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:

كوثر برهوم

خلود الحادة جوغي

زينب حذيق

تحت عنوان:

الدراسة الكيميائية للمستخلصات الخام لنبتة اللفت(*Brassica rapa subsp.rapa*) المزروعة في منطقة الوادي

نوقشت يوم:.2022/06/16

أمام لجنة المناقشة:

بلقاسم سويعي	أستاذ محاضر ب	جامعة الوادي	رئيسا
حنان دباش	أستاذ محاضر أ	جامعة الوادي	مؤطرا
نعيمة بن شيخة	أستاذ تعليم عالي	جامعة الوادي	ممتحنا

السنة الجامعية: 2022/2021

الشكر والعرفان

الحمد لله الذي أنار طريقنا وثبت خطانا وأمدنا بالصبر لإكمال المشوار .الحمد لله رب العالمين

الذي أحيا قلوب العارفين بنور معرفته وأحيا نفوس العابدين بنور عبادته .

ثم الصلاة والسلام على رسول الله صلى الله عليه وسلم وأله وصحبه أجمعين و الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات.

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

الشكر بعد الله إلى من لا يسعنا رد الجميل لهما إلا بالشكر إلى من أغلى في الوجود والدينا سائلين أن يمدهما بالصحة والعافية.

ومصداقا للحديث الوارد عن أبي هريرة رضى الله عنه أ ن النبي صلى الله عليه وسلم قال – لا يشكر الله من لا يشكر الناس –

فبذلك أتقدم بجزيل شكري للأستاذة المحترمة دباش حنان التي أشرفت على هذا العمل، ونشكر أيضا الأستاذة 'بن شيخة نعيمة ' التي ساهمت في انجاز هذا العمل .

كما نتوجه بالشكر إلى مسؤولي المخبر البيداغوجي بكلية العلوم الدقيقة إلى كل من 'كريمة '،'كنزة ' و 'حفيظة '،على كل التسهيلات والتوجيهات التي قدموها لنا خلال فترة العمل .

كما نتوجه بالشكر إلى المخبرية 'جهاد شنه ' على انجازها لاختبارات الفعالية البيولوجية

على مستوى مخبر المجد للتحاليل الطبية .

كما نتقدم بالشكر إلى اعضاء اللجنة المناقشة لقبولهم مناقشة هذه المذكرة .

ولا ننسى أن نتوجه بالشكر إلى كل من ساعدنا في اتمام هذا العمل من قريب أو بعيد.

كما تتسع دائرة الشكر إلى الأساتذة الكرام وجميع طلبة دفعة ماستر 2022.

اهداء

الحمد لله وكفى والصلاة على الحبيب المصطفى وأهله ومن وفى

وأما بعد:

الحمد لله الذي وفقني لتثمين هذه الخطوة في مسيرتي الجامعية بمذكرتي هذه ثمرة الجهد والنجاح بفضله تعالى مهداة إلى الوالدين الكريمين حفظهما الله وأدامهما نورا لدربي.

لكل العائلة الكريمة التي ساندتني ولا تزال.

إلى رفيقات المشوار اللاتي قاسمنني لحظاته رعاهم الله ووفقهم .

إلى كل من كان لهم أثر على حياتي ، وإلى كل من أحبهم قلبي ونسيهم قلمي .

حفظكم الله من كل مكروه جميعا ...

كوثر ،خلود الحادة

الملخص

يهدف هذا العمل إلى دراسة كيميائية لمستخلصات النبتة المتحصل عليها عن طريق النقع في الماء بنسبة 100% و النقع في الميثانول ب 100%.

و الذي تم من خلاله الكشف الفيتو الكيميائي للمواد الفعالة و تقدير مردود المستخلصات المائي و الميثانولي وكذلك دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة للمستخلصات .

حيث أسفر المسح الفيتو كيميائي عن غنى النبتة بالمواد الفعالة بوجود كل من الفينولات و الفلافونويدات ،التربينات ،الصابونين،القلويدات ،السكريات ،التانينات و غياب كل من الأنثيوسينات و النشاء .

و قد قدر مردود المستخلص المائي ب 49.6% و المستخلص الميثانولي ب 22.8% .

وبالنسبة للفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلصات و المضاد الحيوي نجد أن مستخلصات اللفت ليس لها فعالية كافية في تثبيط السلالات البكتيرية المختبرة .

ومن خلال تقدير النشاطية المضادة للأكسدة فقد أبدى المستخلص الميثانولي فعالية تثبيط تجاه جذر DPPH بقيمة IC_{50}=0.81 بينما قدرت ب IC_{50}=1.50في المستخلص المائي .

حيث أظهر المستخلص المائي قدرة معتبرة على كبح أكسدة CAT بقيمة 90.03mgEAG/g أعلى من المستخلص الميثانولي الذي قدرت نسبة تثبيطه لكبح أكسدة ال CAT ب 10.98 mgEAG/g.

الكلمات المفتاحية: مواد الأيض الثانوي، اللفت، الكرنبيات،بكتيريا، *CAT*، *DPPH*، *Brassica rapa subsp rapa*

Abstract

This research paper aims to study the chemical properties of plant extracts obtained by macered in 100% water and 100 % Methanol. The study، through phytochemical analysis, provides an insight into the active substances and an estimation of aqueous and methanolic extracts yields. This paper also studies the antibacterial and antioxidant properties of the extracts. The phytochemical analysis revealed that the plant is rich in active substances as proved by the presence of phenols, flavonoids، terpenes, saponins, alkaloids, carbohydrates, tannins, and the absence of anthocyanins and starch.The yield of the aqueous extract was estimated at 49،6% and the methanolic one at 22،8%. The study shows that the antibacterial activity of the turnip plant extracts do not have sufficient efficacy to inhibit the tested bacterial strains. As for the antioxidant properties, the methanolic extracts show an inhibiting activity towards DPPH radical in which IC50=0.81 was superior to the aqueous extracts with IC50=1.50. The aqueous extracts show a significant ability to inhibit CAT oxidation with 90.03 mgEAG/g higher than the methanolic extracts whose inhibition rate is estimated to inhibit CAT oxidation at 10.98 mgEAG/g.

Keyword: secondary metabolism ,Brassicales, turnip,bacteria, CAT, DPPH, Brassica rapa subsp rapa.

الفهرس

الشكر والعرفان..... I

الإهداء.....II

الملخص.....III

الفهرس.....IV

قائمة الأشكال..... IX

قائمة الجداول..... XI

قائمة الرموز.....XII

مقدمة عامة XIII

I. الفصل الأول الدراسة النظرية لنبات اللفت

I.1.العائلة الصليبية :..... 2

I.1.1.الوصف النباتي للعائلة الصليبية : 3

I.1. 2.لإنتشار الجغرافي للعائلة الصليبية : 4

I.1. 3.أجناس العائلة الصليبية : 4

I.2.الدراسة النظرية لنبات اللفت : 4

I. 1.2.لمحة تاريخية : 4

I.2.2.الأسماء الشائعة لنبات اللفت :..... 5

I.2.3.التصنيف العلمي لنبات اللفت:..... 5

I.2.4. الوصف المورفولوجي لنبات اللفت: 5

I.2.5.المكونات الأساسية لنبات اللفت:..... 7

I.2.6.إستعمالات نبات اللفت :..... 8

I.2.7.فوائد اللفت.....8

II. الفصل الثاني: المنتجات الطبيعية

II.1.تعريف المنتجات الطبيعية :.....10
II.2.تصنيف المنتجات الطبيعية :.....10
II.3.القلويدات:.....11
II.3.1.تعريفها:.....11
II.3.2.أصنافها :.....12
II.3.3.تواجد و توزيع القلويدات:.....13
II.3.4.دور القلويدات و أهميتها :.....13
II.4.المركبات الفينولية :.....14
II.4.1.تعريفها:.....14
II.4.2.مصدرها: 14
II.4.3.تصنيفها:.....14
II.4.4.دورها و أهميتها :.....15
II.5.الفلافونيدات :.....17
II.5.1.تعريفها :.....17
II.5.2.تصنيفها :.....17
II.5.3.دورها و أهميتها :.....18
II.6.التانينات:.....18
II.6.1.تعريفها :.....18
II.6.2.دورها وأهميتها :.....19
II.7.التربينات :.....19
II.7.1.تعريفها:.....19
II.7.2.دورها وأهميتها :.....20
II.8.الصابونين :.....20

II.8.1.تعريفها :.....20
II.8.2.تصنيفها :.....21
II.8.3.دورها و أهميتها:.....21
II.9.الستيرويدات:.....22
II.9.1.تعريفها:.....22
II.9.2.دورها و أهميتها :.....22

III. الفصل الثالث :الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية البيولوجية

III.1.الجذور الحرة:.....25
III.1.1.تعريف الجذور الحرة :.....25
III.1.2.مصادر الجذور الحرة:.....26
III.1.3.أنواع المصادر الحرة:.....26
III.1.4.أضرار الجذور الحرة :.....27
III.2.مضادات الأكسدة : 28
III.2.1.تعريفها: 28
III.2.2.تصنيفها: 28
III.3.الفعالية المضادة للبكتيريا :.....29
III.3.1.تعريف البكتيريا :.....29
III.3.2.بنية البكتيريا: 29
III.3.3.المكونات الأساسية : 29
III.3.4.المكونات الثانوية : 29
III.3.5.تصنيف البكتيريا :.....31
III.3.6.الأنواع البكتيرية المستعملة في الدراسة: 32

IV. الفصل الرابع: الأدوات والوسائل المستعملة

IV.1.تقديم منطقة الدراسة :..... 37

IV.2.المواد و الطرق :..... 37

IV.2.1.المادة النباتية:.....37

IV.2.2.المواد المستعملة : 37

IV.2.3.الأدوات المستعملة:.....38

IV.2.4.الأجهزة المستعملة :.....38

IV.3.الطرائق الكيميائية :.....40

IV.3.1.تعريف الإستخلاص : 40

IV.3.2.استخلاص صلب ـ سائل :.....40

IV.3.3.تحضير المستخلصات المستعملة في الدراسة:.....40

IV.3.4.حساب مردود الإنتاجية للمستخلصات : 42

IV.3.5.تقدير درجة الحموضة (PH) وتقدير درجة الناقلية (EC): 42

IV.3.6.التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية ـالمرئية :.....42

IV.4.الكشف الفيتوكيميائي :..... 47

IV.4.1.الكشف عن القلويدات: 47

IV.4.2.الكشف عن التربينات :.....48

IV.4.3.الكشف عن التانينات:.....48

IV.4.4.الكشف عن الستيرويدات : 48

IV.4.5.الكشف عن الفلافونيدات:.....48

IV.4.6.الكشف عن الصابونين : 48

IV.4.7.الكشف عن الفينولات:.....48

IV.4.8.الكشف عن المركبات المرجعة : 49

IV.5.تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:..... 49
IV.5.1.إختبار تثبيط الجذر الحر DPPH : 49
IV.5.2.حساب نسبة تثبيط I % للجذر الحر:.....50
IV.5.3.إختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة CAT: 51
IV.6.الإختبارات البيولوجية :..... 53
IV.6.1.النشاط المضاد للبكتيريا : 53
IV.6.2.الأنواع المختبرة للميكروبات: 53
VI.6.3.طريقة العمل : 54
V.الفصل الخامس:النتائج و المناقشة
V.1.حساب مردود المستخلصات : 59
V.2.دراسة بعض الخصائص الفيزيائية : 60
V.3.نتائج الكشف الأولي للنبات :.....61
V.4.التقدير الكمي للفينولات الكلية :.....63
V.5.التقدير الكمي للفلافونيدات : 65
V.6. قياس الفعالية المضادة للأكسدة 67
V.6.1.إختبار تثبيط الجذور الحرة DPPH.....67
V.6.2. إختبار النشاطية المضادة للأكسدة ال CAT.....70
V.7.الفعالية المضادة للبكتيريا.....71
V.7.1.المستخلص المائي.....71
V.7.2.المستخلص الميثانولي : 72
V.7.2. المضادات الحيوية: 74
قائمة المراجع
خاتمة

قائمة الأشكال

I.الفصل الأول :الدراسة النظرية لنبات اللفت

الشكلI-1 نموذج يبرز تركيب وشكل أحدنباتات العائلة الكرنبية 2

الشكل I-2 المعادلة الزهرية للعائلة الصليبية..... 2

الشكل I-3 صور توضيحية لبعض أنواع ثمار العائلة الصليبية ونموذج للتركيب البنائي لأزهارها..... 3

الشكل I-4 مختلف أجزاء نبتة اللفت..... 6

II.الفصل الثاني :المنتجات الطبيعية

شكل II-1الهيكل الأساسي للفلافونيدات.....17

شكل II-2 مخطط تصنيف الفلافونيدات.....17

شكل II-3 بنية isoprène 20

شكل II-4 بنية Cyclo-artenol و بنية ephol.....22

III.الفصل الثالث : مضادات الأكسدة و الفعالية البيولوجية

شكل III-1 مقطع تحت المجهر للجذور الحرة.....26

شكل III-2 مخطط يوضح أقسام مضادات الأكسدة 28

شكل III-3 بنية الخلية البكتيرية 30

شكل III-4 مخطط يوضح أنواع البكتيريا.....31

شكل III-5صورة الفحص المجهري لبكتيريا *Escherichia coli* 32

شكل III-6 صورة الفحص المجهري لبكتيريا *Pseudomnas aruginosa* 33

شكل III-7 صورة الفحص المجهري لبكتيريا *Klebsiella pneumoniae* 33

شكل III-8 صورة الفحص المجهري لبكتيريا *Staphylococcus aureus*.....34

IV.الفصل الرابع :الأدوات و الوسائل المستعملة

شكل IV-1 مخطط العمل التجريبي 39

شكل IV-2 مخطط يوضح طريقة استخلاص العينات.....41

شكل IV-3 بعض المستخلصات بعد الكشف عن الفينولات 43

شكل IV-4 المنحنى العياري لحمض الغاليك لتقدير الفينولات للمستخلص الميثانولي 44

شكل IV-5 المنحنى العياري لحمض الغاليك لتقدير الفينولات للمستخلص المائي.....45

شكل IV-6 المستخلصات بعد الكشف عن الفلافونيدات.....46

شكل IV-7 المنحنى العياري لحمض الكريستين لتقدير الفلافونيدات للمستخلص الميثانولي.....46

شكل IV-8 المنحنى العياري لحمض الكريستين لتقدير الفلافونيدات للمستخلص المائي 47
شكل IV-9 بعض المستخلصات بعد إضافة محلول DPPH 50
شكل IV-10معادلة إرجاع DPPH 50
شكل IV-11 المستخلصات بعد اختبار القدرة المضادة للأكسدةCAT.....52
شكل IV-12 المنحنى العياري لحمض الغاليك لاختبار قدرة النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص الميثانولي 52
شكل IV-13 المنحنى العياري لحمض الغاليك لاختبار قدرة النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص المائي.....53
شكل IV-14 تطبيق الأقراص.....56
V.الفصل الخامس:النتائج و المناقشة
شكل V-1 أعمدة بيانية توضح قيم مردود الإستخلاص 59
شكل V-2 أعمدة بيانية تمثل كمية المركبات الفينولية للمستخلصين 64
شكل V-3 أعمدة بيانية تمثل الفرق في كمية الفينولات بين لفت (rapa)ولفت(spp).....65
شكل V-4أعمدة بيانية تمثل كمية الفلافونيدات للمستخلصات المدروسة.....66
شكل V-5 أعمدة بيانية توضح الفرق في كمية الفلافونويدات بين لفت (rapa)ولفت(spp) ..67
شكل V-6 منحنى تثبيط الجذر الحر DPPHبدلالة التركيز للمستخلص المائي.....68
شكل V-7 منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة التركيز للمستخلص الميثانولي 68
شكل V-8 يوضح قيم IC_{50} للمستخلصين.....69
شكل V-9 أعمدة بيانية لقيم مضادات الأكسدة الإرجاعيةCAT 71
شكل V-10 أعمدة بيانية تمثل أقطار التثبيط للمستخلص المائي 72
شكل V-11 أعمدة بيانية تمثل أقطار التثبيط للمستخلص الميثانولي.....73
شكل V-12 أعمدة بيانية تمثل أقطار التثبيط للمضاد الحيوي (*Ciprofloxacine*)..... 75

قائمة الجداول

I.الفصل الأول :الدراسة النظرية لنبات اللفت

جدول I-1 يوضح التصنيف العلمي لنبات اللفت 5

جدول I-2 جدول يلخص مختلف مكونات اللفت الأساسية 7

II.الفصل الثاني :المنتجات الطبيعية

جدول II-1 يمثل بعض أقسام القلويدات.....12

جدول II-2 تصنيف الفينولات 14

جدول II-3 بعض المركبات الفينولية المستعملة في الطب والصيدلة 16

جدول II-4 يوضح أنواع التانينات وصيغها الكيميائية 19

جدول II-5 تقسيم التربينات.....20

جدول II–6 يوضح أقسام الصابونيات 21

V.الفصل الخامس :النتائج و المناقشة

جدول V-1 قيم مردود الإستخلاص.....59

جدول V-2 جدول يبين صفات المظهر الخارجي للمستخلصين 60

جدول V-3 جدول يوضح بعض الخصائص الكيميائية 60

جدول V-4 نتائج الكشف الأولي عن بعض مكونات الأيض الثانوي.....61

جدول V–5الألوان المتحصل عليها في الكشف الأولي عن بعض مكونات الأيض الثانوي.....61

جدول V-6 قيم الامتصاصية وكمية الفينولات للمستخلصات المدروسة.....64

جدول V–7 قيم الامتصاصية وكمية الفلافونيدات للمستخلصات المدروسة. 66

جدول V-8 جدول يوضح نتائج اختبار DPPH بالنسبة للمستخلصات.....69

جدول V-9 يوضح قيم الامتصاصية ونتائج اختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة CAT 70

جدول V-10 أقطار التثبيط لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة للمستخلص المائي 71

جدول V-11 أقطار التثبيط لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة للمستخلص الميثانولي 72

جدول V-12 جدول يوضح أقطار تثبيط المضادات الحيوية..... 74

قائمة الاختصارات و الرموز	
DPPH :	*DiPhenyl PicrylHydrazyl.*
CAT :	*Capacité Antioxydante Totale.*
R :	*Rendement.*
UV:	*Ultra-Violet.*
A :	*Absorbance.*
ml :	*millilitre.*
g:	*gramme.*
Nm :	*nanométre.*
mg:	*milligramme.*
mg E AG/g :	*milligramme Equivalent Acide Gallique par gramme.*
mg EQr/g:	*milligramme Equivalent Acide Quercétine par gramme.*
λ :	*longueur d'onde .*
% :	*pourcentage.*
I%:	*pourcentage d'inhibition.*
E.coli:	*Escherichia coli.*
S.aureus :	*Staphylococcus aureus.*
ATB:	*Antibiotique.*
DMSO:	*diméthyl sulfoxyde .*

مقدمة عامة

مقدمة

يمثل الغطاء النباتي قسما كبيرا من الطبيعة المحيطة بنا وهو ذو أهمية كبيرة من حيث أسباب وضروريات الحياة البشرية، وقد امتدت يد الإنسان منذ القديم بالبحث والتنقيب عما في النبات من أسرار غذائية، دوائية أو غيرها.

ومن خلال احتكاك الإنسان بالطبيعة والتوغل فيها مع الأعشاب والتعرف على معظم النباتات ومقاومتها للأمراض وربط كل مرض بالنبتة المعالجة له وبمرور الزمن أصبحت النباتات هي المصدر الرئيسي للعقاقير التي تدخل في تحضير الأدوية على شكل خلاصات أو مواد فعالة [1][2].

ولذلك ارتأينا في هذا البحث دراسة إحدى النباتات المتواجدة في منطقة وادي سوف والتي تعرف علميا باسم والمعروفة باسم اللفت.

ونهدف من خلال هذه الدراسة إلى التعرف على مختلف المواد الفعالة المتواجدة بها وتقييم الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة للبكتيريا وفي هذا الصدد طرحنا الإشكاليات التالية:

ما مدى احتواء نبتة اللفت للمواد الفعالة؟

ما تأثير المنتجات الطبيعية المستخلصة من النبات على نمو السلالات البكتيرية؟

هل لهذه المركبات تأثير على كبح الجذور الحرة؟

وقصد الإجابة على الإشكاليات المطروحة قسمنا دراستنا إلى جزأين:

- جزء نظري:

دراسة عامة حول النبتة.

المنتجات الطبيعية.

الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية البيولوجية.

- جزء تطبيقي:

الوسائل والطرق المستعملة.

النتائج والمناقشة.

وخلاصة لما سبق توج هذا العمل بخاتمة تبرز أهميته.

I. الفصل الأول: الدراسة النظرية لنبات اللفت

مقدمة

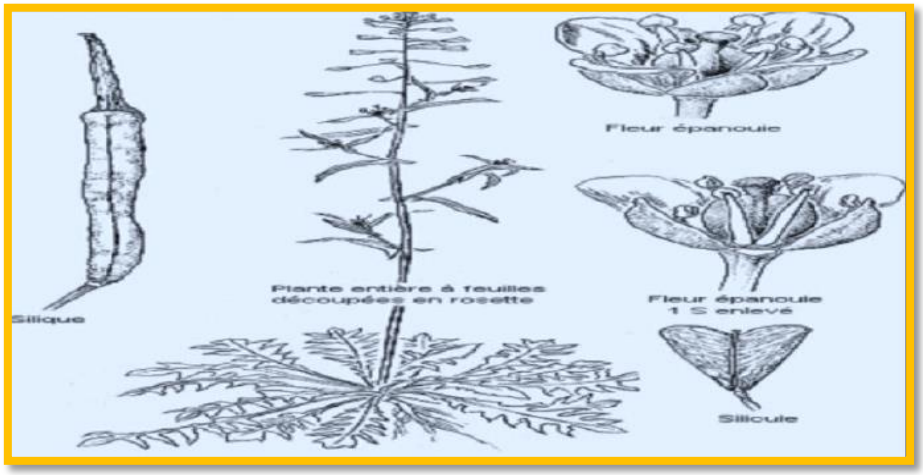
نعم الله على عباده أكثر من أن تعد وأعظم من أن تحصى، والنبات من أجل نعم الله على خلقه وإن شئنا أن نعدد فوائده ونحصي فضائله فذلك أمر فوق الطاقة، فالنبات كان هو اللباس و الدواء و الغذاء بالنسبة للإنسان في القديم ،ومن الأغذية الغنية الخضروات ومن أبرزها خضروات العائلة الصليبية التي هي عبارة عن مجموعة من الخضروات المتنوعة التي تنحدر من العائلة الكرنبية و الغنية بالفوائد الجمة بفضل محتواها المتعدد من المركبات الكيميائية و العناصر الغذائية الهامة للصحة.

I.1.العائلة الصليبية :

عائلة الصليبيات (*Cruciferae*) والتي تسمى حاليا بالكرنبيات(*Brassicaceae*) ، تحتوي على3400 نوع مقسمة على 340 مجموعة، موزعة على امتداد الكرة الأرضية ولكنها أكثر وفرة في النصف الشمالي. إنها واحدة من العائلات الرئيسية في منطقتنا.

بعضها يتكيف مع بيئات معيّنة مثل الجبال أو المناطق الجافة من ثمّ يقدم ضغطا مخشوشبا ومساحة ورقية مخفّضة.

إنها عائلة سهلة التعريف ويمكن التعرف عليها من خلال أزهارها ذات البتلات المرتبة على شكل صليب والذي أخذ منه الاسم القديم. تضم العائلة العديد من النباتات ذات الأهمية الاقتصادية التي تم تعديلها وتدجينها على نطاق واسع من قبل البشر، على وجه الخصوص تلك من جنس براسيكا، والتي تشمل الملفوف والقرنبيط والبروكلي والملفوف واللفت والجرجير [3][4].



الشكل (I-1): نموذج يبرز تركيب وشكل أحدنباتات العائلة الكرنبية

I.1.1. الوصف النباتي للعائلة الصليبية :

- **الأوراق** مستطيلة ومتعرجة بشكل عام نحو القاعدة، مقسمة من الوسط وأحيانًا مستطيلة بالكامل، دائما تكون خضراء زاهية وخشنة الملمس بعض الشيء.

- **الجذور**: منتفخة ومتغيرة الشكل حسب الاجناس منها ما هو اسطواني، مخروطي، كروي أو مسطح، وكذلك ألوانها الخارجية متغيرة ما بين الأبيض، الأصفر، الأحمر، الرمادي أو الأسود أما داخليا فتكون بيضاء أو صفراء، احيانًا تكون حلوة إلى حد ما وأحيانًا أخرى لاذعة وقليلة النفاذية[5] .

الأزهار: ثنائية الجنس، شعاعية التناظر، سفلية الأجزاء.

الكأس: يضم 4 سبلات حرة تنتظم في دورتين ثنائية القطع.

التويج: يتكون من 4بتلات غير ملتحمة (بيضاء، صفراء، أو وردية).

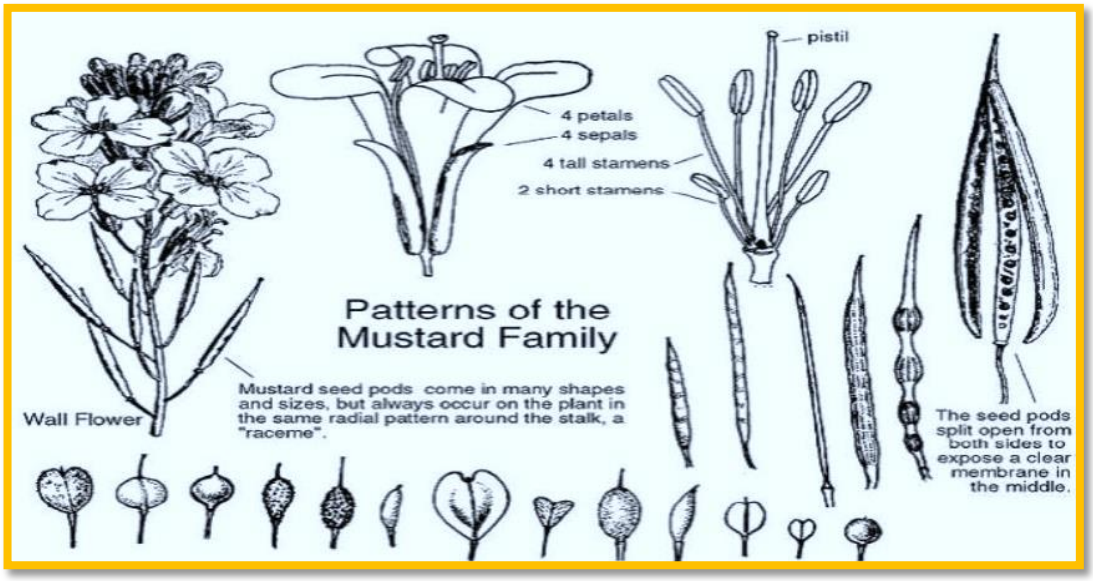
المذكر: يتكون من 6أسدية عادة من اثنتين قصيرتين في حلقة خارجية وأربع طويلة في حلقة داخلية.

النويرة عنقودية،عديمة القنايات والقنيبات.

الثمار الثمار كبسولة ذات غشاء داخلي يعرف بخردلة إذا كانت طويلة وخريدلة إذا كان طولها لا يتجاوز ثلاثة أضعاف عرضها[6] [7] . ويلخص البناء الزهري بالمعادلة I-2 التالية:

$$Ca_4 \quad Co_4 \quad A_{2+4} \quad G_1 \quad \varphi\,\delta \oplus$$

شكل (I-2) : المعادلة الزهرية للعائلة الصليبية



شكل (I-3): صور توضيحية لبعض أنواع ثمار العائلة الصليبية ونموذج للتركيب البنائي لأزهارها

I.2.1.الإنتشار الجغرافي للعائلة الصليبية :

تتوزع الفصيلة الصليبية في جميع أنحاء العالم تقريبًا، حيث تنتشر بصورة رئيسية خارج المناطق المدارية، في المناطق المعتدلة من النصف الشمالي للكرة الأرضية [8].

