الجمهوريـــة الجزائريـــة الديمقراطيـــة الشعبيـــة
وزارة التعليـــم العـــالي و البحث العلمـــي

جـامعة الشهيـد حمـه لخضر الـوادي
كليـة التكنولوجيا

مـذكـــــرة تخـــــرج
لنيـــل شهـــادة

مـــــاستر أكـــاديـمي

ميـدان: التكنولوجيا
شعبـة هندسة الطرائق
تخصص: هندسة كيميائية

من إعداد:

بالعيد حنان

قريشة مجدة

الموضوع :

تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة وعديدات الفينولات لمستخلص النبات الطبي *Tamarix Boveana Bunge*

نوقشت يوم 28 - 05- 2017

من طرف لجنة المناقشة:

زيغود العيد	رئيسا	جـــامعة الوادي
سالمي السعيد	مؤطرا	جـــامعة الوادي
منصر سهيلة	مناقشة	جـــامعة الوادي

الموسم الجامعي: 2016- 2017

بسم الله الرحمن الرحيم

شكر وتقدير

بكل عبارات التقدير والاحترام وبكل كلمات الشكر والامتنان، أقدم تحياتي الخالصة إلى الأستاذ المشرف سالمي السعيد على المساعدة الكبيرة التي قدمها لنا، فقد كانت توجيهاته الصائبة ومرافقته الدائمة بكل خطوة نتقدم بها في بحثنا مهمة جدا فشكرا جزيلا لك فأنت حقا كما قال الشاعر:

قم للمعلم وأوفه التبجيلا ***كاد المعلم أن يكون رسولا

كما أقدم تشكراتنا وتحياتنا الخالصة لكل أساتذة كلية التكنولوجيا وخاصة اللجنة المشرفة وأساتذة قسم هندسة الطرائق

وكما أخص بالشكر إلى كل الذين ساهموا معنا في إنجاز

هذا العمل وبالأخص الصديقتين الوفيين هاني مسعودة وخولة كلاوة

حنان – مجدة

فهرس

فهرس المحتويات

فهرس المحتويات

شكر وتقدير

فهرس المحتويات

فهرس الوثائق

فهرس الجداول

قائمة المختصرات

مقـــدمة

الجزء النظري

I- الفصل الأول : النباتات الطبية 6

I-1- تعريف النباتات الطبية: 6

I-2- النباتات الطبية في حياتنا اليومية: 6

I-3- مصدر النباتات الطبية: 7

I-4- العوامل المؤثرة في جمع وجني النباتات الطبية: 7

I-4-1- كمية المواد الفعالة: 7

I-4-2-نوعية المادة الفعالة: 7

I-4-3- عمر النبات: 8

I-5- جمع النباتات الطبية: 8

I-5-1- الجذور والريزومات: 8

I-5-2-الأبصال: 8

I-5-3-الدرنات: 8

I-5-4- اللحاء (القلف): 8

I-5-5-الخشب: 9

I-5-6- الأوراق والسيقان العشبية: 9

I-5-7- القمم المزهرة: 9

I-5-8- الأزهار: 9

I-5-9- الثمار: 10

I-5-10- البذور: 10

I-5-11- المواد الخام التي تخرج من النباتات: 10

I-6-الحفظ والتجفيف:..... 10
I-6-1- التجفيف:..... 10
I-6-2- الحفظ "الخزن":..... 12
II- الفصل الثاني :الدراسة النظرية لنبات الطرفة *Tamarix Boveana Bunge*: 14
II-1- العائلة الطرفاوية (الأثلية) Tamaricaceae :..... 14
II-2- وصف نبات الطرفاء:..... 14
II-3- الشكل المرفولوجي:..... 15
II-4- أنواعها:..... 16
II-5-التصنيف النباتي:..... 17
II-6- أماكن التواجد:..... 17
II-7- الانتشار الجغرافي:..... 17
II-8- الأسماء الشائعة:..... 17
II-9- المحتوي الكيميائي:..... 18
II-10- خصائصها الحيوية:..... 18
II-10- متطلباتها البيئية:..... 18
II-11- طرائق إكثارها:..... 18
II-12- استعمالاتها المختلفة وأهميتها الزراعية:..... 19
II-13- استعمالاتها الطبية:..... 19
III- الفصل الثالث: الدراسة الكيميائية والبيولوجية 21
III-1- المركبات الفينولية:..... 21
III-1-2- تعريف المركبات الفينولية:..... 21
III-1-3- مصدر المركبات الفينولية:..... 21
III-1-1- 4- أهميتها:..... 22
III-1-5- التصنيع الحيوي للمركبات الفينولية:..... 22
III-1-6- تواجدها في النبات:..... 25
III-1-7- الخصائص العامة للمركبات الفينولية:..... 26
III-1-8- تصنيف المركبات الفينولية:..... 27
III -2- الزيوت الطيارة:Les huiles essentielle..... 30
III- 2-1- تعريف الزيوت الطيارة:..... 30
III- 2-2-الصفات العامة للزيوت الطيارة:..... 30

III- 2-3- تصنيف الزيوت الطيارة: 31
III- 2-4- تواجد الزيوت الطيارة: 32
III- 2-5- دور الزيوت الطيارة: 32
III- 3-الجذور الحرة 33
III- 3- 1- أهم الانواع الأوكسيجنية النشطة (ROS Reactive Oxygen Species): 34
III- 3-2- مستهدفات الجذور الحرة: 36
III- 4- مضادات الأكسدة 37
III- 4-1- الأكسدة Oxydation 37
III- 4-2- مضادات الأكسدة الطبيعية: 37
III-4- 3- مضادات الأكسدة الصناعية: 40
III-5- الفعالية المضادة للبكتيريا: 41
III-5-1- تعريف المضادات الحيوية: 41
III -5-2-تعريف البكتيريا: 41

الجزء العملي

I- الفصل الأول :الأدوات المستعملة والطرق المتبعة: 44
I- 1- الأدوات المستعملة: 44
I-1-1-الأدوات المستعملة في تحضير المادة النباتية: 44
I-1-2-الأدوات المستعملة للكشف الكيميائي عن مواد الأيض الثانوي في النبات: 44
I-1-3- الأدوات المستعملة عند الإستخلاص: 45
I-1-4- الأدوات المستعمل عند التقدير الكمي للمركبات الفينولية بالطرق اللونية: 46
I-1-5- الأدوات المستعملة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة 46
I-1- 6- الأدوات المستعملة عند النشاطية البيولوجية المضادة للبكتيريا: 47
I-2- الطرق المتبعة: 47
I-2-1- الطرق المتبعة في جمع و تجفيف المادة النباتية: 47
I-2-2- الكشف الكيميائي لبعض المواد الفعالة في المستخلصين المائي والكحولي لنبات الطرفاء *Tamarix boveana B*: 48
I-2- 3 - طريقة تحضير المستخلص المائي و الإيثانولي لنبات الطرفاء *Tamarix boveana B*: ... 49
I-2- 4 -المردودية:Rendement 50
I-2- 5 - تقدير الفينولات الكلية: 51

I-2- 6- قياس الفعالية المضادة للأكسدة: 51
I-2- 6- الطرق المستعملة لدراسة الفعالية البيولوجية..... 54
I-2- 6-3 - تحضير الأقراص: 55
I-2- 6-4- تحضير أوساط الزرع..... 56
I-2- 6-5- زراعة البكتيريا:..... 56
II- الفصل الثاني : نتـائج مناقشة النتائج 59
II-1- إختبارات الكشف الكيميائي لبعض المواد الفعالة في نبات*Tamarix boveana B*:..... 59
II-2- مردودية المستخلصات:..... 61
II-3- تقدير الفينولات الكلية: 62
II-3- قياس الفعالية المضادة للأكسدة : 65
II-3-2- إختبار تثبيط الجذر الحر 67
II-4- دراسة النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة..... 73
خاتمـــــة 77
قائمة المصادر والمراجع 80
الملاحق..... 87
الملاحق..... 88

فهرس

الوثائق

فهرس الوثائق

الجزء النظري: الفصل الثاني

الوثيقة II: 1 نبات الطرفة TAMARIX BOVEANA BUNGE _____ 15
الوثيقة II: 2توضح الشكل المرفولوجي لنبات الطرفاء. _____ 15

الجزء النظري : الفصل الثالث

الوثيقة III:1 التصنيع الحيوي للفينولات عن طريق مسلك حمض الشيكميك. _____ 24
الوثيقة III:2 التصنيع الحيوي للمركبات الفينولية عن طريق الفينيل ألانين. _____ 25
الوثيقة III:3 القدرة الإرجاعية و المضادة للأكسدة للفينولات . _____ 27
الوثيقة III:4 بعض مشتقات حمض البنزويك. L'ACIDE BENZOÏQUE _____ 29
الوثيقة III:5 بعض مشتقات حمض الهيدروكسي سينامك. L'ACIDE HYDROXYCINNAMIQUE _____ 29
الوثيقة III:6 وحدة الإيزوبرين _____ 31
الوثيقة III:7 الجذر الحر _____ 33
الوثيقة III:8 بنية الفيتامين C _____ 39
الوثيقة III:9 بنية الفيتامين E . _____ 39
الوثيقة III:10 بعض آليات مضادات الأكسدة _____ 41

الجزء العملي : الفصل الاول

الوثيقة I:1 جهاز كليفنجر (صورة فوتوغرافية أصلية). _____ 49
الوثيقة I:2 جهاز ROTAVAPEUR المستعمل في الدراسة (صورة فوتوغرافية أصلية). _____ 50
الوثيقة I:3 إختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT) _____ 51
الوثيقة I:4 جهاز المطيافية الضوئية SPECTROPHOTOMÉTRE. _____ 52
الوثيقة I:5 المضاد الحيوي AMPICILLINE AMP_{25} _____ 55
الوثيقة I:6 خطوات دراسة النشاطية التثبيطية للمستخلص الإيثانولي والمستخلص المائي على الانواع البكتيرية . __ 57

الجزء العملي : الفصل الثاني

الوثيقة II:1 المردودية لإنتاجية المستخلص المائي و الإيثانولي لنبات الطرفة TAMARIX BOVEANA B : _____ 62
الوثيقة II:2 تقدير الفينولات الكلية . _____ 63
الوثيقة II:3 منحنى العيارية لحمض الجاليك لتقدير الفينولات للمستخلص الإيثانولي _____ 63
الوثيقة II:4 منحنى العيارية لحمض الجاليك لتقدير الفينولات للمستخلص المائي: _____ 64
الوثيقة II:5 كمية الفينولات في النبات TAMARIX BOVEANA B بالمكافئة مع حمض الجاليك. _____ 64
الوثيقة II:6 إختبار قدرة النشاطية المضادة للأكسدة _____ 65
الوثيقة II:7 منحنى العيارية لحمض الجاليك لإختبار قدرة النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص الإيثانولي. _____ 66
الوثيقة II:8 منحنى العيارية لحمض الجاليك لإختبار قدرة النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص المائي _____ 66
الوثيقة II:9 نتائج إختبار تقييم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية(MG AAE/G EXTRACT). _____ 67
الوثيقة I:1 يمثل منحني النشاطية في تثبيط الجذر الحر DPPH• بدلالة التراكيز للمستخلص الإيثانولي للجذور-- 68
الوثيقة I:2 يمثل منحني النشاطية في تثبيط الجذر الحر DPPH• بدلالة التراكيز للمستخلص الإيثانولي للأوراق--68
الوثيقة I:12 يمثل منحني النشاطية في تثبيط الجذر الحر DPPH• بدلالة التراكيز للمستخلص المائي للأوراق للجذور-------69
الوثيقة I:13 يمثل منحني النشاطية في تثبيط الجذر الحر DPPH• بدلالة التراكيز للمستخلص المائي للجذور------69

الوثيقة II:14 يمثل منحنيات النشاطية في تثبيط الجذر الحر DPPH• بدلالة التراكيز . _____ 70
الوثيقة II:15 قيم IC_{50} المثبطة لـ 50 %من الجذر الحر DPPH• بـ (MG/ML) لمختلف مستخلصات نبات الطرفة و(حمض الأسكوربيك) ACIDE ASCORBIQUE . _____ 71
الوثيقة II:16 متوسط الأقطار التثبيطية (MM) للسلالات البكتيرية المختبرة للمستخلصات المائية والايثانولي لنبات الطرفة TAMARIX BOVEANA BUNGE: _____ 73

فهرس
الجداول

فهرس الجداول

الجزء النظري: الفصل الثاني

جدول 1.II يوضح التصنيف النباتي لنبات الطرفاء 17

الجزء النظري : الفصل الثالث

جدول 1.III تصنيف المركبات الفينولية حسب عدد الذرات الكربونية بها 28

الجزء العملي : الفصل الاول

جدول 1.I الأدوات المستعملة أثناء جمع وتحضير النبات 44
جدول 2.I الأدوات والمحاليل المخبرية المستعملة للكشف الكيميائي للمواد الفعالة في النبات 44
جدول 3.I الأدوات المستعملة والمحاليل المخبرية المستعملة أثناء عملية الإستخلاص 45
جدول 4.I الأدوات المستعمل عند التقدير الكمي للمركبات الفينولية بالطرق اللوني. 46
جدول 5.I الأدوات المستعملة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة 46
جدول I6 الأدوات المستعملة عند النشاطية البيولوجية المضادة للبكتيريا 47

قائمة المختصرات

قائمة المختصرات

(+): موجب الغرام .

(-): سالب الغرام .

µg: ميكروغرام .

AMX: المضاد الحيوي الموكسيسيلين.

A.A: Acide ascorbique**.**

ADN: Acide Désoxyribonucléique.

BHT: butylhydroxytoluène

CAT : capacité antioxydante totale (Total antioxidant capacity).

CAT: Catalase.

DPPH: 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

GPx: Glutathion peroxidase.

GR: Glutathion reductase.

GSH: Gluthathion.

GSSG: Oxidized glutathione.

IC50 : Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH.

$NO^{\bullet}$: Nitric oxide.

NOS: Nitric oxide synthase.

$O_2^{\bullet -}$: Superoxide anion.

$OH^{\bullet}$: Hydroxyl radical.

$ONOO^-$: Peroxynitrite.

OMS : L'organisation mondiale de la santé.

Re% : Rendement en %.

ROS: Reactive oxygen species.

SOD: Superoxide dismutase.

ssp : Espèce.

UV : Ultraviolet.

مقدمة

مقـــدمة

لعل إهتمام الإنسان بالنباتات الطبية والعطرية والسامة قد بدأ مع خلقه ووجوده، فقد استطاع الإنسان بفطرته البحث عن ما يخفف ألامه وأمراضه باستخدام النباتات المحيطة به، وتمكن بالتجربة من التعرف على النباتات التي يمكن أن يستخدمها في تسميم الرماح لتمكنه من اصطياد الحيوانات. كما أدرك نوعية النباتات التي تعطي اللحم النكهة والطعم المقبولين وكذلك النباتات التي تمكنه من المحافظة على اللحوم من التلف، ومع تطور المجتمع البشري تخصص بعض أفراده ـ الذين عرفوا بالعشابين ـ في جمع بعض الأعشاب والنباتات الطبية، وكان من مهامهم تحضير الأدوية من الأعشاب والنباتات الطبية، وكان من مهامهم تحضير الأدوية من الأعشاب ووصفها للحالات المرضية. وقد أسهم الرومان والإغريق في التطور العلمي للنباتات الطبية حيث تضمنت مراجعهم حوالي 5000 نوع من النباتات الطبية، ثم جاء العلماء العرب والمسلمون إذا كان لهم الدور المرموق في إثراء المعرفة عن الأعشاب والنباتات الطبية نذكر منهم ابن سينا ومرجعه القانون في الطب وابن بيطار وكتابة مفردات الأدوية والأغذية [1].

يوجد عدة مصادر يتم الحصول منها الأدوية أهمية المواد الفعالة بيولوجيا والمفصولة من النباتات الطبية النامية طبيعيا وهي محدودة الانتشار نظرا لعدم الاهتمام بزراعتها ورعايتها، ومصدر أخر يتمثل في تخليق المواد الكيميائية المصنعة قد تفتقر إلى المعلومات العلمية والتجارب السريرية، لأنه من حين لآخر، تطالعنا منظمة الصحة العالمية بآخر الاكتشافات الجديدة عن الدارسات الخفية والدور المجهول الذي تلعبه هذه المركبات المخلقة والعقاقير الكيميائية التي تم تخليقها داخل شركات الأدوية الكبرى وعن التأثيرات الجانبية السلبية على الأنشطة البيولوجية والتغير الفيزيولوجية التي تحدث في جسم المريض، إذ صارت معظم الأدوية ذات خطر داهم وضرر بالغ على صحة الإنسان كما أصبحت معظم حكومات الدول المتقدمة متيقظة لعدم استعمال هذه المواد خوفا على صحة مواطنيها فأصدرت بعض القوانين بعدم تناولها كما سجلت ضمن القائمة السوداء لاحتوائها على مواد ضارة مثل النوفاجين والفالميوم من جهة أخرى لوحظ أن الأدوية الطبيعية ليس لها تأثيرات جانبية ولا أضرارا سلبية عند تناولها بالرغم أن معظم النباتات قد تحتوي على أكثر من مركب واحد من هذه المواد الفعالة التي تتعاون معا وتنشط بعضها البعض لتأدية فعاليتها باقتدار من النواحي البيولوجية، الفيزيولوجية والكيميائية داخل جسم الإنسان مؤدية في النهاية إلى معالجة المريض [2].

بالرغم من حجم الانتصارات العلمية التي حققها بحوث الدواء ودراسات الطب العلاجي الحديث، فأن العديد من حكومات الدول الأوربية والأمريكية وجنوب شرق أسيا قد اتخذت العديد من التوصيات الصادرة عن مؤتمرات الصيدلانية والدوائية وعمدت إلى التنفيذ الفوري بالبدء الفعلي بالعودة لاستخدام

النباتات الطبية والعطرية والعقاقير ذات المصادر الطبيعية سواء كانت نباتية، حيوانية أو معدنية مع الحد من استعمال العقاقير المخلقة غير الطبيعية [2].

تعتبر الجزائر من البلدان الغنية بالنباتات الطبية نظر لمساحاتها الواسع ومناخها المختلفة وهذا يودي إلى التنوع الكبير في الغطاء النباتي، ولذلك تم استعمال في هذه الدراسة نبات الطرفة Tamarix boveana B، الذي ينتمي إلي الجنس الأثيلة والعائلة الطرفاوية، ينشر في المناطق الصحراوية ويستخدم هذا النوع في الطب الشعبي بحيث يشوى لحم الغنم على حطب الطرفة ويقدم للمصابين بمرض الصفير.

وقد أشارت بعض الدراسات الكيميائية إلى أن هذا النبات يحتوي علي صابونيات، حموض فينولية، حموض التانيك [3].

تهدف هذه الدراسة إلي استخلاص المواد الفعالة لنبات ويستعمل في كل من:

- ❖ تقدير المحتوي الكمي لعديدات الفينول
- ❖ دراسة النشاطية المضادة الأكسدة باستعمال إختبار جذر $DPPH^{\bullet}$.
- ❖ دراسة النشاطية المضادة الأحياء الدقيقة.

حيث تم تقسيم هذا العمل إلى جزئيين:

جزء نظري يتضمن ثلاث فصول :

- الفصل الأول: النباتات الطبية.
- الفصل الثاني: الدراسة *النظرية لنبات الطرفة Tamarix Boveana Bunge* .
- الفصل الثالث: دراسة الكيميائية والبيولوجية.

جزء تطبيقي يتضمن فصلين:

- الفصل الأول: مواد و طرق البحث: و قد تم في هذا الفصل التطرق إلى أهم المواد المستعملة في هذه الدراسة و أيضا التجارب العملية التي تم إجراؤها.
- الفصل الثاني: النتائج و المناقشة: حيث تم عرض النتائج المتحصل عليها بعد إجراء التجارب الخاصة لهذه الدراسة و أيضا مناقشة هذه النتائج.

الجزء النظري

الفصل الأول:

النباتات الطبية

I- النباتات الطبية:

I-1- تعريف النباتات الطبية:

النباتات الطبية هي تلك التي تملك قدرات علاجية، يمكن الحصول عليها من الطبيعة ، كما يمكن استعمال هذه النباتات الطبية غضة "طرية " أو مجففة، أويتم استعمال المادة الأولية في صناعية مختلف المستخلصات السائلة والصلبة [4].

النبات الطبي هو النبات الذي يحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه المختلفة أو تحوراتها على مادة كيميائية واحدة أو أكثر بصرف النظر عن الطبيعة الكيميائية لهذه المادة أو تلك بتركيز منخفض أو مرتفع ولها القدرة الفيزيولوجية على معالجة مرض معين أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض إذا ما أعطيت للمريض في صورتها النقية بعد استخلاصها من المادة النباتية أو إذا ما تم استخدامها وهي مازالت على سيرتها الأولى وفي صورة عشب نباتي طازج أ، مجفف أو مستخلص جزئيا . [5]

النبات الطبي هو كل شيء من أصل نباتي ويستعمل طبيا فهو نبات طبي ،وطبقا لهذا التعريف فنجد أنه يضم معظم المملكة النباتية ولا يستثنى من ذلك أكثر النباتات رقيا إلى أدناها وابسطها تركيبا وتطورا [5].

يمكن إدراج نبات ما ضمن قائمة النباتات الطبية من خلال شيوع استخدامه في محال الطب الشعبي أو ما يعرف بالوصفات الشعبية، أو إذا أمكن فصل مكوناته الطبيعية منه والتي ليس لها اثر علاجي وهي على صورتها المفصولة لأنه يمكن استخدامها كمواد أولية في تحضير المواد الطبية [5].

I-2- النباتات الطبية في حياتنا اليومية:

من الواضح أن النباتات الطبية كانت وما زالت تمثل عنصرا أساسيا في حياة الإنسان، وبنضرة سريعة ندرك أننا نستخدم الكثير منها في حياتنا فمعظمها يتناول كأسا من الشايThé Café اليومية العادية ،أو قدحا من القهوة لما يحتويانه من الكافين ذي التأثير المنبه والمنشط، ونعلم كذلك فوائد النعناع Menthe والبابونج Chamomille والهيل Cardamom لما تحتوي من زيوت عطرية، ولا يخلو منزل الأم المرضعة من بذور الحلبة Fenugrec لفائدتها في إدرار اللبن، أما ثمار الكراوية فتستخدم بعد غليها مع الماء لتخفيف وعلاج المغص المعوي لدي الأطفال. تلك أمثلة من النباتات الطبية شائعة الاستخدام إلا أن هناك المئات من العقاقير والنباتات الطبية التي تستخدم لعلاج الأمراض والأسقام المختلفة والكثير منها شديدة السمية ومن الواجب والضروري عدم استعمالها بدون وصفة طبية [1].

I-3- مصدر النباتات الطبية:

يمكن الحصول على النباتات الطبية من مصدرين أحدهما النباتات البرية حيث تنمو أنواع عديدة في الوديان والسهول والغابات، وقد يكون هذا مصدرا كافيا لبعض النباتات مثل نبات الونكا والذي ينمو بصورة برية في بلدان وسط أفريقيا. أما المصدر الثاني للحصول على النباتات الطبية فهو عن طريق الزراعة حيث تقوم شركات الأدوية أو المؤسسات الاستثمارية بإنشاء مزارع خاصة لإنتاج أصناف أو أنواع محدد يحتاجها السوق المحلي أو الدولي بكميات معينة [1].

I-4- العوامل المؤثرة في جمع وجني النباتات الطبية:

لا توجد المكونات الفعالة في النباتات الطبية عادة موزعة توزيعا متساويا في جميع أجزائه بل توجد مركزة في أعضاء معينة منه دون غيرها مثل البذور أو الأوراق أو الثمار..... الخ. **[6]**. يمكن أن يستخدم النباتات الطبي كاملا في التداوي والعلاج أو قد يستخدم فيه جزع معين فقط من النبات لاحتواء ذلك الجزء على النسبة العالية من المواد الفعالة، فعلى سبيل المثال تستخدم الأوراق من النبات الريحان Basilic، والأزهار من نبات القرنفل Girofle، والثمار من نبات الكراوية، والبذور من نبات الحلبة Fenugrec، والريزومات من نبات الزنجبيلGingembre [1].

