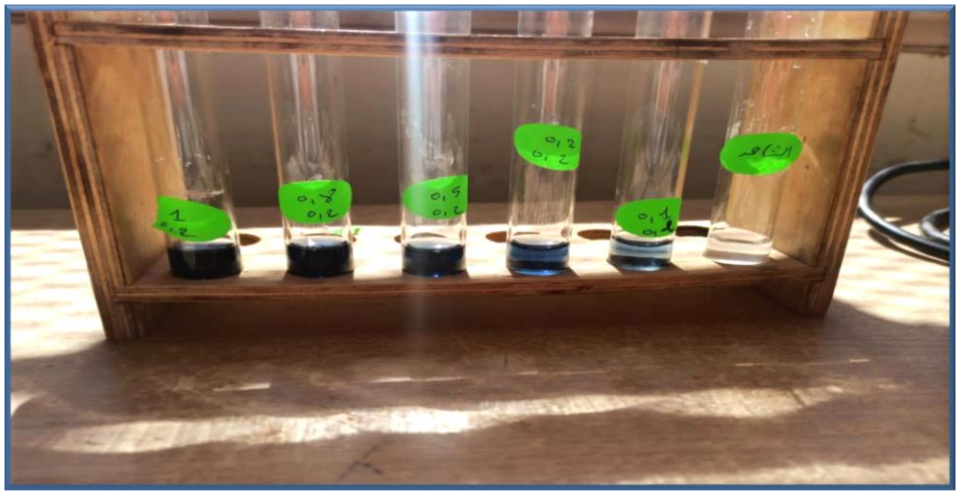


الشكل (IV−9): المنحنى القياسي لحمض الغاليك

IV. 2.1.6.2 التقدير الكمي للفينولات الكلية في المستخلصات:

نحضر من مستخلص عضوي تراكيز تتراوح ما بين 0.08−0.4 ملغ/مل نأخذ من كل تركيز 0.2 مل نضيف لها 1 مل من كاشف الفولين (Folin Ciocalteu reagent) (FCR) ونتركه مدة 5 دقائق في الظلام ثم نضيف له 0.8 مل من كربونات الصوديوم ($Na_2CO_3$7.5 %)، ونتركه

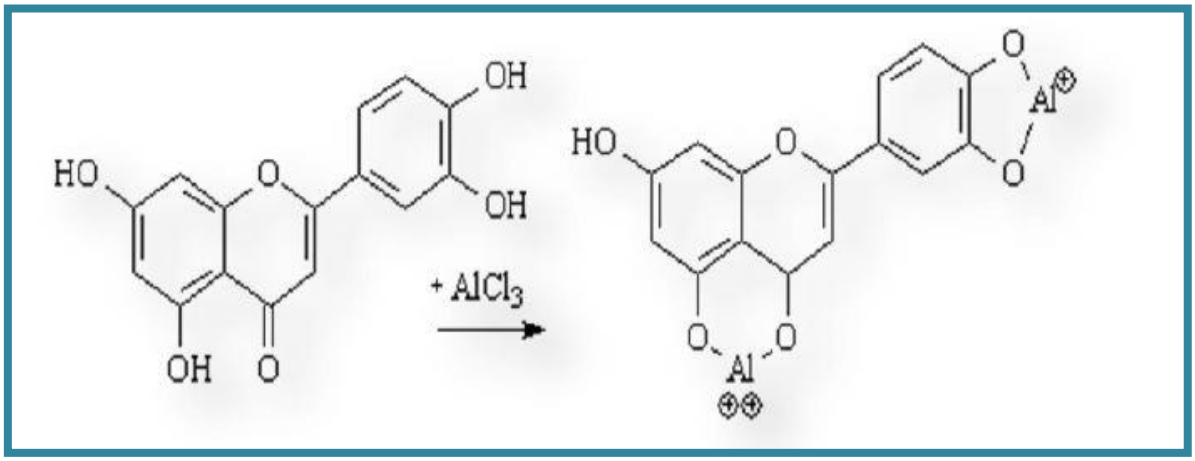
في الظلام لمدة 30 دقيقة فنتحصل على لون أزرق، ثم تقرأ الامتصاصية عند طول موجي $\boldsymbol{\lambda = 765\ nm}$



الشكل (IV-10): المحاليل بعد إضافة كاشف الفولين

3.1.6.IV التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة UV-Visible:

يتم تحديد كمية الفلافونويدات الكلية وفق الطريقة اللونية لكلوريد الألمنيوم التي وصفها Chang et al واعتمدنا على طريقة Woisky et salation مع بعض التعديلات الطفيفة، حيث يعتمد تقدير الفلافونيدات كميا على قدرة تكوين المعقد بين ثلاثي كلوريد الالمنيوم $AlCl_3$مع مجموعة الهيدروكسيل OH الموجودة في الحلقات البنزينية للفلافونيدات، ظهور اللون الأصفر دليل على تشكيل هذا المعقد وتقرأ امتصاصية المعقد عند طول الموجة $\boldsymbol{\lambda = 420\ nm}$ كما يوضح الشكل **(IV.11)**:



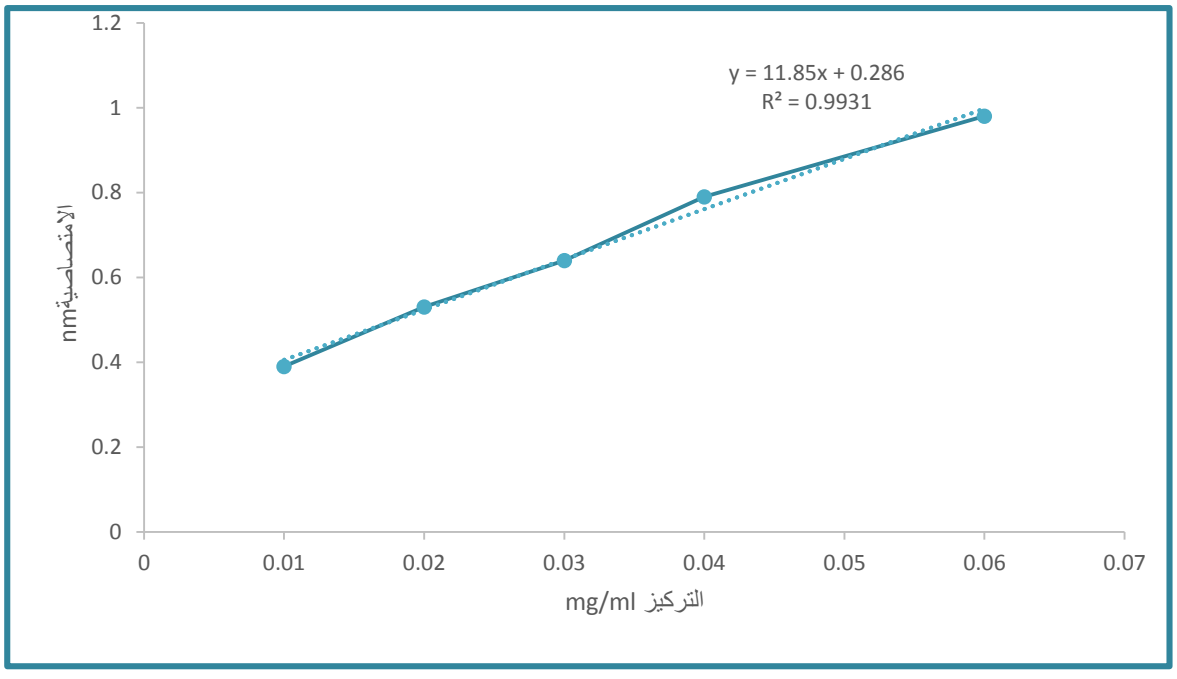
الشكل (IV-11): تفاعل تشكيل معقد بين كلوريد الالمنيوم الثلاثي $AlCl_3$ والفلافونويدات

ونستعمل في هذه التجربة فلافانويد الكرستين كأساس مرجعي قياسي لرسم المنحنى القياسي ويتم تقدير كمية الفلافونيدات بواسطة جهاز المطيافية الضوئية باستعمال كرستين كمحلول قياسي عند طول موجي $\boldsymbol{\lambda = 420\ nm}$ [20]

IV.1.3.1.6 المنحنى القياسي لحمض الكرستين:

نقوم بتحضير عدة تراكيز من محلول الكرستين محصورة بين (0.01−0.06) ملغ /مل نأخذ من كل تركيز 1 مل ونضيف له 1 مل من محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$) ذو التركيز 2% ثم نتركها لمدة 30 دقيقة في الظلام عند درجة حرارة المخبر، ثم تحسب الامتصاصية بواسطة جهاز UV عند طول موجي $\boldsymbol{\lambda = 420\ nm}$

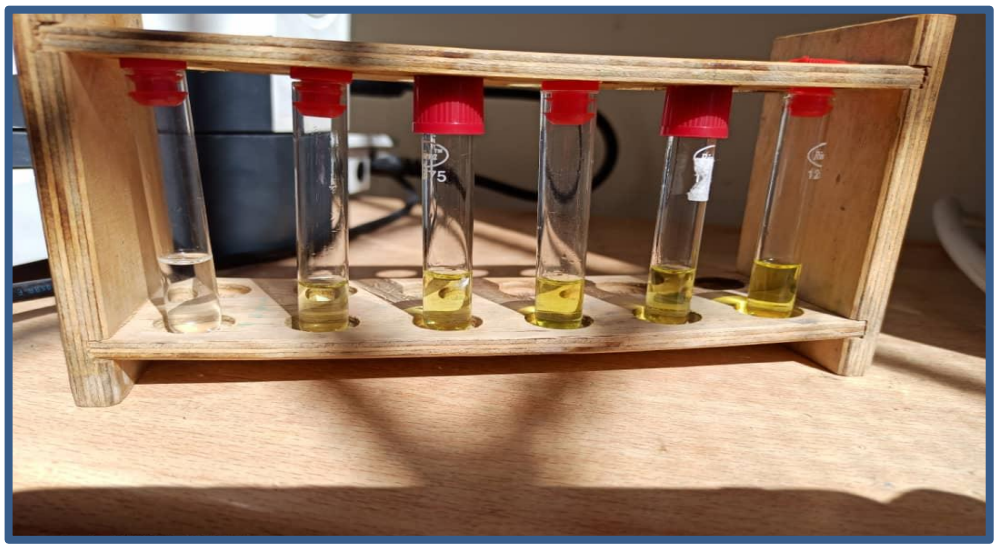
انطلاقا من قيم الامتصاصية لمحاليل حمض الكرستين، نرسم منحنى القياسي الكثافة الضوئية (الامتصاصية) بدلالة التركيز A=f(C) [21]



الشكل (IV−12): المنحنى القياسي لحمض الكريستين

2.3.1.6.IV التقدير الكمي للفلافونويدات الكلية في المستخلصات:

نحضر من كل مستخلص عضوي تراكيز تتراوح بين 0.07−0.5 ملغ /مل، ونأخذ من كل تركيز 1مل في أنبوب اختبار ونضيف له 1 مل من محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$) ذو التركيز 2%، ثم نتركها لمدة 30 دقيقة في الظلام نتحصل على اللون الأصفر، بعدها نقوم بقراءة الامتصاصية عند طول موجي $\boldsymbol{\lambda = 420\, nm}$



الشكل (IV−13): المحاليل بعد إضافة ثلاثي كلوريد الالمنيوم $AlCl_3$

2.6.IV التقدير الكمي للمركبات الفينولية بطريقة (إختبار الفولطاامبيرومتري الحلقي VMC):

فكرة التحليل الكهروكيميائي للتقدير الكمي اقترحت بعد إعادة النظر في الطرق الطيفية المعتمدة ، حيث وضعت له أسس نظرية جديدة ومقاربات لمعالجة الإشارة التحليلية الناتجة [22].

تعتمد الطرق الكهروكيميائية على خصائص المادة المدروسة وسلوكها على الأقطاب الصلبة، حيث يعتبر قطب الكربون الزجاجي من أكثر الأقطاب شيوعا.[23]

الطرق الكهروكيميائية التي اقترحت وتم تجريبها وأعطت نتائج مذهلة من أهمها الطريقة الفولطاامبيرومترية من طرف الباحثين [24]

1.2.6.IV التقنية الفولطاامبيرومترية الحلقية:

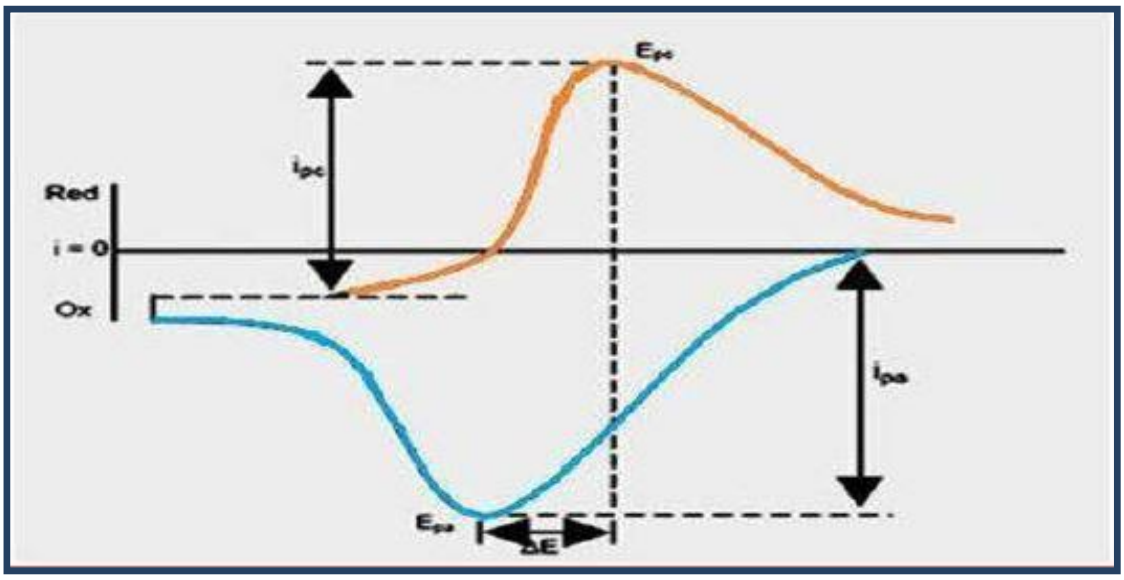
تقنية الفولطاامبيرومترية الحلقية هي واحدة من طرق التحليل الكهروكيميائي يطبق فيها فرق الكمون المتغير على مسرى العمل بالنسبة للمسرى المرجعي. تسمح هذه الطريقة بتحديد الشروط التي يتم فيها تفاعل الأكسدة والإرجاع وتقدير درجة عكوسية جملة (أكسدة إرجاع)، كما تسمح أحيانا بتحديد آلية التفاعل عند المسرى خاصة عندما تشترك تفاعلات كيميائية في نقل الإلكترونات، وكذلك تحديد ثوابت السرعة للتفاعلات الكهروكيميائية السريعة.

ظاهرة الانتشار هي المسؤولة الوحيدة عن نقل المواد الفعالة، أما الهجرة الأيونية يتم عزلها باستعمال الإلكتروليت المساعد.

تم مسح فرق الكمونات في هذه الطريقة بصورة حلقية، عند إجراء المسح باتجاه فرق الكمونات المصعدية وإنجاز تفاعل الأكسدة يعكس إتجاه تغيرات فرق الكمون لإجراء مسح فى إتجاه فرق الكمونات المهبطية.

الشكل العام للمنحنيات الفولطاامبيرومترية الحلقية ممثل في الشكل **(IV .14)**: الحالة البسيطة التي تحدث فيها عملية أكسدة واحدة متبوعة بعملية إرجاع في المجال المدروس [25-26]

إن المنحنى I=f(E) التجريبي مميز بنتوء للتيار المهبطي يليه نتوء مصعدي، هذه النتوءات تتميز بالمقادير التجريبية.