I.3.1.أجناس العائلة الصليبية :

تحتوي العائلة الصليبية على حوالي (300-420) جنسا تحت رتبة *(Brassicales)*، ومن الأجناس الرئيسية لهذه العائلة ما يلي[9]:

- *Lepidium،(les passerages).*
- *Arabis،(arabette).*
- *Isatis،(pastel).*
- *Draba،(drava)*
- *Cleome.*
- *Crataeva.*
- *Thlaspi،(taleouret).*

I.2.الدراسة النظرية لنبات اللفت :

I.2.1.لمحة تاريخية :

تم العثور على الأشكال المختلفة للفت وما يشبهه من أنواع مثل الفجل والخردل في غرب آسيا وأوروبا، غير أن موطنه الأصلي الدقيق غير معروف بالضبط. وبداية من عام 2000 قبل الميلاد، تم تهجين سلالات من البذور الزيتية ذات الصلة بالبراسيكا رابا مثل الألوفيرا من منطقة البحر المتوسط إلى الهند على الرغم من أن هذه ليست نفس اللفت المزروعة. علاوة على ذلك تقتصر تقديرات تواريخ التهجين على التحليلات اللغوية لأسماء النباتات.

يزرع اللفت منذ العصور القديمة، وربما كان اللفت الصالح للأكل يزرع لأول مرة في شمال اوروبا، وقد كان طعاما مهما في العالم الهلنستي والروماني. انتشر اللفت في النهاية شرقا إلى الصين، ووصل اليابان بحلول 700م [5].

I.2.2.الأسماء الشائعة لنبات اللفت :

تختلف الأسماء المتداولة للنوع النباتي من منطقة إلى أخرى حيث يأخذ النوع النباتي (*Brassica rapa*) عدة أسماء تتمثل في:

الاسم العلمي:*Brassica rapa subsp. rapa*

الاسم الفرنسي: *Rave، Naveau،Navet*

الاسم الإنجليزي: *Turnip*

الاسم الإسباني:*Nabo*

الاسم الإيطالي:*Rapa، Navone*

الإسم العربي:الخردل، اللفت، الشلغم [3].

I.2.3.التصنيف العلمي لنبات اللفت:

يمكن تمثيل الوضعية التصنيفية لنبات (*Brassica rapa*) في الجدول التالي [3]:

جدول(I-1) :يوضح التصنيف العلمي لنبات اللفت .

Plante	النباتية	المملكة
Tracheophytes	الوعائية	**تحت المملكة**
Anigosperms	مستورات البذور	**فوق الشعبة**
Magnoliophyta	النباتات الزهرية	**الشعبة**
Magnoliopsida	ثنائية الفلقة	**الصف**
Brassicales	كرنبيات	**الرتبة**
Brassicaceae	الصليبية	**الفصيلة**
Brassicoideae	الكرنبية	**تحت الفصيلة**
Brassica	كرنب	**الجنس**
Brassica rapa subsp. rapa		**النوع**

I.2.4.الوصف المورفولوجي لنبات اللفت:

- اللفت هو نبات عشبي من عائلة الكرنبيات" *Brassicaceae* " حولي في المناطق المعتدلة وذو حولين في المناطق الباردة، ويمر بمرحلتين أو موسمين من النمو حيث يكون النمو خضريا في موسم النمو الأول وزهريا في الموسم الثاني. يزرع كخضروات جذرية في سنة البذر.

- له جذر منتفخ ومتغير للغاية في شكله: أسطواني، مخروطي، كروي ممكن يكون ممدود أو مفلطح ولونه أصفر باهت أبيض، رمادي أو أسود أو أبيض بالوردي أحيانا ما يكون حلو إلى حد ما وفي أوقات أخرى لاذع وقليل النفاذية.
- للفت سيقان منتصبة من 8-12 ورقة تشكل تاجا وأوراقها خضراء متجعدة تشبه إلى حد ما أوراق النعناع وعلى السطح الخارجي لثمرة اللفت توجد فروع جذرية بأحجام مختلفة.
- في السنة الثانية من عمر النبتة ينبعث جذع من الأزهار الناعمة المتفرعة من أربعة إلى ثمانين سنتيمترا ويصل ارتفاعها إلى حوالي متر واحد.
- أوراقها كاملة ومستطيلة خضراء زاهية وخشنة الملمس إلى حد ما زهورها صفراء ثمارها طويلة اسطوانية تحتوي كل منها من 15 إلى 25 بذرة كروية صغيرة حمراء وأحيانا سوداء [5].

شكل (I-4):مختلف أجزاء نبتة اللفت

I.5.2.المكونات الأساسية لنبات اللفت:

والجدول الآتي يلخص مختلف مكونات اللفت الأساسية:

جدول(I-2) :جدول يلخص مختلف مكونات اللفت الأساسية [3].

الأجزاء	المكونات الكيميائية
الجذور	الماء 92g/100g السعرات 27Kcal/100g البروتيدات 1g/100g الليبيدات 0.1 g/100g الغلوسيدات 6.5g/100g الكالسيوم 30mg /100g الفوسفور 27mg/100g الحديد 0.3mg /100g الصوديوم 67mg/100g البوتاسيوم 191mg/100g المغنزيوم 11mg/100g فيتامين أ 0 UI/100g فيتامين ب1 0.04mg /100g فيتامين ب2 0.03mg/100g فيتامين ج 21mg/100g
الأوراق	الماء 91g /100g السعرات 27Kcal/100g البروتيدات 1.5g/100g الليبيدات 6g/100g الغلوسيدات 0.3g/100g الكالسيوم 191mg /100g الفوسفور42mg/100g الصوديوم 67mg/100g البوتاسيوم 191mg/100g المغنزيوم 11mg/100g فيتامين أ 0UI/100g فيتامين ب1 0.04mg/100 g فيتامين ب2 0.03 mg/100g فيتامين ج 21g/100g

I.6.2.إستعمالات نبات اللفت :

- في القديم كان اللفت يستخدم كطعام للماشية،كما كان اللفت يزرع في الهند قديما على نطاق واسع للاستفادة من زيت بذوره.
- اللفت من الخضراوات التي تنتشر بكثرة في الأسواق وهو من الخضر التي يكثر استخدامها بعد تخليلها أو سلقها وتمليحها، أما بذوره فتنتمي إلى عائلة الخردل وتستخدم لإنتاج زيت يأكله الآسيويون ويستعمل في إنتاج علف الحيوانات والزيت النباتي والديزل البيولوجي.
- أما حول استخداماته الأخرى أي الاستخدامات الطبية والتجميلية، درج الناس ومنذ قديم الزمان على استخدام اللفت لمعالجة نزلات البرد والسعال وبرد القدمين ووجع المفاصل وعلاج الحصبة والتخلص من تجاعيد الوجه. وجاءت تعليمات بعض هذه الاستخدامات في الكتب الرومانية القديمة.
- أما حديثا، فيقال إن اللفت خصوصا أوراقه تحارب و تحمي من مرض السرطان وأمراض القلب، ويقوي المعدة والجهاز الهضمي، أضف إلى ذلك الحماية من الالتهابات والأكسدة ودعم جهاز المناعة [10].

I.7.2.فوائد اللفت :

يحتوي اللفت بجميع أجزائه على مختلف العناصر الغذائية التي تضيف له فوائد عدة، وفيما يأتي نذكر أهمها:

- مصدر غني بفيتامين ك المتواجد في الأجزاء الخضراء من اللفت والذي يساعد على تخثر الدم.
- مصدر غني بفيتامين ج إذ أن كلاً من جذور وأوراق اللفت تعد مصدرا جيدا لهذا الفيتامين الذي يحمي من أضرار الجذور الحرة عند ارتفاع مستوياتها بشكل كبير.
- مصدر جيد للألياف التي تعد مهمة لصحة الأمعاء وتعمل على تقليل خطر الإمساك.
- مصدر جيد للمنغنيز الذي يساهم في تنظيم أداء المخ والأعصاب.
- مصدر غني بالنترات حيث تبين أن النترات الغذائية المتواجدة في الخضراوات تعزز من توسع الأوعية الدموية وتحسن من وصول الأكسجين إلى العضلات أثناء القيام بجهد بدني [10].

II. الفصل الثاني: المنتجات الطبيعية

مقدمة

من إحدى الخصائص الرئيسية للنباتات هو قدرتها على إنتاج مجموعة واسعة من المواد الطبيعية وهي ضرورية لتفاعل النباتات مع البيئة، وإلى جانب تشكل نواتج الأيض الأولية التقليدية (الكربوهيدرات، البروتينات والدهون...). تشكل النباتات نواتج أيض أخرى تسمى بالثانوية، حيث تعد هذه الجزيئات مصدرًا هاما يستخدمها البشر في مجالات متنوعة مثل: علم العقاقير أو في المواد الغذائية هذه المركبات الثانوية تنتمي إلى مجموعات كيميائية مختلفة جدا مثل: القلويدات، التربينات والمركبات الفينولية...[11].

II.1.تعريف المنتجات الطبيعية :

يطلق مصطلح المنتجات الطبيعية على المركبات التي تنتج بواسطة الكائنات الحية، وهذه المنتجات قد تكون ذات منشأ حيواني أو نباتي. والتي تمتلك دورا هاما في التفاعلات الأيضية، إلا أن أكثرها لفتا للانتباه تلك المواد التي يتم فصلها من النباتات أو الكائنات الحية الدقيقة نظرا لأهميتها للإنسان في مجالات متعددة [10].

وتعرف أيضا بأنها المركبات العضوية التي تنتجها الكائنات الحية نتيجة عمليات الأيض الجارية في الخلايا الحية [12].

II.2.تصنيف المنتجات الطبيعية :

تصنف المنتجات الطبيعية إلى قسمين كبيرين:

القسم الأول هو كل المركبات الداخلة في التفاعلات الأولية (العمليات الأيضية الأساسية) والتي ينتج عنها حموض كربوكسيلية بسيطة وحموض أمينية من نوع ألفا والسكريات والدهون والبروتينات. وتعتبر مركبات هذا القسم هي المركبات البادئة لتكوين مركبات القسم الثاني.

القسم الثاني هذه المركبات ليست مستمدة مباشرة من عملية التركيب الضوئي وإنما تأتي نتيجة للتفاعلات الكيميائية اللاحقة ، وتسمى هذه المركبات بمواد الأيض الثانوي. وهي عبارة عن مجموعة من الجزيئات التي لديها العديد من الوظائف الهامة في النبات، حيث تلعب دورا مهما في تكيف النباتات مع بيئتها، فهي تعمل بطريقة فعالة جدا تجعل النباتات تتحمل مختلف الاجهادات ضد الجفاف وضوء

الأشعة فوق البنفسجية وضد آكلات الأعشاب وتثبيط الهجوم الممرض من البكتيريا والفطريات والحشرات الضارة.

في الوقت الحاضر العديد من هذه المنتجات تستخدم في الطب، وتعتبر هذه الجزيئات أساس المكونات النشطة الموجودة في النباتات الطبية التي تمثل مصدرا كبيرا لمختلف العوامل العلاجية.

هناك أكثر من200 ألف من المركبات الأيضية الثانوية والتي تختلف المراجع في تقسيمها وفقا لبنيتها الكيميائية إلى عدة عائلات أهمها: التربينات(*terpène*) ، القلويدات(*alcaloides*)، الفلافونيدات(*Flavonoïdes*)،الأنثوسيانينات (*anthocyanes*)، الكومارينات(*cumarine*) والمضادات الحيوية(*les antibiotiques*).

أما المصادر الحديثة فتلجأ إلى تصنيف هذه المركبات إلى أربع عائلات رئيسية[13]:

- القلويدات.
- الستيرويدات.
- التربينات.
- عديدات الفينول.

II.3.القلويدات:

II.3.1.تعريفها:

تعرف القلويدات على أنها مركبات نباتية تمتلك طبيعة أساسية، تحتوي جزيئاتها ذرة نيتروجين على الأقل في نواة حلقة متغايرة(غير متجانسة) مما يعطي الصفات القلوية لها. لكن هذا التعريف غير صحيح تماما لوجود استثناءات تجعل من الصعب تحديد صيغة عامة لها [12].

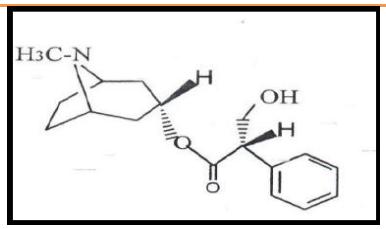
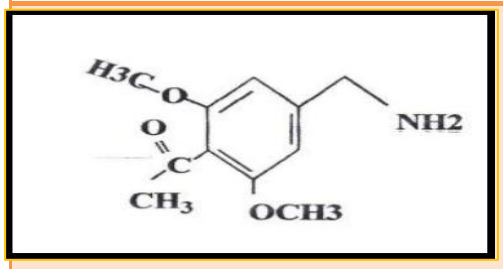
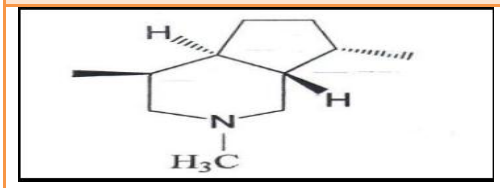
هذه الاستثناءات موجودة بسبب البنية الجزيئية المعقدة والفعالية الصيدلانية للعديد من القلويدات. أدت إلى وجود عدد هائل وتعقد كبير في بنيتها الجزيئية، جعلت من الصعب تصور تعريف يعبر عنها بأمانة.

تعد القلويدات من أكثر المنتجات الطبيعية عددا فقد يحتوي النبات على أكثر من 100وحدة مختلفة منها، ومعظمها مركبات صلبة غير قابلة للذوبان في الماء ولكنها تذوب في الإيثانول، الإيثر، الكلوروفورم وبعض المذيبات العضوية الأخرى [13].

II.2.3.أصنافها :

حسب العالم هيجاور (*Hegauer*) يمكن تقسيم القلويدات وفقا للفصائل النباتية المستخلصة منها إلى ثلاث مجموعات [14][15].

جدول (II-1) :جدول يمثل بعض أقسام القلويدات

القلويدات الحقيقية *(Les alcaloïdes vrais)*	هي قلويدات سامة لها تأثيرات فيزيولوجية متباينة، تحتوي على ذرة نيتروجين واحدة أو أكثر في حلقات متغايرة، وهي مركبات تشتق من الأحماض الأمينية ذات توزع نباتي على هيئة أملاح للأحماض العضوية .	 *(-)-Hyoscyamine(Atropine)*
القلويدات الأولية *(Lesprotoalcaloïdes)*	أمينات بسيطة، قاعدية تكون فيها ذرة الأزوت لا تنتمي إلى النظام الحلقي بل تكون مجموعة أمينية جانبية، يتم تخليقها من الأحماض الأمينية وغالبا ما يطلق عليها بالأمينات الحيوية.	 *Mescaline*
القلويدات غير الحقيقية (الكاذبة) *(Lespseudo-alcaloïde)*	قلويدات قاعدية لا تشتق من الأحماض الأمينية، يندرج تحت هذا القسم القلويدات الستيرويدية والقلويدات البيرينية *(purines)*.	

II.3.3.تواجد و توزيع القلويدات:

لقد كان المصدر الرئيسي للقلويدات في الماضي النباتات الزهرية، إلا أنه في الوقت الحاضر قد تم عزل الكثير من هذه المركبات من مصادر مختلفة مثل الحشرات والكائنات البحرية الدقيقة وهذا ولا يزال عدد القلويدات التي تم استخلاصها من النباتات الزهرية يفوق عدد القلويدات التي تم استخلاصها من المصادر الأخر توجد القلويدات بكثرة عند كاسيات البذور وخاصة عند ثنائيات الفلقة مقارنة بأحادية الفلقة [13].

II.3.4.دور القلويدات و أهميتها :

للقلويدات عدة أدوار تتمثل فيما يلي:

- هي نواتج هدم أو نواتج نهاية لعملية التمثيل الآزوتي وتخزن في صورة غير ضارة للنبات.
- وجود زيادة في مجاميع الهيدروكسيل ينتج عنه زيادة في النشاط المضاد للأورام.
- الزيادة في عدد مجاميع الميثوكسي ينتج عنه زيادة في النشاط المضاد للسرطان.
- تلعب دورا بيولوجيا وفيسيولوجيا هاما خلال فترات دورة الحياة النباتية متمثلا في الفعالية الحيوية كمنظمات للنمو[16].
- ولها العديد من الأدوار كمسكنات للآلام وموسعة للقصبات الهوائية ومرخية للعضلات ورافعة للضغط [17].
- تلعب دور ضد البكتيريا والفيروسات والحساسية .
- تلعب دورا دفاعيا للنبات لما تحتويه من مواد سامة بحيث تقيه من الحشرات وآكلات الأعشاب والكائنات الدقيقة [18][19].
- تعد مصدرا هاما لتكوين البروتينات، كما أنها مواد واقية للنباتات من التلف الذي تسببه الأشعة فوق البنفسجية [20].

II.4.المركبات الفينولية :

II.4.1. تعريفها:

تمثل المركبات الفينولية مجموعة واسعة من المواد النباتية التي تعرف على أنها مستقبلات ثانوية في المملكة النباتية، حيث تستعملها للدفاع ضد الأشعة فوق البنفسجية أو الأجسام الغريبة.

بحيث تتميز بنيتها الأساسية بوجود حلقة عطرية أو أكثر مرتبطة مباشرة بمجموعة أو أكثر من الهيدروكسيل أو المرتبطة بأستر، إيثر، او جزيئة سكرية و الاختلاف في عدد الحلقات والوظائف المرتبطة بها يجعلها تنقسم إلى عدة مجاميع تتمثل في: الأحماض الفينولية، الفلافونيدات، التانينات، الكومارينات التي تتواجد في النبات [21].

II.4.2.مصدرها:

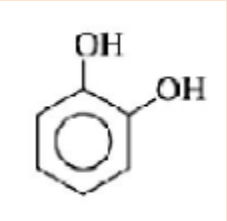
تتواجد المركبات الفينولية وبصورة أكبر في الأجزاء الهوائية خاصة الأزهار والأوراق وذلك بشكل إيتروزيدات تذوب في الماء وتتمركز في حوصلة الخلية [14].

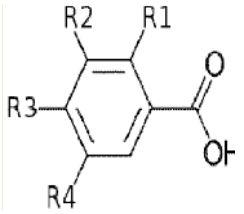
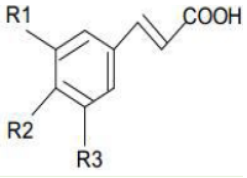
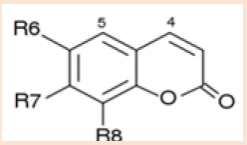
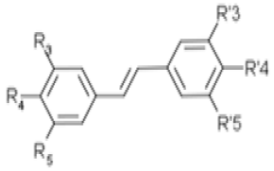
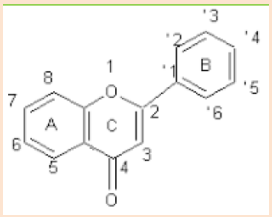
كما تعتبر الفواكه والخضروات من أهم المصادر حيث تحتوي على حوالي نصف الكمية من المركبات الفينولية والكمية الأخرى نجدها في المشروبات مثل عصائر الفاكهة، القهوة، الشاي [22].

II.4.3.تصنيفها:

يمكن تصنيف المجموعات الكبيرة والمتنوعة من المركبات الفينولية على أساس عدد ذرات الكربون في الجزيء وحسب البنية وعدد الحلقات العطرية والعناصر المرتبطة بها ونلخص عملية التصنيف في الجدول II-2التالي [23][24]:

جدول(II-2): تصنيف الفينولات

الهيكل الكربوني الأساسي	الصنف
C_6 	فينولات بسيطة هي التي تحوي على حلقة بنزين مرتبطة بواحدة أو أكثر من مجموعات الهيدروكسيل وهي نادرة في الطبيعة باستثناء الهيدروكينون الموجود في كثير من العائلات[25].

C_6-C_1  C_6-C_3 	الأحماض الفينولية الكربوكسيلية أحماض هيدروكسي بنزويك تكون حلقة الفينول العطرية محتوية على مجموعة هيدروكسيل أو أكثر مرتبطة مباشرة بمجموعة الكربوكسيل COOH، أي هيكله الأساسي حمض البنزويك هذه الأحماض شائعة جدا سواء في شكل حر أو في شكل إسترات أو على شكل جليكوسيدات. هذه الفئة هي وفيرة في النباتات والأغذية[26]. احماض هيدروكسي سينامك في هذا النوع تكون الحلقة الفينولية التي تحوي على مجموعات الهيدروكسيل مرتبطة بمجموعة الكربوكسيل عن طريق سلسلة أليفاتية غير مشبعة تتكون من 3 كربونات وهيكلها الأساسي حمض السينامك. نادرا ما يوجد في شكل حر وغالبا ما تقترن مع سكريات أو البوليولات[27].
C_6-C_3 	هي عبارة عن نواة بنزينية وحلقة سداسية بها ذرة أكسجين 20حيث أشتق اسم كومارين من كلمة (Coumarou)وهو اسم نبات (Dipteryx wilid odorata) وهو اسم نبات من نبات من عائلة الذي فصل منه الكومارين وتنتمي هذه الأخيرة إلى مجموعة – (γbenzopyrone)
$C_6-C_2-C_6$ 	الستلبينات (*stèlpene*) هي مركبات تحتوي على حلقتين عطريتين ويربطها رابطة ثنائية وتشكل نظام مترافق، هذه الميزة تعطي لها فعالية عالية نظرا للرنين الإلكتروني في الجزيء كله، وهي تحمي من الأشعة فوق البنفسجية[27].
$(C_6-C_3)_2$ 	الفلافونويدات Flavonoïdes الفلافونات flavones الفلافانولات flavanols الفلافانونات Flavanones ايزوفلافونات Isoflavones
$(C_6-C_3)_n$	اللغنين Lignines
$(C_6-C_3-C_6)_n$	التانينات Tannins تانينات قابلة للتحلل Tannins hydrolysables[28]. تانينات مكثفة Tannins condensés[29].

II.4.4.دورها و أهميتها :

- أظهرت العديد من الدراسات أن الفينولات ترتبط مع العديد من العمليات الفيزيولوجية للنباتات، أهمها نمو الخلايا، تمايز الأعضاء، الإزهار والإثمار.

- الفينولات هي عبارة عن أصبغة ومركبات عطرية تمنح النبات اللون والرائحة مما تؤدي إلى جذب الحشرات والطيور الملقحة.
- من الأدوار المعروفة للفينولات هي الحماية والوقاية من الأشعة فوق البنفسجية، كما أن لديها خصائص مضادة للفطريات ومضادة للجراثيم.
- إزالة الجذور الحرة.
- تمتلك الفينولات خصائص علاجية متنوعة إذ تؤدي دورا كبيرا في ميدان الطب والصيدلة لما لها من تأثيرات على الكائنات الحية، وعلى الإنسان فهي تحمي الأوعية الدموية، مضادة للالتهابات، منها مثبطة ومنها محفز للإنزيمات، مضادة للأورام.
- تحتوي الفينولات على مجموعة الهيدروكسيل(OH)التي كلما زاد وجودها في المركب زادت في نشاط المضاد (المقاومة للأورام)، تعد قانصات(مفخخة) للجذور الحرة فهي تمنح الهيدروجين ليوقف عملية انتشار الجذور [11].

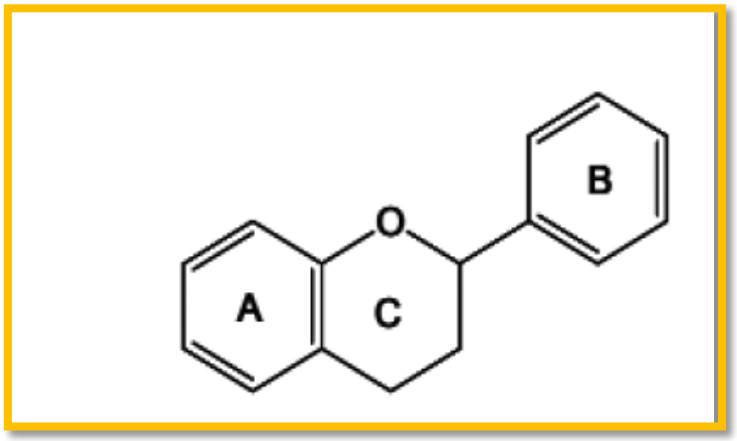
جدول (II-3) بعض المركبات الفينولية المستعملة في الطب والصيدلة

المركبات الفينولية	الأمراض المعالجة
ليقنين	- مضادات للسرطان.
الفلافونيدات	- مضاد للالتهاب. - مضاد للسرطان. - يخفض ارتفاع الدم. - مدر للبول. - مضاد للأكسدة. - تمنع تخثر الدم.
الكومارينات	- حماية الأوعية الدموية. - مضاد للأمراض الجلدية(البهاق).
الأحماض الفينولية	- مضاد للبكتيريا. - مضاد للطحالب. - مضاد للأكسدة.
التانينات المتراكمة والمتحللة	- مضادات للأكسدة.

II.5.الفلافونيدات :

II.5.1.تعريفها :

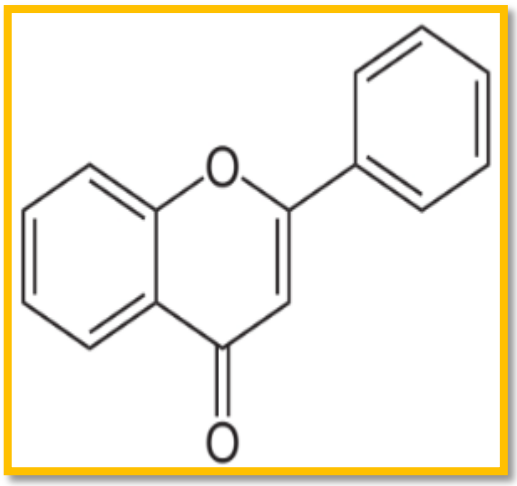
سميت بهذا الاسم نسبة للكلمة اللاتينية (*flavus*) والتي تعني اللون الأصفر. هذه المركبات تمثل المجموعة الأكثر تنوعا من المركبات الفينولية التي ينتجها النبات وتحتوي على أكثر من 60000 نوع، تملك بنية كيميائية مشتركة يتكون فيها الهيكل الكربوني من 15 ذرة كربون موزعة على حلقتين عطريتين سداسيتين مرتبطتين بحلقة غير متجانسة تحتوي على ذرة اكسجين(*pyran*) [30][29].



شكل (II-1):الهيكل الأساسي للفلافونيدات

II.5.2.تصنيفها :

هناك عدة فئات للفلافونويدات تصنف حسب درجة تأكسد نواة البيرون(*cyclopyrone*) C وحسب موضع ارتباط الحلقة B بالحلقة C [31]:



- *Flavon-3-ols* الفلافونولات
- *Flavones* الفلافونات
- *Flavonones* الفلافانونات
- Isoflavones ايزوفلافونات
- *Anthocyanldins* انثوسيانات
- *Flavonols* الفلافانولات

شكل (II-2) :مخطط تصنيف الفلافونيدات

II.3.5.دورها و أهميتها :

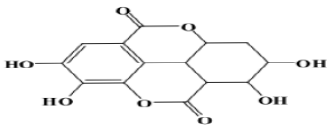
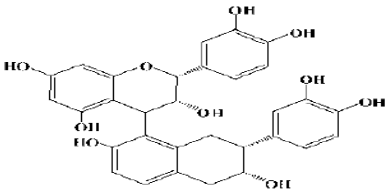
- للفلافونيدات أهمية كبيرة عند النبات حيث تعمل على الحماية ضد الأشعة فوق البنفسجية وضد الأكسدة، الدفاع ضد مسببات الأمراض. كما يمكنها التحكم في نشاط الهرمونات المسؤولة عن النمو مثل الأكسينات. أيضا أهميتها في تلوين الأزهار والفواكه ففي الأزهار تكون مسؤولة عن إعطاء اللون المميز الذي يكون بمثابة العامل المساعد على جلب مختلف ملقحات النباتات كذلك لها تأثيرات مضادة للفطريات والميكروبات والحشرات.
- مضاد للجراثيم والفيروسات.
- تعمل على التخفيف من لزوجة الدم وخطر احتشاء عضلة القلب.
- تساهم في علاج الاضطرابات المرتبطة بالتهاب الشبكية والمشيمة [9].
- في الوقت الحاضر تمت دراسة الخصائص العلاجية للفلافونيدات، حيث تم التعرف على العديد من الأنشطة البيولوجية والدوائية لها، وتتمثل في: مضادات للأكسدة، مضادات للحساسية، مضادات للالتهاب، مضادات لارتفاع ضغط الدم، مضادات للفطريات، مضادات للفيروسات، مضادات للقرحة المعدية ومضادات للتشنج، ولها دور في حماية الجهاز العصبي وأيضا تحمي من أمراض القلب والأوعية [32].

