رقم الترتيب :

رقم التسلسلي :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي –

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص : كيمياء عضوية

من إعداد الطالبتين :

آمال موساوي

هيفاء عماري

تحت عنوان :

دراسة المنتجات الفعالة والخواص البيولوجية لنبتة *Bunuim mauritanicum* الذي ينمو في الهضاب العليا الجزائرية .

نوقشت يوم :14 / 06 / 2022 أمام اللجنة المكونة من :

مصباحي محمد عادل	أستاذ مساعد (أ)	جامعة الشهيد حمه لخضر – بالوادي	رئيسا
تامة نور الدين	أستاذ محاضر (أ)	جامعة الشهيد حمه لخضر–بالوادي	مقررا
زيدان محمد	أستاذ محاضر (أ)	جامعة الشهيد حمه لخضر– بالوادي	مناقشا

السنة الجامعية :2021 / 2022 .

بسم الله الرحمن الرحيم

الإهداء

الحمد لله وكفى والصلاة على الحبيب المصطفى وأهله ومن وفى أما بعد :

الحمد لله الذي وفقني لتثمين هذه الخطوة في مسيرتي الدراسية بمذكرتي هذه ثمرة الجهد والنجاح بفضله تعالى مهداة إلى الوالدين الكريمين حفظهما الله وأدامهما نورا لدربي

لكل العائلة الكريمة التي ساندتني ولاتزال من إخوة وأخوات.

إلى من شاركوني الدمعة والإبتسامة زميلاتي وصديقاتي دفعة ماستر 2022 إلى من يتصفح هذه المذكرة أرجوا أن يدعو لي بصالح الدعاء .

آمال

الإهداء

إلى من كلله الله بالهيبة والوفاء و من علمني العطاء دون انتظار

والدي العزيز

إلى زهرة حياتي التي لا تذبل و نبع الحنان الذي لا يفنى

أمي الحبيبة

إلى شموع الحياة وشقائق النعمان ومساند الدرب

إخوتي وأخواتي

إلى زهرة البستان وبرعم العائلة

جنان

و أهدي عملي هذا من شاركوني هذا الدرب و ابتهجوا بنجاحي و سعدوا بتخرجي صديقاتي هاجر ، آمال ، صفاء إلى زملائي وزميلاتي اللذين لا تكفيهم عبارات الاحترام والإمتناء و إلى كافة أساتذتي في مساري الدراسي وكل من وسعهم قلبي ولم تسعهم صفحتي أهذي عملي هذا .

هيفاء

الشكر والعرفان

بداية الشكر لله عزوجل الذي أعاننا وشد من عزمنا لإكمال هذا البحث، ونشكره راكعين، الذي وهبنا الصبر والمطاولة والتحدي والحب لنجعل من هذا المشروع علما ينتفع به.

قال رسول الله – صلى الله عليه وسلم : "من لم يشكر الناس لن يشكر الله ".

نتقدم بأجمل عبارات الشكر والامتنان من قلوب فائضة بالمحبة والإحترام والتقدير له، ونقدم أزكى تحياتنا وأجملها وأثناها نرسلها لك بكل الود والحب والإخلاص ... شاكرين لك كل من قدمته وما نصحته لنا به في إشرافك على هذا البحث، فلك منا كل الشكر والامتنان :

الدكتور الفاضل نور الدين تامة .

كما نتوجه بالشكر الجزيل إلى أساتذنا أعضاء لجنة المناقشة كل من مصباحي محمد عادل وزيدان محمد لقبولهم مناقشة هذه المذكرة وإستفادتنا بتصحيحاتهم ونصائحهم وتوجيهاتهم القيمة.

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

كما نتوجه بالشكر إلى المخبرية "جهاد شنة" على إنجازها لإختبارات الفاعلية البيولوجية على مستوى مخبر العمل للتحاليل الطبية.

الشكر موصول أيضا لطالبة الدكتوراه "عبير فوحمة" على كل التسهيلات والمساعدات التي قدمته لنا .

دون أن ننسى أفراد دفعة 2022

وأخيرا نتقدم بجزيل الشكر والعرفان إلى كل من ساهم في إنجاز هذا العمل راجين المولى القدير أن تكون من العارفين للناس فضلهم وأن يمكننا من رد جميلهم.

وما توفيقنا إلا بالله.

الملخص :

التالغودة (*Bunuim mauritanicum*) هي نبات طبي ينتمي إلى العائلة الخيمية المستخدمة في الطب التقليدي. كان الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تحديد المنتجات الفعالة والخواص البيولوجية للنبتة وفق المناطق التالية أم البواقي، سوق أهراس، البيض، برج بعريريج.

حيث تمكنا في هذه الدراسة من تحديد أهم المنتجات الطبيعية وذلك من خلال الكشف والإستخلاص ومن ثم التقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة (UV-Visible) حيث توصلنا من خلال هذه الدراسة إلى أن درنة نبتة التالغودة غنية بمواد الأيض الثانوي والمتمثلة في الفينولات و الفلافونويدات والقلويدات بنسب متفاوتة حيث سجلنا مردود الفينولات في منطقة أم البواقي كانت أعلى قيمة مقدرة بـ (6.49%) أما بالنسبة لمنطقة سوق أهراس فكانت أقل قيمة مقدرة بـ (2.39 %)، بينما نسبة القلويدات كانت أعلى قيمة عند (19.96 %) في منطقة البيض، وتم كذلك تحديد الفاعلية المضادة للأكسدة فقدأظهر المستخلص الفينولي لمنطقة برج بعريريج فاعلية كبيرة في تثبيط الجذر الحر (DPPH) المقدر بـ (IC_{50}= 0.130(mg/ml)، أما بالنسبة لإختبار الفولطامتري الحلقي فكانت أعلى قيمة مقدرة بـ (mgEAG/g) 157.4لمنطقة أم البواقي.

وكخطوة أخيرة تم إختبار الفاعلية المضادة للبكتيريا لهذه المستخلصات على سلالتين بكتيرية ممرضة وكانت النتائج إيجابية في جميع المستخلصات الفينولية عند التركيز الأعلى(mg/ml)10 للسلالتين (*Staphlococcus aureus*) و (*Echerichia Coli*)، حيث كان أكبر قطر تثبيطي(mm)16 للمستخلص الفينولي لمنطقة أم البواقي لسلالة (*Echerichia Coli*) أما بالنسبة للسلالة البكتيرية (*Staphlococcus aureu*) فقد سجلت أعلى قطر تثبيطي مقدر بـ (mm)14.

و في الأخير نستنتج هناك علاقة طردية بين المردود و الفاعلية البيولوجية، يعني كلما زادت نسبة المردود تزداد الفاعلية المضادة للبكتيريا و الفاعلية المضادة للأكسدة (DPPH).

الكلمات المفتاحية :

Bunuim mauritanicum، المنتجات الفعالة ،الفاعلية البيولوجية (الفاعلية المضادة للأكسدة، الفاعلية المضادة للبكتيريا).

Abstract

Talgoda *(Bunuim mauritanicum*) is a medicinal plant belonging to the *Apiacetic* family used in traditional medicine. The main objective of this study was to determine the effective products and biological properties of the plant according to the following areas:
Om El Bouaghi, Souk Ahras, Bordj Bou Arreridj and El Beidh .

In this study, we were able to identify the most important natural products through detection, extraction, and then quantitative estimation of phenolic compounds by (UV-Visible). through this study, we found that the tuber of the *Bunuim mauritanicum* plant is rich in secondary metabolites represented in phenols, flavonoids and alkaloids….in varying proportions. We recorded the yield of phenols in the Om El Bouaghi region, which was the highest value estimated, while for the Souk Ahras region, it was the lowest value estimated at (6.49%), (2.39%) while the percentage of alkaloids was the highest value at(19.96 %) byin the egg area, and the antioxidant activity was also determined. the phenolic extract of the Bordj Bou Arreridj region showed great effectiveness in inhibiting the free radical DPPH estimated at IC_{50}=0.130 (mg/ml), as for the cyclic voltammetry test it was the highest value estimated at 157.4 (mgEAG/g) for the Om El Bouaghi area.

As a last step, the antibacterial activity of these extracts was tested on two pathogenic bacterial strains, and the results were positive in all phenolic extracts at the highest concertation of 10(mg/ml) for the two strains on(*Echerichia –coli*) , *Staphlococcus - aureus* where the largest diameter was 16(mm) . For the phenolic extract of Om El Bouaghi region of *(Echerichia –coli)* strain *(Staphlococcus – aureu*), the highest estimated transduction diameter was recorded 14mm .

Finally, we conclude that there is a direct relationship between yield and biological activity, meaning the yield rate, the greater the antibacterial activity and antioxidant activity(DPPH).

Key words:

Bunuim mauritanicum, effective products , biological efficacy (anti-oxidant activity, anti-bacterial activity).

الفهرس

المحتويات	الصفحة
الإهداء	
الشكر والعرفان	
الملخص	
فهرس المحتويات	
قائمة الجداول	
قائمة الأشكال	
قائمة الرموز والإختصارات	
مقدمة	1
المراجع	
الجزء النظري	
الفصل الأول : الدراسة النباتية	
I.1. دراسة عامة حول النباتات الطبية	3
I.1.1. تعريف النباتات الطبية	3
I.1.2. طرق إستخدامها	3
I.1.3. أهمية النباتات الطبية	3
I.2. العائلة الخيمية Apiaceae	3
I.2.1. تعريف العائلة الخيمية	3
I.2.2. جنس Bunuim	4
I.3. نبات *Bunuim mauritanicum*	4
I.3.1. تعريف نبات *Bunuim mauritanicum*	4
I.3.2. التصنيف النباتي	5
I.3.3.الأسماء الشائعة للنبات	5
I.3.4.التركيب الكيميائي والقيمة الغذائية	5
I.3.5.إستعمالاتها	6
I.4. دراسات سابقة	6
المراجع	

الفصل الثاني : المنتجات الفعالة والأيض الثانوي	
مدخل	9
II.1. تعريف المنتجات الفعالة	9
II.2. القلويدات	9
II.2.1. تعريف القلويدات	9
II.2.2. تسمية القلويدات	10
II.2.3.تصنيف القلويدات	10
II.2.3.1 على أساس الفعالية البيولوجية	10
II.2.3.2. على أساس البنية الكيميائية	11
II.2.3. مصدر القلويدات	13
II.2.4. خصائص القلويدات	13
II.3. الفينولات	14
II.3.1. تعريف الفينولات	14
II.3.2. تصنيف الفينولات	14
II.3.2.1.الفينولات البسيطة (C_6)	14
II.3.2.2. الأحماض الكربوكسيلية الفينولية	15
II.3.2.3.الكومارين (C_6-C_3)	16
II.3.2.4. الستلبينات (C_6-C_2-C_6)	16
II.4. الفلافونويدات	17
II.4.1. تعريف الفلافونويدات	17
II.4.2. تصنيف الفلافونويدات	17
II.4.3. خصائص الفلافونويدات	19
II.4.3.1. الليغنان $(C_6-C_3)_2$	19
II.4.3.2. الليغنين $(C_6-C_3)_n$	19
II.4.3.3. التنينات	20
II.4.4. أهمية الفينولات	21
المراجع	

الفصل الثالث : الفاعلية البيولوجية	
تمهيد	23
III.1. البكتيريا	24
III.1.1. مفهوم البكتيريا	24
III.1.2. تسمية البكتيريا	24
III.1.3. خصائص البكتيريا	24
III.1.4. التركيب الخلوي للبكتيريا	25
III.1.4.1. المكونات الأساسية للخلية البكتيرية	25
III.1.4.2 المكونات الثانوية للخلية البكتيرية	26
III.1.5. تصنيف البكتيريا	27
III.1.6. البكتيريا المستعملة في الدراسة	29
III.2. المضادات الحيوية	32
III.2.1. تعريف المضادات الحيوية	32
III.2.2. أنواع المضادات الحيوية	33
III.2.3. طرق تأثير المضادات الحيوية	33
III.3. المقاومة البكتيرية للمضاد الحيوي	34
III.3.1. تعريف المقاومة البكتيرية	34
III.3.2. أسباب المقاومة البكتيرية	34
III.3.3. طرق التعرف على حساسية أو مقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي	34
III.3.3.1. خواص الجذمة البكتيرية	34
III.3.3.2. كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي	34
III.4. الجذور الحرة	36
III.4.1. تعريف الجذور الحرة	36
III.4.2. أنواع الجذور الحرة	36
III.4.2.1.على أساس الإستقرار	36
III.4.2.2. على أساس النوع	37
III.4.3. مصادر الجذور الحرة	37
III.4.4. عمل الجذور الحرة	38

5.4.III. أضرار الجذور الحرة	38
5.III. مضادات الأكسدة	39
1.5.III. تعريف مضادات الأكسدة	39
2.5.III. تصنيف مضادات الأكسدة	39
1.2.5.III. مضادات الأكسدة الطبيعية	39
2.2.5.III. مضادات الأكسدة الصناعية	40
3.5.III. آلية عمل مضادات الأكسدة	41
4.5.III. شروط إضافة مضادات الأكسدة	41
المراجع	
الفصل الرابع : الطرق والوسائل	
مدخل	42
1.IV. تحضير العينات	42
2.IV.المواد والأساليب	43
3.IV.الكشف الفيتوكيميائي لنبتة التالغودة	44
1.3.IV. الكشف عن القلويدات	45
1.1.3.IV. تحضير كاشف ماير (Mayer Sreagent)	45
2.1.3.IV. طريقة العمل	45
2.3.IV. الكشف عن الفينولات	46
1.2.3.IV. طريقة العمل	46
3.3.IV. الكشف عن الفلافونويدات	46
1.3.3.IV. طريقة العمل	46
4.IV. إستخلاص المنتوجات الفعالة	47
1.4.IV. تعريف الإستخلاص	47
1.1.4.IV. إستخلاص (صلب – سائل)	47
2.1.4.IV. إستخلاص (سائل – سائل)	48
2.4.IV. طريقة إستخلاص المركبات الفينولية لنبتة *Bunuim mauritanicum* بالنقع	48
3.4.IV. طريقة إستخلاص المركبات القلويدية لنبتة *Bunuim mauritanicum* بالنقع	51
1.3.4.IV. تحرير القلويدات بشكلها القاعدي و إستخلاصها	51

2.3.4.IV. التنقية	51
5.IV. مردود الإنتاجية للمستخلصات	54
6.IV. التقدير الكمي بواسطة الأشعة فوق البنفسجية والمرئية	54
1.6.IV. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية	54
2.6.IV. المبدأ	54
3.6.IV. التقدير الكمي للمركبات الفينولية (UV-Visible)	55
1.3.6IV. المنحنى القياسي لحمض الغاليك (Acide Gallique)	55
2.3.6.IV. التقدير الكمي للمستخلصات الفينولية	56
4.6.IV. التقدير الكمي للمستخلصات الفلافونويدية	57
1.4.6.IV. المنحنى القياسي لحمض الكرسيتين	57
2.4.6.IV. طريقة العمل	58
7.IV.طرق تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة	59
1.7.IV. دراسة الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الكيميائية	59
1.1.7.IV. إختبار الجذر التثبيطي الحر (DPPH)	59
2.1.7.IV. آلية تثبيط العامل المضاد للأكسدة	60
3.1.7.IV. تحضير كاشف (DPPH)	60
4.1.7.IV. المنحنى القياسي لحمض الأسكورييك	60
5.1.7.IV. طريقة العمل	61
6.1.7.IV. حساب نسبة التثبيط I% للجذر الحر (DPPH)	61
2.7.IV. تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة بالطريقة الكهروكيميائية (إختبار الفولطامتري الحلقي)	62
1.2.7.IV. التقنية الفولطامترية الحلقية	62
2.2.7.IV. الخصائص الكهروكيميائية الفينولية	63
3.2.7.IV. طريقة تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة	63
8.IV. دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا	66
المراجع	
الفصل الخامس : النتائج والمناقشة	
1.V. نتائج الكشف الفيتو كيميائي لنبتة *Bunuim mauritanicum*	69
1.1.V. الكشف عن القلويدات	69

V.2.1. الكشف عن الفينولات	69
V.3.1. الكشف عن الفلافونويدات	69
V.2. مردود المستخلصات	73
V.3. الدراسة الكمية للمستخلصات الفينولية	76
V.1.3. التقدير الكمي للفينولات بواسطة (UV- Visible)	76
V.2.3. التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة (UV-Visible)	78
V.4. تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة	79
V.1.4.نتائج القدرة التثبيطية للجذر الحر (DPPH)	79
V.2.4. إختبار الفولطا متري الحلقي (VMC)	83
V.5. الفاعلية المضادة للبكتيريا	85
V.1.5. دراسة تأثير المستخلصات القلويدية	86
V.2.5. دراسة تأثير المستخلصات الفينولية	87
المراجع	
الخاتمة	89
الملاحق	

قائمة الجداول

الجدول (1.I): التصنيف النباتي لنبتة *Bunuim mauritanicum*	5
الجدول (2.I) : نسب بعض المواد المتواجدة في نبتة *Bunuim mauritanicum*	6
الجدول (1.II): تصنيف القلويدات على أساس البنية الكيميائية	12
الجدول (2.II): الهيكل الأساسي وبعض أنواع الكومارين	16
الجدول (3.II): البنية العامة للستلبينات	17
الجدول (4.II): تصنيف الفلافونويدات	18
الجدول (1.III): بكتيريا *E.coli*	29
الجدول (2.III): بكتيريا Staphlococcus aureus	30
الجدول (3.III): بكتيريا *Klesiella pneumoniae*	31
الجدول (4.III): بعض الأمثلة عن المصادر الداخلية و الخارجية للجذور الحرة	37
الجدول (1.IV): المواد والأدوات المستعملة في الدراسة	43
الجدول (2.IV): نتائج الإمتصاصية A لحمض الغاليك بدلالة التركيزC	55
الجدول (3.IV): نتائج الإمتصاصية A لحمض الأسكوربيك بدلالة التركيزC	60
الجدول (1.V): نتائج الكشف عن المنتجات الفعالة في المستخلصات النباتية	70
الجدول (2.V): مردود المستخلصات المدروسة	74
الجدول (3.V): قيم الإمتصاصية للتراكيز المحضرة للفينولات	76
الجدول (4.V): كمية الفينولات الكلية في المستخلصات	77
الجدول (5.V): قيم الإمتصاصية للتراكيز المحضرة للفلافونويدات	78
الجدول (6.V): كمية الفلافونويدات الكلية في المستخلصات	78

الجدول (7.V): نسبة التثبيط المئوية للعينة Ph-Om	79
الجدول (8.V): نسبة التثبيط المئوية للعينة Ph-So	79
الجدول (9.V): نسبة التثبيط المئوية للعينة Ph-By	79
الجدول (10.V): نسبة التثبيط المئوية للعينة Ph-Bo	80
الجدول (11.V): توضيح نتائج إختبار الـ DPPH بالنسبة للمستخلصات	82
الجدول (12.V): كمية مضادات الأكسدة في المستخلصات النباتية بإستعمال الفولطامتري الحلقي	85
الجدول (13.V): تراكيز المستخلصات الفينولية والقلويدية المحضرة لدراسة الفعالية المضادة للبكتيريا	86
الجدول (14.V): أقطار التثبيط للبكتيريا *Echerichia Coli* الناتجة عن تراكيز مختلفة	87
الجدول (15.V): أقطار التثبيط للبكتيريا *Staphlococcus aureu* الناتجة عن تراكيز مختلفة	88

قائمة الأشكال	
الشكل(1.I): صور مختلف أعضاء نبات *Bunuim mauritanicum*	4
الشكل (1.II): مثال عن القلويدات الأولية	11
الشكل (2.II): مثال عن القلويدات الحقيقية	11
الشكل (3.II): مثال عن القلويدات غير حقيقية	11
الشكل (4.II): البنية العامة للفينولات	14
الشكل (5.II) : بعض الأمثلة عن الفينولات البسيطة	15
الشكل(6.II): الصيغة العامة لحمض البنزويك والأحماض المشتقة منه	15
الشكل(7.II): الصيغة العامة لحمض هيدروكسي سيناميك للأحماض المشتقه منه	16
الشكل (8.II): البنية العامة للفلافونويدات	17
الشكل (9.II): بعض الأمثلة عن الليغنان	19
الشكل (10.II): التركيب الكيميائي للغنين	20
الشكل (11.II): البنية العامة للتنينات	21
الشكل (12.II): البنية العامة للتنينات المكثفة	21
الشكل (1.III): تركيب الخلية البكتيرية	25
الشكل(2.III) : صورة الفحص المجهري لـ *E.coli.*	30
الشكل (3.III): صورة بالمجهر الإلكتروني ***S.aureus***	31
الشكل (4.III):صورة بالمجهر الإلكتروني ***K.pneumoniae***	32
الشكل (5.III): قطر منطقة التثبيط للبكتيريا	35

الشكل (III. 6): الصيغة العامة للجذر الحر (DPPH)	37
الشكل (III.7) : مضادات الأكسدة الطبيعية	39
الشكل (III .8) : صيغ لـ BHA	40
الشكل (III.9): الصيغة الكيميائية لـ BHT	40
الشكل (III.10): الصيغة الكيميائية لحمض الغاليك	41
الشكل (IV.1): مراحل تحضير نبات التالغودة	42
الشكل (IV.2): مراحل تحضير المستخلص الكحولي	44
الشكل (IV.3):مراحل تحضير المستخلص المائي	45
الشكل (IV.4): عملية الكشف عن القلويدات	46
الشكل (IV.5): عملية الكشف عن الفينولات	46
الشكل (IV.6): عملية الكشف عن الفلافونويدات	47
الشكل (IV.7): مراحل إستخلاص الفينولات بطريقة النقع	49
الشكل (IV.8): مخطط يوضح مراحل إستخلاص الفينولات بطريقة النقع	50
الشكل (IV.9): مراحل إستخلاص القلويدات بطريقة النقع	52
الشكل (IV.10): مخطط مراحل إستخلاص القلويدات بطريقة النقع	53
الشكل (IV.11): المنحنى القياسي لحمض الغاليك	56
الشكل (IV.12): المستخلصات بعد الكشف عن الفينولات	57
الشكل (IV.13): آلية تشكيل المعقد الأصفر	57
الشكل (IV.14): منحنى القياسي للكرستين	58
الشكل (IV.15): نتائج المحاليل بعد إضافة $ALCl_3$	58

الشكل (16.IV): آلية تثبيط العامل المضاد للأكسدة مع الجذر الثابت DPPH	60
الشكل (17.IV): المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك	61
الشكل (18.IV): نتائج لبعض المستخلصات بعد إضافة DPPH	61
الشكل (19.IV): المنحنى العام للفولطا متري الحلقي	62
الشكل (20.IV): صور أنواع المسرى المستعملة في الجهاز	64
الشكل (21.IV): منحنى الفولطامتري لحمض الغاليك بدلالة التركيز	65
الشكل (22.IV): المنحنى القياسي لحمض الغاليك حسب الطريقة الفولطامترية الحلقية	66
الشكل (1.V) : مخطط يوضح مردود المستخلصات للمركبات الفينولية	75
الشكل (2.V) : مخطط يوضح مردود المستخلصات للمركبات الأملاح القلويدية	76
الشكل (3.V) : مخطط يوضح كمية الفينولات الكلية في المستخلصات	77
الشكل (4.V) : مخطط يوضح كمية الفلافونويدات الكلية في المستخلصات	79
الشكل (5.V) : منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH للمستخلص Ph-Om	80
الشكل (6.V) : منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH للمستخلص Ph-So	80
الشكل (7.V) : منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH للمستخلص Ph-By	81
الشكل (8.V) : منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH للمستخلص Ph-Bo	81
الشكل (9.V) : المنحنى المرجعي لحمض الأسكوربيك	82
الشكل (10.V) : المنحنى الفولطامتري الحلقي للمستخلص الفينولي ph- Om	83
الشكل (11.V) : المنحنى الفولطامتري الحلقي للمستخلص الفينولي ph-So	83
الشكل (12 .V) : المنحنى الفولطامتري الحلقي للمستخلص الفينولي ph- By	84
الشكل (13.V) : المنحنى الفولطامتري الحلقي للمستخلص الفينولي ph- Bo	84

الرمز	بالعربية	بالأجنبية
%	النسبة المئوية	Pourcentage
C°	درجة مئوية	Degré Celsius
A	الإمتصاصية	Absorbance
AG	حمض الغاليك	Acide Gallique
AQ	حمض الكرستين	Acide Qurcitine
AA	حمض الأسكوربيك	Acide Ascorbique
UV-Visible	طيف الأشعة فوق البنفسجية والمرئية	Spectrophotométre ultra-violet et visible
DPPH	2.2- ثنائي-1- فينيل بكريل هيدرازيل	2,2Diphenyl-1-Picrylhydrazyl
I %	نسبة تثبيط العامل المضاد للأكسدة لجذر DPPH·	Pourcentage de d'inhibitrice du radicale DPPH
IC_{50}	تثبيط نسبة 50% من تركيز الجذور الحرة	Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH
BHT	بيوتيل هيدروكسي تولين	Butylated hydroxytoluene
BHA	بيوتيل هيدروكسي الأنيسول	Butylated hydroxyanisole
ADN	حمض نووي ريبوزي منقوص الأكسجين	Acide Désoxyribonucléique
E.Coli	اشيريشيا كولي	Escherichia coli
St.a	ستافيلوكوكيز أروز	Staphlococcus aureus

المقدمة

مقدمة:

منذ القدم كانت الحياة تعتمد على النباتات بصورة كبيرة دون سواها من الكائنات، فوجد الإنسان نفسه بين النباتات التي تعد المصدر الأول والأساسي لغذائه ودوائه وهذا من خلال إحتكاكه المباشر بالطبيعة، ومنذ ذلك الحين عرف الإنسان التداوي بالأعشاب فربط بين النباتات الطبية وبين الأمراض التي يصاب بها [1].

بعد إكتشاف المضادات الحيوية وإستعمالها الواسع أخذ إستعمال النباتات والأعشاب الطبية والعطرية في التداوي في الطب الشعبي بالتراجع، ولكن مع مرور الزمن أظهرت المضادات الحيوية الصناعية أعراض جانبية لبعض سلالات الأحياء المجهرية لهذا إستعادت النباتات والأعشاب الطبية والعطرية مكانتها لإعتبارها من أهم مصادر الأدوية، بالإضافة إلى إستعمالها كمواد نكهة للطعام وحافظة وذلك لتوفرها في الطبيعة وإحتوائها على مواد ذات فاعلية عالية وإستعمال واسع لعدم وجود تأثيرات جانبية على صحة الإنسان[2].

في مجال العلوم الطبية وتقدم البحث العلمي حيث عرفت السنوات الأخيرة تزايدا كبيرا في إستخدام النباتات الطبية، ونظرا لتربع الجزائر على مساحة هائلة أدى ذلك إلى تنوع في التضاريس والظروف المناخية، وبالتالي تنوع الغطاء النباتي فيها، مما أوجد العديد من الفصائل والأجناس النباتية البرية المختلفة [3].

فالجزائر بلد معروف بهذه الموارد الطبيعية ولديها نباتات غنية ومتنوعة بشكل فريد، حيث تم تسجيل حوالي 3000 نوع من النباتات15٪ منها متوطنة وتنتمي إلى عدة عائلات نباتية [4]. في هذا السياق إستند إختيار نباتنا إلى إستخدامه المتكرر في الطب الشعبي، لذا تطرقنا لدراسة نبات التالغودة ***Bunuim mauritanicum***وهو نبات طبي مشهور للغاية في شرق الجزائر، وخاصة في الهضاب العليا الجزائرية، وهو ينتمي إلى عائلة Apiaceae[5].

وتم إكتشاف التأثير العلاجي لهذا النوع على مرض إخلال الغدة الدرقية، ومن أجل معرفة أكثر عن تأثيرات علاجية أخرى للنبات تمت دراسة معمقة لتحديد مختلف الفاعلية البيولوجية لديها، ولتحقيق هذه الدراسة قسمت إلى قسمين أساسين :

- **الجزء النظري :** يتضمن ثلاثة فصول الفصل الأول مخصص بالدراسة العامة حول نبات (التالغودة) *Bunuim mauritanicum*، الفصل الثاني يدرس المنتجات الفعالة للأيض الثانوي و الفصل الثالث يشمل الفاعلية البيولوجية.
- **الجزء العملي :** يتضمن فصلين الفصل الرابع الطرق والوسائل، والفصل الخامس مخصص لعرض ومناقشة النتائج التي تم الحصول عليها.

وفي النهاية نختم عملنا بخاتمة تشمل أهم النتائج المتحصل عليها في الدراسة.

المراجع

قائمة المراجع:

المراجع باللغة العربية :

[1] د.غسان حجاوي (2009) علم العقاقير والنباتات الطبية، دار الثقافة للنشر، عمان، الأردن.

[2] مجراد حمزه، النباتات الطبية والعطرية وطرق ا. غسان حجاوي ستخدامها في التداوي، مذكرة التخرج للحصول على شهادة الماستر، جامعة الأخوة منتوري، قسنطينة، السنة الجامعية 2019-2020.

[3] بازري كمال الدين. النباتات الطبية والعطرية وطرق استخدامها في التداوي، مذكرة التخرج لنيل شهادة الماستر جامعة الإخوة منثوري قسنطينة، الموسم الجامعي 2019.

المراجع باللغة الأجنبية :

[4] Djahra , A. B. (2014). *Etude phytochimique et activité antimicrobienne antioxydante antihépatotoxique de Marrube blanc ou Marrubiumvulg are L* (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat Unique. Université Badji Mokhtar–Annaba (Algérie) 114p).

[5] Chentouh, S., Boulahbel, S., Adjal, F., Tolba, M., Alloua, N., MOUMEN, Y., & BENTAYEB, Y. (2018). Effets des extraits organiques *de Bunium incrassatum* sur quelques paramètres hématologiques chez les lapines de population la race locale. *Revue des bio ressources*, *8*(2), 9-9.

الجزء

النظري

الفصل الأول:

الدراسة النباتية

I.1.دراسة عامة حول النباتات الطبية :

I.1.1.تعريف النباتات الطبية :

النباتات الطبية هي كل نبات يحتوي على عضو أو أكثر من أعضائه على مادة كيميائية، التي لها القدرة الفيزيولوجية لمعالجة أو تقليل من إصابة مرض معين، وهو نبات طبي يستخدم مباشرة بصورته النباتية أو بإستخلاص المركبات الكيميائية الفعالة منه لتدخل في التحضيرات الدوائية [1]. النباتات الطبية لها القدرة على إنتاج العديد من أنواع المنتجات الفعالة[2] .

I.1.2.طرق استخدامها : يتم استخدام النباتات الطبية على شكلين هما :

- ✓ **الشكل الخام** : ويكون على شكل منقوع، الزيوت العطرية أو مستخلصات الأصبغة .
- ✓ **الشكل النقي** : تستخدم المركبات النقية عندما تكون المنتوجات الفعالة ذات تأثير قوي، شرط أن يكون العنصر الفعال هو المسؤول عن الأثر العلاجي محددا ومعروفا كيميائيا [3].

I.1.3. أهمية النباتات الطبية: في الفترة الأخيرة أصبحت النباتات الطبية ذات أهمية كبيرة في الزراعة والاستثمار، إذ تعتبر من أهم المصادر الطبيعية لصناعة الأدوية، وهذا راجع لمواده الفعالة التي تعمل كمحفز ومنشط لعلاج الأمراض بشكل فعال[4].

كما تستعمل في المجال الصناعي مثل صناعة العطور ومواد التجميل وفي صناعة المبيدات الحشرية بفضل قدرتها القاتلة للحشرات والفطريات، كما لها أهمية في الجانب الغذائي إذ تستعمل في التوابل التي تضيف الطعم واللون والرائحة المميزة [5].