الشكل (IV-14): المقادير الأساسية لمنحنى الفولطا امبيرومتري الحلقي

- ✓ Ip_a ،Ip_c : تيارات النتوءات المصعدية والمهبطية على الترتيب.
- ✓ Ep_a ،Ep_c : كمونات النتوءات المصعدية والمهبطية على الترتيب.
- ✓ ΔEp : التغير في الكمونات بين Ep_a،Ep_c

IV. 2.2.6 الخصائص الكهروكيميائية للفينولات:

إن كمية الفينولات تعتمد على الخاصية الإرجاعية لهذه المركبات المرتبطة بصفة خاصة بعدد مجموعات الهيدروكسيل التي يمتلكها الجزيء ووجود مجموعة الكربوكسيل، حيث تتأكسد مجموعة الهيدروكسيل لتعطي إلكترون وذرة هيدروجين. [27]

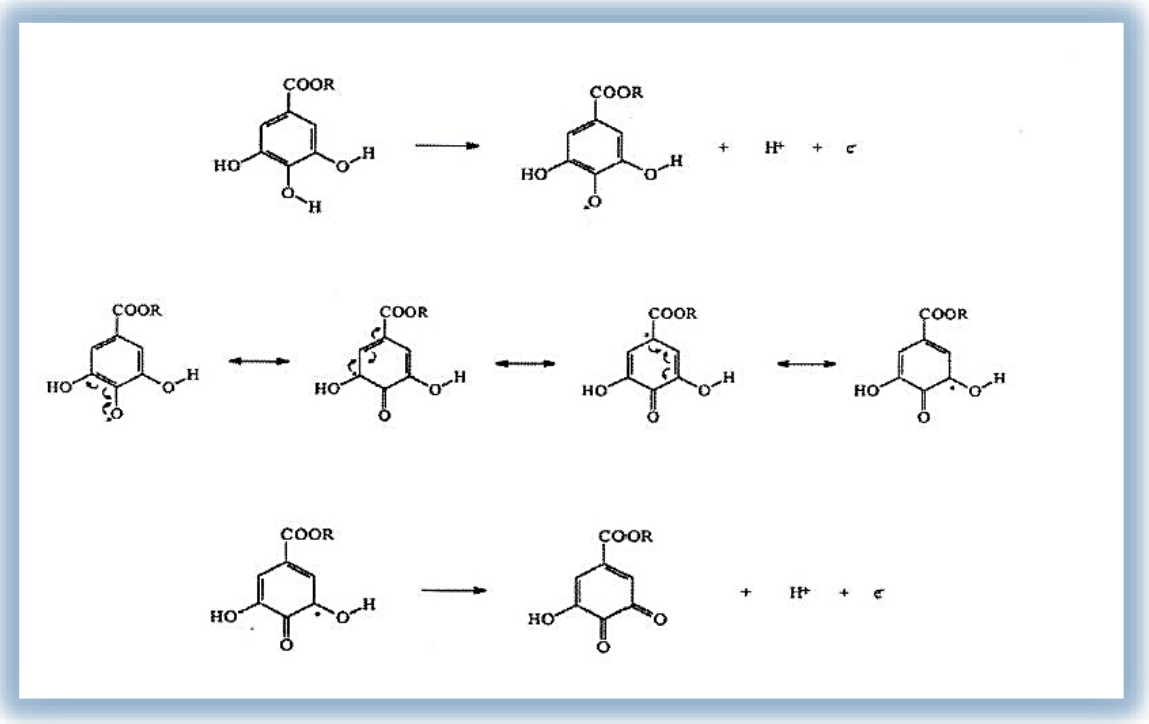
$$\boldsymbol{Red} \Leftrightarrow \boldsymbol{Ox} + \boldsymbol{H^+} + é$$

حيث:

Red: المركب الفينولي (عامل مرجع).

Ox : الناتج المؤكسد .

والشكل التالي يوضح الية اكسدة حمض الغاليك او أحد مشتقاته:



الشكل (IV-15): الية اكسدة حمض الغاليك او أحد مشتقاته

3.2.6.IV طريقة التقدير الكمي للفينولات :

المبدأ:

كمية الفينولات تكمن في أنها عوامل مرجعية تميل إلى التأكسد بسهولة على الأقطاب الخاملة، هذا ما جعلها تكون محل دراسات كهروكيميائية.

المنحنى الفولطاامبيرومتري الحلقي مقسم إلى قسمين مصعدي في جهة الكمون الموجب ومهبطي في جهة الكمون السالب حيث القسم المصعدي يمكننا من استخراج معطيات متعلقة بقابلية الجزيئات لمنح إلكترونات للمصعد [28] .

النتائج المتحصل عليها من المنحنى الفولطاامبيرومتري الحلقي للعينة المدروسة يتم مقارنتها بحمض الغاليك الذي يعتبر مركب قياسي من خلاله يمكن استخلاص الكمية المكافئة [29].

خطوات العمل:

تحضير مسرى العمل الذي يعتبر الركيزة الأساسية للدراسة الكهروكيميائية، تتم على سطحه عملية الأكسدة والارجاع، حيث نستعمل المسرى المرجعي والمسرى المساعد ومسرى العمل، تتم التجربة عبر مراحل:

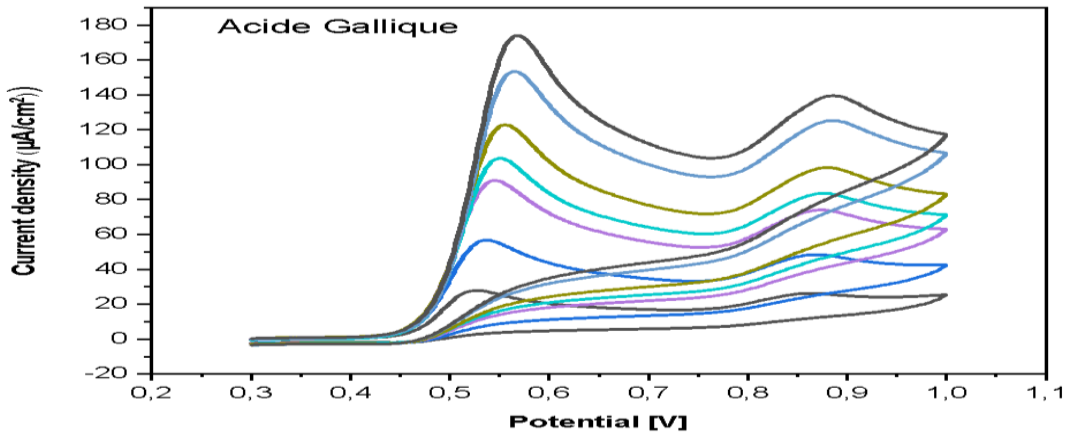
- **المرحلة الأولى:**

يتم تحضير تركيز معلوم من حمض الغاليك (0.01mM) وكذلك تحضير الخلية الكهروكيميائية التي تحوي على وسط موقي ذو (pH=2) وكهروليت مساعد (KCl)

- **المرحلة الثانية:**

يتم رسم المنحنيات الفولطاامبيرومترية الحلقية وفق تراكيز متزايدة لحمض الغاليك في الخلية الكهروكيميائية بعد ضبط مجال الفاعلية وسرعة المسح حيث أن: الكمون (0-1200mV) وسرعة المسح (100 mV/s).

تم الحصول على المنحنيات كما هو موضح في الشكل **(16. IV)**:

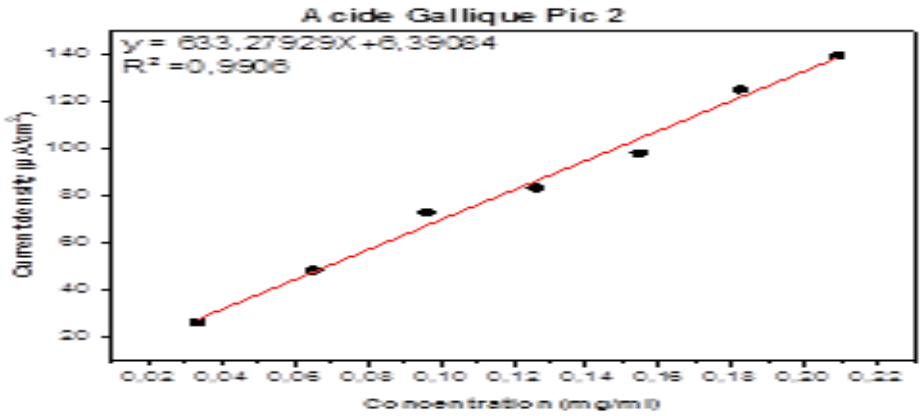


الشكل (IV-16): المنحنيات الفولطا مترية الحلقية لحمض الغاليك

نلاحظ في الشكل أن الزيادة المنتظمة لتركيز حمض الغاليك في الخلية يعطي منحنيات فولطاامبيرومترية ذات كثافة تيار كهربائي متزايدة بانتظام، وهذا ما يدل على صحة الخطوات العملية المنجزة.

- **المرحلة الثالثة:**

بعد رسم المنحنيات الفولطاامبيرومترية الحلقية للتراكيز نقوم بإيجاد كثافة التيار عند قمم (نتوء) الموجة المصعدية (تفاعل غير عكوس) لكل منحنى، حتى نحصل على منحنى قياسي لحمض الغاليك الشكل **(IV . 17)**: يمثل كثافة التيار بدلالة التركيز I=f(C).



الشكل (IV-17): المنحنى القياسي لحمض الغاليك حسب الطريقة الفولطاامبيرومترية الحلقية

- **المرحلة الرابعة:**

نرسم المنحنى الفولطاامبيرومتري الحلقي للعينات المدروسة ذات التركيز (50mg/ml)، ثم نستنتج شدة التيار المصعدية التي يتم إسقاطها على المنحنى القياسي، فنحصل على التركيز المكافئ من حمض الغاليك [29]-[30]

IV.7. تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة بالطرق الكيميائية:

وهي قياس لقدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذر الحر أو توقيف عملية الأكسدة، تقدر الفاعلية المضادة للأكسدة بعدة طرق نذكر منها: اختبار (DPPH)، أو اختبار (FRAP)، أو

اختبار (ABTS) أو اختبار (LMWA) أو اختبار (TRAP) أو اختبار القدرة الإرجاعية (PR)، وهذه الطرق تعتمد على التلوين ونزعه في طول موجي معين.[31]

وفي هذه الدراسة تم إختبار DPPH لقياس قدرة التثبيط.

IV.1.7. اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH•:

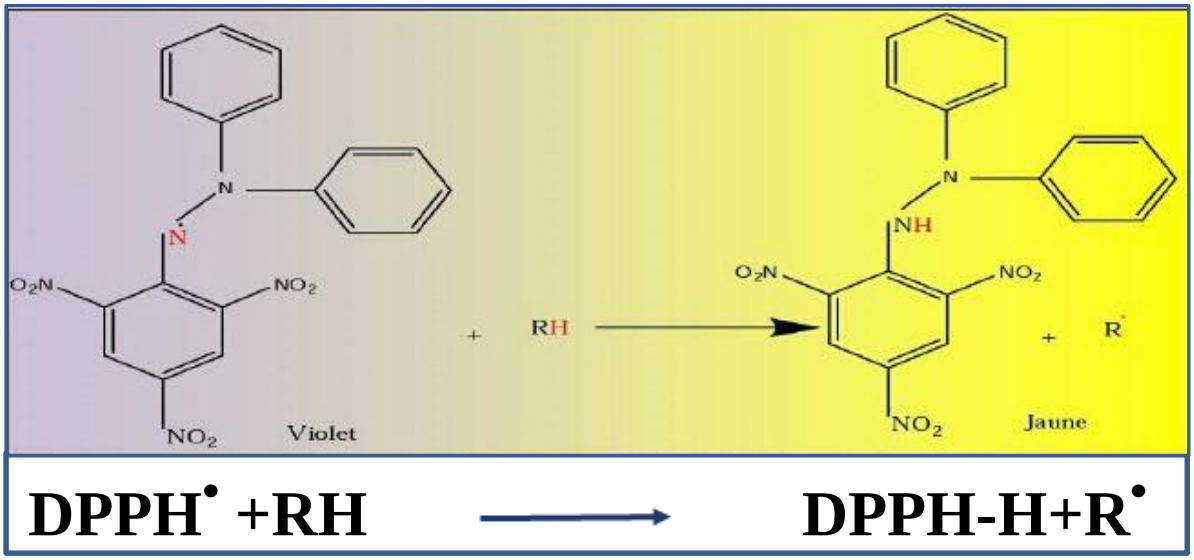
ان الجذر DPPH• (2,2- Diphenyl-1-picryl-Hydrazyl) من أحد الجذور الحرة المستقرة والمستعملة لدراسة علاقة النشاط المضاد للأكسدة للمركبات الفينولية . هذا الجذر يحوي على إلكترون منفرد على مستوى الجسر الأزوتي.

في حالة إذابة هذا الجذر DPPH• نتحصل على الصيغة المؤكسدة له مما يؤدي الى عدم استقرار هذا المركب، الذي يتميز بلون بنفسجي عند طول موجي 517nm. [32]

اختبار DPPH• هو اختبار مضاد الجذور الحرة سبق تعريفه منذ 50 سنة ماضية من طرف BLOIS سنة 1958.

ويعتمد هذا الاختبار على نسبة إرجاع الجذر DPPH• في وجود مركب مضاد للأكسدة (المستخلصات الفينولية) قادرة على منح إلكترون أو جذر هيدروجيني ويظهر ذلك من خلال التفاعل اللوني للجذر DPPH• ذو اللون البنفسجي الداكن الذي يتحول إلى جزيئة مستقرة DPPH-H وهي مادة صلبة غير جذرية لونها أصفر ويقاس التغيير اللوني بقياس الانخفاض في قيم الامتصاصية عند الطول الموجي 517nm، نقصان الامتصاصية يدل على زيادة في تثبيط الجذر الحر (الكبح العالي للجذر الحر) والعكس صحيح وتحدد قدرة مضادات الجذور الحرة بعبارة كمية حسابية انطلاقا من نسب التثبيط المئوي بدلالة تركيز المحلول النتيجة تعبر عنها بـ IC_{50} والتي تعرف بأنها كمية مضادات الأكسدة اللازمة لتثبيط 50 % من الجذر الحر DPPH• وتكون متناسبة عكسيا مع كمية مضادات الأكسدة أي أن انخفاض قيمة IC_{50} يشير إلى نشاط أعلى لمضادات الأكسدة [33]

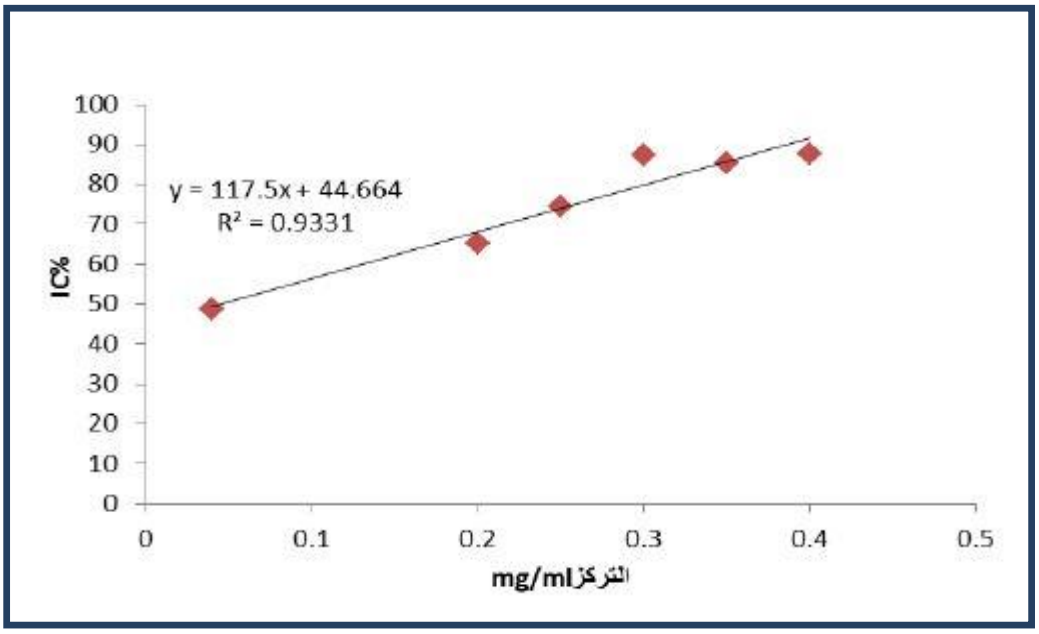
وفيما يلي الشكل (**18.IV**) يمثل: ألية ارجاع الجذر DPPH• في وجود عامل مضاد للأكسدة



