رقم الترتيب :

رقم التسلسل :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا

مذكرة تخرج

لنيـــــــل شهـــــــادة مـــاستـــــــــر أكـــــــــــاديمي

ميدان: علوم الطبيعة والحياة

شعبة: العلوم البيولوجية

تخصص: تنوع حيوي وفيزيولوجيا النبات

الموضوع :

دراسة الفاعلية البيولوجية لمستخلصات نبات الزيتة

(*Limoniastrum guyonianum* Dur.)

من اعداد:

شاوش محمد، دمدوم علي، بن عزة التجاني، نفنوف الحاج علي

نوقشت يوم .../2023/06 من طرف لجنة المناقشة:

سنيقرة موسى	أستاذ مساعد (أ)	رئيسا	جامعة الـوادي
شمسة أحمد الخليفة	أستاذ محاضر (أ)	مؤطرا	جامعة الـوادي
تواتي السعيد	أستاذ مساعد (أ)	عضوا مناقشا	جامعة الـوادي

الموسم الجامعي: 2023/2022

بسم الله الرحمن الرحيم

شكر وتقدير

لا بد لنا ونحن نخطو خطواتنا الأخيرة في الحياة الجامعية من وقفة نعود إلى أعوام قضيناها في رحاب الجامعة مع زملائنا وأساتذتنا الكرام الذين قدموا لنا الكثير باذلين بذلك جهوداً كبيرة في تدريسنا وتربيتنا وتكويننا وقبل أن نمضي نتقدم بأسمى آيات الشكر والامتنان والتقدير والمحبة لله عز وجل على نعمة العقل وعلى كل نعمه الأخرى التي لا تعد ولا تحصى على إعانته لنا على إنجاز هذا البحث المتواضع فله الحمد والشكر أولاً وآخراً . ثم نشكر آباءنا وأمهاتنا الذين عانوا الصعاب لأجلنا ليمهدوا لنا طريق العلم ، وإلى كل الأساتذة الأحياء منهم والأموات (رحمهم الله) الذين يرجع لهم الفضل في تعلمنا ووصولنا لهذا المستوى المشرف، وإلى الأستاذ الفاضل "**شمسة أحمد الخليفة** " الذي أشرف علينا وله الفضل بحيث أنه لم يدخر أي جهد في توجيهنا ومساعدتنا في تجميع المعلومات ونصحنا ، وإلى لجنة المناقشة كلٌ باسمه كذلك الشكر موصول لإدارة جامعة الشهيد حما لخضر بالوادي لحسن تعاملهم وتسهيلهم الخدمات لنا وتوفير الجو المناسب للدراسة .

وفي الأخير لا نفوت هذه المناسبة دون شكر كل من ساهم في العمل من قريب أو من بعيد ، ونسأل الله عز وجل أن يديم علينا نعمة العقل ويرزقنا الهداية .

الإهـداء

أشكر الله أولا وآخرا الذي هداني وأعانني على إنجاز هذا العمل وأرجوا أن يجعله شمعة تنير المكتبات العربية

إلى معلم الأمة ورحمة الله للبشرية الحبيب المصطفى ﷺ

إلى من أفضلها على نفسي ولم لا فلقد ضحت من أجلي، ولم تدخر جهداً في سبيل إسعادي على الدوام

(أمي الحبيبة)

إلى من أطفأ من شموع أيامه كي يبقى الطريق أمامي نورا ساطعا أغلى وأعز البشر

(والدي الحبيب)

إلى من يشرفهم مقامي هذا " عائلتي الكريمة "

اهدي هذا العمل إلى صديقي العزيز دادي محمد الهادي

الشخص الذي كان بمثابة اخ لي لولا نصائحه وقت محنتي لما وصلت لما انا عليه الآن اتمنى له دوام الصحة والعافية

إلى رواد الفكر وورثة الأنبياء " أساتذتي الكرام"

إلى كل يد قدمت العون في السر والعلن برحاب صدورهم وذلّلوا لنا الصعاب في إعداد هذه المذكرة

ووجهونا إلى طريق العلم

إلى منبر العلم الذي أفخر به وأتمنى أن يرفع رأسه بي ـ جامعتي جامعة الشهيد حمه لخضر ـ الوادي

إلى كليتي المبدعة كلية علوم الطبيعة والحياة

إلى كل من مر من هنا وزين عملي بنظراته ـ إليكم جميعا

أهدي ثمرة جهدي هذا .....

شاوش محمد

د

الإهـــــداء

أهدي عملي المتواضع هذا إلى

الذي لم يبخل عليا بشيء وسعى من أجل راحتي وسعادتي بابا الغالي عبد الخالق

إلى من أبصرت بيها طريق حياتي واستمدية منها قوتي واعتزازي بذاتي يا من قال عنها ربي الجنة تحت أقدامها إلى التي علمتني معنى لأصرار وان لا شيء مستحيل في الحياة ماما الغالية اطال لله في عمرها

الى من اثروني على أنفسهم وعشت معهم اجمل لحظات وعلموني معنى الحياة بوجودهن في حياتي اخوتي وخاصة كتكوتنا الصغيرة عائشة حفظهم لله بحفظه وادام عليهم الصحة والهناء

الى معلمي وأستاذي وكل من ساهم في تعليمي إلى سيدي وسندي الدكتور سيدي محمد العيد التجاني أيده الله بنصره وحفظه ورعاه

الى كل شخص علمني حرف وساهم في وصولي لهذه المرحلة

اهدي هذا العمل.....

بن عزة التجاني

الإهـداء

الى من أحمل اسمه بكل فخر الى حكمتي وفخري وقدوتي الى من يحلم بنجاحي ونور دربي أبي الغالي

الى من تحت قدميها جنتي الى نبع الحنان والصبر الى رحمتي والى الروح الطاهرة التي أوصاني بها الرحمان

أمي الغالية

الى أشقاء الروح جسر المحبة والوفاء اخوتي

الى منيري دربي و ومعلم الروح

أساتذتي الكرام

الى كل من ساعدني وأسعدني والى من حفظهم قلبي ونسيهم قلمي

دمدوم علي

الإهـــداء

الى من أحمل اسمه بكل فخر الى حكمتي وفخري وقدوتي الى من يحلم بنجاحي ونور دربي أبي الغالي

الى من تحت قدميها جنتي الى نبع الحنان والصبر الى رحمتي والى الروح الطاهرة التي أوصاني بها الرحمان

أمي الغالية

الى أشقاء الروح جسر المحبة والوفاء اخوتي

الى منيري دربي و ومعلم الروح

أساتذتي الكرام

الى كل من ساعدني وأسعدني والى من حفظهم قلبي ونسيهم قلمي

اهدي هذا العمل.....

نفنوف الحاج علي

الملخـــص

الملخص

بغية تثمين المنتجات الطبيعية للمنطقة وادي سوف انجز هذا العمل بهدف دراسة النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات (البيتانولي والهكساني واسيتات ايثيل) لنبات *Limoniastrum guyonianum* والذي ينتمي إلى العائلة الرصاصية Plumbaginaceae ، النامية في منطقة وادي سوف والمحضرة بإستعمال جهاز Soxhlet. وتم فصل المذيبات باستخدام جهاز المبخر الدرواني Rotavapeur.

بعد عملية الاستخلاص لاحظنا تباين بين مردودية المستخلصات، أبدت أعلى قيمة لها عند مستخلص الهيكساني المقدرة بـ 0.86 % وكانت أدنى قيمة لها عند المستخلص اسيتات ايثيل 0.53% بينما كانت مردودية المستخلص البيتانولي مقدرة بي 0.77%.

وعلى ضوء نتائج اختبار النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات النباتية وذلك باستخدام الجذر الحر DPPH•، سجل مستخلص اسيتات الايثيل أعلى نشاط بقيمة IC50 = 24.88 µg/ml ويليه مستخلص البيتانول بـ IC50 = 455.41 µg/ml. وفي الاختبار المضاد لانحلال الدم Anti-hemolytique فكانت الفعالية للمستخلص الأسيتات ايثيل والبيتانولي أفضل مقارنة بفعالية حمض الاسكوربيك

وفي دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا تبين أن من خلال النتائج المتحصل أن السلالات البكتيرية المدروسة أبدت مقاومة اتجاه المستخلصات الثلاثة.

ومن خلال هذه النتائج المتحصل عليها يمكن القول أن نبات الزيتة (*Limoniastrum guyonianum* Dur.) له فعالية كبيرة في الجانب الطبي، ويمكن تحقيق فوائد اقتصادية أذا تم استخدام هذا النبات بشكل صحيح.

الكلمات المفتاحية: *Limoniastrum guyonianum* ، الفعالية المضادة للأكسدة، الفعالية المضادة للبكتيريا، انحلال كريات الدم.

Abstract

Abstract:

In order to valorize the natural products of the Oued Souf region, this research aims to investigate the antioxidant activity of extracts (butanol, hexane, and ethyl acetate) derived from the *Limoniastrum guyonianum* plant, which belongs to the *Plumbaginaceae* family. The plant, cultivated in the Oued Souf region, was processed using a Soxhlet apparatus for extraction, and the solvents were separated using a rotary evaporator

Following the extraction process, variations in the yields of the extracts were discerned. The hexane extract exhibited the highest yield, estimated at 0.86%, while the ethyl acetate extract displayed the lowest yield of 0.53%. The butanol extract showed an intermediate yield of 0.77%.

The results obtained from the antioxidant activity test conducted using the potent $DPPH^{\bullet}$ radical, the ethyl acetate extract exhibited the highest activity with an IC_{50} value of 24.88 µg/ml, followed by the butanol extract with an IC_{50} value of 455.41 µg/ml. Moreover, in the anti-hemolytic assay, the efficacy of the ethyl acetate and butanol extracts was better compared to that of ascorbic acid.

In the study of antibacterial effectiveness, it was revealed that the tested bacterial strains displayed resistance towards the three extracts.

Based on these obtained results, it can be inferred that the *Limoniastrum guyonianum* plant (formerly known as Zita) possesses substantial medicinal efficacy, and if employed correctly, it holds the potential to yield economic benefits.

Keywords: *Limoniastrum guyonianum*, antioxidant activity, antibacterial activity, hemolysis.

Résumé:

Afin de valoriser les produits naturels de la région d'Oued Souf, cette recherche vise à étudier l'activité antioxydante des extraits (butanol, hexane et acétate d'éthyle) dérivés de la plante *Limoniastrum guyonianum*, appartenant à la famille des *Plumbaginaceae*. La plante, cultivée dans la région d'Oued Souf, a été traitée à l'aide d'un appareil Soxhlet pour l'extraction, et les solvants ont été séparés à l'aide d'un évaporateur rotatif.

Suite au processus d'extraction, des variations dans les rendements des extraits ont été observées. L'extrait d'hexane a présenté le rendement le plus élevé, estimé à 0,86 %, tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle a affiché le rendement le plus faible, à 0,53 %. L'extrait de butanol a montré un rendement intermédiaire de 0,77 .%

Les résultats obtenus du test d'activité antioxydante réalisé à l'aide du radical DPPH$^{\bullet}$, l'extrait d'acétate d'éthyle a présenté l'activité la plus élevée avec une valeur IC_{50} de 24,88 µg/ml, suivi de l'extrait de butanol avec une valeur IC_{50} de 455,41 µg/ml. De plus, lors du test anti-hémolytique, l'efficacité des extraits d'acétate d'éthyle et de butanol était meilleure par rapport à celle de l'acide ascorbique.

Dans l'étude de l'efficacité antibactérienne, il a été révélé que les souches bactériennes testées ont montré une résistance aux trois extraits.

Sur la base de ces résultats obtenus, on peut déduire que la plante *Limoniastrum guyonianum* (anciennement connue sous le nom de Zita) possède une efficacité médicinale substantielle, et si elle est utilisée correctement, elle a le potentiel de générer des avantages économiques.

Mots clés: *Limoniastrum guyonianum*, activité antioxydante, activité antibactérienne, hémolyse.

الفهـــرس

الفهرس

شكر وتقديـر..... I

الاهداء..... II

الملخص..... VI

الفهرس..... XI

قائمة الجداول..... XIV

قائمة الوثائق..... XVI

قائمة الاختصارات..... XVIII

المقدمة العامة..... 1

الجزء النظري: الفصل الأول

دراسة نظرية حول نبات الزيتة (*Limoniastrum guyonianum* Dur.)

