رقم الترتيب :

رقم التسلسل :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا

مذكرة تخرج

لنيـــــــل شهـــــــادة مـــاستـــــــــــر أكـــــــــــاديمي

ميدان: علوم الطبيعة والحياة

شعبة: العلوم البيولوجية

تخصص: تنوع حيوي وفيزيولوجيا النبات

الموضوع:

دراسة الفعالية البيولوجية للنبات الطبي *Limoniastrum guyonianum* Dur النامي بمنطقة وادي سوف

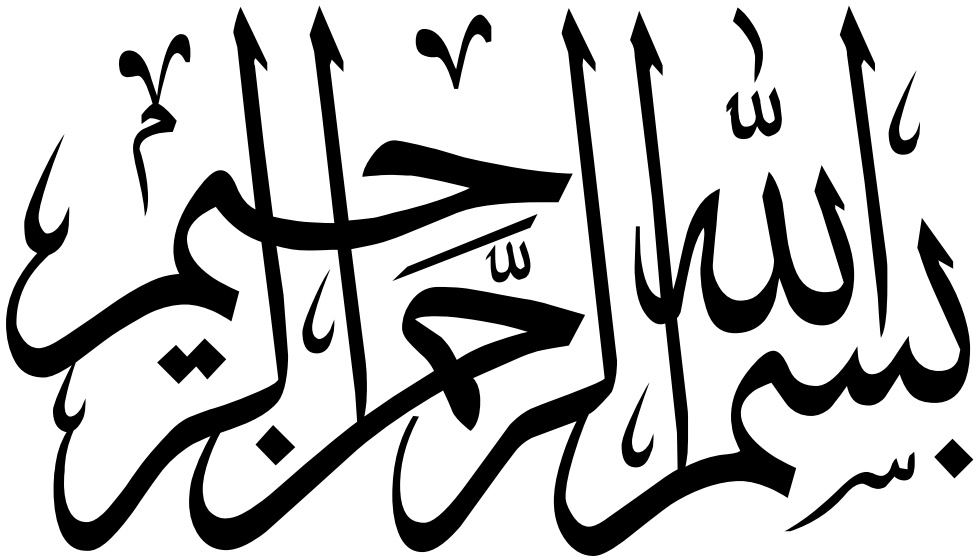
من اعداد:

قرميط صونية، لبسيس أماني، بن حضرية نفيسة

نوقشت يوم 2023/06/05 من طرف لجنة المناقشة:

قادري منيرة	أستاذ محاضر(أ)	رئيسا	جامعة الـوادي
شمسة أحمد الخليفة	أستاذ محاضر (أ)	مؤطرا	جامعة الـوادي
علية فاطمة	دكتوراه	مناقشا	جامعة الـوادي

الموسم الجامعي: 2023/2022


بسم الله الرحمن الرحيم

شكر وتقدير

اللهم لك الحمد حتى ترضى ولك الحمد اذا رضيت ولك الحمد بعد الرضا, الشكر لله العلي القدير الذي أنعم علينا بنعمة العقل والدين القائل في محكم التنزيل« وفوق كل ذي علم عليم» سورة يوسف الآية 76 .

والشكر لمنارة العلم ونعمة الانتساب الى أمة حبيبنا وشفيعنا يوم القيامة سيدنا محمد عليه أفضل الصلاة والسلام .

ثم نتوجه بخالص الشكر والتقدير وعظيم امتناننا الى من رعانا وأطر لنا عملنا هذا الى أستاذنا المشرف الفاضل **الدكتور شمسة أحمد الخليفة** الذي له الفضل بعد الله تعالى على البحث منذ ان كان الموضوع عنوانا وفكرة الى أن صار مذكرة، وعلى ما قدمه لنا من توجيهات ونصائح سديدة وملاحظات مستمرة فله منا الشكر كله والتقدير والعرفان .

كما نتوجه بجزيل الشكر الى أستاذتنا الفاضلة **القديرة غرايسة نورة** على رعايتها ودعمها ومساندتنا ورحابة صدرها لنا طيلة فترة عملنا والتي كان لها الأثر الكبير في التخفيف من صعوبات ومشقات العمل .

كما نشكر كل من علمنا حرفا وساندنا خلال مشوارنا الدراسي والتعليمي من معلمين وأساتذة ودكاترة، تلاميذ وطلبة .

كما نتقدم بالشكر الى الطالبتين **خميس عبير وحميدا تو وريدة** على ما قدموا لنا من أفكار واعانة ومساعدتهم في المخبر بروح المحبة .

وأخيرا نتوجه أسمى عبارات الشكر والعرفان الى كامل عمال وتقني مخابر كلية العلوم الطبيعية والحياة على كل مجهوداتهم في توفير كل الاحتياجات لإتمام هذا العمل .

والى كل من ساهمة من قريب أو بعيد بكلمة طيبة أو دعاء، فجزاهم الله عنا كل الاحترام والتقدير .