II.6.التانينات:

II.1.6.تعريفها :

هو اسم عام لمركبات فينولية ذات بنى معقدة (مبلمرة) وزنها الجزيئي يتراوح بين 500 إلى 3000 وحدة، تسمى بالمواد القابضة لأثرها الطبي في وقف الإسهال، وتستعمل في الدباغة، طعمها غير مستساغ، ترسب القلويدات و البروتينات وهي نوعان:

جدول(**4-II**) :يوضح أنواع التانينات وصيغها الكيميائية

نوع التانينات	تعريفها	الصيغة الكيميائية
تانينات متحللة (***Tannins hydrolysables***)	عبارة عن أحماض فينولية مرتبطة بجلوكوز.	
تانينات مكثفة (***Tannins condenses***)	هي عبارة عن فلافونيدات غير مرتبطة بغلوكوز.	

2.6.II.دورها و أهميتها :

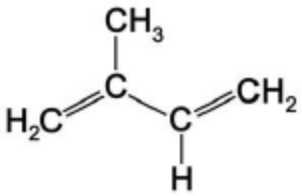
تتعدد أدوار التانينات عند النبات وعند الإنسان أهمها:

- تعد مصدر طاقة التي يستهلكها النبات في عمليات التحول الغذائي وذلك بعد أكسدتها.
- مضاد للأورام يثبط تكاثر الخلايا السرطانية وتقي *ADN* من التخريب.
- تعتبر التانينات موقفة للنزيف بسبب تأثيرها القابض والمرسب للبروتينات.
- لها دور هام في عمليات البناء لذلك نجدها في الأجزاء النامية كالبراعم والأوراق والثمار[33][34].

7.II.التربينات :

1.7.II.تعريفها:

هي مركبات هيدروكربونية الوحدة البدائية لها هي الإيزوبرين (C_5H_8) "*isoprène*" ذات 5 ذرات كربون وهي ناتجة عن تجمع من وحدات ال(*isoprène*)، وفي أوائل القرن العشرين تمكن *Ruzicka* من اكتشاف الوحدة الأساسية لبناء التربينات الإيزوبرين(*isoprène*) [35] كما هو مبين في الشكل3-II:



شكل (3-II): بنية isoprène

وحسب هذه القاعدة تقسم التربينات حسب ما ذكره (*Guignard*)[36] كما هو موضح في الجدول التالي :

جدول (5-II) : تقسيم التربينات

عدد ذرات الكربون	اسم التربين	وحدات الإيزوبرين
10	*أحادي التربين (Mono-Terpène)*	2
15	*سيسكوتربين (Sesquiterpènes)*	3
20	*ثنائي التربين (Di- Terpènes)*	4
30	*ثلاثي التربين (Tri- Terpénes)*	6
40	*رباعي التربين (Tetra- Terpènes)*	8
أكبر من 40	*متعدد التربين (Poly- Terpènes)*	أكثر من 8

II.2.7.دورها وأهميتها :

- تتيح للنباتات حماية ذاتية من ضراوة الحشرات.
- مضادات فيروسية وفطرية عند الانسان.
- مسؤولة عن اللون الأصفر للأزهار.
- تساهم في منح الرائحة والطعم لكثير من النباتات.
- مضادة للالتهابات ومسكنات للآلام وللعديد منها فعالية ضد الأورام كذلك السرطان [29].

II.8.الصابونين :

II.1.8.تعريفها :

وهي عبارة عن تربينات ثلاثية حقيقية في صورة غليكوزيدية ويتعدد السكر ليصل من اثنين إلى عشرة، وعليه فالصابونيات ذات وزن جزيئي عالٍ وعند إماهتها تحرر سكرًا أو عدة سكريات مع

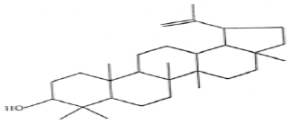
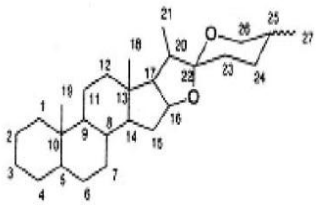
ال(*genine*)، يسمى *(sapogenine)* هذا الأخير عبارة عن نواة إستيرويدية وقليل منها يتألف من نواة ثلاثية التربين [24] .

وقد اشتق اسمها من الكلمة اليونانية(*sapo*) بمعنى صابون لأنها تعطي رغوة كثيفة إذا رجت مع الماء أو الكحولات المخففة وتستمر لمدة طويلة [37].

وتجدر الإشارة إلى أن الصابونيات ذات ال *genine* ستيرويدي تتواجد خاصة في النباتات أحادية الفلقة *Monocotyledonae* مثل الفصيلة الامارلية *(Amirilidaceae)* والاليلية*(Lilaceae)*، وقليلة جدًا في ثنايات الفلقة *(Dicotyledonae)* مثل *Scrophylariacece*،بينما إذا كان ال *genine* ثلاثي التربين تكون نادرة جدًا في أحاديات الفلقة مثل:*Rosacerae* ، *Polygalaceae*، *Primulaceae*، *Carryphllaceae*، *Heppocastanaceae* .

II.2.8.تصنيفها :

جدول (II–6): جدول يوضح أقسام الصابونيات [38][39].

القسم	النوع	المثال
الصابونيات ذات النواة ثلاثية التربين *Groupe des triterpéne*	*Monobidesmosides*	*Lupeol* 
الصابونيات ذات النواة التربينية استرويدية *Groupe des stéroides*	*Bidesmosides*	*Siprostane* 

II.3.8.دورها و أهميتها:

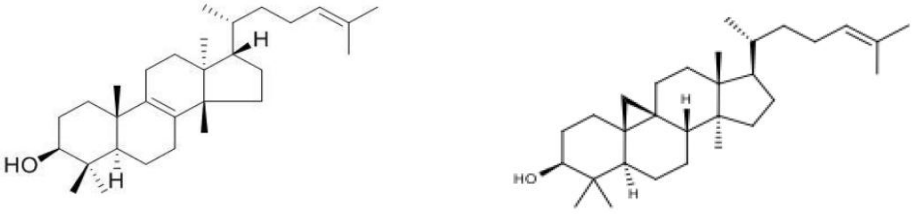
- تؤثر على الأغشية الدهنية، وتعمل على حث تمديد الدم في المختبر، أو عند حقنها وريديا.

- موقفات للتكاثر الخلوي.
- مبيد للحشرات.
- مضاد للبكتيريا والفطريات [39].

II.9.الستيرويدات:

II.9.1.تعريفها:

تعتبر الستيرويدات حسب ما بينه *Makin*، أن الستيرويدات تربينات ثلاثية، رباعية الحلقة فقدت على الأقل ثلاث مجموعات ميثيلية، وتستخدم ميثيلات المواقع 4،4،14 لتمييز الستيرويدات عن التربينات الثلاثية، ويستخدم الاصطناع الحيوي للتمييز بين الستيرويدات والتربينات، فمثلا مركب *Cyclo-artenol* يحوي (C_{30}) يعتبر من الستيرويدات بينما *euphol* يحوي (C_{30}) هي تربينات رباعية ويمثل الشكل كل من البنيتين *Cyclo-artenol*و*ephol* [40].



شكل(II–4) : بنية Cyclo-artenol و بنية ephol.

II.9.2.دورها و أهميتها :

- تمتلك أهمية في وظائف أعضاء الحيوان مثل الهرمونات الستيرويدية وبعضها له أهمية طبية كالمضادات الحيوية الستيرويدية، وتشمل الستيرويدات.
- كما يعتبر الكوليسترول المركب الأم لأفراد هذه الطائفة. فمعظم الستيرويدات لها كيمياء فراغية نفسها لجزيء الكوليسترول [13].

من خلال هذا الفصل تم التعرف على أهم العائلات التي تصنف تحتها مركبات الأيض الثانوي وفقا لبنيتها الكيميائية، وحسب المصادر الحديثة فقد قسمت إلى أربع رئيسية: قلويدات، ستيرويدات، تربينات، عديدات الفينول.

حيث تطرقنا إلى تعريف كل منها مع تصنيفاتها ومصادرها وأماكن تواجدها، دورها وأهميتها بالنسبة للكائن الحي.

III. الفصل الثالث: الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية البيولوجية

مقدمة

من المعروف أن الجذور الحرة يتم التغلب عليها بما يسمى بالمواد المضادة للأكسدة والتي تقوم بمعادلة الجذور الحرة في الخلايا الحيوانية والأنسجة النباتية، ولكن هذه المواد يقل محتواها تدريجيا وذلك بزيادة ظروف الإجهاد أو التقدم في العمر [41].

وتتواجد البكتيريا من حولنا في كل مكان وتعيش أيضا في أغذيتنا وداخل وخارج أجسامنا ومتواجدة في كل نظام بيئي وهناك آلاف الأنواع منها ما هو نافع لأجسامنا ومنها ما هو مسبب للأمراض.

وقد كان للكشف المجهري أثر كبير في التعرف عليها، حيث ارتبط اسم البكتيريا كثيرا بالأمراض التي تسببها للإنسان ولكن الاكتشافات الحديثة والتقدم السريع الذي حدث في العلوم التطبيقية أظهرت أن البكتيريا تلعب دورا مهما في الكثير من المجالات كالصناعات الدوائية والغذائية والمعالجة الحيوية لمخلفات المزارع واستخدامها في إنتاج الطاقة وغاز الميثان وكذلك التخلص من المواد العضوية وغير العضوية ومعالجة المياه [42].

III.1.الجذور الحرة:

III.1.1.تعريف الجذور الحرة :

الجذر الحر هو عبارة عن جزيء أو ذرة تحتوي على إلكترون غير مزدوج في مدارها الخارجي ويطلق بعض العلماء مصطلح العامل المؤكسد على الجذر الحر [43]. بإمكانها أن تتفاعل بسرعة وبسهولة مع مركبات أخرى أو مع الخلايا الحية محاولة اقتناص ما ينقصها من إلكترونات لتصل إلى الثبات الكيميائي، ويحدث هذا إما بأخذها إلكترونا (تتصرف كمؤكسد) أو بفقدها إلكترونا (تتصرف كمرجع) وينتج عن هذا التفاعل ظهور جذور جديدة، ومن هنا يمكن تفسير قدرة جذر واحد على تخريب الخلية.

وكثير من التفاعلات البيولوجية تقوم بأكسدة مواد التفاعل حيث يكون فيها الأكسجين الجزيئي هو المستقبل النهائي للإلكترونات. والذي يدخل في تشكيل الأنواع الأكسيجينية النشطة التي يمكن أن تكون جذرية أو غير جذرية [44].

شكل (III-1) :مقطع تحت المجهر للجذور الحرة

III.1.2.مصادر الجذور الحرة:

للجذور الحرة عدة مصادر منها داخلية وخارجية، تتكاثر عند المرض أو الإرهاق كالآتي:

- مصادر داخلية: ومنها عمليات الأكسدة، التنفس، نقص المناعة، الامراض والالتهابات.
- مصادر خارجية: التعرض للإشعاع، التلوث، التدخين، الأدوية، التعرض للسموم، بعض الأطعمة المتناولة والغازات المنبعثة.

III.1.3.أنواع المصادر الحرة:

أ- التقسيم على أساس الاستقرار:

الجذور النشطة(غير المستقرة):

هي جذور حرة مدة عيشها قصيرة جدًا تصل إلى الميكرو ثانية أو أقل وتصل حتى إلى البيكو ثانية، يشمل هذا النوع الجذور ذات العناصر مثل: ذرات الهيدروجين(H)، الفلور(F)، الكلور(Cl)، النتروجين(N)، اليود(I)، البروم(Br) والجذور التي لها وزن جزيئي صغير مثل الميثيل (CH_3)، الإيثيل (C_2H_5) وطاقة تنشيطها تقترب من الصفر [41].

الجذور المستقرة (الصامدة):

وهي التي لها أعمار طويلة تقدر بالثواني أو الدقائق ويمكن أن تصل إلى ساعات وأيام من أمثلة ذلك جذر ثلاثي ميثيل أمين وجذر 2،2-ثنائي فينيل -1-بيكريل هيدرازين*(DPPH)* فمحلول الجذر الأول يكون ذا لون أصفر ومستقرا بدرجة حرارة الغرفة لبعض الساعات، أما الجذر الثاني فيكون مادة صلبة ذات لون بنفسجي مسود ويكون مستقر لعدة أيام [45].

ب- التقسيم على أساس النوع:

- الجذور الحرة الأكسيجينية:

أهمها شق الهيدروكسيل الحر وقد يكون أخطرها غير أن الجذر الحر له لا يدوم فهو مرحلة انتقالية قصيرة العمر.

- الجذور الحرة النتروجينية:

أكسيد النتروجين(NO_2)،بيروكسيد النتروجين الهيدروجيني وبيروكسيد النتريت($NOOO^-$).

- الجذور الحرة الدهنية:

تتميز الدهون بكونها أعلى درجة اختزال من عناصر الجسم وبالتالي فهي عرضة أكثر من غيرها للتأكسد بجذور الأكسجين والنتروجين خاصة الدهون غير المشبعة، وهي أطول عمرًا.

- جذور السموم الحرة: وتشمل معظم المواد السامة والمطفرات والمسرطنات الكيميائية.

III.4.1.أضرار الجذور الحرة :

تتواجد الجذور الحرة في جسم الكائن الحي بتراكيز ضعيفة، حيث تلعب أدوار فيزيولوجية مهمة وفعالة كما تستعمل كوسائط منظمة للوظائف البيولوجية على سبيل المثال:

- توسيع الأوعية الدموية.
- تستعمل على شكل رسائل عصبية.
- الدفاع عن الجسم ضد البكتيريا [46].
- بالمقابل فإن الإنتاج المفرط للجذور الحرة يؤدي إلى عدة اختلالات على مستوى الجزيئات الخلوية [47].
- أضرار واقعة على البروتينات.
- أضرار واقعة على الدهون وهي الأخطر.
- أضرار أخرى كالأمراض القلبية والأوعية الدموية [48].

III.2.مضادات الأكسدة :

III.2.1. تعريفها:

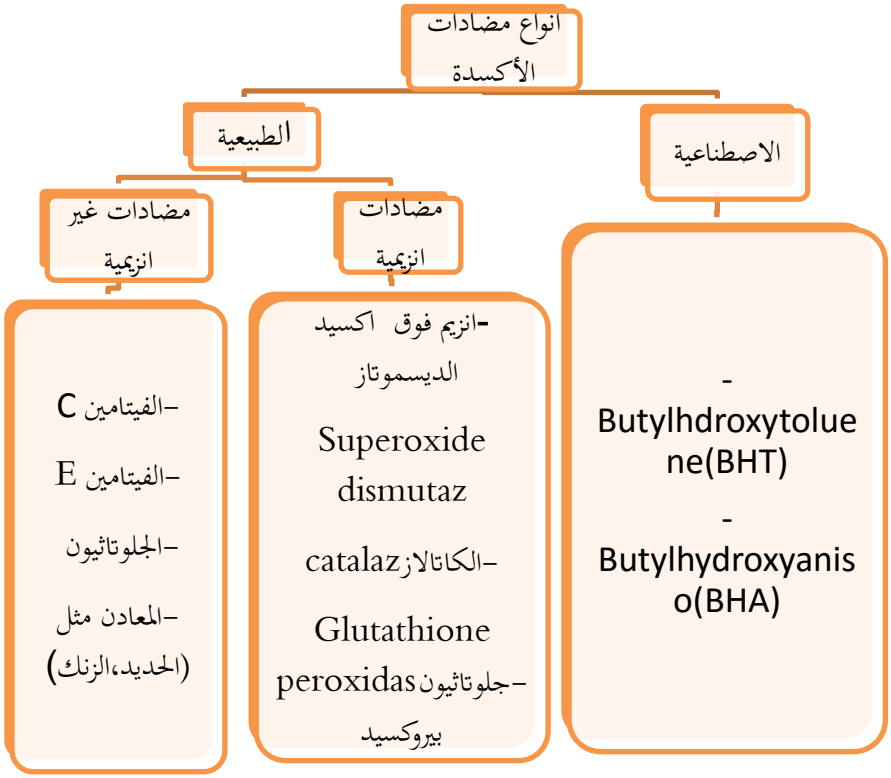
تعرف بأنها مواد مانحة لذرات الهيدروجين، أو أنها تتحد مع الجذر وتحوله إلى مركب مستقر. يتمثل دورها في تثبيط عمل الجذور الحرة [49].ويكمن دورها الأساسي في أنها تمنع من انتشار سلسلة تفاعلات الجذور الحرة الناتجة من الأكسدة [50].

المعادلة الكيميائية للكبح موضحة في المعادلات التالية:

$$ROO^- + AH_2 \rightarrow ROOH + AH^-$$
$$AH^- + AH \rightarrow A^- + AH_2$$

III.2.2. تصنيفها:

تنقسم مضادات الأكسدة من حيث مصادرها إلى طبيعية ومصنعة وذلك حسب المخطط الآتي [50][51]:



شكل (III-2) :مخطط يوضح أقسام مضادات الأكسدة

III.3.الفعالية المضادة للبكتيريا :

III.3.1.تعريف البكتيريا :

البكتيريا كائنات حية دقيقة مجهرية بدائية النوى لا ترى بالعين المجردة تعرف بأنها أحادية الخلية يتراوح حجمها من1µm إلى 10µm وتختلف أشكالها بين عصوية أو حلزونية أو كروية [42]. وتستطيع جرثومة البكتيريا العيش لمدة طويلة متحملة جميع الأحوال غير الملائمة من ارتفاع درجة الحرارة أو انخفاضها أو غير ذلك من الظروف البيئية القاسية [52].

III.3.2.بنية البكتيريا:

تتشكل الخلية البكتيرية من مكونات منها ما هو أساسي في كل خلية ومنها ما هو ثانوي قد يتواجد في الخلية أو لا يتواجد [53].

III.3.3. المكونات الأساسية :

1 الجدار الخلوي: ومن صفاته الصلابة، حيث يتكون من السكريات والدهنيات وهو المسؤول عن منح البكتيريا شكل مميز وثابت يحميها من الهجوم الخارجي [54].

2 الغشاء البلازمي: عبارة عن طبقة رقيقة من الدهون والبروتينات ذات سمك 7.5 nm، يحتوي على العديد من الثنيات وله وظيفة في الانقسامات البكتيرية.

3 السيتوبلازم: وهي تمثل الوسط الداخلي للبكتيريا، فهي عبارة عن مادة هلامية تسبح داخلها مدخرات غذائية وفضلات وتحوي أيضا الريبوزومات وعلى المادة الوراثية للبكتيريا [53].

4 النواة: هي عبارة عن كروموزوم ملتف حول نفسه في مركز الخلية ووظيفته الأساسية هي التحكم في مهام الخلية وصفاتها [55].

III.3.4.المكونات الثانوية :

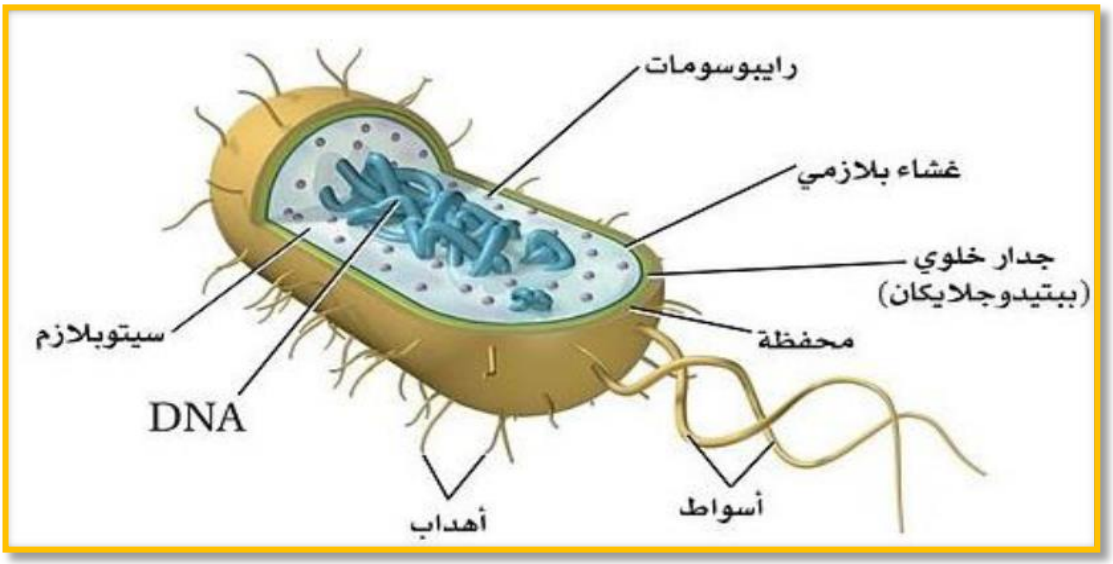
1 البذور: تكون بعض أنواع البكتيريا جدارا سميكا يحيط بالنواة والقليل من السيتوبلازم، ويسمى التركيب بالبذرة وهو كنوع من أنواع المقاومة للظروف البيئية الصعبة لكي نعيش لمدة أطول.

2 الأسواط: وهي عبارة عن زوائد طويلة جدا، تكون حول البكتيريا ذات توزيع مختلف على حسب نوع البكتيريا، فقد تنمو في جهة أو من الجهتين من الخلية البكتيرية حيث تقوم بتسهيل الحركة.

3 الهدبيات: هي عبارة عن زوائد دقيقة جدا تساعد الخلية البكتيرية من أجل التثبت على أسطح الخلايا.

4 الحافظة: وهي عبارة عن طبقة هلامية سميكة تحيط بالخلية البكتيرية حيث تمنع التصاقها مع الخلايا البلعمية [56].

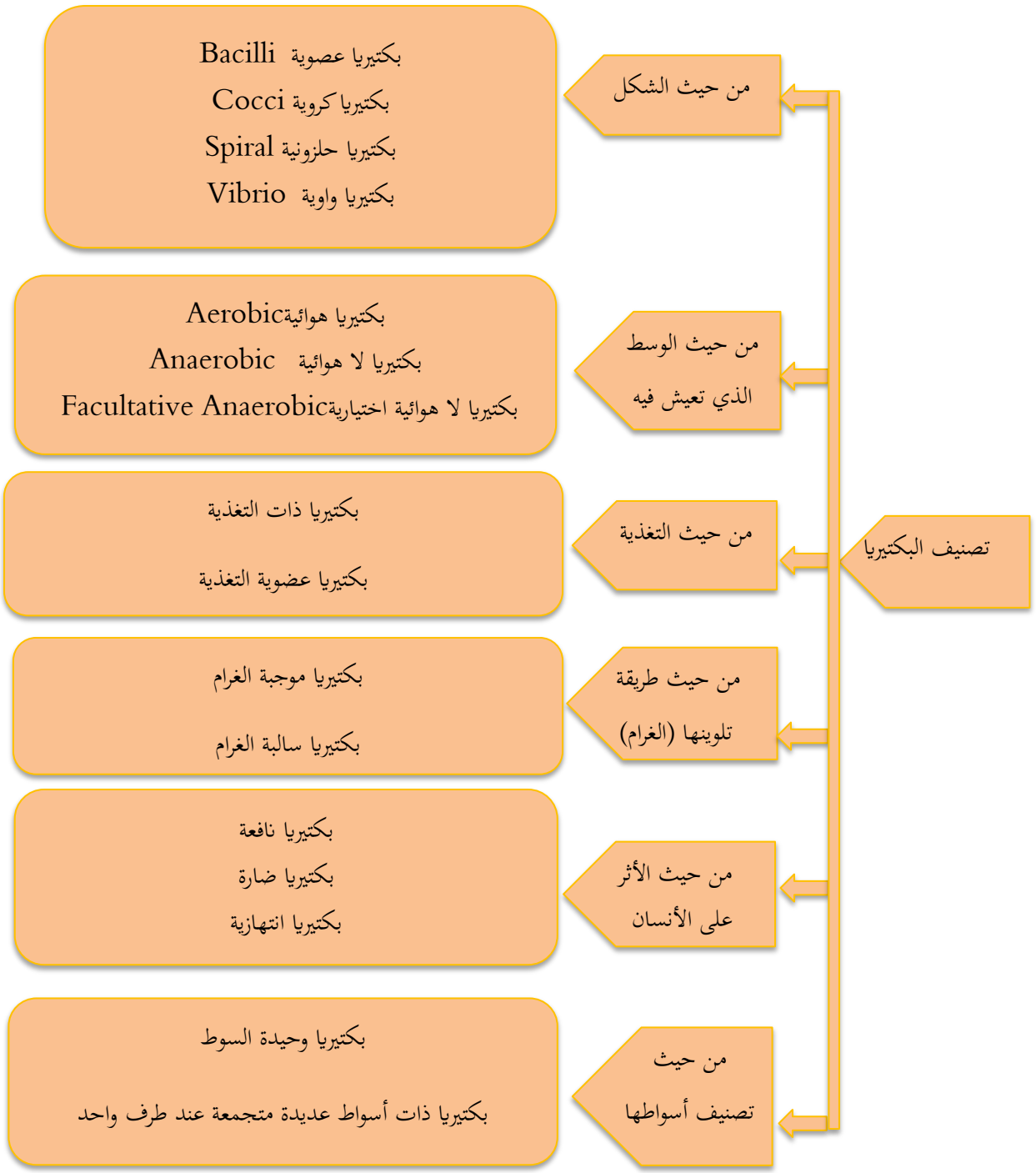
والشكل (3.III)التالي يوضح بنية البكتيريا:



شكل (3-III) :بنية الخلية البكتيري

III.3.5.تصنيف البكتيريا :

صنف الباحثون والعلماء مختلف البكتيريا حسب خصائصها ومميزاتها وذلك حسب ما يلي [57][58]:



شكل (III–4) :مخطط يوضح أنواع البكتيريا

III.6.3.الأنواع البكتيرية المستعملة في الدراسة:

III.6.3.1.النوع الأول : *Escherichia coli*:

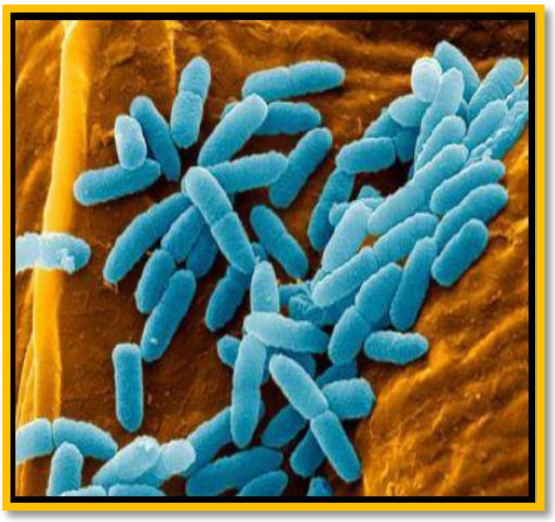
هي بكتيريا عصوية على شكل قضيب، سالبة الغرام، اختيارية هوائية، تندرج ضمن عائلة المعويات التي تعيش في الأنبوب الهضمي ذات الأبعاد من 1 إلى 3 ميكرو متر تتكاثر بسرعة كبيرة عند درجة حرارة 37 درجة مئوية،و بعض هذه السلالات تكون مسببة للأمراض كأمراض: الجهاز البولي، الإسهال الطفيلي، التهاب السحايا وتسمم الدم [59][60] .