II- لعائلة الرصاصية (Plumbaginaceae)..... 4

I-1 تعريف العائلة..... 4

I-1 تعريف جنس Limoniastrum..... 4

II. نبات الزيتة (*Limoniastrum guyonianum* Dur.)..... 5

II-1 تسمية النبات..... 5

II-2 الوصف المورفولوجي..... 5

II-3 التصنيف النباتي..... 6

II-4 النمو والإزهار..... 6

II-5 التوزع والانتشار..... 6

II-6 الاستعمالات..... 7

الفصل الثاني

نواتج الأيض الثانوي

I- نواتج الأيض الثانوي..... 9

I-1 تعريف الأيض الثانوي..... 9

I-2 تعريف نواتج ايض الثانوي..... 9

I-3 اهمية نواتج ايض الثانوي..... 9

I-4 الفينولات..... 9

I-4-1 تعريف الفينولات..... 9

I-4-2 تصنيف الفينولات.....10
I-4-3 أهمية المركبات الفينولية.....11

الجزء التطبيقي: الفصل الأول

المواد والطرق

I- في الميدان.....16
I-1 تحضير العينة النباتية.....16
II- في المخبر.....16
II-1 الأدوات والمحاليل المستعملة.....16
II-2 الطرق المتبعة.....17
II-2-1 تحضير المستخلص النباتي وحساب المردود.....17
II-3 دراسة الفعالية البيولوجية.....19
II-3-1 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة.....19
II-3-2 اختبار النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة.....22

الفصل الثاني:

النتائج والمناقشة

I- النتائج.....27
I-1مردود الاستخلاص.....27
I-2تقدير النشاطية المضادة للأكسدة.....28
I-2-1 اختبار الفعالية المضادة للجذر الحر DPPH•.....28
I-2-2 تحديد قيمة IC_{50} المثبطة للجذر الحر DPPH•.....29
I-3 الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة.....30
I-4 النشاطية المضادة لانحلال الدم (Test hémolyse).....31
II- المناقشة.....32
الخاتمة.....36
قائمة المراجع.....38
الملاحق.....44

قائمة الجداول

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	رقم الصفحة
01	التصنيف النباتي لنبات الزيتة (*L. guyonianum*)	7
02	بعض المركبات الفينولية المستعملة في الطب و الصيدلة	13
03	مجموعة الأدوات والأجهزة والمحاليل المستعملة في التجارب المخبرية	17
04	يوضح السلالات البكتيرية المدروسة	22
05	يمثل التصنيف العلمي لبكتيريا *Escherichia coli*	22
06	يمثل التصنيف العلمي لبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*	23
07	يمثل التصنيف العلمي لبكتيريا *Staphylococcus aureus*	24
08	أوزان المادة النباتية الجافة والمستخلصات النباتية ونسبة المردودية للنباتات المدروسة	27
09	نتائج إختبار الحساسية للمستخلصات الثلاث على أنواع البكتيريا المدروسة	30
10	النتائج المتحصل عليها لاختبار انحلال الدم للمستخلص البيتانولي	32
11	النتائج المتحصل عليها لاختبار انحلال الدم للمستخلص الهيكسان	32
12	النتائج المتحصل عليها لاختبار انحلال الدم للمستخلص أسيتات الايثيل	32

قائمة الوثائق

قائمة الوثائق

رقم الوثيقة	عنوان الوثيقة	رقم الصفحة
01	نبات الزيتة	6
02	فينولات أحادية الهيدروكسيل	11
03	فينولات ثنائية الهيدروكسيل	11
04	فينولات ثلاثية الهيدروكسيل	12
05	فينولات تتصل فيها مجموعة الهيدروكسيل بأشباه البنزين	12
06	تمثل الموقع الجغرافي لمنطقة الرقيبة	17
07	جهاز Soxhlet	19
08	مخطط توضيحي لطريقة الاستخلاص بجهاز الـ Soxhlet.	19
09	آليـة إرجـاع جذر $DPPH^{\cdot}$	20
10	قيمة المردود (%) لكل من المستخلصات النباتية	27
11	منحنى يوضح النسبة التثبيطية % I لمستخلص البيتانول لنبات الزيته (*Limoniastrum guyonianum* Dur.) بدلالة التركيز.µg/ml	28
12	منحنى يوضح النسبة التثبيطية % I لمستخلص الأسيتات لنبات الزيته (*Limoniastrum guyonianum* Dur.) بدلالة التركيز.µg/ml	28
13	قيم Ic50 (التركيز اللازم لتثبيط نصف كمية $DPPH^{\bullet}$) للمستخلصات و حمض الأسكوربيك	29
14	صور توضح الأقطار التثبيطية لمختلف المستخلصات (الميثانول، البيتانول، الاسيتات الاثيل) نبات الزيتة (*L. guyonianum*) على السلالات البكتيرية	30
15	الفعالية المضادة لانحلال الدم للمستخلصات النباتية الثلاثة لنبات الزيتة	31

قائمة الاختصارات

قائمة الاختصارات

EA: أسيتات الإيثيل.

IC_{50}: التركيز اللازم لتثبيط 50٪ من DPPH الجذري.

HEX: الهكسان.

(+)موجب الغرام..

(-) سالب الغرام.

R (%): المردودية الإنتاجية للمستخلصات ب %

P1: وزن المستخلص بعد تبخر المذيب.

P2: وزن المواد النباتية المستخدمة في الاستخلاص

Aex: إمتصاصية المستخلص (Abs de l'extrait)

Ab: إمتصاصية الشاهد1 (Abs de blanc)

Ac: إمتصاصية الشاهد 2 (Abs de control)

I: تثبيط (Inibition)

I %: نسبة تثبيط العامل المضاد لأكسدة الجذر.

A_0: امتصاصية DPPH عند (517 nm).

Ai: امتصاصية DPPH في وجود المادة المدروسة بعد 30 دقيقة عند (517 nm).

ROS : الجذور الأكسيجينية الحرة

المقدمة العامة

المقدمة العامة

لطالما اعتبرت النباتات الطبية مصدرا أساسيا لصحة الإنسان ولا تزال العديد من الثقافات التقليدية تثمن الوصفات الطبية النباتية وأهميتها الوقائية والعلاجية ومنافعها الأخرى، يتقدم علم التداوي بالأعشاب بمفهومه الحديث تقدما كبيرا في مختلف أرجاء العالم ويزداد الاهتمام بدراسة النباتات الطبية في مجال البحث الصيدلاني نظرا لخصائصها العلاجية وكلفتها المنخفضة وسهولة الحصول عليها والاعتقاد الشعبي السائد بأن الأدوية النباتية أكثر أمانا ونجاعة من العقاقير المصنعة (بن سلامة، 2012).

الجزائر نظرا لتعدد مناخاتها تمتلك ثروة هائلة من الأعشاب الطبية والعطرية تنتشر في مساحات شاسعة ومتفرقة، وفي بيئات مناخية مختلفة في السواحل والوديان والهضاب والمرتفعات الجبلية والصحاري وفي الحقول الزراعية وغيرها، منها ما هي موسميه تظهر بعد هطول الأمطار وتختفي عند الجفاف ومنها المعمرة والشجيرات. كما يتميز المظهر العام لمنطقة وادي سوف بغطاء نباتي مفتوح وقليل الكثافة، فمن ناحية التنوع فعدد النباتات البرية محدود ولا يتعدى 120 نوع نباتي بري، حيث تحتل هذه النباتات مكانة مهمة لدى سكان المنطقة في حياتهم اليومية فمن النباتات ما تستعمل في الغذاء ومنها ما يستعمل في الرعي وجزء منها يستعمل في الصيدلة والتداوي كنباتات طبية (حليس، 2007).

ونتيجة للاهتمام الكبير بالنباتات وأهميتها العظمى للكائن الحي انصب التفكير العلمي الحالي في العلاج باستعمال التداوي بالنباتات الطبية بشعار جديد هو العودة إلى الطبيعة.

وبما أن بلادنا تتمتع بغطاء نباتي كثيف ومتنوع موزع على بيئات مختلفة وتضاريس عدة والتي وبلا شك تسمح بتواجد نباتات طبية متنوعة لكل منها صفاتها وخصائصها. ونجد من بين أهم النباتات التي تتمتع بهذه الخاصية نجد أن نباتات العائلة الرصاصية لها أهمية كبيرا في العديد من المجلات وفي خلال هذه الدراسة سنقوم بالتعرف على نبات الزيته (*Limoniastrum guyonianum* Dur.) ودراسة فاعليته البيولوجية وماهي الآفاق الجديدة لاستخدامه وكيفية تحقيق فوائده الطبية والاقتصادية، حيث تم تقسيم الدراسة الى جزئين نظري وعملي، الجزء النظري يحتوي على فصلين:

الفصل لاول : دراسة نظرية حول نبات الزيتة (*Limoniastrum guyonianum* Dur.)

الفصل الثاني: منتجات الفصل الثانوي

و الجزء التطبيقي يحتوي على فصلين أيضا:

الفصل الاول: المواد والطرق

الفصل الثاني: النتائج والمناقشة.

الجزء النظري

الفصل الأول

دراسة نظرية حول نبات الزيتة

(*Limoniastrum guyonianum* Dur.)

I- العائلة الرصاصية (Plumbaginaceae)

I-1 تعريف العائلة

تنتمي العائلة الرصاصية أو البلمية Plumbaginaceae إلى الرتبة Plumbaginales تضم حوالي 836 نوعا نباتيا موزعة على 27 جنسا تتواجد هذه الانواع على هيئة اعشاب وهي حالة نادرة او على هيئة شجيرات بصفة معمرة او حولية (Castroviejo, 2001).

حيث تتوزع هذه الفصيلة من نباتات على نطاق واسع في العالم حيث أن اغلبها تتركز في النصف الشمالي من الكرة الارضية وخاصة في الاماكن الجافة والقاحلة أي بعبارة اخرى تتوزع في الاماكن الصحراوية ذات نسب الجفاف عالية وقليلة تساقط الامطار.

كما اوضح مجموعة من العلماء في عدت مقالات علمية على أن هذه الفصيلة نباتاتها تحبذ النمو في التربة ذات الملوحة العالية مثل المسطحات المالحة ومناطق سواحل البحر خاصة سواحل البحر الابيض المتوسط ومناطق غرب اسيا (Perveen et Qaiser, 2004).

في الجزائر ينمو منها 34 نوع نباتي مصنفة ضمن 4 اجناس اغلبيتها تنتمي إلى جنس *Limonium* الذي يضم 23 نوع وبقية الانواع تنتمي إلى جنس *Armeria* الممثل ب 6 أنواع *Limoniastrum* الذي يشمل 4 أنواع و *Plumbago* الذي به نوع واحد (Ozenda, 2004; Quezel & Santa, 1963)

I-1 تعريف جنس Limoniastrum

هو جنس نباتي شجيري صحراوي معمر ينتمي إلى فصيلة Plumbaginaceae ينمو ويتوزع في المناطق الجافة والمالحة، وفي ساحل البحر الابيض المتوسط وجنوب الصحراء الكبرى حيث يوجد في الصحراء الجزائرية على شكل نوعين هما *L. guyonianum* وجنس *L. feei*، وأيضا *L. ifnlense* و *L. weygetlorum* .

ويتميز هذا الجنس مورفولوجيا بشجيرات طويلة او قزمية القد واوراق مرتبة بوضع متبادل في شكل الوردة رمادية اللون لحمية جلدية تكسوها طبقة كلسية ازهارها وردية او ارجوانية اللون Castroviejo, 2001؛ Quezel et Santa, 1963؛ Ozenda, 2004).

II. نبات الزيتة (*Limoniastrum guyonianum* Dur.)

1-II تسمية النبات

يوجد عدة تسميات لنبات الزيتة (**الوثيقة 01**) وذلك لاختلاف أماكن تواجدها والثقافات المختلفة ولهجات المتنوعة حيث يعرف في الجزائر وتونس بالزيتة (Zeïta) أو (Zita) كما يعرف في بعض المناطق الجزائرية بحنة الابل (Hanet al-ibel) وفي مناطق من الجنوب الشرقي من المغرب ب Tirremt أو Zeyata بينما عند قبائل ليبيا يعرف ب Alzaia ، وحسب الموسوعات العلمية العالمية فان التسمية العلمية الدقيقة هي *L. guyonianum* (Hamdoon et *al.*, 2013).

الوثيقة 01: نبات الزيتة (علية، 2020)

2-II الوصف المورفولوجي

نبات الزيتة شجيرات معمرة عديدة التفرعات طولها يتعدى 1 متر في غالب احيان السيقان الحديثة خضراء اسطوانية تحمل اوراقا متبادلة هذه الاخيرة طويلة شبه اسطوانية قد يصل طولها 12سم وهي خضراء لحمية تظهر كأنها محببة وخشنة الملمس الازهار وردية او حمراء بنفسجية تتجمع في نورة قمية متفرعة (حليس، 2007).

كما تحمل اوراق بسيطة الحواف كاملة النصل عديمة الاوذينات متبادلة التوضع وازهارها كثيرا جدا تغطي كامل النبات كبيرة الحجم يصل طولها 8 مم وقطرها إلى 10مم شعاعية خنثى سفلية خماسية القطع تتميز بكأس انبوبي ملتحم السبلات غشائية ذات عروق واضحة وتويج مندمج البتلات جزئيا وردية أو أرجوانية اللون الاسدية فوق بتلية المتاع ملتحم الكرابل المبيض وحيد الغرفة ذو وضع مشيمي قاعدي تخرج الازهار من ابط قنابات غشائية صغيرة وتتجمع في نورة قمية متفرعة تترك على السطح مادة زيتية طفيفة

ثمارها كبسولة اما ثمارها فهي وتدية تحمل سيقانها تورمات كثيرة تعرف بالعفصيات يختلف مصدرها باختلاف نوع الساق (حليس، 2007).

II-3 التصنيف النباتي

يوضح **(الجدول 01)** التصنيف النباتي لنبات الزيتة (*L. guyonianum*)

الجدول 01: التصنيف النباتي لنبات الزيتة (*L. guyonianum*)

الفئة التصنيفية	Scientific classification	Taxonomic category
المملكة	**Plantae**	**Kingdom**
الشعبة	Spermaphytes	Division
تحت الشعبة	Angiosperms	Subdivision
القسم	Dicotyledons	Class
الرتبة	Plumbaginales	Order
الفصيلة	Plumbaginaceae	Family
الجنس	Limoniastrum	Genus
النوع	*Limoniastrum guyonianum* Dur.	Specie
الاسم الشائع	zeita الزيتة	Common name

(علية، 2020)

II-4 النمو والإزهار

الزيتة من الاشجار دائمة الخضرة طوال العام تزهر في فصل الربيع بين شهري أفريل وماي (حليس، 2007).

