رقم التسلسل:
رقم الترتيب:

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي

كلية العلوم الدقيقة

مذكرة تخرج لنيل شهادة

ماستر أكاديمي

شعبة: **علوم المادة**

قسم: **الكيمياء**

تخصص: **كيمياء عضوية**

من إعداد: **فريال غريسي علوي**

ليلى رايسة

الموضوع:

الدراسة الكيميائية لمختلف مساحيق الثوم التجارية

لجنة المناقشة:

د.رشيدة زواري أحمد	أستاذ محاضر ب	جامعة الشهيد حمة لخضر - الوادي	رئيسا
د.حنان دباش	أستاذ محاضر أ	جامعة الشهيد حمة لخضر - الوادي	مؤطرا
د.نعيمة بن شيخة	أستاذة تعليم عالي	جامعة الشهيد حمة لخضر - الوادي	مناقشا

السنة الجامعية: 2021/2020

بسم الله الرحمن الرحيم

شكر وتقدير

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

الحمد لله رب العالمين الذي أحيا قلوب العارفين بنور معرفته وأحيا نفوس العابدين بنور عبادته هو العادل الذي لا يجوز في حكمه.

نتقدم بالشكر الجزيل للأستاذة الفاضلة والمشرفة على هذا العمل الاستاذة " **دباش حنان**" التي قدمت لنا يد العون ولم تبخل علينا بتوجيهاتها الخاصة التي أفادتنا في موضوعنا طوال فترة هذا العمل فلها منا جزيل الشكر وفائق الاحترام والتقدير.

كما نتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذة "**بن شيخة نعيمة**" التي ساهمت في انجاز هذا العمل.

وإلى كل من ساعدني من قريب أو من بعيد على إتمام هذا العمل.

إهداء

إلى من قال فيهما الرحمن:

(وَاخْفِضْ لَهُمَا جَنَاحَ الذُّلِّ مِنَ الرَّحْمَةِ وَقُل رَّبِّ ارْحَمْهُمَا كَمَا رَبَّيَانِي صَغِيرًا)

إلى من دعائهما سر نجاحنا وحنأنهما بلسم جراحنا

إلى الوالدين العزيزين أطال الله في عمريهما وجعلهما شمعة تنير حياتنا. ورحم الله من تحت الثرى

إلى التي كانت لي خير معين طوال حياتي الدراسية، أمي أطال الله في عمرها.

إلي كل العائلة والإخوة والأخوات وكل من ساندنا في إعداد هذه الدراسة

ولو بدعاء

إلى جميع أفراد العائلة

إلى من رافقونا مشوار الجامعة و إلى من أسدوا لنا بنصائحهم وكانت صداقتهم بصيص أمل إلى رفقاء الدرب الذين أسهموا في تشجيعنا

نهدي هذا العمل والنجاح ونحمد الله العلي القدير الذي

كان معنا في كل لحظة صعبة مررنا بها، راجين منه تعإلى أن يوفقنا لما فيه خير لنا

إن شاء الله

ليلى، فريال

الملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى استخلاص وتقدير بعض مركبات الأيض الثانوي لمسحوق الثوم التجاري (*Allium Sativum L*).

اعتمدنا كخطوة أولى الكشف عن نواتج الأيض الثانوي في المستخلص الميثانولي يليه التقدير الكمي لكل من الفينول والفلافونيدات باستخدام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية المرئية وكذا تقدير النشاطية المضادة للأكسدة عن طريق اختبار (DPPH),(CAT) . وأخيرا النشاط المضاد للبكتيريا. أظهرت اختبارات الكشف الكيميائي لنبات الثوم (مجفف) تواجد المواد الفعالة والمتمثلة في القلويدات, التانينات, التربينات, الستيرولات, الصابونين, الفلافونيدات, الغليكوسيدات و.الفينولات. وهي عائلات كيميائية مهمة في النبات. كما ظهرت فعالية مضادة للأكسدة و التي تمت بطريقتين.

الكلمات المفتاحية: مسحوق الثوم التجاري، نبات الثوم, نواتج الأيض الثانوي (المركبات الثانوية), DPPH, CAT.

Résumé:

Cette étude vise à extraire et quantifier certains métabolites secondaires de la poudre d'ail (Allium Sativum L) commerciale.

Dans un premier temps, nous avons effectué des tests préliminaires sur des métabolites secondaires dans l'extrait méthanolique, puis, dans un deuxième temps, procédé à la détermination quantitative des pHénols et des flavonoïdes par spectroscopie UV-visible, ainsi que l'estimation de l'activité antioxydante par tests (DPPH) et (CAT), et enfin, l'évaluation de l'activité antibactérienne. Des tests de balayage chimique de la plante de l'ail (séché) ont montré la présence de substances actives, en l'occurrence, les alcaloïdes, les tanins, les terpènes, les stérols, les saponines, les flavonoïdes, les glycosides et les pHénols. Ce sont des familles chimiques importantes dans la plante, et l'activité antioxydante a été démontrée via deux méthodes.

Mots-clés: Poudre d'ail commerciale, plante d'ail, (*Allium Sativum L*), métabolites secondaires (composés secondaires), DPPH, CAT.

قائمة المواضيع

فهرس المحتويات:

العنوان	الصفحة
شكر وعرفان	
الاهداء	
مقدمة	1
الفصل الأول	
عموميات حول نبات الثوم	
1- عموميات حول نبات الثوم	3
1-1-تعريف النباتات الطبية	3
1-2-مكونات النباتات الطبية	3
1-3- التعريف بنبات الثوم	3
1-4-لمحة تاريخية عن نبات الثوم	3
1-5-التصنيف النباتي للثوم	4
1-6-بعض التسميات الشائعة لنبات الثوم (*Allium Sativum L*)	4
1-7- الصفات الشكلية لنبات الثوم	5
1-8-التركيب الكيميائي للثو	5
1-9-الأشكال التجارية لمستحضرات الثوم	6
2- التركيب الكيميائي لفصوص الثوم (*Allium Sativum L*)	7
3- سمية نبات الثوم (*Allium Sativum L*)	8
4- الفعالية البيولوجية لنبات الثوم (*Allium Sativum L*)	8
4-1- الإستعمالات الشعبية لنبات الثوم (*Allium Sativum L*)	8
4-2- استعمالات الطب الحديث لنبات الثوم (*Allium Sativum L*)	8
الفصل الثاني	
مواد الأيض الثانوي	

1- مدخل	11
2- القلويدات Les alcaloïdes	11
2-1- تعريف القلويدات	11
2-2- تواجد وتوزيع القلويدات	12
2-3- دور القلويدات وفائدتها بالنسبة للنبات	12
3- عديدات الفينول Les polyphénols	12
3-1- تعريف عديدات الفينول	12
3-2- أقسام عديدات الفينول	13
3-3- أهمية ودور عديدات الفينول في النباتات	13
4- الفلافونيدات Les flavonoïdes	13
4-1- تعريف الفلافونيدات:	13
4-2- أهمية الفلافونيدات بالنسبة للنبات	14
5- التاتينات (العفصيات) Les tanins	14
6- السيتيرولات Les stéroïdes	14
7- الصابونين.Saponines	15

الفصل الثالث

الإجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة

1- الإجهاد التأكسدي	17
2- الجذير الحرة	17
2-1-تعريف الجذير الحرة	17
2-2- مصادر الجذير الحرة	17
2-3 أنواع الجذير الحرة	18
2-4- أضرار الجذير الحرة	18
3- مضادات الأكسدة	19
3-1- تعريف مضادات الأكسدة	19

2-3-مصادر مضادات الأكسدة	19
4- الفعالية الميكروبية (البكتيريا)	20
4-1- تعريف البكتيريا	20
4-2- التصنيف	20
4-3- الأنواع البكتيرية المستعملة في الدراسة	20
الفصل الرابع: الطرق والوسائل	
مقدمة	24
1- المواد و الطرق	24
1-1. المادة النباتية	24
1-2. الأدوات و الوسائل المستعملة	24
1-3. الاستخلاص	26
1-4. طريقة حساب المردود	27
1-5. تقدير درجة الحموضة (pH) و تقدير درجة الناقلية (EC)	27
2- الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية	27
2-1- تقدير المركبات الفينولية الكلية	29
2-2 - التقدير الكمي للفلافونيدات	30
2-3- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	31
3-الاختبارات البيولوجية	34
3-1-النشاط المضاد للميكروبات(البكتيريا)	34
3-2- الخطوات العملية لهذا الاختبار	34
الفصل الخامس النتائج والمناقشة	
1- حساب المردود و بعض الخصائص الفيزيائية	38
2- نتائج الكشف الأولي للمستخلص الميثانولي لنبات (*Allium Sativum L*)	38

3-التقدير الكمي	41
4- الفعالية المضادة للأكسدة	43
5- تقييم الفعالية الميكروبية للمستخلص الكحولي للنبات	45
6-نتائج تحليل المستخلصات الميثانولية بواسطة الأشعة تحت الحمراء IR	49
6-1- تحليل الأطياف المتحصل عليها	55
الخاتمة	53
قائمة المراجع	56
الملاحق	67

فهرس الجداول:

الرقم	العنوان	الصفحة
جدول (1-1)	بعض الأسماء المستخدمة عالميا لنبات الثوم *(Allium Sativum L)*	04
جدول (1-2)	التركيب الكيميائي لفصوص الثوم *(Allium Sativum L)*	07
جدول(1-3)	مختلف الانواع الأكسيجينية النشطة	18
جدول (3-2)	تصنيف البكتيريا *Escherichia coli*	21
جدول (3-3)	تصنيف البكتيريا *StapHyloccus aureus*	21
جدول (3-4)	تصنيف البكتيريا *StapHylococcus hominis*	22
الجدول (4-1)	الأنواع المختبرة للميكروبات واختصارها	34
الجدول (5-1)	المردود وبعض الخصائص الفيزيائية للمستخلص الميثانولي لمسحوق الثوم التجاري*(Allium Sativum L)*	38
الجدول (5-2)	نتائج الكشف الأولي عن بعض العائلات الكيميائية في نبات*(Allium Sativum L)*	38
الجدول (5-3)	الألوان المتحصل عليها في الكشف الاولي عن بعض العائلات الكيميائية لمستخلص الثوم التجاري *(Allium Sativum L)*	39
الجدول (5-4)	قيم الإمتصاصية وكمية الفينولات للمستخلصات المدروسة	41
الجدول (5-5)	قيم الإمتصاصية وكمية الفلافونيدات للمستخلصات المدروسة	42
الجدول (5-6)	قيم الفعالية المضادة للأكسدة CAT	43
الجدول (5-7)	نتائج تثبيط الجذر الحر DPPH في المستخلص الكحولي لنبات الثوم	44
الجدول (5-8)	قيم IC_{50} كل مستخلص	45

الجدول (5-9)	نتائج الفعالية الميكروبية للمستخلص الكحولي للنبات	46
الجدول (5-10)	أقطار التثبيط للسلالات البكتيرية المستعملة على مستخلصات النبات الثوم المجفف للأنواع التجارية المستخدمة في الدراسة بوحدة مم	47
الجدول(5-11)	أقطار التثبيط للسلالات البكتيرية المستعملة على مستخلص مؤسسة القميري مع المضاد الحيوي بوحدة مم	47
الجدول (5-12)	أقطار التثبيط للسلالات البكتيرية المستعملة على مستخلص مؤسسة عائشة مع المضاد الحيوي بوحدة مم	48
الجدول (5-13)	أقطار التثبيط للسلالات البكتيرية المستعملة على مستخلص المسحوق غير المعلب (en vrac)مع المضاد الحيوي بوحدة مم	48
الجدول (5-14)	المجموعات الوظيفية في المستخلصات الثلاثة	50

فهرس الأشكال:

الرقم	العنوان	الصفحة
الشكل (1-1)	بصلة نبات الثوم	03
الشكل (1-2)	البنية التشريحية لفصوص الثوم	05
الشكل (1-3)	نبات الثوم كاملا	05
الشكل(2-1)	معادلة تحضير الفينول	13
الشكل(2-2)	الهيكل الأساسي للفلافونيدات	14
الشكل (2-3)	الصيغة العامة للتانينات	14
الشكل(2-4)	الصيغة العامة للصابونين	15
الشكل (3-1)	مقطع تحت المجهر للجذير الحرة	17
الشكل (3-2)	أقسام مضادات الأكسدة،	19
الشكل (4-1)	مراحل استخلاص المستخلص الميثانولي للمسحوق.	24
الشكل (4-2)	مخطط العمل المنجز على المستخلص الميثانولي للمسحوق.	24
الشكل (4-3)	طريقة الاستخلاص للعينات الثلاثة	26
الشكل (4-4)	منحنى قياسي لحمض الغاليك	30
الشكل (4-5)	منحنى قياسي لمحاليل الكريستين	31
الشكل (4-6)	منحنى قياسي لمحاليل الغاليك	32
الشكل (4-7)	المستخلصات بعد إضافة المولبيدات	32
الشكل (4-8)	التحول الذي يحدث للجذر الحر	33
الشكل(4-9)	المستخلصات بعد إضافة محلول DPPH	33
الشكل (4-10)	أهم خطوات اختبار النشاط المضاد للبكتيريا	35
الشكل(5-1)	منحنيات النشاطية للمستخلصات في تثبيط الجذر الحر DPPH	44

الشكل (5–2)	طيف الأشعة تحت الحمراء للمستخلص الميثانولي لمؤسسة عائشة	49
الشكل (5–3)	طيف الأشعة تحت الحمراء للمستخلص الميثانولي للمسحوق غير المعلب	49
الشكل (5–4)	طيف الأشعة تحت الحمراء للمستخلص الميثانولي لمسحوق مؤسسة القميري	50

قائمة الاختصارات :

الرمز	باللغة الاجنبية
DPPH	**2,2- dipHényl -1- picrylhydrazyl**
CAT	**Capacité Antioxydants Total**
DMSO	**Diméthylsulfoxyde**
ROS	**Reactive Oxygène speries**
IC50	**Inhibition concentration sur 50**
R%	**Rendement en %**
UV	**Ultra Violet**
A	**Absorbance**
nm	**Nanomètre**
ml	**Millilitre**
g	**Gramme**
mg	**Milligramme**
gµ	**Microgramme**
mg GAE/g E	**milligramme Equivalent Acide Gallique par gramme d'Extrait**
mg Qr/g E	**milligramme Equivalent Acide quercetin par gramme**
I%	**Pourcentage d'inhibitrice de radical DPPH**
λ	**Longueur d' onde**
%	**Pourcentage**
Gram (+)	**Gram positive stain**
Gram (-)	**Gram negative stain**

M	**Masse molaire**
UV-vis	**SpectropHotomètre ultra violet et visible**
pH	**Degré d' acidité**
E-Coli	**Escherichia coli**
HCl	**Hydro- chlorure**
NaOH	**Hydroxyde de sodium**
CHCl3	**Chloroforme**
H2SO4	**Acide sulfuriques**
FeCl3	**Chlorure de fer**
NH4OH	**Hydroxyde d'ammonium**
AG	**Acide Gallique**
AQ	**Acide Quercetin**
S.a	***StapHylococcus aureus***
S.h	***StapHylococcus hominis***
C	**Concentration**
C0	**Degré Celsius**
sµ	**Micro-siemens**
ATB	**Antibiotique**
IR	**Infrarouge**

مقدمة

مقدمة

اعتمد الإنسان مند القدم على الطبيعة من أجل توفير احتياجاته الأساسية كالغذاء، المأوى، من هنا نجد أن استخدام النباتات من طرف الإنسان كعلاج للأمراض قديما جدا **[1]**. حيث وجد في بلاد النيل كنايات هيروغرافية، تدل أن هناك نباتات عديدة استعملها المصريون القدامى، ومن أمثلة ذلك قشور الرمان لقتل الديدان المعوية، الأفيون للتخدير، الشاي الأخضر للتنبيه... فقد عرفت الحضارات القديمة استعمالا واسعا للنباتات الطبية في قارة آسيا خاصة الصين، الهند في الشرق الأوسط واليونان والرومان **[2]**.

بعد تطور العلم والدراسات في مجال النباتات الطبية، وجد أنها تحتوي على آلاف المركبات الكيميائية التي تؤثر على العمليات الوظيفية بجسم الإنسان، فالنبتة الوأحدة تحتوي على مجموعة من هذه المركبات، مما يعني أنها ستؤثر على أكثر من عملية وظيفية في الجسم، من هنا يكمن الفرق بين الأعشاب الطبية والأدوية، حيث تصنيع الأدوية يعتمد على عزل المركبات الكيميائية من النباتات، يعني أن تأثير النباتات الطبية هو أكثر شمولية، بينما تأثير الأدوية المصنعة مختص بعلاج مشكلة محددة، وبمقدار جرعات معروفة **[3]**.

الجزائر بلد غني بالنباتات المتنوعة، لاسيما الطبية منها، موزعة على بيئات مختلفة ومناخات متباينة وتضاريس عدة، لكل منها صفاتها وخصائصها، فهو يمتد جنوبا في العمق الصحراوي واسع المساحة و متعدد المناخات، ولا شك في أن لهذا النوع في المناخ والتربة الأثر البالغ في اختلاف الغطاء النباتي من منطقة إلى أخرى، وهذا ما جعل الجزائر تزخر بأنواع شتى من النباتات الطبية وبما لا يقل عن 3500 نوع **[4]**.

من بين هذه النباتات المهمة نبات الثوم، فهو مصدر غذائي رئيسي موطنه الأصلي يعود إلى آسيا الوسطى ويستخدم كتوابل في إفريقيا وأوروبا حيث كان معروفا كعلاج والطهي لدى المصريين القدامى ويحتوي كذلك على المواد الكيميائية النباتية كالبوليفينولات **[5]**.

خصصنا هذه الدراسة حول نبات الثوم المجفف التجاري ومن هذا المنطق تم اختيار ثلاثة أنواع من مسحوق الثوم المجفف التجاري من ولاية الوادي بالجزائر وكان الهدف معرفة محتواها من مواد فعالة ونشاطها المضاد للأكسدة ومدى فعاليتها بيولوجيا على بعض أنواع الفطريات والبكتيريا، لمعالجة ذلك تم تقسيم هذه الدراسة إلى:

- ✓ الفصل الأول: عموميات حول نبات الثوم *((Allium Sativum L L)*
- ✓ الفصل الثاني: مواد الأيض الثانوي
- ✓ الفصل الثالث: الإجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة
- ✓ الفصل الرابع: الطرق والوسائل
- ✓ الفصل الخامس: النتائج والمناقشة

الفصل الأول

عموميات حول نبات الثوم

1- عموميات حول نبات الثوم

1-1- تعريف النباتات الطبية:

هي التي تحتوي على مواد لها تأثير طبي، وقد أمكن حصر النباتات المستخدمة في العلاج الشعبي واستخلاص مكوناتها الفعالة حيث تتواجد إما في الأوراق أو السيقان أو الجذير أو الأزهار أو البراعم، وتكون لها القيمة الدوائية سواء كانت طازجة أو جافة أو مستخلصة جزئيا، وقد كانت هناك جهود كبيرة لدراسة طرق تكاثر وإنتاج النباتات الطبية، ويعرف أن قدماء المصريين كانوا أول من استخدم النباتات والأعشاب الطبية في مختلف المجالات الطبية والغذائية والصناعية [1]

1-2- مكونات النباتات الطبية:

- مكونات غير فعالة: وهي مواد أو مركبات ليس لها تأثير علاجي مثل: النشاء، السيليلوز والسكر.
- مكونات فعالة: وهي المركبات التي يرجع لها الأثر العلاجي الفعال للنبات وتسمى (المنتجات الفعالة) وقسمت إلى مجموعات اعتمادا على خواصها الطبيعية والكيميائية إلى: التربينات ومنها الزيوت الطيارة العطرية, القلويدات,الفينولات والتانينات.

