رقم الترتيب :.....

رقم التسلسل : .....

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

كلية العلوم الدقيقة

قسم: الكيمياء

مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص : كيمياء العضوية

من إعداد :

صالحي الخنساء – حدد سهيلة

تحت عنوان:

الدراسة الكيميائية للمستخلصات الخامة لمسحوق نبتة الثوم (*Allium sativum L*) المزروعة بمنطقة الوادي

نوقشت يوم 2021/06/20

أمام لجنة المناقشة المكونة من :

سمية شيحي	أستاذة مساعد(أ)	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي	رئيسا
نور الدين تامة	أستاذ محاضر (أ)	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي	مناقشا
حنان دباش	أستاذة محاضر (أ)	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي	مساعد مؤطر
نعيمة بن شيخة	أستاذة تعليم عالي	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي	مؤطرا

السنة الجامعية : 2020 /2021

بسم الله الرحمن الرحيم

الشكر والعرفان

الحمد لله والشكر له كما ينبغي لجلال وجهه وعظيم سلطانه الذي بفضله وعونه تم إنجاز هذا العمل المتواضع.

الشكر بعد الله إلى من لا يسعنا رد الجميل لهما إلا بالشكر إلى أغلى ما في الوجود "والدينا " وغفر الله لأبوينا الكريمين ورحمهما الله , سائلين من المولى عز وجل أن يمد أمهاتنا بالصحة والعافية ,هذا اليوم هو ثمرة جهدهما وعنائهما وصبرهما وأملهما.

كما نتقدم بجزيل الشكر إلى الأستاّذة المحترمة "بن شيخة نعيمة " التي أشرفت على هذا العمل من خلال توجيهاتها وإرشاداتها طيلة فترة العمل فجزاها الله عنا كل الخير، ونشكر أيضا أستاذة دباش حنان على توجهتها طيلة فترة عمل .

كما نتوجه بالشكر إلى الأستاذة " شلالبة إيمان " على ما جادت به من نصائح والإرشادات خلال فترة العمل.

الشكر موصول أيضا إلى مسؤولي المخبر البيداغوجي بكلية العلوم الدقيقة إلى كل من " كنزة " ، " منى " ، "كريمة "و" حفيظة"، على كل التسهيلات التي قدموها لنا خلال فترة العمل.

كما نتوجه بالشكر إلى المخبرية "جهاد شنه "على إنجازها لإختبارات الفعالية البيولوجية على مستوى مخبر المجد للتحاليل الطبية.

ولا ننسى أن نتوجه بالشكر إلى مسؤول مخبر ترقية وتكنولوجيا الموارد الصحراوية الأستاذ "محمد علي طليبة " على كل التوجيهات خلال فترة العمل.

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

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

كما تتسع دائرة الشكر إلى الأساتذة الكرام وجميع طلبة دفعة ماستر 2021.

الملخص

يهدف هذا العمل إلى دراسة كيميائية للمستخلصات الطازجة والجافة لنبات الثوم (*Allium sativum*) بنوعيه الأبيض و الأحمر و هذا عن طريق النقع في (الميثانول / الماء) بنسبة (80 %–20 %)، حيث كان أفضل مردود لاستخلاص العينات الجافة 25.98 %، و بالنسبة للعينات الطازجة، أحسن نسبة مردود كانت 18.77 %، كما تم من خلال اختبارات المسح الكيميائي الكشف عن نواتج الأيض الثانوي حيث تبين أنها تحتوي على أغلب مواد الأيض الثانوي كالفينولات و الفلافونيدات والقلويدات، و بعض الخصائص الفيزيائية.

تم التقدير الكمي للمركبات الفينولية في مستخلصات نبات الثوم باستخدام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية–المرئية، حسب طريقة (Singleton) و ذلك باستخدام كاشف الفولين (Réactif –Ciocalteu de Folin) ومحلول ثلاثي كلور الألمنيوم ($AlCl_3$)، حيث قدرت كمية الفينولات للعينات الطازجة للثوم الأحمر والأبيض على التوالي بـ (10.07 mg EAG / g و 3.85)، أما بالنسبة للعينات الجافة لمسحوقيْ الثوم الأحمر و الثوم الأبيض، ف قدرت بـ (20.45 mgEAG / g و 13.49) على التوالي. كما تم تقدير كمية الفلافونيدات لعينات الثوم الأحمر و الأبيض الطازجة، فكانت القيم (7.89mgEQr/ g و 3.61) على التوالي. أما بالنسبة لعينات مسحوقيْ الثوم الأحمر و الثوم الأبيض الجافة، فكانت القيم على التوالي (5.18 mg EQr / g و0.20)، و لاختبار الفعالية المضادة للأكسدة قمنا بإتباع الاختبارين : (DPPH)، (CAT)، حيث قدرت كمية (CAT) :

بالنسبة لعينات الثوم الأحمر و الثوم الأبيض الطازجة على التوالي بـ (17.19 mg EAA /g و 18.82).

بالنسبة لعينات مسحوقيْ الثوم الأحمر و الثوم الأبيض الجافة على التوالي بـ (18.35 mg EAA / g و 18.82).

كما قدرت (IC_{50}) لـ (DPPH) :

بالنسبة لعينات الثوم الأحمر و الثوم الأبيض الطازجة على الترتيب (3.53 mg / ml و 6.40).

بالنسبة لعينات مسحوقيْ الثوم الأحمر و الثوم الأبيض الجافة بالقيم الآتية على التوالي (2.77 mg / ml و 1.71).

من جهة أخرى، أظهرت مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FTIR) للمستخلصات الميثانولية لنبات الثوم (*A. sativum*) على وجود مجموعات وظيفية مثل مركبات الهيدروكسيل والكربونيل، والكربوكسيل.

و أخيرا و بعد تقييم اختبار الفاعلية المضادة للبكتيريا تجاه سلالتين من بكتيريا (*E. Coli*) و (*S. aureus*)، تحصلنا على أكبر قطر تثبيط عند السلالة (*S. aureus*) حيث قدر بـ (37 مم).

الكلمات المفتاحية :الثوم (*Allium sativum*)، المركبات الفينولية، CAT، DPPH، السلالات البكتيرية، الأيض الثانوي ، FTIR.

Résumé :

Ce travail vise une étude chimique des extraits frais et secs de l'ail (*Allium sativum*), blanc et rouge, par macération dans le mélange (méthanol / eau) à raison de (80 % / 20 %), où les meilleurs rendements de l'extraction des échantillons secs et les échantillons frais ont été respectivement de 25,98 % et de 18,77 %.

Des métabolites secondaires ont également été détectés par des tests de balayage chimique, où il a été constaté qu'ils contiennent la plupart d'entre eux tels que les phénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes, ainsi que certaines propriétés physiques.

La détermination quantitative des composés phénoliques dans les extraits de l'ail a été réalisée par spectroscopie UV-Visible et ce, selon la méthode *Singleton* en utilisant le réactif de *Folin-Ciocalteu*, ainsi qu'une solution de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$).

La quantité des phénols dans les échantillons frais des ails, rouge et blanc, a été estimée à (10,07 et 3,85 mg EAG / g) respectivement, tandis qu'elle a été estimée à (20,45 et 13,49 mg EAG / g) respectivement dans les échantillons secs des poudres d'ail rouge et d'ail blanc.

La quantité des flavonoïdes a également été évaluée pour les échantillons frais d'ail rouge et blanc, et les valeurs ont été (7,89 et 3,61 mg EQr / g) respectivement. Quant aux échantillons secs d'ail rouge et d'ail blanc en poudre, les valeurs ont été (5,18 et 0,20mg EQr / g) respectivement.

Pour tester l'activité antioxydante, nous avons suivi les deux tests (DPPH) et (CAT), où les résultats de (CAT) ont été comme suit :

- ✓ Pour les échantillons frais d'ail rouge et d'ail blanc : (17,19 et 18,82 mg EAA /g) respectivement.
- ✓ Pour les échantillons secs d'ail rouge et d'ail blanc en poudre : (18,35 et 18,82 mg EAA / g) respectivement.

Concernant les valeurs des (IC_{50}) relatives au test (DPPH), elles ont été :

- ✓ Pour les échantillons frais d'ail rouge et d'ail blanc : (3,53 et 6,40 mg / ml) respectivement.
- ✓ Pour les échantillons secs d'ail rouge et d'ail blanc en poudre : (2,77 et 1,71 mg / ml) respectivement.

D'autre part, la spectroscopie infrarouge (FTIR) des extraits méthanoliques de l'ail (*A. sativum*) a montré la présence de groupements fonctionnels tels que les hydroxyles, les carbonyles et les carboxyles. Enfin, après évaluation de l'activité antibactérienne sur deux souches, à savoir, (*E. coli*), et (*S. aureus*), le plus grand diamètre d'inhibition a été obtenu pour la souche (*S. aureus*), et a été estimé à (37 mm).

Mots-clés :

Ail (*Allium sativum*), composés phénoliques, CAT, DPPH, souches bactériennes, métabolites secondaires, FTIR.

قائمة المختصرات

A . sativum : *Allium sativum.*
DPPH : picrylhydrazyl diphenyl.
CAT : phosphmolybdenum.
R : Rendement.
UV: Ultra-Violet.
A : Absorbance.
ml : millilitre.
g: gramme.
Nm : nanométre.
mg: milligramme.
mg E AG/g : milligramme Equivalent Acide Gallique par gramme.
mg EQr/g: milligramme Equivalent Acide Quircetin par gramme.
λ : longueur d'onde .
% : pourcentage.
I%: pourcentage d'inhibition.
FTIR: Fourier Transform Infrared Spectrophotometer .
DMSO: Dimethyl Sulfoxide.
AA: Acide Ascorbic .
E.coli: Escherichia coli.
S.aureus : Staphylococcus aureus.
ATB: Antibiotique.

الفهرس الصفحة

الشكر والعرفان **I**

الملخص **II**

قائمة المختصرات **IV**

فهرس المحتويات **V**

قائمة الأشكال **XI**

قائمة الجداول **XIII**

مقدمة عامة 01

المراجع 02

الفصل الأول

الدراسة النظرية حول نبات الثوم

Allium sativum

مدخل

I.1.العائلة الزنبقية *Liliaceae* 04

I.1.الوصف النباتي لعائلة الزنبقية *Liliaceae* 04

I.2.1.الجنس *Allium* 04

I.2.دراسة نباتية حول نبات الثوم *Allium sativum* 06

I.1.2.التصنيف النباتي 06

I.2.2.الأسماء الشائعة لنبات الثوم 06

I.3.2.وصف نبات الثوم 07

I.2.3.1.الجذور 07
I.2.3.2.الساق 07
I.2.3.3.الأوراق والفصوص 07
I.2.3.4.الأزهار 08
I.2.4.الجزء المستعمل من نبات الثوم *Allium sativum* 08
I.2.5.الموطن الأصلي والإنتشار الجغرافي لنبات الثوم *Allium sativum* 09
I.2.6.التركيب الكيميائي لنبات الثوم *Allium sativum* 10
I.2.7.الإستعمالات الشعبية الطبية لنبات الثوم *Allium sativum* 11
I.2.8.أستعمالات الطب الحديث لنبات الثوم *Allium sativum* 11
المراجع 12

الفصل الثاني

المركبات الفينولية ومضادات الأكسدة

مدخل

II.1.متعدد الفينول 17
II.1.تعريف 17
II.2.الفلافونيدات 18
II.2.1.تعريفها 18
II.2.2.أقسام الفلافونيدات 18

II.3.الجذور الحرة ومضادات الأكسدة 20
II.3.1.تعريف الجذور الحرة 20
II.3.2.مضادات الأكسدة 20
II.3.2.1.تعريفها 20
II.3.2.2.أنواع مضادات الأكسدة 20
المراجع 21

الفصل الثالث

الطرق والوسائل

III.1.تقديم المنطقة المدروسة 24
III.2.1.الموقع الجغرافي لمنطقة وادي سوف 24
III.2.المواد والطرق 24
III.2.1.المادة النباتية 24
III.2.2.الأدوات والوسائل المستعملة 24
III.2.2.1.المواد المستعملة 24
III.2.2.2.الأدوات المستعملة 25
III.2.2.3.الأجهزة المستعملة..... 25
III.3.تعريف الإستخلاص 25
III.3.1.الأستخلاص سائل – صلب 25
III.3.2.الأستخلاص على البارد (النقع) 25

III.4.تحضير المستخلصات المستعملة في الدراسة 26
III.4.1.العينات الجافة 26
III.4.2.العينات الطازجة 27
III.4.3.مخطط عام لتجارب المنجزة 28
III.5.حساب مردود الإنتاجية للمستخلصات 29
III.6.تقدير درجة الحموضة (pH) وتقدير درجة الناقلية (EC)..... 29
III.7.الكشف الأولي للمركبات الكيميائية لنبات الثوم 29
III.7.1.الفلافونيدات 29
III.7.2.الفينولات والعفص 29
III.7.3.القلويدات 30
III.7.4.الصابونين 30
III.7.5.المركبات المرجعة (الكربوهيدرات)(السكريات) 30
III.7.6.الجليكوسيدات 30
III.7.7.الستيرويدات 30
III.7.8.التانينات 30
III.7.9.التربينات الثلاثية والستيرولات 31
III.7.10.الأنثوسينات 31
III.8.التقدير الكمي بواسطة مطيفية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية (UV-Vis) 31
III.8.1.التقدير الكمي للمركبات الفينولية الكلية 32

III.2.8.مبدأ 32
III.3.8.المنحنى القياسي لحمض الغاليك 32
III.4.8.طريقة العمل 33
III.9.التقدير الكمي للفلافونيدات الكلية 33
III.1.9.المنحنى القياسي لحمض الكرستين 34
III.2.9.طريقة العمل 35
III.10.تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بطرق الكيميائية 35
III.1.1.10.اختبار فعالية مضادات الأكسدة الكلية CAT بإستعمال مولبيدات الأمنيوم 35
III.2.1.10.طريقة العمل 36
III.2.10.اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH 37
III.1.2.10.تحضير الكاشف 37
III.2.2.10.طريقة العمل 37
III.3.2.10.حساب نسبة التثبيط I% للجذر الحر DPPH 38
III.4.2.10.تحديد مقدار IC_{50} المثبطة لجذر الحر DPPH 38
III.11.مطيافية الأشعة تحت الحمراء 38
III.12.الإختبارات البيولوجية 39
III.1.12.النشاط المضاد لميكروبات (البكتيريا) 39
III.2.12.الخطوات العلمية لهذا الإختبار 39
III.3.12.قراءة النتائج 41

المراجع 42

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

IV.1.حساب مردود للمستخلصات نبات الثوم *Allium sativum* 47

IV.2.دراسة بعض خصائص الفيزيائية 49

IV.3.نتائج الكاشف الأولي لنبات الثوم 50

IV.4.التقدير الكمي 51

IV.1.4.**التقدير** الكمي للفينولات بإستخدام (UV–Vis) 51

IV.2.4.التقدير الكمي للفلافونيدات بإستخدام (UV–Vis) 53

IV.5.الفاعلية المضادة للأكسدة 56

IV.1.5.الفعالية المضادة للأكسدة الكلية CAT 56

IV.2.5.نتائج القدرة التثبيط للجذر الحر DPPH 58

IV.6.مطيافية الأشعة تحت الحمراء FTIR 59

IV.7.الفاعلية المضادة لبكتيريا 61

المراجع 68

الخاتمة 72

الملاحق

قائمة الأشكال

الشكل(**I**.1): نبات الثوم *Allium sativum*.....7

الشكل (**I**.2) : عرض أجزء نبات الثوم *Allium sativum*.....8

الشكل (**I**.3) : البنية الكيميائية لمكون رئيسي لثوم *Allium sativum*.....9

الشكل (**II**.1) : الهيكل الأساسي للفلافونيدات 18

الشكل (**II**.2): أهم أقسام الفلافونيدات 19

الشكل (**II**.3) : مقطع تحت المجهر للجذور الحرة 20

الشكل (**II**.4) : أنواع مضادات الأكسدة 21

الشكل (**III**.1) : طريقة الاستخلاص لعينات الجافة 26

الشكل (**III**.2): طريقة الأستخلاص لعينات الطازجة 27

الشكل (**III**.3): مخطط عام للتجارب المنجزة 28

الشكل (**III**.4): رسم تخطيطي يوضح مبدأ عمل جهاز *UV-Visible*.....32

الشكل (**III**.5) : منحنى القياسي لحمض الغاليك 33

الشكل (**III**.6) : بعض مستخلصات ناتجة عن كشف مستخلصات الفينولات 33

الشكل (**III**.7) : آلية تشكل المعقد الأصفر.....34

الشكل (**III**.8) : منحنى القياسي للكرستين 34

الشكل (**III**.9): بعض مستخلصات ناتجة عن كشف الفلافونيدات 35

الشكل (**III**.10): منحنى القياسي حمض الأسكوربيك.....36

الشكل (**III**.11) : بعض مستخلصات بعد إضافة محلول الموليبدات.....36

الشكل (**III**.12) : آلية تثبيط العمل المضادة للأكسدة مع الجذر الثابت DPPH.....37

الشكل(**III**.13) : بعض مستخلصات بعد إضافة محلول DPPH.....38

الشكل(**III**.14) : صورة فوتوغرافية لجهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء FTIR.....38

الشكل (**III**.15) :قطر منطقة التثبيط للبكتيريا 41

الشكل (**IV**.1) :أعمدة بيانية لمردودية المستخلصات للعينات الطازجة لنبات الثوم *(A.sativum)*..47

الشكل (**IV**.2): أعمدة بيانية لمردودية المستخلصات لعينات الجافة لنبات الثوم *(A.sativum)*.....48

الشكل (**IV**.3): أعمدة بيانية لكمية الفينولات للمستخلصات العينات الطازجة لنبات الثوم *(A.sativum)*.....52

الشكل (**IV**.4): أعمدة بيانية لكمية الفينولات للمستخلصات العينات الجافة لنبات الثوم *(A.sativum)*.....52

الشكل (**IV**.5): أعمدة بيانية لكمية الفلافونيدات لمستخلصات العينات الطازجة لنبات الثوم *(A.sativum)*.....54

الشكل (**IV**.6): أعمدة بيانية لكمية الفلافونيدات لمستخلصات العينات الجافة لنبات الثوم *(A.sativum)*.....55

الشكل (**IV**.7) : أعمدة بيانية لقيم المضادات للأكسدة الإرجاعية CAT الطازجة لنبات الثوم *(A.sativum)*.....56

الشكل (**IV**.8): أعمدة بيانية لقيم المضادات للأكسدة الإرجاعية CAT لعينات الجافة لنبات الثوم *(A.sativum)*.....57

الشكل (**IV**.9) : منحنيات النشطية لمستخلصات العينات الطازجة في تثبيط الجذر الحر DPPH...59

الشكل (**IV**.10) : منحنيات النشاطية لمستخلصات العينات الجافة في تثبيط الجذر الحر DPPH...59

الشكل (**IV**.11) : أطياف (FTIR) لمستخلصات الميثانولية لنبات الثوم (*A.sativum*).....60

الشكل (**IV**.12) : أعمدة بيانية توضح أقطار تثبيط لمستخلصات العينات الطازجة والجافة لمستخلص DMSO لنبات الثوم 63

الشكل (**IV**.13) : أقطار تثبيط للمستخلصات لعينات الطازجة والجافة لمستخلص DMSO في وجود المضاد الحيوي ATB 63

الشكل (**IV**.14) : أقطار تثبيط لعينات الطازجة والجافة لمستخلص الميثانولي إتجاه سلاسلتين بكتيرتين *E.coli ,S.aureus* في وجود المضادة الحيوي ATB.....65

قائمة الجدوال

الجدول (1.I): بعض أنواع النباتية التابعة لجنس الثوم *Allium sativum*.....5

الجدول (2.I): التصنيف النباتي لنبات الثوم *Allium sativum*.....6

الجدول (3.I): التركيب الكيميائي لفصوص الثوم *Allium sativum*.....10

الجدول (1.III): الأنواع المختبرة للميكروبات وإختصارتها 39

الجدول (1.IV): مردود المستخلصات المدروسة 47

الجدول (2.IV): الخصائص الفيزيائية لمستخلصات المدروسة 49

الجدول (3.IV): نتائج الكواشف الأيض الثانوي 50

الجدول (4.IV): الإمتصاصية وكمية الفينولات لمستخلصات المدروسة.....51

الجدول (5.IV): قيم الإمتصاصية وكمية فلافونيدات للمستخلصات المدروسة 54

الجدول (6.IV): قيم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية CAT.....56

الجدول (7.IV): قيم IC_{50} و ARP لمستخلصات DPPH.....59

الجدول (8.IV): نوع الرابطة والتردد الموافق لكل مستخلص ميثانولي لنبات الثوم *A.Sativum*.... 61

الجدول (9.IV): أقطار التثبيط (مم) لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة لمستخلص DMSO لنبات الثوم *A.sativum*.....62

الجدول (10.IV): أقطار التثبيط (مم) لأنواع البكتيريا لمستخلص الميثانولي لنبات الثوم A.*sativum* 64

مقدمة

مقدمة عامة

تعتبر الطبيعة بما تحويه من أصناف لا تعد ولا تحصى من النباتات كنز لا يفنى من المواد الأولية الغزيرة والمتنوعة [1] ، حيث جذب اهتمام الانسان منذ بداية وجوده على الأرض أمور عديدة وكان للصحة والجمال قدر هام في حياته وقد دفعاه للبحث عن السبل التي تؤدي إليهما في كل ما حوله وقد ربط الانسان الأول بين النباتات البرية التي تعيش حوله وبين الأمراض التي يصاب بها [2].

وبفضل التقدم العلمي والتكنولوجي السريع استطاع الإنسان تدريجيا الاستغناء عن النباتات والأعشاب في العلاج واستبدالها بالأدوية و العقاقير الكيميائية [3] ، في الوقت الحالي تحتل النباتات الطبية مكانة كبيرة في الميادين الزراعة والكيمياء والصيدلة [4] بعد ما أصبحت المعالجة النباتية قائمة على أسس علمية والجدير بالذكر أنها تكون على شكل مستحضرات تقليدية ومواد فعالة نقية (فلافونيدات، تربينات ، متعدد الفينولات وغيرها وبالتالي يكون لها عدة استطبابات في آن واحد) [5].

كما تستعمل النباتات الطبية بشكل واسع في الجزائر خاصة في المناطق الجنوبية ، من بينها منطقة الوادي التي تعتبر نموذجا مثاليا لدراسة انتشار واستعمال النباتات الطبية الصحراوية [6].

لذلك تركزت دراستنا في هذا البحث على احدى نباتات الطبية في الجزائر والموجودة في مناخ الصحراوي بمنطقة وادي سوف والذي يعرف بإسم الثوم *Allium Satvium* والمعروف منذ زمن الرومان والفراعنة ، حيث أن العديد من الأطعمة والأعشاب والمنتجات الطبية المشتقة من النباتات غنية بالمركبات الفينولية التي يمكن أن تمنع الأمراض أو تعالجها أو تشفيها من أمراض القلب التاجية (كورونا)، وأيضا تجلت استعمالاتها الطبية الفعالة في علاج إرتفاع ضغط الدم والزكام [7] [8].

و انطلاقا من هاته الخصائص العلاجية وغيرها تبادرت الى أذهاننا العديد من الأسئلة مفادها ماهي المركبات الكيميائية الفعالة المكونة لنبتة ؟ و هل هذه المركبات لها تأثير على كبح الجذور الحرة ؟ و هل لها فعالية بيولوجية ؟

و للإجابة على كل هاته الأسئلة قمنا بدراسة تجريبية لفصوص نبات الثوم التي تنتمي إلى عائلة الزنبقية حيث تم تقدير المركبات الفينولية المتواجدة فيه وإختبار فعاليتها المضادة للأكسدة .

و قد شملت هذه المذكرة :

الجزء النظري :ويضم فصلين .

- الفصل الأول :الدراسة النباتية لنبات الثوم .
- الفصل الثاني :الدراسة الكيميائية .

الجزء العملي :ويضم فصلين .

- الفصل الثالث :الطرق والوسائل .
- الفصل الرابع :النتائج والمناقشة .

المراجع :

[1] حسان ، ق ،. معجم الأعشاب والنباتات الطبية . دار الكتب العلمية 568 صفحة ، (2010) .