II-5 التوزع والانتشار

محليا تنمو الزيتة وتنتشر في العروق الشمالية للمنطقة حيث تتواجد في مستعمرات تغطي مساحة شاسعة على مستوى التربة الرملية العادية وشديدة الملوحة وعلى حواف الشطوط حيث إنها غالبا تكون في مناطق ذات تساقط يقل عن 150ملم سنويا.

أما على المستوى اقليمي فهي من النباتات المتمركزة في شمال افريقيا في جميع انحاء الصحراء الجزائرية والتونسية وكما إنها نادرة التواجد في الصحراء الوسطى والغربية وتتواجد بقلة في جنوب المغرب (Ozenda, 2004; Quezel et Santa, 1963; Chehma, 2006).

II-6 الاستعمالات

من الناحية البيئية يعتبر نبات الزيتة من النباتات المضادة لتصحر وذلك لأنها تعمل على تثبيت والتصدي لزحف التربة نحو الشمال.

من الناحية الرعوية تعد الزيتة من أهم النباتات الرعوية وذلك لأنها المصدر الاساسي للجمال في الظروف القاسية.

من الناحية الاقتصادية تعتبر الزيتة مصدر لدخل المادي عند بعض سكان الصحراء حيث تجمع سيقانها وجذورها المتخشبة وتباع ذلك الانه يمكن استغلال حطبها في التدفئة أثناء انخفاض درجات الحرارة.

من الناحية العلاجية في الطب التقليدي استخدم سكان المنطقة الزيتة في العديد من الأمراض وذلك من خلال مغلى الجذور والسيقان واوراق لمرض السكري لدغات العقارب والثعابين امساك الصداع وفي ابحاث اخرى استعمل نبات الزيتة لعلاج امراض الكبد والسرطان كما لديه خصائص تساعده للاستعمال كمطهر للجروح والقروح والحروق (علية، 2020).

الفصل الثاني

نواتج الأيض الثانوي

I- نواتج الأيض الثانوي

I-1 تعريف الأيض الثانوي

هو مصطلح للمسارات والجزيئات الصغيرة الناتجة من الأيض والتي لا تعد مطلوبة بشكل قاطع لبقاء الكائن الحي (لطفي ونس، 2020).

I-2 تعريف نواتج ايض الثانوي

هي مركبات تنتج من خلال مسارات ايضية فرعية (عمليات ايض ثانوية) باستخدام مركبات وسطية تنتج أثناء عملية ايض ابتدائي (ايض الكربوهيدرات والبروتينات) وتشمل كل من التربينات والفينولات والقلويدات وغيرها (لطفي ونس، 2020).

I-3 اهمية نواتج ايض الثانوي

- لها اهمية كبرى لنبات كمصدر للصبغات النباتية او مصدر للهرمونات النباتية أو الفيتامينات أو المرافقات الانزيمية أو القواعد النيتروجنية او الزيوت العطرية.
- بعض هذه المركبات مثل الفينولات والقلويدات يمثل خط دفاع الثاني للنبات.
- العديد من تلك المركبات له أهمية كبرى الانسان حيث تستخدم في كثير من الصناعات الهامة مثل الصناعات الدوائية وصباغة الجلود وصناعة الصابون واستخلاص الزيوت العطرية وفي صناعة مستحضرات التجميل وفي الصناعات الغذائية كمكسبات لطعم والرائحة وصناعة المطاط .....الخ (لطفي ونس، 2020).

I-4 الفينولات

I-4-1 تعريف الفينولات

الفينولات ثاني مجموعة من نواتج الايض الثانوي في النبات وهي مواد تحمل في تركيبها الهيدروكسيل على حلقة البنزين العطرية، وتقسم الفينولات إلى المجموعات التالية:

أ- الفينولات البسيطة

وهي التي تحتوي على حلقة بنزين مرتبطة بواحدة او أكثر من مجموعات الكربوكسيل.

ب- الاحماض الكربوكسيلية الفينولية (Phenol carboxylic acids)

وتتكون من حلقة بنزين مرتبطة بمجموعة حامضية وهي مجموعة الكربوكسيل COOH وكذلك واحدة او اكثر من مجموعات الكربوكسيل وقد تحمل ايضا مجموعات اخرى مثل مجموعة الميثيل مجموعة الفينيل بروبان Phenylpropanes ومشتقاتها ويتكون هيكلها الكربوني من حلقة بنزين بالإضافة إلى سلسلة جانبية من ثلاث ذرات كربون وتتضمن هذه المجموعة أهم الفينولات داخل النبات مثل حمض السينامك كحول السينامك والكيومارين وللجنين.

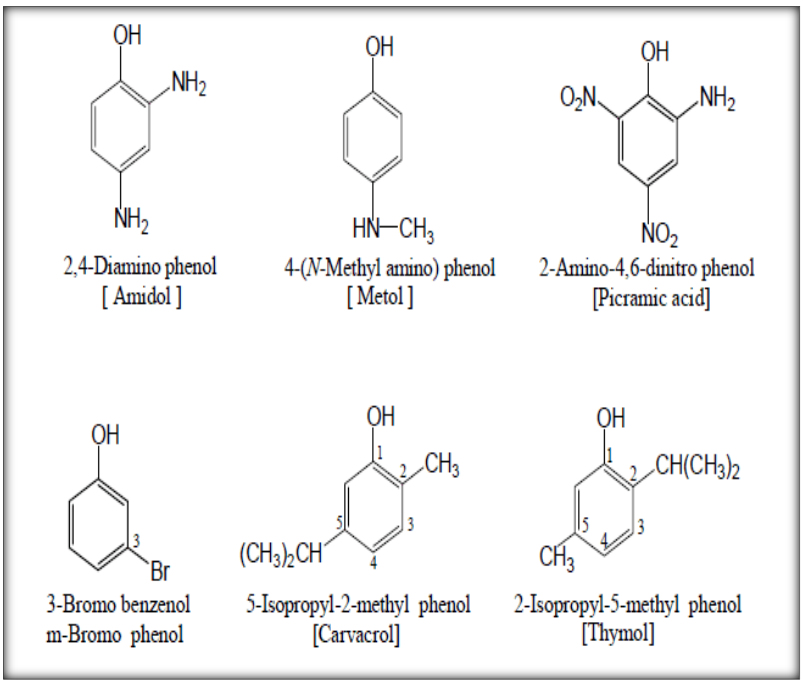
ج- مشتقات الفلافون (Flavone derivatives)

وهي مجموعة تضم المركبات الفينولية التي تتميز بلهيكل الكربوني للفلافون والذي يتكون من ثلاث حلقات بنزين A-B وحلقة وسطية تحتوي على اوكسجين وتشمل الفلافونات و الانثوسيانينات.

2-4-I تصنيف الفينولات

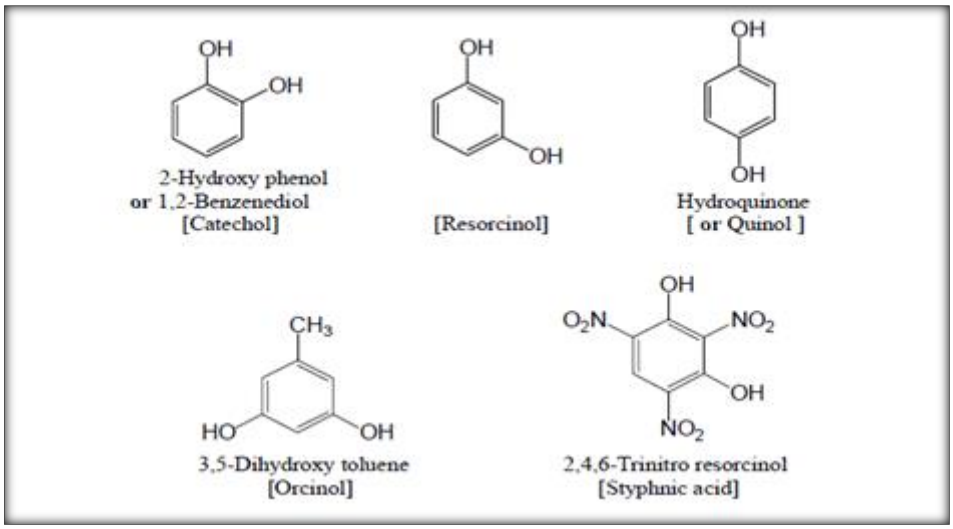
تصنف الفينولات على حسب عدد مجموعات الهيدروكسيل الى:

أ- **فينولات أحادية الهيدروكسيل:** وهي فينولات تحتوي على مجموعة هيدروكسيل واحدة فقط **(الوثيقة 02)** مثل:



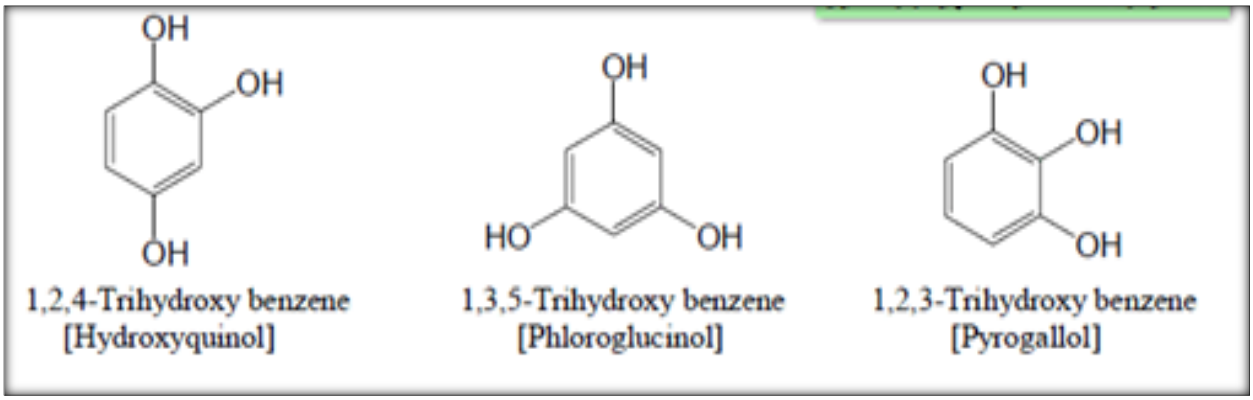
الوثيقة 02: فينولات أحادية الهيدروكسيل **(site 04)**

ب- فينولات ثنائية الهيدروكسيل: وتحتوي جزيئاتها على مجموعتي هيدروكسيل **(الوثيقة 03)** مثل:



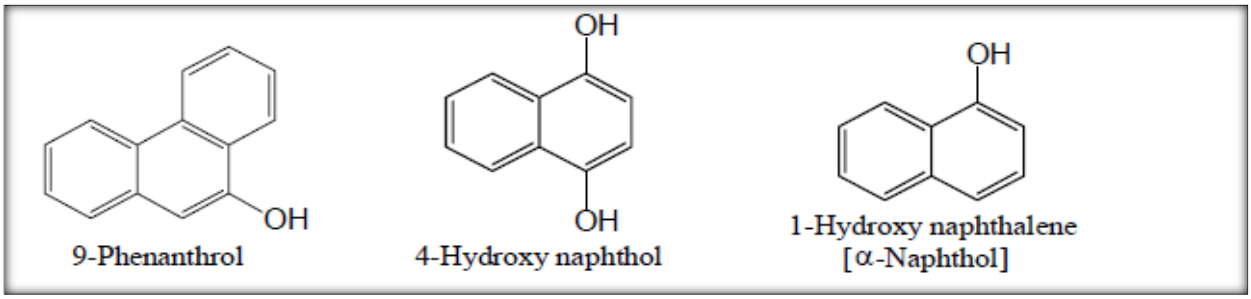
الوثيقة 03: فينولات ثنائية الهيدروكسيل **(site 04)**

ج- فينولات ثلاثية الهيدروكسيل: مثل:



الوثيقة 04: فينولات ثلاثية الهيدروكسيل **(site 04)**

د- فينولات تتصل فيها مجموعة الهيدروكسيل بأشباه البنزين: مثل:



الوثيقة 05: فينولات تتصل فيها مجموعة الهيدروكسيل بأشباه البنزين **(site 04)**

I-3-4 أهمية المركبات الفينولية

أ- أهمية الفينولات بالنسبة للنبات

يكمن دور الفينولات في مراقبة نمو و تطور النباتات بطريقة مباشرة أو غير مباشرة، وذلك بتشكيلها معقدات مع هرمون النمو، و قد لوحظ أيضا أن الفينولات تلعب دوار في وقاية النباتات من الأمراض التي تسببها البكتيريا والفطريات، فهي مبيدات الحشرات أو مضادات حيوية، و بعض النباتات تفرز مركبات فينولية على مستوى الأوارق والجذور كمواد سامة ضد نمو النباتات المتطفلة.

ومن الأدوار المعروفة أيضا للفينولات هي الحماية و الوقاية من الأشعة فوق البنفسجية uv كما أن لديها خصائص مضادة للفطريات ومضادة للجراثيم. (غميمة، 2018)

ب- أهمية الفينولات البيولوجية والعلاجية

تمتلك الفينولات خصائص علاجية متنوعة إذ تؤدي دورا كبيرا في ميدان الطب والصيدلة لما لها من تأثيرات على الكائنات الحية عامة، و على الإنسان خاصة فهي تحمي الأوعية الدموية، مضادة للالتهابات، منها مثبطة و منها محفز للإنزيمات، مضادة للأورام.