الشكل (IV-18): ألية ارجاع الجذر DPPH• في وجود عامل مضاد للأكسدة

IV.1.1.7. المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك:

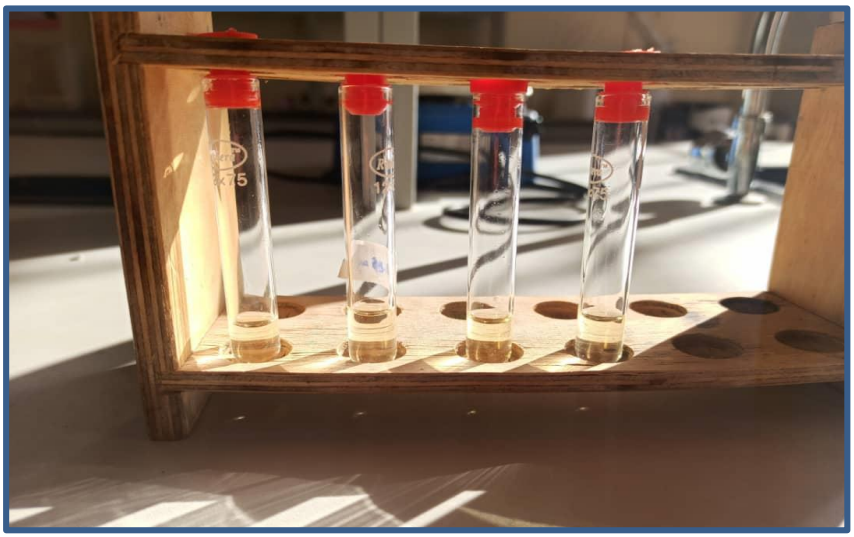
يتم تحضير محلول DPPH في الميثانول، حيث نأخذ كتلة قدرها 2ملغ من DPPH مذابة في 50مل ميثانول فنحصل على محلول بنفسجي داكن، ثم نقوم بتحضير تراكيز مختلفة من حمض الأسكوربيك تتراوح ما بين 0.04-0.4 (ملغ/مل)، نأخذ من كل تركيز 1مل نضيف له 1مل من محلول DPPH في أنابيب زجاجية، نتركه في الظلام مدة 30 دقيقة عند درجة حرارة المخبر، تقرأ الامتصاصية عند طول موجة $\boldsymbol{\lambda = 517\ nm}$ [34]



الشكل (IV-19): المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك

IV.2.1.7. اختبار DPPH للمستخلصات الفينولية:

يتم تحضير محلول DPPH في الميثانول، وذلك بأخذ كتلة قدرها 2 ملغ من DPPH مذابة في 50 مل من الميثانول فنتحصل على محلول بنفسجي داكن. ثم نقوم بتحضير محاليل مخففة بتراكيز مختلفة من المستخلصات، نأخذ من كل تركيز 1 مل ثم نضيف له 1 مل من DPPH في انابيب زجاجية، نجانس المحلول، ونتركه لمدة 30 دقيقة في الظلام، بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visibleعند طول الموجة $\boldsymbol{\lambda = 517\ nm}$



الشكل (IV-20): صورة لبعض المستخلصات بعد إضافة DPPH

IV.3.1.7.حساب نسبة التثبيط I% للجذر الحر DPPH:

وتحسب نسبة التثبيط المئوية لمختلف التراكيز للمستخلصات وفق العلاقة التالية:

$$IC\% = \frac{At_0 - At_{30}}{At_0} \times 100$$

At_0: الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلصات.

At_{30}: الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر + المستخلصات) بعد مرور 30 دقيقة.

$I\%$: نسبة تثبيط العامل المضاد للأكسدة لجذر $DPP\dot{H}$.

IV .8. دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا:

تمت هذه الدراسة على مستوى مخبر المجد بالوادي إبتداء من يوم(26/04/2023) لمعرفة تأثير المستخلصات تجاه نوعين من بكتيريا ممرضة بتطبيق أشهر الطرق وهي طريقة الإنتشار حول الأقراص حيث تعتمد هذه الأخيرة على وضع أقراص مشبعة بالمضادات الحيوية على طبق مزروع زرعا متجانسا بالبكتيريا على وسط صلب من الجيلوز gelose من أهم هذه الأوساط هو Muller Hinton، وبعد حضن الأطباق لمدة 24 ساعة يقاس قطر دوائر التثبيط حول الأقراص وكلما زادا القطر ازدادت قدرة المضاد الحيوي على قتل أو كبح نمو البكتيريا [35] .

IV.8.1. جمع السلالات البكتيرية المستهدفة:

تم الحصول على السلالات البكتيرية من مخبر المجد بالوادي، والبكتيريا المستعملة في هذه الدراسة هي:

جدول (IV-1): السلالات البكتيرية المختبرة

البكتيريا المدروسة	المرجع	طبيعة الجدار الخلوي
Escherichia coli	ATCC 25922	غرام سلبي
Staphylococcus aureus	ATCC 25932	غرام ايجابي

IV.8.2.طريقة العمل:

قبل الشروع في هذا العمل يجب تعقيم كل الأدوات في المعقمة والتنظيف الجيد لمكان العمل بالقرب من موقد بنزين سنتبع في هذا العمل طريقة الانتشار كما في الخطوات التالية:

IV.8.2.1. تحضير تركيز المستخلصات:

تم تحضير تركيزين مختلفين لكل مستخلص كتالي: المستخلصات الفينولية بتراكيز (80، 40) ملغ/ مل ومستخلصات الزيوت الطيارة بتراكيز مئوية (12.5%، 25%، 50%)، مستخلصات الاملاح القلويدية بتركيز 30 ملغ/مل، حيث أذيبت المستخلصات الفينولية والزيوت الطيارة في مذيب DMSO أما الأملاح القلويدية فقد أذيبت في الماء المقطر.

IV.8.2.2. تحضير الأقراص:

تم قص ورق الترشيح Whatman إلى أقراص بقطر 6 ملم، ثم وضعت هذه الأقراص في أنبوب اختبار زجاجي يحتوي على 10 مل ماء مقطر ومن ثم وضعت في جهاز المعقمة (Autoclave) لمدة 20 دقيقة على درجة حرارة 120°C، بعدها تم التخلص من الماء ثم نقلت الأقراص إلى الحاضنة حتى تجف.

IV.3.2.8. تحضير وسط الزرع:

يتم تحضير أوساط الزرع بتسخين محلول الغلوكوزي Muller Hinton في حمام مائي درجة حرارته 85°C، بعدها تسكب بكميات محددة في علب بتري معقمة بسمك 5 ملم، ونتركها تبرد حتى تتجانس وتتماسك ثم تجف في الفرن لإزالة الرطوبة المتبقية [36] .

IV.4.2.8. تحضير المعلق البكتيري:

باستخدام العود القطني نأخذ الجذمة البكتيرية، ونضعها في أنبوب اختبار يحوي على 3 مل من الماء الفيزيولوجي المعقم نقوم بالرج جيدا حتى يتجانس المحلول بوجود موقد بنزين لتجنب إتلاف الوسط من البكتيريا، ثم نزرع نوع بكتيري في علبة بتري حيث يتم المسح بالعود القطني وتوزيع البكتيريا على مستوى السطح بشكل منتظم.

IV.5.2.8. تشبيع الأقراص بتراكيز المستخلصات:

- **بالنسبة للمستخلصات الفينولية والزيوت الاساسية:**

نشبع الأقراص بالاستعانة بملقط معقم، حيث بطرف القرص نلمس المستخلص النباتي ليتبلل تلقائيا، العملية تتم لاربعة أقراص تشبع بتركيزين للمستخلصين فينوليين مختلفين (اسيتات الايثيل ،البوتانول) وأربعة أقراص تشبع بثلاث تراكيز للمستخلص الزيوت الاساسية مع قرص شاهد مشبع، نتركه بشكل مقلوب في الحاضنة تحت درجة حرارة 37°C لمدة 24 ساعة.

- **بالنسبة للمستخلصات القلويدية:**

بنفس الطريقة نكرر العملية لمستخلص قلويدات وذلك بإذابتهما في الماء المقطر لكونهما أملاح قلويدية، حيث تشبع اربعة أقراص للمستخلص قلويدي، نتركه بشكل مقلوب في الحاضنة تحت درجة حرارة 37C° لمدة 24 ساعة.

ملاحظة:

- ✓ هذه العملية تتم لكل بكتيريا على حدى: *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*

المراجع باللغة العربية:

[1] الدكتور الشحات نصر أبو زيد (2007). الطب التكميلي بالعلاج الشعبي للنباتات الطبية والعطرية. دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع –القاهرة، ص 7،8

[2] م.س. هيكل، عبد الرزاق عمر (1993). " النباتات الطبية والعطرية، كيمياؤها، انتاجها، فوائدها "، منشأة المعارف للنشر، الطبعة الثانية، الاسكندرية، ص 130–134

[3] ش. أبو زيد (2005)." فسيولوجيا وكيمياء القلويدات في النباتات الطبية وأهميتها الدوائية والعلاجية، دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع، القاهرة، ص 496.

[7] الأحمادي بشيرة 2017. التقدير الكمي، الكيفي للمركبات الفينولية ودراسة الفعالية المضادة للأكسدة والضد بكتيرية لمستخلصات ثمار نبات القناوية Abelmoxhus exulentus، مذكرة ماستر، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[8] غزالة عبد الله حسن غميض 2019.دراسة فيتوكيميائية وبيولوجية لبعض المستخلصات العضوية لنبات المورينجا اوليفيرا Moringa oleifera، مذكرة بكالوريوس، كلية العلوم، جامعة سبها، ليبيا.

[17] ربيعي عبد الكريم 2010. المساهمة في دراسة الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصات بروبوليس، جنوب الجزائر بالطرق الكميائية والكهرو كميائية، مذكرة ماجيستير في الكمياء التحليلية، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.

[19] باي سمية، ذويب اسراء، (2021). دراسة مقارنة للتركيب الكيميائي والخواص البيولوجية لنباتات الزعتر البري التي تنمو في السهول العليا الجزائرية، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[21] سبوعي عفاف، دركي مروة، (2019). دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات الفينولية والقلويدية لعشبة العلندة، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[24] بلفار آسيا 2018. دراسة القدرة المضادة للاكسدة وللبكتيريا والتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات limosniastrum guyonianum (Dur). مذكرة دكتوراه ل.م.د. تخصص التحاليل الفيزيوكيميائية وفعالية العينات الجزيئية. جامعة قاصدي مرباح. ورقلة.

[31] مصطفى بوقوادة (2008). دراسة فيتوكيميائية لليبيدات والفينولات في بعض أنواع التمر المحلى، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماجستير، تخصص التحضير العضوي والفيتو كيمياء، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.

[34] حرزولي يمينة 2018. دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات العضوية لنبات Moltikia Ciliata، مذكرة تخرج لشهادة ماستر في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية وتحليلية، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[36] علاوي مسعودة. الدراسة الفيتوكيميائية والتقييم الميكروبيولوجي لنبتتين من الفصيلة الرمرامية تستعملان في طب التقليدي الصحراوي.

المراجع باللغة الأجنبية:

[4]A.Mahmoud ,M.Nawwar, A.Sahar M.Hussein,I.Merfort, (1994). Spectral analysis of polyphenols from punica granatum, phytochemistry, p793-798

[5] M.Q. Samejo, A. Sumbul, S. Shah, S.B. Memon, and S. Chundrigar. (2013). Phytochemical screening of TamarixdioicaRoxb. ex Roch. Journal of Pharmacy Research. 7(2): p. 181-183.

[6] Ilboudo, S., Ouedraogo, M., Some, N., Ouedraogo, M., Ouedraogo, M., & Guissou, P. I. (2009). Criblage phytochimique et evaluation de la toxicite aigue de pisolithus tinctorius (basidiomycète). J Sci Pharm Biol, 10, 6-13.

[9] Chevion S., Chevion M, Chock P.B., Beecher G.R, (1999). Jornale of Medicinal Food .

[10] Chevion S., Roberts M.A, Chevion M, (2000). Frre Radical Biology and Medicine.

[11] Markham, K.R.(1982).Techniques of flavonoid identification (chapter 1and 2). London: Academic Press ,PP.1-113.

[12] Said Rahal, (2009)."Chimie des produits naturels et des etres vivants",Alger,p 63-78.

[13] Bruneton ,J.(1999).Pharmacognosie,Phytochimie des plantes medicinales .3rd Edition ,Tec et Doc, Paris.

[14]Boukri, N. E. H. (2014). Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Thème Master Academique. Université Kasdi Merbah Ouargla, P99.

[15]Asadi, S., Ahmadiani, A., Esmaeili, M. A., Sonboli, A., Ansari, N., & Khodagholi, F. (2010). In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six Salvia species from Iran: a comparative study. Food and chemical toxicology, 48(5), 1341-1349.

[16] Hamidi, A. (2013). Etude phytochimique et activité biologique de la plante Limoniastrum guyonianum. Mémoire de magister en chimie organique. Université Kasdi Merbah, Ouargla.

[18] Karabegović, I., Nikolova, M., Veličković, D., Stojičević, S., Veljković, V., & Lazić, M. (2011). Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the Artemisia sp. recovered by different extraction techniques. Chinese journal of chemical engineering, 19(3), 504-511.

[20] Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food chemistry, 64(4), 555-559.

[22] Tur'yan, Y. I., Gorenbein, P., & Kohen, R. (2004). Theory of the oxygen voltammetric electroreduction process in the presence of an antioxidant for estimation of antioxidant activity. Journal of Electroanalytical Chemistry, 571(2), 183-188.

[23] Blasco, A. J., González, M. C., & Escarpa, A. (2004). Electrochemical approach for discriminating and measuring predominant flavonoids and phenolic acids using differential pulse voltammetry: towards an electrochemical index of natural antioxidants. Analytica Chimica Acta, 511(1), 71-81.

[25] Joseph Wang. (2001). Analytical electrochemistry,2nd ED, A johen Wiley & Sons, INC, Publication, NEW YORK, 1-100.

[26] Tur'yan, Y. I., Gorenbein, P., & Kohen, R. (2004). Theory of the oxygen voltammetric electroreduction process in the presence of an antioxidant for estimation of antioxidant activity. Journal of Electroanalytical Chemistry, 571(2), 183-188.

[27] W. R.Sousa; C.da Rocha; C. L.Cardoso; S. D. H.Silva, J.Food Comp.(2004). Anal. 17 619.

[28] S. Chevion, E.M. Berry, N. Kitrossky, R. Kohen. (1997). Free Radic.Biol. Med. 22 .411.106.

[29] CHEVION, S., CHEVION, M., Chock, P. B., & BEECHER, G. R. (1999). Antioxidant capacity of edible plants: Extraction protocol and direct evaluation by cyclic voltammetry. Journal of Medicinal Food, 2(1), 1-10.

[30] Chevion, S., Roberts, M. A., & Chevion, M. (2000). The use of cyclic voltammetry for the evaluation of antioxidant capacity. Free radical biology and medicine, 28(6), 860-870.

[32] Hamada Djamila ,(2016). Etude structure Activité des Principes Actifs de la plante Anvillearadiate Asteraceae .Thèse de Doctorat . Université Kasdi Merbah, Ouargla., p133.

[33] Korotkova, E. I., Karbainov, Y. A., &Avramchik, O. A. (2003). Investigation of antioxidant and catalytic properties of some biologically active substances by voltammetry. Analytical and bioanalytical chemistry, 375(3), 465- 468.

[35] Guérin-Faublée, V., & Carret, G. (1999). L'antibiogramme : principe, méthodologie intérêt et limites. Journées nationales GTV-INRA, 5-12.