المملكة	Bactérie
الصنف	Proteobactérie
القسم	Gammaproteobacteria
الرتبة	Enterobacteriales
العائلة	Enterobacteriaceae
الجنس	Escherichia
النوع	*Escherichia coli*

شكل (III-5) : صورة الفحص المجهري لبكتيريا *Escherichia coli*

III.6.3.2.النوع الثاني: *Pseudomonas aeruginosa*

هي بكتيريا متحركة هوائية، سالبة الغرام، ذات عصيات مستقيمة بأسواط طرفية وهي من أقوى أنواع البكتيريا المقاومة طبيعيًا لمعظم المضادات الحيوية، وذلك لامتلاكها القدرة على التصدي لهذه المضادات بعدة طرق مصدرها الجهاز الهضمي للإنسان، التربة أو الماء، تعمل هذه البكتيريا على الاتلاف السطحي للأغذية المبردة ومحللة للدهون الموجودة في اللبن مما يؤدي إلى تغير لونه وطعمه، كما ترتبط هذه البكتيريا بحالات العدوى المكتسبة في المستشفيات خصوصًا في غرف العمليات الجراحية، وهي أيضا تنمو في نطاق حراري واسع ما بين34إلى 43 ويبلغ عرضها 0.5µmإلى1µm أما طولها فيتراوح ما بين 1.5µmإلى4µm، تعتبر ممرضة للإنسان والحيوان حيث تسبب تعفن كل من العين والحروق والجروح كما تسبب أمراض الرئتين والسحايا [61][62].



المملكة	Bactérie
الصنف	Pseudomonabactéries
القسم	Gammaproteobacteria
الرتبة	Enterobacteriales
العائلة	Enterobacteriaceae
الجنس	Pseudomonas
النوع	*Pseudomonas aruginosa*

شكل (III-6) :صورة الفحص المجهري لبكتيريا *Pseudomonas aruginosa*

III.3.6.3.النوع الثالث: ***Klebsiella pneumoiae***

هي بكتيريا بيئية(تتواجد في الماء، التربة، الهواء...)، سالبة الغرام، عصوية الشكل، غير متحركة تتميز بشكلها الدائري محدبة، لاهوائية اختيارية يتراوح طولها بين 1 µm إلى2 µm وعرضها بين 0.5µmإلى0.8 µm تكون منفردة، ثنائية أو على هيئة سلسلة قصيرة، تتميز بألوان مشعة تحت جهاز UV ،تتواجد بصورة طبيعية في الفم والأمعاء وعلى الجلد، وتسبب التهاب شديد في الرئة، الأذن، المثانة، الأنف والجيوب الأنفية [63][64].

المملكة	***Bactérie***
الصنف	*Proteobactéria*
القسم	*Gammaproteobacteria*
الرتبة	*Enterobacteriales*
العائلة	*Enterobacteriaceae*
الجنس	*Klebsiella*
النوع	*Klebsiella pneumoniae*

شكل (III-7) :صورة الفحص المجهري لبكتيريا *Klebsiella pneumonae*

III.4.6.3.النوع الرابع : *Staphylococcus aureus*

هي بكتيريا كروية الشكل ذات لون أصفر براق عديمة الحركة تكون على شكل عناقيد مكومة من النوع الغرام الموجب قطرها حوالي 1µm تتواجد عند الإنسان في الجلد والأمعاء والجهاز التناسلي وعلى الوجه، تنمو بالتنفس الهوائي أو التخمر وهي مسؤولة عن تشكيل الصديد، مسببة للعديد من الأمراض من بينهم التهابات جلدية خطيرة والتهاب الرئتين وتسمم الدم وغيرها.

المملكة	*Bactérie*
الصنف	*Firmicutes*
القسم	*Bacilli*
الرتبة	*Bacillales*
العائلة	*Staphylococcaceae*
الجنس	*Staphylococcus*
النوع	*Staphylococcus aureus*

شكل (III-8) : صورة الفحص المجهري لبكتيريا *Staphylococcus aureus*

في ختام هذا الفصل تم التعرف على أساسيات الإجهاد التأكسدي ألا وهي مولدات الأكسدة أو ما يعرف بالجذور الحرة كما تعرفنا على مصادر هاته الجذور وأنواعها وكيفية تصنيفها وتقسيمها.

وكذلك تم التطرق إلى تعريف مضادات الأكسدة وتصنيفها بالإضافة إلى التعريف الشامل للبكتيريا من خلال ذكر مكوناتها وتصنيفها وأيضا تم التعريف بأنواع السلالات البكتيرية المستعملة في الدراسة.

تم أيضا التطرق إلى الكشف الفيتو كيميائي على مواد الأيض الثانوي وتقدير الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة للبكتيريا.

IV. الفصل الرابع: الأدوات والوسائل المستعملة

تمت هذه التجارب على مستوى مخابر كلية العلوم الدقيقة بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي وبمخبر المجد للتحاليل الطبية بالوادي

1.IV.تقديم منطقة الدراسة :

تقع واد سوف في منطقة الواحات في الجنوب الشرقي الجزائري، ضمن منطقة العرق الشرقي الكبير، الحدود الشمالية للمنطقة تنتهي عند منطقة الشطوط المالحة الشمالية (شط ملغيغ وشط مروانة) أما جنوبا فتمتد المنطقة إلى أعماق العرق الشرقي الكبير حتى منطقة ورقلة، ومن الشرق تصل حدود المنطقة إلى الشطوط المالحة للجمهورية التونسية (شط الجريد وشط الغرسة)، أما غربا فتنتهي عند الحدود المنبسطة لمنطقة وادي ريغ ومنطقة تقرت.

2.IV.المواد و الطرق :

1.2.IV.المادة النباتية:

تحصلنا على نبتة اللفت من إحدى أسواق وادي سوف، حيث تم تصفيتها من قشورها وغسلها وبرشها ووضعها في مكان معرض للشمس نسبيا ويفضل تقليبها من حين لآخر حتى لا تتعفن استغرقت عملية التجفيف 15 يوما للتأكد من الجفاف التام للنبتة، بعد جفافها نقوم بطحنها بالمطحنة الكهربائية للحصول على مسحوق تحفظ في علبة جافة في درجة حرارة الغرفة للاستعمال لاحقًا في العمل.

2.2.IV.المواد المستعملة :

خلال هذه التجربة استخدمنا مجموعة من المواد والأدوات وكذا الأجهزة لإنجاز تجاربنا العلمية.

- ميثانول (CH_3OH).
- ماء مقطر.
- كاشف الفولين ($3H_2O-P_2O_513WO_35MoO_310H_2O$ Réactif de Folin ciocalteu).
- محلول كربونات الصوديوم (Na_2CO_3).
- محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم (H_2O،$AlCl_3$).
- هيدروكسيد الأمونيوم (NH_4OH).

- ثلاثي كلوريد الحديد($FeCl_3$).
- حمض الكبريت(H_2SO_4).
- الكلوروفورم (CH_3Cl).
- هيدروكسيد الصوديوم ($NaOH$).
- محلول فيهلينغ .
- *DPPH*) diphenyl picrylhydrazyl).
- محلول الفوسفوموليبيدات(phosphomolybdenum).
- كاشف ماير.
- حمض الغاليك.
- حمض الكريستين.

IV.3.2.الأدوات المستعملة:

- بياشر بسعات مختلفة.
- حوجلة.
- مخبار مدرج.
- أنابيب اختبار .
- علب زجاجية.
- ورق ألمنيوم.
- ورق برافيلم.
- ورق ترشيح.

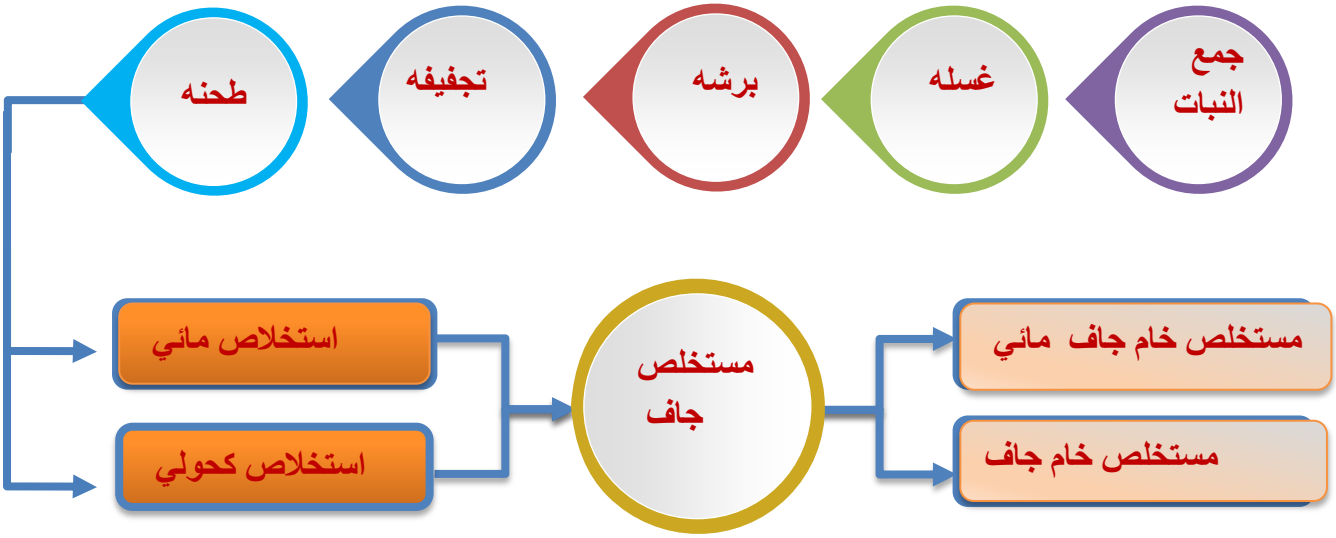
IV.4.2.الأجهزة المستعملة :

- جهاز ترشيح تحت الفراغ.
- جهاز المبخر *الدوراني Rotavapeur*.
- جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية*visible*-UV.
- ميزان إلكتروني حساس.
- جهاز الرج المغناطيسي.
- مجفف *Etuve*.

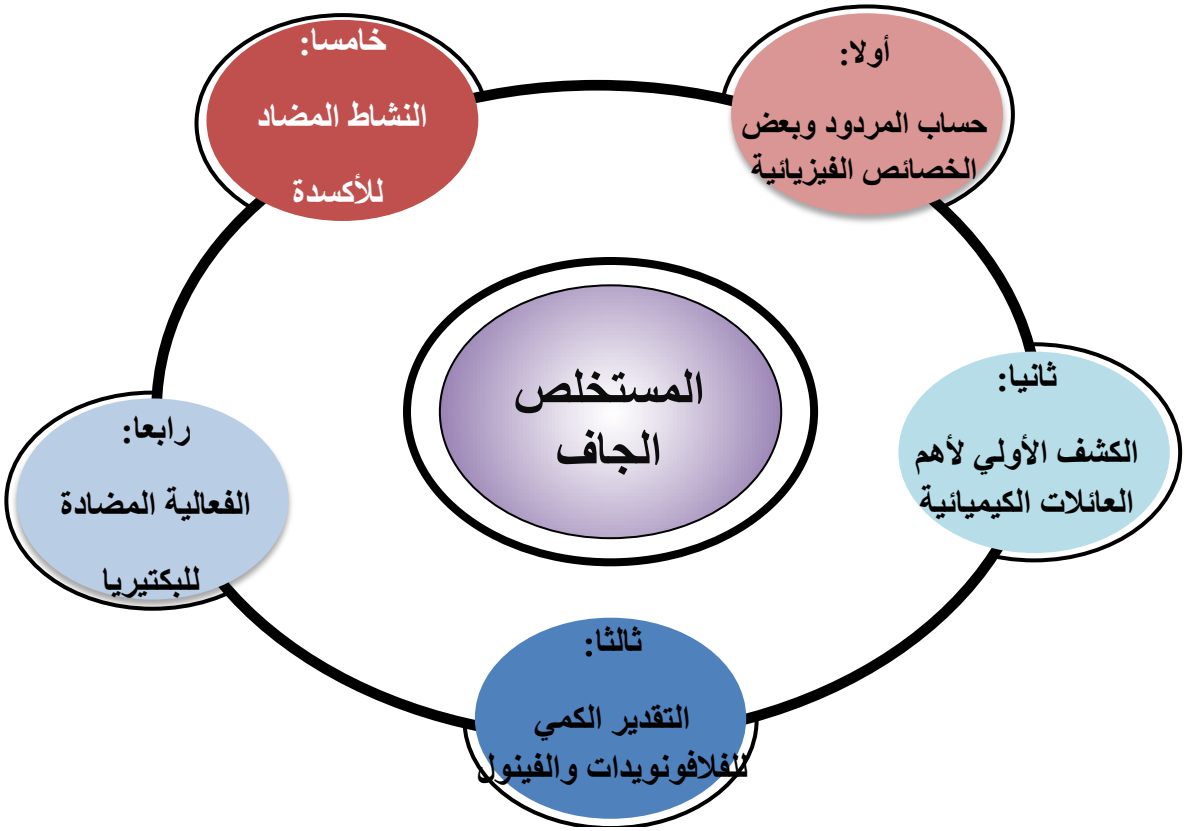
مخطط العمل :

لخصنا العمل التجريبي في المخطط الموالي على مرحلتين:

مرحلة 1:



مرحلة 2:



شكل (**IV-1**) : مخطط العمل التجريبي

IV.3.الطرائق الكيميائية :

IV.3.1.تعريف الاستخلاص :

هي تقنية تعمل على فصل الأنواع الكيميائية المتواجدة في الطور الأول الذي يمكن أن يكون سائل أو صلب، وانتقالها إلى الطور الثاني والذي عادة ما يكون سائل مثل المذيبات.

إذا كانت المادة المراد فصلها سائلة نطلق عليه استخلاص سائل . سائل، أما إذا كانت صلبة فيطلق عليه استخلاص صلب . سائل، ولهذا الأخير عدة عوامل منها درجة الحرارة، الضغط، كيفية استعمال المذيب [65].

IV.3.2.استخلاص صلب . سائل :

الاستخلاص على البارد (النقع)

وتعتمد هذه الطريقة على وضع المادة الخام داخل إناء يحتوي على كمية محددة من المذيب، بحيث يكون حجم المذيب المستعمل يغطي المادة الجافة بنسبة تقريبية قدرها (المذاب 1/المذيب3) في الظروف العادية (ضغط ودرجة حرارة الغرفة) مع التحريك من حين لأخر تترك لمدة زمنية معينة، خلالها يتم انتقال المركبات المراد فصلها من المادة الجافة إلى المذيب، تتبعها عملية الترشيح. نستعمل طريقة النقع للمواد التي تتأثر وتتفكك بالحرارة [66] .

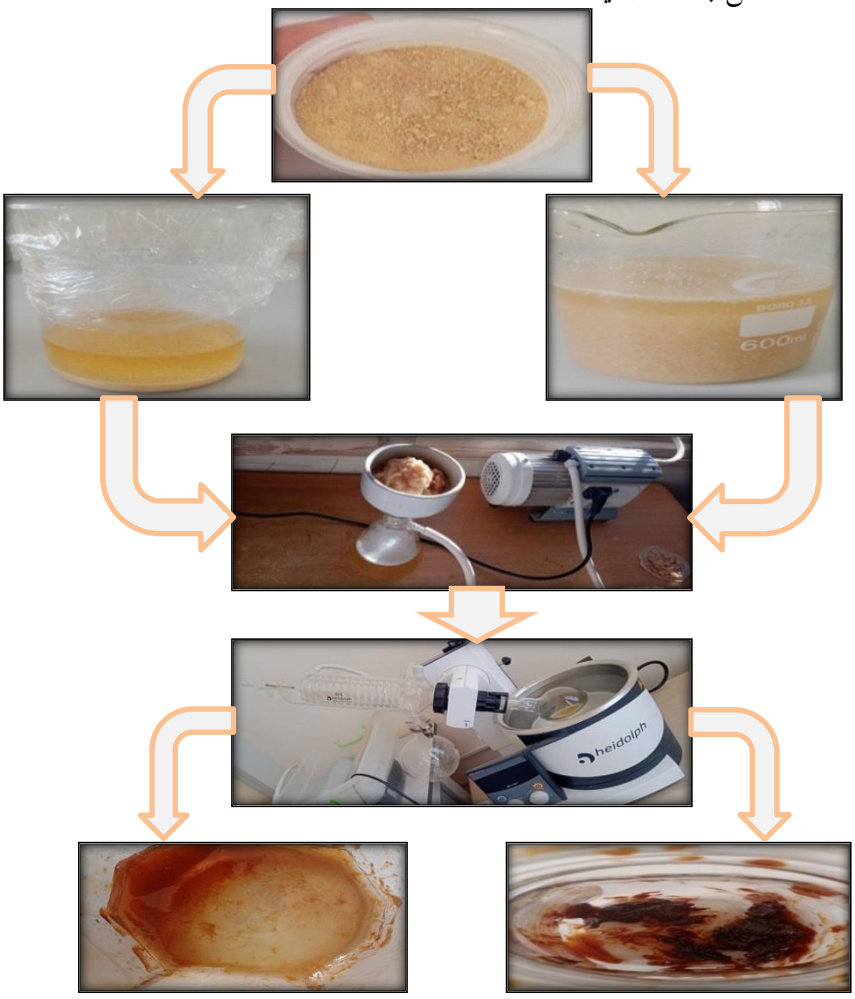
IV.3.3.تحضير المستخلصات المستعملة في الدراسة:

IV.3.3.1.المستخلص الميثانولي :

- ❖ نقوم بوزن 25 غ من النبات الجاف وتوضع داخل بيشر.
- ❖ نضيف لها 160 مل ميثانول حتى غمرت النبتة.
- ❖ نقع لمدة 72 ساعة مع الرج من حين لأخر.
- ❖ يرشح المستخلص باستعمال ورق الترشيح والقطن مع الاحتفاظ بالرشاحة والراشح .
- ❖ جمعنا الرشاحة وقمنا بتجفيفها في جهاز المبخر الدواري عند 45 درجة مئوية .
- ❖ يجمع الناتج من عملية التبخير في بيشر ثم نتركه في المجفف ليجف فنحصل على المستخلص الكحولي.
- ❖ نقوم بوزن المستخلص بعد التجفيف.

IV.3. 2.3.المستخلص المائي :

- ❖ نقوم بوزن 25 غ من النبات الجاف وتوضع داخل بيشر.
- ❖ نضيف400 مل ماء مقطر حتى غمرت النبتة.
- ❖ نقع لمدة 48 ساعة مع الرج من حين لآخر، ثم يرشح المزيج وبعدها يعاد نقع الراشح لمدة 24 ساعة.
- ❖ يرشح المستخلص باستعمال ورق الترشيح والقطن مع الاحتفاظ بالرشاحة والراشح.
- ❖ جمعنا الرشاحة وقمنا بتجفيفها في جهاز المبخر الدوراني عند 45 درجة مئوية.
- ❖ يجمع الناتج من عملية التبخير في بيشر ثم نتركه في المجفف ليجف فنحصل على المستخلص المائي.
- ❖ نقوم بوزن المستخلص بعد التجفيف.



شكل (2-IV) : مخطط يوضح طريقة استخلاص العينات

IV.4.3.حساب مردود الإنتاجية للمستخلصات :

تم حساب المردود باستعمال العلاقة التالية[71]:

$$R\% = (Ps/Ph) * 100$$

Ps: وزن المستخلص بعد التجفيف.

Ph: وزن مسحوق النبتة الابتدائي.

IV.5.3.تقدير درجة الحموضة (pH) وتقدير درجة الناقلية (EC):

تم تقدير درجة الحموضة وفق طريقة (Marx 1999) وقيمة الناقلية الكهربائية وفق طريقة (Jones2001) وذلك باتباع الخطوات التالية [72][73]:

- نضع 2غ من مسحوق النبتة الجافة في 20 ملل من الماء المقطر.
- نرج الخليط بجهاز الرج المغناطيسي لمدة 10 د ثم نقوم بترشيحه للحصول على راشح.
- تقدر درجة الناقلية الكهربائية بجهاز قياس الناقلية الكهربائية ودرجة الحموضة بواسطة جهاز pH mètre.

IV.6.3.التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية المرئية :

IV.1.6.3.مطيافية الأشعة فوق البنفسجية المرئية :

تعد هذه التقنية من أقدم طرق التحليل الكيفي والكمي وأكثرها استخداما، تساعد في تحديد البنى الكيميائية للمركبات، ومن أهم طرق التقدير الكمي طريقة قياس الامتصاصية (الكثافة الضوئية) للمحاليل، حيث مجالها الكهرومغناطيسي (طولها الموجي) ما بين 400-800 nm [70].

IV.2.6.3.التقدير الكمي للمركبات الفينولية:

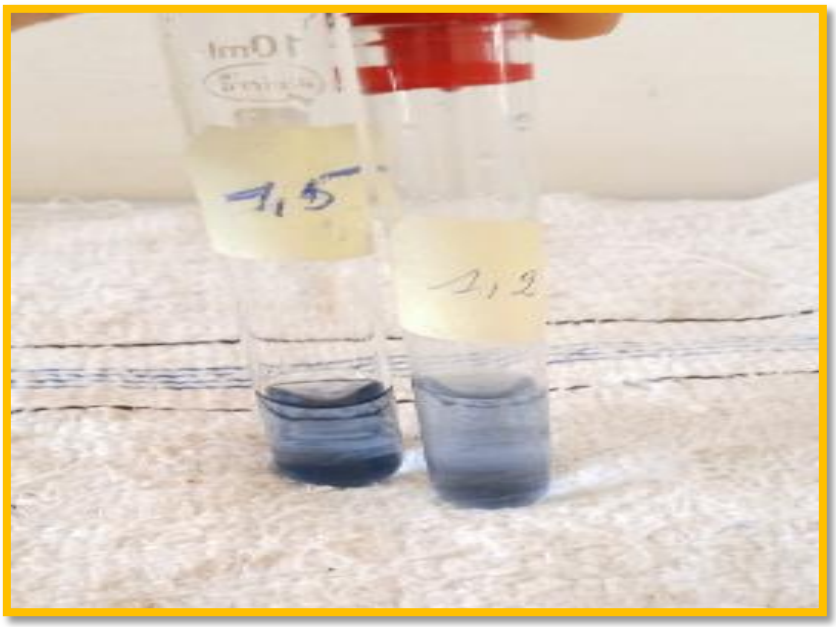
تقدير عديدات الفينول الكلية الموجودة في مستخلص (*Brassica rapa*) يتم بواسطة قياس الامتصاصية بجهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية. هذه الطريقة تعتمد على استخدام كاشف الفولين *Folin-Ciocalteu* [71] .

✓ **المبدأ**:

يتم تقدير عديدات الفينول الكلية باستخدام طريقة كاشف الفولين، حيث تعتمد هذه الطريقة على إرجاع مكونات الكاشف بواسطة المجموعات الهيدروكسيلية الفينولية لتعطي كيتون أزرق في محلول قلوي [72].

✓ **طريقة العمل**:

نمزج 1 مل من تراكيز مختلفة من المستخلصات المذابة في الماء أو الميثانول مع 0.5 مل من كاشف *Folin-Ciocalteu* المخفف10 مرات، نرج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة 5 دقائق، بعدها نضيف 2 مل من كربونات الصوديوم(7.5%) ترج الأنابيب وتحفظ في الظلام عند درجة حرارة المخبر لمدة 30دقيقة، تقاس امتصاصية المحلول الناتج عند طول موجة765 nm. تم استخدام حمض الغاليك لمنحنى المعايرة القياسية، ويعبر عن النتائج بعدد الملي غرامات الموافقة لحمض الغاليك لكل غرام من وزن المستخلص(mg AGE/g Extrait) [73]



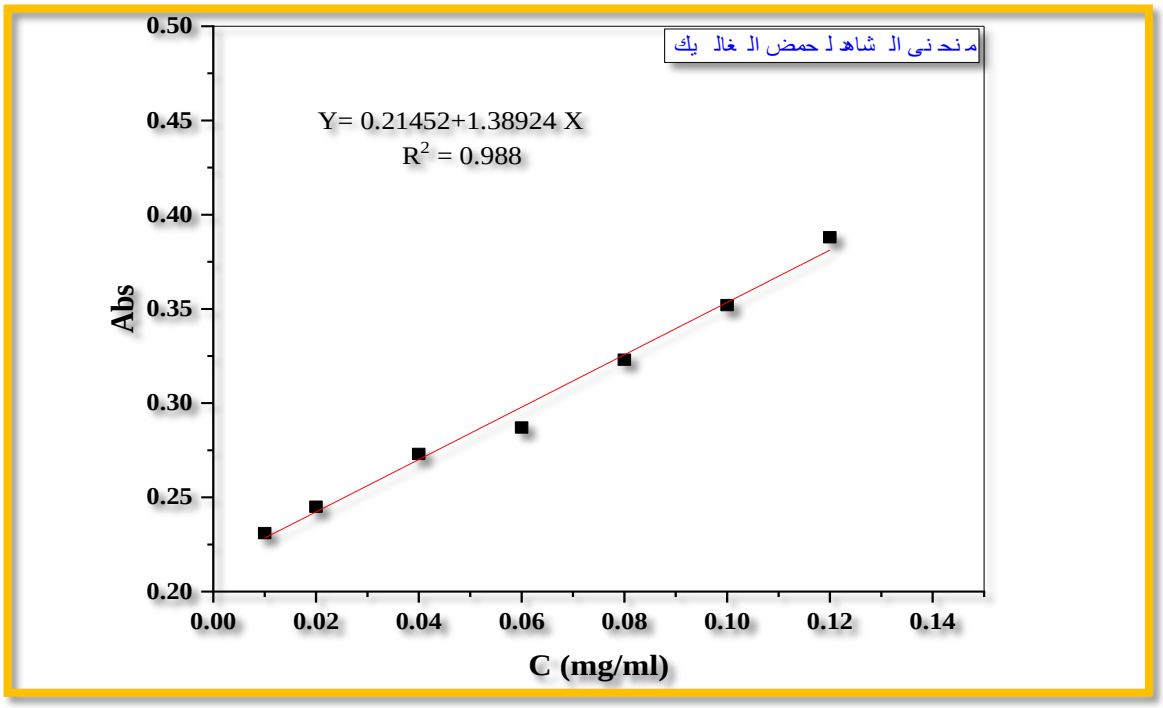
شكل (IV-3) :بعض المستخلصات بعد الكشف عن الفينولات

✓ **المنحنى القياسي لحمض الغاليك**

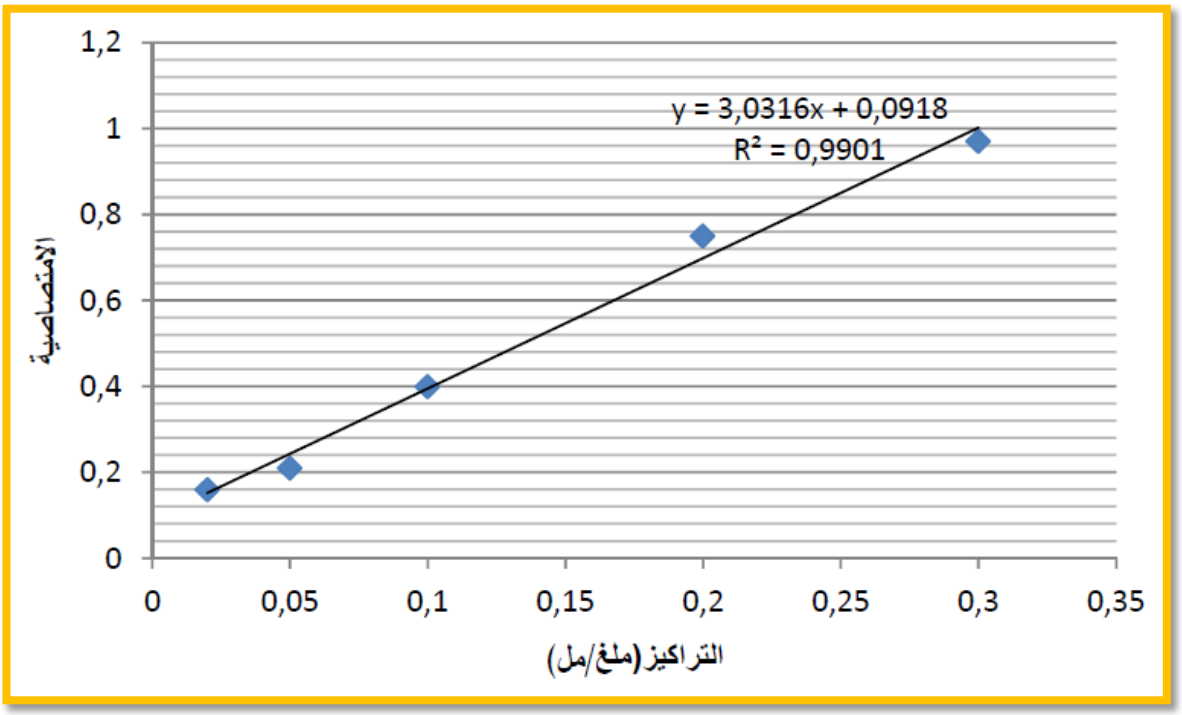
تم تحضير محاليل ممددة من حمض الغاليك ذي تراكيز مختلفة تتراوح ما بين (0.01-0.12 مغ/مل) في أنابيب اختبار نضع 1 مل من كل تركيز ثم نضيف له 0.5 من كاشف الفولين (المخفف 10 مرات)، ترج الأنابيب وتترك في الظلام مدة5 دقائق، وبعدها نضيف لكل منها

2 مل من كربونات الصوديوم (7.5%) ثم ترج الأنابيب جيدا ونضعها في الظلام مدة 30 دقيقة.