تحتوي الفينولات على المجموعات الهيدروكسيلية OH فكلما كثر وجودها في المركب زادت في نشاط المضاد المقاومة للأورام، تعد قناصات مفخخة للجذور الحرة فهي تمنح الهيدروجين ليوقف عملية انتشار الجذور. (غميمة، 2018)

يبين (**الجدول 02**) يبين بعض المركبات الفينولية التي تستعمل لعلاج العديد من الأمراض. (غميمة، 2018)

جدول 02: بعض المركبات الفينولية المستعملة في الطب و الصيدلة

المركب الفينولي	الأمراض المعالجة
ليقنين	- مضادات للسرطان
الكومارين	- حماية الأوعية الدموية - مضاد للأمراض الجلدية (البهاق)
الفلافونويدات	- مضاد للالتهاب - مضاد للسرطان - يخفض ارتفاع الدم - مدر للبول - مضاد للأكسدة - تمنع تخثر الدم
التانينات المتراكمة والمتحللة	- مضادات للأكسدة
الأحماض الفينولية	- مضاد البكتيريا - مضاد لطحالب - مضاد للأكسدة

تستخدم عديدات الفينول بشكل متزايد في الاستعمالات العلاجية، فهي تحتوي على مكونات فعالة للعديد من الأمراض: مضادة للسرطان، مضادة للالتهابات، مضادة للفيروسات، مضادة للجراثيم، مكافحة لتصلب الشرايين، مضادة للحساسية ومضادات للأكسدة وفي المجال الإقتصادي لها أهمية كبيرة في

الصناعات الغذائية حيث تستعمل كمضادات للأكسدة ومثبطات للإنزيمات، كما يتم استعمالها في صناعة مواد التجميل حيث تحمي البشرة الخارجية من الأشعة فوق البنفسجية. (غميمة، 2018)

ج- الفعالية المضادة للأكسدة

تمتلك المركبات الفينولية خصائص مضادة للأكسدة قادرة على كنس الجذور الحرة حيث أن حماية القلب لأوعية الدموية بالمركبات الفينولية أصبحت الأكثر رسوخا .

الدراسات العلمية الحالية أكدت الخصائص الطبية التي ترجع إلى المركبات الفينولية، ومن بين هذه الخصائص: النشاط المضاد للالتهاب، المضاد للفيروسات، المضادة للحساسية.

لأن الفلافونيدات من أهم الفينولات المضادة للأكسدة فإنها تقوم على تثبيت الأكسدة الفوقية لليبيدات في المرحلة الابتدائية باقتناصها لجذور الهيدروكسيل وذلك لقدرتها على التدخل مع الطبقة ثنائية الليبيد للغشاء الخلوي، كما تنهي سلسلة تفاعلات الجذور الحرة وذلك بإعطائها ذرات الهيدروجين لجذور البيروكسي ROO (Proxy) أو RO (alcoxyle) مشكلة بذلك جذر الفلافونويد. (بوصبيع، 2012)

الجزء التطبيقي

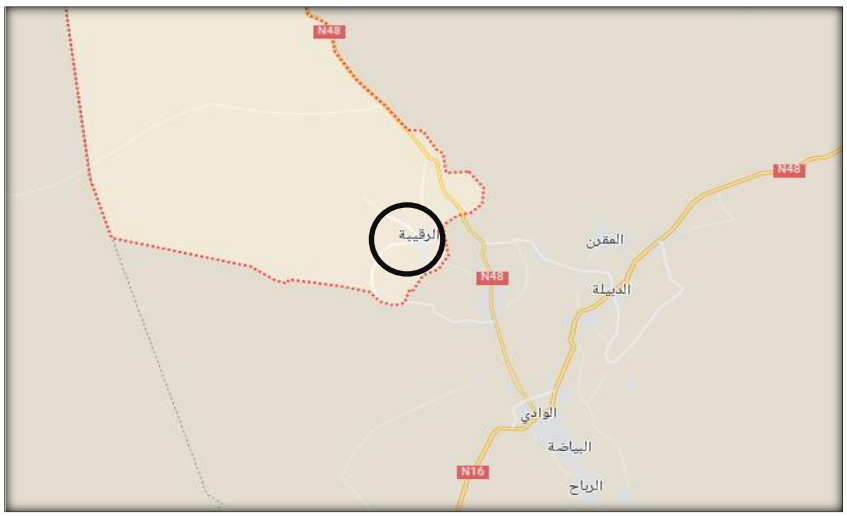
الفصل الأول

المواد والطرق

I- في الميدان

1-I تحضير العينة النباتية الزيتة (*Limoniastrum guyonianum* Dur.)

تم الحصول على نبات الزيتة في فترة ما بين أواخر أكتوبر وأوائل نوفمبر من منطقة الرقيبة بولاية الوادي **(الوثيقة 06)**، بعدها تمت تنقيتها ثم قطع الأوراق وهي ناضجة ثم تم غسل العينة بالماء وتجفيفها في الظل فوق قطعة قماش وتقليبها من حين الى آخر بمعدل مرتين في اليوم لتفاد فساد العينة لمدة أسبوعين مع عدم تعريضها لأشعة الشمس، تنتهي مدة التجفيف بعد التأكد من عدم وجود الماء في النبات، ثم بعد ذلك تم طحن النبتة المجففة باستعمال آلة كهربائية دون طحنها كليا، ومن ثم تخزينه في علب زجاجية محكمة الإغلاق بعيدا عن الضوء، الرطوبة والحرارة إلى حين استعماله مع التأكد من عدم تعفن النبات.



الوثيقة 06: تمثل الموقع الجغرافي لمنطقة الرقيبة (Google.maps, 2023)

II- في المخبر

1-II الأدوات والمحاليل المستعملة

يلخص **(الجدول 03)** مجموعة الأدوات والأجهزة والمحاليل المستعملة في التجارب المخبرية.

الجدول 03: مجموعة الأدوات والأجهزة والمحاليل المستعملة في التجارب المخبرية

تحضير المستخلص النباتي		
الأدوات	المحاليل والمواد	الأجهزة
✓ بيشر ✓ ورق الترشيح ✓ قمع ✓ جفنة وزن ✓ دوارق قياسية 1000، 500، 100، 50 ملل ✓ قنينات زجاجية بنية معتمة	✓ المادة النباتية ✓ البيتانول ✓ اسيتات الايثيل ✓ الهكسان	✓ جهاز (Soxhlet) ✓ جهاز التبخير الدوراني (Rotavapeur) ✓ ميزان حساس

محكمة الاغلاق ✓ أوراق الالمنيوم ✓ Cartouches		
تقدير الفعالية المضادة للأكسدة (اختبار تثبيط الجذر الحر *DPPH)		
✓ بيشر ✓ أوراق الألمنيوم ✓ انبوب مدرج ✓ أنابيب الاختبار ✓ حامل أنابيب الاختبار ✓ Micropipette ✓ الحاضنة (Etuve)	✓ المستخلصات النباتية ✓ الميثانول ✓ حمض الأسكوربيك ✓ محلول جذر *DPPH ✓ الماء المقطر	✓ ميزان حساس ✓ جهاز المطيافية الضوئية
الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة		
✓ طبق بيتري ✓ ماسح قطني ✓ حامل انابيب ✓ انابيب اختبار ✓ ورق witman	✓ المستخلص النباتي ✓ Souches bactèriennes ✓ ماء مقطر ✓ La gèlose mueller hinton ✓ La gèlose nutritive	✓ جهازتعقيم ✓ Autoclavage
اختبار انحلال الدم (Test d'hémolyse)		
✓ انابيب اختبار ✓ حامل أنابيب الاختبار	✓ المستخلصات النباتية ✓ دم الانسان ✓ H_2O_2 ✓ حمض الأسكوربيك	✓ جهـــاز قيـــاس الطيـــف الضوئي ✓ جهاز الطرد المركزي

II-2 الطرق المتبعة

II-2-1 تحضير المستخلص النباتي وحساب المردود

تمت عملية الاستخلاص بجهاز Soxhlet **(الوثيقة 07)**، حيث تم التحصل على المستخلصات النباتية بثلاث مذيبات مختلفة – حسب التدرج في القطبية للمذيبات- على الترتيب

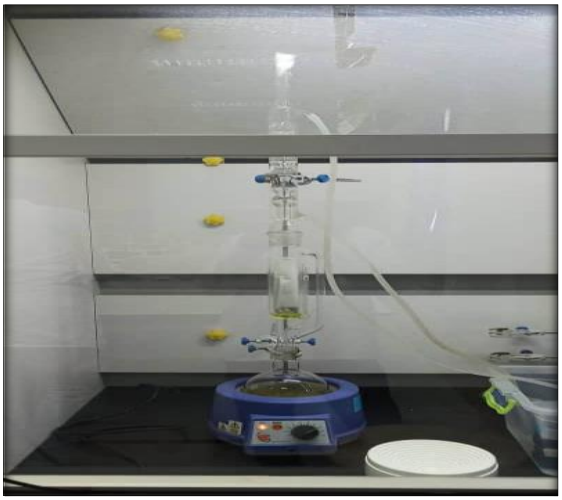
.(Hexane- Butanol- - Acétate D'éthyle)

- **طريقة الاستخلاص بجهاز Soxhlet**

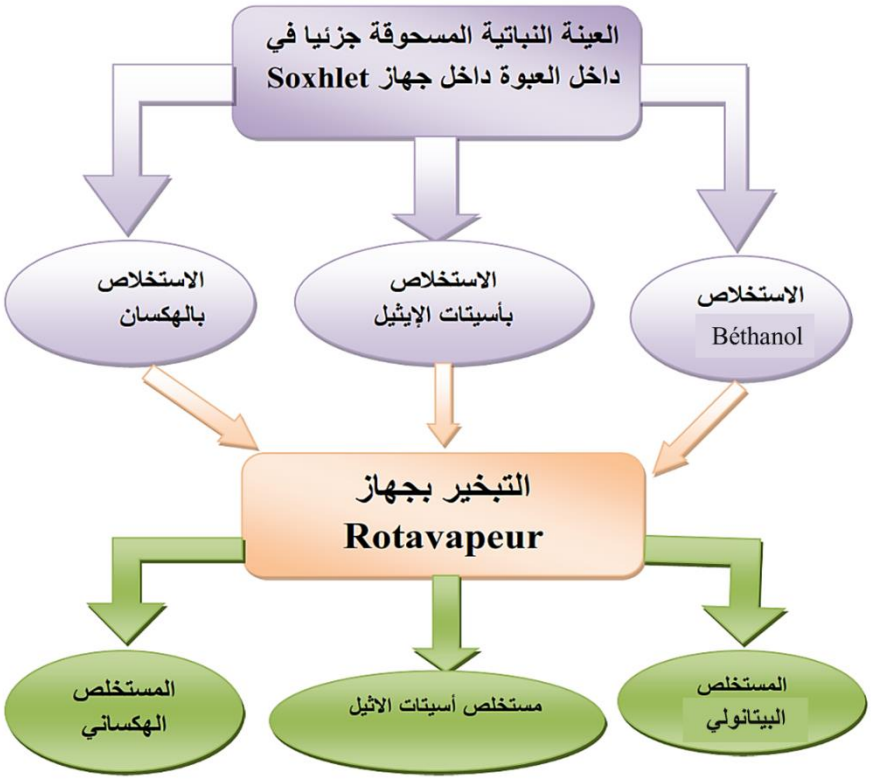
توضع المادة النباتية المسحوقة والتي تقدر بـ 6.5غ داخل عبوة الجهاز (Cartouches) على عدة مرات، ثم ندخل العبوة في الجهاز و نوصله بحوجلة كروية بها حجما من المذيب

(Hexane- Butanol -Acétate- D'éthyle) وفي الأخير تجهيز جهاز Soxhlet فوق السخان الكهربائي، درجة حرارة السخان تضبط على درجة غليان المذيب، يترك الجهاز يعمل لخمس أو ستة دورات حسب نوع المذيب.

ثم يوضع المستخلص النباتي في الزجاجية لجهاز التبخير الدوراني على درجة الحرارة المناسبة لتبخر المذيب المستعمل الموجود في المستخلص يوضع هذا المستخلص النباتي في بيشر بدرجة حرارة الغرفة للحصول على مستخلص نباتي خالي من المذيب **(الوثيقة 08)** (بحير وبرير، 2018).



الوثيقة 07: جهاز Soxhlet



الوثيقة 08: مخطط توضيحي لطريقة الاستخلاص بجهاز الـ Soxhlet.

يتم حساب المردود الإنتاج للمستخلصات النباتية باستخدام العلاقة التالية:

$$R\ (\%) = (P1 / P2) \times 100$$

حيث:

R (%): المردودية الإنتاجية للمستخلصات ب %.

P1: وزن المستخلص بعد تبخر المذيب.

P2: وزن المواد النباتية المستخدمة في الاستخلاص.

II-3 دراسة الفعالية البيولوجية

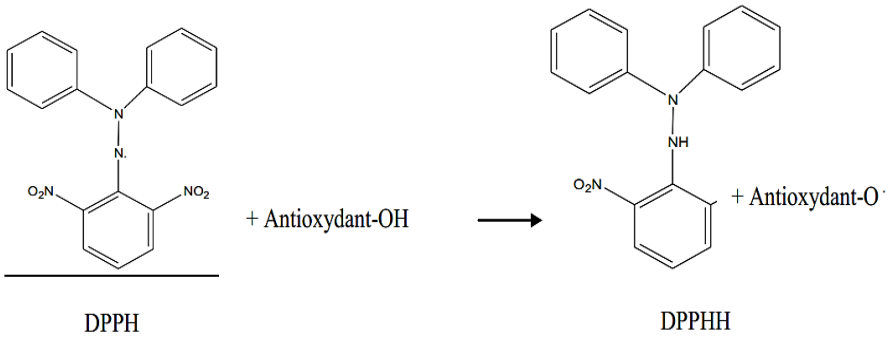
تتم دراسة الفعالية البيولوجية بثلاثة اختبارات مختلفة وذلك من خلال دراسة النشاطية المضادة للأكسدة بطريقتين وهما اختبار تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$ واختبار انحلال كريات الدم، وأيضا دراسة النشاطية المضادة للبكتيريا باستعمال ثلاث سلالات بكتيرية وهي *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Staphylococcus aureus*.