[2] غياث ، م ،. تعيين التركيب الكيميائي للزيت العطري االأساسي في أوراق نبات المليسة وتعيين المحتوى الكلي للفينولات و الفلافانويدات من منقوع أورقها .دراسة مقدمة لنيل درجة الماجستير في الكيمياء .جامعة دمشق 142 ص, (2015).

[3] راهوني , س .وساري ع .، استخلاص وتحليل الزيت الأساسي لنبات الجعدة (Teucirum polium) مذكرة تخرج لنيل شهادة أستاذ التعليم الثانوي ، المدرسة العليا للأستاذة ، 62 ص, (2008).

[4] حسان ، ق ،. معجم الأعشاب والنباتات الطبية ،دار الكتب العلمية 568 صفحة , (2010).

[5] شروانة س .، فصل وتحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافانويدي لنبتة (Lycium arabicum) مذكرة تخرج لنيل شهادة ماجستير ،جامعة قسنطينة ،65 ص ,(2007).

[6] حليس .، الموسوعة النباتية لمنطقة سوف ،النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير. دار النشر بالمنطقة الصناعية كوينين ولاية الوادي ، مطبعة الوليد ص 248,(2007).

المراجع الاجنبية :

[7] Gebre selema ,G., Mebrahtu, G.Medicinal values of garlic: A review.International Journal of Medicine and Medical Sciences,Vol. 5(9),401-408p.(2013).

[8] Rahman, M.J., A.C. de Camargo, and F.J.F.c. Shahidi, *Phenolic profiles and antioxidant activity of defatted camelina and sophia seeds.*. **240**: p. 917-925. (2018).

الفصل الأول

الدراسة النظرية حول نبات الثوم

Allium Sativum

مدخل :

الثوم L'ail (*Allium sativum*) من محاصيل الخضر التي تتبع الفصيلة الزنبقية (Lilaceae) وهو محصول ذو قيمة إقتصادية و غذائية كبيرة و يعتقد أن موطن الثوم جنوب أوروبا و قد عرفه قدماء المصريين منذ 2780 قبل الميلاد والحضارات القديمة ، و يستعمل في الطهي و صناعة التخليل و حفظ اللحوم و الأسماك ، كما يستعمل في بعض الأغراض الطبية [1] .

I.1.العائلة الزنبقية *Liliaceae* :

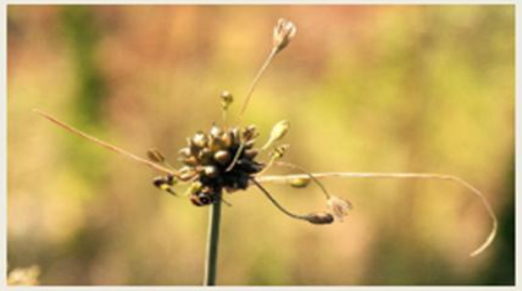
I.1.1. الوصف النباتي لعائلة الزنبقية *Liliaceae* :

تشمل العائلة الزنبقية (*Liliaceae*) حوالي 254 جنسا وحوالي 4075 نوعا .وهي نباتات عشبية معمرة [2] ، و تتميز نباتات هذه العائلة بأوراق بسيطة بها عروق متوازية والساق غالبا عشبي ولا يتفرع [3] ، والثمرة كبسولة مكونة من ثلاثة غرف وأحيانا تكون عباره عن عنبه ، الأزهار سفلية ثنائية الجنس ،المتاع علوي مكون من ثلاثة كرابل ملتحمة ، والوضع مشيمي محوري ، الطلع مكون من 6 أسدية في محيطين ، في كل محيط ثلاثة أسدية [4] [5].

I.1.2 . الجنس *Allium* :

يشمل جنس (*Allium*) حوالي 30 نوعا يسود كثيرا من دول العالم وقد اشتق إسمه من العائلة الزنبقية (*Liliales*) [6] . ومن أنواع أخرى لهذا الجنس يوضحها الجدول رقم **(1.I)**

الجدول(1.I) : بعض أنواع النباتية التابعة لجنس الثوم *Allium sativum* [7] .

Allium vineale L	 *Allium oleraceum L*
Allium roseum L	*Allium lusitanicum L*
Allium neapolitanum L	*Allium ericetorum L*
Allium schoenoprasum L	*Allium subhrisutum L*

2.I . دراسة نباتية حول نبات الثوم ***Allium sativum*** :

2.1.I.التصنيف النباتي :

جدول(2.I):التصنيف النباتي لنبات الثوم *Allium sativum* [8].

Régne	Plante	المملكة
Sous régne	Trachéophyte	**تحت المملكة**
Embranchement	Spermatophytes ou Phanérogames	**الشعبة**
Sous embranchement	Angiospermes	**تحت الشعبة**
Classe	Monocotyledomes	**الصف**
Sous classe	Liliidae	**تحت الصف**
Ordre	Lilales	**الرتبة**
Famille	Liliaceae ou Lilacées	**العائلة**
Genre	*Allium*	**الجنس**
Espéce	*Allium Sativum*	**النوع**

2.2.I.الأسماء الشائعة لنبات الثوم [9] [10] [11] :

الإسم العربي : الثوم

الإسم العلمي : *Allium sativum*

الإسم الإنجليزي : garlic

الإسم الفرنسي: Ail

I.3.2.وصف نبات الثوم :

نبات عشبي منتفخ محمر ، رائحته قوية ونفاذة ،الأوراق طويلة ومسطحة وناعمة مع نصل ورقة أسطوانية ومجوفة [12] ، رأس الثوم عبارة عن بصلة مكونة من فصوص مسطحة وصلبة مع قمة حادة ،يتم لف جميع الفصوص في غشاء رقيق أبيض أو وردي .عدد الفصوص لكل بصلة يختلف من 5إلى 16 فص . ساقها مجوفة ويمكن أن يصل إرتفاعها إلى 50 سم . الزهور تختلف في العدد ووجودها أو غيابها في العديد من الأصناف ،أما التكاثر فيكون عن طريق الأبصال والفصوص[13].

الشكل (I.1) : نبات الثومَ *Allium Sativum* (الأصلي)

I.3.2.1. الجذور :

يتشابه المجموع الجذري الثوم مع المجموع الجذري للبصل ، وينتج كل نبات من 40-60 جذرا تنتشر جانبا لمسافة نحو 45 سم ، ورأسيا لعمق 75 سم ، تعتبر جذور الثوم قليلة التفريغ ،لكن تفرعاتها أكثر وأطول قليلا مما في البصل ، وتنتشر الجذور في الطبقة السطحية من التربة وتشغلها بصورة جيدة [14].

I.3.2.2.الساق :

تتشابه ساق الثوم مع ساق البصل ،وتموت الساق الرئسية للنبات عند نضج البصلة ، كما تموت الجذور والأوراق ،وتظل الفصوص فقط محتفظة بحيويتها .[15].

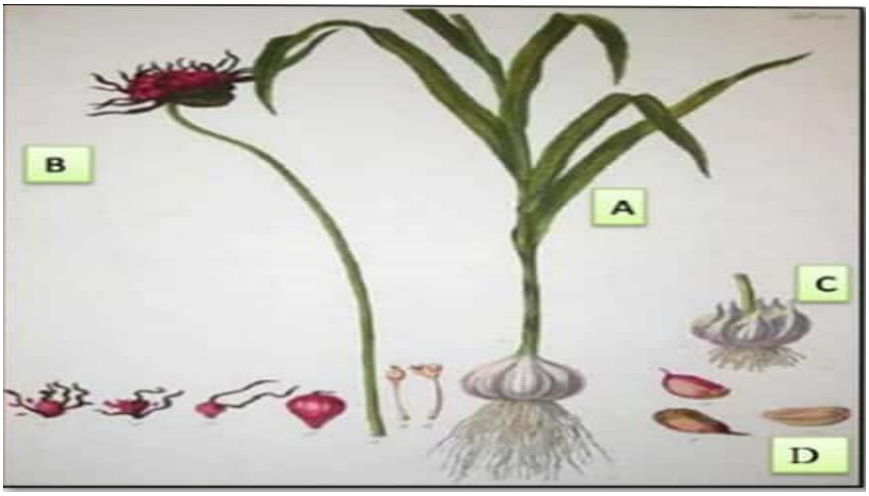
I.3.2.3. الأوراق والفصوص :

أوراق الثوم زورقية الشكل أي غير أنبوبية ويبلغ عرضها نحو 1.5-3 سم الأوراق عند نضجها رقيقة ، وجافة وحرشفية ، ولونها أخضر . وتتكون رأس الثوم من 4-8 محيطات من الفصوص ، يحتوي كل محيط منها على 8-14 فصا ، ويشبه المحيط شكل حدوة الفرس ، ويصغر فيه حجم الفص كلما كان قريب من أحد طرفي الحدوة .

يتكون كل فص من ورقتين ناضجتين وبرعم خضري ، تسمى الورقة الخارجية بالورقة الحامية ، وهي عبارة عمد أسطواني ذي فتحة صغيرة في قمته ، ويكون نصلها أثريا ويحيط الغمد بكل فص ،وتكون له طبقة سطحية من الأنسجة الملتفة القوية التي تصبح رقيقة ،وجافة ،ومتينة عند النضج .[15]

I.4.3.2. الأزهار :

إن الشمراخ الزهري لنبات الثوم مصمت وقصير وينتهي الشمراخ بنورات خيمية صغيرة ،توجد بها بلابل زهرية دائما ،إلا أن الأزهار تكون دائما صغيرة ، وعقيمة ويعني ذلك أنه ليست للثوم بذور . [16]



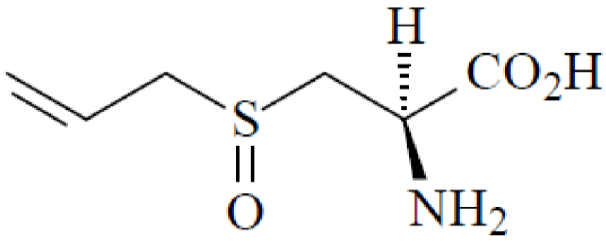
الأوراق (A) الأزهار (B) لمبة الثوم (C) فصوص الثوم (D)

الشكل (2.I): عرض أجزء نبات الثوم *Allium sativum* [9] [10]

I.4.2. الجزء المستعمل من نبات الثوم *Allium sativum* :

الجزء المستعمل من الثوم هي الفصوص التي تشتهر بمركبات الكبريت ، الذي يمكن يختلف محتواه اختلافا كبيرا اعتمادا على الصنف والأصل الجغرافي ، ووقت الحصاد وظروف التخزين . [17] [18].

حيث المكون الرئيسي للثوم هو *Alliine* :



Alliine

الشكل (3.I): البنية الكيميائية لمكون الرئيسي لثوم *Allium sativum*. [19]

I.5.2.الموطن الأصلي والإنتشار الجغرافي لنبات الثوم ***Allium sativum*** :

ينتمي الثوم للعائلة الزنبقية ، المنتشرعلى نطاق واسع يزرع على مستوى العالم بشكل أساسي لتطبيقاته الغذائية ، ونشأته كانت في آسيا الوسطى ثم انتشرت إلى الصين ، الشرق الأوسط ، قبل إنتقال من الغرب إلى جزيرة صقيلية ، وشمال إفريقيا [20]. أوسط وجنوب أوروبا ، ثم المكسيك [21]. وتعد الصين هي المنتج الرئيسي مع أكثر من 81% من الإنتاج العالمي [22]. يعتبر ثاني أهم المحاصيل الخضر التابعة للعائلة الزنبقية بعد البصل ويعتقد ان موطنه الأصلي منطقة وسط آسيا .[23]

I.6.2. التركيب الكيميائي لنبات الثوم *Allium sativum* :

نبات الثوم يحتوي على مواد كيميائية مختلفة النسب نلخصها في الجدول (I.3)

الجدول(I.3): التركيب الكيميائي لفصوص الثوم *Allium sativum* [22]

المادة الكيميائية	نسبتها
القلويدات	4.21(mg/100g)
التانينات	3.54 (mg/100g)
الفلافونويد	5.56 (mg/100g)
الصابونين	0.80 (mg/100g)
الكاروتينات	0.64 (mg/100g)
سترويدات	0.04(mg/100g)
Cardenolides	0.02(mg/100g)
بروتين خام	15.33(mg/100g)
الدهون الخام	0.72(mg/100g)
ألياف خام	2.10(mg/100g)
الرماد	4.08(mg/100g)
الكربوهيدرات	73.22(mg/100g)
البوتاسيوم	10.19(mg/100g)
الكالسيوم	26.30(mg/100g)
الفسفور	10.19(mg/100g)
الحديد	5.29(mg/100g)
المغنيسيوم	0.001(mg/100g)
الزنك	0.34(mg/100g)
المنغنيز	0.001(mg/100g)
كوبالت	/
الرصاص	/
الحموضة	3.91%
حموضة قابلة للمعايرة	0.97%
أملاح	2.39%

I.7.2. الإستعمالات الشعبية الطبية لنبات الثوم *Allium sativum* :

استعمالات نبات الثوم في الطب الشعبي غير محدودة ، نذكر منها في نقاط التالية :

- ✓ يستخدم الثوم على نطاق واسع لتجنب الإصابة نزلات البرد .كما يعتبر الثوم قاتلا للفيروسات المسببة للبرد والرشح ، تناول الثوم عند الشعور ببداية الآلام بالحلق يمنع حدوث إلتهابات الحلق ونزلات البرد .ويعتقد أن الثوم يزيد من مناعة الجسم ضد الخلايا المرضية والسر في قوة الثوم هو مادة تدخل في تكوينه تعرف باسم أليسين ، وهي المادة البيولوجية الرئيسية التي تنتجها نبتة الثوم ، ولها القدرة على خفض معدل الإصابة بالزكام الشائع بنسبة تزيد على النصف .ويستخدم الثوم لعلاج الكحة والربو والسعال الديكي .[24].
- ✓ يخفض ضغط الدم حيث تبين بأن مادة آليسين في الثوم تمنع النوع المتوسط من إرتفاع الضغط دموي .(من خلال منع تكوين انجوتنسين الذي يقلص الأوعية الدموية ويحبس الماء والأملاح داخل الجسم) ويخفض معدل الكوليسترول بالدم . [25]
- ✓ أستخدام المصريون الأوائل الثوم لعلاج الإسهال حيث وجد الوصفة الطبية على الجدران القديمة للمعابد يعود تاريخها إلى 1500 قبل الميلاد ، أما الأطباء اليونانيون فقد استخدموه لعلاج الامراض المعوية واليابانيون والصينيون القدماء لعلاج الصداع، إنفلونزا وإلتهاب الحلق والحمى وإلتهاب الأذن [26].

I.8.2. أستعمالات الطب الحديث لنبات الثوم *Allium sativum* :

- ✓ الثوم مفيد للأسماك حيث عند إضافة الثوم بنسب معينة لعليقة الأسماك وجد زيادة في وزن السمك مع زيادة مقاومة الأسماك للعدوى البكتيري .[27].
- ✓ يستعمل كعلاج للسعات النحل والحشرات حيث يدعك مكان اللسعة بسن الثوم لتخفيف ألم اللسعة كما يستخدم لتسكين ألم أسنان وذلك بوضع فصوص ثوم مهروسة موضع الآلم ويستخدم لمعالجة القشرة في فروة الرأس كما يستخدم عصير الثوم كمطهر للجروح العفنة والقروح .[28].
- ✓ الثوم من أهم المنتجات الطبيعية لحماية نظام القلب و الأوعية الدموية حيث يقلل الثوم بشكل فعال من إرتفاع ضغط الدم بعد آليات من خلال مقاومة الإجهاد التأكسدي وتثبيط الإنزيم المحول للأنجيوتنسين وزيادة اكسيد النتروجين وكبريتيد الهيدروجين علاوة على ذلك حسنت معالجة مستخلص الثوم أنسجة القلب في نموذج الفئران .[22].
- ✓ أجريت دراسة حول خاصية مضادة الأكسدة لنبات الثوم (النيء و المطبوخ) الثوم النيء أظهر فعالية للأكسدة أقوى من الثوم المطبوخ بواسطة عدة مقاييس وتم العثور على الخصائص المضادة للأكسدة مثل (H_2O_2,FRAP,DPPH) وبالمقارنة بين مستخلص الثوم متعدد الفصوص ومستخلص الثوم ذو الفص الواحد ، يحتوي هذا الأخير على كمية أقوى من الفينول وأظهرت المركبات نشاطا مضادا للأكسدة .[29].

المراجع العربية :

[3] هاني ,م ., دراسة بيولوجية و مورفولوجية لبذور بعض الأعشاب الضارة بمحاصيل الحبوب الشتوية في منطقة الهضاب العاليا السطايفية , أطروحة مقدمة لنيل شهادة : دكتوراء علوم , جامعة فرحات عباس , سطيف ص 178, (2012).

[18] غسان ,ج,ز, . قتيبة , ي,ع, .أنس ,م,ت,. تأثير موعد الزراعة وتغطية التربة في نمو وحاصل الثوم , مجلة ديالي للعلوم السراعية ,3(1):240-251, (2011).

[21] هيام ,ر.,معصومة ,ع., أسرار العلاج بالزيتون , دار القلم , الطباعة والنشر والتوزيع , بيروت .لبنان . ص 104 ,(2016).

[23] حسن , أ, ع , . إنتاج خضر المواسم المعتدلة والباردة في أراضي الصحراوية , سلسلة العلوم الخضر في الأرضي الصحراوية , الطبعة الأولى , الدار العربية للنشر والتوزيع ,(1994).

[24] كتاب دليل البدائل الطبية للدكتورة سامية حمزة عزام , دار المناهل للنشر 2002م.

[25] آية ,ج, س ., إيمان ,م, ع,. الثوم وفوائده الصحية ,مجلة أسيوط للدراسات البيئية – العدد الأربعون .ص3, (2014).

[28] حسين ,س.ص.,سالي ,ب.ش.,. الطب البديل عن طريق معرفة القيمة الغذائية للفواكه والخضر والأعشاب . الطبعة الأولى , الدار الدولية للإستثمارات الثقافية , القاهرة , مصر, ص :74.دار الأسرة للإعلام ودار عالم الثقافة ص67 , (2014).

المراجع الأجنبية :

[1] Francois ,L .E . Yield and quality response of salt – stressed garlic . Hortscience 29 (11) : 1314-1317.(1994).

[2] Azizbek ,S,.Sultankul ,A,. Distributed Species of Family Liliaceae and Iridaceae in Tarkapchigai Botanical Geographical Region (Uzbekistan)/ Gulistan State University, Gulistan , Uzbekistan , International Journal of Science and Research ,8 (12) : 32-38 p.(2018).

[4] Rahmawati , L , U ,. Purwanti , E,. Budiyanto, M, A ,K,. Zaenab ,S , Susetyarini, R , E,. Permana,T,I,. Identification of Pollen Grains Morphology and Morphometry in Liliaceae, Department of Biology Education , Faculty of Teacher Training and Education ,University of Muhammadiyah Malang , East Java, Indonesia, IoPPublishing:1-8 p.(2019).

[5] Hammiche ,V,. Morphologie et Systematique botaniques , office. (1995).

[6] Yousuf,A,.FAGBUARO,S,S,.FAJEMILEHIN,S,O,K Chemical composition ,phytochemical and mineral profile of garlic (Allium Sativum).Journal of Bioscience and Biotechnology Discovery.3(5):105-109. (2018).

[7] Mareel,L . Situation de l'hypertension artérielle dans le monde et poition du canda.Socété camadienne d'hypertension artérielle.no88,8p.(2006).

[8] Touil A ., LITAIEM J.ET ZAGROUBA F.ISothermes de sorption et propriétés thermodynamique de l'Allium Sativum. Journal of the Tunisian chemical Society,17,105-114.(2015).

[9] Goetz,P., & Ghedira,k .Phytothérapie anti-infectieuse.springer Science & Business Media.(2012).

[10] Moumen F.Valorisation desplantes condimentairescultivées et spontanées dans l'ouest algérien :cas dugenre Allium. Thése de doctorat és Sciences de l'environnement,Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes, Sidi Bel Abbes,171p.(2016).

[11] Ghourri,M.,Zidane,L.,& Douira, A. Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement de la lithiase rénale dans la province de Tan –Tan (Maroc Saharien).International Journal of Biological and Chemical Sciences,7(4),1688-1700. (2013).

[12] Morrison ,B.H. The Useful plants of west tropical Africa,2: Families EI. Royal Botanic Gardens. (1994).

[13] Mbarek,A.Elabbadi, N.Bensalah ,M.Gamouh,A.Aboufatima, Benharref, et al. Anti-Tumor properties of blackseed(Nigella Sativa L.) extracts, Brazilian.Journal of Medical and Biological Research.40:839-847p..(2007).

[14] Weaver, J.E.and W.E.Bruner. Root development of Vegetable crops.

MeGraw-Hill Book Co., Inc.,N.Y.351p.(1927).

[15] Jones,H.A.and L.k.Mann.Onions and thier allics.Interscience Pub., Inc.,N.Y.286p.(1963).

[16] Takagi,H. Garlic, Alluim Sativum L.,pp.109-146.In:J.L.Brewster and H.D.Rabinowich.(eds.).Onions and allied corps.Vol. 3.Biochemistry,Food Science, and minor crops.CRC Press, Inc .Boca Raton ,Florida.(1990).

[17] Céline,G,. Les bienfaits de l'ail dans les maladies cardiovasculaires ,diplôme d'etat de docteur en pharmacie, Universite de picardie jules verne ufrde pharmacie,120p.(2016).

[19] Bruneton ,Jean. Pharmacognosie: phytochimie,plantes médicinales Paris: Tec &Doc;Cachan:EM inter,1120p.(1999).

[20]Londhe,V,P,.Gavasane,A,T,.Nipate,S,S,.Bandawane,D,D,.Chaudhari, P,D,. Role of garlic (Allium Sativum) in various diseaszs: an Overview , Journal Innovative,1(4):129-134. (2011).

[22] Yusuf,A,.FAGBUARO,S,S,.FAJEMILEHIN,S,O,K,. Chemical Composition ,phytochemical and mineral profile of garlic (Allium Sativum).

Journal of Bioscience and Biotechnology Discovery.3(5):105-109.(2018).

[26] Gebreselema,G.,Mebrahtu,G. Medicinal Values of garlic: A review. Internatinal Journal of Medicine and Medical Sciences, Vol.5(9),401-408p.(2013).

[27] Olusola ,S.A, Emikpe, B.O.and Olaifa ,F.E. The Potentials of medicinal plant extraces as bio-antimicrobials in aquaculture. Int. J. Med . Arom .Plants.3(3):404-412.(2013).

[29] Shang ,A,O., Shi-Yu;C,.Xia-Yu,X,.Ren-You,G.,Guo-Yi,T,.(2019):-Harold Corke, Vuyo Mavumengwana ,Bioactive Compounds and Biological. Functions of Garlic (Allium Sativum L.) Foods (8)246:31p.(2019).

Six Varietes d'olives introduits dans le Sud-Est Algerien . European Scientific Journal , 12(33): 537-553.

الفصل الثاني

المركبات الفينولية ومضادات الأكسدة

مدخل :

جميع الكائنات الحية لديها الأيض الأساسي الذي يوفر لها الجزيئات الأساسية (الأحماض النووية ، الدهون، البروتينات ،الأحماض الأمينية و الكربوهيدرات)، في المملكة النباتية بالإضافة إلى هذا تنتج النباتات عدد كبير من المركبات والتي ليست مستمدة مباشرة من عملية التمثيل الضوئي وإنما تأتي نتيجة للتفاعلات الكيميائية اللاحقة ، وتسمى هذه المركبات بمواد الأيض الثانوي [1] ، والمتمثلة في المركبات الفينولية والتربينات والستيرويدات والمركبات الأزوتية ...الخ[2].