صونية، أماني ونفيسة

الاهداء

اهدي ثمرة عملي الى

من كافحت في دنياها ويلات الزمان وتجرعت علقم السنين فاعتصرت الصخر واخفت آلامها عنا كي لا نشعر بقسوة الحياة, من علمتنا الصبر والقوه والنجاح الى الأم المكافحة والمربية وفقيدة قلوبنا جدتي **حبيبتي عربية** أسئل الله أن يتغمدها بواسع رحمته ويدخلها فسيح جنانه .

من كان سندا دائما وأبدا الى نبراس القلب الى شمعة حياتنا الى من تحملت قسوة الحياة الى من حملتني وأنجبتني الى من علمتني أن العطاء ليس له حدود أمي **الغالية فتيحة .**

الى الشمعدان الذي احترق لينير لنا درب الحياة، الى من افتخر بحمل اسمه حفظك الله ورعاك وأدامك الله لنا أبي **الغالي الحافظ .**

من تعجز كلماتي وتنحني هامتي لعظيم عطائها شمس حياتي التي لا تغيب, واسمها نفسا وأدقها حسا وأرسخها في المكرمات، الى نعم الجليس ونعم الأنيس الى رفيقتي وداعمتي الدائمة اليك **عمتي فطيمة** بارك الله في عمرك وحفظك من كل مكروه .

كل الكلمات قليلة في حقكما, لكن اكتفي بقوله تعالى : «وقل ربي ارحمهما كما ربياني صغيرا»

الى رفقاء دربي في هذه الحياة, معكم أكون أنا وبدونكم أكون مثل أي شيء, الى من أرى التفاؤل بعيونهم أخواتي واخوتي **مروة، صفاء، محمد البشير، أنس .**

الى من تحب الخير للجميع الى صاحبة الابتسامة الصادقة **جدتي فاطنة،** والى كل من أفراد عائلتي أعمامي وبالأخص **الساسي,** وكذا أخوالي وخالاتي أولادهم وزوجاتهم حفظكم الله بعينه التي لا تنام .

الى من تحلوا بالإخاء وتميزوا بالوفاء الى من رفقتهم في دروب الحياة الحلوة والحزينة الى من عرفت كيف أجدهم وعلموني أن لا أضيعهم **نبيلة، رميصاء، منال، أماني، نفيسة .**

الى اللحظة التي قدمت لي أشخاص أعتز بمعرفتي لهم،

فهم أروع من صادفت وقفوا معي بروح المحبة والأخوة **أحمد شوقي، حسين .**

قرميط صونية

الاهداء

عظم المراد فهان الطريق

فجاءت لذة الوصول . . .لتمحي مشقة السنين

الى ملاكي في الحياة الى معنى الحب والحنان والتفاني الى بسمة الحياة وسر الوجود , الى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي الى قوتي حين ضعفي "ماما سعيدة"

الى من كلله الله بالهيبة والوقار الى من علمني العطاء دون انتظار الى من احمل اسمه بكل افتخار الى الجدار الذي استند عليه في تعبي الى الكتف الذي اضعه عليه اثقالي الى عزيزي وقدوتي ارجو من الله ان يمد في عمره ليرى ثمار قد حان قطفها بعد انتظار "بابا عزيزي"

الى اخوتي كل باسمه من كانوا بجانبي وساعدوني من قريب او بعيد وشجعوني في انجاز بحثي

الى صديقتي ورفيقتي في الدراسة "صونيا" كنتي اليد اليمنى في كل خطوة كنتي اللحظات الجميلة من بداية المشوار كنتي رمزا للعطاء ادام الله قلوبنا على الصحبة الطيبة والنية الصادقة

اهدي هدا العمل . . .

لبسيس أماني

الاهداء

الحمد لله فالق الأنوار وجاعل الأنوار وجاعل الليل والنهار ثم الصلاة والسلام على سيدنا محمد المختار، الحمد لله الذي وفقنا لهذا ولم نكن نصل اليه لولا فضل الله علينا .

اهدي هذا العمل المتواضع إلى منبع الحب و الحنان، مشكاة النور التي تقضي على الظلام، الى بلسم جروحي، مصدر روحي، سبب وجودي في الكون **أمي الغالية .**

إلى أغلى وأعظم وأروع رجل عرفته في الحياة، إلى من سهر الليالي لتنام عيناي، إلى من كد وتعب فلم يبخل علي بالغالي قبل الرخيص **أبي الحنون والغالي .**

فما أتمناه من الخالق أن يطيل في عمرها ويحفظهما .

وأهدي هذا العمل إلى أخواتي : **حواء، فردوس، نادية، شهرزاد، نجاة، بلقيس**، وبنت أختي الصغيرة **تسنيم**، وإخواني: **محمد والسبتي .**

وإلى كل من جدتي الغالية **مليكة** وأخوالي وأخص بالذكر **خالتي سعاد**، وكذا أعمامي وعماتي **فاطمة ووناسة .**

والى من كان انسهم ينسي التعب ويزيدني قوة صديقاتي: **صليحة، فيروز، منال، صونيا .**

وإلى من زرعوا في قلبي روح العلم والفكر والخلق الرفيع إلى كل أساتذتي على مر السنوات، الى من سقطوا سهوا من قلمي ولم يسقطوا من قلبي .

