جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
كلية العلوم الدقيقة
قسم الكيمياء

رقم الترتيب:.....

الرقم التسلسلي:.....

مذكرة تخرج لنيل شهادة
ماستر أكاديمي في الكيمياء
تخصص: **كيمياء عضوية وتحليلية**
إعداد الطالبة: **الأحمادي بشيرة**

الموضوع

التقدير الكمي، الكيفي للمركبات الفينولية ودراسة الفعالية المضادة للأكسدة والضد بكتيرية لمستخلصات ثمار نبات القناوية *Abelmoschus esculentus*

نوقشت يوم: 2017/06/07

لجنة المناقشة:

د. تجاني سكينة	أستاذ محاضر ب	جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي	رئيسا
زمالي جعفر	أستاذ مساعد أ	جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي	ممتحنا
شيحي سمية	أستاذ مساعد أ	جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي	ممتحنا
زواري أحمد رشيدة	أستاذ مساعد أ	جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي	مؤطرا

السنة الجامعية: 2016-2017

تشكرات

إلهي لا يطيب الليل إلا بشكرك، ولا يطيب النهار إلا بطاعتك ، ولا تطيب اللحظات إلا بذكرك ، ولا تطيب الآخرة إلا بعفوك ولا تطيب الجنة إلا برؤيتك لك الشكر والحمد حمدا كثيرا كما ينبغ لجلال وجهك وعظيم سلطانك

الشكر أولا وأخيرا لله سبحانه وتعالى على إمدادي بالقوة والعزيمة لإتمام و إنجاز هذا البحث

أما بعد:

أتقدم بالشكر الجزيل إلى **والدي ووالدتي** إلى من كللهم الله بالهيبة والوقار و كانا حافز لي على مواصلة دراستي ، لذا أطرز من خيوط الشمس اللامعة حروف شكر، ومن ماء الذهب عرفان لحرصهم الدائم بالدعاء لي وتشجيعي

كما أتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذة القديرة **زواري أحمد رشيدة** التي لم تبخل علي بتوجيهاتها ونصائحها القيمة طيلة إشرافها على هذا الموضوع

كما أتقدم بالشكر إلى أعضاء اللجنة المناقشة لقبولهم مناقشة مذكرتي

كما تتسع دائرة شكري إلى **أساتذتي الكرام** و إلى جميع موظفين وعمال المخابر بكلية العلوم الدقيقة

و إلى جميع **زميلاتي وطلبة دفعة ماستر** 2017 .

بشيرة

تطرقنا في هذا البحث إلى الدراسة الكيميائية والبيولوجية لمستخلصات ثمار نبات القناوية *Abelmoschus esculentus* (أوت، سبتمبر، أكتوبر) عن طريق النقع في الايثانول 80%، وذلك بعد التخلص من الليبيدات بالهكسان، ثم التقدير الكمي للمركبات الفينولية في المستخلصات بطريقة Singleton-Rossi والتي تعتمد على مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية، و بالتقدير النوعي فقد تم تحديد المركبات المستخلصات باستخدام HPLC.

أما بالنسبة للفعالية المضادة للأكسدة فقد قمنا بإتباع الاختبارات الكيميائية (DPPH, FRAP, CAT) وقد أظهرت هذه الاختبارات فرق في قيم النشاطية للمستخلصات الثلاثة.

وفي ما يخص الفعالية البيولوجية وجدنا أن مستخلص شهر أكتوبر أبدى تأثير تثبيطي ضد البكتيريا للسلالات الثلاثة، وأكثرهم حساسية *Pseudomonas* إذ رسم عندها قطر تثبيط قدره 8.38 mm.

الكلمات المفتاحية: نبات القناوية *Abelmoschus esculentus* ، المركبات الفينولية، مضادات الأكسدة، الفعالية البيولوجية.

Ce travail a été consacre à l'étude chimique et biologique des extraits des fruits d'Abelmoschus esculentus (Aout, Septembre, Octobre) par l'immersion à l'éthanol après l'élimination des lipides par l'hexane, puis nous avons fait une estimation quantitative des composées Phénoliques des extraits par la méthode de Singleton-Rossi qui est basée sur la spectroscopie UV – VIS, et une estimation qualitative en utilisant l'HPLC afin de déterminer les composées des extraits .

En ce qui concerne l'activité antioxydant nous avons effectué des tests chimiques qui ont montré la différence entre les valeurs de l'activité des trois extraits.

Pour l'activité biologique nous avons trouvé que l'extrait du mois d'Octobre donne une influence inhibitrice contre les trois germes bactériens, la Pseudomonas est la plus sensible entre eux, elle fait un diamètre d'inhibition de 8.38 mm.

Mots clés : Abelmoschus esculentus, les composées phénoliques, antioxydants, activité biologique.

الفهـــــرس

الفهـــرس

الإهداء

تشكرات

قائمة الأشكال

قائمة الجداول

المقدمة

العنوان الصفحة

الجزء النظري

الفصل الأول : الدراسة النظرية لنبتة *Abelmoschus esculentus*

مدخل 08

I-1- تعريف القناوية (Abelmoschus esculentus)..... 09

I-2- تصنيف العلمي للقناوية (*Abelmoschus esculentus*)..... 10

I-3- وصف النبات القناوية (*Abelmoschus esculentus*)..... 10

I-4- أنواع القناوية *Abelmoschus esculentus* 11

I-5- أماكن تواجدها..... 12

I-6- المواد المتواجدة فيها..... 13

I-7- استعمالاتها..... 13

المراجع

الفصل الثاني : المركبات الفينولية و مضادات الأكسدة

مدخل..... 17

II- 1- المركبات الفينولية الطبيعة..... 18

II- 1-1- تعريفها..... 18

II- 1-2- مصدر المركبات الفينولية..... 19

II- 1-3- أقسام المركبات الفينولية..... 19

II-1-3-1- عائلة المركبات الفينولية قليلة الانتشار..... 19

II-1-3-2- عائلة المركبات الفينولية واسعة الانتشار..... 20

II-1-3-3- المركبات الفينولية النباتية المتواجدة في الطبيعة على صورة بوليمرات..... 24

II-1-4- أهمية الفينولات و الفلافونيدات..... 25

II-1-4-1- أهمية الفينولات بالنسبة للنبات..... 25

II-1- 5- الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية..... 25

II-1-6- الفعالية البيولوجية للمركبات الفينولية..... 25

II- 2- فعالية مضادات الأكسدة..... 28

II-2-1- الجذور الحرة..... 28

II-2- 2- مضادات الأكسدة..... 29

II-2- 3- الفلافونيدات و الجذور الحرة و النشاط المضاد للأكسدة..... 31

المراجع

الفصل الثالث :عموميات حول البكتيريا

مدخل..... 36

III-1- البكتيريا 37

III-1-1- تعريفها..... 37

III-1-2- تسميتها..... 37

III-1-3- تركيبة الخلية البكتيرية..... 37

III-1-4- تصنيفها..... 39

III-1-5- بعض أنواع البكتيريا..... 41

III-2- المضادات الحيوية..... 43

III-2-1- تعريفها..... 43

III-2-2- أنواعها..... 44

III-2-3- طرق تأثير المضادات الحيوية 44

III-2-4- المقاومة البكتيرية 45

III-2-5- طرق التعرف على الحساسية أو مقاومة البكتيريا للمضاد..... 46

المراجع

الجزء العملي

الفصل الرابع: الطرق والوسائل

IV-1- جمع العينات..... 53

IV-2- الأجهزة والمواد المستعملة..... 53

IV- 3- تعريف الاستخلاص..... 54

IV-4- التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية..... 57

IV-4-1- مطيافية الأشعة فوق البنفسجية- المرئية UV-visible..... 57

IV-4-2- التقدير الكمي للمركبات الفينولية..... 57

IV-4-3- التقدير الكمي لفلافونيدات 59

IV-4-4- التقدير الكمي لفلافانول..... 60

IV-4-5- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الكيميائية..... 61

IV-4-5-1- اختبار تثبيط الجذر الحرDPPH..... 61

IV-4-5-2- اختبار فعالية مضادات الأكسدة الكليةCAT..... 62

IV-4-5-3- دراسة النشاطية المضادة للأكسدة بطريقة FRAP..... 63

IV- 5- كروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)..... 64

IV- 6- دراسة الفعالية البيولوجية..... 66

المراجع

الفصل االخامس: النتائج والمناقشة

V -1- مردود المستخلصات..... 73

V -2- التقدير الكمي والكيفي..... 74

V -2-1- التقدير الكمي للفينولات باستخدام جهاز UV-visible..... 74

V -2-2- التقدير الكمي للفلافونيدات باستخدام جهاز UV-visible..... 75

V -2-3- التقدير الكمي للفلافانول باستخدام جهاز UV-visible..... 77

V -2-4- التقدير الكيفي للفينولات بإستخدام HPLC..... 78

V - 3- الفعالية المضادة للأكسدة..... 80

V -3-1- الفعالية المضادة للأكسدة الكلية CAT 80

V -3-2- نتائج القدرة التثبيطية للجذر الحرDPPH 81

V -3-3- الفعالية المضادة للاكسدة طريقة FRAP..... 83
V -4- الفعالية البيولوجية 84
IV-4-1- تحليل النتائج Escherichia Coli..... 85
IV-4-2- تحليل نتائج Staphylococcs Blanc..... 85
IV-4-3- تحليل نتائج Pseudomonas 86
الخاتمة
الملاحق
الملخص

قائمة الاشكال
و الجداول

قائمة الأشكال

الشـــــــــكل **الصفحة**

الشكل (I- 1) : صورة فوتوغرافية توضح نبات القناوية..... 09

الشكل (I- 2) : صورة فوتوغرافية توضح أجزاء النبتة القناوية (Abelmoschus esculentus) 11

الشكل (I- 3) : مناطق التوزيع الجغرافي للقناوية (Abelmoschus esculentus) في العالم..... 12

الشكل (II- 1) : نموذج لمركب فينولي وآخر غير فينولي..... 18

الشكل (II-2) : نماذج المركبات الفينولية من الشكل C_6-C_2, C_6-C_1, C_6..... 19

الشكل (II -3) : نماذج للمركبات الفينولية من الشكل C_6-C_3 , C_6-C_4..... 20

الشكل (II -4) : نماذج للفيونولات من الشكل: C_6-C_1-C_6 , C_6-C_2-C_6، ثنائي الفلافونيل..... 20

الشكل (II- 5) : الهيكل الأساسي للأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك..... 21

الشكل (II-6) : الهيكل الأساسي للأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك..... 22

الشكل (II-7) : الهيكل الأساسي للفلافونويدات..... 23

الشكل (II-8) : بنية اللقنين..... 24

الشكل (II-9) : المواقع الفعالة في النشاط المضاد للأكسدة للفلافونيدات..... 31

الشكل (III-1) : بنية الخلية البكتيرية..... 39

الشكل (III-2) : الأنتيبيوغرام بعد الحضن وطريقة قياس قطر منطقة التثبيط..... 47

الشكل (IV-1) : عملية الطحن..... 53

الشكل (IV-2) : يوضح طريقة الاستخلاص 55

الشكل (IV-3) : مخطط يوضح مراحل العمل..... 56

الشكل (IV-4) : رسم تخطيطي يوضح مبدأ عمل جهاز المطيافية الأشعة UV-visible..... 57

الشكل (IV-5) : يمثل المنحنى القياسي لحمض الغاليك..... 58
الشكل (IV-6) : يمثل تشكيل المعقد..... 59
الشكل (IV-7) : يمثل المنحنى القياسي لمحاليل الروتين..... 59
الشكل (IV-8) : يمثل المنحنى القياسي للكرستين..... 60
الشكل (IV-9) : : يمثل آلية تثبيط العامل المضاد للأكسدة مع الجذر الثابت DPPH..... 61
الشكل (IV-10) : يمثل مكونات جهاز HPLC..... 64
الشكل (IV-11) : يوضح زمن تأخر المركبات الفينولية القياسية..... 65
الشكل (V-1) : يوضح نسب مردود للمستخلصات..... 74
الشكل (V -2) : كمية عديدات الفينول بمغ مكافئ لحمض الغاليك/ غ من وزن المستخلص..... 75
الشكل (V-3) : كمية الفلافونيدات بالمغ مكافئ لروتين / غ من وزن المستخلص..... 76
الشكل (V -4) : كمية الفلافانول بالمغ مكافئ لكرستين / غ من وزن المستخلص..... 77
الشكل (V -5) : كروماتوغرام عينة أوت..... 78
الشكل (V -6) : كروماتوغرام عينة أكتوبر..... 78
الشكل (V-7) : كروماتوغرام عينة سبتمبر..... 79
الشكل (V -8) : نتائج اختبار تقييم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية (mg AAE/g Extrac). 81
الشكل (V-9) : يمثل منحنيات النشاطية في تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة التراكيز..... 82
الشكل (V -10) : نتائج إختبار FRAP..... 84
الشكل (V -11) : يوضح درجة الكبت لكل مستخلص لـ Escherichia Coli..... 85
الشكل (V-12) : يوضح درجة الكبت لكل مستخلص لـ Staphylococcs Blanc..... 85
الشكل (V -13) : يوضح درجة الكبت لكل مستخلص لـ Pseudomonas..... 68

قائمة الجداول

الجـــــدول **الصفحة**

الجدول (I- 1) : التصنيف العلمي للقناوية (Abelmoschus esculentus).....10

الجدول (II-1) : الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك.....21

الجدول (II- 2): الأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك.....22

الجدول (II -3) : بعض المركبات الفينولية المستعملة في الطب و الصيدلة.....27

الجدول(IV- 1) : يوضح الشروط اللازمة لفصل المركبات الفينولية في العينات باستخدام HPLC.....64

الجدول (IV-2): يوضح زمن مكوث لبعض المركبات الفينولية.....64

الجدول (V - 1) : يمثل قيم مردود المستخلصات.....73

الجدول (V- 2): يمثل قيم الامتصاصية و كمية الفينولات في كل مستخلص.....74

الجدول (V - 3): يمثل قيم الامتصاصية و كمية الفلافونيدات في كل عينة 76

الجدول (V - 4): يمثل قيم الامتصاصية و كمية الفلافانول لكل عينة.....77

الجدول (V - 5): يمثل المركبات الفينولية المتواجدة في كل عينة.....79

الجدول (V - 6) : يمثل قيم الامتصاصية و النشاطية المضادة للأكسدة الكلية لمكافئة غرامي.....80

الجدول (V- 7) : يمثل قيم IC_{50} لكل مستخلص.....82

الجدول (V - 8): يمثل قيم الامتصاصية و النشاطية المضادة للأكسدة FRAP لمكافئة غرامي.....83

الجدول (V - 9): يمثل أقطار التثبيط لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة للعينات.....84

مقدمـــة عامـــة

يمثل الغطاء النباتي قسما كبيرا من الطبيعة المحيطة بنا و هو ذو أهمية كبيرة من حيث أسباب و ضروريات الحياة البشرية، وقد امتدت يد الإنسان منذ القدم بالبحث و الدراسة عما في النبات من أسرار غذائية و دوائية و غيرها.

إن شساعة القطر الجزائري و موقعه الجغرافي و تعدد مناخاته قد جعله مكانا مناسبا لنمو العديد من الأنواع و الأصناف النباتية المختلفة و هذا ما دفع بالباحثين لدراستها و تحليلها كيميائيا. [1]

عند مشاهدتنا للنباتات ظاهريا لا يمكننا التعرف على مكونتها إلا بعد إجراء بعض التحاليل المخبرية كالمسح الفيتوكيميائي للنباتات و الكشف على منتجاتها الطبيعية الفعالة و استخلاصها. [2]

و تكملة للأبحاث السابقة في هذا المجال قمنا بدراسة تجريبية لثمار نبات القناوية التي تنتمي إلى عائلة الخبازيات، حيث تم تقدير قيم المركبات الفينولية المتواجدة فيها و اختبار فعاليتها المضادة للأكسدة و كذلك الفعالية البيولوجية.

القناوية تعد من المحاصيل الزراعية المهمة وهي تتميز عن بقية المحاصيل الأخرى بثمارها المرغوب فيها بدرجة كبيرة عند الإنسان.[3]

و في هذه الدراسة سنتطرق إلى ما يلي:

- استخلاص المركبات الفينولية من ثمار نبات القناوية بمذيب عضوي قطبي.
- التقدير الكمي و الكيفي للمركبات الفينولية.
- اختبار فعاليتها المضادة للأكسدة بعدة طرق كيميائية مختلفة.
- دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلص.

وتم تقسيم هذه الدراسة إلى جزئين:

❖ الجزء النظري: ويضم ثلاثة فصول

الفصل الأول: دراسة نظرية لنبات القناوية

الفصل الثاني: المركبات الفينولية و مضادات الأكسدة.

الفصل الثالث: عموميات حول البكتيريا

❖ الجزء العملي: ويضم فصلين.

الفصل الرابع: الطرق و الوسائل.

الفصل الخامس: النتائج و المناقشة.

و في الأخير خلاصة عامة حول هذه الدراسة و نعرض مدى تحقق هذه الدراسة.

المراجـــع

❖ **المراجع بالفرنسية:**

[2] P.Ozenda. Flore du sahara ,Centre nationale de la recherche scientifique.2éme édition , paris, 1983.

❖ **المراجع بالعربية:**

[1] باز مسعود، استخلاص، فصل وتحديد بنيات منتوج الأيض الثانوي عند نبات جنس ***Centaurea*: *C.Sphaerocephala.l*** مذكرة ماجستير في الكيمياء العضوية، جامعة منتوري قسنطينة، أكتوبر2006

[3] ضياء سالم الوائلي، طه ياسين مهودر، علي زهير عبد الاسدي، المكافحة المتكاملة لمرض العقد الجذرية في نبات الباميا المتسبب عن ***Meloidogyne javanica Chitwood (Treb)***، 2011 .

الجزء النظـــري

الفصل الأول

دراسة نظرية لنبتة القنـــاوية

Abelmoschus esculentus

مدخل

عرف البشر القناوية (*Abelmoschus esculentus*) منذ القدم وفي العصرين الإغريقي والروماني الذين مرا على مصر، زرعت القناوية و وجدت صور منحوتة لها على معابد فرعونية وهي تتوطن في المناطق الحارة عموماً في أفريقيا وآسيا، نشأت القناوية في إفريقيا الاستوائية وبدأت زراعتها في الشرق الأوسط والهند منذ فترة طويلة، وفي القرن التاسع عشر الميلادي شوهدت نباتات البامية البرية على ضفاف النيل الأبيض في السودان، هذا وقد تم إدخال القناوية للمرة الأولى إلى أوروبا بواسطة فاتحي الأندلس المسلمين، وقد وصف العالم أبو العباس النباتي، أحد مواطني اشبيلية نبات القناوية وصفاً دقيقاً في عام 1216 للميلاد، وبمجرد اكتشاف العالم الجديد (الأمريكتين) نقلت القناوية (*Abelmoschus esculentus*) مع المهاجرين إلى هناك وعرفت في البرازيل في عام 1658 للميلاد.

وتوجد الآن عدة أصناف محلية من القناوية في جنوب الولايات المتحدة، حيث تتمتع بشعبية كبيرة هناك، كما توجد أصناف كثيرة منها في إفريقيا وحول حوض البحر الأبيض المتوسط، وتنقَّل النوع الثاني من رتبة (المالفيسي)، المسمى (بالروزيل)، في الاتجاه المعاكس للبامية، فقد انتقل من جزر الهند الغربية إلى إفريقيا ثم إلى الهند والصين ثم بقية القارة الآسيوية.[1]

1.I. تعريف القناوية (*Abelmoschus esculentus*):

تعد القناوية (*Abelmoschus esculentus*) من محاصيل الخضر الصيفية المهمة التي تزرع في المناطق الحارة و الدافئة في آسيا و إفريقيا وهي تتميز عن بقية المحاصيل الأخرى بأن ثمارها مرغوبة بدرجة كبيرة [2]، ولها أهمية اقتصادية كبيرة لرغبة المستهلك ولما تحويه ثمارها من قيمة غذائية كبيرة وتسمى بعدة أسماء منها okra، gumbo، lady finger ، bamhia و القناوية واسعة الانتشار.[3]

الشكل 1.I. : *صورة فوتوغرافية لنبات القناوية.*

I .2. تصنيف العلمي للقناوية (*Abelmoschus esculentus*):

الجدول.I.1: *التصنيف العلمي للقناوية (Abelmoschus esculentus). [4]*

النطاق	حقيقيات النوى
المملكة	النباتات
الفرقة العليا	النباتات الأرضية
القسم	النباتات الوعائية
الشعبية	مستورات البذور
الشعبة	البذريات
الرتبة	خبازيات
لفصيلة	خبازية
الجنس	*Abelmoschus*
النوع	*Esculentus*
الاسم العلمي	*Abelmoschus esculentus*

I .3. وصف النبات القناوية (*Abelmoschus esculentus*) :

تعتبر القناوية نباتا عشبيا حولي ولو أنه في المناطق الخالية من الصقيع قد يمكث سنتين، يصل طول النبات إلى 2/1 متر له ساق متفرعة خضراء داكنة، الأوراق طويلة العنق راحية قلبية الشكل متشاربة الحافة والأزهار كبيرة محمولة على شمارخ قصير، لونها أصفر أو أرجوانية و بها بقع بنفسجية في وسط الزهرة لها من 5 – 11 زاوية أو اسطوانية تقريبا طولها من 6 – 30 سم، البذور متعددة يصل قطرها إلى 5 ملم، وقرون البامية تتخشب وعندما تجف تتفتح من الخطوط الطولية وتنتثر البذور وتختلف ألوان قرون البامية فمنها الأخضر الداكن إلى الأبيض وتجمع الثمار قبل أن تتصلب جدرانها و تتليف وتوجد علاقة واضحة بين النمو الخضري للنبات وتكوين البذور. فإذا تركت القرون لتنضج على النبات في أول أدوار نموه يقف النمو الخضري كما يقف تزهير النبات. في حين إذا جمعت القرون باستمرار وهي صغيرة يستمر النبات في النمو ويستمر المحصول مدة طويلة.[4]

أوراق أزهار ثمار

الشكل .I.2 *: صورة فوتوغرافية توضح أجزاء النبتة القناوية (Abelmoschus esculentus).*

I .4. أنواع القناوية (*Abelmoschus esculentus*):

للقناوية عدة أنواع منها:

I .4. 1. جولد كوست:

ارتفاع نبات هذا النوع يصل إلى 2 متر، القرون مستديرة غير مضلعة لونها اخضر مبيض، نسبة الألياف مرتفعة بالقرن الصالح لتسويق فتصل إلى 9غ /100غ وزن جاف، كذلك ترتفع لزوجة قرونه لتصل إلى 207 غ/سم^2 في الثانية،وهذا النبات مرتفع الإنتاجية حيث يتم الإزهار و العقد بعد حوالي 70 يوم من الزراعة.

I .2.4. هوايت فلفيت:

يعرف هذا الصنف باسم أصابع السيدة، قرونها مستديرة طويلة و رفيعة ملساء لحمية بيضاء مخضرة ذات بذور كبيرة الحجم في القرن الصالح للتسويق. يصل ارتفاع النبات إلى 130 سم تقريبا ولكن محصوله وفير.

I .3.4 . كلمسون اسباينلس:

النباتات متوسطة الطول تصل إلى 95 سم، القرون مضلعة طويلة خضراء اللون خالية من الأشواك. نسبة الألياف بالقرن الصالح لتسويق منخفضة تصل إلى 5.4 غ /100غ وزن جاف، وهو صنف مبكر يتم الإزهار و العقد بعد 58 يوم من الزراعة. منتوج هذا النوع من النبات قوي حيث يصل محصول النبات الواحد 250غ من القرون الصالحة لتسويق.

I .4.4. أرتست:

يصل طول النبات إلى 120 سم، الساق رفيعة تتميز بلونها الأحمر الداكن. القرن طويل جلدي الملمس لونه احمر داكن. محصوله غزير الإزهار و ينتج بعد 65 يوم من الزراعة.

I .5.4 . بثيرا:

يصل طول هذا البنات إلى 130 سم، الساق سميكة عليها أشواك، النمو الخضري قوى، القرن مضلع أخضر اللون به نسبة قليلة من الأشواك [6].

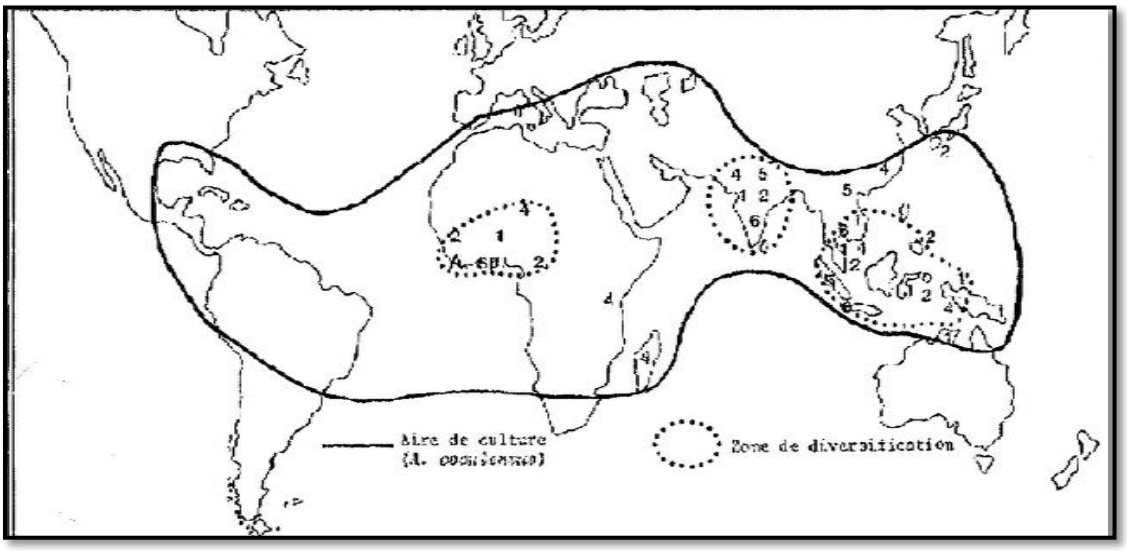
و لها عدة أنواع برية نذكر منها:

- Abelmoschus crinitus
- Abelmoschus angulosus
- Abelmoschus ficulneus

I.5. أماكن تواجدها:

تزرع كمحصول خضري في أغلب المناطق الاستوائية من أفريقيا و الهند و أمريكا و حوض المتوسط الاعتقاد السائد أن الموطن الأصلي للقناوية هو أفريقيا الاستوائية، وعلى وجه التحديد المنطقة التي تضم حاليا إثيوبيا و السودان، ومن إثيوبيا انتشرت زراعة البامية إلى شمال أفريقا ومنها إلى شرق حوض البحر المتوسط و شبه الجزيرة العربية و الهند، حيث زرعت في هذه المناطق منذ آلاف السنين بينما أدخلت زراعتها إلى أوروبا في القرن الثالث عشر، ومن ثم إلى أمريكا في منتصف القرن السابع عشر و تشير بعض المعطيات إلى أن القناوية زرعت في وادي النيل منذ القرن الثاني عشر قبل الميلاد و أن الهند هي موطنها الأصلي.