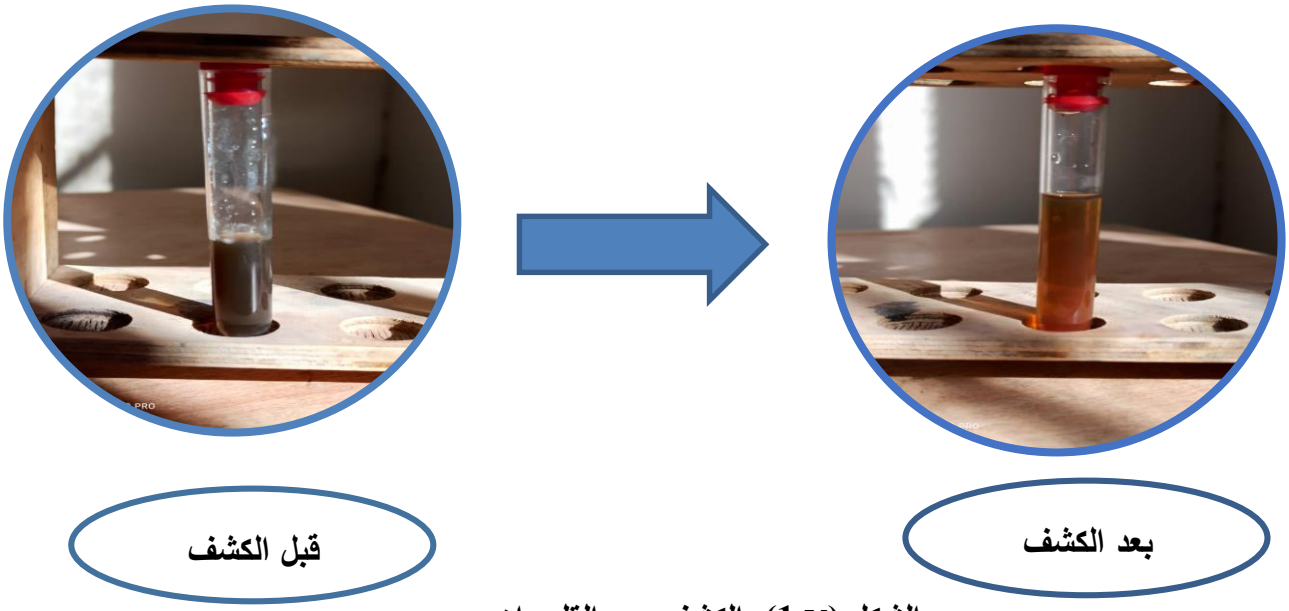
الفصل الخامس

النتائج والمناقشة

1.V. الكشف عن مواد الايض الثانوي في نبات المردقوش *Origanum majorana*:

-في الكشف عن القلويدات:

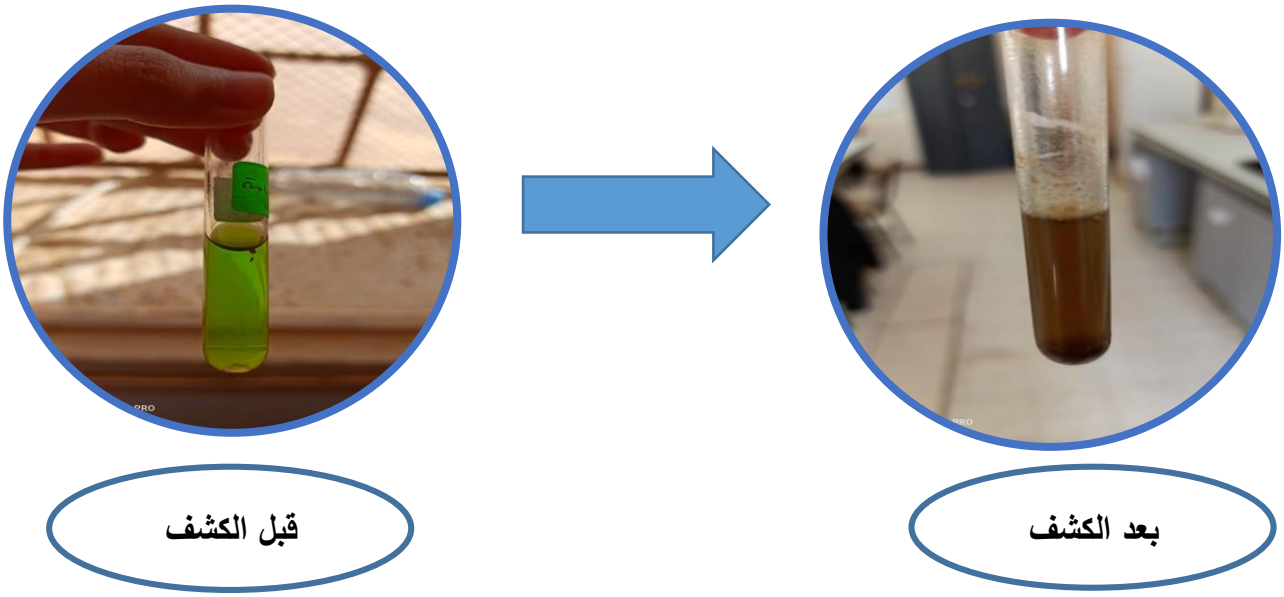
نلاحظ ظهور راسب برتقالي دلالة على وجود القلويدات



الشكل (1.V): الكشف عن القلويدات

-في الكشف عن الفينولات:

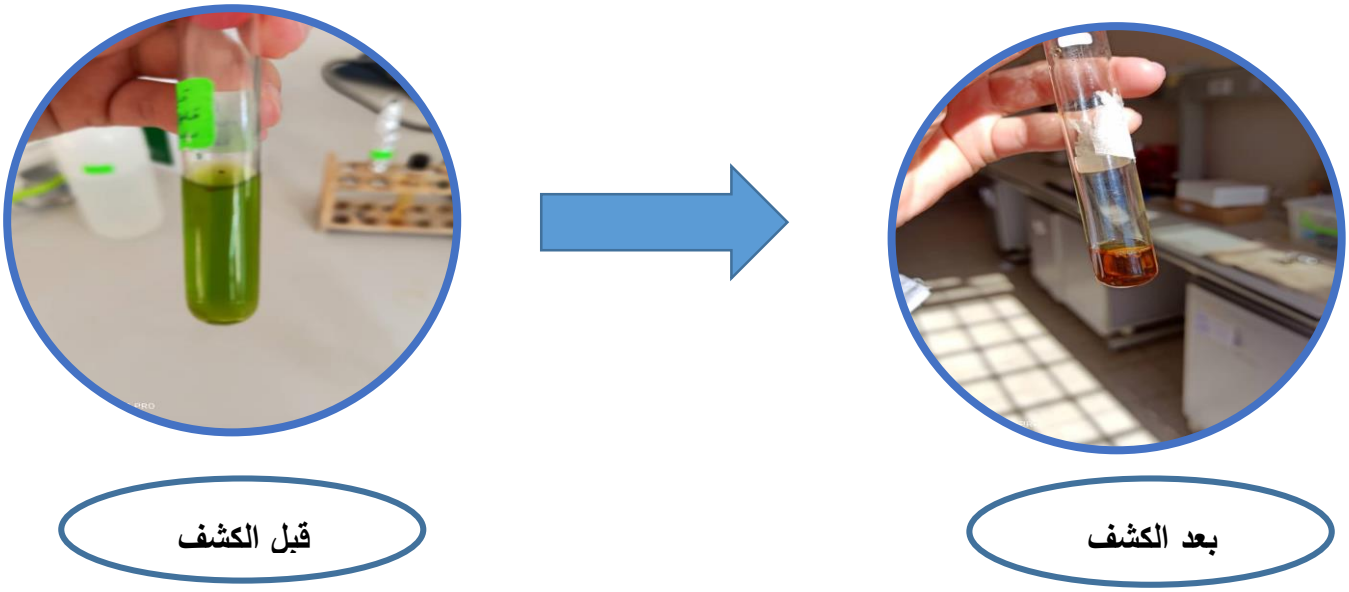
نلاحظ تدرج اللون من فاتح إلى داكن يميل إلى السواد، وهذا دليل على وجود الفينولات.



الشكل (2.V): الكشف عن الفينولات

-في الكشف عن الفلافونويدات:

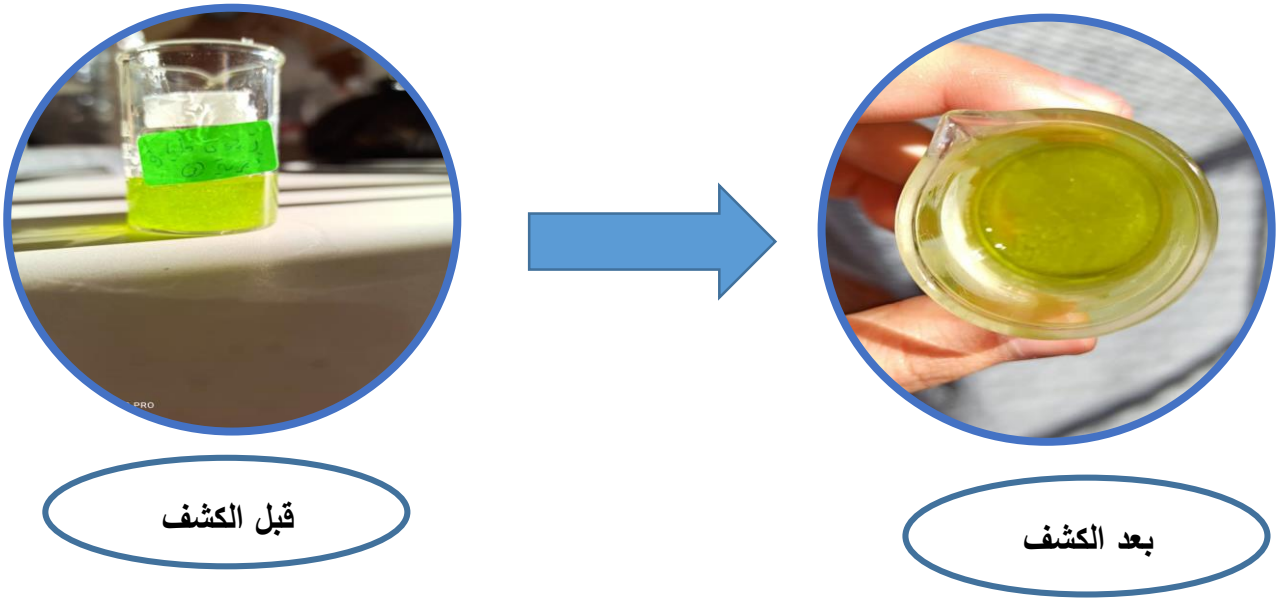
نلاحظ ظهور اللون الأحمر دلالة على وجود الفلافونويدات



الشكل (3.V): الكشف عن الفلافونويدات

-في الكشف عن الزيوت الاساسية:

نلاحظ انبعاث رائحة عطرية زكية دلالة على وجود الزيوت الطيارة.



الشكل (4.V): الكشف عن الزيوت الاساسية

جدول (V-1): نتائج الكشف الكيميائي للمنتجات الطبيعية الفعالة في نبات *Origanum majorana L*

المنتجات الفعالة في النبات	نبتة المردقوش *O.majorana*
القلويدات	+
الفينولات	+
الفلافونويدات	+
الزيوت الأساسية	+

ملاحظة:

-(+) وجود المادة الفعالة

-(-) غياب المادة الفعالة.

مناقشة النتائج:

✓ أظهرت نتائج الفحص الكيميائي عن المنتجات الفعالة لنبات *Origanum majorana L* على وجود الفينولات، الفلافونويدات، القلويدات والزيوت الأساسية.

✓ تتوافق النتائج المتحصل عليها مع نتائج دراسة التي قام بها **Shan ومعاونوه (2005)** التي اثبتت وجود كل من الفينولات والفلافونويدات والزيوت الأساسية [1]

✓ بينما تتعارض هذه النتائج مع نتائج الدراسة التي أجرتها **Bernaoui yazza و معاونوها (2018)** على نبات *O.majorana* التي أثبتت غياب القلويدات [2] و كذلك الدراسة التي قامت بها **Bia soumia (2019)** على نفس النبات التي أثبتت غياب القلويدات .[3]

✓ هذه المنتجات الطبيعية النباتية تلعب دورا حيويا لعلاج أنواع مختلفة من الأمراض وبالتالي فإنها لا تزال تستخدم في نظام الطب التقليدي والحديث [4]. حيث أظهرت دراسات سابقة على النباتات أن المركبات الفينولية تمتلك خصائص بيولوجية مثل الوقاية من امراض القلب وحماية خلايا الأوعية الدموية، مضاد للالتهابات، مضاد لمسببات السرطان...الخ. [5]-[6]

2.V.حساب مردود المستخلصات:

نرمز للمستخلصات بالرموز التالية:

- ❖ مستخلص املاح القلويدات لنبتة المردقوش Alc
- ❖ مستخلص البوتانول لنبتة المردقوش PHb
- ❖ مستخلص اسيتات الايثيل لنبتة المردقوش PHa
- ❖ مستخلص الزيوت الطيارة لنبتة المردقوش HE

R%: المردود %

$$R\% = m_f / m_i$$

$\mathbf{m_f}$: الكتلة النهائية.

$\mathbf{m_i}$: الكتلة الابتدائية.

بعد عملية الاستخلاص تحصلنا على النتائج المدونة في الجدول **(2.V)**

جدول (V-2): قيم مردود الاستخلاص

العينة	Alc	PHb	PHa	HE
الكتلة الأولية (g)	50	50	50	50
الكتلة النهائية (g)	0.0378	1.0087	0.496	1
المردود %	0.0756	2.0174	0.992	2

✓ من خلال النتائج المدونة في الجدول **(2.V)** نلاحظ وجود تباين في نسب مردود الاستخلاص.

✓ حيث ان مردود استخلاص الفينولات (PHa،PHb)، اعلى قيمة مردود سجلت في مستخلص البوتانول وقدرت ب 2.0174% واقل قيمة مردود سجلت عند مستخلص اسيتات الايثيل وقدرت ب0.992%.

✓ وقد بينت الدراسات السابقة التي قامت بها **Sefsaf Hafidha (2016)** باستخلاص بالانظمة مختلفة لنبتة *O.majorana* والتي هي الكلورفورم، الايثانول، الماء–الميثانول بنسبة 5/1 فكان المردود على التوالي كما يلي :4.5%، 4.55%، 2.5%. [7]

✓ وكما قامت **Bia soumia (2019)** بالحصول على مستخلص مائي لنبتة *O.majorana* فكان المردود 16.66% [3]

✓ ويعود هذا الاختلاف في مردود الاستخلاص إلى نوع المذيب المستعمل في الاستخلاص والمركبات المستخلصة، بسبب قطبية المذيب ودرجة غليانه وكذلك إلى المناطق والظروف البيئية المختلفة التي ينمو فيها النبات.