حسب حجازي واخرون [6] عملية جمع النباتات الطبية سواء كانت مزروعة بالحقل أو تنمو نموا بريا يعتبر من أهم مراحل الإنتاج وتعتمد على:

I-4-1- كمية المواد الفعالة:

تختلف كمية المواد الفعالة التي يتم الحصول عليها من النبات حسب مرحلة نمو النبات، أوقات الجمع أثناء الليل والنهار وأوقات الجمع من الفصول السنة المختلفة، إذا وجد مثلا أن قلويدات نبات الداتورا Datura تكون في صباح الباكر وقبل ظهور الشمس ضعف كميتها بعد الظهر تقريبا ولذلك يجب جمعها في صباح الباكر.

I-4-2- نوعية المادة الفعالة:

ليست كمية المادة الفعالة فحسب هي التي تحدد موعد جمع النبات بل نوعية المادة الفعالة ايضا فنبات اللحلاح مثلا تحتوي كروماته على قلويد الكلوشسين Colchicine ولكن هذه المادة تختفي تماما من الكورمات إذا ما جمعت في فصل الخريف، ولذلك فان النباتات التي تجمع في هذا الوقت تستعمل كغذاء، أما النباتات التي تستعمل كروماتها لأغراض طبية فإنها تجمع في الربيع أو أوائل الصيف لوجود القلويد فيها الذي يعرف بطعمه المر ويكون النبات في هذا الوقت سأما جدا ولا يصلح للأكل.

I-4-3- عمر النبات:

إن كمية المواد الفعالة أو نوعيتها أو تكوينها في النبات كلها تتأثر تأثيرا كبيرا. بمراحل النمو وعمر النبات، ففي بعض النباتات المعمرة وجد أن كمية المادة الفعالة تختلف باختلاف عمر النبات، وعادة تزيد هذه الكمية بتقدم عمر النبات ثم تأخذ في النقصان تدريجيا بعد عدد معين من السنين. فنبات العرقوس Liquorice لا يجمع جذوره قبل مرور عامين أو ثلاث على زراعته، أما نبات الديجتالس Digitalis يعطي كمية كبيرة من الجليكوسيدات في العام الثاني من الزراعة عن العام الأول، ونبات الراوند Rhubarb يكون مفعوله الطبي قويا عندما يجمع وعمر النبات ست سنوات.

I-5- جمع النباتات الطبية:

I-5-1- الجذور والريزومات:

يكون الجمع أثناء فترة راحة النمو النباتي، في فصل الخريف أو في الربيع قبل بداية النمو النباتي. تتم عملية القلع عادة في العام الثاني أو الثالث بالنسبة للنباتات المعمرة، في الخريف للعام الأول بالنسبة للنباتات الحولية. قبل التجفيف، يتم غسل وتخليص الجذور و الريزومات من التربة والرمال العالقة بها بالماء العادي. **[7]**.ولا يجوز تقشير الجذور إلا إذا جنيت في فصل الربيع، أما الجذور التي تجمع في الخريف فقشورها تكون مختزنة بالمواد الفعالة الجذور نفسها [8].

I-5-2-الأبصال:

لها بنية ثخينة متكونة من طبقات من القشور في الأصل هي أوراق، أكثرها استعمالا في الطب الشعبي هو البصل L'oignon. [9].

I-5-3-الدرنات:

تكون الدرنة منتفخة، تنمو تحت الأرض، أشهرها درنة البطاطا الإفريقيةHypoxis sp [9].

I-5-4- اللحاء (القلف):

يجمع القلف عادة في فصل الربيع وهو الوقت الذي تجري فيه العصارة في النبات نتيجة لنشاط النمو الخضري به، ونتيجة لسريان العصارة في أوعية اللحاء يسهل إزالة القلف غي هذه الفترة. ويختار وقت الجمع بعد فترة يكون فيها الجو رطبا فيساعد هذا أيضا على انفصال طبقة القلف عن الخشب مما يسهل عملية الجمع مثل القرفة Cannelle [6].

I-5-5-الخشب:

نادرا ما يتم استعماله، يتم بشره عادة "نجارة" أو قطعة حطيبات **[9].**

I-5-6- الأوراق والسيقان العشبية:

تجمع الأوراق والقمم النامية للنبات في الوقت الذي تكون فيه غنية جدا بالمكونات الفعالة، وهذه الوقت هو الذي تكون فيه عملية التمثيل الضوئي أكثر نشاطا وهو فصل الربيع. تعتبر المرحلة التي تسبق تكوين الأزهار أو قبل تمام تكوينها هي الفترة التي تكون فيها الأوراق غنية بالمكونات الفعالة وهذه هي أنسب مرحلة يمكن فيها جمع أوراق غنية بمكوناتها [6]. تجمع الأوراق بعد الظهر، حيث تكون محتوياتها من المواد الفعالة قد ازدادت، ولا تجمع الأوراق الأغصان وهي ندية رطبة لان ذلك يجمعها سهلة التعفن [8]- [9].

تتم عملية جمع الأوراق عادة باليد، مع تجنب جمعها كلها حتى لا يحرم النبات من كل مساحته الخضرية، أحيانا نقص الفروع كاملة بالمقص و فيها بعد تجمع الأوراق من هذه الأغصان بعد عملية التجفيف يجب تفادي فرك الأوراق أو تكديسها في سلة أو كيس [9].

I-5-7- القمم المزهرة:

المقصود الساق المورقة، أو الجزء الهوائي للمحور بشرط أن يكون مع أزهاره، عادة ما تكون عطرية مثل: النعناع Menthe، كليل الجبل Lavande, **[9].**

I-5-8- الأزهار:

تختلف الأزهار عن باقي أجزاء النبات في فترة جمعها قصيرة جدا وتحتاج إلى دقة و عناية في اختيار الوقت المناسب لجمعها، وعلى وجه العموم تجمع الأزهار قبل أو بمجرد بداية الأزهار مثل البابونج Camomille و الياسمينJasmin. [6] -[10].

هناك بعض الأزهار تجمع براعمها الزهرية قبل تفتحها مثل الشيح الخرساني والقرنفل Girofle لأن هذه الأزهار إذا تركت لتفتيح تفقد جزءا كبير من مكوناتها الفعالة وقد تفقدها تماما.

حسب حجاوي وآخرون **[6]**. المواد المراد جمعها قد يكون الوقت مناسب لجمعها في منتصف النهار أين تكون منفتحة كلية وجافة، وفي بعض الأحيان يتم قطفها صباحا بعد أن تجف من قطرات الندي حتى لا تفقد مكوناتها الفعالة بفعل الحرارة. أحيانا الجمع يقتصر على بعض الأجزاء مثل البتلة بالنسبة

للخباز la Mauve والخشخاش Papaver. تجمع الأزهار باليد أو بواسطة مشط (البابونج)، وهي جد حساسة للغسل بالماء الحار، كما لا يجب تخزينها في أكياس بلاستيكية مغلقة [7]- [8].

I-5-9- الثمار:

قد تستعمل الثمرة كلها وفي بعض الأحيان تستعمل قشور الفواكه فقط مثل قشور الرمان. إذا كانت لحمية تجمع عند النضج أو قبلها بقليل (الآس Myrtilles، التوت Frambioses). الثمار الجافة تجمع ناضجة عندها تبدأ بالاصفرار مثل علبة الخشخاش والكراوية [7] ،أما إذا أردنا الحصول على المادة البنية "المورفين التي سرعان ما تجف " من ثمار الخشخاش فإنها تجرع وهي غير ناضجة. [5].

I-5-10- البذور:

نستعمل عادة الثمار وفي بعض الأحيان قد تستعمل وحدها، تتم عملية الجمع بعد النضج، لكن إذا كانت متواجد داخل ثمار متفتحة لا يجب الانتظار حتى تتفتح هذه الأخيرة تلقائيا مثل (سورنجان، Colchique، الكتان Lin، الخردل Moutarde)، لكن بعض البذور الموجودة في الثمار الحمية يجب التخلص من لبها بواسطة التخمر مثل الكاكاو. [7].

I-5-11- المواد الخام التي تخرج من النباتات :

المقصود بها الأصباغ، الراتنجات، لبن النبات، كما في صمغ الصنوبر التي عادة يتم الحصول عليها عن طريق شق النبات بواسطة المشرط. يفضل أن تكون عملية الجمع في الصباح والأوقات الجافة.[7].

I-6- الحفظ والتجفيف:

I-6-1- التجفيف:

تستخدم بعض النباتات الطبية الطازجة بعد جمعها لتحضير المواد الفعالة كما هو الحال في أزهار الورد والياسمين حيث يتم تخضير الزيوت الطيارة العطرية من البتلات الطازجة، ولكن في غالبية الأحيان يتم تجفيف النباتات في ظروف دقيقة ومحكمة وذلك حرصا على ما تحتويه من مواد فعالة [1].

عرف [6]، التجفيف كما يلي: هو إزالة المحتوي المائي من العقار، من أهدافه:

- المحافظة على العقار من التعفن بوقف نشاط البكتيريا.
- وقف نشاط التفاعلات الكيميائية.
- وقف نشاط الإنزيمات.
- تسهيل عملية الطحن والسحق.
- تسهيل عملية الخزن.

يتم تجفيف النباتات الطبية تحت تأثير درجة الحرارة ما بين (40-60°م)، فإذا كان النبات عطريا تتم عملية الجمع في الصباح ويجفف تحت درجة لا تتعدى 50°م. [10].

تختلف سرعة تجفيف النباتات الطبية حسب بنية العضو ودرجة الحرارة، فالنباتات الطبية تحتوي على نسبة مهمة من الماء تختلف باختلاف العضو النباتي، حيث إن الأزهار والثمار غنا بالماء (70-90%)، الجذور والريزومات تحتوي بين (30-50%)، الأوراق تحتوي (50-70%)،القشرة (20%)، البذور والثمار الجافة يكون محتواها هو الأضعف (10%) [7].

ان ترك النبات ليجف في الجو العادي قد يؤدي الى تنشيط الإنزيمات المتواجدة في العصارات الخلوية وبالتالى تحلل المواد تحلل المواد الفعالة وتكسيرها الى مواد عديمة الجدوى طبيا، ولذلك يتم تجفيف النباتات الطبية في افران يمر بها تيار من الهواء الساخن ويتم ضبط درجة فيها بحيث لا تزيد عن 60°م حتي تمام التجفيف، ومن ثم تخرين النباتات الجافة في ظروف تخلو من الرطوبة والضوء والحرارة العالية حيث ان تلك الظروف تؤثر على محتويات النباتات من المواد الفعالة [1]. ذكر [6]. عدة طرق للتجفيف منها:

I-6-1-1-التجفيف بالطرق الطبيعية:

تكون بتعويض المادة المراد تجفيفها الى أشعة الشمس، أو بنشرها في الظل بوجود الرياح وتستعمل هذه الأخيرة لتجفيف النباتات الحاوية على زيوت طيارة أو مواد ملونة.

I-6-1-2- التجفيف بالطرق الصناعية:

يتم باستخدم افرن صناعية خاصة تختلف في أحجامها ودرجات الحرارة التي يتعرض لها العقار وكذلك نوعية الحرارة التي يتعرض لها احيانا، يستعمل فيها بخار مرتفع الحرارة أو تعتمد على التسخين الكهربائي اوغيره.

I-6-1-3- التجفيف بالتجميد:

تعتمد على تعريض النبات لدرجة حرارة عالية بعد تجميدها بشكل سريع حيث يتصعد الجليد ولا يمر بمرحلة السيولة، أعطت هذه الطريقة نتائج جيدة واستعملت في النباتات الحاوية مركبات تتخرب بالحرارة،واهم شروطها العمل في جو خال من الهواء .

I-6-2- الحفظ "الخزن":

لهذه العملية أهمية كبيرة لحفظ صفة ونوعية المادة النباتية اذا يجب ان يكون التخزين في مخازن لها الصفات التالية:

- أن تكون غير قابلة للاشتعال أي مصنوعة من الاسمنت المسلح والفولاذ.

- يجب أن تكون المخازن باردة ومعتمه وحسنة التهوية.

- يجب أن تكون المخازن غير معرضة لهجمات الفئران والقوارض [6].

الفصل الثاني:

الدراسة النظرية لنبات *الطرفة* ***Tamarix***

Boveana B

II- الدراسة النظرية لنبات الطرفة *Tamarix Boveana Bunge:*

II-1- العائلة الطرفاوية (الأتلية) Tamaricaceae :

كلمة الطرفة أطلقها العرب منذ القدم على هذه الشجيرات، فهي معروفة عندهم ومنتشرة في أرضهم، جاء في لسان العرب أن الطرفة شجيرة وهي الطرف والطرفاء وبها سمي طرفة بن العبد، لا يزال السكان في سوف يتداولون هذا الإسم الذي ورثوه عن أجدادهم تنتمي الطرفاء إلى فصيلة الطرفاويات وإلى الجنس Tamarix spp الذي يضم نحو 75نوعاي. يُعتقد أن موطنها الأصلي يقع في وسط الصحراء الإفريقية الكبرى [3].

II-2- وصف نبات الطرفاء:

الطرفاء (الإثل Tamarix) شجيرات وأشجار كروية التاج برية معمرة يصل ارتفاعها إلى 8-12م، من فصيلة الأثليات، تنمو متفرعة وليس لها جذع رئيسي تتحمل التربة المحلية، وتكثر في المناطق الجنوبية الجافة، وقد تزرع للتزيين ولصد الرياح. ساقها قصيرة، أغصانها غليظة متفرعة متدلية و الأغصان القديمة ذات قشرة حمراء بنية، ومنها ساقطة .افنادها قليلة، أفنانها آثيرة ودقيقة، أوراقها ضامرة حرشفية تغطي الأفرع الحديثة، أزهارها سنبلية التجميع، صغيرة بيضاء أو وردية اللون وتتجمع في نورات كثيفة، وقابل للتشقق والالتواء، خشبها غير متين سهل الكسر. وأثل المن هي الطرفاء التي تجنى منها مادة سكرية غذائية، تسببها حشرة غشائية الأجنحة، توخز الزهر، فتعسل المن المعروف بالطرفة وهي أيضا نبات مقاوم للملوحة، و تمتلك غددا ملحية تعمل على طرح الكميات الزائدة من الملح[11].

الوثيقة II:1 *نبات الطرفة* ***Tamarix Boveana Bunge***

II-3- الشكل المرفولوجي:

الوثيقة II:2 *توضح الشكل المرفولوجي لنبات الطرفاء.*

الطرفة *Tamarix Boveana Bunge*:

- ✓ الأوراق حرشفية صغيرة.
- ✓ الأزهار جالسة أو شبه جالسة تخرج من إبط قنابة كبيرة نوعا ما.
- ✓ تتكون الزهرة من 04سبلات و 04بتلات.

II-4- أنواعها:

يحتوي جنس الطرفة على العديد من الأنواع منها:

- ✓ الطرفاء المفصلية T.articulata.
- ✓ الطرفاء الخماسية الأسدية T.pentandra. وتنتشر الطرفاء الفرنسية T.gallica في منطقة البحر المتوسط.
- ✓ الطرفاء النيلية T.nilotica في سيناء مصر **[11]**.

وهناك أنواع أخرى من الطرفة تنتشر في شمال منطقة وادي سوف خاصة على حواف الشطوط وقرب الترب المالحة، أهم هذه الأنواع:

-Tamarix africana Poiret.

-Ta marix gallica Webb.

II-5- التصنيف النباتي:

جدول 1.II يوضح التصنيف النباتي لنبات الطرفاء

الاسم العلمي	Tamarix
المملكة	النبات
الفرقة العليا	النباتات الأرضية
القسم	النباتات الوعائية
الشعبة	شعبة البذريات
الشعيبة	مستورات البذور
الفصيلة	طرفاوية Tamaricaceae
الجنس	الأثل Tamarix
القطاع	النباتات الوعائية

II-6- أماكن التواجد:

تنمو شجيرات الطرفة في الترب الرطبة المالحة، لذلك نجدها على حواف الشطوط وفي الأهواد المالحة نتيجة صعود المياه [3].

II-7- الانتشار الجغرافي:

مستوطن في الصحراء الكبرى. [3].

II-8- الأسماء الشائعة:

- ✓ يعرف الاثل علميا باسم Tamarix.
- ✓ طارفة.
- ✓ الطرفاء.
- ✓ الطرفاية.

II-9- المحتوي الكيميائي:

تحتوي الأوراق نبات الطرفاء *Tamarix Boveana Bunge*. على مادة تأماركيسن ومعادن الصوديوم والكالسيوم والبوتاسيوم والمغنيزيوم وتحتوي الثمار على مواد عفصية بنسبة كبيرة جدا بالإضافة الى حوالى 17 مركبا فينولي كما تحتوي العصارة السكرية على سكاكر مثل الجلوكوز والفراكتوز و الدكسترين، حمض الغاليك، صباغة، ملح الصوديوم، صابونينات، حموض فينولية، حموض التانيك، قلوانيات، بروتين، غليكوزيدات، والفيتامين ج،الفيتامين ب، والفيتامين أ [11]،

II-10- خصائصها الحيوية:

يستمر نشاط الطبقة المولدة في الطرفاء طوال العام تقريبا وينصح بتقليم أشجارها رئيسيا في فصلي الربيع والصيف. مجموعتها الجذرية عميقة وكثيفة ويمكن أن يمتد نموها أفقيا في الترب الرملية مسافة50م وعمودي اي إلى 10م. وللحد من منافستها للمحاصيل الزراعية والأشجار المزروعة وينصح بتقليم جذورها الأفقية بآلة خاصة خارج مسقط تاجها. تفرز غددها الورقية ملح كلور الصوديوم في أثناء الليل مما يؤدي إلى تراكم هذا الملح على سطح التربة. تتصف الطرفاء بصعوبة احتراق أوراقها، واحتوائها على نسبة مرتفعة من الملح. كما تعمل مجموعتها الجذرية في زيادة تركيز أملاح الترب سطحياي مؤدية إلى تملحها، ويكون تركيز الأملاح فيها تحت تيجان الأشجار هو أعلى بمقدار (2-3 مرات) منه في المسافات الكائنة خارج تيجانها [12].

II-10- متطلباتها البيئية:

تتحمل الطرفاء الترب الجافة والملحة والجو الجاف والرياح البحرية الملحة، ويمكن زراعتها في مناطق جافة جدا لا يتجاوز مستوى هطلها المطري السنوي 100مم، وتجود بنموها في المناطق التي يفوق مستوى هطلها المطري السنوي 350مم. تنمو في مختلف أنواع الترب، وتتحمل درجة الحموضة pH بين 5-7. ينمو معظم أنواعها في المناطق الحارة، ويتحمل بعضها الآخر درجات الحرارة المنخفضة حتى -10 م، والعالية حتى 50 م صيفا [8].

II-11- طرائق إكثارها:

تكاثر الطرفاء بالبذور، وتنتج الشجرة البالغة منها نحو نصف مليون بذرة سنويا، إلا أنها سرعان ما تفقد قدرتها على الإنبات بعد أيام من موعد نضجها، لذلك يفضل إكثارها خضريا بتجذير العقل التي يكون طولها نحو 1-2م وقطرها نحو 2سم، إذ إنها تتميز بمقدرتها العالية على التجذير والنمو السريع [8].

II-12- استعمالاتها المختلفة وأهميتها الزراعية:

يستفاد من الطرفاء في تشجير المناطق الجافة وشبه الجافة والترب الكلسية والملحة، وفي إنشاء مصادات الرياح الكثيفة وتثبيت الرمال وكثبانها المتحركة، وخاصة الرمال الساحلية، كما تستخدم ضد انجراف الترب والمنحدرات بفعل الأمطار والسيول الشديدة. تزرع بذورها الحية وغراسها زراعة كثيفة مع مراعاة تقديم الخدمات الزراعية اللازمة من ري وتسميد وتقليم ومكافحة للآفات وترقيع من الغراس المزروعة وفق احتياجاتها الزمنية، يسيل من السيقان سائل سكري حلو المذاق يستخدمه الاعراب في الصحراء كغذاء خلال فصل الصيف [11].

II-13- استعمالاتها الطبية:

- تستعمل الأوراق نبات الطرفاء على الراس لخفض درجة الحرارة وعلاج الصداع.
- ينفع في ضعف الكبد شربا والحكة والجرب طلاء.
- يشفي اوجاع الاسنان.
- يستخدم المغلي لعلاج الجروح والحروق.
- يستخدم السائل السكري المستخرج من اغصان نبات الطرفاء لعلاج الحمية الحرارة الناتجة من ضربة الشمس بالإضافة الي ذلك فانه يمد الجسم بالطاقة الحرارية الازمة له.
- وفي منطقة سوف تستعمل أغصان الطرفة في الطب الشعبي، حيث يشوى لحم الغنم على حطب الطرفة ويقدم للمصابين بمرض الصفير.
- اوراق شجرة الطرفاء يستعمل للبهاق.
- يستخدم مغلى العفص المتكون على النبات قابض لا يستغرق في علاج المعدة.
- نافعة من هيجان الصفراء.
- تقطع القي. [11]-[12].

الفصل الثالث:

الدراسة الكيميائية و البيولوجية

III- الدراسة الكيميائية والبيولوجية

يعرف النبات بإنتاجه للعديد من المركبات يطلق عليها اسم المشتقات الثانوية لعمليات التمثيل الغذائي، تشمل كلا من التربينات و الفينولات و القلويدات و غيرها، وبالرغم من أن العديد من النظريات تعتبرها مواد لا فائدة منها بالنسبة للنبات إلا أن البعض يعتبرها مصدرا للصبغات و الهرمونات النباتية و الفيتامينات و الزيوت العطرية.

من بين أهم المركبات النباتية لنواتج الأيض الثانوي الفينولات، حيث تشكل المركبات الفينولية حيزا كبيرا في حقل المنتجات الطبيعية، نظرا لكثرة عددها و لتباين الهياكل البنائية لها [13]حيث تتميز بوجود نواة بنزان على الأقل مرتبطة مباشرة بمجموعة او أكثر من الهيدروكسيل الحر أو المرتبط بأستر، إيثر، أو جزيئة سكرية [14].

تعتبر المركبات الفينولية إحدى اكبر المجموعات النباتية حيث تستعمل بكثرة في المجالات الصناعية و الغذائية و العلاجية، فتستعمل غذائيا كمكسبات للطعم واللون و الرائحة، و علاجيا كمضادات للأكسدة و مضادات حيوية ،[15] .وكذا صناعيا كصباغة الجلود و صناعة الصابون[16].

III-1- المركبات الفينولية:

III-1-2- تعريف المركبات الفينولية:

تعرف الفينولات بأنها مركبات عضوية تحمل حلقة بنزينية أو أكثر في هيكلها العام مرتبطة بمجموعة هيدروكسيلية OH أو أكثر[17].

تختلف بنية المركبات الفينولية الطبيعية من جزيئات بسيطة
كحامض الفينول(Acides phénoliques) الى جزيئات جد معقدة يتم فيها بلمرة العديد من الفينولات لتعطي مركبات معقدة، و تسمى حينئذ بمتعددات الفينول polyphénols [15].

III-1-3- مصدر المركبات الفينولية:

توجد الفينولات في العديد من الأطعمة ذات المصدر النباتي، من بين الأغذية الغنية بهذه المركبات الخضر و البقوليات والمكسرات والحبوب والتوت البري والمشروبات كالشاي والقهوة والكاكاو، يمكن أن تصل هذه المركبات (100-500ملغ/غ) في بعض الفواكه بينما توجد بصورة أقل في الخضر حيث تحتوي على ما يقارب (25-100ملغ/غ).

