الجمهوريـــة الجزائريـــة الديمقـراطيـة الشعبيـــة

وزارة التعليـم العـالـي والبحث العلمـي

رقم الترتيب:
رقم التسلسل:

جـــامعـة الشهيـد حمـة لخضـر الـــوادي

كليـــة علـــوم الطبيعـــة والحيـــاة

قســـم البيـولـــوجيـــا

مـــذكـــــرة تخـــــرج

لـنيـــل شهـــــادة مـــــاستـــر أكـــاديـمـــي

ميدان: علـــوم الطبيعـــة والحيـــاة

شعبـــة: علـــوم البيـــولـــوجيـــا

تخصص: التنوع الحيوي و فيزيولوجيا النبات

الموضوع

المساهمة في دراسة نواتج الأيض الثانوي و الفعالية البيولوجية لمستخلصات نبات القزاح *Pituranthos chloranthus*

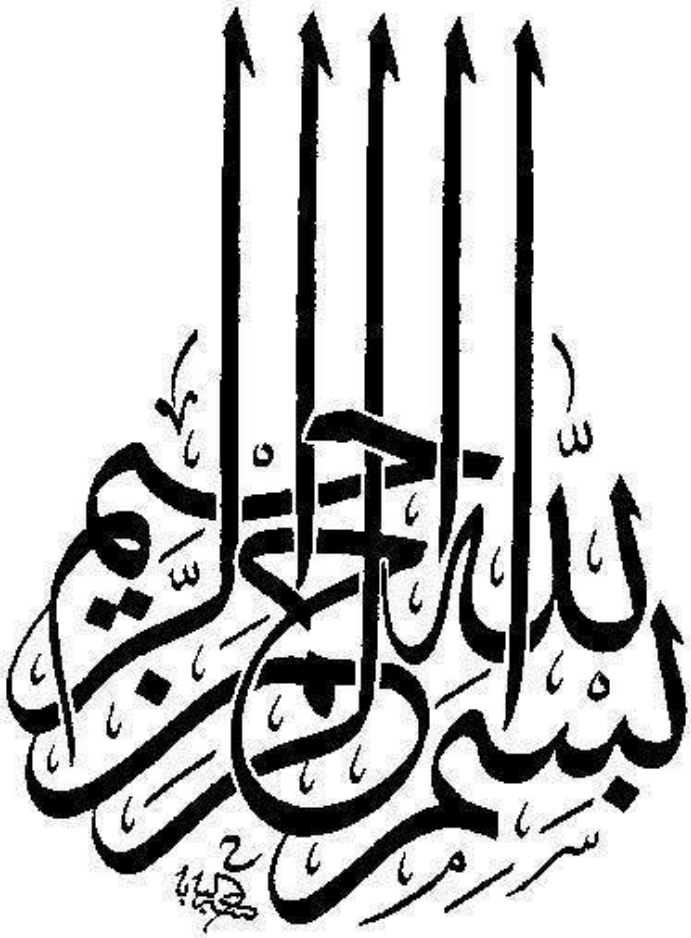
من إعداد:

- قدوري زهية
- طعبة سميحة

نوقشت يوم../ 2019/06 من طرف لجنة المناقشة :

بن قدور مونية	أستاذ محاضر قسم ب	رئيسا	جـامعـة الشهيد حمه لخضر
مخدمي نور الهدى	أستاذ مساعد قسم أ	مؤطرا	جـامعـة الشهيد حمه لخضر
سنيقرة موسى	أستاذ مساعد قسم أ	ممتحنا	جـامعـة الشهيد حمه لخضر

الموسم الجامعي: 2019/2018



شكر وعرفان

بسم الله والحمد لله والصلاة والسلام على خير خلق الله

مصداقا لقوله تعالى: **{لئن شكرتم لأزيدنكم}** نحمد الله عزّ وجل على أن وفقنا لإتمام هذا العمل المتواضع، وألهمنا الصبر لتخطي المصاعب والعقبات

و نرجو من الله أن نكون قد وفقنا في اختيار العنوان وانتقاء المصادر و إجراء الدراسة بالشكل الذي نستطيع عرضها للجميع بما يعود عليهم بالفائدة والنفع.

و عملا بقول النبي صلى الله عليه وسلم **(من لم يشكر الناس لم يشكر الله)** رواه احمد

نتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذة **"مخدمي نور الهدى"** على مساعدتها واقتراحاتها ونصائحها وتوجيهاتها، كما نشكر لجنة المناقشة الأستاذة بن قدور منية رئيسا والأستاذ سنيقرة موسى ممتحنا على قبولهم مناقشة مذكرتنا.

نشكر الله للأستاذ الفاضل " خراز خالد" و الأستاذ الفاضل "شويخ عاطف" على التوجيهات التي قدموها لنا لإثراء هذا العمل

إلى كل الأصدقاء والأحبة. إلى كل من قدم لنا يد العون من قريب أو بعيد.

وأخيرا نسأل الله أن يرزقنا الصدق والإخلاص في القول والعمل، و أن ينفع هذا

العمل إخواننا الطلبة ويجعله في ميزان أعمالنا.

إهـــــــداء

بسم الله الرحمن الرحيم

إلهي الذي يطعمني ويسقين وإذا مرضت فهو يشفين والذي ينير لي الطريق
ويهدين لك الحمد إلى يوم الدين
إلى النبي المشكاة والرسول المهداة و الإمام الذي أول ما أنزل عليه "اقرأ"

عليه أفضل الصلاة وأزكى التسليم

إلى كل من أضاء بعلمه عقل غيره..أو هدى بالجواب الصحيح حيرة سائليه..

إلى من لا يمكن للكلمات أن تفي حقهما ولا للأرقام أن تحصي فضائلهما والدي"ركزة" ووالدتي"أم الخير"

إلى اخوتي ، أخواتي و عائلتي

ومنبع سعادتي: ألاء، سيرين و حبيبي أحمد

إلى من أزهرت أيامي بوجودهم: يوسف، أنيس شاكر و محمد جود

إلى كل من أهدتني وردة (كلمة طيبة) يوما ما: خولة،زهية ،أسماء، عائشة ،وفاء، فوزية،رحمة،صليحة،فطيمة، مليكة، سارة ، رحاب، نجلاء و دفعة 2018

إلى الروح التي سكنت روحي

إلى ذاتي التي لم تجد نفسها إلاّ في هذا العمل.

إلى كل من سقط من قلمي سهوا..أهدي ثمرة جهدي هاته

سميحة

إهـــــــــداء

بسم الله الرحمن الرحيم

إلهي لا يطيب الليلإلاّ بشكرك ولا يطيب النهار إلاّبطاعتك.. ولا تطيب اللحظاتإلاّ بذكرك .. ولا تطيب الآخرةإلاّ بعفوك .. ولا تطيب الجنةإلاّ برؤيتك .

إلى من بلغ الرسالة وأدَى الأمانة .. ونصح الأمة .. إلى نبي الرّحمة ونور العالمين .. سيّدنا محمّد صلى الله عليه وسلم .

إلى من كلّله الله بالهيبة والوقار إلى من علمني العطاء بدون انتظار إلى من أحمل اسمه بكل افتخار أبي

إلى منبع الحياة.. إلى معنى الحبّ وإلى معنى الحنان إلى من كان دعائها سر نجاحي أمّي.

إلى من هم أقرب إليّ من روحي... وبهم استمد عزتي وإصراري إخوتي: نورة ، فاطمة، الزهرة ،سليمة ،محمد العيد، عبد الله، عبد الجبار.

إلى من قضيت معهم ... أياما جميلة نعيشها الآن لحظة... بلحظة ونشعر وكأنها شريط يمر بمخيلتنا صديقاتي لن أنساكم ما حييت: عائشة، نورة ، سميحة

زهية

الملخص

Abstract

الملخص

يهدف هذا العمل إلى المساهمة في دراسة نواتج الأيض الثانوي وتقدير الفعالية البيولوجية لمستخلصات نبات القزاح *Pituranthos chloranthus* .

بغية تحقيق هذا الهدف قمنا أولا بالكشف الكيميائي الذي أظهر وجود أغلب نواتج الأيض الثانوي، يليه تحضير المستخلصات المائية والميثانولية والإيثانولية بالنقع و استخلاص الزيت الطيار بطريقة التقطير المائي وبالمقابل سجلنا مردودية كل مستخلص حيث سجلت أعلى نسبة عند المستخلص الميثانولي بقيمة 5%، يليها عند المستخلص المائي بنسبة 4.5% والمستخلص الإيثانولي بنسبة 3.46% أما مردود الزيت الطيار فسجل بقيمة % 0.4، كما قدرت نسبة الرطوبة في النبتة بقيمة 43.8%.

ثانيا تم التقدير الكمي لعديدات الفينول و الفلافونويدات والتانينات لدى المستخلصات المائية ، الميثانولية و الإيثانولية حيث قدرت أعلى كمية عديدات الفينول لدى المستخلص الميثانولي بـ 14.65±2.33 mg AG E/g MS و أقل قيمة عند المستخلص المائي 11.22±0.98 mg AG E/g MS

أما التقدير الكمي للفلافونويدات فقدرت أعلى قيمة عند المستخلص الميثانولي بـ 2.9885±0.035 mg Q E/g MS

و أقل قيمة عند المستخلص المائي 0.7494±0.013 mg Q E/g MS

بينما كانت أعلى قيمة للتانينات لدى المستخلص الإيثانولي وقدرت بـ 5.31±0.16 mg CA E/g MS و أقلها عند المستخلص المائي 4.04±0.30mg CA E/g MS .

ثالثا فيما يخص الفعالية البيولوجية فقد أبدت مستخلصات نبات القزاح نشاطية مضادة للأكسدة متوسطة حيث قدرت IC_{50} بـ 0.54-0.57-0.59mg/ml لكل من المستخلص المائي ، الميثانولي والايثانولي على الترتيب ، بينما كانت نشاطية الزيت الطيار ضعيفة قدرت بـIC_{50}=4.49mg/ml .

أما النشاطية المضادة لأربع سلالات بكتيرية (*Escherichia coli ,Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus ,Bacillus cereus*) فكانت إيجابية فقط مع الزيت الطيار و انعدمت مع باقي المستخلصات وسجلت أفضل أقطار تثبيط عند التركيز 100% بقيمة 14.9mm عند*S .aureus*.

الكلمات المفتاحية:*Pituranthos chloranthus* - الأيض الثانوي- النشاطية المضادة للأكسدة – النشاطية المضادة للبكتيريا .

Abstract

This study aimed to investigate the outputs of secondary metabolism and determine the biological effectiveness of *Pituranthos Chloranthus*' extracts.

In order to achieve this goal, we first used the chemical examination, which showed the presence of most secondary metabolites. next, Preparation of methanol, ethanol and aqueous extracts by soaking and the extraction of essential oil through hydro-distillation.

In turn, the yield of each extract has been recorded; the highest percentage has been associated with the methanolic extract at 5%, followed by 4.5% that of the aqueous extract, and the ethanolic extract by 3.46%, the yield recorded in essential oil was 0.4%. The plant's moisture content was estimated at 43.8%.

Secondly, phenol, flavonoids and tannins were estimated in aqueous, methanolic and ethanolic extracts. The highest poly phenol content was found in the methanolic extract (14.65± 2.33 mg AG E/g MS), while the lowest value spotted in aqueous extract (11.22±0.98 mg AG E/g MS). The quantative estimate of flavonoids was as its highest value in methanolic extract at an estimate of (2.9885±0.035 mg Q E/g MS) and the lowest value was found in aqueous extract (0.7494±0.013 mg Q E/g MS) , whereas the highest value concerning tannins was spotted in ethanolic extract with an estimate of (5.31±0.16 mg CA E/g MS) and its lowest value in aqueous extract (4.04±0.30mg CA E/g MS)

Thirdly, in terms of biological efficiency, the aqueous, methanolic and ethanolic extracts showed a moderate antioxidant activity where the IC_{50} was estimated at 0.54-0.57-0.59 mg/ml respectively, while the essential oil antioxidant activity was low and IC_{50} estimated to be 4.49 mg/ml .

the antibacterial activity for four bacterial strains (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) was positive only with the pure essential oil and was not with the rest of the extracts, and the best diameter inhibition was recorded at the 100% concentration with the value of 14.9 mm in *S. aureus* .

Key words: *Pituranthos chloranthus*- Secondary metabolism- antioxidant activity– Antibacterial activity

فهرس المحتويات	
فهرس الجداول	
فهرس الأشكال	
فهرس الوثائق	
قائمة المختصرات	
ملخص	
مقدمة	
الجزء النظري	
الفصل الأول: دراسة بيبليوغرافية لنبات القزاح *Pituranthos chloranthus*	
I- النباتات الطبية والعطرية	03
II -الفصيلة الخيمية Apiaceae	03
II-1- جنس *Pituranthos*	05
II-2- نبات القزاح *Pituranthos chloranthus*	05
II-2-1-الوصف النباتي لنبات القزاح *Pituranthos chloranthus*	05
II-2-2-التصنيف النباتي لنبات القزاح *Pituranthos chloranthus*	07
II-2-3-التوزيع الجغرافي لنبات القزاح *Pituranthos chloranthus*	08
II-2-4-الاستعمالات الطبية التقليدية لنبات القزاح *Pituranthos chloranthus*	08
II-2-5-سمية نبات القزاح *Pituranthos chloranthus*	09
II-2-6- الدراسات الكيمائية السابقة حول نبات القزاح *Pituranthos chloranthus*	09
الفصل الثاني: الأيض الثانوي	
I- مدخل	12
II - نواتج الأيض الثانوي	13
II-1-القلويدات Les alcaloïdes	13
II-1-1-تعريف القلويدات	13
II-1-2- تصنيف القلويدات	13
II-1-3- تواجد وتوزيع القلويدات	15
II-1-4- خصائص القلويدات	16
II-1-5- دور القلويدات وفائدتها بالنسبة للنبات	17

II-1-6- دور القلويدات وفائدتها العلاجية	17
II-2- عديدات الفينول Les polyphénols	17
II-2-1- تعريف عديدات الفينول	17
II-2-2- أقسام عديدات الفينول	18
II-2-3-مصدر عديدات الفينول	19
II-2-4-أهمية ودور عديدات الفينول في النباتات	19
II-2-5-المجموعات الفينولية	20
II-2-5-1- الفلافونويدات Les Flavonoïdes	20
II-2-5-2- الأحماض الفينولية Les acides phénoliques	22
II-2-5-3- الدباغ (التانينات) Tannins	23
II-3- الزيوت الطيارة Les Huilles Essentiel	24
II-3-1- تعريف الزيوت الطيارة	24
II-3-2- تواجد الزيوت الطيارة	24
II-3-3- الخصائص الفيزيائية والكيميائية	25
II-3-4-التركيب الكيميائي للزيوت الطيارة	25
II-3-4-1- التربينات Les terpènes	25
II-3-4-2-المركبات العطرية	26
II-3-5- طرق استخلاص الزيوت الطيارة	27
II-3-6- الدور الفيسيولوجي للزيوت الطيارة	27
II-3-7- إستخدامات الزيوت الأساسية	27
الفصل الثالث :دراسة الفعالية البيولوجية	
I-الفعالية المضادة للأكسدة	28
I-1- الجذور الحرة	28
I-2- مضادات الأكسدة	28
I-2-1- مضادات الأكسدة الإنزيمية	28
I-2-2- مضادات الأكسدة غير الإنزيمية	30
I-3- طريقة عمل مضادات الأكسدة	32

II- الفعالية المضادة للبكتيريا	33
II-1- تعريف البكتيريا	33
II-2- خصائص البكتيريا	33
II-3- السلالات البكتيرية المدروسة	34
II-3-1- بكتيريا القولون *Escherichia coli*	34
II-3-2- بكتيريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*	35
II-3-3- بكتيريا المكورات الذهبية العنقودية *staphylococcus aureus*	36
II-3-4- بكتيريا *Bacillus cereus*	37
III- المضادات الحيوية	38
III-1- تعريف المضادات الحيوية	38
III-2- تأثير المضادات الحيوية على الخلية البكتيرية	38
الجزء التطبيقي	
الفصل الأول:مواد و طرق البحث	
I- الأدوات والمواد المستعملة	40
I-1- الأدوات المستعملة في تحضير المادة النباتية	40
I-2- الأدوات المستعملة للكشف الكيميائي عن مواد الأيض الثانوي في النبات	40
I-3- الأدوات المستعملة عند الاستخلاص	41
I-4- الأدوات المستعملة عند التقدير الكمي لبعض مواد الأيض الثانوي	42
I -5- الأدوات المستعملة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	43
I -6- الأدوات المستعملة عند النشاطية البيولوجية المضادة للبكتيريا	44
II- الطرق المتبعة	45
II -1- الطرق المتبعة في جمع و تجفيف المادة النباتية:	45
II -2- الطرق المتبعة في الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي	46
II -2-1- تحضير المستخلصات النباتية	46
II -2 -2- الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية	46
II -3- الطرق المتبعة في الاستخلاص	50

II -1-3- تحضير المستخلصات النباتية	50
II -2-3- استخلاص الزيت الطيار	51
II-3-3- حساب الرطوبة ومردودية المستخلصات النباتية	52
II-3-3-1- حساب الرطوبة	52
II-3-3-2- حساب مردودية المستخلصات	52
II-4- الطرق المتبعة في التقدير الكمي لبعض مواد الأيض الثانوي	52
II-4-1- التقدير الكمي لعديدات الفينول	52
II-4-2- التقدير الكمي للفلافونويدات	53
II-4-3- التقدير الكمي للتانينات	54
II-5- الطرق المتبعة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	55
II-5-1- المبدأ	55
II-5-2- طريقة العمل	56
II-5-3- حساب نسبة التثبيط I% للجذر الحر DPPH·	56
II-5-4- تحديد مقدار IC_{50} المثبطة لجذر DPPH·	57
II-6- الطرق المتبعة في دراسة النشاطية المضادة للبكتيريا	57
II-6-1- السلالات البكتيرية المستعملة	57
II-6-2- المضادات الحيوية المستعملة	57
II-6-3- طريقة العمل	58

III- الدراسة الإحصائية	59
الفصل الثاني: النتائج و المناقشة	
I-النتائج والمناقشة	60
I-1- الكشف الكيميائي عن مواد الأيض الثانوي في نبات*P. chloranthus*	60
I-2- حساب الرطوبة ومردودية المستخلصات النباتية	64
I-2-1- نسبة الرطوبة	64
I-2-2- حساب مردودية المستخلصات	65
I-3- تقدير المركبات الفينولية والفلافونويدية و التانينات في مستخلصات نبات القزاح *P. chloranthus*	67
I-3-1- التقدير الكمي لعديدات الفينول	67
I -3-2- التقدير الكمي للفلافونويدات	70
I -3-3- التقدير الكمي للتانينات	72
I-4- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة باستعمال اختبار الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$	75
I-4-1- تمثيل النسبة المئوية للتثبيط I%	75
I-4-1- تحديد مقدار IC_{50} المثبطة للجذر الحر $DPPH^{\bullet}$	78
I-5- تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا	81
الخلاصة	
المراجع	
الملحق	

فهرس الأشكال

الرقم	العنوان	الصفحة
01	مخطط الكشف الكيميائي لنواتج الأيض الثانوي	49
02	المراحل المتبعة في تحضير المستخلصات	50
03	المراحل المتبعة في استخلاص الزيت الطيار	51
04	نسبة الرطوبة لنبات القزاح *Pituranthos chloranthus*	64
05	مردودية مستخلصات نبات القزاح *P. chloranthus*	65
06	المنحنى القياسي لحمض الغاليك Acide gallique	67
07	كمية عديدات الفينول للمستخلصات النباتية المختلفة لنبات القزاح *P. chloranthus* بالملغ مكافئ لحمض الغاليك /غ من المادة الجافة.	68
08	المنحنى القياسي للكرستين Quercitine	70
09	كمية الفلافونويدات للمستخلصات النباتية المختلفة لنبات القزاح*P. chloranthus* بالملغ مكافئ للكرستين /غ من المادة الجافة	71
10	المنحنى القياسي للكاتشين	73
11	كمية التانينات للمستخلصات النباتية المختلفة لنبات القزاح *P. chloranthus* بالملغ مكافئ للكرستين /غ من المادة الجافة.	73
12	المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك في اختبار تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$	75
13	نسبة التثبيط I% بدلالة التركيز للمستخلص الإيثانولي	76
14	نسبة التثبيط I% بدلالة التركيز للمستخلص المائي	76
15	نسبة التثبيط I% بدلالة التركيز للمستخلص الميثانولي	77

16	نسبة التثبيط I% بدلالة التركيز للزيت الطيار	77
17	قيم IC_{50} لمستخلصات نبات القزاح و حمض الأسكوربيك	78
18	أقطار تثبيط مستخلصات نبات القزاح و المضاد الحيوي للأنواع البكتيرية المختبرة	82

فهرس الجداول

الرقم	العنوان	الصفحة
01	تصنيف نبات القزاح *Pituranthos chloranthus*	07
02	بعض الأمثلة عن القلويدات الحلقية وغير الحلقية	15
03	أقسام عديدات الفينول	18
04	تصنيف التربينات	26
05	تصنيف بكتيريا القولون *Escherichia coli*	34
06	تصنيف بكتيريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*	35
07	تصنيف بكتيريا المكورات الذهبية العنقودية *staphylococcus aureus*	36
08	تصنيف بكتيريا *Bacillus cereus*	37
09	الأدوات المستعملة أثناء جمع و تحضير المادة النباتية	40
10	الأدوات والمحاليل المخبرية المستعملة للكشف الكيميائي للمواد الفعالة في المستخلصات النباتية	41
11	الأدوات والمحاليل المخبرية المستعملة أثناء عملية الاستخلاص	42
12	المحاليل الكيميائية والأدوات والأجهزة المستعملة في التقدير الكمي لبعض مواد الأيض الثانوي	43
13	المحاليل الكيميائية والأدوات و الأجهزة المستعملة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	44

14	المحاليل الكيميائية والأدوات والأجهزة المستعملة في الفعالية البيولوجية المضادة لسلالات بكتيرية ممرضة	44
15	أنواع السلالات البكتيرية المختبرة	57
16	أنواع المضادات الحيوية المستعملة	58
17	نتائج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلص المائي لنبتة القزاح	60
18	نتائج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلص الميثانولي لنبتة القزاح	61
19	نتائج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلص اللإيثانولي لنبتة القزاح	62
20	نواتج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلص المائي ،الميثانولي و الإيثانولي	62
21	خصائص المستخلصات النباتية و نسب مردودها مقارنة بوزنها الجاف	65
22	كمية عديدات الفينول في مستخلصات نبات القزاح *P. chloranthus*	68
23	كمية الفلافونويدات في مستخلصات نبات القزاح *P. chloranthus*	71
24	كمية التانينات في مستخلصات نبات القزاح *P. chloranthus*	74
25	قيم IC_{50} لمستخلصات نبات القزاح و حمض الأسكوربيك	78
26	النشاطية المضادة للبكتيريا لمستخلصات نبات القزاح*P. chloranthus* معبر عنها بالمليمتر	82

فهرس الوثائق

الرقم	العنوان	الصفحة
01	توزع نباتات الفصيلة الخيمية في العالم	04
02	مختلف أجزاء نبات القزاح *Pituranthos chloranthus*	06
03	التركيب الكيميائي لأهم مواد الأيض المتواجدة في نبتة *P. chloranthus*	10
04	القلويدات الحقيقية	14
05	القلويدات الأولية	14
06	القلويدات الكاذبة	15

07	الهيكل العام للفلافونويد	20
08	أقسام الفلافونويدات	21
09	وحدة الإيزوبرين	25
10	مخطط يوضح التكامل بين عمل مضادات الأكسدة الإنزيمية	30
11	*Escherichia coli*	34
12	*Pseudomonas aeruginosa*	35
13	*staphylococcus aureus*	36
14	*Bacillus cereus*	37
15	منطقة عمورة التابعة لولاية الجلفة التي قطف منها النبات	45
16	تفاعل الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ مع مضاد الأكسدة	55

قائمة المختصرات

قائمة المختصرات:

P.*: *Pituranthos

PPT: Polyphénols total

FV: Flavonoïdes

% :pourcentage

E.EtOH : extrait ethanolique

E.H2O : extrait aqueux

E.MéOH: extrait méthanolique

H.E : Huile Essentielle

$AlCl_3$: Aluminium chloride

$FeCl_3$: Chlorure de fer

H_2SO_4 : acide sulfurique

HCl : acide chlorhydrique

Na_2CO_3 : carbonate de sodium

MeOH : Méthanol

H : humidité

R : rendement

AG : Acide Gallique

CA : Catéchine

Q : Quercitine

MS: Matiére séche

AG E /g : Acide Gallique Equivalent par gramme

CA E /g : Catéchine Equivalent par gramme

Q E /g : Quercitine Equivalent par gramme

SOD : Superoxide dismutas

NADPH : Nicotinamide adenine dinucliotide phosphate

GPx: Glutathion peroxidase

GR : Glutathion reductase

قائمة المختصرات

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion oxydé

$DPPH^{\cdot}$: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

IC_{50} : Inihibion Concentration 50%.

AA : acide ascorbique

DMSO: Diméthyle sulfoxide

ATCC: American Type Culture Collection

GEN : Gentamycine

GN : gélose nutritive

MH : Muler Hinton

E.coli*:Escherichia coli*

***S. aureus* :** *staphylococcus aureus*

***P. aeruginosa* :** *Pseudomonas aeruginosa*

***B. cereus* :** *Bacillus cereus*

M: molarity

g : gramme

mg : milligramme

ml: millilitre

cm : centimétre

mm: millimétre

nm : nanométere

µg : microgamme

µl :microlitre

C °: degrés celsius

المقدمـــــــــــة

المقدمــة:

يعد طب الأعشاب فرعا من فروع الطب المكمل أو البديل، وذلك لأن النباتات الطبية تؤدي دورا مهما في حماية صحة الإنسان وتحسين مسار حياته ، ومازالت العديد من الثقافات التقليدية تثمن قيمة الوصفات الطبية النباتية ومنافعها الوقائية والعلاجية ، يتقدم علم التداوي بمفهومه الحديث تقدما كبيرا في مختلف أرجاء العالم ويزداد الاهتمام بدراسة النباتات الطبية إذ تحتوي النباتات على عدد كبير جدا من المكونات الفعالة طبيا التي تعكس الإمكانات العلاجية الكبيرة لها، فمن المعلوم أن لبعض العقاقير النباتية قدرة علاجية أكبر من تلك التي تملكها الأدوية المصنعة في معالجة بعض الأمراض بالإضافة لاحتوائها على مواد غذائية وفيتامينات فضلا عن المكونات الفعالة (Majed et Ali-Shtayeb, 2008).

ولهذا جاءت توصيات المؤتمرات الطبية والصيدلانية المنعقدة في السنوات الأخيرة لتتمم الاهتمام بالنباتات الطبية وجعلها في خدمة الصحة (بن عربية، 2013)، من خلال استخدامها في علاج بعض الأمراض الناتجة عن الإصابات الميكروبية المختلفة، وكذلك القضاء على الجذور الحرة المختلفة الناتجة عن تفاعلات الأكسدة والإرجاع التي تحدث داخل الجسم وهذا لاحتوائها على مضادات أكسدة طبيعية.

بلادنا الجزائر تتربع على مساحات شاسعة ذات تضاريس و ظروف مناخية متعددة، ما يمنحها تنوعا نباتيا كبيرا يتدرج من الغابات الكثيفة إلى النباتات الجافة الصحراوية المبعثرة و المحدودة الانتشار، ومما لاشك فيه أن لهذا التنوع المناخي الأثر البالغ ليس فقط على التنوع النباتي و إنما على تركيب النباتات و إعطائها المميزات الخاصة التي تسمح باستعمالها بطرق شعبية واسعة لكنها تفتقر إلى دراسات علمية دقيقة تضبط الاستخدام الآمن لها.

للمساهمة في تثمين هذه الثروة النباتية وقع اختيارنا على نبات *Pituranthos chloranthus* المعروف باسم القزاح و المنتمي إلى العائلة الخيمية التي تعتبر من أرقى العائلات النباتية المتواجدة في الجزائر.

لدراسة الفعالية البيولوجية لمستخلصات هذا النبات تم طرح الاشكالية التالية :

- ما مدى احتواء نبات القزاح *Pituranthos chloranthus* على المواد الفعالة ؟

- ما مدى تأثير المستخلصات المختلفة لهذا النبات على الجذور الحرة وعلى نمو السلالات البكتيرية ؟

ومن أجل الإجابة على هذه الإشكالية تضمن عملنا دراسة فيتوكيميائية من خلال الكشف الكيمائي عن نواتج الأيض الثانوي أولا، ثم استخلاص بعض المستخلصات(الميثانولي، الإيثانولي،المائي والزيت الطيار) ثانيا،والتقدير الكمي لعديدات الفينول و الفلافونويدات والتانينات ثالثا وأتبعناها آخرا بتثمين هاته المستخلصات في النشاطية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة للبكتيريا،حيث قسمت دراستنا إلى جزئين:

- **الجزء نظري:**يحتوي على ثلاثة فصول:
  - ✓ الفصل الأول: خصصناه لدراسة نباتية وتصنيفية للنوع النباتي *Pituranthos chloranthus*
  - ✓ الفصل الثاني: شمل دراسة لمواد الأيض الثانوي
  - ✓ الفصل الثالث: تم التطرق فيه إلى بعض المفاهيم الخاصة بالفعالية المضادة للأكسدة و كذا التعريف بالسلالات البكتيرية المدروسة .
- **الجزء التطبيقي:** يضم فصلين:
  - ✓ الفصل الأول: أدرجت فيه الطرق و المواد المستعملة في البحث.
  - ✓ الفصل الثاني: سردنا النتائج وقمنا بتحليلها ومناقشتها.

وفي الأخير لخصت جميع النتائج المتحصل عليها في خاتمة كللت بتوصيات.

الجزء النظري

الفصل الأول

دراسة نباتية و تصنيفية لنبات

القزاح *P.chloranthus*

I- النباتات الطبية و العطرية:

يعرف النبات الطبي على أنه النبات الذي يستعمل في الطب الشعبي ويحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه المختلفة على مادة كيميائية واحدة أو أكثر بتركيز منخفض أو مرتفع، ولها القدرة الفيزيولوجية على معالجة مرض معين أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض.

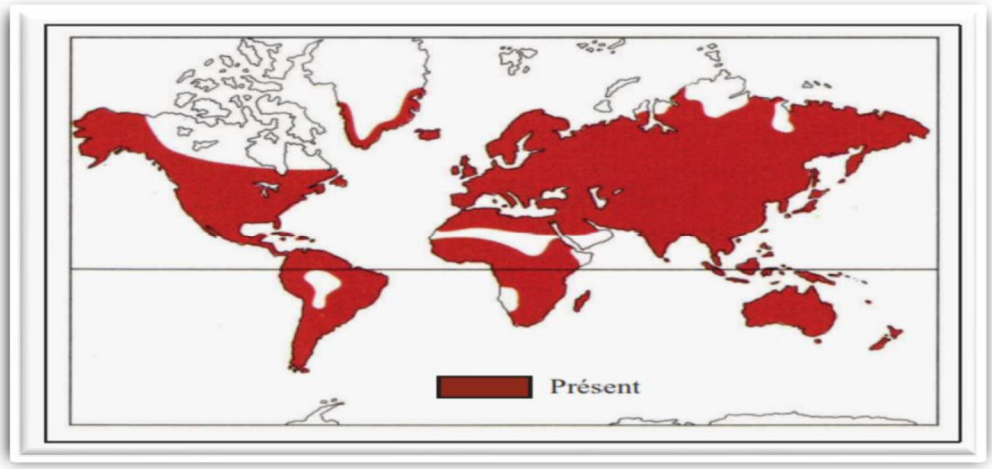
تفرع عن استعمال النباتات في التداوي مفهوم لابد من الوقوف عنده وهو النباتات العطرية التي تستعمل نتيجة احتواء أنسجتها على زيوت عطرية طيارة سواء كانت في صورتها الحرة أو صورة أخرى(هيكل وعمر، 1993).

II- الفصيلة الخيمية Apiaceae:

الفصيلة الخيمية (يطلق عليها أيضا الكرفسية) هي أول فصيلة اهتدى إليها علماء النبات في أواخر القرن السادس عشر، بل ومن أول المجموعات التي درست تصنيفيا وهذا بفضل دراسات العالم موريسون عام 1672 (فوزي، 1994).

تعتبر هذه الفصيلة الأكثر تطورا ضمن رتبة الآراليات وهي هامة جدا و متجانسة للغاية ، إلا أنها مهملة وغير ممثلة جيدا في الصحراء، وتحديدا في قسمها الأوسط، و تضم أكثرمن 275 جنس يندرج تحتها حوالي 2000 -3000 نوع نباتي، تتواجد أغلبها في المناطق المعتدلة من نصف الكرة الشمالي ونادرا ماتكون في المناطق المدارية.

تتوزع في جميع قارات العالم (الوثيقة01) وبصفة خاصة في القارة الآسيوية (Boitineau, 2010 ; Heywood, 1996) ويحدد عدد أجناس الفصيلة في فلورا الجزائر 130 نوعا منتمية إلى 55 جنسا، منها 24 نوعا مستوطنا (Loret, 1892).