II.1.متعدد الفينول

II. 1.1.تعريفها :

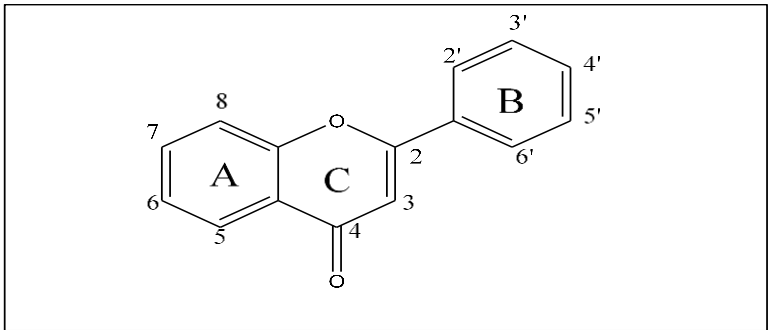
تشكل المركبات الفينولية حيزا كبيرا في حقل المنتجات الطبيعية ، نظرا لكثرة عددها وتباين هيكلها البنائية لها [3] ، وقد تم عزل والتعرف على اكثر من 8000 مركب فينولي وتم توزيعها في مختلف الاقسام بدلالة هيكلها الكربوني [4]. تتميز بنيتها بوجود حلقة عطرية او اكثر مرتبطة بمجموعة هيدروكسيل حرة او مستبدلة مع مجموعة اخرى (إيثر، أستر . ..) [5] ، غير أن تعريفها كيميائيا

صرفا للفينولات بهذا الطريقة يعد غير كاف لتشخيص المركبات الفينولية النباتية ، إذا أن هناك منتجات ايضية ثانوية أخرى تشمل هذا التعريف أيضا ولكنها تنتمي إلى مجموعات كيميائية نباتية مختلفة مثل بعض القلويدات كالمورفين (Morphin) وبعض التربينات كالتيمول (Thymol) التي تضم في بنائها حلقة بنزينية ومجموعة هيدروكسيل فينولية مما يستوجب إدخال شرط الاصطناع االحيوي لحصر حدود هذه المجموعة وعليه ليكون تعريف المركبات الفينولية اكثر ضبط يستوجب أن يكون على النحو التالي : مشتق غير أزوتي حاوي على حلقة بنزين أوأكثر تحمل مجموعة هدروكسيل حر أو مرتبط بوظيفة أخرى تكونت حلقاتها العطرية إما من حمض شيكيميك ($C_7H_{10}O_5$) أو عديد الأسيتات [6] .

II.2.الفلافونيدات

II.2.1.تعريفها:

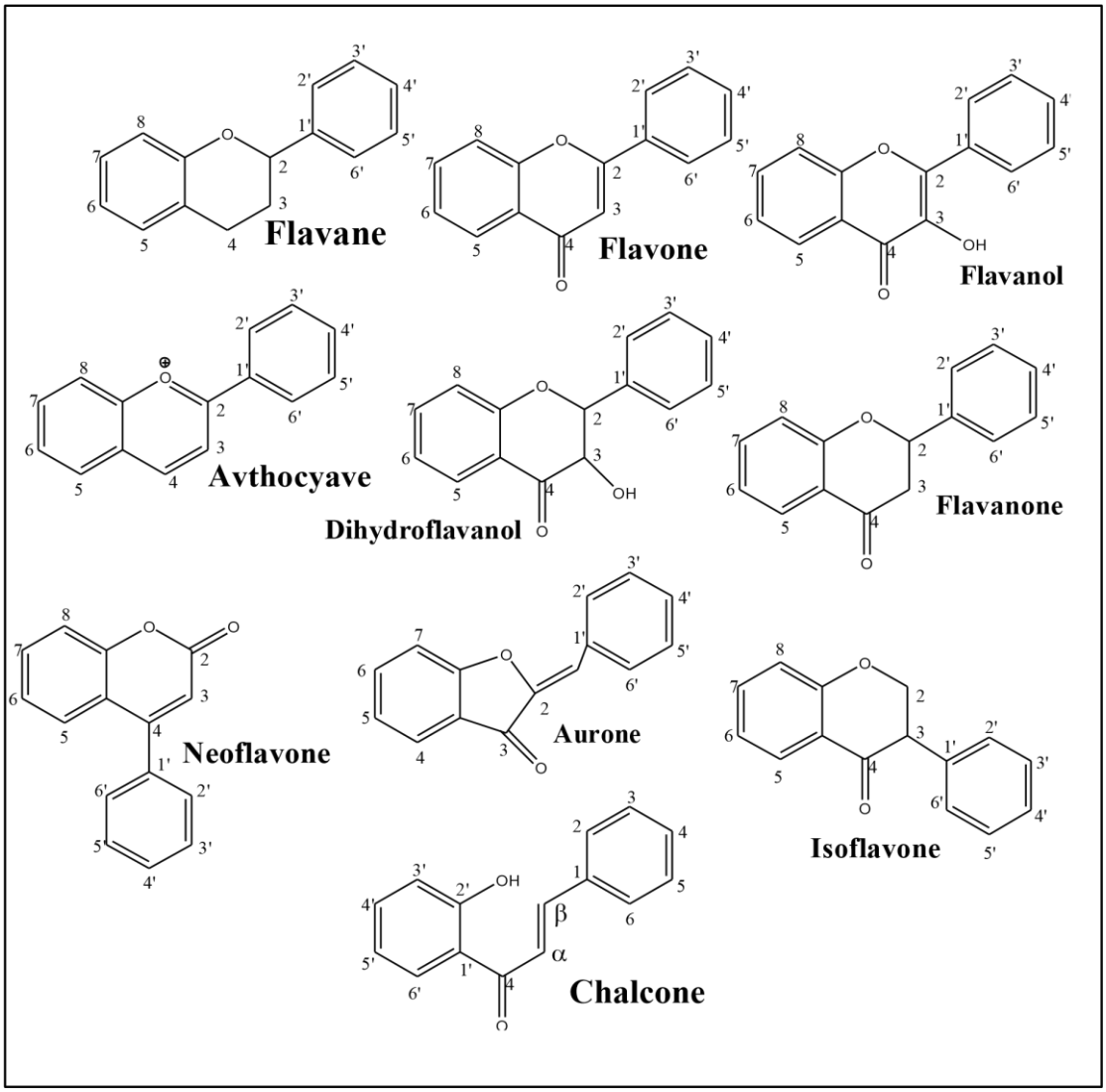
الفلافونيدات هي مصطلح لاتيني مشتق من الكلمة اليونانية (Flavous) والتي تعني اللون الأصفر وهي عبارة عن صبغات ملونة تنتشر في معظم الأصناف[7] ، تحوي على 15 ذرة كربون في بنائها،موزعة على حلقتين عطريتين سداسيتين A وB مرتبطتين بحلقة غير متجانسة C تحتوي على ذرة اللأوكسجين (Pyran) أو(Pyron) من الصيغة (C_6-C_3-C_6) [8].



الشكل(II.1) :الهيكل الأساسي للفلافونيدات

II.2.2.اقسام الفلافونيدات:

تختلف الفلافونيدات حسب نوع الحلقة ،عدم التشبع ،ودرجة الأكسدة ،الحلقة C ،حيث يحدد نوع الفلافونيدات داخل المجموعة الواحدة من خلال المستبدلات على الهيكل الفلافانويدات ككل ، حيث تم تصنيفها على حسب نوع الحلقة C ودرجة تأكسدها [9].



الشكل(2.II) : اهم أقسام الفلافانويدات [10].

II.3.الجذور الحرة ومضادات الأكسدة

II.3.1.تعريف الجذور الحرة :

الجذور الحرة هي عبارة عن جزئ أو ذرة تحتوي على إلكترون غير مزدوج في مداره الخارجي ،ويطلق بعض العلماء مصطلح العامل المؤكسد على الجذر الحر [11] . بإمكانها أن تتفاعل بسرعة وبسهولة مع مركبات أخرى أو مع الخلايا الحية محاولة إقتناص ما ينقصها من إلكترونات لتصل إلى الاستقرار الكيميائي وبالتالي تخريب الخلايا الحية[12].

الشكل(II.3) :مقطع تحت المجهر للجذورالحرة .

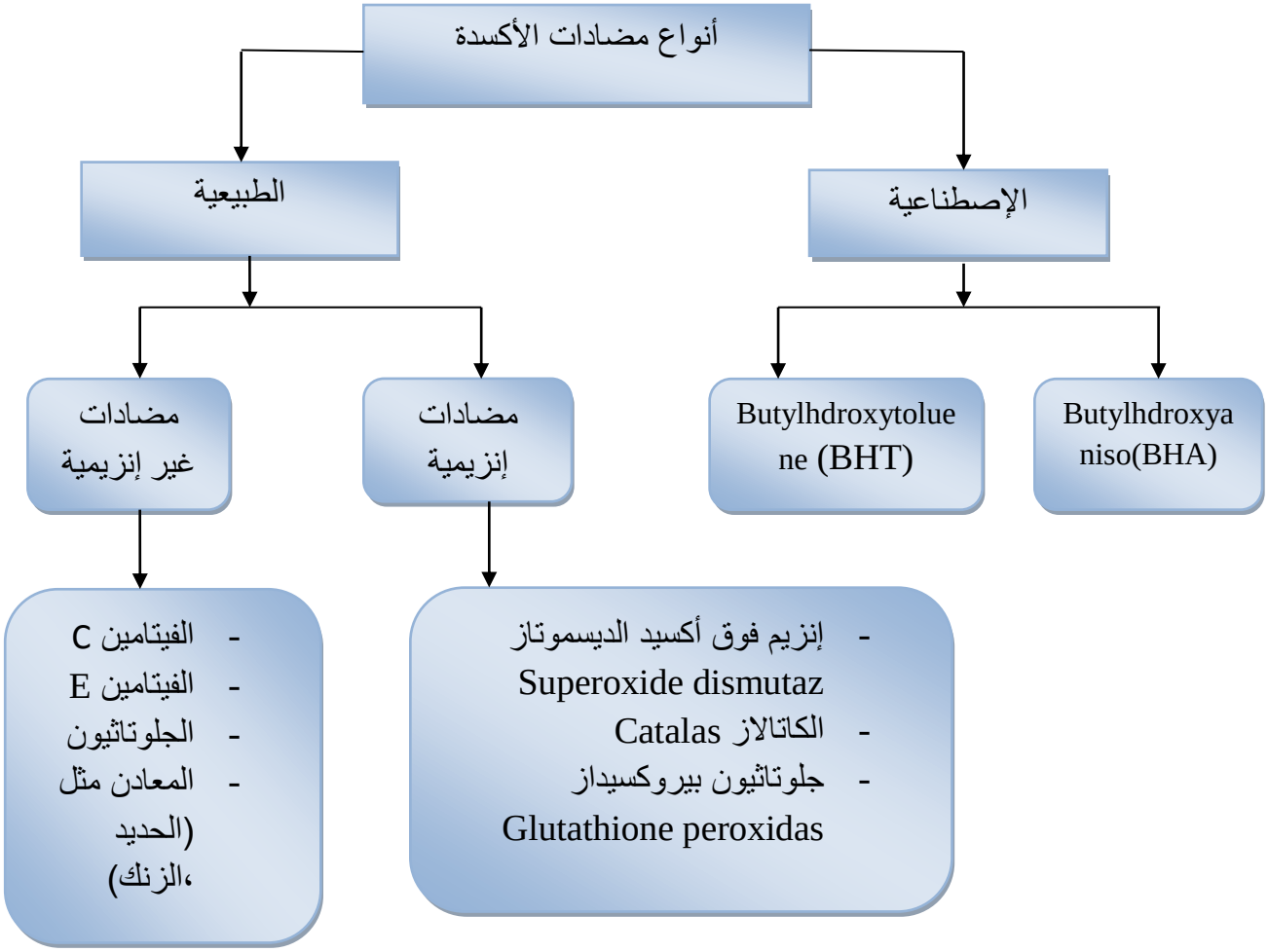
II.3.2.مضادات الأكسدة

II.3.2.1.تعريفها :

هي مجموعة من العناصر والمركبات التي لها القدرة على منع أو ابطاء عملية الأكسدة بهدف حماية المركبات الأخرى من الأوكسجين ،تتواجد بصورة طبيعية في معظم الخضروات والفاكهة ومعظم الأعشاب الطبية [12] . فمضادات الأكسدة عبارة عن مواد مانحة لذرات الهيدروجين أو أنها تتحد مع الجذر وتتحول إلى مركب مستقر [13].

II.3.2.2.أنواع مضادات الأكسدة :

يكتمل الدور الأساسي لمضادات الأكسدة في كسر سلسلة من التفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة وتنقسم مضادات الأكسدة من حيث مصادرها إلى طبيعية والمصنعة كما هو موضح في الشكل التالي [14] .



الشكل (4.II):أنواع مضادات الأكسدة.

المراجع العربية:

[3] بو بطيمة أ ، مقارنة بين الطريقة الفيتوكيميائية والطريقة الإلكتروكيميائية في دراسة الفينولات بعض نوى التمر المحلي ، مذكرة ماستر أكاديمي ، جامعة قاصدي مرباح ورقلة ص97 ، (2012).

[5] ميثاق ج ، بحث وتحديد نواتج الأيض الثانوي لنبات القات Catha edulis من العائلة (Celastraceae) ونبات البوليكاريا (Pulicaria jaubertii) من العائلة (Asteraceae) وتقييم الفعالية البيولوجية ،رسالة مقدمة لنيل شهادة دكتوراه علوم في الكيمياء العضوية ،جامعة منتوري قسنطينة ،ص142 ، (2010).

[6] عزري في الكيمياء جامعة قاصدي ،مرباح و رقلة خضرة دراسة الليبيدات والفينولات في بعض أنواع التمر المحلي ،مذكرة ماجستير في الكيمياء جامعة قاصدي مرباح ورقلة ،(2013)

[7] سهيلة العقون ، فصل والتحليل الأيض الثانوي والفلافونويدي نبتة تنتمي إلى العائلة الشفوية lamiaceae ودراسة التأثير المضاد للبكتيريا مذكرة ماجستير ،جامعة منتور ، قسنطينة ،(2003).

[8] شباح ك ، فصل وتحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدي (dactylifera (Deglebeida phoenix) مذكرة ماجستير ، جامعة قاصدي مرباح ، ورقلة ،ص 98 ، (2007) .

[9] بن سلامة ع، النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للأنزيم المؤكسد للكوانثين لمستخلصات أوراق (Hertiac heirifolia L) ، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير ، جامعة فرحات عباس، سطيف ،ص 64،(2012).

[10] باز مسعود ، استخلاص وتحديد بنيات منتوج الأيض الثانوي عند نبات جنس (Centaurea C.Sphaerocephala L) مذكرة ماجستير قسنطينة : جامعة منتور ،ص 8-109، (2006) .

[11] الدناصوري م ،النباتات الطبية والعطرية ودورها كمضادات للأكسدة ، جامعة الأزهر، مصر.

[12] بولوطة ح، النشاط المضاد للتأكسد وإمكانية وقائية المستخلص المثانولي لنبتتي (Incan centarirea) و (Matricaria pnbexens) على السمية الكبدية ، مذكرة ماجستير ، جامعة منتوري ، قسنطينة ، ص 125 ، (2009).

[13] عمراني ، دور فيتامين E،C والمستخلص البوتانولي لنباتي (Rhantherium chrysanthemum Fontanesi Suaveolane) في الوقاية من التسمم بدواء (Soduim valproate) لدى الفئران الحوامل دراسة المحرض (Invitro), (Invivo) ، رسالة دكتوراه علوم ، جامعة قسنطينة 1 ، ص 106 ،(2009) .

المراجع الاجنبية:

[1] MOHAMMEDI Z., Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud ouest de l'algérie. Thèse doctorat . Université Abou Bekr.170p.(2013).

[2] ZEGHEB N., L'effet antibactérien de l'extrait flavonoidique de la plant (Zygophyllum album L.). Mémoire de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du diplôme MASTER. Université Mohamed Khider Biskra.73p, (2013).

[4] BENHAMMOUN., Activité antioxydante des extraits des composes phénoliques de dix plantes médicinales de Louest et du Sud –Ouest Algérien ,(2012).

[14] Miquel , can antioxidant diet Suplementation protect against age – related mitochondria l damage , Acad S ci. 959.p:508-516,(2002).

الفصل الثالث

الطرق والوسائل المستعملة

تمت هذه التجارب على مستوى مخابر : كلية العلوم الدقيقة بجامعة الشهيد حمه لخضر الوادي ومخبر المجد للتحاليل الطبية .

III.1.تقديم منطقة الدراسة:

III.2.1.الموقع الجغرافي لمنطقة وادي سوف :

تقع وادي سوف في منطقة الواحات في الجنوب الشرقي الجزائري ، ضمن منطقة العرق الشرقي الكبير ، الحدود الشمالية للمنطقة تنتهي عند منطقة الشطوط المالحة الشمالية (شط ملغيغ وشط مروانة) أما جنوبا فتمتد المنطقة إلى أعماق العرق الشرقي الكبير حتى منطقة ورقلة ، ومن الشرق تصل حدود المنطقة إلى الشطوط المالحة للجمهورية التونسية (شط الجريد وشط الغرسة) ، أما غربا فتنتهي عند الحدود المنبسطة لمنطقة وادي ريغ ومنطقة تقرت [1].

III.2.المواد والطرق :

III.1.2.المادة النباتية :

تحصلنا على نبتة الثوم *Alluim sativum* من منطقة وادي سوف , حيث تم إستخدام الفصوص من نبات الثوم ، حيث وضعت حزم صغيرة في طبق واسع ومسطح ومعرض لأشعة الشمس نسبيا ومغطاة بعروشها لمدة أسبوع حتى تجف العروش والرؤوس نسبيا ويفضل تقليبها من حين إلى أخر حتى لا تتعفن النباتات، جمعت الحزم في صفوف مناسبة بحيث تكون العروش للداخل والرؤوس للخارج ويكون في مكان مهوى ، تستغرق عملية تجفيف مدة 30 يوم للتأكد من الجفاف التام لفصوص , ثم طحن العينات بالهون للحصول على مسحوق تحفظ داخل علب في مكان بارد وجاف للإستعمال لاحقا في العمل ، أما جزء الآخر من العينات يقطع إلى مكعبات صغيرة ويصبح جاهزا للعمل . معدل [2].

III.2.2.الأدوات والوسائل المستعملة :

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

III.1.2.2.المواد المستعملة :

- ميثانول (CH_3-OH)(%80).
- ماء مقطر .
- كاشف الفولين (Réactif de Folin - ciocateai .$3H_2O$-$P_2O_5$13$WO_3$5$MoO_3$10H_2O)
- محلول كربونات صديوم ($N_{a2}C_{O3}$)(M=(105.99g/mol).
- محلول ثلاثي كلوريد الأمونيوم ($AlCl_3$،H_2O)(M=241.43g/mol).
- حمض الأمونياك (NH_4OH).
- ثلاثي كلوريد الحديد ($FeCl_3$).
- حمض الكبريت (H_2SO_4).

- الكلوروفورم ($CHCl_3$).
- هيدروكسيد صديوم (NaOH).
- محلول الفهلينغ .
- DPPH (picrylhydrazyl diphenyl) .
- CAT (Phosphomolybdenum).

III.2.2.2.الأدوات المستعملة :

- بيشر .
- حوجلة .
- مخبارمدرج.
- أنابيب إختبار .
- ورق ألمنيوم .
- ورق برافيلم .
- سحاحة .

III.3.2.2.الأجهزة المستعملة :

- ميزان إلكتروني حساس.
- جهازترشيح تحت الفراغ.
- جهاز مبخر الدوراني Rotavapeur.
- جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية –المرئية UV-Visible.
- جهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء FTIR
- حاضنة .

III.3. تعريف الإستخلاص :

هو عزل مركب أوعدة مركبات من مادة خام بواسطة مذيبات عضوية ،حيث إذا كانت المادة المراد فصلها صلبة فنطبق عليها استخلاص (سائل – سائل) وإن كانت المادة الصلبة فنطبق استخلاص (صلب –سائل) ، ولهذا الأخير عدة الأشكال ترتبط بعدة عوامل مختلفة منها درجة الحرارة ، الضغط ، وكيفية استعمال المذيب :

III.1.3.إستخلاص سائل –صلب :

III.2.3.إستخلاص على البارد (النقع):

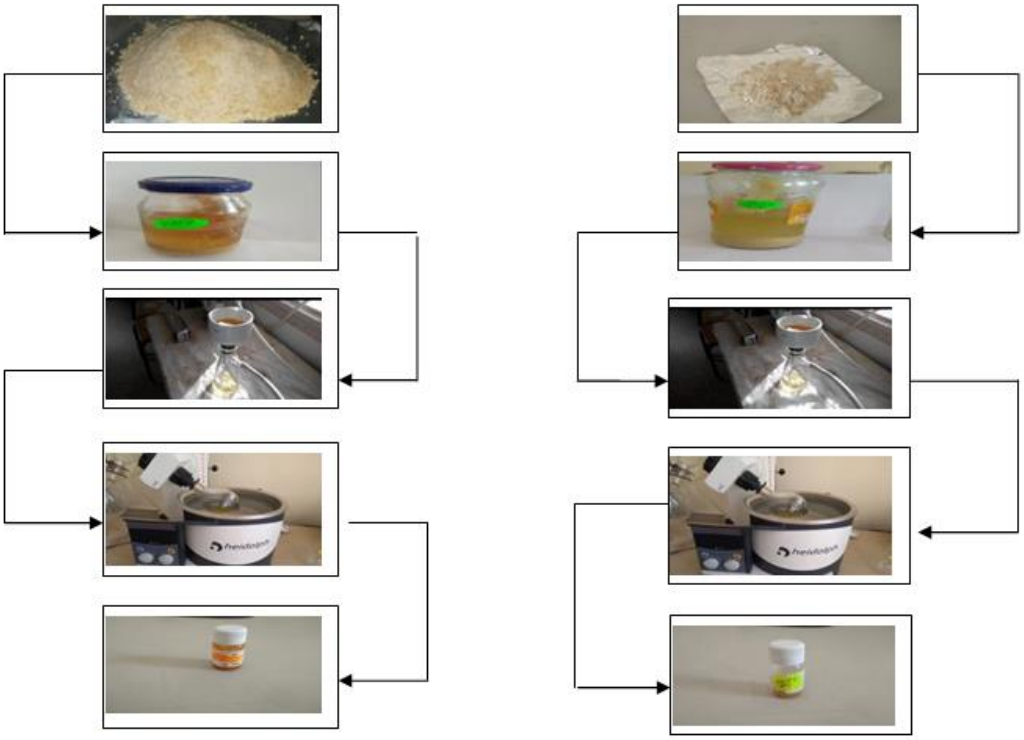
تعتمد هذه الطريقة على وضع المادة الخام داخل إناء يحتوي على كمية محددة من المذيب ،بحيث يكون الحجم المذيب المستعمل يغطي المادة الخام بنسبة تقريبية قدرها (المذاب 1V/ المذيب3V) في الظروف العادية (ضغط ودرجة حرارة الغرفة) مع تحريك من حين إلى لأخر ، وتترك في مدة زمنية معينة ، خلالها يتم انتقال المركبات المراد فصلها من المادة الخام الى المذيب ، تتبع عملية الفصل بعملية الترشيح

لنزع الشوائب و ترسبات ، ونستعمل عملية النقع للمواد التي تتأثر وتتفكك بالحرارة [3][4].