ويظهر الشكل مناطق التوزيع الجغرافي لأنواع القناوية في العالم. [7]



الشكل I.3 : *مناطق التوزيع الجغرافي للقناوية (Abelmoschus esculentus) في العالم.*

6.I. المواد المتواجدة فيها:

تضم كل 100غ من الثمار الخضراء الصالحة للأكل 10.4غ مادة جافة، 31 سعرة حرارية 90ملغ كالسيوم، 1 ملغ حديد، 10 ملغ كاروتين، % 7.6 كاربوهيدرات، 0.3 زيوت، 0.051 فسفور 1.8 غ بروتين، 0.07غ ثيامين، 0.08 غ رايبوفلافين، 0.8 غ نياسين، 18 غ فيتامين C وكذلك مكونات مضادة للأكسدة مثل البيتا كاروتين، و اللوتين. [8]

7.I . استعمالاتها

- الحفاظ علي صحة الأطفال.
- منع بعض أنواع السرطان.
- تقوية العظام.
- تحسين صحة القلب والأوعية الدموية.
- تحسين جهاز المناعة.
- انخفاض ضغط الدم.
- ضبط مستوى السكر في الدم.
- تساعد على فقدان الوزن الزائد.[9]

قائمة المراجـــع

❖ **المراجع بالفرنسية:**

[4] Menouar Mohammed, « Effet de l'action combinée bentonite et la salinité sur les bilans hydrique et minéral du gombo (Abelmoschus esculentus. L) mémoire de magister, université d'Oran.2015.

[7]Ouedraogo Zoewendpaore Albert, « Caractérisation agromorphologique Comparée de cinq variétés de Gombo (Abelmoschus esculentus (L.) Moencb)>>mémoire d'ingénieur. Université Burkina Faso.2009.

❖ **المراجع بالعربية:**

[2] ضياء سالم الوائلي، طه ياسين مهودر، علي زهير عبد الاسدي، المكافحة المتكاملة لمرض العقد الجذرية في نبات الباميا المتسبب عن Meloidogyne javanica Chitwood (Treb)، 2011.

[3] موسى محمد، حمزة علي حسين مجباس، سامي علي عبد المجيد، تاثير الرش بالهيوبست Hubest وعدد النباتات بالجورة في نمو وحاصل نبات الباميا صنف الحسيناوية 2010.

[6] د.صفاء زكى حجازى. د.يحيى خفاجى. د. صفوت عزمى دوس، الباميا، نشرة رقم2001/6930.

[8] عمار هاشم سعيد، ماجد خميف الكمر، عقيل حسين العاصي، تحديد البعد الوراثي لأصناف مختلفة من الباميا (*Abelmoschus esculentus* L.) باستخدام مؤشرات RAPD، مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية.2014.

❖ **مواقع انترنت:**

[1] http://w.mdar.com/27/04/2017.

[9] http://www.youm.com/2187734.

الفصل الثانـي

المركبات الفينولية والمضادات الأكسدة

مدخل

المنتجات الطبيعية هي مركبات عضوية ذات أصل طبيعي، فهي مواد أنتجتها الكائنات الحية و أكثر هذه المكونات أهمية هي تلك التي تؤدي دورا في التفاعلات داخل النبات والتي تستخلص منه، و تصنف المنتجات الطبيعية إلى قسمين كبيرين:

القسم الأول: مركبات داخلة في التفاعلات الأولية وتشير في الغالب إلى العمليات الأيضية الأساسية (Les Métabolites Primaire) التي ينتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة والأحماض الأمينية السكريات، الدهون، والبروتينات والأحماض النووية، وتعتبر مركبات هذا القسم هي المواد البادئة لمركبات تؤلف في مجملها القسم الثاني.

القسم الثاني: متمثلة في مركبات الأيض الثانوي (*Les Métabolite Secondaire*) إذ يمكننا تصنيف هذه الأخيرة حسب تركيبها الكيميائي إلى ثلاث مجموعات كبيرة:

- ✓ التربينات ومشتقاتها.
- ✓ المركبات الفينولية.
- ✓ المضادات الحيوية والفيتامينات.
- ✓ القلويدات وأشباهها.[1]

و في هذا الفصل سنتعرف عن المركبات الفينولية.

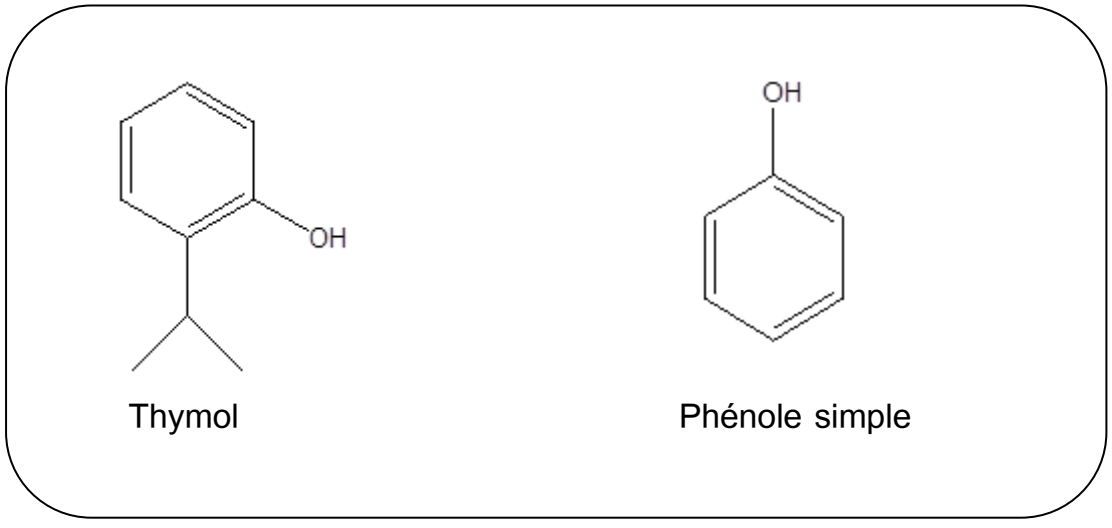
II.1.المركبات الفينولية الطبيعة:

II.1.1.تعريفها:

تشكل المركبات الفينولية المستخلصة من النباتات حيزا كبيرا في حقل المنتجات الطبيعية نظرا لكثرة عددها ولتباين هياكلها، الأمر الذي يستدعي دراستها في مراجع متخصصة على هيئة مجموعات وفقا لهذه الهياكل.

والعنصر الأساسي المميز لها هو وجود حلقة بنزينية واحدة على الأقل، حاملة لمجموعة هيدروكسيلية حرة أو مرتبطة بوظيفة أخرى (ايثر، أستر، سكر) غير أن تعريفا كيميائيا صرفا للفينولات بهذه الطريقة يعد غير كاف لتشخيص المركبات الفينولية النباتية، إذ أن هناك منتجات أيضية ثانوية أخرى تشمل هذا التعريف أيضا ولكنها تنتمي إلى مجموعات كيميائية نباتية مختلفة مثل بعض القلويدات كالمورفين، وبعض التربينات كالتيمول(الشكل 1)، التي تضم في بنائها حلقة بنزينية ومجموعة هدروكسيل فينولية مما يستوجب إدخال شرط الاصطناع الحيوي لحصر حدود هذه المجموعة، وعليه ليكون تعريف المركبات الفينولية اكثر ضبطا، يستوجب أن يكون على النحو التالي:

مشتق غير آزوتي حاوي على حلقة بنزين أو أكثر تحمل مجموعة هيدروكسيل حرة أو مرتبطة بوظيفة أخرى تكونت حلقاتها العطرية إما من حمض الشيكيميك أو عديد الاسيتات.[2]



الشكل II.1 *: نموذج لمركب فينولي وآخر غير فينولي.*

II.1.2.مصدر المركبات الفينولية:

توجد الفينولات في العديد من الأطعمة ذات المصدر النباتي و تحديدا الفواكه تتراوح ما بين 100و 500 ملغ/غ في بعض الفواكه مثل التفاح، العنب، الكرز، المشروبات (الشاي، القهوة، النبيذ) و الشكولاطة بينما توجد بصورة أقل في الخضر والحبوب، حيث تحتوي الخضر ما بين 25 و 10ملغ/غ.

تعد الفواكه غير الناضجة غنية جدا بالمركبات الفينولية مثل (les flavonols) يمكن الحصول عليها من البصل والتفاح، الفاصوليا الخضراء، الكرنب غير الناضج، نجد كذلك (isoflavones) في الشاي و(flavanones) في الحمضيات والتي يتراوح محتواها ما بين 250−6000 ملغ/كلغ.[3]

II.1.3.أقسام المركبات الفينولية:

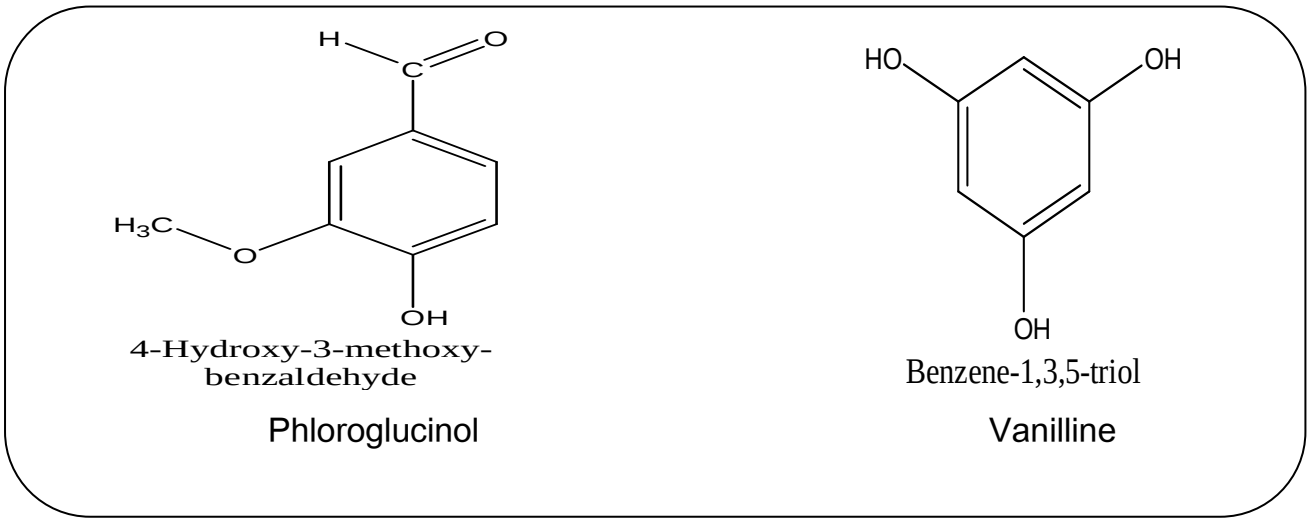
يمكن تقسيم المركبات الفينولية الطبيعية تبعا لتواجدها وتعقيداتها إلى:

- عائلة المركبات الفينولية النباتية قليلة الانتشار.
- عائلة المركبات الفينولية النباتية كثيرة الانتشار.
- المركبات الفينولية النباتية المتواجدة في الطبيعة على صورة بوليمرات. [2]

II.1.3.1. عائلة المركبات الفينولية قليلة الانتشار:

- **المركبات الفينولية من الشكل C_6، C_6-C_1 ،C_6-C_2 :**

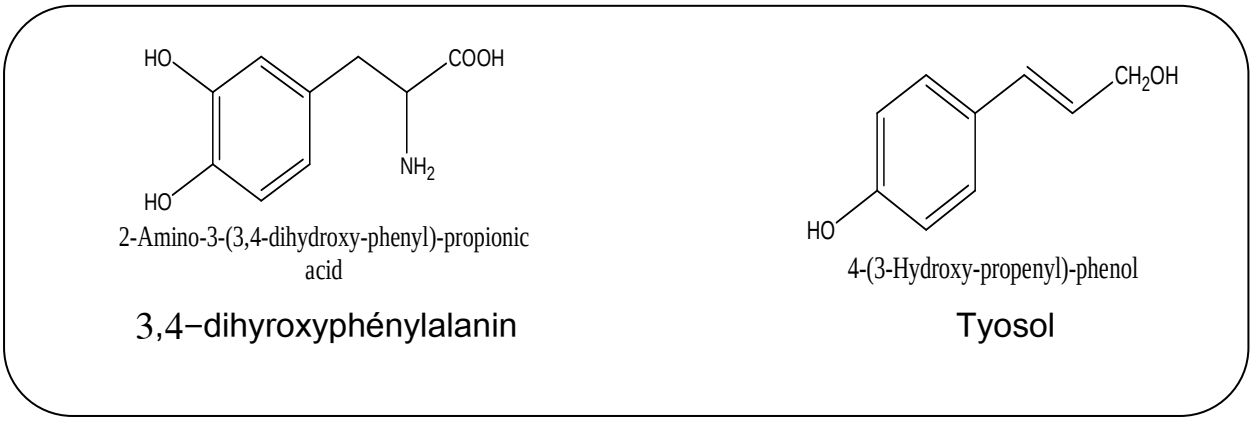
وهي مركبات ذات هياكل بسيطة قليلة الانتشار في الطبيعة، وتعد في معظم الأحيان مكونات للزيوت الطيارة وهي في الغالب عبارة عن كحولات، ألدهيدات، كيتونات.



الشكل .II.2: *نماذج المركبات الفينولية من الشكل C_6, C_6-C_1, C_6-C_2.*

- **المركبات الفينولية من الشكل C_6-C_4 , C_6-C_3 :**

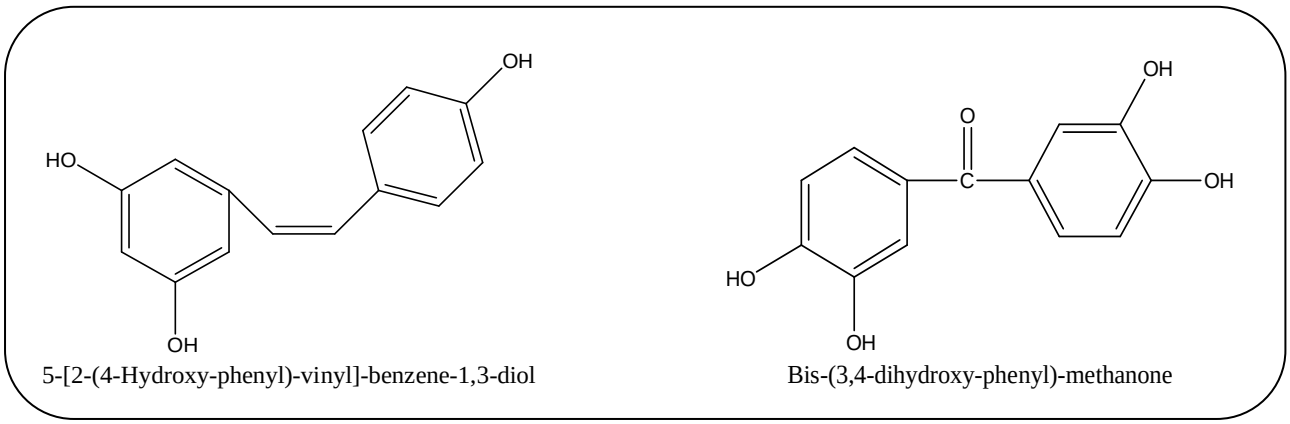
تعد أكثر تواجد من سابقاتها وهي أكثر أهمية وتعتبر كذلك من الزيوت الطيارة.[4]



الشكل.II.3: *نماذج للمركبات الفينولية من الشكل C_6-C_3 , C_6-C_4.*

- **المركبات االفينولية من الشكل : $C_6-C_1-C_6$, $C_6-C_2-C_6$ ، ثنائي الفلافونيل :**

و هي مركبات نادرة في الطبيعة ومنها[4]:



الشكل.II.4: *نماذج للفيونولات من الشكل: $C_6-C_1-C_6$, $C_6-C_2-C_6$، ثنائي الفلافونيل.*

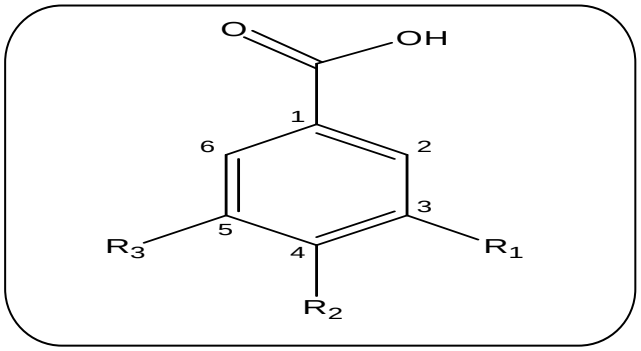
II.2.3.1.عائلة المركبات الفينولية واسعة الانتشار:

- **الأحماض الفينولية:**

تعتبر من المركبات الفينولية كثيرة الانتشار، وهي المركبات التي تملك على الأقل وظيفة كربوكسيلية (COOH)، وتشتق إما من حمض البنزويك acide benzoïque أو حمض السيناميك acide cinnamique.

- **بنية وتصنيف الأحماض الفينولية:**

الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك: تمتلك الهيكل الأساسي(C_6–C_1) ، وتكون حرة أو مرتبطة أو في حالة سكريات أو أسترات.[5]



الشكل .II.5: *الهيكل الأساسي للأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك.*

بعض الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك مبينة في الجدول(II.2):

الجدول.II.1:*الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك.*

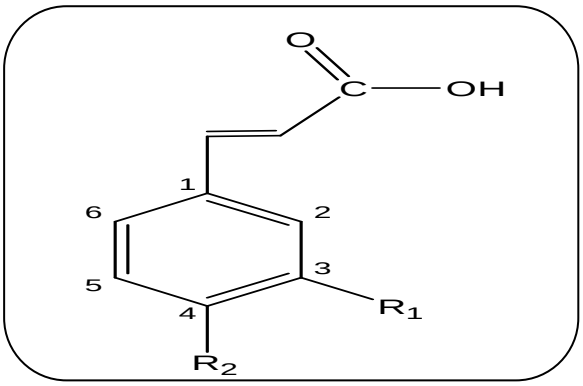
R_3	R_2	R_1	الإسم
H	OH	H	حمض–4–هيدروكسي Acide hydroxy–4– benzoique
H	OCH3	H	حمض–4–ميثوكسي بنزويك Acide méthoxy–4benzoïque
H	OH	OH	حمض بروتوكاتشيك Acide protocatéchique
OH	OH	OH	حمض الغاليكAcide gallique
H	OH	OCH3	حمض الفانيليك Acide vanillique

- **الأحماض الفينولية المشتقة من حمض السينامیك:**

تملك الهيكل الأساسي (C_6–C_3)، و الأكثر انتشارا هي أحماض الكوماريك، الكافييك، الفيريليك والسينابيك، أما بقية الأحماض مثل acide–2–comarique فهي أقل تواجدا ونادرا ما تكون حرة. [5]

أحماض السيناميك توجد على شكل متماكبات (diastéréoisomèrs E et Z) بسبب وجود رابطة مزدوجة في الجذر الجانبي، حيث أن التشكيلة E أكثر تواجدا لأنها أكثر استقرارا ترموديناميكيا. وتوجد في شكل أسترات أو سكريات. [6]

وتشمل أحماض السيناميك أربعة مركبات لا يكاد عضو نبات يخلو تقريبا من أحدها على الأقل وهي: أحماض الفيريليك، السينابيك (OCH_3 في الموقع 5) الكافييك، الكوماريك. [5]



الشكل .6.II: *الهيكل الأساسي للأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك.*

بعض الأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك مبينة في الجدول(3.II):

الجدول .2.II:*الأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك.*

R_2	R_1	الإسم
OH	H	حمضp-كوماريكAcide p-coumarique
OH	OH	حمض الكافييكAcide caféique
OH	OCH_3	حمض الفيريليك Acide Férulique
OCH_3	OH	حمض إيزوفيريليك Acide Isoférulique

- **الخصائص الفيزيائية والكيميائية للأحماض الفينولية:**

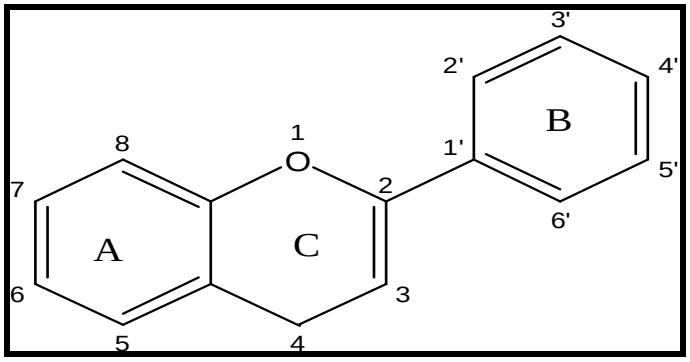
- الفينولات تنحل أساسا في المذيبات العضوية القطبية، وتذوب كذلك في محاليل هيدروكسيد الصوديوم وكربونات الصوديوم.

- الأحماض الفينولية تذوب و تستخلص بمذيبات عضوية قطبية في وسط حمضي مخفف، كذلك كل الصيغ المستبدلة (hétérosidiques) للمركبات الفينولية تذوب في الماء.
- كل الفينولات قابلة للتأكسد بسهولة خاصة في الأوساط القلوية، حيث أن أحماض السيناميك تعطي تراكيب تظهر تحت تأثير الأشعة فوق البنفسجية.[7]
- عندما يتأكسد حمض السناميك في الوضع ortho للسلسلة الجانبية له وتكوين حلقة اللاكتون مع نزع جزيء من الماء سوف يؤدى ذلك لتكوين الكومارين الذي يعتبر فسيولوجيا أنشط من الفينولات فهو المسؤول عن تثبيط نمو الكائنات الدقيقة التي قد تهاجم النبات. [5]

- **الفلافونيدات :**

كلمة الفلافونيدات مشتقة من اللفظ اللاتيني flavous التي تعني اللون الأصفر وهي عبارة عن صبغات ملونة تنتشر في معظم الأصناف النباتية (إلا أن وجودها قليل في الطحالب السرخس) خاصة عند كاسيات البذور تتمركز بصفة خاصة في الجزء الهوائي من النبات على شكل مركبات ذات أساس سكري (وجود السكر في الجزيئة يكسبها القدرة على الإذابة من الماء) أو على شكل مركبات حرة في الفجوات و السيتوبلازما والأغشية الليفية تم استخراج أكثر من 4000 فلافانويد طبيعي.

و الفلافونويدات هي مركبات ملونة عموما ذات كتل جزئية منخفضة تتميز بهيكل أساسي يحتوي على 15 ذرة كربون موزعة على حلقتين عطريتين A و B مرتبطتين بحلقة C غير متجانسة تحتوي على ذرة أوكسجين من الصيغة C6–C3–C6 كما هو موضح فيما يلي :



***الشكل .II.7:** الهيكل الأساسي للفلافونويدات.*

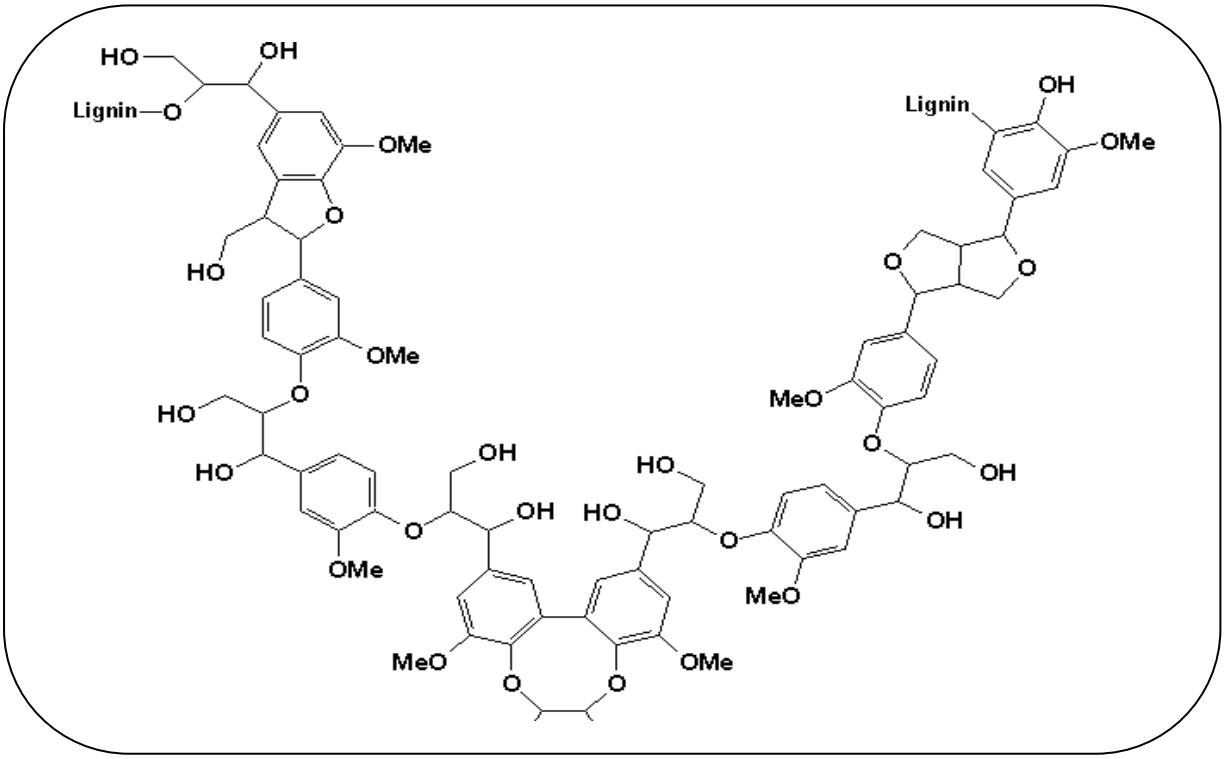
- **الخصائص الفيزيائية والكيمائية للفلافونويدات**

- الفلافونويدات مركبات ملونة، وهي تتواجد في جميع أجزاء النباتات الراقية حيث تتواجد بكثرة في الجزء الهوائي وخاصة الأوراق و الأزهار إذ تسبب تلوين هذه الأخيرة.