الوثيقة(01): توزع نباتات الفصيلة الخيمية في العالم(Esseid, 2018)

تتميز نباتات هذه الفصيلة بالخصائص التالية :

الساق: قائمة تحتوي على سلاميات مجوفة ما عدا في مستوى العقد ، مجنحة غالبا (هيكل وعمر، 1993)

الأزهار : ثنائية الجنس، منتظمة، ونادرا وحيدة المسكن تحمل في نورات خيمية مركبة(نادرا ما تكون النورة بسيطة) ، الأزهار صغيرة بيضاء نادرا ماتكون مصفرة أو مخضرة أو وردية اللون ، وفي الغالب عديمة الكأس والمبيض سفلي مكون من كربلتين ملتحمتين (Quezel et Santa, 1963; Guignard, 1977)

الأوراق: مركبة ريشية ذات وريقات ريشية كذلك متبادلة الوضع على الساق، وهي غالبا معنقة وذات قواعد غمدية عريضة ولها غالبا روائح مميزة لاحتوائها زيوت طيارة متفاوتة التركيب (زيدي، 2012)

قنوات إفرازية : تنتشر في الأوراق السيقان والجذور والثمار قنيات إفرازية، ولكنها تنتشر أكثر في برانشيم القشرة ونخاع السيقان وفي اللحاء الثانوي للجذر(دحية، 2009)

الثّمار: منشقة وتنقسم إلى ثمرتين وعلى كل ثمرة بروز أو أضلاع ظاهرة وعلى هذه الأضلاع توجد الأشواك أو الشعور أو الزوائد المختلفة التي تميز الأنواع المختلفة (Quezel et Santa, 1963; De wit, 1965 شكري،1994).

نباتات الفصيلة الخيمية التي تعيش في الصحراء تختلف عن بعضها البعض والتفريق بينها ليس بالصعب بخلاف النباتات التابعة لجنس القزاح *Pituranthus* حيث التفريق بينها يتطلب عناية كبيرة و حرصا على قطف فروع نباتية تحمل بذورا ناضجة كما يمكن التفريق بينها بلون الزهرة و طول الساق (Ozenda, 1958 ; Quezel, 1958).

II-1- جنس *Pituranthos*:

ذكر هذا النبات أول مرة من طرف أبي الخير الإشبيلي في كتابه الموسوم " عمدة الطبيب في معرفة النبات" الصادر عام 1990 وسماه علجن" Aljân " ، أما بن البيطار فسماه القزاح وأشار إلى وجوده في تونس و مصر (Bellakhdar, 1997).

يحتوي جنس *Pituranthos* على أكثر من 20 نوعا ، بعضها خاص بشمال إفريقيا ، وغالبا ما توجد في المناطق القاحلة أو الصحراوية (Kaabeche, 1990)، و تتضمن الإمكانات الزهرية الجزائرية لهذا الجنس أربعة أنواع مستوطنة : (Quezel et Santa, 1963)

1. *Pituranthos reboudii* (Coss. et Dur.) Benth. et Hook.
2. *Pituranthos scoparius* (Coss. et Dur.) Benth. et Hook.
3. *Pituranthos battandieri* Maire
4. *Pituranthos chloranthus* Benth. et Hook

II-2- نبات القزاح *Pituranthos chloranthus*:

II-1-2- الوصف النباتي لنبات القزاح *Pituranthos chloranthus*:

القزاح هو نبات حولي مستوطن ينمو بشكل باقة تتفرع بداية من القاعدة (الوثيقة02) له رائحة تشبه رائحة البسباس، لذا سمي بالبسباس البري ، متوسط طوله يتراوح من 40-50 سم . أوراقه صغيرة ريشية على طول الساق سريعة التساقط، لذا فهو نبات بلا أوراق ، أزهاره صغيرة جدا تتجمع في نويرة خيمية مركبة عند الأطراف لها لون أبيض مخضر خنثى منتظمة تحتوي على خمس سبلات خضراء و خمس

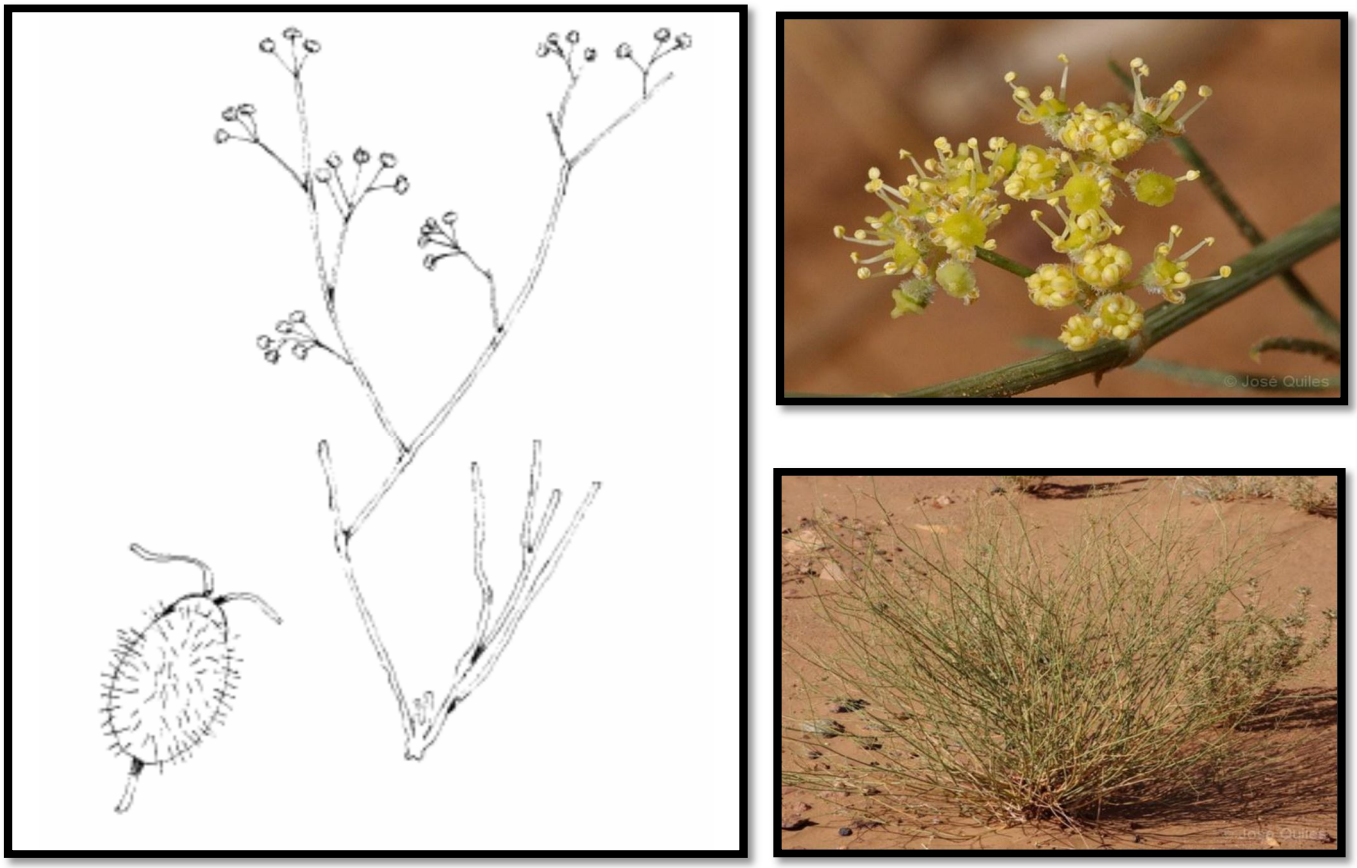
بتلات مخضرة منفصلة تحمل عروقا مزغبة وعريضة، مياسم خضراء مصفرة و خمسة أسدية منحنية إلى الداخل. أما الثمار فهي مكسوة بشعيرات دقيقة بيضاوية الشكل تحتوي على بذرتين عطريتين (Quezel et Santa, 1963)

يوجد لهذا النوع 03 تحت أنواع هي :

ssp.cossonianus Maire :الثمرة بطول من 1 إلى 1.5 مم، الساق مزهرة و كثيرة التفرع

ssp.robustus Maire : الخيمات ذات أعناق كبيرة نوعا ما، وبطول من 2 إلى 5 سم

ssp.intermedius Maire : تكون الخيمات محمولة على عنق رفيع ومتطاول أكثر،الثمرة بطول 1 مم (Quezel et Santa, 1963)



الوثيقة (02): مختلف أجزاء نبات القزاح *Pituranthos chloranthus* (دحية، 2009 ; Ferhi *et al., 2014*)

II- 2-2- التصنيف النباتي لنبات القزاح *Pituranthos chloranthus*:

كلمة Pituranthos مكونة من جذرين يونانيين هما : anthus ويعني الزهرة و Pituron ويعني نخالة القمح، أما chloranthus فتعني أخضر مزهر (Beniston, 1984 ; IUCN, 2005; SBF, 2011).

يصنف نبات القزاح *Pituranthos chloranthus* كما هو موضح في الجدول (01)

الجدول(01): تصنيف نبات القزاح *Pituranthos chloranthus*

Règne	**Plantae**	**المملكة**
Embranchement	Spermatophytae	**الشعبة**
Sous embranchement	Angiospermae	**تحت الشعبة**
Classe	Dicotylédones	**القسم**
Sous classe	Cornidae	**تحت القسم**
Ordre	Araliales	**الرتبة**
Famille	Apiaceae (Umbelliferae)	**الفصيلة**
Genre	*Pituranthos*	**الجنس**
Espèce	*Pituranthos chloranthus* (Bent. & Hook.)	**النوع**

(Quezel et santa, 1963 ; 2009 ،طويل)

وقد طرأ على تسميته تغييرات هي :

Deverra chlorantha Coss. & Hard *(= Deverra denudata)* (2009 ،دحية)

أما الأسماء العامية التي يعرف بها فمنها العربية ومنها البربرية مثل : كسو، قزع ، كيزة ،جيدة، زازة و تادايت (Trabut, 2006).

II- 2-3- التوزيع الجغرافي لنبات القزاح *Pituranthos chloranthus*:

متوطن في شمال إفريقيا ، شائع في كامل شمال الصحراء و غربها وبالتحديد ابتداء من النصف الغربي للصحراء أي الاجزاء الصحراوية من موريتانيا والمغرب و الجزائر وتونس و ليبيا الغربية (دحية، 2009) يزدهر النبات في التربة الصخرية والأودية غير المالحة (IUCN, 2005).

II-2-4- الاستعمالات الطبية التقليدية لنبات القزاح *Pituranthos chloranthus*:

- يأكل التوارق السيقان الفتية منه والجذور بعد تقشيرها كما يتم نقع الفروع المزهرة في الماء للحصول على محلول حلو يستعملونه كمنشط (Antolovich *et al*., 2002)
- كما يستعمل في الطب الشعبي لعلاج الكلى المسالك البولية والأمعاء ، داء المفاصل و الروماتيزم، علاج القمل (الرأس والعانة) ، السكري ،الربو ، التهاب الكبد و علاج الآلام والحمى حيث يستعمل ككمادات على الرأس في حالات الصداع (Yangui *et al*., 2009 ; Antolovich *et al*., 2002)
- يتم استخدامه لرائحته وطعمه المميز الذي يلتصق بالفواكه المجففة كما يضع سكان الصحراء فروعا منه في الفرن أو على الجمر أثناء طهي الخبز أو شوي اللحم وذلك لإعطاء نكهة لهما (Yangui *et al*., 2009)
- له تأثير مبيد حشري (Sabouni, 2015).
- في السهوب الجزائرية يعالج مربوا المواشي أغنامهم ببخار مغلى النبات *P. chloranthus* ضد بعض الأمراض الجلدية وفي منطقة جانت بالجنوب الجزائري، يستعمله السكان المحليون في معالجة لدغات الحيات و المساعدة على الهضم كما يتبلون به اللحم والجبن (دحية، 2009).
- أما في الجنوب التونسي فتوضع فروع من النبات على سطح الماء وذلك لتطهير الصهاريج المستعملة في تخزين مياه الامطار(Yangui *et al*., 2009).

II-2-5- سمية نبات *Pituranthos chloranthus*:

وردت الإشارة في كثير من المصادر إلى التحذير من نبات القزاح حيث يعرف البدو أن نباتات جنس *Pituranthos* تثير حساسية لدى الحيوانات في فترة الإزهار ، وأن طلع أزهار *P.chloranthus* يصيب الحيوانات (الجمال بصفة خاصة) بأمراض بصرية خطيرة (رمد) ولعدة أيام وقد تصل لحد فقدان البصر لذا يتفاداه الرعاة وقت الإزهار وفي حالة الإصابة تتم االمعالجة تقليديا بوضع كمية من االملح تحت جفونها (Trabut, 1935; دحية، 2009).

وينبه أن النبات يعد من النباتات المسهلة ، لذلك يجب أخذ الحيطة عند التداوي به (دحية، 2009).

II-2-6- الدراسات الكيمائية السابقة حول نبات القزاح *Pituranthos chloranthus*:

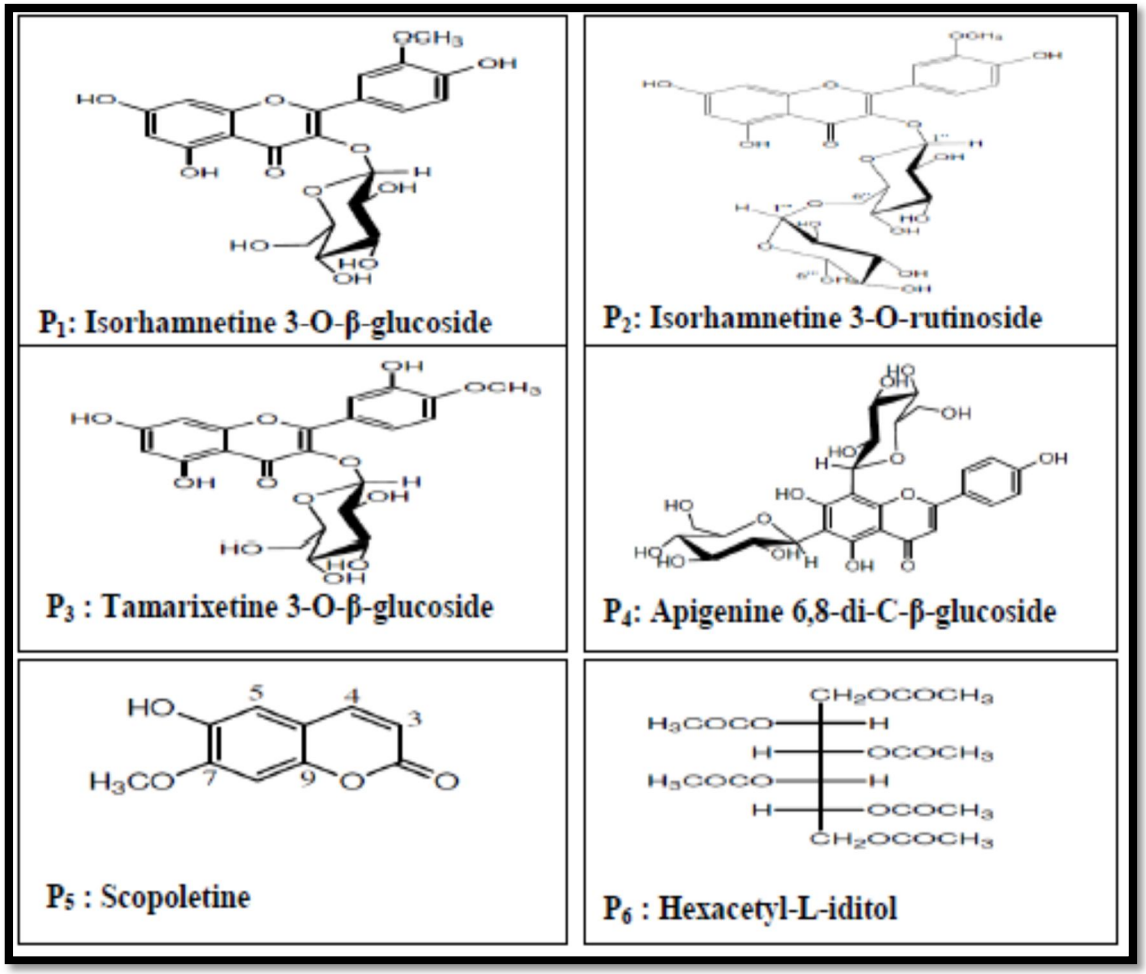
أظهرت الدراسات الكيميائية النباتية التي أجريت على جنس *Pituranthos* ثراء أنواعه بمركبات الفلافونويد، الكومارين ، الإيزوكومارين ، الأحماض الفينولية ،المركبات متعددة الأسيتيل والأحماض الدهنية، وكذا الزيوت الطيارة (Esseid, 2018).

أما الدراسات الكيميائية المنجزة على النوع *P.chloranthus* فتمثلت في :

- دراسة الفعالية البيولوجية للفلافونويد والكسر الفلافونويدي المستخلص من الجزء الهوائي للقزاح *P.chloranthus* لمنطقة بسكرة (Mellouk, 2013).
- دراسة نواتج الميتابوليزم الثانوي لبعض نباتات منطقة الهقار : حيث تم التعرف على06 مركبات موجودة في القسم الهوائي لنبات *P.chloranthus* ، والمستقدم من منطقة الهقار بأقصى جنوب الجزائر(الوثيقة03) منها 04 فلافونيدات جليكوزيدية ويتّعلق الأمر بالمركبات التالية:

isorhamnetine3-0-rutinoside و isorhamnetine3-glucoside وهما معروفان سابقا،

في حين أن tamarixetin-3-0-glucoside و apigenin-6,8–di–C-glucoside تم التعرف عليهما لأول مرة في جنس *Pituranthos* (طويل، 2009).



الوثيقة(03): التركيب الكيميائي لأهم مواد الأيض المتواجدة في نبتة

***P. chloranthus* (طويل، 2009)**

- دراسة نبات القزاح ،أنواعه، التركيب الكيميائي و النشاطية البيولوجية للزيوت الطيارة للسيقان : حيث تم التعرف على 54 مركب في الزيت الطيار لنبات *Pituranthos chloranthus* المستقدم من منطقة الأغواط في المرحلة المزهرة و تمثلت غالبية هذه المواد في: myristicine (27,4%) ، limonène (15,8%) ، α-pinène (11,4%) ، α phellandrène (8,3%)(دحية، 2009).

- دراسة النشاطية البيولوجية (مضادات الأكسدة و مضادات الميكروبات) لمستخلصات الجزء الهوائي للقزاح *P.chloranthus* (المستخلص الميثانولي ، المائي ، أسيتات الإيثيل والهكسان) (Bouaziz *et al*., 2009)
- دراسة فوتوكيميائية للمستخلص الكلوروفورمي لنبات القزاح *P.chloranthus* حيث تم عزل مركب جديد من الأقسام الهوائية للنبات هو β-Sitosterol (Nait, 2007).
- دراسة نشاط *P.chloranthus* ضد الحمى الروماتيزم والسكري (Hammiche et Maiza, 2006)
- المساهمة في دراسة المركبات التربينية لعدة نباتات وبالأخص الأنواع *Pituranthos rohlfsianus* *Pituranthos chloranthus* ; *Teucrium polium*: حيث أجريت دراسة على سيقان ، أوراق و ونهايات زهرية مجّففة لنبات *P. chloranthus* المستقدم من الصحراء الليبية تم فيها التعرف على المواد االتالية: بقايا رمادية، صوديوم، بوتاسيوم، كالسيوم، سكريات، مواد نشوية ، مواد سيلولوزية، بعض الأحماض الأمينية، الأبيول وكربونات تربينية ولكن لم يجد الآنيزالدهيد (Dzuong, 1976).

الفصل الثاني

الأيض الثانوي

I- مدخل:

تمتلك جميع الكائنات الحية الأيض الأساسي الذي يوفر لها الجزيئات الأساسية (الأحماض النووية، الدهون، البروتينات، الأحماض الأمينية و الكربوهيدرات) وفي المملكة النباتية ، تتميز النباتات بانتاج عدد كبير من المركبات و التي ليست مستمدة مباشرة من عملية التمثيل الضوئي و إنما تأتي نتيجة للتفاعلات الكيميائية اللاحقة وتسمى هذه المركبات بمواد الأيض الثانوي (Mohammedi, 2013) ، والمتمثلة في المركبات الفينولية التربينات و الستيرويدات و القلـويدات...الخ (بن بوط، 2014).

تنتج المركبات الثانوية بكميات صغيرة، ويتوقف إنتاجها على العائلة ، الجنس و النوع ، لاتملك دورا مباشرا في النبات مثل النمو أو التكاثر ، وإنما تقوم بدور هام من أجل المحافظة على استمراره حيث تلعب دورا مهما في تكيف النباتات لبيئتها، إذ تعمل بطريقة فعالة جدا في تحمل النباتات لمختلف الإجهادات ضد الجفاف والضوء والأشعة فوق البنفسجية UV وضد آكلات الأعشاب، وكذا تثبط هجوم الكائنات الممرضة منها البكتيريا، الفطريات و الحشرات المفترسة (Boukri, 2014) .

في الوقت الحاضر، العديد من هذه المركبات تستخدم في الطب الحديث، وتعتبر هذه الجزيئات أساس المكونات النشطة الموجودة في النباتات الطبية (Boukri, 2014 ; Mohammedi, 2013)

تنقسم هذه المركبات الثانوية وفقا إلى البنية الكيميائية المنتمية لها إلى ثلاث عائلات رئيسية:

- القلويدات
- عديدات الفينول
- التربينات (Kanoun, 2011)

II- نواتج الأيض الثانوي:

II-1- القلويدات :

II-1-1- تعريف القلويدات Les alcaloïdes :

القلويدات مركبات قاعدية معقدة التركيب، تحتوي في تركيبها على عنصر النتروجين كعنصر أساسي، بالإضافة إلى عناصر أخرى كالكربون والهيدورجين والأكسجين، كما أنها تحتوي على ذرة أو أكثر من الآزوت الذي يمكن أن يكون بشكل أمين ثانوي أو ثالثي أو رابعي، عديمة اللون والرائحة عدا القليل منها مثل الكولشيسين (حجاوي وآخرون.، 2009).

تتواجد القلويدات في جميع أجزاء النبات أو في أجزاء خاصة مثل الجذور، الثمار، البذور والأوراق (يوسف و التارقي، 2005؛ حجاوي وآخرون.، 2009).

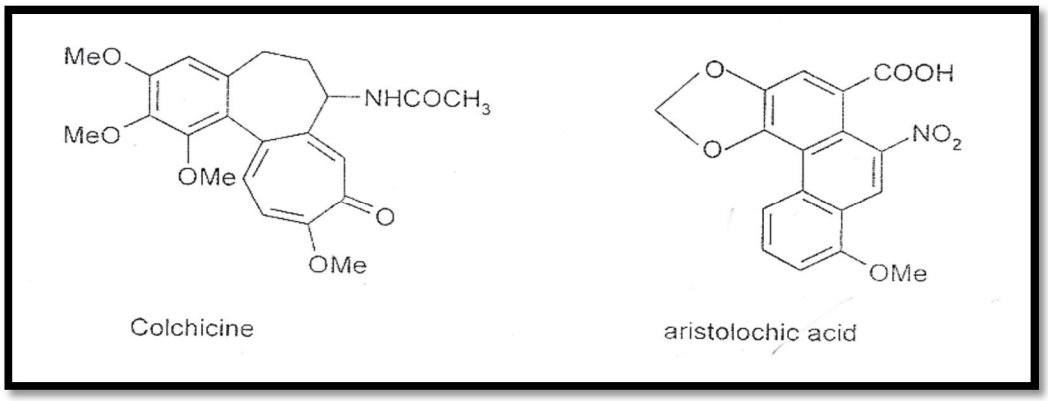
II-1-2- تصنيف القلويدات:

يوجد العديد من التصنيفات للقلويدات تبعا لمصادرها وتأثيراتها وكذلك للأحماض الأمينية الناتجة منها

(أبو زيد، 2005) ولجأت بعض المصادر إلى تصنيف القلويدات وفقا للفصائل النباتية المستخلصة، ولكن تزايد اكتشاف المئات من هذه المركبات في الوقت الحاضر حال دون استخدام مثل هذه التصنيفات، وهناك تصنيف جامع إلى حد ما للأنواع المختلفة من القلويدات (الحازمي، 1995) وتنقسم إلى ثلاثة أقسام رئيسة هي القلويدات الأولية، القلويدات الحقيقة، و القلويدات الكاذبة(Boukri, 2014) .

❖ **القلويدات الحقيقة:**

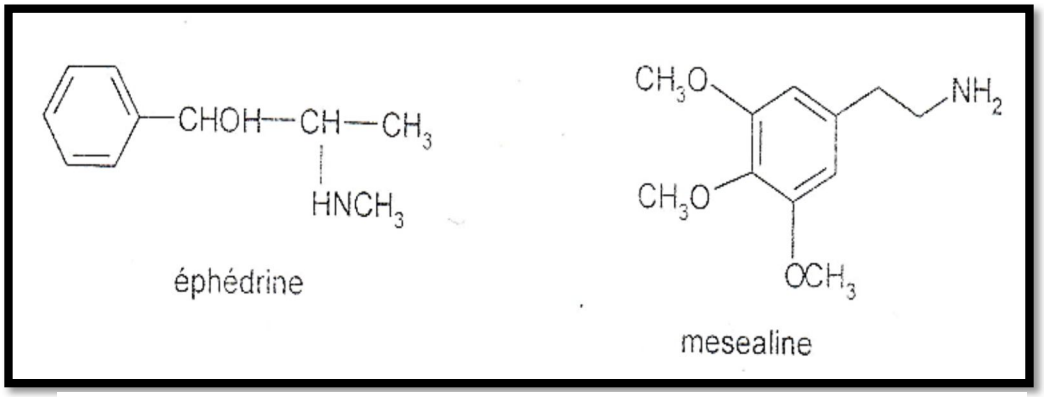
هي قلويدات سامة ولها تأثيرات فيزيولوجية متباينة، تحتوي على ذرة نيتروجين واحدة أو أكثر في حلقات متغيرة وهي مشتقات من الأحماض الأمينية، وتوجد في النباتات على هيئة أملاح للأحماض العضوية مثل:الكولشيسين colchicine (العابد، 2009).



الوثيقة(04): القلويدات الحقيقية (شبوعات، 2003)

❖ **القلويدات الأولية**

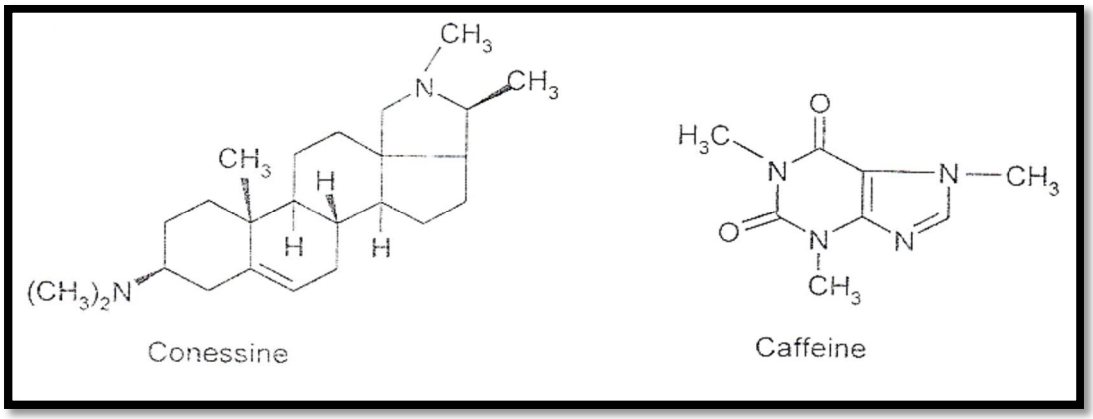
هذه القلويدات عبارة عن أمينات بسيطة تكون فيها ذرة الآزوت خارج الحلقة وهي قلويدات قاعدية، ويتم تخليق القلويدات في داخل الأنسجة النباتية من الأحماض الأمينية وغالبا ما يطلق عليها الأمينات الحيوية ومن أمثلتها : (العابد، 2009)



الوثيقة (05): القلويدات الأولية (شبوعات، 2003)

❖ **القلويدات غير الحقيقية (الكاذبة) :**

هي قلويدات قاعدية لا تشتق من الأحماض، تندرج تحت هذا القسم القلويدات السيتيرودية والقلويدات البيورينية (purines) مثلا conessine , cafeine (العابد، 2009).



الوثيقة (06): القلويدات الكاذبة (شبوعات، 2003)

يمكن تصنيفها أيضا على الأساس التالي (Madhunétha et Fousiya, 2015) :

جدول(02): بعض الأمثلة عن القلويدات الحلقية و الغير حلقية

قلويدات غير حلقية	قلويدات حلقية
Colchicines- Ephedrine -Taxol	Indole - pyrrole -Terpenoid

II-1-3- تواجد وتوزيع القلويدات :

كان المصدر الرئيس للقلويدات في الماضي النباتات الزهرية (أبو زيد، 2005) وتوجد بكثرة عند مغلفات البذور و خاصة عند ثنائيات الفلقة ، إلا أنه في الوقت الحاضر تم عزل الكثير منها من مصادر مختلفة كالحشرات .

تتوزع القلويدات في ثنائيات الفلقة في الفصائل التالية: الفصيلة المركبة Asteraceae، الفصيلة الباذنجانية Solanaceae، الفصيلة الخشخاشية Papaveraceae ، الفصيلة الدفلية Apocynaceae، الفصيلة الشفوية Lamiaceae ، الفصيلة البقلية Fabaceae و الفصيلة الزنبقية Lilaceae (الحازمي، 1995).

وتتوزع في مختلف أجزاء النبات ومن أمثلة ذلك:

- **الأوراق :** مثل قلويدات hyoscine،Hyoafamine في أوراق الكوكا.
- **الجذور :** مثل قلويدات Aconitine.
- **البذور :** مثل قلويدات strychnine في البن.
- **اللحاء :** مثل قلويدات quinine في الرمان.
- **الثمار:** مثل قلويدات Morphine،peperine في ثمار الخشخاش.
- **كل أجزاء النبتة:** مثل قلويداتHyoscine.
- **السيقان الأرضية:** emetine عند نبات الدحلاح.

II-1-4- خصائص القلويدات:

معظم القلويدات صلبة متبلورة ماعدا القلويدات التي لا تحتوي على عنصر الأوكسجين فهي سائلة مثل النيكوتين Nicotine (الحسني والمهدي، 1990)، أغلبها عديمة اللون مثل Berberine والقليل منها ملون مثل: Coniine ذو اللون البرتقالي، Magnophlorine لونه أصفر، مرة الطعم مثل Ephedrine (أبو زيد، 2005). القلويدات الحرة تذوب في المذيبات العضوية ولا تذوب في الماء وعلى العكس فإن أملاح القلويدات تذوب في الماء ولا تذوب في المذيبات العضوية. كل قلويد يحتوي على نواة تعطيه التاثير الفعال(الحجاوي و آخرون.،2009). تتميز القلويدات بالسمية العالية Toxicity لشدة أنشطتها البيولوجية و قوة فعاليتها الفسيولوجية (العابد، 2009).

II-1-5- دور القلويدات وفائدتها بالنسبة للنبات:

القلويدات النباتية تلعب دورا بيولوجيا و فسيولوجيا هاما خلال فترات دورة الحياة النباتية وتعتبر كمواد مخزنة للنتروجين، تتمثل فعاليتها الحيوية كمنظمات للنمو (أبو زيد، 2005). كما تلعب دورا دفاعيا للنبات، وتمتاز القلويدات بأنها مواد سامة لذلك فإن وجودها مهم في النبات، حيث تقيه من الحشرات ، آكلات الأعشاب والكائنات الحية الدقيقة علاوة على ذلك فهي تحمي النباتات من التلف الذي تسببه الأشعة فوق البنفسجية (Mauro, 2006) .

II-1-6- دور القلويدات وفائدتها العلاجية :

التأثير الطبي للقلويدات يختلف حسب نوعها فمثلا يعتبر المورفين Morphine قلويدا مسكنا ومخدرا، والكافيين Caffeine يعتبر منبها ومزيل التعب البابافيرين Papaverine مخفف للآلام،الكولشيسين Colchicine يستعمل لعلاج الروماتيزم وعرق النسا (حوة، 2013) ، الإفدرين Ephedrine يسبب ارتفاع ضغط الدم بينما Reserpine يخفضه، ويستعمل قلويد الأتروبين Atropine في جراحة العيون حيث يعمل على توسعة حدقة العين (العابد،2009) .

II-2- عديدات الفينول Les polyphénols :

II-2-1- تعريف عديدات الفينول:

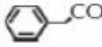
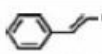
تشكل المركبات الفينولية حيزا كبيرا في حقل المنتجات الطبيعية، نظرا لكثرة عددها وتباين الهيكل البنائي لها(بوبطيمة، 2012)، وقد تم عزل والتعرف على أكثر من 8000 مركب فينولي وتم توزيعها في مختلف الأقسام بدلالة هيكلها الكربوني(Benhammou, 2012) .