III.4. تحضير المستخلصات المستعملة في الدراسة :

III. 1.4.العينات الجافة :

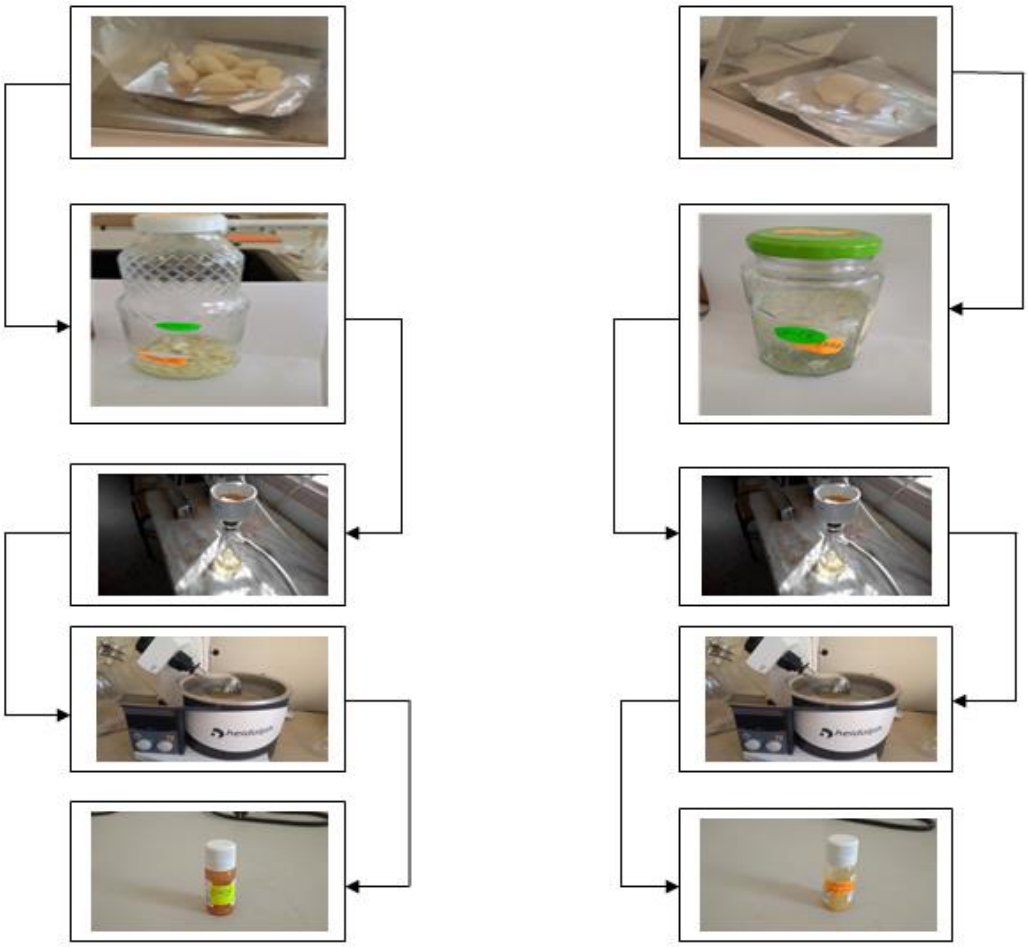
- ✓ نقوم بوزن 40 غ من النبات الجافة وتوضع داخل القارورة .
- ✓ نضيف لها 130 مل (ميثانول ، ماء) (80%-20%) حتى غمرت كل النبتة .
- ✓ تنقع لمدة 48 ساعة مع الرج من حين لأخر , وتكرر العملية 3 مرات .
- ✓ يرشح المستخلص بإستعمال ورق ترشيح والقطن مع الإحتفاظ بالرشاحة والراشح .(تكرر العملية ثلاثة مرات)
- ✓ جمعنا رشاحات 3 ثم قمنا بتجفيفها في جهاز المبخر الدوراني عند T=45 درجة المئوية
- ✓ يجمع الناتج من العملية التبخير في بيشر ثم يترك ليجف , فنحصل على مستخلص ميثانولي.
- ✓ وزن المستخلص بعد التجفيف .



الشكل(1.III): طريقة إستخلاص للعينات الجافة .

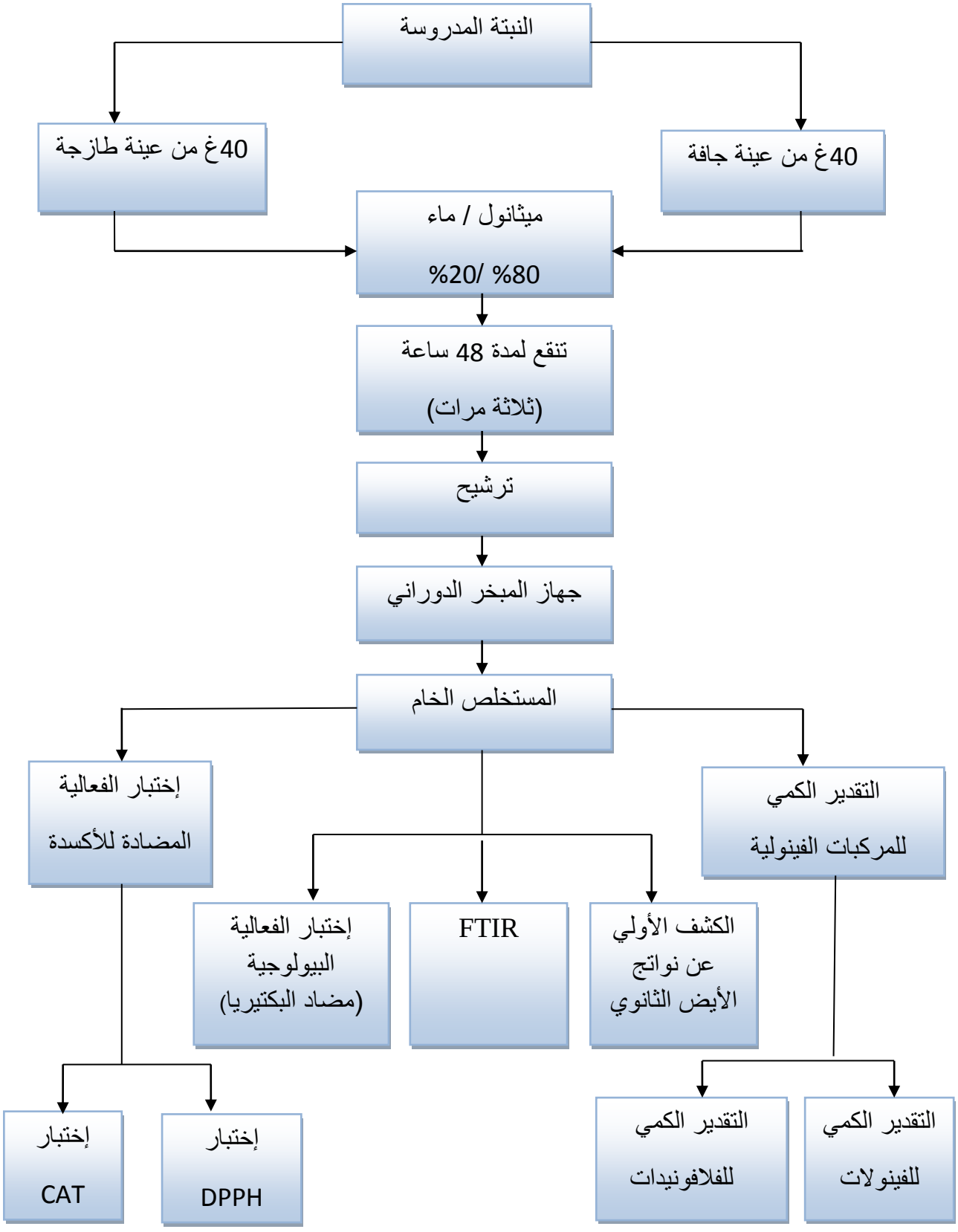
III.2.4.العينات الطازجة :

نتبع نفس الخطوات السابقة بحيث تكون كتلة العينة 40 غ منقوعة في 130 مل من ميثانول / ماء بالتراكيز سابقة الذكر .



الشكل (2.III): طريقة إستخلاص للعينات الطازجة .

III.3.4.المخطط العام لتجارب المنجزة:



الشكل (3.III) : مخطط عام للتجارب المنجزة

III.5.حساب مردود الإنتاجية للمستخلصات :

مردود مستخلصات هو النسبة بين وزن المادة المستخلصة بعد تجفيف والتي نرمز لها ب (Mf)على وزن المادة الإبتدائية للنبتة ونرمز لها ب (Mi) حسب العلاقة التالية:

$$R\% = Mf/Mi \times 100$$

- Mfالكتلة النهائية .
- Mi الكتلة الإبتدائية .
- R% المردودية الإنتاجية للمستخلصات ب% [15].

III.6.تقدير درجة الحموضة (pH) وتقدير درجة الناقلية (EC):

تم تقدير درجة الحموضة وفق طريقة (1999) (MARX) وقيمة الناقلية الكهربائية وفق طريقة (JONES)(2001) وذلك بإتباع الخطوات التالية :[6][7]

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

III.7.الكشف الأولي للمركبات الكيميائية لنبات الثوم :

تمثل المنتجات الطبيعية الفعالة مجموعة من المركبات الطبيعية المصنعة حيويا من طرف النباتات ابتداء من منتجات الأيض الأولي والمتمثلة في الفينولات والتربينات والقلويدات وغيرها [8].وتصنف منتجات الأيض الثانوي إما على أساس مصدرها الطبيعي أوعلى أساس تأثيرها البيولوجية والتصنيف الأكثر شيوعا يكون على أساس البنية الكيميائية [9]. ومن هذا المنطلق تم الكشف على أهم العائلات الكيميائية في النباتات وكانت الطريقة كالتالي :

III.7.1.الفلافونويدات :

نأخذ 2 مل من المستخلص المائي أوالكحولي ، ونمزجه مع 1 مل من (NaOH) (0.5M) إذا ظهر اللون الأصفر هذا يدل على وجود الفلافونويدات [10].

III.7.2.الفينول والعفص :

نمزج 2 مل من ($FeCl_3$) (2%) مع المستخلص الخام ،إذا ظهر اللون الأسود أو الأزرق والأخضر فهذا يدل على وجود العفص والفينولات [10].

III.3.7.القلويدات :

كاشف ماير (Mayers reagent) : يحضر بإذابة 13.5غ من كلوريد الزئبق $HgCl_2$ و 5 غ من يوديد البوتاسيوم KI في لتر من الماء المقطر [11].

نأخذ 100 ملي غرام من النبات الجاف ونمزجه مع 5 مل من الميثانول ،يرشح المزيج ،نمزج 2 مل من الرشاحة مع 5 مل من حامض الهيدروكلوريك (HCl) (1%)، ونأخذ 1 مل من المزيج نضيف لها بعض قطرات من كاشف ماير .إذا ظهر راسب بلون برتقالي فهذا دليل على وجود القلويدات [12].

III.4.7.الصابونين :

نمزج 2 مل من الماء المقطر مع المستخلص الكحولي أو المائي،يرج المحلول بقوة ثم يترك 20 دقيقة .

- عدم تشكل رغوة دلالة على عدم وجود الصابونين .
- رغوة أقل من 1 سم معناه وجود الصابونين بكمية ضعيفة .
- رغوة من 1 إلى 2 سم معناه وجود الصابونين .
- رغوة أكثر من 2 سم معناه النبات غني جدا بالصابونين [13] .

III.5.7.المركبات المرجعة (الكربوهيدرات)(السكريات):

نمزج 5 غ من النبات الجاف مع 30 مل من الميثانول ،ونترك المزيج يغلي لمدة 1 ساعة ، نصفي المزيج وناخذ منه 1 مل ونضيف إليه 2 مل من الماء المقطر و 20 قطرة من كاشف فهليج ، ثم نقوم بالتسخين ،إذا ظهر راسب أحمر أجوري فهذا دليل على وجود السكريات المرجعة [10].

III.6.7.الجلكوسيدات :

نمزج 2 مل من حمض الكبريت المركز مع مستخلص النبات ، في حالة ظهور بني محمر فهذا يشسير إلى وجود أغليكون الستروبد من جليكوسيدا ت [10].

III.7.7.الستيرويدات :

نمزج 2 مل من الكلوروفورم وحمض الكبريت المركز مع مستخلص النبات إذا ظهر في طبقة الكلوروفورم السفلي اللون أحمر فهذا يدل على وجود الستروبدات [10].

III.8.7.التانينات :

نأخذ 5 غ من النباتات الجاف ثم نمزجها مع 30 مل الماء المقطر ونتركه يغلي لمدة 1 سا.

نأخذ 1 مل من الرشاحة مع 2 مل الماء المقطر وقطرات من **$FeCl_3$**, ظهور اللون الأخضر المزرق يدل على وجود (Tanins galliques) [13].

III.9.7.التربينات الثلاثية والستيرولات:

نأخذ 5غ من النبات الجاف ونمزجه مع 20 مل من($CHCl_3$)، ثم نرشح المزيج ونأخذ 1مل من الرشاحة ونضيف إليها (H_2SO_4) بعناية على جدران الأنبوب فتشكل طبقتان .الطبقة ذات اللون الأخضر تشير إلى وجود التربين [10].

III.10.7.الأنثوسينات :

نمزج 2.5 غ من النبات الجاف مع 50 ملل من ماء مقطر مغلي 15 دقيقة فنتحصل على مستحلب نقوم بتصفيته ، ثم نأخذ منه 2 مل ونمزجه مع 2 مل من (HCl) وقطرات من (NH_4OH) إذا ظهر اللون الوردي أو الأحمر المائل للأزرق البنفسجي هذا دليل على وجود الأنثوسينات [13] .

III.8.التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية - المرئية (UV- VIS):

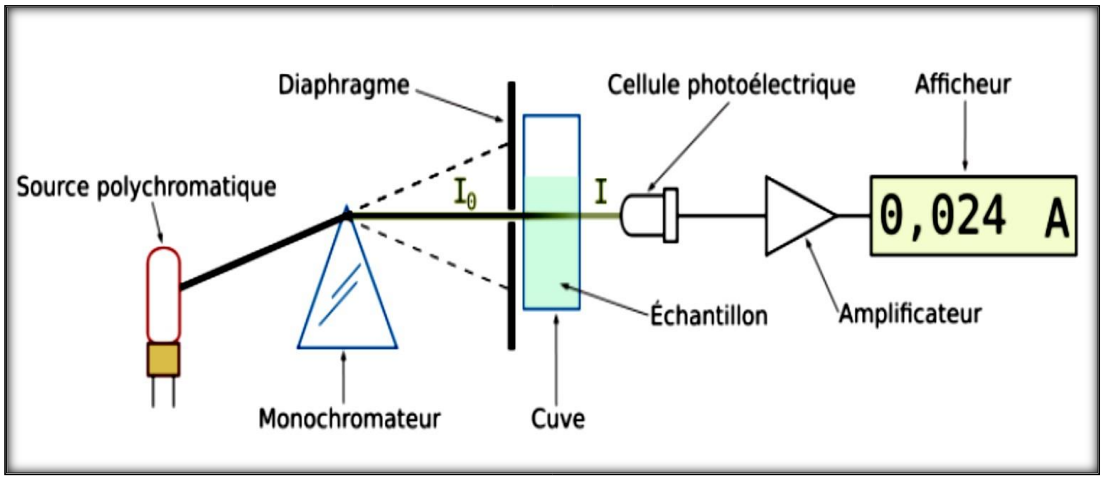
تعد هذه التقنية من أقدم الطرق استعمالا في التحليل الكمي والكيفي ، ومن اهم الوسائل التي تساعد في تحديد المركبات الكيميائية للمركبات ،تشمل على منطقة الضوء المرئي ومنطقة الأشعة فوق البنفسجية ،ومن أهم طرق التقدير الكمي طريقة قياس الإمتصاصية (الكثافة الضوئية) للمحاليل حيث مجالها الكهرومغناطيسي (طول الموجي) مابين 200 - 700نانومتر [14].

ينقسم اشعاع المنبع الضوئي الى حزمتين ، تمر احدى الحزمتين عبر خلية تحوي المحل المرجع ، وثانية عبر خلية تحتوي المحلول المراد تحديد امتصاصية ، يطرح المطياف امتصاصية المحل في الحزمة المرجع من امتصاصية العينة في حزمة العينة ، ويسجل أغلب المطياف منحنى الإمتصاصية (شدة الامتصاص) بدلالة الطول الموجي وتعطى الإمتصاصية أوكثافة الضوئية بالعلاقة التالية[15]:

$$A= Log (I_0 / I)$$

- I_0 : شدة الضوء الوارد .
- I : شدة الضوء الصادر .

والشكل الموالي يوضح مبدأ عمل الجهاز:



الشكل(4.III) :رسم تخطيطي يوضح مبدأ عمل جهاز UV-visible [14].

1.8.III.التقدير الكمي للمركبات الفينولية الكلية :

تم تقدير كمية الفينولات حسب طريقة "Singleton" للمستخلصات بمساعدة كاشف (Folin-ciocalteu) ، وحمض الغاليك كفينول مرجعي [16] .

2.8.III.المبدأ:

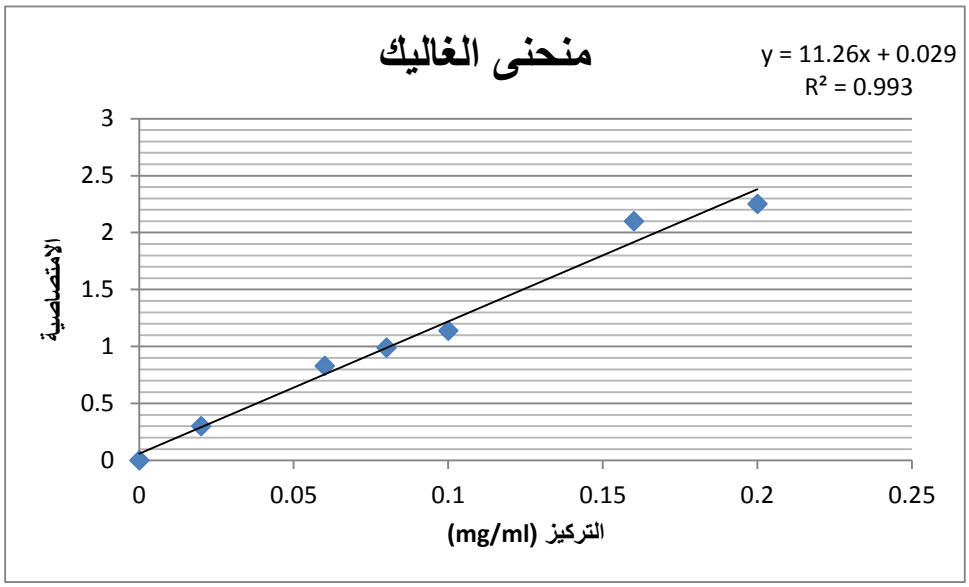
كاشف Folin-ciocalteu يتكون من حمض فوسفوتنغتينيك ($H_3PW_{12}O_{40}$) وحمض فوسفوموليبيديك ($H_3PMO_{12}O_{40}$) والذي يرجع بواسطة الفينولات الى اكاسيد التنغستين (W_8O_{23}) والموليبيدين (Mo_8O_{23}) ذات اللون الأزرق .

المركبات الفينولية تقدر كميا بواسطة جهاز(Spectroscopie UV-visible) حيث يستعمل حمض الغاليك (Acide gallique) كفينول مرجعي عند طول الموجةλ= 765nm [17].

3.8.III.المنحنى القياسي لحمض الغاليك :

قمنا بتحضير محاليل ممدة من حمض الغاليك ذو تراكيز مختلفة تتراوح مابين (0-0.2) mg/ml ,في أنابيب الإختبار نأخذ 1ml من كل محلول ثم نضيف له 0.5ml من كاشف الفولين (ممخفف 10 مرات) يترك في الظلام لمدة 5 دقائق ، بعدها نضيف له 2ml من كربونات الصوديوم بتركيز (7.5) ثم نرج الأنابيب جيدا ونضعها في الظلام لمدة 30 دقيقة.

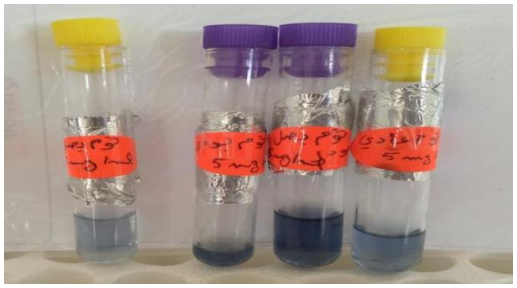
وتقاس الإمتصاصية المزيج في جهاز المطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV- Visibleعند طول الموجيλ_{max} =765nm [18].



الشكل(III .5.):منحنى القياسي لحمض الغاليك [18].

III.4.8.طريقة العمل:

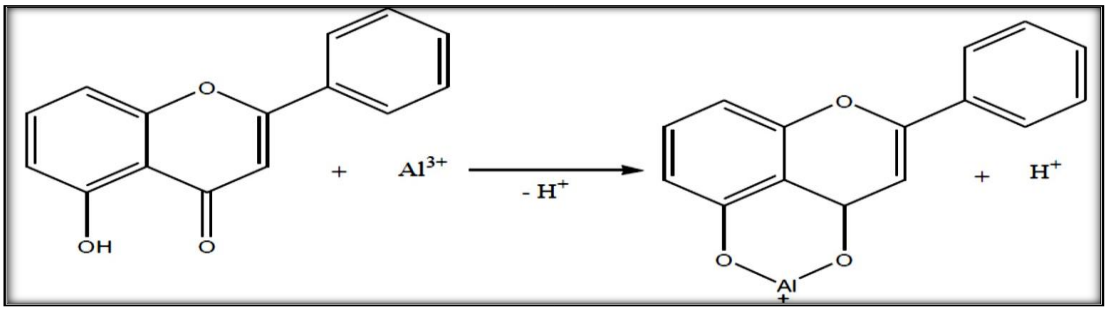
ولتقدير الفينولات في المستخلص النباتي نمزج 1 مل من المستخلص المثانولي مع 0.5 مل من كاشف (Folin-ciocaltea) بتحضير سلسلة من التراكيز للحصول على المنحنى القياسي [10].



الشكل(III .6.) :بعض مستخلصات ناتجة عن كشف مستخلصات الفينولات .(الأصلي)

III.9.تقدير الكمي للفلافونيدات الكلية :

تم تقدير كمية الفلافونيدات لمختلف المستخلصات المدروسة باستعمال محلول ثلاثي كلور الألمونيوم $AlCl_3$ حيث يتفاعل هذا الأخير ويشكل معقدا أصفر اللون بينه وبين مجموعة الهيدروكسيل OH الموجودة في الحلقات البنزينية للفلافونيدات ، وتم قياس هذه المعقدات لونيا باستعمال مطيافية الضوئية عند الطول الموجي $\lambda = 420nm$ [17] .

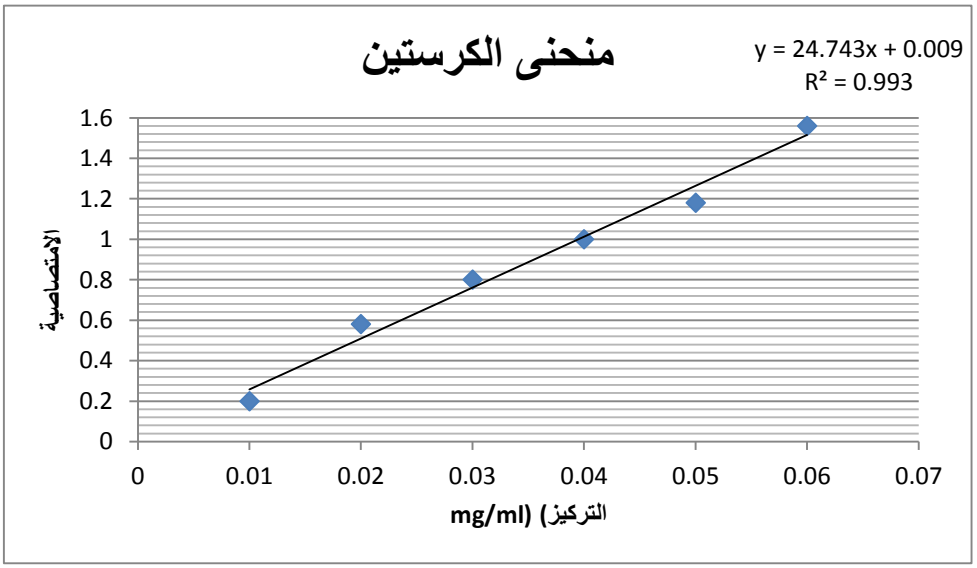


الشكل (7.III) :آلية تشكيل المعقد الأصفر[19].

1.9.III.المنحنى القياسي لحمض الكرستين :

قمنا بتحضير محاليل ممدة من حمض الكرستين ذو تراكيز مختلفة تتراوح مابين (0.01- 0.06) mg/ml في انابيب الاختبار نأخذ 1.5 مل من كل محلول نضيف له 1.5 مل من محلول ثلاثي كلور الالمينوم $AlCl_3$ ونتركه في الظلام لمدة ساعة .