- تعتبر الفلافونويدات مركبات ذات صفة حامضية ضعيفة تذوب في القواعد القوية، وتتصف الفلافونيدات التي تحمل عددا كبيرا من مجموعات هيدروكسيل حرة أو سكر بالصفة القطبية، وبالتالي فهي تذوب في المذيبات القطبية مثل (الميثانول، الإيثانول، الأستون، الماء).
- المركبات الأقل قطبية مثل الايزوفلافونات و الفلافونات التي تحمل عدد أكبر من مجاميع الميثوكسيل فإنها تذوب في الكلوروفورم أو الإيثر.[8-9]

3.3.1.II.المركبات الفينولية النباتية المتواجدة في الطبيعة على صورة بوليمرات:

- **التانينات:** هي مركبات ذات بنى معقدة وزنها الجزئي من 500 إلى 3000 وحدة، تستعمل في الدباغة طعمها غير مستساغ ترسب القلويدات والبروتينات وهي نوعان:
- **التانينات المتحللة:** هي عبارة عن شق سكري مرتبط بوحدات من حمض الغاليك وتذوب في الماء.
- **التانينات المتراكمة:** لا تذوب في الماء تملك البنية العامة للفلافونيدات
- **لقنين:** هي بوليمرات ذات بنية منتظمة كارهة بشدة للماء مكونة من أساس من وحدات فنيل بروبان C6-C3 وهي كذلك شق غير سكري قليلة التواجد في الخضر والفواكه.



الشكل .8.II: *بنية اللقنين.*

II. 4.1.أهمية الفينولات و الفلافونيدات:

II.1.4.1.أهمية الفينولات بالنسبة للنبات:

بالرغم مما تقدمه المركبات المستخلصة من النباتات من فوائد عظيمة للإنسان، فإن دورها للنبات نفسه لم يكن معروفا، فكثفت الأبحاث على زراعة الأنسجة النباتية داخليا (التجارب التي تحدث على النبات وهو يقوم بجميع وظائفه in vivo) وخارجيا (التجارب التي تتم داخل أنابيب الاختبار in vitro) أدت إلى معرفة الدور الفسيولوجي لمنتجات الأيض الثانوي، فهي تؤمن العيش للنبات في ظروف حياته القاسية. يكمن دور الفينولات في مراقبة نمو تطور النباتات بطريقة مباشرة أو غير مباشرة وذلك بتشكيلها معقدات مع هرمون النمو وقد لوحظ أيضا أن الفينولات تلعب دورا في وقاية النباتات من الأمراض التي تسببها البكتيريا والفطريات فهي مبيدات للحشرات أو مضادات حيوية، فبعض النباتات تفرز مركبات فينولية على مستوى الأوراق و الجذور كمواد سامة ضد نمو النباتات الطفيلية.[10]

II.1.5.الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية:

تمتلك المركبات الفينولية خصائص مضادة للأكسدة قادرة على كنس الجذور الحرة الناجمة عن (التدخين، والتلوث)، حيث أن حماية القلب والأوعية الدموية بالمركبات الفينولية أصبحت الأكثر رسوخا.

يتم امتصاص المركبات الفينولية من خلال الحاجز المعوي ومن ثم الوصول إلى الأنسجة المستهدفة، حيث يمكن أن تؤدي إلى وقاية الجسم من تعرضه للأكسدة، والأمراض المختلفة مثل أمراض القلب والسرطان و أمراض الأعصاب.[5]

ولأن الفلافونويدات من أهم الفينولات المضادة للأكسدة فإنها تقوم على تثبط الأكسدة الفوقية للبيدات في المرحلة الابتدائية باقتناصها لجذور الهيدروسكيل وذلك لقدرتها على التداخل مع الطبقة ثنائية اللبيد للغشاء الخلوي، كما تنهي سلسلة تفاعلات الجذور الحرة وذلك بإعطائها ذرات الهيدروجين لجذور البيروكسيٌ ROO(proxy)• أو RO• (alcoxyle) مشكلة بذلك جذر الفلافونويد. [11]

وفي المجال الاقتصادي لها أهمية كبيرة في الصناعات الغذائية حيث تستعمل كمضادات للتأكسد ومثبطات للأنزيمات كما يتم استعمالها في صناعة مواد التجميل حيث تحمي البشرة الخارجية من الأشعة فوق البنفسجية [5].

II.1.6.الفعالية البيولوجية للمركبات الفينولية:

تملك خصائص علاجية متنوعة إذ تؤدي دورا كبيرا في ميدان الطب والصيدلة لما لها من تأثيرات على الكائنات الحية عامة، وعلى الإنسان خاصة فهي تحمي الأوعية الدموية، مضادة للالتهابات منها

مثبطة ومنها محفز للأنزيمات، مضادة للأورام، تحتوي الفينولات على المجموعات الهيدروكسيلية (OH) فكلما كثر وجودها في المركب زادت في نشاطه المضاد (المقاومة للأورام)، تعد مخالب (مفخخة) للجذور الحرة فهي تمنح الهيدروجين ليوقف عملية انتشار الجذور.

بالإضافة إلى خصائصها المضادة للأكسدة تعمل بعض الفلافونويدات كعوامل ممخلبة للمعادن metal–chelating و بالتالي تثبط تفاعل fenton الذي يعتبر مصدر مهم لإنتاج الجذور الأوكسجينية النشطة. أيضا تعمل على التقليل من نفاذية وهشاشة الشعيرات الدموية، إذ أنها ضرورية للبنية الطبيعية والوظيفية للشعيرات الدموية.

وكذلك فإن لها دورا مضادا للإلتهاب نظرا لتداخلها مع ميتابوليزم حمض الأراشيدونيك. كما أن الفلافونويدات تلعب دورا في تثبيط تطور السرطان، حيث تعمل على تنظيم التكاثر الخلوي من خلال تثبيطها لطرق التنبيه الداخل خلوي، كما تعمل على تحريض الموت المبرمج للخلايا السرطانية.[11]

عموما الفلافونويدات هي مركبات غير سامة و متقبلة لدى الإنسان، إن كمية 1غ من المركبات الفلافونيدية المختلطة كافية من الناحية الصيدلانية لتفي احتياجات الأنسجة من هذه المواد وعدم الوقوع في الأمراض.[5]

ونبين في الجدول (3.II) بعض المركبات الفينولية التي تستعمل لعلاج العديد من الأمراض:

جدول .3.II: *بعض المركبات الفينولية المستعملة في الطب و الصيدلة.[10.5.4]*

المركب الفينولي	الفعالية البيولوجية
الكومارينات	حماية الأوعية الدموية مضاد للأمراض الجلدية (البهاق)
الفلافونيدات	مضاد للالتهاب مضاد للسرطان يخفض ارتفاع الدم مدر للبول مضاد للأكسدة تمنع تخثر الدم
التانينات المتراكمة و متحللة	• مضادات للأكسدة
الأحماض الفينولية	• مضاد البكتيريا • مضاد للطحالب. • مضاد للأكسدة
Proanthocyanidines	• تمتن العظام • مضاد للسرطان • مضاد للالتهابات
Phytoestrogéne	• مكمل غذائي

تمتلك المركبات الفينولية أهمية كبيرة من حيث أنها مضادات للأكسدة، وقد عنيت هذه الخاصية بكثير من الدراسات السابقة والحالية، كما أن للفينولات فعالية بيولوجية عالية جدا خاصة المضادة للبكتيريا، فهذه المركبات تساهم طبيعيا بشكل كبير في حماية النباتات من البكتيريا، إذ أن الفلافونويدات تتداخل مع الأحماض النووية وتثبط تركيب الـ ADN و الـ ARN للبكتيريا.[6]

2.II. فعالية مضادات الأكسدة :

للجذور الحرة دور كبير في الآليات الجزيئية للعديد من الأمراض، كونها تتولد بشكل طبيعي في جسم الإنسان ويزداد تشكلها بفعل عدة عوامل داخلية وخارجية، وبموازاة ذلك يتركز الاهتمام على دراسة مضادات المؤكسدات antioxidants داخلية وخارجية المنشأ لأنها النظام الذي يحمي العضوية من أضرار الجذور الحرة.

II. 1.2.الجذور الحرة:

الجذور الحرة هي أصناف كيميائية ذرية أو جزيئية متعادلة أو مشحونة بشحنة سالبة أو موجبة تحتوي في تركيبها الالكتروني على إلكترون منفرد (غير متزاوج) أو أكثر، ويكون معظمها شديد الفعالية (تتفاعل بسرعة) مع مركبات أخرى محاولة اقتناص ما ينقصها من الكترونات لتصل إلى الثبات الكيميائي، تتولد هذه الأصناف خلال التفاعلات الكيميائية كمركبات وسيطية شديدة الفعالية وتنتهي بنهايتها، وتتكون هذه الأصناف خاصة بالتفاعلات التسلسلية والتفاعلات المتعاقبة وبعض التفاعلات الأخرى مثل: البلمرة و التفاعلات الضوئية وتلك المحثة بتسليط الأشعة الكهرومغناطيسية والدقائق الإشعاعية الأخرى.

❖ **أنواع الجذور الحرة:**

الجذور الحرة أنواع منها تلك التي تحتوي على إلكترون منفرد واحد ومتعادلة الشحنة مثل: ذرات الهيدروجين، النيتروجين، الفلور، الكلور، البروم، اليود، جذور المثيل(CH_3)، الإيثيل (C_2H_5)، الفينيل (C_6H_5)، الهيدروكسيل (OH) و البيروكسيد (HOO) ومنها التي تحتوي على الكترونين منفردين أو أكثر (غير مزدوجة) ومتعادلة الشحنة مثل ذرة الأكسجين (:O:)، جذور(NH) وجذور الميثيلين (CH_2) حيث تدعى هذه الجذور بالجذور الثنائية (diradicals) وتكون هذه الجذور أشد فعالية وأقل عمرا من جذور النوع السابق، أما الجذور الحرة الموجبة وسالبة الشحنة فهي جذور شديدة الفعالية وذات أعمار قصيرة جدا.

مثل: $(H_2O)^+$ ، $(CH_4)^+$ ، $(NH_3)^+$ ، $(N_2H_4)^+$ ، $(C_6H_6)^-$، $(I_2)^-$ ، $(SCN)_2^-$. [2]

❖ **مصادر الجذور الحرة:**

للجذور الحرة عدة مصادر كالمركبات البترولية و المواد الملونة و الحافظة، إضافة إلى المواد المنظفة و الكحول وكذلك شوارد المعادن الثقيلة و القطران في التبغ.

❖ **متابعة حركية الجذور الحرة :**

إن الجذور الحرة إما أن تكون ذات أعمار طويلة أو قصيرة، فالقصيرة يمكن متابعة حركة تفاعلاتها إلا بالطرق الطيفية السريعة مثل: أطياف تجزيء الكتلة و أطياف رنين البرم الإلكتروني، أما الجذور المستقرة نسبيا فيمكن متابعة حركية تفاعلاتها في الطرق التقليدية مثل قياس التغير بالتوصيلة الكهربائية بوحدة الزمن و غيرها، ولكن الأدق طريقة هي قياس تغيرات كثافة الضوئية الممتصة بوحدة الزمن بواسطة جهاز قياس أطياف الأشعة فوق البنفسجية المرئية. [1]

❖ **أسباب زيادة الجذور الحرة:**

- استهلاك كميات كبيرة من الأوكسجين.
- يزيد تشكل الجذور الحرة بازدياد سرعة الإستقلاب كما يحدث في حالة التوتر والشدة.
- يزيد بزيادة عوامل التلوث البيئي المختلفة التي يتم تحطيمها في الجسم لتتحول إلى جذور حرة يزيد بالتدخين و لأسباب عديدة.

II.2.2.مضادات الأكسدة:

يطلق مصلح مضادات الأكسدة على كل مادة أو مركب له فعالية ضد الأضرار التأكسدية ويعمل على تأخير أو الوقاية من فعل الجذور الحرة، تعمل مضادات الأكسدة على الحماية بعدة طرق إما بالتثبيط المباشر لإنتاج ROS أو منع انتشارها أو هدمها، تستعمل الخلية العديد من الآليات المضادة للأكسدة، وتختلف طبيعة هذه الأنظمة المضادة للأكسدة حسب الأنسجة والنوع الخلوي وحسب تواجدها في الوسط داخل وخارج الخلوي، تقسم الأنظمة المضادة للأكسدة إلى أنظمة إنزيمية وأخرى غير إنزيمية.

للحفاظ على التوازن الإرجاعي الداخلي يسخر الجسم على مجموعة معقدة من أنظمة الدفاع المضادة للأكسدة تعمل على الحد من التأثيرات السلبية للجذور الحرة و التي تكون في غالبيتها غير عكسية.

مضادات الأكسدة هي مجموعة من الجزيئات تتواجد بتراكيز قليلة مقارنة ببادئات التأكسد ولكن لها القدرة على خفض أو تثبيط أكسدته وتشمل المركبات داخلية المصدر ذات طبيعة إنزيمية مثل: CAT ، SOD ، GPx وبعض الجزيئات غير الإنزيمية Thioedoxin، GSH réduit .

❖ **مصادر مضادات الاكسدة:**

لا شك أن جميع الأغذية النباتية من خضروات وثمار وفاكهة ومعظم الأعشاب الطبية تحتوي على نوع أو أكثر من مضادات الأكسدة، ولكن بكميات متفاوتة وقد يقوم مضاد أكسدة معين بعدة وظائف، وقد تشترك عدة مضادات أكسدة أخرى بمهمة واحدة ولا يخفى على أحد أن كل شعب عرف بفطرته تارة، وبخبرته تارة أخرى عددا من الأغذية التي تتميز بقدرتها على تقوية الجسم وحفظ الشباب ومداوات الأمراض، فعلى سبيل المثال استعمل الناس زيت الزيتون لمعالجة التسمم الناتج عن تناول الأغذية الفاسدة أو الناتج عن عضة الأفعى، واكتشفوا قدرة الرمان والزبيب على منح الجسم القوة والحيوية وإكساب الوجه نضارة وجمالا.[2]

❖ **مضادات الاكسدة المصنعة :**

تعتبر هذه الاخيرة عنصر أساسي يجب إضافته للأطعمة المعلبة للتقليل من إفسادها إلى أقصى حد و ذلك لتأكسدها قبل غيرها منها : Butylhydroxytoluene (BHT) ، Butylhdroxyanisole (BHA) (PG) gallate propylée ، (TBHQ) tetre-butylhydroquinone.

هذه المركبات واسعة الاستعمال في الصناعة الغذائية، لأنها فعالة و قليلة التكلفة بالمقارنة مع المضادات للأكسدة الطبيعية و غير السامة، و لكن لها أضرار جانبية على المدى البعيد لذلك تم التخلي عنها في دول الإتحاد الأوروبي مؤخرا.[1]

❖ **مضادات الأكسدة الطبيعية :**

ومن مضادات الأكسدة التي يمكن أن تكون في متناول غذائنا اليومي مثل الفيتامينات من أصل البيتاكاروتين و فيتامينC و الفيتامينE و من المعادن الزنك Zn و السيليلوز Sn. [2]

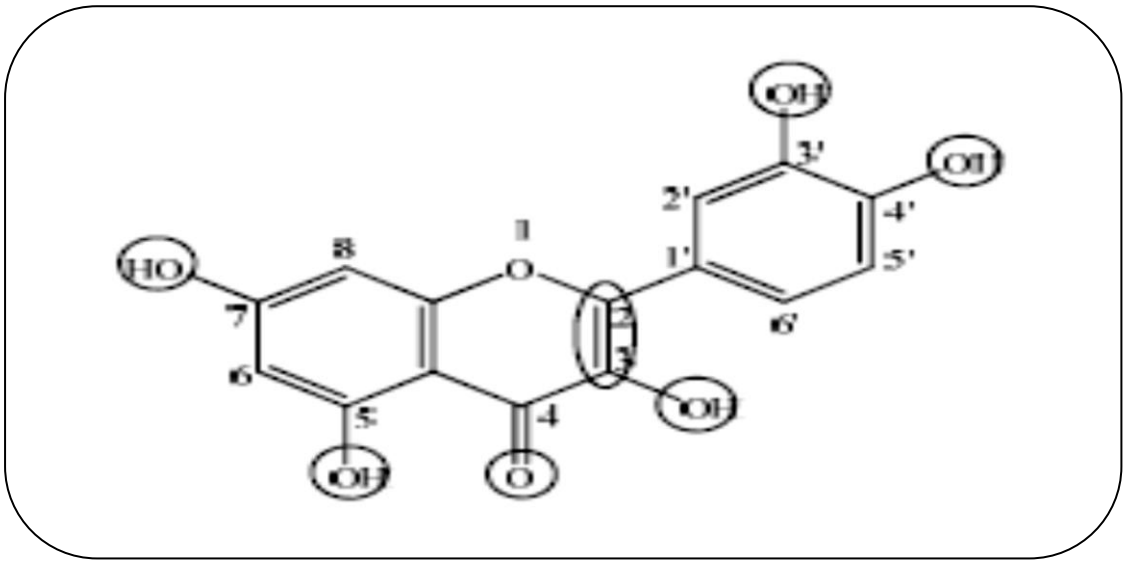
II.3.2.الفلافونيدات و الجذور الحرة و النشاط المضاد للأكسدة:

إن من أهم مميزات الفلافونيدات هو نشاطها المضاد للأكسدة و الناتج أساسا عن خاصيتها القابلة للأكسدة و الإرجاع، و بذلك فهي تعمل على الوقاية من الإجهاد التأكسدي الناتج عن الجذور الحرة.

العلاقة بين بنية الفلافونيد و النشاط المضاد للأكسدة:

أدت الأبحاث التي أجريت على النماذج المخبرية و التي اهتمت بالعلاقة بين البنية الكيميائية للفلافونيد و نشاطه المضاد للأكسدة للتوصل إلى التعرف على المجاميع و المواقع النشطة في الآلية المضادة للأكسدة و المتمثلة في:

- مجموعة أرثو ثنائي هيدروكسيل 4',3' على الحلقة B – Ortho dihydroxy
- الرابطة غير المشبعة بين الموقعين (C_2–C_3) و المترافقة مع مجموعة الكربونيل C_4 للحلقة C.
- مجموعة الهيدروكسيل في الموقع 3 للحلقة C.
- مجموعة الهيدروكسيل في الموضعين 7،5 للحلقة A. و يعد Quercétine بامتلاكه لكل هذه المجاميع من أحسن الفلافونيدات فعالية. [10–12]



الشكل.II.9: *المواقع الفعالة في النشاط المضاد للأكسدة للفلافونيدات*.[13]

آلية الفلافونيدات المضادة للأكسدة:

إن النشاط المضاد للأكسدة يرجع للفعاليات التالية:

- الاقتناص المباشر للجذور الحرة.
- إستخلاب الأيونات المعدنية المسؤولة عن إنتاج الجذور الحرة.
- تثبيط الإنزيمات المولدة للجذور الحرة.
- تنشيط و تجديد الأنظمة المضادة للأكسدة.[14]

المراجـــع

❖ **المراجع بالفرنسية:**

[3] Abdelghafour M, radioltse gamma des flavonoides . etude de leur reactivite avec les radicaux issus des alcools formation de depsides, These de doctorat (2003).

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

[6]Salah Eddine L., Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de *Phoenix dactylifera* L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf), Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en sciences Université Mohamed Khider Biskra (2014).

[10] Abdelrazag H, Etude phytochimique et activité biologique de la plante *Limoniastrum guyonianum*, mémoire présenté pour obtenir le diplôme de magister en chimie organique,2013.

[13] Cazarolli L. H., Zanatta L., Alberton E .H., Figueiredo M. S., Folador P., Damazio R. G., Pizzolatti M. G. and Silva F. R. 2008-Flavonoids: prospective drug candidates. Mini Rev Med Chem. 8: 1429-1440.

❖ **المراجع بالعربية:**

[1] العابد إبراهيم، دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران *Traganum nudatum* ، مذكرة التخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء عضوية تطبيقية جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2009) .

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

[4] بن عشورة صبرينة البتول، الفعالية المضادة للأكسدة الزيوت الطيارة والمركبات الفينولية ل Deverra scoparia مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الهندسة الكيميائية تخصص التحضير العضوي و الفيتوكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة 2007.

[7] سهيلة العقون، فصل و تحليل الأيض الثانوي و الفلافونويدي لنبتة طبية تنتمي إلى العائلة الشفوية Iamiaceae و دراسة التأثير المضادة للبكتيريا، مذكرة ماجستير، جامعة منتوري قسنطينة 2003.

[8] ميثاق الجبر، بحث و تحديد نواتج الأيض الثانوي لنبات القات cathaedulis من العائلة و نبات celastraceae البوليكاريا pulicaria jaubert من العائلة (Asteraceae) و تقييم الفعالية البيولوجية، مذكرة دكتوراء علوم في الكيمياء العضوية فرع كيمياء النباتات، جامعة منتوري قسنطينة 2010.

[9] باز مسعود، استخلاص فصل و تحديد بنيات منتوج الأيض الثانوي عند نبات جنس *Centaurea ،C.Sphaerocephala L.* ، رسالة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية تخصص كيمياء النبات، جامعة منتوري قسنطينة 2006.

[11] عمران أمال، دورفيتامين E,C ومستخلص البوتانولي لنباتي *suaveolens Rhantherium* و *Chrysanthemum fontanes* في الوقاية من التسمم المحرض بدواء *Sodium Valproate* لدى الفئران الحوامل دراس In vitro و In vivo رسالة مقدمة لنيل شهادة دكتوراء العلوم و بيولوجيا وفيسيولوجيا خلية الحيوان، جامعه قسنطينة 2013 .

[12] عبد الرحيم بن سلامة، النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد، للكزانثين لمستخلصات أوراق *Hertia cheirifolia L* جامعة فرحات عباس سطيف 2012.

[14] بن مرعاش ع، دراسة نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي و الفعالية المضادة الأكسدة للنبتة *Convolvulus supinus Coss. & Kral. (Convolvulaceae)*، مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، جامعة منتوري قسنطينة 2012.

الفصل الثالث

عموميات حول البكتيريا

مـدخـل

في هذا الفصل سنقوم بدراسة حول البكتيريا تتضمن أنواعها أماكن تواجدها تأثيرها على صحة الإنسان وبعض الوسائل المستخدمة للحد من انتشارها والقضاء عليها وقد ركزنا في هذا الفصل على البكتيريا التي تمت دراستنا عليها مع المستخلصات النباتية.

إن كلمة ميكروب (*microorganisme*) تستعمل لوصف الكائنات الدقيقة التي لا يمكن ملاحظة بنيتها إلا بواسطة المجهر، والتي تشمل الفيروسات، البكتريا، الفطريات وبعض الطحالب ونسمي المجال الذي يدرس هذه الكائنات بالميكروبيولوجيا، والذي تطور بتطور البحث و الدراسة انطلاقا من القرن 17 م عندما تعرف العالم Antoine van Leeuwenhoek عام 1668 م بواسطة مجهره البسيط على بعض الفطريات و البكتيريا، وفي سنة 1859 م تمكن الكيميائي الفرنسي Pasteur من التعرف على هذه الكائنات والتأكيد على ماهيتها، حيث اكتشف البكتيريا الهوائية و اللاهوائية من خلال تجاربه على التخمر، واكتشف أيضا طعومها، وارتبط اسمه بعملية البسترة لقتل الكائنات الحية المجهرية المتواجدة في السوائل، وقد أثبت أيضا أن البكتيريا كائن حي والكائن الحي لا يتولد إلا من كائن حي آخر.

أما العالم الألماني روبرت كوخ Robert Koch فقد ساهم في اكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض حيث ارتبط اسم البكتيريا كثيرا بالمرض الذي تسببه، لكن الاكتشافات الحديثة والتقدم السريع الذي حدث في العلوم التطبيقية أظهر أن البكتريا تلعب دورا هاما في كثير من الصناعات الغذائية و الدوائية والتخلص من المواد العضوية و غير العضوية وكذلك معالجة المياه العتمة والمعالجة الحيوية لمخلفات المزارع ولها استخدامات في إنتاج الطاقة وغاز الميثان.[1]

III .1.البكتيريا:

III.1.1.تعريف البكتيريا:

البكتيريا كائنات دقيقة مجهرية أحادية الخلية بدائية النواة *(procaryote)* واسعة الانتشار لها حوالي 2000 نوع حيث تتواجد بكثرة في الطبيعة وتختلف أشكالها منها كروية، عصوية أو حلزونية يتراوح طولها بين الميكرومتر الواحد إلى بضعة أعشار الميكرومتر.

وتستطيع البكتيريا العيش لأعوام طويلة متحملة جميع الأحوال غير الملائمة من ارتفاع درجة الحرارة أو انخفاضها، تغير درجة الملوحة وغير ذلك من الظروف البيئية القاسية.[2-3]

III.1.2. تسمية البكتيريا:

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

أما بالنسبة للنوع فقد يشير إلى المرض كما هو الحال (*Cholerae*) و *(Vibrio Cholerae)* أو مكان عزلها كما هو الحال في *E.coli* تعزل في *une-cole* أو قد يحمل صفات اللون مثل *Staphylocoque aureus* (أي الذهبية).