تقاس امتصاصية المحاليل بجهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي765 nm [74].



شكل(4-IV) : المنحنى العياري لحمض الغاليك لتقدير الفينولات للمستخلص الميثانولي



شكل (IV-5) :المنحنى العياري لحمض الغاليك لتقدير الفينولات للمستخلص المائي

IV.1.2.6.3.التقدير الكمي للمركبات الفلافونيدات :

✓ **المبدأ:**

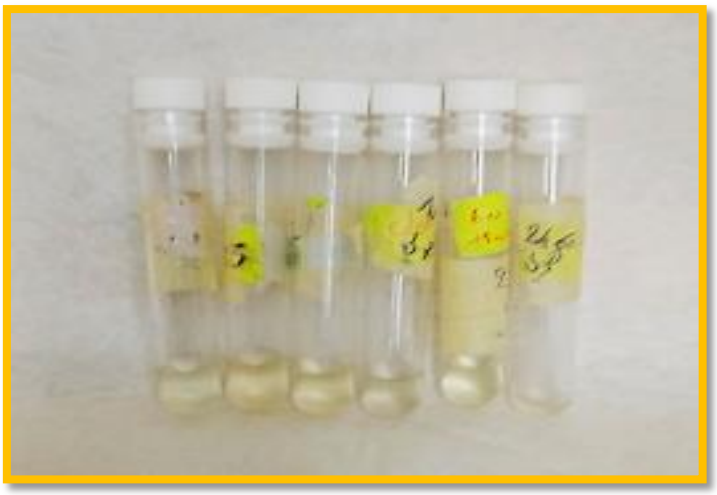
الفلافونيدات هي نوع من عديدات الفينول التي تحتوي على مجموعة هيدروكسيل حرة في الموقع 5، والتي بوجود ثلاثي كلور الألمنيوم من المرجح أن تعطي معقد مصفر بواسطة الأيون Al^{3+}. شدة اللون الأصفر في المنتج متعلقة بكمية الفلافونيدات المتواجدة في المستخلص[71].

✓ **طريقة العمل:**

تم استخدام طريقة $AlCl_3$ لتحديد اجمالي محتوى الفلافونيدات في النبتة، من خلال التفاعل بين الفلافونويد وكلوريد الألمنيوم لتشكيل معقد.

نأخذ 1.5 مل من تراكيز مختلفة من المستخلصات ونضيف لها 1.5 مل من محلول$AlCl_3$ بتركيز(2%) فيظهر اللون الأخضر المصفر ونتركها في الظلام لمدة ساعة، ثم تقرأ الامتصاصية عند طول موجي يقدر ب420nm. تم استعمال حمض الكريستين لتحديد منحنى العيارية ويعبر عن

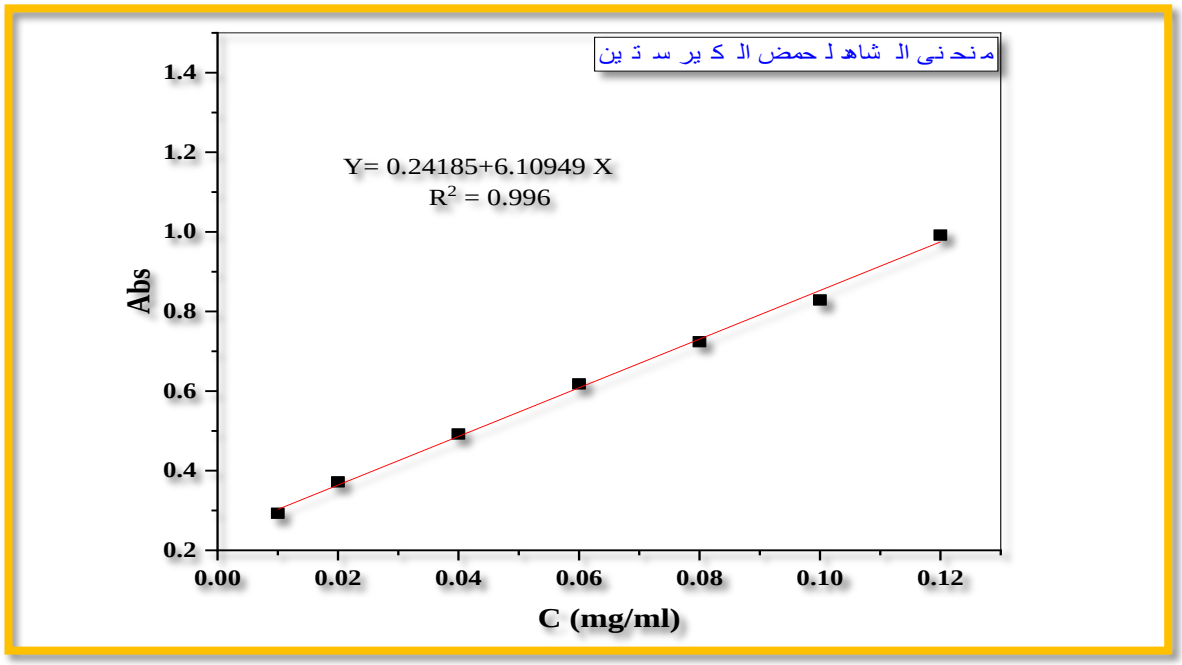
الناتج بعدد الملي غرامات الموافقة للكريستين لكل غرام من وزن المستخلص (mgQE/g Extrait) .[72]



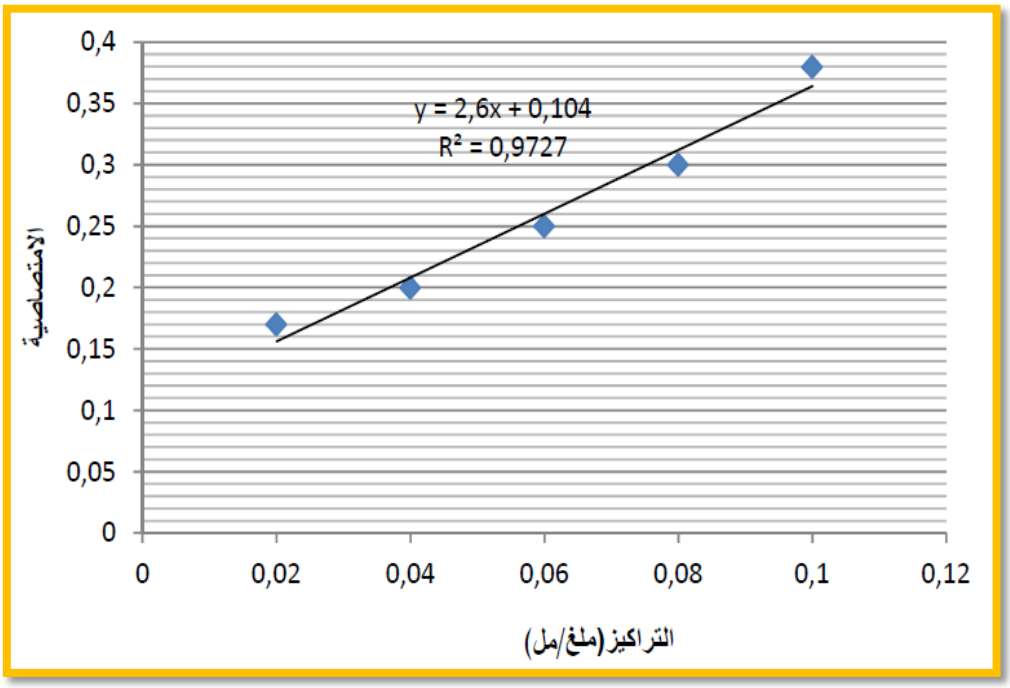
شكل(IV-6) :المستخلصات بعد الكشف عن الفلافونيدات

✓ **المنحنى القياسي لحمض الكريستين:**

تم تحضير تراكيز مختلفة من محلول حمض الكريستين محصورة بين0.01-0.12مغ/مل، في أنابيب اختبار نضع 1.5 مل من كل محلول ونضيف له 1.5 مل من محلول ثلاثي كلور الألمنيوم$AlCl_3$ ونتركه في الظلام لمدة ساعة، بعدها نقوم بقراءة الامتصاصية عند الطول الموجي 420nm [84].



شكل (IV-7) : المنحنى العياري لحمض الكريستين لتقدير الفلافونيدات للمستخلص الميثانولي



شكل (IV-8) : المنحنى العياري لحمض الكريستين لتقدير الفلافونيدات للمستخلص المائي

IV.4.الكشف الفيتوكيميائي :

لطالما كانت الطبيعة مصدرا للعلاجات الطبية منذ آلاف السنين، وحتى اليوم تستمر الأنظمة القائمة على النباتات في لعب دور أساسي في الرعاية الصحية الأولية ل 80% من سكان العالم [75].

ومن هذا المنطلق تم الكشف على أهم العائلات الكيميائية في النباتات وكانت الطريقة كالتالي:

IV.4.1.الكشف عن القلويدات:

كاشف ماير يحضر بإذابة 13.5 غ من كلوريد الزئبق $HgCl_2$ و5 غ من يوديد البوتاسيوم KI في 1لتر من الماء المقطر [76] .

تأخذ 100 مغ من مسحوق النبتة الجاف ونمزجه مع5مل من الميثانول، ترشح وتأخذ 2مل من الرشاحة مع 5مل من حامض الهيدروكلوريك (HCl) (1%)، ونأخذ 1 مل من المزيج نضيف لها بعض من قطرات من كاشف ماير. إذا ظهر راسب باللون الابيض أو البرتقالي فهذا دلالة على وجود القلويدات [77].

IV.4.2.الكشف عن التربينات :

تأخذ 3غ من النبات الجاف مع 20 مل من الكلوروفورم مع تسخين 15 د ثم يرشح المزيج تأخذ الرشاحة مع قطرات من حمض الكبريت المركز بعناية على جدران الانبوب تتشكل طبقتان إحداهما أخضر وتتحول إلى اللون الأحمر الآجوري دلالة على وجود التربينات [78].

IV.4.3.الكشف عن التانينات:

تأخذ 5غ من النبتة الجافة ونمزجها مع 30 مل ماء مقطر تغلى لمدة ساعة ترشح وتؤخذ منها 1مل ماء مقطر وقطرات $FeCl_3$عند ظهور اللون الاخضر المزرق أو الازرق المسود [78].

IV.4.4.الكشف عن الستيرويدات :

نمزج 2مل الكلوروفورم وحمض الكبريت المركز مع مستخلص النبات إذا ظهر في طبقة الكلوروفورم السفلى لون أحمر فهذا دلالة على وجود الستيرويدات [78].

IV.4.5.الكشف عن الفلافونيدات:

2مل من المستخلص الكحولي أو المائي ونمزجه مع 1مل من NaOH ظهور اللون الأصفر دلالة على وجود الفلافونويدات [79].

IV.4.6.الكشف عن الصابونين :

نمزج 3غ من النبتة الجافة مع 20 مل ماء مقطر، تسخن لمدة 10 د ثم ترشح نأخذ 8 مل منه ونرجه لمدة30 ثانية فتتشكل رغوة [78].

- عدم تشكل رغوة دلالة على عدم وجود الصابونين.
- رغوة أقل من 1 سم معناه وجود الصابونين بكمية ضعيفة.
- رغوة أقل من 1إلى 2 سم معناه وجود الصابونين.
- رغوة أكثر من 2 سم معناه النبات غني جدا بالصابونين [80].

IV.4.7.الكشف عن الفينولات:

2مل ($FeCl_3$) (2%) مع المستخلص الخام عند ظهور اللون الأخضر أو الأسود والأخضر فهذا يدل على وجود الفينولات [79].

IV.8.4.الكشف عن المركبات المرجعة :

5غ من النبات الجاف مع 30مل من الايثانول نترك المزيج يغلى لمدة ساعة ثم نقوم بتصفيته، تأخذ 1 مل مع2مل ماء مقطر و20 قطرة من كاشف فهلنج مع تسخين ظهور راسب أحمر ياجوري دلالة على وجود السكريات[79].

IV.5.تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

هي قياس لقدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذر الحر أو توقيف عملية الأكسدة، تقدر الفعالية المضادة للأكسدة بعدة طرق من بينها: *CAT، DPPH، ABTS، R.P* .

هذه الطرق تعتمد على التلوين ونزع التلوين في طول موجي معين [81].

وفي هاته الدراسة تم اختيار اختبارين مختلفين هما: *(CAT)،(DPPH)*..

IV.1.5.إختبار تثبيط الجذر الحر DPPH :

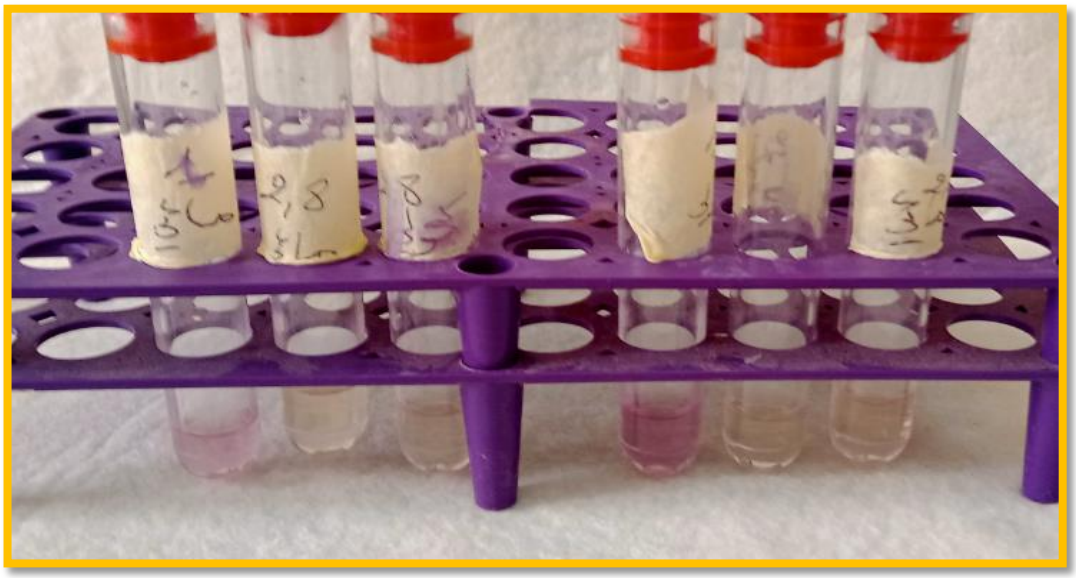
✓ **المبدأ:**

يعتمد هذا الاختبار على قياس قدرة مضادات الأكسدة على احداث تأثير على الجذر الحر *DPPH* الذي يختزل إلى هيدرازين عند التفاعل مع مانح للهيدروجين، ارجاع الجذر*(DPPH)* يكون مصحوبا بتغير المحلول من اللون البنفسجي إلى اللون الأصفر. يتم قياس الامتصاصية بواسطة مقياس الطيف الضوئي عند الطول الموجي 517nm، يشير الانخفاض في الامتصاصية إلى تحسن وكفاءة المستخلص على تثبيط الجذر الحر [82].

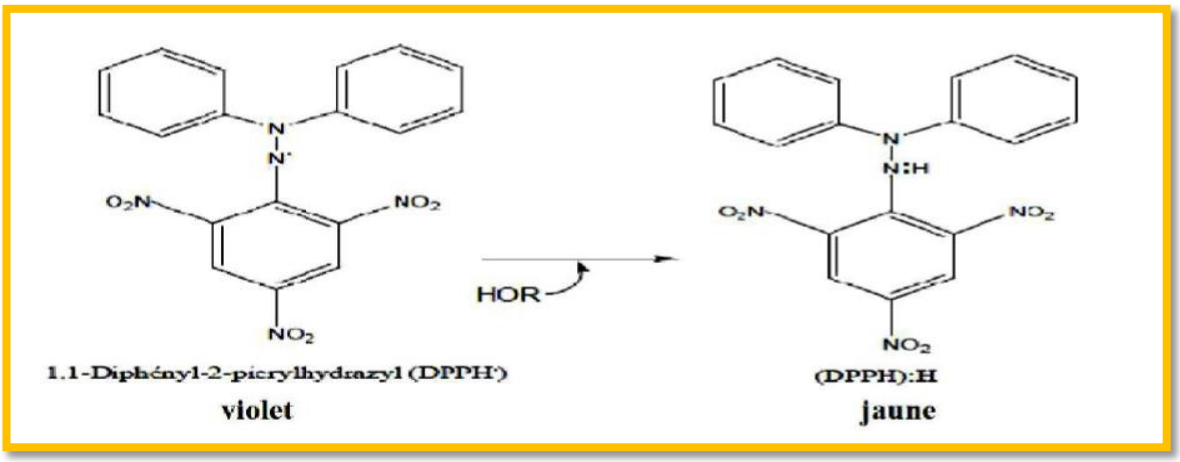
✓ **طريقة العمل:**

تعتمد هذه الطريقة على قياس قدرة مضادات الأكسدة على تثبيط الجذر الحر [82].

يتم تحضير محلول من *(DPPH)* في الميثانول ذو تركيز 250 mM فنتحصل على محلول بنفسجي داكن، ثم تحضر تراكيز مختلفة من المستخلص المائي والميثانولي، ويؤخذ من كل تركيز 1مل ويضاف له 1 مل من محلول *(DPPH)* يجانس الخليط ويترك لمدة 30 دقيقة في الظلام، ثم تقرأ الامتصاصية عند طول الموجة 517nm حيث يستخدم الميثانول كشاهد مرجعي [83].



شكل (IV-9) : بعض المستخلصات بعد إضافة محلول *DPPH*



شكل(IV-10) :معادلة إرجاع *DPPH*

IV.2.5.حساب نسبة تثبيط I % للجذر الحر:

يتم حساب النسبة المئوية لتثبيط الجذر الحر *(DPPH)* للمستخلصات النباتية وفق العلاقة التالية:

$$I\% = \left(\frac{A_0 - A_i}{A_0}\right) * 100$$

حيث :

A_0: امتصاصية الجذر الحر*(DPPH)*.

A_i:امتصاصية الخليط(*DPPH*+المستخلص) بعد30 دقيقة.

I%:نسبة تثبيط العامل المضاد للأكسدة للجذر الحر*(DPPH)*[83].

- **حساب تركيز التثبيط(IC_{50}):**

يتم حساب IC_{50} (وهو تركيز مضادات الأكسدة اللازمة لتثبيط50%من نشاط *(DPPH)*بعد رسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز ومن ثم يتم استخراج المعادلة وقيمة ميل المنحنى، حيث يتم تعويض قيمة y ب50 واستخراج قيمة x التي تمثل IC_{50} [82].

IV.3.5.إختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة *CAT*:

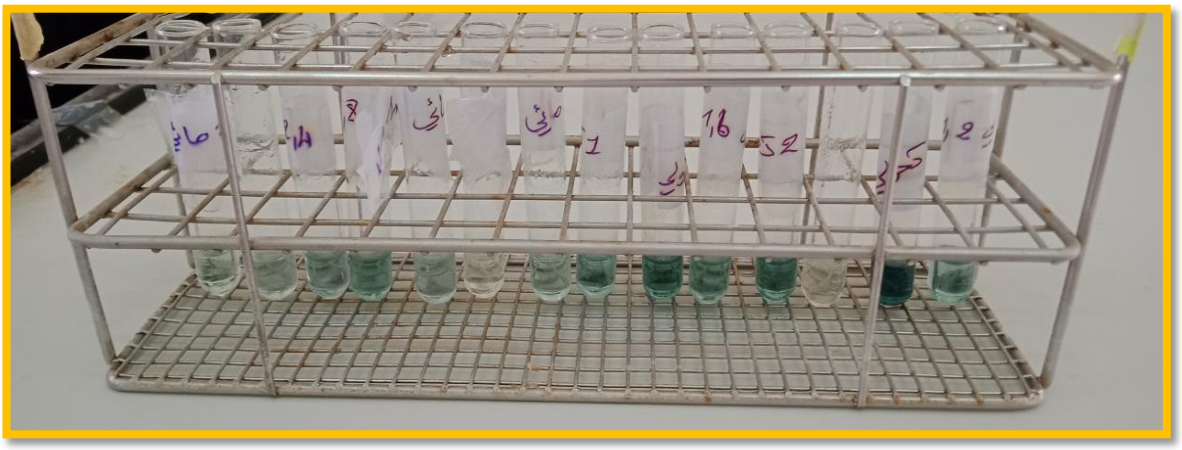
✓ **المبدأ:**

تم تقدير القدرة الكلية المضادة للأكسدة *(CAT)* للمستخلصات باستعمال طريقة الفوسفو موليبيدات؛ وهي من الطرق المباشرة لقياس القدرة الإرجاعية لمضادات الأكسدة حيث تعتمد على إرجاع الموليبيدات إلى موليبدان مشكلة لونا أخضرا فاتحا.

✓ **طريقة العمل:**

- **تحضير الكاشف:**

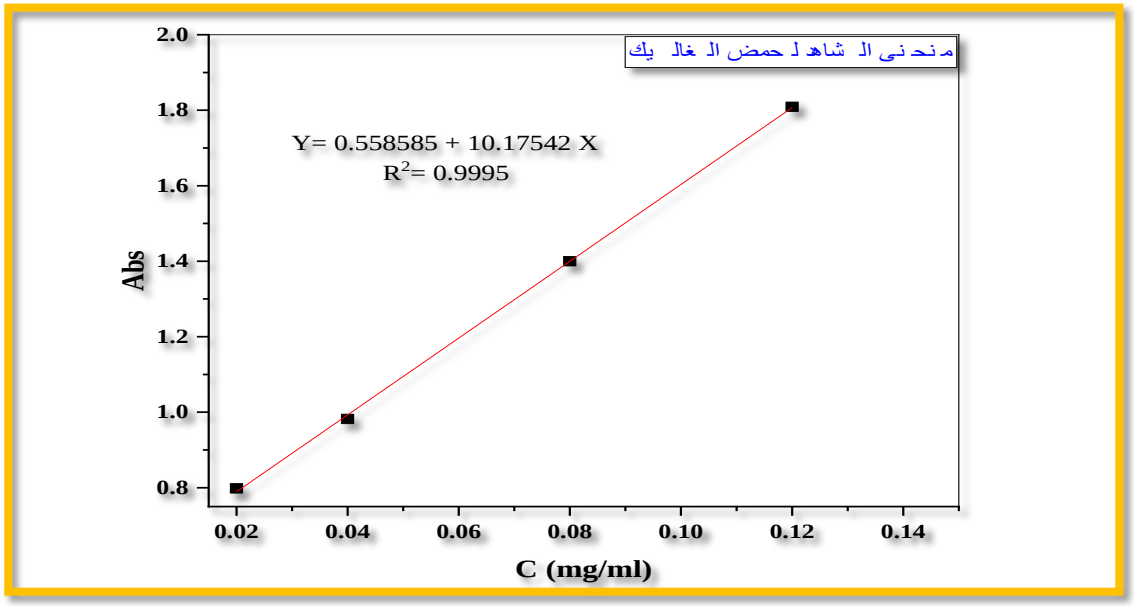
- يحضر محلول الموليبيدات بمزج 28mM من فوسفات الصوديوم(NaH_2PO_4)مع 4mMمن موليبيدات الأمونيوم ($H_{24}Mo_7N_7O_{24}$; $4H_2O$) ويضاف إليه القليل من الماء المقطر ويجانس ثم يضاف إليه أيضا 0.6 Mمن حمض الكبريت(H_2SO_4) ويملأ بالماء المقطر حتى الحجم المطلوب.
- تحضر تراكيز مختلفة من المستخلص المائي وكذلك الميثانولي، ثم يؤخذ من كل تركيز 0.1 مل ويضاف له 1 مل من الكاشف، ترج الأنابيب جيدا وتوضع في حمام مائي درجة حرارته95 لمدة ساعة. بعد أن تبرد الأنابيب نقرأ الامتصاصية عند طول موجة695nm بواسطة جهاز المطيافية الضوئية ويعبر عن النتائج بعدد الملي غرامات الموافقة لحمض الغاليك لكل غرام من وزن المستخلص mgAGE/gExtrait [84].



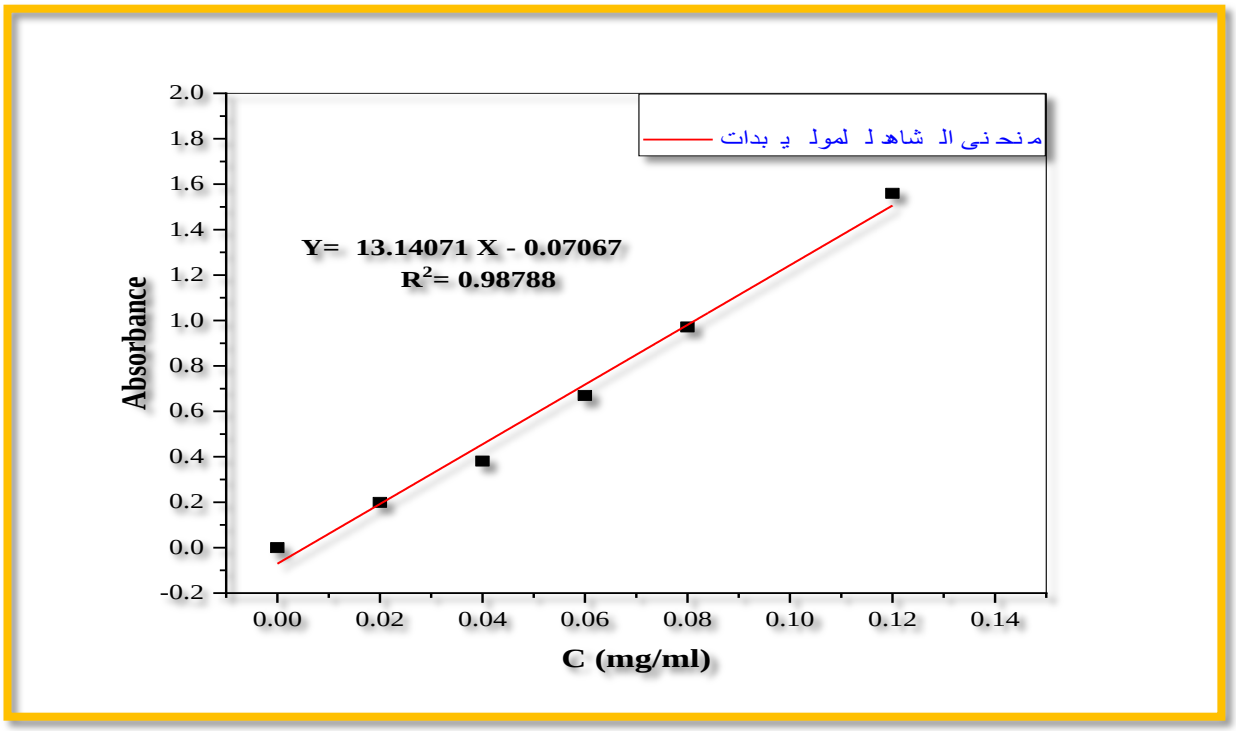
شكل (IV-11): المستخلصات بعد اختبار القدرة المضادة *للأكسدة CAT*

✓ **المنحنى القياسي لحمض الغاليك:**

تم تحضير تراكيز مختلفة لحمض الغاليك محصورة بين0.02-0.12 مغ/ مل، وفي انابيب اختبار نضع0.1 مل من كل تركيز ونضيف لها 1مل من محلول المولبيدات، ترج الأنابيب جيدا وتوضع في حمام مائي درجة حرارته 95لمدة ساعة. بعد أن تبرد الأنابيب نقرأ الامتصاصية عند الطول الموجي695nm.