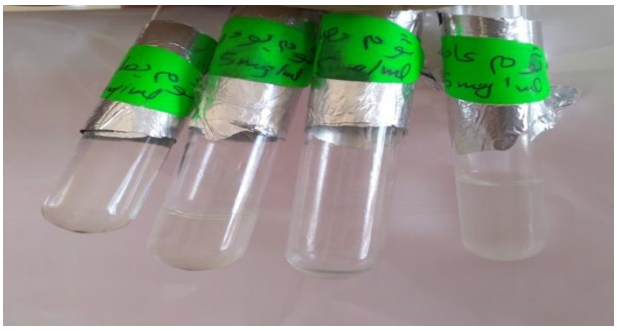
وتقاس إمتصاصية المحاليل في جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV-Visibleعند طول الموجي$\lambda = 420nm$[18].



الشكل(8.III): منحنى القياسي للكرستين [18].

2.9.III.طريقة العمل :

لتقدير الكمي للمركبات الفلافونيدية في المستخلص النباتي قمنا بمزج 1 مل من مستخلص النبات مع 1 مل من ثلاثي كلور الألمنيوم(2 %) ($AlCl_3$)، رججنا الأنبوب جيدا وتركناه في الظلام لمدة ساعة حتى يتغير اللون الى الأصفر [10].



الشكل(9.III) :بعض مستخلصات ناتجة عن كشف الفلافونويدات.(الأصلي)

10.III.تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بطرق الكيميائية :

هي قياس لقدرة المستخلص أو مركب على تثبيط الجذور الحرة أو توقيف عملية الأكسدة ، المضادة للأكسدة بعدة الطرق نذكر منها : اختبار DPPH أو اختبار FRAP او اختبار ABTS أو القدرة الإرجاعية PR.

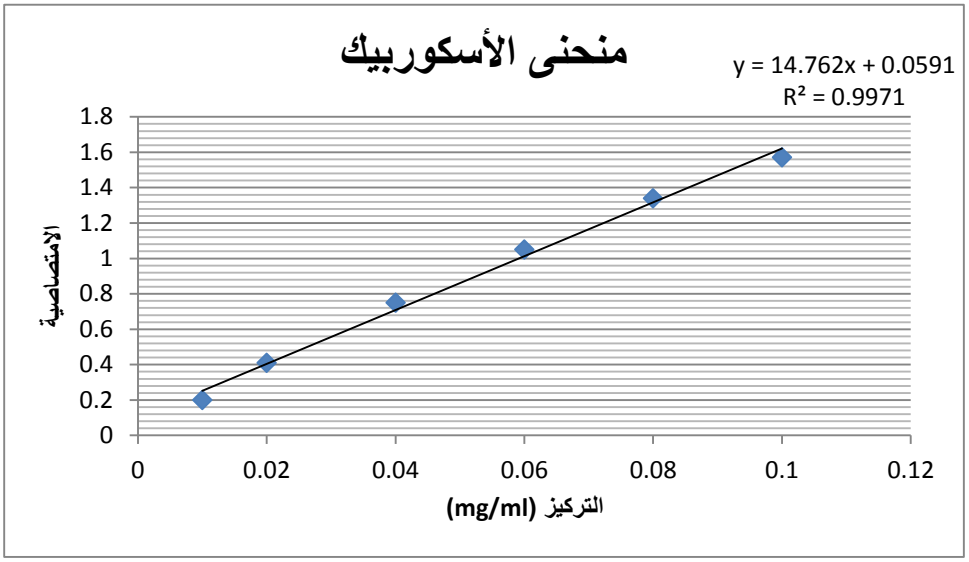
هذه الطرق تعتمد على التلوين ونزع التلوين في طول موجي معين [20].

في دراستنا هذه تطرقنا الى اختبارين مختلفين DPPH,CAT.

1.1.10.III.اختبار فعالية مضادات الأكسدة الكلية CAT باستعمال موليبدات الأمنيوم:

يعتمد اختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة للمستخلصات على استعمال طريقة الفوسفومولييبيدات (Phosphomolybdenum). حيث يعتبر من الطرق المباشرة لقياس القدرة الارجاعية لمضادات الأكسدة وذلك باعتماد الموليبيدات (Molybdate(MoO_{4-2})) الى (M(Mo)Molybdden) مشكلة لون أخضر فاتح[21].

إن إجمالي الفعالية المضادة للأكسدة تقدر كميا بواسطة U V-Visible حيث يستعمل حمض الاسكوربيك كفينول مرجعي عند طول موجي λ_{max} = 695nm [22].



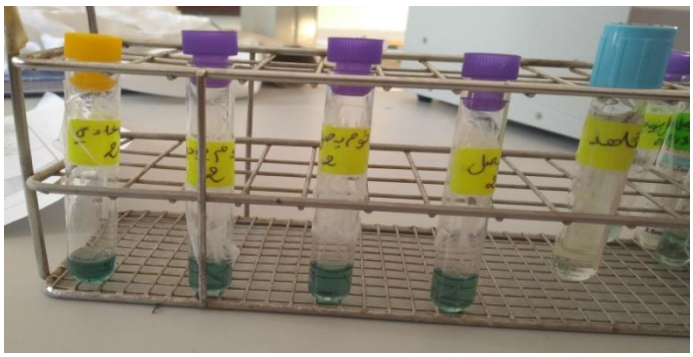
الشكل (10.III): منحنى قياسي حمض الاسكوربيك [23].

2.1.10.III.طريقة العمل:

تحضير محلول الموليبدات :

- 4mM : موليبيدات الأمونيوم $(NH_4)_2\ MoO_4$.
- 0.6M: حمض الكبريت (H_2SO_4).
- 28mM: فوسفات الصوديوم (Na_3PO_4) [22].

نقوم بتحضير تراكيز قدرها mg/ml (2-0.3) من كل مستخلص ، ونأخذ من كل تركيز 0.1 ml في أنابيب ونضيف له 1ml من محلول الموليبيدات ونضعه في حمام مائي تحت درجة الحرارة°C 95 لمدة ساعة فنتحصل على اللون الأخضر ، ونتركها تبرد ثم نقوم بقراءة الامتصاصية عند طول موجي λ = 695nm.

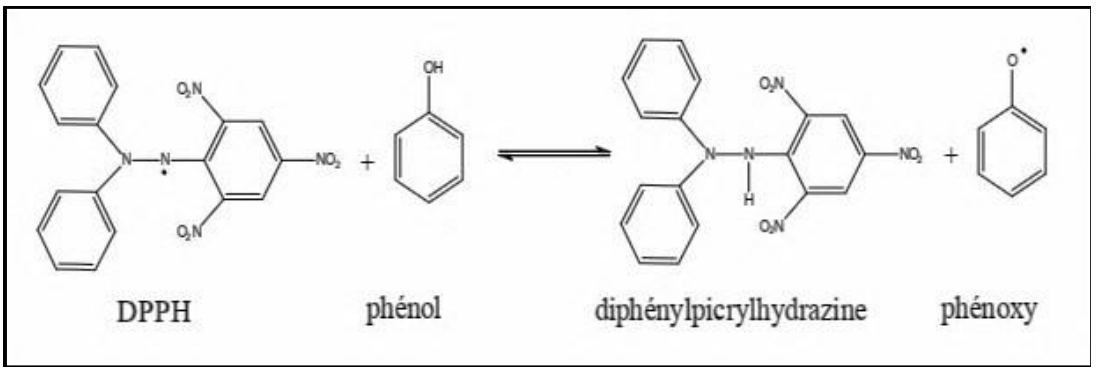


الشكل(11.III) : بعض مستخلصات بعد إضافة محلول الموليبيدات .(الأصلي)

III.2.10.اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH:

يعتمد هذا إختبار على استعمال جذر DPPH ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل picrylhydrazyl (diphenyl)المشتق من جزيئة DPPH-H [24].

وهو مادة صلبة ذات لون بنفسجي والذي يتحول الى اللون الأصفر عند ارجاعه بواسطة المركبات المضادة للأكسدة عند طول الموجي λ_{max} = 517nm [25].



الشكل (12.III): آلية تثبيط العامل المضاد للأكسدة مع الجذر الثابت DPPH [26].

III.1.2.10.تحضير الكاشف :

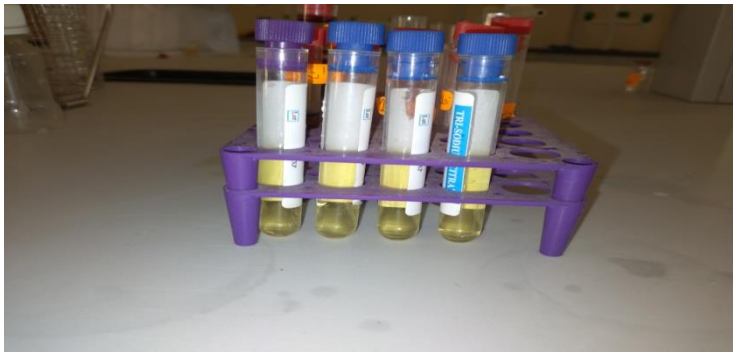
يتم تحضير محلول DPPH وذلك بإذابة 4mg من ثنائي فنيل هايدرازيل في 100 مل من الميثانول فنتحصل على محلول بنفسجي داكن [27].

III.2.2.10.طريقة العمل :

نقوم بتحضير تراكيز مختلفة من المستخلصات المخففة (لكل مستخلص المذيب المناسب له)، نأخذ 1ml من كل تركيز ونضعها في أنابيب اختبار ثم نضيف لها 1ml من محلول DPPH نتركها في الظلام لمدة 30 دقيقة ثم نقوم بقراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجة

λmax= 517nm [27].

بنفس الطريقة تجرى مع حمض الأسكوربيك وذلك قصد مقارنة فعالية المضادة للأكسدة والجذور الحرة لمستخلصات المدروسة مع حمض الأسكوربيك .



الشكل (13.III): بعض مستخلصات بعد إضافة محلول DPPH. (الأصلي)

3.2.10.III.حساب نسبة التثبيط I% للجذر الحر DPPH :

يتم حساب نسبة تثبيط الجذر الحر لمختلف التراكيز للمستخلصات النباتية وفق العلاقة التالية : [28].

$$I\%=[(A_0-A) / A_0]\times 100$$

- A_0 : امتصاصية DPPH عند (517nm) .
- A: امتصاصية DPPH في وجود مادة المدروسة بعد 30 دقيقة عند (517nm).
- I_0 : نسبة التثبيط العامل المضاد للأكسدة .

4.2.10.III.تحديد مقدار IC_{50} المثبطة لجذر الحر DPPH :

يعبر عن نشاط المضاد للأكسدة لكل مستخلص بقيمة IC_{50} وتركيز المادة القادرة على تثبيط 50 % من جذر DPPH ويتم حسابها بتطبيق المعادلة الخطية لمنحنى تغير نسبة التثبيط (I%) بدلالة التراكيز المختلفة للمستخلصات النباتية [29].

11.III.مطيافية الأشعة تحت الحمراء :

الجهاز المستعمل للقياس بواسطة الأشعة تحت الحمراء :

في هذا العمل قمنا بتسجيل طيف الأشعة تحت الحمراء بواسطة FTIR من نوع (Agilent Technoogies Cary 630 FTIR) كما هو موضح في الشكل :

الشكل(14.III) :صورة فوتوغرافية لجهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء FTIR.(الأصلي).

III.12.الإختبارات البيولوجية :

III.1.12.النشاط المضاد للميكروبات (البكتيريا):

في هذه الدراسة تم اختبار حساسية ضد الميكروبية (البكتيريا)، من أجل تحديد النشاط المضاد للميكروبات للمستخلص النباتي الذي تم الحصول عليه عن طريق الاستخراج باستخدام الميثانول ، وهذا بتطبيقها على نوعين من سلالات بكتيرية ممرضة والتي تم الحصول عليها من مخبر المجد لتحاليل الطبية .

الجدول(1.III) : الأنواع المختبرة للميكروبات واختصارتها

الانواع المختبرة	الغرام	العائلة	الإختصارات
Escherichia coli ATCC25922	-	Enterobacteriaceae	*E. coli*
Staphylococus aureus	+	Micrococcaceae	*S. a*

III.2.12.الخطوات العلمية لهذا الاختبار :

أولا: اختبار تحضير الكائنات الحية الدقيقة :

بعد نمو البكتيريا في أوساط االزرع لمدة حوالي عشرة أيام , تم كشط سطح البكتيريا المسببة لأمراض النباتية بقضيب زجاجي على شكل حرف L ثم إذابتها في 5 مل من الماء الفيزيولوجي المعقم [30].

ثانيا : تحضيرأوساط الزرع :

نعقم منطقة العمل بواسطة موقد بنزن ، ثم نقوم بتحضير 12 طبق بتري ونسكب بها وسط الزرع الذي تمت إذابته في معقم بالضغط ، وتلقيح الأطباق بالوسط (sabouraud dextrose agar) ب 100 ميكرو لتر من المحلول المحضر للبكتيريا [31] [32] . وبوجود موقد البنزين في الطاولة العمل نحصل على وسط معقم وتترك الأطباق لتبرد وتتجمد .

ثالثا : تحضير المستخلصات :

- تمت إذابة المستخلص في الميثانول (Méthanol) من أجل الحصول على تركيز 20 ملغ/ مل لكل مستخلص عضوي .
- تم تحضير ثلاث تراكيز مختلفة لكل مستخلص عضوي (10,5,2.5) ملغ / مل ، وذلك بإذابتها في DMSO.

رابعا: زراعة البكتيريا :

من أجل زراعة البكتيريا نغمس الماسح القطني في المعلق البكتيري ، ثم يتم مسحه على كامل أوساط الزرع المحضرة سابقا في أطباق بتري على شكل خطوط متقاربة مع تكرار العملية 3 مرات وتدوير الطبق بزاوية 60 في كل مرة .

خامسا: وضع الأقراص:

تم استعمال أوراق محضرة من ورق الترشيح معقمة ، بواسطة ماصة مجهرية نأخذ 10 ميكرو لتر من المستخلص الميثانولي والمستخلص المذاب في (DMSO) و وضعه على الأقراص المعقمة من ورق الترشيح (قطرها 6 مم) ، ثم نضعها على أسطح علب البتري المزروعة بالبكتيريا ، كما تم استخدام الميثانول و(DMSO) كعنصر تحكم سلبي [33][34].

نحدد 5 أجزاء في كل طبق بتري حيث نخصصها للمستخلصات الميثانولية والمستخلص المذابة في (DMSO) أما الجزء السادس للشاهد في كل من الميثانول والDMSO أما المضاد الحيوي يوضع في مركز الطبق لغرض المقارنة بالنسبة للبكتيريا .

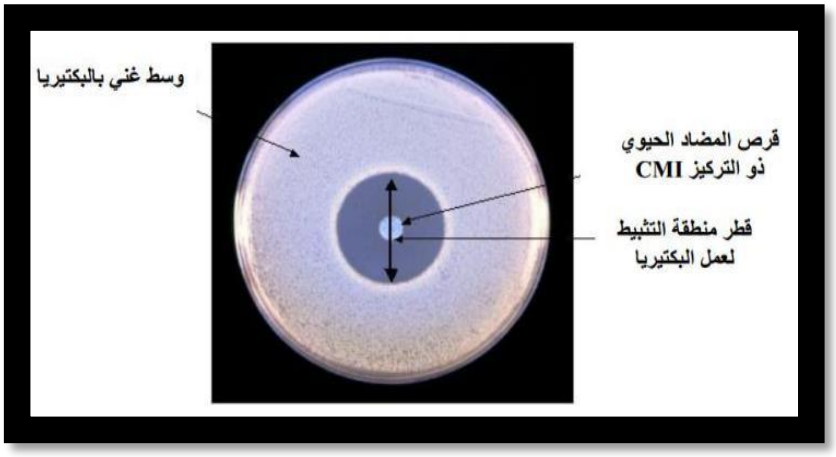
ثم وضع الأطباق التي تم إنهاؤها لمدة ساعتين عند درجة الحرارة 4 ˚م ، يتم وضع علب بتري بشكل مقلوب في الحاضنة تحت درجة حرارة 37 ˚م لمدة 24 ساعة .

من خلال إختبار النشاطية للمستخلص الميثانولي للنبتة على كل من *E.Coli* و *Staphecocuse aruice* تم إستعمال المضاد الحيوي (Chloramphénicol disque: 30 ug) .
بعد إنتهاء مدة الحضن نقوم بإخراج علب بتري لقياس الأقطار المثبطة ب ال (مم) للمستخلصات والمضاد الحيوي والشاهد والتي تكشف عن نشاط مضادات البكتيريا في المستخلص[35] .

3.12.III. قراءة النتائج :

بعد الحضن إذا ثبط المستخلص نمو البكتيريا، تظهر مناطق واضحة حول محيط الأقراص تسمى مناطق تثبيط النمو البكتيري للسلالة المختبرة ، يحسب قطر هذا التثبيط بالميلمتر وحسب سلم تقدير ، ترتب قيم أقطار مناطق التثبيط (D) للنمو البكتيري في خمسة أقسام [36].

- ✓ جد قوية التثبيط : (D ≤ 30) مم
- ✓ قوية التثبيط : (29 ≤ D ≤ 21) مم
- ✓ معتدلة التثبيط : (20 ≤ D ≤ 16) مم
- ✓ واسعة التثبيط : (15 ≤ D ≤ 11) مم
- ✓ غير مثبطة : (D ≤ 10) مم



الشكل(15.III) : قطر منطقة التثبيط للبكتيريا [37].

المراجع باللغة العربية

[1] حليس ي ، الموسوعة النباتية لمنطقة سوف ، التباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير ، مطبعة الوليد ، الوادي الجزائر ، ص 54 ، (2005) .

[2] كتاب الثوم ، للمهندس الزراعي ، سعود شلة ، قسم الأرشاد، نشر رقم 85 ،ص 20 ،(1975).

[11] أ. ح. م. العذاري، وأ.ع. م. السلطانة ، دراسة كمية ونوعية المركبات القلوانية والصابونينية لأوراق وثمار بعض الأصناف من نبات السدر.(magazin of al kufa university for biolog) ، 4 (2) : ص 1- 17 (2012) .

[15] حوى ابراهيم . ، دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة ، مذكرة ماجستير ، جامعة قاصدي مرباح ، ورقلة ، (2013) .

[17] ربيعي عبد الكريم ، المساهمة في دراسة الفعالية االمضادة للأكسدة لمستخلصات بروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية ، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير ، تخصص كيمياء تحليلية ومراقبة المحيط جامعة قاصدي مرباح ورقلة ، (2010) .

[19] صحراوي صباح . ، مساهمة في تحسين ظروف الإستخلاص المركبات الفينولية من نباتات الطبية لمنطقة الوادي نبات الخبيز ، مذكرة ماستر كيمياء ، جامعة حمه لخضر الوادي ; ص 58, (2018) .

[22] سمية شمسة ، دراسة مقارنة المردودية والنشاطية المضادة للأكسدة في المستخلص الكحولي والمائي عند نبات (Zygophyllum album .L) ، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي ، علوم الطبيعية والحياة ، جامعة الوادي ، (2015) .

[23] زيدان حليمة .، الفاعلية البيولوجية لمستخلص الخام المائي والكحولي لأزهار شجر الرمان الحامض والحلو.،مذكرة ماستر كيمياء ، جامعة حمه لخضر الوادي ;ص61 ،(2018).

[24] العابد إ ، دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادات للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران (Traganum nudatum) مذكرة ماجستير ، جامعة قاصدي مرباح ، ورقلة ، ص 105 ، (2009) .

[26] بن خناثة م ، المساهمة في دراسة مستخلصات نبتة الكخلة (Ferula vexeritensis) ، مذكرة ماستر ، جامعة قاصدي مرباح ، ورقلة ، ص 83 ، (2006) .

[27] صحراوي صباح . ، مساهمة في تحسين ظروف الإستخلاص المركبات الفينولية من نباتات الطبية لمنطقة الوادي نبات الخبيز ، مذكرة ماستر كيمياء ، جامعة حمه لخضر الوادي ; ص 58، (2018) .

[28] اللبي ز ، دردوري س ، التقدير الكمي لعديدات الفينول والفلافانويد ودراسة النشاطية البيولوجية لمستخلصات نبات الغبيثاء (Bassimuricata L) مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي تخصص بيولوجيا وتثمين النبات ، جامعة الشهيد حمه لخضر ، الوادي ، (2016).

المراجع باللغة الأجنبية :

[3] Shohami. E, Gati. I, Bi et-Yannai E, Trombouler V, Kohen R., Neuratauma J,(1999).

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

[5] Boukrin H., Contribution à létude phytochimique des extraits bruts des épices Contenus dans le mélange Ras-el hanout. Théme Master Academique. Université kasdi Merbah ourgla.P99.(2014).

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

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

[8] Belkhiri cours de pharmaconosie – PG . de chimie et phytochimie , Universite Mentouri , constantine , (2006) .

[9] Abdelghafour , M., Radioltse gamma des flavonoides , étude de leur réactiviyé avec les radicaux issus des alcools formation de depsides , these de doctora , (2003) .

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

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

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

[14] Asadi S, Ahmadiani A, Ali Esmaeili A, Sonboli A, Ansari N, In Vitro Antioxidant activities and an inverstigation of neuroprotection by six sabiria species from Iran: Acomparative study Food chemical and Toxicology,(2010).

[16] Yogita chavan . Rekha S . Singhal "Ultrasound – assisted extraction (UAE) of bioactives from arecanut (Areca catechu L) and optimization study response surface methodology". Innovative Food Science and Emerging Technologies 17.106-13,(2013).

[19] Berst C., Cuvelier M.E., Sci Aliments,16(1996).

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

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

[21] Ardestani A., Yazdanaparast R., Inhibitory effects of ethyl acetate extract of Teucrium polium on in vitro protein glycoxidation, Food and chemical Toxicology. 45:2402-2411,(2007).

[25] P. Molyreux, Song Klan Karin J. Sci Technol., 26,p 211-219, (2004).

[29] DZIR S., HASSEN I., FATNASSI S., MRABET Y., CASABLANCA H., HANCHI B., HOSNI K, Phenolic contituents antioxidant . and antimicrobial activities of rosy garlic (Alliumroseum var. odoratissimum). SciVerse Science Sirect joumal of functional foods (4).423-432.

[30] Mukhtar, I.J.M., Influence of Trichoderma species on seed germination in okra. **6**(1&2): p. 47-50. (2008).

[31] Poulose, S.M., E.D. Harris, and B.S.J.T.J.o.n. Patil, Citrus limonoids induce apoptosis in human neuroblastoma cells and have radical scavenging activity. **135**(4): p. 870-877. (2005).

[32] Valko, M., et al., Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **39**(1): p. 44-84.(2007).