III.1.3.تركيبة الخلية البكتيرية:

تتركب الخلية البكتيرية من:

أ- أربعة أجزاء أساسية:

1)- الجدار الخلوي: جدار سميك يتألف من طبقتين في البكتيريا موجبة(G^+) الغرام و ثلاث طبقات في البكتيريا سالبة(G^-) هذا الأخير الذي يظهر أقل سمكا من جدار الخلية موجبة الغرام، و يتكون الجدار الخلوي من مواد سكرية ودهون، وظيفته الحماية والدعامة و إعطاء البكتيريا الشكل المميز لها وهو الذي يحدد نوعية صبغة البكتيريا وكذلك يوجد به السم الداخلي للبكتيريا*Endo Toxin*.

2)- الغشاء البلازمي: غشاء رقيق جدا مكون من الدهون و البروتينات، يتألف من بلايين الثنيات *Mesosomes*، وظيفته المشاركة في عملية انقسام البكتريا و هو مركز إنزيمات التنفس و يحدد نوعية وكمية المواد التي تنفذ من أو إلى البكتيريا والتي تعرف بالنفاذية الاختيارية.

3)- الستيوبلازم: كتلة بروتينية هلامية تحتوي على غذاء مدخر وتدور فيها المواد الغذائية والفضلات لإخراجها، وكذلك توجد بها حبيبات من مادة الـARN تعرف بالريبوزومات، و ظيفتها تكوين البروتينات

مثل لإنزيمات و الهرمونات، وكذلك يوجد بها حبيبات مكونة من الـADN تحمل صفات(جينية) معينة وتعرف بالبلازميدات.

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

ب) -أربعة أجزاء إضافية:

قد يوجد إحدها في بعض الخلايا أو لا توجد فهي ليست ضرورية لحياة البكتيريا.

1)- الهدبيات: زوائد دقيقة جدا تسمى *Pilli*، وظيفتها التثبيت على سطح الخلايا وبعضها يعرف بالهديبات الجنسية التي تلتصق ببعضها لإندماج الأنوية من خلية لأخرى، وهي مسؤولة عن ضروريات البكتيريا (بكتيريا السيلان مثلا).

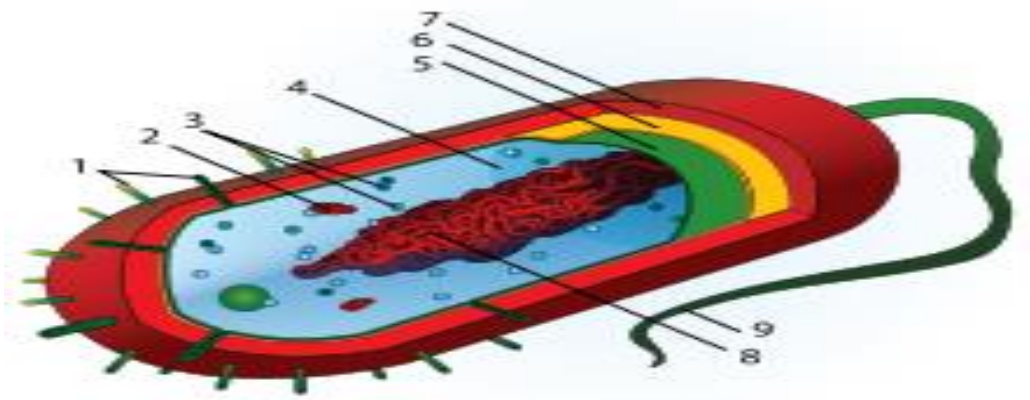
2)- الأسواط Flagella: زوائد طويلة جدا حول البكتيريا في توزيع مميز لكل نوع فقد تخرج من طرف واحد من الخلية أو كلا الطرفين، أو من جميع سطح البكتيريا و هي المسؤولة عن حركة البكتيريا (العصيات المعوية *E.Coli*).

3)- الحافظة Capsule: طبقة هلامية سميكة تحيط بالبكتيريا وتمنع التصاقها بالخلايا البلعمية *(Phagocyte)* لذلك فهي من عوامل ضرورية لبعض الأنواع وتوجد في الثنيات الرئوية والجمرة الخبيثة.

4) **البذور Spores:** عندما تسوء الظروف البيئية (الجفاف، ندرة الغذاء، الـpH) تكون بعض أنواع البكتيريا جدار سميكا يحيط النواة و قليل من الستيوبلازم و يعرف هذا التركيب بالبذرة التي تظل حية لمدة طويلة إلى أن تتحسن الظروف فى تشقق جدار البذرة وتخرج منه النواة و تستعيد شكل البكتيريا مثل الجمرة الخبيثة و كلوستريديا، الغرغرينا الغازية وهذه البذور بكتيرية تقاوم حتى درجة 121° م على عكس البكتيريا الخضرية التي لا تقاوم حتى درجة 100°م.[5]

دورة حياة الخلية تتركز على إستمرارية إنقسامها، حيث حوالي كل 20 دقيقة تنقسم الخلية البكتيرية لإعطاء خليتين جديدتين، في خلال ساعات تعطي خلية بكتيرية واحدة الملايين من الخلايا و لدرجة الحرارة تأثير على بقاء البكتيريا، حيث أن الدرجة المناسبة لتكاثرها و نموها تتراوح ما بين 37- 45° م، ومنها من تعيش و تتكاثر في درجة حرارة منخفضة 0 ـ 18°م و أخرى تعيش في درجات حرارة عالية 45 ـ 60°م، بالإضافة إلى أن الـ pH المثالي لنمو البكتيريا هو في حدود pH=7، كما أن الأوساط الغنية بالرطوبة والماء تعتبر وسط جيد لتكاثر البكتيريا.[2-3]

بنية الخلية البكتيرية موضحة في الرسم التخطيطي التالي:



1-الاهداب 2- البلاسميد 3- الريبوزومات 4- السيتوبلازمة 5- الغشاء السيتوبلازمي 6- الجدار الخلوي 7- الكبسولة 8- النيكليوتيد 9- السواط

الشكل III-1: بنية الخلية البكتيرية.

III. 4.1.تصنيف البكتيريا:

صنف العلماء البكتيريا على إعتبار عدة معايير كمايلي:

1- من حيث توزيع أسواطها:

- **بكتيريا وحيدة السوط.**
- **بكتيريا ذات أسواط عديدة :** متجمعة عند طرف واحد.
- **بكتيريا ذات أسواط عديدة :** موزعة على كل الخلية.

2-من حيث الشكل:

- **البكتيريا العصوية (*Bacilli*):** التي تأخذ خلاياها شكل العصويات الصغيرة.
- **البكتيريا الكروية *(Cocci)*:** التي تأخذ خلاياها شكل الكريات الصغيرة.
- **البكتيريا الحلزونية *(Spiral)*:** التي تأخذ الشكل الحلزوني.
- **البكتيريا الواوية*(Vibrio)*:** التي تأخذ شكل الواو أو الضمة العربية.

3-من حيث الوسط الذي تعيش فيه:

- **بكتيريا هوائية(*Aerobic*):** وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الهواء الجوي وهي تعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية.
- **بكتيريا لاهوائية (*Anaerobic*):** وهي البكتيريا التي تعيش فقط في غياب الهواء الجوي.
- **بكتيريا لاهوائية إختيارية *(Facultative Anaerobic)*:** وهي البكتيريا التي يمكنها العيش والنمو في ظل وجود الهواء الجوي أو عدمه.

4-من حيث التغذية:

- **بكتيريا ذاتية التغذية:** هي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو.
- **بكتيريا عضوية التغذية:** هي البكتيريا التي تحصل على الكربون من تحليل المواد النيئة كالسكر.[6]

5-من حيث طريقة التلوين(صبغة الغرام):

تصنف البكتيريا عن طريق استخدام الفروق في بنية الجدار الخلوي و هذا باستخدام التقنية المسماة صبغة الغرام (Gram Stain) نسبة إلى العالم البلجيكي H.C.J.GRAM المخترعة سنة 1884 وعن طريقها يمكن أن نقسم البكتيريا إلى:

- **موجبة الغرام Gram positive(G^+):** عند تلوينها تمتص اللون.
- **سالبة الغرام Gram négative(G^-):** لا تمتص أو قليلة الامتصاص للون وتحرر صبغا.

تعود هذه الفروق إلى بنية الجدار الخلوي فالخلية سالبة الغرام تحتوي على غشاء خارجي مشكل من الفسفوليبيدات Phospholipides وهذا ما لا نجده في البكتيريا موجبة الغرام، نتيجة لهذا الفرق تعطي البكتيريا ألوانا مختلفة مع صبغة الغرام، عند تلوين البكتيريا (G^+) بكاشف خاص ذو لون أرجواني تمتص اللون و تظهر أرجوانية، أما البكتيريا(G^-) عند تلوينها بنفس الكاشف فإنها لا تحافظ على اللون وتصبح ذات لون وردي.[7-8]

6-من حيث الأثر على الإنسان:

- **بكتيريا نافعة(*Beneficial Bacteria*):** هي التي تقدم خدمات جليلة للإنسان والحيوان والبيئة، فهناك نوع من البكتيريا يعيش في أمعاء الإنسان يساعده على هضم الطعام، ويفرز بعض المواد المفيدة للجسم مثل الفيتامينات، ويعمل على تدمير البكتيريا الضارة. هناك نوع آخر يعيش في التربة، ويلعب دورا هاما في غذاء النبات، إذ يقوم بتثبيت النيتروجين الموجود في الهواء الجوي، الذي هو العنصر الأساسي في تكوين البروتين عند النبات، ولا يقتصر الأمر على ذلك فقط، بل إن هناك صناعات كاملة تقوم على

استخدام بعض أنواع البكتيريا النافعة كصناعة بعض منتجات الألبان، وبعض الأدوية و حديثا تمكن العلماء من استخدام البكتيريا في معالجة مياه الصرف الصحي.

- **بكتيريا انتهازية (*Opportunistic Bacteria*)**: هي بكتيريا تعيش في جسم الإنسان، دون أن تسبب له أي أذى. إلا أنها عند انخفاض مناعة الجسم لأي سبب من الأسباب تهاجمه، متحولة إلى بكتيريا ضارة تسبب العديد من الأمراض مثل التهاب اللوزتين أو التهاب الحلق.
- **بكتيريا ضارة (*Pathogenic Bacteria*)**: وهي البكتيريا التي تهاجم جسم الإنسان، مسببة له أمراضا خطيرة متفاوتة الخطورة مثل: السل، التيفويد و الزهري و غيرها.[9]

II.5.1.بعض أنواع البكتيريا:

1) إشيريشياكولي **Escherichia coli** *:*

المملكة *: Bacteria.*
التصنيف *: Proteobacteri.*
القسم *: Gammaproteobacteria.*
الرتبة *: Enterobacteriales.*
العائلة *: Enterobacteriaceae.*
النوع : *Escherichiai* .

وهي بكتيريا سالبة الغرام، تعيش في جسم الإنسان والحيوان والنبات وفي التربة، تكون متحركة على شكل عصيات، مسببة الأمراض: أمراض الجهاز البولي، الإسهال الطفيلي، التهاب السحايا وتسمم الدم.[9-10]

2) ستافيلوكوكيز **Staphylococcus** *:*

المملكة *: Bacteria.*

التصنيف *: Firmicutes .*

القسم *: Bacilli .*

الرتبة *: Bacillales .*

العائلة *: Staphylococcaceae.*

النوع *: Staphylococcus.*

بكتيريا موجبة الغرام، هي بكتيريا كروية الشكل تسمى كوكسي (cocci) ذات لون أصفر براق، عديمة الحركة، تكون عناقيد على شكل أكوام، وتتواجد لدى الإنسان في الجلد والأمعاء والجهاز التناسلي وعلى الوجه. هذه البكتيريا مسؤولة عن تسمم الغذاء، وتتسبب في إلتهابات جلدية خطيرة.

و يتسبب هذا النوع من البكتيريا بالعديد من الالتهابات التي يسهل إنتشارها في الأماكن المزدحمة والمغلقة. [9-10]

3) أبسودومينوس *Pseudomonas*:

المملكة : *Bacteria*.

التصنيف : *Proteobacteri* .

القسم : *Gammaproteobacteria* .

الرتبة : Pseudomonadales .

العائلة : *Pseudomonadaceae*.

النوع : *pseudomonas*.

بكتيريا سالبة الغرام، متحركة هوائية مصدر هذه البكتيريا الجهاز الهضمي للإنسان والحيوان والماء والتربة تعمل على الإتلاف السطحي للأغذية المبردة وتعد من بين المكروبات المحللة للدهون باللبن مما يؤدي إلى تغير لونه وطعمه وهي مقاومة للعديد من المضادات الحيوية والمطهرات مما يفسر نموها وتكاثرها في الأوساط الاستشفائية حيث تنمو في الأجهزة الطبية، الأفرشة، الألبسة، و تكون ممرضة بضعف الجهاز المناعي للجسم.[9-10]

4) **إنتروبكتيريا Enterobacter:**

المملكة : *Bacteria*.

التصنيف : *Proteobacteri* .

القسم : *Gammaproteobacteria* .

الرتبة : *Enterobacteriales*.

العائلة : *Enterobacteriaceae*.

النوع : *Enterobacter* .

بكتيريا سالبة الغرام، وهي بكتيريا متجانسة انتهازية، صعبة العزل، غالبا ما تكون في وسط مختلط بالبكتيريا، تتسبب في تعفن الدم و التهاب المعدة والأمعاء و الالتهاب الرئوي، كما تتسبب أيضا في جرح المسالك البولية، تكثر عند الأطفال خاصة ذي 09 أشهر.[9-10]

III.2.المضادات الحيوية:

لقد تميز القرن العشرين بأحداث كثيرة ولعل المضادات الحيوية من أهم الأحداث على الإطلاق لما لها من تأثير مباشر على الصحة البشرية وعلى كيفية فهمنا للأمراض خاصة ذات المنشأ البكتيري منها.

في عام 1928 لاحظ الباحث الكسندر فليمينغ Fleming–Alexander أن البكتيريا ستافيلوكوك – دوري *Staphylocoque-dore* والتي قام بزرعها على جيلوز مغذي بالقرب من عفن بنيسيلوم Penecillium الذي أفرز مادة أدت إلى قتل أو تثبيط نمو البكتيريا فهو الذي اكتشف بالصدفة اول مضاد حيوي البنسيلين *Penicillin* الذي لم يستعمل إلا عام 1942، [11] ومنذ ذلك الوقت تزايد انتاج البنيسيلين من 1.8 كغ الى حوالي 10 لآلاف طن عام 1986 في بلد واحد كالولايات المتحدة.[12]

إن كلمة مضاد حيوي Antibiotique تعطي تعريفا واسعا جدا لهذه الزمرة من الأدوية فهي تشمل كل المواد المطهرة مع الأخذ بعين الاعتبار عدم سمية هذه المواد للجسم المضيف.[13]

III.2.1.تعريف المضادات الحيوية:

– **تعريف Wacksman:** إن التعريف الكلاسيكي للمضادات الحيوية الذي نشر سنة 1942 من طرف Wacksman يعتبر أنها مواد كيميائية ناتجة عن دقائق عضوية قادرة بتراكيز ضعيفة على تثبط نمو دقائق عضوية أخرى أو حتى تحطيمها و قتلها.

– **تعريف Langlyk Benedict:** نشر سنة 1976 ، يقضي بأنها عينات مستخرجة من عضويات حية قادرة على تثبيط و إيقاف نمو الدقائق العضوية الممرضة بتركيز قليل.[14]

– **تعريف Fasquell:** المضاد الحيوي هو كل مادة تعترض تطور ونمو الجراثيم المرضية في العضوية الإنسانية بشرط أن تكون عديمة السمية بالمقدار العلاجي المستعمل لدى الإنسان ولكن نظرا لأن الكثير من العينات التي كانت تنتج طبيعيا أصبحت تحضر كلية أو تعدل كيميائيا وبالتالي توسع التعريف ليصبح:

المضادات الحيوية: هي مركبات كيميائية ناتجة عن دقائق عضوية، أو من التصنيع العضوي والتي تكون ذات فعالية انتقائية على الدقائق العضوية الممرضة تحت تراكيز ضعيفة، فهي تستطيع إيقاف وتثبيط نموها وتكاثرها وتسمى البكتيريوستاتيك bactériostatiques، و تستطيع أيضا تفجيرها وقتلها مباشرة أثناء انقسامها وتسمى بكتيريسيدbactericides.[14–15–16]

لكن كل مضاد لديه خصوصيته في التعامل مع الخلية البكتيرية وفي تأثيره على مستويات مختلفة في هذه الخلية بدلالة طبيعته وصيغته الكيميائية.[17]

III.2.2.أنواع المضادات الحيوية:

إن الوظيفة الأساسية للمضاد الحيوي في الجسم تنقسم إلى قسمين:

مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية: يمنع تكاثرها وهو ما يساعد في القضاء عليها.

مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية: إما عن طريق التأثير على جدار خليتها، أو بالتسبب في انتفاخ خليتها وانفجارها، أو بمنع تكوين مادة البروتين داخل خليتها.[18]

III.2.3.طرق تأثير المضادات الحيوية:

1) **مضادات تعمل على مقاومة تكوين البروتينات:**

إن حمض الـ ADN يحمل مفتاحا خاصا بتحضير البروتينات، وذلك من خلال عمليات النسخ النقل والترجمة فقبل عملية الترجمة تعترض المضادات الحيوية عملية تحرير الأحماض الأمنية، و بالتالي يفقد الريبوزوم المادة الأولية مما يؤدي إلى تكوين بروتينات دون أهمية، الأمر الذي يؤدي إلى تحطيم الغشاء الستيوبلازمي، وهذا يعني إيقاف تكوين الإنزيمات المسؤولة عن حياة الخلية البكتيرية في مرحلة تكوين البروتين.

2) **مضادات تعمل على تخريب بنية الغشاء الستيوبلازمي:**

بعض المضادات الحيوية تؤثر على الهندسة apidoproteique لهذا الغشاء وتحللها مما يؤدي إلى فقد الستيوبلازم الكروموزومي.

3) **مضادات تعمل على إيقاف نسخ الـADN:**

إن اضطراب عمل الـ ADN يمنع الخلية من الانقسام و تكوينها للإنزيمات الخاصة بذلك، ومن بين أسباب هذا الاضطراب المضادات الحيوية.

4) **مضادات تعمل على تخريب الجدار الخلوي:**

إن الجدار الخلوي مكون من الميكوببتيدات mucopeptides أثناء الانقسام الخلوي acétylmuramidase تنتج أولا التحلل الجزئي للجدار في الخلية البكتيرية الأم، ثم محولة الـ ARNtranspeptidase تتدخل لإنتاج جدار الخلايا الجديدة، فيقوم المضاد بإيقافها، وبالتالي يؤدي إلى إنتاج جدار غير كامل مما يؤدي إلى انفجار الخلية وموتها.[18]

III.4.2.المقاومة البكتيرية:

1) خواص الجذمة البكتيرية (la souchebactérienne):

في علم الطب، الجذمة البكتيرية هي مقاومة للمضاد الحيوي على حسب تركيز المضاد الحيوي، أي بارتفاع التركيز تقل المقاومة لإعطاء أفق لكي تتم المعالجة.[19-18]

2) تعريف المقاومة:

ظهرت المقاومة البكتيرية مباشرة بعد بداية استعمال المضادات الحيوية ضد الأمراض المعدية، وقد أصبحت أمرا مستعصيا على الأطباء لأنها في تطور مستمر، ونقول عن بكتيريا أنها مقاومة إذا كانت تستطيع النمو والتكاثر في وجود نسبة من المضاد الحيوي تفوق النسبة المعتادة، وهي نوعان:

***المقاومة الطبيعية** :هي مقاومة موجودة طبيعيا عند كل عنصر من نفس النوع أو نفس الجنس البكتيري، إذن فهي ميزة جينية عادية للنوع مثل *Pseudomonas*.

***المقاومة المكتسبة** :هي حصول البكتيريا على جين جديد قادر على جعلها مقاومة لمضاد أو عدة مضادات كانت حساسة لها، وهذا الجين الجديد يمكن أن يكتسب إما من تحول على مستوى الكروموزوم أو إعادة تموضع للـ ADN أومن التبادل الجيني وهو الميكانيزم غالب الحدوث.

3) ميكانيزم المقاومة:

هناك ثلاثة ميكانيزمات أساسية هي المسؤولة عن المقاومة البكتيرية مقابل ثلاثة ميكانيزمات خاصة بعمل المضاد على الخلية البكتيرية، فلكي يكون المضاد الحيوي فعالا على المكروب يجب أن يستوفي مجموعة من الشروط:

- النفاذ أو إختراق الخلية.
- التثبت على الهدف لأجل إحداث اضطراب أو تعديل عليه.
- يجب أن لا يخضع إلى أي تحولات تؤدي إلى فقد فعاليته في حالة تماسه بالخلية.[20]

III.5.2.طرق التعرف على حساسية أو مقاومة البكتيريا للمضاد:

إن دراسة حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي لها عدة أهداف تتمثل في:

- اختيار المضاد الأكثر نشاطا.
- إضافة إلى أنه في حالة معالجة الأمراض المعدية، يجب معرفة المضاد الفعال وهذا باختباره على الميكروب المسؤول عن المرض.
- تحديد التركيز اللازم للتخلص من العامل المعدي والممرض للعضو المريض.[21]

ومن أهم طرق التعرف على حساسية أو مقاومة البكتيريا للمضاد طريقة الانتشار.

❖ **طريقة الانتشار(Méthode de diffusion):**

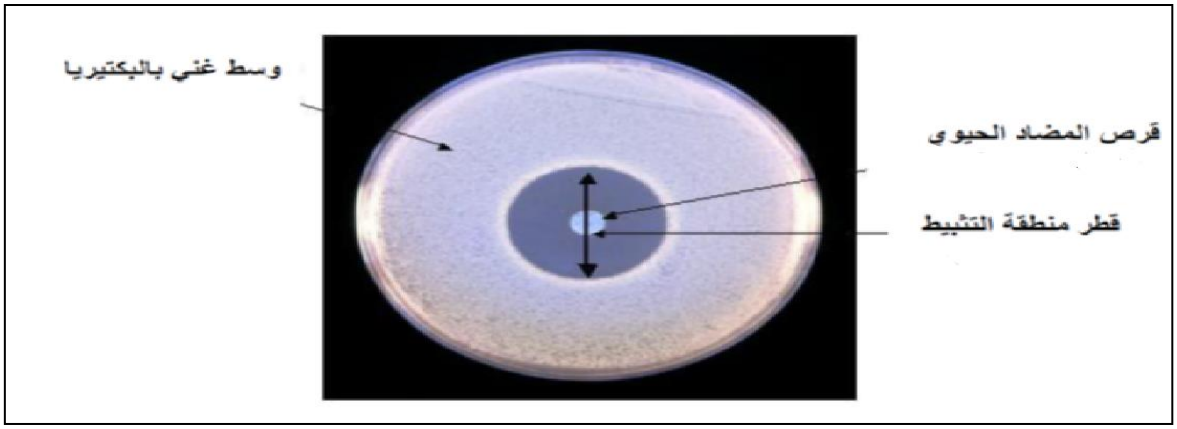
وهي الأكثر استعمالا في المستشفيات لتشخيص الأمراض المعدية، ويكون الوسط المستعمل صلب من الجيلوز gélose وأهم وسط جيلوزي هو وسط Hilton Muller، نسبة للباحث الذي حضره عام1941، والهدف من هذه الطريقة التحليلية هو معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي، ويتم التحليل بإتباع الخطوات التالية:

بعد إذابة معقمة للوسط الجيلوزي، يسكب بكميات محددة في علب بتري، يحضر المعلق الميكروبي بوضع جذمة منه في الماء الفيزيولوجي، ثم يشتل في علب بتري المحضرة مسبقا (بعد تصلب الوسط الجيلوزي)، تدخل العلب للحاضنة للتجفيف، بعدها توضع أقراص الإختبار معقمة ومشبعة بتراكيز مختلفة للمضاد الحيوي المراد إختبار فعاليته، ثم تعاد العلب للحاضنة تحت درجة 37°م لمدة 18 - 24ساعة.[20]

ولمعرفة مدى حساسية البكتيريا وتأثير المضاد الحيوي، نقيس قطر طبقة التثبيط بعد مرور الفترة الزمنية المذكورة سابقا وكنتيجة لهذا الاختبار يمكن أن نحدد درجة حساسية البكتيريا اتجاه المضاد الحيوي، ويمكن القول أن:

- البكتيريا مقاومة(غير حساسة) للمضاد الحيوي إذا كان القطر أقل من 8 ملم.
- البكتيريا متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي إذا كان القطر ما بين 9 و 14 ملم.
- البكتيريا حساسة للمضاد الحيوي إذا كان القطر ما بين 15 و 20 ملم.
- البكتيريا حساسة جدا للمضاد الحيوي إذا كان القطر أكبر من 20 ملم.[22]

ويعتمد نجاح هذه الطريقة على المد بالانتشار الجيد للمضاد الحيوي في وسط الزرع، فإن لم يكن كذلك فنتبع طريقة أخرى لقياس مدى حساسية الميكروب.[20]



الشكل2.III:*الأنتيبيوغرام بعد الحضن وطريقة قياس قطر منطقة التثبيط.*

بالرغم من نجاعة المضادات الحيوية إلا أنها لا تخلو من السلبيات والتأثيرات الجانبية بالنسبة لصحة الإنسان خاصة عند تجاوز الجرعات اللازمة، لذلك نحاول إيجاد بدائل طبيعية تتمثل في المركبات الفعالة المتواجدة على مستوى مختلف أجزاء النباتات، و إستخدامها في المجال الطبي كبدائل عن المضادات الحيوية المصنعة.

المراجـــع

❖ **المراجع بالفرنسية :**

[3]Frankland, E; Dupper , B .F .J . Chem. Soc. (1864).