شكل (IV-12): المنحنى العياري لحمض الغاليك لاختبار قدرة النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص الميثانولي



شكل (13-IV):المنحنى العياري لحمض الغاليك لاختبار قدرة النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص المائي

6.IV.الإختبارات البيولوجية :

1.6.IV.النشاط المضاد للبكتيريا :

في هذه الدراسة تم اختبار الفعالية ضد الميكروبات من أجل تحديد النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات النباتية والتي تم الحصول عليها عن طريق الاستخراج باستخدام الميثانول والماء، وهذا بتطبيقها على أربعة أنواع من السلالات البكتيرية الممرضة والتي تم الحصول عليها من مخبر المجد للتحاليل الطبية.

2.6.VI.الأنواع المختبرة للميكروبات:

الأنواع المختبرة	الغرام	العائلة
Escherichia coli	سالبة	*Enterobacteriaceae*
Klebsiella pneumoniae	سالبة	*Enterobacteriaceae*
Pseudomonas aruginosa	سالبة	*Enterobacteriaceae*
Staphylococcus aureus	موجبة	*Staphylococcaceae*

IV.3.6. طريقة العمل :

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

IV.1.3.6.تحضير تركيز المستخلصات :

يتم تحضير ثلاث تراكيز مختلفة لكل مستخلص وذلك بإذابتها في *DMSO*

- المستخلص الميثانولي:

تمت إذابة 10مغ، 20مغ، 30مغ من المستخلص على الترتيب في 3 حجوم قدرها 1 مل من *DMSO*.

- المستخلص المائي:

تمت اذابة 10مغ، 20مغ و30مغ من هذا المستخلص على الترتيب في3 حجوم قدرها 1 مل من مذيب *DMSO*.

IV.2.3.6.تحضير الأقراص :

تم قص ورق الترشيح*Whitman* إلى أقراص بقطر6مم ثم وضعت في انبوب اختبار زجاجي يحتوي على 10مل ماء مقطر ومن ثم وضعت في جهاز المعقمة *Autoclave* لمدة20دقيقة على درجة حرارة 120C° بعدها تم التخلص من الماء ثم نقلت الأقراص إلى الحاضنة حتى تجف.

IV.3.3.6.تحضير المزارع البكتيرية :

تم تنشيط العينات المختبرة المذكورة سابقا وذلك بأخذ مسحة من العزلات البكتيرية باستعمال قضيب بلاتيني(*anse de platine*)وتنميتها في وسط زراعي(*gélose nutritive*) وحضنها في الحاضنة(*étuve*)عند درجة حرارة 37 درجة مئوية .

IV.6.3.4.تحضير أوساط الزرع :

تم تحضير اوساط الزرع بتعقيم المحلول الجيلوزي*Muller Hinton(MH)* في *Autoclave*، بعدها يسكب المحلول(MH)في علب بتري بسمك موحد حتى النصف تقريبا ويترك ليبرد على طاولة العمل، هذه العملية تتم امام موقد حراري لخلق وسط معقم[35] [36].

IV.6.3.5تحضير المعلق البكتيري :

نضع 5مل من الماء الفيزيولوجي المعقم في ثلاث انابيب اختبار معقمة، ثم بواسطة عود قطني نأخذ جدمة بكتيرية ونضعها في انبوب من الأنابيب المحضرة سابقا حيث كل سلالة على حدى ونقوم بالرج جيدًا، بعدها نغمس العود القطني المعقم في المعلق البكتيري ثم يمسح به كامل الوسط الجاف لأوساط الزرع المحضرة سابقا على شكل خطوط متلاصقة ومنتظمة مع تكرار العملية ثلاث مرات وذلك بتدوير علب البتري بزاوية°60في كل مرة ونقوم بنفس العملية للأنواع البكتيرية المستعملة في الدراسة [85][86].

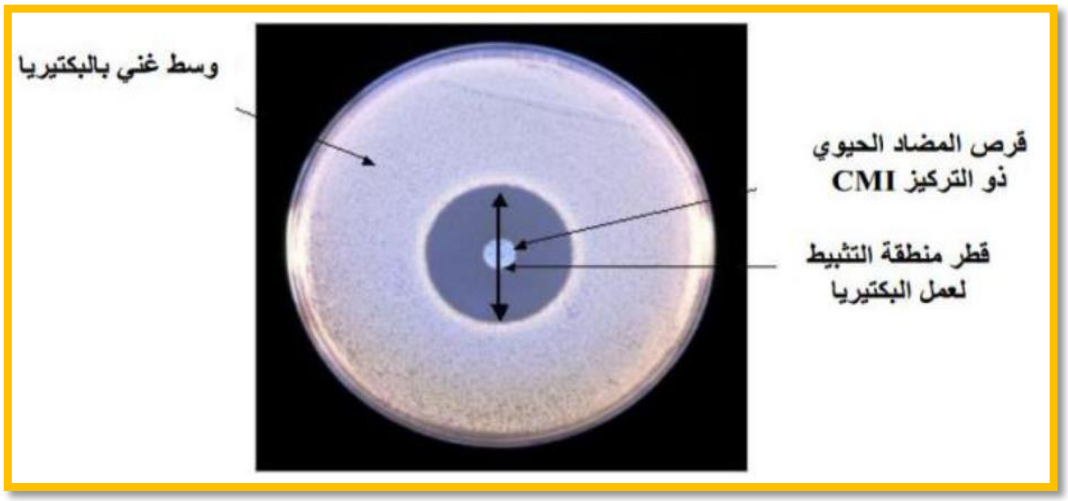
IV.6.3.6.تطبيق الأقراص :

بواسطة ملقط معقم توضع الأقراص المشبعة بالمستخلصات المختلفة في علب بتري ثم تترك لتجف حوالي 30 دقيقة، بعدها نضعها في الحاضنة تحت درجة حرارة °37 لمدة 24ساعة ويتم قلب العلب لكيلا يتلف الوسط نتيجة الماء وتقرأ الأقطار بالمسطرة [87].

IV.6.3.7.قراءة النتائج :

بعد الحضن إذا ثبط المستخلص نمو البكتيريا، تظهر مناطق واضحة حول محيط الأقراص تسمى مناطق تثبيط النمو البكتيري للسلالة المختبرة، يحسب قطر هذا التثبيط بالمليمتر وحسب سلم تقدير ترتب قيم اقطار مناطق التثبيط(D) للنمو البكتيري في خمسة أقسام [88].

- جد قوية التثبيط(D>=30)
- قوية التثبيط(21<D<29)
- معتدلة التثبيط (16<D<20)
- واسعة التثبيط(11<D<15)
- غير مثبطة(D>10mm)



شكل (**14-IV**) : تطبيق الأقراص

تم التطرق في هذا الفصل إلى الأعمال التي كانت تنجز على مستوى المخبر فتم ذكر الأجهزة والأدوات المستعملة في هاته التجارب العلمية، كما تم الشرح بالتفصيل للطرق الكيميائية المعتمدة في الدراسة من طريقة الاستخلاص وكيفية تحضير المستخلصات وحساب مردودها، وأيضا طرق التقدير الكمي.

حيث قمنا بالتقدير الكمي لكل من الفلافونيدات والفينولات بواسطة جهاز *UV- visible* .

V. الفصل الخامس: النتائج والمناقشة

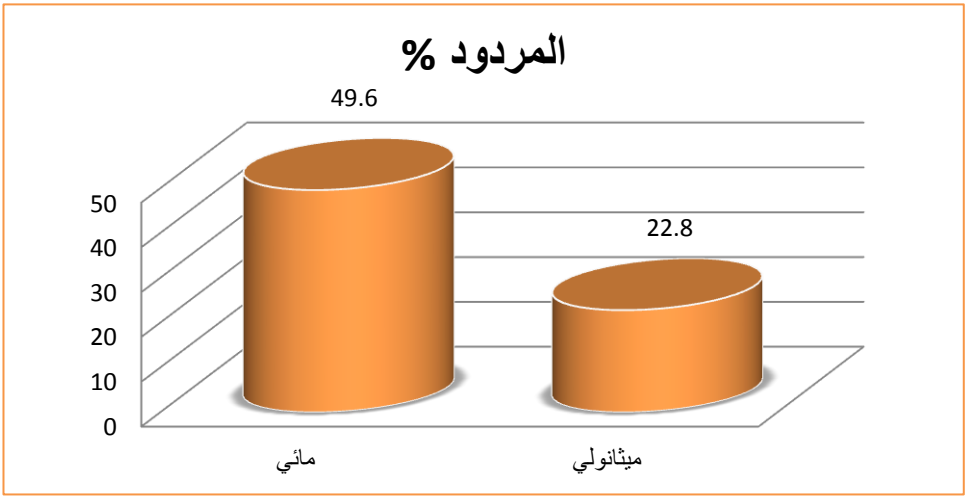
1.V.حساب مردود المستخلصات :

بعد عملية الاستخلاص تم تقدير المردود ب(%)بواسطة العلاقة

$R\% = (Ps/Ph) * 100$ والنتائج مدونة في الجدول التالي:

جدول(1-V) :قيم مردود الإستخلاص

كتلة العينة	نوع المستخلص	كتلة المستخلص(g)	المردود%
25g	المائي	12.4	49.6
	الميثانولي	5.7	22.8



شكل (1-V) :أعمدة بيانية توضح قيم مردود الإستخلاص

التعليق على النتائج والمناقشة:

من خلال النتائج الموضحة في الجدول والممثلة بالأعمدة البيانية نلاحظ تباين في نسب المردود للمستخلصين، حيث نجد أن مردود المستخلص المائي والمقدر ب49.6%أفضل من مردود المستخلص الميثانولي الذي قدر ب22.8%. وهذا الاختلاف يعود إلى نوع المستخلص، خصائص وقطبية المذيب حيث نلاحظ وجود تناسب طردي بين القطبية والمردود.

V.2.دراسة بعض الخصائص الفيزيائية :

جدول (V-2) :جدول يبين صفات المظهر الخارجي للمستخلصين

المستخلص	المظهر واللون	اللون
المائي	لزج	بني داكن
الميثانولي	لزج	بني مصفر

جدول(V-3) :جدول يوضح بعض الخصائص الفيزيائية

اللفت Brassica rapa subsp rapa	الناقلية(µs/cm) عند 19°م	درجة الحموضةpH عند25°م
	21.8	**5.992**

التعليق على النتائج:

من خلال النتائج الموضحة في الجدولين السابقين تبين أن:

- بعد عملية النقع والاستخلاص تحصلنا على مستخلصين أحدهما مائي كان ذو لون بني داكن ومظهر لزج أما الميثانولي فكان هو أيضًا ذو مظهر لزج ولون بني مصفر.
- بلغت الناقلية المقدرة وفق طريقة « Jones » عند درجة حرارة19°م قيمة 21.8µs/cm، بينما بلغت درجة حموضة اللفت المقدرة وفق طريقة (Marx) عند درجة حرارة 25°م قيمة 5.992.

V.3.نتائج الكشف الأولي للنبات :

جدول(V-4): نتائج الكشف الأولي عن بعض مكونات الأيض الثانوي

مواد الأيض الثانوي	النتائج
القلويدات	+
الصابونين	+
التربينات	+
التانينات	+
السكريات	+
الانثوسيانات	–
النشاء	–
الفلافونويدات	+
الفينولات	+
الغليكوسيدات	+

ملاحظة: (+) دلالة على وجود المادة الفعالة و(–) دلالة على غياب المادة الفعالة.

جدول (5V): الألوان المتحصل عليها في الكشف الأولي عن بعض مكونات الأيض الثانوي

مواد الأيض الثانوي	ألوان النتائج
القلويدات	أبيض
الصابونين	رغوة أقل من 1 سم
التربينات	أحمر ياجوري
التانينات	أخضرمزرق
السكريات	راسب أحمر اجوري
الانثوسيانات	/
النشاء	/
الفلافونويدات	أصفر
الفينولات	أخضر
الغليكوسيدات	بني محمر

التعليق على النتائج والمناقشة:

يظهر من خلال النتائج المتحصل عليها من دراسة المسح الفيتو الكيميائي لنبات اللفت (*Brassica rapa subsp rapa*)، أن درنات نبات اللفت غنية بمركبات الأيض الثانوي حيث تحتوي على كل من الفينولات، الفلافونويدات، السكريات، التاتينات، التربينات، الغليكوسيدات، الصابونين وأخيرًا القلويدات. غير أن درنات اللفت تبين أنها مفتقرة لكل من الأنثوسيانات، النشاء.

- نلاحظ تواجد عدد كبير من العائلات الكيميائية. مما يؤكد تواجد عدة مركبات فعالة بها.
- بالإضافة إلى العديد من المكونات الغذائية الاساسية، تحتوي النباتات على متعدد فينولات، وهي مجموعة كبيرة وغير متجانسة من العناصر غير الغذائية النشطة بيولوجيا، والتي تمتلك العديد من الوظائف في النباتات. فهي تعمل كمواد داعمة لجدار الخلية وكجاذبات ملونة للطيور والحشرات (الفلافونيدات)، وتساعد على عملية التلقيح في النبات. كما تعتبر عديدات الفينول مهمة أيضًا في آليات الدفاع للنباتات في ظل ظروف الاجهاد البيئي المختلفة مثل: الجرح، العدوى، الضوء المفرط، والأشعة فوق البنفسجية. يعتقد أيضا أن البولي فينول الغذائي يقوم بقمع العمليات الداخلية التي تؤدي إلى التحول، والانتشار المفرط، بدء التسرطن. قد يؤدي تأثيرها التثبيطي في نهاية المطاف إلى كبت الخطوات النهائية للتسرطن وكذلك تكوين الأوعية الدموية والورم الخبيث [89].
- تعتبر الفلافونيدات من المركبات التي تلعب دورًا دفاعيا، فوجودها في النبات يمكن أن يفسر على أنها نوع من أنواع مضادات الأكسدة، وهي مواد تقي النباتات من البكتيريا، وتملك أيضًا خاصية مضادة للفيروسات والميكروبات [90] .
- للتانينات دور هام في النبات، فهي تتواجد عادة بشكل مركز في أجزاء النبات مثل الأوراق والسيقان، وتعتبر مضادات للأكسدة في النبات لأنها ضمن مجموعة عديدات الفينول وتحمي النبات من الحشرات والفطريات الضارة وتحافظ على حياته، لها خاصية جذب الاكسجين لاحتوائها على الفينول وبالتالي لها وظيفة تنفسية لزيادة قدرة النبات للحصول على الأكسجين [91].
- ربما يعود وجود الصابونيات في النبات للمرحلة العمرية لنبات لكونها مواد مرة الطعم تعمل على طرد الحيوانات آكلات الأعشاب لاستمرار مراحل النمو [63].

- أما التربينات تكمن أهميتها في كونها تستخدم كمضادات حيوية، كما اثبتت فعاليتها في بعض أنواع السرطان، وبعضها يعمل كهرمونات نمو في النباتات [10] .
- للقلويدات دور هام حيث يمكن أن تقوم بدور منشطات أو منظمات في النباتات بفعالية مشابهة لفعالية هرمونات النمو والأيض والتكاثر [12].كما تبرز أهميتها أيضًا من تأثيراتها الفيزيولوجية على الرغم من أن معظمها إن لم يكن جميعها مواد سامة، حيث أن لها استعمالات طبية مختلفة ولكن تؤخذ بجرعات يسيرة بالإضافة إلى استخدامها في أغراض متنوعة. حيث أنه حوالي 25% من العقاقير تكون قلويدات. وتعد مصدرًا هاما لتكوين البروتينات وتشكل كذلك مواد واقية للنباتات من هجوم الحيوانات والحشرات، إضافة إلى كونها تشكل منظمات للنمو والأيض والتكاثر في النبات [10].

V.4.التقدير الكمي للفينولات الكلية :

تم تقدير كمية الفينولات الكلية للمستخلصات المدروسة بالاعتماد على طريقة كاشف (Folin-ciocalteu) وبحساب رياضي باستخدام معادلة المنحنى القياسي لحمض الغاليك لكلا المستخلصين:

معادلة المستخلص المائي	معادلة المستخلص الميثانولي
Y=0.0918+3.0316x	Y=0.21452+1.38924x

$$Q = (x/c) * 1000$$

حيث:

Q تمثل كمية الفينولات(mgAGE/g)

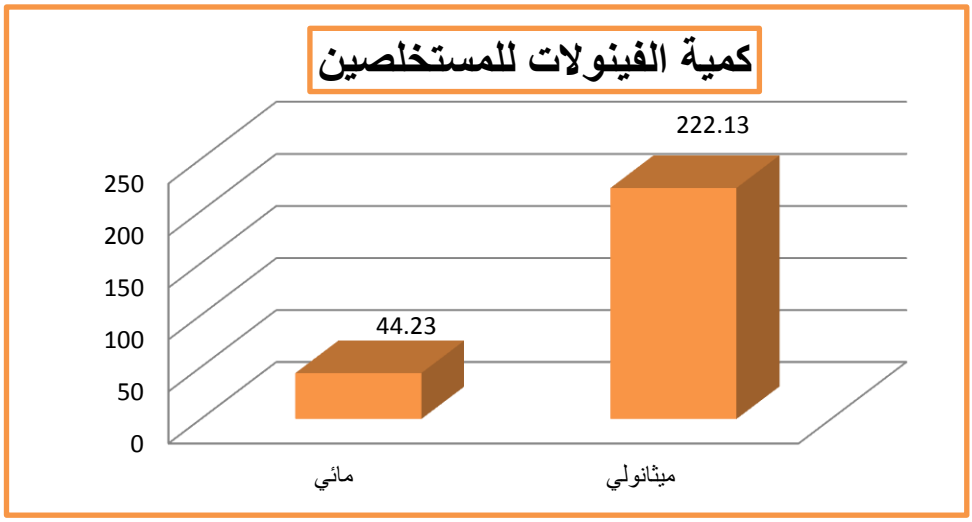
x تمثل تركيز الفينولات(mg/ml)

c تمثل تركيز المستخلص(mg/ml).

تحصلنا على النتائج المدونة في الجدول التالي:

جدول(V-6) :قيم الامتصاصية وكمية الفينولات للمستخلصات المدروسة

المستخلص	التركيز c (mg/ml)	الامتصاصية	تركيزالفينولاتx (mg/ml)	كميةالفينولات Q (mgAGE/g)
المائي	2.5	0.427	0.1105	44.23
الميثانولي	2.5	0.986	0.5553	222.13



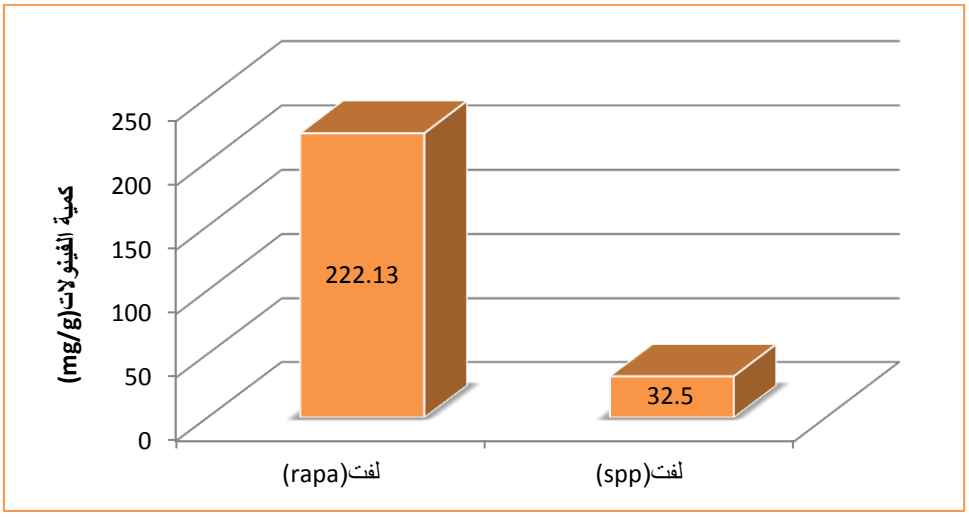
شكل (V-2) :أعمدة بيانية تمثل كمية المركبات الفينولية للمستخلصين

التعليق على النتائج والمناقشة:

من خلال نتائج الجدول والممثلة بالأعمدة البيانية، لوحظ وجود تباين في كمية الفينولات للمستخلصين ، حيث بلغت كمية المركبات الفينولية 44.23 mg EAG/g في المستخلص المائي في حين سجلت قيمة أكبر من هذه بكثير في المستخلص الميثانولي تقدر ب 222.13 mgEAG/g.

يمكن أن يفسر هذا الاختلاف في كمية الفينولات بين المستخلصين باختلاف نوع المذيب، كميته وقطبيته حيث تبين وجود علاقة عكسية بين قطبية المذيب وكمية الفينولات المستخرجة، كما تبين أن الكحول (الميثانول) ساعد في تحلل المركبات الفينولية خلال عملية الاستخلاص، أي أن الميثانول لديه القدرة على إذابة الفينولات أحسن من الماء وهذا ما تعارض مع دراسة [92].

بينت نتائج دراستنا المتحصل عليها أن كمية الفينولات في المستخلص الميثانولي كبيرة جدًا مقارنة مع كمية الفينولات المتحصل عليها من دراسة [93] على اللفت من نوع (*Brassica spp*) والتي مقدارها يساوي إلى32.5mg EAG/g.



شكل (3-V):أعمدة بيانية تمثل الفرق في كمية الفينولات بين لفت (rapa)ولفت(spp)

5.V.التقدير الكمي للفلافونيدات :

قدرت كمية الفلافونويدات الكلية للمستخلصات المدروسة بالاعتماد على طريقة كاشف كلوريد الألمنيوم$AlCl_3$ وبحساب رياضي باستخدام معادلة المنحنى القياسي لحمض الكريستين .

معادلة المستخلص المائي	معادلة المستخلص الميثانولي
$Y = 2.6x + 0.104$	Y=6.10949x+0.24185

$$Q = (x/c) * 1000$$

حيث:

x تمثل تركيز الفلافونويدات (mg/ml)

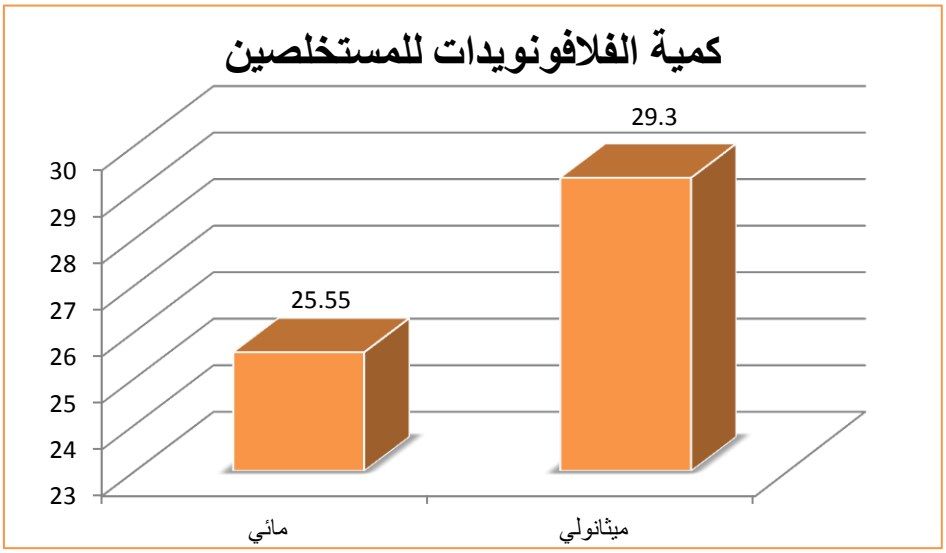
c تمثل تركيز المستخلص(mg/ml)

Q تمثل كمية الفلافونويدات (mgEQr/g)

تحصلنا على النتائج المدونة في الجدول التالي:

جدول (7V):قيم الامتصاصية وكمية الفلافونيدات للمستخلصات المدروسة.

المستخلص	التركيز c (mg/ml)	الامتصاصية	تركيز الفلافونيدات x (mg/ml)	كمية الفلافونيدات Q (mgEQ/g)
المائي	2.8	0.290	0.0715	**25.55**
الميثانولي	2.8	0.743	0.082	**29.30**



شكل(4–V):أعمدة بيانية تمثل كمية الفلافونيدات للمستخلصات المدروسة

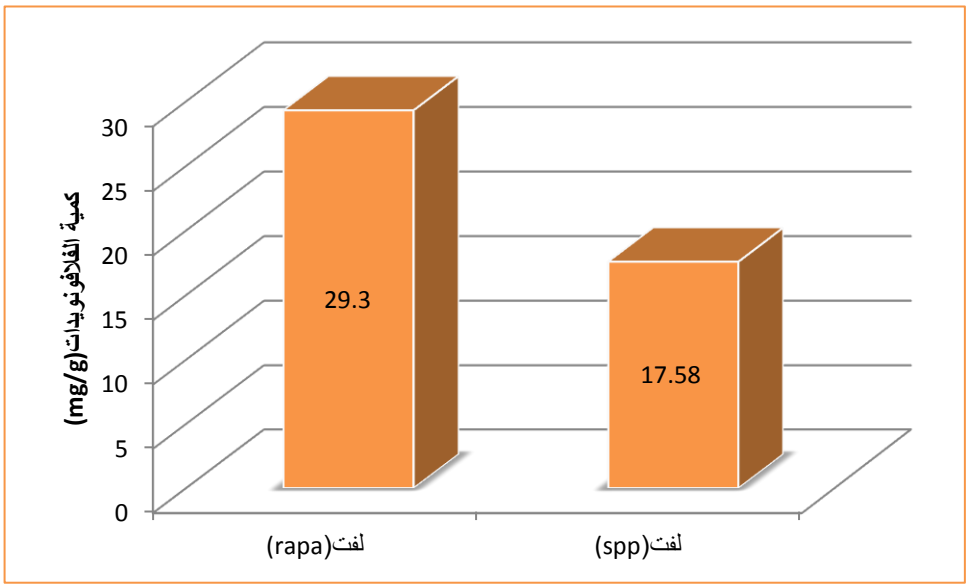
التعليق على النتائج والمناقشة:

من خلال نتائج الجدول والذي يمثل التقدير الكمي للفلافونيدات بالملغ المكافئ للكرستين لكل غرام لوزن المستخلص، لوحظ وجود تباين طفيف في كمية الفلافونيدات في المستخلصين، حيث بلغت كمية الفلافونيدات في المستخلص الميثانولي 29.3mgEQ/g وهي تمثل النسبة الأكبر في حين بلغت نسبة الفلافونويدات في المستخلص المائي 25.55mgEQ/g.