II-3-1 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

II-3-1-1 اختبار تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$

اختبار تثبيط الجذر الحر ($DPPH^{\cdot}$) هو اختبار مضاد للجذور الحرة (العابد وآخرون، 2011) حيث يعتمد هذا الاختبار على إرجاع جذر الـ DPPH باقتناصه لذرة هيدروجين من الجزيئات المانحة لذرات الهيدروجين (الجزيئات المضادة للأكسدة) إلى مركب DPPH-H **(الوثيقة 09)** (Belguidoum et *al.*, 2016)، ويمكن تتبع عملية إرجاع جذر $DPPH^{\cdot}$ لونيا باستعمال جهاز الطيف اللوني وذلك بقياس مقدار الانخفاض في الامتصاصية وهذا الانخفاض يمكننا من معرفة قدرة المستخلصات النباتية من تثبيط الجذور الحرة.

ويعرف جذر $DPPH^{\cdot}$ على انه مادة صلبة ذو اللون البنفسجي الداكن والذي يتحول إلى اللون الأصفر عند إزاحته (إرجاعه) بواسطة المركبات المضادة للأكسدة (Belguidoum et *al.*, 2016).



الوثيقة 09: آليـة إرجـاع جذر DPPH· **(site 04)**

- **تحضير محلول DPPH**

تم تحضير محلول DPPH· ذو التركيز 0.1 mM وذلك بإذابة 4mg من DPPH في 100ml من الميثانول.

- **تحضير التراكيز**

نحضر التراكيز المخففة بإضافة الميثانول للمستخلصات النبـاتية الثلاثة، وكـانت التراكيز كالتالي:

(1mg/ml, 0.5mg/ml,……., 0. 007812mg/ml)

- **طريقة العمل:**

في خلية ضوئية سعتها 1 ml يتم أخذ 200 µl من كل تركيز ويضاف اليها 800 µl من محلول DPPH ذوالتركيز (0.1Mm) وذلك بمعدل 3 تكرارات لكل تركيز، وتحضن العينات في الظلام لمدة 30 دقيقة، يتم قياس الامتصاصية عند طول موجة 517 nm بجهاز Spectrophotometer ، في هذه الدراسة يأخذ حمض الأسكوربيك (Vitamine C) كمركب مرجعي لغرض المقارنة بينها وبين المستخلصات الثلاثة المدروسة، ثم من خلال النتائج يتم حساب النسبة المئوية للتثبيط I % وذلك وفق العلاقة التالية:

$$\mathbf{I\% = [\ (A_0 - Ai) / A_0\ ] * 100}$$

حيث:

I %: نسبة تثبيط العامل المضاد لأكسدة الجذر.

A_0: امتصاصية DPPH عند (517 nm).

Ai: امتصاصية DPPH في وجود المادة المدروسة بعد 30 دقيقة عند (517 nm).

II-3-1-2 تحديد مقدار IC_{50} المثبطة لجذر $DPPH^{\cdot}$

وتحدد القدرة المضادة للأكسدة بتحديد معامل ال IC_{50}، ويعرف مقدار IC_{50} على أنه تركيز المستخلص (مضاد للأكسدة) اللازم لتثبيط 50% من الجذور الحرة $DPPH^{\cdot}$ (Sinha et *al*., 2019)، وتحسب انطلاقا من منحنيات تغير نسب التثبيط بدلالة تركيز المستخلص (العابد وآخرون، 2011).

II-3-2 اختبار انحلال كريات الدم

يتم أخذ عينة من دم شخص عادي (غير مدخن) في أنبوب Héparéni ثم توضع في جهاز الطرد المركزي 1000دورة لمدة 10د ثم يتم نزع بلازما الدم منها وغسلها ثلاث مرات ب محلول فوسفات الموقي PBS في كل مرة تغسل كريات الدم الحمراء وتعاد لجهاز الطرد المركزي وتنزع الطبقة العلوية، في حين يتم تحضير تراكيز مختلفة من المستخلصات وفيتامين (C) Acide Ascorpique المحضر في المحلول الموقي pH=7.4 بتركيز 0.1 مغ/مل.

كما يتم تحضير محلول من الماء الأوكسيجيني 0.3 % في المحلول الموقي. نقوم بأخذ 1مل من المستخلص، يضاف لها 0.5 مل من الماء الأكسيجيني و 1مل من الدم الممد في المحلول الموقي ويتم حضن الأنابيب لمدة ساعتين تحت درجة حرارة 37م° ليتم بعدها وضعها في جهاز الطرد المركزي لتنزع الطبقة العلوية ويتم قياس الامتصاصية Spectero photo métre عند طول موجي 540 nm.

بعد أخذ قيم الإمتصاصية نقوم باحتساب نسبة التثبيط حسب العلاقة

$$I\% = ((Aex - Ab)/Ac) * 100$$

حيث:

Aex: إمتصاصية المستخلص (Abs de l'extrait)

Ab: إمتصاصية الشاهد1 (Abs de blanc)

Ac: إمتصاصية الشاهد 2 (Abs de control)

I: تثبيط (Inibition)

II-3-3 اختبار النشاطية المضادة للبكتيريا

الهدف من هذه الدراسة هو معرفة تأثير المستخلصات النباتية الثلاثة لنبات الزيتة على بعض الأنواع البكتيرية، وذلك عن طريق تطبيقها على ثلاث سلالات بكتيرية ممرضة كما هي موضحة في **(الجدول 04)**، كالآتي:

الجدول 04: يوضح السلالات البكترية المدروسة

نوع البكتيريا	الرمز	الصنف
Escherichia coli ATCC25922	Ec	سالب الغرام
Pseudomonas aeruginosa ATCC9027	Pa	سالب الغرام
Staphylococcus aureus ATCC44300	Sa	موجب الغرام

- **بكتيريا *Escherichia coli***
- **تعريفها**

تنتمـــي هـذه البكتيريـا إلـى عائلـــة Enterobacteriaceae، وهـي عبـارة عـن عصيـــات سـالبة لصبغـة *Gram*، متحركة لاحتوائها على اوساط، هوائية اختيارية، طولهـا يتراوح ما بيـن 1.2 ميكرو متر و4 ميكرومتر (Silvia, 2003)، تعيش في مختلف الأوساط الهواء او التربة، جسم الإنسان والحيوان (الشبيب، 2009)، تتسبب في العديد من الأمراض منها ما يصيب الجهاز البولي والهضمي، تسبب حالات الاسهال والتسمم الغذائي(Percival, 2004) ، من خصائصها الكيميائية انتاج الاندول، تجزئة لاكتوز إلى مانتول بالتخمر.

- **التصنيف العلمي**

يوضح **(الجدول 05)** التصنيف العلمي لبكتيريا *Escherichia coli* كالتالي:

الجدول 05: يمثل التصنيف العلمي لبكتيريا *Escherichia coli*

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

(vogt et *al*., 2005)

بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*

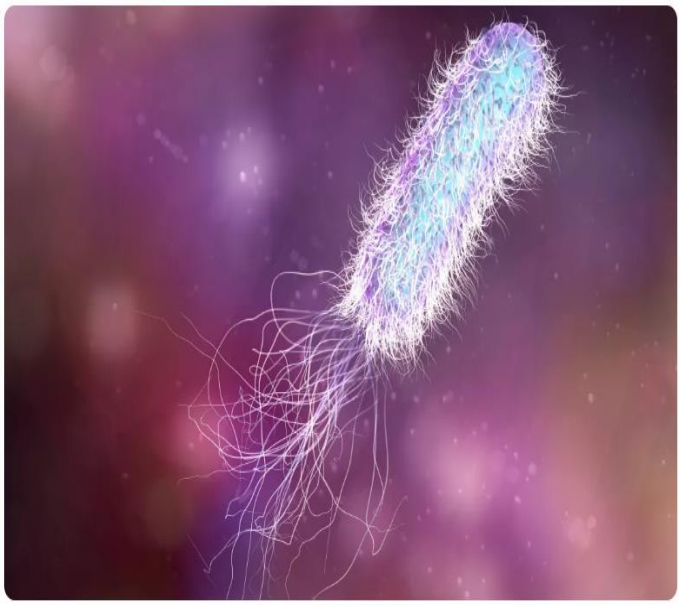
- **تعريفها**

هـي بكتيريـا عصـوية الشـكل سـالبة الغـرام رقيقـة هوائيـة يتـراوح طولهـا مـا بـين 1ميكرومتـر و5ميكرومتر تتعايش في درجة حرارة ما بين 4 -45 درجة مئوية وهي بكتيريا ممرضة تسبب مشاكل في الجهاز التنفسي ومشاكل في المسالك البولية (بالفار آسيا، 2018).

- **التصنيف العلمي**

يوضح **(الجدول 06)** التصنيف العلمي لبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* كالتالي: (Site 02)

الجدول 06: يمثل التصنيف العلمي لبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*



المملكة	Bacteria
التصنيف	Proteobacteria
القسم	Gammaproteobacteria
الرتبة	Pseudomonadales
العائلة	Pseudomonadaceae
النوع	Pseudomonas
الصنف	*Pseudomonas aeruginosa*

بكتيريا *Staphylococcus aureus*

- **تعريفها**

هي بكتيريا المسببة للأمراض المنقولة في الغذاء البشري ذات غرام موجب قطرها من0.5 إلى 1 ميكرومتر غير متحركة وهوائية وهي من اهم اسباب التسمم الغذائي.

- **التصنيف العلمي**

يوضح (**الجدول 07**) التصنيف العلمي لبكتيريا *Staphylococcus aureus* كالتالي:

(Beli et *al*., 2014)

الجدول 07: يمثل التصنيف العلمي لبكتيريا *Staphylococcus aureus*

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

II-3-2-1 دراسة نشاط فعالية المستخلصات ضد السلالات البكتيريا المدروسة

- **طريقة العمل**

قبل الشروع في هذا العمل يجب تعقيم كل الأدوات في المعقمة Autoclave والتنظيف الجيد لمكان العمل بالقرب من موقد بنزن و سنتبع في هذا العمل طريقة الانتشار وسط صلب كما هي موضحة في الخطوات التالية:

- **تحضير وسط الزرع**

تم تحضير اوساط الزرع بتسخين محلول الجيلوزي (Muller Hinton) في حمام مائي درجة حرارته 85°C ،ثم يسكب بكميات محددة في علب بتري معقمة بسمك موحد حتى النصف تقريبا، و تبرد على طاولة العمل حتى تتجانس و تتماسك أمام موقد بنزن لخلق وسط معقم.

- **تحضير الأقراص**

نقوم بقص اوراق الترشيح على شكل اقراص بقطر6 ملم، ثم نضعها في انبوب اختبار لتعقيمها في درجة حرارة عالية، ثم تشبع هذه الأخيرة بالمستخلصات التي تم تحضريها.

- **تحضير المعلق البكتيري**

باستخدام عود قطين نأخذ مسحة بكترية، و نضعها في 3 ml من الماء الفيزيولوجي المعقم، نقوم بالرج جيدا حتى يتجانس المحلول بالقرب من موقد البنزن لتجنب اتلاف الوسط من البكتيريا، بعدها نغمس العود القطني المعقم في المعلق البكتيري ثم يمسح به كامل الوسط الجاف لأوساط الزرع المحضرة سابقا على مستوى السطح بشكل خطوط متلاصقة و منتظمة.

- **وضع الاقراص المشبعة**

توضع الاقراص المشبعة بالمستخلصات داخل علب بتري بواسطة ملقط معقم، أي كل علبة تحتوي على أربعة أقراص مع ترك مسافات مناسبة، نتركها تجف و بعد مدة قصرية نقوم بوضعها في الحاضنة لمدة 24 ساعة تحت درجة حرارة 37 C ° و يتم قلب علب البتري لكي لا يتلف الوسط نتيجة الماء و تقرأ الأقطار بالمسطرة بوحدة mm.