✓ اما بالنسبة لمردود زيت المردقوش فقدر ب 2% في دراستنا، بينما في دراسات أخرى قدر مردود زيت المردقوش بنسب اعلى ومتقاربة مما تحصلنا عليه، فقد تحصلت **Bernaoui yazza ومعاونوها (2018)** على مردود قدر ب2.36% [2]، بينما قدر عند **Lakhrissi (2016)** ب2.5% [8]، وعند **Dipali (2016)** كانت نسبة المردود بين 0.7% الى 3.5% [9]، وعند **Soliman (2009)** حدد مردود هذا النبات الذي تم جمعه في الفصول الأربعة (الشتاء، الربيع، الصيف، الخريف) اعطى قيم قدرت ب 2.8%، 3%، 2.5%، 2.5% على التوالي .[10]

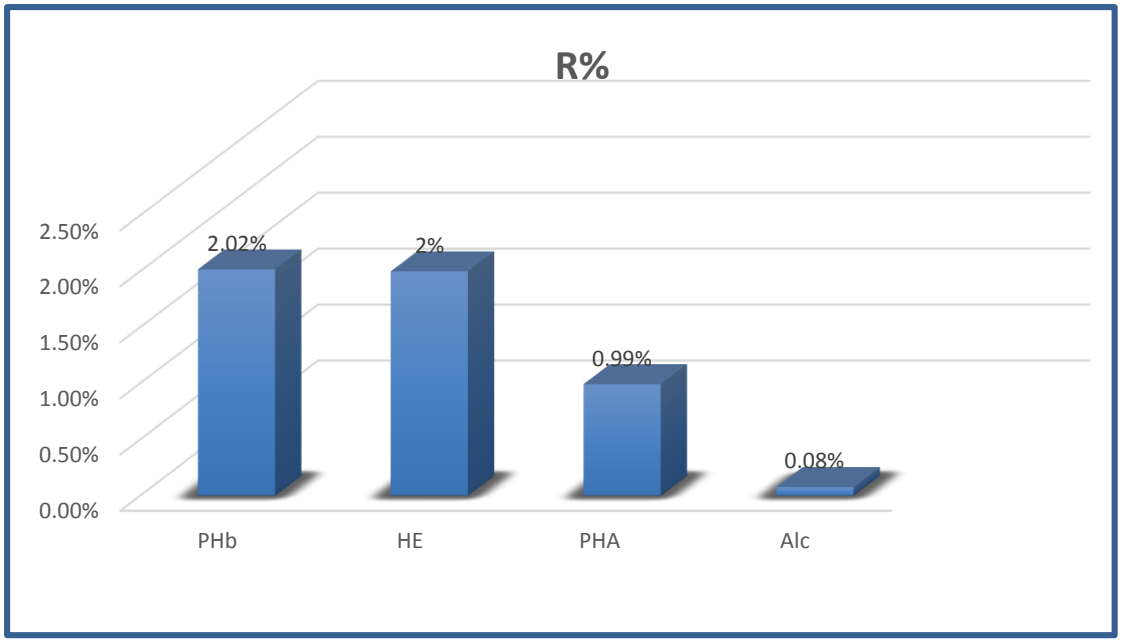
✓ وبمعرفة ان نبتة المردقوش غنية بالزيوت الطيارة حسب الدراسات السابقة [11]، توصل المردود عند **جهاد بن عمر ومعاونوها (2017)** الى 5.42% [12] وعند **Bishnu ومعاونوه (2009)** الى 5.57% [13]، وهذه النسب تعتبر مرتفعة لما تحصلنا عليه.

✓ ونحن نتفق مع تفسير أوضحه **Akrout وآخرون (2010)** أن مردود الزيت يختلف باختلاف النوع حتى في نفس النوع يختلف اختلافا كبيرا، وهذا راجع للموقع الجغرافي وفصل الجمع.[14]

✓ ومع تفسير **عمر وهيكل (1993)**، أنه هناك العديد من العوامل المؤثرة على الكمية التي ينتجها النبات من الزيوت الأساسية خاصة البيئية كالحرارة الرطوبة، العضو النباتي المستخدم، وقت جني النبات، عمر النبات وطور النمو. [15]

✓ اما بالنسبة لاملاح القلويدات فكان المردود صغيرا جدا وقدر ب 0.0756%.

ولتوضيح النتائج أكثرنمثل نتائج الجدول **(2.V)** في الشكل **(5.V):**



الشكل (5.V): أعمدة بيانية تمثل مردود المستخلصات المستعملة في الدراسة

3.V.التقدير الكمي للفينولات والفلافونويدات :

1.3.V التقدير الكمي للفينولات والفلافونويدات بواسطة جهاز UV-visible:

1.1.3.V التقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز UV-visible:

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في الجدول **(3.V):**

جدول (3-V): قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة

العينة	PHb	PHa
التركيز (mg/ml)	0.2	0.3
الامتصاصية	0.484	0.81

وبحساب رياضي وباستخدام علاقة المنحنى القياسي لحمض الغاليك قدرنا كمية الفينولات الكلية للمستخلصات الفينولية باستعمال المنحنى القياسي لحمض الغاليك، حيث تم التعبير عن

المحتوى الفينولي لكل مستخلص بعدد الملغرامات المكافئة من حمض الغاليك لكل غرام من الوزن الجاف للمستخلص (mg EAG/g).

النتائج مدونة في الجدول **(4.V):**

Y=18.065x+0.0879

جدول (4-V): كمية الفينولات الكلية في المستخلصات

العينة	PHb	PHa
الكمية mg EAG/g	109.63	133.24

مناقشة النتائج:

✓ من خلال الجدول **(4.V)** والذي يمثل التقدير الكمي لعديدات الفينول بالملغ المكافئ لحمض الغاليك لكل غرام لوزن المستخلص لوحظ وجود تباين في كمية المركبات الفينولية في مختلف المستخلصات المدروسة والتي يتراوح مقدارها بين mg EAG/g (109.63-133.24).

✓ نلاحظ أن مستخلصات البوتانول واسيتات الايثيل تحتوي كمية معتبرة من الفينولات، حيث بلغت كمية المركبات الفينولية 133.24mg EAG/g في مستخلص العينة PHa وهي تمثل أعلى نسبة في المستخلصات الفينولية، في حين سجلت أقل قيمة في المستخلص PHb والتي قدرت بـ 109.63mg EAG/g.

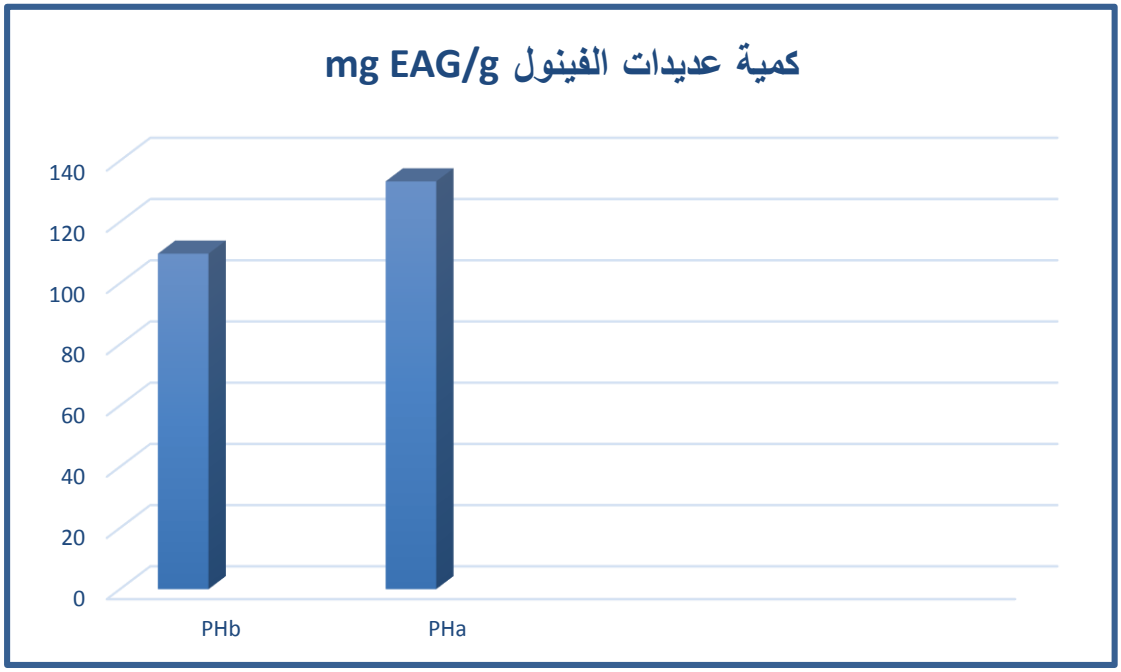
✓ وفي دراسات سابقة قامت بها كل من **Mahmah aya ومعاونوها (2022)** قدرت كمية الفينولات لكل من المستخلص المائي والمستخلص الهيدروكحولي (MeOH /H_2O) نسبته 8/2، فكانت الكميات على التوالي 129.48 mg EAG/g، 146.09[16]، وهذه القيم تعتبر متقاربة نوعا ما مما تحصلنا عليه.

✓ وتحصلت أيضا كل من **Harrez NourElhouda ومعاونوها (2019)** على كمية فينولات في مستخلص هيدروكحولي MeOH نسبته 85% قدرت ب 9.127µg EAG/mg [17] وتحصلت كل من **Sefsaf Hafidha(2016)** في نظام استخلاص (MeOH /H_2O) نسبته 5/1،

فقدرت كمية الفينولات ب 24 mg EAG/g [7]، وتحصل أيضا **Sellami ومعاونوه (2009)** على كمية فينولات صغيرة قدرت ب 5.20 mg EAG/g [18]، وهذه الكميات الأخيرة تعتبر صغيرة جدا مقارنة بنتائج المتحصل عليها في تجربتنا.

- ووجد **Skerget ومعاونوه (2005)** كمية فينولات في مستخلص هيدروكحولي (MeOH /H_2O) لنبتة *O.vulgare* قدرت ب 186 mg EAG/g [19]، هذه الكمية تعتبر مرتفعة لما توصلنا اليه، وقام **Chun ومعاونوه (2005)** بالحصول على مستخلص مائي لنبتة *O.vulgare* يحتوي على كمية فينولات قدرت ب 52.8 mg EAG/g .[20]
- يفسر الفرق في محتوى الفينولات عند المستخلصات المدروسة إلى المذيبات المستعملة حيث أكدت دراسة إلى أن تغير المذيب يؤدي إلى التغير في كمية الفينولات في المستخلصات ويتأثر المحتوى الفينولي في المستخلص من النبات بتغير بيئة ومناخ ومكان النبات، كما تتغير كمية الفينولات من مستخلص إلى آخر حسب إختلاف المركبات الفينولية في كل مستخلص فسلوكها يختلف مع اختلاف بنيتها الكيميائية والوسط الموجودة فيه (حمضي/ قاعدي)، كذلك يعود إلى طبيعة المركبات الفينولية التي تختلف ذوبانيتها في المذيب حسب عدد مجموعة الهيدروكسيل والوزن الجزيئي، كذلك طول السلسلة الكربونية للهيكل القاعدي.

والشكل **(6.V)** يوضح فرق في كمية المركبات الفينولية بين المستخلصات:



الشكل (6.V): أعمدة بيانية تمثل كمية الفينولات للمستخلصات المدروسة

2.1.3.V التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة جهاز UV-visible:

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في الجدول **(5.V):**

جدول (5-V): قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة

العينة	PHb	PHa
التركيز (mg/ml)	0.3	0.4
الامتصاصية	0.661	0.654

وبحساب رياضي وباستخدام علاقة المنحنى القياسي للكريستين قدرنا كمية الفلافونويدات الكلية للمستخلصات الفينولية باستعمال المنحنى القياسي للكريستين، حيث تم التعبير عن المحتوى الفلافونويدي لكل مستخلص بعدد الملغرامات المكافئة من الكريستين لكل غرام من الوزن الجاف للمستخلص (mg EQ/g).

Y=11.85x+0.286

النتائج مدونة في الجدول **(6.V):**

جدول (V-6): كمية الفلافونويدات الكلية في المستخلصات

العينة	PHb	PHa
الكمية mg EQ/g	105.48	77.63

مناقشة النتائج:

✓ من خلال الجدول **(6.V)** والذي يمثل التقدير الكمي للفلافونيد بالملغ المكافئ للكرستين لكل غرام لوزن المستخلص، لوحظ وجود تباين في كمية الفلافونويدات في مختلف المستخلصات المدروسة والتي يتراوح مقدارها بين mg EQ/g (105.48-77.63).

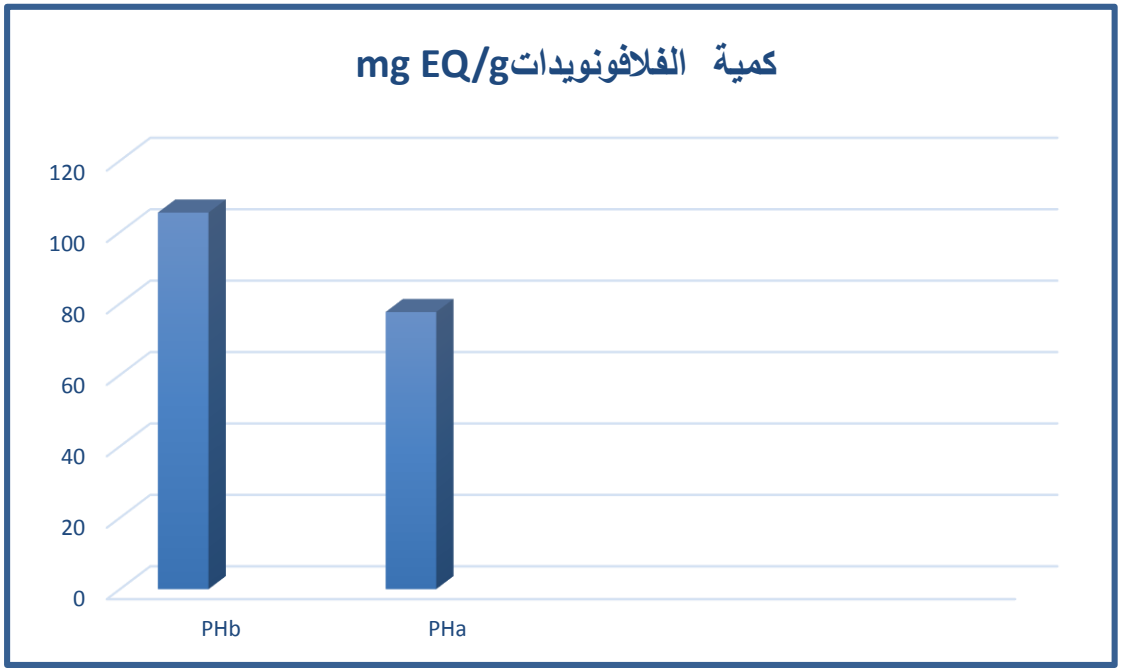
✓ نلاحظ أن مستخلصات البوتانول واسيتات الايثيل تحتوي كمية معتبرة من الفلافونويدات، حيث بلغت كمية المركبات الفلافونيدية 105.48 mg EQ/g في مستخلص العينة PHb وهي تمثل أعلى نسبة في المستخلصات، في حين سجلت أقل قيمة في المستخلص PHa والتي قدرت بـ 77.63 mg EQ/g.

✓ وفي دراسة سابقة لنفس النبات توصلت **Mahmah aya ومعاونوها (2022)** الى ان كمية الفلافونويدات في المستخلص المائي والمستخلص الهيدروكحولي ($MeOH /H_2O$) قدرت على التوالي ب 9.04 mg EQ/g، 29.14 [16] وهي تعتبر كمية منخفضة جدا مقارنة لما تحصلنا عليه في دراستنا.

✓ هذا التباين في كمية المركبات الفلافونويدية يتعلق بنوع المستخلص بمعنى آخر يتعلق بقطبية المذيب المستعمل في الاستخلاص، فالتراكيز العالية للمركبات الفلافونويدية تكون نتيجة الذوبانية العالية لها في المذيبات القطبية.

✓ ومن الملاحظ أيضا أن هناك علاقة عكسية بين كمية الفينولات وكمية الفلافونويدات، وهذا راجع للاختلاف في طبيعة المستخلص الفينولي أي راجع الى اختلاف المذيب المستعمل بالإضافة الى موقع وفصل جمع العينات النباتية، مكان ومناخ وبيئة النبات، تعتبر كلها عوامل تحدد نسبة المركبات الفينولية.