III-1- 4- أهميتها:

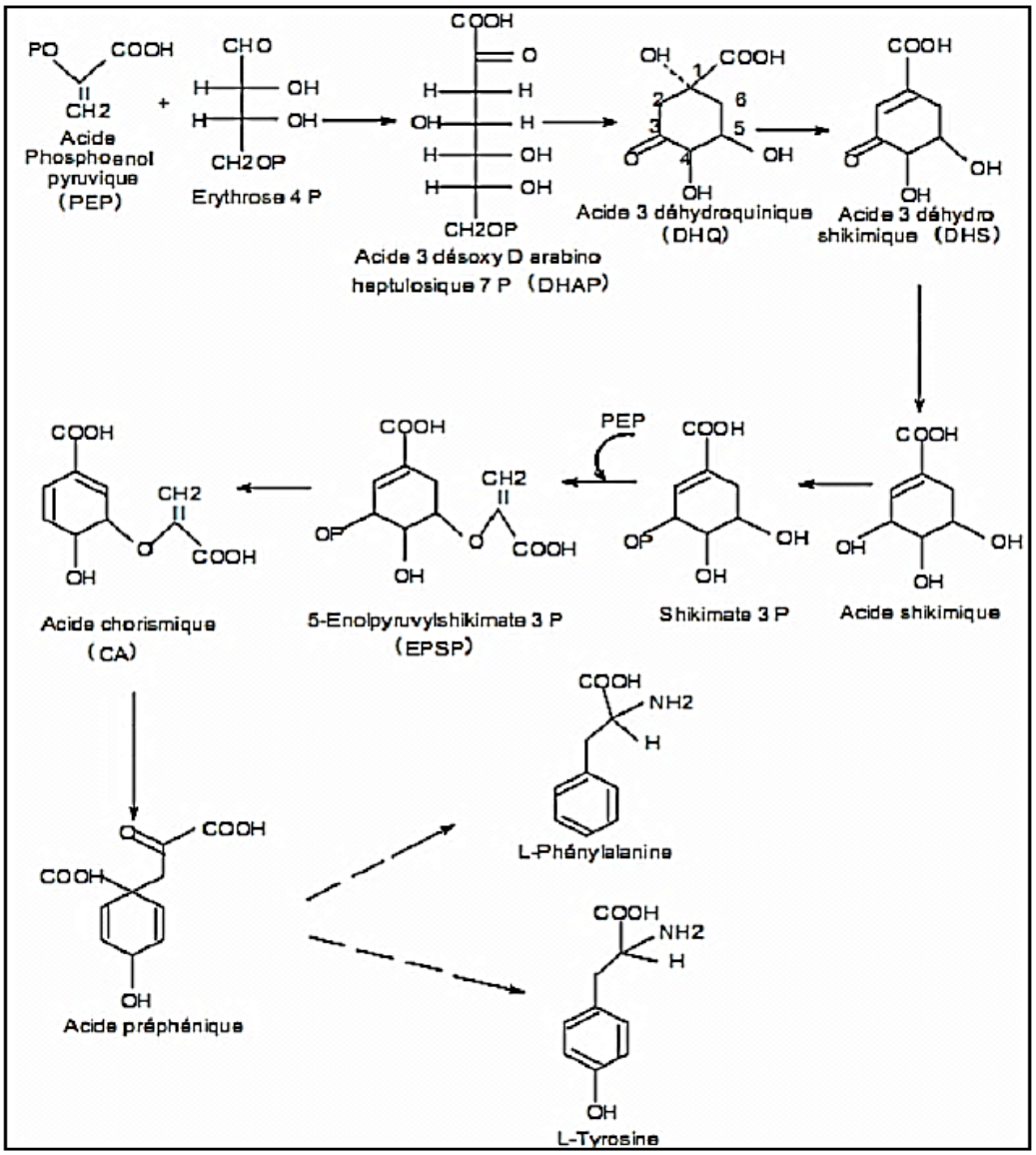
- ✓ التخلص من ضرر الضوء الزائد وذلك بامتصاص الطاقة الضوئية وحماية المواد الحيوية.
- ✓ تلعب دورا في تكوين اللجنين.
- ✓ تكيف بيئة الخلية بتنظيم درجة الغليان والتجمد وتنظيم المحتوى الاسموزي.
- ✓ تنظيم النمو وتطور النبات وذلك بتأثير على فعالية الهرمونات.
- ✓ تسبب سبات بعض البذور.
- ✓ تسيطر على فعالية بعض الإنزيمات.
- ✓ تعطي بعض الأزهار ألوان زاهية تؤدي الى جذب الحشرات وحدوث التلقيح.
- ✓ مواد مخزنة للنبات في وقت الحاجة.
- ✓ تقوم بدور العامل Antioxydant حيث تعرقل أكسدة الكلوروفيل أو الهرمونات.
- ✓ تلعب دور مهم في مقاومة الأمراض في بعض النباتات Protocatechuicacide مثل : يمنع مرض التبقع الفطري في البصل حيث يتجمع في الحراشف القشرية ويمنع نمو الفطر[18].

III-1-5- التصنيع الحيوي للمركبات الفينولية:

لا تتواجد الفينولات بشكل حر داخل خلايا النبات، بل توجد مرتبطة في صورة جلوسيد أو في صورة أستر سكري، فهي مشتقات غير آزوتية تحتوي على حلقات عطرية متأتية اساسا من ايض أو فينيل بروبانويد phénylpropanoide [19 حمض الشيكميك]Acide schikimique و منه فإن للتخليق الحيوي للفينولات مسلكين هما:

- **مسلك حمض الشيكميك La voie de schikimate** :

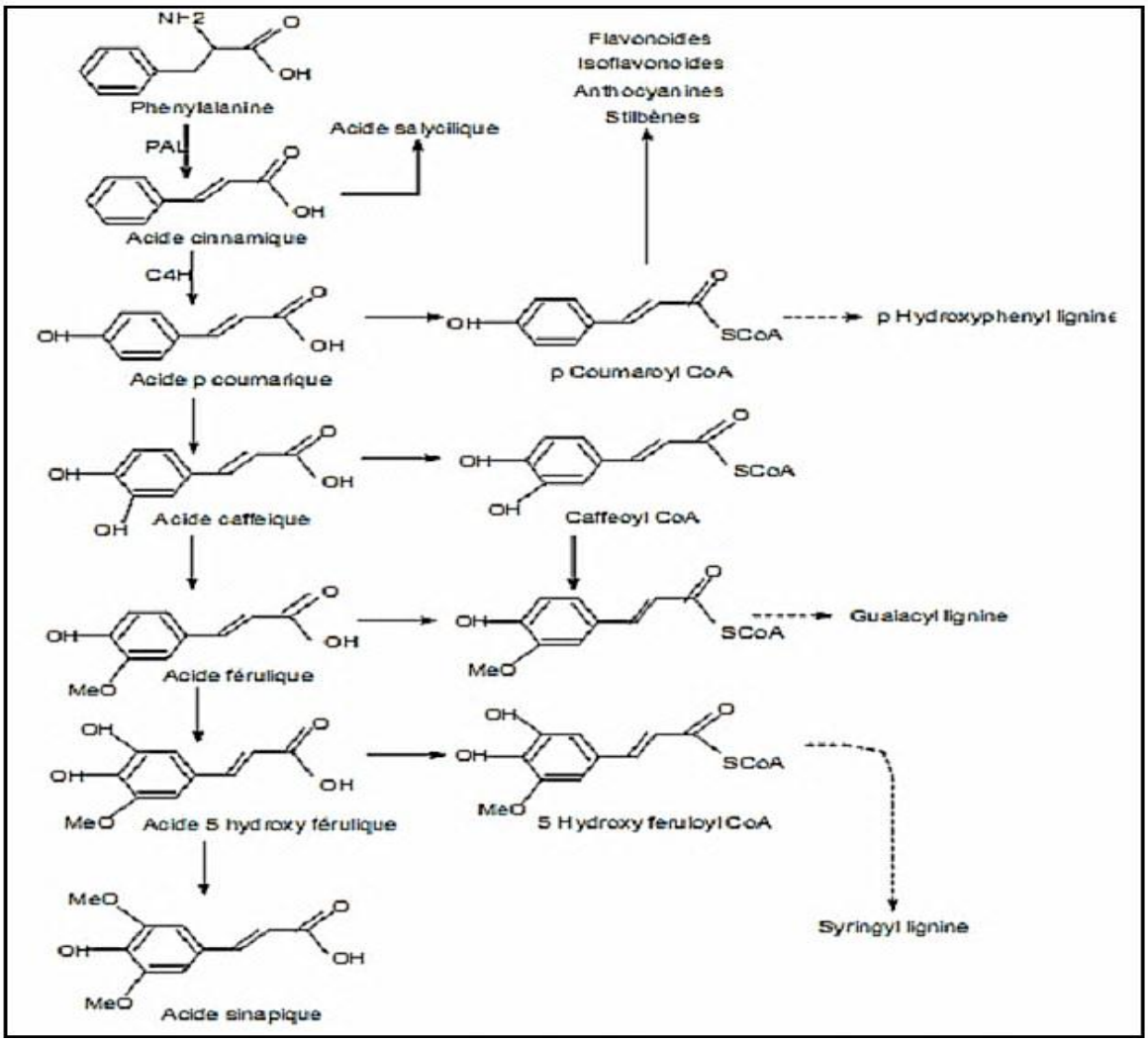
يعتبر هذا المسلك ذو أهمية كبيرة بالنسبة للنبات ليس لدوره في انتاج الفينولات فحسب، بل في بناء الاحماض الامينية الأروماتية كالتيروزين و الفينيل ألانين و التربتوفان ، يبدأ بناء حمض الشيكميك بفوسفات أنيول حمض البيروفيك والذي يتكون في نهاية عملية الجلكزة glycolysise وكذلك يبدأ بالسكر الرباعي (CH_2OP) حيث يرتبطان معا لتكوين مركب وسطي ذو سبع ذرات كربون والذي ما يلبث حتى يتحلق (cyclisation) إلى مركب .Acide-3-déhydroquinique تحدث بعد تشكل حمض الشيكميك عدة تفاعلات خلاصتها تشكل الأحماض السينامية Acides Cinnamiques و مشتقاتها: كحمض البنزويك Acideوغيرها Coumarinesو الكومارينات Lignanes et Ligninesو Benzoïque كما هو موضح في[20].



الوثيقة III: 1 التصنيع الحيوي للفينولات عن طريق مسلك حمض الشيكميك.

- **مسلك فينيل بروبانويد La voie de phénylpropanoide:**

يبدأ هذا المسار بواسطة الفينيلالنين،phénylalanine الذي يزود الخلية بالأحماض الفينولية البسيطة، الكومارينات، الايزوفينولات، isoflavonoïdes الفلافونويدات،flavonoïdes و طلائع اللجينين Précurseurs de Lignine الوثيقة (02) والذي يعتبر المركب الحيوي الثاني أهمية بعد السليلوز cellulose [20].



الوثيقة 2:III *التصنيع الحيوي للمركبات الفينولية عن طريق الفينيل ألانين.*

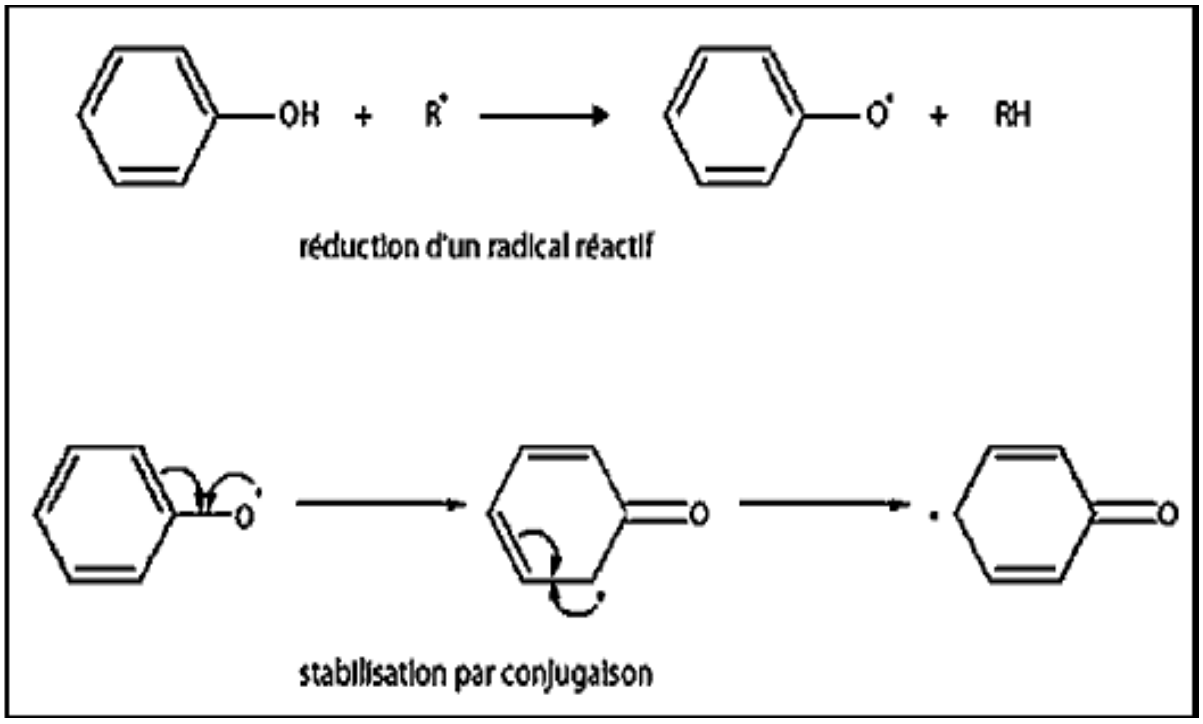
III-1-6- تواجدها في النبات :

تتواجد الفينولات في جميع الأنواع النباتية على حد سواء، بينما يختلف توزيعها في الأنسجة النباتية و المستويات الخلوية و التحت خلوية[22]،بحيث تم عزل العديد من الفينولات القابلة للذوبان من جدران الخلايا، في حين وجدت مجموعة من الفينولات غير قابلة للذوبان في الفجوات مرتبطة مع مكونات الخلية المختلفة تساهم بدعم القوة الميكانيكية لجدران الخلايا و تلعب دورا تنظيميا في نمو النبات و تطوره[23] [24].

III-1-7- الخصائص العامة للمركبات الفينولية :

من المعروف أن لكل مركب كيميائي خصائصه المميزة التي تعطيه أهمية خاصة من بين جميع المركبات الأخرى، ومن هنا يمكن تلخيص الخواص الكيميائية و الفيزيائية للمجاميع الفينولية أو متعددات الفينول فيما يلي :

1. ترتبط الخواص الكيميائية لدى متعددات الفينول بالأنوية الفينولية التي تحتويها [25] فهي مواد بلورية في درجات الحرارة العادية، تذوب في الماء بنسبة قليلة، و تذوب بنسبة أكبر في المذيبات القطبية كالكحولات .
2. مركبات لها درجات غليان عالية بسبب احتوائها على روابط هيدروجينية بين جزيئاتها .
3. تتأكسد بفعل الهواء و الضوء كجميع منتجات الأيض الثانوي الأخرى .
4. تمتلك الأحماض الفينولية درجة حامضية أعلى من الكحولات الالفياتية هذا ما يجعلها تتفاعل مع محلول هيدروكسيد الصوديوم و تتحول إلى ايونات الفينوكسيد بينما لا يؤثر هيدروكسيد الصوديوم في الكحول[26].
5. الخاصية المرجعة و الاستقراية التي تتميز بها الفينولات تسمح لها بأن تكون أهم مضادات الأكسدة الطبيعية الوثيقة. (03) [27].
6. تتميز متعددات الفينول اللاسكرية Polyphénoles Aglyconesبكونها محبة للدهون، تستخرج بواسطة مذيبات متوسطة القطبية، (CH_2Cl_2) وعند وجود OH حرة في الفينول تكون ذوبانيته
7. متعددات الفينول السكرية Polyphenols hétérosides تتميز بكونها اكثر قطبية تذوب في الماء و الكحولات، و تستخلص حراريا باستعمال الأستون أو الكحول بتخفيفه جزئيا بالماء (اضافة % 50-20) وهذا لنزع الكلوروفيل من المستخلص، أما تنقية المستخلص فيكون بواسطة طريقة الإستخلاص سائل/سائل باستعمال مذيب الاسيتات ايثيل l'Acétate d'éthyle [26].
8. لتنقية الفينولات تستعمل عدة طرق ابرزها تقنية الفصل الكروماتوغرافي. [26] [28] .



الوثيقة III:3 *القدرة الإرجاعية و المضادة للأكسدة للفينولات .*

III-1-8- تصنيف المركبات الفينولية:

تتميز الفينولات عادة بوجود حلقة عطرية هيدروكسيلة hydroxylique على الاقل في هيكلها البنائي، و تصنف الى مجموعات استنادا على عدد الحلقات العطرية فيها و عدد التفرعات او العناصر المرتبطة بها، فمنها البسيط les phénols simples و منها المعقد كالأعفاص les Tanins والفلافونويدات les Flavonoides[29] كما ان معظم المركبات الفينولية مرتبطة مع بجزيئة او اكثر من الساكاريد Saccharidesترتبط مع واحد او اكثر من المجموعات الفينولية [30] و يمكن ان تصنف هاته المركبات كما هو موضح في الجدول (01) الاتي:

جدول 1.III *تصنيف المركبات الفينولية حسب عدد الذرات الكربونية بها.*

Classe	Structure
Phénols simples, benzoquinones	C_6
acide hydroxybenzoique	C_6-C_1
acéthophénones, acide phénylacétique	C_6-C_2
acide hydroxycinnamique, phénylpropanoides	C_6-C_3
(coumarines, isocoumarines, chromones)	
flavonoides, isoflavonoides	C_6-C_3-C_6
lignanes, néolignanes	$(C_6$-$C_3)_2$
biflavonoides	$(C_6$-C_3-$C_6)_2$
tannins condensés (proanthocyandines, ou flavolans)	$(C_6$-C_3-$C_6)_n$

ان اهم المركبات الفينولية تتمثل في الأحماض الفينولية، الفلافونويدات، التانينات، الكومارينات، Coumarinesو الانثوسيانات،Anthocyanes فهي المجموعات الاساسية التي تتواجد في جل النباتات [31].

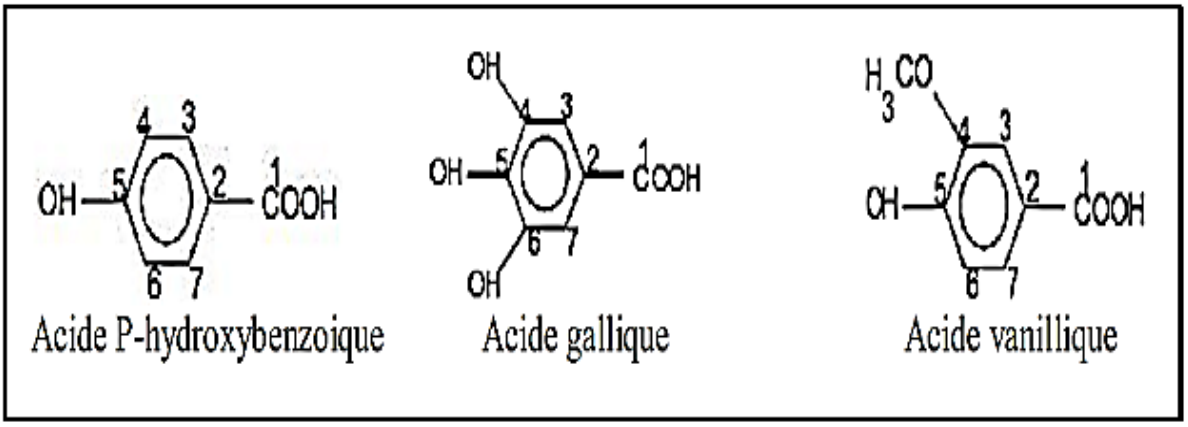
III-1-8-1- الأحماض الفينولية Les acides phénoliques:

الأحماض الفينولية هي مركبات قابلة للذوبان في المذيبات العضوية القطبية، وتنقسم إلى ثلاث أقسام، أحماض فينولية بسيطة و أحماض مشتقة من حمض البنزويك و أحماض فينولية مشتقة من حمض السيناميك، يعتبر القسم الأول نادرا ما عدا مركبات Hydroquinoneالتي توجد في العديد من العائلات النباتية وعموما توجد الأحماض الفينولية في العديد من النباتات الزراعية و الطبية، وكذلك في جميع الحبوب[32]،

III-1-8- 2- الخصائص البيولوجية و العلاجية للأحماض الفينولية

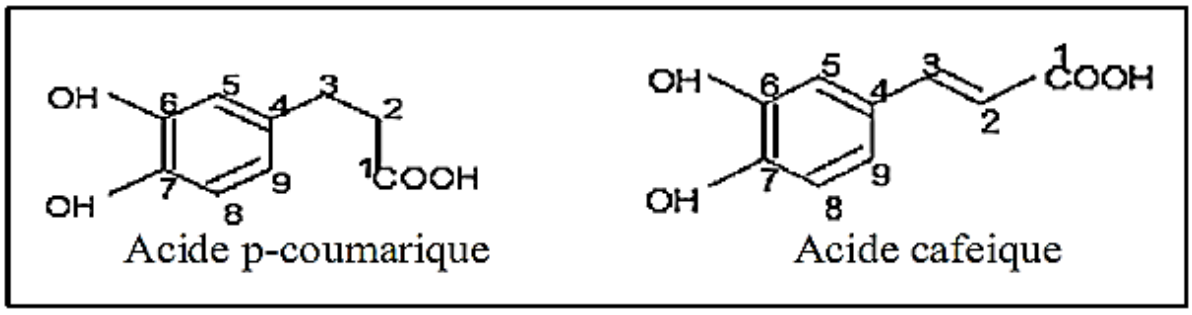
تملك الأحماض الفينولية خصائص بيولوجية مثيرة للاهتمام و تعتبر الأحماض الفينولية ومشتقاتها مسئول عن العديد من النشاطات منها خافضة للحرارة، مضادة للالتهابات، مطهر البولية و الكبد، و محفزات حيوية، و يعتبر كل من هذه الأحماض،Acide galliqus،Acide caféique acide chlorogéniqueمركبات تتميز بأنشطة مضادة للأكسدة، و يعتبر acide caféique فعال جدا ضد الفيروسات والبكتيريا و الفطريات، وكذلك حامض الغاليك وحمض الفيرليك التي تظهر أثار مضادة للسرطان في الرئة عند الفئران في المختبر [32] ،نميز فيها نوعان حسب [33] .

❖ مشتقات حمض البنزويك les divers de l’acide benzoïque: يتكون هيكلها من 7ذرات كربون. (الوثيقة04)



الوثيقة III:4 بعض مشتقات حمض البنزويك. *l’acide benzoïque*

❖ مشتقات الاستر الهيدروكسي سيناميك les divers de l’esters hydroxycinnamiques هيكلها من النوع C_6-C_3 .الوثيقة (1):



الوثيقة III:5 بعض مشتقات حمض الهيدروكسي سيناميك. *l'acide hydroxycinnamique*

III- 2- الزيوت الطيارة:Les huiles essentielle

III- 2-1- تعريف الزيوت الطيارة:

الزيوت الطيارة ما هي إلا سوائل ذات رائحة طيبة نفاذة، وهي مركبات تربينية غير مشبعة تتكون من جزء هيدروكاربونى وجزء أكسوجيني مشتق منها، وينتجها النبات كمخلفات أو فضلات عمليات الأيض الضوئي ويقوم جهازخاص بإفرازها يتركب من خلية واحدة أو عدد من الخلايا الإفرازية المرتبة في نظام خاص [34] .