وأخيرا أتمنى من الله أن يوفقني لما يحبه ويرضاه .

بن حضرية نفيسة

الملخـــص

الملخـــص

يهدف هذا العمل الى تثمين نبات *Limoniastrum guyonianum* المعروف باسم نبات الزيتة، والذي ينتمي الى العائلة الرصاصية (*plumbaginaceae*)، تم جمعه من منطقة الطالب العربي لولاية الوادي في شهر جوان 2022، تم الحصول على الزيت الأساسي بواسطة جهاز كليفنجر والمستخلص الايثانولي المحضر بجهاز السوكسلي من الأجزاء الهوائية (الأوراق والأزهار) للنبات. حيث تم التقدير الكمي للفينولات باستعمال الكاشف folin-ciocalteau ، والكاشف $AINO_3$ في تقدير الفلافونويدات، وبغرض دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصين، تم اختبار الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الطيفية التي تمثلت في اختبارDPPH ، وأخيرا تم دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلصات النبتة وذلك على ثلاثة سلالات بكتيرية *staphylococcus aureus* و*Escherichia coli* و*Pseudomonas aeruginosa* باستعمال طريقة الانتشار على الأقراص.

كانت أعلى نسبة للمردود عند المستخلص الايثانولي حيث قدر ب8.72%، بينما كان مردود الزيت الأساسي 0.16%، وقد بينت النتائج المتحصل عليها في التقدير الكمي للفينولات والفلافونويدات كميتهما على التوالي 97.51. µg EAG/mg Extract و 38.35µg EQ/mg Extract ، أما فيما يخص نتائج النشاطية المضادة للأكسدة كانت ضعيفة جدا في الزيت الأساسي ومعتبرة بالنسبة للمستخلص الايثانولي بقدرة تثبيط قدرها IC_{50}=15.35±0.31 µg/ ml، كما أظهرت نتائج النشاطية المضادة للبكتيريا للمستخلصات حساسية متوسطة اتجاه المستخلص الايثانولي، ومقاومة اتجاه الزيت الأساسي أي أنه لم يبدي أي نشاط اتجاه هذه السلالات البكتيرية.

من خلال النتائج المتحصل عليها نستنتج أن للنبات أهمية بيولوجية من ناحية نتائج المحتوي الكمي للمركبات الفينولية ونتائج الفعالية المضادة الأكسدة، حيث يمكن استعماله في مختلف المجالات الصناعية والطبية كمواد توقف سلسلة جذور الأكسدة.

الكلمات المفتاحية: نبات الزيتة (*Limoniastrum guyonianum*)، الفعالية المضادة للأكسدة، الفعالية المضادة للبكتيريا.

Résumé

Ce travail vis a l'estimation (appréciation) de la plante de "*Limoniastrum guyonianum*" qui il fait partie de famille "Plumbaginaceae" ,elle est récoltée de la région" Taleb Laarbi" de la wilaya doued en juin 2022, l'huile essentielle a été obtenu par l'appareil de clévenger et l'extrait éthanolique préparé par l'appareil de soxcly des parties aérienne (les feuilles et les fleurs), ou la quantité des phénoles a 'aide du détecteur "folin-ciocalteau", et le de détecteur ALNO3 a l'appreciation des flavonoides .afin d'étudier l'efficacité biologiques aux extraits l'efficacité antioxydants testée par méthode spectrale présentée au teste DPPH, finalement l'efficacité antibactérienne des bacteries des extraits végetaux a été etudiée du trois souches bactériques " *Staphylococcus aureus*, *Escherichai coli* ,*Pseudomonas aeruginosa* " a laide de la méthodes de la déffusion sur les disques.

Le plus élvée taux du rendement était a l'extrait ethanolique de 8.72% pendant, le rendement d'huile essentiel était 0.16%, les résultats obtenées lors de la quantification des phénoles et des flavonoides ses quantités successivement 97.51µg EAG/mg Extrait et 38.35µEQ/mg Extrait .mais le resultats actifité antioxydants était très fable , l'hueil essentielle et raisombles par apport l'extrait éthaniloque a capacité de inhabition de IC50= 15.35±0.31µg/ml, ainsi les résultats actifs antibactérienne des extrait montré une sensibilité moyenne vers l'extrait éthanolique , et une résistance vers l'huile essentielle, c'est -a -dire il ne montre aucune activité vers ces souches baltiques.

A partir ces résultats obtenus, nous récapitulons que les plantes ont une importance biologique a coté contenue quantitatifs des composés phénoliques, et l'efficacité antioxydants ,ou peut l'utiliser aux différent domaines industriels et médicaux comme des matières ,cessent la chaine des racines de l'oxydation

Mots clés: la plant *Limonistrum guyonianum*, l'éfficacité antioxydants, l'efficacité bactérienne.