تعرف المركبات الفينولية على أنها مستقلبات ثانوية في النباتات، تتميز بنيتها الأساسية بوجود حلقة عطرية أو أكثر، مرتبطة بمجاميع هيدروكسيلية حرة أو مرتبطة مجاميع أخرى مثل الأستر و الإيثر ميثيل (بن سلامة، 2012; Kanoun, 2011) و الاختلاف في عدد الحلقات ونوع المجاميع المرتبطة بها يجعلها تنقسم إلى عدة أقسام أهمها الأحماض الفينولية، الفلافونويدات و الدباغ (التانينات) حيث تمثل الفلافونويدات القسم الأكبر منها (جرموني، 2009) .

II-2-2- أقسام عديدات الفينول:

هي جزئيات 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 عديد الاسيتات (بن خناثة، 2014) تصنف الفينولات وفقا لعدد ذرات الكربون في الهيكل الأساسي إلى عدة أقسام كما هو مبين في الجدول(03) التالي :

جدول(03): أقسام عديدات الفينول

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C_6-C_1	Acides phénols	Acide gallique	
8	C_6-C_2	acétophénones	Gallacetophénone	
8	C_6-C_2	Acide phénylacétique	Acide ρ-hydroxyphényl-acétique	
9	C_6-C_3	Acides hydroxycinamiques	Acide ρ-coumarique	
9	C_6-C_3	Coumarines	Esculitine	
10	C_6-C_4	Naphthoquinones	Juglone	
13	C_6-C_1-C_6	Xanthones	Mangiferine	
14	C_6-C_2-C_6	Stilbènes	Resveratrol	
15	C_6-C_3-C_6	Flavonoïdes	Naringénine	

(Benhammou، 2012)

II-2-3- مصدر عديدات الفينول:

توجد عديدات الفينول في العديد من الأطعمة ذات المصدر النباتي وتحديدا في الفواكه والخضروات والمشروبات (النبيذ الأحمر والشاي والقهوة وعصير الفاكهة) و الحبوب و البذور الزيتية و البقوليات (جرموني، 2009 ؛ Benhammou, 2012) وتعتبر الفواكه والخضروات من أهم المصادر لعديدات الفينول حيث تحتوي على حوالي نصف الكمية من عديدات الفينول والكمية الأخرى نجدها في المشروبات (Benhammou, 2012).

II-2-4- أهمية ودور عديدات الفينول في النباتات:

أظهرت أعمال (Nitsch et Nitsch, 1961; Alibert *et al.*, 1977) أن الفينولات ترتبط بالعديد من العمليات الفسيولوجية للنباتات: نمو الخلايا ،الإزهار ، الإثمار و تمايز الأعضاء.

وهي عبارة عن أصبغة و مركبات عطرية، تمنح النباتات اللون و الرائحة مما تؤدي إلى جذب الحشرات و الطيور الملقحة ومن الأدوار المعروفة أيضا للفينولات هي الحماية الوقاية من الأشعة فوق البنفسجية UV وكما أن لديها خصائص مضادة للفطريات مضادة للجراثيم (Harkat, 2008 ; Kanoun, 2011 ؛ Benhammou , 2012) .

تساهم الفينولات في مقاومة النباتات للأمراض، كما هو الحال لمقاومة نبات القطن لأمراض الذبول، كما تقوم الفينولات بظاهرة هامة وهي ظاهرة تراكم المواد الفينولية في الأنسجة النباتية المصابة أو في المناطق القريبة منها، كما تتراكم في المناطق المجروحة الناجمة عن العوامل الميكانيكية وكذلك في حالة نقص بعض العناصر مثل النتروجين والكبريت(Benhammou , 2012).

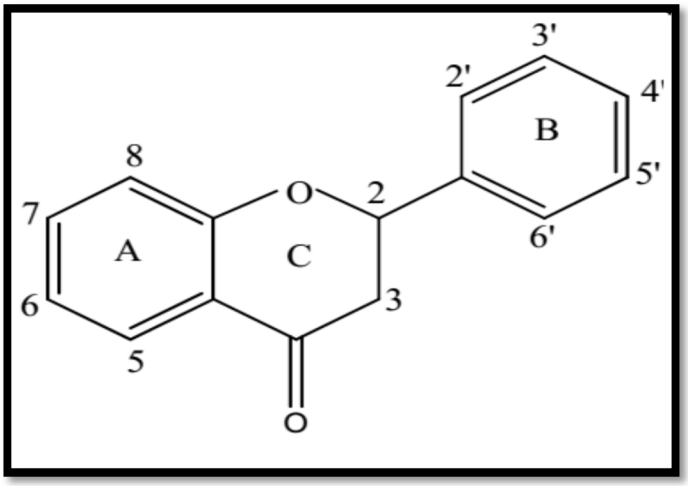
تستخدم عديدات الفينول بشكل متزايد في الاستعمالات العلاجية للإنسان ، فهي تحتوي على مكونات فعالة مضادة للفيروسات، مضادة للجراثيم ، مضادة للالتهابات، مضادة للسرطان و مكافحة تصلب الشرايين، مضادة للحساسية ومضادات للأكسدة (Athamena, 2009) .

II-5-2- المجموعات الفينولية :

II-5-2-1- الفلافونويدات Les Flavonoïdes :

❖ **تعريف الفلافونويدات:**

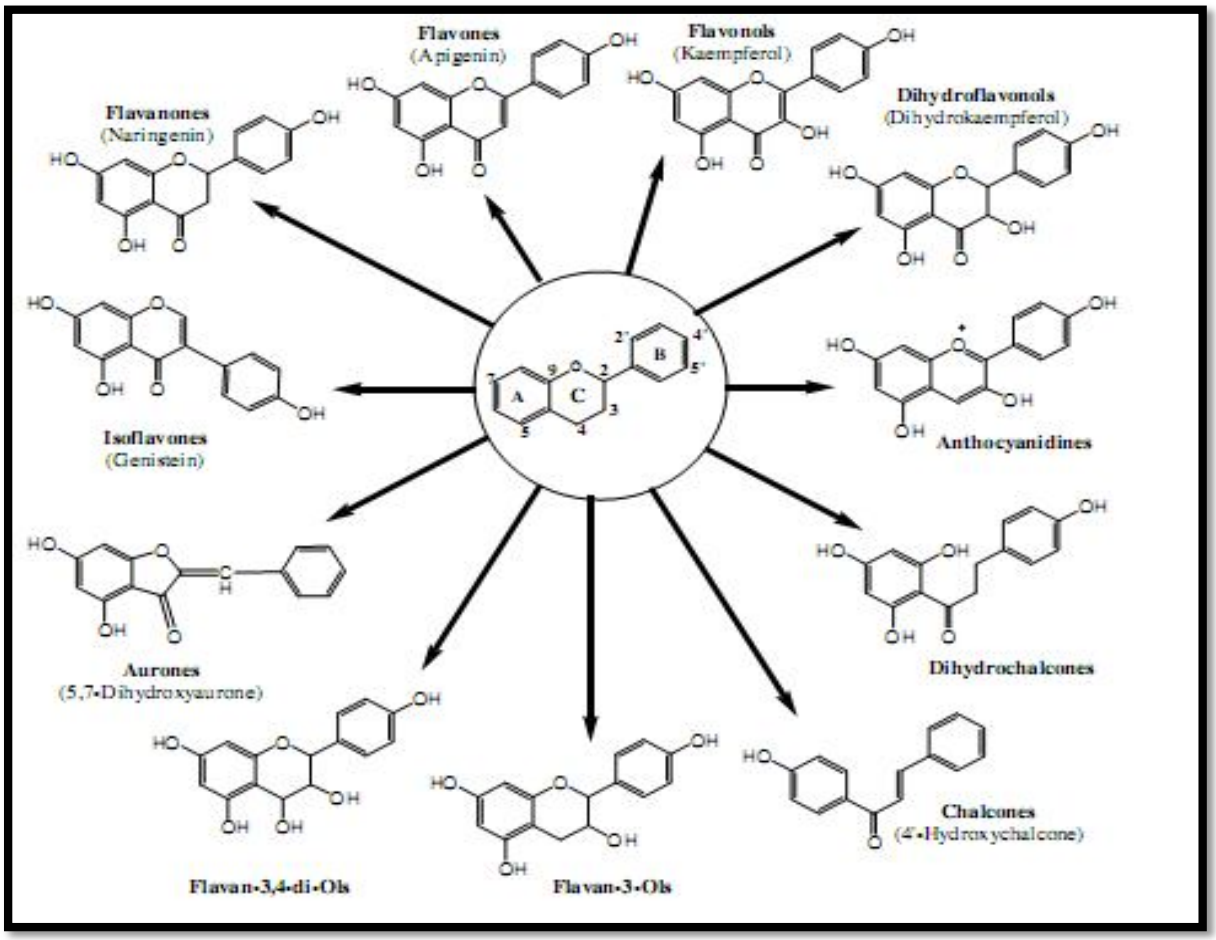
إن أول دراسة أجريت حول النشاط البيولوجي للفلافونويدات نشرت سنة 1936 من طرف عالم الكيمياء الحيوية Gyrgyi Albert Szent و الذي صنفها على أساس أنها فيتامين P (بن مرعاش، 2012) و الفلافونويدات عبارة عن عائلة واسعة من المركبات الفينولية التي ينتجها النبات تحتوي على أكثر من 60000 نوع تملك بنية كيميائية مشتركة (الوثيقة07) يتكون فيها الـهيكل الكربوني من 15 ذرة كربون (C6- C3-C6) موزعة على حلقتين عطريتين سداسيتين (حلقة B و A) مرتبطتين بحلقة غير متجانسة pyrone أو pyrane وتدعى بالحلقة (C) (بن سلامة، 2012) .



الوثيقة (07): الـهيكل العام للفلافونويد (شراونـة، 2007)

❖ **أقسام الفلافونويدات:**

تقسم الفلافونويدات إلى عدة مجموعات ، وذلك حسب درجة التأكسد في الحلقة البيرانية C التي يمكن أن تفتح أو تغلق لتعطي حلقة فيران (Bruneton, 1999)، في حين يحدد نوع الفلافونويد داخل المجموعة الواحدة من خلال المستبدلات على الحلقتين A و B



الوثيقة (08): أقسام الفلافونويدات (بن خثانة، 2014)

❖ **أهمية الفلافونيدات بالنسبة للنبات :**

للفلافونويدات وظائف و أدوار عديدة عند النبات منها الحماية ضد الأشعة فوق البنفسجية UV ، الدفاع ضد مسببات الأمراض، كما يمكنها التحكم في نشاط الهرمونات المسؤولة عن النمو مثل الأوكسينات، أيضا أهميتها في تلوين الأزهار و الفواكه، ففي الأزهار تكون مسؤولة عن إعطاء اللون المميز الذي يكون

بمثابة العامل المساعد على جلب مختلف ملقحات النبات ، كذلك لها تأثيرات مضادة للفطريات ، للميكروبات والحشرات وضد الأكسدة (Athamena, 2009 ؛ ميثاق، 2010).

❖ **الخصائص البيولوجية و العلاجية للفلافونويدات:**

تم دراسة الخصائص العلاجية للفلافونويدات في الوقت الحاضر حيث تم التعرف على العديد من الأنشطة البيولوجية والدوائية لها وتتمثل في: مضادات للأكسدة، مضادات للحساسية للالتهاب، مضادات ارتفاع الضغط و مضادات للقرحة المعدية، مضادات للفيروسات، مضادات للفطريات، مضادات للتشنج ولها دور في حماية الجهاز العصبي وأيضا تحمي من أمراض القلب والأوعية (بن سلامة، 2012 ؛ عمر، 2010؛ Ferradji, 2011) .

II-2-5-2- الأحماض الفينولية Les acides phénoliques :

❖ **تعريف الأحماض الفينولية:**

الأحماض الفينولية هي مركبات قابلة للذوبان في المذيبات العضوية القطبية وتنقسم إلى ثلاث أقسام: أحماض فينولية بسيطة، أحماض مشتقة من حمض البنزويك و أحماض فينولية مشتقة من حمض السيناميك، يعتبر القسم الأول نادرا ما عدا مركبات Hydroquinone التي توجد في العديد من العائلات النباتية (بن سلامة، Kanoun, 2011; 2012)، وعموما توجد الأحماض الفينولية في العديد من النباتات الزراعية و الطبية وكذلك في جميع الحبوب (Boukri, 2014).

❖ **الخصائص البيولوجية و العلاجية للأحماض الفينولية** :

تملك الأحماض الفينولية خصائص بيولوجية مثيرة للاهتمام، وتعتبر الأحماض الفينولية ومشتقاتها مسؤولة عن العديد من النشاطات منها: خافضة للحرارة ، مضادة للالتهابات، مطهرة للمسالك البولية و الكبد و محفزات حيوية. يعتبر كل من هذه الأحماض acide gallique، acide caféique، acide chlorogénique

مركبات تتميز بنشاطية مضادة للأكسدة ، ويعتبر acide caféique فعال جدا ضد الفيروسات والبكتيريا و الفطريات وكذلك حمض الغاليك الذي أظهر آثار مضادة للسرطان في الرئة عند الفئران في المختبر (Benhammou, 2012 ؛ Boukri, 2014) .

II-2-5-3- الدباغ (التانينات) Tannins:

❖ **تعريف الدباغ:**

هي عبارة عن عديدات فينولية تتواجد تقريبا في كل جزء من النبات: الخشب ، الأوراق، القشرة، الجذور، وفي الثمار والفواكه (العنب والتمر والقهوة و الكاكاو)، يتراوح وزنها الجزيئي من 500 - 30000 دالتون.

تمتلك التانينات خاصية الارتباط بالبروتينات مشكلة معقدات مما يؤدي إلى ترسيبها (Benhammou, 2012 ;Kanoun, 2011) ، و يتم إنتاجها أيضا من قبل الطحالب البحرية و بعض الأحياء المجهرية (العودة، 2014). تنقسم التانينات إلى مجموعتين هما:

- التانينات المتحللة (الذوابة) Tannins hydrolysables
- التانينات المتراكمة (المكثفة)Tannins condense

❖ **دور التانينات:**

✓ **بالنسبة للنبات**

النباتات غنية بالتانينات وهي تستخدمها لتشديد الأنسجة الرخوة والتقليل من الإفرازات الزائدة وإصلاح الأنسجة التالفة (Boukri, 2014)، كما أنها مسؤولة عن الطعم اللاذع للفواكه الغير الناضجة (Benhammou, 2012).

- ✓ **بالنسبة للإنسان:**

تنتج الاستعمالات الطبية للتانينات عن إتحادها بالمواد البروتينية، حيث تملك التأثير القابض Astringent ولهذا تستعمل في علاج الإسهال ،الحد من فقدان السوائل ، مضيقة للأوعية كما تستعمل في الجروح السطحية والحروق و تعمل على وقف النزيف إضافة إلى تأثيرها المطهر (2011 ، Ferradj ; 2014 ,Boukri) . زيادة على هذا للتانينات قدرات كبيرة كمضادات للأكسدة حيث أن التانينات المتحللة والمتراكمة (tannins hydrolysables et condenses) أكثر فعالية من الفينولات البسيطة (Ferradji, 2011) كما تدخل هاته المركبات في الصناعات الكيميائية ، دباغة الجلود و إنتاج العقاقير و المواد الطبية و غيرها (الداؤدي وسلمان، 2012) .

II-3- الزيوت الطيارة Les Huilles Essentiel :

II-3-1- تعريف الزيوت الطيارة :

الزيوت الطيارة هي المستخلص الحيوي المركز في النباتات العطرية، معظمها عبارة عن مواد ذات رائحة ، سائلة بعد تقطيرها ، استخلاصها وفصلها بطرق مختلفة ونادرا ما تكون صلبة(حجاوي وآخرون.، 2009) تتواجد في كثير من أوراق، أزهارو ثمار النباتات.

عادة يتم بناء الزيوت الطيارة في خلايا إفرازية خاصة أو تكون بواسطة الخلايا الغدية في النبات(price (et price, 2012

II-3-2- تواجد الزيوت الطيارة :

تختلف الزيوت الطيارة في أماكن تواجدها بالأجزاء النباتية الحاملة لها،حيث تتواجد في:

- خلايا زيتية كما في العائلة الفلفلية
- قنوات إفرازية كما في العائلة المظلية

- ممرات (شبكة من القنوات) كما في ثمار العائلة الصنوبرية

- تركيبات إفرازية متخصصة كما في العائلة الشفوية والمركبة (زيدي، 2012).

II-3-3- الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيوت الطيارة :

تكون الزيوت الطيارة بشكل عام عديمة اللون أو ذات لون أصفر باهت، سائلة في درجة حرارة الغرفة.

الطبيعة الزيتية للهيدروجين يجعلها قابلة للذوبان، بحيث تكون قابلة للذوبان في الماء بشكل ضعيف ولكن تذوب في المذيبات العضوية غير القطبية ، الزيوت الدهنية والكحول.

الزيوت الأساسية متقلبة للغاية وحساسة للأكسدة، تكون كثافتها أقل عمومًا من كثافة الماء (باستثناء الزيوت العطرية للقرنفل و القرفة) فهي ذات معامل انكسار عال وتصبح معظمها مستقطبة (2010 Baser et Buchbauer,) .

II-3-4- التركيب الكيميائي للزيوت الطيارة:

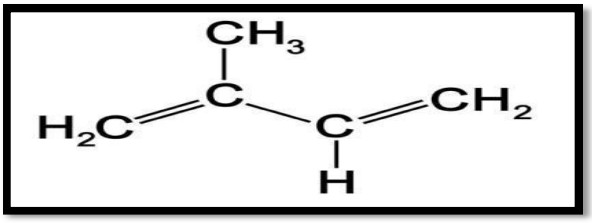
تمتاز بتركيبة معقدة، وتنحصر غالبيتها في مجموعتين رئيسيتين (Calsamiglia ; Amlan et Patra , 2010 *et al.*, 2007).

II-3-4-1- التربينات Les terpènes :

✓ **تعريف التربينات:**

التربينات هي مركبات هيدروكربونية طبيعية تتواجد في نبات بشكل خاص، ناتجة عن تكثيف وحدات الإيزوبرين Isoprène (حوة، 2013) ذات 5 ذرات كربون كما هو موضح في الوثيقة (09).

تقسم حسب عدد ذرات C فيها (Philippe, 2007) .



الوثيقة (09): وحدة الإيزوبرين (Dacosta, 2003)

✓ **تصنيف التربينات**

تتميز التربينات بأنها تشترك في الوحدة الأساسية و تصنف على أساس عدد الوحدات الأساسية المكررة حسب Haba (2008) إلى الجدول التالي:

جدول(04): تصنيف التربينات

عدد ذرات الكربون	اسم التربين	وحدات الايزوبرين
10	أحادي التربين Monoterpènes	2
15	سيسكوتربينات Sesquiterpènes	3
20	ثنائي التربين Diterpénes	4
25	ثلاثي التربين Triterpènes	6
30	رباعي التربين Tétraterpènes	8
أكثر من 40	متعدد التربين Polyterpènes	أكثر من 8

II-3-4-2- المركبات العطرية :

تتواجد هذه المركبات في الزيوت الطيارة بنسب أقل من التربينات **(**دحية، 2009**)** وتصنف حسب الوظيفة التي تحملها سواء كان: ألدهيدات، إيثرات، أكسيد أسترات.

يمكن أن يحتوي الزيت على مركبات أخرى ومن أمثلتها: الأحماض العضوية ذات الأوزان الجزيئية الضعيفة كحمض الخل و الكيتونات (دحية، 2009) .

II-3-5- طرق استخلاص الزيوت الطيارة :

يتم استخلاص الزيوت الأساسية بعدة طرق منها التقطير بالبخار والتقطير بالماء ،الاستخلاص بالمذيبات العضوية الطيارة، الاستخلاص باستعمال ثاني أكسيد الكربون CO_2 ذو الطور الحرج، الاستخلاص بالدهون والشحوم ، الاستخلاص بالضغط البارد و الاستخلاص بواسطة الأمواج وكل هذه الطرق تؤدي إلى نفس الهدف في استخلاص الزيوت الأساسية ولكنها تختلف من حيث النوعية والكمية المتحصل عليها ، وتعد طريقة الاستخلاص بالبخار أكثر الطرق استخداما لسهولة إجرائه ولأنها تعطي مردود مقبول من الزيوت الأساسية المستخلص (Laouer , 2004).

II-3-6- الدور الفسيولوجي للزيوت الطيارة :

أظهرت الدراسات أن الزيوت الأساسية في النباتات لها وظيفة جذب الحشرات الملقحة أو صد الحشرات المعادية، وهناك عدد منها لديه خصائص مطهرة ومبيدات حشرية ومبيدات فطريات ومبيدات للجراثيم (Carson et Hammer, 2011) وهي ليست ضرورية لنمو النبات (Croteau *et al.*, 2000).

II-3-7- استخدامات الزيوت الأساسية :

الزيوت الأساسية التي يتم تسويقها في العالم مخصصة لأربعة قطاعات صناعية رئيسية: العطور، التجميلية و الغذاء والدواء (الطب البديل والمستحضرات الصيدلانية) (Grysole, 2005).

تستخدم صناعة المواد الغذائية الزيوت الأساسية لتعزيز النكهة والأطعمة الملونة (Bruneton,1999)

كما أنها تستخدم كمواد طبيعية حافظة للغذاء ، ويرجع ذلك إلى احتوائها على مركبات لها خصائص مضادة للميكروبات ومضادات الأكسدة (Hammer *et al.*,1999 ; Conner, 1993).

كما تستخدم الزيوت الأساسية لعلاج عدة أمراض منها: الأمراض الصدرية ، التخفيف من التشنجات العصبية والأمراض التنفسية ، تقوية المناعة ، مقاومة البرد وآلام الروماتيزم، العين، الأذن وحب الشباب وهي مضادة للطفيليات والبكتيريا وطاردة للغازات و مضادة للالتهابات ومضادة للتعفن (دحيه، 2009).

الفصل الثالث

دراسة الفعالية البيولوجية

I-الفعالية المضادة للأكسدة:

I-1- الجذور الحرة:

هي عبارة عن أنواع كيميائية (ذرات، جزيئات) تحتوي على إلكترون حر أو أكثر في مدارها الخارجي ، وهذا ما يجعلها غير مستقرة وفي بحث دائم على إلكترونات. تعتبر بيوت الطاقة (المتوكندري) داخل الخلية المصدر الرئيسي لإنتاج هذه الجذور (Raquibul, 2009).

I-2- مضادات الأكسدة Antioxydants:

يطلق مصطلح مضادات الأكسدة على كل مادة أو مركب له فعالية ضد الأضرار التأكسدية ويعمل على تأخير أو الوقاية من فعل الجذور الحرة (Miquel, 2002)، وتنقسم الأنظمة المضادة للأكسدة إلى أنظمة إنزيمية وأخرى غير إنزيمية.

I-2-1- مضادات الأكسدة الإنزيمية Enzymatic antioxydants :

يمتلك الجسم العديد من الإنزيمات المضادة للأكسدة أهمها: SOD ،CAT, GPX (Desai *et al.*, 2010)

❖ **فوق أكسيد الديسميوتاز Superoxide dismutase (SOD) :**

يعتبر إنزيم (SOD) من الإنزيمات التي تدخل في تحليل النواتج السامة للميتابوليزم الخلوي، فهو يقوم بإزالة الجذر $O^{\bullet -}$ وذلك بتسريع معدل تحوله إلى H_2O_2 بمساعدة بعض المعادن مثل السيلينيوم والنحاس والزنك كما يوضحه التفاعل التالي :

$$2O_2^{\bullet -} + 2\,H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

❖ **الكاتالاز Catalase :**

يتواجد إنزيم Catalase في أغلب أعضاء الجسم وعند وجود تراكيز عالية من H_2O_2 يقوم هذا الإنزيم بتحويله إلى ماء وأكسيجين حسب التفاعل الآتي (kanoun, 2011)

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} 2H_2O + O_2$$

❖ **انزيم جلوتاثيون بيروكسيداز Glutathione peroxidase(GPx) :**

إنزيم متواجد في الميتكوندري والسائل الخلوي، وهو من أهم الأنظمة الإنزيمية المشاركة في الحماية، وذلك لأنه قادر على إزاحة كل من H_2O_2 و الهيدروبيروكسيدات الناتجة عن أكسدة وفق التفاعلات التالية:

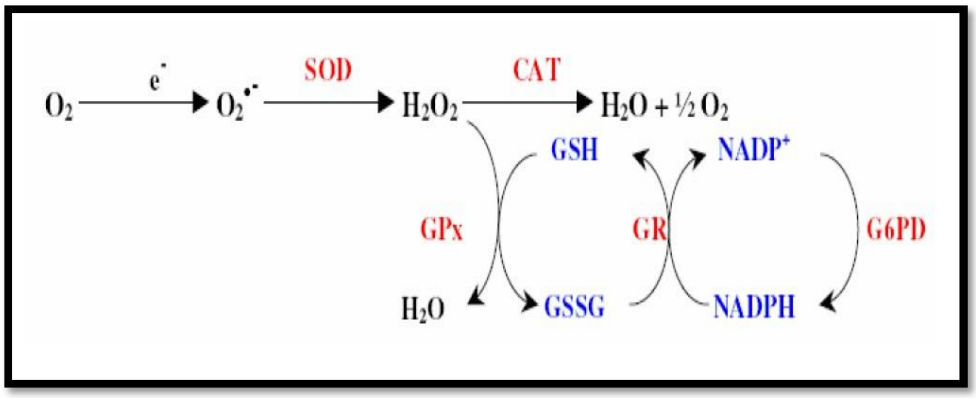
$$H_2O_2 + 2\ GSH \longrightarrow 2\ H_2O + GSSG$$

$$ROOH + 2GSH \longrightarrow ROH + H_2O + GSSG$$

يعمل إنزيم glutathion reductase (GR) على إعادة تجديد GSH انطلاقا من GSSG باستعمال NADPH كعامل مساعد

$$GSSG + NADPH + H^+ \longrightarrow 2GSH + NADP^+$$

يتفاعل إنزيم glucose-6-phosphate-dehydrogenase (G6PD) ليحول $NADP^+$ إلى NADPH وبهذا يمكن تلخيص تكامل الأدوار المضادة للأكسدة بين الإنزيمات حسب الوثيقة(10) (Kanoun, 2011).



الوثيقة (10) : مخطط يوضح التكامل بين عمل مضادات الأكسدة الإنزيمية(Kanoun, 2011)

I-2-2- مضادات الأكسدة غير الإنزيمية Antioxidant non enzymatic :

معظم هذه المركبات لا تنتج من طرف العضوية وقد تأتي من الأغذية ، وتشمل كل من الجزيئات الصغيرة مثل الفيتامينات وVit. C و Vit. E و Glutathione (Karthikeyan and Rani, 2003)

حسب (بن خناثة، 2013) هناك عدة أنواع من مضادات الأكسدة غير الإنزيمية و منها:

❖ **الفيتامين C :**

يسمى كذلك بحمض الأسكوربيك Ascorbic acid هو مركب قابل للذوبان في الماء، يتواجد في السوائل الخلوية الخارجية (Medow *et al*., 2011).

يمتلك حمض الأسكوربيك وظائف متعددة مضادة للأكسدة أهمها الإزاحة المباشرة للجذور الحرة $^{\bullet}OH$ و $O_2^{\bullet}$ ، كما له دورا هاما في الحفاظ على الصحة العامة ومقاومة الأمراض وتقوية الأغشية الخلوية وإبطال فعل السموم والجذور الحرة، ولأن جسم الإنسان لا يستطيع إنتاج هذا الفيتامين، يجب تناول الأطعمة التي تحتوي عليه كالحمضيات (Chaabi, 2008).

❖ **الفيتامين E** :

يسمى أيضا α-tocopherol ، من أكثر مضادات الأكسدة ذوبانية في الدهون، يلعب دورا حيويا في حماية الأغشية الخلوية من التلف التأكسدي، وبالتالي منع الكولسترول من الالتصاق بجدران الشرايين، حيث أن هذا الفيتامين يقوم باقتناص الجذور البيروكسيلية في الأغشية الخلوية ولذلك يطلق عليه تعبير " كاسح الجذور" . يعادل تأثير بعض الجذور الحرة الأخرى وبالتالي يعمل على الوقاية من بعض الأمراض، كما تعمل مركبات فيتامين E على منع أكسدة بعض العناصر الغذائية و إعاقة سلسلة التفاعلات التي تؤدي إلى أكسدة الدهون (فرحات، 2013).

إكتسب فيتامين E أهمية بالغة بعد أن عرف دوره كمضاد للأكسدة وإطالة العمر الافتراضي لخلايا الجسم ومعالجة عدد من الأمراض كتقليل نسبة حدوث الإصابة بالجلطات القلبية وتصلب الشرايين، كما أن لهذا الفيتامين دور في وقاية الجينات من الطفرات. ومن المصادر الغنية بهذا الفيتامين زيت النخيل والذرة والفول السوداني (Chaabi, 2008).

❖ **الجلوتاثيون Glutathione (GSH)** :

هو عبارة عن ببتيد ثلاثي يتواجد في الأنسجة الحيوانية، يلعب دورا مهما كمضاد للأكسدة داخل الجسم (بن خناثة، 2014) ، حيث يحمي الخلية من التلف التأكسدي (Jan *et al*., 2011).

يستطيع GSH التفاعل مباشرة مع الجذور الحرة مثل $^{\bullet}OH$ و $O_2^{\bullet-}$ و $^{\bullet}LO$ و $^{\bullet}LOO$ ، حيث تفقد مجموعة الكبريت ذرة هيدروجين مما يؤدي إلى إنتاج جذر($GS^{\bullet}$) الذي بإمكانه الانضمام إلى جذر آخر لتكوين جزيئة GSSG (Biljak *et al*., 2010).

❖ **الكاروتينويدات Carotenoides :**

هي مواد صبغية موجودة في الفواكه والخضر (بن ذهبية، 2013)، وتعتبر بادئات للفيتامين A الضروري للرؤية و النمو.

تتميز بوجود العديد من الروابط المزدوجة في بنيتها مما أكسبها فعل مضادة للأكسدة و بينت العديد من التجارب قدرة الكاروتينويدات على تثبيط الجذور الحرة (قمولي، 2009).

I-3- طريقة عمل مضادات الأكسدة:

تعمل مضادات الأكسدة على منع تكوين و منع تأثير أصناف الأوكسجين والنيتروجين الفعال الناشئين داخل الجسم، واللذين يؤديان إلى أضرار في الأحماض النووية، الدهون البروتينات والجزئيات الحيوية الأخرى.

تصنف المادة المضادة للأكسدة بأنها تلك المادة التي لديها القدرة على تثبيط الجذور الحرة، لذا فإن القليل من المواد المضادة للأكسدة يفقدها الجسم. كما أن القليل من الجزئيات المضادات للأكسدة مثل بعض الإنزيمات تكون غير كافية لمنع هذا الضرر تماما (احمد ، 2002) .

قد تبدو إزالة الجذور الحرة بواسطة مضادات الأكسدة مهمة لصحة وحياة الإنسان إلا أنه لا يمكن العيش بدونها، فالجسم يستخدم الجذور الحرة لتحطيم الجراثيم بالإضافة إلى استخدامها لإنتاج الطاقة (قمولي، 2009)

II- الفعالية المضادة للبكتيريا:

II-1- تعريف البكتيريا

هي كائنات حية دقيقة بدائية النواة ذات خلية واحدة، يتراوح قطرها ما بين 0.2 – 0.3 ميكرون (الوثيقة 10)، تتميز بجدار خلوي يتركب من peptidoglycane (ارتباط سكر - حمض أميني). تصنف حسب تركيب جدرانها إلى بكتيريا موجبة الغرام و بكتيريا سالبة الغرام (الحلو، 2009).

II-2- خصائص البكتيريا:

تتميز البكتيريا بمجموعة من الخصائص، ومن أهمها:

- البكتيريا كائنات دقيقة بدائية النوى.
- تتميز البكتيريا ببساطة التركيب.

✓ إذ تتركب من جدار خلوي وغشاء خلوي يحيطان بالسيتوبلازم الذي يحوي كروموزوما حلقيا واحدا ولا يحتوي على بروتين الهستون وقد يحتوي على جزيء DNA أو أكثر على شكل دوائر صغيرة تسمى البلازميدات، وتتكاثر بصورة مستقلة عن الكروموزوم (العابد، 2009).

✓ بعضها متحركة،تستخدم في حركتها شعيرات صغيرة يطلق عليها مسمى الأسواط أو الأهداب.

✓ قد تحاط بعض أنواعها بطبقة مخاطية تسمى المحفظة Capsule تشكل غطاء وتزيد من قدرة بعض أنواع البكتيريا في إحداث المرض.