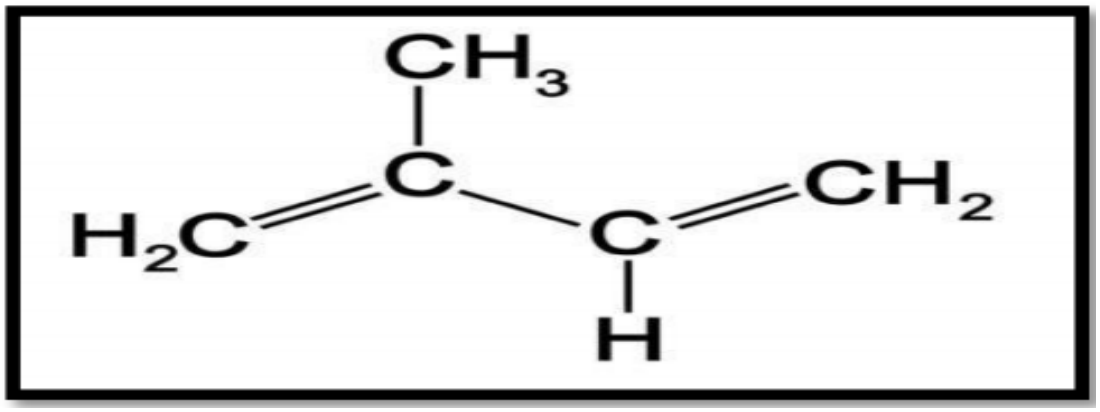
III- 2-2-الصفات العامة للزيوت الطيارة:

أشارت[35] أن بالرغم من اختلاف مكونات الزيوت الطيارة في تراكيبها الكيميائية، إلا أنها تشترك في بعض الصفات العامة مثل:

1. عديمة اللون وهي طازجة أي قبل تحللها أو تأكسدها، ولو أن بعضها ذات لون أصفر فاتح أو أحمر خفيف.
2. سائلة عند درجة الحرارة العادية عدا زيت الورد والينسون فهما يتجمدان عند درجة حرارة أقل.
3. لها رائحة عطرية مميزة ولكل زيت رائحة خاصة بها.
4. لا تذوب في الماء، ولكنها تذوب في المركبات العضوية كالإيثر والكحول والأسيتون والكلوروفورم.
5. لها معامل انكسار ضوئي عالي، ولها خاصية الدوران الضوئي والذي يعد أهم إختبار لمعرفة نوعية الزيت ونقاوتها.
6. أخف من الماء عدا زيت القرفة والقرنفل.
7. البعض منها يترسب بالتبريد تارك جزء منها سائلا مثل زيت الزعتر والنعناع.

III- 2-3- تصنيف الزيوت الطيارة:

تتركب الزيوت الطيارة من مجموعة من المركبات الكيماوية التي تتجمع تحت قسمين[36] :



الوثيقة III:6 وحدة الإيزوبرين

أ - أوليوبتين Oleoptenes:

يشكل الجزء السائل في الزيت الطيار ويتكون من مركبات هيدروكربونية Hydrocarbons وتتكون من وحدات كل وحدة تتركب من 5ذرات كربون تسمى وحدة ايسوبرين (C_5H_8) وحدة (Isoprène)الوثيقة (6) عبارة عن مركب كيميائي يحتوي على5ذرات كربون، والتي تتحد بدورها تكون أنواع عديدة من التربينات [36] [37] .

ب - **ستريروبتين Stearoptene**:

حسب ما ذكره [36] [38] و [39] فإن هذا القسم يشمل مجموعة من المواد الصلبة و هي مواد أكسوجينية، يعزى التأثير الطبي إليها، كما أنها هي التي تحمل الرائحة و الطعم،ومن المواد الأكسوجينية الموجودة في الزيوت الطيارة:

الكحولات، الأسترات، الألدهيدات، الكيتونات، الفينولات، الأكسيدات و البيروكسيدات، المواد الكبريتية، اللاكتونات.

III- 2-4- تواجد الزيوت الطيارة:

توجد هذه الزيوت على هيئة مادة سائلة عند درجة الحرارة العادية، عدا زيت اليانسون و زيت الورد، اللذان يتواجدان على هيئة مادة صلبة، وتتجمع في تراكيب وعائية خاصة مثل : الشعيرات الغدية كما في العائلة الشفوية Labiateaeأو قنوات زيتية كما في العائلة السذابية Rutaceae [40] ،وبما أن هذه الزيوت متطايرة ويسهل فقدانها في درجة حرارة الجو، فإن التراكيب التي تحويها تكون مجهزة بجدران مناسبة تمنع تطايرها [41].

تتوزع الزيوت الطيارة توزيعا غير متجانس تبعا للنباتات وتنتشر في أكثر من 2000 نبات، تمثل حوالي 60 فصيلة نباتية وتتركز بصفة خاصة في بعض الفصائل أهمها ما يلي [42].

- ✓ السذابيةLamiaceae
- ✓ الشفويةLauraceae
- ✓ المركبةRutaceae
- ✓ الآسيةAsteraceae
- ✓ القرفية Mirtaceae
- ✓ الخيمية Apiaceae
- ✓ الصنوبريةPinaceae

تسمى الزيوت الطيارة بالزيوت العطرية Huiles aromatiques لرائحتها العطرية، أو الزيوت الإيثيرية huiles ether لذوبانها في الإيثر، كما تسمى أيضا بالزيوت الأساسية Huiles essentielles [41].

III - 2-5- دور الزيوت الطيارة:

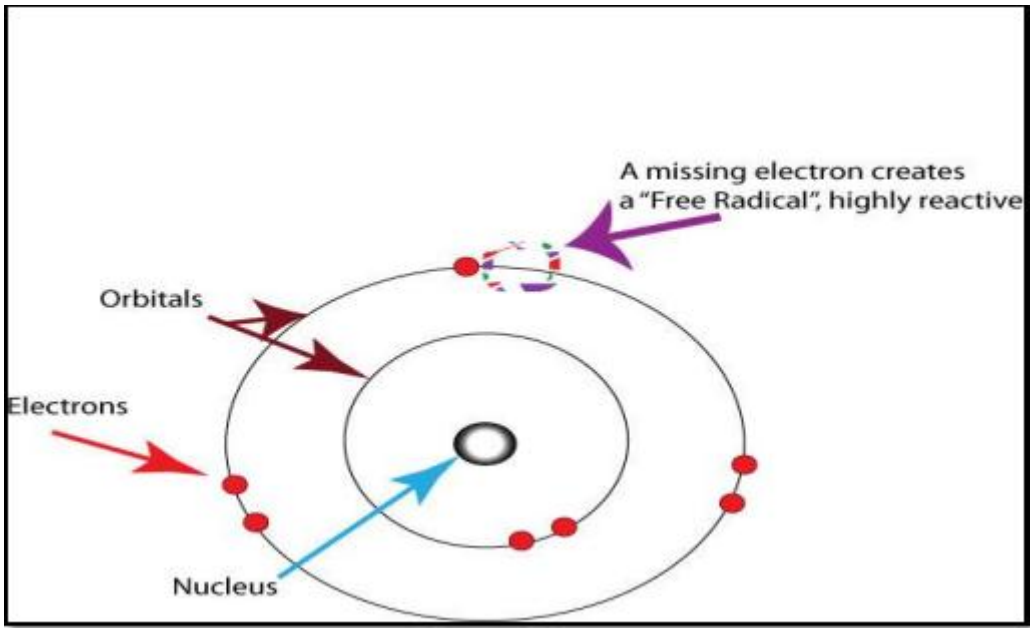
يمكن حصر ادوار الزيوت الطيارة في:

- إزالة نواتج العمليات الحيوية وطرحها خارج أنسجة النبات.
- اجتذاب الحشرات مما يساعد على تلقيح الأزهار وزيادة الإنتاج.

يعرف الإجهاد التأكسدي في النظام البيولوجي على أنه اختلال في التوازن بين مضادات الأكسدة، ومولدات الأكسدة، هذا راجع الى الانتاج المفرط لمولدات الأكسدة أو نقصان في مضادات الأكسدة [43] .

III- 3-الجذور الحرة

هو عبارة عن جزيء او ذرة تحتوي على الكترون غير مزدوج في مدار الخارجي وتبقى الالكترونات في الحالة العادية في الجزيئات مزدوجة الوثيقة (2)، وحين يفقد الجزيء أحد هذه الالكترونات يصبح في الحالة نشاط وبحث دائم عن الالكترون المفقود ليكون زوجا من الالكترونات المستقرة وهذا ما يجعله ينتزع الكترونا من الجزيئات المجاورة مما يسبب اتلاف جزيئات الخلية الطبيعية في الجسم. وبرغم من قصرة فترة حياة الجذر الحر التي لا تتجاوز اجزاء من الثانية الا ان جذرا حرا واحدا قد ينشر حالة من الفوضى أو عدم التوازن وبالتالي نشوة الامراض [44].



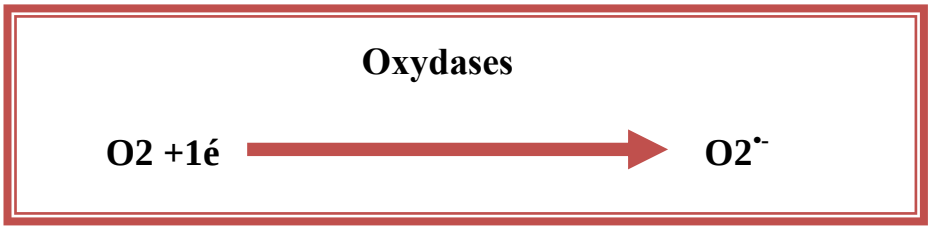
الوثيقة III:7 *الجذر الحر*

تعتبر عملية إنتاج الجذور الحرة في الجسم من الأمور الطبيعية وتحصل نتيجة عملية تدعي الأيض الخلوي، وتعتبر بيوت الطاقة (الميتوكوندريا) داخل الخلية المصدر الرئيسي للإنتاج هذه الحذور، وتتسرب من 2 % الى 5% من الأكسجين المستخدم في الأيض الأوكسجيني داخل الميتوكندريا خارج النظام لتشكيل ما يطلق عليها الجذور الحرة [45] .

III- 3- 1- أهم الانواع الأوكسيجنية النشطة (ROS) Reactive Oxygen Species:

✓ **جذور فوق الأكسدة Superoxide anion ($O2^{\bullet-}$)**

يعتبر جذر **($O2^{\bullet-}$)** بداية العملية التأكسدية داخل الخلية، اذ يمكنه التحول الى أنواع أكسيجنية أخرى، حيث ينتج هذا الجذر عن الإرجاع الاحادي لجزيئة الأكسيجين عند استقبلها لإلكترون تقوم مجموعة من الانظمة الخلوية الإنزيمية الإرجاعية بإنتاج جذر **($O2^{\bullet-}$)** حيث 4% من الأكسيجين الموجود داخل الميتوكوندري يتحول الى جذر فوق الأكسدة **($O2^{\bullet-}$)**[47] [46].



✓ **فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) Hydrogen peroxide**

يتكون H_2O_2 ابتداءا من جذر فوق الاكسيد **($O_2^{\bullet-}$)** في وجود إنزيم Super oxidedismutase **SOD** وتعرف هذه العملية بعملية الدسمتة (dismutation) (عملية الأكسدة والإرجاع الذاتية)

عبر التفاعل التالي [48]:

يعتبرH_2O_2 من الأنواع الأكسيجينية الأكثر سمية، لأن غياب شحنة عليه يجعله قابل للمرور عبر الأغشية البيولوجية.

✓ **جذور الهيدروكسيل (OH•) Hydroxyl radicals**:

يمكن H_2O_2ان تتكون من في تفاعل غير إنزيمي ينم تحفيزه بأيونات الحديد (Fe^{+2})ويسمى هذا التفاعل بتفاعلFenton [49].

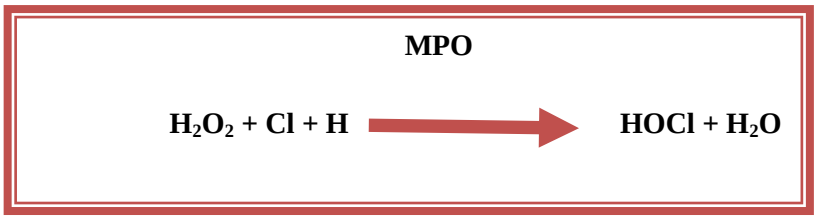
يعتبر جذر($OH^{\bullet}$) الأكثر نشاطا والأقل استقرار من بين مجاميع ROS يتفاعل**($OH^{\bullet}$)** بسهولة مع العديد من الجزيئات التي تكون قريبة منه خاصة الدهون حيث تعمل على ازالة او اضافة الهيدروجين لروابط غير مشبعة، مما يؤدي الى مضاعفة الأضرار وزيادة بشكل كبير في السمية الخلوية التي تحدثها ROS [50].

✓ **جذر Nitric oxide ($NO^{\bullet}$)**

ينتج جذر **($NO^{\bullet}$)** عن طريق أكسدة L-arginine بواسطة إنزيم (NOS) Nitric oxide synthase في وجود الأكسيجين في العديد من الأنواع الخلوية مثل الخلايا الطلانية والأعصاب، حيث يلعب دورا في نقل الاشارة الخلوية وفي الدفاع ضد العضيات الدقيقة ، يمكن لجذر **($NO^{\bullet}$)** ان يتحد مع جذر ($O_2^{-\bullet}$) لإعطاء جذر peroxynitrite ($ONOO^-$) الذي يعتبر مؤكسد قوي جدا وعالي النشاطية. [51].

✓ جذر**(HOCl) Chloride hydroxyl**

يرتبط انتاج الانواع النشطة المكونة من الكلور أساسا بالخلايا البالعة للبكتيريا، التي تحتوي على إنزيم Myeloperoxidase حيث تقوم هذه الخلايا بإنتاج كميات عالية من جذر وبوجود إنزيم Superoxidedismutase يتشكل H_2O_2 بدلا من ان يتحول الى ماء، وبوجود كميات عالية من الكلور يقوم إنزيم myeloperoxidase بإنتاج HOCl الذي يعتبر مؤكسد قوي. يتفاعل هذا الأخير مع ($O_2^{-\bullet}$) لإعطاء جذر.($OH^{\bullet}$)[52].



III- 3-2- مستهدفات الجذور الحرة:

بسبب النشاط الكبير للجذور الحرة يمكنها أن تلحق الضرر بالمكونات البيولوجية الهامة من DNAو البروتينات و الليبيدات[53].

III - 3-2- 1-أكسدة الـDNA :

تؤدي الجذور الحرة إلى :

- حدوث طفرات.
- توقف تضاعف الـDNA.
- أكسدة القواعد المكونة لـDNA.
- تشكيل جسور بين الـ DNAو البروتين.

- كسر على مستوى السلاسل (الأحادية والمزدوجة). تعتبر مصدرا للعديد من الأضرار التي تصيب القواعد (8-OXO-7,8-dihydroxy-guanine 8-oxoG) من جهة أخرى يلاحظ خلال سلسلة من التفاعلات عملية المتللة على مستوى القواعد، نتيجة هذه الأضرار تقود إلى خطأ في القراءة خلال عملية الاستنساخ بالإضافة إلى ذلك، في حالة الإشعاعات وترتبط إصابة ADNبجذر الهيدروكسيل.

III - 3-2- 2-أكسدة البروتينات:

فيما يخص البروتينات، يمكن أن تتأكسد تقريبا كل الأحماض الآمينية بواسطة الأنواع الأكسيجينية النشطة، و تعد كل من الأحماض الأمينية والكبريتية (سيستيين والمثيونين) والعطرية و(الثيروزين و الثريبتوفان) الأكثر حساسية. تؤدي أكسدة الأحماض الآمينية إلى تشكيل مجموعات الهيدروكسيل و الكربونيل على البروتينات، لكن يمكن أن تؤدي إلى ظهور تغيرات بنائية جد مهمة مثل التشابك داخل الجزيئات أو بينها. وقد تؤدي هذه الأضرار إلى تغيرات في بنية البروتينات. في حالة الإنزيمات، يمكن أن تقود التغيرات الحادثة على مستوى الموقع النشط إلى تثبطها[54].

III- 3-2- 3- أكسدة الليبيدات:

تحتوي الأغشية الخلوية على كميات كبيرة من البروتينات الدهنية و فوسفوليبيدات غنية بالأحماض الدهنية غير المشبعة و التي تكون عرضة للجذور الحرة المؤدية إلى حدوث أكسدة الليبيدات تتم عملية أكسدة الليبيدات على ثلاثة مراحل[32]:

أ- مرحلة البداية : تحدث هذه المرحلة بتحفيز جذري للرابطة C–H لسلسلة الأحماض الدهنية و تتشكل جذور جد فعالة في وجود الأوكسجين وهي جذور بروكسيلية.

ب -مرحلة الانتشار : امتداد للمرحلة الأولى، الجذر البروكسيلي يأخذ هيدروجين من جزيئةأخرى من الأحماض الدهنية و بالتالي تخليق جديد بتحويل الحمض الدهني إلى جذر هيدروبروكسيد.

ج- مرحلة النهاية: تتعرض الهيدروبيروكسيدات الناتجة إلى عدة تحولات، أما ترجع بواسطة إنزيم GPx(Glutathione peroxidase).

III- 4- مضادات الأكسدة

تعتبر مضادات الأكسدة ثورة العالم الحديث، فهي من المواد ذات أهمية بالغة كونها تحمي الجسم عن طريق محاربة الجذور الحرة والناتجة عن الإجهاد التأكسد وذلك بخلق التوازن بين المواد المؤكسدة من جهة والمواد المضادة للأكسدة من جهة أخري [64].

III- 4-1- الأكسدة Oxydation .

تعرف الأكسدة بأنها عملية فقدان الالكترونات من قبل الذرات، الجزيئات أو الايونات ينتج عنها زيادة في الشحنة الموجبة او نقصان في الشحنة السالبة[64].

تعرف مضادات الأكسدة أنها مركبات لديها القدرة على منع أكسدة المركبات الأخرى أو إعاقتها، حيث تقوم بتقديم إلكترونات إلى الجذور الحرة، و تتحول بدورها إلى جذور حرة ضعيفة غير فعالة و غير سامة [6].

والدور الأساسي لمضادات الأكسدة هو كسر سلسلة التفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة

تقسم مضادات الأكسدة من حيث مصادرها إلى قسمين طبيعية ومصنعة[57].

III- 4-2- مضادات الأكسدة الطبيعية:

تحمل العضوية أنظمة دفاعية جد فعالة و تنقسم إلى نوعين: مضادات الأكسدة الإنزيمية و مضادات الأكسدة غير الإنزيمية. هذه المواد المضادة للأكسدة يمكن استخدامها في علاج أو محاولة الوقاية لمنع الأكسدة [37] .

III -4- 2- 1- مضادات الأكسدة الإنزيمية:

- ✓ **إنزيم سوبر أكسيد ديسموتاز (Superoxide dismutase SOD):**

عبارة عن بروتين معدني يتواجد في كل العضيات الحيوانية والنباتية وفي كائنات الدنيا لاهوائية، حيث يكمن دور هذا الأنزيم في تقصير مدة حياة أيون فوق الأكسيد فهو يعتبر كإنزيم مفتاح للدفاع ضد الجذور[58].

- ✓ **إنزيم الكتالاز Catalase :**

تكمن الوظيفة الأساسي لإنزيم الكتالاز في النبات هو حماية الأنسجة من التأثيرات السمية لبروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) كما يعمل على إزالة الالكترونات التي تقود إلى إنتاج(O_2). كما يتواجد إنزيم الكتالاز في جميع الكائنات الهوائية و في الخلايا التي تحتوي السايتوكروم، حيث تمت تنقيتها و درست فعاليتها في العديد من النباتات منها السبانخ و ثمار التفاح الأصفر [59].

- ✓ **إنزيمات الجلوتاثيون بروكسيداز Glutathion peroxidases :**

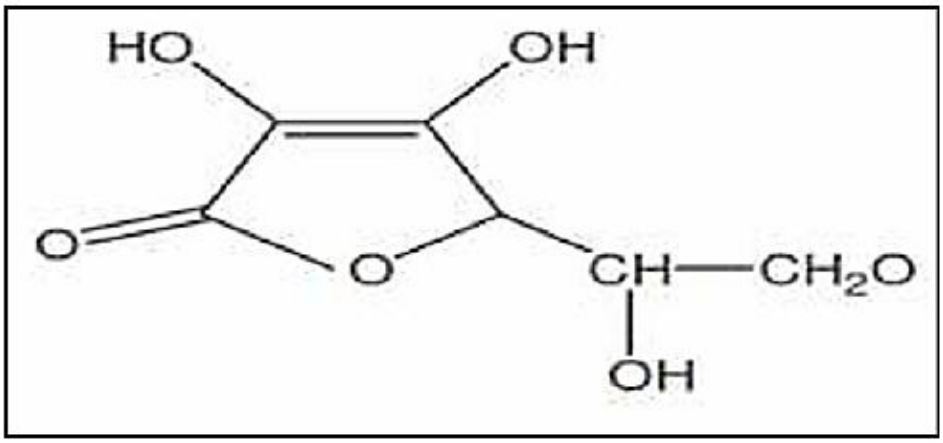
يتواجد هذا الإنزيم في الميتاكوندريا [55] ، و مهمتها إتلاف بروكسيد الهيدروجين و البروكسيدات الليبيدية[60].

III -4- 2- 2- مضادات الأكسدة غير الإنزيمية:

هناك عدة مضادات للأكسدة غير إنزيمية منها:

- **الفيتامين C :**

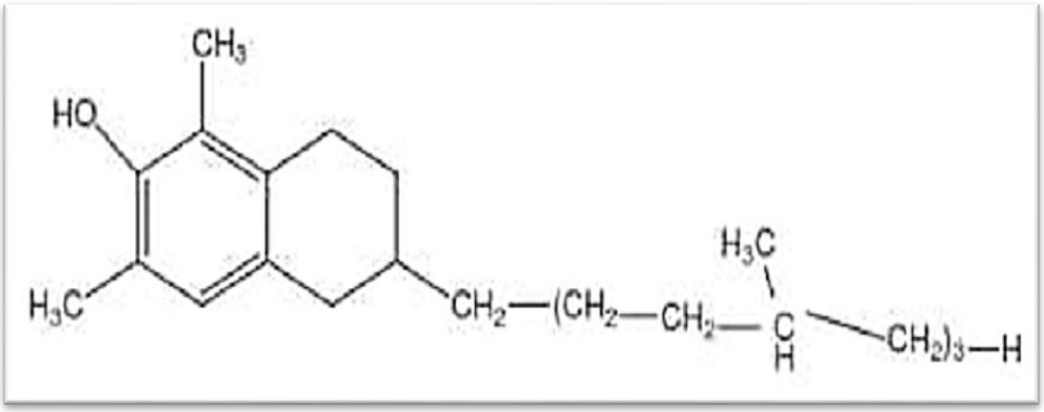
مركب قابل لذوبان في الماء، يتواجد في السيتوزول و في السوائل خارج خلوية، يتم صنعها في الكبد ابتداء من الغلوكوز عند كل الثديات، و لا يتم صنعها عند الإنسان. يمتلك حمض الأسكوربيك وظائف متعددة مضادة للأكسدة من أهمها إزاحة. OH وO_2 بإمكان حمض الأسكوربيك أن بتفاعل مع الفيتامين E [55].



الوثيقة III:8 *بنية الفيتامين C*

- **الفيتامينE:**

هي مركبات ذائبة في الدهون، تعيق المرحلة الابتدائية و مرحلة الانتشار في الأكسدة الذاتية. تساعد بنيتها على التقاط الجذور الحرة حيث ترتبط خواصها المضادة للأكسدة بقدرتها على منح ذرة هيدروجين [62]يتواجد الفيتامين E في الزيوت النباتية الأنوية و البذيرات و الفيتامين المستخلص طبيعيا يبدي قوة بيولوجية تفوق مرتين من الفيتامين الاصطناعي [55] .



الوثيقة III:9 *بنية الفيتامين E .*

- **إنزيم جلو تاثيون Glutathion:**

عبارة عن ببتيد ثلاثي يمثل أهم مضادات الأكسدة التي لها دور في الحماية داخل العضوية، يقدر تركيزه بالميلي مولر في جميع الخلايا تقريبا كما يوجد في السوائل الخارج خلوية بتراكيز جد ضعيفة، فهو عامل مساعد لإنزيم glutahtione peroxidase في تخفيض الإنتاج الداخل خلوي للبروكسيد كما تعمل عن الإزاحة المباشرة للـ ROS [37].

يعمل GSH على حماية بروتينات التي تحمل مجموعات SH من الأكسدة و التقاط الأيونات المعدنية مثل النحاس[53].