ومن خلال هذه النتائج تبين أنه يمكن تفسير هذا التباين الحادث باختلاف نوع وقطبية المذيب المستعمل في عملية الاستخلاص. إذ تبين أن الميثانول كان المذيب الأفضل في استخراج الفلافونيدات كما هو الحال في التقدير الكمي للفينولات، ومن هنا نستنتج أن هناك تناسب طردي

بين كمية الفينولات وكمية الفلافونيدات وهذا يتوافق مع ما ذكر سابقًا في الدراسة النظرية بأن الفلافونويدات هي المجموعة الأكثر تنوعًا وانتشارًا من المركبات الفينولية.

كما بينت النتائج المتحصل عليها في هذا العمل أن كمية الفلافونويدات التي تحصلنا عليها أكبر مقارنة مع كمية الفلافونويدات في دراسة [93] على المستخلص الميثانولي للفت (spp) والمقدرة ب17.58(mgEQ/g).



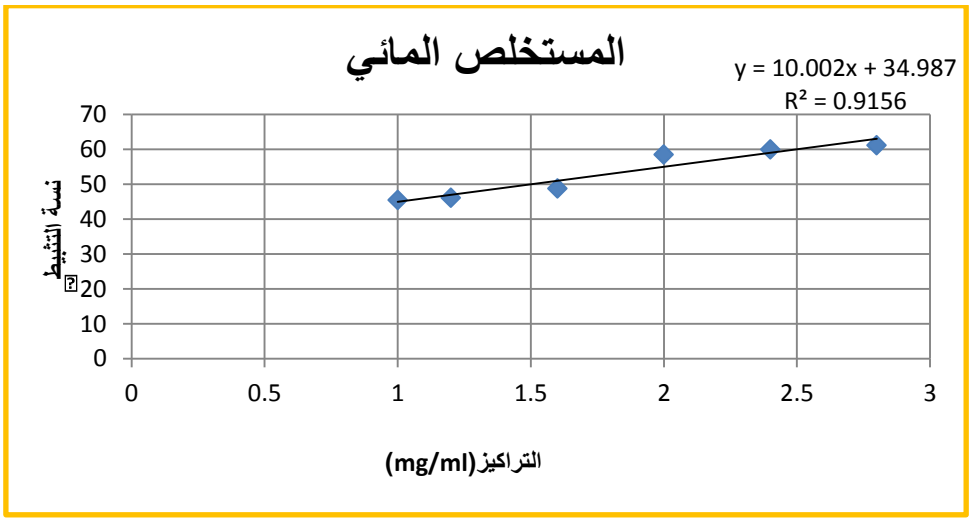
شكل (V-5) :أعمدة بيانية توضح الفرق في كمية الفلافونويدات بين لفت (rapa)ولفت(spp)

V.6.قياس الفعالية المضادة للأكسدة

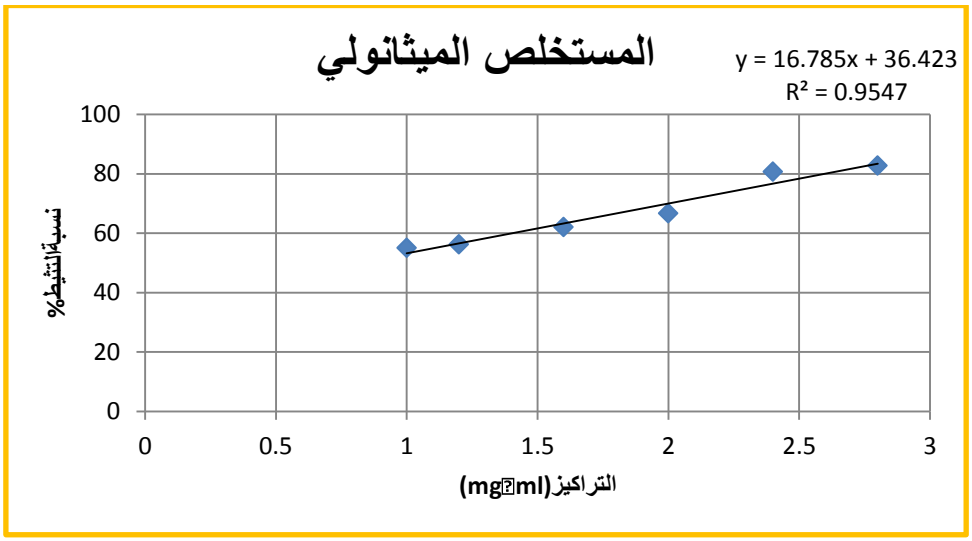
V.6.1.اختبار تثبيط الجذور الحرة *DPPH*

يستعمل جذر *DPPH* لتقييم النشاط المضاد للأكسدة، إذ يعتبر*DPPH* جذر حر غير مستقر يتغير لونه من البنفسجي إلى الأصفر عند إرجاعه إلى *DPPH-H* بواسطة المركبات المضادة للأكسدة القادرة على اقتناصه وذلك بمنحه الكترون أو بروتون ليصبح جزيئة مستقرة، وهنا يتلخص دورها كمزيحات للجذور الحرة.

بتطبيق اختبار تثبيط الجذر الحر على قيم الامتصاصية المتحصل عليها تحسب نسبة التثبيط بالعلاقة سابقة الذكر، وهذا من أجل رسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز $I(\%) = f(C)$ والنتائج موضحة في المنحنيات أدناه:



شكل (V-6) : منحنى تثبيط الجذر الحر *DPPH* بدلالة التركيز للمستخلص المائي



شكل (V-7) :منحنى تثبيط الجذر الحر *DPPH* بدلالة التركيز للمستخلص الميثانولي

من منحنيات تغير النسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز تم تعيين قدرة المستخلصات على كبح الجذر الحر بحساب قيمة IC_{50} التي تعبر عن أقل تركيز يثبط 50% من نشاط الجذر الحر *DPPH*، وتحسب انطلاقا من المعادلة التي تحدد نسبة التثبيط بدلالة التركيز من خلال تعويض Y بالقيمة50 ثم نحسب كالآتي:

$$IC_{50} = \frac{50 - b}{a}$$

حيث a: ميل المنحنى.

b:الثابت.

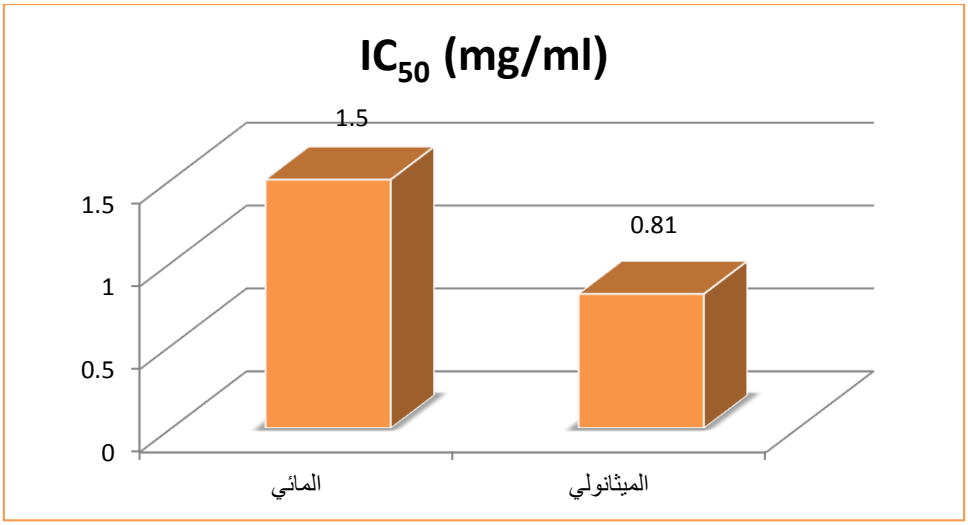
جدول(V-8) :جدول يوضح نتائج اختبار *DPPH* بالنسبة للمستخلصات

المستخلص	قيمة IC_{50}
المائي	1.5
الميثانولي	0.81

التعليق على النتائج والمناقشة:

من خلال النتائج السابقة نلاحظ أن كلا المستخلصين لهما فاعلية تثبيطية للجذر الحر *DPPH* نوعًا ما حيث كانت النسب متقاربة إلى حد ما، واعتمادًا على أنه هناك علاقة عكسية بين IC_{50} والفعالية المضادة للأكسدة التي تزداد بنقصان قيمة IC_{50} تبين أن المستخلص الميثانولي يملك فاعلية تثبيطية للجذر الحر *DPPH* أكبر بقيمة IC_{50} تساوي إلى 0.81mg/ml وذلك مقارنة بالمستخلص المائي الذي سجل أقل قدرة تثبيطية للجذر الحر *DPPH* بقيمة IC_{50} تساوي إلى 1.5mg/ml.

وبمقارنة هذه النتائج المتحصل عليها مع دراسة [93] التي أجريت على نبات اللفت (*Brassica spp*) نجد أن قيمة IC_{50} التي تحصلوا عليها كانت أكبر بكثير أي أقل فاعلية والتي قدرت ب84.06mg/ml.



شكل (V-8) : يوضح قيم IC_{50} للمستخلصين

V.2.6. اختبار النشاطية المضادة للأكسدة ال *CAT*

تم اختبار النشاطية المضادة للأكسدة الكلية (CAT) للمستخلصين بالاعتماد على طريقة الفوسفو موليبيدات، وبحسابات رياضية باستخدام قيم الامتصاصية المتحصل عليها ومعادلة المنحنى القياسي لحمض الغاليك .

$Y=0.558585+10.17542x$ معادلة المستخلص الميثانولي

$Y=13.14071x-0.07067$ معادلة المستخلص المائي

تحصلنا على النتائج المدونة في الجدول الآتي:

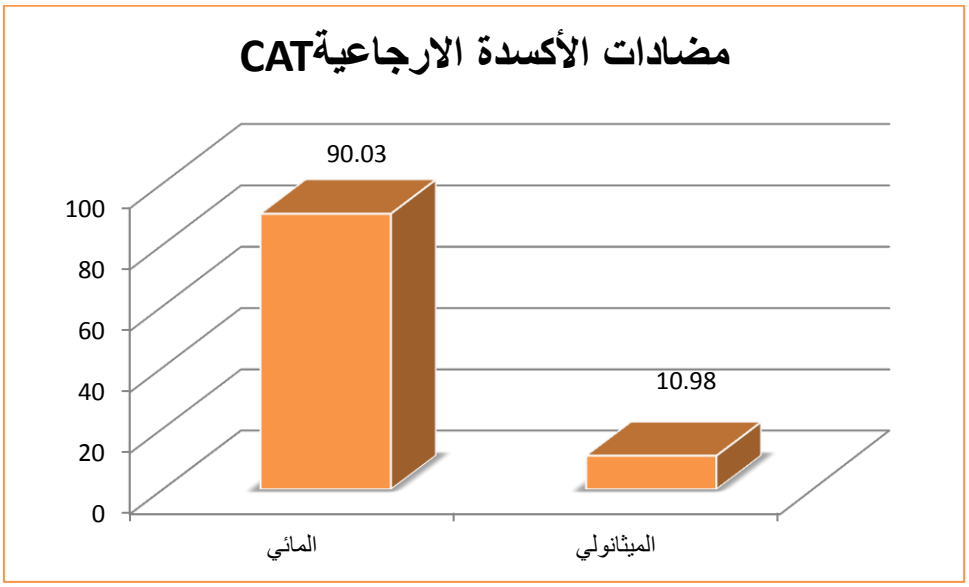
جدول(V-9) : يوضح قيم الامتصاصية ونتائج اختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة *CAT*

المستخلص	التركيز(mg/ml)	الامتصاصية	قيم اختبار النشاطية (mgEAG/g)
المائي	1.6	0.386	90.03
الميثانولي	1.6	0.723	10.98

التعليق على النتائج والمناقشة:

من خلال النتائج المدونة في الجدول لقيم اختبار النشاطية(CAT)والممثلة بالأعمدة البيانية نلاحظ أن المستخلصين لديهما القدرة على اقتناص جذور موليبيدات الفوسفات وارجاعها إلى موليبدان، حيث تفوق المستخلص المائي في اختبار القدرة الإرجاعية وبلغت قيمة نشاطيته 90.03mg/g مقارنة بالمستخلص الميثانولي الذي بلغت قيمة نشاطيته 10.98mg/g.

يمكن أن يعزى هذا الاختلاف إلى محتوى المستخلصات من المركبات الفعالة (نواتج الأيض الثانوي) التي تعمل على ارجاع شوارد الموليبيدات.



شكل (**9-V**):أعمدة بيانية لقيم مضادات الأكسدة الإرجاعية *CAT*

V.7.الفعالية المضادة للبكتيريا

V.7.1.المستخلص المائي

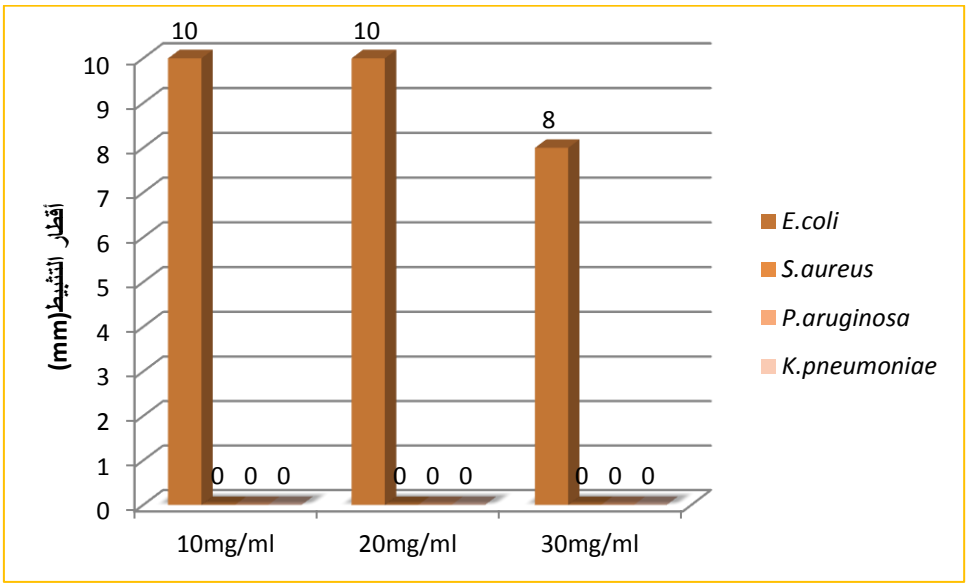
بعد الزرع والحضن لمدة من 18- 24 ساعة نقوم بقياس قطر التثبيط حول الأقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة للمستخلص. نكرر العملية أكثر من مرة للتأكد من صحة النتائج المتحصل عليها:

جدول (V-10) :أقطار التثبيط لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة للمستخلص المائي

التركيز(mg/ml)	قطر التثبيط تجاه كل سلالة بكتيرية بال(mm)			
	E.coli	*S.aureus*	*P.aruginosa*	*K.pneumoniae*
10	10	-	-	-
20	10	-	-	-
30	8	-	-	-

تعليق على النتائج:

من خلال النتائج المتحصل عليها في الجدول نلاحظ أن السلالات البكتيرية المختبرة لم تبد أي حساسية تجاه المستخلص ما عدا في حالة بكتيريا *E.coli* تم تسجيل أقطار تثبيط معتبرة حيث بلغ أقل قطر تثبيط قدره8mm عند التركيز الموافق 30mg/ml مقارنة بالتراكيز 10mg/ml و20mg/mlالذي بلغ قطر تثبيطهما 10mm.



شكل (V-10): أعمدة بيانية تمثل أقطار التثبيط للمستخلص المائي

V.2.7.المستخلص الميثانولي :

بعد الزرع والحضن لمدة من 18-24 ساعة نقوم بقياس أقطار التثبيط حول الأقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة للمستخلص. والنتائج موضحة في الجدول التالي:

جدول(V-11): أقطار التثبيط لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة للمستخلص الميثانولي

التركيز(mg/ml)	قطر التثبيط تجاه كل سلالة بكتيرية بال(mm)			
	E.coli	S.aureus	P.aruginosa	K.pneumoniae
10	12	-	-	-
20	8	-	-	8
30	8	-	-	10

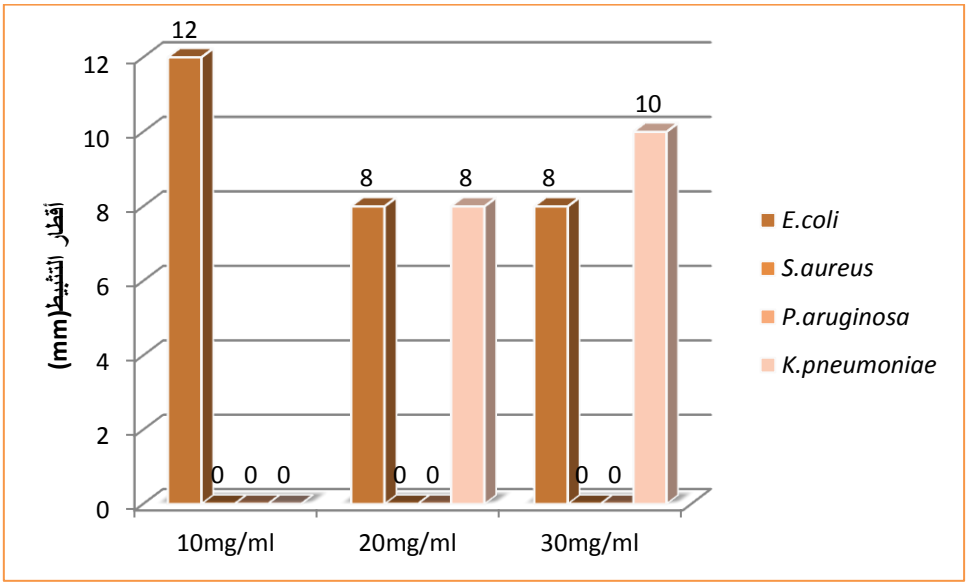
تعليق على النتائج:

من خلال النتائج الموضحة في الجدول نلاحظ وجود فروقات في تأثير المستخلص على السلالات البكتيرية:

- عند *E.coli* سجلنا أعلى قطر تثبيطي عند التركيز 10mg/ml إذ بلغ 12mm مقارنة بالتراكيز 20mg/ml و 30mg/mlحيث بلغ قطر تثبيطهما 8mm.

- أما كل من *S.aureus* و *P.aruginosa* لم يبديا أي حساسية تجاه المستخلص فلم نسجل أي قطر تثبيطي.
- وبالنسبة ل *K.pneumoniae* كان أعلى قطر تثبيط عند التركيز 30mg/ml حيث بلغ 10mm مقارنة بالتركيز 20mg/ml إذ بلغ قطر التثبيط عنده 8mm، بينما التركيز 10mg/ml لم نسجل عنده قطر تثبيطي.

ومنه نستنتج أن *E.coli* كانت أكثر حساسية للمستخلص الميثانولي عند التراكيز المنخفضة من *K.pneumoniae*. وهذا راجع إلى أن المواد الفعالة في المستخلص لديها فعالية حيوية وبيولوجية ضد الأحياء المجهرية خاصة ضد *E.coli*.



شكل (4-V): أعمدة بيانية تمثل أقطار التثبيط للمستخلص الميثانولي

مناقشة النتائج وتفسيرها:

- من خلال النتائج الموضحة بالجداول والأشكال السابقة تبين أن لمستخلصات اللفت قدرة تثبيطية متفاوتة بين الضعيفة والمعدومة تجاه السلالات البكتيرية المطبقة عليها الدراسة في هذا العمل، حيث لم تسجل السلالات البكتيرية أي استجابة مع المستخلص المائي إلا في حالة بكتيريا *E.coli*. ويمكن تفسير هذه النتائج وفقا لما توصلت إليه دراسات سابقة، فقد تكون المركبات الفعالة موجودة بكميات غير كافية في المستخلصات الخام أو أنها تحوي مركبات فعالة بكميات عالية ومكونات أخرى تظهر تأثيرات مضادة للتأثير الإيجابي للعوامل الفعالة بيولوجيا، أوقد تكون المستخلصات فعالة ضد أنواع جرثومية أخرى غير مستخدمة بالدراسة الحالية [94].

- في حين أنه في المستخلص الميثانولي أبدت سلالتين فقط من البكتيريا *E.coli* و*K.pneumoniae* حساسية تجاه هذا المستخلص وكلتاهما سالبة الغرام وهذا يفسر بأن المستخلص الميثانولي أكثر فعالية على البكتيريا سالبة الغرام حيث تعارضت دراستنا مع الدراسة المطبقة من طرف "وريدة وفاطمة" والتي بينت أن البكتيريا سالبة الغرام أكثر مقاومة للمستخلص الميثانولي بفضل هيكل الغشاء الخارجي؛ أي أن المستخلص أكثر فعالية على البكتيريا موجبة الغرام[93].

وعليه فإنه يمكن تفسير الاختلاف في الفعالية المضادة للبكتيريا ب:

- ♦ الاختلاف في تركيز المركبات الفعالة التي لها فعالية حيوية وبيولوجية ضد الأحياء المجهرية وأهمها الفينولات والفلافونيدات.
- ♦ امتصاص الأغشية الخلوية للبكتيريا المركبات الفينولية وتفاعلها مع الإنزيمات الفعالة والعناصر المعدنية في الجدران الخلوية.
- ♦ كما أن الاختلاف في الحساسية بين السلالات البكتيرية موجبة الغرام وسالبة الغرام يعود للاختلاف في البنية، تركيبة، طبيعة جدار الخلية البكتيرية بين النوعين، وفي وجود *Lipopolysaccharides* التي يحتويها الغشاء الخارجي لبكتيريا سالبة الغرام [95].

V.3.7.المضادات الحيوية :

في دراسة الفاعلية البيولوجية للمستخلصات تم استعمال المضاد الحيوي *(Ciprofloxacine)* كشاهد لمقارنة فاعليته التثبيطية مع مستخلصات اللفت كما هو موضح في الجدول التالي:

جدول(V-12) : جدول يوضح أقطار تثبيط المضادات الحيوي

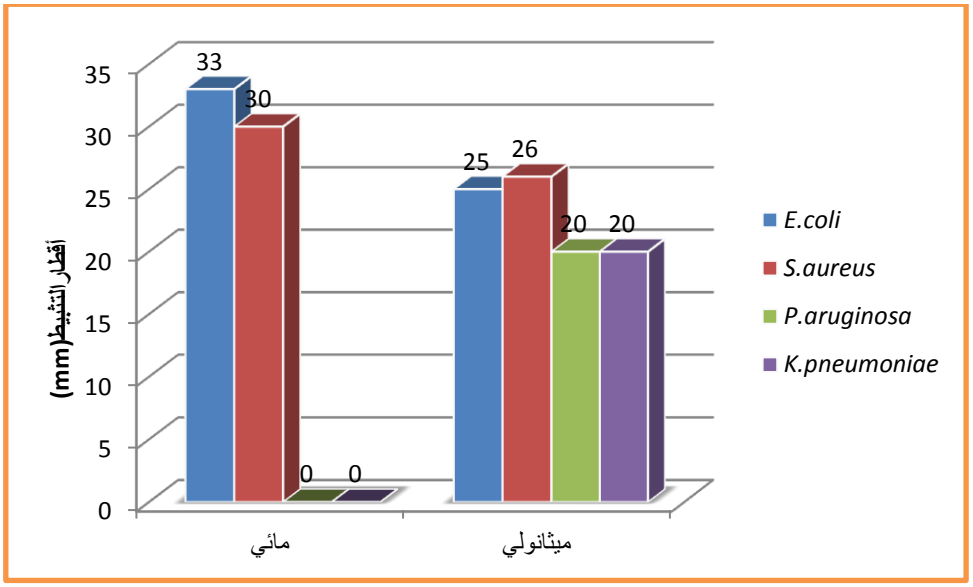
المضاد الحيوي	نوع المستخلص	قطر التثبيط تجاه كل سلالة بكتيرية بال(mm)			
		E.coli	S. aureus	P. aruginosa	K. pneumoniae
Cipro floxacine	مائي	33	30	-	-
	ميثانولي	25	26	20	20

تعليق على النتائج:

من خلال الجدول نلاحظ وجود فروقات متفاوتة في تأثير المضاد الحيوي على السلالات البكتيرية في كل من المستخلص المائي والميثانولي:

- بالنسبة ل*E.coli* كانت حساسة تجاه المضاد الحيوي في مختلف الحالات حيث سجل أعلى قطر تثبيطي عند (*ciprofloxacine*) في المستخلص المائي وقدر ب 33 mm مقارنة بالمستخلص الميثانولي حيث بلغ قطر التثبيط 25mm.
- أما بالنسبة ل *S.aureus* سجلنا أعلى قطر تثبيطي عند المستخلص المائي إذ بلغ قدره30mm مقارنة بالمستخلص الميثانولي حيث بلغ قطر التثبيط26mm.
- عند *P.aruginosa* سجل أعلى قطر تثبيطي عند المستخلص الميثانولي قدر ب20mm في حين أنها أبدت مقاومة تجاه المضاد الحيوي في حالة المستخلص المائي.
- وبالنسبة ل *K.pneumoniae* سجلنا أعلى قطر تثبيطي عند المستخلص الميثانولي كذلك قدر ب20mm كما أنها أبدت مقاومة للمضاد الحيوي في المستخلص المائي.
- وهذا يعود إلى طريقة تأثير السلالات البكتيرية على المستخلصات وقدرتها على المقاومة.

وبالمقارنة بين المستخلصات والمضاد الحيوي نجد أن مستخلصات اللفت ليس لها فعالية كافية في تثبيط السلالات البكتيرية المختبرة.



شكل (V-5) :أعمدة بيانية تمثل أقطار التثبيط للمضاد الحيوي *(Ciprofloxacine)*

خاتمة عامة

خاتمة

حينما عاش الإنسان الأول حياته كانت البيئة المحيطة به هي عالمه الذي يستمد منه كل احتياجاته، وقد برع في التكيف مع معطياتها، وبعدما تعرض للمرض أخذ يبحث عن علاج فيها فكانت النباتات أول اختياراته رغم جهله بأسباب المرض، وبالتجريب والضرورة باتت لها مكانة في حياته. ومع بداية القرن السادس عشر وسيطرة سحر الكيمياء على الحياة ظهر اتجاه جديد يؤسس لمنهج مختلف في التعامل معها و الاستفادة منها ولم يعد الأمر قاصرًا على استخدام البذور والأوراق والجذور والثمار فحسب بل أضحت هناك مستخلصات دقيقة مركزة تفيد في علاج أمراض محددة.

و الأصل في استخدام النباتات دون غيرها من داخل البيئة واستئثارها بذلك أنه للنباتات خصيصة ليست تتوفر في سواها تكمن في قدرتها على تخزين مواد فعالة داخليًا أو انتاجها خارجيًا، و لهذه المواد تأثير فيسيولوجي على جسم الإنسان.

في إطار تثمين الثروة المحلية وبصفة خاصة النباتات المزروعة في منطقة واد سوف، قمنا من خلال هذه الدراسة بتعيين الشروط المناسبة لاستخلاص المركبات الفينولية لنبتة اللفت *Brassica rapa subsp. rapa* المأخوذة من منطقة واد سوف. عن طريق الاستخلاص بالنقع.

على ضوء النتائج المتحصل عليها يمكننا استنتاج ما يلي:

أولًا:للكشف عن المركبات الفينولية قمنا بتحضير المستخلص الميثانولي والمائي ثم تمكنا من تقدير مردود المستخلص المائي الذي قدر ب% 49.6 والذي كان أعلى قيمة من المستخلص الميثانولي الذي قدر ب% 22.8.

ثانيًا: بعد عملية الاستخلاص قمنا بالكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي في المستخلصين المائي والميثانولي، ومن خلال هذه الاختبارات التي قمنا بها استنتجنا وجود كل من القلويدات والصابونين والتر بينات والتانينات والسكريات والفلافونويدات وغياب كل من الانثوسيانات والنشاء.

ثالثًا: بعد عملية الكشف انتقلنا إلى التقدير الكمي للفينولات وهي أهم مواد الأيض الفعالة، فسجلت أقل قيمة للمستخلص المائي والتي قدرت ب 44.23 mg GAE/g وأعلى نسبة سجلت لدى المستخلص الميثانولي والتي قدرت بـmgGAE/g 222.13.