✓ تتكاثر بالانشطار

✓ تتغذى على المواد العضوية وغير العضوية تحت الظروف الهوائية و اللاهوائية وبعضها ذاتي التغذية. (العابد، 2009)

II-3- السلالات البكتيرية المدروسة :

II-3-1- بكتيريا القولون *Escherichia coli* :

بكتيريا عصوية الشكل متحركة بأسواط جسمية، هوائية اختياريا، سالبة الغرام (الوثيقة 11) تتواجد في الأمعاء الغليظة للإنسان، معظمها ليست مسببة للأمراض، يمكن أن تسبب أمراض عند تواجدها بأعداد كبيرة (Irving *et al.*, 2005) ، من بين هذه الأمراض إلتهابات الأعضاء التناسلية والتهاب السحايا لدى الأطفال حديثي الولادة

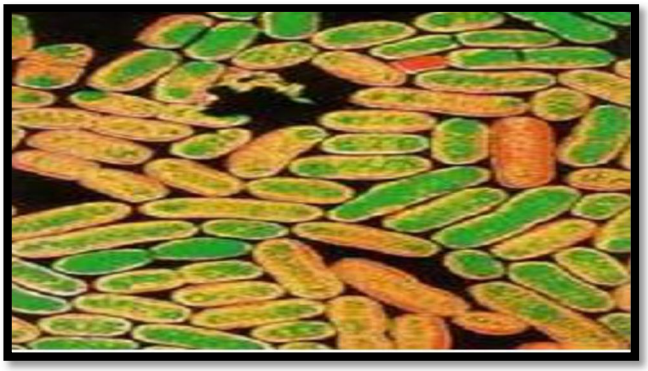
وجود بكتيريا *Escherichia Coli* يدل على تلوث مياه الشرب و الغذاء بالبراز (Kayser *et al.*, 2005)

تصنف كالتالي (أنظر الجدول05):

الجدول (05): تصنيف بكتيريا القولون*Escherichia coli*

الشعبة	Proteobacteria
الطائفة	Gammaproteobacteria
الرتبة	Entérobacteriale
العائلة	Entérobactérice
الجنس	Escherichia
النوع	*Escherichia coli*

(حوة، 2013)



الوثيقة(11): *Escherichia coli* ملاحظة بالمجهر الالكتروني (أبو الذهب و آخرون.، 1997)

II-3-2- بكتيريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*:

هي بكتيريا عصوية سالبة الغرام، متحركة هوائية (الوثيقة 12) (Irving *et al*., 2005) مصدرها الجهاز الهضمي للإنسان والحيوان، تمتاز بمقاومتها للمضادات الحيوية و المطهرات لذا يصعب السيطرة عليها (Lambert, 2002) وهذا ما يفسر نموها وتكاثرها في الأوساط الإستشفائية (Lyczak *et al*., 2000). تحتل المرتبة الأولى في التسبب بعدوى التهابات الرئة.

تصنف هذه البكتيريا كالتالي (الجدول 06):

الجدول (06): تصنيف بكتيريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*

الشعبة	Proteobacteria
القسم	Gammaproteobacteria
الرتبة	Pseudomonadal
العائلة	Pseudomonadadaceae
الجنس	Pseudomonas
النوع	*Pseudomonas aeruginosa*

(حوة، 2013)

الوثيقة(12): *Pseudomonas aeruginosa* ملاحظة بالمجهر الالكتروني

(أبو الذهب و آخرون.، 1997)

II-3-3- بكتيريا المكورات الذهبية العنقودية *staphylococcus 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(الوثيقة 13).

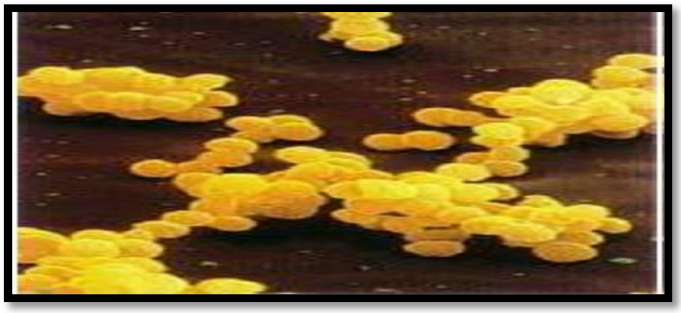
تعيش المكورات العنقودية الذهبية بشكل طبيعي على جلد الإنسان (شبوعات، 2014) وفي تجويف الأنف أو في الجهاز التنفسي، إلا أنه يمكن أن تتسبب بمجموعة من الأمراض مثل التهابات جلدية طفيفة كالبثور، التهاب النسيج الخلوي (Cellulitis)، إضافة إلى أمراض أخرى مثل الالتهاب الرئوي (Pneumonia) والتهاب السحايا (meningitis) والتهاب العظم والنخاع وتجرثم الدم (Septicemia). تعد واحدة من الأسباب الأكثر شيوعًا للأمراض المكتسبة من المستشفيات (لبوز، 2012).

تصنف هذه البكتيريا كالتالي:

جدول (07): تصنيف بكتيريا المكورات الذهبية العنقودية *staphylococcus aureus*

الشعبة	Firmicutes
القسم	Cocci
الرتبة	Bacillales
العائلة	Staphylococcaceae
الجنس	Staphylococcus
النوع	*Staphylococcus aureus*

(حوة، 2013)



الوثيقة(13): *Staphylococcus aureus* ملاحظة بالمجهر الالكتروني(أبو الذهب و آخرون.، 1997)

II-3-4- بكتيريا *Bacillus cereus*:

عبارة عن عصية موجبة الغرام كبيرة الحجم (الوثيقة 14)، تتحركة بواسطة مجموعة من الأهداب المحيطية تنمو في الأوساط الهوائية و اللاهوائية اختياريا ، غالبا ما تتواجد في التربة، الغبار أو الأسطح النباتية (ذياب، 2008) تتميز بمقاومتها للظروف القاسية بسب قدرتها على تكوين أبواغ، تسبب التهاب الجهاز البولي وتجرثم الدم، وكذا التسمم الغذائي الناتج عن تناول الأغذية الملوثة(Lund *et al*., 2000).

تصنف هذه البكتيريا كالتالي (جدول 08):

جدول (08): تصنيف بكتيريا *Bacillus cereus*

الشعبة	Firmicutes
القسم	Bacilli
الرتبة	Bacillales
العائلة	Bacillaceae
الجنس	Bacillus
النوع	*Bacillus cereus*

(De Vos *et al*., 2009)

الوثيقة(14): *Bacillus cereus* ملاحظة بالمجهر الالكتروني (De Vos *et al*., 2009)

III- المضادات الحيوية:

III-1- تعريف المضادات الحيوية:

أطلق عليها اسم المضادات الحيوية من طرف العالم وكسمان Wksman سنة 1945 وهي عبارة عن مواد عضوية تنتجها الكائنات الحية الدقيقة ، لكنها تشمل أيضا المواد شبه المصنعة و المواد المصنعة التى تلعب دورا في تثبيط بعض الطرق الأيضية للبكتيريا دون إحداث أضرار صحية للكائن العائل للبكتيريا غالبا (Bergogne- Berezin et Dellamonica, 1995) .

III-2- تأثير المضادات الحيوية على الخلية البكتيرية:

- **الجدار الخلوي:** تعمل المضادات الحيوية على منع تخليق الجدار الخلوي البكتيري عن طريق منع تكوين الجسور الببتيدية في طبقة Peptidoglycane ، كما تؤثر على الخلايا البكتيرية في طور الانقسام أي قبل تكون الجسور الببتيدية للجدار الخلوي مما يجعل البكتيريا حساسة للضغط الاوسموزي ومن ثم موتها.
- **الغشاء البلازمي:** تتسبب المضادات الحيوية بحدوث ثقوب بيولوجية من خلال تداخلها بين جزيئات الغشاء السيتوبلازمي، وبالتحديد بين طبقة البروتين والدهون المفسفرة، أو تؤثر على الإنزيمات الناقلة عبر الأغشية وتثبط عملها من خلال التأثير على التبادل الأيوني للمواد الداخلة والخارجة للخلية البكتيرية وذلك يؤدي إلى موت الخلية البكتيرية.
- **DNA:** تؤثر على الروابط الهيدروجينية بين القواعد النيتروجينية المتقابلة مما يؤدي إلى إيقاف عملية التضاعف ، كما تستطيع إحداث تغييرات في سلسلة DNA الواحدة للحلزون المضاعف حيث تقوم بالتداخل بين القواعد النيتروجينية مما يؤدي إلى تغيير التسلسل، وبالتالي تثبيط عملية

التضاعف و إيقافها، كما يمكنها أن تكون روابط مع RNA polymerase وتقوم بتفكيكه وتمنع بذلك نسخ DNA (نور، 2018) .

الجزء التطبيقي

الفصل الأول

مواد و طرق البحث

I- الأدوات والمواد المستعملة:

I -1-الأدوات المستعملة في تحضير المادة النباتية:

عند جمع النبات استعملنا الأدوات الموضحة في الجدول (09)

جدول(09):الأدوات المستعملة أثناء جمع و تحضير المادة النباتية

الطرق	الأدوات المستعملة
الجمع	أداة حفر ، أكياس ورقية
التجفيف	قطعة قماش
الطحن	مقص ، آلة كهربائية ، أكياس ورقية

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

الأدوات والمحاليل المستعملة في المخبر للكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي في المستخلصات النباتية موضحة في الجدول (10)

جدول(10): الأدوات والمحاليل المخبرية المستعملة للكشف الكيميائي للمواد الفعالة في المستخلصات النباتية

مواد الأيض الثانوي	المحاليل	الأجهزة
القلويدات Les alcaloïdes	-المستخلص النباتي -كاشف واتر - كاشف دراجندروف	-أنابيب اختبار -حاملة Pipette
التانينات Les tannins	-المستخلص النباتي $FeCl_3$-(%2)	-أنابيب اختبار - حاملة Pipette-
الفلافونويدات Les flavonoids	-المستخلص النباتي -مغنزيوم HCl- NaOH-	-بيشر -حاملة-أنابيب اختبار Pipette -
الستيرولات و التربينات Stérols et Triterpénes	-المستخلص النباتي-كلوروفورم- -حمض الخليك الثلجي-حمض الكبريت H_2SO_4	Routevapeur- Pipette- -أنابيب اختبار -حاملة -بيشر
المركبات المرجعة Les composées réducteurs	-المستخلص النباتي -ماء مقطر -كاشف فهلنغ	-مسخن-أنابيب اختبار -حاملة -Pipette
الصابونونيات Les saponosides	-المستخلص النباتي - ماء مقطر	-أنابيب اختبار - حاملة Pipette-

I-3- الأدوات المستعملة عند الاستخلاص:

عند عملية تحضير المستخلصات قمنا باستعمال الأدوات والمحاليل و الأجهزة الموضحة في الجدول (11)

جدول(11): الأدوات والمحاليل المخبرية المستعملة أثناء عملية الاستخلاص

الأدوات	المحاليل	الأجهزة
-المادة النباتية- قمع زجاجي -ورق ترشيح- بيشر -Spatule . Erlenmeyer- Ballon	-ميثانول -إيثانول - ماء مقطر	-ميزان حساس- جهاز المبخر الدوراني (Rotavapeur)-جهاز Clevenger -Etuve

I-4- الأدوات المستعملة عند التقدير الكمي لبعض مواد الأيض الثانوي:

خلال عملية التقدير الكمي لكل من الفلافونويدات و عديدات الفينول و التانينات قمنا باستخدام المحاليل الكيميائية والأدوات والأجهزة التالية جدول(12)

جدول (12): المحاليل الكيميائية والأدوات والأجهزة المستعملة في التقدير الكمي لبعض مواد الأيض الثانوي:

التقدير الكمي	المحاليل و المواد	الأدوات	الأجهزة
لعديدات الفينول (PPT)	- المستخلصات النباتية - ميثانول -حمض الغاليك -كاشفFolin Ciocalteau (%10) - Na_2CO_3 (%7.5)	أنابيب اختبار بيشر حامل انابيب Micropipette - Les cuves	-جهاز المطيافية الضوئية Spéctrophotométre
للفلافونويدات (FV)	-المستخلصات النباتية -ميثانول MeOH -كرستين -ثلاثي كلوريد الألمنيوم Trichlorure d'aluminium (%2) $AlCl_3$		
للتانينات	-المستخلصات النباتية -ميثانول -كاتشين -فانلين (4%) -HCl (%0.5)		

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

بالنسبة لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة استعملنا المحاليل الكيميائية ، الأدوات والأجهزة المدرجة في الجدول(13)

جدول (13): المحاليل الكيميائية والأدوات و الأجهزة المستعملة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

الاختبار	المحاليل والمواد	الأدوات	الأجهزة
اختبار اقتناص الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$	-ميثانول -حمض الأسكوربيك - $DPPH^{\bullet}$ 0.1 mM -المستخلصات النباتية	-أنابيب إختبار -بيشر -حامل أنابيب إختبار -ورق ألمنيوم - Micropipette - Spatule - Les cuves	-ميزان حساس. -جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotométre)

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

استعملنا خلال اختبار النشاطية البيولوجية للمستخلصات النباتية على الأنواع البكتيرية المختبرة المحاليل والأدوات والأجهزة الموضحة في الجدول(14)

جدول (14): المحاليل الكيميائية والأدوات والأجهزة المستعملة في الفعالية البيولوجية المضادة لسلالات بكتيرية ممرضة.

المحاليل والمواد	الأدوات	الأجهزة
-المستخلصات النباتية -ماء فيزيولوجي معقم- محلول DMSO -عينات بكتيرية-مضادات حيوية -أوساط الزرع: (GN)gélose nutritive (MH)Mueller Hinton	-أنابيب اختبار -حامل أنابيب اختبار -أطباق بتري، ماسح قطني -مسطرة مدرجة - Micropipette -Pipette Pasteur -ملقط	-ميزان حساس -موقد بنزن -حاضنة

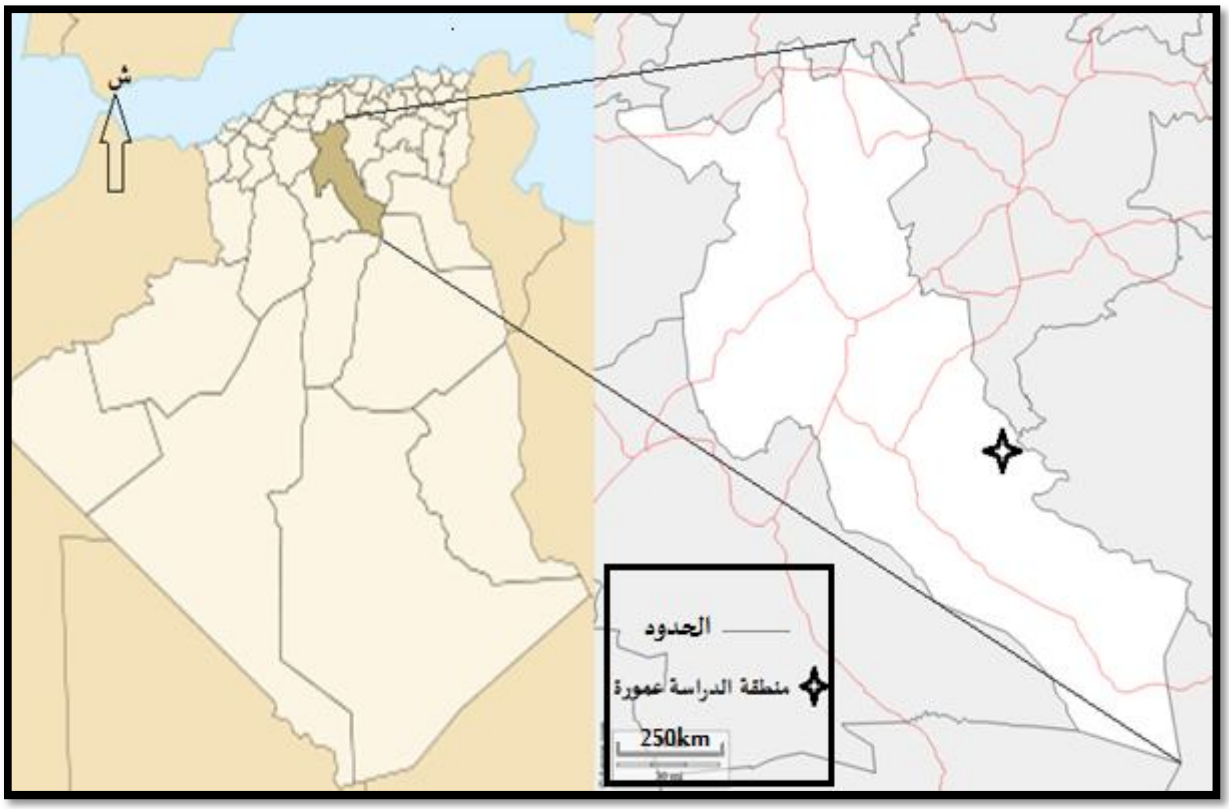
II- الطرق المتبعة:

II -1-الطرق المتبعة في جمع و تجفيف المادة النباتية:

تم الحصول على نبات القزاح *Pituranthos chloranthus* بشهر نوفمبر 2018 من منطقة عمورة الواقعة في الجنوب الشرقي لولاية الجلفة (الوثيقة15)، يحدها شمالا بلدية فيض البطمة ومن الجنوب بلدية أم العظام ومن الشرق كل من ولايتي المسيلة وبسكرة ، ومن الغرب بلدية سلمانة.

- ✓ موقعها الفلكي: تقع بين خطي عرض 34.7602 شمالا و خط طول 3.4808 شرقا (عباسة، 2019)
- ✓ ارتفاعها عن سطح البحر: 1138 متر
- ✓ الطابع البيومناخي: انتقالي بين مناخ البحر الأبيض المتوسط و المناخ الصحراوي.

تم اختيار موقع الدراسة على أساس توفر النبات المدروس بصورة تسمح بجمعه بكميات معتبرة



الوثيقة (15): منطقة عمورة التابعة لولاية الجلفة التي قطف منها النبات (d.maps.com, 2019)

بعد عملية جمع العينات ، تم غسلها لإزالة الشوائب والأتربة ثم تجفيفها فوق قطعة قماش وذلك بتعريضها للهواء في مكان مظلل وغير رطب لمدة كافية للتأكد من الجفاف التام للنبتة .

بعد جفاف النبات، نقوم بتقطيعه إلى أجزاء صغيرة بواسطة مقص لتسهيل عملية سحقه بواسطة آلة كهربائية نظيفة، ووضعه في أكياس ورقية محكمة الغلق.

II -2- الطرق المتبعة في الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي:

بغية الكشف عن ما يحتويه نبات القزاح *P. chloranthus* من مواد فعالة، اعتمدنا طريقة الكشف اللوني.

II -2-1- تحضير المستخلصات النباتية:

تم تحضير ثلاثة أنواع من المستخلصات المائي ، الميثانولي والإيثانولي و هذا اعتمادا على نوعية المادة الفعالة، عن طريق النقع(Maceration)

ننقع 10g من مسحوق النبتة في 100 ml من المذيب (ماء مقطر أو ميثانول أو إيثانول) مع التحريك ، لمدة 24 ساعة ثم ترشح المستخلصات(Azzi, 2013) .

II -2 -2-الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية:

هي جملة من الاختبارات التي تهدف إلى معرفة وحصر مختلف المواد الفعالة التي يحتويها النبات و نلخص مجملها فيما يلي:

❖ **الكشف عن القلويدات Les Alcaloïdes:**

نضع في أنبوبي اختبار 1ml من المستخلص (مائي/ميثانولي/إيثانولي) ونضيف 5 قطرات من كاشف وانر أو دراجندروف على التوالي:

- كاشف دراجندروف: ظهور راسب برتقالي يدل على وجود القلويدات
- كاشف وانر: ظهور راسب بني يدل على وجود القلويدات (Harborne, 1973).

❖ **الكشف عن التانينات Les tannins:**

نضع في أنبوب اختبار 5ml من المستخلص و نضيف له 3 قطرات من كلوريد الحديد الثلاثي $FeCl_3$ (1-2%).

- ظهور لون أزرق مسود دليل على وجود tanins gallique.
- ظهور لون بني مخضر دليل على وجود tanins cathéchique(Trease et Evans, 1987).

❖ **الكشف عن الفلافونويدات Les flavonoids :**

نضع في أنبوب اختبار 5ml من المستخلص ونضيف 0.5g من المغنزيوم ، ثم نضيف له 1ml من HCl المركز.

- ظهور لون أحمر أو الوردي يدل على وجود الفلافونويدات(Azzi, 2013).

يتم الكشف عن الفلافونويدات أيضا بمزج 2ml من المستخلص مع 1ml من هيدروكسيد الصوديوم NaOH بتركيز 0.5 M

- ظهور اللون الأصفر دليل على وجود الفلافونويدات(نعمة وآخرون.، 2007).

❖ **الكشف عن الستيرولات و التربينات الثلاثية Stérols et Triterpénes:**

اختبار Liberman-Bucharis:

نضع في أنبوب اختبار 5ml من المستخلص ثم نتركها تتبخر كليا، نضيف لها 5ml من حمض الخليك الثلجي و 5ml من الكلوروفورم، وبواسطة ماصة نضيف بحذر على حافة الأنبوب 1ml من حمض الكبريت H_2SO_4 و ننتظر 30 دقيقة.

- ظهور حلقة بنفسجية في نقطة الاتصال بين المحلولين يدل على وجود الستيرولات والتربينات (Trease et Evans, 1987) .

❖ **الكشف عن المركبات المرجعة composées réducteurs :**

نضع في أنبوب اختبار 2ml من المستخلص و نضيف له 20 قطرة من محلول فهلنغ ، يسخن الأنبوب على حمام مائي.

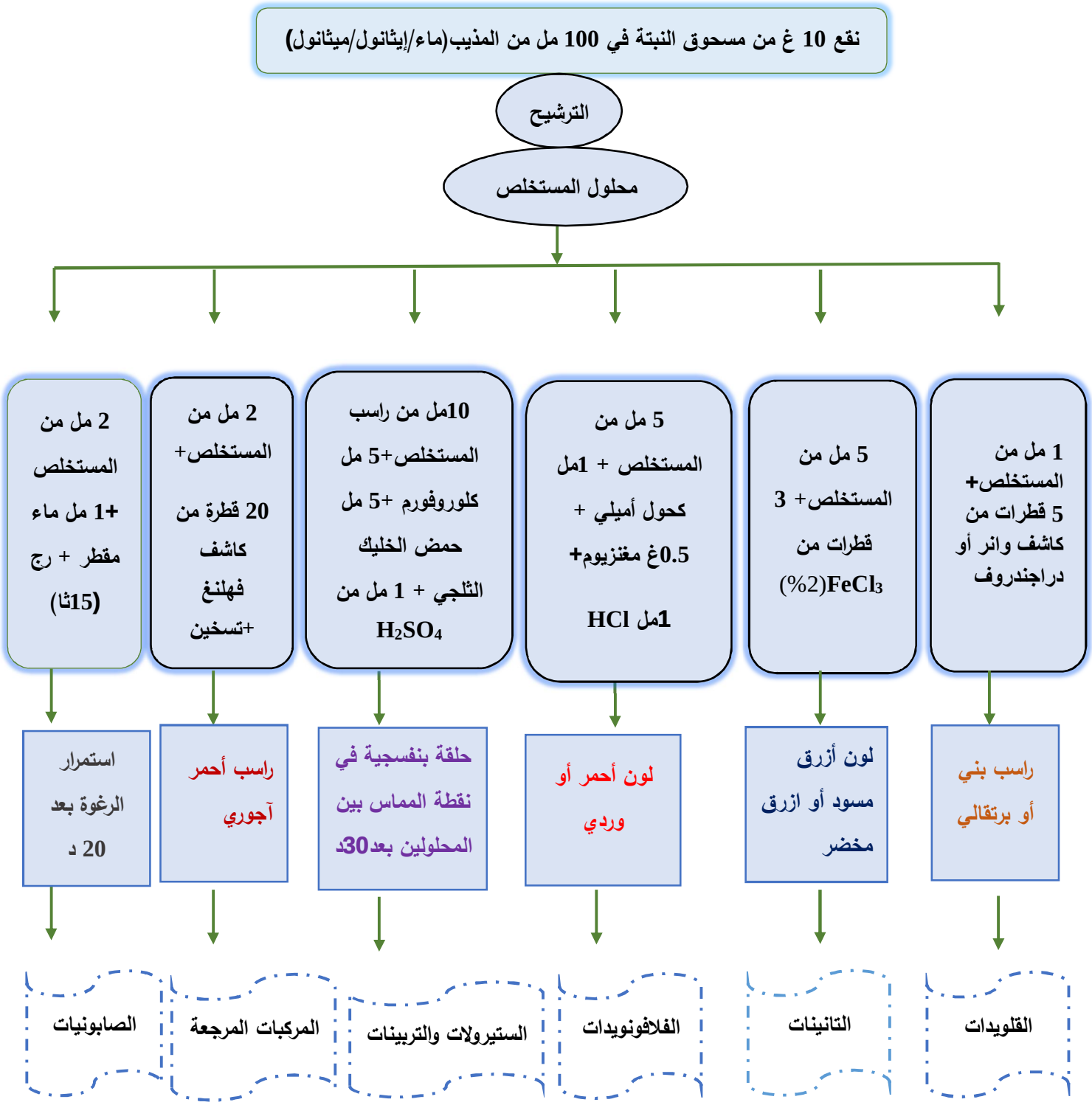
- ظهور راسب أحمر آجوري يدل على وجود المركبات المرجعة في النبات(Trease et Evans, 1987) .

❖ **الكشف عن الصابونيات Les saponosides :**

نضع أنبوب اختبار 2ml من المستخلص و نضيف له كمية قليلة من الماء ، ثم نقوم برج الأنبوب لمدة 15 ثانية . بعد 20 دقيقة نقوم بقياس طول الرغوة.

- عدم وجود الرغوة يدل على عدم وجود الصابونيات.
- ظهور رغوة أقل من 1cm على وجود الصابونيات بكمية قليلة.
- ظهور رغوة محصورة بين 1-2 cm يدل على وجود الصابونيات بكمية معتبرة.
- ظهور رغوة أكثر من 2-3cm يدل على وجود الصابونيات بكمية كبيرة (Azzi, 2013).

الشكل (01) يبين الطرق المتبعة عند الكشف الكيميائي .



الشكل (01): مخطط الكشف الكيميائي لنواتج الأيض الثانوي

II -3- الطرق المتبعة في الاستخلاص:

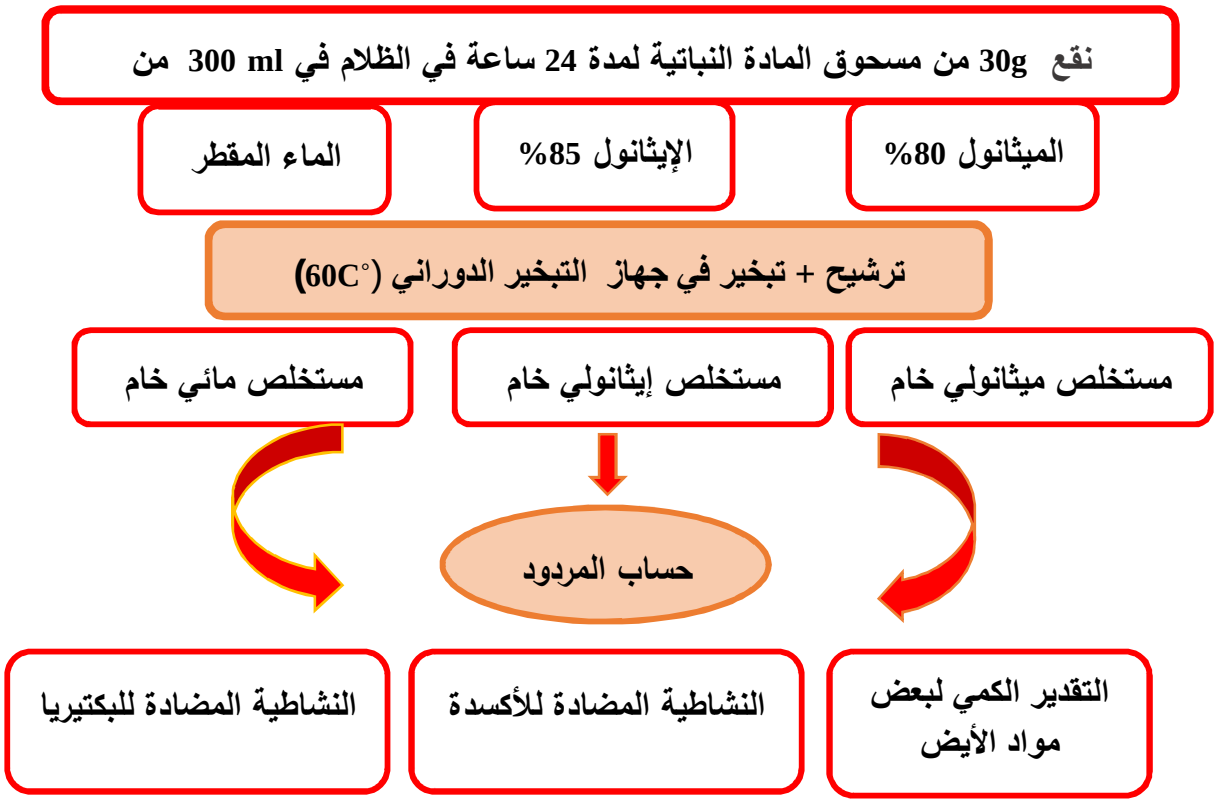
II -3-1- تحضير المستخلصات النباتية:

نزن كمية قدرها 30g من مسحوق نبات *P.chloranthus* ثم ننقعها في حجم قدره 300ml من:

- ✓ الميثانول (80%) في حالة المستخلص الميثانولي (Mahmoudi et *al.*, 2012).
- ✓ الإيثانول (85%) في حالة المستخلص الإيثانولي(Markham, 1982).
- ✓ الماء المقطر في حالة المستخلص المائي(Harborne, 1984).

وذلك لمدة 24 ساعة ونقوم بتغطيته بورق الألمنيوم ، بعدها يتم الترشيح بواسطة ورق ترشيح وبعد الحصول على الرشاحة يتم وضعها في جهاز التبخير الدوراني في 60C° ، لنتحصل على مستخلص خام يحفظ في مكان جاف إلى حين استعماله.

الشكل(02) يوضح المراحل المتبعة في تحضير المستخلصات .



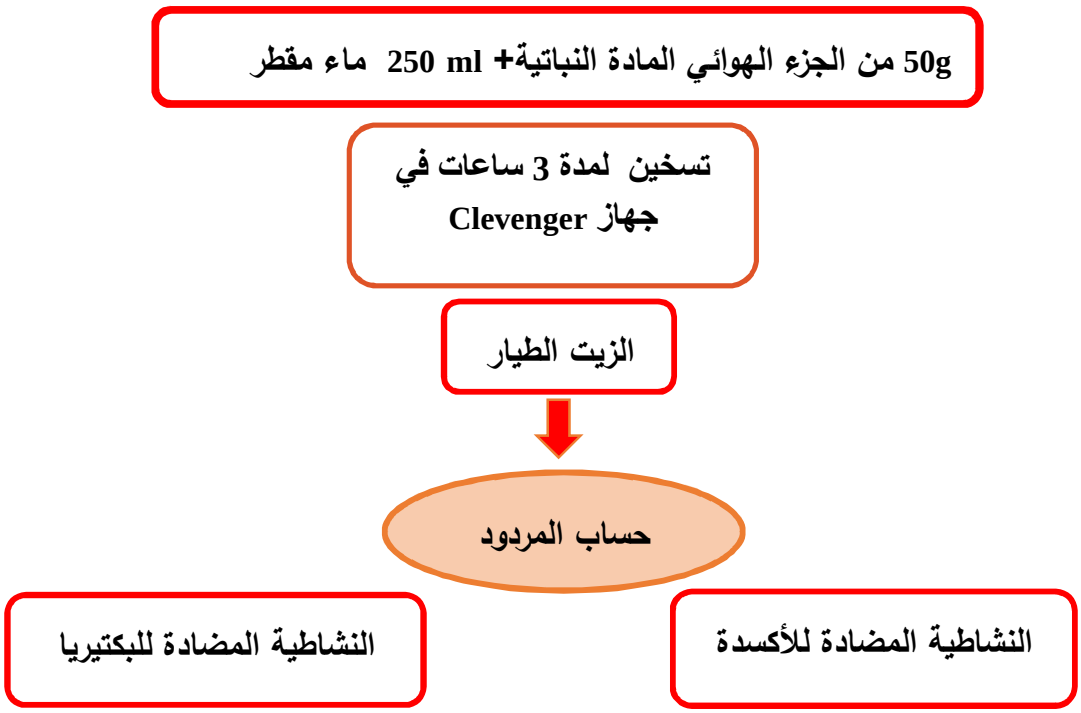
الشكل (02): المراحل المتبعة في تحضير المستخلصات.

II -2-3- استخلاص الزيت الطيار:

تم استخلاص الزيت الطيار لنبات القزاح من المادة الجافة للجزء الهوائي وفق طريقة التقطير المائي باستعمال جهاز Clevenger ، حيث توضع 50g من العينة في الدورق الخاص بالجهاز ويضاف لها 250ml من الماء المقطر (Bruneton, 1999).