I.2. العائلة الخيمية *Apiaceae* :

I.2.1. تعريف العائلة الخيمية :تعتبر الفصيلة الخيمية من الفصائل النباتية المألوفة، إذ تحتوي على مجموعة النباتات العشبية[5]، تتميز برائحة عطرية في جميع أجزائها النباتية خاصة البذور، تتميز بأوراق مركبة ومتبادلة، وسيقانها مجوفة يبلغ طولها حوالي4 متر، و ذات أزهار مظلة [6].

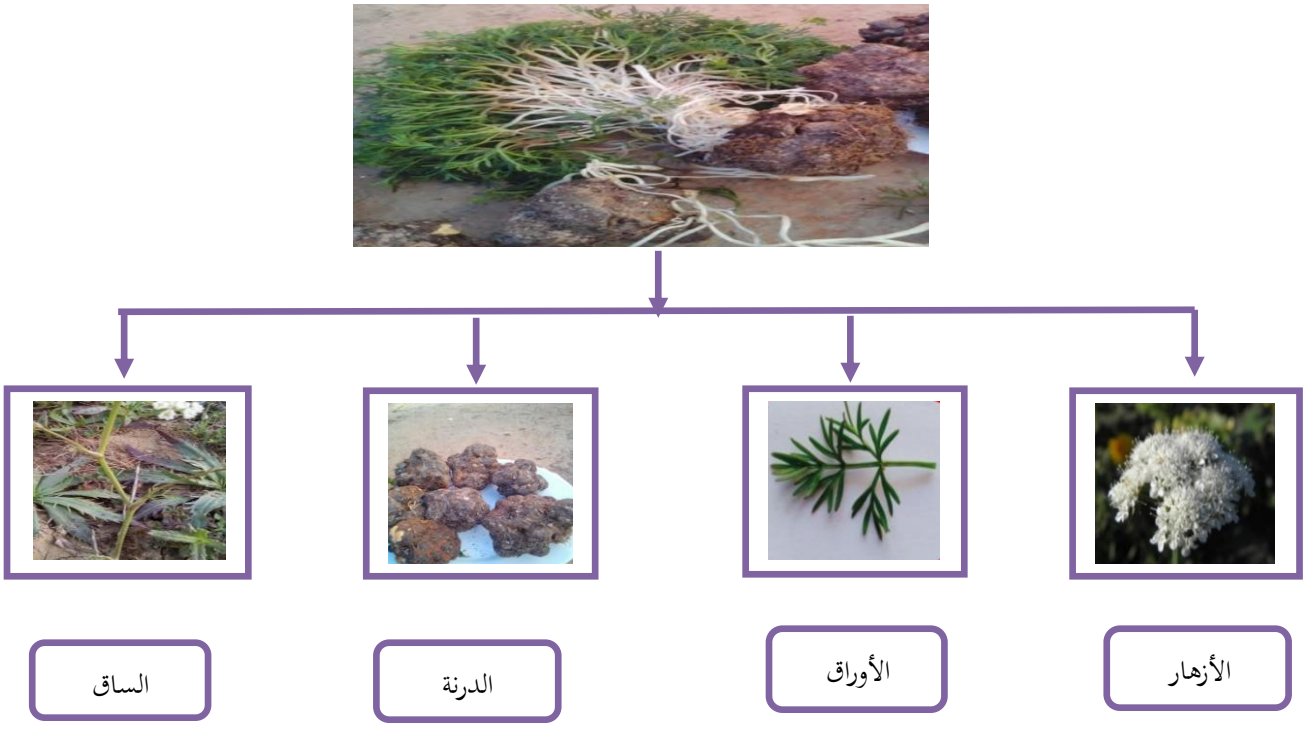
I .2.2.جنس *Bunuim*:

جنس نباتي ينتمي إلى الفصيلة الخيمية [7]، و هو نبات عطري ذو خصائص طبية، وغالبا ما تستخدم بذورها بالإضافة إلى زيوتها الأساسية المستخلصة من بذورها في الغذاء والدواء [9-8].

I.3.نبات *Bunuim mauritanicum* :

I.3.1.تعريف نبات *Bunuim mauritanicum* :

التالغودة، أو كما تعرف ببلوط الأرض تنتمي للعائلة الخيمية [11-10]، وهو نبات عشبي سنوي بري، يبلغ طوله حوالي(30-70) سم يتميز بجذور رقيقة و مجعدة خاصة تجاه القمة، مخططة و مرتفعة [12]، أوراقها جذرية مثقبة ومتبادلة ذات اللون الأخضر الداكن وحجم ومظهر متوسط، ولونها خارجيا بني داكن يميل إلى السواد، وبيضاء من الداخل، ذات أزهار مظلة وبيضاء اللون [13].



الشكل (I.1):صور مختلف أعضاء نبات *Bunuim mauritanicum*

I.2.3.التصنيف النباتي لـ *Bunuim mauritanicum*:

تنتمي نباتات عائلة Apiaceae إلى فصيلة phanerogams أو spermatophyte لأنها نباتات جذرية [7]. ويمكن توضيح التصنيف النباتي لـ *Bunuim mauritanicum*[9-8-5] في الجدول (I.1).

الجدول (I.1): التصنيف النباتي لنبتة *Bunuim mauritanicum*

Plante النبات	**Régne** المملكة
Tracheobionta	**Sous Régne** تحت المملكة
Magnoliophyta	**Division** شعبة
Magnoliopsida	**Classe** الصنف
Apiales	**Ordre** الرتبة
Apiaceae	**Famille** العائلة
Bunuim	**Genre** الجنس
Bunuim mauritanicum	**Espece** النوع

I.3.3. الأسماء الشائعة لنبات ***Bunuim mauritanicum*** :

- ✓ **الإسم العلمي** : *Bunuim mauritanicum*
- ✓ **الأسماء الشائعة بالفرنسية**: Bunuim de Gland terre ou Noix ou Acornde terre
- ✓ **الإسم العربي**:التالغودة (talghouda).
- ✓ **مرادفات الاسم الشائع** : بلوط الأرض، الكستناء المطحون أو الجوز المطحون.

I.4.3.التركيب الكيميائي والقيمة الغذائية :

كشف التركيب الكيميائي لبذور *Bunuim mauritanicum* لإحتوائه على مجموعة من المواد الكيميائية لكن بنسب مختلفة من بين هذه المواد هي الكومارين، βسيتوستيرول، السكروز بالإضافة إلى حمض الأوليك. إذ تنمو جذورها في البر وتعطي درنة غنية بالنشأ [16-15-14].

الجدول (2.I): نسب بعض المواد المتواجدة في بذور نبتة *Bunuim mauritanicum*

المكون	النسبة (%)
الكومارين	15.6%
مـــاء	5.5%
مادة نيتروجينية	7%
دهـــون	1.34%
نشـــأ	63.2%
سيليلوز	6.4%

5.3.I.إستعمالاتها:

أنواع جنس *Bunuim* هي نباتات عطرية ذات خصائص طبية، وغالبا ما تستخدم زيوتها الأساسية وكذلك بذورها في الغذاء. يستخدم هذا النبات بشكل كبير في علاج مرض الغدة الدرقية، ومع العلم أنه في النظام الطبيعي للطب تعتبر الدرنات المجففة والمسحوقة مضادة للإسهال ومفيدة ضد البواسير الإلتهابية، كما يستخدم هذا النبات لعلاج السعال، ويستخلص زيته الطيار كمضاد للغازات وعلاج آلام المعدة [12-14].

4.I. دراسات سابقة :

- ✓ قامت مزياني رحمة الله وليبوزيد روفيدة بدراسة الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للإلتهابات لنوع *Bunuim mauritanicum*، لتحديد الأنشطة البيولوجية للنبتة وتقييم النشاط المضاد للأكسدة والبكتيريا، حيث أظهرت نتائج التقدير الكمي أن مردود الإستخلاص قدر بنسبة (3.1%)، وأن المستخلص يحتوي على كمية كبيرة من الفينولات و الفلافونويدات، بإضافة إلى ذلك فإن المستخلص الميثانولي للأوراق له قدرة إختزال كبيرة مقارنة مع حمض الأسكوربيك [15].
- ✓ قام بسرني ربيع وعمري يزيد بدراسة فيتو كيميائية لنبتة *Bunium incrassatumBoiss* وتثمين الفاعلية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلصاته، حيث أظهر من خلال الكشف الكيميائي وتقدير مردود المستخلصات الميثانولية والبيتانولية المستخلصة بواسطة طريقة النقع والأمواج فوق الصوتية وكذلك دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة المستخلصة. بحيث أثبتت الدراسة الفيتو كيميائية أن نبات

*Bunuim incrassatum*غني بالمواد الفعالة بما في ذلك الفينولات، الفلافونويدات، الكومارين والستيرويدات، الصابونين و التنينات وغياب كل من القلويدات والبروتينات. وأظهر التقدير الكمي للمستخلص الميثانولي بطريقة النقع و الأمواج فوق الصوتية متفوقة وبالنسبة للفاعلية المضادة للبكتيريا فقد أظهرت نتائج فعالة [4].

- ✓ قامت دو نهلة وقدة نرجس بدراسة المساهمة في تأثير *Bunuim mauritanicum* على نشاط الغدة الدرقية لدى مرضى معينين في منطقة الوادي، حيث أظهرت تقييم تأثيرات المستخلصات النباتات الجافة لـ *Bunuim mauritanicum*، حيث أظهرت نتائج التحليل أن للنبتة دور في علاج قصور الغدة الدرقية، ومن ناحية أخرى لها تأثيرات سلبية مثل زيادة نسبة الكوريستيرول والدهون الثلاثية [17].
- ✓ قامت وداد كورا ويسرى سلمي بدراسة الفاعلية البيولوجية لنبات الطبي *Bunuim mauritanicum L* وتفسير النسب المتحصل عليها في النشاط المضاد للأكسدة، حيث أظهرت النتائج أن مردود الأسيتون أفضل لمستخلص الماء الساخن قدرت بـ 23.4%، وأعلى كمية للبوليفينول قدرت بـ

(170 ± 108 µg EAG/mg)

في مستخلص الأسيتون، و أعلى كمية للفلافونويدات قدرت بـ (54.21 ± 2.82 mg EQ/g) في مستخلص أسيتات الإيثيل [18].

- ✓ قامت بكري سماح ودلمي فاطمة الزهرة بدراسة إيثوبوتانية للنبتة الطبية *Bunuim mauritanicum* بمنطقة المسيلة لجمع كل المعلومات المهمة عن النبات مع مقارنة نسب الفئات التي تستخدمها في العلاج، حيث أظهرت نتائج المسح أن الدرنات هي الجزء الأكثر إستعمالا مقارنة بالأعضاء النباتية الأخرى، و من خلال الإستبيان تبين أن النساء تستخدم هذا النبات أكثر من الرجال بنسبة تقدر بـ 60 %، وخاصة الفئة الريفية نظرا لفضائل العلاجية لنبتة *Bunuim mauritanicum* [19].
- ✓ قام chentouch و boulahbel بدراسة تقييم المستخلصات العضوية *لنبتة Bunuim incrassatum* على تطور بعض معاملات أمراض الدم لدى الأرانب، حيث أظهرت النتائج المتحصل عليها أن العلاج بالمستخلصات العضوية لنبات *Bunuim incrassatum* لها تأثير في زيادة وزن جسم الأرانب، بالإضافة إلى التأثيرات على المقاييس الدموية[7].
- ✓ قام S.karouche و henouda.A و malki.S بدراسة تقييم محتوى الفينول والأنشطة البيولوجية لمستخلصات الميثانولي والمائي لدرنات نبتة *Bunuim mauritanicum* بحيث أظهر التحليل الكمي أن

نسبة مردود للمستخلصات الميثانولي والمائي (7.81%- 6.79%) على التوالي، بالإضافة إلى ذلك يمثل المستخلص المائي للدرنات أهم نشاط مضاد للأكسدة، حيث أن مستخلصات الدرنات لها قدرات إختزال منخفضة [20].

المراجع

قائمة المراجع:

المراجع باللغة العربية :

[1] بوحفص، نريمان، جعريط، سهيلة، بن بوط. (2021). دراسة كيميائية وبيولوجية لجذور نبات *Glycyrrhiza Glabra*.

[2] مجراد حمزه، النباتات الطبية و العطرية و طرق استخدامها في التداوي، مذكرة التخرج للحصول على شهادة الماستر، جامعة الأخوة منثوري، قسنطينة ، السنة الجامعية 2019-2020، ص20.

[4] بسربني ربيع، وعمري يزيد، دراسة فيتو كيميائية لنبات التالغودة (Talghouda) و تثمين الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة لمستخلصاته، مذكرة التخرج لنيل شهادة الماستر،جامعة الشهيد حمه لخضر، بالوادي السنة الدراسية 2019-2020، ص 6 .

[5] أحمد فرج العطيات، (1995). النباتات الطبية و العطرية في الوطن العربي : زراعة – معالجتها – تصنيعها – الباب الأول – الفصل الأول (القيمة الإقتصادية للنباتات الطبية والعطرية) : ص 13 – 22 – 21.

[6] غراف، نور الدين. (2018) . الدراسة الفيتو كيميائية للمنتجات الفعالة (القلويدات، الفينولات والفلافونويدات، التربينات الثلاثية) و النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات لنبات الباقل و الحُميِّر الذي ينمو في جنوب شرق الجزائر.

[10] أ . د محمود حلمي عبد القادر (1997)، النباتات الطبية، الوكالة الوطنية لحفظ الطبيعة، الجزائر.

المراجع باللغة الأجنبية :

[3] Hamburger, M., & Hostettmann, K. (1991). 7. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry*,*30* (12), 3864-3874 .

[7] Chentouh , S., Boulahbel, S., Adjal, F., Tolba, M., Alloua, N., MOUMEN, Y., & BENTAYEB, Y. (2018). Effets des extraits organiques de *Bunium incrassatum* sur quelques paramètres hématologiques chez les lapines de population la race locale. Revue des bio ressources, 8(2), 9-9.

[8] Jassbi , A. R., Mehrdad, M., Soleimani, M., Mirzaeian, M., & Sonboli, A. (2005). Chemical composition of the essential oils of Bunium elegans and Bunium caroides . Chemistry of Natural Compounds, 41(4), 415-417.
[9] Quézel , P., & Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.
[11] Boumediou, A. S. M. A., & Addoun, S. (2017). Étude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen (Algérie). *Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie, Département de Pharmacie, University of Tlemcen Chetouane, Algeria*.

[12] Benkhalifa A., et Toumi M., (2019). Talghouda, une ancienne source alimentaire bien évoquée dans les soins traditionnels en Algérie . Laboratoire d'Ethnobotanique et substances Naturelles, Ecole Normale Supérieure, El-lbrahimi , Vieux Kouba , Alger.
[13] Battandier, J. A. (1888). Flore de l'Algérie: ancienne flore d'Alger transformée, contenant la description de toutes les plantes signalées jusqu'a ce jour comme spontanées en Algérie (Vol. 1). Adolphe Jourdan.
[14] Bousetla, A., Zellagui, A., Derouiche, K., & Rhouati , S. (2015). Chemical constituents of the roots of Algerian Bunium incrassatum and evaluation of itsantimicro bialactivity. Arabian Journal of Chemistry, 8(3), 313-316.
[15] Lebouazid , R., Meziani , R. A., & Karouche, S. (2021). Etude des activites antioxydante et anti-inflammatoire de lespece bunium mauritanicum.
[16] Rajem H., (2013). Toute l'encyclopédie des plantes utiles, Sources de la série et origines de la médecine alternative : Vol.1, édition 2, p. 131- 132.
[17] DOU, N., & GUEDDA, N. (2020). Contribution à l'étude du l'effet de Bunium mauritanicum sur l'activité de la thyroïde chez certaines patients de la région d'EL-OUED.

[18] Widad KORRA, Y. S. Activité antioxydante de la plante médicinale *Bunium mauritanicum L.*
[19] BAKRI Samah, DILMI Fatima zohra .*(2020).* Etude ethnobotanique de la plante médicinale *Bunium Mauritanium* (Talghouda) dans la région de M'sila
[20] Karouche, S., Benbott, A., Henouda, S., Malki, S., & Boudchicha, I. (2020). EVALUATION OF PHENOLIC CONTENT AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF BUNIUM MAURITANICUM TUBERSS. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, *12*(2), 916-930.

الفصل الثاني :

المنتجات الفعالة

والأيض الثانوي

II. المنتجات الطبيعية:

مدخل :

يحظى علم التداوي بمفهومه الحديث تقدما كبيرا في مختلف أرجاء العالم، ويزداد الإهتمام به بدراسة النباتات الطبية المحتوية على عدد كبير من المكونات الفعالة طبيا والتي تعكس الإمكانات العلاجية الكبيرة لها، فمن المعلوم أن لبعض العقاقير النباتية مقدرة علاجيا أكبر من تلك الأدوية المصنعة في معالجة بعض الأمراض، بالإضافة إلى إحتوائها على مواد غذائية وفيتامينات فضلا عن المكونات الفعالة [1].

1.II. تعريف المنتجات الطبيعية :

النواتج الطبيعية هي المركبات أو المواد الكيميائية التي تم فصلها من الكائنات الحية[1]. ومن أهم هذه المكونات هي التي لها دور في تفاعلات الأيض، ولها قسمين أساسيين هما الأيض الأولي والأيض الثانوي[2].

- ✓ **الأيض الأولي**: هو مستخلصات أولية لعملية الأيض والتي تتميز بالخاصية الحيوية[3]، التي ينتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة والأحماض الأمينية من النوع α، السكريات، والدهون و البروتينات[1].
- ✓ **الأيض الثانوي**: هي المركبات الناتجة عن عملية الأيض الثانوي، ذات مصدر طبيعي، وكذلك يطلق عليها بالمشتقات الثانوية لعملية الأيض الثانوي، وتضم كل من التربينات، القلويدات، الفلافونويدات، الفينولات والفيتامينات[1-4].

تعتبر مركبات الأيض الأولي المواد البادئة لمركبات الأيض الثانوي، و ذات أحجام جزيئية كبيرة و إستعمالات دوائية عديدة، و يطلق عليها بالمنتجات الطبيعية الفعالة [1-5]. وهناك ثلاثة مواد ذات وحدات بنائية رئيسة وهي حمض الشيكيميك، الأسيتات والأحماض الأمينية [6].

2.II. القلويدات:

1.2.II. تعريف القلويدات:

أطلق العالمMeisner سنة 1819 مصطلح قلويد، حيث أطلق هذا الأخير على المركبات ذات الصفة القلوية، ومن ثم إشتق منها كلمة قلويد. و تعرف القلويدات عموما بالقواعد الآزوتية ذات تركيب كيميائي

معقد، حيث يحتوي على وضيفة أو مجموعة من الوظائف الأمينية[7]، تتميز القلويدات بتفاعلاتها القاعدية المتكررة الناتجة عن وجود الأحماض الأمينية، أغلب القلويدات تحتوي على حلقة أو أكثر وغالبا ما يكون فيها النيتروجين على هيئة أمين أولي أو ثانوي أو ثلاثي[8].

II.2.2.تسمية القلويدات :

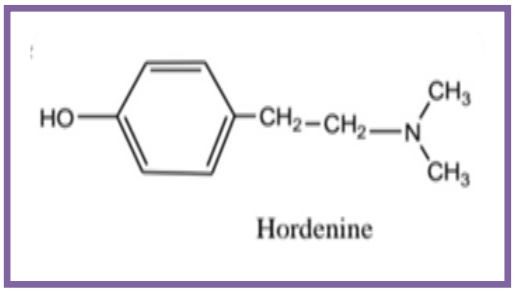
ليس للقلويدات نضام محدد للتسمية، حيث يضاف المقطع (ine) في نهاية إسم القلويد، ويمكن تسميتها بالطرق التالية:

- ✓ تسمى بعض القلويدات على حسب النبات المستخلص منه أو المتواجدة فيه مثل Atrop**ine** وهذا راجع إلى أوراق نبات Atropiabellandona المستخلص منه.
- ✓ التسمية على حسب تأثيرها العلاجي، مثل مخدر Narcotic و بالتالي يسمى القلويد بـ Narcot**ine**.
- ✓ التسمية على حسب خواصها الفيزيائية، مثل ماص للرطوبة Hygroscopic وبالتالي يسمى القلويد بـ Hygr**ine**.
- ✓ التسمية على حسب المكتشف مثل العالم Pelleter ويسمى القلويد بـ Pelleter**ine**[9-10].

II.2.3.تصنيف القلويدات: يتم تصنيف القلويدات على أساس الفاعلية البيولوجية والبنية الكيميائية كالتالي :

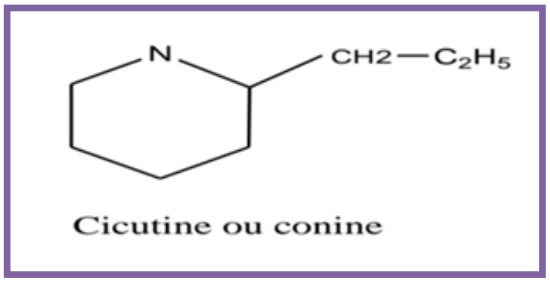
II.2.3.1. على أساس الفاعلية البيولوجية: وبدورها تنقسم إلى ثلاثة أقسام[3].

- ✓ **القلويدات الأولية (أشباه القلويدات)**:تعرف كذلك القلويدات الأولية بأشباه القلويدات، وهي عبارة عن أمينات بسيطة تحتوي على ذرة الآزوت خارج الحلقة. وهي مشتقة من تفاعلات الأيض الأولي للأحماض الأمينية على هيئة أملاح للأحماض الأولية [11]. والشكل (II.1) مثال على ذلك [3].



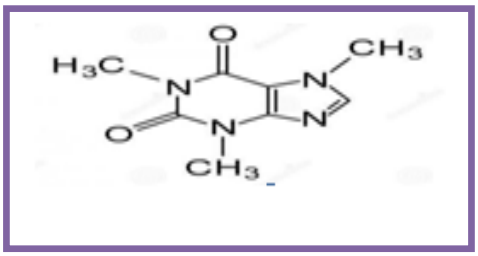
الشكل (1.II) : مثال عن القلويدات الأولية

✓ **القلويدات الحقيقية**: هي مركبات قاعدية تحتوي على ذرة الآزوت داخل الحلقة، تتواجد على شكل أملاح في شكلها الطبيعي، ويمكن تحضيرها إنطلاقا من الأحماض الأمينية[12]. والشكل(2.II) مثال على ذلك.



الشكل(2.II) : مثال عن القلويدات الحقيقة

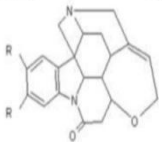
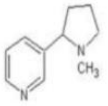
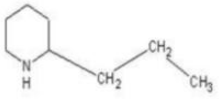
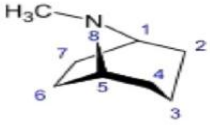
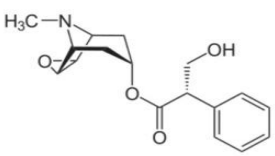
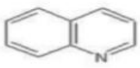
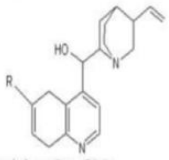
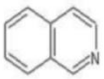
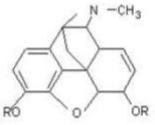
✓ **القلويدات غير حقيقية**: ويطلق عليها كذلك بالقلويدات الكاذبة، حيث يندرج تحت هذا الصنف القلويدات الستيرويدية، هذه الفئة تتميز بالخصائص القلويدية ولكن ليست من مشتقات الأحماض الأمينية [13]. والشكل (3.II) مثال على ذلك.



الشكل (3.II) : مثال عن القلويدات غير حقيقية

II.2.3.2.على أساس البنية الكيميائية: ويعتمد هذا التصنيف على طبيعة الحلقة غير متجانسة التي تتكون منها هذه القلويدات[3]، و الجدول (1.II) يوضح ذلك.

الجدول (II.1): تصنيف القلويدات على أساس البنية الكيميائية

التصنيف	الهيكل الأساسي للتصنيف	مثال	الإسم العلمي
قلويدات تحتوي على مجموعة الأندول	indole إندول	(strychnine) ستريكنين 	ستريكنين
قلويدات تحتوي على مجموعة البيريدين	pyridine بيريدين	(nicotine) نيكوتين 	نيكوتين
قلويدات تحتوي على مجموعة بيبريدين	pipéridine بيبريدين	(coniine) كونين 	كونين
قلويدات تحتوي على مجموعة التروبان	Tropane تروبان 	scopolamine 	سكوبولامين
قلويدات تحتوي على مجموعة الكينولين	Quinoline كينولين 	(quinine) كينين 	كينين
قلويدات تحتوي على مجموعة ايزوكينولين	isoquinoline إيزوكينولين 	(morphine) مورفين 	مورفين

II.2.3. مصدر القلويدات :

- ✓ تنتشر القلويدات بكثرة في النباتات الزهرية.
- ✓ تتواجد القلويدات في فصائل ثنائية الفلقة وقليلة جدا في أحادية الفلقة.
- ✓ يمكن لبعض القلويدات أن تتواجد في مجموعة من النباتات المختلفة[14].

II.2.4. خصائص القلويدات :

- ✓ أغلب القلويدات ذات الشكل البلوري الصلب، ولها درجة انصهار خاصة، وأحيانا تتواجد على شكل سوائل متطايرة مثل Nicotine والبعض غير متطاير مثل Hyosyamine.
- ✓ معظم القلويدات عديمة اللون، لكن يوجد البعض منها ما هو ملون مثل Berberine يتميز باللون الأصفر، Canadine ذو اللون البرتقالي و Betanine له لون أحمر.
- ✓ القلويدات مركبات قاعدية تعطي أملاح مع الأحماض، تتغير ذوبانيتها بدلالة الـ pH مع إختلاف الحالة القاعدية والملحية.
- ✓ تحتوي القلويدات بالإضافة إلى ذرة الآزوتN على عناصر كيميائية أخرة مثل الكربونC، الهيدروجين H والأكسجين O.
- ✓ معظم القلويدات لها خاصية التناظر.
- ✓ توجد القلويدات في المملكة النباتية بالإضافة إلى المملكة الحيوانية والفطريات[15].

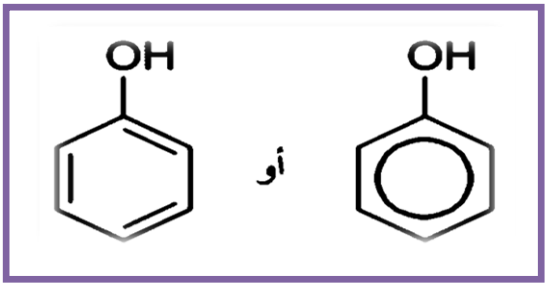
هام: تذوب مستخلصات القلويدات في المذيبات القطبية مثل الكحولات، وفي حالتها القاعدية تذوب في المذيبات ضعيفة القطبية مثل الكلوروفورم ولا تذوب في الماء.

وفي حالتها الملحية تذوب في المذيبات العضوية القطبية والماء ولا تذوب في المذيبات العضوية اللاقطبية والضعيفة القطبية.

II.3. الفينولات :

II.3.1. تعريف الفينولات: هي مركبات عضوية تحتوي على حلقة بنزنية (6 ذرات كربون)، مرتبطة مباشرة بوظيفة هيدروكسيلية (OH). تنتمي الفينولات إلى فئة المركبات العضوية التي تحتوي على عنصر أساسي الفينول [16].

وتعرف كذلك بأنها مشتق آروماتي حاوي على حلقة البنزن أو أكثر، تحمل مجموعة هيدروكسيل أو أكثر أو مرتبطة بوظيفة أخرى مثل الإيثر أو الحمض الكربوكسيلي، حيث يتم الإصطناع الحيوي لحلقتها العطرية إما من حمض شيكيميك أو عديد الأسيتات[17]. كما هو موضح في الشكل (II.4).



الشكل (II.4) : البنية العامة للفينولات

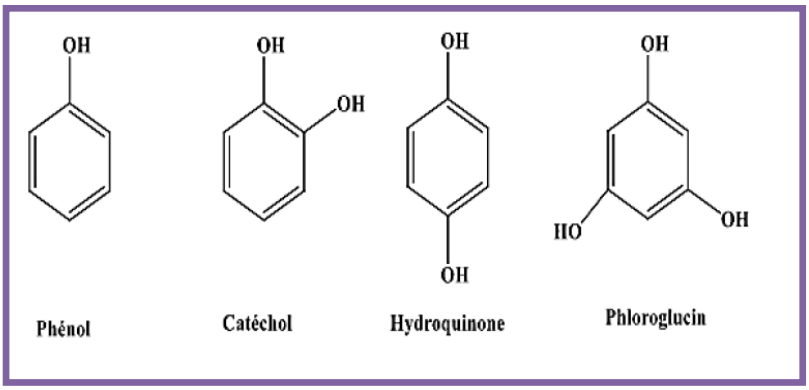
II.3.2. تصنيف الفينولات: تم تصنيف الفينولات إلى عدة تصنيفات نظرا للعديد من العوامل الأساسية كما يلي:

- ✓ سنة 1964 قام العالم Sinmomdset Marborne بتصنيف الفينولات على حسب عدد ذرات الكربون في الجزيء[18].
- ✓ وفي سنة 1992 قام العالم BenteetSain- smith بتصنيف المركبات الفينولية إلي ثلاثة مجموعات، نضرا لتواجدها وتعقيدها[19] كالتالي :

مركبات فينولية قليلة الإنتشار– مركبات فينولية واسعة الإنتشار– مركبات فينولية في صورة بوليميرات.

- ✓ ولمعرفة أنواع المركبات الفينولية إتبعنا طريقة التصنيف حسب البنية [20] كالتالي:

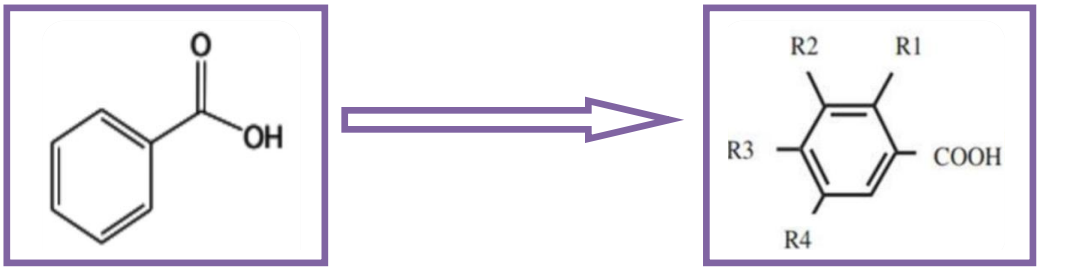
II.3.2.1. الفينولات البسيطة(C_6) : و هي فينولات قليلة الانتشار في الطبيعة، وتحتوي على حلقة البنزن مرتبطة على الأقل بمجموعة الهيدروكسيل(OH) [21] والشكل التالي يمثل بعض الفينولات البسيطة.



الشكل (5.II) :بعض الأمثلة عن الفينولات البسيطة

II.2.2.3.الأحماض الكربوكسيلية الفينولية: وهي عبارة عن مركبات عضوية تحتوي على حلقة البنزن، متصلة بوظيفة حمضية كربوكسيلية (COOH)، مع وجود وظيفة أو أكثر من مجموعة الهيدروكسيل(OH)[21] و تنقسم إلى قسمين :

- ✓ **الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك C_6-C_1:** وهي من أكثر الأحماض شيوعا في الطبيعة، بحيث يتكون هيكلها الكيميائي من حلقة فينولية آروماتية متصلة بمجموعة الهيدروكسيل مباشرة[22]، يعني هيكلها الأساسي حمض البنزويك.