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

[6] Courvalin.P. Interpretative reading of antimicrobial susceptibility testes. (1992).

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

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

[9] Robert D.S.. Antibiotique et antibiogrammes. Décarie Vigot, Montréal(1995).

[10] Brazilian Journal of Microbiology ISSN 1517-8382. (2003).

[11] J.Figrella,G.Leyral,M.Terret. Microbiologie géneral et appliquée .L Tédition J.lanore.2001.

[13] Rozier .J .Bolnot .F. Carlire. V.(1985) Bases Microbiologique de L'Hiygiene des Aliments .Polonica 2009.

[14] Pharmacologie Wikipedia article GNU Free Documentation License http://www.gnu.org/copyleft/fdl.html.

[15] Zhang J. Synthesis of Phosphinic Acids and Aza-β and γ-lactams as Potential Inhibitors of D,D-Peptidases and β-lactamases. Thése of doctor at University Catholique de Louvain(2003).

[16] Corvaglia A.R. Rôle des résidus d'antibiotiques dans les environnements hydrique sur la sélection et la diffusion de bactéries résistantes des genres Aeromonas, Acinetobacter et Legionella.Thése de doctorat l'Université de Genève(2006).

[17] Pochart Ph.. Les antibiotiques. Cours agent antimicrobiens (2007).

[19] Guerin F. Carret C. L'antibiogramme: Principes, méthodologie, intérêt et limites. Journées nationales GTV- INSA(1999).

[20] Yala D., Merad A.S., Mohamedi D., Ouar Korich M.N.. Resistance bactérienne aux Antibiotiques. Médecine du Maghreb (2001).

[21] Coudert. C, Beau F.. Resistance des principaux germes responsables d'infection, isolés au laboratoire d'analyse de biologie médicale de l'institut Louis Malardé (2004).

[22] Poncea. G; Fritzr; Del Vallc.et Rouras I. Antimicrobial activity of essential oils of the native micro flora of organic Swiss chard. Lebensmittel - Wissenxchuft und Technologie , (2003).

❖ **المراجع بالعربية :**

[1] بابا عربي إلياس، دراسة بعض الأملاح الفوسفونيوم و دراسة فعاليتها البيولوجية على بعض أنواع البكتيريا عند مزجها مع البنسيايناV، مذكرة لنيل شهادة ماجستير، تخصص كيمياء عضوية تطبيقية، جامعة قاصدي مرباح ورقلة 2009.

[2] محمد عبد المحسن معارج، وراثة الأحياء الدقيقة(1995)

[5] مجلة العلوم، تحديات المقاومة البكتيرية، 15 العدد 10أكتوبر/تشرين الاول (1999)

[12] عبد الوهاب، محمد .ع، ح.د0محمد، ص.م .مبارك، د.سعد.ع.ز.م، الميكروبيولوجيا التطبيقية، الطبعة الأولى، المكتبة الأكاديمية 1996 .

[18] د.عادل نوفل، جامعة دمشق، كتاب الكيمياء الصيدلانية 1981.

الجـــزء العمـــلي

الفصل الرابع

الطرق والوسائل

تمت هذه التجارب على مستوى مخابر كلية العلوم الدقيقة و مخبر ثمين و ترقية الموارد الصحراوية (VTRS) بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي، و أختبار الفعالية البيولوجية لمستخلصات قمنا بدراسة تأثيرها على انواع من البكتيريا و ذلك بالإستعانة بمخابر مستشفي بن الناصر بالوادي ، وتم الحصول على البكتيريا من مخبر المرجان بالوادي.

1.IV. جمع العينات:

تم الحصول على ثمار نبات القناوية (اقل من 5 سم) من منطقة قمار بولاية الوادي لثلاث أشهر مختلفة (أوت ،سبتمبر،أكتوبر)، بعدها تمت عملية التجفيف في الظل على قطعة قماش سميكة أو الورق مع تقليبها من حين لآخر وعدم تعرضها لأشعة الشمس لمدة معينة وتنتهي مدة التجفيف بعد أن نتأكد من عدم وجود الماء في النبات، ودامت مدة التجفيف 25 يوما، تتم بعد ذلك عملية الطحن باستخدام الهاون حتى تصبح عبارة عن مسحوق يتم الاحتفاظ به داخل علب في مكان بارد وجاف.

الشكل.1.IV: *عملية الطحن.*

2.IV.الأجهزة و المواد المستعملة:

الأجهزة :

- ميزان إلكتروني حساس. Modèle KERN ALS-220-4N
- مخلاط مغناطيسي.
- جهاز التبخير الدوار.modéle Haeatinge Bath B-491 made in Japan
- جهاز مطيافية الأشعة الفوق البنفسجية – المرئية. Modèle –UV-1800; made in Japan
- جهاز كروماتوغرافيا السائلة ذو الكفاءة العالية . modèle SHIMADZU LC solution
- حاضنة. Modèle WNB14; mode in Germanv
- معقمة . modéle TIMO

الملحق (01).

المواد:

- الهكسان (C_6H_{12}).
- إيثانول80% (CH_3-CH_2-OH) (96%).
- كاشف الفولين (Réactif de Folin-ciocalteai) ($3H_2O$-$P_2O_5$13$WO_3$5$MoO_3$10H_2O).
- محلول ثلاثي كلوريد الامونيوم (AlCl3,H2O) (97%)(M=241.43g/mol).
- محلول كربونات الصوديوم (Na_2CO_3)(99.8%)(M=105.99g/mol).
- محلول اسيتات الصوديوم (CH3COONa).
- حمض الخل (CH3COOH).
- حمض الهيدروكلوريك (HCl).
- كلوريد الحديد ($FeCl_3$).
- حمض الكبريتيك (H_2SO_4)98%
- موليبيدات الامونيوم molybdate d'ammonium.
- فوسفات الصوديوم NaH_2PO_4, $2H_2O$.
- DPPH ذو النقاوة (99%).
- DMSO.
- TPTZ.
- Muller Hinton.

IV.3.تعريف الاستخلاص:

هو عزل مركب أو عائلة مركبات من المادة الخام باستعمال المذيبات العضوية، و إن كانت المادة المراد فصلها سائلة فنطلق عليها استخلاص سائل–سائل وأما إذا كانت المادة صلبة فنطبق استخلاص صلب –سائل، ولهذا الأخير عدة أشكال ترتبط بعدة عوامل مختلفة منها درجة الحرارة، الضغط و كيفية استعمال المذيب.

1.3.IV.الاستخلاص صلب – سائل:

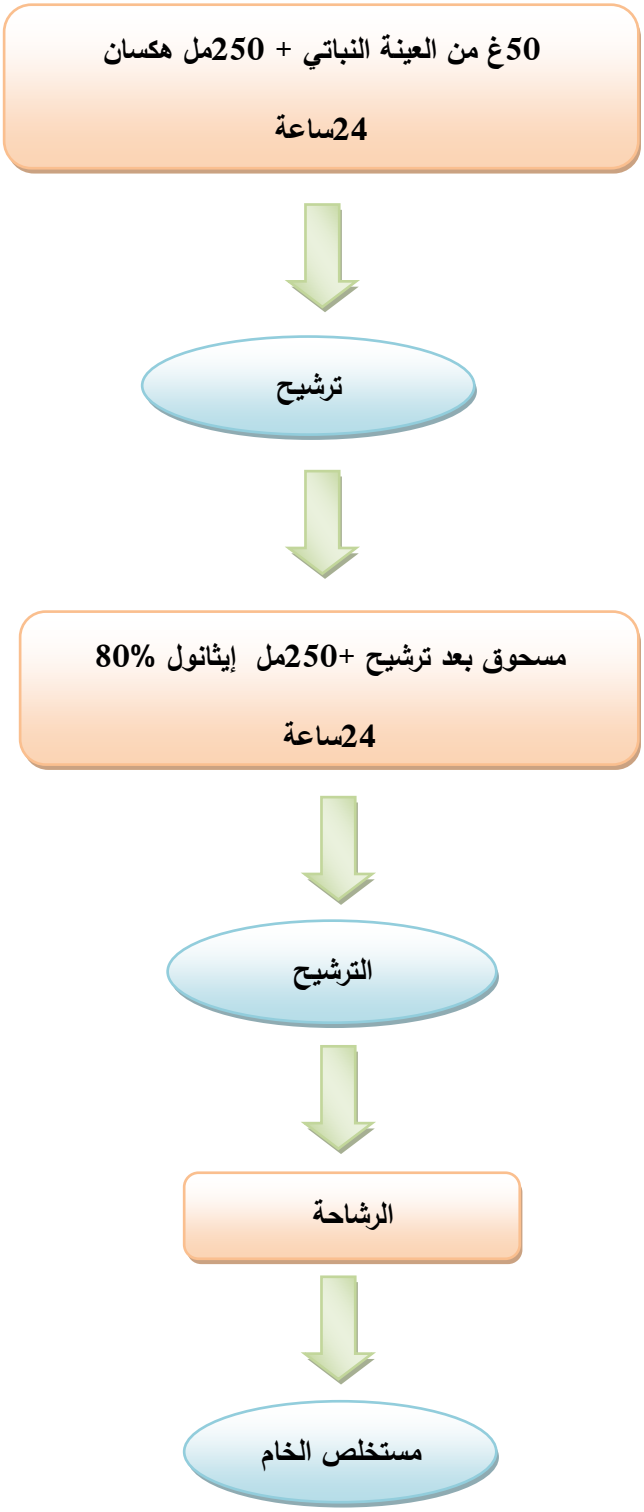
الاستخلاص على البارد(النقع): تعتمد هذه الطريقة على وضع المادة داخل إناء يحتوي على كمية محددة من المذيب، بحيث يكون حجم المذيب المستعمل يغطي المادة الجافة بنسبة تقريبية قدرها (المذاب 1/ المذيب 3) في الظروف العادية (ضغط و درجة حرارة الغرفة) مع التحريك من حين لآخر، تترك مدة زمنية معينة خلالها يتم انتقال المركبات المراد فصلها من المادة الجافة إلى المذيب تتبعها عملية الترشيح و نستعمل طريقة النقع للمواد التي تتأثر و تتفكك بالحرارة .[1-2]

2.3.IV.طريقة استخلاص لثمار نبات القناوية:

نأخذ وزنا قدره 50غ من مسحوق ثمار نبات القناوية للعينات الثلاثة و نقوم بنقعه في حجم قدره 250مل من الهكسان لمدة ساعة مع تحريك مستمر و نتركه مدة 24 ساعة في درجة حرارة الغرفة بعدها نرشح المزيج و نقوم بنقع الراشح في 250مل من الإيثانول 80% و تترك 24 ساعة مع التحريك ثم نقوم بعملية الترشيح .

بعدها نأخذ الرشاحة و نقوم بتبخير المذيب بواسطة جهاز التبخير الدوراني، وفي الأخير نتحصل على المستخلص الخام على شكل عجينة.

الشكل.IV.2: *يوضح طريقة الاستخلاص.*



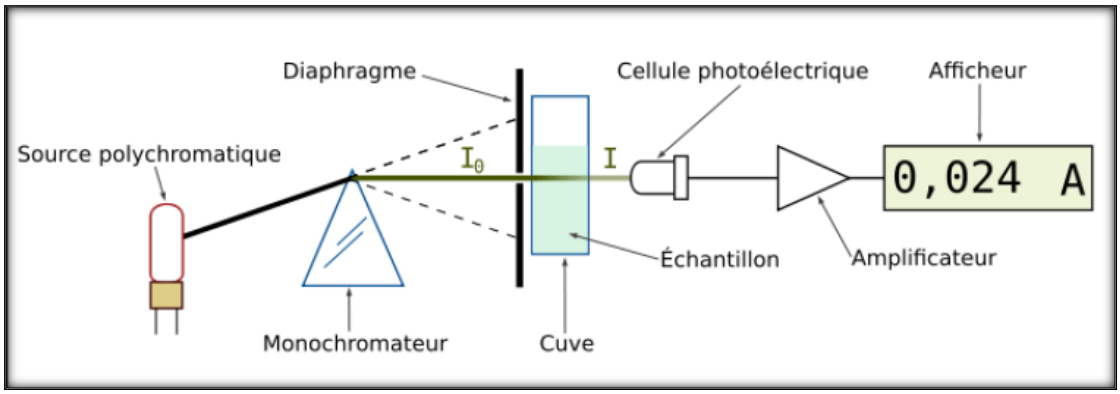
الشكل.IV.3 *:مخطط يوضح مراحل الاستخلاص.*

4.IV.التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية- المرئية :

1.4.IV.مطيافية الأشعة فوق البنفسجية- المرئية UV-visible:

تعد هذه التقنية من أقدم الطرق للتحليل الكيفي و الكمي و الأكثر استعمالا، تساعد في تحديد البنى الكيميائية للمركبات، ومن أهم طرق التقدير الكمي طريقة قياس الإمتصاصية (الكثافة الضوئية) للمحاليل، حيث مجال طولها الموجي محصور بين 400- 800 نانومتر.

يتكون هذا الجهاز من قسمين هما المصدر الضوئي لأي طول موجي محدد و مقياس الكثافة الضوئية، حيث يتم وضع العينة المراد قياس إمتصاصيتها داخل أنبوب يسمح بمرور الضوء، و بالتالي فإن كمية الضوء المار خلال العينة يعبر عنه الإمتصاصية.[3-4]



الشكل.4.IV *: رسم تخطيطي يوضح مبدأ عمل جهاز المطيافية الأشعة UV-visible. [4]*

2.4.IV.التقدير الكمي للمركبات الفينولية :

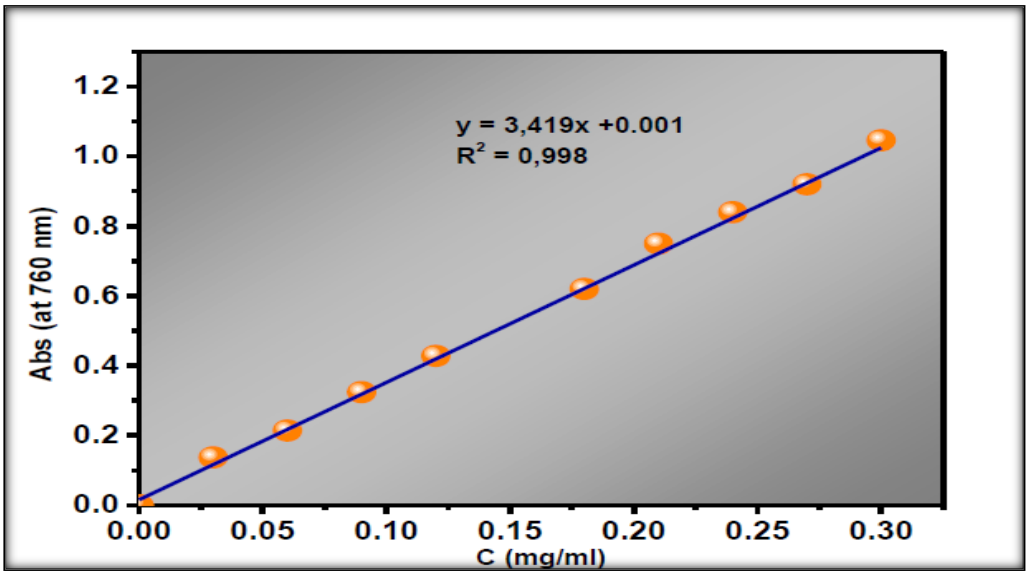
تقدر كمية الفينولات بطريقة singleton Rossi باستخدام كاشف الفولين (Réactif de folin- ciocalteai) ، حيث أن هذا الكاشف يتكون من حمض فوسفوتنغستيني ($H_3P_{12}O_{40}$) و حمض فوسفومولييبديك ($H_3PMO_{12}O_{40}$) الذي يرجع إلى اكسيد التنغستين W8O23 و الموليبدين (Mo_8O_3) ذات اللون الأزرق .

ويتم تقدير كميتها بواسطة جهاز UV-VISIBLE باستخدام حمض الغاليك كفينول مرجعي عند طول موجي λ_{max} = 756nm. [5]

- **المنحنى القياسي لحمض الغاليك :**

نقوم بتحضير محاليل ممددة لحمض الغاليك تراكيزها تتراوح ما بين 0.03 و 0.3 ملغ/مل في أنابيب إختبار، نأخذ 0.2 مل من المحاليل الممدة و نضيف لها 1مل كاشف (Folin ciocalteu) (الممدد 10 مرات)، ثم نضيف 0.8 مل من محلول كربونات الصوديوم (Na_2CO_3 7.5%)، ونضع المحاليل في الظلام لمدة 30 دقيقة.

تتم بعد ذلك قراءة الامتصاصية الضوئية لكل تركيز بجهاز UV-visible عند طول موجي λ_{max} =756nm.



الشكل IV.5: *يمثل المنحنى القياسي لحمض الغاليك.*

- **طريقة العمل:**

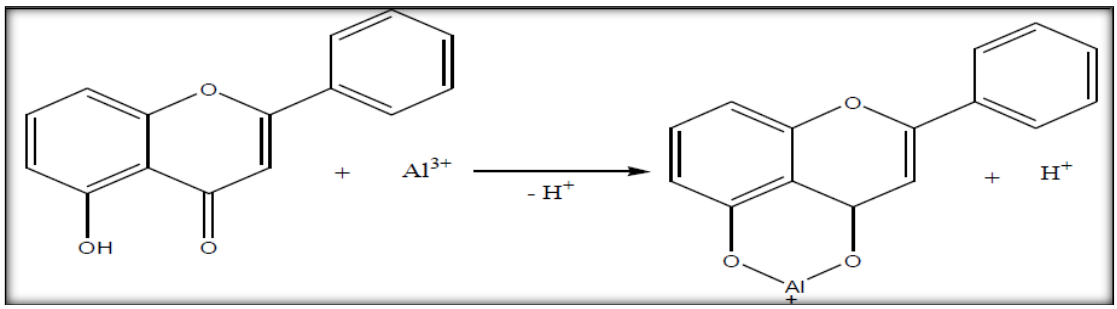
نحضر من المستخلص تركيز قدره 0.8 ملغ/مل نأخذ منه 0.2 مل منه و نضيف له 1مل من كاشف الفولين (Réactif de folin-ciocalteai) ونتركه مدة 5 دقائق في الظلام تم نضيف له 0.8 مل من محلول كربونات الصوديوم (Na_2CO_3 7.5%)، و نتركه في الظلام لمدة نصف ساعة نتحصل على اللون الازرق، ثم تقرأ الامتصاصية عند طول موجي λ_{max} = 756nm.

أنظر الملحق (02).

IV.4.3. التقدير الكمي لفلافونيدات :

يعتمد في التقدير الفلافونيدات على قدرة تكوين المعقد الأصفر بين ثلاثي كلور الالمنيوم $AlCl_3$ مع مجموعة الهيدروكسيل OH الموجودة في الحلقات البنزينية للفلافونيدات، حيث يشكل معقدا ثابتا بين مجموعة الكربونيل و هيدروكسي الموقع 3 و5 كما يشكل معقدات غير ثابتة مع مجموعتي اورثوهيدروكسي، ذو معامل امتصاص عال، ويمتص عند طول موجي λ_{max} = 420nm .

ونستعمل في هذه التجربة فلافانويد الروتين كأساس مرجعي قياسي لرسم المنحنى القياسي و يتم تقدير كمية الفلافونيدات بواسطة جهاز باستعمال الروتين كمحلول قياسي عند طول موجي λ_{max} = 420nm. [5]

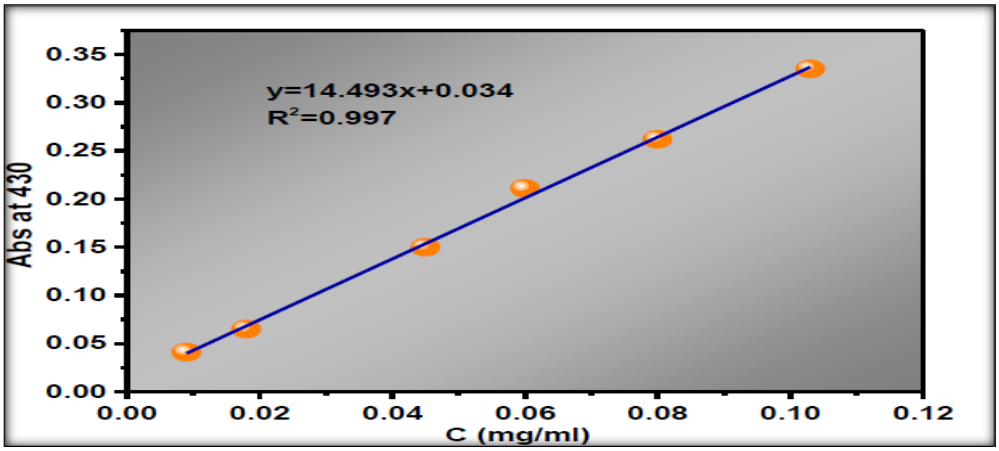


الشكل.IV.6 : *يمثل تشكيل المعقد.*

- **المنحنى القياسي لمحلول الروتين:**

نقوم بتحضير عدة تراكيز من محلول الروتين محصورة بين (0.1-0.02) ملغ/مل، نأخذ من كل تركيز 1 مل و نضيف له 1مل من محلول ثلاثي كلور الألمنيوم $AlCl_3$ ذو التركيز 2% ثم نتركها لمدة 30 دقيقة في الظلام، بعدها نقوم بقراءة الامتصاصية عند طول موجي λ_{max} = 420nm.

من قيم الإمتصاصية لمحاليل الروتين قمنا برسم المنحنى القياسي بدلالة التركيز.



الشكل IV.7 : *يمثل المنحنى القياسي لمحاليل الروتين.*

- **طريقة العمل :**

نأخذ تركيز قدره 2 ملغ/مل من المستخلص، نأخذ من تركيز 1 مل و نضيف له 1مل من محلول ثلاثي كلور الألمنيوم $AlCl_3$ ذو التركيز 2% ثم نتركها لمدة 30 دقيقة في الظلام نتحصل على اللون الأصفر، بعدها نقوم بقراءة الامتصاصية عند طول موجي λ_{max} = 420nm.

أنظر الملحق(02).

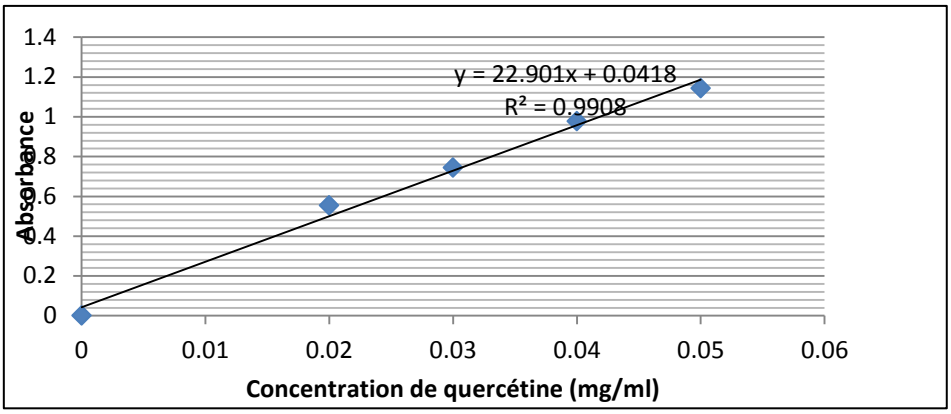
4.4.IV.التقدير الكمي لفلافانول :

يتم تقدير كمية الفلافانول بطريقة Kumaran et Karunakaran باستخدام جهاز UV- visible الكرستين كفلافانول مرجعي عند طول موجي λ_{max} = 440nm. [6]

- **المنحنى القياسي لفلافانول:**

نقوم بتحضير عدة تراكيز مختلفة من الكرستين، و نأخذ من كل تركيز 2مل في أنابيب ونضيف له 2 مل من كلوريد الالومنيوم 2% و 3مل من خلات الصوديوم 500 ملغ/مل ونتركها لمدة ساعتين و نصف في الظلام ثم تقرأ الإمتصاصية عند طول موجي λ_{max} = 440nm.

ومن قيم الامتصاصية لمحاليل الكرستين نقوم برسم المنحنى القياسي بدلالة التراكيز.



الشكل.IV.8: *يمثل المنحنى القياسي للكرستين.*

- **طريقة العمل:**

نقوم بتحضير تركيز قدره 2 ملغ/مل من المستخلص، ونأخذ من كل تركيز 2مل في أنابيب ونضيف له 2 مل من كلوريد الالومنيوم 2% و3 مل من خلات الصوديوم 500 ملغ/مل و نتركها لمدة ساعتين و نصف في الظلام فنتحصل علي اللون الأخضر، ثم تقرأ الإمتصاصية عند طول موجي λ_{max} = 440nm.

IV.5.4.تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الكيميائية :

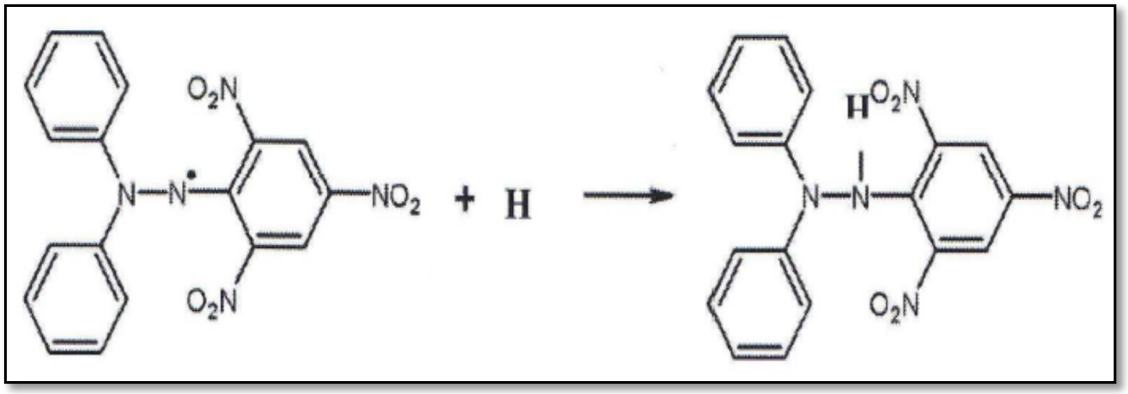
وهي قياس لقدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذر الحر أو توقيف عملية الأكسدة، تقدر الفاعلية المضادة للأكسدة بعدة طرق نذكر منها: اختبار (DPPH)، أو اختبار(FRAP)، أو اختبار(ABTS) أو اختبار(LMWA) أو اختبار(TRAP) أو اختبار القدرة الإرجاعية (PR)، وهذه الطرق تعتمد على التلوين و نزعه في طول موجي معين.