الفصل الثاني

النتائج والمناقشة

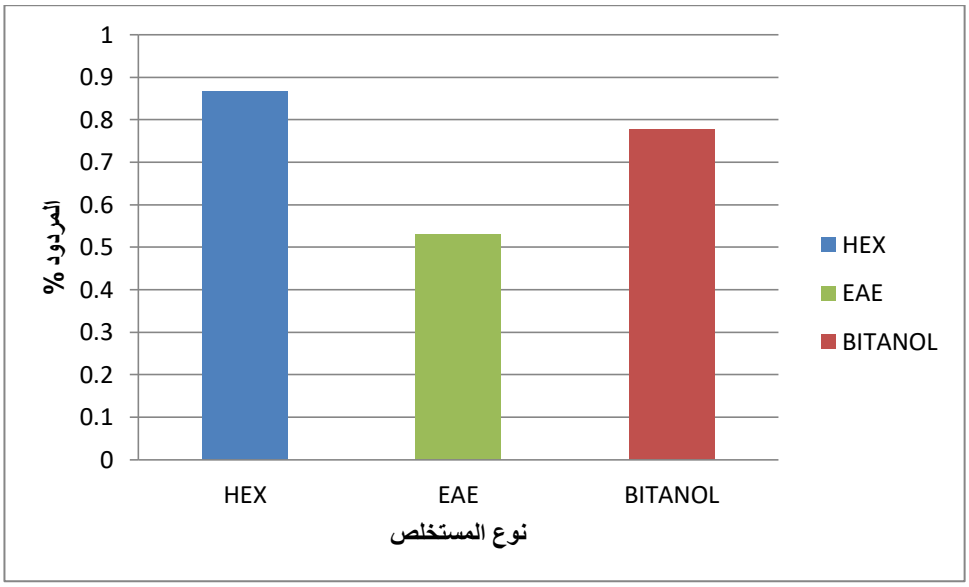
I- النتائج

I-1 مردود الاستخلاص

تم حساب المردودية لإنتاجية المستخلصات انطلاقا من كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة وكتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة لجميع المستخلصات، وكانت نسبة المردود لجميع المستخلصات كما هي موضحة في (**الجدول 08**) و(**الوثيقة 10**):

الجدول 08: أوزان المادة النباتية الجافة والمستخلصات النباتية ونسبة المردودية للنبات المدروس

نبات الزيتة			
BUTANOL	EAE	HEX	
45 g			**وزن المادة النباتية الجافة (g)**
0.35	0.2392	0.3904	**وزن المستخلص**
0.777	0.531	0.8675	**المردود %**



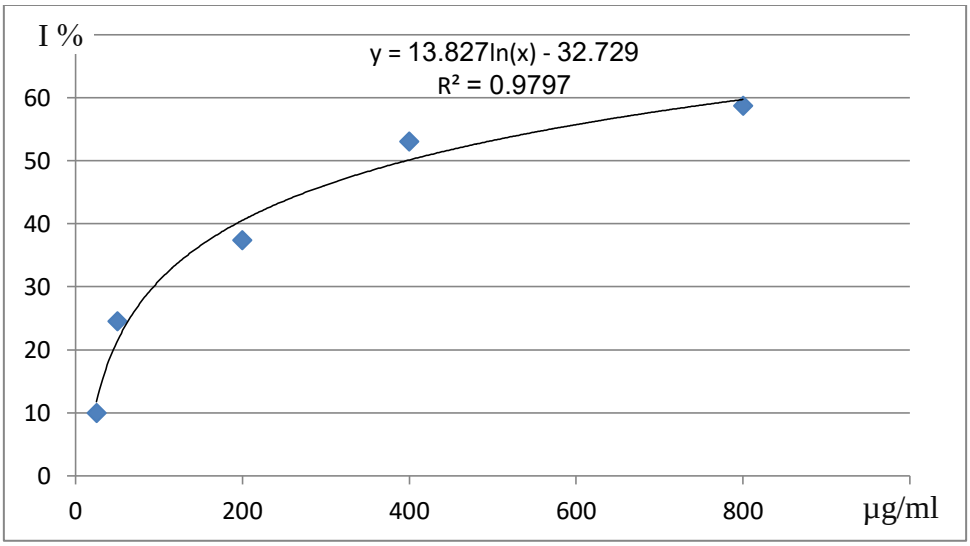
الوثيقة 10: قيمة المردود (%) لكل من المستخلصات النباتية

نلاحظ أن نسبة المردودية لإنتاجية المستخلص الهكساني قدرت بـ (0.8675%) أما الاسيتات فقدرت نسبته ب % (0.531) مقارنة بالمستخلص البيتانولي فقد قدرت نسبه بـ (0.777%)، ويرجع هذا الاختلاف البسيط في قيم المردودية لإنتاجية المستخلصين للاختلاف في نوع المذيب كما نلاحظ أن كمية المردودية المتحصل عليها للمستخلص الهكساني كانت أكبر مقارنة بالنسبة للمردودية المتحصل عليها لمستخلص الاسيتات والبتانولي هذا الاختلاف يرجع إلى نوع المذيب.

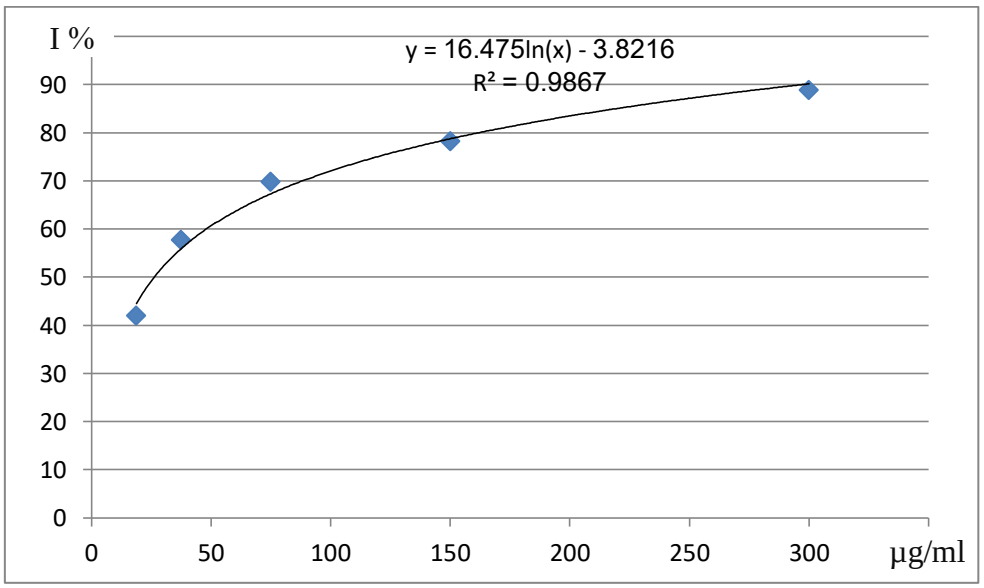
I-2 تقدير النشاطية المضادة للأكسدة

I-2-1 اختبار الفعالية المضادة للجذر الحر DPPH•

من خلال المنحنيات الواردة في **(الوثيقة 11)** التي تمثل منحنيات النشاطية للعينة المدروسة، تم تقدير نشاطية المستخلصات النباتية المضاد لجذر DPPH• ومقارنتها بنشاطية حمض الاسكوربيك باعتباره مركبا قياسيا.



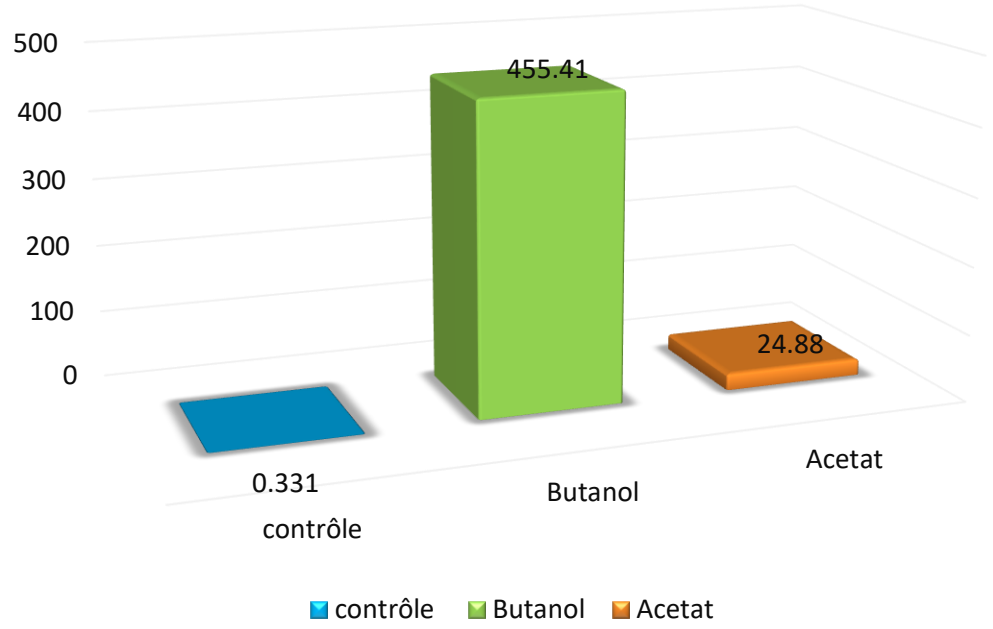
الوثيقة 11: منحنى يوضح النسبة التثبيطية I % لمستخلص البيتانول لنبات الزيتة *Limoniastrum guyonianum* Dur.) بدلالة التركيز µg/ml



الوثيقة 12: منحنى يوضح النسبة التثبيطية I % لمستخلص الأسيتات لنبات الزيتة *Limoniastrum guyonianum* Dur.) بدلالة التركيز µg/ml

I-2-2 تحديد قيمة IC_{50} المثبطة للجذر الحر DPPH•

انطلاقا من المعادلة الخطية لنسبة تثبيط المستخلص لجذر DPPH• بدلالة التركيز وكذا المعادلة الخطية لفعالية حمض الاسكوربيك ضد جذر DPPH• بدلالة تركيزه الموضحة في **(الوثيقة 11)** تم استخراج قيم IC_{50} للمستخلصات النباتية ولحمض الاسكوربيك ودونت النتائج في **(الوثيقة 12)** ومن المعروف أن الفعالية المضادة للأكسدة تتناسب عكسيا مع قيم IC_{50} ، فكلما كانت قيم الـ IC_{50} ضعيفة كانت النشاطية الكابحة للجذور الحرة أفضل.



الوثيقة 13: قيم IC_{50} (التركيز اللازم لتثبيط نصف كمية DPPH•) للمستخلصات وحمض الأسكوربيك

من خلال قيم IC_{50} المثبطة للجذر الحر DPPH• لمختلف المستخلصات (الهكسان، البيتانول، الاسيتات الاثيل) لنبات الزيتة المتمثلة في **(الوثيقة 13)**، نجد أن المستخلص الأسيتات أبدى فعالية عالية في تثبيط الجذر الحر DPPH• إذ قدرت قيمة IC_{50} بـ 24.88 µg/ml.

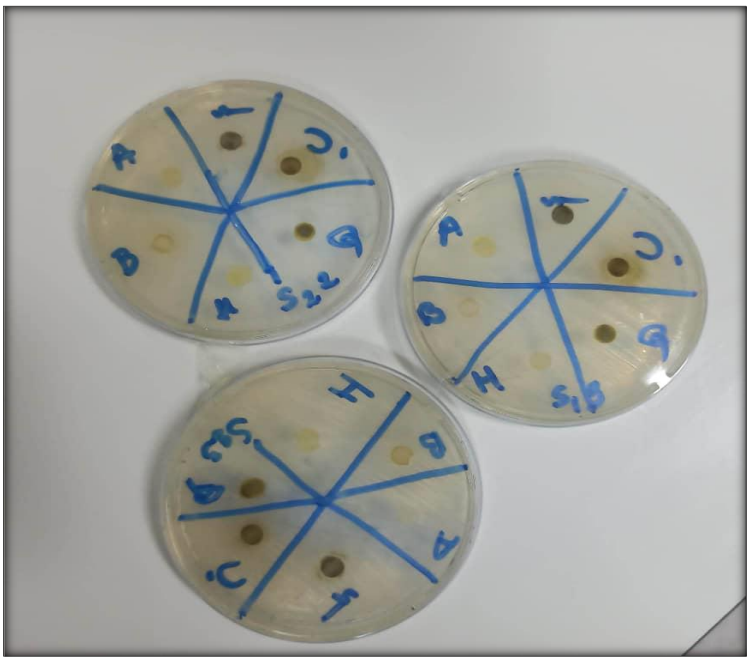
بينما قدرت قيمة IC_{50} في المستخلص البيتانولي بـ 455.41µg/ml، والتي تعتبر أقل فعالية من مستخلص الاسيتات، أما المستخلص الهكساني لم يبدي أي نشاطية مضادة للأكسدة أي فعالية ضعيفة جدا.

I-3 الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة

تهدف هذه الدراسة الى معرفة تأثير مختلف المستخلصات (الهكسان، البيتانول، الاسيتات الاثيل) لنبات الزيتة على بعض أنواع البكتيريا ويتم تقييم هذه الفعالية باستعمال طريقة الانتشار وسط صلب، ثم قياس هالات عدم النمو لتحديد الحساسية وحددت النتائج كما هو موضح في (**الجدول09**) و(**الوثيقة 14**).