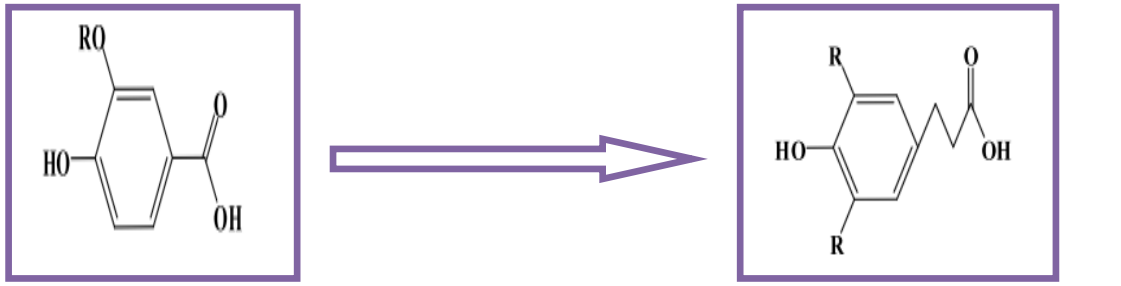


حمض البنزويك

الصيغة العامة للأحماض المشتقة من حمض البنزويك

الشكل (6.II): الصيغة العامة لحمض البنزويك والأحماض المشتقة منه

- ✓ **أحماض هيدروكسي سينامي C_6-C_3:** وهي فينولات قليلة الإنتشار في الطبيعة، ويرجع هيكلها الأساسي إلى حمض السينامي بحيث تكون الحلقة الفينولية متصلة بمجموعة الكربوكسيل بواسطة سلسلة خطية غير مشبعة ذات ثلاثة ذرات كربون[23]، والشكل التالي يمثل بنية لحمض هيدروكسي سينامي والأحماض المشتقة منه.

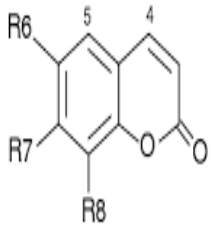


حمض هيدروكسي سينناميك | الصيغة العامة للأحماض المشتقة منه

الشكل(II.7) : الصيغة العامة لحمض هيدروكسي سينناميك للأحماض المشتقة منه

II.3.2.3.الكومارينات: ويعني هذا المصطلح بفول التوكا، إذ يتكون هيكلها الأساسي من حلقتين سداسيتين واحدة عطرية والأخرى متغايرة[24]، والشكل التالي يمثل الهيكل الأساسي وبعض أنواع الكومارين.

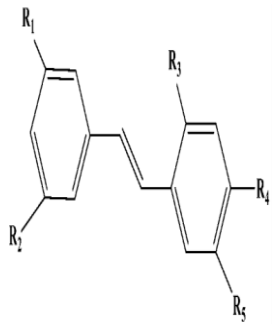
الجدول(II. 2) : الهيكل الأساسي وبعض أنواع الكومارين

الإسم	R_6	R_7	R_8	الكومارين
Coumarine	H	H	H	
Heriarine	H	OCH_3	H	
Scopolétole	OH	OH	H	
Umbellif	OH	H	H	

II.3.2.4.الستلبينات($C_6-C_2-C_6$): هي مركبات فينولية ذات هيكل يحتوي على حلقتين عطريتين مرتبطتين ببعضهما بواسطة جسر الإيثيلين، ذات فاعلية عالية نظرا للرنين الإلكتروني في الجزء الناتج من نظام الترافق [25]. والشكل التالي يمثل البنية العامة وبعض الأمثلة عن الستلبينات.

الجدول (3.II): البنية العامة للستلبينات

الإسم	R1	R2	R3	R4	R5
Resvératrol	OH	H	H	OH	H
Rlapontingenin	OH	OH	H	OCH3	OH
Pterosibene	OCH3	OCH3	H	OH	H

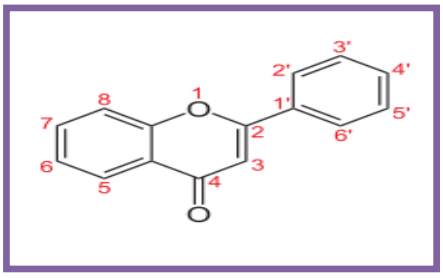


II.4.الفلافونويدات:

II.4.1. تعريف الفلافونويدات:

هو مصطلح أجنبي مشتق من الكلمة اللاتينية Flavus. وهي من أكبر المجموعات الفينولية و الأكثر شيوعا و تواجدا في الطبيعة، وهي المسؤولة عن ألوان الأزهار والأوراق [3-24].

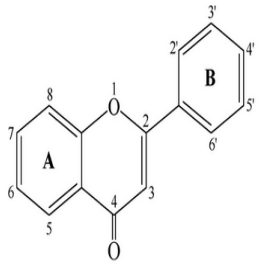
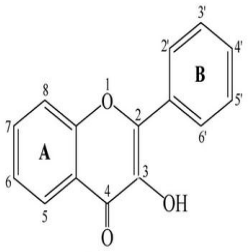
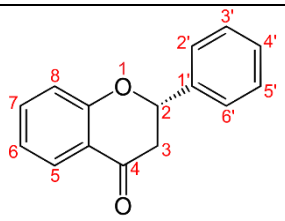
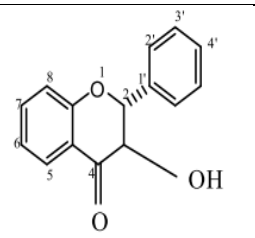
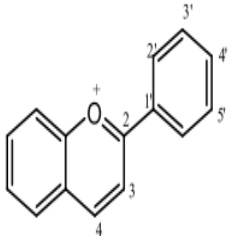
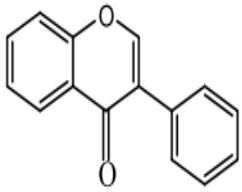
تتكون بنيتها الأساسية من 15 ذرة كربون متواجدة على شكل $C_6-C_3-C_6$، وتعني وجود ثلاثة حلقات A وB وC على التوالي. حيث A و B حلقتي بنزن و Cحلقة متغايرة (تحتوي على خمس ذرات كربون وذرتي أكسجين)، إذ يبدأ الترقيم من الحلقة C[3] كما هو موضح في الشكل التالي :



الشكل(8.II): البنية العامة للفلافونويدات

II.4.2. تصنيف الفلافونويدات: تصنف الفلافونويدات على حسب درجة تأكسد الحلقة C ونوع التحلق إلى عدة مجموعات، ويحدد نوع الفلافونويدات داخل المجموعة الواحدة لمستبدلات الحلقتين B، A[26].

الجدول (4.II) : تصنيف الفلافونويدات

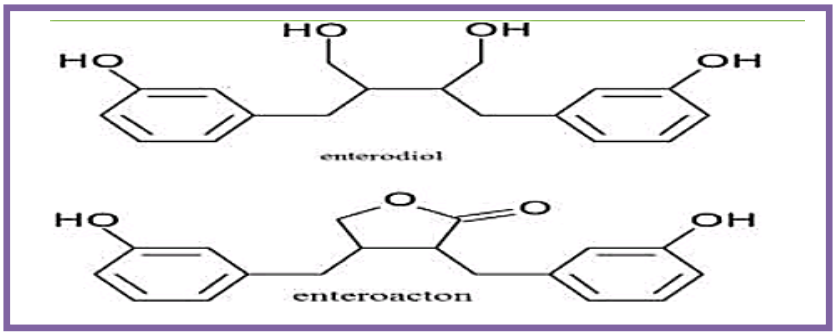
صنف الفلافونويدات	تعريف	الصيغة الكيميائية	مثال
الفلافون **Flavones**	تحتوي على مجموعة الكربونيل والرابطة 2- 3 غير مشبعة في الحلقة C وترتبط مع الحلقة B في الموضع 2		$(R_5,R_7,R_{3'})$: OH $(R_{4'})$: OMe Diosmètine
الفلافونول **Flavonols**	لها نفس هيكل الفلافون بالإضافة إلى مجموعة OH في الموضع 3 في الحلقة C		(R3,R5,R7) : OH $(R_5R_{4'},)$: OH Kaempferol
فلافانون **Flavanones**	لها نفس هيكل الفلافون والرابطة 2 و3 مشبعة في الحلقة C		(R_7, $R_{4'}$,$R_{5'}$) : OH Butine
فلافانول **Flavanols**	لها نفس هيكل الفلافون بالإضافة إلى مجموعة OH في الموضع 3 والرابطة 2 و3 مشبعة في الحلقة C		$(R_3,R_5,R_7,R_{4'},R_{5'})$: OH Catechine
أنتوسيانيدين **Anthocyanidine**	في هذه الحالة تكون الحلقة الغير متجانسة C كاتيونية في الموقع 1		$(R_3,R_5,R_7,R_{3'},R_{4'})$: OH Cyanidine
إيزوفلافون **Isoflavones**	تختلف على الفلافونات بارتباط الحلقة B مع C في الموضع 3		$(R_5,R_7,R_{3'},R_{4'})$:OH Genisteine

II.3.4.خصائص الفلافونويدات:

الفلافونويدات مركبات هيدروكسيلية ذات خصائص فينولية:

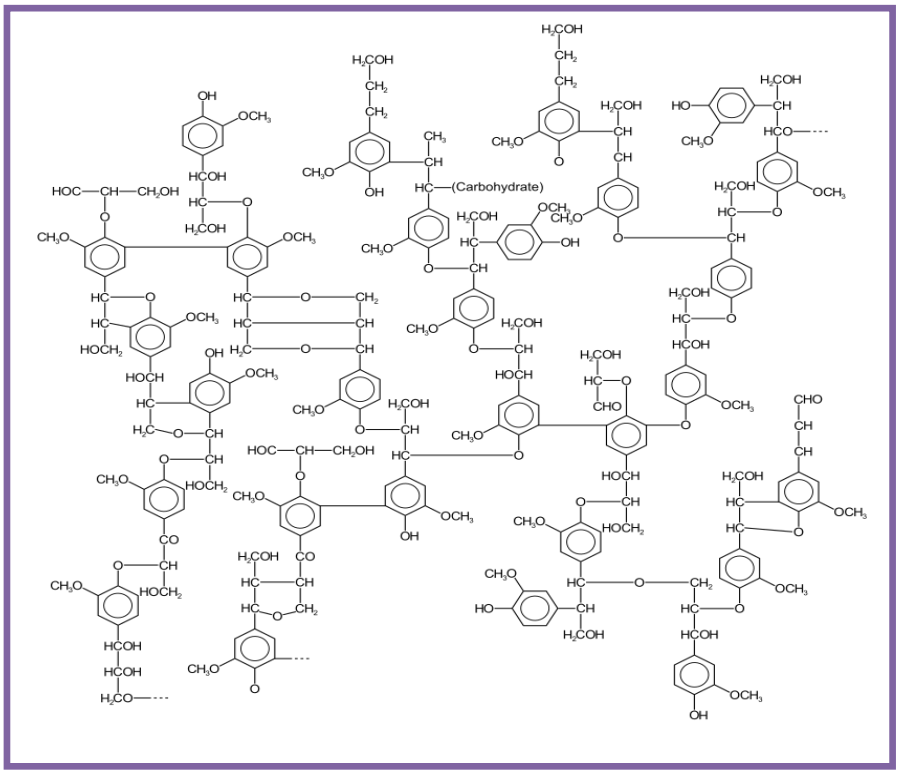
- مركبات قطبية لإحتوائها على مجموعة الهيدروكسيل الحرة[27].
- من المركبات الحمضية الضعيفة، تذوب في القواعد القوية (هيدروكسيل الصوديوم).
- الفلافونويدات الأقل قطبية مثل الفلافونونات والإيزوفلافونات تحتوي على عدد كبير من مجموعة الميثوكسيل بالتالي تذوب في الكلوروفورم والإيثر[28].

II.3.4.1.الليغنان ($C_6-C_3)_2$) : وهي مركبات تتكون من ثنائي وحدات فينيل بروبان C_6-C_3 وتنتج عن طريق تفاعل ديمرة Dimérisation للفينولات المستبدلة والمشتقة من حمض السينامك. والشكل(II.8)أمثلة عن الليغنان[29] .



الشكل (II.9) : بعض الأمثلة عن الليغنان

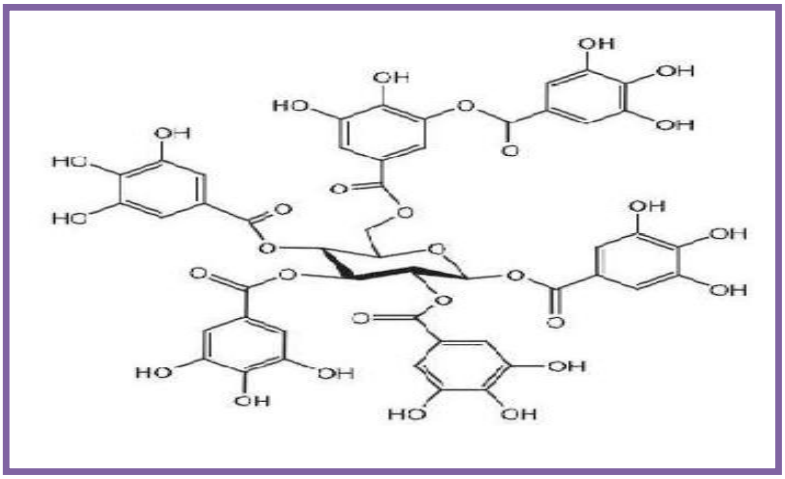
II.3.4.2.الليغنين$(C_6-C_3)_n$) : هو عبارة عن بوليمير معقد ثلاثي الأبعاد يتكون من وحدات الفينيل بروبان Phényle - Propane غير متبلور، فهو المسؤول عن صلابة الجدار الخلوي للنبات، كما يساعد الخلايا بالحماية ضد التلف الكيميائي، وفي سنة 1968قام العالم Nrish Freudenber بتصوير التركيب الكيميائي [30]. والشكل (II.9) التركيب الكيميائي للغنين.



الشكل (II.10): التركيب الكيميائي للغنين

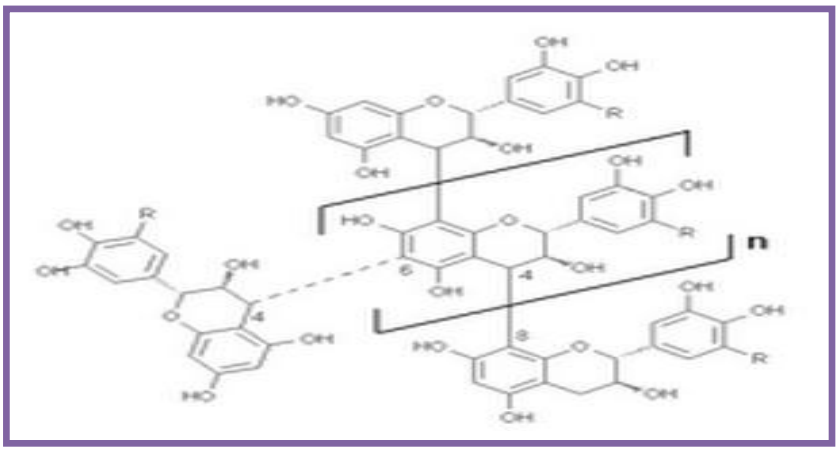
II.3.3.4.التنينات: ويطلق عليها كذلك بالعفص وهي محتويات فجوية ذات خصائص فينولية، تكون ذائبة أو مترسبة في خلايا النسيج الضام أو الحشوي للعديد من الأنواع النباتية، ومن مميزاتها ترسيب البروتين ودباغة الجلود، وتنقسم إلى قسمين[31]:

- ✓ **تنينات قابلة للتحلل:** وهي جزيئات معقدة الأسترات السكر (متعددة الهيدروكسيل) وعدد متغير من جزيئات حمض الفينول، ينتج شق سكري عند تحلله وفي أغلب الأحيان يكون غلوكوز، وشق فينولي من حمض الغاليك[32]. والشكل(II.10) البنية العامة للتنينات قابلة الانتشار.



الشكل (11.II): البنية العامة للتنينات

✓ **تنينات مكثفة** : وهي مركبات فلافونويدية مكثفة على شكل بوليمير ذات أهمية كبيرة، وتتكون من وحدات الفلافانول، ترتبط بروابط C-C وفي أغلب الأحيان تكون (C_4-C_8)[33]. والشكل (11.II) يمثل البنية العامة للتنينات المكثفة.



الشكل (12.II): البنية العامة للتنينات المكثفة

4.4.II.أهمية الفينولات :

➢ **عند النبات :**

✓ مصدر للطاقة التي يستهلكها النبات في عملية التحول الغذائي.

- ✓ هي المسؤولة عن وقاية القشور ولب القشرة.
- ✓ تحمي النباتات من الحشرات والفطريات الضارة.
- ✓ الفلافونويدات هي المسؤولة على تلون النباتات.

➢ **عند الإنسان:**

- ✓ تثبط تكاثر الخلايا السرطانية وتوقي ADN من التخريب.
- ✓ مضادة للسرطان وتخفف أعراض الحساسية وإلتهاب المفاصل.
- ✓ مضادة للأمراض العصبية وأمراض القلب والأوعية الدموية.
- ✓ مضادة للالتهابات الفم والحلق والإسهال.
- ✓ تقلل من أمراض السكري.
- ✓ تعدل نسبة الكوليسترول.
- ✓ الوقاية من أمراض القلب.
- ✓ مضادة للالتهابات والأمراض السرطانية.
- ✓ مضادة للفيروسات والجراثيم.

المراجع

قائمة المراجع :

المراجع باللغة العربية :

[3] حسين دندوقي 1989، دراسة الميتابوليزم الفلافونيدي لنبات inola viscosa، مذكرة ماجستير في الكيمياء العضوية، جامعة قسنطينة، ص 13 .

[4] تامة نور الدين، & غراف (2018). الدراسة الفيتو كيميائية للمنتجات الفعالة (القلويدات، الفينولات و الفلافونويدات، التربيـنات الثلاثية) و النشاط المضاد للأكسدة و المضاد للميكروبات لنبات البـاقل و الحُميِّر الذي ينمـو في جنوب شرق الجزائر.

[5] باي & ذويب (2021). دراسة مقارنة للتركيب الكيميائي و الخواص البيولوجية لنباتات الزعتر البري التي تنمو في السهول العلياء الجزائرية.

[6] دندوقي حسين. دراسة الأيض الفلافونيدي و التربيني لبعض أنواع نباتات ضايات الصحراء الجزائرية.

[7] العابد ابراهيم، غراف نور الدين، يوسفي محمد. (2011). دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص الثاويدات الخام لنبات الضمران, *Annals of Science and Technology*, *3*(1), 8-8.

[21] عثمان منال، واري بسمة، (2019). دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص الخام لثمار و بذور القناوية (*Abelmoschusesculentu L*). مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية. جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي ص 19.

[28] بلقار آسيا 201 ، دراسة القدرة المضادة للأكسدة و البكتيريا للتآكل المستخلصات الفينولية لنبات (*limoniastrum*)، رسالة محضرة لنيل شهادة الدكتوراه ل . م . د ، تخصص التحاليل الفيزيوكيميائية و فعالية العينات الجزيئية، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة ص 15-14.

المراجع باللغة الأجنبية :

[1] Majed Jamous, R., Ali- Shtayeb, M. S.,2008-Traditionl Arabic palestiniaHerbalMedicine.BiodiversityandEnivronnentalReasherchCenter(BERC),Til, Nabuls.

[2] ALGEHANI, H. H. (2009). (An Empirical Study on Civil Status Administration in Jeddah Field Study on Civil Status Administration in Jeddah .

[8] Muniz, M. N. (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs: la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).

[9] Rakotonanahary , M . 2012 , thése présenté pour l'obtention du titre doctur en pharmacie diplôme d'état , université joseph foucier p16 , 19, 27, 28.

[10] Zulu , J. N. (2011). Microbiologie et Mycologie.

[11] Tikhomiroff , C. (2001). Étude des métabolismes primaire et secondaire de racines transformées de Catharanthus roseus en vue du développement d'un modèle cinétique . MScA Thesis , Ecole Polytechnique de Montréal.

[12] Dalila , H., & Belalia , D. M. THEME: Extraction, caractérisation et identification des composés chimiques d'une huile naturelle.

[13] Cyril, T. (2001). étude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de Catharanthus Roseusen , vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal. Université de Montréal, 28p.

[14] Singh , D. P., Amar, B., Pratibha , S., Singh, J. S., & Singh, U. P. (2009). Phenolic constituents of Centella asiatica L. and Andrographis paniculata (Burn. f) Wall. ex Nees. Proceedings of the National Academy of Sciences India . Section B , Biological Sciences , 79(4) , 399-401

[15] Demeyer , K., & Dejaegere , R. (1998). Nitrogen and alkaloid accumulation and partitioning in Datura stramonium L. Journal of herbs, spices & medicinal plants, 5(3), 15-23.

[16] Younsi, R., Draa, A., & Rechreche , H. E. (2012). Evaluation de l'effet protecteur et antioxydant de l'extrait méthanolique de la plante Centaurea fragilis contre la toxicité hépatique induite par le paracétamol chez le rat (Doctoral dissertation, Université de Jijel).

[17]de Rijke, E., Out, P., Niessen, W. M., Ariese, F., Gooijer, C., & Udo , A. T. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids . Journal of chromatography A , 1112(1-2), 31-63 .

[18] Ribéreau-Gayon, P. (1968). Les Composés phénoliques des végétaux: par Pascal Ribéreau-Gayon... Dunod .

[19] LAOUINI, S. E. (2014). Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de Phoenix dactylifera L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf) (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra).

[20] Sarni-Manchad , P., & Cheynier, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire, Éd Tec & Doc. Coll. Sci. & Techn . Agroaliment., Lavoisier , Paris.

[22] Lee, Hur, H.J., Lee, C . (2005) . Antiproliferative effects of dietary phenolic substances and
hydrogen peroxide. J. Agric. Food Chem. p53, 1990-1995

[23] Harborne , J. B. (1964). Biochemistry of phenolic compounds. Biochemistry of phenolic compounds.

[24] McNaught , A. D., & Wilkinson, A. (1997). The gold book IUPAC compendium of chemical terminology.

[25] Bruneton , J. (2009), Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et
augmentée, Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, p.1120, 1288 ISBN 978-2-7430-
1188-8)

[26] Gabaston , J. (2018). Stilbènes de la vigne et d’essences forestières (pin, épicéa): Etude phytochimique et recherche d’activités anti-oomycète et insecticide (Doctoral dissertation). p46

[27] Kuhnau , J. (1976). Flavonoids. A class of semi-essential food components: Their role in human nutrition. *World review of nutrition and dietetics*.

[29] Umezawa , T. (2003). Diversity in lignan biosynthesis. *Phytochemistry Reviews*, *2*(3), 371-390.

[30] MOROT-GAUDRY, J. F. (2010). Les Lignines. *Introduction, Académie d'Agriculture de France*.

[31] Bruneton, J. (2009), Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et
augmentée, Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, p.1120, 1288 ISBN 978-2-7430-
1188-8)

[32] Mueller-Harvey, I. (2001). Analysis of hydrolysable tannins. *Animal feed science and technology* , *91*(1-2), 3-20.

[33] Laraoui , H. (2007). Etude Phyotchimique L'Extrait Chloroformique de Bupleurum Atlanticum"Docteur de l'université Louis pasteur (Chimie Organique, UV El Hadj Lakhdar Batna).

الفصل الثالث :

الفاعلية البيولوجية

III. الفاعلية المضادة للبكتيريا :

تمهيد :

تتواجد البكتيريا في كل مكان من حولنا في الماء والهواء وكما تعيش في الأغذية وداخل وخارج أجسامنا وفي أي نظام بيئي، حيث تعتبر الكائنات الدقيقة أكثر عددا من الكائنات الحية إذ ما قورنت بالكائنات الأخرى، ولقد إرتبط إسمها بالعديد من الأمراض التي تصيب البشرية لكن مع التقدم السريع للعلم الحديث تم إكتشاف أن للبكتيريا دورا هاما في الصناعات الدوائية و الغذائية والمعالجة الحيوية لمخلفات المزارع واستخدامها في إنتاج الطاقة وغاز الميثان وكذلك التخلص من المواد العضوية وغير العضوية ومعالجة المياه.

وأول من قام بوصف البكتيريا، العالم الألماني أنتوني فان لوفينهوك Antoni Vanleewenhoek، وذلك عقب تطويرها لجهاز مبسط من العدسات يشبه المجهر، وقد إعتقد العلماء في بداية الأمر أن البكتيريا ما هي إلا ناتج مواد غير حية إلى أن أثبت العالم الفرنسي لويس باستور louis pasteur، في نهاية القرن الثامن عشر أن البكتيريا كائن حي لا يولد إلا من كائن حي آخر.

ثم توالت بعد ذلك مجموعة من الأبحاث والأعمال العظيمة التي قام بها كل من " لويس باستور " والعالم الألماني " روبورت كوخ اللذين يعزى إليهما الفضل في إنشاء علم دراسة البكتيريا في العصرالحديث[1- 2].

III.1.البكتيريا :

III.1.1.مفهوم البكتيريا :

البكتيريا كائنات دقيقة لا ترى إلا بالمجهر الإلكتروني ($X10^6$) أو المجهر الضوئي ($X10^3$)، توجد البكتيريا في كل مكان، في التربة وفي الهواء وفي الماء، وعلى جسم الإنسان، وداخل قناته الهضمية وجهازه التنفسي[3]وتتميز بشكلها الكروي، أو العصوي، أو الحلزوني[2].

وتستطيع جرثومة البكتيريا العيش لمدة طويلة متحملة جميع الأحوال غير الملائمة من إرتفاع درجة الحرارة، أو إنخفاضها، أو غير ذلك من الظروف البيئية القاسية، وعند تحسن الظروف البيئية المحيطة تتخلص الجرثومة من الغشاء السميك، وترجع إلى نشاطها وحيويتها[4].

III.1.2.تسمية البكتيريا :

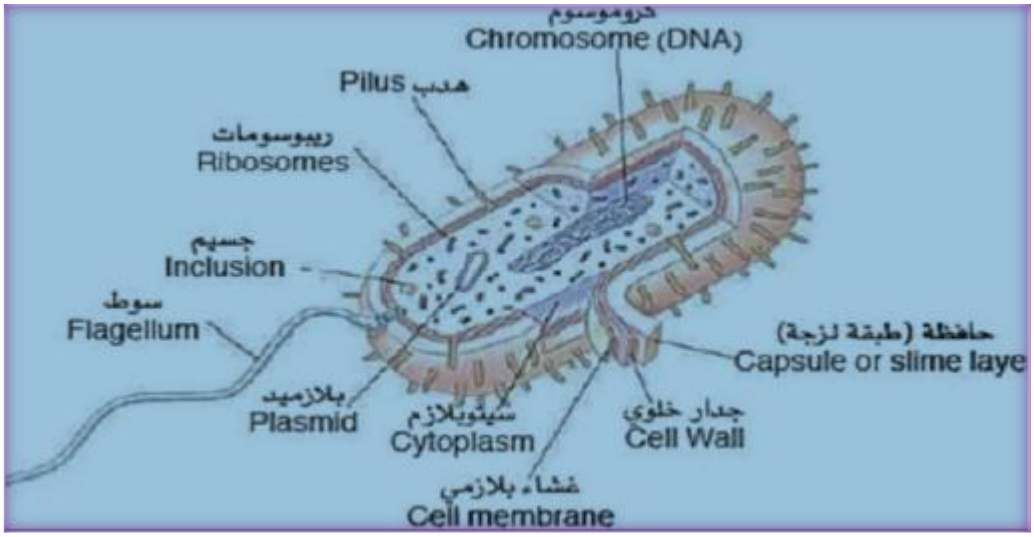
تعرف البكتيريا بأسماء ثنائية Binominal بحيث يشير المقطع الأول من الإسم إلى الجنس Genre والمقطع الثاني إلى النوع Espéce، وقد يحمل إسم الجنس شكل البكتيريا كما هو الحال Streptocoqu Staphylocoque أو إسم المستكشف *Escheriche . coli* [5].

III.1.3. خصائص البكتيريا :

- ✓ البكتيريا كائنات دقيقة مجهرية بدائية النوى.
- ✓ البكتيريا كائنات دقيقة الحجم يتراوح حجمها بين $0.3 - 2$ ميكرون.
- ✓ تحتوي الخلية البكتيرية على غلاف قاس، متماسك، متمم للبكتيريا، وهو المسؤول عن حماية شكل الخلية من الإضطرابات الناتجة عن تأثير الضغط الخارجي كالأجسام الغريبة، وهناك أنواع أخرى تحتوي على حافضة خارجية حول غلاف يدعى (capsule).
- ✓ درجة حرارة المناسبة لنمو البكتيريا تتراوح بين $37°$ م $- 45°$ م بحيث يمكنها التكاثر خلال مدة وجيزة إلى أعداد كبيرة.
- ✓ تتميز ببساطة التركيب إذ تتركب من جدار وغشاء خلويين يحيطان بالسيتوبلازم الذي يحوي كروموزوما حلقيا واحدا ADN[6-7].

III.4.1.التركيب الخلوي للبكتيريا :

تتكون الخلايا البكتيرية النموذجية من مكونات خلوية بعضها أساسي موجود في جميع أنواع البكتيريا والبعض الآخر يقتصر وجوده على أنواع معينة منها المكونات الأساسية كل من الجدار الخلوي، والغشاء البلازمي، والسيتوبلازم، والنواة البدائية، وما يحتويه من مادة وراثية وريبوسومات، أما المكونات الثانوية فهي تحتوي على الأهداب، والأسواط، والبذور، و الحافضة[8].



الشكل (III.1): تركيب الخلية البكتيرية

III.4.1.1. المكونات الأساسية للخلية البكتيرية:

✓ **الجدار الخلوي paroicellulaire** :

جدار الخلوي سميك وصلب، ومن صفاته الصلابة، يتركب من مادتين هما الكربوهيدرات والبيبتيدات يتكون من السكريات والدهنيات وهو المسؤول عن منح البكتيريا شكل مميز وثابت يحميها من الهجوم الخارجي[5].

✓ **الغشاء البلازمي plasma membrane**: غشاء رقيق له نفاذية إختيارية يحيط بسيتوبلازم الخلية ويقع تحت الجدار الخلوي ويبلغ سمكه 7.5نانومتر. يتكون الغشاء البلازمي من الدهون المفسفرة والبروتينات[8].

✓ **السيتوبلازم cyoplasm**:سيتوبلازم الخلايا البكتيرية له تركيب بسيط حيث تحتوي على الريبوزومات(Ribosomes) والمادة الوراثية البكتيرية (Bacterialgenome)، والسيتوبلازم عبارة عن

سائل غروي يتكون من الماء بنسبة % 75 إلى % 85، وبروتينات، ودهون، وكربوهيدرات، ومركبات غير عضوية.

كما تتكون السيتوبلازم من ثلاثة أجزاء هي :

- المنطقة الحبيبية Granularregion.
- المنطقة الصبغية Pigmentedregion.
- المنطقة السيتوبلازمية السائلة Fluidcyto plasmicregion [8] .

✓ **نواة بدائية Nucleoide**:

نواة البكتيريا بسيطة تتكون من كروموزوم واحد ملتف حول نفسه يوجد في مركز الخلية وليست محاطة بغشاء نووي ولا توجد بها نويات أوسائل نووي، وظيفتها السيطرة على جميع عمليات الخلية وصفاتها بما تحويه من جينات وكذلك بدء عملية التكاثر[9].

III.2.4.1.المكونات الثانوية للخلية البكتيرية :

✓ **الهديبات** *:* زوائد دقيقة تسمى Pilli، وظيفتها التثبيت على سطح الخلايا وبعضها يعرف بالهديبات الجنسية التي تلتصق ببعضها لإندماج الأنوية من خلية لأخرى، وهي قد يوجد إحداها في بعض الخلايا أو لاتوجد فهي ليست ضرورية لحياة البكتيريا. مسؤولة عن ضروريات البكتيريا مثل بكتيريا السيلان[10].

✓ **الأسواط Flagella** *:* وهي عبارة عن زوائد طويلة جدا، تكون حول البكتيريا ذو توزيع مختلف على حسب نوع البكتيريا، فقد تنمو في جهة أو من الجهتين من الخلية البكتيرية حيث تقوم بتسهيل الحركة [11].