تنسب النباتات الطبية من الوجهة النباتية إلى مجاميع ترتب ترتيبا تنازليا: شعبة – تحت شعبة – صف – رتبة –فصيلة –جنس – نوع إلى أن نصل إلى الاسم العلمي للنبات الطبي [2]

1-3- التعريف بنبات الثوم:

الثوم نبات عشبي من النباتات الحولية المعمرة تنتشر زراعته في جميع أنحاء العالم. يشيع استخدامه كتابل في الطبخ، وفي الطب الشعبي منذ القدم اشتق اسم الثوم (Garlic) من الساكسونية, حيث يعني النبات الشبيه بالرماح "gar" نسبة إلى شكل أوراقه كما أنه يدعى "البنسلين الروسي " نظرا لاستخدامه من قبل الجيش السوفييتي لمعالجة الجرحى [3]

1-4- لمحة تاريخية عن نبات الثوم:

الشكل (1-1): بصلة نبات الثوم [3]

تعتبر آسيا الوسطى الموطن الأصلي لنبات الثوم. وهناك اعتقاد أن السومريين (2100 ق م – 2600ق.م) استخدموا الثوم لخواصه الشافية للجروح وقاموا بنقله إلى الصين, ثم انتشر إلى اليابان وكوريا.

هذا ويعتقد مؤرخون آخرون أن أصل الثوم من الصين, وقد استخدمه قدماء المصريين للحفاظ على صحة وقوة العبيد [4].

وقد حاز نبات الثوم على مكانة عالية أيضا لدى الإغريق رغم تحريم دخول المعابد على من يتناولون الثوم. وقد كان الجنود الإغريق يتناولون الثوم قبل المعارك لتقويتهم كما ذكر أبقراط (سنة 370 قبل الميلاد) وصفة الثوم لمعالجة الطفيليات في الأمعاء وموصى به لتفريج المغص ومضاد للديدان وتنظيم الدورة الشهرية ودوار البحر, كما ذكر أهمية الثوم في حالات لدغ الأفاعي وفي حالات عضات الكلاب، [5]

1-5- التصنيف النباتي للثوم: [6]

- المملكة: النباتية Plantae
- تحت المملكة: النباتات الوعائية Tracheobionta
- فوق الشعبة: النباتات البذرية Spermatophyta
- شعبة: النباتات الزهرية MagnoliopHyta
- صف: وحيدات الفلقة Monocotyledon
- تحت صف: الزئبقيات Lilidae
- رتبة: الزئبقية Liliales
- الفصيلة: الزئبقية Liliaceae
- الجنس: Allium
- النوع: *(Allium Sativum L)*

1-6- بعض التسميات الشائعة لنبات الثوم *(Allium Sativum L)*

الاسم العلمي لنبات الثوم هو *(Allium Sativum L)* ,أما اسمه الشائع والمستخدم عامة هو الثوم [07] وهنالك العديد من الأسماء المستخدمة عالميا لنبات الثوم نلخص بعضها في الجدول (01)

الجدول (1-1) بعض الأسماء المستخدمة عالميا لنبات الثوم *(Allium Sativum L)* [08][09][10]

البلد	الاسم
بريطانيا	Garlic,Lasuna,Rasonam,Lasan, Seer Maharu,Vellulli,Vallai-pundu, Ullippoondu
فرنسا	Ail
بوركينا فاسو	Mooré – Gando, Layi, Dioula – Laii, Fulfuldé – Toumé
غانا	Twi – Gyene Kankan, Ga Adangbe – Aya, Hausa ,Tafarmuwa
مالي	Bambara –Tumé, Tamachek –Teskart
نيجيريا	Hausa – Tafárnúúwáá, Igbo – Oy Ayón, Ayún, Yoruba – Àlubósa, Ayúu

سينيغال	Wolof – Laji, Manding Bambara – Layi
توغو	Ewe – Ayo, Kabyè – Ayo,Moba,Gabdjak

1-7- الصفات الشكلية لنبات الثوم:

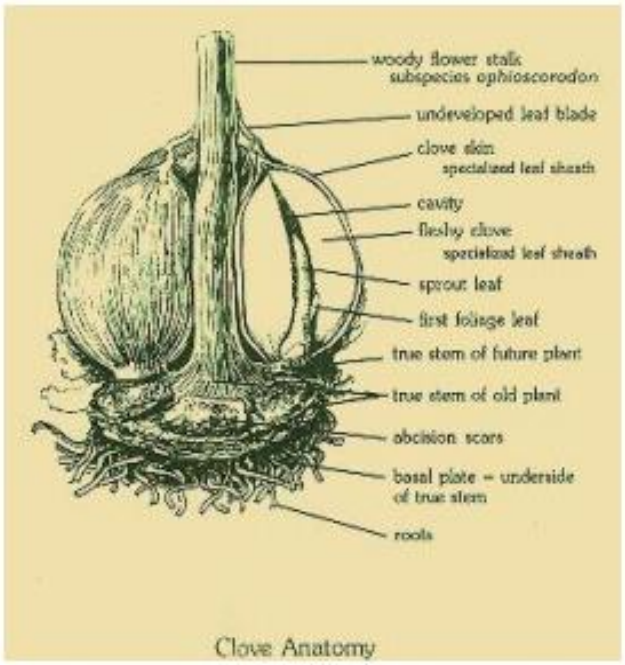
نبات الثوم هو نبات معمر يبلغ ارتفاعه 25-70 سم, ساقه منتصبة مورقة عند المنتصف بأوراق مستقيمة مسطحة حادة الرأس 4-25 مم.

- ✓ **الأزهار والثمار:** تحمل السوق الزهرية للثوم نورات خيمية صغيرة وكثيفة , وغالبا ما تتشكل البصيلات في النورات عوضا عن الأزهار العقيمة التي لا تنتج بذيرا،
- ✓ **البتلات** (petals) أطول من الأسدية stamens ذات لون زهري أو أبيض مخضر،
- ✓ **الجزء المستخدم** من نبات الثوم هو البصلة المركبة من عدد كبير من الفصوص المضمومة بين حراشف غشائية ومغلفة بقشرة خارجية بيضاء اللون على شكل كيس.

ويتكون الفص من ثلاث أوراق: كما موضح في الشكلين 01 و 02 أدناه:

- الورقة الخارجية الأولى وتسمى الورقة الحامية الجافة تصعب إزالتها،
- الورقة الثانية اللحمية البنية فتسمى ورقة التخزين وتختزن فيها نسبة 80% من المواد الغذائية.
- الورقة الثالثة فتسمى الورقة النابتة فهي

تنمو مع الأوراق الخضراء وتحميها عند إنبات الفصوص [11] [12]،



الشكل(1-2): البنية التشريحية لفصوص الثوم. [13]

الشكل (1-3): نبات الثوم كاملا[13]

1-8- التركيب الكيميائي للثوم:

يزن كل فص من الثوم حوالي 3-6 غ ويحتوي وسطيا على:

- 1 غ كربوهيدرات.
- 0.2 غ بروتين.
- 0.05 غ ألياف،
- 0.01 دهون،
- فيتامينات C,B2,B1,A

يرتبط فيتامين B1 (التيامين) مع الأليسين allicin ليشكل أليل تيامين سهل الإمتصاص في الأمعاء.

كما يحتوي الثوم على 10 أنواع مختلفة من السكاكر الطبيعية التي تشكل ربع مواده وهي تتضمن الفركتوز والغلوكوز والإينولين والأرابينوز، وحسب بعض الأبحاث, فإن الثوم هو أغنى الأطعمة بمادة الأدينوزين، [13]

بالمجمل تحتوي فصوص الثوم الطازج على ما يقارب: 60% ماء و32% كربوهيدرات و6.5% ألياف [14]

1-9- الأشكال التجارية لمستحضرات الثوم: [14] [15]

يتوفر الثوم تجاريا ضمن أربعة أشكال من المستحضرات التجارية، والتي تمت معالجتها للحصول على العديد من المركبات التي قد لا تتوفر في الثوم الطازج،

1-9-1-زيت الثوم المقطر Steam–distilled Garlic Oil

تحتوي هذه المستحضرات عادة على القليل فقط من الزيت الثابت الأساسي للثوم ضمن كميات كبيرة من الزيت النباتي ويعبر عادة عن عيارها بالكمية النظرية للثوم الخام الذي تم استخدامه لتقطير زيت الثوم.

يحتوي زيت الثوم على المركبات الكبريتية المنحلة في الزيت والمسؤولة عن الرائحة المميزة بينما لا يحتوي على أي من المركبات الكبريتية المنحلة في الماء.

1-9-2-زيت الثوم المنقع Garlic Oil Macerate

يتوفر نوعان من هذه المستحضرات في السوق وكلاهما يتواجد ضمن كبسولات جيلاتينية لينة (soft gelatin capsules)

- يتم تحضير النوع الأول من خلال مزج مسحوق الثوم المنكه مع الزيت النباتي, وتشابه محتوياته كبسولات مسحوق الثوم.
- بينما يتم تحضير النوع الآخر من خلال سحق الثوم الخام في الزيوت النباتية, يتميز هذا النوع برائحة مميزة كونه يحتوي على المركبات المنحلة في الزيت.

1-9-3-مسحوق الثوم Garlic Powder

لا يوجد فرق بين مسحوق الثوم الذي يباع في محلات البقالة ضمن التوابل وبين متممات الثوم المباعة في الصيدليات،

يدعي عادة المصنعون أن متممات مسحوق الثوم تزود الجسم بكميات كبيرة من الأللیسین, لكن هذا الإدعاء غير دقيق كون الأللیسین مركب عالي الفعالية وقليل الثباتية. تحتوي بعض هذه الكبسولات على الأللين مع أنزيم الأليناز واللذين يمكن أن ينتجا عند تعرضهما للماء في أنبوب الاختبار. لكن ما يحصل في جسم الإنسان مختلف كليا, إذ تمنع السوائل الهضمية حصول تفاعل تشكيل الأللیسین بسبب تخريبها لأنزيم الأليناز.

2- التركيب الكيميائي لفصوص الثوم*(Allium Sativum L)* [16]

إن نبات الثوم يحتوي على مواد كيميائية مختلفة النسب نلخصها في الجدول (1-2):

الجدول (1-2): التركيب الكيميائي لفصوص الثوم *(Allium Sativum L)*

المادة الكيميائية	نسبتها
القلويدات	4.21(mg/100g)
التانينات	3.54(mg/100g)
الفلافونيدات	5.56(mg/100g)
الصابونين	0.80(mg/100g)
الكاروتينات	0.64(mg/100g)
الستيرويدات	0.04(mg/100g)
الكردينوليدات	0.02(mg/100g)
البروتين الخام	15.33(mg/100g)
الدهون الخام	0.72(mg/100g)
الألياف الخامة	2.10(mg/100)
الرماد	4.08(mg/100)
الكربوهيدرات	73.22(mg/100g)
البوتاسيوم	10.19(mg/100g)
الكالسيوم	26.30(mg/100g)
الفسفور	10.19(mg/100g)
الحديد	5.29(mg/100g)
المغنزيوم	0.001(mg/100g)
الزنك	0.34(mg/100g)
المنغنيز	0.001(mg/100g)
الكوبالت	/
الرصاص	/
الحموضة	3.91%

حموضة قابلة للمعايرة	0.97%
الأملاح	2.39%

3- سمية نبات الثوم *(Allium Sativum L)*

إن إستخدام الثوم كخضراوات يخلو تماما من السمية [17], بينما أظهرت بعض الدراسات على الحيوانات وجود سمية حادة ومزمنة بجرعات عالية للغاية من مستحضرات الثوم [18]

كما أجريت دراسات السمية مع مستخلص الثوم المعمر، حيث ثبت أنها آمنة حتى مع الجرعات العالية أكثر من 10 غرام في اليوم [19].

4- الفعالية البيولوجية لنبات الثوم *(Allium Sativum L)*:

4-1- الإستعمالات الشعبية لنبات الثوم *(Allium Sativum L)*:

استعمالات نبات الثوم في الطب الشعبي غير محدودة، نذكر بعضها في هذه النقاط:

- يستعمل كعلاج للسعات النحل والحشرات حيث يدعك مكان اللسعة بفص ثوم لتخفيف ألم اللسعة كما يستخدم لتسكين ألم الأسنان وذلك بوضع فصوص ثوم مهروسة موضع الألم ويستخدم لمعالجة القشرة في فروة الرأس كما يستخدم عصير الثوم كمطهر للجروح العفنة والقروح [7].
- يستخدم الثوم على نطاق واسع لتجنب الإصابة بنزلات البرد، كما يعتبر قاتلا للفيروسات المسببة للبرد والرشح، وتناول الثوم يزيد من مناعة الجسم ضد الخلايا المرضية المسببة للزكام [20].
- استخدم المصريون الأوائل الثوم لعلاج الإسهال حيث وجدوا الوصفة الطبية على الجدران القديمة للمعابد يعود تاريخها 1500 ق م، أما الأطباء اليونانيون فقد استخدموه لعلاج الأمراض المعوية واليابانيون والصينيون القدماء لعلاج الصداع، إنفلونزا و التهاب الحلق والحمى والتهاب الأذن [21].

4-2- استعمالات الطب الحديث لنبات الثوم *(Allium Sativum L)*:

الثوم من أهم المنتجات الطبيعية لحماية نظام القلب و الأوعية الدموية حيث يقلل الثوم بشكل فعال من ارتفاع ضغط الدم بعدة آليات من خلال مقاومة الإجهاد التأكسدي وتثبيط الإنزيم المحول للأنجيوتنسين وزيادة أكسيد النيتروجين وكبريتيد الهيدروجين علاوة على ذلك حسنت معالجة مستخلص الثوم أنسجة القلب في نموذج الفئران [16]

- أظهرت الدراسات العملية أن الثوم يعمل كمضاد للسرطان خاصة سرطانات الجهاز الهضمي، حيث أن تناول الثوم بانتظام يقلل من خطر الإصابة بسرطان المريء والمعدة والقولون، وهذا بسبب التأثير المضاد للأكسدة للأليسين في تقليل تكوين مركبات مسرطنة في الجهاز الهضمي [22].
- لدى المستخلصات المائية للثوم فعالية كبيرة كمضادة للجراثيم [23]
- أجريت دراسة حول خاصية مضادة الأكسدة لنبات الثوم (النيء والمطبوخ) الثوم النيء أظهر فعالية مضادة للأكسدة مثل (H_2O_2,FRAP,DPPH) وبالمقارنة بين مستخلص

الثوم متعدد الفصوص ومستخلص الثوم ذي الفص الوأحد، يحتوي هذا الأخير على كمية أقوى من الفينول وأظهرت المركبات نشاطا مضادا للأكسدة [24]

الفصل الثاني

مواد الأيض الثانوي

1- مدخل:

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

تنتج المركبات الثانوية بكميات صغيرة، ويتوقف إنتاجها على العائلة، الجنس والنوع [3]،

المركبات الثانوية هي مجموعة من الجزيئات التي لديها العديد من الوظائف الهامة في النبات، حيث تلعب دورا مهما في تكيف النباتات لبيئتها، فهي تعمل بطريقة فعالة جدا تحمل النباتات لمختلف الإجهادات، ضد الجفاف و ضوء الأشعة الفوق البنفسجية وضد آكلات الإعشاب، وتثبيط الهجوم الممرض من البكتيريا والفطريات والحشرات المفترسة [4]،

في الوقت الحاضر العديد من هذه المركبات تستخدم في الطب، وتعتبر هذه الجزيئات هي أساس المكونات النشطة الموجودة في النباتات الطبية، والتي تمثل مصدرا كبير لمختلف العوامل العلاجية [1] [4]،

هناك أكثر من 200000 مركبات ثانوية، وتنقسم المركبات الثانوية وفقا إلى البنية الكيميائية المنتمية لها إلى ثلاث عائلات رئيسية:

- القلويدات.
- عديدات الفينول.
- التربينات [5].

2- القلويدات :

2-1- تعريف القلويدات:

اقترح العالم Meisser مصطلح قلويد لأول مرة سنة 1818 م [6]،

تعتبر القلويدات أحد أهم المنتجات الطبيعية التي ينتجها النبات الطبي[7].

القلويدات هي قواعد آزوتية معقدة التركيب ذات أصل نبات، تحتوي على عنصر النتروجين كعنصر أساسي مما يعطي الصفات القلوية لها[8]، معظم القلويدات يحتوي التركيب النباتي لها على مجموعات فعالة بها ذرة الأكسجين مثل المجموعة الهيدروكسيلية أو المجموعة الكيتونية، كما يحتوي الكثير منها في البنية التركيبية على حلقة غير متجانسة أو أكثر [9]،

قد يحتوي النبات أكثر من 100 من القلويدات المختلفة، إلا أن تركيزها لا يتجاوز 10 بالمائة من الوزن الجاف للنبات [8].

2-2- تواجد وتوزيع القلويدات:

لقد كان المصدر الرئيسي للقلويدات في الماضي النباتات الزهرية [10]، إلا أنه في الوقت الحاضر قد تم عزل الكثير من هذه المركبات من مصادر مختلفة مثل الحشرات والكائنات البحرية الدقيقة، هذا ولا يزال عدد القلويدات التي تم استخلاصها من النباتات الزهرية يفوق عدد القلويدات التي تم استخلاصها من المصادر الأخرى وتوجد القلويدات بكثرة عند مغلفات البذير، وخاصة عند ثنائيات الفلقة مقارنة بأحادية الفلقة، وتتوزع القلويدات في ثنائيات الفلقة في الفصائل التالية:

Papaveraceae الفصيلة الخشخاشية. Solanaceae الفصيلة الباذنجالية. Asteraceae الفصيلة المركبة ، Apocynaceaeالفصيلة الدفلية، Lamiaceaeالفصيلة الشفوية، Fabaceae الفصيلة البقلية. الفصيلة الزنبقية Lilaceae [9].

2-3- دور القلويدات وفائدتها بالنسبة للنبات:

القلويدات النباتية تلعب دور بيولوجيا وفيسيولوجيا هاما خلال فترات دورة الحياة النباتية، متمثلا في الفعالية الحيوية كمنظمات للنمو [10]. وتعتبر كمواد مخزنة للنتروجين ولمواد أخرى التي يحتاجها النبات خلال مراحل النمو، كما تلعب دور دفاعي للنبات لما تحتويه من مواد سامة بحيث تقيه من الحشرات وآكلات الأعشاب والكائنات الدقيقة، وعلاوة على ذلك القلويدات تحمي النباتات من التلف التي تسببها الأشعة فوق البنفسجية [8].

3- عديدات الفينول: Les polyphénols

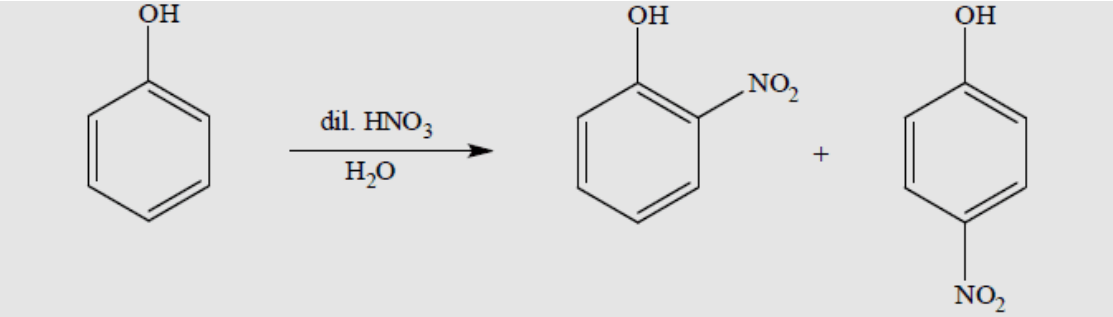
3-1- تعريف عديدات الفينول:

تشكل المركبات الفينولية حيزا كبيرا في حقل المنتجات الطبيعية، نظرا لكثرة عددها وتباين هيكلها النباتي [11]، وقد تم عزل والتعرف على أكثر من 8000 مركب فينولي وتم توزيعها في مختلف الأقسام بدلالة هيكلها الكربوني [12].