يعتمد التقطير المائي على قدرة حمل بخار الماء للزيت الطيار للنبتة ،حيث ينقل معه عبر أنبوبة تمر عبر جهاز تبريد أين يتكثف البخار، تستمر عملية التقطير 03 ساعات بعد الغليان، وبسبب الفرق بين كثافة الماء و الزيت الطيار يبقى هذا الأخير طافيا فوق سطح الماء . يغطى مكان تجمع الزيت بورق الألمنيوم لتفادي تأكسده مع أشعة الشمس ، ويتم الفصل بين الطورين و يحفظ الزيت الطيار في قارورة زجاجية معتمة محكمة الإغلاق وتحفظ في درجة 6 °C -4 لحين استخدامها .

الشكل (03) يوضح المراحل المتبعة في استخلاص الزيت الطيار



الشكل (03): المراحل المتبعة في استخلاص الزيت الطيار

II-3-3- حساب الرطوبة ومردودية المستخلصات النباتية:

II-3-3-1- حساب الرطوبة:

يقدر محتوى الرطوبة في النبات بطريقة التجفيف في حاضنة في درجة 150 °C وتقدر بالعلاقة التالية:

الرطوبة (H) =(وزنα -وزن β)/وزنα *100

حيث:

وزنα: وزن النبات رطب (قبل التجفيف)

وزنβ: وزن النبات جاف(بعد التجفيف) (Simpson, 1999 ; Twidwell et *al*., 2002).

II-3-3-2- حساب مردودية المستخلصات:

وهي عبارة عن النسبية بين الكتلة المستخلصة على كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة في الإستخلاص (كتلة المادة الإبتدائية جافة)، وتقدر بالعلاقة التالية (Guettaf et *al*., 2016):

المردودية (R)=(وزن المستخلص /وزن المادة النباتية الابتدائية)*100

II-4- الطرق المتبعة في التقدير الكمي لبعض مواد الأيض الثانوي:

II-4-1- التقدير الكمي لعديدات الفينول:

تم تقدير محتوى الفينولات الكلي بالاعتماد على كاشف (Folin-Ciocalteu) وهو كاشف يتكون من حمض الفوسفوتنغستنيك ($H_3PW_{12}O_{40}$) و حمض فوسفوموليبيديك ($H_3PMO_{12}O_4$) والذي يرجع

بواسطة المركبات الفينولية (تم اختيار حمض الغاليك كفينول مرجعي) إلى أكسيد التنغستين (W_8O_{23}) و الموليبدن (MO_8O_3) ذات اللون الأزرق .

باتباع الخطوات التالية :

- مزج 0.2ml من المستخلصات المذابة في الميثانول(تركيز 1 mg/ml) مع 1ml من محلول Folin-Ciocalteu المخفف 10 مرات مع الرج جيدا.

- حضن الأنابيب في درجة حرارة المخبر لمدة خمس دقائق.

- نضيف لها 0.8ml كربونات الصوديومNa_2Co_3 بتركيز (7.5 %).

- نترك الأنابيب في درجة حرارة المخبر لمدة 30 دقيقة .

- نقوم بقراءة شدة الامتصاصية الضوئية عند طول الموجة 765nm بواسطة جهاز المطيافية .

- يتم التعبير عن الناتج بالملغ مكافئ من حمض الغاليك لكل غرام من المادة الجافة

(mg AG Equivalent/g Matière Sèche) عن طريق رسم منحنى العيارية لتراكيز حمض الغاليك المذاب في الميثانول(الشكل06) و المعامل نفس معاملة المستخلص(Singleton et Rossi, 1965).

II-4-2- التقدير الكمي للفلافونويدات:

تعتبر الفلافونيدات من أكبر المجاميع المنتمية لعديدات الفينول، ويمكن تقديرها كميا عن طريق التفاعل مع$AlCl_3$ وتكوين معقد ذو لون أصفر مع الفلافونويدات (Zhishen *et al.*, 1999) .

تم اتباع الخطوات التالية:

- مزج 1ml من المستخلصات المذابة في الميثانول(تركيز 1 mg/ml) مع 1ml من محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ ذو التركيز 2% للعينة .

- رج الأنابيب جيدا و تحضن في درجة حرارة المخبر في الظلام لمدة ساعة واحدة.

- نقوم بقراءة شدة الامتصاصية الضوئية عند طول الموجة 420nm بواسطة جهاز المطيافية.

-يتم التعبير عن الناتج بالملغ مكافئ من حمض الكرستين لكل غرام من المادة الجافة (mg Q Equivalent/g Matière Sèche) عن طريق رسم منحنى العيارية لتراكيز حمض الكرستين المذاب في الميثانول (الشكل 08) و المعامل نفس معاملة المستخلص(Ordonez *et al.*, 2006).

II-4-3-التقدير الكمي للتانينات:

تم التقدير الكمي للتانينات باستخدام الفانلين وذلك باتباع الخطوات التالية :

- نأخذ 500 µl من المستخلص ونضيف له 3 ml من محلول (فانلين/ميثانول 4%) و 1.5 ml من حمض كلور الماء HCl.

- تخلط الأنابيب جيدا ثم تترك لمدة 15 دقيقة.

- نقوم بقراءة شدة الامتصاصية الضوئية عند طول الموجة 500 nm بواسطة جهاز المطيافية.

- يتم التعبير عن الناتج بالملغ مكافئ من الكاتشين لكل غرام من المادة الجافة (mg CA Equivalent/g Matière Sèche) عن طريق رسم منحنى العيارية لتراكيز الكاتشين المذاب في الميثانول (الشكل10) و المعامل نفس معاملة المستخلص(Sun *et al.*, 1998).

II-5- الطرق المتبعة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

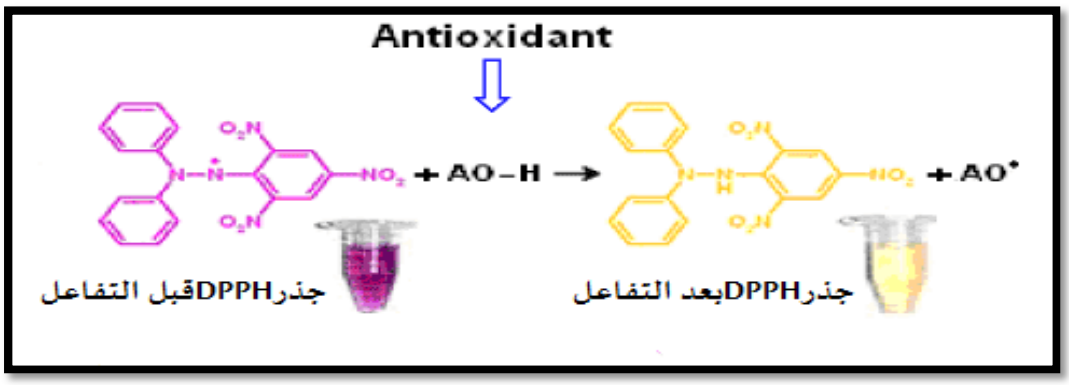
يتم قياس قدرة المستخلص النباتي أو مركب ما على إزاحة الجذور الحرة من خلال التقليل من عملية الأكسدة، و تقدر الفعالية المضادة للأكسدة بعدة طرق أهمها: اختبار تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

تم تحديد الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات الأربعة لنبات *P.chloranthus*: المستخلص الميثانولي الخام، المستخلص الإيثانولي الخام، المستخلص المائي الخام و الزيت الطيار.

II-5-1- المبدأ:

تعتمد طريقة اختبار تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ على قدرة المستخلصات النباتية (مضادات الأكسدة) على منح ذرة هيدروجين من مجاميع الهيدروكسيل الفينولية و تعديل الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ ، ويظهر ذلك من خلال زوال اللون البنفسجي لجذر $DPPH^{\bullet}$ و تحوله إلى DPPH-H ذو اللون الأصفر نتيجة ارجاعه إلى مركب مستقر (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyne) (بوعبدالله،2011).

و لتتبع هذا التفاعل لونيا يستعمل جهاز المطيافية اللونية Spectrophotométre عند طول موجة 517nm.



الوثيقة (16): تفاعل الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ مع مضاد الأكسدة(Yacooba *et al.*, 2018)

II-5-2- طريقة العمل:

تحضير محلول DPPH˙ ذو التركيز 0.1 Mmol وذلك بإذابة 4 mg من DPPH˙ في 100ml من الميثانول.

تحضير المحلول الأصلي بأخذ 8 mg من كل مستخلص وإذابتها في 2 ml من الميثانول فأصبح تركيز المحلول الأصلي 4mg/ml ، و إنطلاقا من هذا التركيز قمنا بتحضير بقية التخافيف.

نأخذ 200 µl من كل تركيز من المستخلصات المذابة في الميثانول و نضيف له 800 µl من محلول DPPH˙ (3 تكرارات)، نجانس المحلول وتحضن الأنابيب في الظلام لمدة 30 دقيقة ثم تقاس امتصاصية المحاليل المحضرة عند طول موجة 517nm بجهاز المضيافية الضوئيةSpectrophotometer.

ومن أجل المقارنة الإيجابية لنسبة تثبيط الجذر الحرDPPH˙ نستعمل حمض الأسكوربيك Acide Ascorbique (الشكل12)(Dziri *et al.*, 2012) .

II-5-3- حساب نسبة التثبيط I% للجذر الحرDPPH˙ :

يتم حساب نسبة تثبيط الجذر الحرDPPH˙ لمختلف التراكيز للمستخلصات النباتية و لحمض الاسكوربيك وفق المعادلة التالية:

$$I\% = (A_0 - A_i) / A_0 * 100$$

حيث أن :

A_0 : الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلصات

A_i : الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في وجود المستخلصات أو حمض الأسكوربيك.

II-5-4- تحديد مقدار IC_{50} المثبطة لجذر $DPPH^{\bullet}$:

يعرف هذا المقدار على أنه تركيز المستخلص اللازم لتثبيط أو كبح 50% من $DPPH^{\bullet}$ و الذي يحسب من خلال المعادلة الخطية لمنحنيات تغير نسبة التثبيط I% بدلالة تركيز المستخلصات (Scherer et Godoy, 2009).

II-6- الطرق المتبعة في دراسة النشاطية المضادة للبكتيريا:

II-6-1- السلالات البكتيرية المستعملة:

لتقدير الفعالية ضد البكتيرية للمستخلصات اعتمدنا طريقة الانتشار بالأقراص وذلك بتشبيع الأقراص من كل مستخلص على نمو 4 سلالات بكتيرية مرجعية و الموضحة في الجدول(15)

جدول(15):أنواع السلالات البكتيرية المختبرة

البكتيريا المدروسة	المرجع	طبيعة الجدار الخلوي
Escherichia coli	ATCC 25922	سالبة الغرام
Pseudomonas aeruginosa	ATCC27853	
Staphylococcus aureus	ATCC25923	موجبة الغرام
Bacillus cereus	ATCC11778	

II-6-2- المضادات الحيوية المستعملة:

من أجل دراسة نشاطية المستخلصات لنبات *P.chloranthus* على الأنواع البكتيرية المذكورة سابقا تم استعمال مضادات حيوية بهدف المقارنة مع الأثر التثبيطي للمستخلصات المدروسة وهي موضحة في الجدول (16).

الجدول(16): أنواع المضادات الحيوية المستعملة

المضاد الحيوي	الاسم	التركيز (µg)
GEN	Gentamycine	50

II-3-6- طريقة العمل:

❖ **تنمية مزارع بكتيرية حديثة**

قمنا بتنشيط سلالات البكتيريا المختبرة وذلك بأخذ مسحة من العزلات البكتيرية باستعمال Anse de platine وتنميتها في وسط زراعي مغذي gélose nutritive وحضنها في الحاضنة Etuve تحت درجة حرارة °C 37 لمدة 24 ساعة(حوة، 2013).

❖ **تحضير المستخلصات:**

بغية الكشف عن مدى فعالية المستخلصات المدروسة اتجاه السلالات البكتيرية الممرضة و المقارنة بينها، قمنا بإذابة 150mg من المستخلصات النباتية الأربعة في µl 500 من DMSO للحصول على تركيز 300mg/ml و من ثم تحضير تخافيف بإضافة DMSO إن أبدى المحلول الأصلي فعالية ضد البكتيريا.

❖ **تحضير أوساط الزرع:**

سكب وسط الزرع Muller-Hinton (MH) المذاب والمعقم في Autoclave في درجة حرارة °120C في علب بتري بسمك 1mm و تترك لتتجمد على سطح طاولة المخبر المعقمة (حوة، 2013).

❖ **تحضير الأقراص:**

تحضر الأقراص انطلاقا من ورق واتمان(Papier Wattman N03) بحيث تكون متجانسة ذات قطر6mm، تعقم في جهاز Autoclave في درجة حرارة °C 120 لمدة 25 دقيقة (بوخبتي، 2010).

❖ **تحضير المعلق البكتيري:**

حضر المعلق البكتيري انطلاقا من مزارع بكتيرية حديثة، حيث نأخذ في كل مرة مستعمرة أو إثنان من كل نوع بكتيري ووضعها في أنابيب اختبار حيث يحوي كل أنبوب 5ml من الماء الفيزيولوجي ونقوم بالرج جيدا حتى تصبح المعلقات متجانسة و متعكرة (العابد، 2009).

❖ **زراعة البكتيريا**

قمنا بغمس الماسحة القطنية المعقمة في المعلق البكتيري ثم مسح بها سطح وسط الزرع على شكل خطوط متوازية ومتقاربة مع تكرار العملية ثلاث مرات و ذلك بتدوير الطبق 60˚ في كل مرة (بوخبتي، 2010).

❖ **تطبيق الأقراص:**

وضعنا أقراص المضادات الحيوية و الأقراص الورقية المشبعة بالمستخلصات (كل قرص يحتوي 10µl من المستخلص) و أقراص بها المذيب DMSO فقط (المقارنة السلبية) داخل الأطباق المحضرة سابقا.

بعد ذلك تركت الأطباق مدة 30 دقيقة قرب الموقد الحراري و وضعت في الحاضنةEtuve بوضع مقلوب في درجة حرارة°37C لمدة 24 ساعة. و بعد انتهاء مدة الحضن تم قياس قطر منطقة التثبيط بواسطة مسطرة مدرجة (العابد، 2009).

III- الدراسة الإحصائية:

كل القيم المتحصل عليها عبر عنها بالمتوسط الحسابي(**M**) ± الانحراف المعياري (**SD**)

حللت النتائج عن طريق اختبار **one-way Anova** لـ **Tukey**.

الفصل الثاني

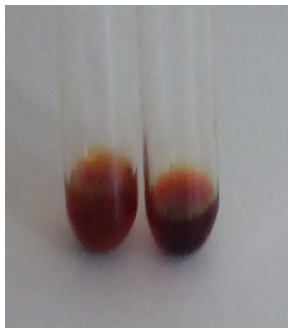
النتائج و المناقشة

I-النتائج والمناقشة:

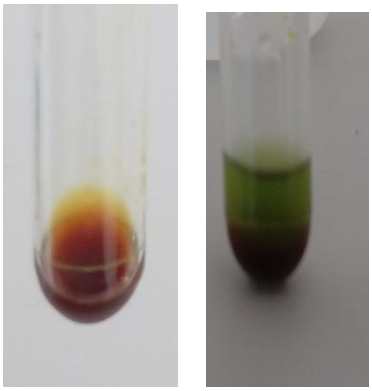
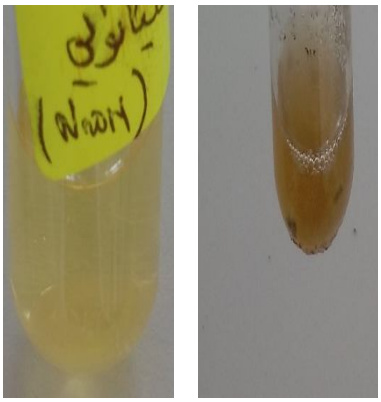
I-1- الكشف الكيميائي عن مواد الأيض الثانوي في نبات *P. chloranthus* :

كشف الفحص الكيميائي لمختلف المركبات الفعالة الموجودة في نبات القزاح *P. chloranthus* وذلك من خلال اختبارات تفاعلات نوعية إما بتشكل راسب أو تغير لوني بواسطة كواشف خاصة على النتائج الموضحة في الجداول (17،18،19،20).

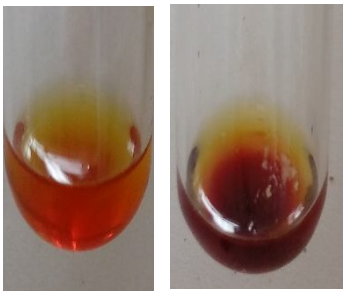
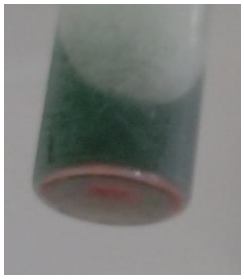
الجدول(17): نتائج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلص المائي لنبتة القزاح

القلويدات	**التانينات**	**الفلافونويدات**
		
ظهور راسب برتقالي/ راسب بني	ظهور لون بني مخضر	ظهور لون وردي/ لون أصفر
الستيرولات والتربينات الثلاثية	**الجليكوسيدات**	**الصابونيات**
ظهور حلقة حمراء بنفسجية	عدم ظهور راسب أحمر آجوري	غياب ظهور الرغوة

الجدول(18): نتائج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلص الميثانولي لنبتة القزاح

القلويدات	التانينات	الفلافونويدات
		
ظهور راسب برتقالي / راسب بني	ظهور لون بني مخضر	ظهور لون وردي / لون أصفر
الستيرولات والتربينات الثلاثية	**الجليكوسيدات**	**الصابونيات**
ظهور حلقة بنفسجية	ظهور راسب أحمر آجوري	ظهور رغوة

الجدول(19): نتائج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلص اللإيثانولي لنبتة القزاح

القلويدات	التانينات	الفلافونويدات
		
ظهور راسب برتقالي / راسب بني	ظهور لون بني مخضر	ظهور لون وردي / لون أصفر
الستيرولات والتربينات الثلاثية	**الجليكوسيدات**	**الصابونيات**
		
ظهور حلقة بنفسجية	ظهور راسب أحمر آجوري	عدم ظهور الرغوة

الجدول(20):نواتج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلص المائي ،الميثانولي و الإيثانولي

مواد الأيض الثانوي		E.H2O	E.MéOH	E.EtOH
القلويدات	دراجندروف	+	+	+
	وانر	+	+	+
التانينات		+	++	++
الفلافونويدات		+	++	++
الستيرولات والتربينات الثلاثية		++	++	++
الجليكوسيدات		-	+	+
الصابونيات		-	+	-

ملاحظة:

(+): وجود المادة الفعالة

(++) : وجود المادة الفعالة بكمية معتبرة

(-): غياب المادة الفعالة

يوضح الجدول(20) أن المستخلص الميثانولي يحتوي على جميع المواد الفعالة في حين لاحظنا غياب الصابونيات و الجليكوسيدات في المستخلصين الإيثانولي و المائي أحدهما أو كلاهما.

بينت نتائج الكشف الكيميائي الأولي لنبات القزاح *P. chloranthus* أنه غني بالتانينات ،الفلافونويدات، الستيرولات و التربينات الثلاثية وهذا ماتؤكده دراسات Seladji (2013) و Mellouk (2013).

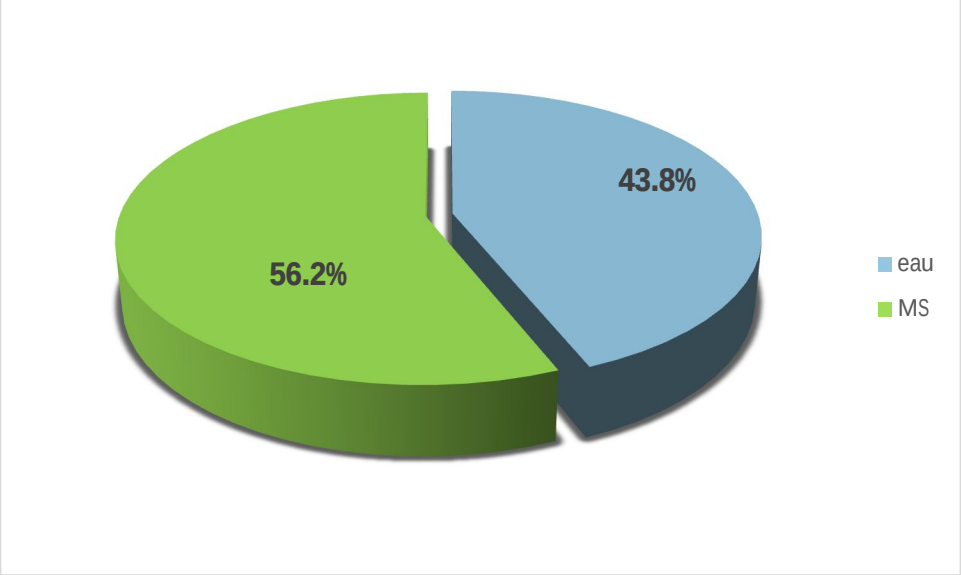
بينما لاحظنا وجود القلويدات و المركبات المرجعة بنسب ضئيلة رغم غيابها في العديد من الدراسات (Seladji, 2013 ; Mellouk, 2013) كما لاحظنا غياب الصابونيات في المستخلص المائي رغم اثبات وجودها من طرف Seladji(2013).

أكد كل من Vasconcelos *et al*(1999) و مخدمي(2014) أن اختلاف البيئة التي يتواجد فيها النبات(نوعية التربة ومناخ المنطقة)، وقت جني العينة من حيث التوقيت السنوي و عمر النبتة وكذا طرق تجفيفها و استخلاصها كلها عوامل مهمة تؤثر على غنى وتنوع التركيب الكيميائي للنبات.

I-2- حساب الرطوبة و مردودية المستخلصات النباتية:

I-2-1- نسبة الرطوبة:

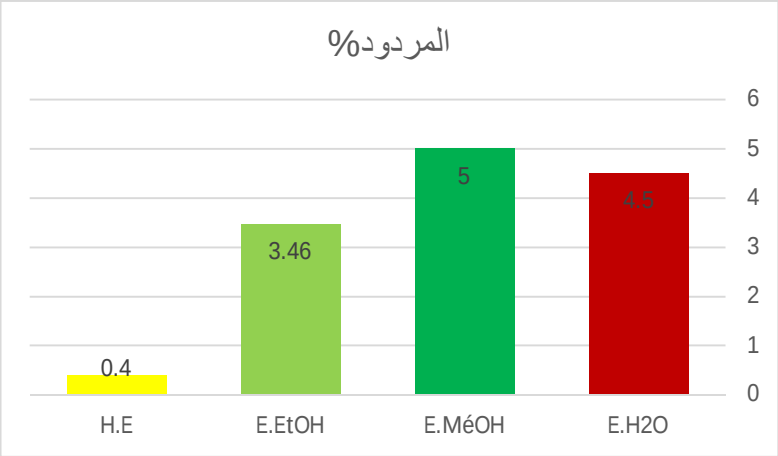
التجارب المنجزة على *Pituranthos chloranthus* تظهر احتوائه على نسبة رطوبة قدرت بـ 43.8% (الشكل 04) في حين قدرتها مخدمي(2014) بـ 34.7% ، و نفسر اختلاف المحتوى المائي للنبات باختلاف البيئة الموجود فيها، حيث ذكر (Migahid *et al.*, 1972) أنه حتى في نفس النوع النباتي فإن ميكانيكية التأقلم تتغير بتغير الظروف البيئية التي يعيش فيها وذلك بتغير الجهد المائي، دورة حياة النبات (حولي أو معمر) و أيضا بامتداد جذورها ومثال ذلك نباتات جنس القزاح *Pituranthos* التي يمكن أن يصل طول جذورها إلى 5 أمتار (Walter, 1963) ، ومن الظواهر الشائعة أيضا التي يقوم بها هذا النوع من النباتات صغر أوراقه و سقوطها في فصل الجفاف (Orshan, 1963) .



الشكل(04): محتوى الرطوبة لنبات *Pituranthos chloranthus*

I-2-2- حساب مردودية المستخلصات:

بعد حساب مردودية المستخلصات دونت النتائج في الشكل (05) و الجدول(21)



الشكل(05) مردودية مستخلصات نبات القزاح *P. chloranthus*

الجدول(21) يوضح خصائص المردود لكل مستخلص

الجدول(21): خصائص المستخلصات النباتية و نسب مردودها مقارنة بوزنها الجاف.

المستخلص	شكل المستخلص	لون المستخلص	المردود
المائي $E.H_2O$	مسحوق	بني	**% 4.5**
الميثانولي E.MéOH	عجينة	أخضر	**% 5**
الإيثانولي E.EtOH	عجينة	أخضر	**% 3.46**
الزيت الطيار H.E	سائل	أصفر	**% 0.4**

من خلال الشكل (05) و الجدول (21) نلاحظ أن أكبر مردودية كانت للمستخلص الميثانولي بقيمة 5 % يليها على التوالي مردودية المستخلص المائي و الإيثانولي بقيم 4.5 % و 3.46 % .

تعتبر هذه النتائج مقاربة لنتائج Bouaziz *et al* (2009) بقيم 3 % للمستخلص الميثانولي(ساخن)

و 5 % للمستخلص المائي(بارد) ، إلا أنها أقل من نتائج Mellouk (2013) حيث كانت أعلى مردودية للمستخلص المائي 10.07% ثم المستخلص الميثانولي 8.45% .

نستنتج من هذا أن للمذيب أهمية في عملية الاستخلاص إذ يعود الاختلاف في نسبة المردود إلى نوع المذيب المستخدم ، طريقة الاستخلاص وظروفها وكذا درجة قطبية المركبات (Lee *et al.*, 2003; جيدل،2015).

أما فيما يخص الزيت الطيار الذي تم استخلاصه بطريقة التقطير المائي فيتميز برائحة قوية، لون أصفر، بمردود 0.4%.

هذه النتائج تتوافق مع أعمال (Neffati *et al.*, 2009) بقيمة 0.42% وفي دراسة أخرى لمخدمي (2014) و دحية (2009) لنفس النبات كان المردود المحصل عليه بالترتيب 1.5% و 1.1%.

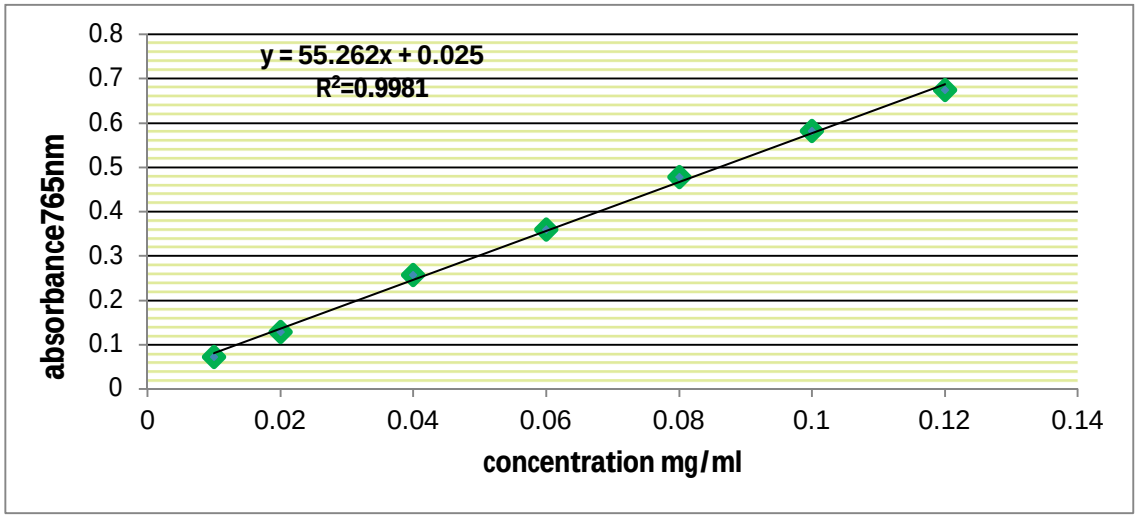
هناك الكثير من العوامل التي تؤثر على الكمية التي ينتجها النبات من الزيوت الأساسية مثل:

- ✓ العوامل الجغرافية التي تؤثر بشكل كبير على الغطاء النباتي كالمناخ(التساقط، الحرارة،الرياح، الرطوبة ..)، التربة والتوازن بين هذه العوامل يلعب دورا في نمو النبات وتوزيعه (Beniston, 1984).
- ✓ مردود الزيت يختلف باختلاف النوع، حتى في نفس النوع يختلف اختلافا كبيرا وهذا يتوقف على الموقع الجغرافي ، العضو النباتي المستخدم، وقت جني النبات،عمر النبات و طور النمو (هيكل و عمر، Akrout et *al.*, 2010; 1993)
- ✓ كذلك كفاءة طرق الاستخلاص و طرق تجفيف النبات (درجة حرارة التجفيف، الوقت والمكان المخصصين)(Sabouni, 2015).

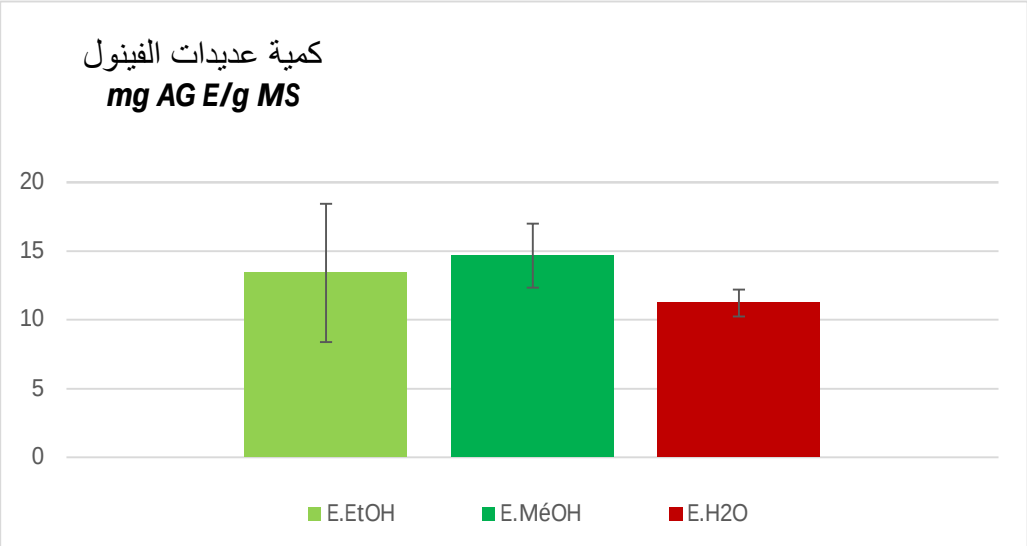
I-3- تقدير المركبات الفينولية والفلافونويدية و التانينات في مستخلصات نبات القزاح*P. chloranthus* :

I-3-1- التقدير الكمي لعديدات الفينول:

قدرت كمية عديدات الفينول باتباع طريقة Singleton et Rossi (1965) باستعمال كاشف Folin-Ciocalteu حيث يعبر عن المحتوى الكمي لعديدات الفينول للمستخلصات الخام إنطلاقا من المعادلة الخطية للمنحنى القياسي لحمض الغاليك Acide gallique (الشكل06) المذاب في الميثانول بالملغ مكافئ من حمض الغاليك/غ من المادة النباتية الجافة



الشكل (06): المنحنى القياسي لحمض الغاليك Acide gallique



الشكل(07): كمية عديدات الفينول للمستخلصات النباتية المختلفة لنبات القزاح *P. chloranthus* بالملغ مكافئ لحمض الغاليك /غ من المادة الجافة.

الجدول(22): كمية عديدات الفينول في مستخلصات نبات القزاح *P. chloranthus*

المستخلص	E.H2O	E.MéOH	E.EtOH
التقدير الكمي	11.22±0.98[a]	14.66±2.33[a]	13.43±5.02[a]
تحليل التباين	P≤0.469		

يوضح الشكل (07) و الجدول(22) كمية عديدات الفينول للمستخلصات النباتية المختلفة لنبات القزاح *P. chloranthus* بالملغ مكافئ لحمض الغاليك /غ من المادة الجافة (mg AG E/g Matiére séche)

حيث لا توجد فروق معنوية بين كمية عديدات الفينول عند المستخلصات الثلاثة (المستخلص الميثانولي الخام ،المستخلص المائي و المستخلص الإيثانولي) وسجلت أعلى كمية لعديدات الفينول في المستخلص الميثانولي بمقدار 14.66±2.33 mg AG E/g MS تليها عند المستخلص الإيثانولي بمقدار 13.43±5.02 mg AG E/g MS أما أقل مقدار فكان عند المستخلص المائي بقيمة 11.22±0.98 mg AG E/g MS .

أظهرت النتائج احتواء نبات القزاح على المركبات الفينولية وهذا ماتوصل إليه Seladji (2013) ، بحيث قدر كمية الفينولات في المستخلص الميثانولي بـ 15.90±2.38mg E AG/g MS ، أما المستخلص المائي 4.089±0.38mg E AG/g MS وهي أقل مما تحصلنا عليه بل كانت نتائجنا مقاربة لنتائج الكسر المائي(fraction aqueuse) 12.58±0.06mg E AG/g MS.