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

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

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

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

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

الفصل الرابع

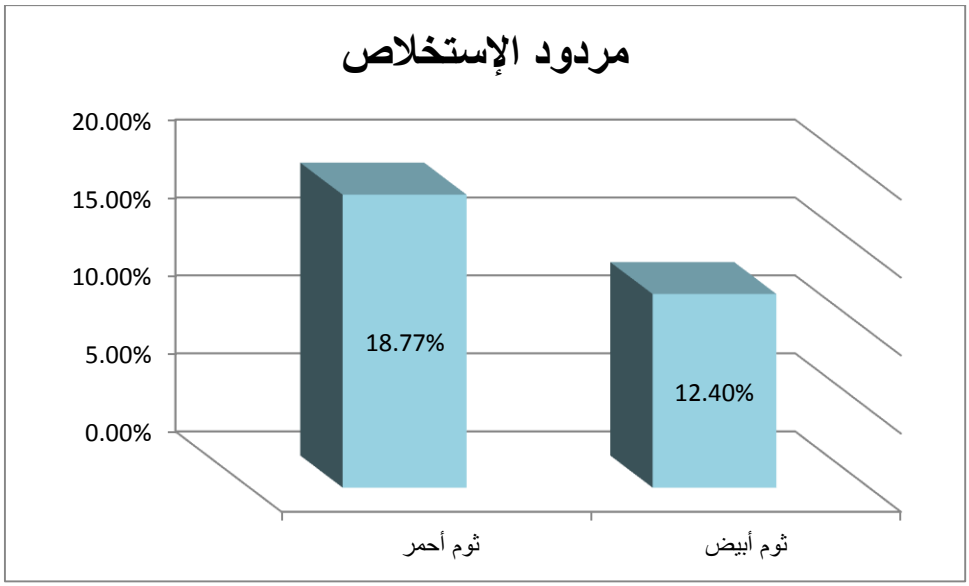
النتائج والمناقشة

1.IV. حساب المردود مستخلصات نبات الثوم *Allium sativum* :

بعد عملية إستخلاص تم تقدير المردود ب (%) والنتائج مدونة في الجدول التالي :

الجدول (1.IV): مردود المستخلصات المدروسة

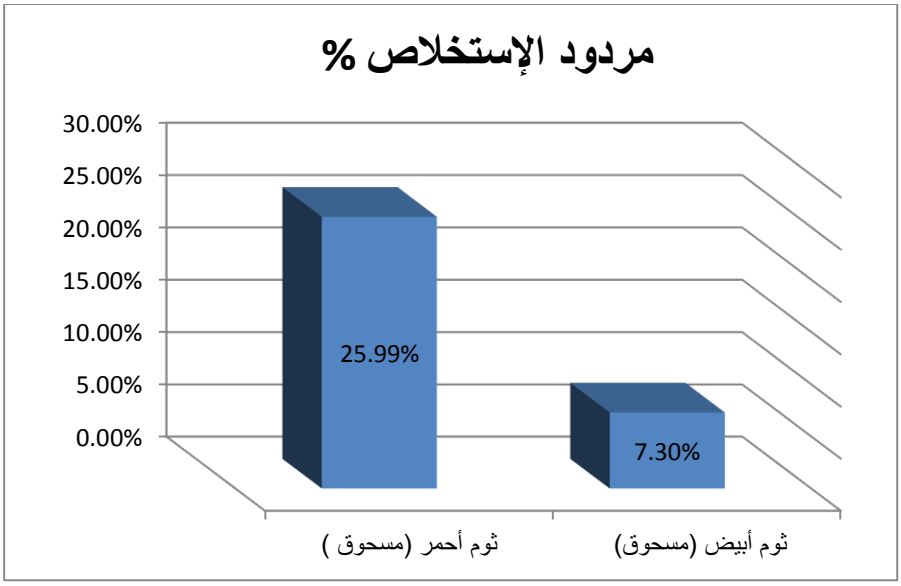
نوع العينة	المستخلص	كتلة العينة (g)	كتلة المستخلص (g)	المردود (%)
العينات الطازجة	ثوم أحمر	40	7.527	18.77
	ثوم أبيض	40	4.959	12.39
العينات الجافة	ثوم أحمر (مسحوق)	40	10.413	25.98
	الثوم أبيض (مسحوق)	40	2.919	7.29



الشكل (1.IV) : أعمدة بيانية لمردودية المستخلصات للعينات الطازجة لنبات الثوم (A. sativum)

- **تعليق على النتائج** :

قد بينت النتائج المتحصل عليها من خلال الاعمدة البيانية والممثلة في الجدول للعينات الطازجة أن نسبة المردود للمستخلصات متباعدة ، حيث نجد أن نسبة المردود لمستخلص ثوم أحمر قدرت ب 18.77 % و نسبة المردود لمستخلص ثوم أبيض قدرت ب 12.40% حيث أعطى الثوم الأحمر أحسن مردود مقارنة بالثوم الأبيض وهذا راجع لنوع مستخلص وتركيز المذيب (ميثانول - ماء) المستخدم .



الشكل (IV. 2) : أعمدة بيانية لمردودية المستخلصات للعينات الجافة لنبات الثوم (A.sativum).

- **تعليق على النتائج** :

من خلال النتائج الموضحة في الشكل (**IV**. 2) نجد ان أكبر قيمة للمردود كانت في مستخلص ثوم أحمر (مسحوق) قدرت ب : 25.98 % ، تليها قيمة مردود ثوم أبيض و قدرت ب : 7.29% ، عند دراسة أخرى أجريت لنفس النبات وجد أن نسبة المردود تتراوح بين 0.93 % ، 0.62% علما ان كتلة ابتدائية لنبتة 32 g [1].

- **مقارنة بين مردود العينات الطازجة والجافة** :

نلاحظ أن مردود الاستخلاص للعينات الجافة أكبر من مردود إستخلاص للعينات الطازجة ، أما من ناحية النوع نلاحظ أن ثوم أحمر في كلتا الحالتين (الطازجة، الجافة) أحسن مردود من ثوم أبيض (الطازج ،الجاف)، و هذا راجع الى الطبيعة الكيميائية للمركبات الفعالة الموجودة في الفصوص [2] .

IV. 2.دراسة بعض الخصائص الفيزيائية :

الجدول (2.IV): الخصائص الفيزيائية للمستخلصات المدروسة .

لون المستخلص	المظهر	pHعند 24 م°	الناقلية ms/cmعند 24 م°	المستخلصات
برتقالي داكن	لزج	6.5	4.96	ثوم أحمر (مسحوق)
أصفر	لزج	5.9	3.72	ثوم أبيض (مسحوق)
برتقالي	لزج	/	/	ثوم أحمر
بني مصفر	لزج	/	/	ثوم أبيض

- **تعليق على النتائج :**

من خلال النتائج المتحصل عليها لقياس الناقلية و درجة الحموضة pH عند درجة الحرارة (24 C°) للمستخلصات المتحصل عليها خلال الدراسة :

- ✓ بالنسبة للعينات الطازجة :
- ✓ بعد عملية النقع مرورا بالمراحل سابقة الذكر تحصلنا على مستخلص للثوم أحمر ذو لون برتقالي والمظهر اللزج ، وللثوم أبيض كان ذو اللون بني مصفر ومظهر اللزج .
- ✓ بالنسبة للعينات الجافة :
- ✓ قيمة الناقلية للثوم أحمر (مسحوق) قدرت ب : (4.9 ms /cm) و درجة الحموضة كانت : (3.72ms/cm) وللثوم أبيض (مسحوق) قدرت درجة الحموضة ب : (5.9) ذو اللون أصفر و المظهر اللزج ، نلاحظ أن قيم درجة الحموضة كانت متساوية تقريبا و كذلك في قيم الناقلية .

IV. 3.نتائج الكشف الأولي لنبات الثوم :

الجدول (3.IV): نتائج الكواشف الأيض الثانوي

الكواشف	ثوم أحمر (مسحوق)	ثوم أبيض (مسحوق)	ثوم الأحمر	ثوم الأبيض
فينولات	+	+	+	+
فلافونيدات	+	+	+	+
القلويدات (ماير)	+	+	/	/
صابونيات	+	+	+	+
مركبات مرجعة (السكريات)	+	+	/	/
الجليكوسيدات	+	+	+	+
الستيرويدات	+	+	+	+
التانينات	-	-	/	/
التربينات	+	+	/	/
الأنثوسينات	-	-	/	/

(+): وجود المادة الفعالة ، (-) : عدم وجود المادة الفعالة .

- **تعليق على النتائج :**

بعد عملية الكشف الفيتوكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي في النبتة المدروسة تحصلنا على النتائج التجريبية الموضحة في الجدول (3.IV) التي توضح وجود و عدم وجود مجموعات كيميائية معينة ، ترتبط هذه الاختبارات بكثافة الترسبات أو التعكر أو اللون والتي تتناسب أيضا مع كمية المادة المطلوبة .

حيث أبرزت الدراسة المخبرية للكشف عن محتوى فصوص الثوم من مواد الأيض الثانوي أنها تحتوي على أغلب مواد الأيض الثانوي كالفينولات ، و فلافونيدات ، الصابونيات ،التربينات و الستيرولات ،و القلويدات ...، مع غياب التانينات والأنثوسينات ، وهو ما تؤكده الدراسات السابقة [3] ،[4]،[5].

IV.4. التقدير الكمي :

IV. 1.4.التقدير الكمي للفينولات بإستخدام جهاز UV-Vis :

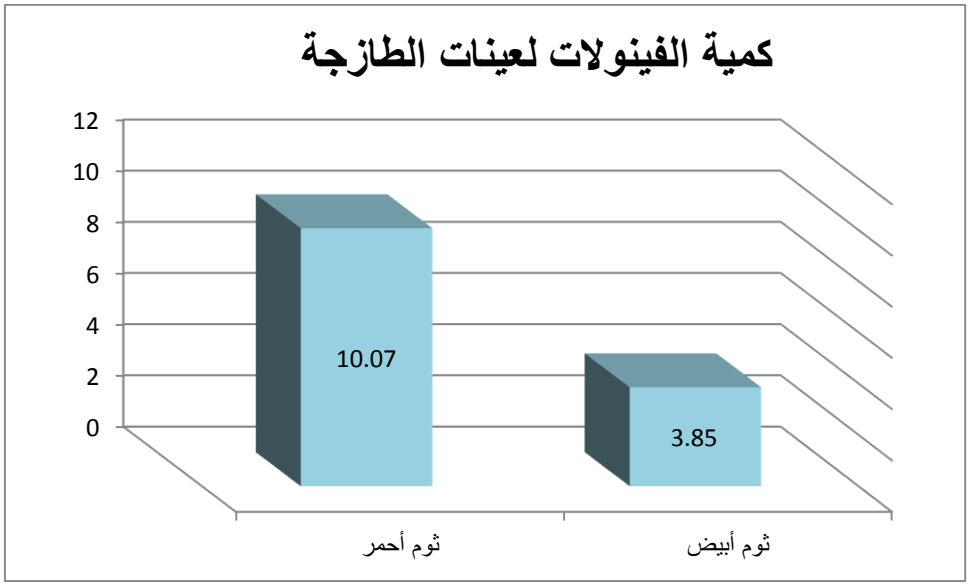
تم تقدير كمية الفينولات الكلية للمستخلصات المدروسة وذلك بإعتماد على معادلة الخطية للمنحنى العياري لحمض الغاليك :

$$Y=11.26x+0.029$$

تحصلنا على النتائج المدونة في الجدول التالي :

الجدول (4.IV) : قيم الامتصاصية وكمية الفينولات للمستخلصات المدروسة

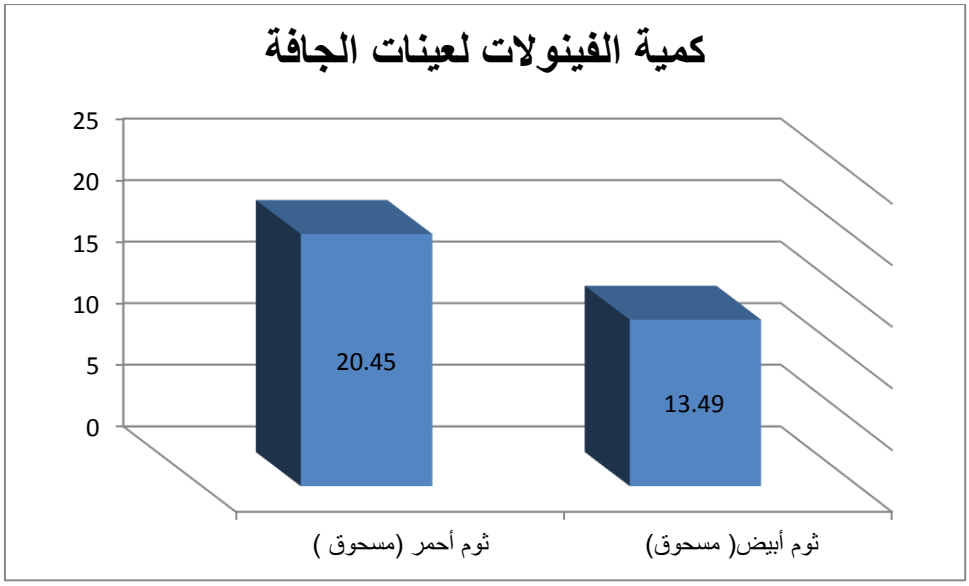
نوع العينة	المستخلص	التركيز (mg/ml)	الامتصاصية (nm)	كمية الفينولات mgEAG/g
العينات الطازجة	ثوم أحمر (20% /80%)	5	0.596	10.07
	ثوم أبيض (20% /80%)	5	0.246	3.85
العينات الجافة	ثوم أحمر (مسحوق) (20%/80%)	3.5	0.835	20.45
	ثوم أبيض (مسحوق) (20% /80%)	5	0.789	13.49



الشكل (3.IV) : أعمدة بيانية لكمية الفينولات مستخلصات العينات الطازجة لنبات الثوم (*A.Sativum*).

- **تعليق على النتائج** :

من خلال النتائج الموضحة في الشكل (**3.IV**) التي تمثل كمية االفينولات للمستخلصات الطازجة، تبين أن كمية الفينولات للثوم أحمر قدرت ب : (10.07 mg E AG /g) ، تليها كمية الفينولات للثوم أبيض قدرت ب : (3.85 mg E AG/g) ، من النتائج المتحصل عليها لاحظنا أن كمية الفينولات كانت كبيرة لمستخلص الثوم أحمر مقارنة بالثوم أبيض كانت صغيرة .



الشكل (4.IV): أعمدة بيانية لكمية الفينولات مستخلصات العينات الجافة لنبات الثوم (*A. sativum*).

- **تعليق على النتائج :**

من خلال النتائج الموضحة في الشكل (**4.IV**) التي تمثل كمية االفينولات للمستخلصات الجافة ، تبين أن كمية الفينولات للثوم أحمر (مسحوق) و قدرت ب : (20.45 mg EAG/g) ، تليها كمية الفينولات للثوم أبيض قدرت ب:(13.49 mg E AG /g) ، من خلال النتائج المتحصل عليها لاحظنا أن كمية الفينولات كانت كبيرة لمستخلص ثوم أحمر بودر مقارنة بالثوم أبيض كانت أقل .

- **مقارنة بين نتائج العينات الطازجة والجافة :**

تبين من خلال النتائج أن كمية الفينولات للعينات الطازجة والجافة كانت متفاوتة ، إذ سجلت أكبر قيمة للفينولات للعينات الطازجة كانت عند ثوم أحمر وقدرت ب: (10.07mgEAG/g) أما بالنسبة للعينات الجافة كانت عند ثوم أحمر (مسحوق) وقدرت ب : (20.45 mgEAG/g).

من خلال النتائج المتحصل عليها لاحظنا أن كمية الفينولات كانت صغيرة وهذا راجع إلى نوع المستخلص و نسبة الكحولات المرتفعة في مزيج 80% (ميثانول) وكمية المركبات الفينولية (كلما زادت نسبة الميثانول قلت كمية الفينولات في المستخلص والتي يمكن تفسيرها بأن نسبة الكحول (ميثانول) المرتفعة تعمل على اعاقة انحلال بولي فينول خلال عملية إستخلاص ، وهذا ما أكدته دراسة [6]، وهذا مايتوافق مع النتائج عند فحص النتائج التي تثبت أن كمية الفينولات تكون أقل في الكحولي [7] [8] .

كما أثبتت نتائج دراستنا المتحصل عليها للمستخلصات تضم أكبر كمية من متعدد فينول مقارنة مع الدراسات سابقة حيث قدرت ب : (0.05-0.98 mg E AG /g) [9] ، و كذلك الدراسة التي أعطت كمية الفينولات : (0.05,0.18,0.98 mg EAG/ g) [10].

2.4.IV.التقدير الكمي للفلافونيدات باستخدام جهاز UV- Vis :

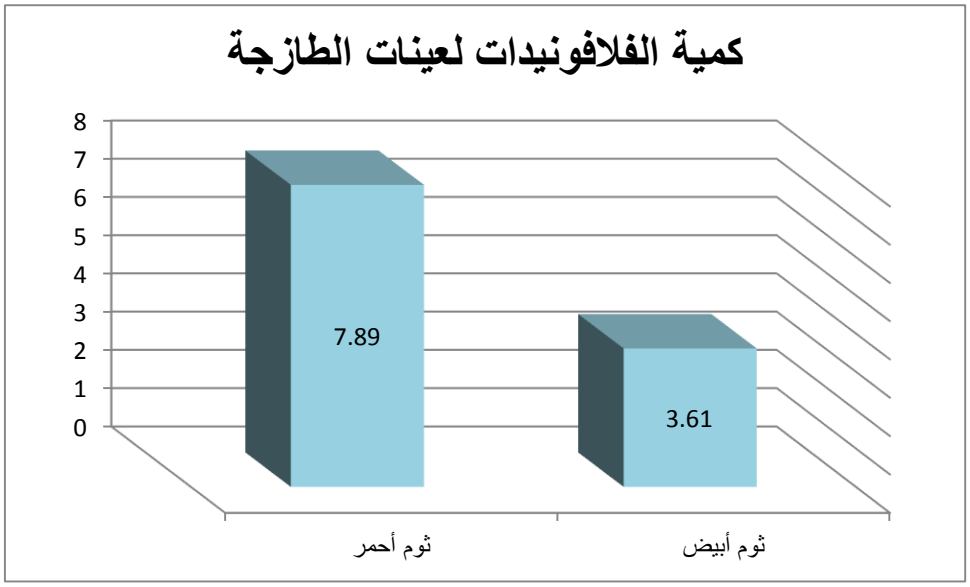
تم حساب كمية الفلافونيدات للمستخلصات المدروسة وذلك بالإعتماد على المعادلة الخطية للمنحنى القياسي للكريستين و الممثلة كالتالي :

$$Y = 24.74\ x - 0.009$$

تحصلنا على النتائج المدونة في الجدول التالي :

الجدول (5.IV) : قيم الإمتصاصية وكمية الفلافونيدات للمستخلصات المدروسة

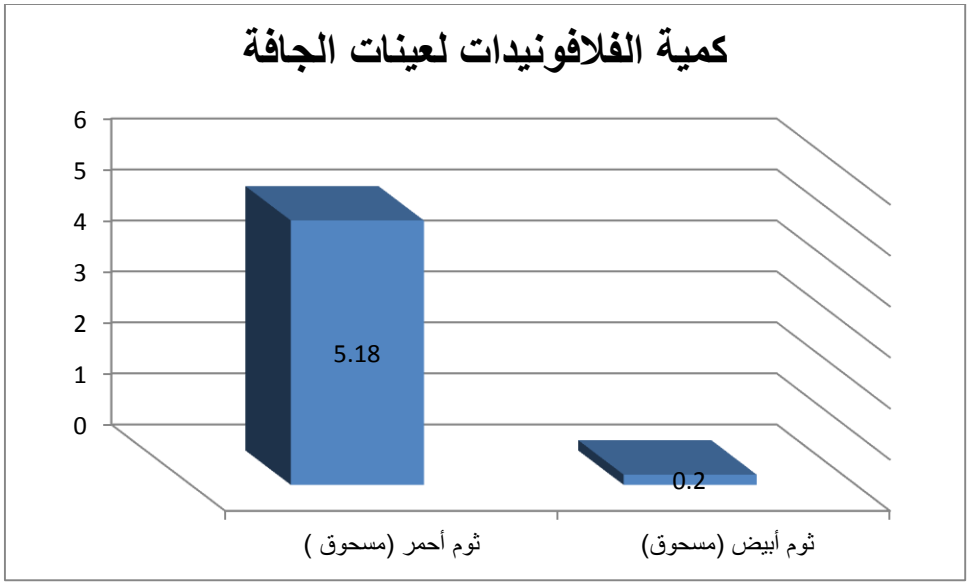
نوع العينة	المستخلص	التراكيز (mg/ml)	الإمتصاصية (nm)	كمية الفلافانويدات (mg E AG/g)
العينات الطازجة	ثوم أحمر (%20 /80%)	5	0.967	7.89
	ثوم أبيض (% 20/80%)	4.5	0.393	3.61
العينات الجافة	ثوم أحمر (مسحوق) (20%/80%)	5	0.635	5.181
	ثوم أبيض (مسحوق) (%20 / 80%)	35	0.165	0.200



الشكل (5.IV) : أعمدة بيانية لكمية الفلافونيدات لمستخلصات العينات الطازجة لنبات الثوم *(A .sativum).*

- **تعليق على النتائج :**

من خلال النتائج المبينة في الشكل أن الكمية أكبر للفلافونيدات نجدها عند ثوم أحمر والتي قدرت ب: (7.89 mg E AQ /g) ، أما بالنسبة للثوم أبيض كانت أقل وقدرت ب: (3.61mg E AQ/g) ، نستنتج من خلال الدراسة أن كمية الفلافونيدات أكبر بالنسبة للثوم .



الشكل (6.IV) : أعمدة بيانية لكمية الفلافونيدات لمستخلصات العينات الجافة لنبات الثوم (*A.sativum*).

من خلال النتائج المبينة في الشكل (**6.IV**) تبينا أن أكبر قيمة للفلافونيدات بالنسبة للعينات الجافة كانت للثوم أحمر (مسحوق) و قدرت ب: (5.18 mg E AQ /g) ، وكانت أقل بالنسبة للثوم أبيض (مسحوق) وقدرت ب :

(0.20mg E AQ /g) من خلال النتائج نستنتج أن كمية الفلافونيدات أكبر بالنسبة للثوم الأحمر وأقل بكثير بالنسبة للثوم أبيض .

- **مقارنة بين نتائج العينات الطازجة والجافة :**

من خلال النتائج أن كمية الفلافونيدات تكون في العينات الطازجة أكبر عند ثوم أحمر الذي يقدر ب : (7.89mg E AQ /g) أما بالنسبة للعينات الجافة تكون أكبر عند ثوم أحمر (مسحوق) حيث بلغت كميتها (5.18mg E AQ/g) ، ومنه نستنتج أن كمية الفلافونيدات مرتفعة عند العينات الطازجة من وجودها في العينات الجافة ومن هنا نستنتج أن المواد الفعالة موجودة أكثر في العينات الطازجة أكثر من العينات الجافة ، ومنه يمكننا القول أن هناك علاقة بين كمية الفينولات وكمية الفلافونيدات أي انه كلما زاد تركيز متعدد الفينول زاد تركيز الفلافونيدات .

كما أثبتت نتائج دراستنا المتحصل عليها للمستخلصات حققت أكبر كمية من الفلافونيدات مقارنة مع الدراسات الأخرى حيث قدرت ب : (4.16ug E AQ/g) × 10^{-3} ، 5.78. ، 6.99) [10].

5.IV.الفاعلية المضادة للأكسدة :

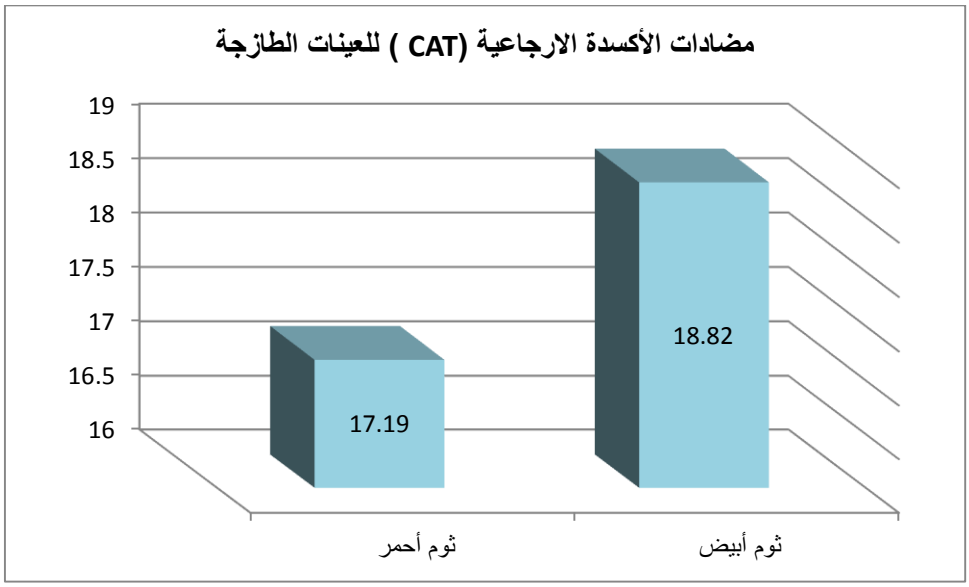
1.5.IV.الفعالية المضادة للأكسدة الكلية CAT :

من نتائج إمتصاصية المتحصل عليها من محاليل المحضرة وبحسابات رياضية مطبقة على معادلة حمض الأسكوربيك تم تقييم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية CAT للمستخلصات من خلال المعادلة التالية :

$$Y = 14.762\ x + 0.0591$$

الجدول (6.IV) : قيم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية CAT :

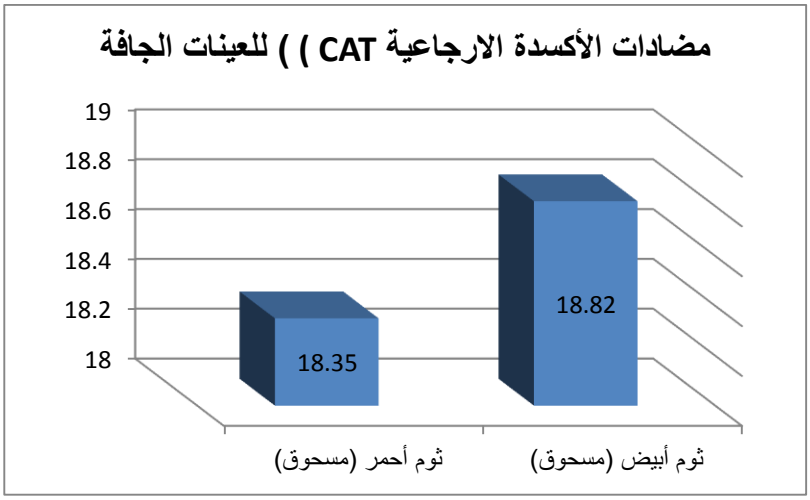
نوع العينة	المستخلص	التراكيز (mg /ml)	الإمتصاصية (nm)	قيم اختبار نشاطية CAT(mg E AA/g)
العينات الطازجة	ثوم أحمر	1	0.313	17.19
	ثوم أبيض	1	0.337	18.82
العينات الجافة	ثوم أحمر (مسحوق)	1	0.330	18.35
	ثوم أبيض (مسحوق)	1	0.337	18.82



الشكل (7.IV) : أعمدة بيانية لقيم المضادات للأكسدة الإرجاعية CAT الطازجة لنبات الثوم *(A. sativum)* .