تعرف المركبات الفينولية على أنها مستقبلات ثانوية في النباتات، تتميز بنيتها الأساسية بوجود حلقة عطرية أو أكثر مرتبطة بعدة مجاميع هيدروكسيلية حرة [13] أو مرتبطة بمجاميع أخرى مثل الأستر، والإيثر، مثيل [5] والاختلاف في عدد الحلقات ونوع المجاميع المرتبطة بها يجعلها تنقسم إلى عدة مجاميع أهمها الأحماض الفينولية، الفلافونيدات حيث تمثل الفلافونيدات القسم الأكبر منها [14].

2-3- أقسام عديدات الفينول:

عديدات الفينول هي جزيئات تتكون من حلقة بنزين على الأقل تحوي مجموعة هيدروكسيل حرة أو مستبدلة يشترط فيها أن تكون مشتقة غير آزوتية وتصطنع الحلقة أو الحلقات من حمض الشيكيميك أو عديدات الاستيات [15]



الشكل(2-1): معادلة تحضير الفينول [15]

3-3- أهمية ودور عديدات الفينول في النباتات:

أظهرت العديد من الدراسات أن الفينولات ترتبط مع العديد من العمليات الفسيولوجية للنباتات. أهمها نمو الخلايا، تمايز الأعضاء،الإزهار والإثمار. [16]

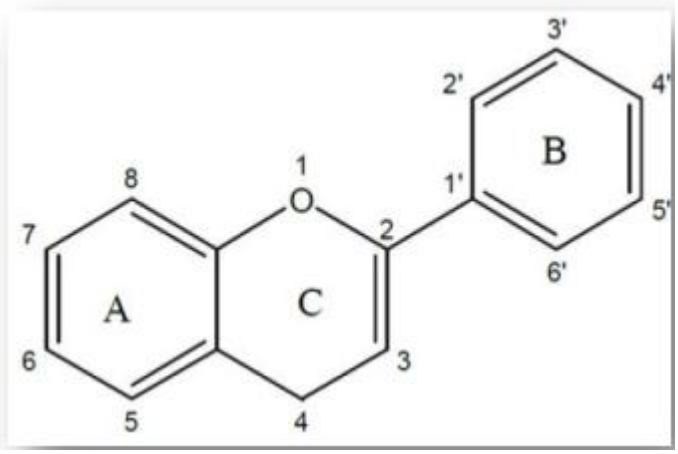
الفينولات هي عبارة عن أصبغة ومركبات عطرية، تمنح النباتات اللون والرائحة مما تؤدي إلى جذب الحشرات والطيور الملقحة، ومن الأدوار المعروفة أيضا للفينولات هي الحماية والوقاية من الأشعة فوق البنفسجية، كما أن لديها خصائص مضادة للفطريات ومضادة للجراثيم [12] [5] [17].

4- الفلافونيدات Les flavonoÏdes:

1-4- تعريف الفلافونيدات:

إن أول دراسة أجريت حول النشاط البيولوجي للفلافونيدات نشرت سنة 1936 من طرف عالم الكيمياء الحيوية والتي صنفها على أساس أنها فيتامين ب [18]« Albert szent –gyrgyi »

.والفلافونيدات عبارة عن عائلة واسعة من المركبات الفينولية التي ينتجها النبات تحتوي على أكثر من 60000 نوع، تملك بنية كيمائية مشتركة يتكون فيها الهيكل الكربوني من 15 ذرة كربون موزعة على حلقتين عطريتين سداسيتين مرتبطتين بحلقة غير متجانسة C تحتوي على ذرة الأكسجين Pyran او Pyron من الصيغة C6–C3–C6 [13].



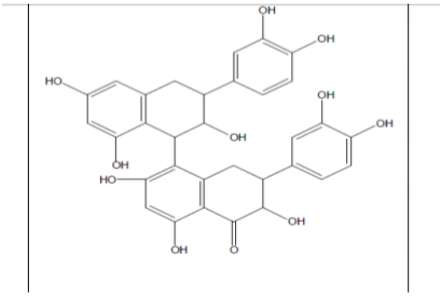
الشكل(2-2): الهيكل الأساسي للفلافونيدات

2-4- أهمية الفلافونيدات بالنسبة للنبات:

للفلافونيدات وظائف وأدوار عديدة عند النبات منها الحماية ضد الأشعة فوق البنفسجية وضد الأكسدة، الدفاع ضد مسببات الأمراض. كما يمكنها التحكم في نشاط الهرمونات المسؤولة عن النمو مثل الأكسينات. أيضا أهميتها في تلوين الأزهار والفواكه. ففي الأزهار تكون مسؤولة عن إعطاء اللون المميز الذي يكون بمثابة العامل المساعد على جلب مختلف ملقحات النباتات كذلك لها تأثيرات مضادة للفطريات والميكروبات والحشرات [20] [19] [6]

5- التانينات (العفصيات):

هو اسم عام لمركبات فينولية مبلمرة وتسمى بالمواد القابضة لأثرها الطبي في وقف الإسهال وهي قادرة على دبغ الجلود والمحافظة عليها من التعفن. وتعد التانينات مركبات ذات وزن جزئي يتراوح بين 500 إلى 3000 دالتون وهي ذات مصادر نباتية [21]



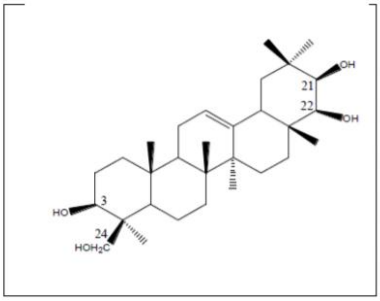
الشكل (2-3): الصيغة العامة للتانينات [22]

6- السيتيرولات:

السيتيرولات هي مركبات ستيرويدية أحادية وتعرف أيضا بالفيتوسيرولات، حيث تملك من 27 إلى 29 ذرة كربون وتوجد هذه المركبات بالأغذية النباتية، وكذلك الزيوت النباتية مثل زيت فول الصويا والمكسرات والحبوب ويوجد أكثر من 44 نوع من السيتيرولات[23]

7- الصابونين.Saponins

وهي مجموعة تشمل نواتج الأيض، حيث أن تركيبها الكيميائي عبارة عن اغليكون وله طبيعة التربينات والستيرويدات، وله طعم مر ولاذع واسمها مشتق من الاسم اللاتيني صابو وتعني رغوة و الشكل 3 يوضح الصيغة الكيميائية العامة للصابونين [25].



الشكل(2-4): الصيغة العامة للصابونين

الفصل الثالث

الإجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة

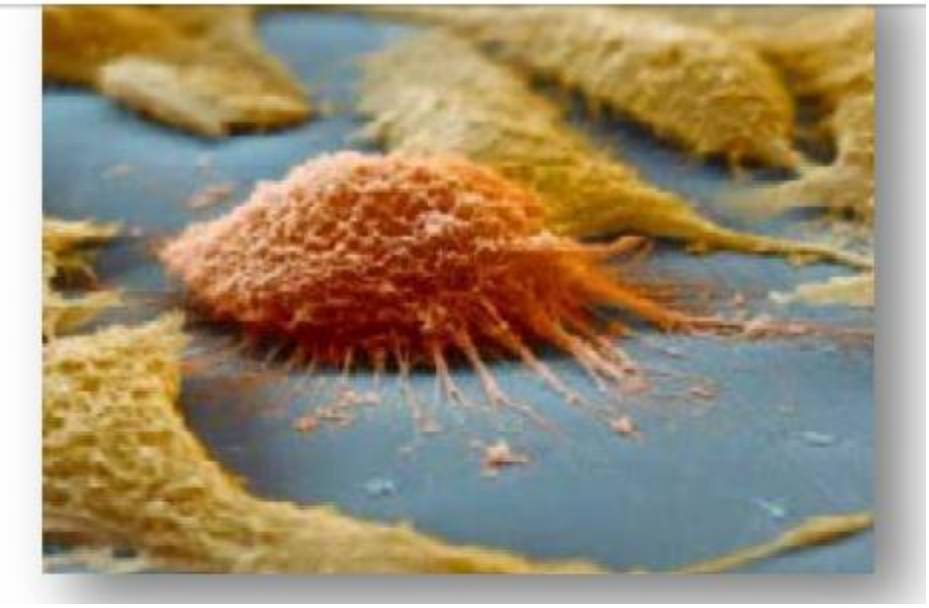
1– الإجهاد التأكسدي:

يعرف الإجهاد التأكسدي (Oxidative stress) في النظام البيولوجي على أنه اختلال في التوازن بين مضادات الأكسدة
ومولدات الأكسدة، وهذا الاختلال راجع إلى الإنتاج المفرط لمولدات الأكسدة و/أو نقص في مضادات الأكسدة[1]

2- الجذور الحرة:

2-1- تعريف الجذور الحرة:

الجذر الحر هو عبارة عن جزيء أو ذرة تحتوي على إلكترون غير مزدوج في مداره الخارجي، ويطلق بعض العلماء مصطلح العامل المؤكسد على الجذر الحر[2]. بإمكانها أن تتفاعل بسرعة وبسهولة مع مركبات أخرى أو مع الخلايا الحية محاولة اقتناص ما ينقصها من إلكترونات لتصل إلى الثبات الكيميائي وبالتالي تخريب الخلايا الحية [3].



الشكل (3-1): مقطع تحت المجهر للجذير الحرة

وكثير من التفاعلات البيولوجية تقوم بأكسدة مواد التفاعل حيث يكون فيها الأكسيجين الجزيئي هو المستقبل النهائي للإلكترونات. والذي يدخل في تشكيل الأنواع الأكسيجينية النشطة التي يمكن أن تكون جذرية أو غير جذرية [4].

2-2- مصادر الجذير الحرة:

للجذير الحرة عدة مصادر منها داخلية وخارجية حيث تزداد عند المرض أو الإرهاق كالآتي:

- **مصادر داخلية:** ومنها عمليات الأكسدة، التنفس، وسلسلة نقل الإلكترون، نقص المناعة، الأمراض والإلتهابات
- **مصادر خارجية:** التعرض للإشعاع، التلوث، التدخين، الأدوية, التعرض للسموم[5]،

3-2 أنواع الجذير الحرة:

1-3-2 التقسيم على أساس الإستقرار:

- ✓ **أولا:** هي جذير حرة مدة عيشها قصيرة جدا في الظروف الطبيعية أي غير مستقرة, لأنها تملك أوزان جزيئية صغيرة, ويحتوي هذا النوع من الجذير الحرة ذات العناصر مثل الهيدروجين H،النتروجينN، الكلورCl، الفلور F. وتتراوح أعمار هذه الجذير من رتبة الميكروثانية (6-10) أو اقل حتى تصل إلى البيكوثانية.
- ✓ **ثانيا:** وهي الجذير التي لها أعمار طويلة تقدر بالثواني أو الدقائق أو الساعات أو الأيام مثل جذر 2,2 ثنائي فينيل -1- بيكريل هيدرازيل (DPPH). كما يمكننا القول أنه كلما ازداد ثبات الجذر الحر تقل فعاليته. وتعود فعاليته إلى أنه يحتاج إلى طاقة تنشيط عالية أثناء التفاعل. [6]

2-3-2- التقسيم على أساس النوع:

الجذير الحرة الأكسيجينية, مثل جذر الهيدروكسيل.

- الجذير الحرة النيتروجينية, من أكسيد النتريك وثنائي أكسيد النيتروجين.
- الجذير الحرة الدهنية, جذير طويلة العمر لذلك تعتبر خطرة.
- جذير السموم، ويشمل معظم المواد السامة [7].

جدول(3-1): مختلف الأنواع الأكسيجنية النشطة [8] [9]

الأنواع الأكسيجينية النشطة	الصيغة الكيميائية
انيون السوبر أوكسيد Superoxide anion	$O_2^{\bullet-}$
جذر الهيدروكسيل Hydroxyl radical	$OH^{\bullet}$
جذر الهيدروبيروكسيلHydrooperoxyle radical	$HOO^{\bullet}$
جذر البروكسيل Peroxyl radical	$ROO^{\bullet}$
الهيدروبيروكسيدHydroperoxyde	ROOH
جذر الألكوكسيلAlkoxyl radical	$RO^{\bullet}$
بيروكسيد الهيدروجينHydrogen peroxyde	H_2O_2
جذر أكسيد النتريكOxidenitric radical	$NO^{\bullet}$
البيروكسينيتريكPeroxinitrite	$ONOO^{-}$
الأبوكلوريثHypochlorite	CLO^{-}

4-2- أضرار الجذير الحرة:

يوجد في الجسم أنواع أكسيجينية نشطة (ROS) بتراكيز ضعيفة حيث تقوم بأدوار فيسيولوجية مهمة وتستعمل أيضا كوسائط منظمة للوظائف البيولوجية حيث تسبب الجذير الحرة أضرار بالغة الخطورة على جسم الإنسان بتأثيرها على:

- الحمض النووي وقد يؤدي إلى طفرات تتسبب في موت الخلايا أو ضعف المناعة.
- البروتينات مما يؤدي إلى تغيير طبيعتها ووظيفتها مؤدية إلى أمراض المناعة الذاتية.

- الدهون أو الأكسدة الفوقية للدهون وهي الأخطر مما ينتج عنها جذير لها شراهة تكسبها عمرا أطول وانتشارا أوسع مسببا بذلك خلايا سرطانية،

وتنجم عنها أضرار أخرى كأمراض القلب والأوعية الدموية والتي تؤدي إلى تصلب في الشرايين وهذا بسبب الذبحة القلبية [10].

3- مضادات الأكسدة:

3-1- تعريف مضادات الأكسدة:

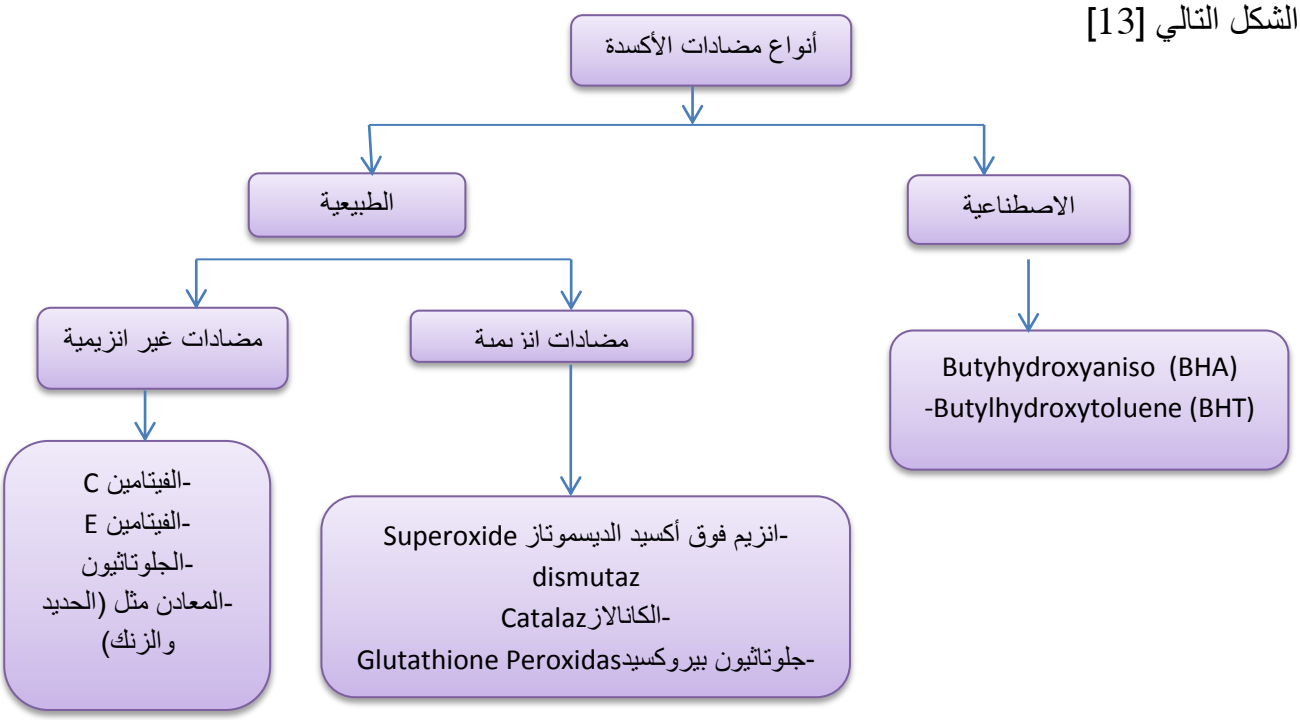
هي كل مادة أو مركب له فعاليته ضد الأضرار التأكسدية ووقاية من فعل الجذير الحرة، حيث تعمل مضادات الأكسدة على التثبيط المباشر لإنتاج الجذير الحرة أو منع انتشارها أو هدمها، ويكمل دورها الأساسي في كسر سلسلة التفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة[11]. فمضادات الأكسدة عبارة عن مواد مانحة لذرات الهيدروجين أو أنها تتحد مع الجذر وتتحول إلى مركب مستقر كما هي مبينة في المعادلة التالية [12].

$$ROO^* + AH_2 \longrightarrow ROOH + AH^*$$

$$AH^* + AH \longrightarrow A + AH_2$$

3-2- مصادر مضادات الأكسدة:

يكمن الدور الأساسي لمضادات الأكسدة في كسر سلسلة من التفاعلات الجذرية الناتجة عن الأكسدة وتنقسم مضادات الأكسدة من حيث مصادرها إلى الطبيعية والمصنعة كما هو موضح في الشكل التالي [13]



الشكل (3-2)- أقسام مضادات الأكسدة

4- الفعالية الميكروبية (البكتيريا):

4-1- تعريف البكتيريا:

البكتيريا كائنات حية دقيقة مجهرية بدائية النوى، بسيطة تحتوي على خلية وأحدة، وتعتبر من أصغر الكائنات الحية يتراوح قطرها ما بين 0.3 و2 ميكرون،

4-2- التصنيف:

يصنف علماء البكتيريا وفق عدة تصنيفات نذكر منها:

أولا: حسب الشكل:

بعض البكتيريا مكورة الشكل وتسمى المكورات، وبعضها يأخذ شكل عصا وتسمى العصويات، والبعض يأخذ الفاصلة أو الضمة وتسمى بالضميات، ومن أنواعها حسب الوسط الذي تعيش فيه [14]:

البكتيريا الهوائية: يعيش هذا النوع من البكتيريا فقط في الهواء المحيط بنا أي الجو، وتعتبر مصدرا رئيسيا لتسمم الأغذية ومن أمثلتها (*Neisseria*).