أما بالنسبة للفلافونويدات فسجلت أعلى نسبة لدى المستخلص الميثانولي التي قدرت ب 29.30mg EQ / g وأقل نسبة لدى المستخلص المائي التي قدرت ب 25.55mgEQ/g .

وفي الآونة الاخيرة، حظيت الأطعمة الطبيعية ومضادات الأكسدة المشتقة من الطعام مثل الفيتامينات والمواد الكيمائية النباتية الفينولية باهتمام متزايد، لأنه من المعروف بأنها تعمل كعوامل وقائية كيميائية ضد الضرر الناتج عن الإجهاد التأكسدي. وتعتبر العائلة الصليبية أحد مصادر الغذاء الطبيعية لمضادات الأكسدة وكذلك كل من العائلة النورادية والمركبة [110].

وعلى هذا الأساس قمنا رابعًا بدراسة النشاط المضاد للأكسدة بطريقتين وهما: *DPPH*، *CAT*.

في طريقة اختبار تثبيط الجذر الحر *DPPH*، سجلت أحسن قيمة تثبيط لدى المستخلص الميثانولي حيث قدرت قيمة IC_{50} ب 0.81mg/ml مقارنة بالمستخلص المائي التي قدرت ب 1.5mg/ml .

في طريقة *CAT* القدرة الارجاعية بينت أن النشاطية للمستخلص المائي كانت أكبر في اختبار القدرة الارجاعية وقدرت قيمة نشاطيته 90.03mg/g مقارنة بالمستخلص الميثانولي التي قدرت ب 10.98mg/g.

إن العوامل الجيوغرافية، المناخية، الوراثية وكذلك مدة التخزين لها تأثير كبير على محتوى عديد الفينولات.

خامسًا: أجرينا اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا على أربع سلالات بكتيرية مختلفة مزروعة في وسط جيلوزي (MH)، وهذا بالاعتماد على طريقة الانتشار بالأقراص، حيث كانت النتائج:

تبين أن قدرة التثبيط لمستخلصات اللفت متفاوتة بين المعدومة والضعيفة تجاه السلالات البكتيرية المختلفة في الدراسة .

لم تسجل السلالات البكتيرية أي استجابة مع المستخلص المائي إلا في حالة بكتيريا *E. coli*، وفي المستخلص الميثانولي أبدت سلالتين فقط من البكتيريا *E .coli* و *K pneumoniae*.

وفي دراسة الفاعلية البيولوجية للمستخلصين المائي والميثانولي تم استعمال المضاد الحيوي *Ciprofloxacine* كشاهد لمقارنة فاعلية التثبيط ولاحظنا وجود فروقات متفاوتة في تأثير المضاد الحيوي على السلالات البكتيرية في كل من المستخلص المائي والميثانولي.

وكأفاق أخرى لدراسة نبات اللفت مستقبلاً فأننا نأمل أن يتواصل العمل ولا ينتهي عند هذا الحد وأن تكون هذه هي الانطلاقة للتعمق أكثر في هذا الموضوع من خلال:

إجراء دراسات تحليلية كمية ونوعية للمركبات الفعالة مثل *HPLC* من خلال التعرف على التركيبة الكيميائية للمواد المسؤولة على هذه الفعالية.

استعمال طرق أخرى للتأكد من نشاطية النبتة.

استعمال طرق الاستخلاص المختلفة (*Ultrasound،Soxhlet*) .

الدراسة المكروبيولوجية للنبتة مع تراكيز مختلفة للغرام وتجريب الفعالية البكتيرية مع الخمائر والفطريات، العمل بطريقة CMI.

المراجع

باللغة العربية

[1] د.صبجي شحادة.، موسوعة النباتات الشافية و المكملات الغذائية ، دار الكندي للنشر، اربد ، الأردن. (2002)

[2] ح.دندوقي ،دراسة الأيض الفلافونويدي و التربيني لبعض أنواع نباتات ضايات الصحراء الجزائرية .رسالة دكتوراه ،جامعة منتوري قسنطينة ،2002.

[6] الخطيب أ .،الفصائل النباتية ، ديوان المطبوعات الجامعية ،بن عكنون الجزائر(1991)

[11] بوصبيع إبراهيم ر، دراسة فعالية التآزر لمتعدد الفينولات المرجعية لتنشيط الخاصية المضادة للأكسدة بالطرق الكهروكيميائية، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، تخصص كيمياء عضوية تحليلية، جامعة حمه لخضر، الوادي.(2012).

[12] طاهر حسن، كيمياء المنتجات الطبيعية ،مديرية الكتب و المطبوعات الجامعية ،2008

[13] حسن بن محمد أحمد الحازمي ،المنتجات الطبيعية .دار الخرجي للنشر و التوزيع ،1422 هجري .

[14] زمالي ج .،دراسة فيتوكيميائية و بيولوجية لنبتة صحراوية ،مذكرة ماجستير كيمياء ، جامعة قاصدي مرباح ،ورقلة.ص:36.17.16(2007).

[16] حجاوي غ،ح.ز،محمد جميل قاسم .ر.،محمد جميل قاسم .ر.علم العقاقير و النباتات الطبية ،دار الثقافة للنشر و التوزيع ، بيروت ،ص312 (2009).

[21] زيدان ح.الفعالية البيولوجية لمستخلص الخام المائي و الكحولي لأزهار شجر الرمان الحامض و الحلو .Punica granatum . مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر في الكيمياء . تخصص كيمياء عضوية .جامعة حمه لخضر الوادي .ص19(2018).

[31]اللبي الزهرة ودردوري سارة. التقدير الكمي لعديدات الفينول والفلافونويدات ودراسة النشاطية البيولوجية لمستخلصات نبات العبيثاء Bassia muricata L مذكرةتخرج لنيل شهادة الماستر ،تخصص بيولوجيا وتثمين نبات ،بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي . (2016).

[32]بسمة شمسة ،دراسة مقارنة للمردودية والنشاطية المضادة للاكسدة في المستخلص الكحولي والمائي عند نبات Zygophyllum album L ، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر اكاديمي ، علوم الطبيعة والحياة ، جامعة الوادي 2015.

[35] جيدل ص .،تقدير المحتوى الفينولي و التأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات نباتات Pistacia lenticus L ArtemisiaCampestris L Argania Spinosa L ،مذكرة دكتوراه علوم ،جامعة فرحات عباس سطيف (1).ص:37(2015).

[41]بن خناثة م.، المساهمة في دراسة نبات الكلخة Ferula Vesceritensis مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر اكاديمي، جامعة قاصدي مرباح . ورقلة . ص : 83 .(2014) .

[42]محمد عبد المحسن معارج 1995 ، اسس وراثة الاحياء الدقيقة ، دار الكتب الوطنية – مصر.

[43]عبد الرحيم بن سلامة ،النشاطات المضادة والمثبطة للانزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات اوراق Hertiacheirifoiia L ، مذكرة ماجستير في البيوكيمياء جامعة فرحات عباس –سطيف ، (2012).

[45]بوغزالة محمد.م، دوش محمد ص، مقارنة المحتوى الكيميائي والفعالية البيولوجية للنسخ الكامل(اللاقمي) لصنفين من نبات نخيل التمر ،Phoenix dactylifera(الدقلة البيضاء،الغرس) لمنطقة وادي سوف،(2016).

[52]د.رافت حسن عبد الوهاب ، د.فساد ادعيج العون 2018. تصنيف عالم النبات والاحياء الدقيقة ، شركة دار العلم للنشر والتوزيع ، الكويت.

[53]مجلة العلوم ، تحديات المقاومة البكتيرية ، 10/15 (اكتوبر)/تشرين الاول، (1999).

[55]تامة .ن.د.، الدراسة الفيتوكيميائية للمنتجات الفعالة (القلويدات ، الفينولات والفلافونويدات ، التربينات الثلاثية) والنشاط المضاد للاكسدة والمضاد للميكروبات لنبات الباقل والحمير التي تنمو في جنوب شرق اسيا ، رسالة محضرة لنيل شهادة دكتوراء علوم ،جامعة العربي بن مهيدي ام البواقي (2018).

[58] د.جون بوستجيت، ترجمة الدكتور عزت شعلان، الميكروبات والإنسان، عالم المعرفة، الكويت،1985.

[59] محمد م.، عبد الرزاق س .، اسياسيات التشخيص البكتريولوجي المعملي والسريري ، الطبعة الاولى ، مركز التقنيات الحيوية . جامعة ليبيا . الفصل الاول (2013).

[63] قريشي بثينة .، دراسة مقاومة بين مختلف المستخلصات القطبية وغير القطبية لنبات قرع الكوسا Cucurbita pepo L، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر ، جامعة الوادي (2017).

[65] ا.ح.م. العذاري ، وا.ع.م.السلطانة ، دراسة كمية ونوعية المركبات القلوائية والصابونينية لاوراق وثمار بعض الاصناف من نبات السدر . (magazine of al kufa university for biolog) ،.4 (2):ص 1 -17 (2012).

[71] بوقوادة م.، دراسة فيتو كيميائية لليبيدات والفينولات في بعض أنواع التمر المحلي، مذكرة ماجيستر، جامعة قاصدي مرباح ورقلة،(2008).

[76] بسمة شمسة ،دراسة مقارنة للمردودية والنشاطية المضادة للاكسدة في المستخلص الكحولي والمائي عند نبات Zygophyllum album L ، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر اكاديمي ، علوم الطبيعة والحياة ، جامعة الوادي 2015.

[92]صحراوي ص.، مساهمة في تحسين ظروف الإستخلاص للمركبات الفينولية من النباتات الطبية لمنطقة الوادي لنبات الخبيز Malva Sylvestris ،مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي ،تخصص كيمياء عضوية ،جامعة حمة لخضر ،الوادي ،(2018).

باللغة الاجنبية

[3]Sakhri, S et Tatemante, K. (2018).Caractérisation des protéines enzymatiques : cas des peroxydases extraites du Navet Rose (*Brassica rapa*). Mémoire de master, Pharmacotoxicologie, Faculté des Science de la Nature et de la Vie, Université Abderrahmane Mira - Bejaïa, Algérie. p 2-5/ 3-6.

[4]Dupont, F.,Guignavd J. L., Botanique les familles des plantes ,15 iiéme édition .Vol 471426-(1)-(3,2),Imprimé en Espagne ,p:198-202.

[5]Vilmorin-Andrieux. (1883). Les plantes potagères : Description et culture« Navet ». 812 p.

[7] Ozenda, P., 1977-Flore du sahara ,2éme Edition ,C.N.R.S,Paris,p:622.

[9] Spichiger, R., Savolainen, V., Murielle, F., et Daniel, J., 2009-Botanique Systématique des plants à fleurs .Troisiéme édition revue et corrigée .Vol ISBN978-2-88074-502-8. Imprimé en Italie ,P:262.

[10] https://aawsat.com/home/article/803851 13.5.2022 15.10.

[15] Hedge, I.,1976-Asystematic And Geographical Sur vyof Old world Cruciferae In:Vaughan ,J .G.,Macleod, A. J., Jones, B.M. G.(Ed),the Biology A chemistry of the Cruciferae. Academic Press,London.

[17] Satyajit. D.,(2007) Chemistry for Pharmacy Students, John Wiley & Sons Ltd, England.

[18] Wagner, H.,Bladt,S.,1996-Plant drug analysis:A thin layer chromatography atlas.Edit. Springer 2nd. Munich, p: 384.

[19] Guignard, J., 1996 - Abrégé de biochimie végetale. 1ére ed Mansson, paris, P : 145-156.

[20] Rakow, G.(2008). Species Origin and Economic Importance of Brassica. In: *Biotechnology in Agriculture and Forestry: Brassica*. Pua, E. C. and Douglas, C. J. 339 p

[22] BENHAMMOU N., (2012)- Activité antioxydante des extraite des composes phénoliques de dix plantes médicinales de l'ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse doctorat. Université Aboubakr Belkaid. Tlemcen, P: 174.

[23] P. Sarni-Manchado ., V. Cheynier (2006), Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Editions Tec & Doc , 398 p. (ISBN 2-7430-0805-9).

[24]Bruneton.J.,(1999)Pharmacognosie,Phytochimie, Plantes médicinales, 2"ètdition.Lavoisier-techique et documentation. Paris, p. 1095.095. P:784 -779 PP.783- 1086.

[25] Laraoui.H. (2007)."Etude Phytochimique de l'extrait chloroformique de Bupleurm Atlanticum" Docteur de l'université Louis Pasteur(chimie organique,UV Elhadj Lakhdar Batna).

[26] Lee, Hur, H.J.Lee,C.(2005). Antiproliferative effects of dietary phenolic substances and hydrogen peroxide.J.Agric.Food Chem.p53, 1990-1995.

[27] Anderasen, M.F,Christensen, L.P, Meyer, A.S.,et Hansen.(2000). Content of phenolic acids dehydrodimersinrye(Secale Cereale L.)varieties, J Agric. Food Chem. P48,28,37.

[28] D.A.Sliha.,(2010)."Etude quantitive des composes phenoliques des extraits des trois varieties des date(phonex dactylifera1.) et evaluation in vitro de leur activité biologique, Mémoire pour obtenation de diplome de magister en biologie, université El Hadj Lakhdar, Batna.

[29] Bruneton.J.(I 993) pharmacognosie, phytochimie, Plantes medicinales, technique et documentation . èdition.Lavoisier.Paris.

[30] P.M.Dey et J.B.Harborne , « Plant Phenolic » ,volume 1 , Ed.Academic Press, (1989).

[33] Ben hammou, N., 2012 -Activité antioxydante des extraits des composes phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien, Thése doctorat, Université Aboubaker Belkaïd, Tlemcen.

[34] Ferradji, A.,2011- Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies Pistacialentiscus, Mémoire de magister, Université Ferhat Abbas, Setif,p:90.

[36]Guigpard. J.L.(2000)Biochimie végétale.2éme Ed. De I'Abréeé.pp.274.

[37] Rizwan, A.,Mohd, M., Firoz, A., Aftab, A.,2015-Phytochemical analysis and evalution of anti-oxidantactivity of methanolic extract of Lepidium Sativum L.Seeds.Der Pharmacia Lettre ,7(7):427-434.

[38] Cortea,M. E.,Franciso M.,Soengas P.,Velascv P .,2001-Phenolic compound in Brassica Vegetables Molecules ,16,p:251-280.

[39] Balasubramanian, M., (2009). Nutritive Value of Indian Food, Nat.

[40]Menouar Mohammed, « Effet de l'action combinée bentonite et

la salinité sur les bilans hydrique et minéral du gombo (Abelmoschus esculentus. L) mémoire de magister, université Inst. Nutr., ICMR, Hyderabad.

[44] Medow M.S.,Bamgi N., Clarke D.,Ocon A.J.and Stewart J.M.2011- reactive oxygen species(ROS) from NADPH and xanthine oxidase molulate the cutaneous local heating response in healthy humans. J Appl PHysiol.301:R763-R768.

[46] Debasis Bagchi, Manashi Bagchi, Sidney J. Stohs, Dipak K. Das, Sidhartha D. Ray, Charles A. Kuszynski, Shantaram S. Joshi, Harry G.Pruess, Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract:importance in human health and disease prevention. Toxicology 148 .187–197, 2000.

[47] FLAVIER A., Le stress oxidant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. 108-115, 2003.

[48] GOD'SWILL N.A., KAYODE O.O.,Comparative Antioxidant Phytochemical and Proximate Analysis of Aqueous and Methanolic Extracts of Vernonia amygdalina and Talinum triangulare, Pakistan Journal of Nutrition. 9 (3) 5 259-264, 2010.

[49] CHOWDHURY A., SANTRA A., BHATTACHARJEE K., GHATAK S., SAHA D.R., DHALI G.K.,Mitochondrial oxidative stress and permeability transition in isoniazid and rifampicin induced liver injury in mice. J Hepatol. 45(1): 117-126, 2006 .

[50] Miquel , can antioxidant diet supplementation protect against age- related mitochondrial damage, Acad S ci .959.p:508-516, (2002) .

[51] Desai P. B., Manjunath S., Kadi S., Chetana K. and Vanishree J. Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in rheumatoid arthritis: a case control study. Eur Rev Med μPharmacol Sci. 14: 959-967, 2010.

[54] J.P. Euzeby: Abrégé de Bactériologie Générale Médicale, à l'usage desétudiants de l'école Nationale Vétérinaire de Toulouse Courriel CV SBSV Pseudomonas.

[56] R.C.Bottger ,Liebigs Ann,Chem ,p109,351,(1859).

[57] Pool, K., 2001- Multidrug effux pumps and antimicrobial resistance in pseudomonasaeruginosa and releted organisms. J. MOL. Microbiol Biotechnol.3(2):255-264.

[60] Michanie, S.,2003- Escherichia coli O157: H7 La bacteria que disparó el HACCP en la industria de la carne. Énfasis alimentos. 9(3): p:1-7.

[61]Joffin, J. N., Schuter C.,2003- Pseudomonas et apparentés ou bactéries gram négatif aérobies strictes.

[62] Pool, K. ,(2001)- Multidrug effux pumps and antimicrobial resistance in pseudomonas aruginosa and related organisms. J.MOL.Microbiol Biotechnol.3(2): 255-264.

[64] Carbonelle, B.,Denis, F., Marmonier, A.,Varguas, R.,1987- Bactériologie médicale ,Technique usuelles .SIMEP.paris.

[66] Chevion, S., Chevion, M., Chock, P. B., Beecher, G. R.,1999-Jornale of Medicinal Food.

[67] Boukri, N. H.,2014-contribution a l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras –el-hanout ,thème master académique ,Université Kasdi Merbah .p:99.

[68] Marx, E., J.M. Hart, and R.G. Stevens, Soil test interpretation guide. (1996).

[69] Jones, J.B., Laboratory guide for conducting soil tests and plant analysis. CRC press. (2001).

[70]Asadi S، Ahmadiani A، Ali Esmaeili A، Sonboli A، Ansari N، Khodagholi F. In vitro antioxidant activities and an inverstigation

of neuroprotection by six Sabiria species from Iran: A comparative study. Food Chemical and Toxicology (2010).

.[72] Aouachriaa ,S., Boumerfegb,S., Benslamaa ,A., Benbachac ,F., Guemmeza ,T., Khennoufd ,S., Arrara ,L., Baghiania, A.(2017) .Acute, sub-acute toxicity and antioxidant activities (in vitro and in vivo) of Reichardiapicroide crude extract. Journal Enthopharmacology, 208, 105-116.

[73] Nidal Jaradat1, Fatima Hussen and Anas Al Ali. Preliminary Phytochemical Screening, Quantitative Estimation of Total Flavonoids, Total Phenols and Antioxidant Activity of Ephedra alata Decne. J. Mater. Environ. Sci. 6 (6) 1771-1778, 2015.

[74] Y.I. Tur'yan, P. Gorenbein, R. Kohen. Journal of Electroanalytical Chemistry 571,183-188. (2004) .

[75] GOD'SWILL N.A., KAYODE O.O.,Comparative Antioxidant Phytochemical and Proximate Analysis of Aqueous and Methanolic Extracts of Vernonia amygdalina and Talinum triangulare, Pakistan Journal of Nutrition. 9 (3) 5 259-264, 2010.

[77] S . Al – Daihan , M . Al Faham , N .Al Shawi , R . Almaymam , A Brnawi , and R . shafi bhat , Antibacterial activity and phytochemical Screening of some medicinal plants commonly used in saudi Arabia against Selected pathogenic microorganisms . Journal of King Saud University – science , 25 (2) : p .115-120 , (2013) .

[78] Ziane, L. (2016). Etude phytochimique et évaluation biologique des extraits organiques des différentes parties de limon astrium Feei – Blombaginaceae – (Mlef et Khadem). Thèse de

doctorat, Chimie Organique, faculté des Science de la Nature et de la Vie, Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen, Algérie. P.19 .

[79]Jardat , N . , F . Hussen , and A .J.J.M .E .S . Al Ali , Preliminary phytochemical Screening , quantitative estimation of total Flavonoides , Total phenols and antioxidant activity of E phedra aladta Decne . 6(6): p . 1771 – 8 , (2015).

[80] Yadav, M., et al., Preliminary phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine. 6(5): p. 539-54 .8. (2014).

[81] Bloisms., antioxidant determination by theuse of astable free radical. Nature.181.pp: 1199-2000.(2012).

[82]Tigrine, N. Activité antioxydante des extraits d'écorce et de pulpe de Citrus limon et Citrus sinensis. Mémoire de magister, Pharmacologie Moléculaire, Faculté des Science de la Nature et de la Vie, Université Abderrahmane Mira - Bejaïa, Algérie. p 25-26(2016)

[83] Dziri, S., Hasseni, I., Fatnassi, S.,Mrabet, Y., Casabianca, H., Hanchi, B., Hosni, K., 2012- Phenolic constituents antioxidant and anti microbial activities of rosy garlic (Allium roseum var. odoratissimum) SciVerse Science Direct journal of functional foods (4).423-432.

[84]Ardestani A. ,Yazdanaparast R., Inhibitory effects of ethyl acetate extract of Teucrium polium on in vitro protein

glycoxidation, Food and chemical Toxicology.45:2402-2411,(2007).

[85] Hazalin, N.A., et al., Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from plants at the National Park, Pahang, Malaysia. 9(1): p. 1-5.(2009).

[86] Poncea, G., Fritzr Del Vallc.,et Rouras, I., Antimicrobial activity of essentialoils of the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel-Wissenxchuft and Technologie. (2003).

[87] Yamaç, M. and F.J.P.b. Bilgili, Antimicrobial activities of fruit bodies and/or mycelial cultures of some mushroom isolates. 44(9): p - .114 115,(2006).

[88] Mutai, C., et al., Antimicrobial activity of Acacia mellifera extracts and lupane triterpenes. 123(1): p. 143-148. (2009).

[89] Sharmila Shankar, Brahma N. Singh, and Rakesh K. Srivastava, Plant Polyphenols and Their Role in Cancer Prevention and Chemotherapy, Springer ScienceCBusiness Media B.V. 2012.

[90] JEFFREY B H. and CHRISTINE A W., Advances in flavonoid research since1992 .Elsevies science LTD. Japon, Vol 55: 481-504 p, 1992.

[91] FULLER M.F.,The encyclopedia of form animal nutrition .CABI publishing, London, UK, 581p, 2004.

[93] Hadji O., Tarfaya F., Evaluation du pouvoir Antioxydant, antilithéasique et antimicrobien du Brassica spp. Mémoire de master, Microbiologie et Biochimie, Faculté des sciences, université Mohamed Boudiaf-M'sila.(2019).

[94] H.Jouad, M.Haloui, H.Rhiouani, J. El Hilaly, and M. Eddouks, Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the north

center region of morocco(Fez- boulemene).J Ethnopharmacol, 2001.

[95] Dhaouadi.k .Raboudi.F. Estevane.C. Barrajon.E. Vilanova.E. hamdaoui.M and Fattouch.S. ,2010-Cell Viability Effects and and antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian Date Syrup. Poly phenoic extracts J. Agric .Food Chem.59:402-406.

الملاحق

الملحق1: قيم الامتصاصية والتثبيط

جدول1: قيم الامتصاصية للمستخلص الميثانولي في اختبار(DPPH)

C(mg/ml)	1	1.2	1.6	2	2.4	2.8
Abs	**0.612**	**0.596**	**0.517**	**0.454**	**0.263**	0.236

جدول2: قيم الامتصاصية للمستخلص المائي في اختبار(DPPH)

C(mg/ml)	1	1.2	1.6	2	2.4	2.8
Abs	**0.467**	**0.462**	**0.439**	**0.356**	**0.343**	0.333

- **تقدير الفينولات:**

جدول3: قيم الامتصاصية للمستخلص المائي

C(mg/ml)	1.1	1.3	1.5	2	2.5
Abs	**0.253**	**0.304**	**0.349**	**0.357**	0.427

جدول4: قيم الامتصاصية للمستخلص الميثانولي

C(mg/ml)	1.1	1.3	1.5	2	2.5
Abs	**0.156**	**0.174**	**0.204**	**0.227**	0.986

- **تقدير الفلافونويدات:**

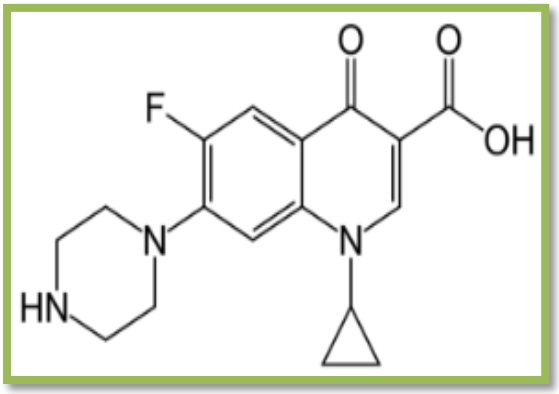
جدول5: قيم الامتصاصية للمستخلص المائي

C(mg/ml)	1	1.2	1.6	2	2.4	2.8
Abs	**0.113**	**0.141**	**0.155**	**0.160**	**0.278**	0.290

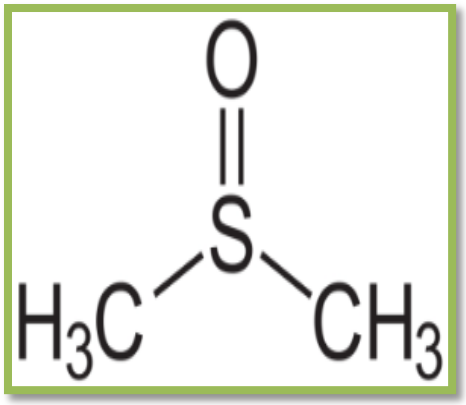
جدول6: قيم الامتصاصية للمستخلص الميثانولي

C(mg/ml)	1	1.2	1.6	2	2.4	2.8
Abs	**0.121**	**0.133**	**0.270**	**0.345**	**0.611**	0.743

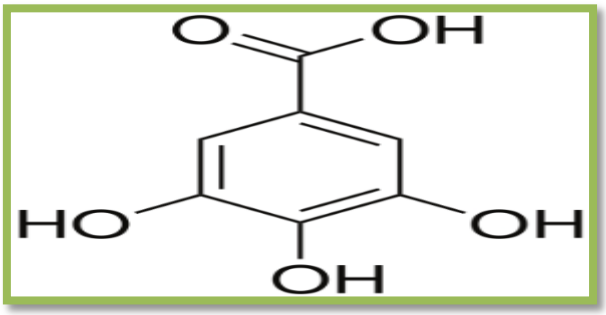
الملحق2: الصيغ الكيميائية



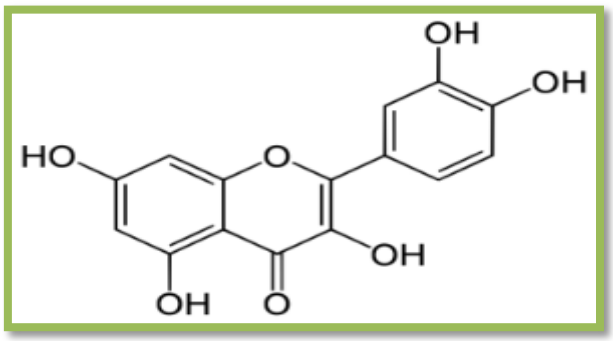
بنيةCiprofloxacine



بنيةDMSO



بنية حمض الغاليك



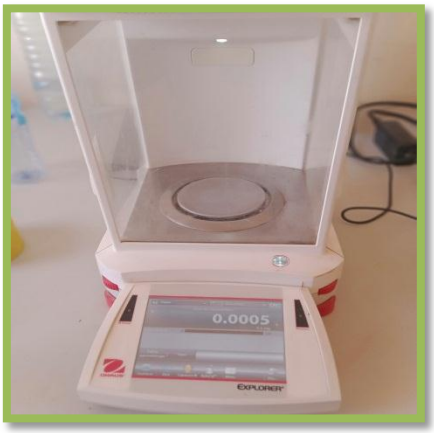
بنية الكرسيتين

الملحق3: الأجهزة المستعملة:

المجفف

جهاز المبخر الدوراني

جهاز UV-visible



ميزان إلكتروني حساس

حمام مائي

جهازpH-meter