وفي هذه الدراسة تم اختيار ثلاث اختبارات مختلفة DPPH و FRAP و CAT .

IV.1.5.4.اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH :

وهو اختبار مضاد للجذور الحرة وقد عرفها العالم بولواز سنة 1958 ولقد اعتمد في ذلك على توضيح بعض الحسابات الخاصة بمضادات الأكسدة DPPH ثنائي فينيل هايدرازيل وهي مادة صلبة

لونها بنفسجي، يشتق هذا الجذر الحر من جزيئة ثنائي فينيل بكريل هايدرازين وهي مادة صلبة غير جذرية لونها اصفر.[5]



الشكل.IV.9 *: يمثل آلية تثبيط العامل المضاد للأكسدة مع الجذر الثابت DPPH.[7]*

هذا الاختبار يعتمد على تثبيط الجذور الحرة حيث يترك 30 دقيقة مباشرة مع مستخلصات المضادة للجذور مع العلم أن الجذر DPPH مستقر نسبيا يتفاعل مع جزيئة مضادة للجذور ليتحول إلى DPPH-H مع نقصان الامتصاصية عند طول موجي λ_{max} = 517nm .

وتحسب نسبة التثبيط المئوية وفق العلاقة التالية :

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

حيث :

A_0 = الإمتصاصية الضوئية للجذر الخالية من العينة.

A_i = الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر + العينة).

و بعد رسم المنحنى نحسب IC_{50} (تركيز المحلول لتثبيط 50% من جذور DPPH).

- **تحضير الكاشف :**

يتم تحضير محلول DPPH بإذابة 2 ملغ من ثنائي فينيل هايدرازيل في 50 مل من الميثانول فنتحصل عن محلول بنفسجي داكن.

- **طريقة العمل:**

نحضر عدة تراكيز مختلفة من مستخلصات المخففة في الايثانول و نأخذ من كل تركيز 1مل و نضيف له 1مل من (DPPH) نجانس المحلول ونتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم القراءة عند طول موجي λ_{max} = 517nm.

أنظر الملحق(02).

2.5.4.IV.اختبار فعالية مضادات الأكسدة الكلية CAT باستعمال موليبدات الأمنيوم:

يتم قياس القدرة الكلية المضادة للأكسدة للمستخلصات باستعمال طريقة الفوسفومولیبدات phosphomolybdenum حسب ARDESTANI and YAZDANPARAST، وهي من الطرق المباشرة لقياس القدرة الإرجاعية لمضادات الأكسدة الغير الإنزيمية، تعتمد على إرجاع الموليبيدات (MoO_4^{-2}) Molybdate إلى (Mo) Molybden و هذه الاخيرة التي تتميز بلون أخضر فاتح و يتكون من :

- molybdate d'ammonium: **4mM**
- acide sulfurique: **0.6M**
- phosphate de sodium: **28mM**

إن إجمالي الفعالية المضادة للأكسدة تقدر كميا بواسطة جهاز UV-VISBEL حيث يستعمل حمض الغاليك كفينول مرجعي عند طول موجي λ_{max} = 695nm. [8-9]

- **طريقة العمل:**

نقوم بتحضير تركيز قدره 0.9 ملغ/مل من كل مستخلص، و نأخذ من كل تركيز 0.1 مل في أنابيب ونضيف له 1 مل من الكاشف ونتركه لمدة ساعة في حمام مائي 95°C فنتحصل على اللون الأخضر، و نتركها تبرد ثم تقرأ الإمتصاصية تحت طول موجي λ_{max} = 695nm.

أنظر الملحق(02).

3.5.4.IV.دراسة النشاطية المضادة للأكسدة بطريقة FRAP:

يتم تقدير القدرة المضادة للأكسدة (القدرة الإرجاعية) للمستخلصات بطريقة (FRAP) Ferric reducing ability of plasma حسب طريقة Benzine و (1996) strain المعدلة من طرف pulido وآخرون (2000)، حيث تسمح هذه التقنية بتقدير القدرة الإرجاعية لمضادات الأكسدة بالمعقد الحديدي أيون TPTZحيث يمتص Fe^{+2} فيشكل اللون الأزرق البحري الشديد حيث ترتكز على قياس التغيرات التي تحدث في الإمتصاصية عند طول موجي 593 نانومتر، واستخدام حمض الأسكوربيك كمركب قياسي. [10-11]

- **تحضير محلول FRAP:**

يتم تحضير محلول FRAP من ثلاث محاليل مختلفة :

- **محلول Tompon:** وهو عبارة عن مزيج من اسيتات الصوديوم (0.1N) مع حمض الخل (0.1N) الأس الهيدروجيني للمزيج pH= 3.6 .
- **محلول TPTZ:** نقوم بإذابة 0.031 غرام من TPTZ في 10مل من حمض الكلوريد (0.04M)
- محلول كلوريد الحديد الثلاثي ذو التركيز (20mM)

نأخذ 25 مل من محلول Tompo و2.5 مل من محلول TPTZ مع 2.5 مل من كلوريد الحديد الثلاثي فنحصل عن محلول لفراب.[12]

- **طريقة العمل:**

نقوم بتحضير تركيز قدره 0.9 ملغ/مل من كل مستخلص، و نأخذ من كل تركيز 0.1 مل في أنابيب ونضيف له 0.9 مل من الكاشف FRAP ونتركه لمدة نصف ساعة في الظلام فنتحصل على اللون البنفسجي، ثم تقرأ الإمتصاصية بعد أربع دقائق عند طول موجي λ_{max} = 593nm.
أنظر الملحق(02).

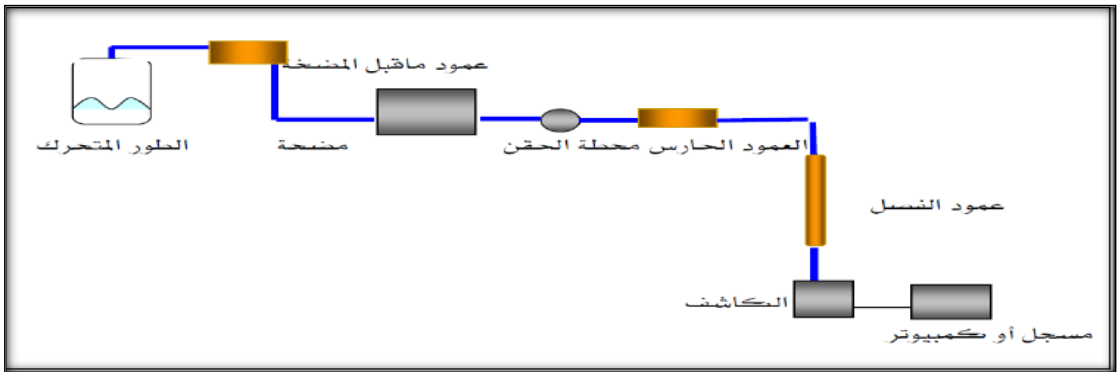
5.IV.كروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC):

تطورت الكروماتوغرافيا السائلة إلى ما يعرف الآن بكروماتوغرافيا السائلة ذو الكفاءة العالية، التي تعتبر واحدة من أهم طرق الفصل و التحليل مقارنة بطرق الفصل الأخرى لما تتميز به من دقة و سرعة.

يقوم جهاز HPLC بفصل مكونات عينة و تقديرها كميا، و يتم الفصل عن طريق توزيع العينات ما بين طورين أحدهما طور متحرك سائل و الآخر طور ثابت سائل أو صلب، يكون الطور الثابت في عمود طوله 2 سم و قطره 4 ملم.[13-14]

مكونات الجهاز:

الحاقن – مضخة– العمود– الكاشف – المسجلة .



الشكل .10.IV: *يمثل مكونات جهاز HPLC.*

- **الشروط التجربة :**

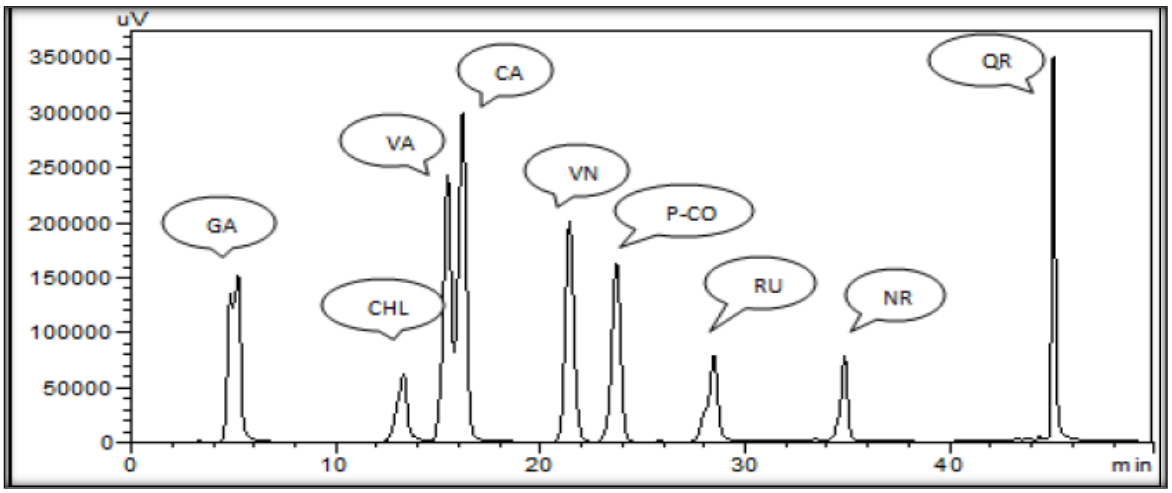
الجدول.IV.1: *يوضح الشروط اللازمة لفصل المركبات الفينولية في العينات باستخدام HPLC.*

العامل	الشروط
النظام	الطور المعكوس RP-HPLC
العمود	C18 (25cm×46mm)
حجم الحقن	20µl
معدل الحقن	1ml/min
طول الموجة	λ=268nm
الزمن	50min
درجة الحرارة	25°C
الطور المتحرك	(A): (acetonitrile) (B):(0.2% acide acetique)

و يتم تحديد المركبات الفينولية من خلال زمن مكوثها.

الجدول.IV.2: *يوضح زمن مكوث لبعض المركبات الفينولية.*

المركبات الفينولية المرجعية	زمن مكوث t(min)
حمض الاسكوربيك	4.21
حمض الغاليك	5.23
حمض الكلوروجينيك	13.62
حمض الكافييك	16.3
كريستين	20.37
الفانيلين	21.46
حمض بيوكومارين	23.95
الروتين	28.22



الشكل.IV.11 *: يوضح زمن تأخر المركبات الفينولية القياسية.*

- **طريقة العمل:**

نأخذ وزن قدره 10 غرام من مستخلص الخام و نقوم بإذابتة في 5 مل إيثانول 80% نتحصل على تركيز قدره 2 ملغ/مل و نقوم بترشحه بورق ترشيح ثم نعيد عملية الترشيح باستخدام ورق ترشيح خاص لتصبح العينة جاهزة، للحقن في جهاز الـ HPLC.

6.IV.دراسة الفعالية البيولوجية:

اعتمدنا في هذا الاختبار على طريقة الانتشار، وهي الأسهل وتعتمد على وضع أقراص مشبعة بالمضادات الحيوية على طبق مزروع زرعا متجانسا بالبكتيريا على وسط صلب من الجيلوز gelose من أهم هذه الأوساط هو Muller Hinton، وبعد حضن الأطباق لمدة 24 ساعة يقاس قطر دوائر التثبيط حول الأقراص وكلما زادا القطر ازدادت قدرة المضاد الحيوي على قتل أو وقف نمو البكتيريا.[15]

- **بكتيريا Escherichia Coli :**

هي بكتيريا اختيارية الهواء عصوية الشكل ذات غرام سالب وأبعادها من 1 إلى 3 ميكرومتر تعيش في جسم الإنسان الحيوان والنبات وفي التربة تكون متحركة على شكل عصيات تتكاثر بسرعة عند درجة حرارة الجسم 37°C من بين الأمراض التي تسببها: الإسهال الطفيلي التهاب السحايا وتسمم الدم. [16]

- **البكتيريا staphylococcus eureus:**

البكتيريا العنقودية هي بكتيريا كروية الشكل ذات لون اصفر بارق عديمة الحركة موجبة لصبغة الغرام اختيارية للهواء عند ملاحظتها بالمجهر نجد أنها تتجمع بشكل عناقيد وهي موجودة في الماء، الهواء و التراب. [17]

- **البكتيريا Pseudomonas :**

بكتيريا سالبة الغرام متحركة هوائية مصدر هذه البكتيريا الجهاز الهضمي للإنسان و الحيوان و الماء و التربة و تعمل على الإتلاف السطحي للأغذية المبردة و تعدمن بين المكروبات المحللة للدهون باللبن

مما يؤدي إلى تغير لونه و مطعمه وهي مقاومة للعديد من المضادات الحيوية و المطهرات مما يفسر نموها و تكاثرها في الأوساط الإستشفائية حيث ينمو في الأجهزة الطبية و الأفرشة وغيرها و تكون ممرضة بضعف الجهاز المناعي للجسم.[18]

- **طريقة العمل:**

قبل الشروع في هذا العمل يجب تعقيم كل الأدوات في المعقمة و التنظيف الجيد لمكان العمل و بالقرب من موقد بنزن وسنتبع في هذا العمل طريقة الانتشار.

1- تحضير التراكيز:

قمنا بتحضير ثلاث تراكيز مختلفة لكل مستخلص (5ملغ/مل - 10ملغ/مل- 15ملغ/مل) وذلك بإذابتها في DMSO.

2- أنواع البكتيريا المدروسة :

- Escherichia Coli.
- Staphylococcus Blanc.
- Pseudomonas.

3-تحضير وسط الزرع:

يتم تحضير أوساط الزرع بتسخين محلول الغلوكوزي Muller Hinton في حمام مائي درجة حرارته 85°C، ثم يسكب في علب بيتري حتى يغطى السطح مع مراعاة التجانس في سمك السطح و نتركها تبرد حتى تتجانس و تتماسك.

4- تحضير الأقراص:

بواسطة آلة خاصة بقص ورق الترشيح نقصه إلى أقراص بقطر5 ملم، ثم نضعها في أنبوب إختبار للتعقيم في درجة حرارة عالية ثم نشبع الأقراص بالمستخلص المحضر.

5- تحضير المعلق البكتيري:

باستخدام العود القطني نأخذ الجذمة بكتيرية، و نغمرها في أنبوب اختبار يحوي على 3 مل من الماء الفيزيولوجي المعقم، ثم نزرع نوع بكتيري في علبة بتري حيث يتم مسح بالعود القطني و توزيع البكتيريا على مستوى السطح بشكل منتظم.

6- وضع الأقراص المشبعة :

توضع الأقراص المشبعة بالمستخلصات الثلاثة داخل علب بتري بواسطة ملقط معقم، أي كل علبة تحوي على ثلاث أقراص مختلفة التركيز، ثم تغلق العلب و توضع مقلوبة في الحاضنة لمدة 24 ساعة تحت درجة حرارة 37°C. ثم تقرأ الأقطار بواسطة قدم قنوية .

أنظر الملحق (03).

المراجـــع

❖ **المراجع بالفرنسية:**

[1] Shohami .E, Gati. I, Biet-Yannai E, Trombovler V, Kohen R.,Neuratrauma J.,(1999)

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

[3] Asadi S, Ahmadiani A, Ali Esmaeili A, Sonboli A, Ansari N, Khodagholi F. In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six Salvia species from Iran:A comparative study. *Food Chemical and Toxicology* (2010)

[4] HAMIDI .A. Etude phytochimique et activité biologique de la plante Limoniastrum guyonianum. PHYSICO-CHIMIE MOLECULAIRE .Université Kasdi Merbah Ouargla2012.

[6] Mbaebie .BO, Edeoga. HO, Afolayan. AJ"Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of Schotia latifolia Jacq". Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. ,(2012)

[7] Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C"Use of free radical method to evaluate antioxidant activity". Lebensm Wiss. Technol. , (1995).

[8] ALIYU, A.B., IBRAHIM ,M.A., IBRAHIM, H., MUSA , A.M, LAWAL, A.Y.OSHANIMI, J.A.,USMAN, M., ABDULKADIR ,I.E OYEWALE, A.O.,AMUPITAN,J.O. ,Free radical scavenging and total antioxidant capacity of ;ethqnol extract of Ethulia conyzoides growing in Nigeria Romanian Biotechnological Letters ,Vol.17, No.4,2012.

[10] Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, et al.Total antioxidant capacity of plant foods , beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. J Nutr 133:2812-2819. .(2003)

[11] Thaipong K , Boonprakob U, Crosby K, Cisneros- Zevallos L and Byrne DH Comparison of ABTS ,DPPH ,FRAP , and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts .Journal of Food Composition and Analysis 19:669-675

[12] Iris F. F. Benzie, and J. J. Strain.The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of ‘‘Antioxidant Power’’: The FRAP Assay (1996).

[13] Lloyd R. Snyder , Joseph J.Kirkland , John W. Dolan , Introduction to modern liquid chromatography, Printed in the Untied States of America , , ISBN 978-0-470-16754-0(cloth),pp:1-2. 2010.

[14] Vincent DALMEYDA, Claudine DAVID, Jean-Marie FOUGNION, Brigitte ARNAUD, et Claude GENTY, «Chromatographie en phase liquide (CHROMLIQ)(1999).

[15] V.Guerin-Faublée, C.Carrt. L'antibiogramme: principes ,méthodologie, Intérêt et limites. Journées nationales GVT-INRAP:5-12.-MELLIES. (1999)

[16] J., BARRON A., CARMONA A., Enterpathogenic and enterohemorrhagic Escherichia coli virulence gene regulation. Infection and Immunity. 2007.

[17] J.Figrella , G.Leyral,M .Terret.Microbiologie générale et appliqué. LT édition J. lanore.2001.

❖ **المراجع بالعربية :**

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

[9] بسمة شمسة، دراسة مقارنة للمردودية و النشاطية المضادة للأكسدة في المستخلص الكحولي و المائي عند نبات *Zygophyllum album L*، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، علوم الطبيعة والحياة، جامعة الوادي 2015.

[18] العابد إبراهيم،دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران *Traganum nudatum*، مذكرة التخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء عضوية تطبيقية، جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2009).

الفصل الخامس

النتائج والمناقشة

1.V.مردود المستخلصات

- ✓ المستخلص الإيثانولي لثمار نبات القناوية لشهر أوت .
- ✓ المستخلص الإيثانولي لثمار نبات القناوية لشهر سبتمبر.
- ✓ المستخلص الإيثانولي لثمار نبات القناوية لشهر أكتوبر.

$$R\% = (m_f / m_i) \times 100$$

R% : المردود

m_f : الكتلة النهائية

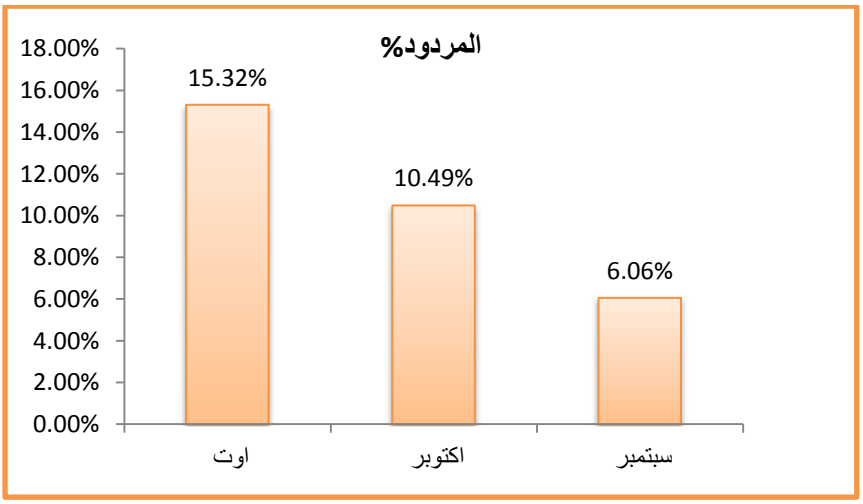
m_i : الكتلة الابتدائية

بعد عملية الاستخلاص نتحصل على قيم المردود التالية :

جدول.1.V *: يمثل قيم مردود المستخلصات.*

العينة	الكتلة الابتدائية (غرام)	الكتلة النهائية (غرام)	المردود%
أوت	50	7.658	15.317
سبتمبر	50	3.313	6.627
أكتوبر	50	5.249	10.492

من خلال نتائج الموضحة في الجدول نجد أن أكبر مردود كان في مستخلص شهر أوت وأقل مردود كان في شهر سبتمبر أما عن شهر أكتوبر فهي نسبة متوسطة، و هذا الاختلاف راجع إلى كمية الفينولات المتواجدة في كل عينة .



الشكل .1.V : *يوضح نسب مردود للمستخلصات .*

2.V.التقدير الكمي والكيفي:

1.2.V.التقدير الكمي للفينولات باستخدام جهاز UV-visible :

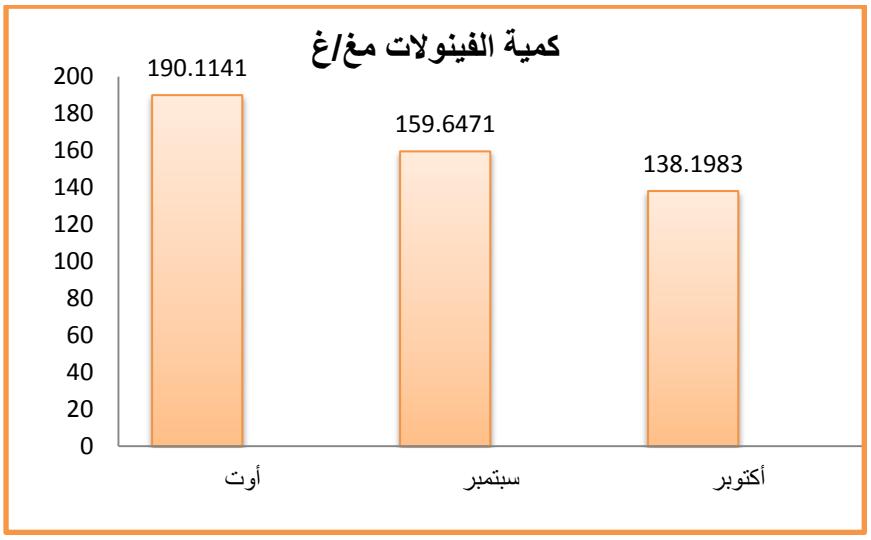
من نتائج الامتصاصية للمحاليل المحضرة و بحسابات رياضية و من علاقة المنحنى القياسي لحمض الغاليك تم تسجيل النتائج المتعلقة بتقدير الفينولات الكلية للمستخلصات، ويمكننا حساب الكمية المكافئة ل1غ من المستخلص، من خلال المعادلة التالية:

$$Y=3.419x+0.001$$

و الجدول الآتي يوضح كمية الفينولات لمكافئة غرامي :

الجدول .2.V : *يمثل قيم الامتصاصية و كمية الفينولات في كل مستخلص.*

العينة	أوت	سبتمبر	أكتوبر
التركيز مغ/مل	0.8	0.8	0.8
الامتصاصية	0.521	0.437	0.379
الكمية مغ/غ	190.1141	159.6471	138.1983
SD	0.365604	0.211082	0.365604



الشكل 2.V. *: كمية عديدات الفينول بمغ مكافئ لحمض الغاليك/ غ من وزن المستخلص.*

- **تفسير النتائج:**

من خلال النتائج الموضحة في الشكل (2) و التي تمثل كمية الفينولات للمستخلصات تبين أن كمية الفينولات، متفاوتة بين مستخلصات حيث سجلت اكبر قيمة في شهر أوت قدرت بـ (0.365604 ±190.114) مغ/غ و في شهر سبتمبر قدرت قيمتها بـــ (0.2110±159.6471) مغ/غ أما في شهر أكتوبر فقدرت بـ (0.365±138.198) مغ/غ، اختلاف هذه النتائج راجع إلى اختلاف في التركيبة الكيميائية لكل عينة.