البكتيريا اللاهوائية: تعيش وتنمو هذه البكتيريا فقط في غياب الهواء ومن أمثالها(*clostridium*)،

البكتيريا اللاهوائية الاختيارية: يعيش هذا النوع من البكتيريا في غياب الهواء ومن أمثلتها *(E. Coli)*

ثانيا: حسب صيغة الغرام:

تصنف البكتيريا عن طريق استخدام الفروق في بنية الجدار الخلوي وهذا باستخدام التقنية المسماة (Gram Stain) نسبة للعالم البلجيكي (GRAM) المخترعة سنة 1884، وعن طريقها يمكن أن تقسم البكتيريا إيجابية الغرام وسلبية الغرام. وتعود هذه الفروق إلى بنية الجدار الخلوي فالخلية سالبة الغرام تحتوي على غشاء خارجي مشكل من الفوسفوليبيدات، وهذا ما لا نجده في البكتيريا موجبة الغرام، ونتيجة لهذا الفرق تعطي البكتيريا ألوان مختلفة مع صبغة الغرام، فإذا حافظت البكتيريا على لون الكاشف كانت البكتيريا موجبة الغرام أما إذا تغير اللون إلى الوردي كانت البكتيريا سالبة الغرام [15]

4-3- الأنواع البكتيرية المستعملة في الدراسة:

النوع الأول: *Escherichia coli*

تنتمي بكتيريا هذا النوع إلى عائلة *Enterobacteriaceae*، وتمثل أكبر قسم من الكائنات الدقيقة التي تعيش في الأنبوب الهضمي لكنها ممرضة للجهاز البولي. تتميز بأنها عصوية على شكل قضيب، ذات أبعاد من 1 إلى 3 ميكرومتر سالبة الغرام، تتكاثر بسرعة كبيرة عند درجة حرارة 37م،تشكل سلاسل وتتحرك بواسطة أسواط جسيمة [16] [17].

الجدول (3-2): تصنيف البكتيريا *Escherichia coli*

الشعبة	Bacteria
الطائفة	Gammaproteobacteria
الرتبة	Entérobacteriales
العائلة	Entérobacteriaceae
الجنس	Escherichia

النوع الثاني: *StapHyloccus aureus*

هي بكتيريا موجبة الغرام غير متحركة. سميت بهذا الاسم (مكورات عنقودية) لأنها تتجمع على شكل كرات غير منتظمة تشبه عنقود العنب عند رؤيتها تحت المجهر. وهي لا هوائية وعادة تعيش المكورات العنقودية بشكل طبيعي على جلد الإنسان وتنتج كذلك عدد من السموم اللتي تميزها في الأوساط الغذائية تحت ظروف معينة وتمتلك عامل مقاومة عالية للعلاج بالمضادات الحيوية لكونها تعمل كحاجز لمنعها. [18]

الجدول (3-3): تصنيف البكتيريا *StapHyloccus aureus*

الشعبة	Bacteria
الطائفة	Bacilli
الرتبة	Bacillales
العائلة	Micrococcaceae
الجنس	StapHylococcus

النوع الثالث: *StapHylococcus hominis*

هو نوع مخثر سلبي من البكتيريا تتبع جنس العنقودية من فصيلة المكورات العنقودية [19] وتتواجد عادة باعتبارها بكتيريا متعايشة غير ضارة على الجلد البشري والحيواني وكما هو معروف فأنها تتسبب بإنتاج كحول ثيولي المركب الذي يساهم في رائحة في الجسم [20] مثل غيرها من العديد من المكورات العنقودية المختبرة سلبيا، تسبب العنقودية البشرية أحيانا العدوى في المرضى الذين ضعف جهازهم المناعي بسبب العلاج الكيميائي.

الجدول (3-4): تصنيف البكتيريا ***StapHylococcus hominis***

التصنيف العلمي	
المملكة	بكتيريا
الشعبة	متينات الجدار
الطائفة	البكتيريا العصوية
الرتبة	العصويات
الفصيلة	المكورات العنقودية
الجنس	العنقودية
النوع	عنقودية بشرية
الاسم العلمي *StapHylococcus hominis*	

الفصل الرابع

الطرق والوسائل

مقدمة:

تمت هذه التجارب على مستوى مخابر كلية العلوم الدقيقة بجامعة الشهيد حمه لخضر الوادي, حيث قمنا بما يلي:

1- عملية النقع على البارد و استخرجنا المستخلص الكحولي الميثانولي الخام لها.

2- الكشف الأولي على بعض العائلات الكيميائية للنبات و إمكانية تواجدها مثل: القلويدات, الفينولات, التربينات... الخ.

3- التقدير الكمي للفينولات و الفلافونيدات الموجودة في المستخلص الكحولي الميثانولي للنبات.

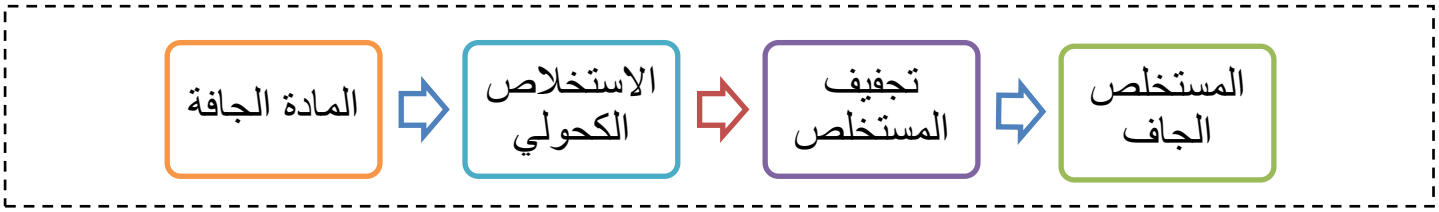
4- تقدير النشاط المضاد للأكسدة بواسطة: DPPH وCAT

5- الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص الكحولي للنبات

مخطط العمل:

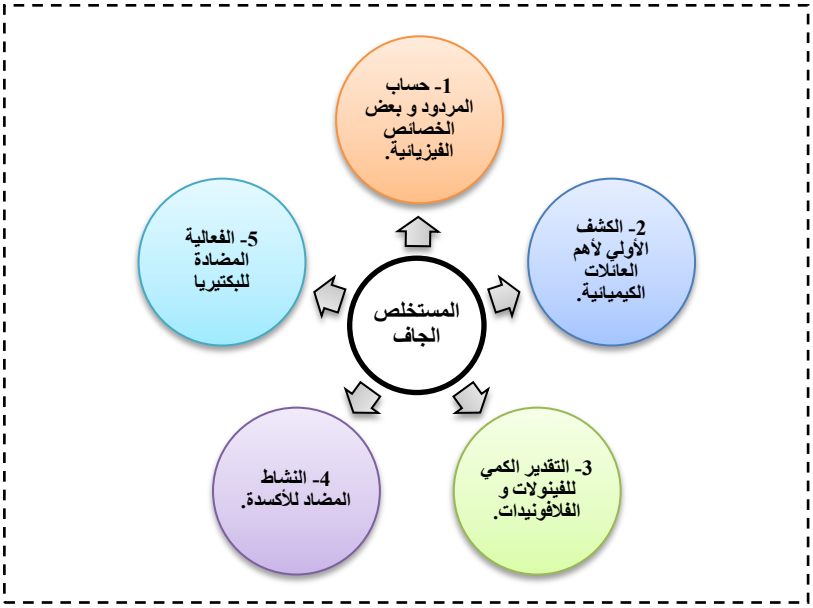
لخصنا العمل التجريبي في المخطط الموالي على شكل مرحلتين:

✓ **المرحلة الأولى:**



الشكل (4-1): مخطط يوضح مراحل الاستخلاص الميثانولي للمسحوق.

✓ **المرحلة الثانية:**



الشكل (4-2): مخطط يوضح مخطط العمل المنجز على المستخلص الميثانولي للمسحوق.

1- المواد و الطرق:

1-1. المادة النباتية:

تم شراء ثلاث عينات من مسحوق الثوم التجاري (*Alluim satuvim*) من محلات بن ساسي للتسوق, لثلاث علامات تجارية هي: مؤسسة القميري للتوضيب, توابل عائشة و مسحوق غير معلب (en vrac).

1-2. الأدوات و الوسائل المستعملة:

لإنجاز تجاربنا العلمية استعملنا مجموعة من المواد و الأدوات وكذا الأجهزة.

1-2-1. المواد المستعملة:

- ميثانول(CH_3-OH) (80%) ,
- ماء مقطر,
- كاشف الفولين (Réactif de folin-ciocalteu)

($3H_2O$-P_2O_5 $13WO_3$ $5MoO_3$ $10H_2O$).

- محلول كربونات الصوديوم (Na_2 CO_3) (M=105.99g/mol)،
- محلول ثلاثي كلوريد الأمونيوم($AlCl_3$,H_2O) (M=241.43g/mol) ،
- حمض الغاليك($C_7H_6O_5$,H_2O),حمض الكريستين(97%).
- DPPH ذي النقاوة، (99%)

1-2-2. الأدوات المستعملة:

- بيشر.
- ماصة.
- حوجلة.
- مخبار مدرج.
- أنابيب اختبار.
- ورق ألمنيوم.
- ورق برا فيلم.
- إبرة.

1-2-3. الأجهزة المستخدمة:

- ميزان إلكتروني حساس.
- جهاز ترشيح تحت الفراغ.
- جهاز مبخر دوراني (Rota-vapeur).
- جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (Uv-Visible)
- الحاضنة.

3-1. الاستخلاص:

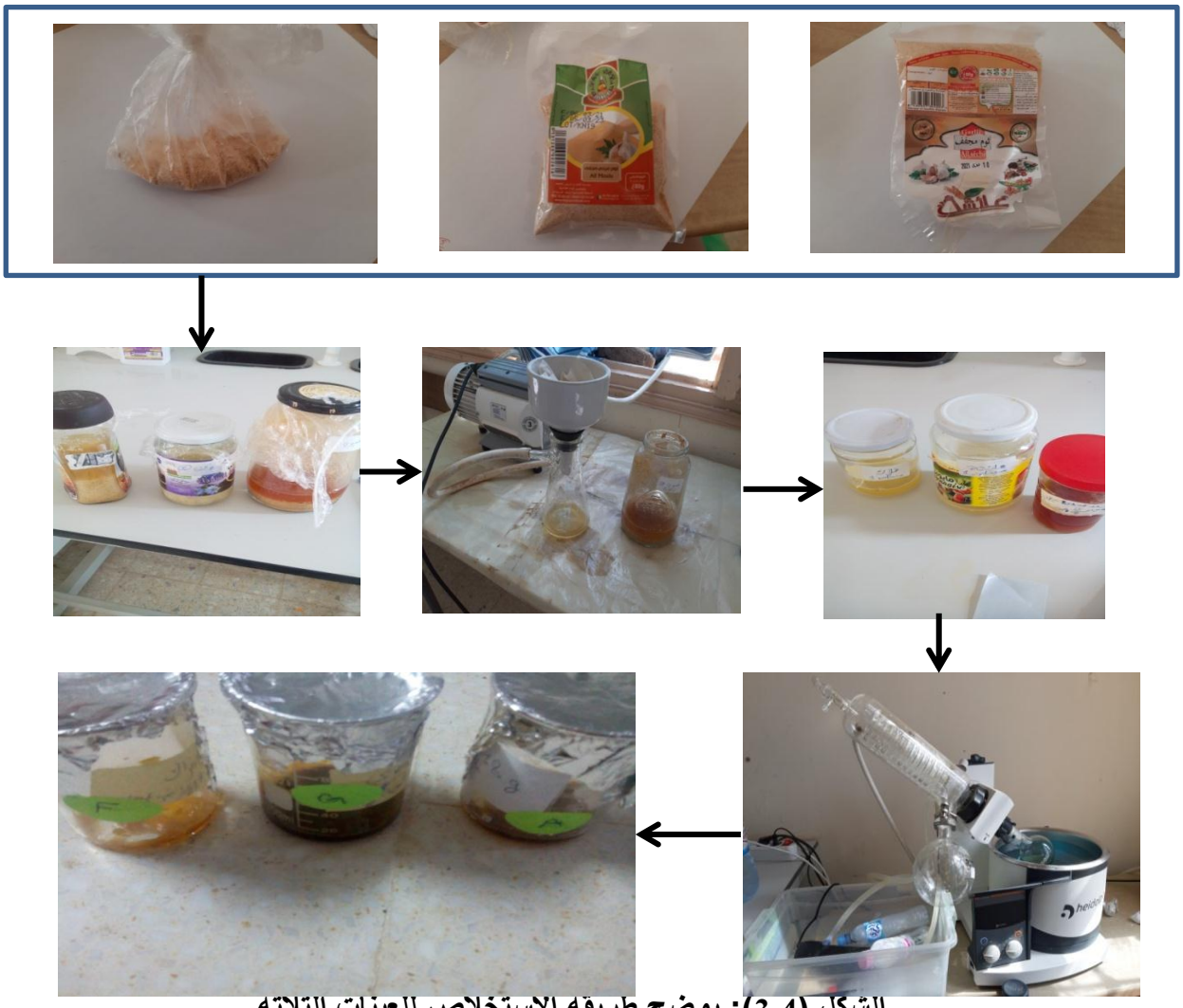
1-3-1-تعريف الإستخلاص:

هو سحب مركب أو عدة مركبات من المادة الخام بواسطة مذيبات عضوية، حيث إذا كانت المادة المراد فصلها صلبة فيسمى استخلاص سائل-صلب، أما اذا كانت المادة سائلة يطلق عليها استخلاص سائل-سائل، وفي هذه الدراسة سيتم اتباع طريقة الإستخلاص سائل –صلب.

2-3-1-تحضير المستخلص المستعمل في الدراسة:

بواسطة ميزان إلكتروني نزن كتلة من العينة قدرها 40 g من كل عينة نضعها في 130 ml من المذيب (104 ml ميثانول + 26 ml ماء مقطر). و نقوم بنقعها على البارد لمدة 48 ساعة و نكرر هذه العملية ثلاث مرات, بعدها نرشح المزيج.

نأخذ الرشاحة و نقوم بتبخير المذيب بواسطة المبخر الدوراني. و نتحصل في الأخير على المستخلص الميثانولي الجاف الخام يكون على شكل عجينة.



الشكل (3-4): يوضح طريقة الاستخلاص للعينات الثلاثة

4-1. طريقة حساب المردود:

تم حساب المردود باستعمال العلاقة التالية:

$$R\% = (M_F / M_I) \times 100$$

- M_F: وزن المستخلص بعد التجفيف.
- M_I: وزن المادة النباتية أو الكتلة الابتدائية،
- **R%:** المردودية الانتاجية للمستخلصات تقدر بـ % [1]،

5-1. تقدير درجة الحموضة(pH) و تقدير درجة الناقلية(EC) :

تم تقدير درجة الحموضة و قيمة الناقلية الكهربائية و ذلك بإتباع الخطوات التالية:[3] [2]

- نضع 2 غرام من مسحوق النبتة الجافة في 20 مل من الماء المقطر.
- نرج الخليط بواسطة جهاز الرج المغناطيسي لمدة 10 دقائق ثم نقوم بترشيحه للحصول على الراشح.
- تقدير درجة حموضة الراشح بواسطة جهازpH-mètre و درجة الناقلية الكهربائية بجهاز قياس الناقلية الكهربائية.

2- الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية:

لطالما كانت الطبيعة مصدرا للعلاجات الطبية منذ آلاف السنين و في اليوم فهي تلعب دور أساسي في الرعاية الصحية الأولية (80% من سكان العالم). و من هذا المنطق تم الكشف عن أهم العائلات الكيميائية في النباتات. [4]

الهدف من الدراسة:

تستند دراستنا إلى تحديد واستخلاص المواد الفعالة وتقييم نشاط مضادات الأكسدة في مستخلصات الثوم.

1- الكشف عن القلويدات:

نأخذ 5غ من النبات الجاف ونمزجها مع 10 مل من (HCl) مخفف 1/10، ثم يترك لعدة دقائق ثم يرشح، نأخذ 1 مل من الرشاحة ونضعها في أنبوب اختبار.

- كاشف دراجندروف. إذا تشكل راسب برتقالي فهذا يدل على وجود القلويدات.
- كاشف وانر إذا تشكل راسب بني فهذا يدل على وجود القلويدات.، [5]

2- الفلافونيدات:

نأخذ2 مل من المستخلص الكحولي، ونمزجه مع 1 مل من (NaOH) (0.5M) إذا ظهر اللون الأصفر هذا يدل غلى وجود الفلافونيدات [6]

3- التربينات الثلاثية والستيرولات.:

نأخذ 5 غ من النبات الجاف ونمزجه مع 20 مل من ($CHCl_3$)،ثم نرشح المزيج ونأخذ 1 مل من الرشاحة ونضيف إليها(H_2SO_4) بعناية على جدران الأنبوب فتشكل طبقتين الطبقة ذات اللون الأخضر تشير إلى وجود التربين، [6]

4- الصابونين:

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

- عدم تشكل رغوة دلالة على عدم وجود الصابونين.
- رغوة اقل من 1 سم معناه وجود الصابونين بكمية ضعيفة
- رغوة من 1 سم إلى 2 سم وجود الصابونين.
- رغوة أكثر من 2 سم معناه وجود الصابونين [5]

5- التانينات:

نأخذ 5 غ من النبات الجاف تم نمزجها مع 30 مل من الماء المقطر ونتركه يغلي لمدة 1 ساعة،نأخذ 1 مل من الرشاحة مع 2 مل من من الماء المقطر وقطرا ت من ($FeCl_3$)، ظهور اللون الأخضر المزرق يدل على وجود (Tanins cathechiques). أما الأزرق المسود يدل على وجود (Tanins galliques) [5]

6- الأنثوسيانات:

نمزج 2.5 غ من النبات الجاف مع 50 مل من ماء مقطر مغلي 15 دقيقة فنتحصل على مستحلب نقوم بتصفيته، ثم نأخذ منه 2 مل نمزجه مع 2 مل من (HCl) وقطرات من (NH_4OH). إذا ظهر اللون الوردي أو الأحمر المائل للأزرق البنفسجي هذا دليل على وجود الأنثوسيانات [5].

7- النشاء:

نمزج 5 غ من النبات الجاف مع 30 مل من الماء المقطر ونقوم بغلي المزيج لمدة 1 ساعة، نصفي المزيج ونأخذ منه 5 مل ونضيف إليه ماء اليود، إذا ظهر اللون البنفسجي فهذا يدل على وجود النشاء. [6]

8- المركبات المرجعة (الكربوهيدرات) (السكريات):

نمزج 5غ من النبات الجاف مع 30 مل من الإيثانول، ونترك المزيج يغلي لمدة ساعة، نصفي المزيج ونأخذ منه 1 مل ونضيف إليه 2 مل من الماء المقطر و 20 قطرة من كاشف فهلنج، ثم نقوم بالتسخين، إذا ظهر راسب أحمر أجوري فهذا يدل غلى وجود السكريات [6]

9- الفينول:

- نمزج 2 مل من $FeCl_3$ (2%) مع المستخلص الخام، إذا ظهر اللون الأسود أو الأزرق والأخضر فهذا يدل على وجود الفينولات[6]

10- الجليكوسيدات:

نمزج 2 مل من حمض الكبريت المركز مع مستخلص النبات. في حالة ظهور بني محمر فهذا يشير إلى وجود اغليكون الستروييد من جليكوسيدات، [6]

11- الستيرويدات:

نمزج 2 مل من الكلوروفورم وحمض الكبريت المركز مع مستخلص النبات إذا ظهر في طبقة الكلوروفورم السفلى لون احمر فهذا يدل على وجود الستروييد [6].