III -4- 2- 3- مضادات الأكسدة المعدنية:

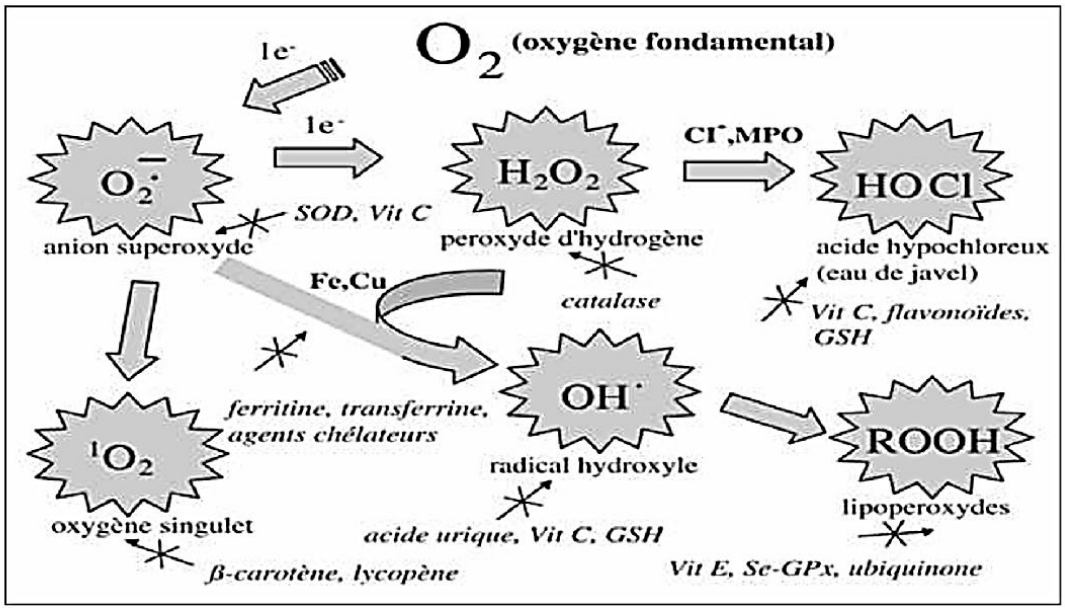
يكمن دور كل من النحاس، والزنك ، الحديد، السيلينيوم كمضادات للأكسدة من خلال دورهم كعوامل مرافقة للإنزيمات المضادة للأكسدة مثل: Catalase SOD و GPx [37].

III-4- 3- مضادات الأكسدة الصناعية:

حسب[57] تعتبر عنصر أساسي يجب إضافتها للأطعمة المعلبة للتقليل تلفها إلى أقصى حد وذلك لتـأكسدها قبل غـــيرها مـــــــنها:

1. Butylhdroxyanisole(BHA) .
2. Butylhydroxytoluene (BHT) .
3. gallate propylene(PG).
4. tetre-butylhydroquinone (TBHQ)

هذه المركبات واسعة الاستعمال في الصناعة الغذائية لأنها فعالة و قليلة التكلفة بالمقارنة مع مضادات الأكسدة الطبيعية [63]. كما وجد أن لهذه المضادات تأثيرات سامة وسرطانية على صحة الإنسان [64].



*الوثيقة **III:10** بعض آليات مضادات الأكسدة*

III-5- الفعالية المضادة للبكتيريا:

III-5-1- تعريف المضادات الحيوية:

هي كل مادة كيميائية منتجة من قبل الكائنات الحية أو اصطناعية و لها القدرة على تثبيط أو إيقاف نمو الكائنات الدقيقة [65].

III -5-2- تعريف البكتيريا:

وهي عبارة عن كائنات دقيقة,بدائية النوا ة [66] procaryote تتركب من جدار وغشاء خلوي يحيطان بالسيتوبلازم والتي تحتوي كروموسوما حلقيا واحدا ADN ولا يحتوي على بروتين الهيستون وقد يحتوي على واحد أو أكثر من جزيئات ADNعلى شكل حلقات صغيرة تسمى البلازميدات، تحتوي أيضا على الرايبوسومات وبعض الأجسام التخزينية [67].

تتواجد البكتيريا في كل مكان، في التربة، الهواء، الماء، وعلى جسم الإنسان ، وداخل قناته الهضمية، وجهازه التنفسي [67].

الجزء العملي

الفصل الأول:

الوسائل المستعملة

والطرق المتبعة

I- الأدوات المستعملة والطرق المتبعة:

I- 1- الأدوات المستعملة:

I-1-1-الأدوات المستعملة في تحضير المادة النباتية:

عند جمع النبات استعملنا الأدوات الموضحة في الجدول (01):

جدول I.1 *الأدوات المستعملة أثناء جمع وتحضير النبات.*

الطرق0	الأدوات المستعملة
الجمع	مقص - أكياس ورقية
التجفيف	قطعة قماش
الطحن	مقص- ألة كهربائية - أكياس ورقية

I-1-2-الأدوات المستعملة للكشف الكيميائي عن مواد الأيض الثانوي في النبات:

الأدوات والمحاليل المستعملة في المخبر للكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي في النبات موضحة في الجدول (02):

جدول I.2 *الأدوات والمحاليل المخبرية المستعملة للكشف الكيميائي للمواد الفعالة في النبات.*

مواد الأيض الثانوي	المحاليل المستعملة	الأدوات المستعملة
الصابونوزيدات	-المادة النباتية المجففة والمطحونة. -ماء مقطر.	-ميزان حساس. -حوجلة مدرجة - بيشر -أوراق ترشيح - قمع - أنابي إختبار - ملعقة - مسطرة- حاملة - أنابيب إختبار Papier film -
التانينات	-المادة النباتية المجففة والمطحونة. -محلول حمض كلور الماء HCl	-ميزان حساس. -حوجلة مدرجة - بيشر- أوراق ترشيح - قمع - أنابيب

	-محلول NH_4OH-ماء مقطر.	إختبار- Micropipette
الفلافونيدات	-المادة النباتية المجففة والمطحونة. -محلول حمض كلور الماء HCl -محلول NH_4OH-ماء مقطر.	-ميزان حساس. -حوجلة مدرجة - بيشر- أوراق ترشيح - قمع - أنابيب إختبار- Micropipette
القلويدات	-المادة النباتية المجففة والمطحونة كاشف Wagner	-ميزان حساس. -مسخن بنزن- بيشر- أوراق ترشيح - ملصقات -أنابيب إختبار - Micropipette.

I-1-3- الأدوات المستعملة عند الإستخلاص:

عند عملية الإستخلاص قمنا باستعمال الادوات والمحاليل والأجهزة الموضحة في الجدول (03):

جدول 3.I *الأدوات المستعملة والمحاليل المخبرية المستعملة أثناء عملية الإستخلاص.*

الأدوات	المحـاليل	الأجهزة
-المادة النباتية- قمع زجاجي -ورق ترشيح- بيشر. Spatule - ErlenmeyerBallon Ampoule à decanter-	-ميثانول - ماء مقطر	-ميزان حساس. -جهاز المبخر الدوراني (Rotavapeur)

I-1-4- الأدوات المستعمل عند التقدير الكمي للمركبات الفينولية بالطرق اللونية:

خلال عملية التقدير الكمي لكل من عديدات الفينول قمنا باستخدام المحاليل الكيميائية والادوات والاجهزة التالية جدول (04) :

جدول 4.I *الأدوات المستعمل عند التقدير الكمي للمركبات الفينولية بالطرق اللوني.*

	المحاليل	الأدوات	الأجهزة
التقدير الكمي للفينيولات الكلية	-إيثانول -حمض الغاليك -كربونات الصوديوم Na_2CO_3(%7.5) -كاشف Folin Ciocalteau (%10)	- أنابيب إختبار - بيشر - حامل أنابيب إختبار - Micropipette Spatule - Les cuves	- ميزان حساس - الضوئية جهاز المطيافية (Spéctrophotométre)

I-1-5- الأدوات المستعملة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

بالنسبة لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة استعملنا المحاليل الكيميائية و الأدوات والأجهزة المدرجة في الجدول (05) .

جدول 5.I *الأدوات المستعملة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة.*

	المحاليل والمواد	الأدوات	الأجهزة
إختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT)	-المستخلصات النباتية - إيثانول حمض الكبريتيك فوسفات الصوديوم موليبدات الأمونيوم.	- أنابيب إختبار -بيشر -حامل أنابيب إختبار -ورق ألامنيوم - Micropipette Spatule Les cuves	- ميزان حساس. -جهاز المطيافية الضوئية: Spéctrophotométre
إختبار	إيثانول	-- أنابيب إختبار	- ميزان حساس.

اقتناص الجذر الحر (DPPH•)	-حمض الأسكربيك - المستخلصات النباتية- DPPH• (0.1 mM)	-بيشر -حامل أنابيب إختبار -ورق ألامنيوم - Micropipette Spatule Les cuves	-جهاز المطيافية الضوئيةSpéctrophotométre:

I-1- 6- الأدوات المستعملة عند النشاطية البيولوجية المضادة للبكتيريا:

خلال إختبار النشاطية البيولوجية للمستخلصات النباتية على الأنواع البكتيرية المختبرة استعملنا المحاليل والأدوات والأجهزة الموضحة في الجدول (06):

جدول 6I *الأدوات المستعملة عند النشاطية البيولوجية المضادة للبكتيريا.*

	المحاليل والمواد	**الأدوات**	**الأجهزة**
إختبار النشاطية البيولوجية المضادة للبكتيريا	- المستخلصات النباتية - وسط الزرع Muller Hinton -ماء فيزيولوجي معقم -محلول الايثانول	-أنابيب إختبار -حامل أنابيب إختبار -أطباق بيتري -ماسح قطني -مسطرة مدرجة - Micropipette -Pipette Pasteur	-ميزان حساس -موقد بنزن -حاضنة - Autoclave

I-2- الطرق المتبعة:

I-2-1- الطرق المتبعة في جمع و تجفيف المادة النباتية:

كما هو الحال بالنسبة لمعظم النباتات الطبية فإن نبتة الطرفة *Tamarix boveana B* تم جمعها في شهر جانفي 2017 وذلك من منطقة الوادي تحديد بمنطقة قمار، اقتصر إهتمامنا على الأوراق والجذور ،حيث توضع العينات داخل أكياس مع الأخذ بعين الإعتبار عدم تعرض النبات الى أشعة الشمس، ثم توزع على قطعة قماش ببضاء في درجة حرارة الغرفة مع التقليب يوميا.

-بعد عملية التجفيف نقوم بطحن المادة النباتية الجافة بواسطة آلة طحن كهربائي مع غربلة المسحوق مرتين و حفظ هذا الأخير في أكياس بلاستكية.

I-2-2- الكشف الكيميائي لبعض المواد الفعالة في المستخلصين المائي والكحولي لنبات الطرفاء *Tamarix boveana B* :

في ضوء دراستنا عن النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصين الإيثانولي و المائي لنبات الطرفة *Tamarix boveana B* ،فقد اجرى التحري عن محتوى المستخلصين لبعض المركبات الفعالة التي تحتويها.

I-2-2-1- الكشف عن الصابونين:

لكشف عن الصابونين و ذلك بإضافة القليل من الماء المقطر إلى 2مل من المستخلص المائي أو الإيثانولي، ثم يرج المحلول بقوة ثم يترك لمدة 20دقيقة، و يتم تقييم محتوى الصابونين كالتالي:

- عدم تشكل رغوة =إختبار سلبي، وهذا يعني عدم وجود الصابونين.
- رغوة أقل من 1سم = إختبار إيجابي ضعيف، وهذا يعني وجود الصابونين بكمية ضعيفة.
- رغوة من 1-2سم = إختبار إيجابي، وهذا يعني وجود الصابونين.
- رغوة أكثر من 2سم = إختبار إيجابي للغاية، وهذا يعني غني جدا بالصابونين. [37]

I-2-2-2- الكشف عن التانينات:

للكشف عن وجود التانينات و ذلك بإضافة لـ 1مل من المستخلص المائي أو الإيثانولي 1مل من الماء المقطر و 1إلى 2قطرات من محلول $FeCl_3$المخفف إلى 1%ظهور اللون أخضر داكن أو أخضر مزرق يدل على وجود التانينات [37].

I-2-2-3- الكشف عن الفلافونيدات:

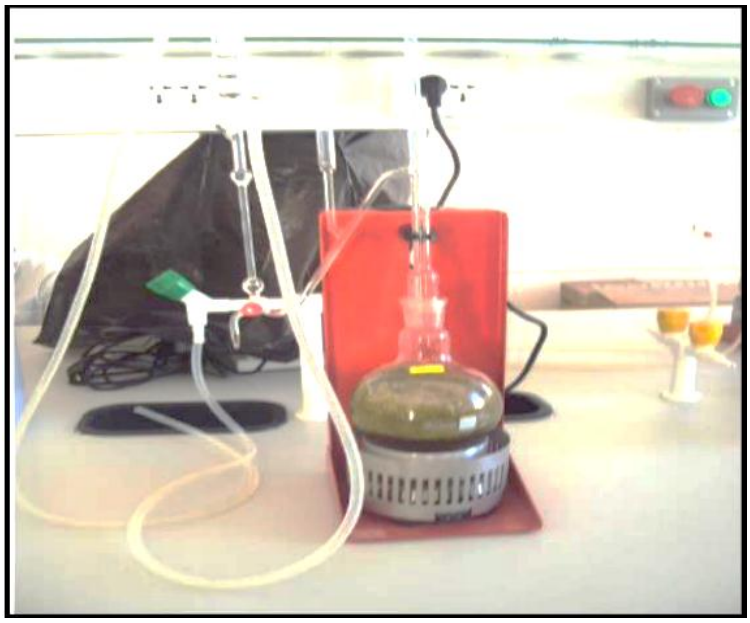
يتم الكشف عن الفلافونيدات بمزج 2مل من المستخلص المائي أو الإيثانولي مع 1مل من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز(0.5 مولاري)، ظهور اللون الأصفر دليل على وجود الفلافونيدات [68].

I-2-2-4- الكشف عن القلويدات:

و ذلك بإضافة لـ 1مل من المستخلص المائي أو الإيثانولي عدة قطرات من الكواشف التالية:
كاشف Wagnerظهور راسب بني، و كاشف دراجندروف Dragendroff ظهور راسب برتقالي[68].

I-2-2-5 - الزيوت الطيارة:

نأخذ حوالي 100غ من مسحوق أوراق نبات الطرفة*Tamarix boveana B* و نضعها في دورق نضيف إليها 100مل من الماء المقطر، من ثم نوصل الدورق بجهاز الزيوت الطيارة بحيث يغلى الدورق ببطء و بحرص شديد لمدة 4إلى 5ساعات. [69]



الوثيقة I:1 *جهاز كليفنجر (صورة فوتوغرافية أصلية).*

I-2-2- 3 - طريقة تحضير المستخلص المائي و الإيثانولي لنبات الطرفاء *Tamarix boveana B*:

نأخذ عينة من مسحوق النبتة الجافة وزنها 50غ مع 500مل من الماء المقطر في حالة المستخلص المائي و(80%)من الإيثانول (20%) من الماء المقطر في حالة المستخلص الكحولي، نقوم بعملية النقع لمدة 24ساعة في درجة حرارة المخبر انظر الملحق رقم 1، و من أجل الحصول على أكبر كمية ممكنة نكرر العملية ثلاثة مرات لكل مستخلص، بعد ذلك نرشح كلا المستخلصين باستخدام ورق الترشيح حيث جمعت خلاصة التكرارات الثلاثة و تعرض لعملية التبخير باستعمال جهاز التبخير تحت

درجة حرارة 60°م بالنسبة للمستخلص الإيثانولي أما المستخلص المائي تحت درجة حرارة، 65°حيث نحصل في النهاية على ناتج عبارة عن المستخلص الخـام، يحفظ لحـين الاستخدام [70] .

I-2- 4 -المردودية:Rendement

حسب[71] تحسب إنتاجية المستخلص الإيثانولي أو المائي نتبع المعادلة التالية:

$$R(\%) = (Me/Ms) \times 100$$

Me : كتلة المستخلص المتحصل عليها بعد التبخر.

Ms : كتلة المادة الجافة المستعملة.

R: نسبة المردودية.

الوثيقة I:2 *جهاز Rotavapeur المستعمل في الدراسة (صورة فوتوغرافية أصلية).*

I-2- 5 - تقدير الفينولات الكلية:

تم تقدير الفينولات الكلية حسب[72] بواسطة كاشفFolin-ciocalteau، حيث نقوم بمزج 0.2مل من المستخلصات الإيثانولية أو المائية مع1مل من محلول،Folin-ciocalteau (10%)ثم تحضن الأنانيب في الظلام مدة 5 دقائق، بعدها نضيف 0.8 مل كربونات الصوديوم (7.5%) و تحضن في الظلام لمدة 30 دقيقة. تقاس إمتصاصية الناتج عند طول الموجة 765نانومتر و يستعمل حمض الجاليك لتحديد منحنى العيارية، و يتم التعبير عن النتائج بالملغ مكافئ مع حمض الغاليك لكل غرام من المستخلص.

I-2- 6- قياس الفعالية المضادة للأكسدة:

I-2- 6- 1- إختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة(CAT):

تم تقدير القدرة الكلية المضادة للأكسدة للمستخلصين الإيثانولي و المائي بالاعتماد على phosphomolybdenum حيث نقوم بمزج 0.1مل من المستخلص ما يعادل(100µg)مع 1مل من المحلول الكاشف(0.6mM حمض الكبريتيك، 28mM فوسفات الصوديوم، 4mM موليبدات الأمونيوم) [72].

الوثيقة I:3 *إختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة(CAT)*

I-2- 5- 2- إختبار تثبيط الجذر الحر •DPPH:

❖ **مبدأ عمل جذر •DPPH :**

جذر •DPPH هو اختصار ل ثنائي فنيل بكريل هيدرازيل وهو مادة صلبة ذو اللون البنفسجي المسود، يعطي لونا برتقالي مصفر عند استقراره، يبقي هذا الجذر مستقر لعدة ايام وذلك لوجود الحلقات الأروماتية التي تحمل أشكال رنينية متعددة وهذا يعني عدم تمركز الالكترونات بموقع واحد [73].

❖ **إختبار تثبيط الجذر الحر •DPPH :**

تعتمد هذا الإختبار على تثبيط الجذور الحرة •DPPH وذلك اعتمادا على قابلية إعطاء المستخلصات لذرة الهيدروجين حيث يمكن تتبع عملية إرجاع •DPPH لونيا باستعمال جهاز الطيف اللوني وذلك بقياس مقدار الانخفاض في الإمتصاصية هذا الانخفاض يمكننا من معرفة قدرة المستخلصات من تثبيط [74].

الوثيقة I:4 *جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotométre.*

❖ **تحضير محلول •DPPH :**

تحضير محلول •DPPH ذو التركيز (0.4 Mmol/ml) وذلك بإذابة 4 mg من •DPPH في 100 ml من ميثانول[76].

❖ **تحضير التراكيز:**

لتحضير المستخلص الأصلي تم أخذ 0.05 ملغ من المستخلصات المدروسة وذلك بإذابته في 10مل من المذيب المائي والايثانولي للحصول على محلول الأم ذو تركيز 5mg /ml و انطلاقا من هذا التركيز تم تحضير بقية التراكيز المخففة بإضافة الإيثانول للمستخلص الايثانولي وبإضافة الماء للمستخلص المائي بالعلاقة التالية [76] $C_1V_1=C_2V_2$

❖ **طريقة العمل:**

يتم قياس النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصين المائي و الإيثانولي بتعيين النشاط الكابح للجذور الحرة باستخدام $DPPH^{\bullet}$ حسب تحضير تراكيز مختلفة من المستخلصين الإيثانولي و المائي حيث نمزج 1مل من كل مستخلص ((0.001 -1) مغ /مل)مع 2مل من محلول $DPPH^{\bullet}$ (0.1 mM).نترك المزيج مدة 30دقيقة في الظلام، بعدها تقرأ الإمتصاصية في طول موجة 517نانومتر[77].

حساب نسبة التثبيط I % للجذر الحر $DPPH^{\bullet}$:

يتم حساب نسبة تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ لمختلف التراكيز للمستخلصات النباتية وحمض الأسكوربيك Acide ascorbique وفق المعادلة التالية:

$$I\% = \frac{(A_0 - Ai)}{A_0} \times 100$$

(I%) : نسبة التثبيط .

A_o: تمثل إمتصاصية الشاهد.

A_i :تمثل إمتصاصية العينة.

باستخدام اكسل(Excel) نرسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز، حيث نحصل على التركيز المناسب للقضاء على 50 %من الجذور الحرة و الذي يعرف على أنه تركيز المستخلص اللازم لتثبيط كبح (50 %)من جذر $DPPH^{\bullet}$ و الذي نحسبه من المعادلة منحنى تغير نسبة التثبيط (I %) بدلالة تراكيز المستخلصات[76].

I-2- 6- الطرق المستعملة لدراسة الفعالية البيولوجية

I-2- 6-1 - السلالات البكتيرية المستعملة:

خلال دراستنا تم استخدام ثلاث أنواع البكتيرية وهي:

-Escherichia coli ATCC 25922.

-Staphylococcus aureus ATCC 25923.

-Pseudomonas aeruginosa ATCC27853.

وتتميز كل سلالة بعدة خصائص نذكر منها ما يلي[80]:

- ✓ **Escherichia coli ATCC 25922:**

تنتمي إلى عائلة Enterobacteriaceaeوهي بكتيريا هوائية سالبة الغرام، تعيش في جسم الإنسان والحيوان و النبات و في التربة، تكون متحركة على شكل عصيات، مسببة للأمراض من هذه الأمراض: أمراض الجهاز البولي، الإسهال الطفيلي، إلتهاب السحايا، وتسمم الدم. و من خصائصها البيوكيميائية:

Oxydase (-), Nitrate (+), Glucose(+), Lactose (+), Indole (+) NO3 (+) مختزلة للنيترات

- ✓ **Staphylococcus aureus ATCC 25923:**

تنتمي إلى عائلة Micrococaceae وهي بكتيريا موجبة الغرام كروية الشكل تسمى كوكسي (cocci) تأخذ مستعمراتها لون الأصفر البراق، عديمة الحركة، تكون عناقيد على شكل اكوام، وتتواجد لدى الانسان في الجلد والامعاء والجهاز التناسلي وعلى الوجه. هذه البكتيريا مسؤولة على تسمم الغذاء، وتتسبب في التهابات جلدية خطيرة ورئوية وأمراض السحايا وتسمم الدم وغيرها، ومن خصائصها البيوكيميائية ما يلي:

Catalase (-), Oxydase (-), VB (-), Novobiocine (+), Dnase (+).

- ✓ **Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853:**

تنتمي إلى عائلة Pseudomonaceaeوهي بكتيريا سالبة الغرام متحركة هوائية مصدرها الجهاز الهضمي للإنسان و الحيوان وكذلك الماء و التربة تعمل على الإتلاف السطحي للأغذية المبردة وتعد من بين الميكروبات المحللة و المطهرات مما يفسر نموها و تكاثرها في الأوساط الاستشفائية حيث

تنمو في الأجهزة الطبية، الافرشة، الألبسة،...، وتكون ممرضة بضعف الجهاز المناعي للجسم. ومن خصاصها البيوكيميائية:

Catalase(+), oxydase(+), Gélatinase(-) ADH (+)مختزلة للنيترات.

I-2- 6-2- المضادات الحيوية:

أثناء إختبار نشاطية المستخلص الإيثانولي لنبات الطرفة *Tamarix boveana B* على الأنواع البكتيرية الثلاثة تم استعمال مضاد حيوي بقصد المقارنة بين الفعالية البيولوجية للمستخلص الإيثانولي والمستخلص المائي مع هذه المضاد و هو: Ampicilline AMP_{25}**.**

الوثيقة I:5 ***المضاد الحيوي Ampicilline AMP_{25}***

I-2- 6-3 - تحضير الأقراص:

يتم تحضير الأقراص انطلاقا من ورق whatemanوالتي يتم فصلها إلى أقراص صغيرة بقطر 5ملم لكل قرص.

I-2- 6-4- تحضير أوساط الزرع

يتم تحضير اطباق بتري معقمة ذات قطر 9سم ونسكب بها وسط الزرع Mueller Hintonالذي تم إذابته في حمام مائي تحت درجة حرارة،C^o 100وبعد أن تبرد يتم وضعها في الحاضنة 37 لمدة 30دقيقة قبل الاستعمال[56].