Abstract

This Works aims at the estimation appraisal of the plant of *Limoniastrum guyonanium* which is part of the « plumbaginaceae » family, it is harvested from the Taleb Laarbi region of the wilaya oued in june 2022, the oil essential was obtained by the clévenger apparatus and the ethanolic extract prepared by the soxcly apparatus from the aerial parts, where the quantity of phénols was obtained using the folin-ciocalteau detector, and the ALNO3 detector of flavonoids in order to stydy the biological effectiveness of the exteacts the antioxidant effectiveness tested by spectral method presented to the DPPH test, finally the antibacterial effectiveness of the bacteria in the plant extracts was studied " *Staphylococcus aureus*, *Escherichai coli*, *Pseudomonas aeruginosa* " using the disc defusion method.

The highest rate of yield was at the ethanolic extract of 8.72% during, the yield of essential oil was 0.16%, the rresults obtained during the quantification of phenols and flavonoids its quantities successively 97.51µg EAG/mg Extrait and 38.35µEQ/mg Extrait , but the antioxidant activity results were very low, the essential oil and reasonable by providing the ethanolic extract has an inhabitancy capacity of IC50= 15.35±0.31µg/ml, this the antibacterial active results of the extracts showed an average sensitivity towards the ethanolic extract and the essential oil, it shows no activvity towards these baltic strains.

From these obtained results, we recapitulate that the plants have a biological importance beside contained quantitative phenolic compounds, and the effectiveness antioxidants, or can use it in the various industrial an medical fields like materials, stop the chain of the roots of oxidation.

Key words: *Limoniastrum guyonianum* plant, Antioxidant efficiency, Bacterial efficiency.

الفهـــرس

شكر وتقديـــر.....I
الاهداء.....II
الملخـــص.....VI
الفهرس.....**خطأ! الإشارة المرجعية غير معرّفة.**
قائمة الجداول.....XV
قائمة الوثائق.....XVII
قائمة الاختصارات.....XIX
المقدمة العامة.....2

الجزء النظري: الفصل الأول

دراسة نظرية حول نبات الزيتة (*Limoniastrum guyonianum* Dur)

I- نبذة عن النباتات.....6
I-1 تعريف النباتات الطبية.....6
I-2 اهمية النباتات الطبية.....6
II- الدراسة النظرية لنبات الزيتة (*Limoniastrum guyonianum* Dur).....7
II-1 العائلة الرصاصية (Plumbaginaceae).....7
II-2 جنس *Limoniastrum*.....7
II-3 نبات الزيتة (*Limoniastrum guyonianum* Dur).....8
II-3-1 تسمية النبات.....8
II-3-2 الوصف المرفولوجي لنبات الزيتة.....8
II-3-3 التصنيف النباتي.....9
II-3-4 النمو والازهار.....9
II-3-5 التوزيع الجغرافي.....9
II-3-6 استخدامات نبات الزيتة.....9
II-4 المسح البيبليوغرافي للنبات.....10

الفصل الثاني

نواتج الأيض الثانوي

I- تعريف المنتجات الطبيعية.....13
I-1 الايض الاولي.....13

I-2 الايض الثانوي 13
II- عديدات الفينول 13
II-1 تعريف المركبات الفينولية 13
II-2 اقسام عديدات الفينول 14
II-2-1 الفينولات البسيطة (C6 Phénols simple) 14
II-2-2 الاحماض الفينولية 14
II-3 اهمية ودور عديدات الفينول في النبات 15
II-4 الاستعمالات العلاجية لعديدات الفينول 15
III- الفلافونويدات 16
III-1 تعريف الفلافونويدات 16
III-2 بنية الفلافونويدات 16
III-3 تصنيف الفلافونويدات 16
III-4 أهمية الفلافونويدات 18
III-4-1 بالنسبة للنبات 18
III-4-2 بالنسبة للإنسان 18

الفصل الثالث

الزيوت الأساسية (Huiles essentielles)

I- تعريف الزيوت الأساسية (Huiles essentielles) 20
I-1 تعريف 20
I-2 تخليقها 20
I-3 تواجدها 22
I-4 طرق استخلاص الزيوت الاساسية 22
I-4-1 التقطير 22
I-4-2 الاستخلاص باستعمال المذيبات 23
I-4-3 الاستخلاص بالعصر الهيدروليكي او الضغط 23
I-5 أهمية الزيوت العطرية 23
I-6 الخواص الفيزيائية والكيميائية 24
I-6-1 الخواص الفيزيائية 24
I-6-2 الخواص الكيميائية 25

I-7 استخدامات الزيوت الاساسية..... 26
I-7-1 صناعة عطور التجميل..... 26
I-7-2 التغذية..... 26
I-7-3 الزراعة..... 26
I-7-4 الطب والصيدلة..... 26