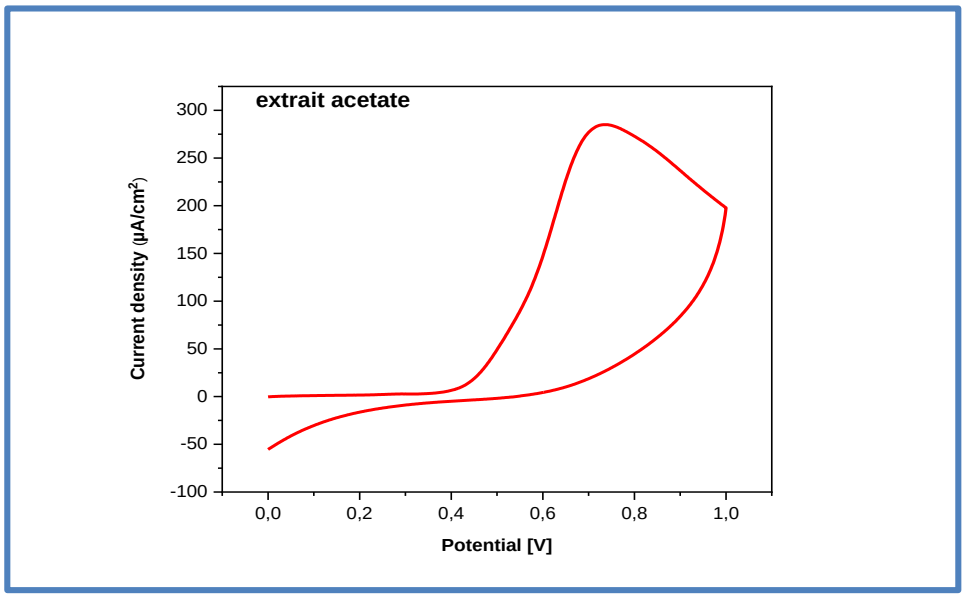
والشكل **(7.V)** يوضح فرق في كمية المركبات الفلافونيدية بين المستخلصات:



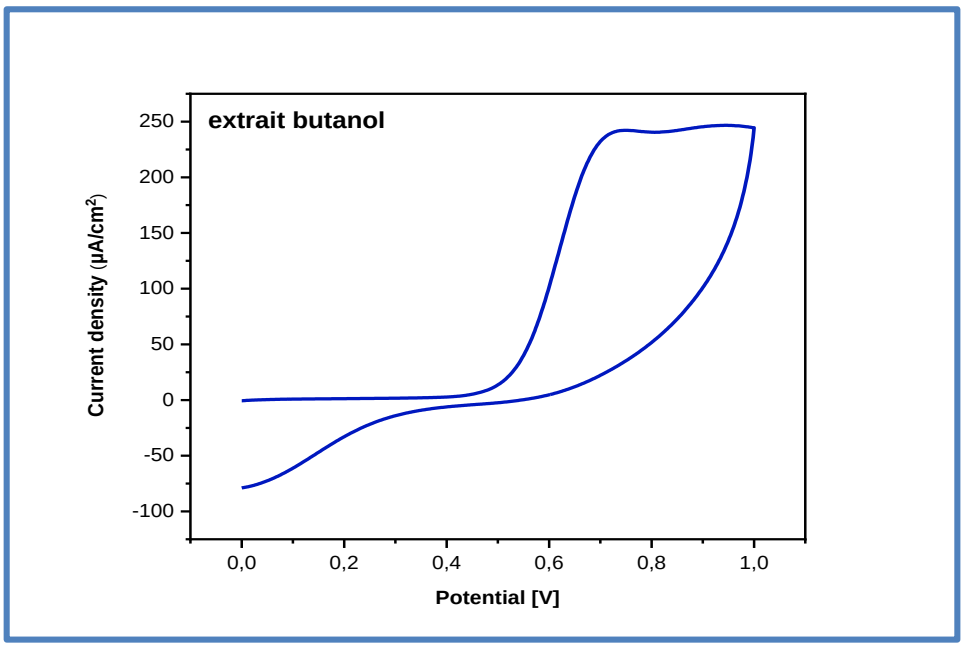
الشكل (7.V): أعمدة بيانية تمثل كمية الفلافونويدات للمستخلصات المدروسة

2.3.V. التقدير الكمي للمركبات الفينولية بطريقة (إختبار الفولطاامبيرومتري الحلقي VMC):

تحصلنا على منحنيات الفولطاامبيرومتري الحلقي للمستخلصات (PHa) و (PHb) بعد معاملتها في نفس شروط التي عاملنا بها حمض الغاليك الموضحة في الشكل **8-V** و الشكل **9-V** على التوالي.



الشكل(V-8): المنحنى الفولطاامبيرومتري الحلقي للمستخلص الفينولي PHa



الشكل(V-9): المنحنى الفولطاامبيرومتري الحلقي للمستخلص الفينولي PHb

حيث ان التركيز كل من مستخلص (PHa) و (PHb) قبل وضعهما في الخلية 50mg/ml وبعد إضافتهم الى الخلية أصبح التركيز الذي سنعتمده في الحساب هو 8.33mg/ml.

نقوم بإسقاط قمم نتوءات الثانية لمنحنيات مستخلصات (PHa) و (PHb) على المحور (y) لإيجاد قيمة شدة التيار، ومن خلال علاقة كثافة التيار بدلالة التركيز للمركب القياسي لحمض

الغاليك، فنحصل على التركيز المكافئ من حمض الغاليك في كلا المستخلصين والنتائج مدونة في الجدول (V-7).

معادلة حمض الغاليك : $I=633.27929X+6.39084$

الجدول(V-7): التقدير الكمي للفينولات في المستخلصات باستعمال الفولطاامبيرومتري الحلقي

العينة	كثافة التيار($\mu A/cm^2$)	تركيز الفينولات (mg/ml)	كمية الفينولات (mgEAG/g)
المستخلص PHa	284.148104	0.438	52.63
المستخلص PHb	246.137521	0.378	45.36

النتائج والمناقشة:

تم تقدير كمية المركبات الفينولية بطريقة الفولطاامبيرومتري الحلقي، وذلك باستعمال المنحنى القياسي لحمض الغاليك، حيث سجلنا كمية الفينولات قدرت بـ (52.63 **mgEAG/g**) بالنسبة للمستخلص (PHa) بينما تم تسجيل كمية الفينولات قدرت بـ (45.36 **mgEAG/g**) بالنسبة للمستخلص (PHb)، على ضوء هذه النتائج نستطيع القول ان كلا المستخلصين يحتويان على المركبات الفينولية بكميات معتبرة، حيث نلاحظ ان هناك تناسب طردي لكميات الفينولات المتحصل عليها في الطريقيتين المستعملين.

4.V. تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة:

1.4.V. نتائج قدرة التثبيط للجذر الحر DPPH:

بهدف تقدير النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة المردقوش، تم الاعتماد على اختبار DPPH باعتباره الأكثر تداولا، تم استعمال حمض الاسكوربيك كمركب قياسي الذي يستعمل كمادة حافظة في الصناعة الغذائية وتمت قراءة الامتصاصية وحساب النشاطية المضادة للأكسدة لمختلف التراكيز بالنسبة للمستخلصين(PHa) و (PHb) المدروسين، حيث قمنا بتدوين قيم نسبة التثبيط المئوية للعينات في الجدولين(V-8) و (V-9)

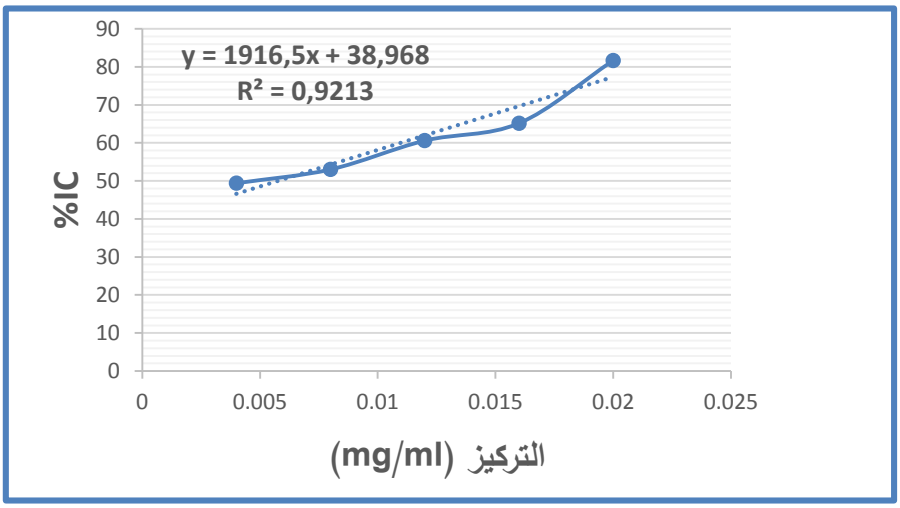
الجدول(V-8): نسبة التثبيط لمستخلص PHa

التركيز (mg/ml)	0.004	0.008	0.012	0.016	0.02
الامتصاصية	0.334	0.310	0.260	0.230	0.121
IC%	49.39	53.03	60.60	65.15	81.66

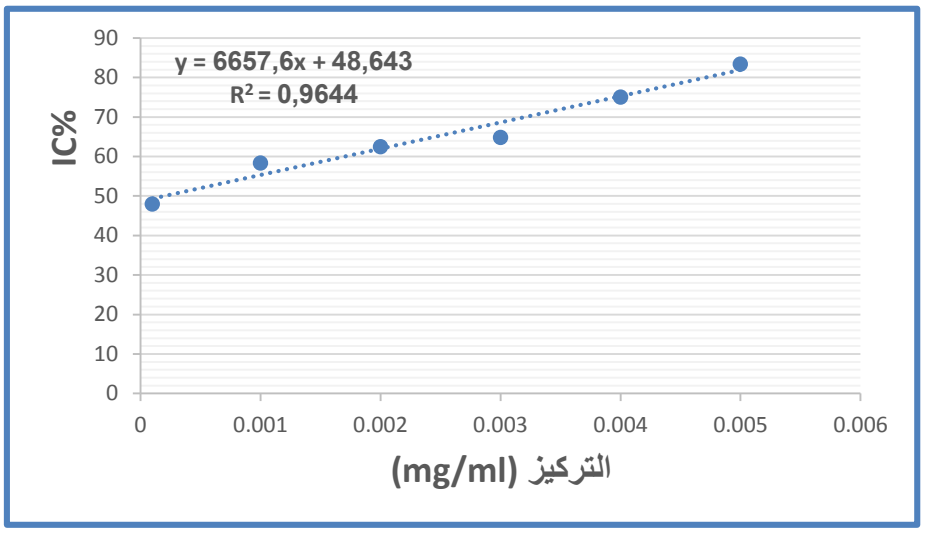
الجدول(V-9) : نسبة التثبيط لمستخلص PHb

التركيز (mg/ml)	0.0001	0.001	0.002	0.003	0.004	0.005
الامتصاصية	0.180	0.179	0.161	0.151	0.107	0.071
IC%	48	58.37	62.55	64.88	75.11	83.48

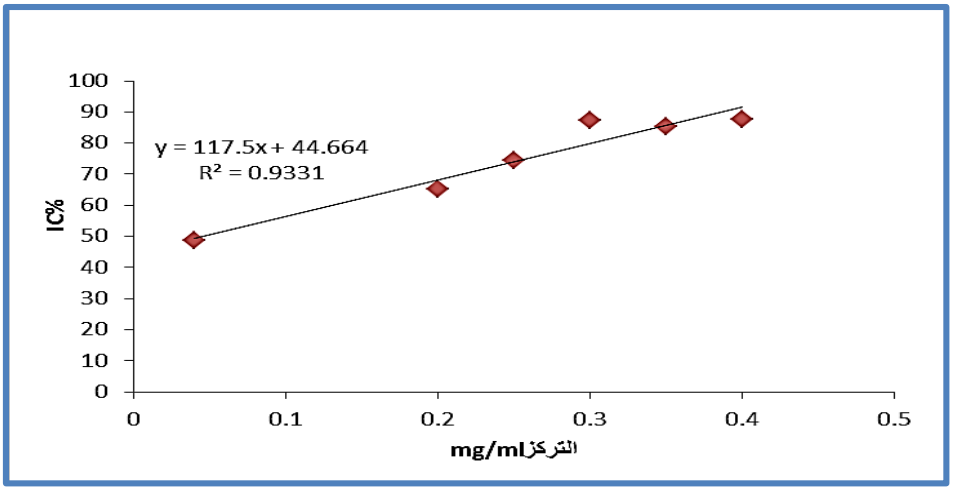
– نعبر على النتائج المتحصل عليها في الجداول السابقة بمنحنيات تمثل نسبة التثبيط IC% بدلالة التركيز (mg/ml) في الشكلين (V-**10**) و (V-**11**).



الشكل(V-10): منحنى اختبار DPPH للمستخلص PHa



الشكل(V-11): منحنى اختبار DPPH للمستخلص PHb



الشكل(V-12): منحنى القياسي لحمض الاسكوربيك

انطلاقا من منحنيات تغير النسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز نستطيع حساب IC_{50} التركيز الموافق لنسبة تثبيط 50% من المعادلة الخطية لكل من منحنيات التثبيط للمستخلصين (PHb) و (PHa)وحمض الاسكوربيك وتدوينها في الجدول **(V-10)**.

الجدول(V-10): نسبة التثبيط المئوية للمستخلصات PHa، PHb

العينة	AA	PHa	PHb
قيم التركيز (mg/ml) عند IC_{50}	0.045	0.0057	0.0002

النتائج والمناقشة:

اعتمادا على دراسات سابقة كلما كانت قيمة IC_{50} صغيرة كانت الفعالية المضادة للأكسدة كبيرة للمستخلص. [21] أي انه كلما كانت قيمة IC_{50} اقل كانت النشاطية الكابحة للجذور الحرة أفضل، وعليه فقد أظهرت النتائج الموضحة في الجدول **(V-10)** لقيم IC_{50} ان مستخلص البوتانول (PHb) لديه فعالية أفضل في كبح الجذور الحرة من مستخلص الأسيتات (PHa) حيث قدرت قيمة قيمة التركيز عند IC_{50} لمستخلص البوتانول بـ (0.0002mg/ml) أي ما يعادل (0.2µg/ml) بينما قدرة قيمة التركيز عند IC_{50} لمستخلص الاسيتات بـ (0.0057mg/ml) أي مايعادل (5.7 µg/ml).

عند مقارنة النتائج المتحصل عليها مع حمض الاسكوربيك (AA) والذي يستعمل كمادة صناعية مضادة للأكسدة، يمكن القول ان كلا المستخلصين أعطوا فعالية مضادة للأكسدة أكبر وأفضل من المركب المرجعي.

✓وأيضا في دراسة قامت بها **بن عمر جهاد (2017)** لنفس النبات وجدوا ان الفعالية المضادة للأكسدة DPPH لمستخلص الميثانولي اعلى بمرتين من المركب المرجعي حيث قدرت قيمة التركيز IC_{50} بـ (0.023241mg/ml) أي ما يعادل (23.241µg/ml) [12] تعتبر هذه النتيجة ذات فعالية ضعيفة بالمقارنة مع النتيجة التي توصلنا اليها لكلا المستخلصين.

✓ وفي دراسة أخرى لـ **BIA, S (2019)** حيث قامت بدراسة الفعالية البيولوجية لثلاثة أنواع من *Origanum* لمستخلص الميثانول ومن بينها *Origanum Majorana L* وتوصلت الى ان نتيجة الفعالية المضادة للأكسدة متوسطة مقارنة مع المركب المرجعي حيث قدرت قيمة التركيز IC_{50} بـ (0.045 mg/ml) أي ما يعادل (45 µg/ml).[3]

✓ اما **Sefsaf Hafidha (2016)** التي قامت بدراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص هيدرميثانول لنبات *Origanum Majorana* حيث قدرة قيمة التركيز لـ IC_{50} بـ (0.8mg/ml) أي ما يعادل (800 µg/ml). [7] وهي قيمة ضعيفة جدا مقارنة مع النتيجة التي توصلنا اليها.

– على ضوء النتائج المتحصل عليها سابقا والظروف التجريبية المتاحة نستنتج ما يلي:

ان مستخلص كل من البوتانول والاسيتات لهما فاعلية مضادة للأكسدة كبيرة مقارنة مع المركب المرجعي. ويعود سبب الاختلاف في النتائج المتحصل عليها سابقا بالمقارنة مع ما توصلنا اليه الى طبيعة المذيب، وطبيعة المناخ، وفصل القطف ومدة الجفاف للنبات فالنشاط المضاد للأكسدة يتأثر بكمية الفينول ومحتوى الفلافونويدات حيث ان لاحظنا ان هناك تناسب طردي بين كمية الفلافونويدات الموجودة طبيعيا في النباتات الطبية والفاعلية المضادة للاكسدة، وهذا راجع لاحتواء الفلافونويدات على مجموعات هيدروكسيل كثيرة التي تلعب دورا هاما في تثبيط الجذور الحرة.