I-2- 6-5- زراعة البكتيريا:

نأخذ مستعمرة أو اثنين من كل سلالة بكتيرية نقية بواسطة ماصة باستور معقمة، أين توضع في أنبوب إختبار الذي يحتوي على ماء فيزيولوجي بحجم 10مل وترج قليلا حتى الحصول على معلق بكتيري وبعدها يغمس ماسح قطني معقم في هذا المعلق ثم يمسح به كامل سطح الوسط الجاف (Mueller Hinton) بشكل خطوط متلاصقة مع تكرار العملية ثلاث مرات وذلك بتدوير الطبق بـ60^{o}في كل مرة بواسطة ملقط معقم يتم وضع قرص من ورق (watheman) المعقمة على سطح الطبق المزروع ثم يتم وضع 1ميكرولتر من المستخلص الإيثانولي على هذا القرص و وضع قرص من المضاد الحيوية AMP_{25}على هذا الطبق، وبعدها يتم حضن الأطباق لمدة 18ساعة في درجة حرارة 37^{o}م، إذ توضح الوثيقة التالية الخطوات المتبعة في عملية الزرع[67].

الوثيقةI:6 *خطوات دراسة النشاطية التثبيطية للمستخلص الإيثانولي والمستخلص المائي على الانواع البكتيرية .*

الفصل الثاني:

النتائج و المناقشة

II- نتـــائج إختبارات الكشف الكيميائي:

II-1- إختبارات الكشف الكيميائي لبعض المواد الفعالة في نبات *Tamarix boveana B*:

إختبارات الكشف الكيميائي، تتضمن الكشف عن مختلف المركبات الفعالة الموجودة في النبات المدروس و ذلك من خلال إختبار تفاعلات نوعية. و تعتمد هذه التفاعلات أما بتشكل راسب أو بتغير في اللون بواسطة الكواشف الخاصة بكل عائلة من المركبات الفعالة، وكانت نتائج إختبارات الكشف النوعية المطبقة في نبات *Tamarix boveana B* كالتالي:

جدول 1II- *يوضح نتائج الكشوفات الكيميائية للمستخلصين المائي و الإيثانولي لنبات Tamarix boveana B.*

المركبات الفعالة	المستخلص المائي الأوراق	المستخلص الايثانولي الأوراق	المستخلص المائي للجذور	المستخلص الايثانولي للجذور
الفلافونيدات	+	+	+	+
القلويدات	+	+	+	+
التانينات	+++	+++	+++	+++
الصابونيات	–	–	–	–

(-):غياب المادة الفعالة.

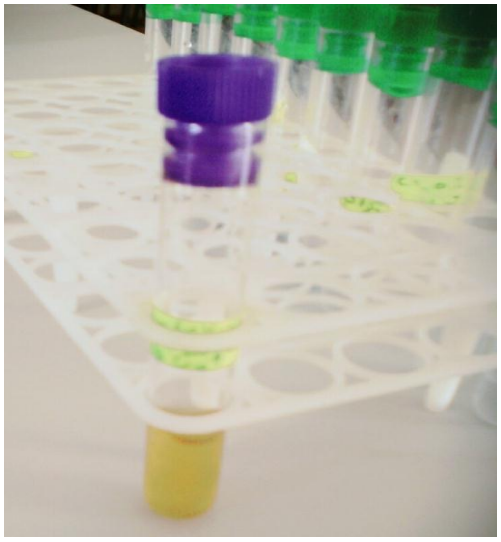
(+):وجود المادة الفعالة.

(+++):غني جدا بالمادة الفعالة

من خلال الجدول يتبين لنا أن نبات الطرفة ***Tamarix boveana B*** غني بالمواد الفعالة، وذلك بعد الكشف الكيميائي عن المركبات التالية : القلويدات، الفلافونيدات ، و التانينات ، ولوحظ غياب كل من الصابونيات.

✓ **الكشف عن الفلافونيدات:**

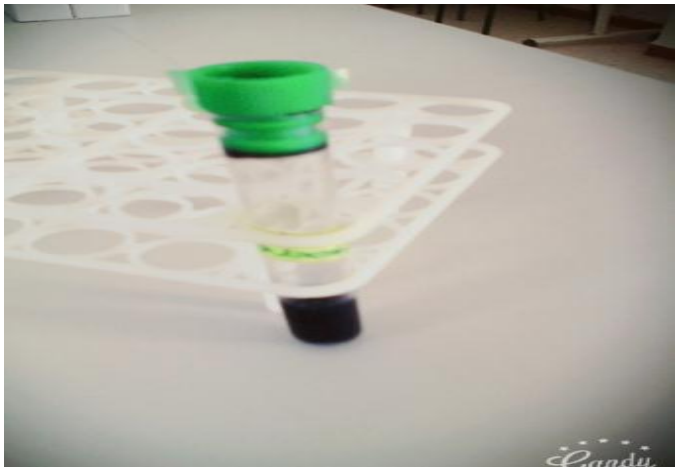
ظهور طبقة في الأعلى لونها أصفر دليل على وجود الفلافونويدات في نبات الطرفة ***Tamarix boveana B***.



✓ **الكشف عن القلويدات :**

بالنسبة للقـــلويدات بعد إضافة قطرات من كـــــاشف Wagnerنلاحظ تشكل راسب بني، هذا دليل على وجود القلويدات في هذا النبات.

✓ **الكشف عن التانينات :** نلاحظ ظهور لون ازرق مسود دليل على وجود التانينات (Tanins galliqus).

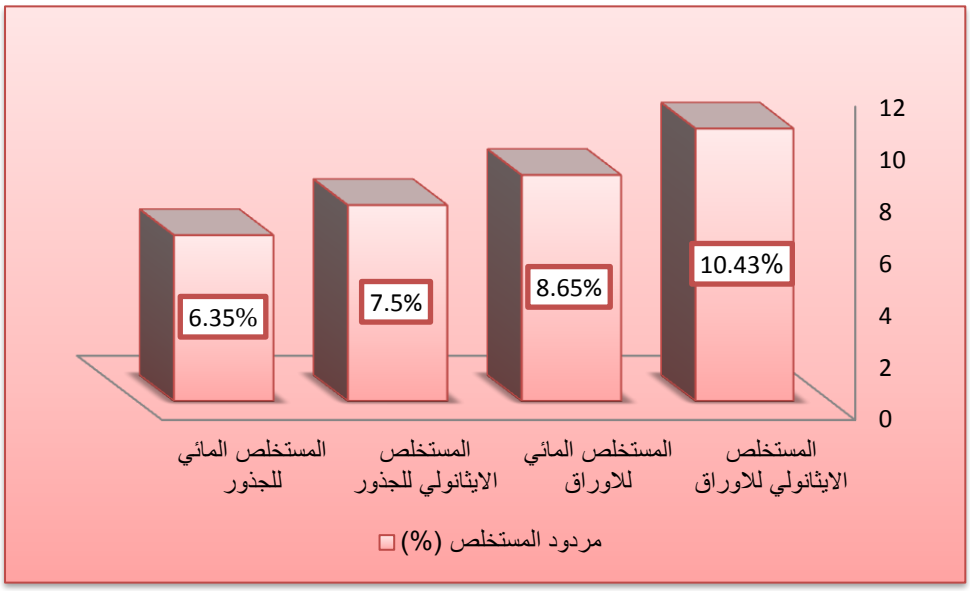


✓ **الزيوت الطيارة:**

بعد توصيل الدورق المحتوي على المحلول المائي بجهاز الزيوت الطيارة، عدم ظهور طبقة فوق الماء دلالة على عدم وجود الزيت الطيارة، مما يعني أن أوراق نبات طرفة فقيرة من الزيوت الطيارة

II-2- مردودية المستخلصات:

تم تحضير المستخلصات بواسطة النقع، فوجد أن مردود المستخلص الإيثانولي أعلى من مردود المستخلص المائي و المعبر عنها بنسبة مئوية كما هو موضح في الوثيقة (1).



الوثيقة II:1 *المردودية لإنتاجية المستخلص المائي و الإيثانولي لنبات الطرفة Tamarix boveana B.*

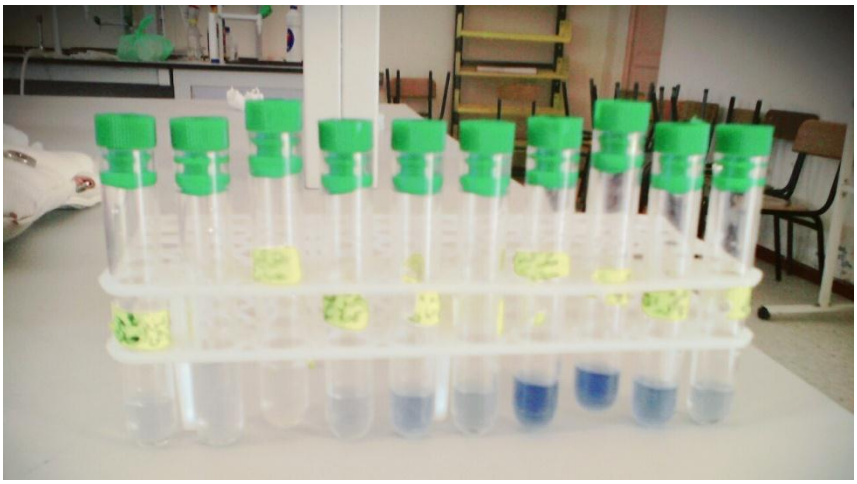
نلاحظ أن نسبة المردودية لإنتاجية المستخلص الإيثانولي للأوراق قدرت بـ (10.43%) أما للجذور فقدرت نسبته ب (7.5 %) مقارنة بالمستخلص المائي فقد قدرت نسبة المردودية للأوراق ب(8.65%) أما للجذور فقد قدرت نسبته ب(6.35%)،ويرجع هذا الاختلاف البسيط في قيم المردودية لإنتاجية المستخلصين للأختلاف في نوع المذيب،

كما نلاحظ أن كمية المردودية المتحصل عليها للمستخلص الإيثانولي كانت أكبر مقارنة بالنسبة للمردودية المتحصل عليها للمستخلص المائي هذا الاختلاف يرجع إلى نوع المذيب، وأيضا إلى الجزء النباتي. أنظر (الملحق رقم 4).

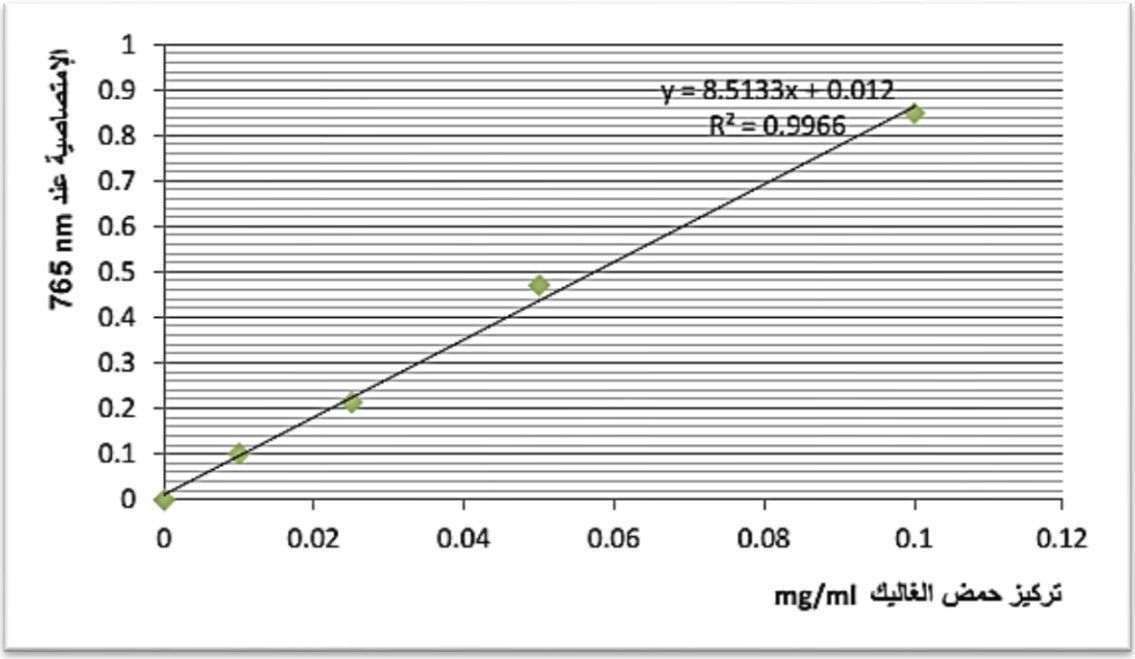
II-3- تقدير الفينولات الكلية:

بإستعمال منحنى العيارية لحمض الغاليك كمرجع للمستخلص الإيثانولي والمائي الموضح في (الوثيقة 03و 04).

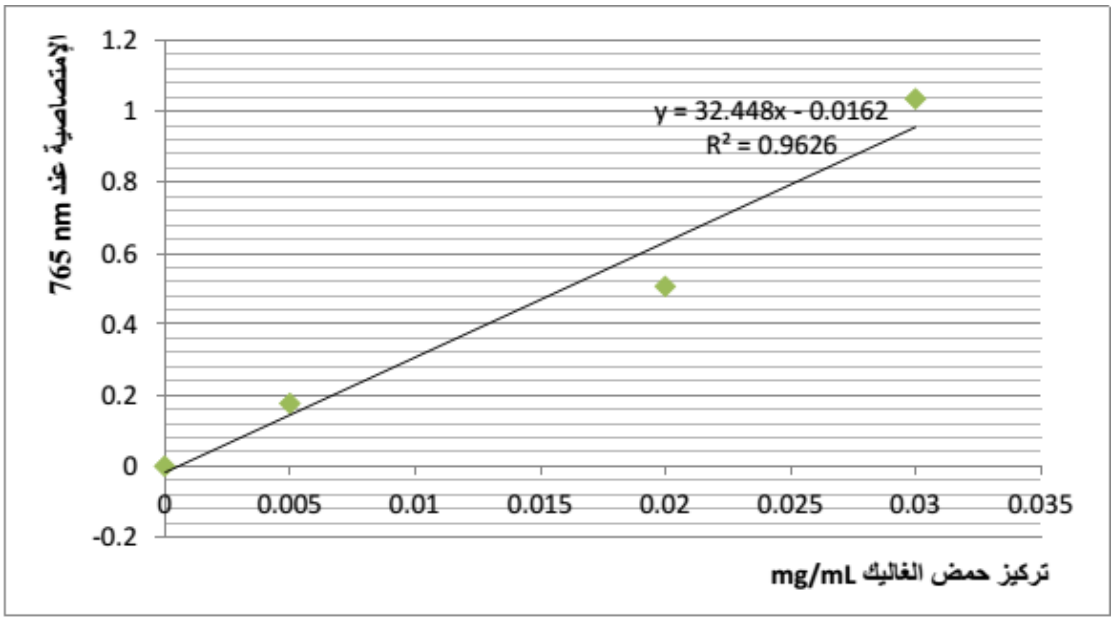
تم تدوين النتائج المتعلقة بتقدير المركبات الفينولية للمستخلصات الإيثانولية و المائية باعتماد طريقة كاشف Folin-Ciocalteu و قمنا بقياس الكثافة الضوئية في طول موجة 765nm.



الوثيقة 2:II تقدير الفينولات الكلية .

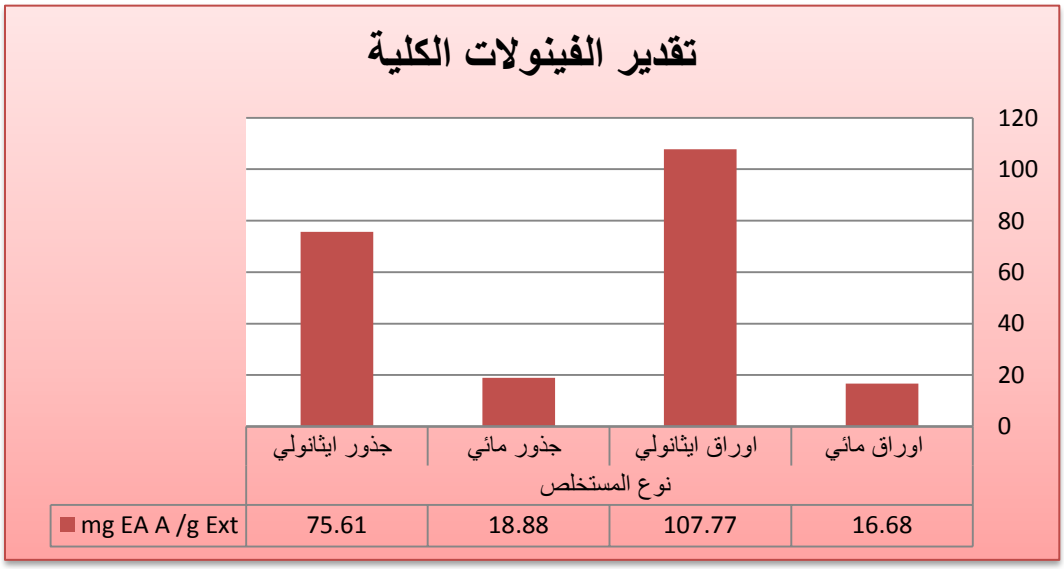


الوثيقة 3:II منحنى العيارية لحمض الجاليك لتقدير الفينولات للمستخلص الإيثانولي



الوثيقة 4:II *منحنى العيارية لحمض الجاليك لتقدير الفينولات للمستخلص المائي.*

تم التعبير عن المحتوى الفينولي في كلا المستخلصين بعدد الملغرأمات المكافئة من حمض الغاليك لكل غرام من المستخلص، لوحظ أن كمية الفينولات للمستخلص الإيثانولي أعلى من المستخلص المائي إذ قدرت كميتها بـ (107.77±1.77 mg GAE/g)، أما بالنسبة للمستخلص المائي بمقارنة مع المستخلص الإيثانولي لكل من الأوراق والجذور فهي بنسب ضعيفة (75.61±2.85mgGAE/g) كما هو موضح في الوثيقة:(5)



الوثيقة 5:II *كمية الفينولات في النبات Tamarix boveana B بالمكافئة مع حمض الجاليك.*

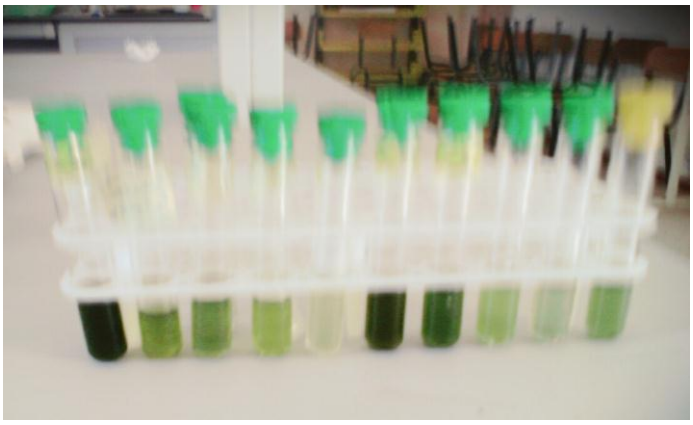
من خلال النتائج المدرجة في الوثيقة (05) والتي تمثل التقدير الكمي لعديدات الفينول بالملغ المكافئ لحمض الغاليك لكل غرام من وزن المستخلص، لوحظ أن كمية المركبات الفينولية للمستخلصين كانت متفاوتة إذ قدرت قيمتها بـ (107.77 ±1.722 mg GAE/g Ext) عند المستخلص الإيثانولي للأوراق و (16.68 ±0.836 mg GAE/g Ext) عند المستخلص المائي،أما بنسبة للمستخلص الإيثانولي للجذور فقدرت كميتها بـ (611.77 mg GAE/g Ext±75.) أما بالنسبة للمستخلص المائي للجذور فقدرت قيمتها ب (18.88±1.77 mg GAE/g Ext)

من خلال النتائج يتبين أن اختلاف في نوع المذيب يؤثر في مردود الفينولات الكلية، فالمستخلص الإيثانولي يضم أكبر كمية من عديدات الفينول مقارنة بالمستخلص المائي، وهذا يعود إلى اختلاف نسبة الذوبانية والقطبية للمركبات في المذيبات، و هذا يعني أيضا أن الإيثانول لديه القدرة الأكبر لإذابة الفينولات المتواجد في هذا النبات

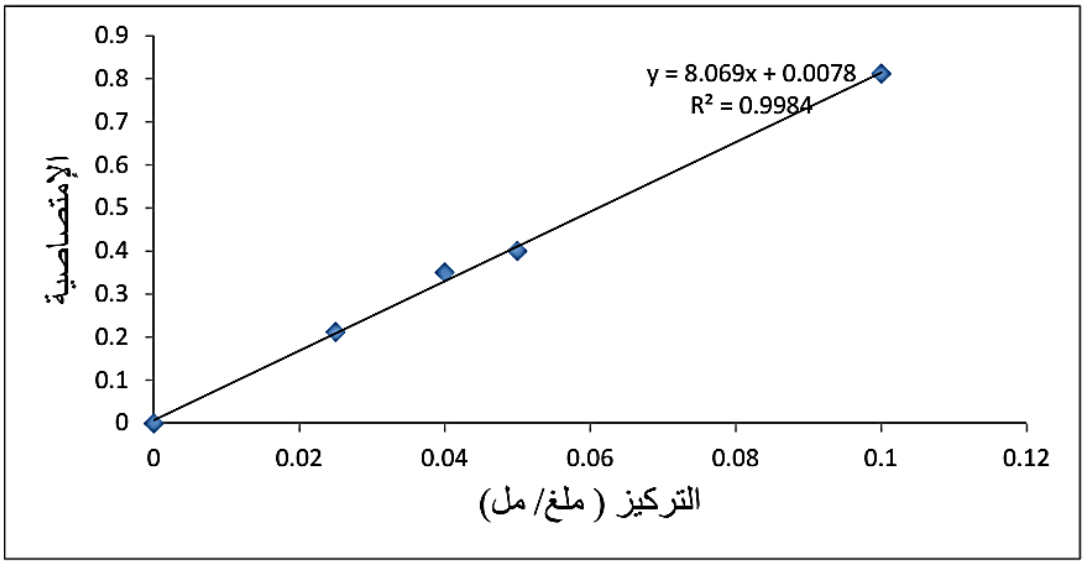
II-3- قياس الفعالية المضادة للأكسدة :

II-3-1- إختبار قدرة النشاطية المضادة للأكسدة :

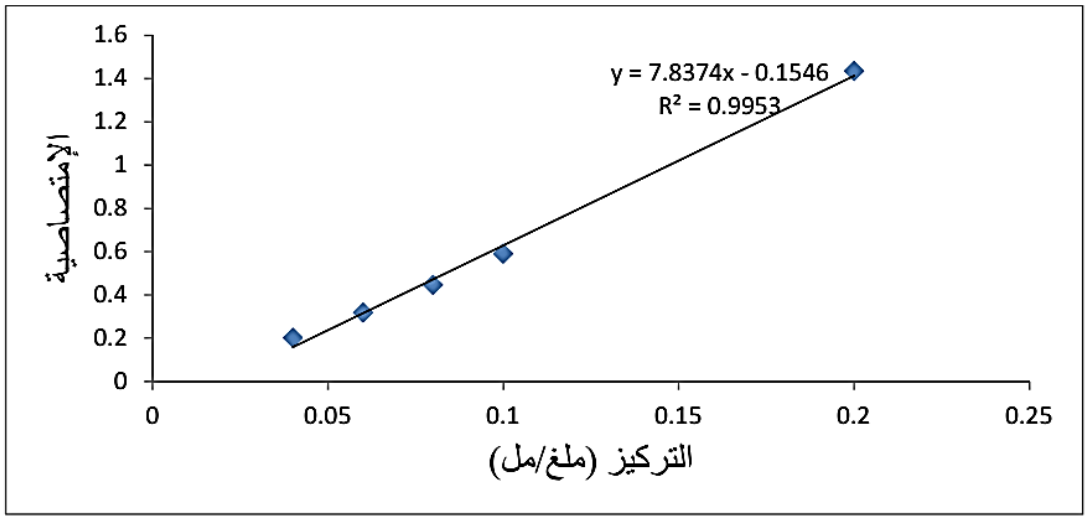
تم إختبار تقييم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية باعتماد طريقة Phosphomolybdate و استعمال حمض الجاليك كمرجع الوثيقة(07و 08) حيث سجلت النتائج المبينة في الوثيقة(09).