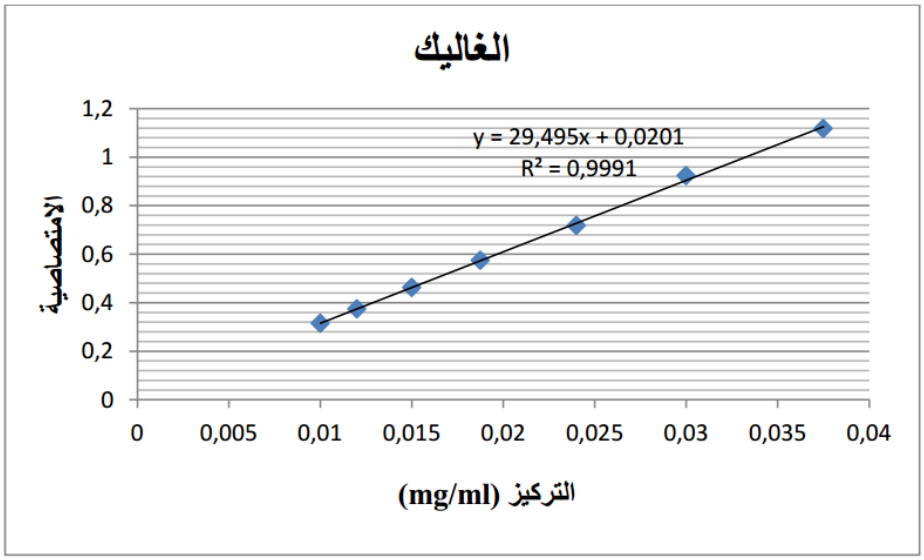
2-1- تقدير المركبات الفينولية الكلية:

تم تقدير عديدات الفينول الكلية باستخدام كاشف Folin-ciocalteu حسب طريقة "Singleton-Ross" حيث تعتمد هذه الطريقة على إرجاع مكونات كاشف Folin-ciocalteuبواسطة المركبات الفينولية لإعطاء كيتون المميز باللون الازرق، نمزج 1 مل من تراكيز مختلفة من المستخلصات المذابة في الماء أو الميثانول مع 0.5 ملل من محلول Folin-ciocalteu المخفف 10 مرات، نرج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة 5 دقائق، بعدها نضيف2 مل من كربونات الصوديوم 7.5 % ترج الأنابيب وتحفظ في الظلام في درجة حرارة المخبر لمدة 30 min، تقاس امتصاصية المحلول الناتج عند طول موجة 765nm بجهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (SPECTROPHOTOMETERS) نستعمل حمض الغاليك لتحديد العيارية، ويتم التعبير عن الناتج بعدد الملي غرامات الموافقة لحمض الغاليك لكل غرام من وزن المستخلص (mg AGE/g Extrait) [7]

2-1-1-المنحنى القياسي لحمض الغاليك:

تم تحضير محاليل ممدة من حمض الغاليك ذي تراكيز مختلفة مابين (0.01-0.0375mg/ml)،في أنابيب الاختبار نأخذ 1 مل من كل محلول ثم نضيف له 0.5 مل من كاشف الفولين (مخفف 10 مرات) يترك في الظلام لمدة 5 دقائق، بعدها نضيف له 2 مل من كربونات الصوديوم بتركيز 7.5% ثم نرج الأنابيب جيدا ونضعها في الظلام لمدة 30 دقيقة.

ونقيس امتصاصية المزيج بجهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي λ_{max}=765nm



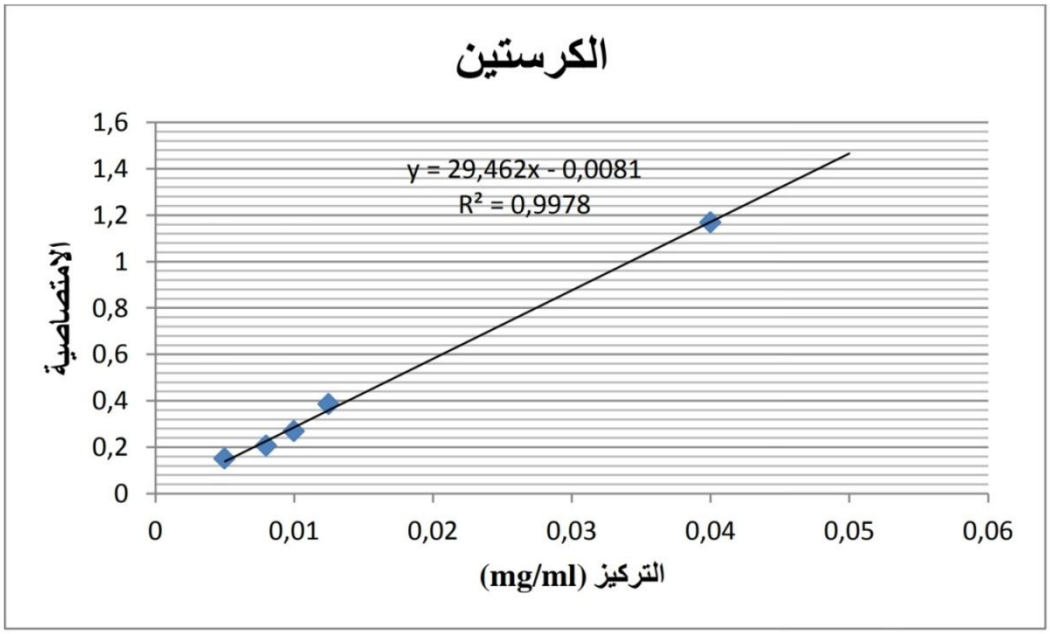
الشكل (4-4): منحنى قياسي لحمض الغاليك

2-2 - التقدير الكمي للفلافونيدات:

تم التقدير الكمي للفلافونيدات بطريقة ثلاثي كلور الالمنيوم$AlCl_3$ نأخذ 1.5 مل من تراكيز مختلفة من المستخلصات المذابة في الميثانول أو الماء ونضيف لها 1.5 مل من محلول $AlCl_3$ بتركيز 2% فيظهر اللون الأخضر المصفر ونتركها في الظلام لمدة ساعة. ثم تقرأ الإمتصاصية عند طول موجة 420nm نستعمل الكرستين لتحديد منحنى العيارية، ويعبر عن النتائج بعدد الملي غرامات الموافقة للكريستين لكل غرام من وزن المستخلص mg QE/g Extrait [8].

2-2-1-المنحنى القياسي لحمض الكريستين:

تم تحضير محاليل ممدة من حمض الكريستين ذي تراكيز مختلفة تتراوح مابين (0.005– 0.05mg/ml)، في أنابيب اختبار نأخذ 1.5 مل من كل محلول ونضيف له 1.5 مل من محلول ثلاثي كلور الألمنيوم $AlCl_3$ ونتركه في الظلام لمدة ساعة، وتقيس امتصاصية المحاليل في جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي λ_{Max}=420 nm



الشكل (4-5): منحنى قياسي لمحاليل الكريستين

2-3- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

لغرض تقدير الفعل الآسر للجزئيات المضادة للتأكسد للمستخلص، قمنا باختبار مولبيدات الفوسفات واختبار DPPH، حيث كلا من الطريقتين تعتمد على التلوين ونزع التلوين في طول موجي معين.

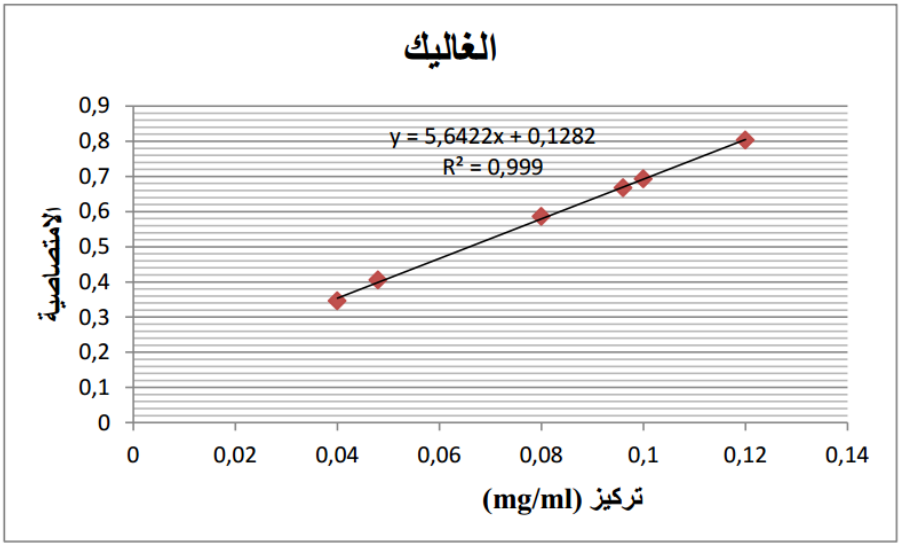
2-3-1- اختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT):

المبدأ:

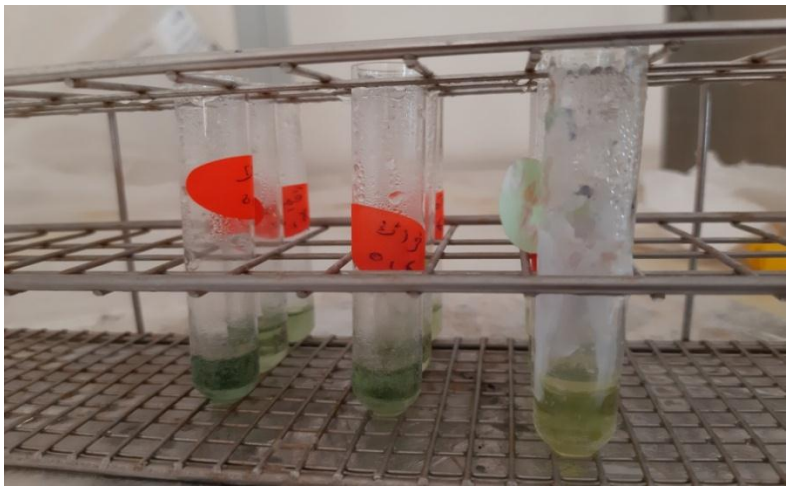
تم قياس القدرة الكلية المضادة للأكسدة الكلية للمستخلصات باستعمال طريقة الفوسفومولبيدات وهي من الطرق المباشرة لقياس القدرة الإرجاعية لمضادات الأكسدة و تعطي لون اخضر فاتح.

طريقة العمل المنجزة:

نأخذ 0.1 مل من تراكيز مختلفة من المستخلصات المائية المذابة في الميثانول أو الماء ونضيف لها 1 مل من محلول مولبيدات الذي حضر بمزج 0.6 مولا ري من حمض الكبريتيك (H_2SO_4) و28 mM من فوسفات الصوديوم (Na_3PO_4) و 4mM من مولبيدات الأمونيوم $(NH_4)_2 MoO_4$ ثم نضع المزيج في الظلام في حمام مائي حرارته 95 م ° لمدة ساعة بعدها نترك الأنابيب تبرد ثم نقيس الإمتصاصية عند طول موجة 695 nm بجهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية SPECTROPHOTOMETERS حيث يعبر عن النتائج بعدد الملي غرامات الموافقة لحمض الغاليك لكل غرام من وزن المستخلص mgAGE /g Extrait [9].



الشكل (4-6): منحنى قياسي لمحاليل الغاليك

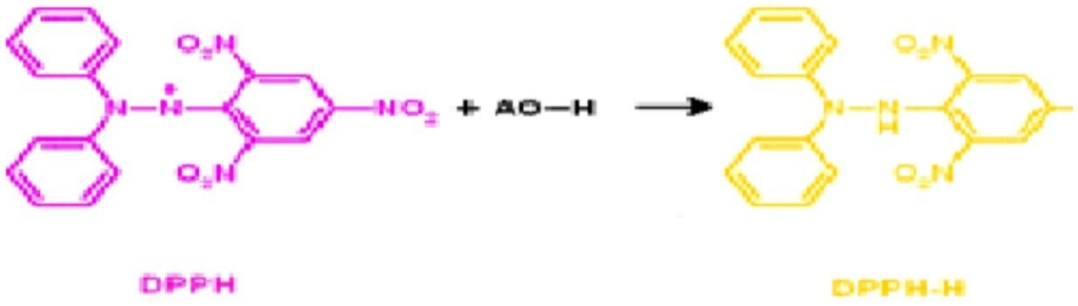


الشكل (4-7) المستخلصات بعد إضافة المولبيدات

2-3-2- اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH:

المبدأ:

اختبار الDPPH هو اختبار مضاد للجذير الحرة، هذا الاختبار يعتمد على تثبيط الجذر الحر DPPH وذلك اعتمادا على قابلية إعطاء المستخلصات (مضادات الأكسدة) لذرة الهيدروجين، ويظهر لك من خلال التفاعل اللوني للجذر الحرDPPH ذي اللون البنفسجي الذي يتحول إلي DPPH -H ذي اللون الأصفر كما هو موضح في الشكل التالي [10]



الشكل (4-8): التحول الذي يحدث للجذر الحر DPPH [11]

- **طريقة العمل المنجزة:**
- **تحضير الكاشف DPPH:**

يتم تحضير المحلول DPPH (2، 2 ثنائي فنيل 1 بيكريل هيدرازيل) وذلك بإذابة 2 ملغ من مسحوق DPPH في 50 مل من الميثانول فنتحصل على محلول ذي لون بنفسجي داكن.

- **تحضير المحاليل:**

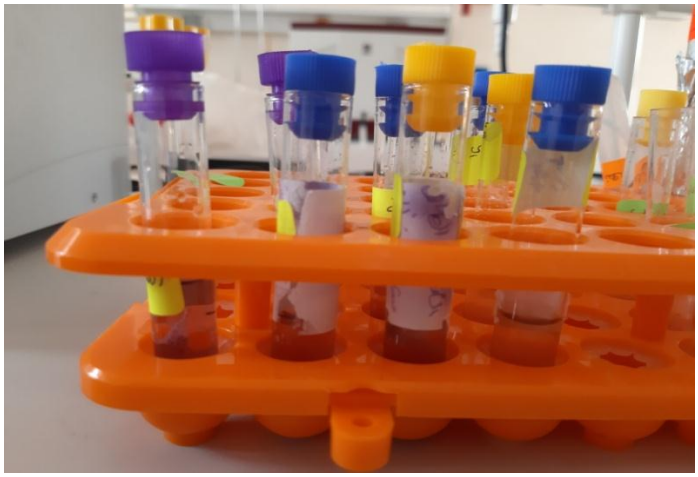
نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلص الميثانولي ونأخذ من كل تركيز 1 مل ونضيف له 2 مل من DPPH نجانسه ونتركه لمدة 30 دقيقة في الظلام وبعدها تتم القراءة عند طول موجة 517nm ويمكن حساب النشاطية المضادة للأكسدة بالعلاقة التالية، [12]

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

I%: نسبة تثبيط العامل المضاد للأكسدة للجذر DPPH

A: الإمتصاصية الضوئية للخليط

A_0: امتصاصية DPPH عند 517nm



الشكل(4-9): المستخلصات بعد إضافة محلول DPPH

و يتم حساب IC_{50} بعد رسم المنحنى البياني للنشاطية المضادة للأكسدة بدلالة التركيز ومن ثم يتم استخراج المعادلة وقيمة ميل المنحنى البياني r^2 حيث يتم تعويض قيمة y ب50 واستخراج قيمة x وهي التي تمثل IC_{50} [13]

3-الاختبارات البيولوجية:

3-1-النشاط المضاد للميكروبات(البكتيريا):

في هذه الدراسة تم اختبار الفعالية ضد البكتيريا ، من أجل تحديد النشاط المضاد للميكروبات للمستخلص النباتي الذي تم الحصول عليه عن طريق الاستخراج باستخدام الميثانول، وهذا بتطبيقها على 3 أنواع من سلالات بكتيرية ممرضة والتي تم الحصول عليها من مخبر المجد للتحاليل الطبية الوادي الجزائر.

الجدول(4-1): الأنواع المختبرة للميكروبات واختصارها

الأنواع المختبرة	الغرام	العائلة	الاختصارات
Escherichia coli ATCC25922	-	Enterobacteriaceae	E.coli
StapHylococcus aureus	+	Micrococcaceae	S.a
StapHylococcus hominis	+	StapHylococcus	S.h

3-2 الخطوات العملية لهذا الاختبار:

أولا: تحضير المستخلصات:

من أجل الحصول على تركيز 10 mg/ml 20 mg/ml من المستخلصات، تمت إذابة 20mg و 10 mg من المستخلص الميثانولي على الترتيب في حجمين قدرهما 1ml من محلول DMSO.

ثانيا: اختبار تحضير الكائنات الحية الدقيقة:

بعد نمو البكتيريا في أوساط الزرع لمدة حوالي 10 أيام، تم كشط سطح البكتيريا المسببة للأمراض النباتية بقضيب زجاجي ثم إذابتها في 5 مل من الماء الفيزيولوجي المعقم [14]

ثالثا: زراعة البكتيريا:

نقوم بتحضير أطباق بتري ونسكب فيها وسط الزرع التي تمت إذابته في معقم. ثم نقوم بغمس الماسح القطني في المعلق البكتيري ثم نقوم بمسحه على كامل أوساط الزرع المحضرة سابقا على شكل خطوط متقاربة مع تكرار العملية ثلاث مرات وتدوير الطبق بزأوية 60 في كل مرة

رابعا: وضع الأقراص:

تم استعمال أوراق محضرة من ورق الترشيح معقمة، بواسطة ماصة مجهرية نأخذ 10 ميكرو لتر من المستخلصات الميثانولية ووضعها على الأقراص المعقمة من ورق الترشيح (قطرها 6 مم) ثم

نضعها على أسطح علب البتري المزروعة بالبكتيريا كما تم استخدام DMSO كعنصر تحكم سلبي [15]

نحدد 2 أجزاء في كل طبق بتري حيث نخصصها للمستخلصات الميثانولية أما الجزء الثالث للشاهد DMSO، أما المضاد الحيوي يوضع في مركز الطبق لغرض المقارنة بالنسبة للبكتيريا، تم وضع هذه الأطباق بشكل مقلوب في الحاضنة لمدة 24 ساعة في درجة حرارة 37م ° بالنسبة للبكتيريا، من خلال اختبار النشاطية للمستخلصات الميثانولية للنبات على الأنواع البكتيرية تم استعمال كمضاد حيوي **Chloramphnol 30ug.**

بعد الإنتهاء من مدة الحضن نقوم بإخراج علب بتري لقياس الأقطار المثبطة بوحدة ال(مم) للمستخلصات والمضاد الحيوي والشاهد التي تكشف عن نشاط مضادات الميكروبات في المستخلص [16].

قراءة النتائج: بعد الحضن إذا ثبط المستخلص نمو البكتيريا. تظهر مناطق واضحة حول محيط الأقراص تسمى مناطق تثبيط النمو البكتيري للسلالة المختبرة. يحسب قطر هذا التثبيط بالمليمتر وحسب سلم تقدير، ترتب قيم أقطار مناطق التثبيط للنمو البكتيري في خمسة أقسام [17].