أما في دراسة أخرى فقد قدرت كمية الفينولات بالملغ مكافئ لبيروغالول Pyrogallol فكانت كميتها في المستخلص الميثانولي3.14±38mg E PY/g MS وفي المستخلص المائي 3.72±48mg E PY/g MS (Bouaziz *et al.*, 2009).

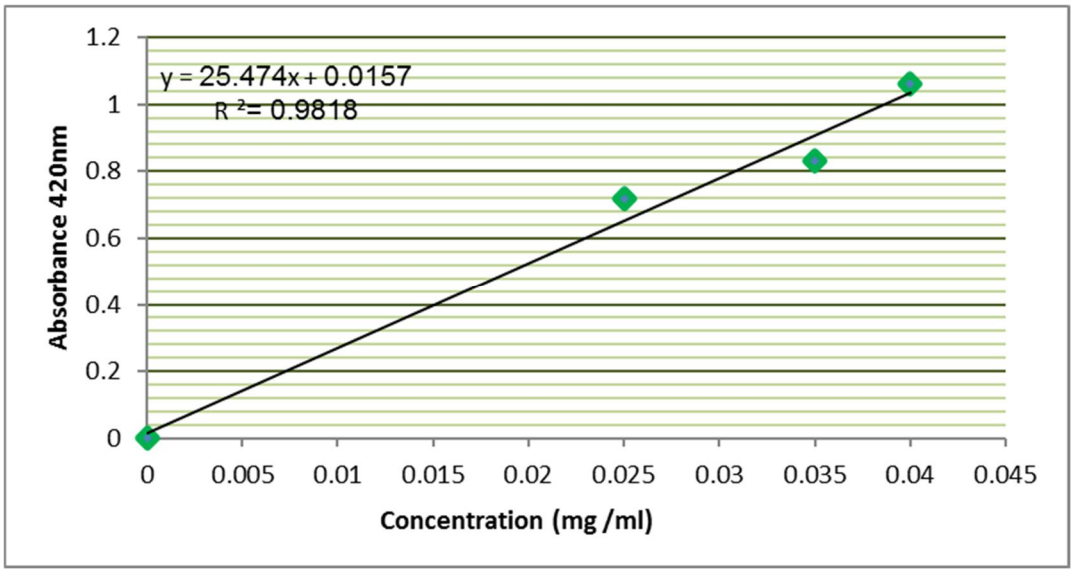
يعود هذا الاختلاف في النتائج إلى عدة عوامل داخلية و خارجية :

- ✓ كاشف Folin-Ciocalteu هو كاشف يتميز بحساسيته للمجموعات الهيدروكسيلية ليس فقط في المركبات الفينولية بل في كل المركبات السكرية والبروتينة لذلك يمكن أن يعزى الاختلاف في قيم عديدات الفينول لاختلاف نسب هذه المركبات في كل مستخلص (Vuorela, 2005 ; Grossi *et al.*, 2015)
- ✓ لطرق الاستخلاص و المذيبات المستعملة دور مهم في تغير كمية الفينولات حيث يحقق الميثانول أعلى استخلاص لها من بين المذيبات وهذا ما أكده Bouaziz و آخرون(2009) و توافقت معه نتائج دراستنا و بالتالي فاختلاف قيم الفينولات من مستخلص لآخر يعود إلى إختلاف المركبات الفينولية ونسبها فسلوكها يختلف مع اختلاف بنيتها الكيميائية و الوسط الموجودة فيه (حمضي-قاعدي) (Mellouk, 2013 ; Hayouni *et al.*, 2007)

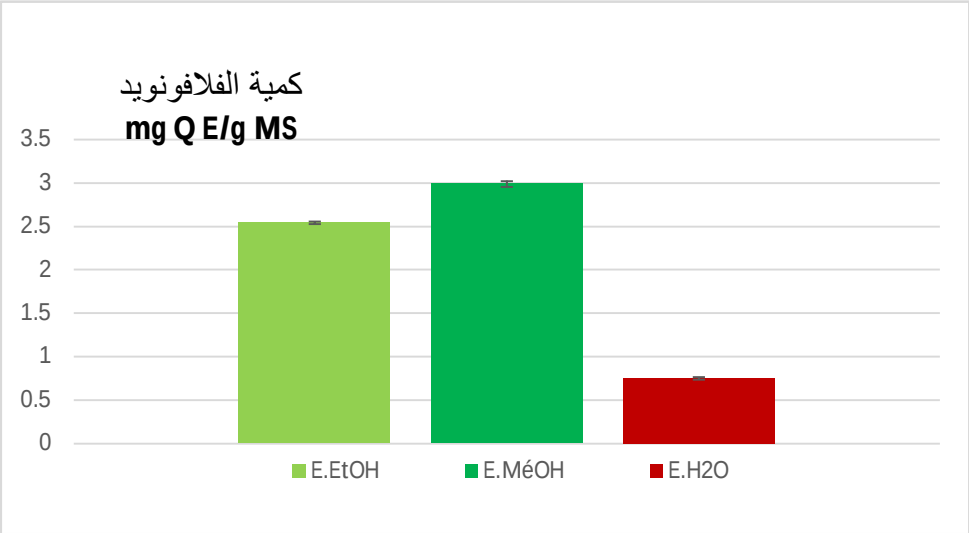
✓ تتأثر كمية الفينولات المستخلصة من النبات بتغير مكان و مناخ و بيئة النبات (Atmani *et al.*, 2009 ; Mellouk, 2013) كما يلعب وقت القطف و طريقة التخزين دورا في كمية المواد الفعالة في النبات (Rebiai *et al.*, 2013 ; Kähkönen *et al.*, 1999).

I-3-2- التقدير الكمي للفلافونويدات:

قدرت كمية الفلافونويدات باستخدام طريقة Zhishen *et al* (1999) هذا باستخدام كاشف $AlCl_3$ حيث يتم التعبير عن النتائج بالملغ مكافئ للكرستين Quercitine / غ من المادة النباتية الجافة، باستعمال المعادلة الخطية للمنحنى القياسي للكرستين المحضر في الميثانول (الشكل08).



الشكل(08): المنحنى القياسي للكرستين Quercitine



الشكل(09) كمية الفلافونويدات للمستخلصات النباتية المختلفة لنبات القزاح *P. chloranthus* بالملغ مكافئ للكرستين /غ من المادة الجافة.

الجدول(23):كمية الفلافونويدات في مستخلصات نبات القزاح *P. chloranthus*

المستخلص	E.H2O	E.MéOH	E.EtOH
التقدير الكمي	0.7494 ± 0.013^{c}	2.9885 ± 0.035^{a}	2.541 ± 0.014^{b}
تحليل التباين	P≤0.0001		

من خلال الشكل(09) و الجدول (23) يتبين وجود فروق معنوية في كمية الفلافونويدات حيث احتوى المستخلص الميثانولي على أعلى كمية بمقدار 2.9885±0.035 mg Q E/g MS يليه المستخلص الإيثانولي بقيمة 2.541±0.014mg Q E/g MS أما المستخلص المائي فكانت به كمية أقل بحوالي أربعة أضعاف من المستخلصين و قدرت بـ 0.7494±0.013 mg Q E/g MS

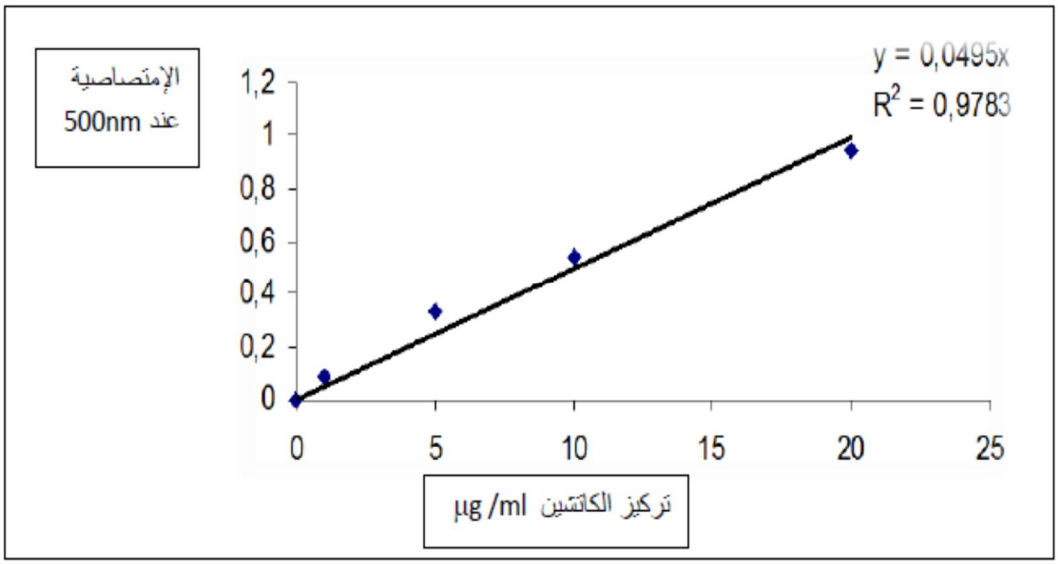
تقاربت النتائج مع ماتوصلت إليه Mellouk (2013) حيث كانت كمية الفلافونويد في المستخلص الميثانولي 2.586 ± 0.098mg EQ/ g MS و 0.633 ±0.038 mg EQ/ g MS في المستخلص المائي.

يعود هذا التباين في النتائج إلى:

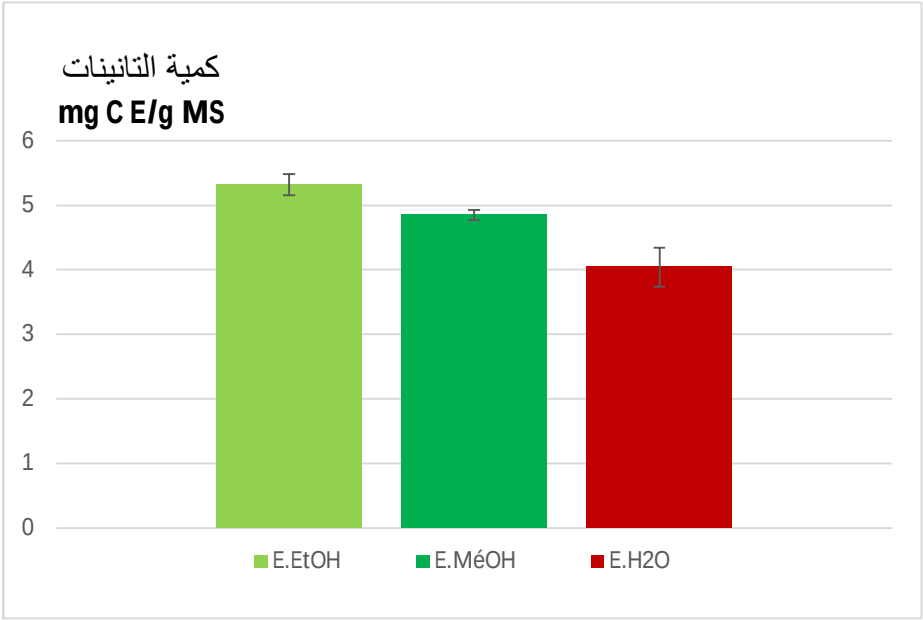
- ✓ نوع المذيب المستعمل في عملية الاستخلاص و نسبة الماء في المذيب ، حيث أشارت الدراسات أن إضافة نسبة من الماء إلى المذيبات الكحولية مثل الميثانول من شأنها زيادة كمية الفلافونويدات في المستخلص وذلك لذوبانية المركبات النباتية فيه(جيدل، 2015).
- ✓ الطبيعة الكيميائية للفلافونويدات تلعب دورا في ذوبانيتها حيث أن لها خاصية زيادة قطبيتها إذا كانت تحتوي على عدد أكبر من مجموعات الهيدروكسيل الحرة أو جزيئة سكر أو أكثر وهذا مايجعلها ذوابة في المذيبات القطبية مثل الميثانول، الايثانول (مخلوفي، 2008).
- ✓ طرق الاستخلاص و المذيبات المستعملة حيث أن لها دور مهم في تغير كمية الفلافونويدات المستخلصة (Bouaziz *et al.*, 2009 ; Mellouk, 2013).
- ✓ كما أن بيئة النبات و نوعه ، وقت الجمع و طريقة التجفيف تؤثر على نسبة المواد الفعالة في النبتة (Rebiai *et al.*, 2013 ; Atmani *et al.*, 2009).

I-3-3- التقدير الكمي للتانينات:

تم تقدير التانينات اعتمادا على طريقة Sun *et al* (1998) الذي يعتمد على الفانلين ككاشف ، حيث يعبر كميا عن المحتوى الكمي للتانينات الكاتيشيكية في المستخلصات الخام إنطلاقا من المعادلة الخطية للمنحنى القياسي للكاتشين بالملغ مكافئ من الكاتشين/غ من المادة النباتية الجافة (الشكل10)



الشكل(10): المنحنى القياسي للكاتشين



الشكل(11) كمية التانينات للمستخلصات النباتية المختلفة لنبات القزاح *P. chloranthus* بالملغ مكافئ للكرستين /غ من المادة الجافة.

الجدول(24): كمية التانينات في مستخلصات نبات القزاح *P. chloranthus*

المستخلص	E.H2O	E.MéOH	E.EtOH
التقدير الكمي	4.04 ± 0.30^{b}	4.84 ± 0.08^{a}	5.31 ± 0.16^{a}
تحليل التباين	P≤0.001		

من خلال الشكل (11) و الجدول(24) المعبرين عن محتوى التانينات بالملغ مكافئ للكاتشين/غرام من المادة النباتية ، نلاحظ وجود فروق معنوية في كمية التانينات و سجلت أعلى قيمة لها في المستخلص الإيثانولي 5.31±0.16mg CA E/g MS يليها عند المستخلص الميثانولي بقيمة 4.84±0.08mg CA E/g MS و أقل قيمة كانت عند المستخلص المائي بمقدار 4.04±0.30mg CA E/g MS .

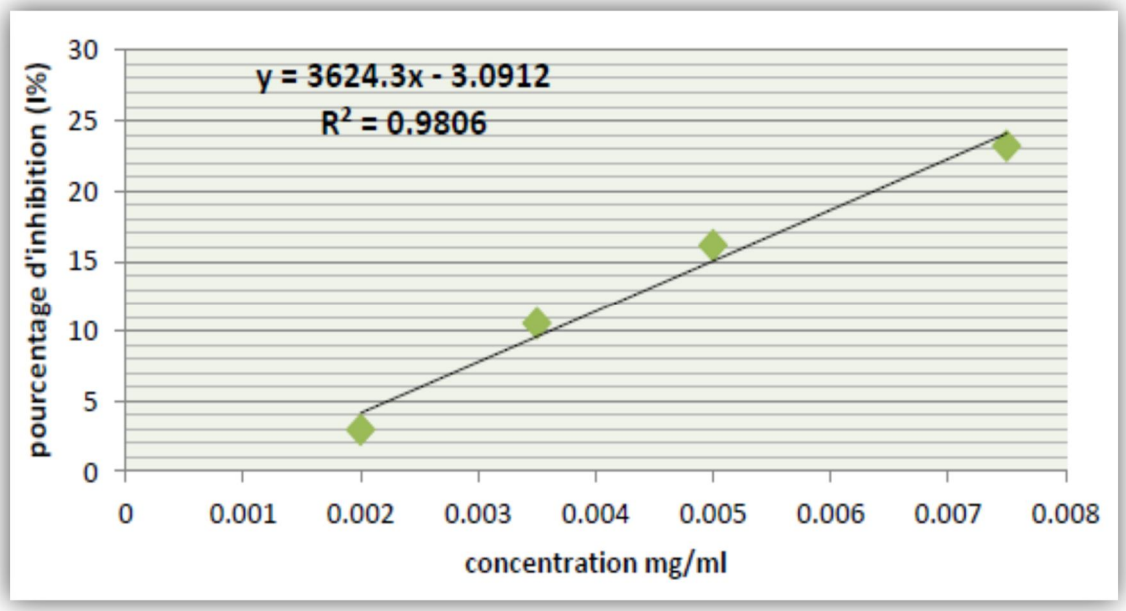
يعود هذا الاختلاف إلى:

- ✓ اختلاف نسبة الماء بالنسبة للميثانول/إيثانول المستعملين في الاستخلاص إذ أن إضافته ترفع من ذوبانية المركبات النباتية خاصة الدباغ المميهة و هذا مايفسر احتواء المستخلص الإيثانولي على التانينات أكثر من الميثانولي .
- ✓ كما يمكن أن يرجع الاختلاف إلى طرق الاستخلاص ، درجة الحرارة ، مدة الاستخلاص و نوع المحلول المستعمل (جيدل، 2015).

I-4- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة باستعمال اختبار الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$:

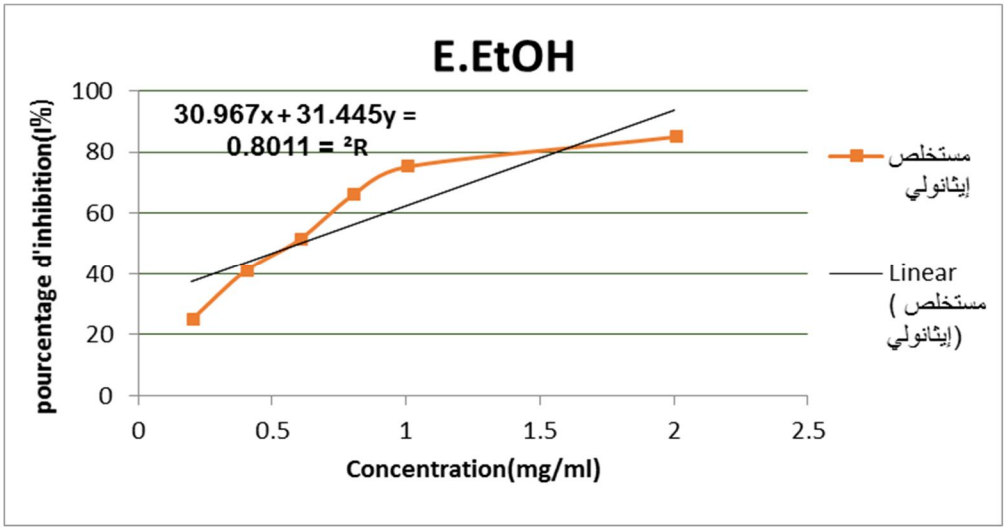
I-4-1- تمثيل النسبة المئوية للتثبيط I%:

بهدف تقدير النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات النباتية باستعمال الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$ ، تم استعمال حمض الأسكوربيك كمركب مرجعي ، وقياس الامتصاصية للمستخلصات النباتية التالية(الميثانولي، الإيثانولي، المائي ، الزيت الطيار) بواسطة جهاز Spectrophotomètre ، ثم نظمت النتائج المتحصل عليها في منحنيات عيارية لتحديد قدرة المستخلصات في تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$

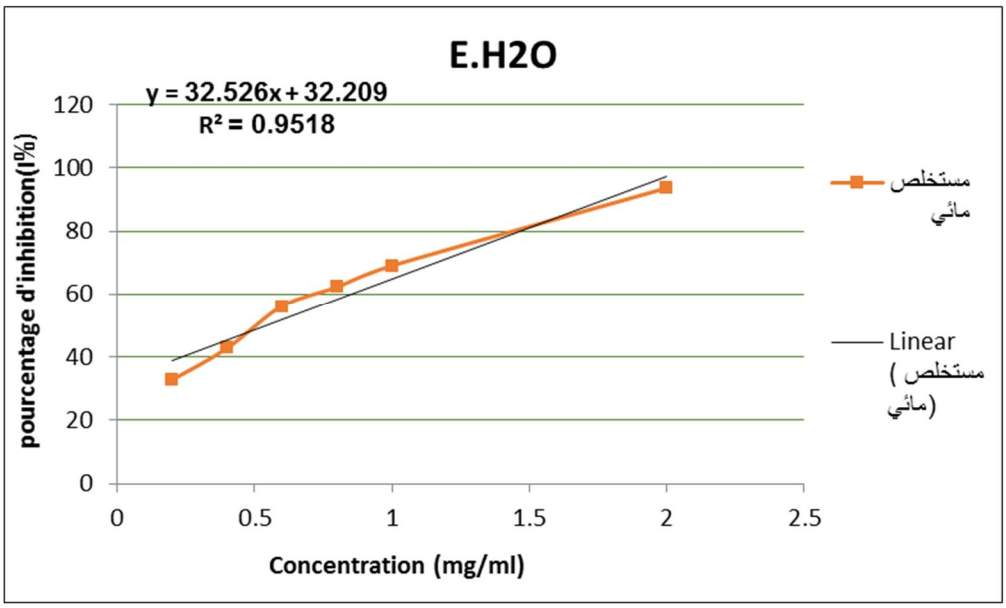


الشكل(12): المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك في اختبار تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$

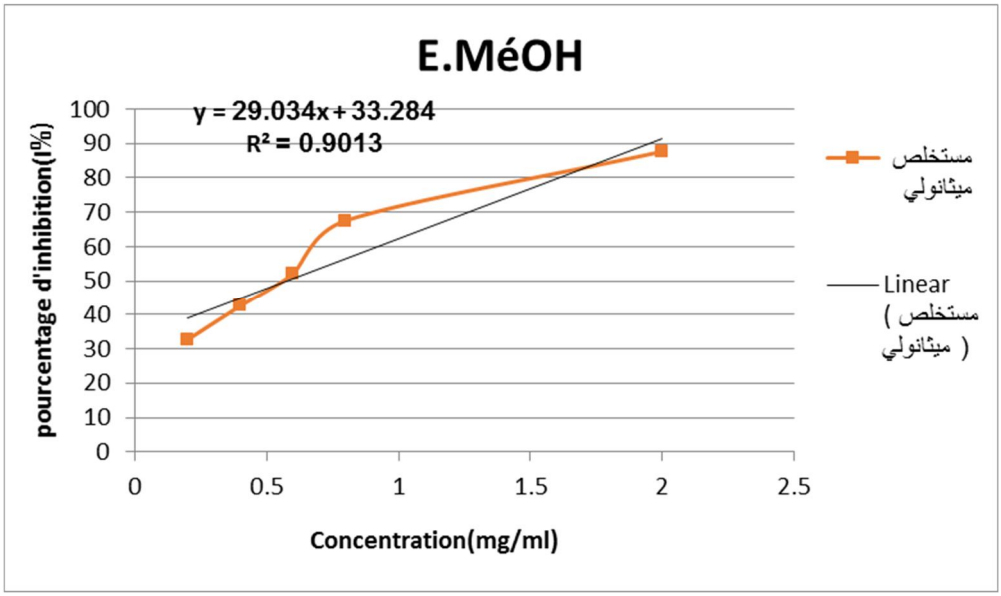
النتائج المتحصل عليها توضحها الأشكال (13،14،15،16)، تظهر أن كل المستخلصات النباتية لها قدرة في اقتناص الجذر الحر DPPH• بشكل يتناسب طرديا مع الزيادة في التركيز.



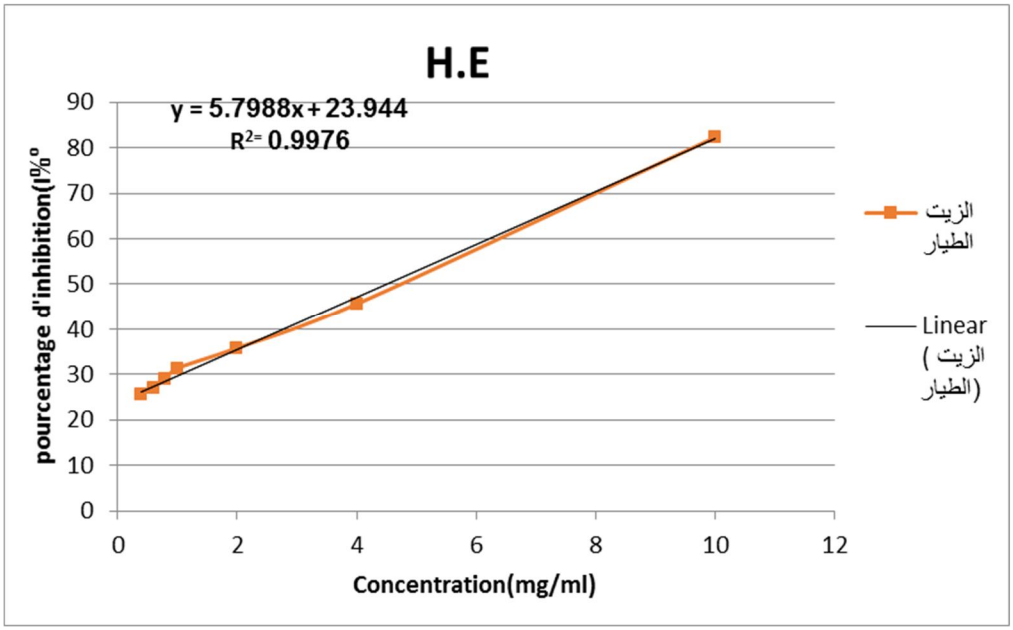
الشكل(13): نسبة التثبيط I% بدلالة التركيز للمستخلص الإيثانولي



الشكل(14): نسبة التثبيط I% بدلالة التركيز للمستخلص المائي



الشكل(15): نسبة التثبيط I% بدلالة التركيز للمستخلص الميثانولي



الشكل(16): نسبة التثبيط I% بدلالة التركيز للزيت الطيار

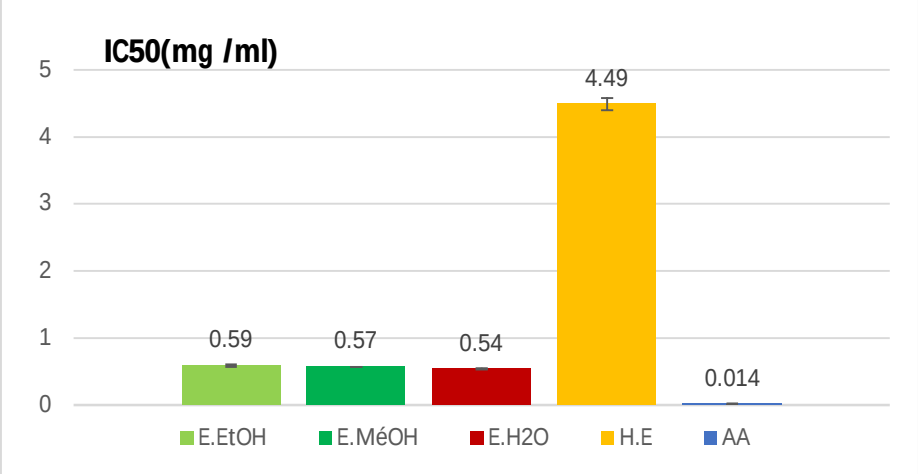
I-4-1- تحديد مقدار IC_{50} المثبطة للجذر الحر $DPPH^{\cdot}$:

تم تحديد قيمة IC_{50} المثبطة للجذر الحر $DPPH^{\cdot}$ من خلال المعادلات الخطية لمنحنيات التثبيط I% للمستخلصات النباتية و حمض الأسكوربيك كما هو موضح في الجدول (25) و الشكل (17)

علما أن الفعالية المضادة للأكسدة تتناسب عكسيا مع قيم IC_{50} ، فكلما كانت قيمة IC_{50} ضعيفة كانت النشاطية المضادة للجذر الحر أفضل.

الجدول(25): قيم IC_{50} لمستخلصات نبات القزاح و حمض الأسكوربيك

المستخلص	E.H2O	E.MéOH	E.EtOH	HE	AA
IC_{50}(mg/ml)	0.54±0.011[b]	0.57±0.002[b]	0.59±0.017[b]	4.49±0.09[a]	0.014±0.0005[c]
تحليل التباين	P≤0.0001				



الشكل (17): قيم IC_{50} لمستخلصات نبات القزاح و حمض الأسكوربيك

أظهرت النتائج المتحصل عليها في الجدول(25) و الشكل(17) وجود فروق معنوية بين قيم IC_{50} حيث امتلك المستخلص المائي قدرة كاسحة للجذر الحر أعلى من باقي المستخلصات بمقدار $IC_{50}=0.54\pm0.11$ mg/ml في حين سجلت قيم قريبة منه للمستخلص الميثانولي بقيمة $IC_{50}=0.57\pm0.002$ mg/ml و المستخلص الإيثانولي بمقدار $IC_{50}=0.59\pm0.017$mg/ml أما الزيت الطيار فسجل أضعف قيمة تثبيطية بمقدار $IC_{50}=4.49\pm0.09$mg/ml .

بالمقارنة مع قيم IC_{50} لحمض الاسكوربيك والتي قدرت بـ(0.014mg/ml) فإن القيم السابقة لتثبيط 50% من الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ تعتبر ضعيفة فيما يخص الزيت الطيار و متوسطة فيما يخص باقي المستخلصات .

يفسر وجود القدرة التثبيطية للمستخلصات كونها تحتوي على مواد فعالة قادرة على إرجاع الجذر أو اقتناصه وتعود هذه الفعالية إلى احتواء نبات القزاح على المواد الفينولية المختلفة (الفلافونويد ، التانينات..) وهذا مالاحظناه سابقا. و تؤكد الدراسات وجود تناسب طردي بين المحتوى الفلافونويدي و القدرة المضادة للأكسدة (Mohammedi, 2011).

لكن ما الذي جعل المستخلص المائي يتفوق رغم احتوائه على كمية الفلافونويد أقل من المستخلصين الميثانولي و الإيثانولي.

هذا التفاوت بين المستخلصات في النشاطية المضادة للأكسدة فسره الباحثون في عدة عوامل:

- ✓ اختلاف سلوك المواد الفينولية المضادة للأكسدة عند تفاعلها مع الجذور الحرة ، منها مايشكل معقدا مع ROS و ينتج مواد مستقرة ، ومنها مايكسر رابطة للمركب الفينولي (Herrera and Barbas, 2001) كما يمكنها أن تكون مستقبلة للجذور الحرة أو مانحات للهيدروجين ((Yordil *et al.*, 2012 ; Cos *et al.*, 1998 ، وهذا يؤكد أن النشاطية المضادة

للأكسدة لها علاقة ببنية و نوعية المركبات التي يحويها المستخلص (Baghiani *et al.*, 2010).

- ✓ إضافة إلى الجانب الكمي لعديدات الفينول و علاقته بكبح الجذور الحرة ، أكد العديد من الباحثين أن القدرة التثبيطية للمركبات الفينولية والفلافونويدية على جذر $DPPH^{\bullet}$ لها علاقة بالبنية الكيميائية، حيث بين Zhang و آخرون (2009) في دراسة التأثير الإزاحي لـ31 فلافونويد على جذر $DPPH^{\bullet}$ أن عدد المجموعات الهيدروكسيلية ، موقعها و الجذور المرتبطة مع هاته المركبات (سكريات) تلعب دورا في زيادة القدرة التثبيطية للجذر الحر.
- ✓ أما بالنسبة للفلافونويدات فإن وجود السكر أو الميثيل و احتوائها على الرابطة المزدوجة بين ذرتي الكربون في الموضع C2-C3 يرفع من التأثير الإزاحي (Cai *et al.*, 2004).

امتلاك الزيت الطيار قدرة تثبيطية يعود إلى وجود بعض المركبات المسؤولة عن النشاطية المضادة للأكسدة مثل : terpinen-4-ol ، myrtenol ، p-menth-2-en-1-ol ، le thymol، carvacrol.

بين كل من Yangui *et al* (2009) و Ricci *et al* (2005) أن أغلب المركبات التي تملك نشاطية مضادة للأكسدة تنتمي إلى التربينات الأحادية monoterpènes، الألدهيدات aldéhydes، سيكلوبنتان cyclopentanes.

أكدت العديد من الدراسات غنى نبات القزاح بالمركبات المضادة للأكسدة ، فقد أشار Bouaziz *et al* (2009) إلى أن المستخلصين الميثانولي و المائي يمتلكان قدرة إزاحية للجذر الحر عالية قدرت بـ

$IC_{50}= 2.01 \pm 0.34$ (µg/ml) للمستخلص الميثانولي و $IC_{50}= 4.59 \pm 0.78$ (µg/ml) للمستخلص المائي ، أما نتائج دراستنا فكانت أفضل مما تحصل عليه Seladji (2013) الذي قدر IC_{50} للمستخلصين الميثانولي و المائي بـ 1.7mg/ml .

أما Sabouni (2015) فقدر IC_{50} للزيت الطيار بـ 0,002 ± 0,024 mg/ml وهي أفضل من النتائج المتحصل عليها بحوالي 180 مرة ، فسر دحية(2009) هذا التباين في النتائج بالاختلاف النوعي و الكمي للمركبات المتواجدة في الزيت المستخلص .

I-5- تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا:

تم تقدير الفعالية ضد بكتيرية باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص في وسط صلب، حيث طبقنا

4 مستخلصات لنبات القزاح *P. chloranthus* (المائي، الميثانولي ، الإيثانولي و الزيت الطيار) على 4 سلالات بكتيرية (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa*ATCC27853, *Bacillus cereus* ATCC11778) ، ويظهر التأثير على شكل هالة حول القرص المشبع بالمستخلص أو قرص المضاد الحيوي.