V.5. الفاعلية المضادة للبكتيريا :

بعد عملية الزرع والحضن لمدة 24 ساعة، قمنا بقياس اقطار التثبيط للمستخلصات حول الأقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة الموضحة في الجدول **(V-11)**.

الجدول (V-11): يوضح تراكيز المستخلصات المحضرة للدراسة

	العينات	التراكيز (mg/ml)		التراكيز %		
المستخلصات الفينولية	مستخلص الأسيتات PHa	80	40			
	مستخلص البوتانول PHb	80	40			
المستخلصات القلويدية	املاح القويدية ALc	30				
الزيوت الاساسية	الزيوت الأساسية HE			50	25	12.5

لمعرفة مدى حساسية البكتيريا للمستخلصات نتبع الطريقة التالية:

- ✓ البكتيريا مقاومة (غير حساسة) للمضاد الحيوي إذا كان القطر اقل من 8 ملم.
- ✓ البكتيريا متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي إذا كان القطر ما بين 9 و14 ملم.
- ✓ البكتيريا حساسة للمضاد إذا كان القطر ما بين 15 و20 ملم.
- ✓ البكتيريا حساسة جدا للمضاد الحيوي إذا كان القطر أكبر من 20 ملم.

بكتيريا *Escherichia coli* :

قيم اقطار التثبيط بالنسبة للبكتيريا *Escherichia coli* موضحة في الجدول **(V-12)**.

الجدول (V-12): يوضح قيم اقطار التثبيط لبكتيريا *Escherichia coli*

العينة	PHb		PHa		ALc		HE		
الرموز	PHb_1	PHb_2	PHa_1	PHa_2	ALc_1	ALc_2	HE_1	HE_2	HE_3
التركيز (mg/ml)	80	40	80	40	30	15			
التراكيز %							50	25	12.5
قطر التثبيط (mm)	12.5	9	9	–	–	–	45	35	13.5

النتائج والمناقشة:

أظهرت نتائج *Escherichia coli*:

بالنسبة للمستخلصات الفينولية:

– نلاحظ ان البكتيريا أبدت حساسية متوسطة اتجاه التركيز **PHb_1** حيث تم تسجيل قطر التثبيط بـ 12.5 ملم، بينما أبدت فعل تحسسي متوسط اتجاه تراكيز **PHb_2 وPHa_1** حيث قدر قطر التثبيط بـ 9 ملم.

– لم تبدي البكتيريا فعل تحسسي اتجاه التركيز **PHa_2.**

بالنسبة للمستخلصات القلويدية:

– لم تبدي البكتيريا أي حساسية أي ان البكتيريا (مقاومة) اتجاه التراكيز **ALc_1 و ALc_2 .**

بالنسبة للزيوت الأساسية:

– أبدت البكتيريا حساسية كبير جدا اتجاه التراكيز **HE_1 وHE_2** حيث قدر قطر التثبيط لـ **HE_1** بـ 45 ملم اما بالنسبة لـ **HE_2** فكان قطر التثبيط 35 ملم.

– اما بالنسبة لـ **HE_3** فقد أبدت البكتيريا حساسية متوسط و قدر قطر التثبيط لديه بـ 13.5 ملم.

بكتيريا *Staphylococcus aureus*:

قيم اقطار التثبيط بالنسبة للبكتيريا *Staphylococcus aureus* موضحة في الجدول **(V-13).**

الجدول (V-13): يوضح قيم اقطار التثبيط لبكتيريا *Staphylococcus aureus*

العينة	PHb		PHa		ALc		HE		
الرموز	PHb_1	PHb_2	PHa_1	PHa_2	ALc_1	ALc_2	HE_1	HE_2	HE_3
التركيز (mg/ml)	80	40	80	40	30	15			
التراكيز %							50	25	12.5
قطر التثبيط (mm)	8.5	–	15.5	13.5	–	–	55	37	17

النتائج والمناقشة:

أظهرت نتائج *Staphylococcus aureus*:

بالنسبة للمستخلصات الفينولية:

– لم تبدي البكتيريا أي حساسية (مقاومة) بالنسبة للتركيز **PHb_1** حيث قدر قطر التثبيط بـ 8.5 ملم، ولم تبدي فعل تحسسي اتجاه **PHb_2**.

– ظهور حساسية متوسط اتجاه التركيز **PHa_2** حيث قدر قطر التثبيط بـ 13.5 ملم.

– ظهور حساسية معتبر اتجاه التركيز **PHa_1** حيث قدر قطر التثبيط بـ 15.5 ملم.

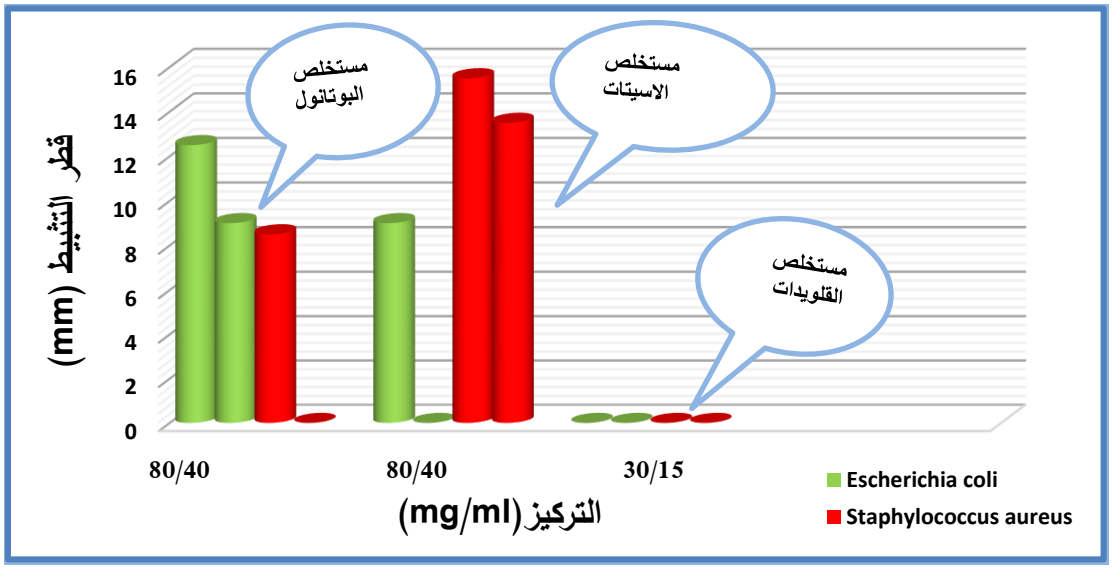
بالنسبة للمستخلصات القلويدية:

– لم تبدي البكتيريا حساسية (مقاومة) اتجاه التراكيز **ALc_1** و **ALc_2**.

بالنسبة للزيوت الأساسية:

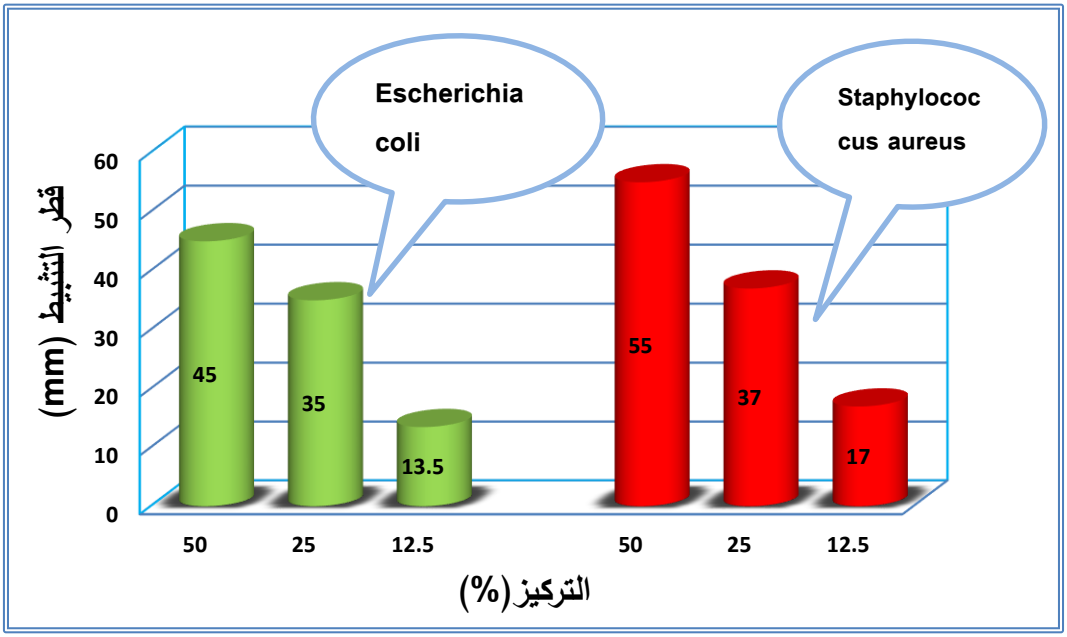
– نلاحظ ان البكتيريا أبدت حساسية كبيرة ومتفاوت اتجاه **HE_1** و**HE_2** و **HE_3** حيث قدر قطر التثبيط لـ **HE_1** بـ 55 ملم اما بالنسبة لـ **HE_2** فكان قطر التثبيط 37 ملم وهذا يعتبر حساسية كبير جدا مقارنة مع قطر التثبيط لـ **HE_3** لذي قدر بـ 17 ملم.

قمنا بوضع رسم أعمدة بيانية توضح الفرق في التحسس البكتيري للسلالات التي قمنا بدراستها والنتائج موضحة في الاشكال **(V-13)**و**(V-14)**.



الشكل (V-13): اعمدة بيانية توضح الفرق في الحساسية لسلالات البكتريا المدروسة بالنسبة للمستخلصات الفينولية

✓ وفي دراسة قام بها **Abduljalil, J ومن معه (2018)** لمستخلص الميثانولي لنبتة المردقوش لعدة سلالات بكتيرية ومن بينها سلالة *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* حيث وجدوا ان المستخلص لديه نشاط مضاد جيد اتجاه السلالتين.[22]



الشكل (V-14): أعمدة بيانية توضح الفرق في الحساسية لسلالات البكتيريا المدروسة بالنسبة لمستخلص الزيوت الاساسية

✓ في دراسة قامت بها **Sefsaf Hafidha** (2016) على زيت *Origanum Majorana* لنفس السلالات البكترية *Staphylococcus aureus* ، *Escherichia coli* حيث قدر قطر التثبيط للسلالتين على الترتيب بـ (21mm)، (13mm).[7] وهي نتيجة متوسطة مقارنة بالنتيجة التي تحصلنا عليها، ونلاحظ في هذه الدراسة حساسية اتجاه السلالة موجب غرام اكثر من الحساسية اتجاه سالب غرام، وهذه النتيجة تتوافق مع ما توصلنا اليه.

✓ اما بالنسبة لدراسة قام بها **BERNAOUI Yazza (2018)** على مستخلص زيت *Origanum Majorana* على سلالة *Escherichia coli* فكان قطر التثبيط يساوي (13mm)[2]، وهي نتيجة أيضا تعتبر متوسطة مقارنة بما توصلنا اليه.

✓ وفي دراسة قامت **بها بن عمر جهاد** على زيت *Origanum Majorana* لسلالة *Escherichia coli* حيث قدر قطر التثبيط بـ (15.1mm) [12] وهذه النتيجة تعتبر في حدود النتائج المتحصل عليهافي دراستنا.

✓ وفي دراسة قام بها **Selim, S ومن معه (2013)** حول زيت المردقوش *Origanum Majorana* وتاثيره على السلالات البكترية *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* حيث بينت هذه الدراسة ان حساسية البكتيريا *Staphylococcus aureus* كانت ضعيفة اتجاه الزيت بينما البكتيريا *Escherichia coli* لم تبدي أي حساسية .[23]

تفسير النتائج:

من خلال النتائج السابقة والنتائج الموضحة في الجداول والاشكال السابقة تبين ان مستخلص كل من الاسيتات (PHa) والبوتانول (PHb) لنبات *Origanum Majorana L* قد أعطت فعالية جد معتبرة اتجاه سلالات البكتريا المدروسة مع اغلبية التراكيز، على عكس مستخلص القلويدات (ALc) الذي لم يبدي أي فعالية اتجاه نفس السلالات البكترية.

وأيضا نستطيع ان نلاحظ ان مستخلص البوتانول اعطى فعالية اتجاه سلالة البكتريا سالب غرام (G^-) اكثر من فعاليته اتجاه سلالة البكتريا الموجبة غرام (G^+) ، بينما مستخلص الاسيتات فقد اظهر نتائج معاكسة ، فقد كانت فعاليته الأكثر اتجاه بكتيريا موجب غرام (G^+).

بالنسبة لمستخلص الزيوت الأساسية (HE) لنبات *Origanum Majorana L* فقد كان الاعلى فعالية اتجاه سلالات البكتريا التي تمت دراستها ، من بين جميع المستخلصات حيث أظهرت السلالة موجب غرام (G^+) حساسية اكبر اتجاه زيت المردقوش(*Origanum*) بالمقارنة مع السلالة سالب غرام (G^-).

أظهرت هذه الدراسة ان زيت المردقوش *Origanum Majorana L* يتميز بفعالية عالية اتجاه السلالات الممرضة وخاصة السلالات موجبة غرام(G^+) ، وأيضا فاعلية المضاد للبكتيريا لزيت نبات المردقوش اعلى من الفاعلية المضادة للبكتيريا لمستخلص الاسيتات والبوتانول

المراجع باللغة العربية:

[12] بن عمر جهاد، بن عتوس مسعودة، (2017). دراسة بيئية وبيولوجية لنبات المردقوش Origanum majorana، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في البيولوجيا، تخصص بيولوجيا وتثمين النبات، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[15] هيكل م. عمر ع. 1993. النباتات الطبية والعطرية كيميائها إنتاجها فوائدها منشأة المعارف بالإسكندرية ص: 55.

المراجع باللغة الأجنبية:

[1] Shan, B., Cai, Y. Z., Sun, M., & Corke, H. (2005). Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. Journal of agricultural and food chemistry, 53(20), 7749-7759.

[2] BERNAOUI, Y., & LOUETRI, K. (2018). Caractérisation phytochimique du Genre Origanum et leur bioactivités.Thème Master Academique.Université Echahid Hamma Lakhdar, el-oued.

[3] BIA, S. (2019). Etude des activités biologiques de trois espéces du genre Origanum. Thème Master Academique.Université Echahid Hamma Lakhdar , el-oued.

[4] Kardong, D., Upadhyaya, S., & Saikia, L. R. (2013). Screening of phytochemicals, antioxidant and antibacterial activity of crude extract of Pteridium aquilinum Kuhn. Journal of pharmacy research, 6(1), 179-182.

[5] Samejo, M. Q., Sumbul, A., Shah, S., Memon, S. B., & Chundrigar, S. (2013). Phytochemical screening of Tamarix dioica Roxb. ex Roch. journal of pharmacy research, 7(2), 181-183.

[6] Uma, C., & Sekar, K. G. (2014). Phytochemical analysis of a folklore medicinal plant Citrullus colocynthis L (bitter apple). Journal of pharmacognosy and Phytochemistry, 2(6), 195-202.

[7] Sefsaf Hafidha.(2016). Etude de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle et des extraits de l'espèce Origanum majorana (Lamiaceae). Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master en chimie. Université Saad Dahlab, Blida.

[8] Lakhrissi B., Barrahi M., Boukhraz M., El Hartiti H., El Mostaphi A, Ouhssine M.2015. Antibacterial effect of synergy of two essential oils extracted from marjoram (origanum majorana) in the region of sale and oregano (origanum vulgare) in the region of ouazzane, Morocco 10(9): 0974-7532.

[9] DIPALI S., SHIV KUMAR J, KAMAKSHI S., KRATIKA N.(2016)-origanum majorana: a potential herb for functional food european journal of pharmaceutical and medical research (3)2., 321-325p.

[10] SOLIMAN MF, YOUSIF M. ZAGHLOUL S, OKBA M.(2009)- Seasonal variation in the essential oil composition of Origanum majorana L cultivated in egypt., naturforsch.,(64)., 611-614p.