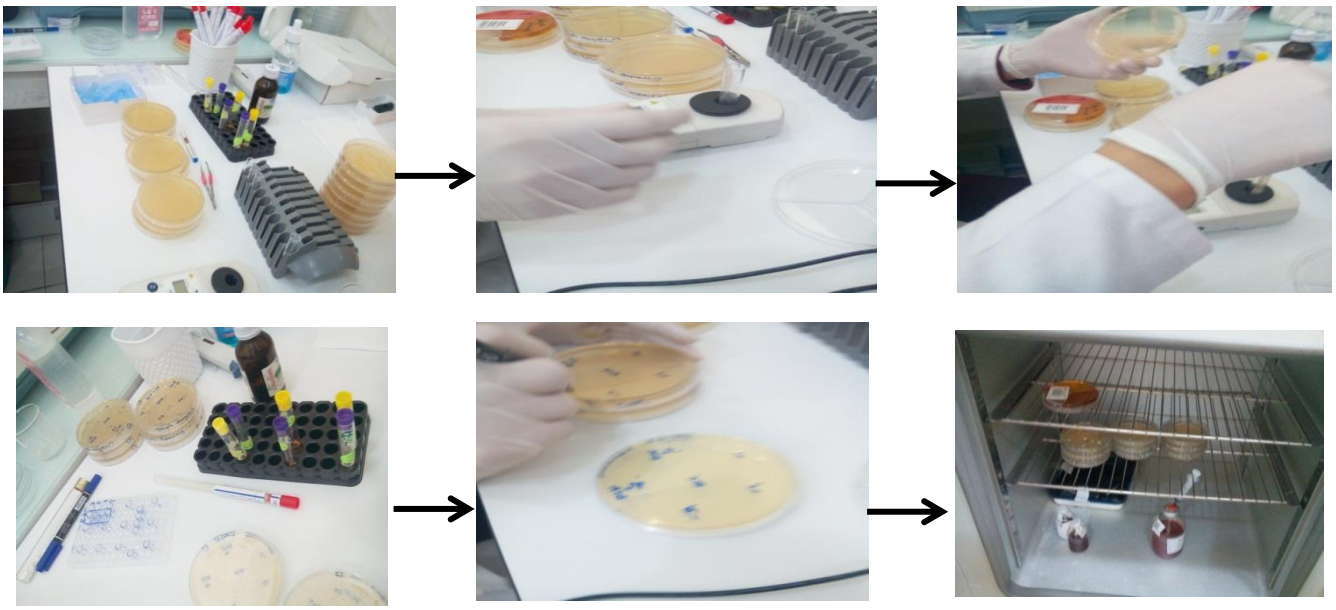
جد قوية التثبيط: (D ≤ 30) مم

قوية التثبيط: (21 ≤D≤29) مم

معتدلة التثبيط: (16≤D≤20) مم

واسعة التثبيط: (11≤D≤15) مم

غير مثبطة: (D≤10) مم



الشكل (4-10): أهم خطوات اختبار النشاط المضاد للبكتيريا

الفصل الخامس

النتائج والمناقشة

1-حساب المردود و بعض الخصائص الفيزيائية:

قمنا بهذا العمل على مستوى مخابر كلية العلوم الدقيقة جامعة الشهيد حمه لخضر وكانت نتائج المردود ولون المستخلص وبعض الخصائص الفيزيائية كما هو موضح في الجدول 1 أدناه:

الجدول (5-1): المردود وبعض الخصائص الفيزيائية للمستخلص الميثانولي لمسحوق الثوم التجاري *(Allium Sativum L)*

المستخلص	لون المستخلص	المظهر	pH عند19م °	الناقلية عند 17م° µs/cm	المردود %
مؤسسة القميري	بني داكن	لزج	5.8	5.60	15.90
مؤسسة عائشة	بني	لزج	6.4	4.01	12.89
مسحوق غير معلب (en vrac)	أصفر	لزج	6.4	3.55	12.13

2- نتائج الكشف الأولي للمستخلص الميثانولي لنبات *(Allium Sativum L):*

أظهرت نتائج اختبار الكشف الأولي التي أجريت على النبات الجاف و مستخلصاته عدة ملاحظات لونية و رواسب ملونة،

من خلال تفسيرها و بالإعتماد على ما ذكرنا سابقا توصلنا إلى وجود عدة عائلات كيميائية من عدمها كما هو موضح في الجدول 2، أما الجدول 3 يوضح الألوان المتحصل عليها بعد إجراء هذه الاختبارات.

الجدول (5-2): نتائج الكشف الأولي عن بعض العائلات الكيميائية في نبات *(Allium Sativum L)*

	المستخلص الميثانولي لمؤسسة القميري	المستخلص الميثانولي لمؤسسة عائشة	المستخلص الميثانولي للمسحوق غير المعلب (en vrac)
1- القلويدات	+	+	+
2- الفلافونيدات	+	+	+
3- التربينات	+	+	+
4- الصابونين	+	+	-
5- التانينات	+	+	+

6- الأنثوسيانات	-	-	-
7- النشا	-	-	-
8- المركبات المرجعة (السكريات)	+	+	+
9- الفينول	+	+	+
10 -الجليكوسيدات	+	+	+
11-الستيرويدات	+	+	+

نرمز ب (+) دلالة على وجود المادة الفعالة و (-) على عدم وجود المادة الفعالة.

الجدول (5-3): الألوان المتحصل عليها في الكشف الأولي عن بعض العائلات الكيميائية لمستخلص الثوم التجاري *(Allium Sativum L)*

	المستخلص الميثانولي لمؤسسة القميري	**المستخلص الميثانولي لمؤسسة عائشة**	**المستخلص الميثانولي للمسحوق غير المعلب (en vrac)**
1- القلويدات/ كاشف ماير	لون برتقالي	لون برتقالي	لون برتقالي
2- الفلافونيدات	لون أصفر	لون أصفر فاتح	لون أصفر فاتح
3- التربينات	لون أخضر فاتح	لون اخضر	لون أخضر
4- الصابونين	رغوة أقل من 1 سم	رغوة سم	/
5- التانينات	أخضر مزرق	اخضر مزرق	أخضر مزرق
6- الأنثوسيانات	/	/	/
7- النشاء	/	/	/
8- المركبات المرجعة (السكريات)	راسب احمر أجوري	راسب احمر أجوري	راسب احمر أجوري
9- الفينول	أخضر فاتح	أخضر فاتح	أخضر فاتح
10- الجليكوسيدات	بني محمرداكن	بني محمر	بني محمر داكن
11- الستيرويدات	لون أحمر	لون احمر	لون أحمر

التفسير:

بعد عملية الكشف الفيتوكيميائي عن نواتج الأيض في مساحيق الثوم التجارية المدروسة تحصلنا على

النتائج التجريبية في الجدولين 2 و 3، التي توضح وجود أو عدم وجود مجموعات كيميائية معينة، ترتبط هذه الاختبارات بكثافة الترسبات أو التعكر أو اللون والتي تتناسب أيضا مع كمية المادة المطلوبة

- نلاحظ تواجد عدد كبير من العائلات الكيميائية أبرزها القلويدات والكربوهيدرات التربينات والجليكوسيدات وهذا ما أثبتته دراسة سابقة [1] مع غياب الفلافونيدات والتانينات رغم إثبات وجودها في النتائج التي تحصلنا عليها،

- نلاحظ بالإضافة إلى العديد من المكونات الغذائية الأساسية تحتوي النباتات على البولي فينولات وهي مجموعة كبيرة وغير متجانسة من العناصر غير غذائية النشطة بيولوجيا، والتي تملك العديد من الوظائف في النباتات، كما تعتبر البولي فينولات مهمة أيضا في آليات الدفاع للنباتات في ظل ظروف الإجهاد البيئي المختلفة مثل الجرح والعدوى [2]

- تعتبر الفلافونيدات من المركبات التي تلعب دورا دفاعيا، فوجودها في النبات يمكن أن يفسر على أنها نوع من أنواع مضادات الأكسدة وهي مواد تقي النباتات من البكتيريا وتملك خاصية مضادة للفيروسات والميكروبات [3]

- يفسر وجود الكربوهيدرات بارتباطها مباشرة بتكوين الجليكوسيدات فوجودها في النبات هو نتيجة لوجود الجليكوسيدات والتي تعتبر مواد مخزنة يستعملها النبات في مراحل نموه [4]

- للتانينات دور هام في النبات، فهي تتواجد عادة بشكل مركز في أجزاء النبات مثل الأوراق والسيقان وتعتبر مضادات الأكسدة في النبات لأنها ضمن مجموعة عديدة الفينولات وتحمي النبات من الحشرات والفطريات الضارة وتحافظ على حياته [5]

- الأنثوسيانات تعطي اللون المحمر أو الأزرق للنبات [6]

- القلويدات، دور هام حيث أنها تقوم يدور منشطات أو منظمات في النباتات بفعالية متشابهة لفعالية هرمونات النمو والأيض والتكاثر [7]

- التربينات والستيرولات وجودها في النبات يفيد في كونه يوفر الأنسجة الخاصة كالخلايا الفنية والقنوات الزيتية

- اما التربينات تكمن أهميتها في كونها تستخدم كمضادات حيوية أثبت فعاليتها في بعض أنواع السرطان وبعضها يعمل كهرمونات نمو في النباتات [8].

- تكمن أهمية الستيرويدات في وظائف أعضاء الحيوان مثل الهرمونات الستيرويدية وبعضها لها أهمية طبية كالمضادات الحيوية الستيرويدية [8].

3-التقدير الكمي:

3-1- التقدير الكلي للفينولات باستخدام جهاز uv-visible

تم تقدير كمية الفينولات الكلية للمستخلصات المدروسة وذلك باعتماد المعادلة الخطية للمنحنى القياسي للغاليك

$$Y=29.495x + 0.0201$$

تحصلنا على النتائج المدونة في الجدول التالي:

الجدول (5-4): قيم الإمتصاصية وكمية الفينولات للمستخلصات المدروسة

المستخلص الميثانولي	التركيز C mg/ml	الإمتصاصية	كمية الفينولات mg GAE/g extrait
مؤسسة القميري	0.6	0.493	26.72
مؤسسة عائشة	0.6	0.138	6.66
مسحوق غير معلب (en vrac)	0.6	0.2315	11.94

- **تعليق على النتائج**
- الملاحظ من النتائج المبينة في الجدول 4 أن أكبر كمية للفينولات نجدها عند المستخلص الميثانولي لمسحوق مؤسسة القميري والتي قدرت بـ26.72 mgGAE/gE، وأصغر قيمة كانت عند المستخلص الميثانولي لمسحوق مؤسسة عائشة 6.66 mg GAE/ g E.

أما بالنسبة للمستخلص الميثانولي الخام لمسحوق ثوم ولاية الوادي فقدرت كمية الفينولات ب 7.89 mgGAE/gE وهذا حسب الدراسة التي أجريت من طرف الزميلتين حدد سهيلة و صالحي الخنساء.
كما أثبت حسب دراسة أخرى أن كمية الفينولات للمستخلص الميثانولي للثوم قدرت ب 43.63 mg GAE/ g E [9]
نستنتج من خلال النتائج أن كمية الفينولات للمستخلص الميثانولي لمؤسسة القميري هي الأقرب للنتائج المتحصل عليها في الدراسة السابقة.

2-3- التقدير الكمي للفلافونيدات باستخدام UV.Visible

تم حساب كمية الفلافونيدات للمستخلصات المدروسة وذلك باعتماد المعادلة الخطية للمنحنى القياسي للكريستين والمتمثلة كالتالي:

$$Y=29.462X-0.0081$$

تحصلنا على النتائج المدونة في الجدول التالي:

الجدول (5-5): الإمتصاصية وكمية الفلافونيدات للمستخلصات المدروسة

المستخلص الميثانولي	التركيز C mg/ml	الإمتصاصية	كمية الفلافونيدات mg Qr/g Extrait
مؤسسة القميري	2	0.853	14.61
مؤسسة عائشة	2	0.339	5.89
مسحوق غير معلب (en vrac)	2	0.567	9.76

- **تعليق على النتائج**

الملاحظ من النتائج المبينة في الجدول 5 أن أكبر كمية للفلافونيدات نجدها عند المستخلص الميثانولي لمؤسسة القميري حيث قدرت ب 14.61 mg Qr/ g Extrait، وأصغر قيمة كانت عند المستخلص الميثانولي لمؤسسة عائشة حيث قدرت ب 5.89 mg Qr /g Extrait، وبالمقابل كانت كمية الفلافونيدات لعينة من المستخلص الميثانولي لمسحوق الثوم لولاية الوادي (حدد+صالحي) 4.34mgQr/gE، أما حسب دراسة أجريت سابقا قدرت كمية الفلافونيدات 13.18 mg Qr /g Extrait [9]

وبالتالي نستنتج أن كمية الفلافونيدات تكون كبيرة عند المستخلص الميثانولي لمؤسسة القميري وهي القيمة الأقرب للدراسة السابقة.

4- الفعالية المضادة للأكسدة

4-1- الفعالية المضادة للأكسدة الكلية.CAT

من نتائج الإمتصاصية للمحاليل المحضرة وبحسابات رياضية ومن علاقة المنحنى القياسي لحمض الغاليك تم تقييم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية CAT للمستخلصات من خلال المعادلة التالية:

$$Y=5.6422X+0.1282$$

الجدول الآتي يوضح قيم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية:

الجدول (5-6): قيم الفعالية المضادة للأكسدة CAT

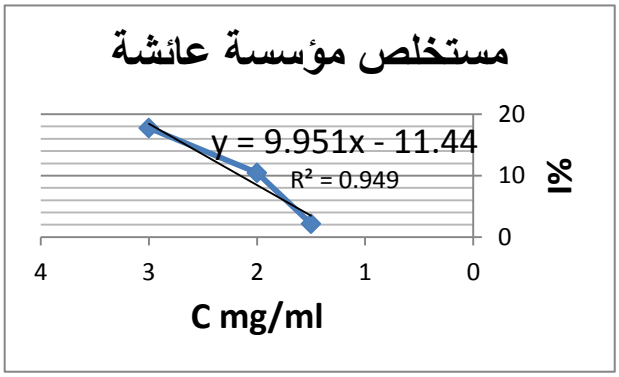
المستخلص الميثانولي	التركيز C mg/ml	الإمتصاصية	قيم اختبار نشاط CAT mg GAE/g Extrait
مؤسسة القميري	2	0.528	35.42
مؤسسة عائشة	2	0.759	55.90
مسحوق غير معلب (en vrac)	2	1.024	79.41

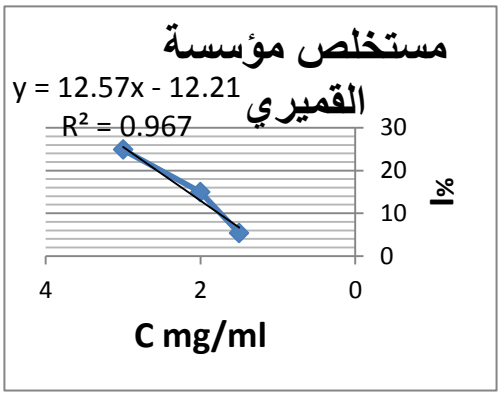
- **تعليق على النتائج:**
- أظهرت النتائج الموضحة في الجدول 6 أن قيم النشاطية متباعدة حيث سجلت أكبر قيمة عند المستخلص الميثانولي للمسحوق غير المعلب (en vrac) والتي قدرت ب 79.41 mg GAE/g E، وأصغر قيمة كانت عند المستخلص الميثانولي لمؤسسة القميري وقدرت ب 35.42 mg GAE / g E
- وبالمقابل وجدت قيمة الفعالية المضادة للأكسدة لدى المستخلص الميثانولي الخام للثوم بولاية الوادي 35.32 mg GAE/g Extrait، أي أن المستخلص غير المعلب هو الأكثر فعالية ضد الأكسدة وهذه النتيجة تتوافق مع دراسة أجريت على مستخلص الثوم تثبت أن النشاط المضاد للأكسدة فيه يرجع إلى وجود المركبات الكبريتية [10].

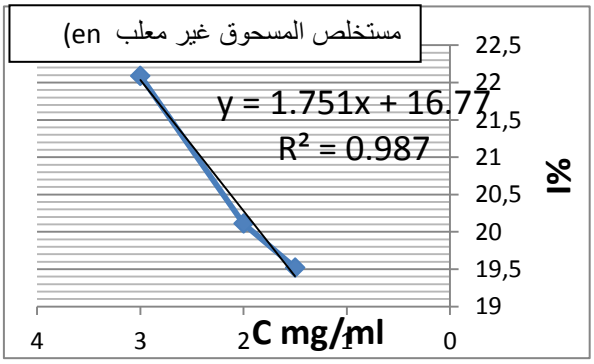
2-4- نتائج اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH:

الجدول (5-7): نتائج تثبيط الجذر الحر DPPH في المستخلص الكحولي لنبات الثوم

المستخلص الميثانولي	التركيز C mg/ml	الإمتصاصيةA	معامل التثبيط I
مؤسسة القميري	2	0.403	20.01
مؤسسة عائشة	2	0.454	10.45
مسحوق غير المعلب (en vrac)	2	0.405	20.11







الشكل(5-1): منحنيات النشاطية للمستخلصات في تثبيط الجذر الحرDPPH

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

الجدول (5-8): قيم IC_{50}الكل مستخلص

المستخلص الميثانولي	IC_{50} mg/ml
مؤسسة القميري	4.94
مؤسسة عائشة	6.17
مسحوق غير المعلب (en vrac)	18.97
مستخلص (حدد+ صالحي) 2021	2.77

تعليق على النتائج:

يتضح من قيم IC_{50} الموضحة في الجدول أعلاه واعتمادا على ما جاء في دراسات سابقة أنه كلما كانت قيمة IC_{50} صغيرة كانت الفعالية المضادة للأكسدة كبيرة للمستخلص [11] بمقارنة قيم IC_{50} لمستخلصات الثوم التجاري نجد أن المستخلص الميثانولي لمؤسسة القميري كانت له أفضل قيمة حيث قدرت ب 4.94 mg/ml, أما بمقارنة هذه القيمة مع المستخلص الميثانولي ل (حدد+صالحي) 2021 المقدرة ب 2.77mg/ml نجد أن IC_{50} لهذا المستخلص هي أفضل قيمة،

أما بالنسبة لمستخلص المسحوق غير المعلب فقيمة IC_{50} أكبر بكثير من باقي القيم للمستخلصات الميثانولية حيث قدرت ب 18.97 mg/ml وبالتالي يعتبر المستخلص الأقل نشاطية،

بالمقابل أجريت دراسات أخرى لنفس النبات حيث قدرت قيمة IC_{50} له ب 0.512 mg/ml [12]

كما أثبتت دراسات أخرى أن الثوم غني بمضادات الأكسدة التي تساعد على تدمير جزيئات الجذير الحرة [10]

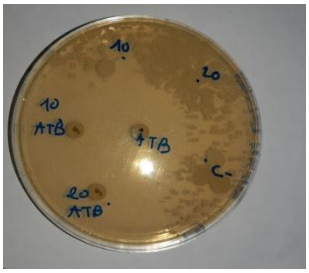
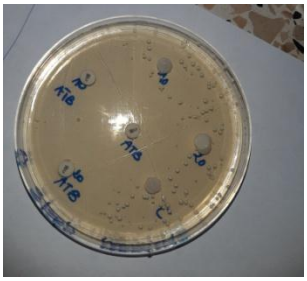
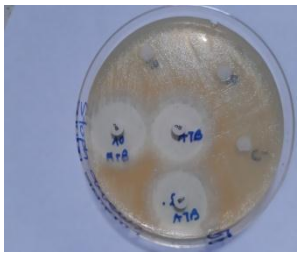
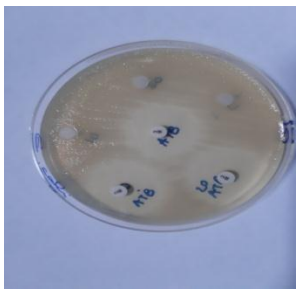
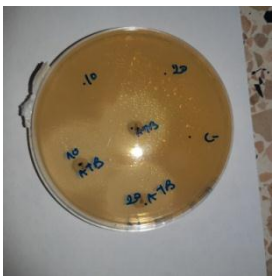
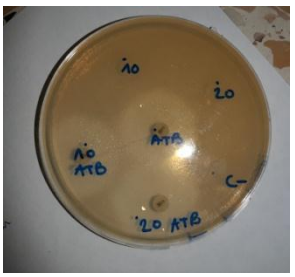
بمقارنة القيم المتحصل عليها مع الدراسات السابقة نستنتج أن المستخلصات التجارية تعتبر الأقل نشاطية،

5- تقييم الفعالية الميكروبية للمستخلص الكحولي للنبات:

تم اختبار الفعالية ضد البكتيريا على مستوى مخبر المجد للتحاليل الطبية بولاية الوادي الجزائر باستعمال طريقة الانتشار والتي أجريت على كائنات مجهرية منها ثلاث أنواع من بكتريا مختلفة الغرام (منها السالبة والموجبة).