2.2.V.التقدير الكمي للفلافونيدات باستخدام جهاز UV-visible :

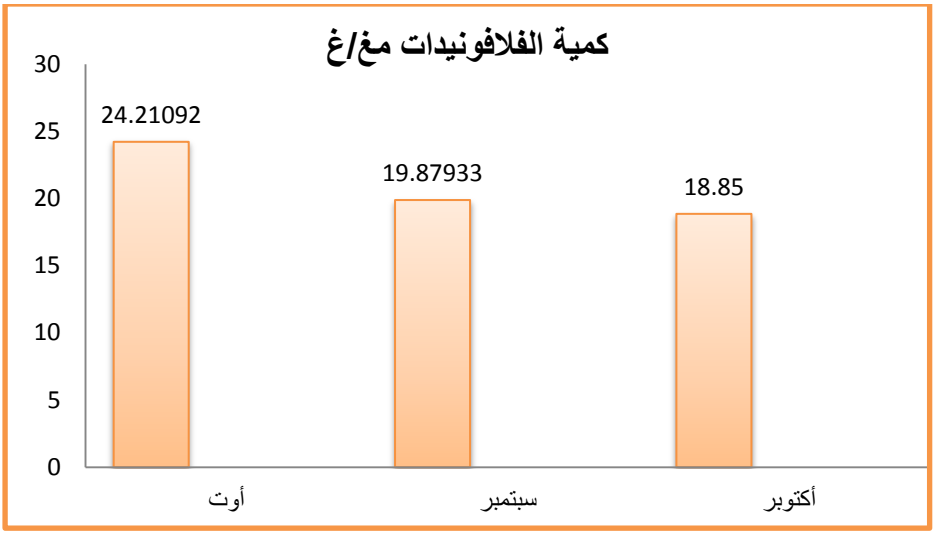
من نتائج الامتصاصية لمحاليل المحضرة و بحسابات رياضية و من علاقة المنحنى القياسي لروتين نجد تركيز الفلافونيدات الكلية للمستخلصات و يمكننا حساب الكمية المكافئة لـ1غ من المستخلص، من خلال المعادلة التالية:

$$Y= 14.493x+0.034$$

و الجدول الآتي يوضح كمية الفلافونيدات لمكافئة غرامي :

الجدول V.3: *يمثل قيم الامتصاصية و كمية الفلافونيدات في كل عينة.*

العينة	أوت	سبتمبر	أكتوبر
التركيز مغ/مل	2	2	2
الامتصاصية	1.086667	0.898333	0.853667
الكمية مغ/غ	24.21092	19.87933	18.85201
SD	0.217384	0.213703	0.134765



الشكل.V.3 *: كمية الفلافونيدات بالمغ مكافئ لروتين / غ من وزن المستخلص.*

- **تفسير النتائج :**

من خلال النتائج الموضحة في الشكل(3) و التي تمثل كمية الفلافونيدات المتواجدة في كل عينة لوحظ أن كمية الفلافونيدات متقاربة في ما بينها حيث قدرت في شهر أوت (24.21092±0.217384) مغ/غ أما في شهر سبتمبر قدرت بـ (19.87933±0.213703) مغ/غ أما في شهر أكتوبر قدرت بـ (18.85201±0.134765) مغ/غ وهذا راجع إلى اختلاف المنتوج .

3.2.V.التقدير الكمي للفلافانول باستخدام جهاز UV-visible :

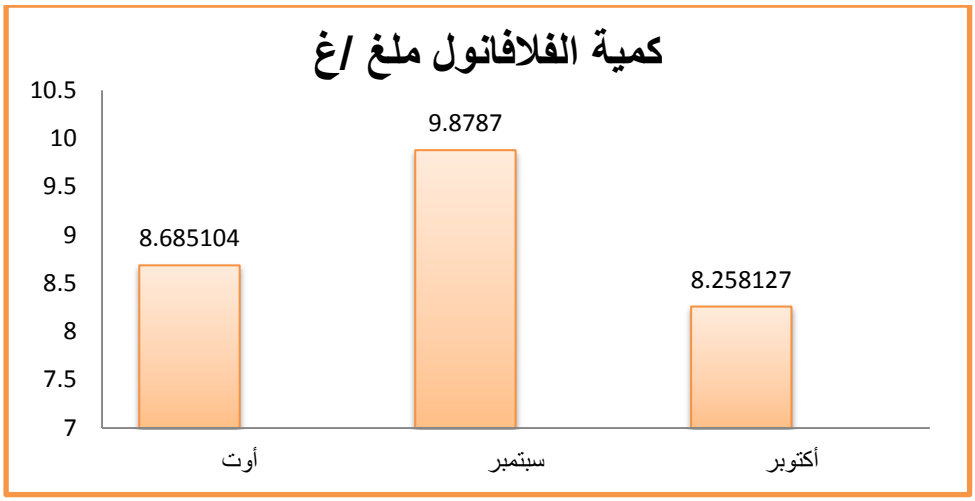
من نتائج الامتصاصية للمحاليل المحضرة و بحسابات رياضية و من علاقة المنحنى القياسي لكرستين نجد تركيز الفلافانول الكلية للمستخلصات و يمكننا حساب الكمية المكافئة لـ1غ من المستخلص، من خلال المعادلة التالية:

$$Y= 22.90X+0.041$$

الجدول الآتي يوضح كمية الفلافانول لمكافئة غرامي :

جدول.4.V: *يمثل قيم الامتصاصية و كمية الفلافانول لكل عينة.*

العينة	أوت	سبتمبر	أكتوبر
التركيز ملغ/مل	3	3	3
الامتصاصية	0.637667	0.719667	0.608333
الكمية ملغ/غ	8.685104	9.8787	8.258127
SD	0.155643	0.056166	0.022235



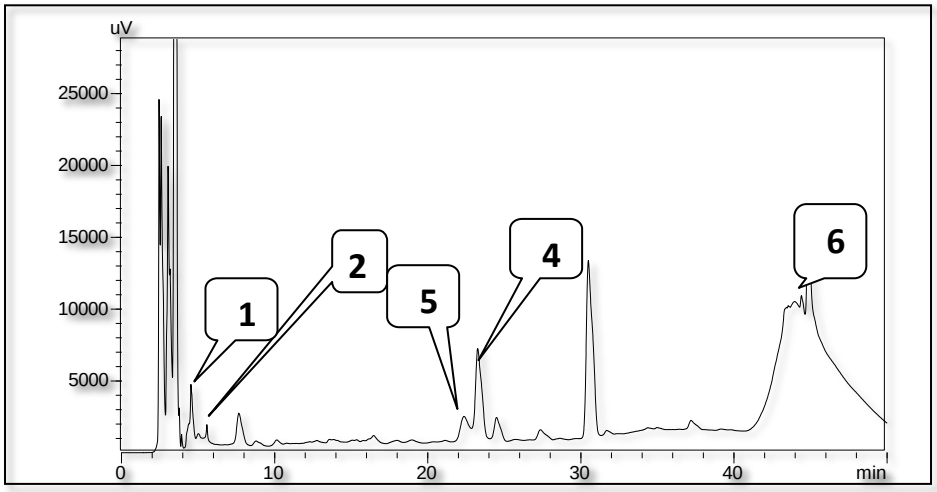
الشكل.4.V : *كمية الفلافانول بالمغ مكافئ لكرستين / غ من وزن المستخلص.*

- **تفسير النتائج:**

من خلال النتائج الموضحة في الشكل (4) و التي تمثل التقدير الكمي لفلافانول في كل مستخلص لوحظ أن كمية فلافانول متقاربة بين المستخلصات حيث سجلت أكبر قيمة في شهر سبتمبر قدرت بـ (9.8787±0.056166) ملغ/غ أما في شهر أوت قدرت بـ (8.685104±0.155649) مغ/غ وفي شهر أكتوبر وصلت قيمتها (8.258157±0.022235) ملغ /غ وهذا راجع إلى اختلاف الأشهر .

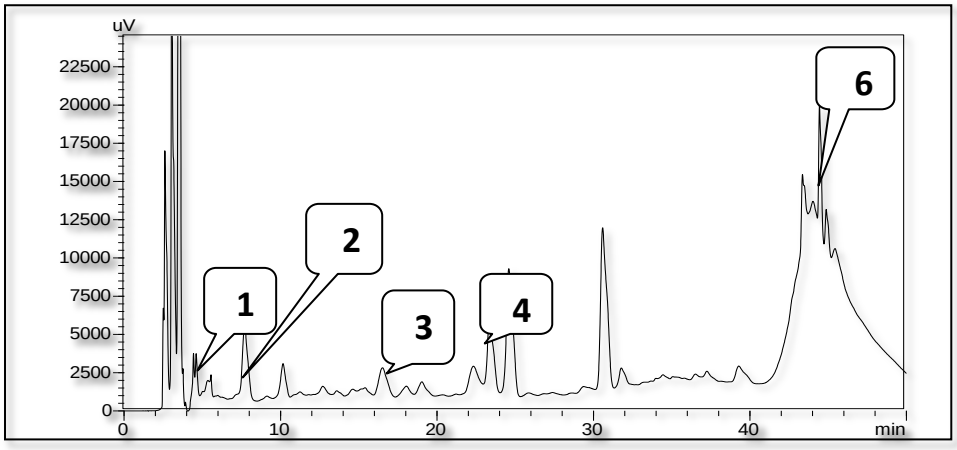
4.2.V.التقدير الكيفي للفينولات باستخدام HPLC:

الكروماتوغرام الناتج عن الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمستخلص شهر أوت موضح كما يلي:



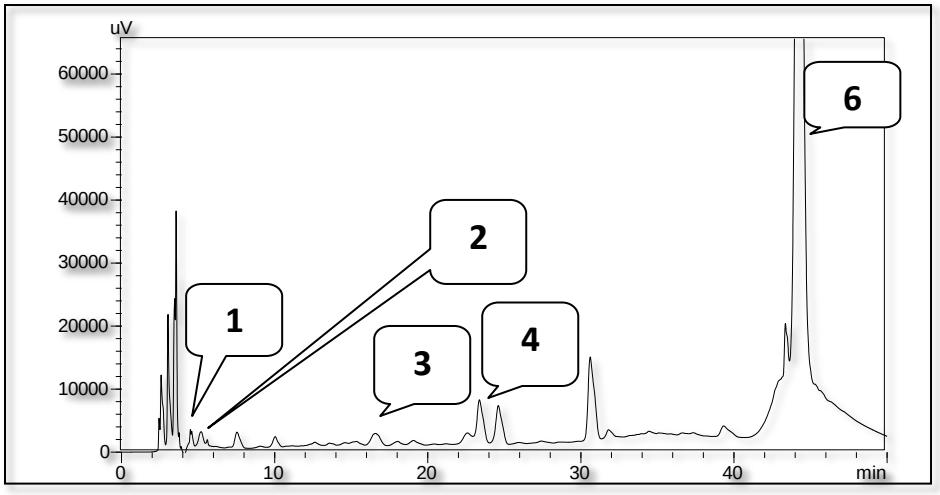
الشكل.V.5: *كروماتوغرام عينة أوت.*

الكروماتوغرام الناتج عن الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمستخلص شهر أكتوبر موضح كما يلي:



الشكل.V.6: *كروماتوغرام عينة أكتوبر.*

الكروماتوغرام الناتج عن الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمستخلص شهر سبتمبر موضح كما يلي:



الشكل.V.7: *كروماتوغرام عينة سبتمبر.*

من خلال الكروماتوغرام تبين أن المستخلصات تحوي العديد من المركبات، حيث تم تحديد 5 مركبات في كل عينة من خلال مقارنة زمن مكوثها مع المركبات المرجعية و الجدول التالي يوضح المركبات الموجودة.

جدول V.5: *يمثل المركبات الفينولية المتواجدة في كل عينة.*

رقم المركب	المركبات الفينولية	زمن المكوث المرجعي min	زمن المكوث لعينة أوت	زمن المكوث لعينة أكتوبر	زمن المكوث لعينة سبتمبر
1	حمض الاسكوربيك	4.21	4.39	4.43	4.49
2	حمض الغاليك	5.23	5.57	5.35	5.19
3	حمض الكافييك	16.3	/	16.51	16.58
4	حمض بيوكومارين	23.95	23.25	23.35	23.36
5	الفانيلين	21.46	21.13	/	/
6	الكرستين	45.047	44.93	45.43	45.64

يمكن القول أن العينات الثلاثة تحتوي على نفس المركبات الفينولية المرجعية تقريبا لكن كميتها تختلف باختلاف مساحة القمم حيث يتواجد الكريستين بكمية اكبر في العينات الثلاثة مقارنة بالمركبات الأخرى.

V.3.الفعالية المضادة للأكسدة :

V.3.1.الفعالية المضادة للأكسدة الكلية CAT:

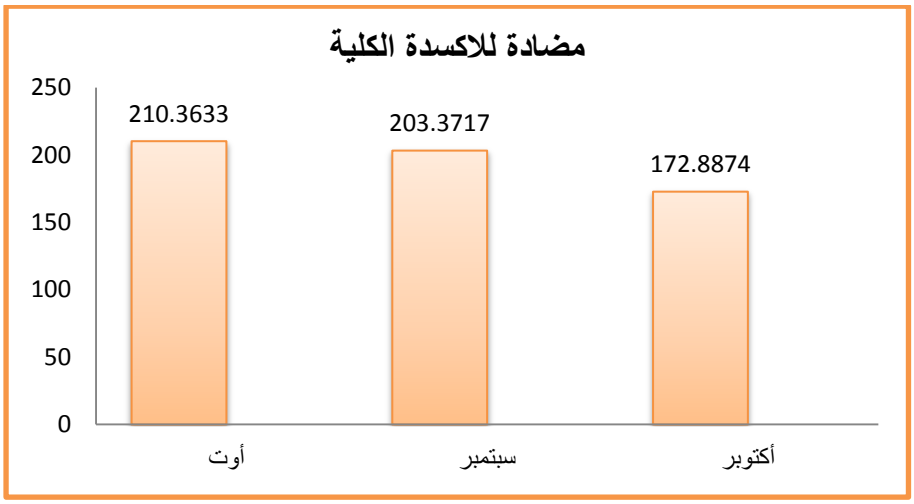
من نتائج الامتصاصية لمحاليل المحضرة و بحسابات رياضية و من علاقة المنحنى القياسي لحمض الغاليك تم تقييم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية CAT للمستخلصات و يمكننا حساب الكمية المكافئة لـ1غ من المستخلص، من خلال المعادلة التالية:

$$y=1.8314x-0.0014$$

الجدول الآتي يوضح قيم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية لمكافئة غرامي :

جدول.V.6: *يمثل قيم الامتصاصية و النشاطية المضادة للأكسدة الكلية CAT.*

العينة	أوت	سبتمبر	أكتوبر
التركيز مغ/مل	0.9	0.9	0.9
الامتصاصية	0.345333	0.333809	0.283563
قيم اختبار النشاطية CAT	210.3633	203.3717	172.8874
SD	5.437787	0.92675	1.526829



الشكل.V.8: *نتائج اختبار تقييم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية CAT .*

- **تفسير النتائج:**

أظهرت النتائج المدونة في الشكل و التي تعبر عن نتائج اختبار تقييم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية بعدد الملغرامات الموافقة لحمض الغاليك لكل غرام من مستخلص حيث قدرت قيمة القدرة الكلية للأكسدة في عينة شهر أوت ب (210.3633±5.437787) مغ/غ و شهر سبتمبر ب (203.3717±0.92675) مغ/غ أما في شهر أكتوبر (172.8874±1.526829) مغ/غ.

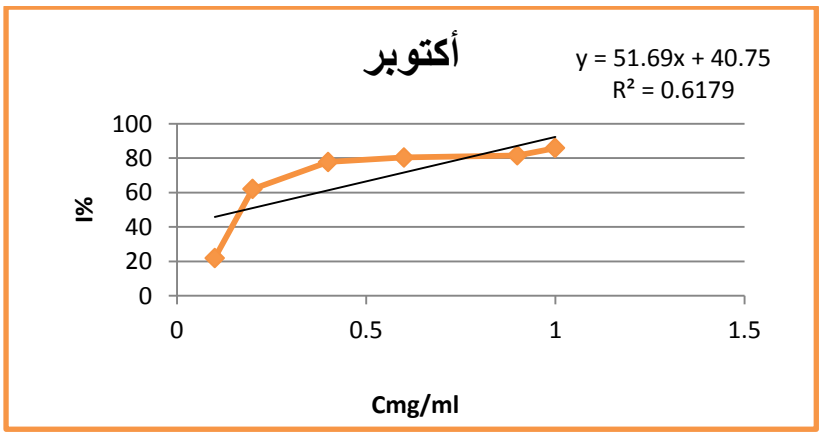
ويتضح من خلال النتائج المتحصل عليها أن هناك علاقة طردية بين محتوى مستخلصات المركبات الفينولية و القدرة الكلية المضادة للأكسدة.

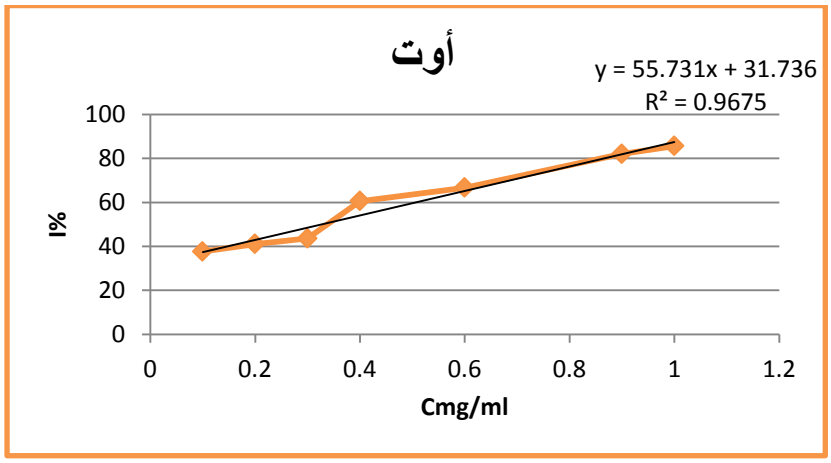
V.2.3.نتائج القدرة التثبيطية للجذر الحر DPPH :

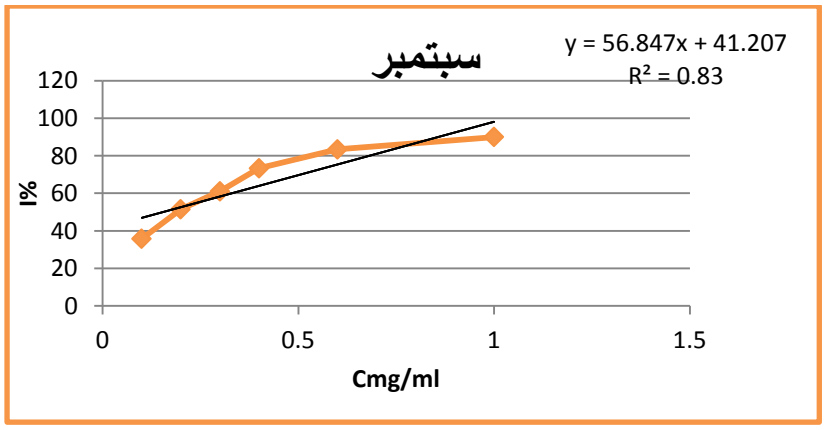
من خلال المنحنيات التي تمثل منحنيات النشاطية للعينات المدروسة في تثبيط الجذر الحر DPPH و التي من خلالها تحسب قيمة IC_{50} للعينات علما أن القيمة الأقل لها تعني التأثير التثبيطي الأفضل، أظهرت أن كل من المستخلصات الإيثانولي و الشاهد حمض الأسكوربيك تثبط الجذر الحر DPPH بشكل يتناسب طرديا مع الزيادة في التركيز.

جدول V.7: *يمثل قيم IC_{50} لكل مستخلص.*

العينة	سبتمبر	أوت	أكتوبر
IC_{50}	0.174173	0.327831	0.178951
SD	0.019346	0.028971	0.005388







الشكل V.9: *يمثل منحنيات النشاطية في تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة التراكيز.*

- **تفسير النتائج:**

من دراسات سابقة أثبتت أن كلما قلت قيمة IC_{50} زادت الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص ومن خلال نتائج الجدول التي تتراوح بين مابين (0.174-0.327) مغ/مل حيث كانت أعلى فعالية للأكسدة في شهر سبتمبر حيث وصلت قيمتها إلى (0.174173±0.019346) أما عن شهر أكتوبر (0.178951±0.005388) وأقل قيمة في شهر أوت قدرت بـ(0.327831±0.028971) مغ/مل .

نلاحظ أن قيم IC50 لجميع العينات كانت اكبر مقارنة بحمض الاسكوربيك يمكن القول أن جميع العينات تملك فعالية مضادة للأكسدة أكبر من المركب المرجعي وهذا راجع إلى كمية الفينولات المتواجدة في كل عينة.

V.3.3.الفعالية المضادة للأكسدة طريقة FRAP :

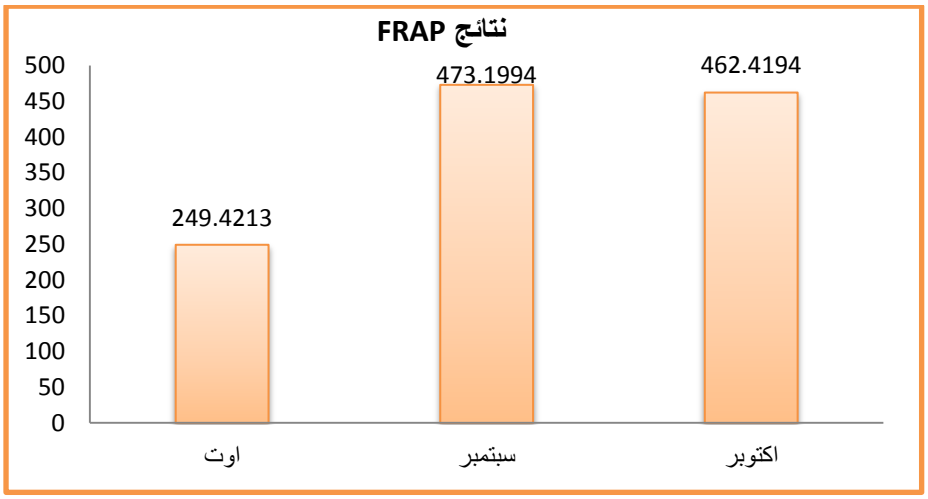
من نتائج الامتصاصية لمحاليل المحضرة و بحسابات رياضية و من علاقة المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك تم تقييم النشاطية المضادة للأكسدة FRAP للمستخلصات و يمكننا حساب الكمية المكافئة لـ1غ من المستخلص، من خلال المعادلة التالية:

$$y= 1.9249x+0.0039$$

الجدول الآتي يوضح قيم النشاطية المضادة للأكسدةFRAP لمكافئة غرامي :

***جدول V.8** : يمثل قيم الامتصاصية و النشاطية المضادة للأكسدة FRAP لمكافئة غرامي.*

العينة	أوت	سبتمبر	أكتوبر
التركيز ملغ/مل	0.9	0.9	0.9
الامتصاصية	0.436	0.82366	0.805
قيم اختبار النشاطيةFRAP	249.4213	473.1944	462.4194
SD	1.201601	0.881734	1.154461



***الشكل .V.10** : نتائج إختبار FRAP.*

- **تفسير النتائج:**

أظهرت النتائج المدونة في الشكل 10 و التي تعبر عن نتائج اختبار تقييم النشاطية المضادة للأكسدة FRAP بعدد الملغرامات الموافقة لحمض الاسكوربيك لكل غرام من مستخلص حيث قدرت قيمة FRAP في عينة شهر أوت بـ (249.4213±1.201601) مغ/غ و في شهر سبتمبر قدرت بـ (479.1944±0.881734) مغ/غ أما في شهر أكتوبر بـ (462.4194±1.154461) مغ/غ من هنا نلاحظ أن القدرة الإرجاعة لـ FRAP تتناسب عكسيا مع كمية الفلافونيدات .

V.4.الفعالية البيولوجية:

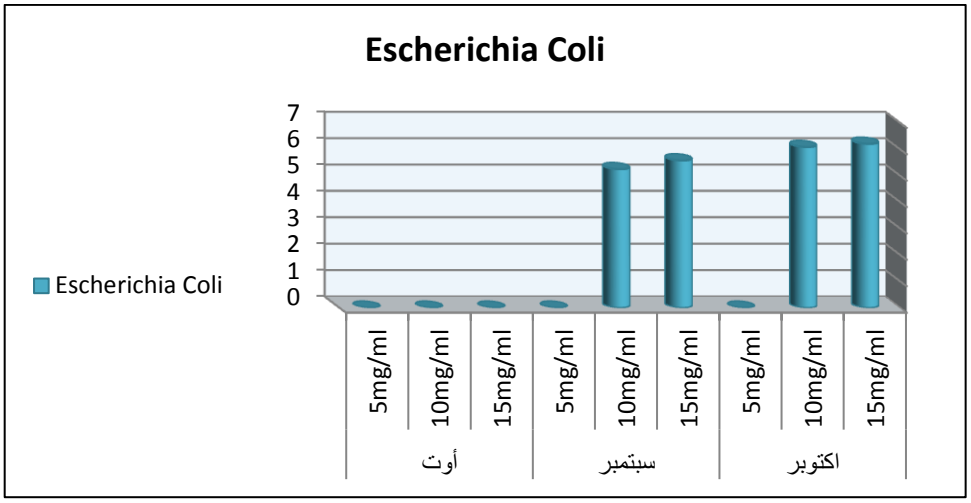
بعد الزرع و الحضن لمدة 24 ساعة، نقوم بقياس قطر التثبيط حول الأقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة للمستخلصات.