- **تعليق على النتائج :**

أظهرت النتائج الموضحة في الشكل (**7.IV**) إن قيم اختبار النشاطية للثوم أحمر كانت (17.19 mg E AA/g) ، أما بالنسبة للثوم أبيض كانت (18.82 mg E AA/g) ، نستنتج من خلال نتائج المتحصل عليها أن ثوم أبيض له فعالية مضادة للأكسدة أكبر من ثوم أحمر .



الشكل (8.IV) : أعمدة بيانية لقيم المضادات للأكسدة الإرجاعية CAT للعينات الجافة لنبات الثوم (*A.sativum*).

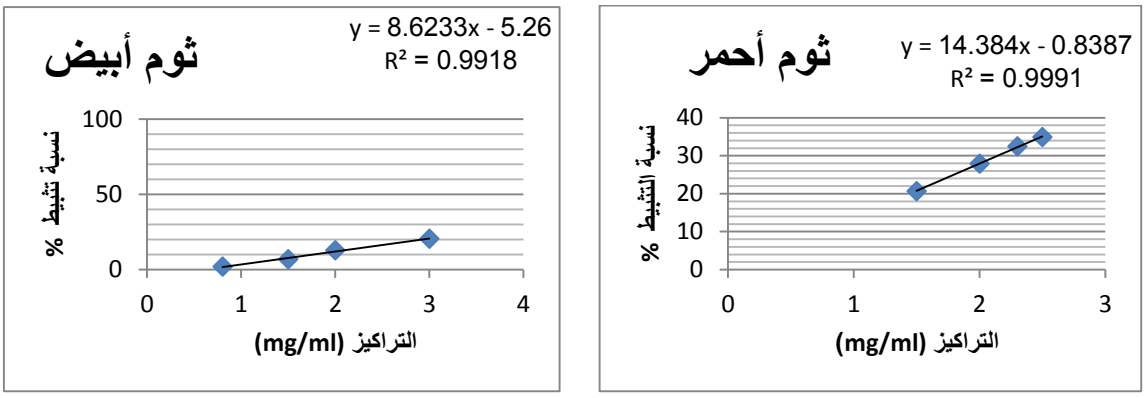
- **تعليق على النتائج :**

بينت النتائج الموضحة في الشكل (**8.IV**) والتي تعبر عن نتائج اختبارتقييم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية ، حيث قدرت أكبر قيمة لها عند ثوم أبيض (مسحوق) حيث قدرت ب:(mg E AA 18.82/g) ، وكانت أقل عند ثوم أحمر (مسحوق) وقدرت ب : (18.35mg E AA/g) . من خلال النتائج يمكننا القول أن ثوم أبيض له فعالية أكبر من ثوم أحمر .

نستنتج من خلال النتائج المتحصل عليها أنه للثوم أبيض في كلتا الحالتين (الطازجة والجافة) نشاطية مضادة للأكسدة أفضل من ثوم أحمر في كلتا الحالتين (الطازجة والجافة). ولاحظنا أن كل ما يزيد تركيز المستخلص تزداد معه فعالية المضادة للأكسدة CAT.

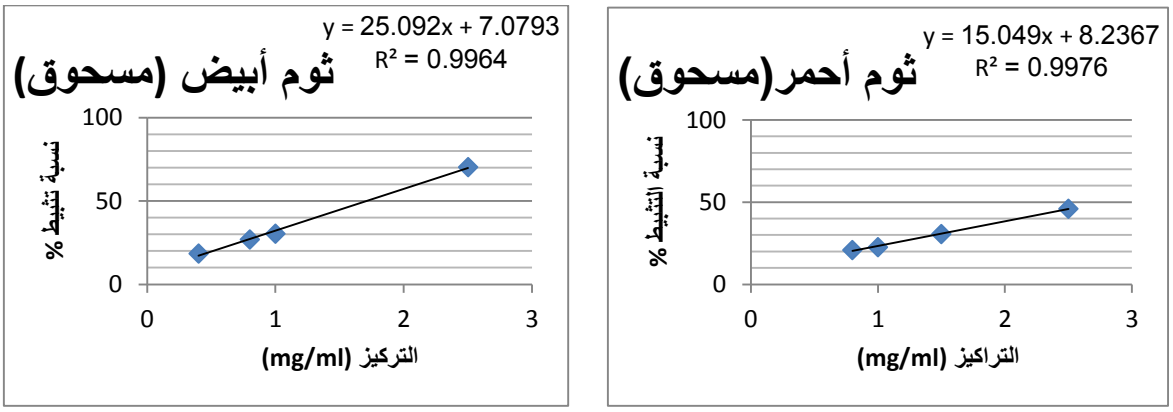
2.5.IV. نتائج القدرة التثبيط للجذر الحر DPPH : بعد حساب النسبة المئوية للتثبيط (I%) بدلالة كل تركيز تم رسم المنحنيات البيانية التالية :

- **العينات الطازجة :**



الشكل (9.IV) : منحنيات النشاطية لمستخلصات العينات الطازجة في تثبيط الجذر الحر DPPH .

- **العينات الجافة :**



الشكل (10.IV) : منحنيات النشاطية لمستخلصات العينات الجافة في تثبيط الجذر الحر DPPH .

- من خلال المنحنيات التي تمثل منحنيات النشاطية للعينات المدروسة في تثبيط الجذر الحر DPPH والتي من خلالها تحسب قيمة IC_{50} للمستخلصات علما أن القيمة أقل منها تعني التأثير التثبيطي الأفضل ، القيم مبينة في الجدول أدناه :

جدول (7.IV): قيم IC_{50} و ARP لمستخلصات DPPH.

نوع العينة	المستخلص	IC_{50} (mg/ml)	ARP = $(1/IC_{50})$
العينات الطازجة	ثوم أحمر	3.53	0.28
	ثوم أبيض	6.40	0.15
العينات الجافة	ثوم أحمر (مسحوق)	2.77	0.36
	ثوم أبيض (مسحوق)	1.71	0.58
حمض الأسكوربيك		4.91	0.20

- **تعليق على النتائج** :

من النتائج المتحصل عليها لقيم IC_{50} و (ARP) والمسجلة في الجدول أدناه :

اعتمادا على أنه هناك علاقة تناسبية من (ARP) وIC_{50} حيث كلما زادت فعالية زادت قيمة (ARP) أظهرت قيم IC_{50} المتحصل عليها أن لمستخلص ثوم أبيض (مسحوق) أفضل نشاطية في اقتناص الجذر الحر DPPH عن باقي المستخلصات وقدرت IC_{50} ب (1.71mg/ml) تليها ثوم أحمر(مسحوق) و قدرت ب : (2.77 mg/ml) أما بالنسبة للعينات الطازجة سجلت أقل نشاطية و قدرت ب : بالنسبة للثوم أحمر (3.53 mg/ml) بالنسبة للثوم أبيض قدرت ب: (6.40mg/ml) .

بمقارنة مع قيمة IC_{50} لحمض الأسكوربيك والتي قدرت ب: (4.91 mg/ml) [11] بينت أن جميع المستخلصات المدروسة لها فعالية أفضل من حمض الأسكوربيك ، بإستثناء مستخلص ثوم أبيض الطازج الذي أعطى فعالية أقل .

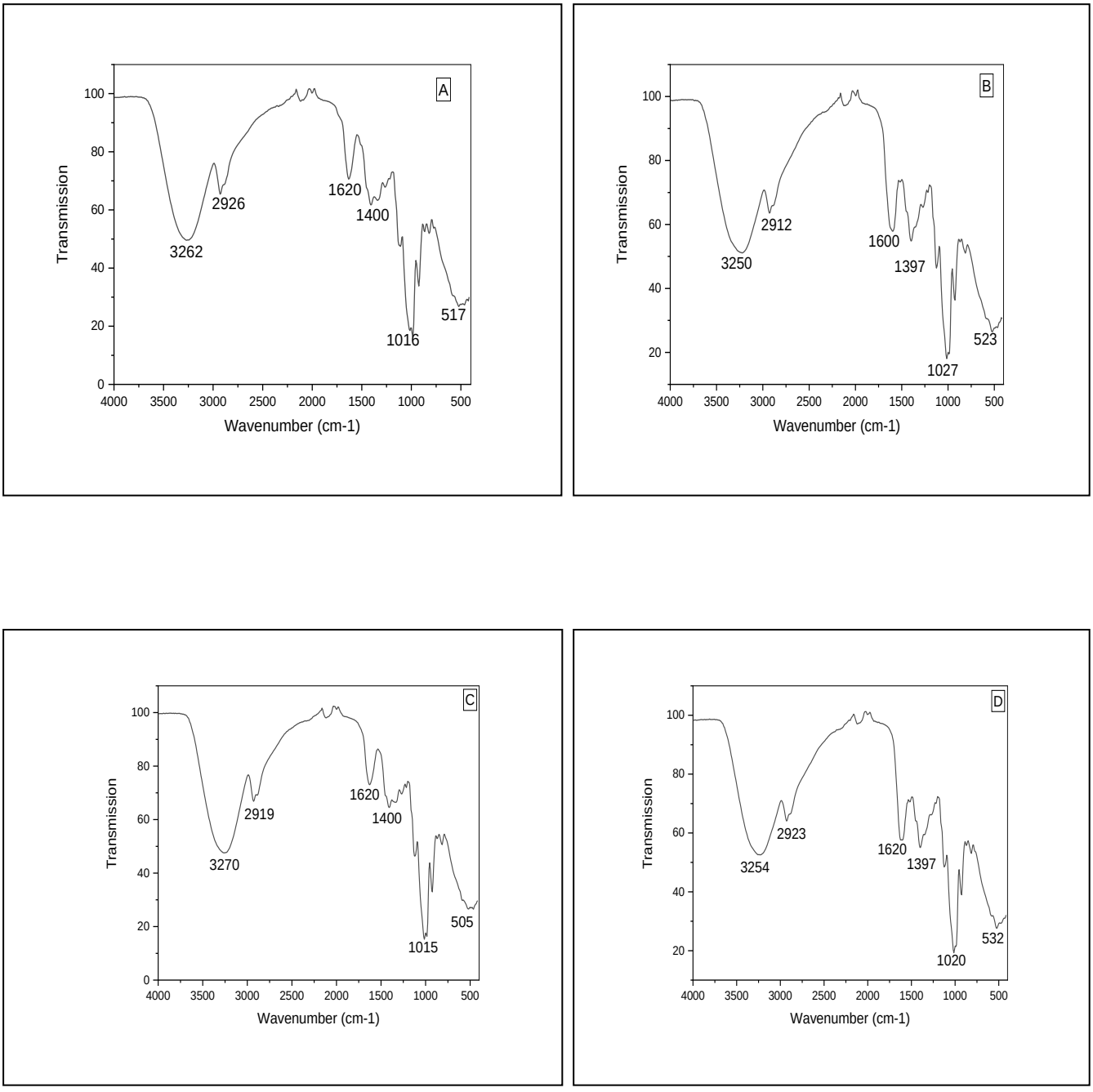
و بالمقارنة دراستنا مع دراسة أخرى التي أظهرت توافق الى حد كبير إلى ما توصلو إليه بالنسبة لقيمة IC_{50} مستخلصات التي قدرت ب (6.01,4.41,1.03) [10] .

ومنه نستنتج أن مستخلصات الثوم المدروسة لها فاعلية مضادة للأكسدة في كل من إختبارين CAT و DPPH.

6.IV.مطيافية الأشعة تحت الحمراءFTIR :

تم مسح مجال الترددات cm^{-1} (4000-400) بواسطة جهازَ AgilentTechnoogies Cary 630 FTIR) وهذا في مخبر كلية العلوم الدقيقة بجامعة الوادي، بحيث أي تردد ممتص يميز نوع إهتزاز رابطة معينة و عليه سوف نستخدم هذه الخاصية لتتبع دراسات خصائص الروابط الكيميائية مستخلصات الميثانولية لنبات الثوم *A.sativum*.

يتم تحديد الروابط الكيميائية من خلال مواقع إهتزازها في طيف الأشعة تحت الحمراء كما هو في **الشكل (11.IV)** ، و **الجدول (8.IV)** أدناه :



A: الثوم أبيض B : الثوم أحمر C: الثوم أبيض (مسحوق) D: الثوم أحمر (مسحوق)

الشكل (11.IV): أطياف (FTIR) مستخلصات الميثانولية لنبات الثوم *A.sativum*.

الجدول (8.IV): نوع الرابطة والتردد الموافق لكل مستخلص ميثانولي لنبات الثوم *A.sativum*

مجموعة الوظائف	نوع الرابطة	الترددات (cm^{-1})			
		D	C	B	A
Hydroxyl	O-H	3254	3270	3250	3265
Aromatic compounds	C-H	2923	2919	2912	2926
Carbonyl and carboxylic	C=O	1620	1620	1600	1620
Carboxylic	O-H	1397	1400	1397	1400
Organosulfur	S=O	1020	1015	1027	1016

- **تعليق على النتائج:**

أظهرت مطيافية الأشعة تحت الحمراء من مستخلص ميثانولي للثوم *A.sativum* على وجود مجموعات وظيفية مثل مركبات هيدروكسيل و الكربونيل و الكربوكسيل و كبريت عضوي (الشكل (**12.IV**) ،الجدول (**8.IV**))، حيث نلاحظ عند الذروة واسعة (cm^{-1} 3254,3270,3250,3265) و هذا راجع إلى إمتداد لمجموعة هيدروكسيل (O-H) التي تشير إلى وجود مركبات متعددة الهيدروكسي مثل الفلافونيدات وصابونين و غيرها . و عند الذروة (cm^{-1} 2923,2919,2912,2926) حيث نلاحظ إمتداد غير متماثل ل (C-H) التي تشير إلى مركبات العطرية .

وعند الذروة (cm^{-1} 1620,1620,1600,1620) حيث نلاحظ إمتداد لمجموعات الكربونيل و الكربوكسيل (C=O). تشير الذروة (cm^{-1} 1397,1400، 1397,1400) ل (O-H) من أحماض كربوكسيل [12]. و التي كشفت بدورها عن وجود الفلافونيدات ، صابونين و جليكوسيدات . تشير الذروة (cm^{-1} 1020,1015,1027,1016) إلى وجود مجموعة (S=O) التي كشفت عن وجود مركبات عضوية مثل : Alliin ، Allicin [13] .

من النتائج المتحصل عليها لاحظنا أن جميع المستخلصات تحتوي على مجموعات وظيفية متماثلة ، ذات ترددات متقاربة جدا . عند مقارنتها مع دراسة أخرى في نفس السياق وجدنا أن المعطيات تتوافق إلى ما توصلو إليه [14].

IV. 7.الفاعلية المضادة البكتيريا:

بعد مراجعة بعض الدراسات السابقة لنشاطية البيولوجية لمستخلصات فصوص الثوم (*A. Sativum*)

وبعض المضادات الحيوية المضادة لبعض الأنواع البكتيرية الممرضة، تحصلنا النتائج المرفقة في الأشكال والجداول التالية :

- **مستخلص DMSO :**

أدت معاملة السلالات البكتيرية المختبرة بالمستخلص ال DMSO بثلاث تراكيز مختلفة إلى عدم رسم مناطق تثبيط معتبرة موضحة في الجداول التالية :

الجدول (9.IV) : أقطار التثبيط (مم) لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة لمستخلص DMSO لنبات الثوم *A . sativum*

ATB	ATB + 5 (mg/ml)	نوع البكتيريا وطبيعة الغرام					
		S . aureus (G^+)			*E . Coli* (G^-)		
		التراكيز (mg/ml)	2.5	5	10	2.5	5	10
33 مم	37 مم	ثوم أحمر	0 مم	0 مم	0مم	/	/	/
34 مم	36 مم	ثوم أبيض	0مم	0مم	0مم	/	/	/
34 مم	36 مم	ثوم أحمر (مسحوق)	0 مم	0 مم	0 مم	/	/	/
28 مم	30 مم	ثوم أبيض (مسحوق)	0 مم	0 مم	0 مم	/	/	/

ملاحظة : القيم المتحصل عليها بوحدة (مم) تكون مضافة مع قطر القرص الذي طوله (6 مم).

- **النتائج :**

✓ بالنسبة للبكتيريا من نوع *E . coli* (سالبة الغرام) لم تعطي أي قطر تثبيطي في كل الحالات بالنسبة لمستخلص (DMSO) .

✓ أما بالنسبة للبكتيريا من نوع *S . aureus* فكانت النتائج كالآتي :

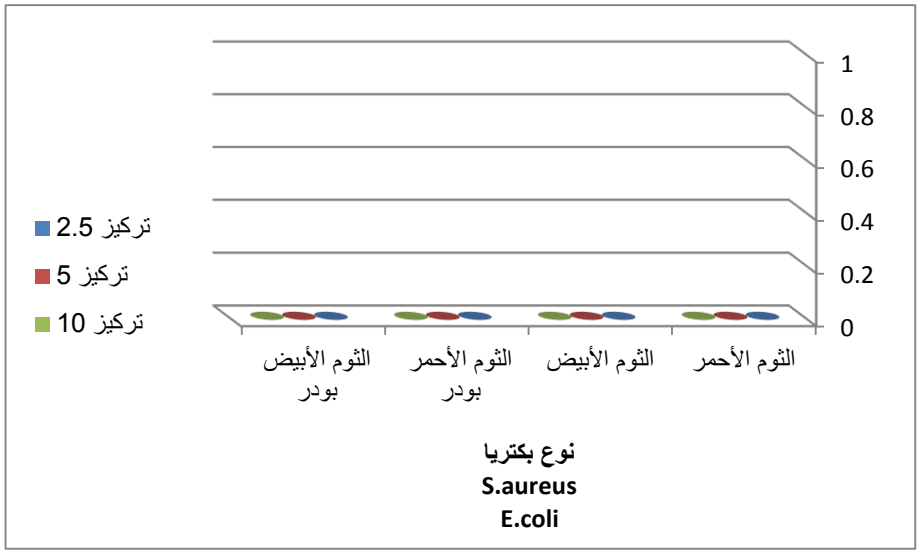
- بالنسبة للعينات الطازجة لم نسجل قيمة للقطر التثبيطي لكلا المستخلصين النباتين إلا في حالة ATB و (5 mg/ml) ATB + .

- بالنسبة للثوم الأحمر : في حالة ATB فقط سجلنا قطر تثبيطي (33 مم) و في حالة (5 mg/ml) ATB + نلاحظ زيادة للقطر التثبيطي و قدر :(37 مم) .

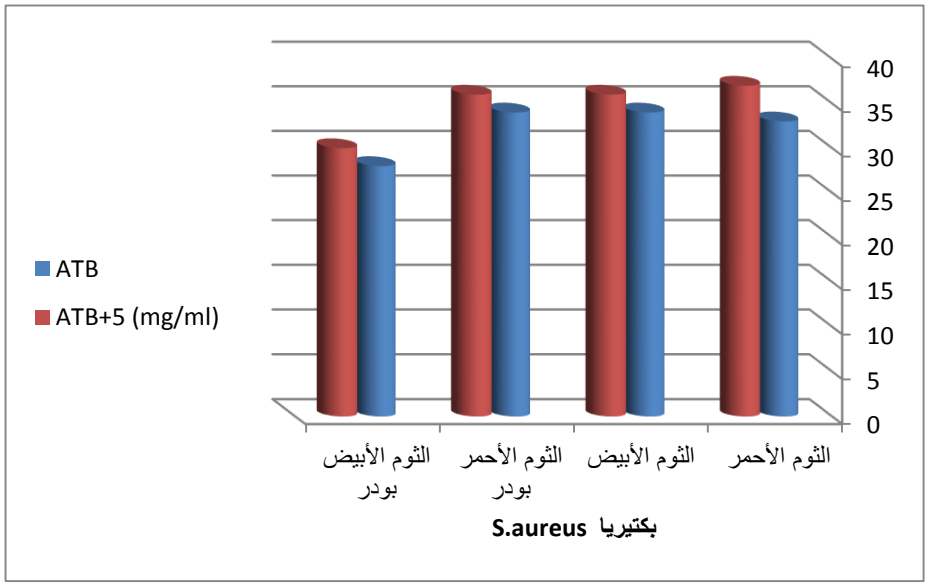
- أما بالنسبة للثوم الأبيض عند وجود ATB فقط سجلت قيمة للقطر التثبيطي قدر : (34 مم) ، أما في حالة (5 mg/ml) ATB + لاحظنا زيادة للقطر التثبيطي و كانت (36 مم) .

✓ **ملاحظات :**

من خلال الجدول نلاحظ أن بالنسبة للعينات الطازجة سجلنا أعلى قطر تثبيطي بلغ حتى (37 مم) ، أما بالنسبة للعينات الجافة بلغت قيمة القطر التثبيطي بلغت (36 مم) .



الشكل (12.IV): أقطار تثبيط للمستخلصات العينات الطازجة والجافة لمستخلص DMSO لنبات الثوم .

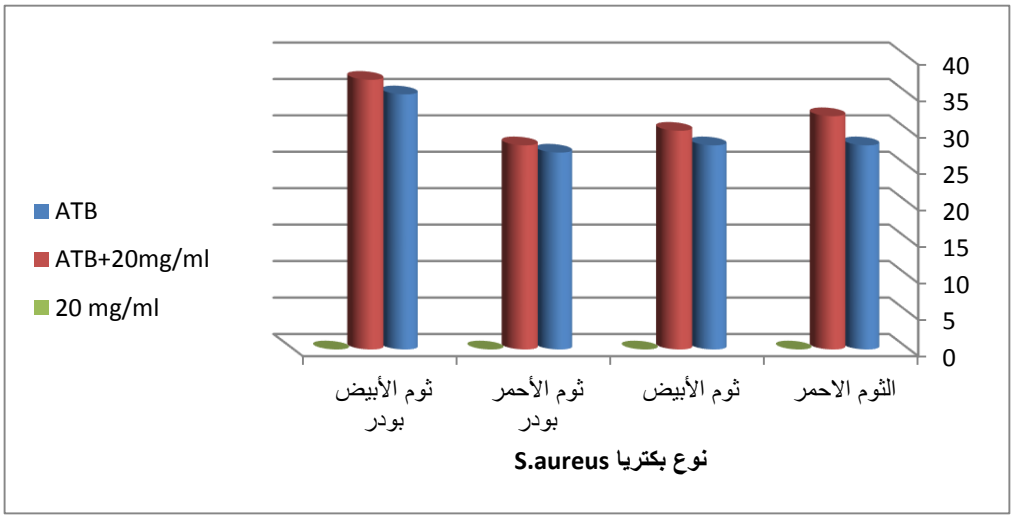


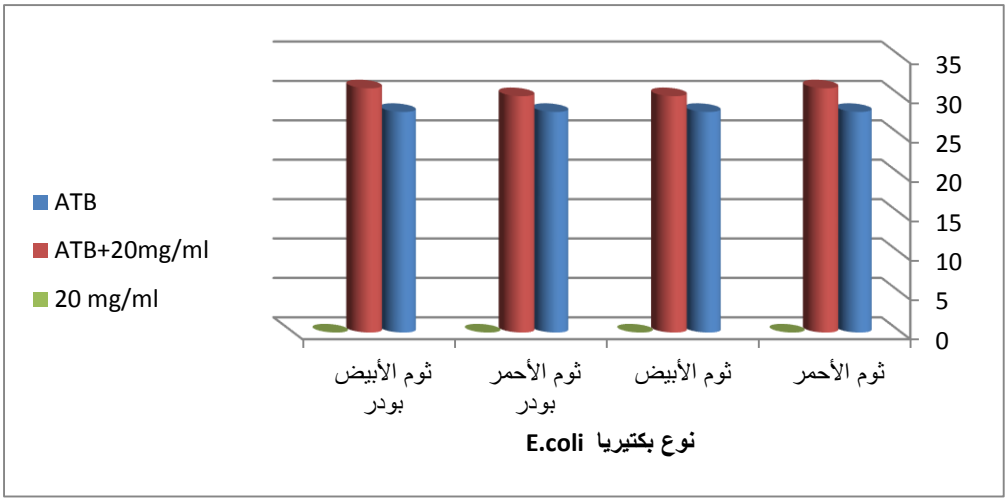
الشكل(13.IV): أقطار تثبيط للمستخلصات لعينات الطازجة والجافة لمستخلص DMSO في وجود المضاد الحيوي ATB .