السلالات البكتيرية المستعملة في الدراسة كانت على التوالي *Escherichia coli* , *Stapylococcus aureus* , *StapHylococcus hominis* والتي تم الحصول عليها من مخبر المجد بالوادي تلخص الجدأول 9،10،11 نتائج أقطار التثبيط للمستخلصات الكحولية للمساحيق على السلالات البكتيرية.

الجدول (5-9): نتائج الفعالية ضد البكتيريا للمستخلص الكحولي للنبات

الأنواع البكتيرية	مستخلص القميري	مستخلص عائشة	مستخلص مسحوق غير معلب (en vrac)
StapHylococcus hominis			
StapHylococcus aureus			
Escherichia coli			

حيث الرموز المكتوبة على الأطباق البيترية والموضحة في صور الجدول 9 تعني:

c^-: محلول DMSO (الشاهد)

10: المستخلص ذي التركيز 10 mg/ml

20: المستخلص ذي التركيز 20 mg/ml

ATB: المضاد الحيوي

ATB 10:المضاد الحيوي + المستخلص ذي التركيز 10mg/ml

ATB 20: الحيوي + المستخلص ذي التركيز 20mg/ml

الجدول (5-10): أقطار التثبيط للسلالات البكتيرية المستعملة على مستخلصات النبات الثوم المجفف للأنواع التجارية المستخدمة في الدراسة بوحدة مم

الصيغة	الأنواع البكتيرية	القميري		عائشة		غيرالمعلب (en vrac)	
G^+		10 mg/ml	20 mg/ml	10 mg/ml	20 mg/ml	10 mg/ml	20 mg/ml
	StapHylococcus hominis	0	0	0	0	0	0
	Stapylococcus aureus	0	0	0	0	0	0
G^-	***Escherichia coli***	0	0	0	0	0	0

تعليق على الجدولين 9 و 10:

من خلال جدول النتائج نلاحظ أن المستخلص لم يبد أية فعالية ضد البكتيريا وبقاء البكتيريا متجمعة في المنطقة التي وضع فيها المستخلص الميثانولي.

نستنتج أن مستخلصات مسحوق الثوم التجاري الثلاثة لا تملك فعالية ضد البكتيريا رغم وجود دراسة تثبت بأن الثوم مضاد للبكتيريا، وهذا يعود لوجود الأللسين والمركبات الكبريتية المسؤولة عن تأثير المضاد للمكروبات [13].

الجدول (5-11): أقطار التثبيط للسلالات البكتيرية المستعملة على مستخلص مؤسسة القميري مع المضاد الحيوي بوحدة مم

الصيغة	الأنواع البكتيرية	مستخلص القميري + ATB		ATB
		10 mg/ml	20 mg/ml	
G^+	***StapHylococcus hominis***	36	38	31
	Stapylococcus aureus	24	25	23
G^-	***Escherichia coli***	27	29	26

الجدول (5-12): أقطار التثبيط للسلالات البكتيرية المستعملة على مستخلص مؤسسة عائشة مع المضاد الحيوي بوحدة مم

الصيغة	الأنواع البكتيرية	مستخلص عائشة + ATB		ATB
		10 mg/ml	20 mg/ml	
G^+	*StapHylococcus hominis*	22	24	22
	Stapylococcus aureus	23	23	22
G^-	*Escherichia coli*	30	30	28

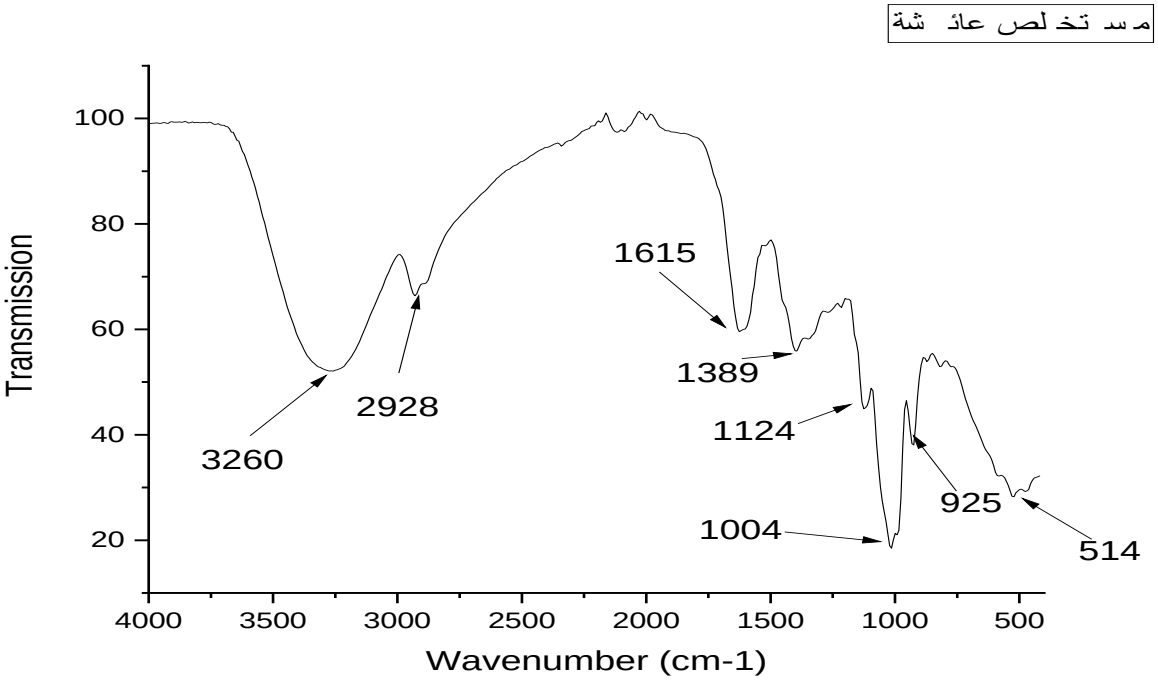
الجدول (5-13): أقطار التثبيط للسلالات البكتيرية المستعملة على مستخلص المسحوق غير المعلب (en vrac)مع المضاد الحيوي بوحدة مم

الصيغة	الأنواع البكتيرية	المسحوق غير المعلب ATB+(en vrac)		ATB
		10 mg/ml	20 mg/ml	
G^+	*StapHylococcus hominis*	35	35	37
	Stapylococcus aureus	26	28	29
G^-	*Escherichia coli*	22	29	30

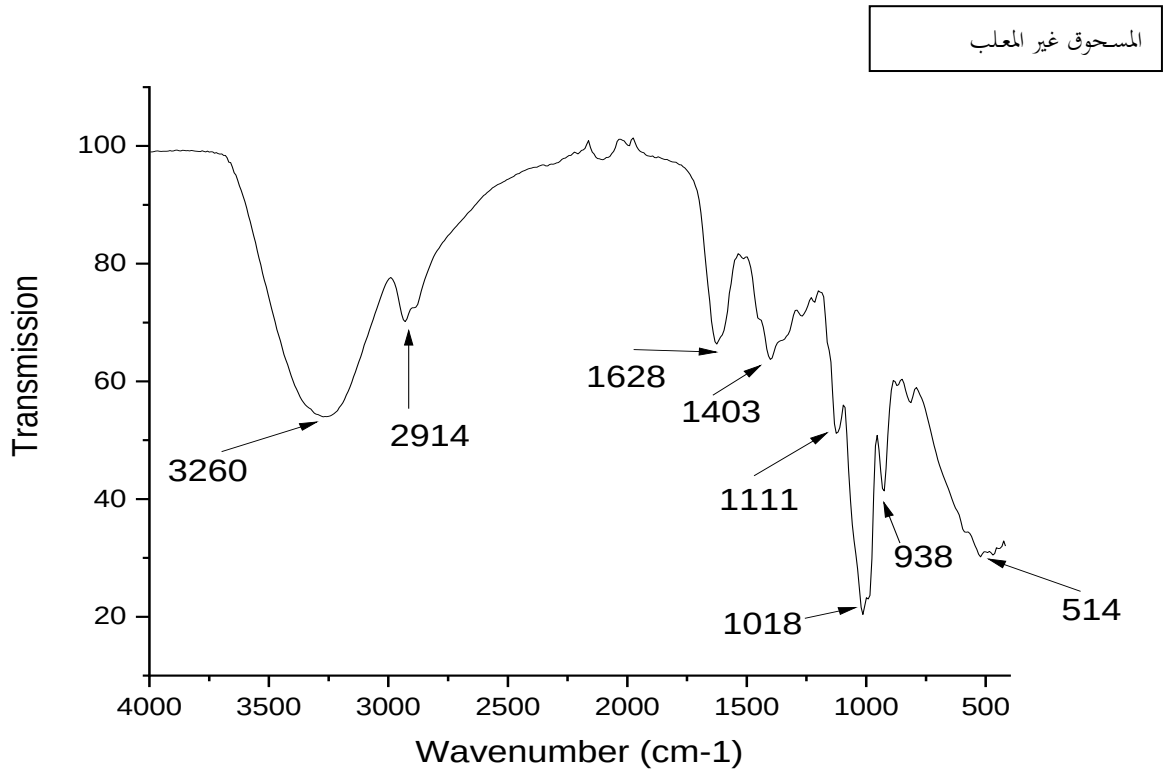
تعليق على الجدأول 11،12 و13: نلاحظ من خلال النتائج الموضحة زيادة في أقطار التثبيط لدى المضادات الحيوية في وجود مستخلصي مؤسستي القميري وعائشة، أي أن فعالية المضادات الحيوية تزداد في وجودهما، خاصة مستخلص مؤسسة القميري حيث كانت الزيادة أكثر، كما نلاحظ أيضا أنه كلما زاد تركيز المستخلص تزداد قيم هاته الأقطار وبالتالي تزداد الفعالية الميكروبية. وهذه النتائج تتوافق مع دراسة أجريت على نفس النبات حيث أثبتت أن مستخلص الثوم يستخدم مع المضادات الحيوية لمحاربة الالتهابات [13]

وبالمقابل نلاحظ نقصا في أقطار التثبيط لدى المضادات الحيوية في وجود المستخلص غير المعلب وهذا لا يتوافق مع نفس الدراسة المذكورة،

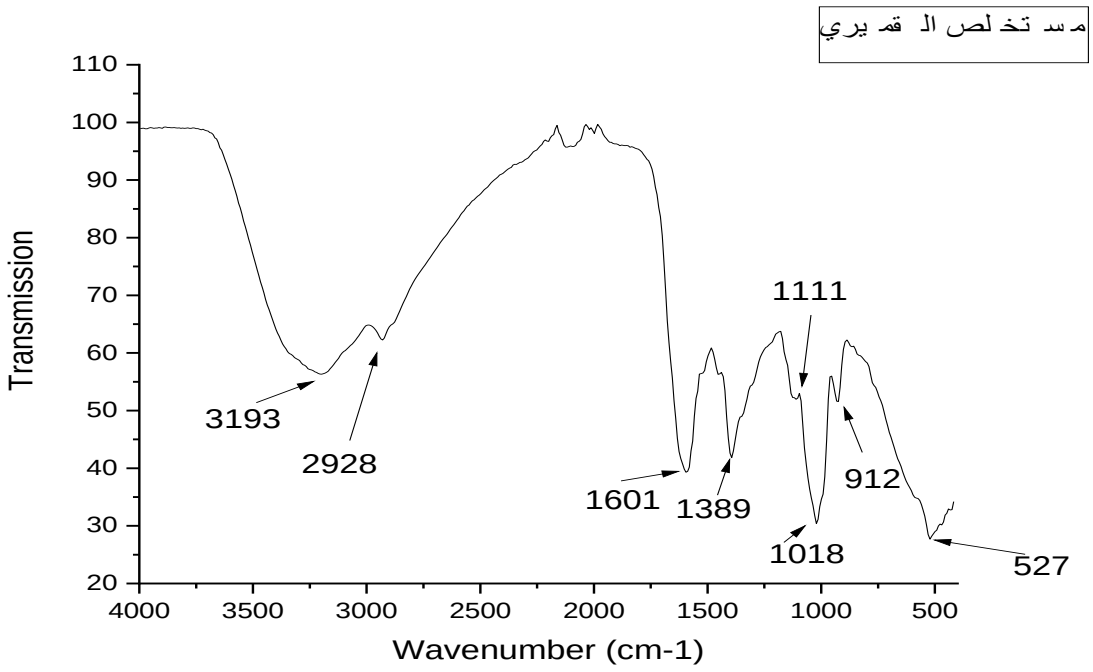
6- نتائج تحليل المستخلصات الميثانولية بواسطة الأشعة تحت الحمراءIR :



الشكل (5-2): طيف الأشعة تحت الحمراء للمستخلص الميثانولي لمؤسسة عائشة



الشكل (5-3): طيف الأشعة تحت الحمراء للمستخلص الميثانولي للمسحوق غير المعلب



الشكل (5-4): طيف الأشعة تحت الحمراء للمستخلص الميثانولي لمسحوق مؤسسة القميري

6-1- تحليل الأطياف المتحصل عليها:

الجدول (5-14): المجموعات الوظيفية في المستخلصات الثلاثة

المجموعة الوظيفية	مجال الإمتصاصية cm^{-1}
عصابة OH فينول	3200-3550
عصابة CH ألكيل	2850-2950
عصابة C=Cحلقية	1600 – 1640
عصابة C-O كحول	1050-1300
عصابة C=O للايثر	1000-1300
عصابة CH ألسان	690-995
عصابة حلقة عطرية	400-890
عصابة C=O– حمض كربوكسيلي	1400-1380

تعليق على الجدول: نلاحظ تواجد مجموعات وظيفية فعالة أهمها الوظيفة الكحولية OH للفينول و الوظيفية الكربوكسيليةCO للحمض الكربوكسيلي وتواجد المركبات الحلقية العطرية بالإضافة للرابطة C-H للألسانات وهذه الوظائف مثبتة في دراسات أجريت سابقا [14]

الخاتمة

الخاتمة:

كان للنباتات الطبية دور مهم في تاريخ البشرية حيث استخدمت منذ العصور القديمة لعلاج أمراض مختلفة في الإنسان، لما تحتويه من مواد فعالة التي تستعمل في صناعة الأدوية الطبية والعقاقير،

سعيا منا لإظهار هذه المواد الفعالة في نبات الثوم (*Allium satuvim*)، قمنا بدراسة المسحوق التجاري للنبات والمستخلص الميثانولي لكل من الأنواع التجارية الثلاثة وذلك بإجراء عدة تحاليل كمية وكيفية بغرض الكشف عن مكوناتها من جهة وكمية هذه المركبات من جهة أخرى،

على ضوء النتائج المتحصل عليها يمكننا أن نستنبط النقاط التالية:

أولا: للكشف عن المركبات الفينولية قمنا بتحضير المستخلص الميثانولي لكل مسحوق ثم تمكنا من تقدير مردود المستخلص الميثانولي لها حيث سجلنا أعلى قيمة لدى المستخلص الميثانولي لمسحوق مؤسسة القميري الذي قدر ب 15.90%اما بالنسبة لمؤسسة عائشة قدرت ب 12.89% وأخيرا مستخلص المسحوق غير المعلب (en vrac) قدرت ب % 12.13 وهي أدنى قيمة.

ثانيا: بعد عملية الإستخلاص قمنا بالكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي في الأنواع الثلاثة للمسحوق التجاري، سواء على شكلها الجاف أو على المستخلص الميثانولي لها، ومن خلال هذه الاختبارات التي قمنا بها استنتجنا وجود كل من القلويدات والتانينات، التربينات الثلاثية، الستيرولات، الصابونيات، الفلافونيدات، الغليكووسيدات، الفينولات والمركبات المرجعة. وغياب كل من النشأ والأنثوسيانات.

ثالثا: بعد عملية الكشف انتقلنا إلى التقدير الكمي لأهم المواد الأيض الفعالة، فسجلت أعلى قيمة للفينولات أيضا لنفس المستخلص (مؤسسة القميري) وقدرت ب: 26.72 mg GAE/gExtrait وأقل نسبة سجلت كذلك لدى مستخلص مؤسسة عائشة وقدرت ب 6.66 mgAG E/gExtrait.

ونفس الترتيب بالنسبة للفلافونيدات حيث قدرت أعلى نسبة لدى مستخلص مؤسسة القميري mgQ/g Extrait 14.61 وأقل نسبة لدى مؤسسة عائشه 5.89 mgQ/g Extrait.

رابعا: انتقلنا بعد ذلك إلى اختبار الفعالية المضادة للأكسدة،وجدنا أن مستخلص المسحوق غير المعلب يمتلك أكبر قيمة للفعالية المضادة للأكسدة حيث قدرت ب 79.41 mg GAE/g E،

يليها اختبار تثبيط الجذرالحر،حيث سجلت أحسن قيمة للتثبيط لدى مستخلص مؤسسة القميري حيث قدرت قيمة IC_{50} ب 4.94 mg/ml.أما أدنى قيمة سجلت لدى مستخلص المسحوق غير المعلب مقدرة ب 18.97 mg/mlوهو الأقل تثبيطا.

خامسا: أجرينا اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا على ثلاث سلالات بكتيرية مختلفة، فلم يظهر أي مستخلص نشاطا مضادا للبكتيريا، بالمقابل أظهر المضاد الحيوي فعالية أكبر ضد البكتيريا في وجود مستخلصي مؤسستي القميري وعائشة، وفعالية أقل في وجود مستخلص المسحوق غير المعلب.

سادسا: قمنا بتحديد المجموعات الوظيفية في المستخلصات الكحولية بواسطة تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء فأظهر التحليل وجود العديد من الوظائف أهمها الوظيفة الكحولية OH للفينول والوظيفة الكربوكسيلية C=O وكذا تواجد الحلقات العطرية.

وأخيرا وبعد تحليل النتائج المتحصل عليها نأمل ان تكون هذه الدراسة بداية لتثمين النباتات الطبية كونها مصدرا غني بمضادات الأكسدة والمواد الفعالة، ولزيادة أفاق هذا البحث نوصي باستعمال طرق أخرى للتأكد قيمة IC_{50} للمسحوق واستخدام طرق أخرى للاستخلاص.

قائمة المراجع

مراجع المقدمة العامة:

[1] محمد بوعبد الله سعد –دراسة بعض التأثيرات البيولوجية لمستخلص نبات الشاي الأخضر على النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا –شهادة ماجستير-قسنطينة -2011-92صفحة.

[2] زردومي سليمان-Artemisia campestristفي منطقة اريس دراسة تشريحية ودراسة النشاط ضد بكتيرية والضد تاكسدية لزيتها الأساسي –شهادة ماجستير –سطيف -2015-46 صفحة،

[3] عبد الرحيم بن سلامة –النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة لإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق Hertia cheirifolia.L-شهادة ماجستير –سطيف-2012-78 صفحة.

[4] الدراجي الهادف-المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت العطرية والمستخلصات العضوية لأوراق نبات Origanum وCymbopogon schoenauthus–اطروحة دكتوراه-2017.