الجزء التطبيقي: الفصل الأول

المواد والطرق

I- في الميدان..... 29
I-1 الموقع الجغرافي لولاية وادي سوف..... 29
I-2 جني المادة النباتية المدروسة..... 29
I-3 الأدوات والطرق المستعملة في تحضير عينة النبات المدروس..... 30
II- في المخبر..... 31
II-1 الأدوات والمحاليل والأجهزة المستعملة..... 31
II- الطرق المستخدمة في الدراسة..... 33
II-1 المادة النباتية..... 33
II-1-1 استخلاص الزيت الاساسي للنبتة..... 33
II-1-2 تحضير المستخلص النباتي..... 34
II-2 تقدير نسبة المردود..... 36
II-3 التقدير الكمي للمركبات..... 36
II-3-1 تقدير المحتوى الفينولي..... 36
II-3-2 المحتوى الكمي للفلافونويدات..... 37
II-4 تقدير النشاطية البيولوجية..... 37
II-4-1 دراسة الفعالية المضادة للأكسدة..... 37
II-4-2 دراسة الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة..... 41

الفصل الثاني

النتائج والمناقشة

I- النتائج..... 46
I-1 مردود الاستخلاص..... 46

I-2 التقدير الكمي للمركبات الفينولية والفلافونويدية للمستخلص..... 47
I-2-1 التقدير الكمي للفينولات..... 47
I-2-2 التقدير الكمي للفلافونويدات..... 48
I-3 تقدير النشاطية البيولوجية..... 48
I-3-1 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة..... 48
I-3-2 الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة..... 50
II-المناقشة..... 51
II-1 المردود..... 51
II-2 التقدير الكمي للمركبات..... 51
II.1.2.التقدير الكمي للفينولات..... 51
II-2-2 التقدير الكمي للفلافونويدات..... 52
II-3 تقدير الفعالية البيولوجية..... 53
II-3-1 النشاطية المضادة للأكسدة..... 53
II-3-2 النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة..... 54
الخاتمة..... 58
قائمة المراجع..... 61
الملاحق..... 72

قائمة الجداول

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	رقم الصفحة
01	التصنيف العلمي لنبات الزيتة	09
02	الأدوات والمحاليل والأجهزة الازمة لاستخلاص الزيت الأساسي	31
03	الأدوات والمحاليل والأجهزة اللازمة لتحضير المستخلص النباتي الخام	31
04	لوازم التقدير الكمي للفينولات	31
05	مستلزمات التقدير الكمي للفلافونويدات	32
06	مستلزمات تحضير محلول الDPPH	32
07	مستلزمات اختبار النشاطية المضادة للأكسدة للزيت الأساسي والمستخلص الايثانولي	32
08	مستلزمات اختبار النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة	33
09	الأنواع البكتيرية المستعملة	41
10	كتلة المستخلص (g) وكمية المردود (%) للزيت الأساسي والمستخلص الايثانولي لنبات الزيتة	46
11	كمية عديدات الفينول، الفلافونويدات للمستخلص الايثانولي لنبات الزيتة بالميكروغرام مكافئ للمركب القياسي على المليغرام من كتلة المستخلص	47
12	متوسط قطر مناطق التثبيط للفعالية المضادة للبكتيريا للزيت الأساسي والمستخلص الايثانولي لنبات *L.guyonianum* والمضادات الحيوية	50

قائمة الوثائق

قائمة الوثائق

رقم الوثيقة	عنوان الوثيقة	رقم الصفحة
01	الجزء الهوائي لنبات الزيتة (*Limoniastrum guyonianum*)	08
02	نموذج بسيط لمركب فينولي	14
03	بعض بنى الفينولات البسيطة	14
04	البنية الكيميائية للفلافونويدات	16
05	مخطط يوضح كيفية تخليق الزيوت الأساسية	21
06	الموقع الجغرافي لمنطقة الطالب العربي مكان جلب العينة	29
07	مخطط يوضح خطوات تحضير العينة النباتية	30
08	جهاز التقطير المائي كليفنجر	34
09	دورق به ماء + نبات	34
10	صورة الزيت الأساسي لنبات *L. guyonianum*	34
11	جهاز السوكسلي Soxhlet	35
12	جهاز Rota vapeur	35
13	مخطط يوضح خطوات الاستخلاص لنبات الزيتة باستعمال جهاز السوكسلي Soxhlet	36
14	معادلة تثبيط جذر الDPPH• في وجود مضادات الأكسدة	38
15	مخطط يوضح كيفية تحضير الDPPH	38
16	محلول الDPPH في جهاز الرج Agitateur	39
17	سلسلة تراكيز لمحلول والزيت الأساسي	40
18	سلسلة تراكيز الDPPH لمحلول الDPPH والمستخلص	40
19	جهاز قياس الامتصاصية الضوئية (Spectrophotomètre)	40
20	اذابة الوسط المغذي	43
21	الوسط المغذي	43
22	خطوات زراعة البكتيريا	44
23	قيمة المردود (%) لكل من الزيت الأساسي والمستخلص الايثانولي	46
24	المنحنى القياسي لحمض الغاليك لتقدير الفينولات	47
25	المنحنى القياسي للكير سيتين لتقدير الفلافونويدات	48
26	منحنيات اختبار الDPPH للمستخلص الايثانولي لنبات الزيتة (*L.guyonianum*)	49
27	صور توضح تأثير مستخلص *L. guyonianum* الايثانولي على السلالات البكتيرية	50

قائمة الاختصارات

قائمة الاختصارات

AA: Acide Ascorbique.