✓ **البذور Spores**: عندما تسوء الظروف البيئية (الجفاف، ندرة الغذاء، الـ pH) تكون بعض أنواع البكتيريا جدارا سميكا يحيط النواة وقليل من السيتوبلازم ويعرف هذا التركيب بالبذرة التي تظل حية لمدة طويلة إلى أن تتحسن الظروف فيتشقق جدار البذرة وتخرج منه النواة وتستعيد شكل البكتيريا مثل الجمرة الخبيثة وكلوستريديا الغرغرينا الغازية، وهذه البذور البكتيرية تقاوم حتى درجة 121°م على عكس البكتيريا الخضرية التي لا تقاوم حتى درجة100°[9].

✓ **الحافظة Capsule** *:* وهي عبارة عن طبقة هلامية سميكة تحيط بالخلية البكتيرية حيث تمنع إلتصاقها مع الخلايا البلعمية[12].

III.5.1. تصنيف البكتيريا :

صنف الباحثون والعلماء مختلف البكتيريا حسب خصائصها ومميزاتها وذلك حسب مايلي :

- ✓ من حيث توزيع أسواطها : فيمكن تقسيمها إلى[13]

1- بكتيريا وحيدة السوط.

2- بكتيريا ذات أسواط عديدة : متجمعة عند طرف واحد.

3- بكتيريا ذات أسواط عديدة : موزعة على كل الخلية.

- ✓ من حيث الشكل :

1- البكتيريا العصوية (Bacilli) : التي تأخذ خلاياها شكل العصويات الصغيرة تحت المجهر.

2- البكتيريا الكروية (Cocci) : التي تأخذ خلاياها شكل الكريات الصغيرة.

3- البكتيريا الحلزونية (Spiral) : التي تأخذ الشكل الحلزوني.

4- البكتيريا الواوية (Vibrio) : التي تأخذ شكل الواو أو الضمة العربية [13].

- ✓ حسب الوسط الذي تعيش فيه : فيمكن تقسيمها إلى ثلاثة أنواع

1- بكتيريا هوائية إجبارية (Aerobic) : وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الأوكسجين، وهي تعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية.

2- بكتيريا لاهوائية إجبارية (Anaerobic) : وهي البكتيريا التي تعيش فقط، في غياب الأوكسجين.

3- بكتيريا لاهوائية إختيارية (Facultative Anaerobic) : وهي البكتيريا التي يمكنها العيش والنمو، في ظل وجود الأوكسجين، أو عدمه.

- ✓ *من حيث التغذية* :فيمكن تقسيمها إلى نوعين

1- بكتيريا ذاتية التغذية : هي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو.

2- بكتيريا عضوية التغذية: هي البكتيريا التي تحصل على الكربون من تحليل المواد الذائبة كالسكر[13].

- ✓ *من حيث طريقة التلوين (GRAM)*: يوضح الإختلاف في تركيب جدار الخلية بالتلوين، حسب تقنية غرام، نسبة للعالم البلجيكي J . GRAM المكتشفة سنة 1884، وإستنبط نوعين من خلال هذه الطريقة:
  - بكتيريا غرام موجب (gram positive) : عند تلوينها تمتص اللون وتظهر أرجوانية.

- بكتيريا غرام سالب (gram négative) : تحرر الصبغ وتظهر حمراء.

ويظهر جدار خلية البكتيريا غرام موجب أسمك من جدار خلية البكتيريا غرام سالب، وهذا بسبب التركيب الكيميائي المختلف [14].

✓ حسب تأثيرها على الإنسان : يمكن تقسيمها إلى

البكتيريا النافعة (Beneficial Bacteria) :

وهي التي تقدم خدمات جليلة للإنسان والحيوان والبيئة.

فهناك نوع من البكتيريا يعيش في أمعاء الإنسان، يساعده على هضم الطعام، ويفرز بعض المواد المفيدة للجسم مثل الفيتامينات ويعمل على تدمير البكتيريا الضارة.

وهناك نوع آخر من البكتيريا يعيش في التربة، ويلعب دورا هاما في غذاء النبات، إذ يقوم بتثبيت النتروجين الموجود في الهواء الجوي، ليكون بمثابة عنصر أولي، يستطيع من خلاله النبات أن يكون البروتين.

كما تقوم بكتيريا التربة بتحليل أجسام الكائنات الحية بعد موتها، وكذا المواد العضوية المعقدة، وتحويلها إلى صور بسيطة، تستفيد منها التربة والنبات والحيوان.

ولا يقتصر الأمر على ذلك فحسب، بل إن هناك صناعات كاملة تقوم على إستخدام بعض أنواع البكتيريا النافعة. فصناعة بعض منتجات الألبان، وبعض الأدوية ماهي إلا إنتاج عمل البكتيريا النافعة.

وحديثا تمكن العلماء من إستخدام البكتيريا في معالجة مياه الصرف الصحي، حماية للبيئة من التلوث[14].

بكتيريا إنتهازية (Opportunistic Bactérie) :

توجد البكتيريا في جسم الإنسان وتعيش فيه دون أن تسبب له أضرار صحية إلا أنها تؤدي إلى إنخفاض مستوى مناعة جسم الإنسان، دون أي سبب من الأسباب تهاجم جسم الإنسان متحولة إلى بكتيريا ضارة مسببة إلى العديد من الأمراض منها إلتهاب الحلق أو اللوزتين[7].

بكتيريا ضارة (Pathogenic Bacteria) :

تدخل البكتيريا الضارة إلى جسم الإنسان عن طريق الفتحات الطبيعية مثل فتحة الأنف والفم أو عبر شقوق الجلد وتحمل مع الهواء، الماء، الطعام، حيث تسبب للإنسان أمراضا ومشاكل صحية عديدة مثل السل، الكوليرا، التيفوئيد، والسعال الديكي والسيلان ...إلخ [7].

III.6.1.البكتيريا المستعملة في الدراسة :

- *Escherichia Coli*
- *Staphylococcus aureus*
- *Klebsiellapneumoniae*

✓ ***بكتيريا Escherichia coli :***

هي بكتيريا موجودة في الجهاز الهضمي للإنسان أو الفضلات الحيوانية، عصوية الشكل ذات أبعاد من 1 إلى 3 ميكرومتر، سالبة غرام (G^-)، تتكاثر بسرعة عند درجة حرارة $37°$ تمتاز بأنها تنتج كمية CO_2 مساوية لكمية O_2 تؤدي إلى تحميض اللبن وبالتالي تخثره.

الجدول(III.1) : بكتيريا *E . Coli*

المملكة	Bactérie
الصنف	Proteobactérie
القسم	Gammaproteobacteria
الرتبة	Enterobacteriales
العائلة	Enterobacteriaceae
الجنس	*Escherichia*
النوع	*Escherichia coli*

إضافة إلى تسببها لعدة أمراض : كأمراض الجهاز التنفسي، إلتهاب القلب، الإسهال الطفيلي، وتتسبب في إرتفاع شديد في درجة الحرارة عند إنتشارها في الدم [12].

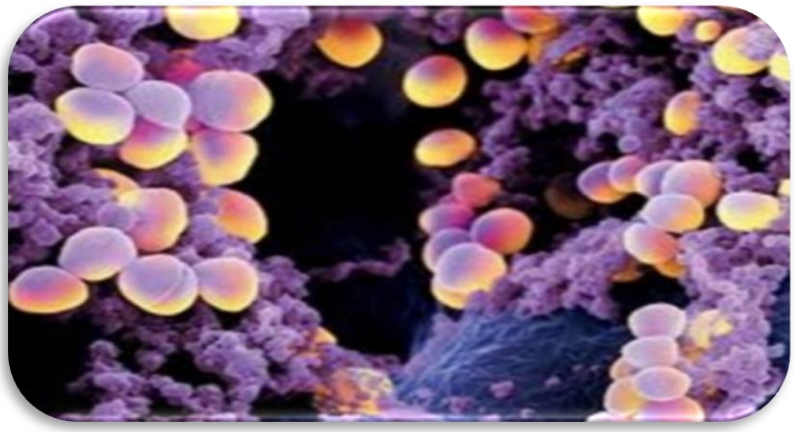
الشكل(2.III): صورة الفحص المجهري لـ *E . Coli*

✓ **بكتيريا *Staphylococcus aureus* :**

هي بكتيريا ذات غرام موجب (G^+) تنتمي إلى :

الجدول (2.III) : بكتيريا *Staphylococcus aureus*

المملكة	**Bactéria**
الصنف	Firmicutes
القسم	Bacilli
الرتبة	Bacillales
العائلة	Staphylococcaceae
الجنس	*Staphylococcus*
النوع	*Staphylococcus aureus*



الشكل (3.III):صورة بالمجهر الالكتروني *S. aureus*

هي بكتيريا كروية الشكل تسمى كوكسي (Cocci) ذات لون أصفر براق عديمة الحركة تكون على شكل عناقيد مكونة من النوع (G^+) قطرها حوالي 1um تتواجد عند الإنسان في الجلد والأمعاء والجهاز التناسلي وعلى الوجه، تنمو بالتنفس الهوائي أو التخمر وهي مسؤولة عن تشكل الصديد، مسببة للعديد من الأمراض من بينهم إلتهابات جلدية خطيرة وإلتهاب الرئتين وتسمم الدم وغيرها [12].

✓ ***بكتيريا Klebsiella pneumoniae :***

هي بكتيريا ذات غرام سالب (G^-)، وهي البكتيريا التي تنتمي إلى :

الجدول (3.III): بكتيريا *Klebsiella pneumoniae*

Bacterie	**المملكة**
Proteobacteria	**الصنف**
Gammaproteobacteria	**القسم**
Enterobacteriales	**الرتبة**
Enterobacteriaceae	**العائلة**
Klebsiella	**الجنس**
Klebsiella pneumoniae	**النوع**

الشكل (4.III): صورة بالمجهر الالكتروني *K .pneumoniae*

هي بكتيريا بيئية (تتواجد في الماء، تربة، هواء...)، عصوية الشكل، غير متحركة تتميز بشكلها الدائري محدبة، لاهوائية إختيارية يتراوح طولها من 1um إلى 2um، وعرضها مابين 0.5 um إلى 0.8 um تكون منفردة أو ثنائية أو على هيئة سلاسل قصيرة، تتميز بألوان مشعة تحت جهاز UV، تتواجد بصورة طبيعية في الفم والأمعاء وعلى الجلد تسبب هذه البكتيريا إلتهاب شديد في المثانة، الرئة، الأذن، الأنف، والجيوب الأنفية [15].

2.III. المضادات الحيوية :

1.2.III. تعريف المضادات الحيوية :

إستعملت الكلمة لأول مرة بواسطة العالم Vullemin سنة 1889 الذي عرفها بأنها الظروف التي يمكن أن تحتوي لكائن حي إبادة كائن حي آخر ليحتفظ هو بحياته ووجوده ولا يختلف تعريف Vullemin لهذه الظاهرة كثيرا عن التعريف الحالي والذي ذكره Waksman سنة 1945 في أن هذه الظاهرة ترجع إلى إفراز مواد كيماوية ذات تأثير ضار بالميكروبات[12].

المضادات الحيوية عبارة عن مركبات كيميائية عضوية تنتج من التفاعلات الأيضية لبعض الكائنات الحية الدقيقة ذات فاعلية إنتقائية على الدقائق العضوية الممرضة تحت تراكيز ضعيفة، حيث تقوم بإيقاف وتثبيط نموها وتكاثرها، وتسمىBactériostatique. ولقد تطور العلم الحديث في آليات الإستعمال حيث أصبحت تستخدم كنوع من المواد الكيميائية الطبيعية العلاجية، للكثير من الأمراض الميكروبية[16].

III.2.2. أنواع المضادات الحيوية :

إن تصنيف المضادات الحيوية يعتمد على الوظيفة الأساسية للمضاد الحيوي في الجسم والتي تنقسم إلى قسمين :

✓ *مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية :*

تمنع تكاثر الخلية البكتيرية وهو ما يساعد في القضاء عليها مثل :سلفوناميد sulfamide، كلورامفينكول chloramefincole.

✓ *مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية :*

إما عن طريق التأثير على جدار خليتها، أو بالتسبب في إنتفاخ خليتها وإنفجارها، أو بمنع تكوين مادة البروتين داخل خليتها مثل :Penicillin , Gentamicin , Ampicillin[17].

III.2.4. طرق تأثير المضادات الحيوية :

تعمل المضادات الحيوية على قتل الميكروبات، أو كبح الميكروبات، وقد يكون مفعول المضاد على الغلاف الخارجي للميكروب (CellWall)، أو الغلاف الداخلي (Membrane Cell)، أو يعمل على مستوى الخلية لإيقاف تصنيع البروتين (Brotein Synthesis).

➢ العمل على تثبيط نمو الـ ADN:

من بين الأسباب التي تسببها المضادات الحيوية إضطراب عمل ADN مما يمنع الخلية من إنقسام وتكوين الإنزيمات الخاصة بذلك [18].

➢ العمل على تخريب الغشاء السيتوبلازمي :

بعض المضادات الحيوية تعمل على تأثير هندسية Apidoprotine للغشاء السيتوبلازمي، حيث تقوم بتحليلها وفقدان الخلية البكتيرية للسيتوبلازم الكروموزومي [19].

➢ العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا :

المضاد الحيوي له خواص سطحية التي تمكنه من تخريب عمل من نفاذية الغشاء الداخلي (زيادة غير طبيعية)، ويسمح بطرد المواد السائلة خارج البكتيريا، هذا ما يسمح بتدميرها مثل: (Polymyxineslipo peptides cycliques) يعمل وفقا هذا الأسلوب من العمل[17].

➢ العمل على الغشاء الخارجي للبكتيريا :

المضاد الحيوي يوقف تركيب الجدار بتثبيط trans peptidas هذا ما يمنع تركيب peptidoglycane وهذا ما يوقف نموها وعملها[18].

III.3. المقاومة البكتيرية للمضاد الحيوي:

III.3.1.تعريف المقاومة البكتيرية :

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

- مقاومة طبيعية.
- مقاومة مكتسبة [5].

III.3.2. أسباب المقاومة البكتيرية :

تكون المقاومة على شكل طفرة جينية تلقائية أو مكتسبة أو إكتساب جين مقاوم من بكتيريا أخرى، حتى وإن كانت من سلالة أخرى وذلك عن طريق عملية نقل الجين الأفقي (Horizontat genetransfer) ويعود سبب زيادة مقاومة البكتيريا للمضادات بسبب التعرض الكثير للمضادات الحيوية وصرفها بدون وصفة طبية، وبالتالي ظهور أجيال جديدة من البكتيريا المقاومة [20].

III.3.3. طرق التعرف على حساسية أو مقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي :

III.3.3.1.خواص الخدمة البكتيرية: تعتبر الخدمة البكتيرية مقاومة للمضاد الحيوي على حسب تركيزه، حيث نجد كلما إرتفع التركيز قلت المقاومة لإعطاء أفق لكي تتم المعالجة [17].

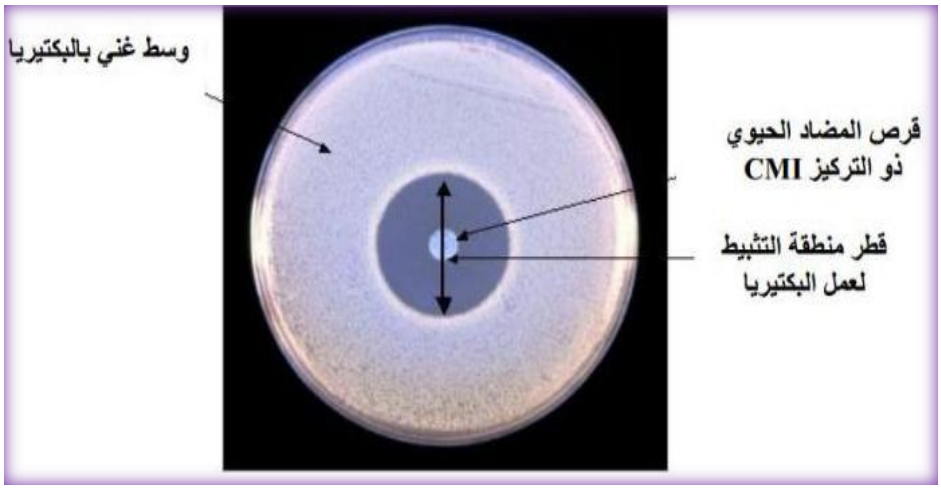
III.3.3.2.*كيفية* المعالجة بالمضاد الحيوي :

ومن أهم الطرق لمعالجة البكتيريا طريقة الإنتشار :

✓ **طريقة الإنتشار(Méthode de diffusion) :**

من أجل تحديد مدى حساسية السلالات البكتيرية للعوامل المضادة للبكتيريا وهي تقدير جرعة (تركيز) المضاد الحيوي القادر على حدوث هذا التأثير، تلجأ إلى طريقة Antibiogramme عن طريق الإنتشار على وسط صلب، حيث تحضر الأقراص بورق واتمان التي تشبع بالتركيز المحدد من المضادات الحيوية (أو المواد المراد معرفة تأثيرها على البكتيريا) وتوضع في أحواض بكتيرية على الوسط الصلب تكون مشبعة مسبقا بلقاح بكتيري بطريقة المسح، وتعتبر هذه الطريقة شائعة الإستعمال في مخابر الميكرو بيولوجيا وهذا راجع لسهولة تحقيقها وتعتبر كذلك طريقة غير مكلفة، بالمقارنة مع الطرق الأخرى، بالمقابل تعطي نتائج جيدة حيث تمكننا من معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي [21] ويمكننا القول أن :

- البكتيريا مقاومة (غير حساسة للمضاد الحيوي) إذا كان القطر أقل من 8 ml.
- بكتيريا متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي إذا كان القطر مابين 17_9 mm.
- بكتيريا حساسة للمضاد الحيوي إذا كان القطر مابين 20 _15 mm.
- بكتيريا حساسة جدا للمضاد الحيوي إذا كان القطر أكبر من 20 mm[22].



الشكل (III.5): قطر منطقة التثبيط للبكتيريا

III.4.الجذور الحرة:

III.4.1. تعريف الجذور الحرة :

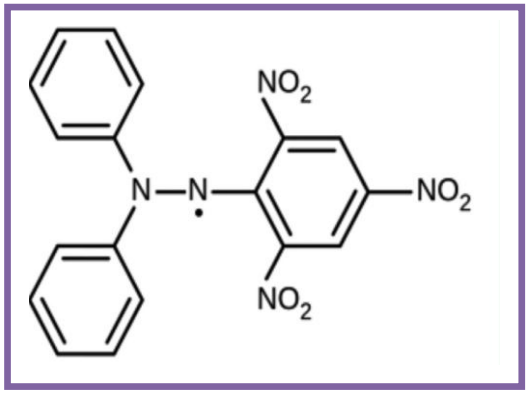
الجذور الحرة هي أصناف كيميائية ذرية أو جزيئة متعادلة أو مشحونة بشحنة سالبة، تحتوي في تركيبها الإلكتروني على إلكترونات منفردة. معظم هذه الإلكترونات تسعى إلى الإستقرار من خلال تفاعلاتها مع مركبات أخرى، تسمى هذه الظاهرة بالإجهاد التأكسدي. ينتج هذا الصنف من الإلكترونات من خلال التفاعلات المتعاقبة، المتسلسلة، البلمرة أو التفاعلات الضوئية[23].

III.4.2. أنواع الجذور الحرة:تم تقسيم الجذور الحرة على أساسيين مختلفين هما:

III.4.1.2. على أساس الاستقرار: ينقسم هذا النوع إلى قسمين :

- ✓ **الجذور الحرة النشطة (غير مستقرة):** وهي عبارة عن عناصر كيميائية ذات وزن جزيئي صغير وعمر قصير، وهذا راجع لعدم استقرارها، مثل الهيدروجين H، النيتروجينN، الفلور F، الهيدروكسيلOH والبنزنC_6H_5.....الخ[24].
- ✓ **الجذور الحرة المستقرة (الصامدة):** وهي عبارة عن عناصر كيميائية ذات وزن جزيئي كبير وعمر طويل، أي أن مدة إستقرارها تصل في بعض الأحيان إلى أيام، مثل ثنائي فينيل أكسيد النيتريك Ph_2NO و ثنائي فينيل بكريل هيدرازيلDPPH. ومعظم الجذور الآروماتية التي تحتوي على رنين إلكتروني تكون مستقرة في غالب الأحيان، لكن يجعله أقل فاعلية لأنه يحتاج إلى طاقة عالية أثناء التفاعل[25].

الجذرDPPH : هو إختصار لـ1 ،1– ثنائي فينيل بيكريل هيدرازيل، وهو عبارة عن مادة صلبة ذات اللون البنفسجي المسود ويعطي اللون الأصفر عند إستقراره، حيث يبقى هذا الجذر مستقر لعدة أيام وهذا راجع لوجود حلقات آروماتية بسبب الرنين المتواجد في الحلقة، يعني عدم تمركز الإلكترونات في موقع معين[26] و الشكل (III.7) يمثل الصيغة الكيميائية للجذر DPPH.



الشكل (6.III) : الصيغة العامة للجذر الحر DPPH

2.2.4.III.على أساس النوع : تم تقسيم هذا النوع على أساس العنصر الكيميائي المسؤول عن الجذر الحر مثل الجذور الحرة الأكسجينية O و النيتروجينية N [26].

3.4.III. مصادر الجذور الحرة: يتم إنتاج الجذور الحرة بواسطة الأيض في الجسم، أو تكون من مصادر داخلية أو خارجية. تزداد هذه الجذور بزيادة الإرهاق النفسي والجسدي وحالات المرض كما هو موضح في الجدول (4.III) كالتالي :

الجدول(4.III) : بعض الأمثلة عن المصادر الداخلية والخارجية للجذور الحرة

المصادر الداخلية	المصادر الخارجية
– الأمراض والالتهابات – نقص المناعة – عمليات الأكسدة	– التلوث، المبيدات الحشرية – المواد الكيميائية، دخان السجائر – أشعة الشمس الضارة، الأشعة فوق البنفسجية

III.4.4.عمل الجذور الحرة : تدخل الجذور الحرة في العديد من التفاعلات مما يؤدي إلى تجديد جذري يمكنها أن تبدأ دورة جديدة من التفاعلات، وتتم هذه التفاعلات على ثلاثة مراحل[27] كالتالي :

- ✓ **مرحلة البداية** : يتم في هذه المرحة تشكل الجذر

$$LH + R^{\cdot} \longrightarrow L^{\cdot} + RH$$

- ✓ **مرحلة الإنتشار**: في هذه المرحلة الجذور الحرة تجدد سلسة من التفاعلات.

$$L^{\cdot} + O_2 \longrightarrow LOO^{\cdot}$$

$$LH + LOO^{\cdot} \longrightarrow LOOH + L^{\cdot}$$

$$L^{\cdot} + O_2 \longrightarrow LOO^{\cdot}$$

- ✓ **مرحلة النهاية** : ويتم فيها تجميع الجذور الحرة

$$L^{\cdot} + L^{\cdot} \longrightarrow LL$$

$$LOO^{\cdot} + LOO^{\cdot} \longrightarrow LOOL + O_2$$

$$LOO^{\cdot} + L^{\cdot} \longrightarrow LOOL$$

III.5.4.أضرار الجذور الحرة: الجذور الحرة تتسبب في العديد من الأمراض التي تصيب الإنسان[28] نذكر منها :

- ✓ إضطرابات الأعصاب مثل مرض الزهايمر، فقدان الذاكرة و الإكتئاب.
- ✓ الإضطرابات الرئوية مثل إلتهاب الرئة، الربو و الإنسداد الرئوي المزمن.
- ✓ الاضطرابات الكلوية مثل الفشل الكلوي.
- ✓ اضطرابات الجهاز الهضمي مثل القرحة المعدية.
- ✓ أمراض القلب والأوعية الدموية مثل تصلب الشرايين.

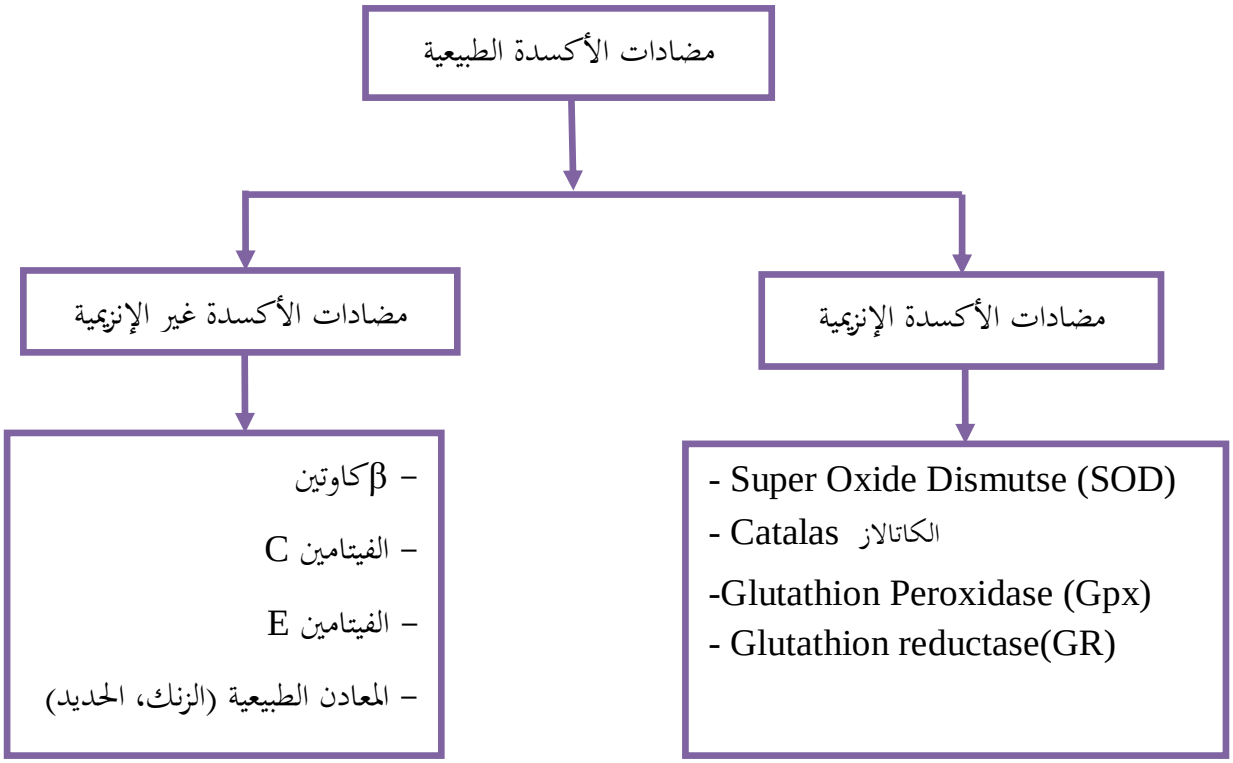
III.5.مضادات الأكسدة:

III.5.1.تعريف مضادات الأكسدة: و هي جزيئات أو أيونات أو جذور مستقرة نسبيا لها القدرة على منع تأكسد الجزيئات غير مستقرة (الجذور الحرة) في عضو الكائن البشري وذلك بواسطة منع الأكسدة ومنع تطور سلسلة التفاعلات[29]، تستعمل بتراكيز منخفضة في الأغذية لتزيد من صلاحيتها ومنع تأكسدها.

مضادات الأكسدة متواجدة بكميات متفاوتة في جميع الأغذية النباتية والحيوانية وبعض الأعشاب الطبيعية [30].

III.5.2. تصنيف مضادات الأكسدة : يتم تصنيف مضادات الأكسدة إلي صنفين أساسيين هما :

III.5.1.2.مضادات الأكسدة الطبيعية: وهي كل ما تنتجه المادة الحية من مضادات، وهي متوفرة في غذاء الإنسان اليومي مثل الفيتامينات والإنزيمات وهي تنقسم إلى قسمين أساسيين كما في المخطط التالي[25].

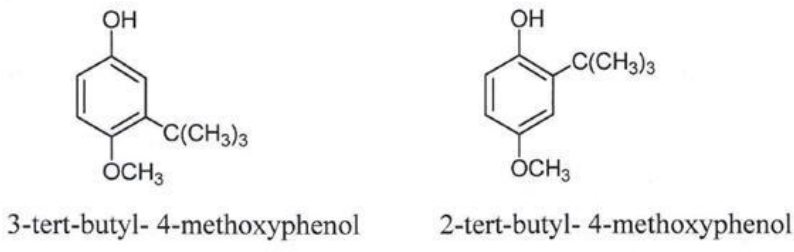


الشكل (III.7): مضادات الأكسدة الطبيعية

III.2.2.5.مضادات الأكسدة الصناعية: وهي العناصر التي يتم إضافتها للأطعمة المعلبة لحمايتها من التلف وتمديد مدة صلاحيتها وذلك بواسطة أكسدة هذه العناصر، ومن أمثلة عن هذه المواد ما يلي:

Butylhdroxytoluene(BHT) ،Butylhdroxyanisole(BHA)
Tetrabutylhydroquinone(THQ) ،Propylgallate(PG)
وحمض الغاليك Acidegallique

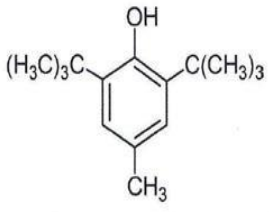
Butylhdroxyanisole (BHA): وهو عبارة عن مركب كيميائي مصنع، ويمكن تحضيره من المركب paramethoxyphenol بطريقة Butylation، يحتوي المركب BHA على صيغتين متماكبتين يتميزان برائحة الفينول[32-31].



الشكل (III.8): صيغ BHA

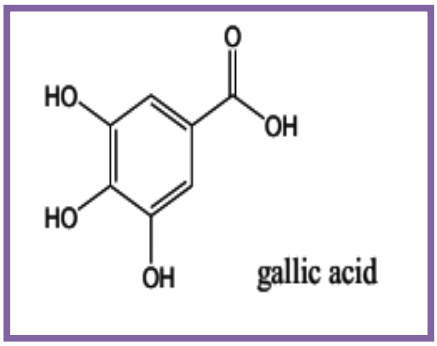
Butylhdroxytoluene (BHT) :

هو عبارة عن مادة متبلورة عديمة الرائحة، تذوب في المذيبات العضوية. يعتبر **BHT** من المضادات الأكسدة التي يتم تحضيرها تجاريا لإستعماله في المنتجات الغذائية[33]، وصيغته الكيميائية كما هي موضحة في الشكل التالي:



الشكل(III.9): الصيغة الكيميائية لـ BHT

حمض الغاليك: Acide gallique يستعمل حمض الغاليك كمادة حافظة للأغذية وذلك بتوفر عدة شروط منها أن يكون فعال بتراكيز و درجة سمية منخفضة، يذوب حمض الغاليك في الماء ولكنه قليل الذوبان في الزيوت والدهون، وصيغته الكيميائية كما في الشكل التالي:



الشكل (III.10): يمثل الصيغة الكيميائية لحمض الغاليك

III.5.3. آلية عمل مضادات الأكسدة : يتمثل عمل مضادات الأكسدة في عدة آليات تتمثل في كسر سلسلة التفاعلات الجذرية، إمتصاص الأشعة فوق البنفسجية والمرئية، كبح الجذور الحرة، وإزالة المعادن الثقيلة [34].

$$ROO^{\cdot} + AH \longrightarrow ROOH + A^{\cdot}$$
$$A^{\cdot} + ROO^{\cdot} \longrightarrow ROOA$$

III.5.4.شروط إضافة مضادات الأكسدة :لإضافة هذه المواد يجب أن يتوفر ما يلي:

- درجة السمية يجب أن تكون فعالة بتركيز منخفض في أنواع عديدة من الدهون[35].
- يجب أن لا تؤثر على الغذاء المضاف إليه لكي لا يغير في طعمه ورائحته [36].