[5] www:Wikipedia.com

مراجع الفصل الأول بالعربية:

[1] محمود سلامة محمود الهايشة , 2005/08/13 – الأعشاب والنباتات الطبية والعطرية كإضافات: غذائية للمجترات

[2] هيكل م.عمر عبد الرزاق(1993).النباتات الطبية و العطرية كيمياؤها , إنتاجها ,فوائدها: الطبعة الثانية منشأة المعارف بالإسكندرية للنشر (مصر),ص 13-28

[5] وليد أ. عالج نفسك بنفسك، بغداد : دار الرائد للنشر والتوزيع ؛ 2009 :p328.

[7] حسين ,س.ص.سالي,ب.ش.,2014 : الطب البديل عن طريق معرفة القيمة الغذائية للفواكه والخضر والأعشاب. الطبعة الأولى, الدار الدولية للإستثمارات الثقافية,القاهرة,مصر,ص 75. دار الأسرة للإعلام ودار عالم الثقافة ص 67

[10] الموسوعة العربية، الطبعة الأولى.مؤسسة اعمال الموسوعة للنشر والتوزيع.الصفدي ب, الثوم in 1996، .2100 p

[20] آية،ج،س،إيمان،م،ع،.(2014) :الثوم وفوائده الصحية،مجلة أسيوط للدراسات البيئية -،العدد الأربعون

[23] احسان،ع،ع،ا،.(1999) :دراسة الفعالية المضادة للجراثيم للمستخلصات المائية لنبات الثوم.المجلة الصحية للشرق الأوسط،منظمة الصحة العالمية ,5(4) 803-810

مراجع الفصل الأول بالفرنسية:

[3]: Garlic ((Allium Sativum L)) [Internet]. [cited 2015 Sep 24]

[4] : Stavělíková H. MorpHological characteristics of garlic ((Allium Sativum L) L ،) genetic resources collection – Information. HORT SCI. 2008;35(0002700602):130 p.

[6] : Garlic Classification [Internet]. [cited 2015 Sep 5].

[8] : **Banfitebiyi, G, Yaovi,M,S,C,. Ameyapoh, A,. Holaly, E,. Gbekley, B,.Djeri, M,. Assistant, K,. Kokou, A,. Karou, S,. (2019)**: Revue sur l'Ail et ses composes bioactifs, Review on Garlic and its bioactive compounds, European Scientific Journal February edition,15(6): 1857 – 7881.

[9] : **Divya, B,J,. Suman, B,. Lakshman, L,K,. Venkataswamy, M,. Eswari, B,.Thyagaraju, K,.(2017)**: The role of (Allium Sativum L)(GARLIC) in various diseases and its health benefits: a comprehensive review, international journal of advanced research(IJAR),5(8): 592-602.

[10] : **Syed, H.O., (2009)**: Oleuropin in Olive and its PHarmacologica Effects.College of PHarmacy, Qassim University, P.O. Box-31922, Buraidah-51418,Saudi ArabiaSci PHarm; 78: 133–154p.

[12] : Staff TP, editor. PDR For Herbal Medicine. 3, illustr. Thomson PDR; 2004. 1250 p.

[13] : Blackwood John FS. Garlic: Nature's Original Remedy. Javelin Books; 1986.

[14] : Swiderski F, Dabrowska M, Rusaczonek A, Waszkiewicz-Robak B. Bioactive substances of garlic and their role in dietopropHylaxis and dietotherapy. Rocz Państwowego Zakładu Hig. 2007 Jan;58(1):41p.

[15]: Carmia Borek. Garlic: 4 Varieties for Health. Heal Sci News. 2000 [cited 2015 Sep 30]

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

[17]: Lucie, C,. (2016):L'ail et son interet en pHytherapie diplôme d'Etat de Docteur en PHarmacie, Faculte de pHarmacie universite de lorraine. 141p.

[18]: Bruneton, J,.(2002): PHytothérapie : les données de l'évaluation. Paris: Éditions TEC& DOC:242p.

[19]: Bruneton, J,.(2002): PHytothérapie : les données de l'évaluation. Paris: Éditions TEC& DOC:242p.

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

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

[24]: Shang, A,O., Shi-Yu; C,. Xia-yu, X,. Ren-You, G., Guo-Yi, T,.(2019): -Harold Corke, Vuyo Mavumengwana, Bioactive Compounds and Biological.Functions of Garlic ((Allium Sativum L) L.) Foods (8)246: 31p.
Six varietes d'olives introduites dans Le Sud-Est Algerien. European Scientific JournaL, 12(33): 537-553.

مراجع الفصل الثاني بالعربية:

[3] عمر ل..2010- دراسة بعض الخصائص البيوكيمائية لنبات الشيح مذكرة لنيل شهادة الماجستير في بيولوجيا وفيزيولوجيا النبات، جامعة فرحات عباس. ص90.albaasso Artemisia herba

[6] حوه ا..2013 - دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة. 109ص.

[7]- طه ح.. 1981- النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها، دار المريخ للنشر. الرياض. ص 63-112.

[9] الحازمي ح.. 1995- المنتجات الطبيعية، مطابع جامعة الملك سعود. المملكة العربية السعودية، 120 – 125 ص

[10] ابو زيد ش.. 2005-فسيولوجيا وكيمياء القلويدات في النباتات الطبية وأهميتها الدوائية والعلاجية، دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع. القاهرة.496ص.

[11] بوبطيمة ا.. 2012- مقارنة بين الطريقة الفيتوكيميائية والطريقة الالكتروكيميائية في دراسة فينولات بعض نوى التمر المحلي. مذكرة ماستر اكاديمي. جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.الجزائر. 97ص

[13] بن سلامة ع.ا..2012- النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق. مذكرة مقدمة لنيل شهادة ماجستير في البيوكيمياء، جامعة فرحات عباس، سطيف، الجزائر. 90 ص.Hertia cheirifolia L

[14] جرموني م.. 2009-النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة الخياطة مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء والفيزولوجيا التجريبة. جامعة فرحات عباس سطيف. الجزائر. ص95

[15] بن خناثة م.. 2014- المساهمة في دراسة مستخلصات نبتة الكلخة، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر اكاديمي. جامعة قاصدي مرباح، ورقلة. 83 ص.

[18] بن مرعاش ع، . 2012 – دراسة نواتج الايض الثانوي الفلافونيدية والفعالية المضادة للأكسدة للنبتة Conovolvulus supinus Coss et Kralمذكرة مقدمة لنيل الماجستير في الكيمياء، جامعة منتوري قسنطينة. الجزائر.136 ص

[19] ميثاق ج.. 2010 – بحث وتحديد نواتج الايض الثانوي لنبات القات ونبات البوليكاريا وتقييم الفعالية البيولوجية. رسالة مقدمة لنيل شهادة الدكتراه علوم في الكيمياء العضوية. جامعة منتوري - قسنطينة، 142 صCatha edulis

[21] د/رفعت احمد الكرد. تاثير التاتينات من مصادر نباتية مختلفة على الوضع التغذيي للحديد في الجرذان. المؤتمر العربي الثالث للتغذية. كلية الصيدلة والعلوم الطبية جامعة البترا، عمان- الاردن،

[22] صحرأوي سميرة.2016- دراسة التأثير التثبيطي لمزيج من مستخلص نبات الحناء ونبات الشيح على نشاط بعض أنواع البكتيريا، مذكرة مقدمة لنيل شهادة ماستر، جامعة الوادي، ص10

[23] ا.د/محمد صالح محمد اسماعيل. السيترولات النباتية وصحة القلب، كلية الزراعة والطب البيطري، جامعة القصيم المملكة العربية السعودية ص 1-2

[24] منال معلول، 2017 – تقدير الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي للنبات الصحرأوي تجاه تاكل الفولاذ الكربوني XC70 في أوساط حمضية جامعة حمة لخضر الوادي ص 24. Moltikia Ciliata

[25] العابد ابراهيم، 2009- دراسة الفعالية المضادة للبكتريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران مذكرة تخرج ماستر تخصص كيمياء عضوية تطبيقية جامعة قاصدي مرباح ورقلة ص9-17

مراجع الفصل الثاني بالفرنسية:

[1]-MOHAMMEDI Z. , 2013.Etude pHytochimique et activité biologique de quelques plantes médicinales de la région nord et sud ouest de l Algérie ،Thèse doctorat. Universite Abou Beker.170 p

[2]- ZEGHEB N.,2013- L effet antibactérien de l extrait flavonoidique de la plante (ZygopHyllum album L). Mémoire de fin d études En vue de l obtention du diplôme MASTER. Université Mohamed khi der Biskra.73p.

[4]- BOUUKRI N H., 2014 – Contribution a l étude pHytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Thème Master Académique. Université Kasdi Merbeh Ouargla. 99 p.

[5]- KANOUN K., 2011 – Contribution a l étude pHotochimiques et activité antioxydant des extraits de Myrtus communis L.(Rayhane)de la région de Tlemcen (Honaine).Mémoire En vue de l obtention du Diplôme de Magister. Université Aboubek Belkaid Tlemcen ، 118 p ،-

[8]- MAURO NM., 2006 – Synthèse d alcaloogides biologiquement actifs: la (+) anatoxine –a et la (+-) camptothecine. Thèse doctorat , Université JosepH fourier. 195 p.

[12]-BENHAMMOU N.,2012- Activité antioxydante des extraits des composes pHénoliques de dix plantes médicinales de l Ouest et du Sud-ouest Algérien ،Thèse doctrat.Universite Aboubakr Belkaid.Tlemcen. 174 p.

[16]-NITCH, J.P., NITSCH, C.1961-Synergistes naturels des auxinex et des giberellines. Bull.-

[17]- HARKAT H., 2008 – Hétérocycles oxygénés et composes aromatiques de Frankenia thymifolia Desf ‹: formation d hétérocycles oxygénés et isolement de substances naturelle. Thèse de doctorat. Universite EL Hadj Lakhdar Batna. 222 p.

[20]-ATHAMNA S., 2009 –Etude quantitative Flavonoides des grains de Cuminum Cyminum et Les feuilles de Rosmarinus officinalis et l évaluation de l actinite biologique ،Mémoire Présenté pour l obtention du diplôme de Magister. Université El – Hadj Lakhdar Batna ،126p.

مراجع الفصل الثالث بالعربية:

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

[3]. بولوطة ح، النشاط المضاد للتأكسد وإمكانية وقائية المستخلص الميثانولي لنبتتي Centarirea Incan و Matricaria pubescens على السمية الكبدية، مذكرة ماجستير، جامعة منتوري،قسنطينة،ص125. (2009).

[5]. لقرون زهورة، 2016- دراسة الدور الوقائي لبعض المركبات النشطة بيولوجيا اتجاه الأثر السمي للمبيدات

والهيدروكربونات على الجهاز العصبي والمناعي عند الجرذان، أطروحة لنيل شهادة دكتوراه،جامعة الإخوة منتوري قسنطينة ص22-25.

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

[8]. بوبلوطة حورية،2009- النشاط المضاد للتأكسد وإمكانية وقاية المستخلصين الميثانولين لنبتتي Matricariaو centaurea على السمية الكبدية، جامعة منتوري قسنطينة ،ص 21.

[11]. قمولي ص، دراسة الكتروكيميائية لفينولات بض نوى التمر المحلي، مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح،ورقلة،ص69،(2011).

[12] عمراني، دور فيتامين E,Cوالمستخلص البوتانولي لنباتي Chrysanthemum Rhantherium - fontanesi suaveolone-في الوقاية من التسمم بدواء soduim valproate

لدى الفئران الحوامل دراسة المحرض Invivoو Invitro ،رسالة دكتوراة علوم، جامعة قسنطينة 1،ص106 (2009)

[19]. المركز الوطني للمعلومات التقنية الحيوية NCBI عنقودية بشرية،

[20]. ScienceDaily اكتشاف المسار الجيني البكتيري المشارك في انتاج رائحة الجسم نسخة،

مراجع الفصل الثالث بالفرنسية:

[1] .MOHAMMEDI Z. , 2013.Etude pHytochimique et activité biologique de quelques plantes médicinales de la région nord et sud ouest de l Algérie ،Thèse doctorat ، Université Abou Beker.170 p

[4]- MEDOW M. S., BAMGI N., CLARKE D.,OCON A. J. AND STEWART J. M.2011- Reactive oxygen species (ROZ) form NADPH And xanthine oxidase molulate the cutaneous local heating response in healthy humans.J Appl PHysiol.301: R763-R768

[7]- Halliuell , B ،and Gutteridge , J ، M ، C ، ,Oxygen toxicity , oxygen radicals transition metals and disease , REVEWAARTICLE ,Biochem. J ،219 ;(1984),pp 1-14.

[9]-CHENG F ، C., JEN J. F. AND TSAI T. H. 2002- Hydroyl radical in lilvng systems and its separation methods' Chromatogram B Analyt Technol Biomed Life Sci ، 781: 481-496

[10]- Nduka,A. , kayode, O.O. (2010):Comparative Antioxidant,PHytovhemical and Proximate Analyst

Is of Aqueousand Methanolic Extracts of Vernonia amygdalina and Talium triangulare,Pakistan JournalaNutrition 9 (3) :259-264

[13]-Miqueln, can antioxidant diet supplementation protect against age – related mitohondrial damage , Acad S ci ،959.p:508-p508-516,(2002).

[14]- Kh , K., et al.,Biochemical changes of Rosmarinus officinalis under salt stress. 2010..6.(3)

[15]- DANGLES, O ،and M. DELUZARCHE, Flavonoïdes et anthocyanes.

[16]- Santos, A.C.d.M., et al., A virulencia de Escherichia coli patogenica extra- intestinal (ExPEC) em relacao a idade e ao sexo do hospedeiro. 2009: p. 392-400.

[17]- Hamidi., N., et al., Ethno pHarmacology, antibacterial and antioxidant activities, pHytochemical screening of bioactive extracts of form the aerial parts of Fagonia longispina. 2014. 3(3): p. 53-63

[18]- http://www. Aljazeera ، net.

مراجع الفصل الرابع بالعربية:

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

[11]- بن خناثة م، 2014- المساهمة في دراسة مستخلصات نبتة Ferula Vesceritensis، مذكرة تخرج لنيل ماستر اكاديمي، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، 83 ص.

[12]- اللبي ز. دردوري س. التقدير الكمي لعديدات الفينوال والفلافونيدات ودراسة النشاطية البيولوجية لمستخلصات نبات الغبيثاء مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي تخصص بيولوجيا وتثمين النبات، جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي (2016).

مراجع الفصل الرابع بالفرنسية:

[1]- Boukrin H., Contribution a l'étude pHytochimique des extrais bruts des épices Contenus dans le mélange Ras-el hanout.Theme Master Académique Université kasdi Merbah ourgla.p99.(2014).

[2]- Marx,E.,J.M. Hart, and R.G.Stevens,Soil test interpretation guide. 1996.

[3]-Jones, J.B., laboratory guide fpr coanducting soil teste plant analysis. 2001: CRC press.

[4]- Shankar, S., B.N. Singh,and, R.K. Srivastava,Plant polypHenols and their role in cancer prevention and chemotherapy,in Nutrition, diet and cancer. 2012, Springer.p

[5]-Yadav , M., et al., Preliminary pHytochemical screening of six medical plants used in traditional medicine ،2014 ، 6(5): p.539-54.2.

[6]-Jaradat, N., F.Hussen ,and A.J.J.M.E.S.AL Al Ali, Preliminarry pHytochemicpal screening,quantitative estimation of total flavonoids, total pHenols and antioxidant activity of EpHedra alata Decene.2015 6(6):p.1771-8

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

[9]- ARDESTANI A.,YAZDANPARAST R.,2007.Inhibitory effects of ethyl acetate extract of teucrium polium on in vitro protein glycoxidaton ،Food and Chemical Toxicology. 45:2402-2411

[10]- BLOIS MS., 1958- Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature.181: 1199-1200

[13]-- DZIRI S.,HASSEN I.,FATNASSI S., MRABET Y., CASABLANCA H.,HANCHI b., HOSNI K , pHenolic contituents antioxidant ، and antimicrobial activities of rozy garlic (Alliumroseum var. odoratissimum). Sci Verse Science Sirect joumal of functional foods (4).423-432.

[14]- Mukhtar, I.J.M., Influence of Trichoderma species on seed germination in okra.2008.6(182): p47-50

[15]- Hazalin, N.,A., et al.,Cytotoxic and antibacterial activitties of endopHytic fungi isolated form plants at the National Park,Pahang, Malaysia. 2009.9(1): p. 1-5.

[16]-YamaC, M. And F.J.P.b Bilgili, Antibacterial activities of fruit bodies and /or mycelial culture of some mushroom isolanttes. 2006.44(9): p667-660.

مراجع الفصل الخامس بالعربية:

[7] : حسين، ط.،كيمياء المنتجات الطبيعية.2008 : مديرية الكتب و المطبوعان الجامعية.

[8] : الحازمي،ح.ب.م.أ، ، المنتجات الطبيعية.1422 هجري: دار الخرجي للنشر والتوزيع.

[4] :السيد، ه، م، ،النباتات الطبية والعطرية كيمياؤها إنتاجها فوائدها.1993 مستخلص (حدد+صالحي) 2021 : Etude chimique des extraits bruts de la poudre d'ail (*Allium sativum*)cultivées dans la région d'El-oued

مراجع الفصل الخامس بالفرنسية:

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

[2] : Shankar, S., B.N. Singh, and R.K. Srivastava, Plant polypHenols and their role in cancer prevention and chemotherapy, in Nutrition, diet and cancer. 2012, Springer. p.817-854

[3] : Harborne, J.B. and C.A.J.P. Williams, Advances in flavonoid research since 1992. 2000. 55(6): p. 481-504.

[5]: Fuller, M.F., The encyclopedia of farm animal nutrition. 2004: Cabi

[6] : DANGLES, O ،and M. DELUZARCHE, Flavonoïdes et anthocyanes.

[9] : Batah Safa Saaidia Meryem,Y.S.(2016.). Etude de l'effet antimicrobien de l'extrait méthanolique de l'ail ((Allium Sativum L)L).

[10] : CAPASSO, Anna. Antioxidant action and therapeutic efficacy of (Allium Sativum L) L. Molecules, 2013, 18.1: 690-700.

[11]: Spingo G ،, Tramelli L., de faveri D. M. Effects of extaction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc pHenolics, Journal of Food Engineering, 81: 200-208,(2007).

[12] : Aydin, Çiğdem, and Ramazan Mammadov. "PHytochemical analysis, pHenolic content, antioxidant, antibacterial, insecticidal and cytotoxic activites of Allium reuterianum Boiss. Extracts." (2019).

Indian journal of traditional knowledge vol 18(2),April 2019,pp 290-298.

[13]: Hussein, Hussein J., Imad Hadi Hameed, and Mohammed Yahya Hadi. "A Review: Anti-microbial, Anti-inflammatory effect and Cardiovascular effects of Garlic: (Allium Sativum L)." Research Journal of PHarmacy and Technology 10.11 (2017): 4069-4078.

[14]:DETHIER,Bérénice.Contribution à l'étude de l'alliine de l'ail(Doctoral dissertation,Université de Liège , Belgique).

الملاحق

نتائج الكشف عن الفلافونيدات 	الحمام المائي للعينات من أجل الكشف عن الفعالية المضادة للأكسدة 	حاضنة بها أطباق البكتيريا
نتائج الكشف عن الصابونين 	التحضير لعملية النقع 	ترشيح تحت الفراغ
جهاز التبخير الدوراني 	تحضير أطباق البكتيريا 	الكشف عن النشأ

الكشف عن الستيرويدات 	الكشف عن القلويدات 	الكشف عن الجليكوسيدات