***جدول V.9** : يمثل أقطار التثبيط لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة للعينات.*

العينة / نوع بكتيريا	أوت			سبتمبر			اكتوبر		
	5mg/ml	10mg/ml	15mg/ml	5mg/ml	10mg/ml	15mg/ml	5mg/ml	10mg/ml	15mg/ml
Escherichia Coli	0	0	0	0	5.25	5.58	0	6.09	6.21
Staphylococcs Blanc	0	5.44	5.52	0	5.31	5.53	0	5.46	5.85
Pseudomonas	0	5.29	5.81	0	0	6.11	6.66	7.5	8.38

V.4.1.تحليل النتائج Escherichia Coli:

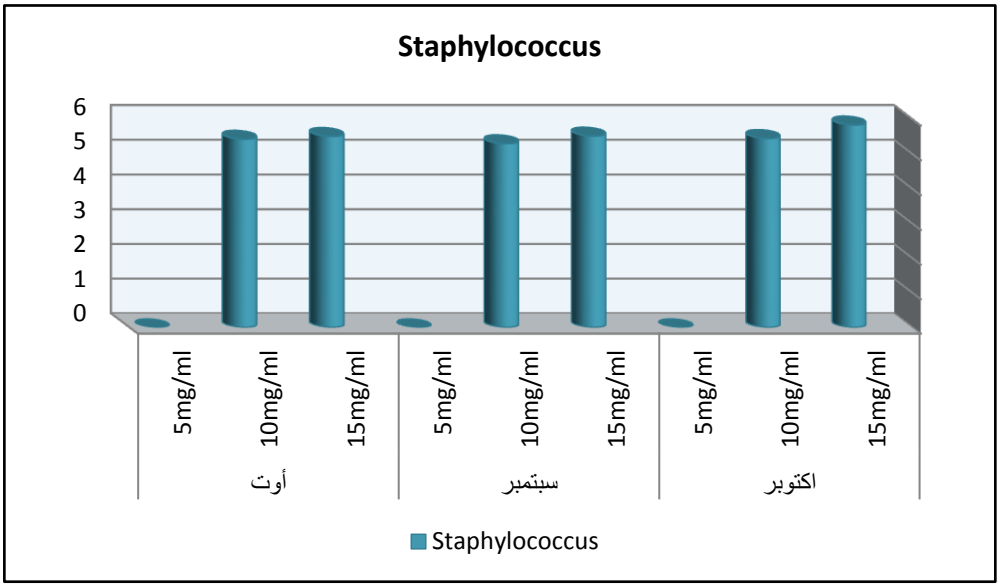
مستخلص شهر أوت لم يظهر أي أقطار في كل التراكيز أما مستخلصات شهر سبتمبر فظهرت أقطار في كل من التراكيز 10 ملغ/غ و 15 ملغ/غ وصلت أقطارها إلى 5.25 ملم 5.58 ملم على التوالي و بالنسبة لمستخلص أكتوبر فطهرت في نفس التراكيز السابقة قدرت أقطارها بـ 6.09 ملم و 6.21 ملم على التوالي المخطط التالي يلخص نتائج Escherichia Coli:



الشكل V.11. *: يوضح درجة الكبت لكل مستخلص لـ Escherichia Coli.*

V.4.2. تحليل نتائج Staphylococcs Blanc :

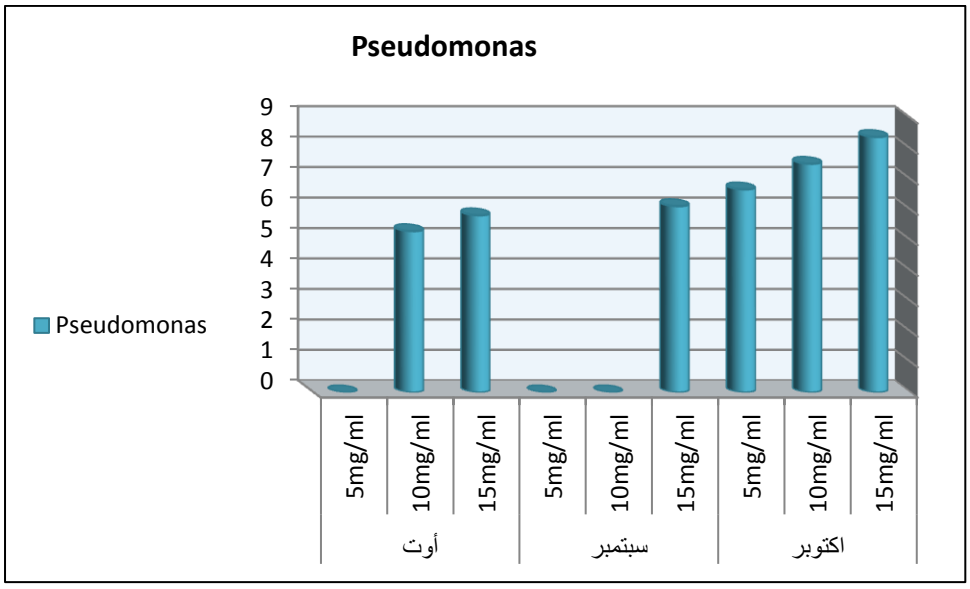
بالنسبة لـStaphylococcs Blanc لم تعطي أي فعالية في التراكيز الضعيفة إما بالنسبة لتراكيز القوية فأعطت نتائج ضعيفة تتراوح قيمتها ما بين 5.31 و 5.85ملم، في كل مستخلص.



الشكل V.12. *: يوضح درجة الكبت لكل مستخلص لـ Staphylococcs Blanc.*

3.4.V. تحليل نتائج Pseudomonas :

مستخلص شهر أوت لم يعطي أي قطر في تركيز الضعيفة أما بالنسبة لتراكيز الأخرى فأعطت قيم ضعيفة جدا في تركيز 10 مغ/مل و 15 مغ/مل وصلت أقطارها إلى 5.29 ملم و 5.81 ملم و في شهر سبتمبر أعطى في تركيز 15 ملغ/مل قدرت النتيجة بـ 6.11ملم أما في شهر أكتوبر فظهرت النتيجة في التراكيز الثلاثة 5 مغ/مل و 10 مغ/مل و 15 مغ/مل أعطت الأقطار التالية على التوالي (6.66 و7.5 و8.38) ملم .



***الشكل 13.V** : يوضح درجة الكبت لكل مستخلص لـ Pseudomonas .*

نتيجة عامة

من خلال النتائج المتحصل عليها من دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات نستنتج إن كلما زادا التركيز زادا قطر التثبيط وان مستخلص شهر أكتوبر كانت له فعالية اكبر بالنسبة للمستخلصات الأخرى.

خاتمـــــــة

تعد القناوية *Abelmoschus esculentus* من النباتات التي تتميز عن بقية المحاصيل لأخرى بثمارها فهي مرغوبة بدرجة كبيرة عند الإنسان، و لهذا قمنا بدراسة إختبار فعالية المركبات الفينولية المتواجدة فيها ضد البكتيريا و المضادة للأكسدة .

تم في هذه الدراسة إستخلاص المركبات الفينولية من ثمار نبات القناوية لثلاثة أشهر مختلفة (أوت ، سبتمبر، أكتوبر)، حيث اتبعنا طريقة النقع في مذيب عضوي غير قطبي كخطوة أولى للتخلص من الليبيدات ومن ثم النقع في مذيب عضوي قطبي (إيثانول80%) فكان مردود الاستخلاص في شهر أوت 15.3174 و في شهر سبتمبر6.6276 و في شهر اكتوبر 10.492 و تعتبر هذه القيم مقبولة .

قدرت كمية كل من الفينولات و الفلافونيدات و الفلافانول بإستخدام جهاز الأشعة فوق بنفسجية المرئية و استعمال الكاشف الفولين و طريقة كلوريد الألمنيوم و كذلك اسيتات الصوديوم على الترتيب حيث أظهرت النتائج أن القيم متقاربة في ما بينها.

و لتحديد المركبات الفينولية المتواجدة في كل عينة استخدامنا جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC حددنا عدة مركبات فينولية متواجدة في العينات لكن بكميات متفاوتة .

و في ما يخص الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات استعملنا ثلاث طرق وهم اختبار CAT و اختبار DPPH و اختبار FRAP، و قد بينت النتائج أن النشاطية معتبرة للمستخلصات فيما يخص CAT أظهرت أن مستخلص شهر أوت له فعالية اكبر قدرت بـ (5.4377 ±210.3633) مغ/غ أما عن اختبار FRAP اظهر أن مستخلص شهر سبتمبر له فعالية اكبر قدرت بـ (± 1944 .473 0.8817) مغ/غ أما عن اختبار DPPH فنلاحظ أن قيم IC50 لجميع العينات كانت اكبر مقارنة بحمض الاسكوربيك.

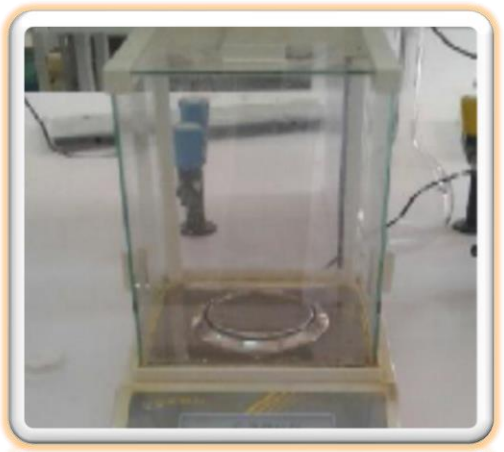
أما عن دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات تمت بالاختبار على أنواع مختلفة من البكتيريا حيث أظهرت فعالية اكبر عند التراكيز القوية خاصة عند جنس *Pseudomonas* وقد كانت عينة شهر أكتوبر لها فعالية ضد البكتيريا أقوى من العينات الأخرى.

وفي الأخير نأمل مستقبلا بإجراء طرق إستخلاص وتحليل مختلفة و متطورة من أجل تثمين هذه النبتة.

ملاحـــــق

الملحق 01: الأجهزة المستعملة.

جهاز تبخير الدوراني



ميزان حساس

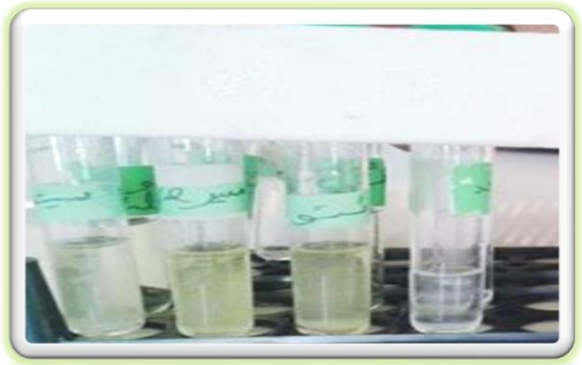
جهاز UV-visible

pH-méter

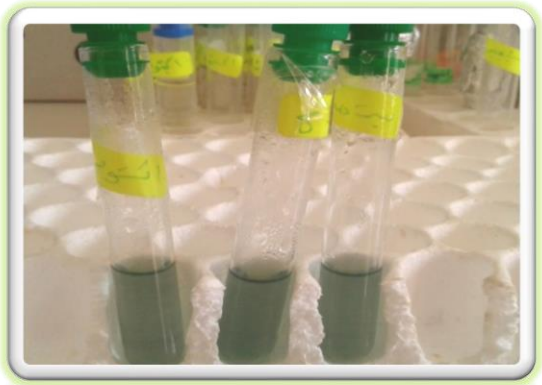
جهاز HPLC

الملحق 02: نتائج الدراسة الفيتوكيميائية.

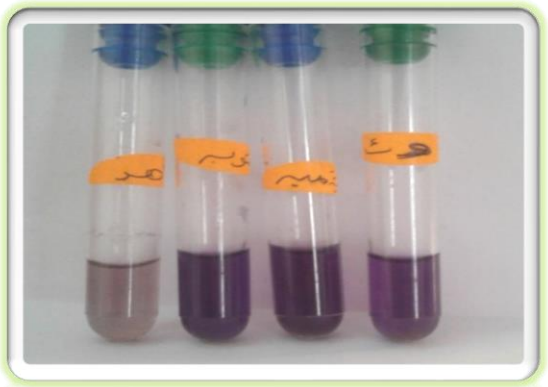
الكشف عن الفينولات



الكشف عن الفلافونيدات



مضادة للاكسدة الكلية CAT



مضادة للاكسدة FRAP

الملحق 03: الأجهزة المستعملة في الدراسة البيولوجية.

معقمة

حمام مائي

حاضنة

قدم قنوية

الملحق 04: نتائج HPLC لعينات .

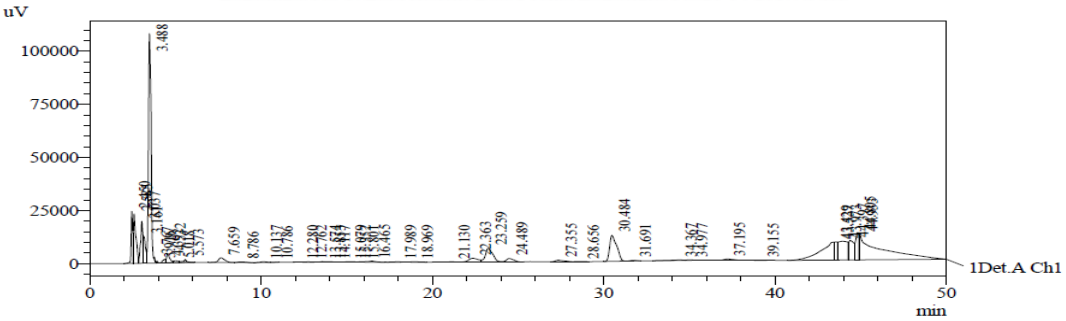
عينة شهر أوت :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar d'EL Oued
مخبر الموارد الصحراوية ترقيتها وتكنولوجيتها
Laboratoire de Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes

Sample Information

Acquired by	: Admin
Sample Name	: Et.Bachira.Ou
Sample ID	: Et.Bachira.Ou
Vail#	:
Injection Volume	: 20 uL
Data Filename	: Et.Bachira.Ou
Method Filename	: Noumia21 mc
Batch Filename	:
Report Filename	: dis0.lcr
Date Acquired	: 26-04-2017 1
Data Processed	: 26-04-2017 1

Chromatogram
Et.Bachira.Out C:\LabSolutions\Data\Founas\Et.Bachira.Out.26-04-2017.49.lcd



1 Det.A Ch1 / 268nm

PeakTable

Detector A Ch1 268nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.450	153612	24517	3.011	8.512
2	2.585	240239	23331	4.709	8.100
3	3.037	186608	19790	3.658	6.871
4	3.161	103111	12621	2.021	4.382
5	3.488	1155956	108088	22.660	37.526
6	3.767	2693	997	0.053	0.346
7	3.916	3756	863	0.074	0.299
8	4.392	17808	1659	0.349	0.576
9	4.532	56075	4375	1.099	1.519
10	5.018	17453	888	0.342	0.308
11	5.573	21203	1448	0.416	0.503
12	7.659	57410	2227	1.125	0.773
13	8.786	9629	331	0.189	0.115
14	10.137	8766	371	0.172	0.129
15	10.786	1069	61	0.021	0.021
16	12.280	2333	104	0.046	0.036
17	12.762	4332	170	0.085	0.059

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
18	13.574	3399	227	0.067	0.079
19	13.853	3337	203	0.065	0.070
20	14.117	1305	118	0.026	0.041
21	15.079	2638	150	0.052	0.052
22	15.352	3303	190	0.065	0.066
23	15.801	2643	161	0.052	0.056
24	16.465	18314	528	0.359	0.183
25	17.989	5943	176	0.116	0.061
26	18.969	5939	185	0.116	0.064
27	21.130	1822	95	0.036	0.033
28	22.363	66819	1752	1.310	0.608
29	23.259	192305	6475	3.770	2.248
30	24.489	48084	1663	0.943	0.577
31	27.355	24331	711	0.477	0.247
32	28.656	3200	106	0.063	0.037
33	30.484	350214	12323	6.865	4.278
34	31.691	7633	322	0.150	0.112
35	34.367	13274	254	0.260	0.088
36	34.977	5517	208	0.108	0.072
37	37.195	19577	633	0.384	0.220
38	39.155	1788	76	0.035	0.026
39	43.429	472919	8442	9.271	2.931
40	43.537	97627	8561	1.914	2.972
41	43.973	319945	8813	6.272	3.060
42	44.397	185146	9203	3.629	3.195
43	44.805	174177	12716	3.414	4.415
44	44.933	1028079	11901	20.153	4.132
Total		5101335	288035	100.000	100.000

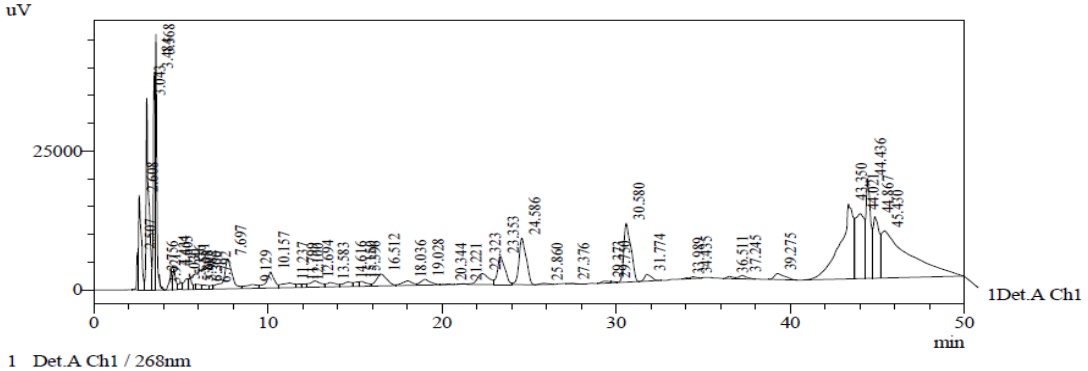
عينة شهر أكتوبر:

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar d'EL Oued
مخبر الموارد الصحراوية ترقيتها وتكنولوجيتها
Laboratoire de Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes

Sample Information

Acquired by	: Admin
Sample Name	: Et.Bachira.Oc
Sample ID	: Et.Bachira.Oc
Vail#	:
Injection Volume	: 20 uL
Data Filename	: Et.Bachira.Oc
Method Filename	: Noumia21 mc
Batch Filename	:
Report Filename	: dis0.lcr
Date Acquired	: 25-04-2017 1
Data Processed	: 25-04-2017 1

Chromatogram
Et.Bachira.Oct C:\LabSolutions\Data\Founas\Et.Bachira.Oct.25-04-2017.47.lcd



1 Det.A Ch1 / 268nm

PeakTable

Detector A Ch1 268nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.507	31628	6711	0.561	2.454
2	2.608	186517	16999	3.306	6.216
3	3.043	368040	34477	6.523	12.607
4	3.484	273968	39213	4.855	14.339
5	3.568	256524	45986	4.546	16.815
6	3.756	1944	704	0.034	0.258
7	3.921	1272	325	0.023	0.119
8	4.434	35241	3749	0.625	1.371
9	4.603	41908	3731	0.743	1.364
10	5.030	17978	1228	0.319	0.449
11	5.356	35748	1929	0.634	0.706
12	5.551	24264	2285	0.430	0.835
13	5.808	7837	883	0.139	0.323
14	5.982	15962	916	0.283	0.335
15	6.300	18433	775	0.327	0.283
16	6.792	10000	654	0.177	0.239
17	7.697	175574	5391	3.112	1.971

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
18	9.129	32391	685	0.574	0.250
19	10.157	85469	2753	1.515	1.007
20	11.237	42363	837	0.751	0.306
21	11.799	10964	625	0.194	0.228
22	12.100	10383	620	0.184	0.227
23	12.694	50050	1118	0.887	0.409
24	13.583	30300	773	0.537	0.283
25	14.616	29267	818	0.519	0.299
26	15.150	16429	800	0.291	0.292
27	15.396	26097	864	0.463	0.316
28	16.512	88288	2106	1.565	0.770
29	18.036	33563	811	0.595	0.297
30	19.028	39963	1042	0.708	0.381
31	20.344	3613	112	0.064	0.041
32	21.221	2938	134	0.052	0.049
33	22.323	89779	1967	1.591	0.719
34	23.353	150567	5077	2.668	1.856
35	24.586	240939	8367	4.270	3.060
36	25.860	6722	209	0.119	0.076
37	27.376	2814	106	0.050	0.039
38	29.373	11289	376	0.200	0.137
39	29.750	4098	247	0.073	0.090
40	30.580	298406	10587	5.289	3.871
41	31.774	34265	1237	0.607	0.452
42	33.989	1857	171	0.033	0.063
43	34.435	8784	334	0.156	0.122
44	36.511	9843	391	0.174	0.143
45	37.245	20000	618	0.354	0.226
46	39.275	43732	1068	0.775	0.391
47	43.350	744309	13478	13.191	4.928
48	44.021	403207	11676	7.146	4.269
49	44.436	335013	17960	5.937	6.567
50	44.867	267346	11078	4.738	4.051
51	45.430	964614	8480	17.096	3.101
Total		5642499	273480	100.000	100.000

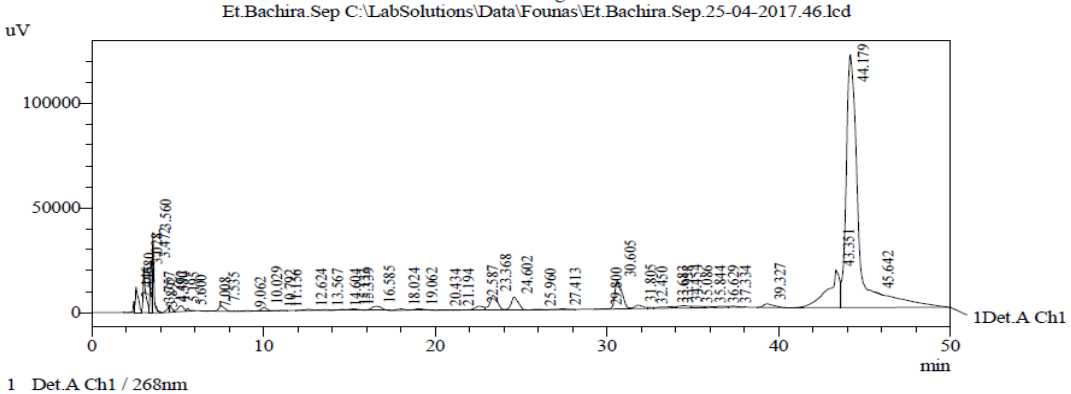
عينة شهر سبتمبر:

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar d'EL Oued
مخبر الموارد الصحراوية ترقيتها وتكنولوجيتها
Laboratoire de Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes

Sample Information

Acquired by	: Admin
Sample Name	: Et.Bachira.Se
Sample ID	: Et.Bachira.Se
Vail#	:
Injection Volume	: 20 uL
Data Filename	: Et.Bachira.Se
Method Filename	: Noumia21 mc
Batch Filename	:
Report Filename	: dis0.lcr
Date Acquired	: 25-04-2017 1
Data Processed	: 25-04-2017 1

Chromatogram
Et.Bachira.Sep C:\LabSolutions\Data\Founas\Et.Bachira.Sep.25-04-2017.46.lcd



1 Det.A Ch1 / 268nm

PeakTable

Detector A Ch1 268nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.446	31151	5371	0.333	1.774
2	2.580	139584	12253	1.491	4.047
3	3.028	221348	21893	2.364	7.231
4	3.472	179911	24450	1.922	8.075
5	3.560	229916	38357	2.456	12.669
6	3.757	3208	1112	0.034	0.367
7	3.892	1588	429	0.017	0.142
8	4.492	32861	3469	0.351	1.146
9	4.580	27650	3178	0.295	1.050
10	5.195	68141	2772	0.728	0.915
11	5.600	14340	1300	0.153	0.430
12	7.008	2384	139	0.025	0.046
13	7.535	60721	2533	0.649	0.837
14	9.062	7568	263	0.081	0.087
15	10.029	37997	1680	0.406	0.555
16	10.792	1330	74	0.014	0.024
17	11.156	1851	105	0.020	0.035

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
18	12.624	16874	539	0.180	0.178
19	13.567	9250	349	0.099	0.115
20	14.604	11824	444	0.126	0.147
21	15.133	10946	576	0.117	0.190
22	15.339	16383	648	0.175	0.214
23	16.585	79151	1917	0.845	0.633
24	18.024	22566	654	0.241	0.216
25	19.062	28182	767	0.301	0.253
26	20.434	3560	138	0.038	0.046
27	21.194	3233	129	0.035	0.043
28	22.587	67239	1808	0.718	0.597
29	23.368	209544	7084	2.238	2.340
30	24.602	179025	6154	1.912	2.033
31	25.960	8972	256	0.096	0.085
32	27.413	16464	370	0.176	0.122
33	29.800	2497	95	0.027	0.031
34	30.605	385731	13387	4.120	4.422
35	31.805	58801	1701	0.628	0.562
36	32.450	10285	538	0.110	0.178
37	33.683	38229	736	0.408	0.243
38	33.958	13959	831	0.149	0.275
39	34.454	47749	1171	0.510	0.387
40	35.086	33741	811	0.360	0.268
41	35.844	17160	595	0.183	0.196
42	36.629	25207	645	0.269	0.213
43	37.334	20110	610	0.215	0.202
44	39.327	70282	1707	0.751	0.564
45	43.351	888459	18027	9.491	5.954
46	44.179	6001416	120602	64.107	39.833
47	45.642	3171	105	0.034	0.035
Total		9361563	302772	100.000	100.000

تطرقنا في هذا البحث إلى الدراسة الكيميائية والبيولوجية لمستخلصات ثمار نبات القناوية *Abelmoschus esculentus* (أوت، سبتمبر، أكتوبر) عن طريق النقع في الايثانول 80%، وذلك بعد التخلص من الليبيدات بالهكسان، ثم التقدير الكمي للمركبات الفينولية في المستخلصات بطريقة Singleton-Rossi والتي تعتمد على مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية، و بالتقدير النوعي فقد تم تحديد المركبات المستخلصات باستخدام HPLC.

أما بالنسبة للفعالية المضادة للأكسدة فقد قمنا بإتباع الاختبارات الكيميائية (DPPH, FRAP, CAT) وقد أظهرت هذه الاختبارات فرق في قيم النشاطية للمستخلصات الثلاثة.

وفي ما يخص الفعالية البيولوجية وجدنا أن مستخلص شهر أكتوبر أبدى تأثير تثبيطي ضد البكتيريا للسلالات الثلاثة، وأكثرهم حساسية *Pseudomonas* إذ رسم عندها قطر تثبيط قدره 8.38 mm.

الكلمات المفتاحية: نبات القناوية *Abelmoschus esculentus* ، المركبات الفينولية، مضادات الأكسدة، الفعالية البيولوجية.

Ce travail a été consacre à l'étude chimique et biologique des extraits des fruits d'Abelmoschus esculentus (Aout, Septembre, Octobre) par l'immersion à l'éthanol après l'élimination des lipides par l'hexane, puis nous avons fait une estimation quantitative des composées Phénoliques des extraits par la méthode de Singleton-Rossi qui est basée sur la spectroscopie UV – VIS, et une estimation qualitative en utilisant l'HPLC afin de déterminer les composées des extraits .

En ce qui concerne l'activité antioxydant nous avons effectué des tests chimiques qui ont montré la différence entre les valeurs de l'activité des trois extraits.

Pour l'activité biologique nous avons trouvé que l'extrait du mois d'Octobre donne une influence inhibitrice contre les trois germes bactériens, la Pseudomonas est la plus sensible entre eux, elle fait un diamètre d'inhibition de 8.38 mm.

Mots clés : Abelmoschus esculentus, les composées phénoliques, antioxydants, activité biologique.