المراجع

قائمة المراجع :

المراجع باللغة العربية :

[1]إتحاد مجالس البحث العلمي العربية (1986) دراسات مؤتمر النباتات الطبية في الوطن العربي وآفاق تطويرها بغداد.

[2] محمد عبد المحسن. وراثة الأحياء الدقيقة، شركة الشهاب للنشر والتوزيع، ص 18(1995).

[3] مصطفد ,والاخرون " , النبات العامة , " منشأة المعارف , الاسكندرية , ص1100(1979).

[5] بوراس. (2016). دراسة الفعالية البيولوجية لنبات اللبين Euphorbia-Guyoniana (Boiss. & Reut).

[7] العابد ابراهيم، غراف نور الدين، يوسفي محمد. (2011). دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للاكسدة لمستخلص الثاويدات الخام لنبات الضمران ,(1)3 ,*Annals of Science and Technology* . 8-8.

[8] د.رأفت حسن عبد الوهاب.، د.فضاء ادعيج العون.، تصنيف عالم النبات والأحياء الدقيقة، شركة دار العلم للنشر والتوزيع. الكويت (2018).

[9] مجلة العلوم، تحديات المقاومة البكتيرية، 15 العدد 10أكتوبر/ تشرين الأول (1999).

[10] معامير، حنين، علالي& ,يسرى. (2019). دراسة النواتج الأيض الثانوي والفولافونيدي والفاعلية البيولوجية لمستخلص الخام لأوراق نبات الرمان باستعمال الكحول والماء بنسب مختلفة.

[11] يسرني، ربيع، عمري& ,يزيد. (2020). دراسة فيتوكميائية التالغوذة (talgouda)وتثمين الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلصاته.

[12] غمام عمارة& ,عبد الحي. (2018). دراسة الفعالية البيولوجية والكيميائية لمستخلصات نبات الشريك Fagonia cretica. L.

[19] تامة، نور الدين، غراف &, نور الدين. (2018). الدراسة الفيتوكيميائية للمنتجات الفعالة (القلويدات الفينولات والفلافونويدات، التربيـنات الثلاثية) والنشاط المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات لنبات البـاقل و الحُميِّر الذي ينمو في جنوب شرق الجزائر.

[20] د. عادل نوفل،كتاب كيمياء الصيدلانية (الجزء النضري)،جامعه دمشق، (1981).

[25] بوقوادة ، & مصطفى. (2008). دراسة فيتوكيميائية للبيبيدات والفينولات في بعض أنواع نوى التمر المحلي (Doctoral dissertation, Université de Ouargla-Kasdi Merbah).

[31] د. باسل كامل دلالي،كامل الركابي (1981). كيمياء الأغدية ،دار الكتب للطباعة والنشر جامعة الموصل

[32] فؤاد عبد العزيز الشيخ (1999). صناعة زيت النخيل ومشتقاته، دار النشر للجامعات الطبعة الأولى.

[33] د. رضوان صدقي فرج (1991)،كيمياء الليبيدات مركز النشر لجامعة القاهرة.

المراجع باللغة الأجنبية :

[4] PARRENOK., 2013- Development and assessment of pomegranate (punica granatum . L) derived food produts . Rich in bioactive phytochemicals . these doctora .

[6] Leroy, T. (2002). *La rupture spontanée de la rate dans les lymphômes du manteau: à propos de deux observations* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).

[13] Courvalin, P. (1992). Interpretive reading of antimicrobial susceptibility tests. Molecular analysis and therapeutic interpretation of in vitro tests to improve antibiotic therapy. *ASM American Society for Microbiology News*, *58*(7), 368-375.

[14] Jorgensen, J. H., & Ferraro, M. J. (1998). Antimicrobial susceptibility testing: general principles and contemporary practices. *Clinical Infectious Diseases*, 973-980.

[15] ET Mbosso, J., M Kamdem, L., CA Nguedia, J., Meyer, F., CS Ebelle, D., N Lenta, B., ... & Wintjens, R. (2015). In vitro evaluation of antimicrobial and antiproliferative activities for compounds isolated from the Ficus bubu Warb.(Moraceae) fruits: chemotaxonomic significance. *Drug Delivery Letters*, *5*(2), 122-131.

[16] Corvaglia, A. R. (2006). *Rôle des résidus d'antibiotiques dans l'environnement hydrique sur la sélection et la diffusion de bactéries résistantes des genres" Aeromonas"," Acinetobacter" et" Legionella"* (Doctoral dissertation, University of Geneva).

[17] Guérin-Faublée, V., & Carret, G. (1999). L'antibiogramme: principe, méthodologie intérêt et limites. *Journées nationales GTV-INRA*, 5-12.

[18]Sharan, R., Chhibber, S., & Reed, R. H. (2011). Inactivation and sub-lethal injury of salmonella typhi, salmonella typhimurium and vibrio cholerae in copper water storage vessels. *BMC infectious diseases*, *11*(1), 1-6.

[21] Baur, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C. T., & Turch, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J clin pathol*, *45*(4), 493-496.

[22] G.Poncea,Fritzer,I.Del vallc et Rouras," Antimicrobial activity of essential oils of the native microflora of organic Swiss chard", Lebensmittel-Wissenxchuft und Technologie(2003).

[23] Ionita, P. (2005). Is DPPH stable free radical a good scavenger for oxygen active species. Chem Pap, 59(1), 11-16.

[24] Percival, M. (1997). Phytonutrients and detoxification. Clinical nutrition insights, 5(2), 1-4.

[26] Poulose, S. M., Harris, E. D., & Patil, B. S. (2005). Citrus limonoids induce apoptosis in human neuroblastoma cells and have radical scavenging activity. The Journal of nutrition, 135(4), 870-877.

[27] Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., & De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. International journal of pharmaceutical sciences review and research, 3(1), 91-100.

[28] Nagmoti, D. M., Khatri, D. K., Juvekar, P. R., & Juvekar, A. R. (2012). Antioxidant activity free radical-scavenging potential of Pithecellobium dulce Benth seed extracts. Free Radicals and Antioxidants, 2(2), 37-43.

[29] Pinchuk, I., Shoval, H., Dotan, Y., & Lichtenberg, D. (2012). Evaluation of antioxidants: scope, limitations and relevance of assays. Chemistry and physics of lipids, 165(6), 638-647.

[30] Hamid.A, Aiyelaagbe.O, Usman.L,Ameen.O, and Lawal.A, Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. African Journal of Pure and Applied Chemistry, 2010. **4** (8): p. 142-151.

[34] Epstein, S. S., Saporoschetz, I. B., Katsioules, C., & Bishop, Y. (1971). Bioassay for antioxidants based on protection of isolated rat liver mitochondria against the photodynamic toxicity of benzo [a] pyrene. Food and Cosmetics Toxicology, 9(3), 367-377.

[35] Newkirk, K. A., Gilchrist, C. L., Hand, L. W., & Sutton, D. S. (1993). Effects of synthetic antioxidants and rosemary extracts on oxidative rancidity and color stability in whole hog sausage. Research report P (USA).

[36] Fritsche, K., & McGuire, S. (1997). The use of dietary synthetic antioxidants at recommended levels does not alter rat immune cell eicosanoid production or hepatic vitamin E concentration. Nutrition Research, 17(8), 1311-1319.

الفصل الرابع:

الطرق والوسائل

مدخل :

في هذا الفصل تم توضيح كيفية جمع العينات لنبتة *Bunuim mauritanicum* المتواجدة في (أم البواقي، سوق أهراس، البيض وبرج بوعريريج) وتهيئتها للدراسة، ولهذا قمنا في هذه الدراسة بالكشف عن المنتجات الفعالة و إستخلاصها، لتحديد كمية الفينولات والقلويدات الكلية، وبعد ذلك يتم التطرق للتحليل الكمي والنوعي لمنتجات الأيض الثانوي الفينولية، و دراسة الفاعلية المضادة للأكسدة بالطرق الكيميائية (DPPH) والكهروكيميائية الفولطامتري الحلقي (VMC)، تم هذا العمل على مستوى مخابر كلية العلوم الدقيقة بجامعة الشهيد حمه لخضر – بالوادي. وكما تمت دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا للمستخلصات الفينولية و القلويدية، هذا العمل تم على مستوى مخبر التحاليل الطبية بالمجد.

IV.1. تحضير العينات :

تم جمع درنات نبتة التالغودة من أربعة مناطق المذكورة سابقا وذلك بتاريخ 06 /01 /2022.

قمنا بتنظيف وتنقية الدرنات من المواد والشوائب العالقة فيها، ثم تقسيمها إلى قطع صغيرة لتسهيل عملية التجفيف وذلك بنشرها في مكان ظلي، بعيد عن الرطوبة والتهوية الجيدة مع تحريكها من وقت لآخر للتأكد من تجفيفها التام. وبعد ذلك يتم طحنها بواسطة هاون ووضعها في علب زجاجية محكمة للتأكد من عدم تعفنها حتى بداية الدراسة.

الشكل (IV.1) : مراحل تحضير نبات التالغودة

2.IV. المواد و الأدوات المستعملة : خلال هذه الدراسة تم استخدام مجموعة من الأدوات والمواد والأجهزة لإنجاز التجارب العلمية .

الجدول (1.IV) : المواد والأدوات المستعملة في التجربة .

المواد	الأدوات	الأجهزة
- حمض الغاليك (AG) - حمض الكرستين (AQ) - ميثانول (80%) (CH_3OH) - كاشف الفولين - كاشف ماير - يوديد البوتاسيوم (KI) - كلوريد الزئبق($HgCl_2$) - كربونات الصوديوم (7.5%) Na_2CO_3 - محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ (2%) - الهكسان - الإيثر البترولي - حمض الكبريت H_2SO_4 (2%) - المغنزيوم (Mg) - الإيثانول (C_2H_5OH) - الكلوروفورم ($CHCl_3$) - هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) - محلول الأمونياك (NH_3) - DPPH - DMSO - حمض الأسكوربيك - حمض كلور الماء (7%) HCl	- بيشر - حوجلة - مخبار مدرج - أنابيب إختبار وحامل - ورق الألمنيوم - ورق برا فيلم - ورق الترشيح - قمع بوخنر - ماصة - زجاجة ساعة - ملعقة - قمع - هاون - ورق وجهاز الـ pH - قمع الفصل - حامل - الأقراص الخاصة بالبكتيريا - علب بيتري - ملقط - ورق Whatmans N°3	- جهاز الأشعة الفوق البنفسجية (UV- visible) - جهاز التبخير الدوراني - مخلاط مغناطيسي - ميزان إلكتروني حساس - جهاز الفولطا متري - حاضنة

✓ **المستخلصات المدروسة :**

Ph Om ــ المستخلص الفينولي لمنطقة أم البواقي.

Ph So – المستخلص الفينولي لمنطقة سوق أهراس.

Ph By – المستخلص الفينولي لمنطقة البيض.

Ph Bo – المستخلص الفينولي لمنطقة برج بعريريج.

Al Om – المستخلص القلويدي لمنطقة أم البواقي.

Al So – المستخلص القلويدي لمنطقة سوق أهراس.

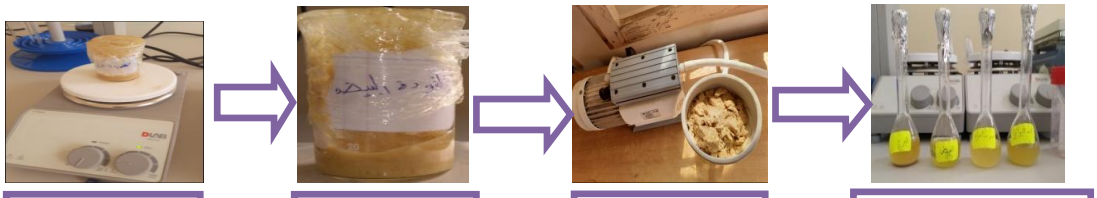
Al By– المستخلص القلويدي لمنطقة البيض.

Al Bo – المستخلص القلويدي لمنطقة برج بعريريج.

IV.3. الكشف الفيتو كيميائي لنبتة التالغودة:

✓ **المستخلص الكحولي :**

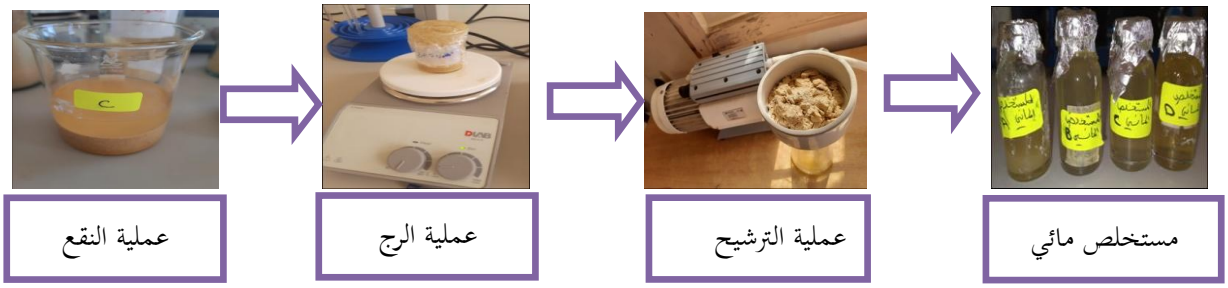
نقوم بنقع (5(g من مسحوق التالغودة في حجم قدره (ml) 20 من الإيثانول (80%) مع الرج لمدة 24 سا في درجة حرارة المخبر، ثم يتم ترشيحه تحت الفراغ للإحتفاظ بالرشاحة لإستعمالها في التحليل الكيميائي.



الشكل (2.IV) : مراحل تحضير المستخلص الكحولي.

✓ **المستخلص المائي :**

نقوم بنقع 5(g) من مسحوق التالغودة في حجم قدره 20(ml) من الماء المقطر المغلي لمدة 24 سا مصحوبا بالرج في درجة حرارة المخبر، ثم يتم ترشيحه تحت الفراغ للإحتفاظ بالرشاحة لإستعمالها في التحليل الكيميائي.



الشكل (3.IV) : مراحل تحضير المستخلص المائي.

1.3.IV.الكشف عن القلويدات Alcaloïdes:

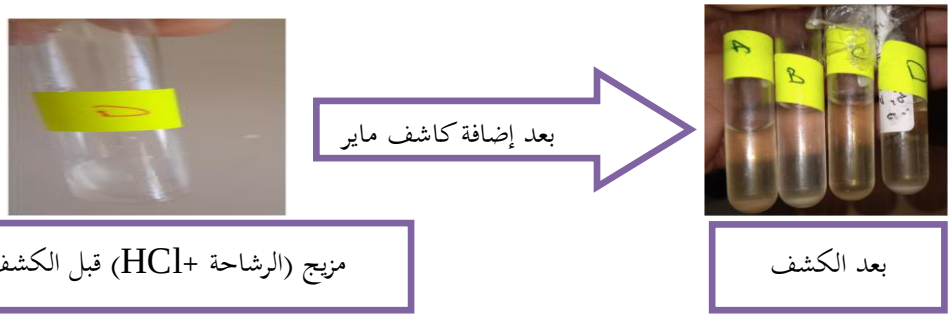
1.1.3.IV. تحضير كاشف ماير Mayer sreagent:

يحضر بإذابة 13.5(g) من كلوريد الزئبق $HgCl_2$ و 5(g) من يوديد البوتاسيوم KI في واحد لتر من الماء المقطر[1].

2.1.3.IV. طريقة العمل :

وفقا للطريقة المستعملة (Al-Faham، Al-Diahan)[2]، نأخذ كمية من المستخلص الكحولي ونضيف لها 5(ml) من حمض كلور الماء (HCl 1%) للحصول على مزيج، ثم نأخذ 1(ml) من المزيج ونضيف له قطرات من كاشف ماير.

الملاحظة : ظهور راسب بلون برتقالي وهذا دليل على وجود القلويدات.



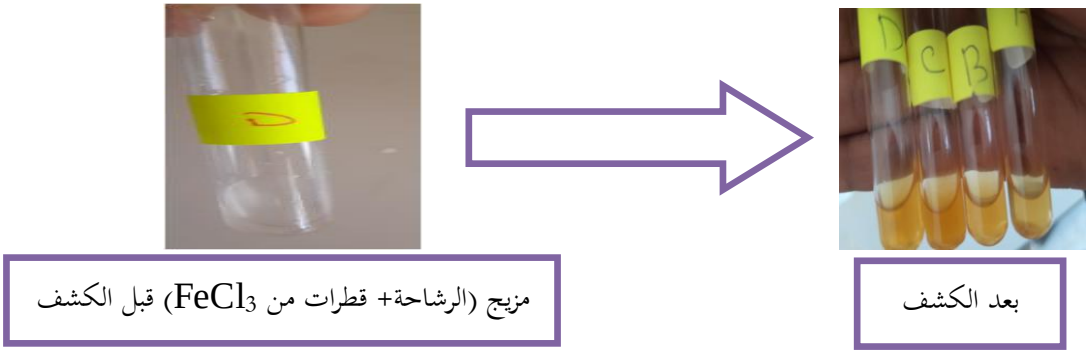
الشكل (4.IV) : عملية الكشف عن القلويدات

2.3.IV. الكشف عن الفينولات phénols :

1.2.3.IV. طريقة العمل :

وفقا للطريقة المستعملة (Pandith) [3]، نعالج المستخلص الكحولي بواسطة قطرات من محلول كلوريد الحديد الثلاثي ($FeCl_3$) بتركيز5% المحضر حديثا.

الملاحظة : تدرج اللون من فاتح إلى داكن يميل إلى السواد وهذا دليل على وجود الفينولات.



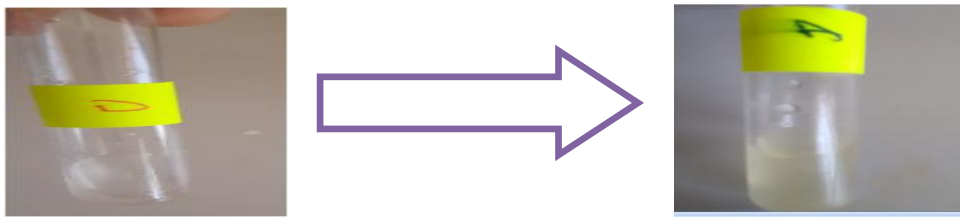
الشكل (5.IV) : عملية الكشف عن الفينولات

3.3.IV. الكشف عن الفلافونويدات Flavonoïdes :

1.3.3.IV. طريقة العمل :

نمزج 20(ml) من المستخلص الكحولي أو المائي مع 1(ml) من كربونات الصوديوم (Na_2CO_3) 0.5 مولاري [4].

الملاحظة : ظهور اللون الأصفر وهذا دليل على وجود الفلافونويدات.



مزيج (المستخلص+ Na_2CO_3) قبل الكشف

بعد الكشف

الشكل (6.IV) : عملية الكشف عن الفلافونويدات

4.IV. إستخلاص المنتجات الفعالة :

1.4.IV. تعريف الإستخلاص:

هو عبارة عن فصل مركب أو مجموعة من المركبات من المادة الخامة بإستعمال مذيبات عضوية، حيث إذا كانت المادة المراد فصلها صلبة فيسمى باستخلاص (سائل – صلب)، أما إذا كانت المادة المراد فصلها سائلة فيطلق عليها إستخلاص (سائل – سائل)، ولهذا الأخير عدة عوامل يتأثر بها مثل درجة الحرارة، الضغط و إستعمال المذيب المناسب[5].

1.1.4.IV. إستخلاص(صلب– سائل) :

✓ **الإستخلاص على البارد (النقع)** :

تعتمد هذه التقنية على وضع المادة الخامة داخل إناء يحتوي على كمية محددة من المذيب، بحيث يكون حجم المذيب يغطي ثلث (المذاب1/المذيب3) المادة الخامة، وتترك في مدة زمنية معينة مع التحريك من حين إلى آخر عند الضغط ودرجة حرارة الغرفة، وبهذه الطريقة يتم إنتقال المركبات المراد فصلها من المادة الخامة إلى المذيب، ثم بعد ذلك نقوم بالترشيح لفصل الطور السائل عن المادة الصلبة[6].

✓ **الإستخلاص على الساخن:**

تعد هذه التقنية سريعة نسبيا مقارنة بالطريقة السابقة، حيث يتم فيها غمر المادة الخامة في المذيب مصحوبا بالتسخين لتسريع عملية الإستخلاص، وتطبق على المواد الصلبة التي تطلق موادها الفعالة إلا تحت تأثير درجة حرارة عالية [7].

IV.2.1.4. الإستخلاص (سائل – سائل) :

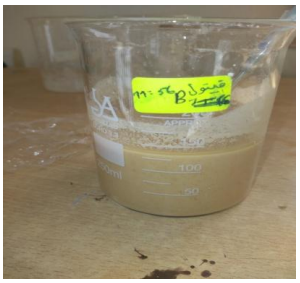
تعد هذه التقنية من إحدى الطرق شائعة الإستعمال حيث تتم بواسطة قمع الفصل، وفي هذه التقنية يتم إنتقال المادة المراد فصلها بين مذيبين مختلفين في القطبية [8].

IV.2.4. طريقة إستخلاص المركبات الفينولية لنبتة Bunuim mauritanicum بالنقع:

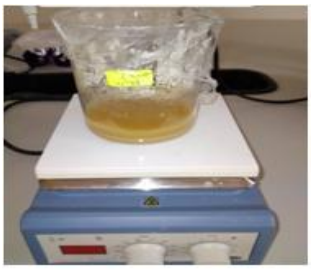
نقوم بنقع 50(g) من مسحوق درنات *Bunuim mauritanicum* (التالغودة) في حجم قدره 100(ml) من الإيثر البترولي، لمدة 24 سا مع الرج في درجة حرارة المخبر، نرشح المزيج ونضيف للمسحوق بعد التجفيف 150(ml) من الإيثانول(80%)، بعد التحريك يترك 24 سا، ثم نقوم بعملية الترشيح، نعيد نفس عملية الإستخلاص بالإيثانول على الأقل مرتين من أجل الحصول على فصل ونقاوة أكبر.

ثم توضع المستخلصات في جهاز المبخر الدوراني (Rotavapeur)، وفي الأخير نضيف كمية صغير من الميثانول للمستخلص الخام من أجل تنقية أفضل للمستخلص[9]. ثم يتم وزن هذه المستخلصات للحصول على مردود الإستخلاص، والشكل (**IV. 7**) يلخص أهم مراحل إستخلاص الفينولات بطريقة النقع للمناطق الأربعة.

1 – عملية الوزن



2 – عملية النقع



3 – عملية الرج

4 – بعد 24 سا

5 – عملية الترشيح

6 – المسحوق بعد الترشيح

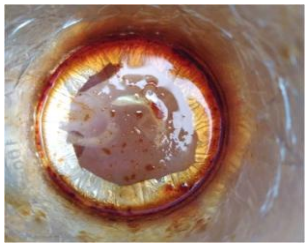
7 – تعامل بالإيثانول

8– عملية الترشيح من الإيثانول

9 – الرشاحة (2+1)

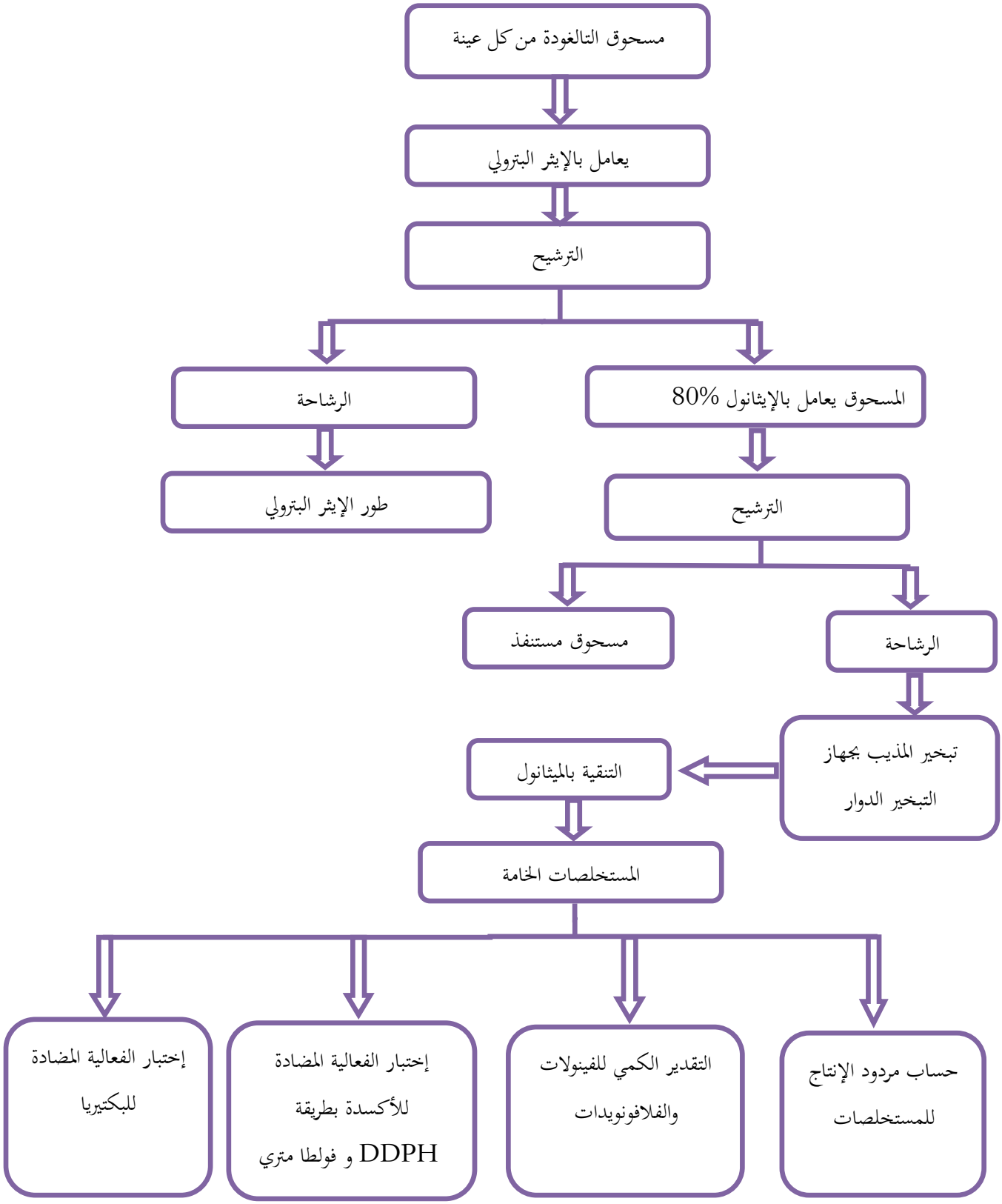
10 – عملية التركيز بجهاز Rotavapeur (2+1)

11 – المستخلص بعد التركيز



12– المستخلص بعد التجفيف

الشكل (IV. 7) : يلخص أهم مراحل إستخلاص الفينولات بطريقة النقع



الشكل (IV. 8) :مخطط يوضح مراحل إستخلاص الفينولات بطريقة النقع

IV.3.4. طريقة إستخلاص المركبات القلويدية من نبتة *Bunuim mauritanicum* بالنقع:

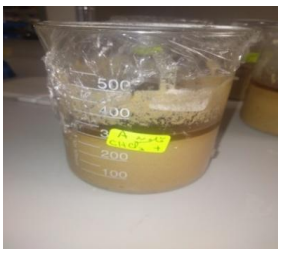
IV.3.4. 1.تحرير القلويدات بشكلها القاعدي وإستخلاصها :

نقوم بنقع 50(g) من مسحوق *Bunuim mauritanicum* (التالغودة) في حجم قدره 100(ml) من الهكسان بعد ذلك نقوم بعملية التحريك لمدة ساعة. نترك المزيج لمدة 24 سا أخرى في درجة حرارة المخبر، ثم يتم ترشيحه بواسطة ورق الترشيح لتنقية المسحوق من الشوائب العالقة فيه مثل الكلوروفيل والدهون، ثم نقوم بمعالجته بـ 100(ml) من الأمونياك NH_3 (1%)، وبهذه الطريقة يتم تحرير القلويدات ثم نستخلصها بمذيب عضوي لاقطبي مثل الكلوروفورم $CHCl_3$ ويتم إستخلاصه على البارد بالنقع، للحصول على مسحوق نبات مستنفذ ومحلول عضوي للقلويدات في صورته القاعدية[10].

IV.3.4. 2.التنقية :

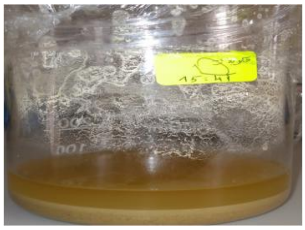
المحلول العضوي المتحصل عليه غير نقي، و لتنقيته نقوم بتحرير القلويدات من الطور العضوي إلى الطور المائي، وذلك بإضافة حمض الكبريت الممدد H_2SO_4 (2%) للطور العضوي، حتى الـ pH=4 للتخلص من الشوائب العالقة في المذيب العضوي، ثم يتم تبخير المذيب بواسطة جهاز التبخير الدوراني، للحصول على القلويدات في صورة أملاح، وتترك حتى الجفاف ثم حساب مردود الإستخلاص.