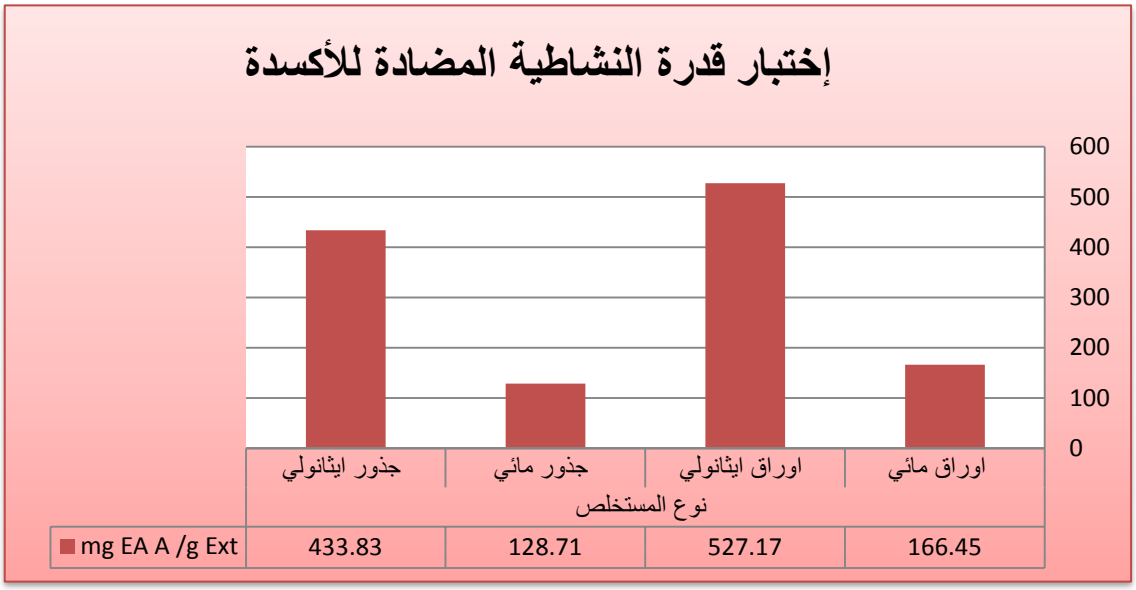
الوثيقة II:6 *إختبار قدرة النشاطية المضادة للأكسدة*



الوثيقة 7:II *منحنى العيارية لحمض الجاليك لإختبار قدرة النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص الإيثانولي.*



الوثيقة 8:II *منحنى العيارية لحمض الجاليك لإختبار قدرة النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص المائي*



الوثيقة II:9 *نتائج إختبار تقييم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية(mg AAE/g Extract).*

من خلال النتائج المبينة في الوثيقة رقم (09) ، و التي توضح إختبار تقييم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية تفوق المستخلص الإيثانولي في إختبار اقتناص جذور موليبدات الفوسفات Phosphomolybdate مقارنة بقيمة المستخلص المائي و التي تقدر كميتها ب (527.17±0.53 mg GAE/g) للأوراق أما للجذور فقدرت ب(433.83±0.04 mg GAE/g) أما بالنسبة للمستخلص المائي فقد قدرت كميتها ب (166.45±3.44 mg GAE/g) للأوراق أما للجذور فقدرت ب(128.71±1.03 mg GAE/g) .

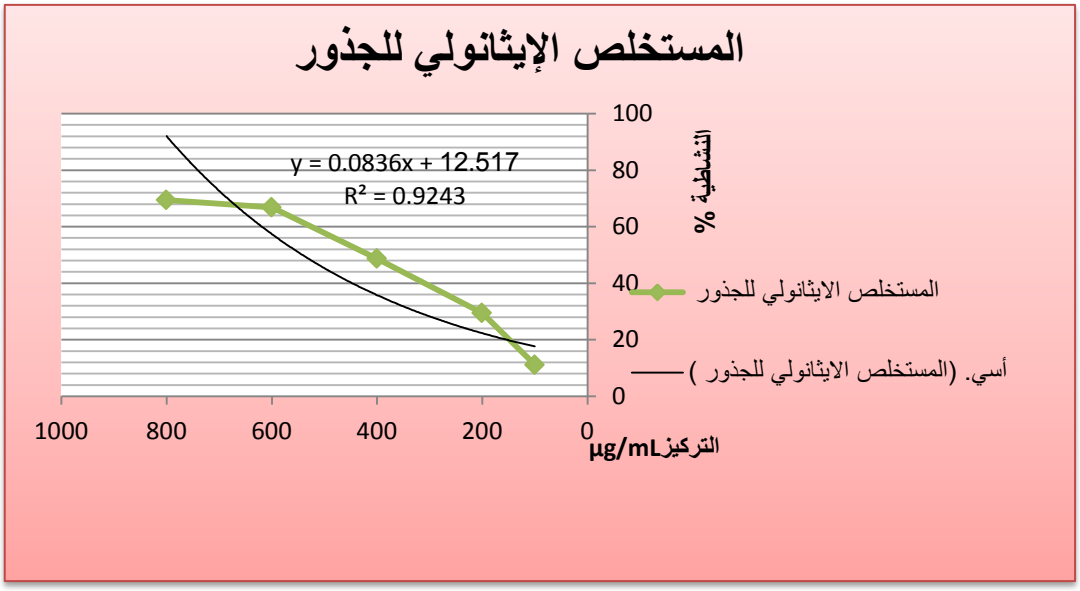
من خلال ما تحصلنا عليه يتضح من خلال النتائج المتحصل عليها أن هناك علاقة طردية بين محتوى المستخلصات من المركبات الفينولية والقدرة الكلية المضادة للأكسدة للمستخلصين

II-2-3- إختبار تثبيط الجذر الحر

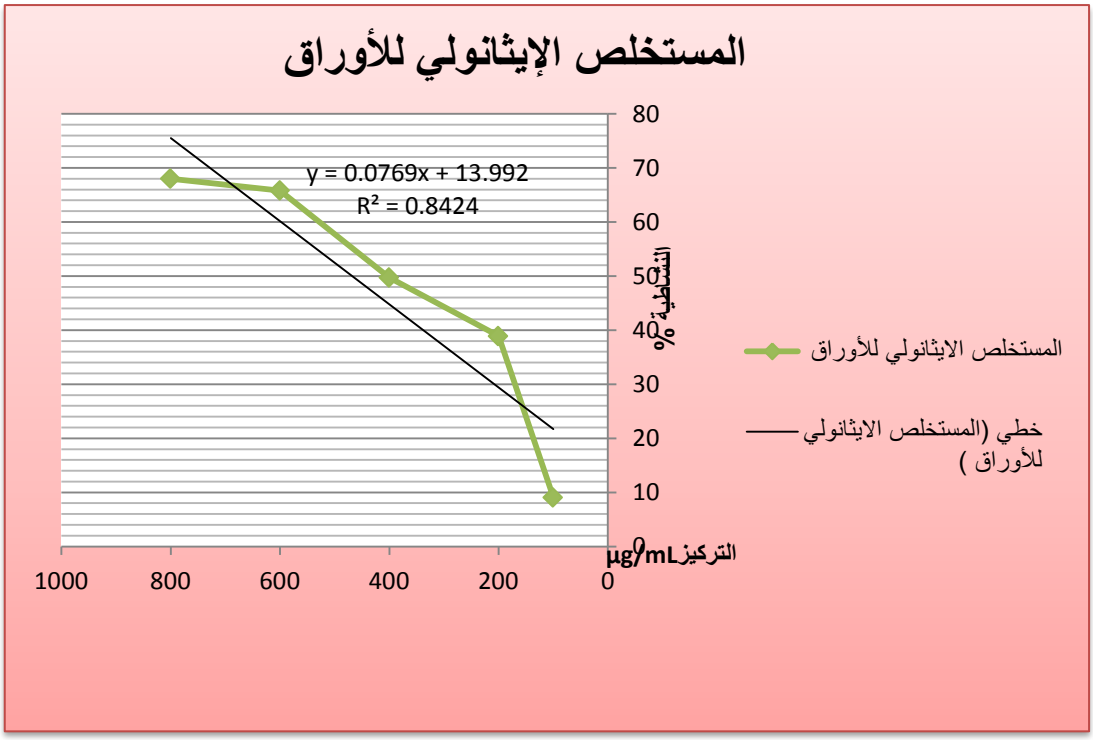
II-2-3-1- نتائج القدرة التثبيطية للجذر الحر DPPH• :

من خلال المنحنيات الواردة في الوثائق (10-11-12-13)التي تمثل منحنيات النشاطية للعينات المدروسة في تثبيط الجذر الحر DPPH• و التي من خلالها تحسب قيمة IC_{50}للعينات علما أن القيمة الأقل لها تعني التأثير التثبيطي الأفضل، أظهرت أن كل من المستخلصين الإيثانولي والمائي

والشـــاهـــــد حـمض الأسكوربيك (AA) تـثـبط الجذر الحر DPPH• بـشكل يتناسب طـــرديا مـع الـزيادة فـي التـركيـز.

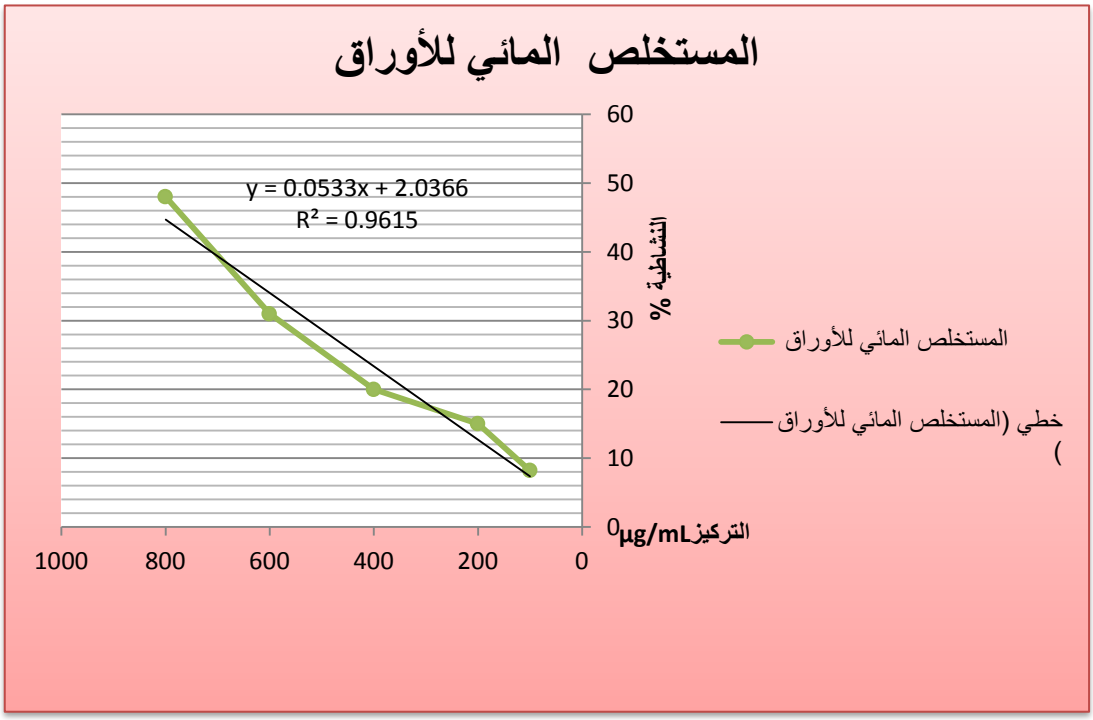


الوثيقة II:10 *يمثل منحني النشاطية في تثبيط الجذر الحر DPPH• بدلالة التراكيز للمستخلص الإيثانولي للجذور .*

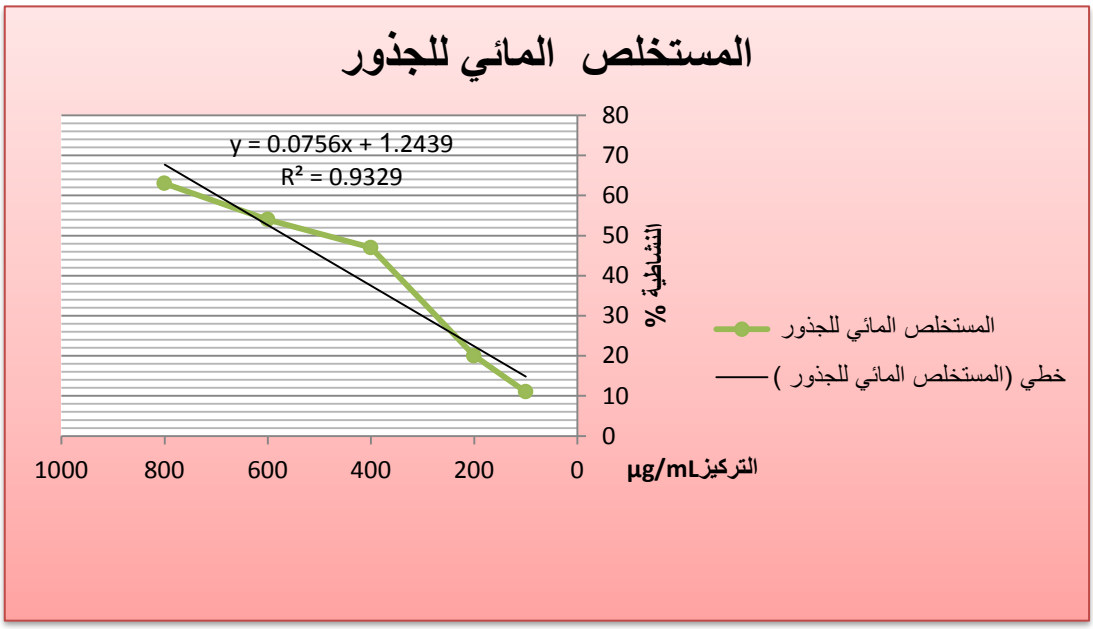


الوثيقة II:11 *يمثل منحني النشاطية في تثبيط الجذر الحر DPPH• بدلالة التراكيز للمستخلص الإيثانولي للأوراق .*

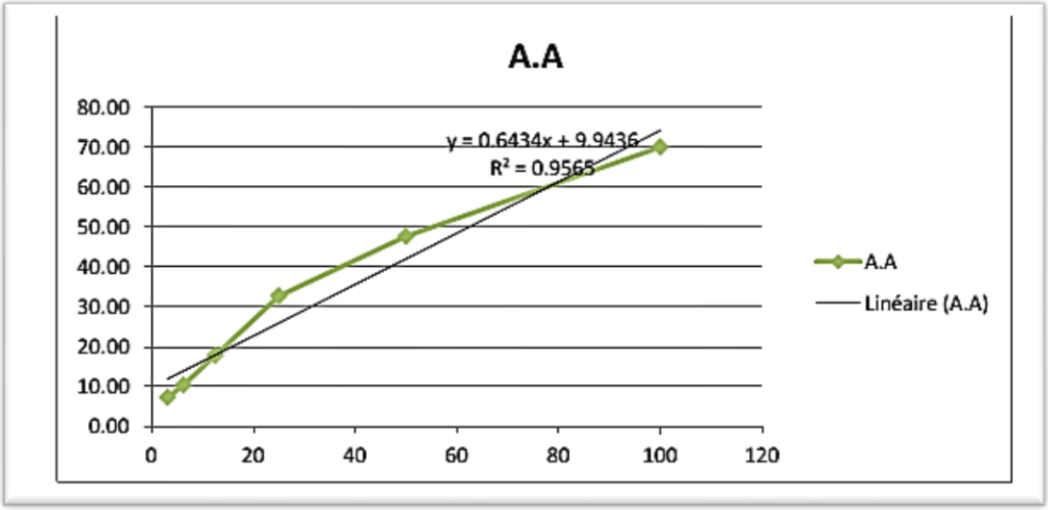
الوثيقة II:11 يمثل منحني النشاطية في تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ بدلالة التراكيز للمستخلص الإيثانولي للجذور .



الوثيقة II:12 يمثل منحني النشاطية في تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ بدلالة التراكيز للمستخلص المائي للأوراق.



الوثيقة II:13 يمثل منحني النشاطية في تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ بدلالة التراكيز للمستخلص المائي للجذور.

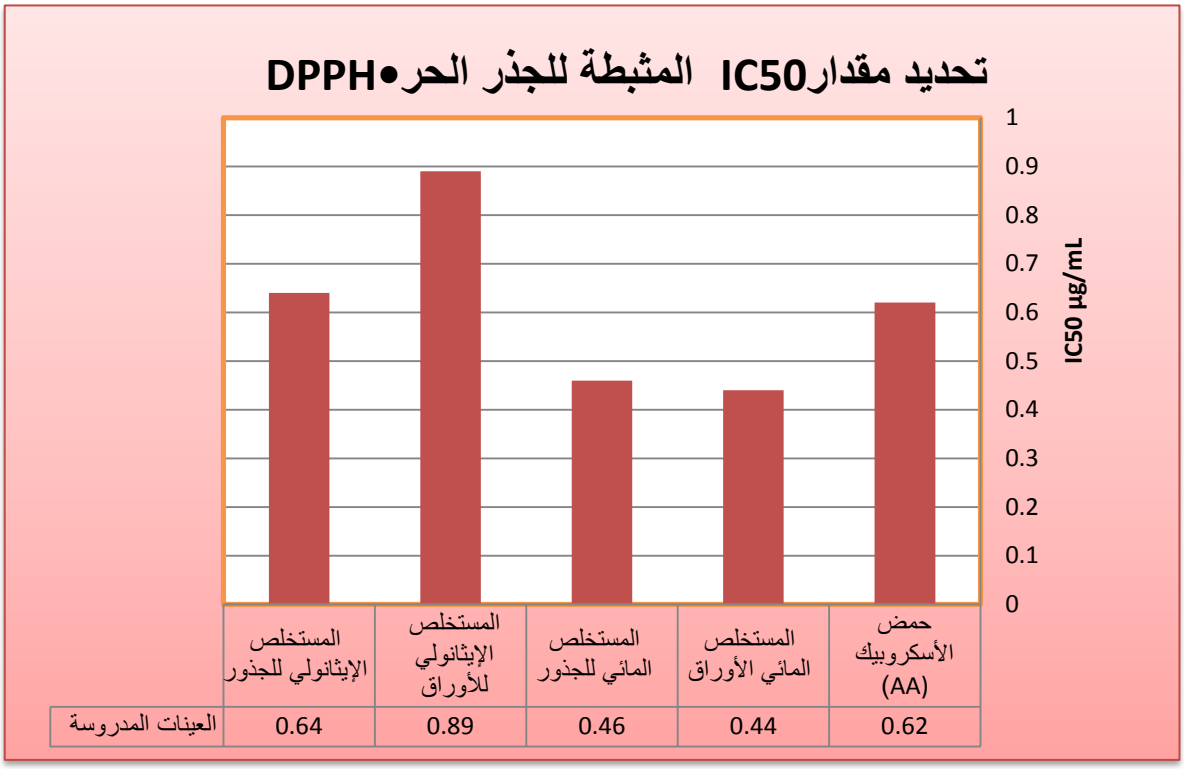


الوثيقة II:14 *يمثل منحنيات النشاطية في تثبيط الجذر الحر DPPH• بدلالة التراكيز لحمض الأسكوربيك .*

I- 5-1-تحديد مقدار الـ IC_{50}:

نستطيع حساب مقدار IC_{50} المثبطة لـ % 50من الجذر الحر DPPH• من المعادلات الخطية لكل من منحنيات التثبيط(I%) للمستخلصات النباتية المختلفة وحمض الأسكوربيك كما هو موضح في الوثيقة (14) ومن الجدير ذكره أنه كلما كانت قيم الـ IC_{50} أقل كان التأثير المضادة للجذور الحرة أو المضاد للأكسدة أفضل.

I-2-5- تحديد مقدار IC_{50} المثبطة للجذر الحر DPPH•:



الوثيقة 15:II *قيم IC_{50} المثبطة لـ 50 %من الجذر الحر DPPH• بـ (µg /ml) لمختلف مستخلصات نبات الطرفة و(حمض الأسكوربيك) Acide Ascorbique .*

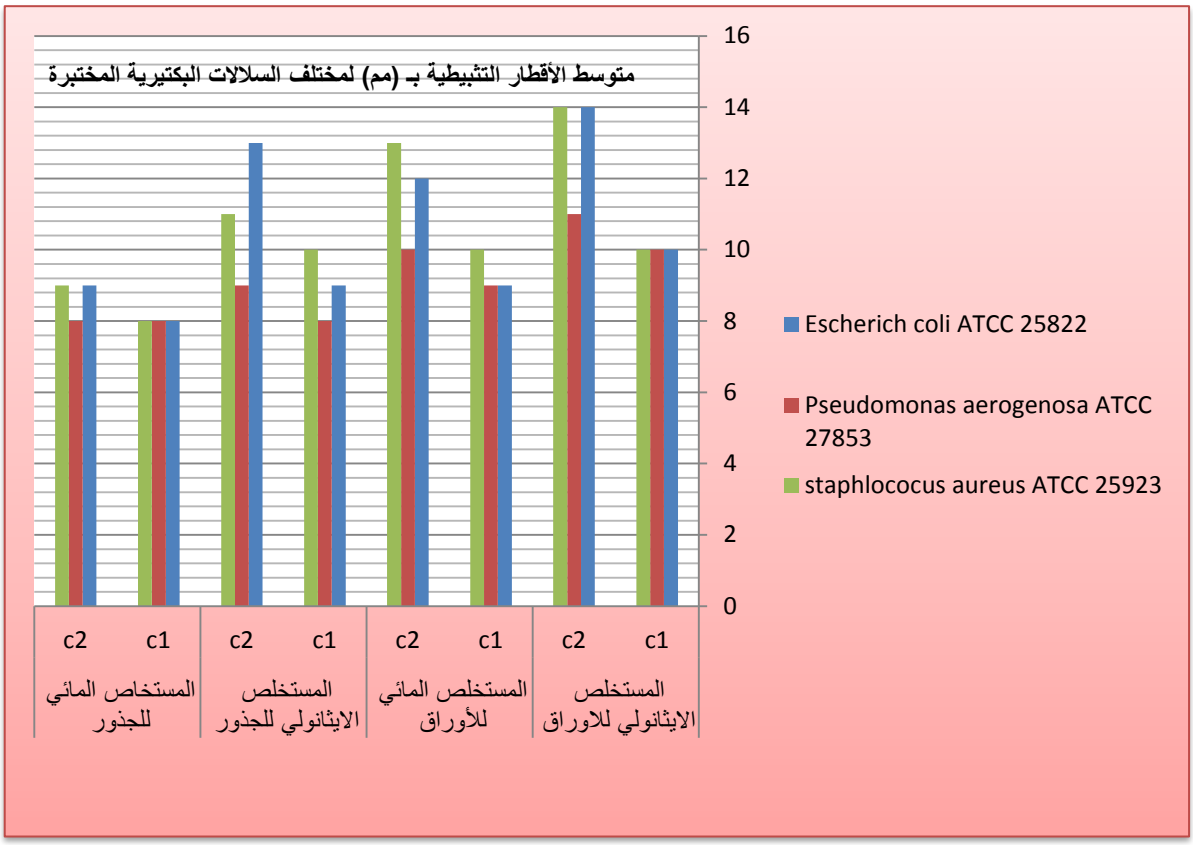
من خلال قيم IC_{50} المثبطة للجذر الحر DPPH• في المستخلص الإيثانولي و المائي لنبات *T boveana B* المتمثلة في الوثيقة (15)، نجد أن المستخلص الإيثانولي أبدى أكبر فعالية في تثبيط الجذر الحر DPPH•، إذ قدرت قيمة IC_{50} بـ (0.89µg/mL)، بينما قدرت قيمة (IC_{50}) في المستخلص المائي للأوراق بـ (0.44µg/mL) وتبقى هذه القيم فعالة مقارنة بقيمة(IC_{50}) لحمض الأسكوربيك والبالغة بنسبة (0.62µg/mL) أما المستخلص الإيثانولي للجذور فقد ابدى أكبر فعالية ايضا مقارنة بحمض الأسكوربيك قدرت قيمته(IC_{50}) ب (0.64 µg/mL) أما في المستخلص المائي فقد قدرت قيمته ب (0.46 µg/mL) وهذه القيمة تعتبر ايضا فعالة في تثبيط الجذر الحر DPPH• وذلك بالمقارنة بحمض الأسكوربيك.