A: الامتصاصية

A_0: الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلص

A_i: الامتصاصية الضوئية للخليط (جذر+ مستخلص)

C°: Degré Celsius (درجة الحرارة المئوية).

DPPH: Radical 2,2 Diphenyl-1-picrylhdrazil.

DMSO: Diméthyle sulfoxide

IC_{50}: Inhibition concentration 50%.

GAE: حمض الغاليك المكافئ

QE: كريستين المكافئ

L: Limonistrum.

R%: Pourcentage de rendement.

UV: Spectrophotomètre UV- Visible

MeOH: ميثانول

EtOH: ايثانول

At: أسيتون

A.Ac: حمض الخليك

GC-FID: Chromatographie en phase gazeuse- détecteur à ionisation de flamme.

GC-MS: Chromatographie en phase gazeuse- spectrométrie de masse.

المقدمة العامة

المقدمة العامة

النباتات الطبية هي المصدر الاساسي لصحة الانسان رغم كل التطور الحاصل في مجال الصيدلة الا انه لا تزال العديد من الثقافات التقليدية تقر بفائدة الوصفات الطبية النباتية واهميتها العلاجية, والمصدر الاساسي للعقاقير النباتية هو النبات الطبي حيث تدخل في تحضير الادوية وذلك على شكل مستخلصات او مواد خام وكدا مواد فعالة لإنتاج البعض من المركبات الكيميائية (العابد، 2009).

رغم انتشار التداوي بالأقراص والتطور الملحوظ في صناعة الادوية الا ان التجارب اثبتت ان الاعشاب والنباتات تمتلك احسن فعالية من منتجات المصانع (رويحة، 1983)، وهدا راجع الى موادها الفعالة. لقد تم تطوير الادوية التقليدية على مدى الاف السنين وذلك من خلال الخبرات المكتسبة والمعرفة المتراكمة للإنسان وتم دراسة كل جوانب المواد النباتية والفصل بين المواد الضارة والنافعة، وهكذا نجح الانسان في اكتشاف علاجات من خلال النباتات الطبية وبدأت العديد من الأدوية المحلية كخرافة وصدفة الى ان انتقلت الى ادوية شعبية وتطورت اخيرا الى علاجات دوائية حديثة (Lanks, 2007).

هناك العديد من الاسباب وراء الاهتمام بالطب الشعبي اي التداوي بالنباتات الطبية وذلك راجع الى الخوف من العقاقير المصنعة من جهة، ومن جهة اخرى يعود الاهتمام المتزايد بالأدوية العشبية لاحتوائها على الكثير من المواد الفعالة التابعة لمنتجات الايض الثانوي من اهمها الزيوت الاساسية والفينولات والتي اكدت نجاحها في علاج كثير من الامراض الخطيرة نظرا لفعاليتها البيولوجية المتعددة فمثلا ضد البكتيريا والاكسدة والالتهاب والكثير من الادوار الصيدلانية الخرى خاصة في ظل الامراض الحديثة التي غزت العالم واستعصى علاجها بالأدوية الكيمائية (اسماعيلي، 2015).

تعتبر الجزائر من اهم بين الدول الغنية بالنباتات الطبية اذ تحتوي على اكثر من 3000 نوع من النباتات (Lebrun, 1982)، حيث تعتبر من بين البلدان الاكثر تنوعا وهدا يعود الى موقعها الجغرافي ومساحتها الواسعة وتنوع مناخها. وبفضل هدا التنوع تمتلك الجزائر ثروة حقيقة تحتاج الى الحفاظ عليها من اجل ضمان التوازن البيئي والتنوع البيولوجي (Pereira et *al.*, 2003).

رغم انتشار نبات الزيتة الا أنه مهمل، ومع ذلك فان تقييم خصائص العلاج بالنباتات مثل مضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات يضل مهمة مثيرة للاهتمام ومفيدة للغاية، خاصة بالنسبة للنباتات ذات الاستخدام النادر، حيث تمثل هذه النباتات مصدر جديد للمركبات النشطة.

على ضوء ذلك قمنا بهذا البحث الذي يهدف الى استخلاص الزيت الاساسي والمركبات الفينولية بمذيب الايثانول لنبات من عائلة Plumbaginaceae وهو Dur *Limoniastrum guyonianum*

(الزيتة) النامي بمنطقة وادي سوف، والتعرف على مدى فعاليتهما المضادة للأكسدة، وتأثيرهما البيولوجي على ثلاثة سلالات بكتيرية.