1 – عملية الوزن



2 – عملية النقع

3 – عملية الرج



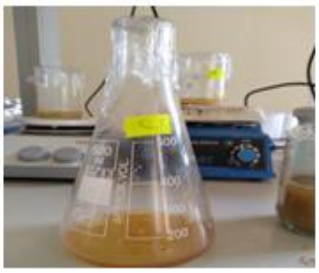
4 – بعد 24 h من الرج

5 – عملية الترشيح

6 – مسحوق بعد الترشيح

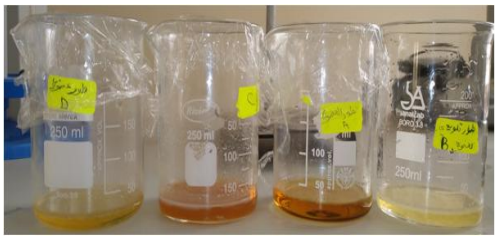
7- معالجة المسحوق بـ NH_3

8- عملية الإستخلاص



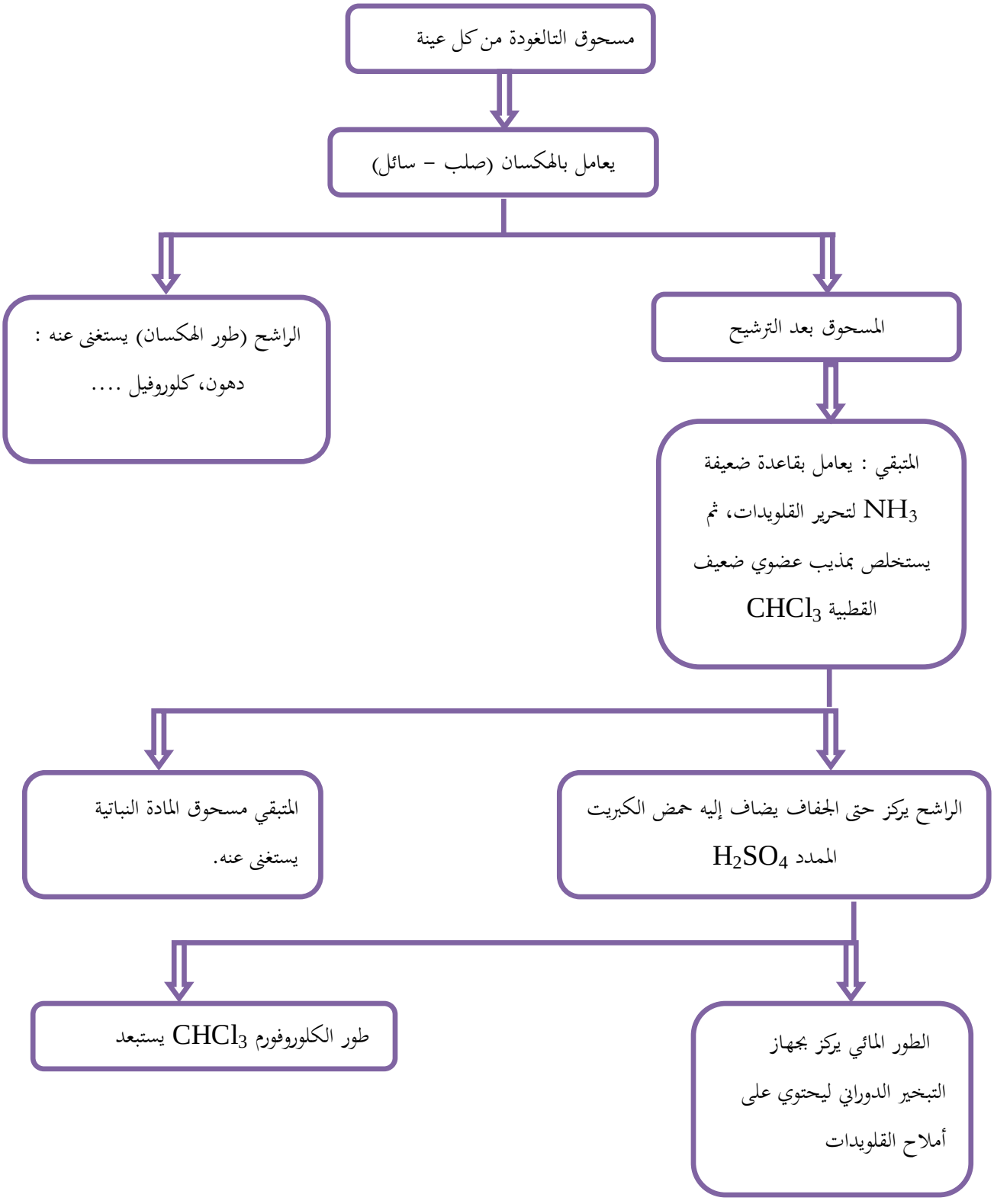
9 - الطور العضوي

10 – عملية التركيز بجهاز Rotavapeur



11 – قبل عملية التجفيف

الشكل (IV. 9) : مراحل إستخلاص القلويدات بطريقة النقع



الشكل (IV. 10) :مخطط يوضح مراحل إستخلاص الفينولات بطريقة النقع

IV.5. حساب مردود الإنتاجية للمستخلصات :

المردود هو نسبة بين كتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة والتي نرمز لها بالرمز m_f على كتلة المادة الإبتدائية للنبتة ويرمز لها بالرمز m_i ويحسب بالعلاقة التالية :

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

- m_f : الكتلة النهائية .
- m_i : الكتلة الإبتدائية .
- R % : نسبة مردود المستخلصات .

IV.6. التقدير الكمي بواسطة الأشعة فوق البنفسجية – المرئية :

IV.6.1. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية :

تعد هذه التقنية من أقدم الطرق إستعمالات في التحليل الكيفي والكمي ومن أهم الوسائل التي تساعد في تحديد البنى الكيميائية للمركبات، وتعتمد على مجال الأشعة الفوق البنفسجية والمرئية، إذ تعتبر طريقة قياس الإمتصاصية للمحاليل من أهم طرق التقدير الكمي، بحيث طولها الموجي λ [11].

IV.6.2. المبدأ :

يتكون الجهاز من قسمين رئيسيين هما المصدر الضوئي لكل طول موجي محدد ومقياس الكثافة الضوئية (photometer)، بحيث يتم وضع المحاليل المراد قياس إمتصاصيتها داخل أنبوب خاص (cuve) يسمح بمرور الضوئين المصدر الضوئي و الـ (photometer) و بالتالي فإن كمية الضوء المار خلال العينة يعبر عنها بالإمتصاصية A.

وعند تعرض الـ (photometer) للضوء فإنه يتولد على أقطابه إشارة كهربائية تتغير بتغير كمية الضوء الممتص من قبل المحلول، حيث يعتمد تغير إمتصاص العينة للضوء على تغير تركيز المادة الممتصة في المحلول وبالتالي يمكن حساب التركيز بالإعتماد على إمتصاص الضوء عند طول موجة محددة، فهناك علاقة بين تركيز المذاب وكمية الضوء المنبعثة حسب قانون Beer Lambert [12] بالعلاقة التالية :

$$A = log\ (I_0 / I)$$

حيث :

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

يمكننا من خلال مطيافية الأشعة الفوق البنفسجية و المرئية (UV - Visible)، لقياس شدة الإمتصاصية A بدلالة الطول الموجي λ [13].

IV.3.6. التقدير الكمي للمركبات الفينولية UV- Visible :

يتم تقدير المركبات الفينولية الكلية بإستخدام الطريقة اللونية (1965)Singleton – Rossi، بإستعمال كاشف الفولين (Ciocalteu Folin) في وسط قاعدي، حيث أن هذا الكاشف يتكون من حمض فوسفوتنغستينيك ذو الصيغة الكيميائية ($H_3P_{13}W_{12}O_{40}$) وحمض فوسفوموليبيدك صيغته العامة ($H_3PMo_{12}0_{40}$) الذي يرجع بواسطة الفينولات إلى أكسيد التغنستين (WO_3) والموليبيدين (MoO_3) ذات اللون الأزرق[14].

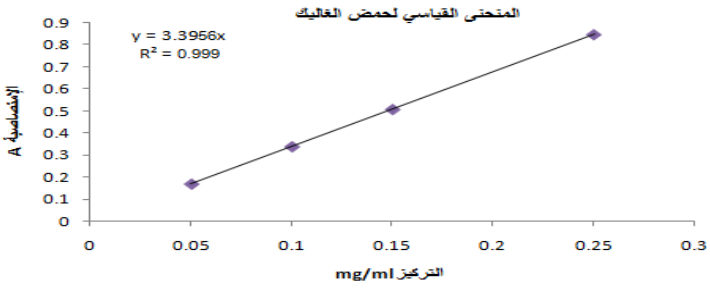
يتم تقدير المركبات الفينولية كليا وذلك بجهاز الأشعة فوق البنفسجية (UV- Visible) عند طول موجي λ = 765nm وذلك بإستعمال حمض الغاليك للفينول المرجعي[15].

IV.3.6.1. المنحنى القياسي لحمض الغاليك Acide Gallique :

نقوم بتحضير محاليل ممدة لحمض الغاليك تتراوح تراكيزه مابين (mg/ml) [0.05- 0.25]، ثم نأخذ من المحاليل الممدة سابقا (0.2(ml ونضيف لها (0.5(ml من كاشف فولين (Folin – Ciocalteu)، ونتركه لمدة 5 دقائق في الظلام، ثم نضيف له (0.8(ml من محلول كربونات الصوديوم (Na_2CO_3 7.5%)، وتترك المحاليل لمدة (30(min في الظلام، و يتم بعد ذلك قراءة الإمتصاصية لكل التراكيز بإستعمال جهاز UV- Visible عند طول موجي λ = 765 nm [16].

ومن خلال قيم الإمتصاصية A لحمض الغاليك يمكننا رسم المنحنى القياسي الذي يعبر عن الإمتصاصية بدلالة التركيز والجدول (2.IV) يمثل نتائج الإمتصاصية A لحمض الغاليك بدلالة التركيز C.

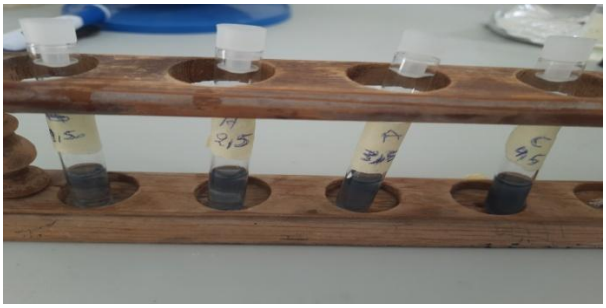
التركيز (mg/ml)	0.05	0.1	0.15	0.25
الإمتصاصية A	0.1698	0.3397	0.509	0.849



الشكل (11.IV) : المنحنى القياسي لحمض الغاليك

2.3.6.IV. التقدير الكمي للمستخلصات الفينولية :

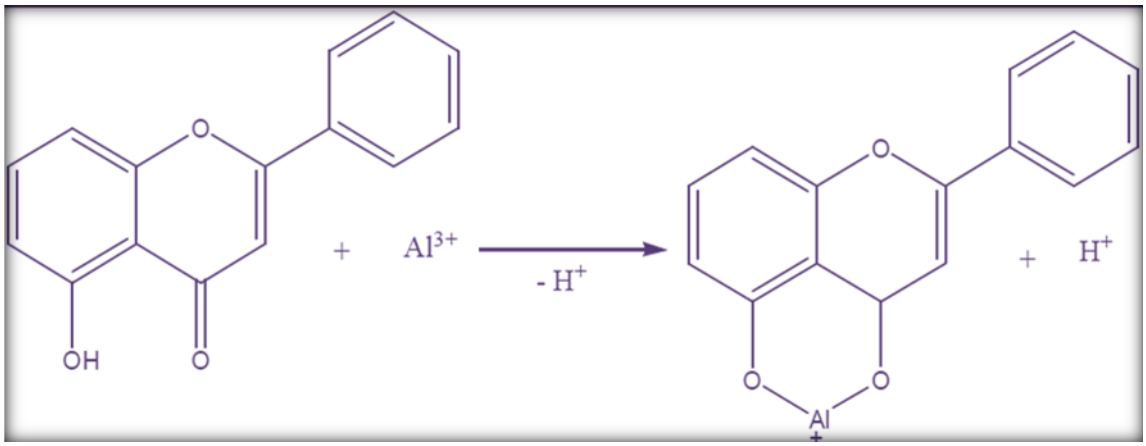
نقوم بتحضير المستخلص الأم و هذا بإذابة 25(mg) من كل عينة في 5(ml) من الإيثانول، يتم بعد ذلك تحضير محاليل ممدة من المستخلصات السابقة (الأم) بتراكيز تتراوح بين (mg/ml) [1.5-4.5]، ثم نقوم بمزج 0.2(ml) من كل المستخلصات المحضرة مع 0.5(ml) من كاشف الفولين الممدد 10 مرات، ويترك 5(min) في الظلام بعدها نضيف 0.8(ml) من كربونات الصوديوم (7.5%) Na_2CO_3، وتترك في الظلام لمدة 30(min) حتى الحصول على اللون الأزرق، ويتم قراءة الإمتصاصية في جهاز UV- Visible عند طول موجي λ=765nm .



الشكل (12.IV) : المستخلصات بعد الكشف عن الفينولات .

4.6.IV. التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة UV-Visible :

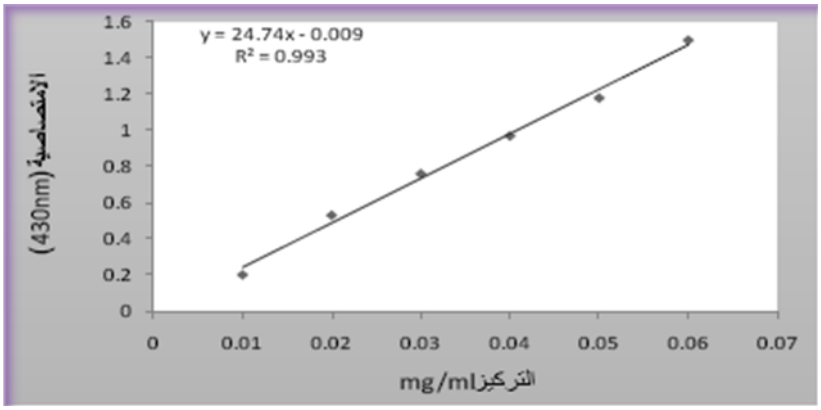
تم تقدير كمية الفلافونويدات لمختلف المستخلصات المدروسة بإستعمال محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ حيث يتفاعل هذا الأخير ويشكل معقدا أصفر اللون بينه وبين مجموعة الهيدروكسيل OH الموجودة في الحلقات البنزينية للفلافونويدات، وتم قياس هذه المعقدات لونيا بإستعمال المطيافية الضوئية عند طول موجي $\lambda = 420nm$ [15].



الشكل (13.IV) : آلية تشكيل المعقد الأصفر[17] .

1.4.6.IV. المنحنى القياسي لحمض الكرسيتين:

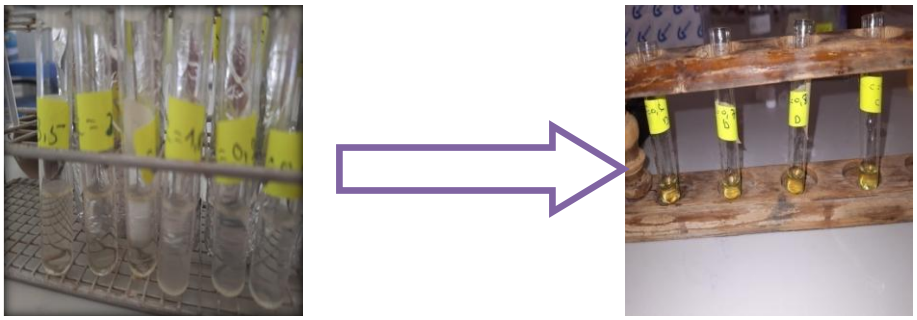
نقوم بتحضير محاليل مخففة من حمض الكرسيتين، مختلفة التراكيز بحيث تتراوح مابين (mg/ml)[0.01-0.06] في أنابيب إختبار، ثم نأخذ (1ml) من كل تركيز، ونضيف له (1ml) من محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ ذو التركيز (2%) ويترك في الظلام لمدة (30min)، ثم بعد ذلك نقوم بدراسة الإمتصاصية A للمحاليل في جهاز UV-Visible عند طول موجي $\lambda = 420nm$[18].



الشكل (14.IV) : منحنى القياسي للكرسيتين [18]

2.4.6.IV. طريقة العمل :

نقوم بتحضير المستخلص الأم وهذا بإذابة 25(mg) من كل عينة موجودة، وفي هذا الأخير نحضر من كل مستخلص عضوي تراكيز تتراوح ما بين [0.1-3.5](mg/ml)، نقوم بمزج 1(ml) من كل مستخلص محضر سابقا، مع 1(ml) من محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$، ويتم وضعها في أنابيب إختبار زجاجية وتوضع في الظلام لمدة 30(min)، فنتحصل على اللون الأصفر وبعدها يتم قراءة الإمتصاصية A في جهاز UV-Visible عند الطول الموجي المذكور سابقا.



قبل الكشف

بعد الكشف

الشكل (15.IV) : يمثل نتائج المحاليل بعد إضافة $ALCl_3$

IV.7. طرق تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة:

IV.7.1. دراسة الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الكيميائية :

الفاعلية المضادة للأكسدة هي قياس قدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذور الحرة أو توقيف عملية الأكسدة، تقدر الفاعلية المضادة للأكسدة بعدة طرق ومن بينها إختبار: OH, PM , PR , ABTS DPPH,TRAP . FRAP , O_2 تعتمد بعض طرق تقدير النشاط المضاد للأكسدة على اللون أو إختفاءه خلال زمن معين، وتقرأ الإمتصاصية عند طول موجي $\lambda = 517nm$[19]، في دراستنا هذه قمنا بدراسة إختبار التثبيط الجذري أو النشاطية إتجاه جذر DPPH .

IV.7.1.1. إختبار الجذر التثبيطي الحر DPPH :

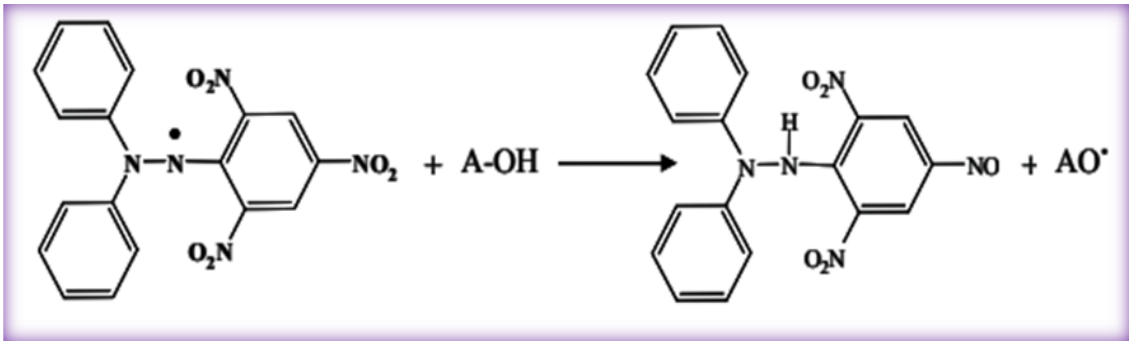
هذا الإختبار يعتمد على تثبيط الجذور الحرة بحيث يترك في الظلام لمدة (30(min مع المستخلصات المضادة للجذور مع العلم أن DPPH مستقر نسبيا، يتفاعل مع جزيئة مضادة للجذور، فيتحول إلى DPPH-H عند الطول الموجي الأعضمي $\lambda= 517nm$[20].

ويعتمد هذا الإختبار على تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$ لونيا بإستعمال جهاز الطيف اللوني، وذلك بقياس إنخفاض الإمتصاصية بحيث من معرفة قدرة وكفاءة المستخلصات في تثبيط الجذر، وتحديد القدرة المضادة للأكسدة، بتحديد معامل IC_{50} .

✓ تعريف المعامل IC_{50}:

هو تركيز المستخلص اللازم لتثبيط نسبة 50% من جذر الـ DPPH، ويتم حسابها بتطبيق المعادلة الخطية لمنحنى تغير نسبة التثبيط I % بدلالة التراكيز المختلفة للمستخلصات المدروسة [21].

2.1.7.IV. آلية تثبيط العامل المضاد للأكسدة :



DPPH-H اللون الأصفر

DPPH· اللون البنفسجي

الشكل (16.IV) : آلية تثبيط العامل المضاد للأكسدة مع الجذر الثابت DPPH [20] .

3.1.7.IV. تحضير كاشف DDPH:

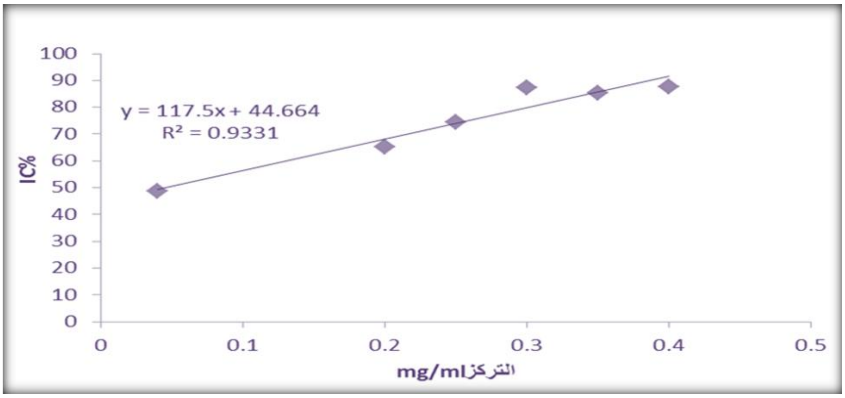
يتم تحضير محلول الـ DDPH وذلك بإذابة 4(mg) من ثنائي فينيل هيدرازيل في 100(ml) من الميثانول CH_3OH فنتحصل على محلول ذو اللون البنفسجي الداكن[22].

4.1.7.IV. المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك:

نقوم بتحضير تراكيز مختلفة مخففة من حمض الأسكوربيك تتراوح بين (mg/ml) [0.04-0.4]، ثم نأخذ من كل التراكيز المحضرة سابقا 1(ml) ونضيف له 1(ml) من محلول DDPH في أنابيب إختبار زجاجية، ثم توضع في الظلام لمدة 30(min) في درجة حرارة المخبر، ثم بعد ذلك تقرأ الإمتصاصية A عند طول موجي $\lambda = 517nm$ [23].

الجدول (3.IV) : نتائج الإمتصاصية لحمض الأسكوربيك بدلالة

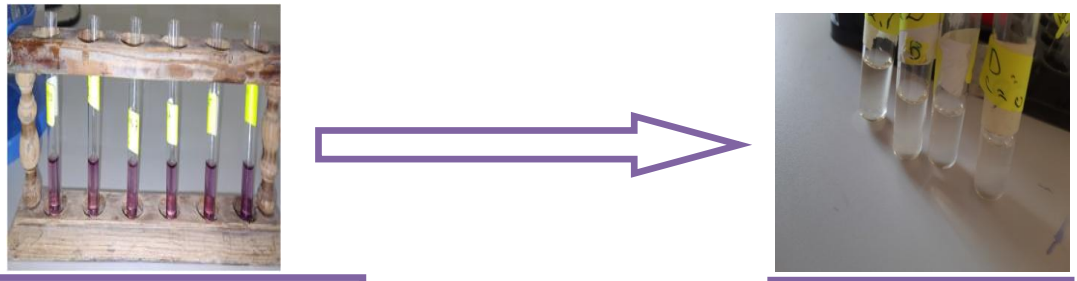
التركيز (mg/ml)	0.04	0.2	0.25	0.3	0.35	0.4
الإمتصاصية A	0.623	0.421	0.309	0.153	0.180	0.149



الشكل (17.IV) : المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك

5.1.7.IV. طريقة العمل :

نقوم بتحضير تراكيز مختلفة من كل مستخلصات الدراسة تتراوح مابين (mg/ml)[0.1-2]، نضع في أنابيب إختبار زجاجية 1(ml) من كل تركيز ونضيف له 1(ml) من DDPH يمزج المحلول ويترك في الظلام لمدة 30(min) ثم تقرأ الإمتصاصية في جهاز UV- visible عند طول موجي أعضمي $\lambda = 517nm$ [24].



المحاليل المخففة قبل الكشف

بعد إضافة DPPH

الشكل (18.IV) : نتائج لبعض المستخلصات بعد إضافة DDPH .

6.1.7.IV. حساب نسبة التثبيط I% للجذر الحر DDPH:

يتم حساب نسبة التثبيط الجذر الحر لمختلف تركيز كل المستخلصات المدروسة وفق العلاقة التالية[25].

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

بحيث :

A_0 :إمتصاصية الجذر الحر DDPH الشاهد عند طول موجي أعضمي λ= 517nm .

A :إمتصاصية الجذر الحر DDPH مع المادة المدروسة بعد 30min عند λ = 517nm.

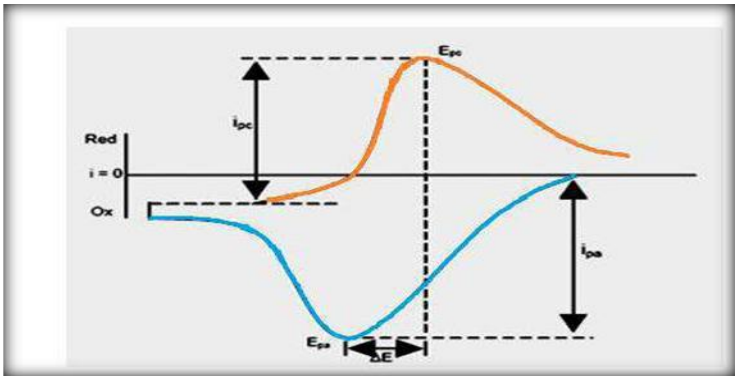
I% : نسبة تثبيط العامل المضاد للأكسدة.

IV.2.7. تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة بالطريقة الكهروكيميائية (إختبارالفولطامتري الحلقي) :

IV.1.2.7. التقنية الفولطامترية الحلقية : هي إحدى طرق التحليل الكهروكيميائي، وفيها يتم تطبيق فرق الكمون المتغير على مسرى العمل بالنسبة للمسرى المرجعي، تسمح هذه الطريقة بتحديد الشروط التي ينجز فيها تفاعل الأكسدة والإرجاع، وكذلك تحديد آلية التفاعل عند المسرى خاصة عندما تشترك تفاعلات كيميائية في نقل الإلكترونات، كما تسمح كذلك بتحديد ثوابت السرعة للتفاعلات الكهروكيميائية السريعة.

في هذه الطريقة يتم مسح فرق الكمونات بصورة حلقية، فبعد إجراء المسح مثلا بإتجاه فرق الكمونات المصعدية وإنجاز تفاعل أكسدة، يعكس إتجاه تغيرات فرق الكمون لإجراء مسح في إتجاه فرق الكمونات المهبطية .

إن منحنى I = f (E) التجريبي يتميز بقمة التيار المهبطي يليه قمة مصعدية، هذه القمم تتميز بالمقادير التجريبية والشكل التالي يمثل الشكل العام للمنحنيات الفولطامترية الحلقية، والتي يتم فيها عملية الأكسدة متبوعة بعملية إرجاع واحدة في المجال المدروس[26 - 27].



الشكل (IV.19) : المنحنى العام للفولطا متري الحلقي .

بحيث:

Ip_a ،Ip_c:تيارات القمم المصعدية و المهبطية على الترتيب.

Ep_a ،Ep_c:كمونات القمم المصعدية و المهبطية على الترتيب.

ΔEp:التغير في الكمونات بين Ep_c ، Ep_a.

IV.2.2.7. الخصائص الكهروكيميائية الفينولية :

إن النشاط المضاد للأكسدة عند الفينولات يعتمد على الخاصية الإرجاعية لهذه المركبات والمرتبطة بصفة خاصة بعدد مجموعات الهيدروكسيل (OH) ومجموعة الكربوكسيل (COOH) المتواجدة في الجزي، بحيث تتأكسد مجموعة الهيدروكسيل لتعطي إلكترون وذرة هيدروجين[28] كما هو موضح في التفاعل التالي :

$$Red \rightleftharpoons OX + H^+ + é$$

بحيث :

Red : المركب الفينولي المضاد للأكسدة .

OX : الناتج (المؤكسد) .

IV.3.2.7. طريقة تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة :

IV.1.3.2.7. المبدأ :

تمكن فاعلية مضادات الأكسدة في أنها عوامل مرجعية تميل إلى التأكسد بسهولة على الأقطاب الخاملة، وهذا ما جعلها تحل محل دراسات كهر وكيميائية.

ينقسم الفولطامتري الحلقي إلى قسمين مصعد في جهة الكمون الموجب (+) ومهبطي في جهة الكمون السالب (−)، حيث القسم المصعدي يمكننا من إستخراج معطيات متعلقة بقابلية الجزيئات لمنح إلكترونات للمصعد[29].

النتائج المتحصل عليها من المنحنى الفولطامتري الحلقي للعينة المدروسة يتم مقارنتها مع حمض الغاليك، لكونه يلعب دور المركب القياسي ومنه يمكن إستخلاص الكمية المكافئة [30].

IV.2.3.2.7 . طريقة العمل :

*** المرحلةالأولى (مرحلة التنظيف) :**

قبل بداية العمل يجب تحضير مسرى العمل لإعتباره الركيزة الأساسية للدراسة الكهروكيميائية بحيث يتم على سطحه عملية (أكسدة – إرجاع)، لذا يجب التأكد من خلو السطح من أي مادة تعيق عملية الأكسدة والإرجاع.

تتم عملية معالجة وتنظيف السطح فيزيائيا بإستعمال أوراق كبريت السيليكون أو كيميائيا بإستعمال الأسيتون والماء المقطر، ثم يتم تجفيف السطح جيدا من الماء لأنه يؤثر في القياسات .

أنواع المسرى المستعملة هي :

1- المسرى المرجعي : هو إلكترود الكالومان المشبع كلوريد البوتاسيوم KCl.

2- المسرى المساعد : هو عبارة عن سلك من البلاتين قطره 1mm ويستعمل لإغلاق الدارة فقط.

3- مسرى العمل : هو عبارة عن أسطوانة من الكربون الزجاجي قطرها 3mm والذي يتم عليه عملية الأكسدة والإرجاع.

الشكل (IV.20) : صور أنواع المسرى المستعملة في الجهاز.

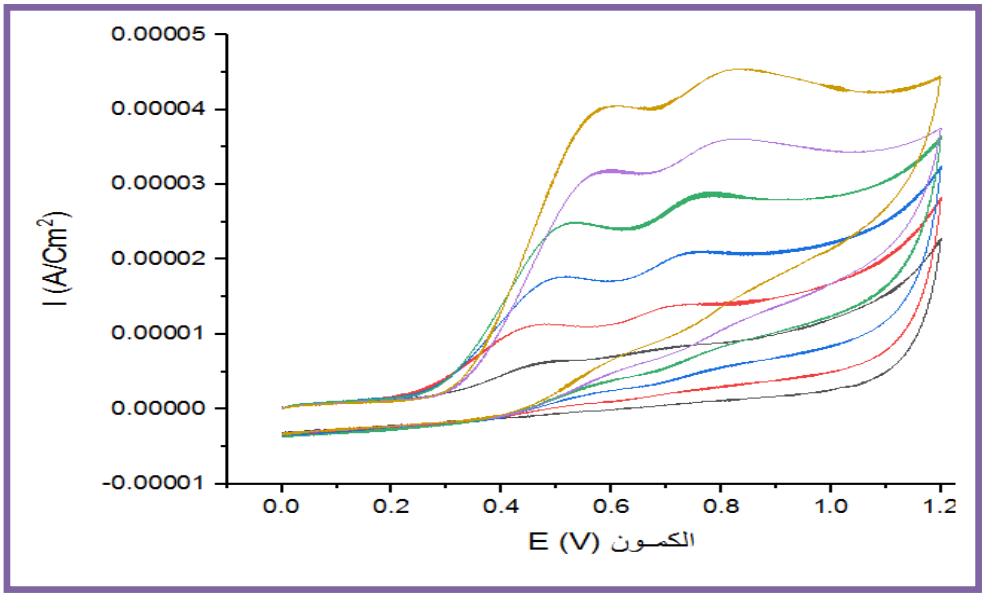
* **المرحلة الثانية :**

نقوم بتحضير تركيز معلوم من حمض الغاليك (10(mg/ml، ثم نحضر تراكيز مختلفة عند المجال (mg/ml) [0.005-0.025]، وكذلك نحضر الخلية الكهروكيميائية التي تحتوي على وسط موقي pH=7 وكهروليت مساعد KCl .

* **المرحلة الثالثة :**

نقوم برسم المنحنيات الفولطامترية الحلقية وفق التراكيز المحضرة سابقا لحمض الغاليك في الخلية الكهروكيميائية بعد ضبط مجال الفاعلية وسرعة المسح عند (100mv/s)، والكمون (0–1200 mv) E

والشكل التالي يوضح المنحنيات الفولطامترية الحلقية لحمض الغاليك بتراكيز مختلفة.

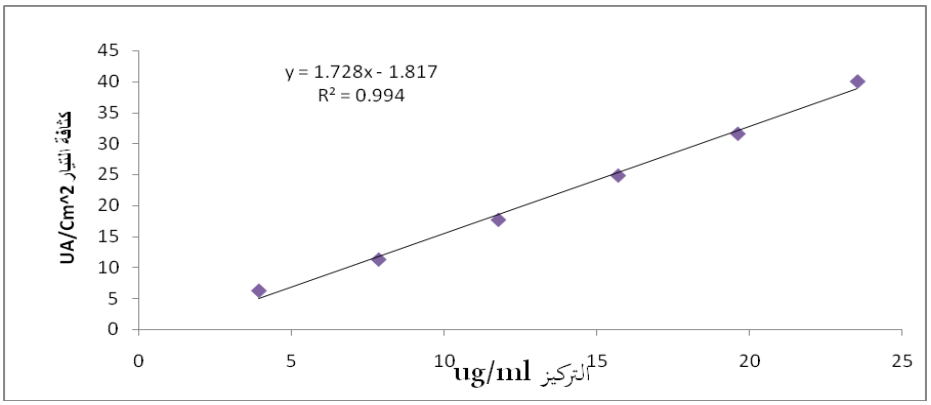


الشكل (21.IV) : منحنى الفولطا متري لحمض الغاليك بدلالة التركيز

من خلال المنحنيات نلاحظ زيادة منتظمة لتركيز حمض الغاليك حيث يعطى منحنيات فولطامترية حلقية ذات كثافة تيار كهربائي متزايدة بإنتظام، وهذا دليل على صحة خطوات العمل.