[11] Hilan, C., Sfeir, R., Jawish, D., & Aitour, S. (2006). Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiaceae. Lebanese Science Journal, 7(2), 13-22.

[13] BISHNU J., SUNIL L., ANUJA S., 2009. Antibacterial Property of Different Medicinal Plants: Ocimum sanctum, Cinnamomum zeylanicum, Xanthoxylum rmatum and Origanum majorana, Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology, 5(1), 143-150.

[14] Akrout, A., El Jani, H., Amouri, S., & Neffati, M. (2009). Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of Artemisia campestris L., Artemisia herba alba Asso, & Thymus capitatus Hoff. et Link. growing wild in the Southern of Tunisia. Recent Research in Science and Technology, 2(1),91-97.

[16] Aya, M., Nedjla, M., Souad,R.,Amine,S. (2022). Comparaison de l'activité biologique de deux extraits d'Origanum majorana.Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master. Spécialité biologie. Université 8 mai 1945, Guelma.

[17] Nourelhouda,H.,Zahra,A.,Dalila,B. (2019). Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de l'espèce (Origanum majorana). Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master. Spécialité biologie. Université 8 mai 1945, Guelma.

[18] Sellami, I. H., Maamouri, E., Chahed, T., Wannes, W. A., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2009). Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (Origanum majorana L.). Industrial Crops and Products, 30(3), 395-402.

[19] Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., & Knez, Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. Food chemistry, 89(2), 191-198.

[20] Chun, S. S., Vattem, D. A., Lin, Y. T., & Shetty, K. (2005). Phenolic antioxidants from clonal oregano (Origanum vulgare) with antimicrobial activity against Helicobacter pylori. Process Biochemistry, 40(2), 809-816.

[21] Spigno, G., Tramelli, L., & De Faveri, D. M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. Journal of food engineering, 81(1), 200-208.

[22] Abduljalil, J. M., AL-Rakhami, A. A., AL-Haj, T. M., AL-Rrimy, A. M., & Al-Wheabi, A. S. (2018). Preliminary phytochemical analysis and antibacterial activity of methanol extracts from Origanum majorana, Rumex nervosus, and Withania somnifera. Int J Pharma Res Health Sci, 6(6), 2844-50.

[23] Selim, S. A., Aziz, M. H. A., Mashait, M. S., & Warrad, M. F. (2013). Antibacterial activities, chemical constitutes and acute toxicity of Egyptian Origanum majorana L., Peganum harmala L. and Salvia officinalis L. essential oils. Afr. J. Pharm. Pharmacol, 7(13), 725-735.

خلاصة عامة

خلاصة عامة:

بتعاقب الأجيال تتعاقب الأبحاث في شتى المجالات وكمواصلة للأبحاث السابقة واكتشاف مدى القيمة العلاجية للمنتجات الفعالة التي تحويها نبتة المردقوش قمنا بدراسة مقارنيه تطبيقية تعتمد على دراسة الفاعلية الكيميائية والبيولوجية من خلال الفاعلية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا للمستخلصات النباتية.

من خلال الكشف الكيميائي لنواتج الأيض الثانوي أظهرت احتواء النبتة على: الفينولات، الفلافونويدات، الأملاح القلويدية، الزيوت الاساسية ومن ثم تطرقنا لاستخلاص هذه المنتجات، حيث تمكنا من تقدير مردود المستخلصات الفينولية والقلويدية والزيوت الاساسية، فكانت نتائج المردود معتبرة.

وبتقدير المحتوى الكلي للفينولات بطريقةFolin- Ciocalteu وتقدير المحتوى الكلي للفلافونويدات بطريقة $AlCl_3$ و باستعمال مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية وجد أن المستخلص PHa يحتوي على أكبر كمية فينولات قدرت ب 133.24 mg EAG/g بينما المستخلص PHb يحتوي على أكبر كمية فلافونويدات قدرت ب 105.48 mg EQ/g

وبتقدير المحتوى الكلي للفينولات بإختبار الفولطا متري الحلقي وجد أن المستخلص PHa يحتوي على أكبر كمية فينولات قدرت ب 52.63 mg EAG/g وهذا ما يؤكد صحة النتائج لان هناك تناسب طردي بين الطريقتين .

وللإثراء الفعلي للدراسة ولتوضيح أهمية وفاعلية نبتة المردقوش في كبح نشاط الجذور الحرة وفاعليتها التثبيطية كمضادات حيوية للعديد من السلالات البكتيرية الممرضة تمت المقارنة بين بعض الفاعلية البيولوجية من الدراسات السابقة والدراسة المتحصل عليها من خلال:

دراسة الفاعلية المضادة للأكسدة للمستخلصين البوتانولي واسيتات الايثيل بالطريقة الكيميائية (اختبار DPPH) حيث أظهر المستخلص البوتانولي أكبر قدرة مضادة للاكسدة لكبح الجذر الحر عند IC_{50} مقارنة بمستخلص اسيتات الايثيل والتي قدر التركيز بـ 0.2µg/ml، وهذا

راجع لان المستخلص البوتانولي يحوي كمية اكبر من الفلافونويدات التي يعود لها الأثر البالغ في كبح الجذور الحرة لاحتوائها على اكثر مجاميع الهيدروكسيل ، لما وجدناه من تناسب طردي بين كمية الفلافونويدات والفاعلية المضادة للاكسدة .

وتمت دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا للمستخلصات الاربعة، وذلك باختبار سلالتين بكتيريتين *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus* في وسط جيلوزي(MH)، وهذا بالاعتماد على طريقة الانتشار بالأقراص، حيث كانت النتائج جد إيجابية خاصة مع مستخلص الزيوت الاساسية، اذ كانت له نشاطية بيولوجية عالية مع جل السلالات البكتيرية، سجل أعلى قطر تثبيط له 55 مم عند التركيز 50% بالنسبة لسلالة البكتيرية *Staphylococcus aureus*، اما بخصوص المستخلصات الفينولية فقد بلغ أعلى قطر تثبيط 15.5 مم عند التركيز 80 mg/ml بالنسبة لمستخلص اسيتات الايثيل وذلك على السلالة البكتيرية *Staphylococcus aureus*، وبالنسبة للمستخلصات القلويدية فقد أعطت نتائج سلبية، وبالمقارنة الإجمالية لهذه الدراسة مع دراسات أخرى في نفس السياق تبين ان لمستخلصات نبتة المردقوش فاعلية تثبيطية معتبرة تجاه السلالات البكتيرية.

وفي الأخير ونظرا للنتائج المشجعة المتحصل عليها مع مستخلصات نبتة المردقوش، يمكن تثمين خصائص هذه النبتة التي تؤهلها لتكون ضمن النباتات الطبية المستعملة في الطب الشعبي.

وكنظرة مستقبلية فإننا نأمل أن دراسة نبتة المردقوش لا تنتهي عند هذا الحد بل هذا العمل يعتبر كخطوة تمهيدية لفتح الأفاق وأعمال مستقبلية اتجاه الباحثين لإكمال والتعمق في هذا الموضوع من خلال إجراء دراسات تحليلية كمية ونوعية للمنتجات الفعالة من خلال التعرف على الصيغ الكيميائية لمركبات النبات المسؤولة عن هذه الفاعلية.

الملاحق

الملحق 1: الأجهزة المستعملة

1-جهاز التبخير

2-جهاز uv-visible

3-ميزان حساس

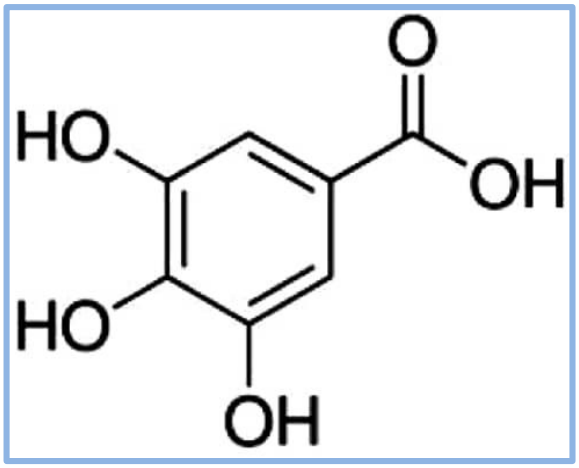
4-جهاز الترشيح تحت الفراغ

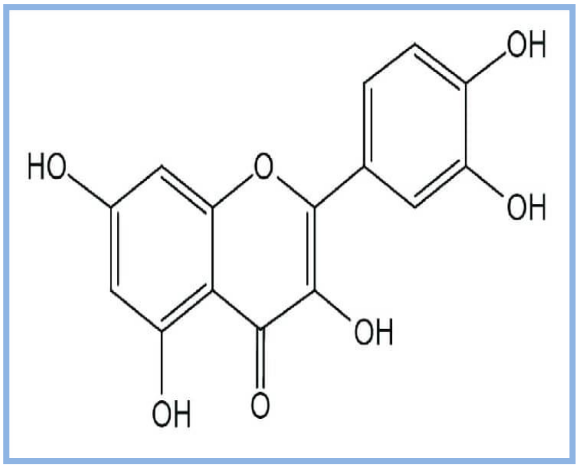
5-الحاضنة

6-جهاز كليفنجر

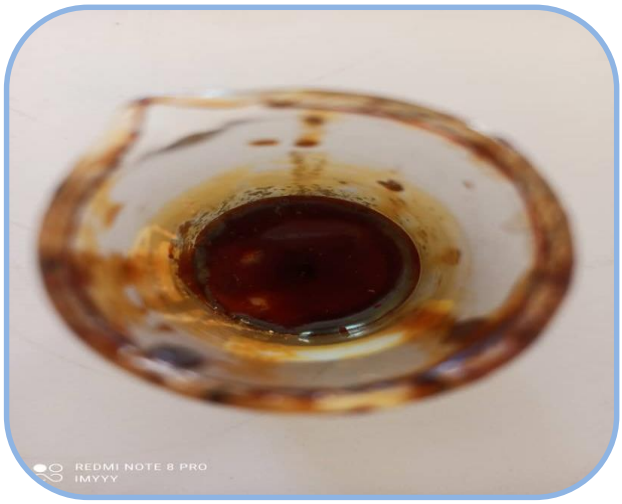
7- voltalab

الملحق 2: الصيغ الكيميائية للمركبات الفينولية المرجعية:



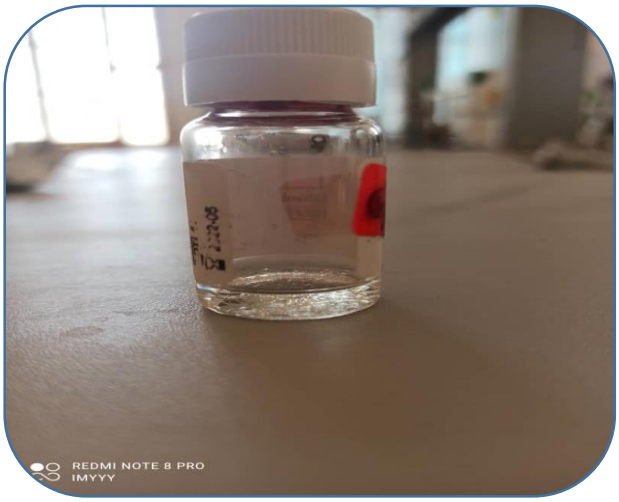


الملحق 3: صور المستخلصات النباتية:

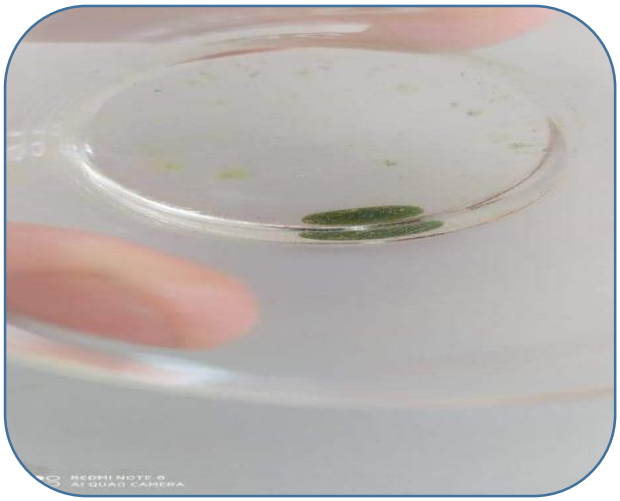


مستخلص البوتانول

مستخلص اسيتات الايثيل

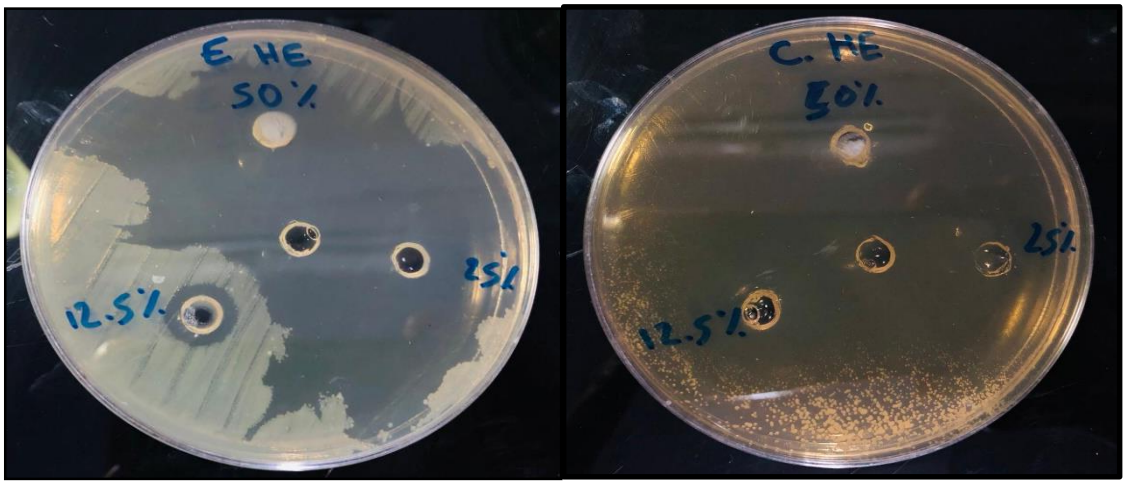


مستخلص الزيت الأساسي

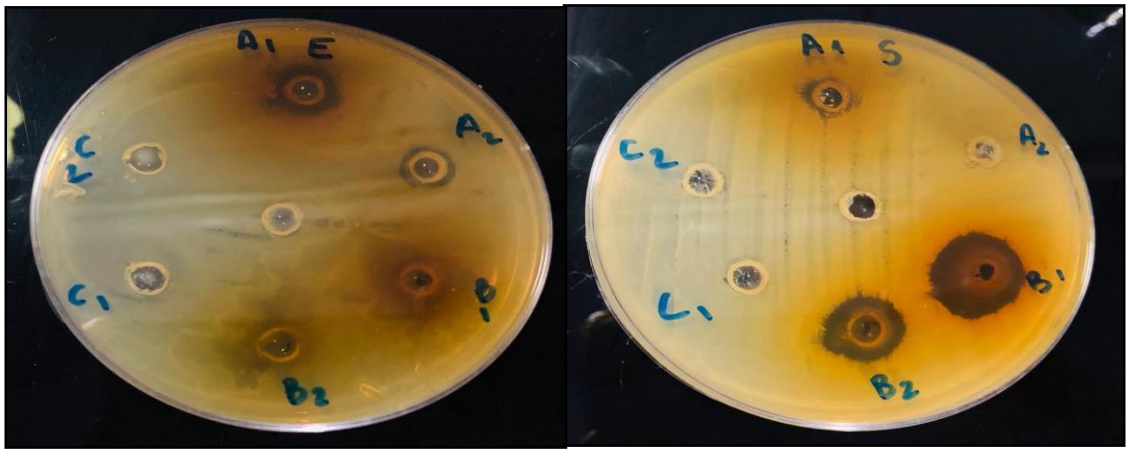


مستخلص املاح القلويدات

الملحق 4: نتائج دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا:



التاثير التثبيطي لمستخلص الزيوت الأساسية على نمو بعض السلالات البكتيرية



التاثير التثبيطي للمستخلصات الفينولية والقلويدية على نمو بعض السلالات البكتيرية

الحمد لله