اشتملت هذه الدراسة على مقدمة وجزئيين:

في الجزء الأول عبارة عن دراسة نظرية تحتوي على ثلاثة فصول حيث:

الفصل الأول: يشتمل على دراسة نظرية حول نبات الزيتة (*Limoniastrum guyonianum*) من حيث التوزيع والتصنيف العلمي.

الفصل الثاني: تطرقنا للمركبات الفينولية واهميتها في النبات.

الفصل الثالث: تناولنا فيه تعريف الزيوت الاساسية ومكان تواجدها وتخليقها واهميتها.

أما الجزء التطبيقي خصص للدراسة البيولوجية للزيت الاساسي والمستخلص الايثانولي والنشاطية الضد التأكسدية والضد بكتيرية، حيث:

الفصل الأول: خاص بالمواد والطرق المستعملة في الدراسة.

الفصل الثاني: هو عبارة عن استعراض لنتائج الدراسة ومناقشتها ومقارنتها بدراسات سابقة.

وفي الأخير أنهينا بحثنا بخاتمة.

الجزء النظري

الفصل الأول

دراسة نظرية حول نبات الزيتة

(*Limoniastrum guyonianum* Dur)

I- نبذة عن النباتات

خلق الله النباتات على الكرة الارضية من قبل ان تطأها قدم انسان او حافر حيوان لان النباتات هي الغذاء الاساسي لكل مخلوق حي وبدونها لا وجود للحياة، ومع تعاقب السنين اخذ العارفون بأمور النباتات في تبادل المعرفة عن النافع منها ونواحي الاستفادة منها لصالح مجتمعاتهم (بوليف وعثمان، 2020)، وكانت مملكة النباتات الذخر الوحيد لأدوية الانسان من خلال عدد لا يحصى من القرون (عبود ووحيد، 2017)، اثبت الدراسات العديدة ان بالجزائر ما لا يقل عن 3500 نوع من النباتات منها ما تعود الى المناخات اكثر فعالية واغنى في العناصر المفيدة من نباتات المناطق الباردة واخرى لا نعثر عليها الا في البلدان الصحراوية، وهناك انواع لازالت متخفية في الطبيعة، ونظرا لأهمية هذه النباتات توالت جهود العلماء والباحثين في كشف اسرارها، وتنوع مجالات دراستها، واروع ما قام به العلم هو تصنيف هذه النباتات (بوليف وعثمان، 2020)، ومن بين هذه التصنيفات النباتات الطبيبة التي تحتل المصدر الرئيسي للعقاقير والمواد الفعالة.

I-1 تعريف النباتات الطبية

عرف العالم **Dragendorff** ان كل شيء من اصل نباتي ويمكن استعماله لمعالجة مرض معين فهو نبات طبي (العابد، 2009)، ويعرف النبات الطبي على انه كل نبات يحتوي في عضو او اكثر من اعضائه المختلفة او تحوراته على مادة كيميائية واحدة او اكثر، بتركيز منخفض او مرتفع ولها القدرة الفسيولوجية على معالجة مرض معين او على الاقل، تقلل من اعراض الاصابة بهذا المرض اذا ما اعطيت للمريض في صورتها النقية بعد استخلاصها من المادة النباتية، أو اذا ما تم استخدامها وهي في صورة عشب نباتي طازج او مجفف او مستخلص جزئيا (بلفأر، 2018)، النباتات الطبية لها القدرة على انتاج نوع او عدة انواع من المواد الفعالة، ويمكن ان تنتج مواد غير فعالة وليس لها تأثير طبي (مخدمي، 2014).

I-2 اهمية النباتات الطبية

اثبت التجارب العديدة ان المواد الكيميائية الدوائية الصناعية اغلبها تملك تأثيرات جانبية ضارة، وكذلك قد لا تؤدي التأثير الوظيفي نفسه للمواد الفعالة في النباتات الطبية (مخدمي، 2014)، ومن هنا تظهر اهمية النباتات الطبية في العلاج، التي يتم استخدامها في الحالات المرضية التي يصعب استخدام الادوية الكيميائية فيها خوفا من تدهور المريض واصابته بأعراض جانبية، لان المواد الفعالة في هذه النباتات لا تنفرد بجزء واحد له علاقة خاصة بعضو معين في الجسم، انما تحوي على المواد الفعالة الشافية مما يجعلها مفيدة في مداواة امراض مختلفة (العابد، 2009)، كما تستخدم كتوابل وبهارات للأطعمة مما يكسبها طعما ولونا مميزا (شيخة بلقاسم ومسعي بلقاسم، 2020).

II- الدراسة النظرية لنبات الزيتة (*Limoniastrum guyonianum* Dur)

II-1 العائلة الرصاصية (Plumbaginaceae)

هي عائلة عالمية واسعة الانتشار (Chaabi et *al*., 2008)، تنتمي الى الرتبة Plumbaginales، تضم حوالي 836 نوعا نباتيا موزعة على 27 جنسا (Ozenda, 2004)، هذه النباتات عبارة عن شجيرات فرعية او اعشاب معمرة ودائمة الخضرة (Radgah, 2020).