*** المرحلة الرابعة :**

يعد رسم المنحنيات الفولطامترية الحلقية لمختلف التراكيز، ثم نقوم بإيجاد كثافة التيار عند قمم الموجة المصعدية لكل منحنى ، فنتحصل على منحنى قياسي لحمض الغاليك. والشكل التالي(18.IV) : يمثل كثافة التيار بدلالة التركيز . E=f (c)



الشكل (22.IV) : المنحنى القياسي لحمض الغاليك حسب الطريقة الفولطا مترية

*** المرحلة الخامسة :**

بنفس طريقة منحنى الفولطامتري الحلقي لحمض الغاليك ، نقوم برسم المنحنى الفولطامتري الحلقي للعينات المدروسة بتركيز (50mg/ml)، ثم يتم إسقاط شدة التيار المصعدية على المنحنى القياسي، فنحصل على التركيز المكافئ لحمض الغاليك .

8.IV. دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا :

بعد عملية إستخلاص الفينولات والقلويدات، تم إختبار الحساسية ضد البكتيريا، من أجل تحديد النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات النباتية، وهذا بتطبيقها على ثلاثة سلالات بكتيرية ممرضة، بتطبيق أشهر الطرق وهي طريقة الإنتشار حول الأقراص(de la diffusion)، والتي تم الحصول عليها من مخبر تحاليل المجد الطبية فكانت الدراسة على :

سلالة ذات+Gram -*Staphylococus Aureus (S.A)*

- *Escherichia coli (E.coli)* سلالة ذات–Gram

- *Klebsiella Pneumoniae* (K. *Pneumoniae*) سلالة ذات– Gram

IV.1.8. طريقة العمل :

قبل عملية البدأ يجب التعقيم والتنظيف الجيد لكل الأدوات ومكان العمل لسلامة التجربة.

IV.2.8. تحضير محاليل مستخلصات الخام :

نقوم بتحضير محاليل مختلفة من كل المستخلصات ذات تراكيز mg/ml (2.5 – 5 – 10)، بحيث يتم إذابة المستخلصات الفينولية في (DMSO)، و القلويدات تمت إذابتها في الماء المقطر.

IV.3.8 . تحضير الأقراص (وسط الزرع) وتعقيمها وتشبعها بالمستخلصات :

نقوم بتحضير الأقراص من ورق (Whatmans N°3) ذات القطر (6(mm، يتم وضعها في أنبوب إختبار مغلق ثم نقوم بتعقيمها لمدة (30(min عند درجة حرارة 180درجة مئوية بواسطة فرن باستور (Pesteur Oven)، ثم يتم تشبعها بوضع التراكيز عليها المحضرة سابقا للمستخلصات بمقدار (40(ul قبل وضعها في الوسط البكتيري.

IV.4.8. تحضير الملعق البكتيري :

بإستخدام العود القطني نأخذ الجذمة البكتيرية، ونضعها في أنبوب إختبار يحوي على (3(ml من الماء الفيزيولوجي المعقم نقوم بالرج جيدا حتى يتجانس المحلول بوجود موقد بنزين لتجنب إتلاف الوسط من البكتيريا، ثم نزرع نوع بكتيري في علبة بتري حيث يتم المسح بالعود القطني وتوزيع البكتيريا على مستوى السطح بشكل منتظم [31 – 32].

IV.8.5. تشبيع الأقراص بتراكيز المستخلصات :

✓ المستخلصات الفينولية:

نضع ثلاث أقراص مشبعة بالتراكيز المحضرة سابقا، للمستخلصات الفينولية ph-Om، ph-Soو ph-By ph- Bo داخل علب بيتري وذلك بواسطة ملقط معقم، توضع الإقراص بعيدة عن حافة العلبة وعلى بعد مسافات متساوية، ثم نقلب العلب (من أجل التخلص من بقايا الماء) وندخلها الحاضنة تحت درجة حرارة 37C° ولمدة يوم كامل[33].

✓ المستخلصات القلويدية:

نكرر نفس طريقة العمل السابق لأربعة مستخلصات قلويدية وذلك بإذابتها في الماء المقطر لكونها أملاح قلويدية، بحيث تشبع ثلاثة أقراص لكل مستخلص قلويدي، ثم تترك الحاضنة على شكل مقلوب لمدة 24 سا عند درجة حرارة $37C^{\circ}$، ثم يتم تسجيل النتائج بنفس الطريقة.

IV.8.6. قراءة النتائج :

لمعرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي يتم حساب قطر التثبيط بحيث :

✓ بكتيريا غير حساسة (مقاومة) للمضاد الحيوي (−) إذا كان القطر أقل من (mm)8.

✓ بكتيريا متوسطة الحساسة للمضاد الحيوي (+) إذا كان القطر ما بين mm (9 – 14).

✓ بكتيريا حساسة للمضاد الحيوي (++) إذا كان القطر ما بين mm (15 – 20).

المراجع

قائمة المراجع :

المراجع باللغة العربية:

[1] ابوذر حاتم مجيد العذاري & ,أحمد عبيس مطر السلطاني. (2012). دراسة كمية ونوعية المركبات القلوانية والصابونينية لاوراق و ثمار بعض الاصناف من نبات السدر . *Al-Kufa University Journal for Biology*, *4*(2).

[7]زيدي محمد فاتح .(2012). المساهمة في الدراسة الفيتوكيميائية لنبات Deverra Scoparia (البسباس البري) – الزيوت الطيارة والليبيدات. مذكرة ماستر أكادمي ، جامعة قاصدي مرباح ورقلة.

[8] د. حمادة جميلة .(2018). تقنيات الفصل الفيزيوكيميائي. جامعة قاصدي مرباح ورقلة .ص20.

[9] سوسن علي حميد الحنفي، أم البشير حميد جابر الموسمي (2011). الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات المائية والكحولية لبعض الفواكه. مجلة أبحاث البصرة (العلميات). العدد(37). ص82-91.

[16] ربيعي & ,عبدالكريم. (2016 .(*تقدير المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للأكسدة لمنتجات النحل في الجزائر بالطرق الكهروكيميائية* (Doctoral dissertation, University of Ouarglaجامعة ورقلة) .

[18] معامير، حنين، علالي & ,يسرى. (2019). دراسة النواتج الأيض الثانوي والفولافونيدي والفعالية البيولوجية لمستخلص الخام لأوراق نبات الرمان باستعمال الكحول والماء بنسب مختلفة

[19] بوسطلة أحلام. دراسة نواتج الأيض الثانوي و الفعالية البيولوجية للنبتتين Foeniculum vulgare Millو Bunium incrassatum Boiss.

[21] بوقوادة & ,مصطفى. (2008 .(*دراسة فيتوكيميائية لليبيدات والفينولات في بعض أنواع نوى التمر المحلي* (Doctoral dissertation, Université de Ouargla-Kasdi Merbah).

[22] صحراوي صباح، مساهمة في تحسين ظروف الإستخلاص المركبات الفينولية لنباتات الطبية لمنطقة الوادي لنبات الخبيز، مذكرة ماستر كيمياء، جامعة حمه لخضر، ص 58 ، (2018).

[23]حرزولي يمنة . (2018) . دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات العضوية لنبات MoltikiaCiliata مذكرة التخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي ، تخصص كيمياء عضوية وتحليلية . جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي.

[25] اللبي، الزهرة & ,دردوري. (2016Bassiamuricata .(التقدير الكمي لعديدات الفينول و الفلافونويد ودراسة النشاطية البيولوجية لمستخلصات نبات الغبيثاء.

المراجع باللغة الأجنبية:

[2]Al-Daihan, S., Al-Faham, M., Al-shawi, N., Almayman, R., Brnawi, A., &shafi Bhat, R. (2013). Antibacterial activity and phytochemical screening of some medicinal plants commonly used in Saudi Arabia against selected pathogenic microorganisms. Journal of King Saud University-Science, 25(2), 115-120.

[3] Pandith, J. I. (2012). Phytochemical screening of certain plant species of Agra city. Journal of drug delivery and therapeutics, 2(4).

[4]Jaradat, N., Hussen, F., & Al Ali, A. (2015). Preliminary phytochemical screening, quantitative estimation of total flavonoids, total phenols and antioxidant activity of Ephedra alataDecne. *J. Mater. Environ. Sci*, *6*(6), 1771-1778.

[5] Khoddami, A,Wilkes, M. A., Roberts, T.H .,2013- Techniques for analysis of plant phenolic compounds molecules .18:2328-2375.

[6] Chevion, M. (1988). A site-specific mechanism for free radical induced biological damage: the essential role of redox-active transition metals. *Free Radical Biology and Medicine*, *5*(1), 27-37.

[10] Rahal, S. (2004). Chimie des produits naturels et des êtres vivants.

[11]Asadi, S., Ahmadiani, A., Esmaeili, M. A., Sonboli, A., Ansari, N., &Khodagholi, F. (2010). In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six Salvia species from Iran: a comparative study. Food and chemical toxicology, 48(5), 1341-1349.

[12] Bte-Smith, E. C. (1964). In methods in polyphenol chemistry, JB Pridham.

[13] Djeridane, A. (2008). Evaluation du pouvoir antioxydant et de l'inhibition d'enzymes (la Carboxylestérase et l'Acylase) par des extraits phénoliques de dix-neuf plantes médicinales locales (Doctoral dissertation, Ecole Normale Supérieure De Kouba-Alger).

[14] Kumaran, A. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of Coleus aromaticus. *Food chemistry*, *97*(1), 109-114.

[15] Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144-158.

[17] Cuvelier, M. E., Bondet, V., & Berset, C. (2000). Behavior of phenolic antioxidants in a partitioned medium: structure—Activity relationship. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *77*(8), 819-824.

[20] Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. sci. technol, 26(2), 211-219.

[24] 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, 4(2), 423-432.

[26] Bard, A. J., &Mirkin, M. V. (2001). Scanning electrochemical microscopy. CRC Press.

[27] Tur'yan, Y. I., Gorenbein, P., & Kohen, R. (2004). Theory of the oxygen voltammetric electroreduction process in the presence of an antioxidant for estimation of antioxidant activity. Journal of Electroanalytical Chemistry, 571(2), 183-188.

[28] W. R.Sousa; C.da Rocha; C. L.Cardoso; S. D. H.Silva, J.Food Comp(2004). Anal. 17 619.

[29] S. Chevion, E.M. Berry, N. Kitrossky, R. Kohen. (1997). Free Radic.Biol. Med. 22 .411.106.

[30]CHEVION, S., CHEVION, M., Chock, P. B., & BEECHER, G. R. (1999). Antioxidant capacity of edible plants: Extraction protocol and direct evaluation by cyclic voltammetry. Journal of Medicinal Food, 2(1), 1-10.

[31] Greenblatt, C. L., Baum, J., Klein, B. Y., Nachshon, S., Koltunov, V., & Cano, R. J. (2004). Micrococcus luteus-survival in amber. Microbial ecology, 48(1), 120-127.

[32] Castilho, P. C., Savluchinske-Feio, S., Weinhold, T. S., & Gouveia, S. C. (2012). Evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of essential oils, extracts and their main components from oregano from Madeira Island, Portugal. Food control, 23(2), 552-558.

[33] Hazalin, N.A., Ramasamy, K., Lim, S. M., Wahab, I. A., Cole, A. L., and Abdul Majeed, A. B.,2009- "Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from Plant at the National Park" ,Pahang,Malaysia.BMCComplementaryandAlternativeMedicine;9:46.

الفصل الخامس:

النتائج والمناقشة

V.1. نتائج الكشف الفيتوكيميائي لنبتة التالغودة *Bunuim mauritanicum* :

تم الكشف وإستخلاص بعض المركبات الكيميائية الموجودة في درنات نبات التلغودة *Bunuim mauritanicum* بواسطة تفاعلات، ترتكز على ظاهرة التلوين أو الترسيب وتعتمد على كواشف نوعية، هذه الكواشف تسمح بتحديد وجود أو غياب بعض مركبات الأيض الثانوي و نتائجها موضحة كالتالي:

V.1.1.الكشف على القلويدات Alkaloids :

عند معاملة المزيج بكاشف ماير نلاحظ ظهور راسب بلون أبيض، وهذا دليل على وجود القلويدات.

V.1.2.الكشف على الفينولات Phenols :

نلاحظ ظهور رواسب بلون بني داكن، وهذا دليل على وجود الفينولات.

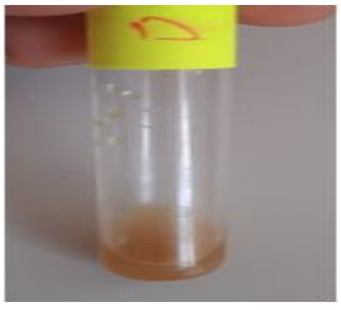
V.1.3.الكشف على الفلافونويدات Flavonoids :

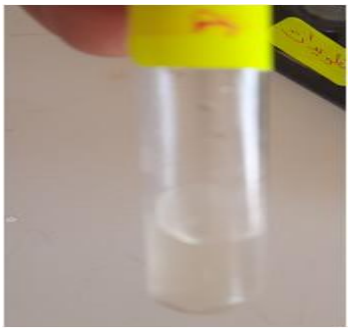
نلاحظ ظهور راسب بلون أصفر، وهذا دليل على وجود الفلافونويدات.

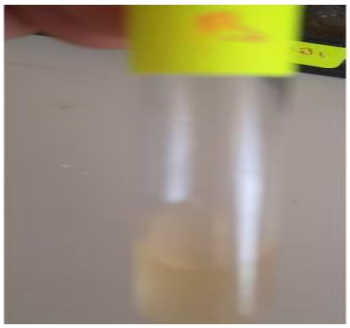
وبنفس الطريقة تم الكشف على نتائج الفيتو كيميائي للمركبات الفاعلية لنبتة التالغودة *Bunuim mauritanicum* لكل من المناطق التالية : أم البواقي، سوق أهراس، البيض، برج بعريريج.

وكانت نتائج الكشف كالتالي :

الجدول (V.1): نتائج الكشف عن المنتجات الفعالة في المستخلصات النباتية

المركبات الفعالة	منطقة المستخلص	وجود / غياب في النبتة	النتيجة
الفينولات	أم البواقي	+++	
	سوق أهراس	++	
	البيض	++	
	برج بعريريج	+++	

القلويدات	أم البواقي	+	
	سوق أهراس	++	
	البيض	+	
	برج بعريريج	++	

الفلافونويدات	أم البواقي	+ + +	
	سوق أهراس	+	
	البيض	+ +	
	برج بعريريج	+ +	

ملاحظة:

+++ : وجود المادة الفعالة بوفرة.

++ : وجود المادة الفعالة.

+ : آثار المادة الفعالة.

– : غياب المادة الفعالة.

المناقشة :

يظهر من خلال النتائج المتحصل عليها من دراسة الكشف الفيتو كيميائي أن درنة نبتة التالغودة *Bunuim mauritanicum* غنية بمركبات الأيض الثانوي لكل من القلويدات، الفينولات، الفلافونويدات.

- النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة توافق ما قام به بعض الباحثون مثل الدراسة التي قامت بها باحثة الماستر (Meziani Rahmat Allah) و (Lebouazid Roufaida) (2021)[1]، على نبات التالغودة *Bunuim mauritanicum* حيث تم الحصول نسبيا على نتائج الكشف الفيتو كيميائي والتي أثبتت في دراستها وجود كل من القلويدات والفلافونويدات. بينما تعارضت دراستها نسبيا مع دراسة الطالب (S.Karouche) (2020)[2]الذي أثبت في دراسته عن وجود القلويدات وعدم وجود الفلافونويدات بينما في دراستنا كانت نتيجة الفلافونويدات إيجابية.

من خلال النتائج التي تحصلنا عليها من الكشف الفيتوكيميائي على درنات نبات *Bunuim mauritanicum* تبين غنى النبات ببعض منتجات الأيض الثانوي لإحتوائه على مجموعة هامة منها، و نفسر ذلك بكون الدرنات هي مقر تخزين المدخرات الغذائية في النبات.

V.2. مردود الإستخلاص:

إستخلاص مواد الأيض الثانوي لدرنة *Bunuim mauritanicum* لكل منطقة :

- ترمز لمردود المستخلصات لكل منطقة :
  - ✓ Ph- Om : مستخلص فينولي لنبتة التالغودة لمنطقة أم البواقي.

- ✓ Ph- So : مستخلص فينولي لنبتة التالغودة لمنطقة سوق أهراس.
- ✓ Ph- By : مستخلص فينولي لنبتة التالغودة لمنطقة البيض.
- ✓ Ph- Bo: مستخلص فينولي لنبتة التالغودة لمنطقة البرج.
- ✓ Al- Om: مستخلص قلويدي لنبتة التالغودة لمنطقة أم البواقي.
- ✓ Al- So: مستخلص قلويدي لنبتة التالغودة لمنطقة سوق أهراس.
- ✓ Al- By: مستخلص قلويدي لنبتة التالغودة لمنطقة البيض.
- ✓ Al- Bo: مستخلص قلويدي لنبتة التالغودة لمنطقة البرج.

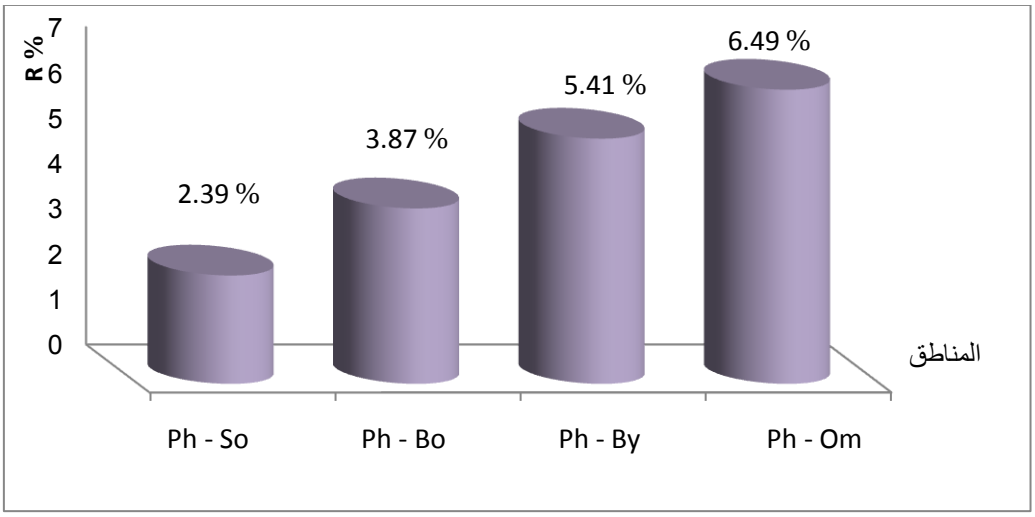
بعد عملية الإستخلاص تم تقدير المردود بـ (%) والنتائج مدونة في الجدول التالي :

الجدول (V.2) : مردود المستخلصات المدروسة.

كتلة المادة الجافة الإبتدائية بـ (g)	المستخلص	كتلة المستخلص بـ (g)	المردود بـ (%)
50 g	Ph- Om	m=3.2466g	R=6.49%
50 g	Ph- So	m=1.1932g	R=2.39%
50 g	Ph- By	m=2.7035g	R=5.41%
50 g	Ph- Bo	m=1.9326g	R=3.87%
50 g	Al- Om	m=0g	R=0%
50 g	Al-So	m=2.4741g	R=4.95%
50 g	Al-By	m=9.9732g	R=19.95%
50 g	Al-Bo	m=7.3096g	R=14.62%

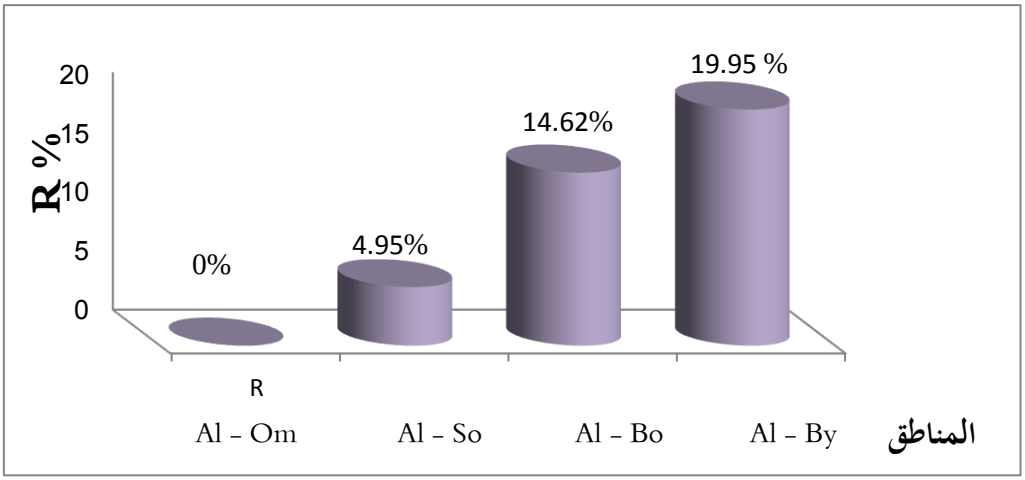
المناقشة :

من خلال النتائج الموضحة في الجدول (V-2) نلاحظ تباين في نسب مردود الإستخلاص في كل من المستخلصات الفينولية المستعملة، حيث نجد أن أكبر مردود إستخلاص سجل في مستخلص Ph - Om والذي قدر بـ (6.49%)، أما مستخلصات كل من Ph – By و Ph - Bo فكانت النسب معتبرة و مقدرة على الترتيب بـ (5.41%)، (3.87%)، أما مستخلص منطقة Ph - So سجل أقل مردود وقدر بـ (2.39%) و على العموم فإن مردود الإستخلاص بنسب معتبرة وهذا يدل على إحتواء النبات على المركبات الفينولية.



الشكل (V.1): مردود المستخلصات للمركبات الفينولية .

أما المستخلصات القلويدية نجد أن أكبر مردود إستخلاص للمنتجات القلويدية سجل في مستخلص Al – By و الذي قدر بـ (19.95 %)، أما نسبة مردود إستخلاص Al – Bo و Al – So قدرت على الترتيب بـ (14.62%)، (4.95%)، حيث مستخلص Al – Om سجل أقل مردود قدر بـ (0%)، و على العموم فإن مردود الإستخلاص بنسب كبيرة وهذا دليل على غنى النبات بالمركبات القلويدية.



الشكل (2.V) : نسبة مردود الإستخلاص للأملاح القلويدية.

3.V.الدراسة الكمية للمستخلصات الفينولية :

1.3.V. التقدير الكمي للفينولات بواسطة UV–Visible :

نتائج الإمتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في الجدول (3.V):

الجدول (3.V): قيم الإمتصاصية للتراكيز المحضرة.

العينات	Ph-Om			Ph-So		
التركيز (mg/ml)	2.5	3.5	4.5	2.5	3.5	4.5
الإمتصاصية A	0.360	0.574	0.725	0.326	0.453	0.602

العينات	Ph-By		Ph-Bo		
التركيز (mg/ml)	2.5	4.5	2.5	3.5	4.5
الإمتصاصية A	0.534	0.981	0.562	0.730	0.954

بحساب رياضي وبإستخدام العلاقة $Y=3.3956\ X$ ..... 1 للمنحنى القياسي لحمض الغاليك، نجد تركيز الفينولات الكلية في المستخلصات، حيث يمكن حساب الكمية المكافئة لـ 1(g) من المستخلص المعبر عنها بـ (mg) للمكافئ الغرامي لحمض الغاليك على (g) من العينة (mg EAG/g)، و النتائج مدونة في الجدول (4.V) :

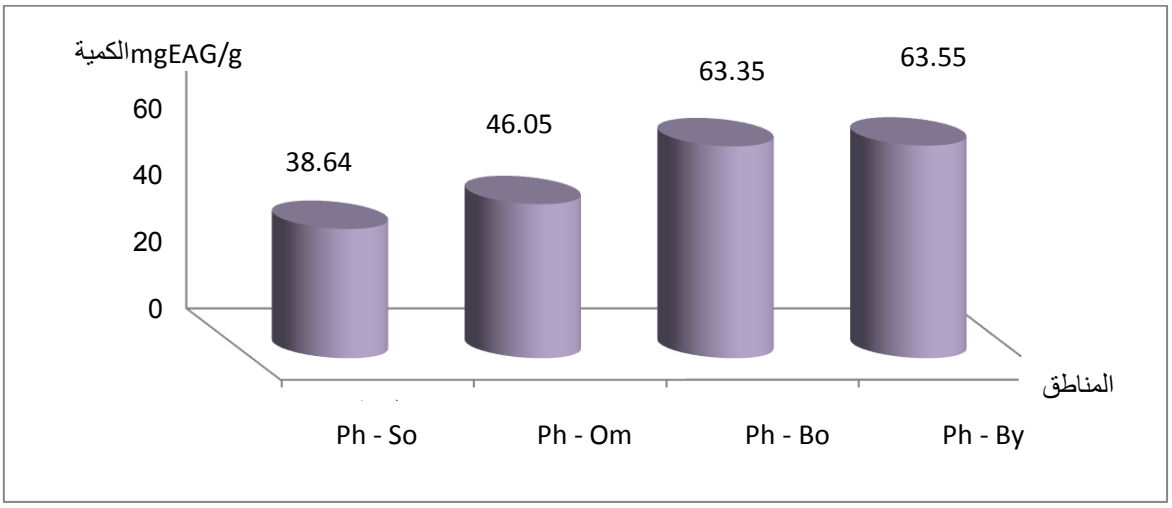
الجدول (4.V): كمية الفينولات الكلية في المستخلصات

العينات	Ph-Om	Ph-So	Ph-By	Ph-Bo
الكمية (mgEAG/g)	63.35	63.55	38.64	46.05

المناقشة :

يوضح الجدول (4.V) وجود تباين في كمية المركبات الفينولية في مختلف المستخلصات، حيث قدرت كمية المركبات الفينولية (mgEAG/g) 63.55 و (mgEAG/g)63.35 في مستخلص العينتين Ph- Om و Ph- So ، وهي تمثل أعلى كمية في المستخلصات الفينولية، و(mgEAG/g)46.05 بالنسبة للعينة Ph-Bo أما العينة Ph- By فقد قدرت أقل قيمة تقدر بـ (mgEAG/g) 38.64.

وتعود هذه الإختلافات المتحصل عليها في هذه الدراسة إلى الموقع الجغرافي والظروف المناخية وطبيعة التربة.



الشكل (3.V) : كمية الفينولات الكلية في المستخلصات .

V.3.2. التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة :UV–Visible

نتائج الإمتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في الجدول (V.5):

الجدول (V.5): قيم الإمتصاصية للتراكيز المحضرة للفلافونويدات

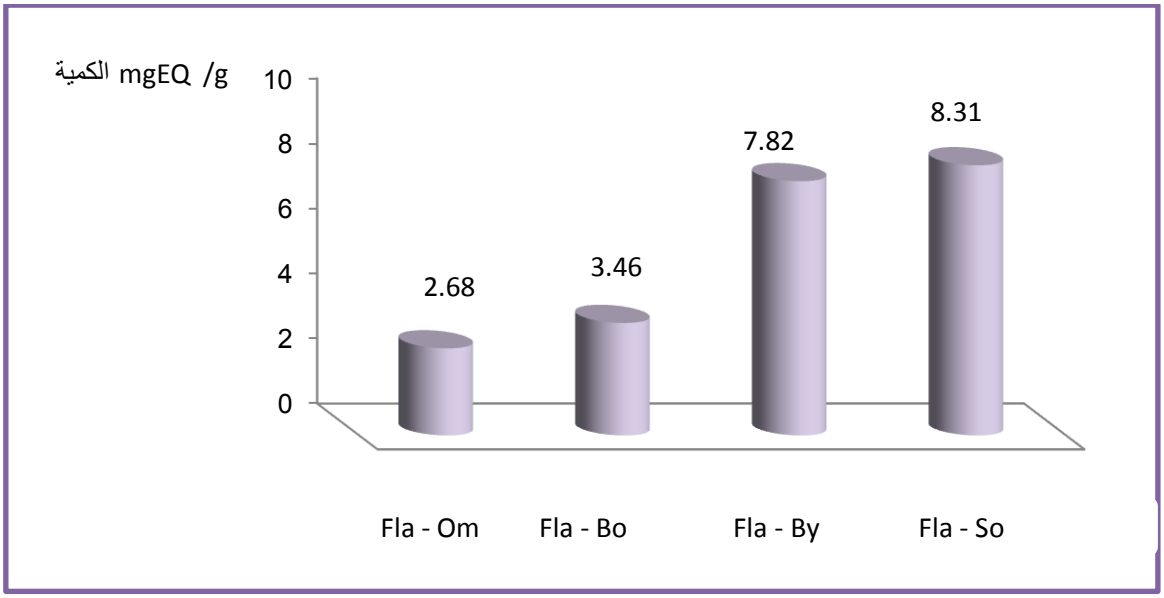
العينة	Fla-Om		Fla- So		Fla-By		Fla-Bo		
التركيز(mg/ml)	3	3.5	0.9	3.5	0.9	1.5	2.5	3	3.5
الإمتصاصية A	0.202	0.209	0.202	0.609	0.176	0.263	0.227	0.241	0.268

بحساب رياضي وبإستخدام المعادلة $Y= 24.74 - 0.009 \ldots\ldots 2$ للمنحنى القياسي لحمض الكرسيتين، نجد تركيز الفلافونويدات الكلية للمستخلصات حيث يمكننا حساب الكتلة المكافئة لـ (1(g من المستخلص المعبر عنها بـ (mg) للمكافئ الغرامي لحمض الكرسيتين على g من العينة (mg EQ/g) النتائج مدونة في الجدول :

العينة	Fla-Om	Fla-So	Fla-By	Fla-Bo
الكمية (mg EQ/g)	2.68	8.31	7.82	3.46

المناقشة :

من خلال نتائج الجدول (V.6) نجد أن كمية الفلافونويدات المتواجدة في العينة Fla-So أعلى نسبيا من العينة Fla-By، أما بالنسبة للعينتين فكانت النتائج تقريبا متساوية في كمية الفلافونويدات، وبما أن الفلافونويدات أكثر الفينولات إنتشارا فهي تمثل نسبة معتبرة من كمية الفينولات المستخلصة من هذه العينات.



الشكل (4.V) : كمية الفلافونويدات الكلية في المستخلصات .