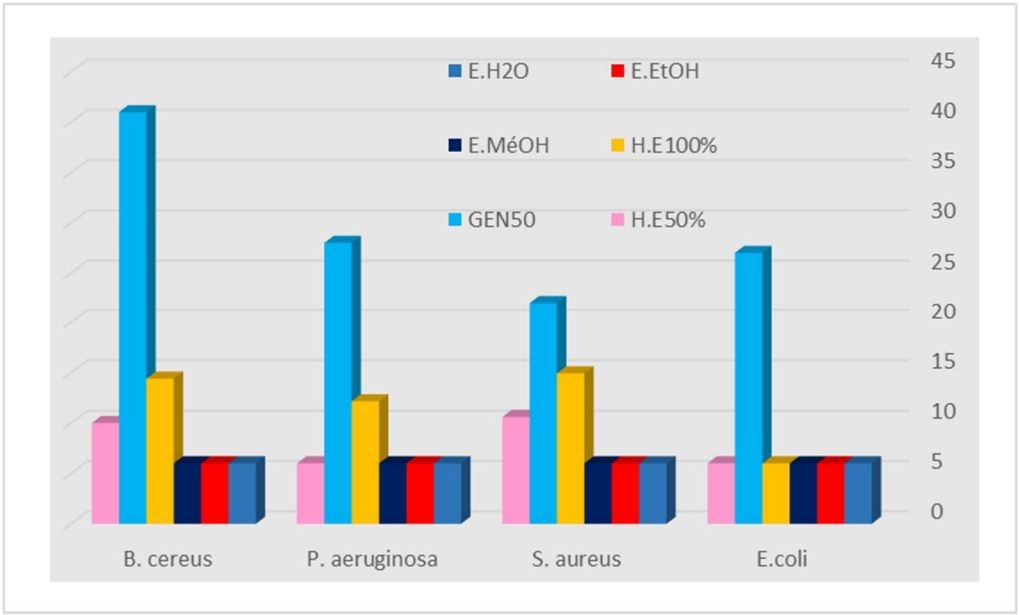
أعتمدنا طريقة Duraffourd *et al* (1990) في تحديد حساسية السلالات البكتيرية إتجاه مستخلصات نبات القزاح ، حيث تكون الحساسية :

- منعدمة إذا كان قطر التثبيط أقل من أو يساوي 8mm
- ضعيفة إذا كان قطر التثبيط يتراوح من 8-14mm
- متوسطة إذا كان قطر التثبيط يتراوح من 14-20mm
- جيدة إذا كان قطر التثبيط أكبر من 20mm.

النتائج المتحصل عليها ملخصة في الجدول (26) وفي الشكل(18)

الجدول(26): النشاطية المضادة للبكتيريا لمستخلصات نبات القزاح *P. chloranthus* معبر عنها بالمليمتر

البكتيريا	GEN50	E.H2O	E.MéOH	E.EtOH	H.E	
					100%	50%
Escherichia coli	27 ± 0.1^{a}	6^{b}	6^{b}	6^{b}	6^{b}	6^{b}
Staphylococcus aureus	22.06 ± 0.05^{a}	6^{d}	6^{d}	6^{d}	14.90 ± 0.6^{b}	10.6 ± 1.15^{c}
Pseudomonas aeruginosa	28.06 ± 0.11^{a}	6^{c}	6^{c}	6^{c}	12.16 ± 0.28^{b}	6^{c}
Bacillus cereus	41.06 ± 0.11^{a}	6^{d}	6^{d}	6^{d}	14.4 ± 0.52^{b}	10 ± 1^{c}
تحليل التباين	P≤0.0001					



الشكل(18): أقطار تثبيط مستخلصات نبات القزاح و المضاد الحيوي للأنواع البكتيرية المختبرة

من خلال النتائج المدرجة في الجدول(23) و الشكل(18) نجد أن طريقة الأقراص المتبعة في دراسة النشاطية ضد بكتيرية لمستخلصات نبات القزاح أظهرت فروقا معنوية في النشاطية تفاوتت بين المنعدمة و الضعيفة و المتوسطة .

كانت فعالية كل من المستخلص المائي، الميثانولي ، الايثانولي ضد البكتيريا المختبرة بأقطار تثبيط أقل من 8mm قدرت بـ 6mm .

على عكس الزيت الطيار الذي أبدى فعالية متفاوتة على جميع السلالات البكتيرية قدرت عند:

Staphylococcus aureus بقطر تثبيط 14.9±0.6 mm(تركيز 100%) و بقطر تثبيط 10.6±1.15mm (تركيز 50%).

وعند *Pseudomonas aeruginosa* بقطر تثبيط 12.16±0.28mm(تركيز 100%) و بقطر تثبيط 6mm (تركيز 50%) .

أما عند *Bacillus cereus* فقدرت بقطر تثبيط 14.4±0.52mm (تركيز 100%) و 1± 10(تركيز 50%) على عكس *Escherichia coli* التي أبدت مقاومة لجميع المستخلصات.

أما DMSO فلم يملك أي تأثير على السلالات البكتيرية المختبرة.

بكتريا الغرام الموجب هي السلالة الأكثر حساسية لكل من الزيت الطيار و المضاد الحيوي .

من خلال ماسبق يمكن القول أن فعالية مستخلصات القزاح المائية و الميثانولية و الإيثانولية منعدمة و هذا ماتوصلت له العديد من الأبحاث ، حيث أن البكتيريا الوحيدة التي أظهرت حساسية إتجاه مستخلصات القزاح *P. chloranthus* كانت *S.aureus* بقطر تثبيط 8mm عند المستخلص

الفلافونويدي(200mg/ml) (Mellouk, 2013) و بقطر 7mm عند المستخلص الميثانولي(300mg/ml) (Seladji, 2013) في حين أبدت كل من *E. coli* و *P. aeruginosa* مقاومة ضد باقي المستخلصات.

أما عند Bouaziz *et al* فأبدت كل السلالات البكتيرية المختبرة (7 سلالات) مقاومة للمستخلص الميثانولي على عكس المستخلص المائي الذي تحسست له بكتيريا *E.coli* بقطر تثبيط 12mm.

- ✓ فرط التحسس لبكتيريا *S. aureus* و *B.cereus* يمكن تفسيره باحتمال تعرض بكتيريا الغرام الموجب للتغيرات البيئية الخارجية مثل درجة الحرارة ، الحموضة، غياب الغشاء الخارجي غير النفوذ. (Mellouk, 2013).
- ✓ عديدات الفينول مثل التانينات والفلافونويدات(la quercétine، la myricétine، l'épigallocatéchine، lutéoline، la catéchine)هي مركبات ذات فعالية ضد بكتيرية هامة ، وعدم كفاءة مستخلصات نبات القزاح (المائية والكحولية) ضد السلالات البكتيرية المختبرة يعود إلى غياب هذه المواد المؤثرة أو ضعف تركيزها ، كما أن للبنية الكيمائية لعديدات الفينول دورا هاما في هذه الفعالية (Seladji, 2013 ; Mellouk, 2013).

أما الزيت الطيار لنبات القزاح *P. chloranthus* فمن خلال التجارب وجدنا أن له فعالية متفاوتة بين الضعيفة والمتوسطة.

ويؤكد نتائجنا ماتوصل له دحية (2009) بأن فعالية للزيت الطيار تتفاوت مابين ضعيفة إلى جيدة ضد السلالات البكتيرية المختبرة وفسر سبب ذلك بوجود نسبة كبيرة من مركب myristicine (27.4%) في الزيت ، والحقيقة أن myristicine يملك نشاطية ضد بكتيرية أحسن من حمض الساليسيليك ضد *P. aeruginosa* (Narasimhan et Dhake, 2006) .

يعود الاختلاف بين قيم التثبيط للزيت الطيار لنفس النبتة إلى:

- ✓ اختلاف فترة القطف و شروط العمل في المخبر ، إذ أن الدراسة على الزيت الطيار لنبات القزاح *Pituranthos tortuosus* التونسي المقطوف في شهر نوفمبر أكثر فعالية من المقطوف في شهر أفريل ضد بكتيريا الغرام الموجب ، بيد أن *E. coli* تبدي حساسية ضعيفة لزيت أفريل و حساسية منعدمة تجاه زيت نوفمبر ، أما *P. aeruginosa* فلا تبدي حساسية اتجاه الزيت الطيار بالمطلق (Abdelwahed *et al*., 2005).
- ✓ لاحظ Mighri *et al* (2015) أن النشاطية ضد البكتيرية للزيت الطيار المستخلص من نبتة القزاح الطازجة أفضل من فعاليته اذا استخرج من النبتة وهي مجففة .
- ✓ وجود التربينات الأحادية الكربوهيدراتية في الزيت الطيار يزيد من نشاطيته مع بكتريا الغرام الموجب مقارنة مع بكتيريا الغرام السالب و هذا مايفسر التأثير المتوسط للزيت الطيار لنبات القزاح *P.chloranthus* على بكتيريا *S. aureus* و *B. cereus* (Abdelwahed *et al*., 2005).

أما الاختلاف في التأثير بين المستخلصات على السلالات البكتيرية المختبرة يمكن أن يعود إلى:

- ✓ نوعية و كمية المركبات المستخلصة وذلك باختلاف طرق الاستخلاص و المذيبات المستخدمة(Ivana, 2011) ، فقد أوضح Bassole *et al* (2001) في دراسته أن فعالية الزيت الطيار اتجاه البكتيريا مرتبطة بالمكونات الكيميائية المحتوي عليها ، فإذا احتوى على المركبات الفينولية مثل التيمولThymol ، الكارفاكول carvacrol تكون له فعالية ضد بكتيرية قوية جدا ،وتكون فعالية الزيت ضعيفة حين يحتوي على المركبات les sesquiterpènes، limonène، pinène ، myrcène، isomenthone ، menthone و المركبات غير التربينية.

- ✓ يمكن أن نفسر تأثير الفعالية المضادة للبكتيريا إلى امتصاص الأغشية الخلوية للبكتيريا للمركبات الفعالة، و تفاعلها مع الإنزيمات الفعالة والعناصر المعدنية في الجدران الخلوية و تعطيل الغشاء السيتوبلازمي الذي يسبب تسرب المكونات الخلوية ، و التأثير على تخليق الأحماض النووية (ADN,ARN)، وكذا تخليق البروتينات و الدهون و وظيفة الميتوكندريا

(Dhaouadi *et al.*, 2010 ; Zhang *et al.*, 2009)

- ✓ إن الاختلاف في الحساسية بين السلالات البكتيرية موجبة الغرام و سالبة الغرام يعود للاختلاف في بنية و تركيبة وطبيعة جدار الخلية البكتيرية بين النوعين(Lambert, 2002) وفي وجود Lipopolysaccharides التي يحتويها الغشاء الخارجي للبكتيريا سالبة الغرام (Dziri *et al*., 2012).

الخلاصة

الخلاصـة:

ركزت دراستنا على المساهمة في دراسة بعض مواد الأيض الثانوي لمستخلصات نبات القزاح *Pituranthos chloranthus* المنتمي إلى العائلة الخيمية و التي تستخدم في علاج العديد من أمراض الجهاز الهضمي، الروماتيزم ،السكري ،الآلام والحمى .

امتلاك نبتة القزاح لهذا التأثير النافع للصحة يعود إلى احتوائها العديد من المركبات الفعالة ، وسعيا منا للتعرف عليها و تقدير كميتها ودراسة فعاليتها البيولوجية قمنا بتحضير أربع مستخلصات تمثلت في المستخلص المائي، الميثانولي، الإيثانولي والزيت الطيار.

قدر المحتوى المائي لنبتة القزاح بـ43.8% أما مردود المستخلصات فكانت أعلى نسبة للمستخلص الميثانولي بقيمة 5%.

بعد الفحص الكيميائي الأولي لنبات القزاح وجد أنه يحتوي على العديد من المواد الفعالة والمتمثلة في الفلافونويدات ،التانينات ،القلويدات ،الستيرولات والتربينات الثلاثية ، الجليكوسيدات والصابونيات والزيوت الطيارة.

انطلاقا من المستخلصات المائية و الكحولية تم التقدير الكمي لعديدات الفينول، الفلافونويدات والتانينات وذلك باستخدام طريقة كاشف Folin-Ciocalteu و كلوريد الألومنيوم $AlCl_3$ و كاشف الفانلين على الترتيب و استنتجنا من خلال النتائج أن كمية الفينولات والفلافونويدات والتانينات تتغير بحسب طرق الاستخلاص والمذيبات المستعملة.

بعد التقدير الكمي لجأنا إلى دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لكل المستخلصات وذلك عن طريق اختبار تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ حيث تمكنا من حساب مقدار IC_{50} المثبطة لـ 50% من الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ لكل منها ، و قد أظهرت قيم IC_{50} المتحصل عليها أن المستخلص المائي يملك أكبر نشاطية في اقتناص

الجذر الحر DPPH• قدرت بـ $IC_{50=}$ 0.54±0.11 mg/ml مع تسجيل قيم قريبة منها لكل من المستخلص الميثانولي و الإيثانولي ، أما الزيت الطيار فسجلت له أضعف قيمة IC_{50}=4.49±0.09mg/ml.

كما قمنا بدارسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات الأربعة ضد أربع سلالات بكتيرية ممرضة (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923,*Bacillus cereus* ATCC11778) باتباع طريقة الانتشـــار بالأقراص حيث كانت النتائج إيجابية فقط مع الزيت الطيار لنبتة القزاح الذي أبدى فعالية متفاوتة حسـب التركيز المسـتعمل و نوع السلالة البكتيرية

كانت السلالة *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 السلالة الأكثر حساسية للزيت الطيار لنبتة القزاح بينما كانت السلالة *Escherichia coli* ATCC 25922 مقاومة للمستخلصات الأربع ككل.

وفي الأخير ونظرا للنتائج المشجعة المتحصل عليها مع مستخلصات هذا النبات الطبي، ، فإننا نوصي لزيادة آفاق هذا البحث بالدراسة التحليلية الكمية والنوعية للمركبات الفعالة من خلال التعرف على الصيغ الكيميائية لمركبات النبات المسؤولة عن هذه الفعاليات وكذا دراسة تأثيرها منفصلة وليس ضمن خلاصة النبات ، كما نرجو أن يكون عملنا هذا محفزا للباحثين في مجال البيولوجيا والصيدلة للمضي في مجال البحث وتثمين النباتات الصحراوية، كما نوصي بالحفاظ على الأوساط الطبيعية لهذه النباتات.

قائمة المراجع

المراجع

المراجع العربية:

- **أبوزيد ش.**، 2005 - فسيولوجيا وكيمياء القلويدات في النباتات الطبية وأهميتها الدوائية والعلاجية. دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع. القاهرة . ص: 496
- **ابوالذهب م.**، **الكشير ح.**، **القزاز س.**، **عاية ش.**، 1997 - البكتيريا. دار المعارف. الجزء الأول.ص:20
- **أحمد ف. س .**، 2002 - الكيمياء الحيوية. دار الفجر للنشر والتوزيع
- **الداؤدي ج و سلمان م.**، 2012 - إستخلاص وتشخيص تانينات قلف أشجار الصنوبر البروتي *Pinus brutia* Ten. و بلوط الأكل *Quercus aegilops* L النامية في العراق. جامعة الموصل.
- **بن بوط أ.**، 2014 - تأثير بعض مركبات الميتابوليزم الثانوي لنبات الحرمل *Peganum harmala L* . على بعض السلالات البكتيرية وبعض النواحي الفيزيولوجية ، النسيجية والسلوكية عند الفئران المخبرية . جامعة منتوري قسنطينة .
- **بن خناثة م.**، 2014- المساهمة في دارسة مستخلصات نبتة الكلخة *Ferula Vesceritensis* . مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي. جامعة قاصدي مرباح. ورقلة.ص:83
- **بن ذهبية خ.**، 2013- دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء *Lawsonia Inermis* من ولاية ورقلة. مذكرة ماستر أكاديمي .جامعة قاصدي مرباح ورقلة ص:74
- **بن سلامة ع. ا.**، 2012 - النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق *Hertia cheirifolia* L . مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء. جامعة فرحات عباس.ص:90 .
- **بن عربية ع.**، 2013-دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء *Inermis Lawsonia* لولاية أدرار.مذكرة ماستر أكاديمي.جامعة قاصدي مرباح ورقلة.ص:54.
- **بن مرعاش ع.**، 2012 - دراسة نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي و الفعالية المضادة الأكسدة للنبتة(Convolvulaceae) *Convolvulus supinus* Coss. & Kral. مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء.جامعة منتوري قسنطينة. ص:136
- **بوبطيمة ا.**، 2012 - مقارنة بين الطريقة الفيتوكيميائية و الطريقة الإلكتروكيميائية في دراسة فينولات بعض نوى التمر المحلي . مذكرة ماستر أكاديمي. جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص: 97

المراجع

- ✓ **بوخبتي ح.**، 2010-النباتات الطبية المتداولة في المنطقة الشمالية لولاية سطيف دراسة تشريحية لنوعين من جنس *Mentha* والنشاطية ضد البكتيرية لزيوتهما الأساسية .مذكرة ماجستير.قسم البيولوجيا .جامعة فرحات عباس سطيف. ص:116.
- ✓ **بوعبدالله م. س.**، 2011 - دراسة بعض التأثيرات البيولوجية لمستخلص نبات الشاي الأخضر *Camellia Sinensis* على النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا رسالة مقدمة لنيل شهادة الماجستير . جامعة منتوري . قسنطينة .ص:60
- ✓ **جرموني م.**، 2009 - النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة الخياطة *Teucrium polium* . مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء و الفيزيولوجيا التجريبية .جامعة فرحات عباس سطيف.ص:95.
- ✓ **جيدل ص.**، 2015- تقدير المحتوى الفينولي والتأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات نباتات *Pistacia lentiscus* L و *Artemisia campestris* و *Argania spinosa* L.أطروحة مقدمة للحصول على دكتوراه العلوم. جامعة فرحات عباس سطيف. ص: 76-81.
- ✓ **الحازمي ح.**، 1995- المنتجات الطبيعية.مطابع جامعة الملك سعود. المملكة العربية السعودية. ص:120-125
- ✓ **حجاوي غ.،المسيمي ح.، قاسم ر.، 2009** - علم العقاقير النباتات الطبية. دار الثقافة للنشر والتوزيع بيروت .312ص.
- ✓ **الحلو ج.**، 2009 -علم الأحياء الدقيقة "الأصول والعلاقة ". دار أسامة للنشر. عمان ص:216.
- ✓ **حوة إ.**، 2013 - دراسة الفعالية لبيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية المضادة للأكسدة. مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير .جامعة قاصدي مرباح. ورقلة. ص:65-109.
- ✓ **دحية م.**، 2009- النباتات الطبية في مناطق الجلفة، بوسعادة والمسيلة. دراسة نبات القزاح *Pituranthos*أنواعه، التركيب الكيميائي والنشاطية البيولوجية للزيوت الطيارة للسيقان. مذكرة لنيل شهادة الدكتوراه.قسم البيولوجيا. جامعة فرحات عباس سطيف.ص:21-25-32-33-89-92.
- ✓ **ذياب ج. ش.**، 2008 - عزل وتشخيص بكتريا *Bacillus cereus* واستعمالها في أنتاج متعدد هيدروكسي البيوترات . جامعة النهرين بغداد العراق

المراجع

- ✓ **زيدي م. ف.**، 2012 -المساهمة في الدراسة الفيتوكيميائية لنبات *Deverra scoparia* (البسباس البري) الزيوت الطيارة والليبيدات .مذكرة ماستر أكاديمي. جامعة قاصدي مرباح ورقلة.ص: 9 -72
- ✓ **شبوعات ي.**، 2003-دراسة القلويدات في شجرة السدر *zizyphus mauritiana* .مذكرة تخرج مقدمة لنيل شهادة الماجستير.تخصص كيمياء عضوية تطبيقية .جامعة ورقلة.ص:31
- ✓ **شبوعات ي.**، 2014 - Etude phytochimique et évaluation microbiologique de deux plantes - médicinales saharienne: Zizyphus (*mauritiana, lotus*)- Ramnaceae (Sedra) et – Ephedraceae-(Alinda)Ephedra alata . مذكرة دكتوراه جامعة قاصدي مرباح . ورقلة .
- ✓ **شراونة س.**، 2007- فصل و تحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافونويدي لنبتة *Lycium arabicum* .مذكرة ماجستير.جامعة منتوري قسنطينة.ص:85
- ✓ **شكري ا. س.**، 1994- النباتات الزهرية: نشأتهان تطورها، تصنيفها. دار الفكرالعربي
- ✓ **طويل أ.**، **2009 -**دراسة نواتج الميتابوليزم الثانوي لبعض نباتات منطقة الهقار.رسالة مقدمة لنيل دكتوراه علوم في الكيمياء العضوية.جامعة منتوري قسنطينة. ص: 42-44-75-79-83-88-91-96.
- ✓ **العابد إ.**، 2009 - دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة للمستخلص القلويدي الخام لنبات الظمران *Traganeum nidatum*. مذكرة ماجستير. جامعة قصدي مرباح. ورقلة. ص: 38-39-103-106
- ✓ **عمر ل.**، 2010 - دراسة بعض الخصائص البيوكيميائية لنبات*Artemisia herba alba Asso* الشيح. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في بيولوجيا وفيزيولوجيا النباتية .جامعة فرحات عباس .سطيف ص90.
- ✓ **عودة س.م.**، 2014- محاضرات في النباتات الطبية والعطرية. قسم البستنة و هندسة الحدائق كلية الزراعة .المحاضرة 11.
- ✓ **فرحات س.**، 2013- دراسة مقارنة فعالية المواد المضادة للأكسدة للبروبوليس لمناطق مختلفة في الجزائر حسب الخريطة المناخية بالطرق الكيميائية و الكهروكيميائية. مذكرة ماستر. جامعة الشهيد حمه لخضر . الوادي، ص: 44-15.
- ✓ **فوزي م. س.**، 1994- تصنيف النباتات الزهرية. الدار الدولية للنشر والتوزيع القاهرة مصر. ص168:

المراجع

- ✓ **قمولي ص.،** 2009 - دراسة كهروكيميائية لفينولات نوى التمر المحلي .مذكرة لنيل شهادة الماستر . كيمياء مطبقة .جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص:20-28
- ✓ **لبوز م.،** 2012- الدارسة الفيتوكيميائية لنبتة *Rhetinolepis lonadioides* Coss (الزيوت الطيارة والليبيدات) – مذكرة ماستر أكادمي . جامعة قاصدي مرباح ص 80.
- ✓ **مخدمي ن.،** 2014- استعمال المستخلصات المائية لنبتتي *Matricaria pubscens* و *Pituranthos chloranthus* كمعطرات طبيعية للجبن " أمير"، ودراسة النشاطية ضد البكتيريا لزيوتهما العطرية.مذكرة لنيل شهادة ماجستير في البيولوجيا وفيزيولوجيا النبات.جامعة فرحات عباس سطيف.ص:17-18-19-68-70-91.
- ✓ **مخلوفي ا.،** 2008-فصل و تحديد فلافونيدات الأجزاء الهوائية للنبتة *Hypericum tomentosum* . مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية.جامعة منتوري قسنطينة.ص:13
- ✓ **المهدي. ت و الحسيني م.،** 1990- النباتات الطبية زراعتها مكوناتها و استخداماتها العلاجية. مكتبة بن سينا للنشر والتوزيع والتصدير. القاهرة.
- ✓ **ميثاق ج.،** 2010 - بحث وتحديد نواتج الأيض الثانوي لنبات القات *Catha edulis* تقييم الفعالية البيولوجية . رسالة مقدمة لنيل شهادة دكتوراه علوم في الكيمياء العضوية .جامعة منتوري- قسنطينة . ص 142.
- ✓ **نعمة ج.، أبومجداد.، جبر م.،** 2007-تقييم الفعالية الضد المايكروبية للمستخلص المائي و الكحولي لأوراق السدر *Ziziphus spina-christi*(L)Desf .مجلة البصرة للعلوم (ب).مجلد(25).العدد(1) 16-1
- ✓ **نور ك. ح.،** 2018 - تعديل المضادات الحيوية لقتل اكبر عدد ممكن من البكتريا المقاومة. نيل شهادة البكالوريوس . كلية العلوم. جامعة القادسية. العراق.
- ✓ **هيكل م. س و عمر ع.،** 1993 - النباتات الطبية و العطرية ،كيميائها إنتاجها فوائدها،الطبعة الثانية منشأة المعارف بالإسكندرية مصر ص: 515:13-14-80- 181-186.
- ✓ **هيكل م. س و عمر ع .،** 2003- النباتات الطبية والعطرية كيمياؤها وإنتاجها وفوائدها . منشأة المعارف بالإسكندرية مصر .ص:12
- ✓ **يوسف م. ك و التارقى ز.هـ.،** 2005- دور المواد المضادة للتغذية في تغذية الإنسان . مجلة أسيوط للدرسات البيئية .العدد(28) . ص:55-88.

المراجع

المراجع الأجنبية :

- ✓ **Abdelwahed A., Hayder N., Kilani S., Mahmoud A., Chibani J., Hammami M., Chekir-Ghedira L. et Ghedira K.,** 2005- Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Tunisian *Pituranthos tortuosus* (Coss.) Maire. Flavour Fragr. J., Vol. 21, pp. 129 - 133.
- ✓ **Akrout A., Eljami H., Amouri S., Neffati M.,** 2010- Screening of Antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba alba Asso* and *Thymus capitatus* Hoff .et link Wild in the Southern of Tunisia.Recent Research in Science and Technology.Vol.2. N (1):23-39
- ✓ **Alibert G., Ranjeva R., Boudet M. A.,** 1977- Organisation subcellulaire des voies de synthèse des composés phénoliques. Physiol. Veg. 15 : 279-301
- ✓ **Amlan K., Patra J.S.,** 2010- A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. Phytochemistry.
- ✓ **Antolovich M., Prenzler P. D., Patsalides E., McDonald S., Robards K.,** 2002 - Methods for testing antioxidant activity. *Analyst* (127): 183-198.
- ✓ **Athamena S.,** 2009 - Etude quantitative flavonoïdes des grains de *Cuminum cyminum* et Les feuiles de *Rosmarinus officinalis* et l'evaluation de l'activite biologique. Memoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Magister. Université El -Hadj Lakhder Batna. 126p
- ✓ **Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N., Atmani D.,** 2009- Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. Food Chem, 112: 303-309
- ✓ **Azzi R.,** 2013 - Contribution A L'étude De Plantes Médicinales Utilisées Dans Letraitement Traditionnel Du Diabète Sucré Dans L'quest Algérien : Enquéte Ethno pharmacologique ; Analyse Pharmaco-Toxicologique De Figuire (Ficuscarica) Et De Coloquinte (*Citrullus Colocynthis*) Chez Le Rat Wister. Thèse Doctorat En Biologie, Université Abou BekrBelkaid. Tlemcen
- ✓ **Baghiani A., Boumerfeg S., Belkhiri F., Khennouf S., Charef N., Harzallah D., Arrar L., Abdel-Wahhab M.,** 2010- Antioxidant and radical scavenging properties of *Carthamus caeruleus* L. extracts grow wild in Algeria flora. Comunicata Scientiae.1: 128-136p
- ✓ **Baser K. H. C. et Buchbauer G.,** 2010- Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America. 994p.
- ✓ **Bassole I. H. N., Ouattara A.S., Nebie R., Ouattara C. A. T., Kabore Z. I., Traore S. A.,** 2001- Composition chimique et activités antibactériennes des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *cymbopogon proximus* (stapf.) et *d'ocimum canum* (sims). Pharm. Méd.Trad. Afr. Vol. 11 :37-51.
- ✓ **Bellakhdar J.,** 1997- La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires, Ed. Ibis Press, Paris, 764p.
- ✓ **Benhammou N.,** 2012 - Activité antioxydante des extraits des composes phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse doctorat. Université Aboubakr Belkaïd.Tlemcen. 174 p.

المراجع

- ✓ **Beniston NT et WS.,** 1984-FLEUR D'ALGERIE, Ed : entreprise nationale du livre Alger, N°d'édition : 1822/84. 359p.
- ✓ **Bergogne - Berezin E and Dellamonica P.,** 1995- Antibiothérapie en pratique clinique. Ed. Masson, Paris.p. 486
- ✓ **Biljak V. R., Rumora L., Cepelak I., Popovic-Grle S., Soric J., Grubisic T. Z.,** 2010 - Glutathione cycle in stable chronic obstructive pulmonary disease. Cell BiochemFunct. 28. 448-453p.
- ✓ **Boitineau M.,** 2010-Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Lavoisier, Tec & Doc, Paris. ; 1335 pp.
- ✓ **Bouaziz M., Dhouib A., Loukil S., BoukhrisM., Sayadi S.,** 2009- Polyphenols content, antioxidant and antimicrobial activities of extracts of some wild plants collected from the south of Tunisia. *African Journal of Biotechnology*, 8 (24): 7017-7027.
- ✓ **Boukri N.H.,** 2014 - Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Thème Master Academique. Université Kasdi Merbah Ouargla. 99 p
- ✓ **Bruneton J.,** 1999- Pharmacognosie, phytochimie, Plantes médicinales .3éme ED.Tec et Doc, Paris.119-266- 464-498p.
- ✓ **Cai Y., Luo Q., Sun M., &Corke H.,** 2004- Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life science, published by Elsevier In., 74: 2176.
- ✓ **Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P. W., Castillejos L., Ferret A.,** 2007- Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. Journal of Dairy Science. 90: 2580–2595
- ✓ **Carson C. F. et. Hammer K. A.,** 2011- Chemistry and Bioactivity of Essential Oils. In Thormar H. Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents. United Kingdom: John Wiley et Sons Ltd. pp. 204-238
- ✓ **Chaabi M., 2008** - Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines : *Euphorbia stenoclada* Baill.(Euphorbiaceae),*Anogeissus leiocarpus* Guill.&Perr. (Combretaceae), *Limoniastrum feei* Girard) Batt. (Plumbaginaceae). Mémoire de magister. Université louis pasteur.
- ✓ **Conner D. E.,** 1993- Naturally occurring compounds. In Davidson P. M; Branen A. L. Antimicrobials in foods, 2nd Ed. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. pp. 441-468
- ✓ **Cos P., Ying L., Calomme M., Hu J. P., Cimanga K., Van P. B., Pieters L., Vlietinck A.J. And Vanden Berghe D.,** 1998- Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. J Nat Prod, 61: 71-76.
- ✓ **Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G.,** 2000. Natural products (secondary metabolites), in Biochemistry and Molecular Biology of Plants (eds B. Buchanan, W. Gruisse, and R. Jones), American Society of Plant Biologists, Rockville, MD, USA, pp. 1250–1268
- ✓ **Dacosta E.,** 2003 - les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris. 317 p.
- ✓ **De Vos P., Garrity G.M., Jones D., Krirg N.B., Ludwing W., Rainy F.A., Schleifer K., Whitman W.B.,** 2009-Bergeys Manual of Systematic Bacteriology. Second Edition.Volume3. The Firmicultes. Library Of Congress

- ✓ **De Wit H.,** 1965- LES PLANTES DU MONDE, les plantes à fleurs. Tome II, Hachette.339p.
- ✓ **Desai P. B., Manjunath S., Kadi S., Chetana K., Vanishree J., 2010** - Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in rheumatoid arthritis: a case control study. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 14. 959-967p
- ✓ **Dhaouadi K., Raboudi F., Estevan C., Barrajon E., Vilanova E., Hamdaoui M., and Fattouch S.,** 2010- Cell Viability Effects and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts. *J.Agric. Food Chem*. 59: 402-406p
- ✓ **Duraffourd C., D'hervicourt L., Lapraz J.C.,** 1990 - Cahier de phytothérapie clinique examen de laboratoire galénique, élément thérapeutiques synergiques Tome 1. 2éme édition. éd. Masson. Paris
- ✓ **Dziri S., Hassen I., Fatnassi S., Mrabet Y., Casabianca H., Hanchi B., Hosni K.,** 2012- Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (*Allium roseum* var. odoratissimum). Journal of Functional Foods. Vol. 4: 423- 432.
- ✓ **Dzuong N. D.,** 1976 - Contribution à l'étude des composées terpéniques des divers végétaux et en particulier de *Pituranthos rohlfsianus* (Dur et Barr.), de *Pituranthos chloranthus* (Benth et Hook.) et de *Teucrium polium* (L.). Thèse Doct. D'état, Fac. Pharm. Marseille, pp. 55 - 63.
- ✓ **Esseid C.,** 2018- isolement et détermination structurale de métabolites secondaires de plantes saharienne- activites biologiques. Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de doctorat de troisième cycle (LMD). Université frères mentouri constantine 1.p :8-21.
- ✓ **Ferhi F., Das S., Elaloui E., Moussaoui Y., Yanez J. G.,** 2014-Chemical characterisation and suitability for paper making applications studied on four species naturally growing in Tunisia. Industrial Crops and Products. 61**:**180–185.
- ✓ **Ferradji A.,** 2011- Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*. Mémoire Présenté Pour l'obtention du Diplôme de magister. Université Ferhat Abbas Setif. 90p
- ✓ **Grossi M., Di Lecce G.E., Arru M., Gallina T., Tullia Ricco B.,** 2015-An opto-electronic system for in-situ determination of peroxide value and total phenol content in olive oil. Journal of Food Engineering, 146: 1-7.
- ✓ **Grysole J.,** 2005- La commercialisation des huiles essentielles in Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation – Manuel pratique : Chapitre 07. Corporation LASEVE (laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales), Québec, pp.139-16
- ✓ **Guettaf S., Abidli N., Kariche S., Bellebcir L., Bouriche H.,** 2016- Phytochemical screening and antioxidant activity of aqueous extract of *Genista Saharae* (Coss. &Dur.). Scholars Research Library, 8 (1): 51p.
- ✓ **Guignard J. L.,** 1977- Abrégé de botanique. Ed. masson, Paris, pp. 178 - 182.
- ✓ **Haba H.,** 2008 - Etude phytochimique de deux Euphorbiaceae sahariennes : *Euphorbia guyoniana* Boiss. et Reut. et *Euphorbia retusa* Forsk. Thèse doctorat, Université el- hadj lakhdar.305 p
- ✓ **Hammer K.A., Carson C.F. & Riley T.V.,** 1999- Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of Applied Microbiology, 86, 98