جدول 09: نتائج إختبار النشاطية المضادة للبكتيريا للمستخلصات الثلاث على أنواع البكتيريا المدروسة

السلالات البكتيرية المدروسة	مستخلص بيتانول	مستخلص أسيتات ايثيل	مستخلص هيكسان
E.coli	8 مم	7 مم	0
S.aureus	7.6 مم	8 مم	0
P.aeruginosa	8.5 مم	8 مم	0



الوثيقة 14: صور توضح الأقطار التثبيطية لمختلف المستخلصات (الهكسان، البيتانول، الاسيتات الاثيل) نبات الزيتة (*L. guyonianum*) على السلالات البكتيرية

I-4 النشاطية المضادة لانحلال الدم (Test hémolyse)

تم تقدير النشاطية المضادة لانحلال كريات الدم الحمراء لمستخلصات نبات الزيتة الثلاثة استنادا لنشاطية حمض الأسكوربيك (Acide Ascorbique)، كما هو مبين في **الجدول (10)**، **(11)** و**(12)**، و**(الوثيقة 15)**:

الجدول 10: النتائج المتحصل عليها لاختبار انحلال الدم للمستخلص البيتانولي

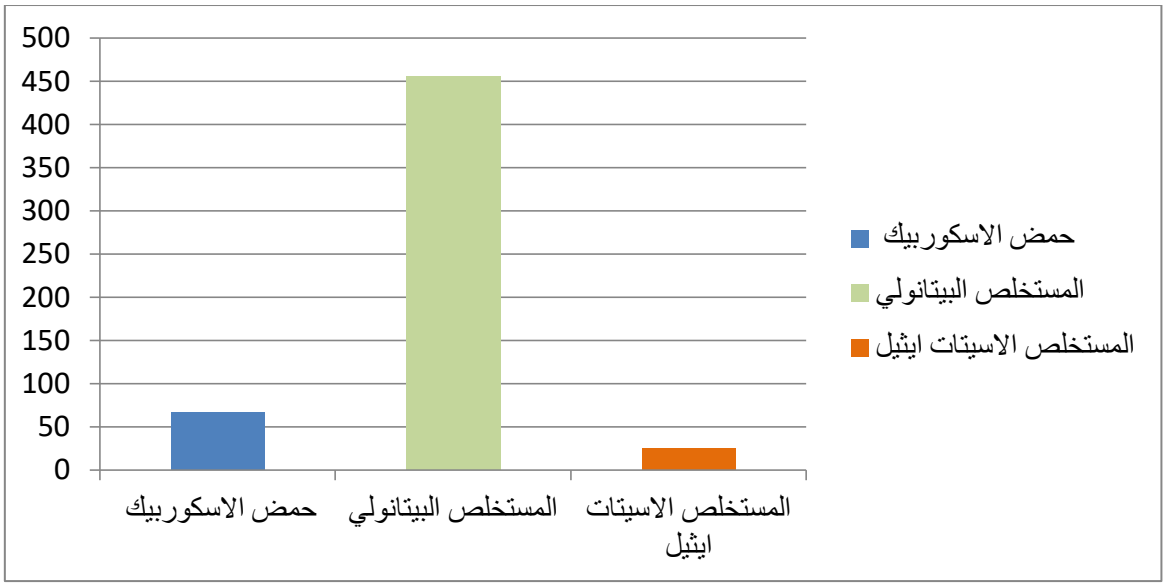
N	1	2	3	4
Abs	0.310	0.455	1.014	0.565
النشاطية %	45.50	31.64	14.20	25.42

الجدول 11: النتائج المتحصل عليها لاختبار انحلال الدم للمستخلص الهيكسان

N	1	2	3	**4**
Abs	0.479	0.717	0.904	0.779
النشاطية %	30	20	15	18

الجدول 12: النتائج المتحصل عليها لاختبار انحلال الدم للمستخلص أسيتات الايثيل

N	1	2	3	**4**
Abs	2.741	0.654	1.078	0.878
النشاطية %	5	22	13.35	16.40



الوثيقة 15: الفعالية المضادة لانحلال الدم للمستخلصات النباتية الثلاثة لنبات الزيتة

II- المناقشة

المردود

يمكن أن يرجع هذا الاختلاف إلى أنواع المكون الكيميائي لكل مستخلص واص التربة الكيميائية والفيزيائية ومسامية التربة وحامضيتها من العوامل وقطبية المذيب وحدك المهمة التي تدخل في تحديد نسبة ونوعية المكونات الفعالة فيما تشكل الظروف البيئية مثل الضوء والحرارة والرطوبة والارتفاع والانخفاض عن مستوى سطح البحر البعد والقرب عن خط الاستواء وطرق الحصاد والمعاملات الوراثية كالتطفير والتهجين وعوامل مهمة في تحديد النسب النوعية والكمية لأي نبات (سعد وآخرون، 1988؛ عميرة، 2001).

العوامل البيئية فهي من أهم العوامل المؤثرة على كمية ونوع المادة الفعالة للنبات المر مثل التربة والمناخ حيث تؤثر درجات الحرارة والضوء والرطوبة وكذلك الارتفاع أو الانخفاض عن سطح البحر وأنواع التضاريس وتنوع الموطن الجغرافي على تكون المادة الفعالة وكميتها ونوعها (المغازى، 2000) وبالتالي يؤثر على فعالية المستخلصات في النشاطية المضادة الأكسدة (Javammardi، 2003).

تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

اختبار الجذر الحر DPPH•

تؤدي مضادات الاكسدة دورا مهما في منع التغيرات غير المرغوب فيها في نكهة الأطعمة ورائحتها وخواصها الطبيعية، كما تقلل خطورة الأمراض المزمنة كالسرطان وداء السكري والالتهابات (Vasundhara, 2008) تمتلك مضادات الأكسدة الفينولية النباتية خواص متعددة، حيث تقوم بدور فعال في كبح الجذور الحرة من جهة، وتعزز مناعة الجسم تجاه الأمراض كتصلب الشرايين بعض أمراض السرطان من جهة أخرى.

وقد كانت نتائج مستخلصات نبات الزيته اتجاه اختبار الجذر الحر حيث المستخلص اسيتات ايثيل فاعلية كبيرة قدرة بـ 24.88 µg/ml ويليه المستخلص البيتانولي التي قدرت بـ 455.41µg /ml، بينما كانت قدرة تثبيط ضعيفة بالنسبة للهيكسان.

وعند مقارنة النتائج التي توصلنا اليها مع بعض الدراسات التي قام بها الباحثين حول ما تملكه المستخلصات النباتية من قدرة تثبيطية للجذر الحر $DPPH^{\bullet}$، فكانت قيمة IC_{50} أقل بكثير مما تحصلنا عليه أي لها فعالية أكبر، نذكر منها الدراسة التي قامت بها بلفار (2018) على نفس النبات المدروس حيث قدرت قيمة IC_{50} في نظام الاستخلاص (AtH2O) بـ 5.1µg/ml وفي نظام الاستخلاص ($MeOH/H_2O$) و($EtOH/H_2O$) قدرت على التوالي ب 5.6µg/ml و 8.3µg/ml.

وكذلك الدراسة التي قامت بها Medini ومعاونوها (2014) على نبات من نفس العائلة والمتمثل في *Limonium delicatulum* كانت قيمة IC_{50} في الأزهار 0.002g/l في المستخلص الأسيتوني، و 0.0052g/l في المستخلص الميثانولي، أما في المستخلص الايثانولي قدرت بـ 0.0043g/l

وعند مقارنة نتائج دراستنا مع الدراسة الذي قام بها (Hamidi, 2013) على نفس النبات نجدها أعلى منها أي لها فعالية أقل، حيث قدرت الـ IC_{50} في المستخلص الميثانولي ومستخلص الأستون على التوالي بـ 29.64 µg/ml و 24.85 µg/ml.

في تقدير النشاطية المضادة للأكسدة وما توصلت إليه الدراسات السابقة قد يُعزى لاختلاف شروط وظروف وسط النمو كل نوع نباتي؛ فهذه الظروف سواء أكانت داخلية وخارجية يمكن أن تأثر سلبا أو إيجابا على محتواه الكيموحيوي؛ الذي يمثل بدوره المعيار الأساسي لتحديد مدى قدرته على ابراز خواصه البيولوجية والفسيولوجية.

ومن خلال هذه المقارنة يمكن تخمين الاختلافات الملاحظة إلى اختلاف الأصول الجغرافية للنباتات وكذا الظروف البيئية السائدة؛ ومرحلة نمو النبات وحالته الفسيولوجية؛ وطريقة جمع؛ تجفيف وحفظ العينات المدروسة؛ كذلك قد يعود لاختلاف البروتوكولات التجريبية المتبعة وظروف المختبر.

ويرتبط بالتراكيز المختلفة للعينات والتي يمكن قياسها في طول موجة 307 نانومتر حيث تتناقص الامتصاصية كلما ارتفع تركيز المستخلص (جيدل ،2015) وانطلاقا من قياس مقدار الانخفاض في الامتصاصية باستعمال جهاز الطيف اللوني يمكننا معرفة مدى قدرة وكفاءة المستخلصات النباتية المدروسة في تثبيط الجذور الحرة (Dziri, 2012).

تقدير النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة

من خلال الدراسة التي قمنا بها على مستخلصات نبات الزيته تحصلنا على النتائج الموضحة في الجدول 09 والتي من خلالها يمكن القول إنه أكبر قطر تثبيط كان لمستخلص البتانول مع بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* حيث قدر قطر التثبيط ب 8.5ملم مقارنة بمستخلص اسيتات ايثيل الذي سجل اعلى قطر تثبيط في بكتريا *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* الذي قدر ب 8ملم كما لوحظ انعدام اي حساسية للمستخلص الهكساني ومنه نستنتج من هذه النتائج أن الحساسية ضعيفة للمستخلصات الثلاثة ضد السلالات البكتيرية المدروسة.

وبمقارنة النتائج المتحصل عليها بدراسات سابقة نجد أنه في دراسات سابقة أظهرت أن مستخلصات بعض النباتات من نفس العائلة تملك نشاطية أكبر من النتائج المتحصل عليها من بينها الدراسة التي قام بها D.A.Dhale ومعاونوها (2011) بدراسة تأثير المستخلص الايثانولي لنبات *Plumbago zeylanica* على عدة سلالات بكتيرية في تركيز g100/1 فكان لكل من السلالتين *E.coli* و *P.aeruginosa* حساسية بمنطقة تنبيط قطرها mm16 وmm17 في كل منهما على الترتيب.

ويفسر لاختلاف بين النتائج المتحصل عليها بين الدراستين إلى اختلاف في التأثير بين المستخلصات على السلالات البكتيرية المختبرة وذلك حسب تراكيز المواد الفعالة والي نوعية وكمية المركبات في كل مستخلص وذلك باختلاف طرق الاستخلاص والمذيبات المستعملة (Ivana، 2011) ، كما يعود الاختلاف في الحساسية بين السلالات المختبرة موجبة الغرام وسالبة الغرام إلى بنية وتركيبة وطبيعة جدار الخلية البكتيرية لكل نوع (Lambert.، 2002)

كما يمكن تفسير النتائج المتحصل عليها للمستخلص الهكساني الذي كانت نشاطيته معدومة يعود ذلك لاحتواء هذه البكتيريا على غشاء تفادي فعال يمنع دخول بعض مركبات المستخلصات المختبرة إلى داخل الخلية البكتيرية وبذلك يمنع تأثيرها التثبيطي (Hanafy et Hatem .1991) كما تعود حساسية البكتيريا سالبة الغرام عند مقارنتها مع موجبة الغرام لأن هذه الأخيرة تملك جدار أسمك من سالبة الغرام (العابد،2009)

النشاطية المضادة لانحلال الدم (Test hémolyse)

اختبار الـ Hemolyse من أسهل وأسرع التجارب *in vitro* المعتمدة لتحديد قدرة المستخلصات النباتية المضادة للأكسدة (Banerjee et *al*.، 2008)، حيث أختيرت كريات الدم الحمراء لهذا الغرض لأنها أكثر الخلايا المتواجدة في الجسم، ونظرا لاعتبارها الأكثر عرضة للجذور الحرة (Abirami et *al*., 2014)، وذلك لاحتوائها على كمية عالية من الليبيدات وغناها بالأكسجين بالإضافة إلى احتوائها على الأيونات المعدنية كالحديد (Alvarez-Suarez et *al*.، 2014).

وحسب ما ذكر (Ranga et *al*., 2014) فإن الـ ROS تعمل على أكسدة الغليكوليبيدات للدهون غير المشبعة في الغشاء البلازمي (Usha et Yogish, 2016) محدثة بذلك فرقا في الكمون بين الوسط الداخل خلوي والخارج خلوي (Marc et Lemullois, 2006؛ Callen et Perasso, 2005)، الأمر الذي يسمح بزيادة نفاذية الماء إلى داخل الكرية الحمراء (Judith، 2005)، ومن ثم إحداث حلول خلوي مؤديا إلى تحرير محتوي كرية الدم الحمراء في الوسط الخارج خلوي (Dolci et Panteghini, 2014; Lippi et *al*., 2006).

وتم خلال هذه الدراسة استعمال عوامل محرضة الإجهاد التأكسدي ضد كريات الدم الحمراء المتمثلة في H_2O_2 حيث حفز نشاطها عند درجة الحرارة الفسيولوجية لجسم الانسان، وتم تتبع قدرة كريات الدم الحمراء على مقاومة الجذور الحرة في وجود المستخلصات النباتية المدروسة لونيا بواسطة جهاز المطيافية الضوئية ومن خلال نتائج الجداول المتحصل عليها لاختبار انحلال الدم سجلنا اختلاف بين نتائج المستخلصات مقارنة بحمض اسكوربيك المعتمد كمرجع قياسي. وهذه النتائج لا تتوافق نوعا ما مع النتائج المتحصل عليها في اختبار الجذر الحر DPPH، حيث تحصلنا فيها على نشاطية مضادة للأكسدة فعالة نوعا ما.

الخاتمة

الخاتمة

يهدف عملنا هذا إلى المساهمة في التعرف على أحد النباتات الطبية المنتشرة في منطقة وادي سوف ودراسة بعض فعالياتها البيولوجية وهو نبات *Limoniastrum guyonianum* المعروف محليا باسم نبات الزيتة، حيث تم في البداية الحصول على المستخلصات وفق تدرج القطبية من المستخلص الهكساني ثم مستخلص اسيتات الايثيل وأخيرا مستخلص البيتانول، لتنتقل بعدها إلى تقييم بعض الفعاليات البيولوجية للمستخلصات بإجراء ثلاثة إختبارات للفعالية البيولوجية بدءا بالفعالية المضادة للأكسدة باستعمال طريقتين هما اختبار كسح الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ والفعالية المضادة لانحلال كريات الدم الحمراء ثم دراسة النشاطية المضادة للبكتيريا اتجاه ثلاث سلالات بكتيرية وهي: *E.coli*، *S.aureus* و*P.aeruginosa* باستعمال طريقة الانتشار على وسط صلب.