4.V. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة :

1.4.V.نتائج القدرة التثبيطية للجذر الحرDPPH : حيث ندون نسبة التثبيط المئوية للعينات التالية :

الجدول (7.V) : نسبة التثبيط المئوية للعينة Ph – Om

C(mg/ml)	0.1	0.2	0.3	0.6	0.8	0.9	1	1.5	2
IC%	46.3	52.62	58.94	70.64	76.32	77.63	79.63	84.6	87.21

الجدول (8.V) : نسبة التثبيط المئوية للعينة Ph – So

C(mg/ml)	0.1	0.3	0.4	0.5	0.8	1.5	2
IC%	44.73	53.41	56.04	59.12	62.9	66.93	71.19

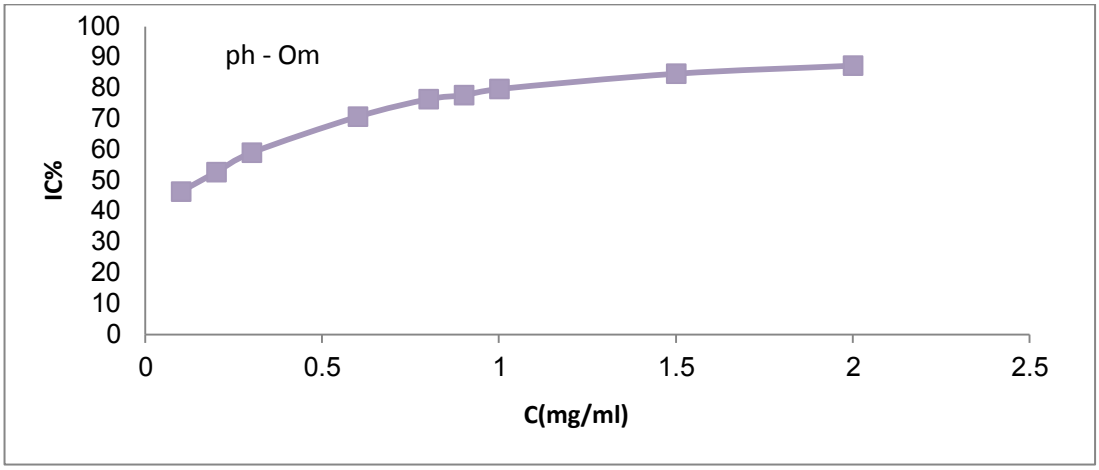
الجدول (9.V) : نسبة التثبيط المئوية للعينةPh – By

C(mg/ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.9	1.5	2
IC%	42.36	53.73	60.44	61.72	67.25	69.46	73.48

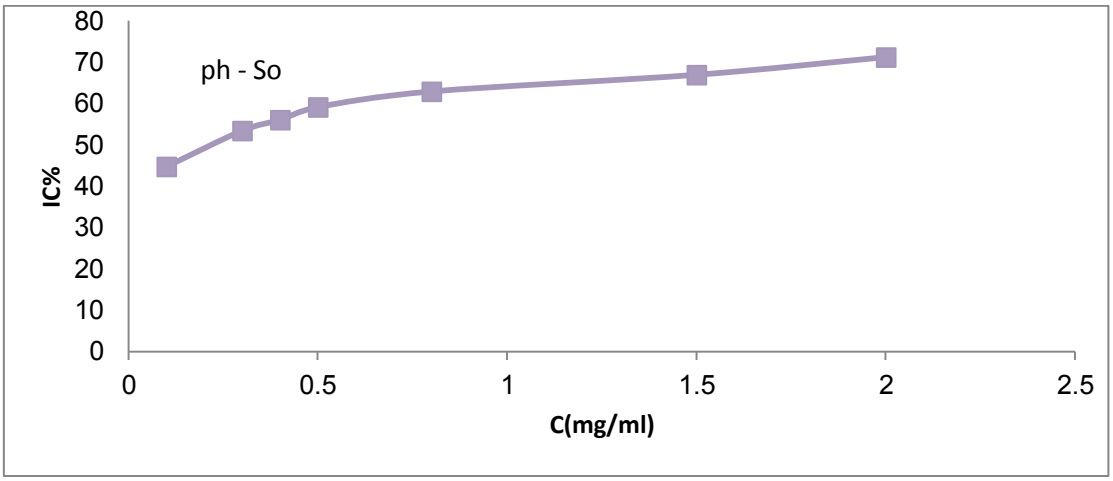
الجدول (10.V) : نسبة التثبيط المئوية للعينة Ph – Bo

C(mg/ml)	0.1	0.3	0.4	0.7	0.9	1
IC%	47.65	61.31	68.43	74.27	75.77	76.87

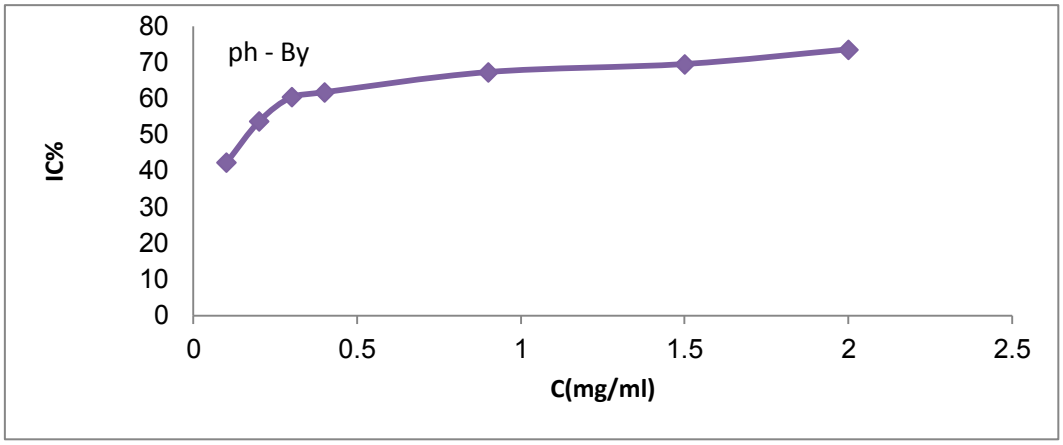
✓ ندون النتائج المتحصل في الجداول السابقة بمنحنيات تمثل نسبة التثبيط % بدلالة التركيز



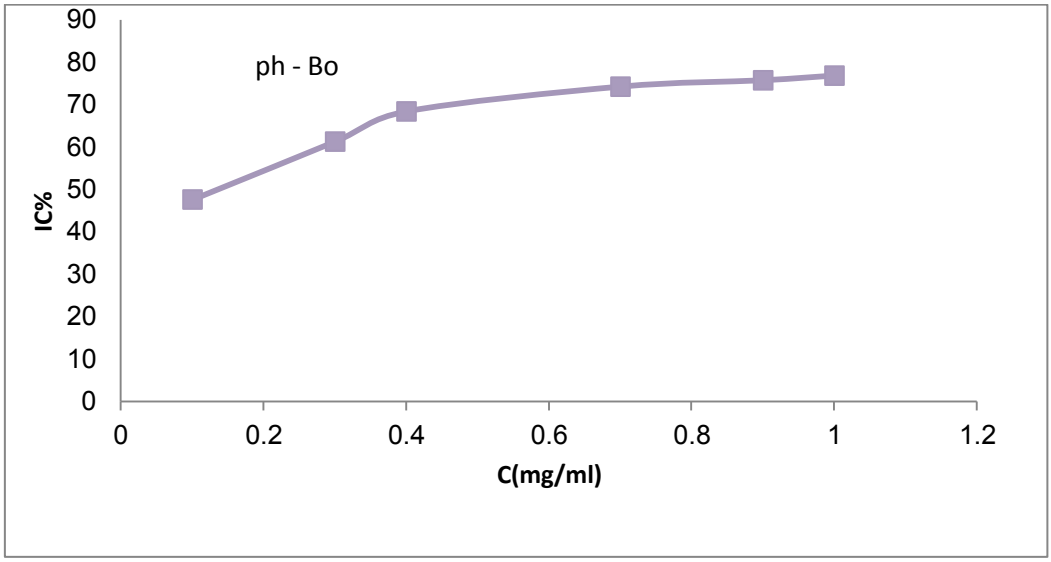
الشكل (5.V) : منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH للمستخلص ph - Om



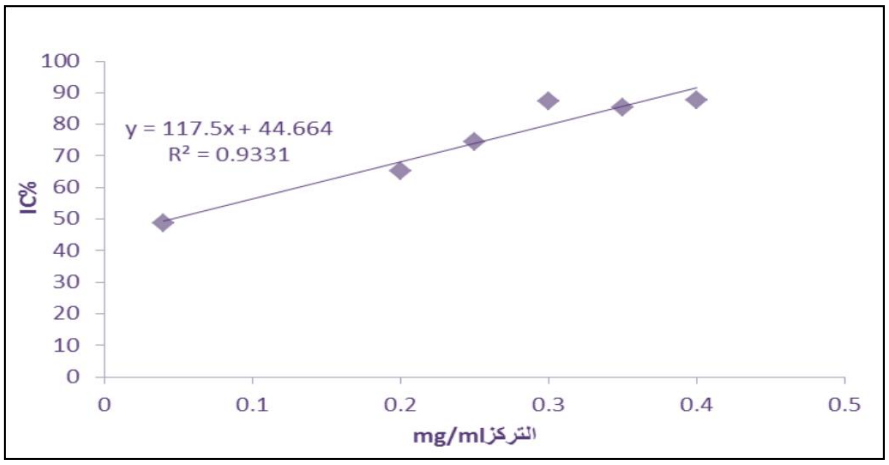
الشكل (6.V) : منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH للمستخلص ph – So



الشكل (7.V) : منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH للمستخلص ph – By



الشكل (8.V) : منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH للمستخلص ph – Bo



الشكل (9.V) : المنحنى المرجعي لحمض الأسكوربيك.

من منحنيات تغير النسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز لكل المستخلصات نتحصل على التراكيز المناسبة للقضاء على 50 % من الجذور الحرة من طرف المستخلصات الفينوليةIC_{50} وحمض الأسكوربيك والتي دونت في الجدول (11.V) التالي :

الجدول (11.V) : نتائج إختبار DPPH بالنسبة للمستخلصات .

العينة	AA	Ph - Om	Ph -So	Ph - By	Ph - Bo
IC_{50}(mg/ml)	0.04	0.187	0.26	0.190	0.130

النتائج والمناقشة :

أظهرت المستخلصات الفينولية للنبتة القدرة على إعطاء الهيدروجين حيث أبدت هذه الأخيرة القدرة على كبح جذر DPPH من خلال قيمة IC_{50}.

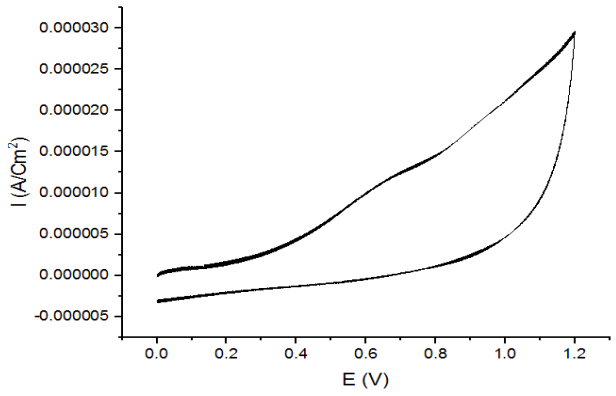
وإعتمادا على ما جاءت به الدراسات السابقة أن كلما كانت IC_{50}صغيرة كانت الفاعلية المضادة للأكسدة كبيرة، ومن خلال نتائج الجدول السابق يمكن القول أن المستخلص للعينة Ph- Bo يملك أكبر فاعلية مضادة للأكسدة بقيمة تقدر بـ 0.130 (mg /ml) بينما أقل فاعلية مضادة للأكسدة كانت للعينة Ph-So قدرت بـ 0.26(mg/ml) .

وعليه يمكن مقارنة قدرة التثبيط للجذر الحر DPPH للمستخلصات والشاهد المرجعي كما يلي :

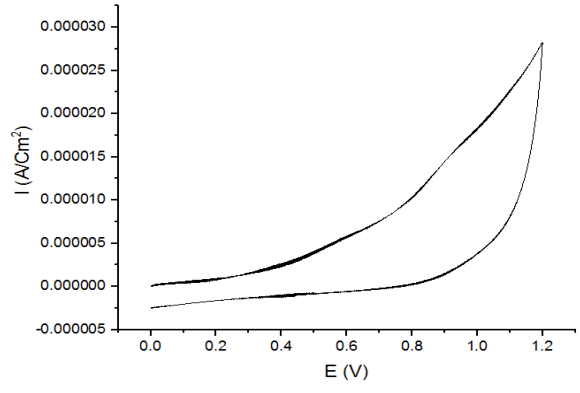
AA> Ph- Bo> Ph – Om> Ph – By> Ph -So

2.4.V. إختبارالفولطا متري الحلقيVMC:

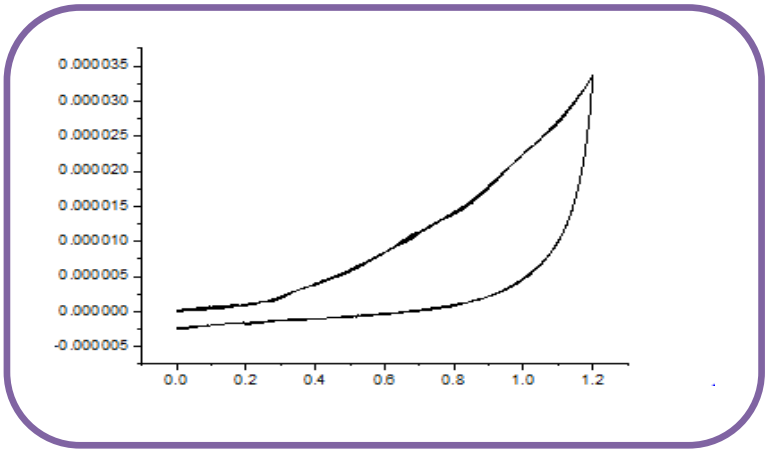
بعد معاملة المستخلصات Ph- Om، Ph-So، Ph-By ، Ph-Bo بنفس الطريقة وتحت نفس الشروط التي عاملنا بها مع حمض الغاليك، نرسم المنحنيات الفولطامترية الحلقية للمستخلصات الأربعة والموضحة في الأشكال التالية :



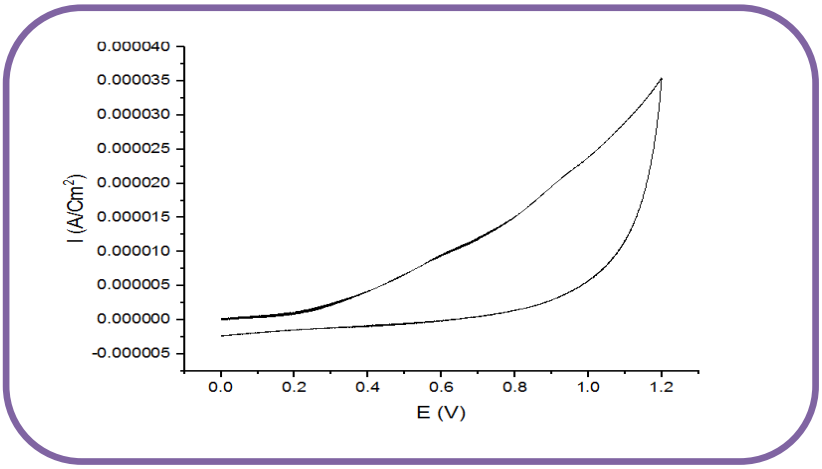
الشكل (10.V) : المنحنى الفولطا متري الحلقي للمستخلص الفينولي Ph – Om



الشكل (11.V) : المنحنى الفولطا متري الحلقي للمستخلص الفينوليPh – So



الشكل (12.V) : المنحنى الفولطا متري الحلقي للمستخلص الفينولي Ph – By



الشكل (13.V) : المنحنى الفولطا متري الحلقي للمستخلص الفينولي Ph – Bo

من خلال المنحنيات نقوم بإسقاط نتوءات المنحنيات لكل مستخلص على المحور yنجد قيمة شدة التيار، ومن خلال علاقة كثافة التيار بدلالة التركيز للمركب القياسي لحمض الغاليك$I= 1.728x - 1.817$ نجد تركيز حمض الغاليك في العينات، والنتائج مدونة في الجدول (12.V) التالي :

الجدول (12.V) : كمية مضادات الأكسدة في المستخلصات النباتية بإستعمال الفولطا متري الحلقي

المستخلص	كثافة التيار($\mu A/cm^2$)	التركيز (µg/ml)	الفعالية المضادة للأكسدة (mg EAG /g)
Ph-Om	11.74	7.87	157.4
Ph-So	5.996	4.57	91.4
Ph-By	10.76	7.31	146.3
Ph-Bo	10.28	7.039	140.78

النتائج والمناقشة :

من خلال النتائج المدونة في الجدول (13.V) أعلاه والممثلة بالمنحنيات يمكن أن نستنج مايلي:

من الواضح في الجدول (10.V) والمنحنيات إن الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصات التالغودة جاءت متفاوتة وذلك بتطبيق تقنية الفولطامتري الحلقي ، وقد بلغت قيمتها القصوى (mg EAG /g) 157.4 الموافقة لمستخلص Ph-Om بينما كانت (mg EAG /g)91.4 للمستخلص Ph-So بينما لم تتجاوز قيم Ph-By و Ph-Bo على التوالي .

ويمكن أن نفسر سبب الإختلاف في الناتج إلى الإختلاف في المناخ والبيئة وطبيعة التربة.

5.V.الفاعلية المضادة للبكتيريا :

بعد عملية الزرع والحضن لمدة 24h ، نقوم بقياس أقطار التثبيط للمستخلصات الفينولية و القلويدية حول الأقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة.

الجدول (V.13): تراكيز المستخلصات الفينولية والقلويدية المحضرة لدراسة الفعالية المحضرة للبكتيريا

تراكيز العينات (mg/ml)		2.5	5	10
المستخلصات الفينولية	ph-Om	Ph-Om 3	Ph-Om 2	$Ph\text{-}Om_1$
	ph-So	$ph\text{-}So_3$	$ph\text{-}So_2$	$ph\text{-}So_1$
	ph-By	$ph\text{-}By_3$	$ph\text{-}By_2$	$ph\text{-}By_1$
	ph-Bo	$ph\text{-}Bo_3$	$ph\text{-}Bo_2$	ph-Bo1
المستخلصات القلويدية	Al-Om	$Al\text{-}Om_3$	$Al\text{-}Om_2$	$Al\text{-}Om_1$
	Al-So	$Al\text{-}So_3$	$Al\text{-}So_2$	$Al\text{-}So_1$
	Al-By	$Al\text{-}By_3$	$Al\text{-}By_2$	$Al\text{-}By_1$
	Al-Bo	$Al\text{-}Bo_3$	$Al\text{-}Bo_2$	$Al\text{-}Bo_1$

V.5.1. دراسة تأثير المستخلصات القلويدية:

بعد 24 سا من عملية الزرع للبكتيريا وتشبيع الأقراص بالتراكيز المحضرة، عدم تسجيل أي قطر تثبيطي للأنواع البكتيرية التالية (*Echerichia Coli*) و(*Staphlococcus aureu*) و(*klebsiella pheumoniae*).

النتائج والمناقشة :

يتبين من خلال النتائج المتحصل عليها عند جميع التراكيز المحضرة للمستخلصات القلويدية أن نبتة التالغودة *Bunuim mauritanicum* للمناطق أم البواقي، سوق أهراس، البيض، برج بعريريج ليس لها أي فعالية مضادة للبكتيريا تجاه هذه الأنواع البكتيرية المستعملة .

V.2.5. دراسة تأثير المستخلصات الفينولية:

✓ بكتيريا : *Echerichia Coli*

الجدول (V.14): أقطار التثبيط للبكتيريا *Echerichia Coli* الناتجة عن تراكيز مختلفة

	Ph-Om			Ph-So			Ph-By			Ph- Bo		
التراكيز (mg / ml)	$Ph\text{-}Om_1$	$Ph\text{-}Om_2$	$Ph\text{-}Om_3$	$Ph\text{-}So_1$	$Ph\text{-}So_2$	$Ph\text{-}So_3$	$Ph\text{-}By_1$	$Ph\text{-}By_2$	$Ph\text{-}By_3$	$Ph\text{-}Bo_1$	$Ph\text{-}Bo_2$	$Ph\text{-}Bo_3$
قطر التثبيط (mm)	-	10	16	9	8	11	-	12	13	10	9	8

النتائج والمناقشة :

أظهرت نتائج البكتيريا *E . Coli*

- ضعيفة الحساسية (بكتيريا مقاومة لتراكيز العينات) إتجاه تراكيز العينات$Ph\text{-}So_2$ و$Ph\text{-}Bo_3$ حيث سجل قطر التثبيط لهما بـ (mm)8.
- متوسطة الحساسية إتجاه تراكيز العينات($Ph\text{-}So_1$ و Ph- Bo)حيث سجل قطر تثبيط التراكيز بـ
- (mm) 9 وكذلك إتجاه تراكيز العينات ($Ph\text{-}Bo_1$، $Ph\text{-}Om_2$)حيث سجل قطر تثبيط التراكيز بـ (mm)10،ونفس الشيء ينطبق إتجاه تراكيز العينات $Ph\text{-}So_3$, $Ph\text{-}By_2$, $Ph\text{-}By_3$حيث سجل قطر تثبيط التراكيز بـ **(mm)**11و (mm)12و(mm)13 على التوالي.
- البكتيريا حساسة إتجاه المستخلص $ph\text{-}Om_3$ حيث سجل أعلى قطر تثبيط عند التركيز (10 (mg/ml إذ بلغ (mm)16.

✓ بكتيريا *Staphlococcus aureus*

الجدول (V.15): أقطار التثبيط للبكتيريا *Staphlococcusaureu* الناتجة عن تراكيز مختلفة

Ph- Bo			Ph-By			Ph-So			Ph-Om			
$Ph\text{-}Bo_3$	$Ph\text{-}Bo_2$	$Ph\text{-}Bo_1$	$Ph\text{-}By_3$	$Ph\text{-}By_2$	$Ph\text{-}By_1$	$Ph\text{-}So_3$	$Ph\text{-}So_2$	$Ph\text{-}So_1$	$Ph\text{-}Om_3$	$Ph\text{-}Om_2$	$Ph\text{-}Om_1$	التراكيز (mg/ml)
13	11	-	10	9	-	-	-	10	14	8	-	قطر التثبيط (mm)

النتائج والمناقشة :

- ضعيفة الحساسية (مقاومة) إتجاه تركيز العينة $Ph\text{-}Om_2$ حيث قدر قطر التثبيط بـ 8(mm).
- متوسطة الحساسية إتجاه تراكيز العينات $Ph\text{-}By_2$ ، $Ph\text{-}So_1$ ، $Ph\text{-}By_3$ ، $Ph\text{-}Bo_2$ حيث سجل قطر التثبيط لتركيز العينات $Ph\text{-}By_2$، $Ph\text{-}So_1$، $Ph\text{-}By_3$، $Ph\text{-}Bo_2$ بـ 9(mm) و10(mm)، 11(mm)على التوالي ، بينما قطر التثبيط لتركيز العينتين $Ph\ Bo_3$ ، $Ph\text{-}Om_3$ قدر بـ 13(mm)، 14(mm) على الترتيب.

نتيجة عامة :

من خلال هذه النتائج يمكن القول أن العينات Ph-Om ، Ph-So ، Ph-By ، Ph- Bo أعطت فعالية مضادة للبكتيريا كان واضحا عند كلا النوعين من البكتيريا (*Staphlococcusaureu*،*Echerichia Coli*) حيث سجل أعلى قطر تثبيطي لدى تركيز العينة $Ph\text{-}Om_3$ المقدرة بـ 16(mm) إتجاه بكتيريا *Echerichia Coli*، ومنه يمكن القول أنه كلما زاد التركيز يزداد قطر التثبيط و بالتالي تزداد الفعالية البكتيرية.

[1] Lebouazid , R., Meziani , R. A., & Karouche, S. (2021). Etude des activites antioxydante et anti-inflammatoire de lespece bunium mauritanicum.

[2] Karouche, S., Benbott, A., Henouda, S., Malki, S., & Boudchicha, I. (2020). EVALUATION OF PHENOLIC CONTENT AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF BUNIUM MAURITANICUM TUBERSS. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, *12*(2), 916-930.

الخاتمة

الخاتمة :

نضرا للإهتمام المتزايد بالنباتات الطبية تم إكتشاف مدى القيمة العلاجية للمواد الفعالة التي تحتويها نبتة *Bunum mauritanicum*، قمنا بدراسة تطبيقية تعتمد على دراسة الفاعلية الكيميائية والبيولوجية، من خلال الفاعلية المضادة للاكسدة و المضادة للبكتيريا للمستخلصات درنات النبات المأخودة من منطقةأم البواقي، سوق أهراس، برج بوعريريج و البيض. و من خلال النتائج المتحصل عليها يمكننا إستنتاج مايلي :

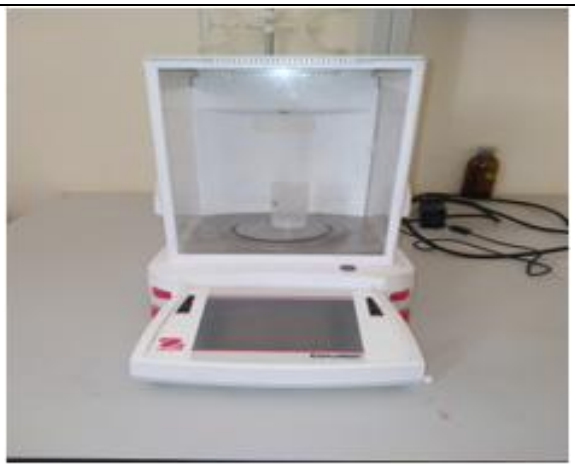
- ✓ أظهر المسح الفيتو كيميائي أن المستخلصات المدرسة تحتوي على الفينولات، الفلافونويدات و القلويدات.
- ✓ المستخلص الفينولي الذي سجل أكبر نسبة مردود هو مستخلص منطقة أم البواقي قدر بـ (6.49%) وأقل نسبة مقدرة بـ (2.39%) للمستخلص الفينولي لمنقطة سوق أهراس، أما بالنسبة للمستخلص القلويدي لمنطقة البيض فقد أعطي أعلى نسبة للمردود قدرت بـ (19.98%)، وبنسبة أقل عند المستخلص القلويدي لمنطقة أم البواقي.
- ✓ تم التقدير الكمي للفينولات بإستعمال كاشف Folin-ciacalteu، حيث تحصلنا على مقدار أكبر عند المستخلص الفينولي لمنطقة البيض المقدر بـ (63.55(mgEAG/g و مقدار أقل عند المستخلص الفينولي لمنطقة البيض المقدر بـ (mgEAG/g) 38.64، ومحتوى الفلافونويدات بإستعمال$AlCl_3$، حيث وجدنا مقدار أكبر عند مستخلص سوق أهراس المقدر بـ 8.31mgEQ/g و مقدار أقل عند مستخلص أم البواقي المقدر بـ (2.68(mgEQ/g.
- ✓ وبعد التقدير الكمي للمنتجات الفعالة لجأنا لدراسة الفاعلية المضادة للأكسدة للمستخلصات بإستعمال إختبارDPPH، حيث تمكنا من حساب IC_{50} للجذر الحر بالنسبة للمستخلصات، فقد أثبتت قيم IC_{50} المتحصل عليها أن النشاطية الأفضل لتثبيط DPPH عند مستخلص برج بوعريريج قدر بـ (0.130(mg/ml و أقل فاعلية عند مستخلص سوق أهراس قدر بـ (0.260(mg/ml، أما بإستعمال إختبار الفولطامتري الحلقي فقد أظهرت النتائج أن مستخلص أم البواقي يملك أعلى فاعلية قدرت بـ (157(mgEAG/g و أقل فاعلية عند مستخلص سوق أهراس قدر بـ (91.4(mgEAG/g .
- ✓ ومن خلال نتائج الفاعلية المضادة للبكتيريا وجدنا أن المستخلصات الفينولية تمتلك فاعلية معتبرة ضد البكتيريا المدروسة، حيث يملك المستخلص الفينولي لمنطقة أم البواقي أعلى قطر تثبيط قدر بـ (16(mm ضد

بكتيريا *E-Coli*، أما بالنسبة للبكتيريا *Staph* فقد أعطت أعلى قطر تثبيط عند مستخلص أم البواقي قدر بـ 14(mm).

الملحق 1 : الأجهزة المستعملة :

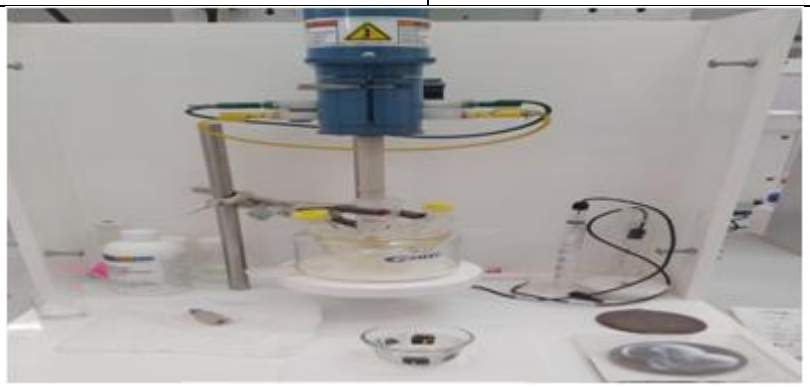
UV- Visible

جهاز التبخير الدوراني



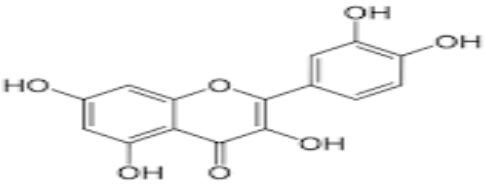
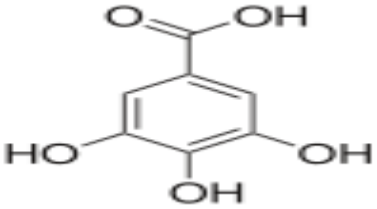
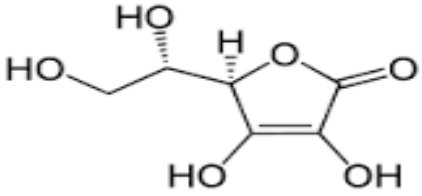
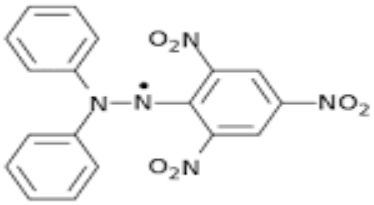
الميزان الحساس

حاضنة

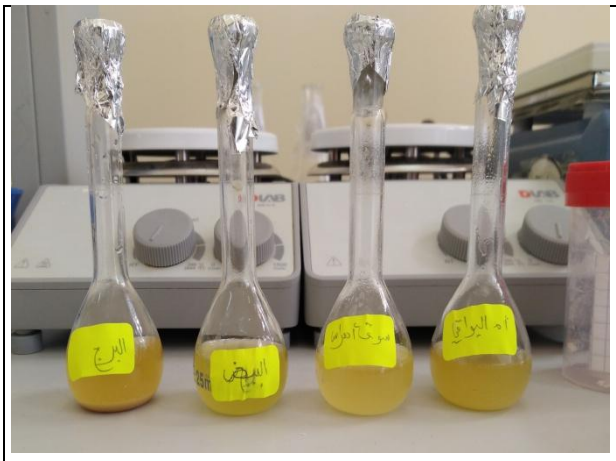
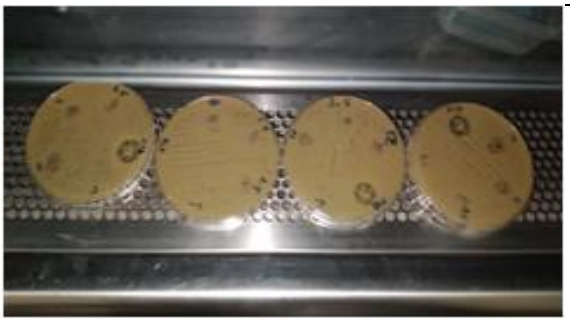


الخلية الكهروكيميائية

الملحق 2: الصيغ الكيميائية للمركبات المرجعية :

 الكرسيتين Quercétine	 حمض الغاليك Acide Gallique
 حمض الأسكوربيك Acide ascorpique	 الجذر الحر DPPH

الملحق 3 :صور بعض النتائج :

المستخلصات المائية	 المستخلصات العضوية
نتائج قطر التثبيط للبكتيريا E-Coli	 نتائج قطر التثبيط للبكتيريا *Staphlococcus aureu*

تم بحمد الله