- **المستخلصات الميثانولية :**

الجدول (10.IV) : أقطار التثبيط (مم) لأنواع البكتيريا لمستخلص الميثانولي لنبات الثوم (*A.sativum*)

نوع البكتيريا		ATB	ATB + 20 mg/ml	20 mg/ml
S. aureus **(G^+)**	ثوم أحمر	28 مم	32 مم	0 مم
	ثوم أبيض	28 مم	30 مم	0 مم
	ثوم أحمر (مسحوق)	27 مم	28 مم	0 مم
	ثوم أبيض (مسحوق)	35 مم	37 مم	0 مم
E . coli **(G^-)**	ثوم أحمر	28 مم	31 مم	0 مم
	ثوم أبيض	28 مم	30 مم	0 مم
	ثوم أحمر (مسحوق)	28 مم	30 مم	0 مم
	ثوم أبيض (مسحوق)	28 مم	31 مم	0 مم





الشكل (14.IV) : أقطار تثبيط للعينات الطازجة والجافة للمستخلص الميثانولي إتجاه سلالتين بكتيريتين *E.coli, S.aureus* في وجود المضاد الحيوي ATB.

- **النتائج :** من خلال الجدول (**10 .IV**) :

تم ملاحظة أن الأقطار التثبيطية للمستخلص الميثانولي مع المضاد الحيويَ (ATB) لها قيم معتبرة عند السلالتين البكتيريتين المختبرتين :

✓ بالنسبة لسلالة *E .coli* : بالنسبة للعينات الطازجة سجلت أعلى قيمة للقطر التثبيطي (30مم) ، أما بالنسبة للعينات الجافة سجلت أعلى قيمة للقطر التثبيطي كانت (31 مم) نلاحظ أنها متقاربة .

✓ أما بالنسبة للسلالة *S . aureus* : بالنسبة للعينات الطازجة بلغت قيمة القطر التثبيطي (32 مم) ، أما بالنسبة للعينات الجافة فكانت أعلى قيمة للقطر التثبيطي (35 مم) .

✓ بالنسبة للثوم أحمر: لم نسجل أي قطر تثبيطي عند تراكيز عالية (20 mg/ml) أما في حالة مزيج (20 mg/ml + ATB) سجلنا قطر تثبيطي بلغ (31 مم) . أما في حالة ATB فقط سجلنا قطر تثبيطي بلغ (28 مم) وعند مزيج (20 mg/ml + ATB) لم نلاحظ زيادة للقطر التثبيطي وكانت قيمة ثابتة (28 مم) وهذا دليل على أنه عند التراكيز لم نتحصل على قطر تثبيطي .

✓ ثوم أبيض : سجلنا قطر تثبيطي في حالة ATB فقط قدر ب: (28 مم)، ونفس نتيجة بالنسبة لمزيج (ATB +20 mg/ml) أما في حالة تراكيز عالية لم نسجل أي قطر تثبيطي .

أما في حالة مزيج (ATB + 20 mg/ml) سجلنا قطر تثبيطي واضح قدر ب: (30 مم) .

نلاحظ مع جميع المستخلصات لم نسجل أي قيمة للأقطار التثبيطية أما عند ATB سجلنا قيمة للقطر التثبيطي وهذا في كل الحالات .

- **النتائج :**

✓ من خلال الجدول (**9 .IV**) : تم ملاحظة أن الأقطار التثبيطية للمستخلص الكحولي (الميثانولي) لها قيم معتبرة عند السلالتين البكتيريتين المختبرتين مقارنة ب DMSO .

✓ من خلال النتائج المتحصل عليها لاحظنا أن السلالتين *E. coli* و *S.aureus* كانتا أكثر حساسية للمستخلص الميثانولي عند التراكيز العالية مقارنة بمستخلص DMSO .

- **مناقشة النتائج :**

✓ من خلال ما تحصلنا عليه في الأشكال والجداول السابقة بين أنه لمستخلصات فصوص الثوم (الكحولية / DMSO) له قدرة تثبيطية تجاه السلالات البكتيرية الممرضة ، ولكن عند تراكيز معينة ، كما توافقت دراستنا مع دراسة أخرى [15][1] .

- **تفسير النتائج :**

✓ يمكن تفسير الإختلاف في النشاطية المضادة للبكتيريا إلى :

✓ الإختلاف في تركيز المركبات الفعالة التي لها فعالية حيوية بيولوجية ضد الأحياء المجهرية وأهمها المركبات الفينولية والفلافونيدية .

✓ امتصاص الأغشية الخلوية للبكتيريا للمركبات الفينولية مع الإنزيمات الفعالة والعناصر المعدنية في الجدران الخلوية .

✓ كما أن الإختلاف في الحساسية بين السلالات البكتيرية موجبة الغرام وسالبة الغرام يعود للإختلاف في البنية ، تركيبة ، طبيعة جدار الخلية البكتيرية بين النوعين ، وفي وجود Lipopolysaccharides التي يحتويها الغشاء الخارجي لبكتيريا (*E . coli*) (G^-).

المراجع العربية :

[5] حليمة نسيب ، نجاح بن علي.، الدرسة الكيميائية لمستخلصات بعض النباتات الطبية المستخدمة في الطب التقليدي لعلاج إرتفاع ضغط الدم في منطقة وادي سوف ، مذكرة ماستر علوم ،جامعة حمه لخضر الوادي ; ص65،(2020).

[6] صحراوي صباح ، مساهمة في تحسين ظروف الاستخلاص المركبات الفينولية من نباتات الطبية لمنطقة الوادي نبات الخبيز Malva Sylvestris ، مذكرة ماستر كيمياء ، جامعة حمه لخضر الوادي ; ص 58، (2018).

[11] عثماني منال ،واري بسمة ، دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص الخام لثمار وبذور القناوية Abelmoschus esculentus L ، مذكرة ماستر كيمياء ، جامعة حمه لخضر الوادي ، ص 57 ،(2019).

المراجع الأجنبية :

[1] Victor ,OKOMBE EMBEYE , and NZUZIMAVUNGU Gael .Etude de l'activite antibactérienne (invitro) des extraits aqueux et méthanoliques de l'ail (Allium sativum L.).Journal of Applied Biosciences 141:14419-14425.

[2] Djemai , S., étude de l'activité biologique des extrait du fruit du zizy plus lotus L,Mémoire de magister , Université El hadj lakhater , Batna p:91(2009) .

[3] YUSUF, A,. FAGBUARO, S,S,. FAJEMILEHIN, S,O,K,. Chemical composition, phytochemical and mineral profile of garlic (Allium sativum). Journal of Bioscience and Biotechnology Discovery.3(5):105-109 . (2018).

[4] Friday, O., Uhegbu, I., Emek, E., Iweala, J., & Ijeoma, K. Studies on the chemical and antinutritional content of some Nigerian spices. International Journal of Nutrition and Metabolism, 3(6), 72-76p.(2011).

[7] spingo G., Tramelli L ., de Faveri D.M.Effects of extaction time , temperature and solvent on concentraction and antioxidant activity of grape marc phenolics , Journal of Food Engineering , 81:200-208,(2007).

[8] Telli A., Mahboub N., Boudjeneh S., Siboukeur O.E.K.,Moulti –mati .F,Optimisation des condition d' extraction des phenols de dattes lyophilisees (phoenix dactylifera 1) Variete ghars .Annales des Sciences et Technologie ,2(2):107-115,(2010).

[9] Belkamel , A., Bammi,J., Janneot ,V., Belkamel,A., Dehbi,Y.,& Douira,A.,Evaluation de la biomsse et analyse de huiles essentielles de trois variétés de basilic (Ocimum basilicum L.) cultivées au Maroc .Acta Botanica Gallica.155(4),467-476.(2008).

[10] Bozin,Biljana, et al .Phenolics as antioxidants in garlic (Allium sativum L.,Alliaceae). Food chemistry 111.4:925-929,(2008).

[12] Rastogi L, Arunachalam J. Sunlight based irradiation strategy for the rapid green synthesis of highly stable silver nanoparticles using aqueous garlic (Allium sativum) extract and their antibacterial potential. Materials Chem Physics;129:558–63,(2011).

[13] Songsungkan J, Chanthai S. Determination of synergic antioxidant activity of the methanol/ethanol extract of allicin in the presence of total phenolics obtained from the garlic capsule compared with fresh and baked garlic clove. Int Food Res J ;21:2377-85,(2014).

[14] Divya, B.J., et al .A study on phytochemicals , Functional groups and mineral composition of Allium sativum (garlic) cloves .International Journal of current pharmaceutical Research 9.3:42-45,(2017).

[15] Soussy CJ , Bonnet R,. Comité de I'antibiogramme de Ia société Française de Mocrobiologie .Recommandations .(2013).

الخاتمة

الخاتمة

في إطار تثمين الثروة المحلية وبصفة خاصة النباتات الطبية المزروعة في منطقة وادي سوف ، قمنا من خلال هذه الدراسة بتعيين الشروط المناسبة للإستخلاص المركبات الفينولية لنبتة الثوم *Allium sativum* المأخوذة من منطقة وادي سوف .عن طريق الإستخلاص بالنقع وذلك للعينات الطازجة و الجافة .

على ضوء النتائج المتحصل عليها يمكننا استنتاج مايلي :

- ✓ المستخلصات الفينولية المتحصل عليها بعد عملية النقع تحتوي على خصائص مختلفة (المظهر / اللون) وذلك على حسب اختلاف التراكيز والمذيب وكذلك حالة النبتة.
- ✓ المستخلص الذي أعطى أكبر قيمة في المردود في العينات الجافة قدرت ب : R=25,9899% أما بالنسبة للعينات الطازجة كانت: R=18,7746% .

وللتعرف على محتوى المواد الفعالة قمنا بالكشوفات الأولية والتي أظهرت أن نبات الثوم يحتوي على عدة نواتج أيض ثانوي , وهذا دليل على أنه غني بالمواد الفعالة .

كما تمت دراسة التقدير الكمي للفينولات والفلافونيدات باستعمال كاشف فولين وثلاثي كلوريد الألمنيوم للمستخلص النباتي وكانت النتائج كالأتي :

- بالنسبة للعينات الطازجة :
- ✓ بالنسبة للثوم أحمر قدرت كمية الفينولات ب: (10.07 mgEAG/g) ,وكمية الفلافونيدات قدرت ب: (7.890 mg E AQ/g) . نلاحظ أن كمية الفينولات أكبر من الفلافونيدات بالنسبة لهذا النوع .
- ✓ بالنسبة للثوم أبيض قدرت كمية الفينولات ب: (3.854 mgEAG/g) ,وكمية الفلافونيدات قدرت ب : (3.610 mgEAQ/g) . نلاحظ أن كمية كل من الفينولات والفلافونيدات كانت متقاربة بالنسبة لهذا النوع .

- بالنسبة للعينات الجافة :
- ✓ بالنسبة للثوم أحمر قدرت كمية الفينولات سجلنا أعلى قيمة وقدرت ب: (20.45 E AG mg /g) أما بالنسبة للفلافونيدات قدرت ب: (5.181 mg E AQ /g) نلاحظ أن كل من كميات الفينولات والفلافونيدات كانت متباعدة .
- ✓ بالنسبة للثوم أبيض قدرت كمية الفينولات ب :(13.499 mg E AG /g) أما بالنسبة للمحتوى الفلافونيدي كان صغير جدا وقدر ب : (0.200 mg E AQ /g) لاحظنا بالنسبة لهذا النوع أن كمية الفلافونيدات والفينولات متباعدة جدا .

في الأخير يمكننا القول أن كمية الفينولات كانت كبيرة في كل المستخلصات المدروسة الطازجة والجافة .

بعد التقدير الكمي للفينولات والفلافونيدات لجأنا إلى دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات . وذلك عن طريق اختبار الجذر الحر DPPH والقدرة الإرجاعية CAT :

- ✓ في إختبار تثبيط الجذر الحر DPPH تمكنا من حساب IC_{50} المثبطة 50% من الجذر الحر لبعض المستخلصات , حيث أظهرت القيم IC_{50} المتحصل عليها أن النشاطية الأفضل لتثبيط (لإقتناص)

DPPH للعينات الجافة سجلت أفضل نشاطية عند ثوم أبيض وقدرت ب : (1.71 mg/ml) وأقل نشاطية سجلت عند ثوم أحمر وقدرت ب: (2.77 mg /ml) .

- ✓ أما بالنسبة للعينات الطازجة سجلت أفضل نشاطية عند ثوم أحمر وقدرت ب: (3.53 mg/ml) واقل نشاطية سجلت بالنسبة لثوم أبيض وقدرت ب : (6.40 mg/ml)
- ✓ العوامل الجيوغرافية , المناخية ، الوراثية وكذلك مدة التخزين لها تأثير كبير على محتوى متعدد الفينول .

وفي الشروط المثالية التي تحصلنا عليها هي أن أكبر قيمة للفينولات عند عينات النتائج المضادة للأكسدة في تثبيط الجذر الحر DPPH، حيث قدرة أفضل نشاطية لكبح جذور الحرة بالنسبة للعينات الجافة وهذا يعود لإحتوائها على كمية كبيرة من الفينولات وهذا مايمنح لنبات الثوم *Allium sativum* قدرة عالية في الكبح الجذري.

كما تم التقدير النوعي بواسطة مطيافية الأشعة تحت الحمراء FTIR للمجموعات الوظيفية على المستخلص النباتي فتحصلنا على أطياف متشابهة ومتقاربة في كل العينات وهذا مايثبت أن كل الأنواع لها نفس المجموعات الوظيفية وهذا مايتوافق مع النتائج السابقة للفينولات والفلافونيدات وال CAT , DPPH أي النتائج التجريبية توافقت مع النتائج النظرية .

كما تمت دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا لهذه المستخلصات ، وذلك بإختبار سلالتان بكتيريتان مزروعه في وسط جيلوزي (MH) ، وهذا بالإعتماد على طريقة الإنتشار بالأقراص ، حيث كانت النتائج جدا إيجابية مع المضاد الحيوي وكانت أحسن بمعية تركيز من المستخلص النباتي إذ كان هناك نشاطية بيولوجية عالية .

حيث سجلت أعلى قطر تثبيطي في مستخلص ال DMSO وقدر ب:(37ملم) وهذا في حالة مزيج (المضاد الحيوي + 5 mg /ml) . أما في حالة المضاد الحيوي فقط سجلت قيمة القطر التثبيطي وقدرت ب : (33 ملم) من هنا يمكننا القول أن المستخلص النباتي المدروس زاد من فعالية المضاد للبكتيريا للمضاد الحيوي . بالنسبة للسلالة البكتيرية المختبرة *S.aureus* أما بالنسبة لسلالة ال *E. coli* لم يعطي أي فعالية .

أما في حالة المستخلص الميثانولي فقد سجل أعلى قطر تثبيطي في حالة المضاد الحيوي + تراكيز عالية من المستخلص المدروس (20 mg /ml) وقدر ب 32 ملم مع بكتيريا *S.aureus* .

أما بالنسبة لسلالة البكتيريا المختبرة الثانية كانت قيمة القطر التثبيطي بمعية المضاد الحيوي 31 ملم . بالمقارنة الإجمالية مع النتائج السابقة لباقي التراكيز يمكننا استنتاج أنه كلما قل تركيز المستخلص النباتي زاد القطر التثبيطي وبالتالي زيادة الفعالية البيولوجية .

وفي الأخير ونظرا للنتائج المشجعة المتحصل عليها يمكن القول أن نبتة الثوم مؤهلة لتكون من ضمن أقوى النباتات الطبية في الطب الشعبي .

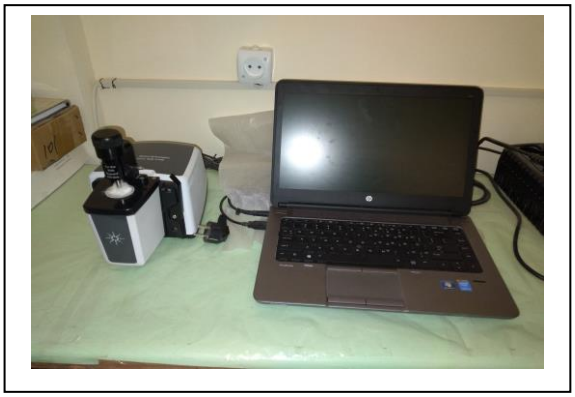
وكأفاق أخرى لدراسة نبات الثوم مستقبليا فإننا نأمل أن يتواصل العمل ولاينتهي عند هذا الحد وأن تكون هذه هي إنطلاقة لإكمال والتعمق أكثر في هذا الموضوع من خلال :

- ✓ اجراء دراسات تحليلية كمية ونوعية للمركبات الفعالة مثل HPLC كمية ونوعية للمركبات فعالة من خلال التعرف على التركيبة الكيميائية للمواد المسؤولة على هذه الفعالية .
- ✓ استعمال طرق أخرى للتأكد من نشاطية النبتة .
- ✓ استعمال طرق الإستخلاص المختلفة (Ultrasourd , Soxlet) .
- ✓ الدراسة الميكروبيولوجية للنبتة مع تراكيز مختلفة للغرام وتجريب الفعالية البكتيرية مع الخمائر والفطريات ، العمل بطريقة CMI .

الملاحق

الملحق (1) :

الحاضنة



جهاز مطيافية FTIR

جهاز مبخر دوراني

جهاز pH متر

جهازمطيافية UV-Visible

جهاز قياس الناقليةُ Ec

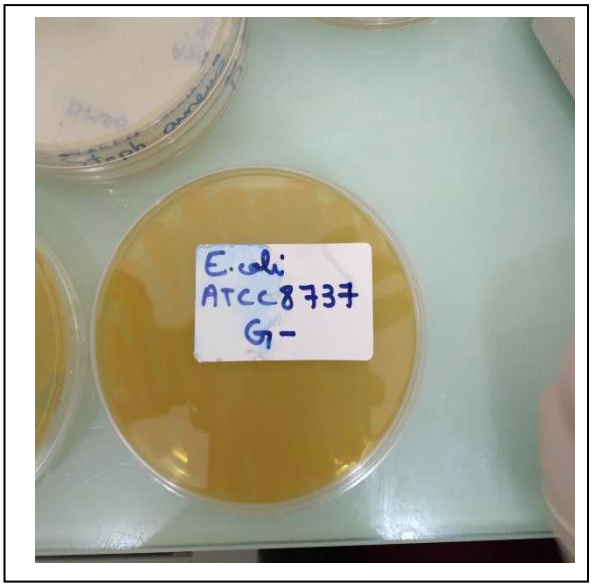
العينات الجافة

العينات الطازجة

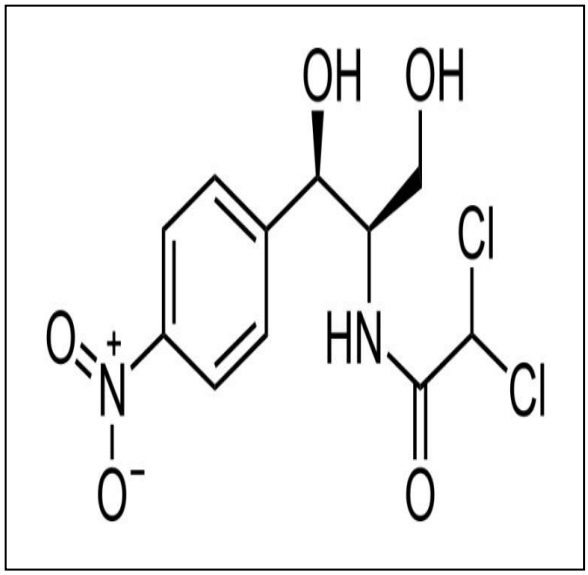
ملحق (2) :

جهاز قياس تركيز بكتيريا

بكتيريا نوع *S.a*



بكتيريا نوع *E.coli*

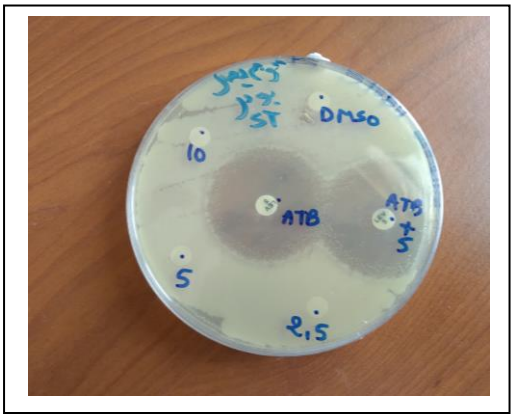


صيغة مضاد الحيوي Chlorampénicol

الملحق (3) :

أقطار التثبيط ***S.aureus*** لثوم أحمر (مسحوق)

أقطار التثبيط S.aureus لثوم أحمر

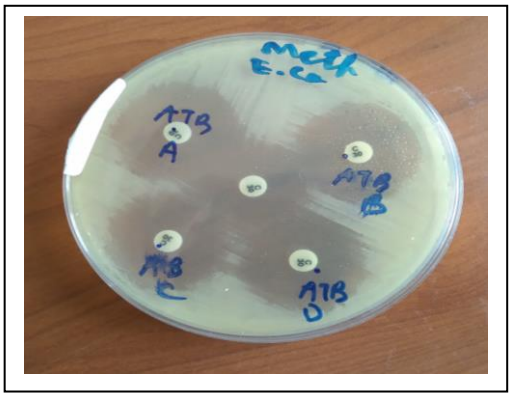


أقطار التثبيط ***S.aureus*** لثوم أبيض (مسحوق)

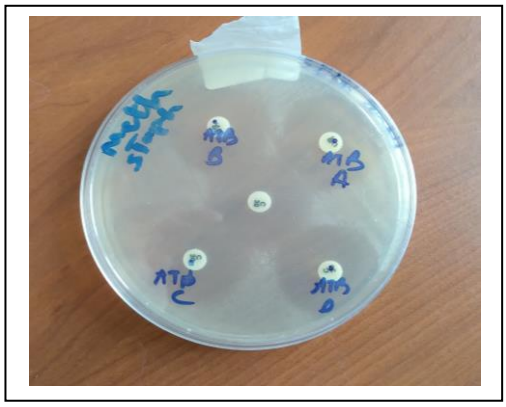
أقطار التثبيط ***S.aureus*** لثوم أبيض

نتائج تثبيط السلالة البكتيرية على مستخلص (DMSO) لنبات الثوم .

الملحق(4) :



أقطار تثبيط ***E.coli*** لمستخلصات الثوم



أقطار تثبيط ***S.aureus*** لمستخلصات الثوم

نتائج تثبيط السلالات البكتيرية لمستخلصات الميثانولية لنبات الثوم .