من خلال النتائج المتحصل عليها يتضح أن هناك تناسب طردي بين محتوى المستخلصات من المركبات الفينولية والتأثير التثبيطي على جذر الحر DPPH•فقد أظهرت في المستخلص الإيثانولي الذي يحتوى على أكبر كمية من عديدات الفينول و أعلى تأثير تثبيطي للجذر الحرDPPH• .

كما بين العديد من الباحثين أن القدرة التثبيطية للمركبات النباتية على جذر DPPHلها علاقة كبيرة بالبنية الكيميائية، والفعالية المضادة للأكسدة لهذه المستخلصات يمكن ربطها بمحتواها من المركبات الفينولية، وتعتمد كفاءة هذه المركبات الفينولية كمضادات أكسدة على عدد المجموعات الهيدروكسيل المرتبطة في الحلقة العطرية [80] و كذلك بمحتواها من الفلافونيدات حيث أظهر[81] في دراسة للتأثير التثبيطي لـ 13فلافونويد على جذر DPPH ، أن عـدد مجموعات الهيدروكسيل و موقع تموضعها له دور كبير في التأثير التثبيطي، إذ أن وجود مجموعة هيدروكسيل في C_3و بنية الـ ortho-dihydroxyl يعطي أفضل فعل تثبيطي على جذر.

II-4- دراسة النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة

من خلال دراسة النشاطية البيولوجية لمستخلصات نبات الطرفاء المضادات الحيوية لبعض الانواع البكتيرية الممرضة تحصلنا على النتائج المدونة في الوثائق التالية:



الوثيقة 12:II *متوسط الأقطار التثبيطية (mm) للسلالات البكتيرية المختبرة للمستخلصات المائية* والايثانولي لنبات الطرفة *Tamarix Boveana Bunge*:

من خلال النتائج المدرجة في الوثيقة لاحظنا أن:

- **مع السلالة البكتيريةEscherichia coli :**

أظهر المستخلص الايثانولي مع هذه السلالة احسن اقطار تثبيطية ، حيث سجل اعلى قطر تثبيطي mm 14عند التركيز C_2= 1mg/ml وتراوحت باقي الاقطار بين(13-8 mm) بينما أضهرت السلالة حساسية متوسطة للمستخلص المائي. أنظر(الملحق رقم 5).

- **مع السلالة البكتيرية Pseudomonas aerogenos:**

أظهرت هذه السلالة حساسية متوسطة مع التركيز C_1=0.5 mg/ml لكل مستخلص، بينما في التركيز C_2= 1mg/ml حيث تم تسجيل اعلى قطر تثبطي 11 mm بالنسبة لسلالة البكتيرية ، بينما أبدت حساسية متوسطة بنسبة للمستخلص المائي تراوحت بين(8mm-10) . أنظر(الملحق رقم6).

- **مع السلالة البكتيرية Staphlococcus aureus:**

أظهرت هذه السلالة مقاومة شديدة للمستخلص الإيثانولي في مختلف التراكيز حيث تم تسجيل اعلى قطر تثبيطيmm 14 ، بينما أبدت حساسية متوسطة للمستخلص الإيثانولي اذا تراوحت بين(mm 8-13) أنظر (الملحق رقم 7).

من جهة نظر اخرى يمكننا النقارنة بين اصتاف المستخلص والتراكيز كالتالي

- **المستخلص الايثانولي للاوراق :**

ابدت السلالات البكيترية لكل من Escherichia coli وStaphlococcus aureus حساسية معتبرة مع هذا المستخلص تم تسجيل اعلي قطرتثبيطي 14mm عند التركيز C_2= 1mg/ml ،أما مع السلالة البكيترية عند هذا التركيز فقد بلغ قطر التثبيطي ب 11 mm عند التركيز C_2= 1mg/ml، أما عند التركيز C_1= 0.5mg/ml فقد كانت اقطار التثبيط متساوي فقدرت ب 10mm لكل من السلالات البكتيرية المختبرة .

- **المستخلص المائي للاوارق**

أظهر كل السلالات حساسية متوسطة لهذا المستخلص حيث بلغ اعلي قطر تثبيطي بـ13 mm عند التركيز C_2= 1 mg/ml مع كل سلالة مختبرة ، كما بلغ ادنى قطر 9mmعند التركيز C_1=0.5 mg/ml مع السلالة البكتيرية المختبرة .

- **المستخلص الابثانولي للجذور:**

اظهر التركيز1mg/ml احسن الاقطار(11 mm, 13mm) للسلالات Escherichia coli وStaphlococcus aureus على التوالي ، أما أقل قطر تثبيطي قدر بـ8 mm مع التركيز0.5 mg/ml مع السلالات البكتيرية المختبرة .

- **المستخلص المائي للجذور :**

اظهرت كل السلالات حساسية ضعيفة لهذا المستخلص حيث بلغ اعلى قطر تثبيطي 9 mm عند التركيز 1mg/ml مع كل السلالات المختبرة كما بلغ ادني قطر تثبيطي8 mm عند التركيز C_1= 0.5 mg/ml مع السلالات الثلاثة المختبرة .

من خلال ما سبق يمكن نستنتج مايلي:

سجل إختلاف في التأثير بين المستخلصات على السلالات البكتيرية المختبرة وذلك حسب تراكيز المواد الفعالة في كل مستخلص كما يعود الاختلاف في الحساسية بين السلالات المختبرة موجبة الغرام وسالبة الغرام إلى بنية وتركيبة و طبيعة جدار الخلية البكتيرية لكل نوع

ان المذيب المستعمل في عملية الإستخلاص كان له الأثر الواضح في النشاطية المضادة للبكتيريا حيث أن المستخلصات الإيثانولية أبدت اقطار تثبيطية معتبرة مقارنة بالأقطار التثبيطية المسجلة مع المستخلصات المائية .

خاتمة

خاتمـــــة

إن الاهتمام بمضادات الاكسدة في تزايد مستمر، كما زاد الاهتمام اكثر بمضادات الاكسدة الطبيعية المتواجدة في النباتات وذلك لفعاليتها، توفرها وقلة تأثيراتها الجانبية. يعود التأثير المضاد للأكسدة للمواد الطبيعية النباتية أساسا الى محتواها من عديدات الفينول.

تهدف هذه الدراسة الى التقدير الكمي للفينولات وايضا النشاطية البيولوجية لمستخلصات نبات الطرفة*Tamarix boveana B* للتأكد والتحقق من القدرة المضادة للأكسدة للنبات المدروس على الجذور الحرة المسببة للعديد من الأمراض.

بعد القيام بعملية استخلاص المواد الفعالة من النبات وذلك باستعمال المذيبات الماء ،إيثانول+ماء ، تمكنا من خلال ذلك تقدير مردود المستخلصات حيث كانت كمية الكتلة الجافة المتحصل عليها في كل من المستخلصين المائي والإيثانولي متفاوتة، في حين كان مردود المستخلص الإيثانولي معتبر و الذي قدر بـ (10.43%). فنستنتج أن المستخلص الإيثانولي هو الأفضل لإذابة المواد الفعالة في هذا النبات.

كما بينت نتائج إختبار الكشف الكيميائي في هذا النبات، غناء بالمركبات التالية:القلويدات، فلافونويدات، التانينات، مع غياب الصابونيات والزيوت الطيارة.

أما بالنسبة للتقدير الكمي للفينولات، فمن خلال المنحنيات القياسية وجد أن كمية الفينولات في الإيثانولي نسبة أكبر مقارنتا بالمستخلص المائي، حيث قدرت نسبتها في المستخلص الإيثانولي للفينولات (107.77±1.722 mg GAE/g Ext) بينما كانت نسبة الفينولات في المستخلص المائي(GAE/g Ext 16.68±0.836 mg) .

أما نتائج تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة فقد كانت نتائج إختبار مولبيدات الفوسفات (CAT) المستخلص الإيثانولي لديه فعالية أكبر في إرجاع مولبيدات الفوسفات والمقدرة بـ mg (527.17±0.53 GAE/gExt) مقارنتا بالمستخلص المائي والمقدرة بـ(166.45±3.44 mg GAE/g) أما في إختبار DPPH فأبدى المستخلص الإيثانولي أكبر فعالية في تثبيط جذرDPPH ،حيث قدرت قيمة(IC_{50}) بـ (0.89µg/mL) بينما قدرت قيمة(IC_{50}) للمستخلص المائي بـ (0.44µg/mL) وفي الأخير يمكن ان نستنتج انا هناك تناسب طردي بين محتوى المستخلصات من المركبات الفينولية و القدرة التثبيطية المضادة للأكسدة. نستنتج في هذه الدراسة في إختبار DPPH ان أحسن مستخلص هو المستخلص المائي .

أما بالنسبة لدراسة النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة وذلك بإستعمال طريقة الانتشار بالأقراص حيث أظهرت النتائج المتحصل عليها أن مستخلص الإيثانولي لنبات *T boveana B* له فعالية بيولوجية معتبرة اتجاه بعض الأنواع البكتيرية الموجبة والسالبة الغرام المختبرة وهذا ما يؤدي الى تعزيز الدور العلاجي الذي تبديه مثل هذه المستخلصات التي يمكن ان تشابه الفعل الذي يحدثه المضاد الحيوي.

قائمة

المصادر

والمراجع

قائمة المصادر والمراجع

أولا: باللغة العربية.

[1] محمود صالح سراج علي يوسف محمد الحسن(2002). تأثير استزراع النباتات الطبية البرية على خواصها الكيميائية والحيوية ،التقرير النهائي المقدم إلى عمادة البحث العلمي ، جامعة الملك فيصل ص 22-45-156.

[2] الشحات نصر أبو زيد (2000). الزيوت الطيارة ،الطبعة الأولي ،الدار العربية للنشر والتوزيع – مدينة نصر،ص -33-56-109.

[3] حليس ياسين ، موسوعة النبات لمنطقة سوف، ، النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق ص 164.

[4] محمد السيد هيكل عبد الله عبد الرزاق 2004.عمر النباتات الطبية والعطرية ،الطبعة الأولى ،مكتبة دار الثقافة للنشر والتوزيع –عمان – الأردن ص 76-154 .

[6] غسان حجازي ،حياة المسيمي 2004. رولا محمد جميل قاسم .علم العقاقير ،الطبعة الأولي ،مكتبة دار الثقافة للنشر والتوزيع –عمان – الأردن ،ص 87-77.

[8] أمين رويحه1983. التداوي بالأعشاب بطريقة علمية تشمل الطب الحديث والقديم، الطبعة السابعة. دار القلم ،بيروت لبنان، ص 39،28،27.

[11] هشام قطنا1971. علم الغابات والتشجير الحراجي(منشورات جامعة دمشق) ص 78-133.

[12] محمد عبيدو1991. الأسيجة ومصدات الرياح (منشورات جامعة دمشق)ص 65-156.

[32] بن سلامة ع 2011 .النشاطات المضادة للأكسدة و المثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين مستخلصات أوراق Hertia cheirifolia L، مذكرة ماجستير. جامعة فرحات عباس سطيف ص 90.

[34] محمد المغازى أ (2003). التداوي بالمنتجات العطرية ،مجلة أسيوط للدارسات البيئية . العدد 38 الرابع والعشرون ص92 .

[35] ميثاق ج (2010). بحث وتحديد نواتج الأيض الثانوي لنبات القات Catha edulisمن العائلةasteraceae ونبات البوليكاريا Pulicaria من العائلة celastraceae وتقييم الفعالية البيولوجية،شهادة. دكتوراء جامعة منتوري قسنطينة، ص 59.

[36] فوزي ط(1979).النباتات الطبية زراعتها و مكوناتها، الدار العربية للكتاب، ليبيا تونس ص 197- 90- 88-: 23

[37] الحسيني م، المهدي ت(1990) .النباتات الطبية زراعتها مكوناتها استخداماتها العلاجية، مكتبة ابن سينا للنشر و التوزيع ،ص:8 -214.

[38] دحية م (2009) .النباتات الطبية في مناطق الجلفة بوسعادة والمسيلة، دراسة نبات القزاح أنواعها التركيب الكيميائي النشاطية البيولوجية للزيوت الطيارة للسيقان، أطروحة قدمت لنيل شهادة دكتوراه العلوم في بيولوجيا النبات، جامعة فرحات عباس سطيف، ص 123.

[39] الشحات نصر أ (1992) .النباتات العطرية ومنتجاتها الزراعية والدوائية، الدار العربية للنشر والتوزيع، ص47 -49.

[40] حجاوي غ ،حسين المسيمي ح ز ، محمد جميل قاسم ر (2004) .علم العقاقير والنباتات الطبية ،مكتبة دار الثقافة للنشر و التوزيع ، عمان، ص85 :- 183- 285-293.

[41]حليس ح، بوقاعة و (2012).استخلاص وتحليل الزيت لنبات السرو، مذكرة تخرج لنيل شهادة التعليم الثانوي، المدرسة العليا للأساتذة القبة الجزائر، ص86 .

[42] قطب حسين ف، (1981) النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها ، دار المريخ للنشر ، الرياض ص 112.63-76 -83 -

[45] حوة إ(2013).دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية و الفعالية ضد الأكسدة.مذكرة ما جستير. جامعة قاصدي مرباح ورقلة .ص109.

[54] بوبلوطة خ(2009) . النشاط المضاد للتأكسد و إمكانية وقاية المستخلصين الميثانولين لنبتي Matricaria pubescensو ال على Centaurea icana السمية الكبدية.مذكرة ماجستير ..ص194

[55]عمر ل (2010). دراسة بعض الخصائص البيوكيميائية لنبات الشيح Artemisia herba albaAsso.مذكرة ماجستير. جامعة فرحات عباس سطيف ص90 .

[56] العابد إ (2011). دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات لنبات الضمران Traganum nurdatum.مذكرة ماجستير. جامعة قاصدي مرباح ورقلة ص106 .

[57] عمراني أ(2013) .دور الفيتامين E،C و المستخلص البوتانولي لنباتيRhantherium suaveolens وChrysanthemum fotanesii بدواء Sodiumفي الوقاية من التسمم المحرض بدواء valproateلدى الفئران الحوامل دراسة In vivo وIn vitro.مذكرة دكتوراه. جامعة قسنطينة ص149.

[59] جبالي ه (2012) .التقدير المخبري للنشاطية المضادة للأكسدة و الجذور الحرة لبعض المركبات الكبريتية. مذكرة ماجستير. جامعة قاصدي مرباح ورقلة ص49 .

[62] جرموني م (2009). النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة الخياطة Teucrium. polium مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء و الفيزيولوجيا التجريبية. جامعة فرحات عباس، سطيف الجزائر ص95 .

[80] حوة إ (2013) . دراسة الفاعلية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة . مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العصوية وفيزيوكيمياء الجزيئات ، جامعة قاصدي مرباح ورقلة ، الجزائر ص109.

ثانيا: باللغة الأجنبية.

[7]- Rubin M. (2004)- Guide pratique de phytothérapie et d'aromathérapie. Ellipses Edition Marketing S.A.

[9]-Gurib-Fakim A. (2006)- Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Mol Aspects Med, 27, 1-93.

[10]- Schauenberg P. (2006)- Guide des plantes médicinales, anlyse, description et utilisation de 400 plantes. Ed. Delachaux et niestlé.

[4]-(Anonyme 1): 2009 http://fr.wikipedia.org/wiki/Mentha_spicata »

[13] - RICHTER G., 1993- Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie. PRESSES, polytechniques et universitaires Romandes, P: 328-339.

[14]- ELHAZIMI H., 1995- les produits Naturelles. Université du Roi Saoud, Djada, p: 149- 190.

[15]. MACHEIX J.J., FLEURIET A. et JAY ALLEMAND C., 2005- Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. (Ed) Presses polytechnologiques et universitaires romandes, p4-5.

[16]MAROUF A., 2000- Dictionnaire de botanique, les phanérogames. MASSON Xiences, DUNOD, paris, P:66-82.

[17]-URQUIAGA I. et LEIGHTON F., 2000- Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. Biological Research, 33 (2): 55-64.

[19]- KENING Y., VINCENZO D.L. et NORMAND B., 1995- Creation of a metabolic sink fortryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the subsceptibility of potato to Phytophtorainfestans. The plant cell, (7): 1787-1799.

[20]-MEZITI A., 2007- Activité antioxydante des extraits des graines de Nigella sativa L. Étude in vitro et in vivo. Mémoire de Magister, Université de Batna, Algérie, P: 30-67.

[21]- BOUDJELLAL K., 2009- Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de l'Elaeagnus angustifolia L.. Mém de Magister, Université de Batna, Algérie, p:9-29-30.

[22]-SANDA V., BILJANA B., MAJA B., and MARIJA B., 2012- Plant Polyphenols as Antioxidants Influencing the Human Health, Phytochemicals as Nutraceuticals- Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health, Dr Venketeshwer Rao (Ed), ISBN: 978- 953-51-0203-8, In Tech, P:156-182.

[23]-DEWICK P., 2001- Medicinal natural products: a biosynthetic approach. John Wiley ET Sons, ISBN 0-471-49641-0, 122-166, West Sussex, United Kingdom.

[24] -KORKINA L., 2007- Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: from plant de fence to human health. Cellular and Molecular Biology, Vol.53. No.6, pp, 15-25, ISSN 0270-7306.

[25]- DANGLES O., 2006- Les polyphénols en agroalimentaire. Lavoisier, p: 29-50.

[26]- NKHILI E., 2009- Polyphénols de l'Alimentation: Extraction, Interactions avec lesions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Diplôme de Doctorat, Université Cadi Ayyad, Marrakech, P:309:08-51.

[27]- AOUISSA I.W.R., 2002- Etude des activités biologiques et toxicité aigue de l'extrait aqueux des feuilles de Mangifera indica L. (anacardiaceae). Mémoire de doctorat, Université de Bamako, MALI, 127p.

[28]-BOLAND M., WONG E., 1975- Purification and kinetic properties of chalcone flavonoide isomerase from soya. Biochem, 50, p:383-389.

[29]-BOROS B., JAKABOVA S., DORNYEI A., HORVATH G., PLUHARE Z., KILAR F., FELINGERA A., 2010- Determination of polyphenolic compounds by liquid

[30]-NADIA A.S., BIDLACK W.R. and CRECELIN S., 2000- Hytoantimicrobials in: Natural food Atimicrobial System Aidu, A, Seds, CRC (New York), 325-417.

[31-]TAPIERO H., TEW K.D., NGUYEN B.G. and MATHÉ G., 2002- Polyphenol do they play a rolein the prevention, of the human pathologies. Biomed, Pharmacother, 56: 200-207.

[33] - PINCEMAIL J., DEBBY C., LION Y., BRAQUET P., HANS P., DRIEU K. and GOUTIER R., 1986- Stud. Org. Chem 23, p: 423

[43] KANOUN K., 2011- contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de Myrtus communisL. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de magister. Universite aboubekr belkaid tlemcen. 118p.

[44]- ZEGHD N., 2009- Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, rosmarinus officinalis) et évaluationde leur activité antibactérienne. Université Mentouri constante. 130p.

[46]- **DJEMAI S., 2009**- etude de l'activité biologique des extrait du fruit de zizyplus lotus L. Mémoire de magister. Université -El hadj lakhater-Batna. 91p.

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

[48]-MOULAY Y., 2012- Investigation phytochimique de l'Acasia arabica aux propriétés antioxydantes et inhibitrices. Mémoire de magister. Université kasdi Merbah Ouargla. 178p.

[49]-ATTOU A., 2011- Contribution à l'étude phytochimique et activités biologique des extraits de la plante Ruta chalepeusis (fidjel de la région d'ain témouchent). Mémoire de magister. Université Aboubekr elkaid Tlemcen. 119p.

[50]-PINCEMAIL et al., 2002- Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxydant defences. Nutrition clinique et métabolisme. 16. 233-239.

[51]- MACHEIX J.J., FLEURIET A. et JAY ALLEMAND C., 2005- Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. (Ed) Presses polytechnologiques et universitaires romandes, p4-5.

[52]-MARGHEM R., 2009- Elément de biochimie végétale: à l'usage des étudiants en pharmacie, sciences de la nature et de la vie. 1ere Ed. Bahaeddine. Algerie. 172p.

[53]-DEFENG W., Arthur I., Cederbarum M., 2003- Alcohol oxidative stress, and free radical damage. 27(4): 227-284.

[58]- FAVIER A., 2003- Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. 108-115.

[60]-ARDESTANI A., YAZDANPARAST R., 2007- Inhibitory effects of ethyl acetate extract of teucrium polium on in vitro protein glycoxidation. Food qnd chemical toxicology. 45: 2402-2411.

[61]- MERMOD N., 2004- Botanique systématique des plantes à fleurs. 3éméEd. presses polytechniques et universaires romandes. 90p.

[63]-HADBAOUI Z., 2007-Etude de l'activité antioxydante des frations lipidique, protéiques et phénoliques des graines de sorgho local.Mémoire de magister. UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA. 107p.

[67] -WHITMAN W, COLEMAN D, WIEBE W., 1998 - Prokaryotes: the unseen majority. Proc Natl Acad Sci U S A. 95 (12): 6578 -83

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

[69]-Singleton P., 2004- Bactériologie pour la médicine la biologie et le biotechnologie, Ed dunod, paris, p 542.

[70] -REBIAI A., LANEZ T., BELFAR M., 2014- Total polyphénols contents, radical scavenging and cyclic voltammetry of Algerian propolis. Academic science. 6:396-400.

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

[72]-CHAVAN Y., SINGHAL RS., 2013- Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactives from arecanut (Areca catechu L.) and optimization study using response surface methodology. Innovative Food Science and Emerging Technologies 17: 106–113

[73]-MBAEBIE BO., EDEOGA HO., AFOLAYAN AJ., 2012: Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of Schotia latifolia Jacq. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine .118-124

[74]-ARDESTANI A., YAZDANPARAST R., 2007- Inhibitory effects of ethyl acetate extract of Teucrium polium on in vitro protein glycoxidation. Food and Chemical Toxicology. 45 : 2402–2411.

[75]-Boumaza A., 2009- Effet de l'extrait méthanolique de Zygophyllum cornutum coss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Mémoire En vue de l'obtention du Diplôme de Magister en Biologie cellulaire et moléculaire Université Mentouri-Constantine. 126p.

[76]-BELGUIDOUMM., DENDOUGUIH., KENDOURZ., 2015- In vitro antioxidant properties and phenolic contents of Zygophyllum album L. from Algeria. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 7(1):510-514

[77]-MNAFGUI K., HAMDEN K., HICHEM BS., KCHAOU M., MBAREK N., SADOK S., DERBALI F., ALLOUCHE N., ELFEKI A., 2012- Inhibitory activities of Zygophyllum album: a naturalweight-lowering plant on key enzymes in high-fat diet-fed rats. Hindawi Publishing Corporation . 620384: 9 p.

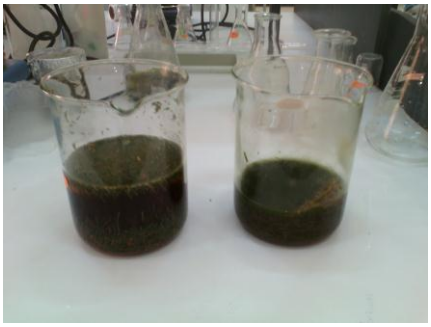
[78]-BENHAMMOU N., 2012 - Activité antioxydante des extraits des composes phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thése doctorat. Université Aboubakr Belkaïd.Tlemcen. 174 p.

[79]-DEBOUBA M., BALTI R., HWIWI S., ZOUARI S., 2012-Antioxidant capacity and total phenols richness of Cistanche violacea hosting Zygophyllum album. International Journal of Phytomedicine.4(3): 399-402.

الملاحق

الملاحق

الملحق رقم1 : طريقة النقع.



الملحق رقم2 : طريقة الترشيح للمستخلصات.

الملحق رقم 3:طرق الأستخلاص.

الملحق رقم4 :المستخلص المائي والمستخلص الإيثانولي .

الملحق رقم 5: السلالة البكتيريةEscherichia coli

الملحق رقم6 : السلالة البكتيريةPseudomonas aerogenos

الملحق رقم 7: السلالة البكتيريةStaphlococcus aureus