- ✓ **Hammiche V., Maiza K.,** 2006-Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. Journal of Ethnopharmacology. 105: 358–367.
- ✓ **Harborne, J. B.,** 1973- Flavonoids in phytochemistry, ed. Lawrence, P. Miller, Litton Eduction Publishing Inc, vol 2.p: 344.
- ✓ **Harborne, J. B.,** 1984-phtochemical methods. chapman andhall.nezyork.2.ed. 288pp.
- ✓ **Harkat H.,** 2008 - Hétérocycles oxygénés et composés aromatiques de *Frankenia thymifolia* Desf. : formation d'hétérocycles oxygénés et isolement de substances naturelles. Thèse de doctorat. Université El Hadj Lakhder Batna. 222p.
- ✓ **Hayouni E., Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M.,** 2007- The effects of solvent and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quecus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food Chem, 105: 1126-1134.
- ✓ **Herrera E., And Barbas C.,** 2001- vitamin E action, metabolism and perspectives, journal of physiology and biochemistry 57,43-56.
- ✓ **Heywood VH.,** 1996- Les plantes à fleurs, 306 familles de la flore mondiale, Nathan, Paris ; 335 p
- ✓ **Irving W., Ala'Aldeen D. et Boswell T.,** 2005- Medical Microbiology. Collection Instant Notes. Taylor et Francis. 350p
- ✓ **IUCN., 2005-** A guide to medicinal plants in north africa, ISBN, spain. 2-8317-0893-1, 256p.
- ✓ **Ivana K., Milena N., Miodrag L.,** 2011- Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the *artemisia sp*. recovered by different extraction techniques. Biotechnology and bioengineering Chinese journal of chemical engineering. 19 (3): 504-511
- ✓ **Jan A. T., Alia Q., and Haq Q.,** 2011- Glutathione as an antioxidant in inorganic mercury induced nephrotoxicity. J Postgrad Med. 57 72-77p.
- ✓ **Kaabeche M.,** 1990-Les groupements végétaux de la région de Boussaâda. université Paris Sud.
- ✓ **Kähkönen M., Hopia A., Vuorela H., Rauha J., Pihlaja K., Kujala T.,** 1999- Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. J Agric Food Chem, 47(10): 3954-3962.
- ✓ **Kanoun K.,** 2011 - Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire En vue de l'obtention du Diplôme de Magister. Université Aboubekr Belkaid Tlemcen.118 p
- ✓ **Karthikeyan J., Rani P., 2003** - Enzymatic and non-enzymatic antioxidants in selected Piper species. Indian J ExpBiol;41. 135- 140p.
- ✓ **Kayser M.D. F. H., Bienz K. A., Eckert Ph.D. J. et Zinkernagel M.D. M. R.,** 2005- Medical Microbiology. Edition Thieme. 698
- ✓ **Lambert P.A.,** 2002- Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-positive bacteria and mycobacteria. Journal of applied microbiology. Vol. 95.N (41): 22 -26
- ✓ **Laouer H.,** 2004- Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de djelfa. Composition et activité antimicrobienne des huiles

essentielles d *Ammoides pusilla* (Brot) Breistr. Et de *Magydaris pastinacea* (Lamk) Paol. Thèse de doctorat d'état., UFA de Sétif.152p

- ✓ **Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J. Et Lee C.Y.,** 2003- Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine, Journal Agric Food Chem, (51)7292-7295.
- ✓ **Loret V.,** 1892- La flore pharaonique d'après les documents hiroglyphiqueset les spécimens découverts dans les tombes, Edition ern est le roux. Paris. 1892.
- ✓ **Lund T., De Buyser ML., Granum PE.,** 2000 - A New cytotoxin from Bacillus cereus that may cause necrotic enteritis. Mol. Microbiol., 38(2): 254- 261
- ✓ **Lyczak J.B., Cannon C.L.,And Pier G.B.,** 2000- Establishment of Pseudomonas aeruginosa infection: lessons from a versatile opportunist. Microbiol Infect. 2: 1051–1060.
- ✓ **Madhumitha G., Fousiya J.,** 2015-A Hond bookou: Semi Micro Technique for Extraction of Alcaloïdes. International E publication.
- ✓ **Mahmoudi D., Khali M., Mahmoudi N.,** 2012- Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.)*. Algérie .6p.
- ✓ **Majed Jamous R. Ali-Shtayeb M.S.,** 2008- Traditional Arabic Palestinia Herbal Medicine. Biodiversity and Environmental Reasherch Center (BERC), Til, Nablus.
- ✓ **Markham K. R.,** 1982- *Techniques of flavonoid identification.* Academic press, London. 133p.
- ✓ **Mauro N.M., 2006** - Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (±) anatoxine-a et la (±) camptothécine. Thèse doctorat, Université Joseph fourier. 195p.
- ✓ **Medow M. S., Bamji N., Clarke D., Ocon A. J., Stewart J. M.,** 2011- Reactive oxygen species (ROS) from NADPH and xanthine oxidase modulate the cutaneous local heating response in healthy humans. J Appl Physiol. 301: R763-R768
- ✓ **Mellouk K.,** 2013-Étude des activités antioxydante et antimicrobienne des flavonoïdes et des fractions flavoniques de la partie aérienne de *Pituranthos chloranthus* (Guezzeh) de la région de Biskra. Mémoire pour obtenir le grade de master academique en biologie moleculaire et cellulaire. Université abou bekr belkaid-tlemcen.p ;31-32-34-37-52-53-54-71.
- ✓ **Migahid A.M., Abd El-Wahab A.M., and Batanouny K.H.,** 1972- Eco – Physiological studies on desert plants VII. Water relation of *Leptadenia pyrotechnica* (Forsk) Decne. growing in the Egyptian desert. Oecologia (Berl.) 10, 79 – 91.
- ✓ **Mighri H., Sabri K., Eljeni H., Neffati M., Akrout A.,** 2015- chemical composition and antimicrobial activity of *pituranthos chloranthus* (benth.) hook and *pituranthos tortuosus* (coss.) maire essential oils from southern Tunisia. Advances in Biological Chemistry. 5: 273-278.
- ✓ **Miquel J., 2002** - Can antioxidant diet supplementation protect against age-related mitochondrial damage Ann N Y Acad Sci. 959. 508-516p
- ✓ **Mohammedi Z.,** 2011- Etude du pouvoir Antimicrobien et Antioxydant des Huile Essentielles et flavanoides de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de Magister, Université de Tlemcen, Algérie, p:18-50.

- ✓ **Mohammedi Z.,** 2013- Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud-ouest de l'Algérie. Thèse doctorat. Université Abou Bekr.170 p.
- ✓ **Nait Said N.,** 2007- Etude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes : « *Pituranthos chloranthus* » et « *Marrubium vulgare* ». Thèse pour l'obtention du diplôme de magister en chimie. Option : chimie organique. Université El-Hadj Lakhdar – Batna. 112 p.
- ✓ **Narasimhan B., et Dhake A. S.,** 2006- Antibacterial Principles from *Myristica fragrans* Seeds. Journal of Medicinal Food, 9, pp. 395 – 399.
- ✓ **Neffati A., Bouhlel I., Ben Sghaier M., Boubaker J., Limem I., Kilani S., Skandrani I., Bhouri W., Le Dauphin J., Barillier D., Mosrati R., Chekir-Ghedira L., Ghedira K.,** 2009a - Antigenotoxic and antioxidant activities of *Pituranthos chloranthus* essential oils. Environmental Toxicology and Pharmacology. 27 :187–194.
- ✓ **Nitsch J.P., Nitsch C.,** 1961- Synergistes naturels des auxinex et des giberellines. Bull. Soc. Fr. 26 : 2237-2240. Cité p.
- ✓ **Ordonez A.A.L., Gomez J.D., Vattuone M.A., Isla M.I.,** 2006- Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq), Food Chem, 97:452-458.
- ✓ **Orshan, G.,** 1963- Seasonal dimorphism of desert and Mediterranean chamephytes and its significance as a factor in their water econmy. Symp Brit . Ecol. 3:206-222.
- ✓ **Ozenda P.,** 1958- Flore du sahara septentrional et central. CNRS. 1958 ; p. 356.
- ✓ **Philippe C.,** 2007 - Cycloisomerisations d'énynes issus de monoterpènes par différentes voies catalytiques. Thèse doctorat. L'institut national polytechnique Toulouse. 244p .
- ✓ **Price S., Price L.,** 2012-Aromatherapy for Health Professionals. Forthe Edition.pp: 13-14-15.
- ✓ **Quezel P.,** 1958- Contribution à l'étude de la flore et de la végétation du BORKU et du Tibesti., p. 156.
- ✓ **Quezel P., Santa S.,** 1963- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II, Editions du CNRS : Paris.1170p.
- ✓ **Raquibul Hasan S.M.,** 2009 - DPPH free radical scavenging activity of some Bangladeshi medicinal plants, Journal of Medicinal Plants Research. 3(11): 875-879
- ✓ **Rebiai A., Lanez T., And Belfar M.,** 2013- Total Polyphenol Contents, Radical Scavenging And Cyclic Voltammetry Of Algerian Propolis. Int J Pharm Pharm Sci, Vol (6), Issue 1, ISSN-0975-1491. P: 395-400.
- ✓ **Ricci D., Fraternale D., Giamperi L., Bucchini A., Epifano F., Burini G.,** 2005- Chemical composition, antimicrobial, and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium marum (Lamiaceae*). J Ethnopharmacol. 98:195– 200.
- ✓ **Sabouni R., 2015-** Effet antioxydant de l'huile essentielle de la plante Guezzah (*Pituranthos chloranthus*) incorporée dans des shortenings produits au niveau de CEVITAL SPA. mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de magister en sciences alimentaires. Université constantine 1.p :15-35-37-42.
- ✓ **SBF.,** 2011- Document sur les activités de la société botanique de France « Flore et végétation de la Tunisie méridionale », 281-359.
- ✓ **Scherer R., Godoy H. T., 2009-** Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. Food Chemistry, 112 (3), 654-658.

المراجع

- ✓ **Seladji S.M., 2013-** Étude phytochimique et activités biologiques (antioxydante et antimicrobienne) des composés phénoliques des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos chloranthus* (Guezzeh) de la région de Biskra. Mémoire pour obtenir le grade de master academique en biologie. Université abou bekr belkaid-tlemcen.p :45-46-47-50-51-63.
- ✓ **Simpson W.T.,** 1999- Drying and Control of Moisture Content and Dimensional Changes. Gen. Tech. Rep. FPL–GTR–113. Madison, Forest Products Laboratory. 463 p.
- ✓ **Singleton V.L, Rossi J.A.,** 1965- Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16: 144-158.
- ✓ **Sun B.S., Ricardo-Da-Silva J.M., Spranger M.I.,** 1998-Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. J Agric Food Chem, Vol.46; 4267-4274p
- ✓ **Trabut L.,** 1935- "Flore du Nord de l'Afrique- Répertoire des plantes indigènes des Plantes spontanées, cultivées et utilisées dans le Nord de l'Afrique", Collection du Centenaire de l'Algérie, Alger.
- ✓ **Trabut L.,** 2006 - Noms indigènes des plantes d'Afrique du Nord. Ed. Ibis Press, Paris, pp. 205 – 206
- ✓ **Trease E., Evans W.C.,** 1987- Pharmacognosie. Billiaire Tindall, London 13 Th Edition.61-62 P.
- ✓ **Twidwell E. K., Wagner J. J., Thiex N.J.,** 2002- Use a Microwave Oven to Determine Moisture Content of Forages. ExEx 8077. p2.
- ✓ **Vasconcelos T., Tavares M., Gaspar N.,** 1999 - Aquatic plants in the rice
- ✓ **Vuorela S.,** 2005- Analysis, isolation and bioactivities of rapeseed phenolics. Ed, University of Helsinki, Helsinki, p:76.
- ✓ **Walter H.,** 1963- The water supply of desert plants. Symp. Brit. Ecol. Soc., 3:199-256.
- ✓ **Yacooba S.A., kaura S., Venktramanb A., Nagarajana Y., Vasudevanb S., Punniyamoorthyb B.,** 2018- Proximate composition and in *vitro* antioxidant properties of *Rhizophora mucronata* plant part extract. Asian Journal of Green Chemistry. (3):345-352.
- ✓ **Yangui T., Bouaziz M., Dhouib A., Sayadi S.,** 2009- Potential use of Tunisian *Pituranthos chloranthus* essential oils as a natural disinfectant. Letters in Applied Microbiology ISSN 0266-8254. 48: 112–117.
- ✓ **Yordi1 E., Pérez E., Matos M., And Villares E.,** 2012- Antioxidant and Pro-Oxidant Effects of Polyphenolic Compounds and Structure-Activity Relationship Evidence. Nutrition, Well- Being and Health, In Tech, ISBN 978-953-51-0125-3.
- ✓ **Zhang H., Kong B., Xiong Y.L..and Sun X.,** 2009-Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4°C. *Meat Science*.81: 686-692.
- ✓ **Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W.,** 1999- The determination of flavonoid contents in mulberry and their scanenging effects on superoxide radicals. Food chemistry, 64(4): 555-559

المواقع الالكترونية :

- ✓ موقع الدكتور عباسة، لوحظ يوم 2019/06/09

https://abbassa.wordpress.com/long-lat-djelfa.

- ✓ خرائط مجانية ، الجلفة لوحظ يوم 2019/06/09

https://d-maps.com/carte.php?num_car=183956&lang=ar.

الملاحق

الملاحق

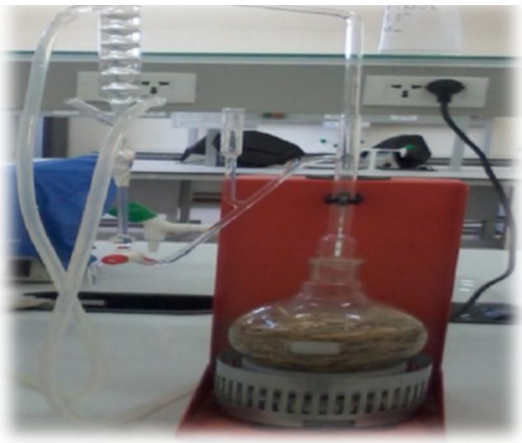
ملحق01: صور المستخلصات النباتية

ملحق 02: صور لبعض الأجهزة المستعملة

Autoclave

Routavapeur

Etuve



Clevenger

ملحق03: جداول انشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات النباتية المدروسة

Con HE	abs1	abs2	abs3	m	A1	A2	A3	A
0.4	0.65	0.666	0.659	0.658333	26.47059	24.66063	25.45249	25.5279
0.6	0.637	0.646	0.65	0.644333	27.94118	26.92308	26.47059	27.11161
0.8	0.625	0.63	0.63	0.628333	29.29864	28.73303	28.73303	28.92157
1	0.578	0.625	0.619	0.607333	34.61538	29.29864	29.97738	31.29713
2	0.574	0.564	0.565	0.567667	35.06787	36.1991	36.08597	35.78431
4	0.478	0.477	0.487	0.480667	45.9276	46.04072	44.9095	45.62594
10	0.155	0.151	0.162	0.156	82.46606	82.91855	81.67421	82.35294

ConE.H_2O	abs1	abs2	abs3	m	A1	A2	A3	A
0.2	0.518	0.526	0.511	0.518333	32.72727	31.68831	33.63636	32.68398
0.4	0.44	0.441	0.443	0.441333	42.85714	42.72727	42.46753	42.68398
0.6	0.335	0.333	0.348	0.338667	56.49351	56.75325	54.80519	56.01732
0.8	0.29	0.281	0.303	0.291333	62.33766	63.50649	60.64935	62.1645
1	0.236	0.237	0.245	0.239333	69.35065	69.22078	68.18182	68.91775
2	0.055	0.049	0.048	0.050667	92.85714	93.63636	93.76623	93.41991

ConE.EtOH	abs1	abs2	abs3	m	A1	A2	A3	A
0.2	0.594	0.588	0.6	0.594	24.90518	25.66372	24.14665	24.90518
0.4	0.437	0.485	0.48	0.467333	44.75348	38.68521	39.31732	40.91867
0.6	0.383	0.384	0.39	0.385667	51.58028	51.45386	50.69532	51.24315
0.8	0.271	0.261	0.278	0.27	65.73957	67.00379	64.85461	65.86599
1	0.2	0.204	0.185	0.196333	74.71555	74.20986	76.61188	75.1791
2	0.116	0.12	0.122	0.119333	85.33502	84.82933	84.57649	84.91361

Con E.MéOH	abs1	abs2	abs3	m	A1	A2	A3	A
0.2	0.55	0.552	0.55	0.550667	32.76284	32.51834	32.76284	32.68134
0.4	0.47	0.469	0.47	0.469667	42.54279	42.66504	42.54279	42.58354
0.6	0.399	0.386	0.39	0.391667	51.22249	52.81174	52.32274	52.11899
0.8	0.261	0.267	0.268	0.265333	68.09291	67.35941	67.23716	67.56316
2	0.102	0.103	0.099	0.101333	87.53056	87.40831	87.89731	87.61206

ملحق04: للحصول على نتائج الإحصائية و تحديد الفروقات المعنوية قمنا بإستعمال برنامج Minitab

Method

Null hypothesis: All means are equal
Alternative hypothesis: At least one mean is different
Significance level: **α = 0.05**

Equal variances were assumed for the analysis.

❖ **التقدير الكمي لعديدات الفينول**

Factor Information

Factor	Levels	Values
C2	3	1; 2; 3

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	**P-Value**
C2	2	18.14	9.070	0.86	**0.469**
Error	6	63.27	10.546		
Total	8	81.42			

Means

C2	N	Mean	StDev	95% CI
1	3	11.225	0.986	(6.638; 15.813)
2	3	14.66	2.33	(10.07; 19.25)
3	3	13.43	5.02	(8.84; 18.01)

Pooled StDev = 3.24742

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

C2	N	Mean	Grouping
2	3	14.66	A
3	3	13.43	A
1	3	11.225	A

❖ **التقدير الكمي للفلافونويد**

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	**P-Value**
fv	2	6.43112	3.21556	5323.11	**0.000**
Error	5	0.00302	0.00060		
Total	7	6.43414			

Means

fv	N	Mean	StDev	95% CI
1	2	0.74311	0.01110	(0.69844; 0.78779)
2	3	2.9885	0.0353	(2.9521; 3.0250)
3	3	2.54102	0.01415	(2.50455; 2.57750)

Pooled StDev = 0.0245780

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

fv	N	Mean	Grouping
2	3	2.9885	A
3	3	2.54102	B
1	2	0.74311	C

Means that do not share a letter are significantly different.

❖ **التقدير الكمي للتانينات**

```
Factor  Levels  Values
tanin        3  1; 2; 3


Analysis of Variance

Source  DF  Adj SS   Adj MS  F-Value  P-Value
tanin    2  2.5122  1.25611    30.04    0.001
Error    6  0.2509  0.04181
Total    8  2.7631

Means

tanin  N    Mean   StDev       95% CI
1      3   4.040   0.303  ( 3.752;  4.329)
2      3  4.8485  0.0808  (4.5596; 5.1374)
3      3  5.3199  0.1645  (5.0310; 5.6087)

Pooled StDev = 0.204474



Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

tanin  N    Mean  Grouping
3      3  5.3199  A
2      3  4.8485  A
1      3   4.040    B

Means that do not share a letter are significantly different.
```

❖ **تقدير النشاطية المضادة للأكسدة**

```
Factor Information

Factor  Levels  Values
C8           5  1; 2; 3; 4; 5


Analysis of Variance

Source  DF   Adj SS   Adj MS  F-Value  P-Value
C8       4  40.2504  10.0626  5696.20    0.000
Error   10   0.0177   0.0018
Total   14  40.2680

Means

C8  N      Mean     StDev          95% CI
1   3   0.54695   0.01101  (  0.49289;  0.60102)
2   3   0.57572   0.00283  (  0.52165;  0.62978)
3   3    0.5983    0.0173  (   0.5443;   0.6524)
4   3    4.4930    0.0917  (   4.4390;   4.5471)
5   3  0.014680  0.000507  (-0.039388; 0.068748)

Pooled StDev = 0.0420303
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

C8  N      Mean  Grouping
4   3    4.4930  A
3   3    0.5983    B
2   3   0.57572    B
1   3   0.54695    B
5   3  0.014680      C
```

❖ **الفعالية المضادة للبكتيريا**

Factor Levels Values

- ***E.coli*** 6 1; 2; 3; 4; 5; 6

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	**P-Value**
E.COLI	5	1113.02	222.605	133563.00	**0.000**
Error	12	0.02	0.002		
Total	17	1113.04			

Means

E.COLI	N	Mean	StDev	95% CI
1	3	6.000	0.000	(5.949; 6.051)
2	3	6.000	0.000	(5.949; 6.051)
3	3	6.000	0.000	(5.949; 6.051)
4	3	6.000	0.000	(5.949; 6.051)
5	3	6.000	0.000	(5.949; 6.051)
6	3	27.1000	0.1000	(27.0486; 27.1514)

Pooled StDev = 0.0408248

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

E.COLI	N	Mean	Grouping
6	3	27.1000	A
5	3	6.000	B
4	3	6.000	B
3	3	6.000	B
2	3	6.000	B
1	3	6.000	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Factor Levels Values

- ***S.aureus*** **6 1; 2; 3; 4; 5; 6**

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	**P-Value**
S.aureus	5	638.309	127.662	433.57	**0.000**
Error	12	3.533	0.294		
Total	17	641.843			

Means

S. aureus	N	Mean	StDev	95% CI
1	3	6.000	0.000	(5.317; 6.683)
2	3	6.000	0.000	(5.317; 6.683)
3	3	6.000	0.000	(5.317; 6.683)
4	3	14.900	0.656	(14.217; 15.583)
5	3	10.667	1.155	(9.984; 11.349)
6	3	22.0667	0.0577	(21.3841; 22.7493)

Pooled StDev = 0.542627

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

S. aureus	N	Mean	Grouping
6	3	22.0667	A
4	3	14.900	B
5	3	10.667	C
3	3	6.000	D
2	3	6.000	D
1	3	6.000	D

Means that do not share a letter are significantly different.
Factor Information

Factor	Levels	Values
• ***P. aeruginosa***	6	1; 2; 3; 4; 5; 6

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	**P-Value**
p. aeruginosa	5	1176.34	235.267	14602.79	**0.000**
Error	12	0.19	0.016		
Total	17	1176.53			

Means

p.aerugi	N	Mean	StDev	95% CI
1	3	6.000	0.000	(5.840; 6.160)
2	3	6.000	0.000	(5.840; 6.160)
3	3	6.000	0.000	(5.840; 6.160)
4	3	12.167	0.289	(12.007; 12.326)
5	3	6.000	0.000	(5.840; 6.160)
6	3	28.0667	0.1155	(27.9070; 28.2263)

Pooled StDev = 0.126930

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

p. aeruginosa	N	Mean	Grouping
6	3	28.0667	A
4	3	12.167	B
5	3	6.000	C
3	3	6.000	C
2	3	6.000	C
1	3	6.000	C

Means that do not share a letter are significantly different

Factor	Levels	Values
• ***B.cereus***	6	1; 2; 3; 4; 5; 6

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	**P-Value**
b.c	5	2822.15	564.430	2618.49	**0.000**
Error	12	2.59	0.216		
Total	17	2824.74			

Means

B.cereus	N	Mean	StDev	95% CI
1	3	6.000	0.000	(5.416; 6.584)
2	3	6.000	0.000	(5.416; 6.584)
3	3	6.000	0.000	(5.416; 6.584)
4	3	14.400	0.529	(13.816; 14.984)
5	3	10.000	1.000	(9.416; 10.584)
6	3	41.0667	0.1155	(40.4826; 41.6507)

Pooled StDev = 0.464280

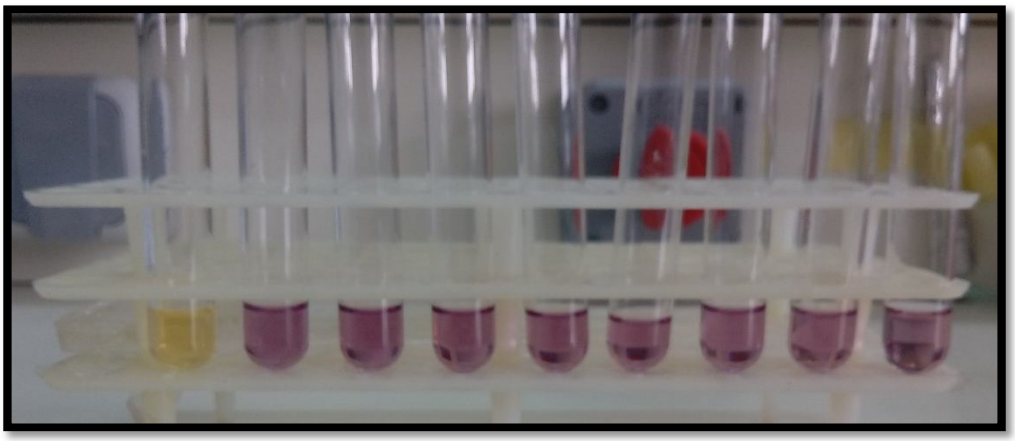
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

B.c	N	Mean	Grouping
6	3	41.0667	A
4	3	14.400	B
5	3	10.000	C
3	3	6.000	D
2	3	6.000	D
1	3	6.000	D

Means that do not share a letter are significantly different

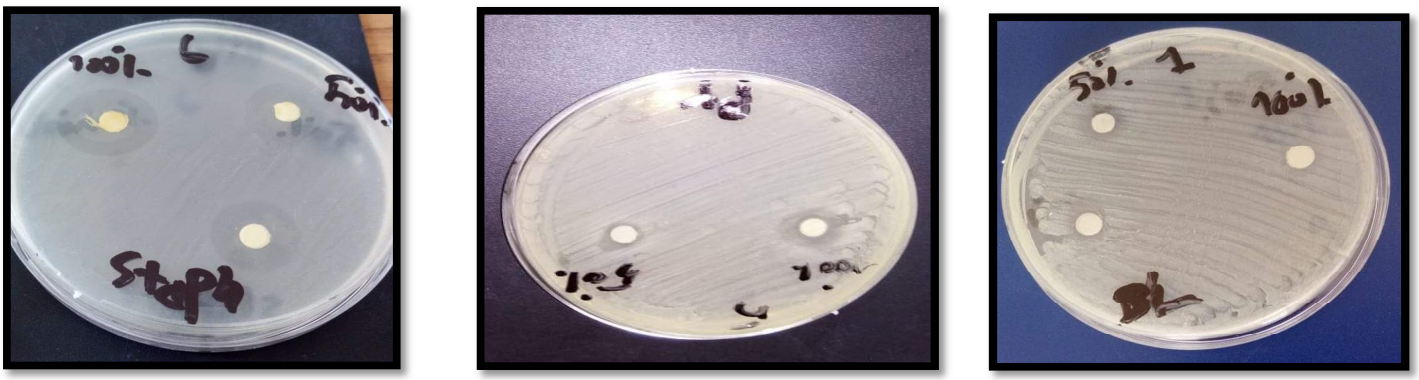
ملحق05: بعض صور الفعالية المضادة للأكسدة

فعالية مختلف تراكيز المستخلص المائي على جذر الـ $DPPH^{\cdot}$



فعالية تراكيز الزيت الطيار على جذر الـ $DPPH^{\cdot}$

ملحق 06: صور الفعالية المضادة للبكتيريا



صور تثبيط تراكيز الزيت الطيار للسلالات البكتيرية المختبرة

الملخص :

يهدف هذا العمل إلى دراسة نواتج الأيض الثانوي وتقدير الفعالية البيولوجية لمستخلصات نبات القزاح *Pituranthos chloranthus* .

بغية تحقيق هذا الهدف قمنا أولا بالكشف الكيميائي الذي أظهر وجود أغلب نواتج الأيض الثانوي، يليه تحضير المستخلصات المائية والميثانولية والإيثانولية بالنقع و استخلاص الزيت الطيار بطريقة التقطير المائي وبالمقابل سجلنا مردودية كل مستخلص حيث سجلت أعلى نسبة عند المستخلص الميثانولي بقيمة 5%، يليها عند المستخلص المائي بنسبة 4.5% والمستخلص الإيثانولي بنسبة 3.46% أما مردود الزيت الطيار فسجل بقيمة % 0.4، كما قدرت نسبة الرطوبة في النبتة بقيمة 43.8%.

ثانيا تم التقدير الكمي لعديدات الفينول و الفلافونويدات والتانينات لدى المستخلصات المائية ، الميثانولية و الإيثانولية حيث قدرت أعلى كمية عديدات الفينول لدى المستخلص الميثانولي بـ14.65±2.33 mg AG E/g MS و أقل قيمة عند المستخلص المائي 11.22±0.98 mg AG E/g MS

أما التقدير الكمي للفلافونويدات فقدرت أعلى قيمة عند المستخلص الميثانولي بـ2.9885±0.035 mg Q E/g MS و أقل قيمة عند المستخلص المائي 0.7494±0.013 mg Q E/g MS

بينما كانت أعلى قيمة للتانينات لدى المستخلص الإيثانولي وقدرت بـ 5.31±0.16 mg CA E/g MS و أقلها عند المستخلص المائي 4.04±0.30mg CA E/g MS .

ثالثا فيما يخص الفعالية البيولوجية فقد أبدت مستخلصات نبات القزاح نشاطية مضادة للأكسدة متوسطة حيث قدرت IC_{50} بـ 0.54-0.57-0.59mg/ml لكل من المستخلص المائي ، الميثانولي والايثانولي على الترتيب ، بينما كانت نشاطية الزيت الطيار ضعيفة قدرت بـIC_{50}=4.49mg/ml .

أما النشاطية المضادة لأربع سلالات بكتيرية (*Escherichia coli ,Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus ,Bacillus cereus*) فكانت إيجابية فقط مع الزيت الطيار و انعدمت مع باقي المستخلصات وسجلت أفضل أقطار تثبيط عند التركيز 100% بقيمة 14.9mm عند *S .aureus*.

الكلمات المفتاحية: *Pituranthos chloranthus* - الأيض الثانوي- النشاطية المضادة للأكسدة – النشاطية المضادة للبكتيريا .

Abstract:

This study aimed to investigate the outputs of secondary metabolism and determine the biological effectiveness of *Pituranthos Chloranthus'* extracts.

In order to achieve this goal, we first used the chemical examination, which showed the presence of most secondary metabolites. next, Preparation of methanol, ethanol and aqueous extracts by soaking and the extraction of essential oil through hydro-distillation.

In turn, the yield of each extract has been recorded; the highest percentage has been associated with the methanolic extract at 5%, followed by 4.5% that of the aqueous extract, and the ethanolic extract by 3.46%, the yield of essential oil was recorded by 0.4%. The plant's moisture content was estimated at 43.8%.

Secondly, phenol, flavonoids and tannins were estimated in aqueous, methanolic and ethanolic extracts. The highest poly phenol content was found in the methanolic extract (14.65± 2.33 mg AG E/g MS), while the lowest value spotted in aqueous extract (11.22±0.98 mg AG E/g MS). The quantative estimate of flavonoids was as its highest value in methanolic extract at an estimate of (2.9885±0.035 mg Q E/g MS) and the lowest value was found in aqueous extract (0.7494±0.013 mg Q E/g MS) , whereas the highest value concerning tannins was spotted in ethanolic extract with an estimate of (5.31±0.16 mg CA E/g MS) and its lowest value in aqueous extract (4.04±0.30mg CA E/g MS)

Thirdly, in terms of biological efficiency, the aqueous, methanolic and ethanolic extracts showed a moderate antioxidant activity where the IC_{50} was estimated at 0.54-0.57-0.59 mg/ml respectively, while the essential oil antioxidant activity was low and IC_{50} estimated to be 4.49 mg/ml .

the antibacterial activity for four bacterial strains (*Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus*) was positive only with the pure essential oil and was not with the rest of the extracts, and the best diameter inhibition was recorded at the 100% concentration with the value of 14.9 mm in *S. aureus* .

Key words: Pituranthos chloranthus- Secondary metabolism- antioxidant activity –Antibacterial activity