وفي دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا تبين أن للمستخلصات النباتية فعالية ضعيفة ضد السلالات البكتيرية المختبرة، حيث بلغ أكبر قطر تثبيط لمستخلص البيتانول 8.5 ملم ضد بكتيريا *P. aeruginosa*

في ما يخص فاعلية المستخلصات المضادة للأكسدة ومن خلال قيم IC_{50} تبين أن مستخلص اسيتات الايثيل له قدرة عالية على كسح الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$، ويليها المستخلص البيتانولي ، بينما كانت قدرة ضعيفة بالنسبة لمستخلص الهيكسان.

فيما يخص الفعالية ضد انحلال كريات الدم فقد أبدى مستخلص اسيتات الايثيل فعالية منخفضة في حماية كريات الدم من الانحلال مقارنة مع حمض الأسكوربيك.

وفقا للنتائج المتحصل عليها في الدراسة البيولوجية، يمكننا القول أن نبات *L. guyonianum* له فعالية مضادة للأكسدة عالية، ويمكنه أن يحل محل المواد الحافظة، والاستغناء بعض الشيء عن المركبات المصنعة، لما تحويه من ضرر على الكائن الحي كما يمكن استخدام نبات الزيتة في المجال الطبي اذا ما تم دراسة تأثيرات السمية وأيضا تحديد المركبات الفعالة فيه.

التوصيات والاقتراحات

- يجب على الباحثين الاهتمام أكثر بنبات الزيتة والقيام بالعديد من الدراسات حوله.
- وجب تثمين المواد الفعالة في نبات الزيتة في الصناعات الغذائية والطبية.
- دراسة اختبارات السمية واجراء تحاليل كيميائية دقيقة من أجل معرفة التركيب الكيميائي خاصة لمستخلص اسيتات الايثيل.

قائمة المراجع

قائمة المراجع

المراجع باللغة العربية

أحمـد لطفـي ونـس (2020)، فسـيولوجى نبـات خـاص، نـواتج الأيـض الثـانوى فـي النبـات الجـزء الأول «التربينات والفينولات»، جامعة دمياط، مصر.

المغازى أ.م.، 2000 -الشروط والمواصفات الدستورية اللازم توافرها عند تداول النباتات الطبية والعطرية. مجلة أسيوط للدراسات البيئية -العدد التاسع عشر 23 – 31.

المغازي أ.م.، 2000-الشروط والمواصفات الدستورية اللازم توافقها عند تداول النباتات الطبية والعطرية. قسم العقاقير. كلية الصيدلة مجلة أسيوط للدراسات البيئية. العدد 1

بن راس أمينة، بن قربة ريان (2018)، المساهمة في التعرف على طبيعة منتجات الأيض الثانوي وبعض الفعاليات البيولوجية لنبتتين من الجنوب الغربي للصحراء الجزائرية، مذكـرة مقدمة لنيل شهادة ماستر أكاديمي فـــي الكيـمياء، جامعـة قاصـدي مربـاح ورقلـة.

بلفار آسيا، (2018)، دراسة القدرة المضادة للأكسدة وللبكتيريا وللتآكل للمستخلصات *Limoniastrum guyonianum* Dur. الفينولية لنبات، سالة محضرة لنيل شهادة الدكتوراه ل.م.د تخصص: التحاليل الفيزيوكيميائية وفعالية العينات الجزيئية، جامعة قاصدي مرباح ورقلـة.

بوصبيع إبراهيم رباب، دارسة فعالية التآزر لمتعدد الفينولات المرجعية لتنشيط الخاصية المضادة للأكسدة بالطرق الكهروكيميائية، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي لنيل شهادة ماستر أكاديمي، تخصص كيمياء عضوية تحليلية، جامعة الوادي، 2012.

بسمة شمسة، دارسة مقارنة للمردودية والنشاطية المضادة للأكسدة في المستخلص الكحولي والمائي عند نبات، *Zygophyllum albumL* مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، علوم الطبيعة والحياة، جامعة الوادي .2015.

العابد ا.، - 2009 دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا ومضادة للاكسدة لمستخلص القلويدات لنبات الضمران. Traganum nurdatunمذكرة لنيل شهادة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح ، ورقلة. الجزائر. .106:ص

جيدل ص، 2015، تقدير المحتوى الفينولي والتأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات أطروحة Artemisia campestris L وArganiaspinosa L وPistacialentiscus L.نباتات مقدمة ليل شهادة دكتوراه، جامعة فرحات عباس سطيف،1ص: .5

خلفاوي ف وغريسي ج.، -2018 دراسة التأثير المضاد للبكتيريا لمستخلص نبات الأرطى Calligonum comosum L'Her مذكرة لنيل شهادة ماستر. جامعة الوادي.ص70-5

ربيعي عبد الكريم، المساهمة في دارسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية و الكهروكيميائية، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء تحليلية ومراقبة المحيط جامعة قاصدي مرباح ورقلة 2010).

سعد ش.إ.؛ القاضي ع. ا.؛ محمد صالح ع. ا.، 1988 -النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي، جامعة الدول العربية-المنظمة العربية للتنمية والزراعة، دار مصر للطباعة، ص 374

عجال ح ومكي م.، -2015 المساهمة في دراسة فيتوكيميائية والنشاطية البيولوجية لنبات صحراوي الأرطى Calligonum comosum L'herالنامي في منطقة واد سوف. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر. جامعة الوادي 70 – 52ص.

عميرة، إسراء (2001). الوجيز في علم العقاقير. دار يافا للنشر والتوزيع. عمان – الاردن. 254.

غميمة صفاء، (2018) ، دراسة مقارنة للمردود والفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص المائي والإيثانولي في بذور نبات القناوية (***Abelmoschus esculentus***)، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخصص: كيمياء عضوية .

بوصبيع إبراهيم رباب، (2012) دارسة فعالية التآزر لمتعدد الفينولات المرجعية لتنشيط الخاصية المضادة للأكسدة بالطرق الكهروكيميائية، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي لنيل شهادة ماستر أكاديمي، تخصص كيمياء عضوية تحليلية، جامعة الوادي، .

المراجع باللغة الأجنبية

ABIRAMI A., GUNASEKARAN N., & PERUMAL S., 2014- In vitro antioxidant, anti-diabetic, cholinesterase and tyrosine inhibitiry potential of fresh juice from Citrus hystrix and C. maxima fruits. Food Science and Human Wellness, (03): 18-22.

algérien. Laboratoire de recherche: Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et SemiArides, OUARGLA, 141 p.

ALVAREZ S.,TULIPANI, S., ARMENI, T., GIMAPIERI, F., J.M‹. GONZALEZ-Paramas, A.M., Santos-Buelga, C., Busco, F., Principato‹ G., Bompadre, S., Quiles, J.L., Mezzetti, B., Battino, M., 2014- Strawberry intake increases blood

fluid, erythrocyte and mononuclear cell defenses against oxidative challenge. Food Chemistry 156, 87-93

BANERJEE A. KUNWAR A. MISHRA B. & PRIYADARSINI K. L‹. -2008 Conce,tration dependent antioxidant / pro-oxidant activity of curcumam studies from AAH induced hemolysis of RBCs. Chemicobioligical Interactions, 174: 138.

BELFAR A., HADJADJ M., DAKMOUCHE M., BENSACI C., BELGUIDOUM

Beli.E, Maçi.R, Çoçoli.S, and Memoçi.H.(2014). Staphylococcus aureus in locally

BRAND- WILLIZM.S.W., CUVELIER.M.E and BERCET.C., 1995- Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm. Wiss.U.Tchnol‹. 28. P: 25.

CALLEN J. C. et PERASSO R., 2005- Biologie cellulaire des molécules aux organismes. DUNOD, Paris, 500 p.

CASTROVIEJO S., (2001): Flora iberica. Real Jardín Botánico, Vol. XIV, CSIC, p: 251.

CHEHMA A., (2006): Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional

DOLCI A. & PANTEGHINI M., 2014- Harmoniztion of automated hemolysis index assessment and use: Is it possible?. Clinlca Chimica Asta, 432: 38.

DZIRI.S., HASSEN.I., FATNASSI.S., MRABE.Y., CASABIANCA.H‹. HANCHI.B., HOSNI.K., 2012-Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (Allium roseum var. odovatissimum) .Journal of functional foods, 4: 423-432

HAMDOON A. M., SALMIN K. A. et AWAD GIUMMA A., (2013): Antioxidant et Quantitative Estimation of Phenolic et Flavonoids of Three Halophytic Plants Growing in Libya. Journal of Pharmacognosy et Phytochemistry, 2 (3): 89-94

HAMIDI A(2013) : étude photochimique et activité biologique de la plante *limoniastrum guyonianum*. Mémoire présenté obtenir le diplôme de magister en chimie organique, université kasdi merbah-ourgla.

HANAFY M.S. and HATEM M.E., 1991- Studies on the antimicrobial activity ofNigella sativa seeds (black cumin). Journal Ethnopharmaco, l.34 (2 -3) :275-278pp.

Ivana K., Milena N., and Miodrag L. (2011). Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the *artemisia* sp. recovered by different extraction techniques. *Biotechnology and bioengineering chinese journal* of *chemical engineering*. 19 (3): 504-511.

Jean B., pharmacognnosie phytochimie planates médicinales, 3eme edition Technique.et Documention, paris (1999).

JUDITH M. D., 2005- Etude phytochimique et pharmacologique de Cassia nigricans Vahl. (Caesalpinpaceae) utilisée dans le traitement des dermatose au Tchad. Université de Bamako, Mali, Thèse pour obtenir le grade de docteur, 212.

LAMBERT P.A., 2002- Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-positive bacteria and mycobacteria. Journal of Applied Microbiology, 92: 46-54p

LIPPI G. SALVAGNO G. L. MONTAGNANA M. BROCCO G. GUIDI G. C., 2006- Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. Cli. Chem. Lab. Med., 44 (3): 311.

M., GHIABA Z., et CHERBI Y., (2016): Antibacterial Activity of Limoniastrum guyonianum Medicinal Plant Used in Algerian Traditional Medicine. Der Pharma Chemica, 8 (21): 31 – 34.

MEDINI F, FELLAH H, KSOURI R, and ABDELLY C (2014), total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of shoots of the plante ***Limonium delicatulum***. Journal of taibah university for science,8(3) : p 216-224.

MOSQUERA.O.M., CORREA.X.M., BUTTRAGO.D.C., NIO.J., 2007 Antioxidant activity of twenty five plants from Colombian biodiversity. Mem Inst Oswaldo Cruz , 102. P: 631-634.

OZENDA P., (1977): Flore et végétation du Sahara. 2 ème édition, CNRS, Paris, France, p: 363.

OZENDA P., (2004): Flore et végétation du Sahara. 3 ème édition, CNRS, Paris, France, p: 388-390

PERVEEN A., et QAISER M., (2004): Pollen flora of Pakistan-XXXIX. Plumbaginaceae. Pakistan Journal of Botany, 36(2): 221-227.

produced white cheese in Tirana market. Albanian Journal of Agricultural Sciences. P519.

QUEZEL P., SANTA S., (1963): Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques mériditionneles. Edition du centre national de la recherche scientifique, Tome II, Paris, France, 1170 p.

RANGA RAO A. PHANG SIEW M. SARADA R. & RAVISHANKAR G. A., 2014- Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activates and its commercial applications – A review. Mar. Drugs., 12 (1): 130.

USHA & YOGISH, 2016- Hemolytic index – A tool to measure hemolysis in vitro. IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry, 2 (2): 49.

المراجع من المواقع الالكترونية

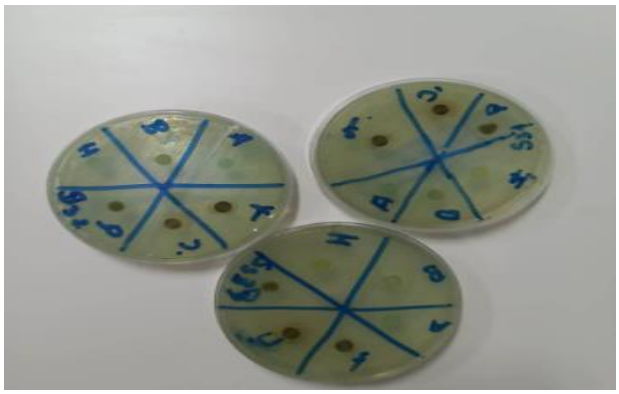
(Site 01): https://www.pourlascience.fr/sd/microbiologie/comment-la-bacterie-escherichia-coli-fabrique-son-bouclier-24183.php

(Site 02): https:// www. passeportsante.net/fr/ Maux/Problemes/Fiche.aspx ?doc=pseudomon- aeruginosa.

(Site 03): https://www.biomerieux-industry.com/fr/pharmaceutique-cosmetique /ressources/ bibliotheque -des-micro-organismes-pharma/2020-03-24-prevention-

الملاحق

الملاحق



الملحق 01: طبق بيتري يحتوي أقطار الثبيط لسلالات البكتريا

ملحق 02: جهاز الدوران ROTAVAPEUR

ملحق 03: ميزان حساس

ملحق 04: جهاز الطرد المركزي

ملحق 05: جهاز الطيف الضوئي

Spectrophotomètre