تنتشر نباتات هذه الفصيلة على نطاق واسع في المناطق المعتدلة للنصف الشمالي للكرة الارضية (علية، 2022)، حيث تحبذ النمو في الاراضي القاحلة ويكون معظمها في المناطق الجافة ذات التربة المالحة مثل المسطحات الملحية وسواحل البحر خاصة في منطقة البحر الابيض المتوسط وغرب آسيا (Perveen et Qaiser, 2004)، ينمو في المناطق الصحراوية جنسين من العائلة الرصاصية هما Limoniastrum و Limonium.

في الجزائر ينمو منها 34 نوع نباتي مصنف ضمن 4 اجناس، معظمها تنتمي لجنس Limonium، الذي يضم 23 نوع وبقية الانواع تتبع لكل من Arméria الممثل ب 6 انواع، وجنس Limoniastrum الذي يشمل 4 انواع وPlumbago الذي به نوع واحد(Ozenda, 2004).

II-2 جنس *Limoniastrum*

Limoniastrum جنس نباتي، شجيري، صحراوي معمر(علية، 2022)، ينتمي الى عائلة Plumbaginaceae، ينمو ويتوزع في المناطق الجافة، المالحة لساحل البحر الابيض المتوسط وجنوب الصحراء الكبرى (Ozenda, 2004)، يكون هذا الجنس واسع الانتشار وشائع النمو في الصحراء الجزائرية بعدة انواع (Belhadi, 2020)، ينقسم هذا الجنس الى قسمين، الاول شجيرات طويلة اما الثاني شجيرات قزمة (بلفار،2018)، واوراق مرتبة بتوضع متبادل في شكل وردة، رمادية اللون، لحمية جلدية، تكسوها طبقة كلسية، أزهارها وردية أو أرجوانية اللون (Ben Khaled, 2018).

II-3 نبات الزيتة (Limoniastrum guyonianum Dur)

II-3-1 تسمية النبات

اختلفت الأسماء الشائعة لهذا النبات، عند بعض المناطق في الجزائر وتونس يعرف بالزيتة (حليس، 2007)، وعرف في مناطق أخرى من الجزائر بحنة الابل، وفي الجنوب الشرقي في المغرب بـ Tirremt أو Zeyata (علية، 2022)، أما علميا اتفقت جميع المراجع على نفس التسمية *Limoniastrum guyonianum*.

II-3-2 الوصف المرفولوجي لنبات الزيتة

هي شجيرات معمرة كثيفة تنمو في التربة المالحة وعلى حواف الشطوط **الوثيقة (01)** (Belhadi, 2020)، طولها يتعدى 1متر في أغلب الاحيان، السيقان الحديثة خضراء اسطوانية (حليس، 2007)، تحمل أوراق متبادلة متطاولة، خطية شبه اسطوانية، ذات نهاية حادة وسميكة مغطاة بطبقة كلسية (Hamidi,2013)، قد يصل طولها الى 12سم وهي خضراء لحمية تظهر وكأنها محببة وخشنة الملمس، الأزهار وردية أو حمراء بنفسجية تتجمع في نورة قميه متفرعة (حليس، 2007)، وتكون كثيرة جدا تغطي كامل النبات، كبيرة الحجم يصل طولها الى 8مم وقطرها الى 10مم، شعاعية، خنثى، سفلية، خماسية القطع، تتميز بكأس أنبوبي ملتحم السبلات، غشائية ذات عروق واضحة، وتويج مندمج البتلات جزئيا، الأسدية فوق بتلية، المتاع ملتحم الكرابل، المبيض وحيد الغرفة، ذو وضع مشيمي قاعدي (علية، 2022)، تخرج الأزهار من ابط قنابات غشائية صغيرة (حليس، 2007)، تترك على السطح مادة زيتية طفيفة (بلفار، 2018)، ثمارها كبسولة، أما جذورها فهي وتدية.

الوثيقة (01): يمثل الجزء الهوائي لنبات الزيتة (*Limoniastrum guyonianum*)

II-3-3 التصنيف النباتي

حسب بلفار (2018) وعلية (2022)، حيث يوضح **الجدول (01)** تصنيف نبات الزيتة (*Limoniastrum guyonianum*).

الجدول (01): التصنيف العلمي لنبات الزيتة

Règne	Plante	المملكة
Division	Spermaphytes	**الشعبة**
Sous division	Angiospermes	**تحت الشعبة**
Class	Dicotylédone	**القسم**
Ordre	Plumbaginales	**الرتبة**
Famille	Plumbaginaceae	**العائلة**
Genre	Limoniastrum	**الجنس**
Espèce	*Limoniastrum guyonianum* Dur	**النوع**

(بلفار،2018; علية، 2022)

II-3-4 النمو والازهار

الزيتة شجيرات معمرة تبقى خضراء طوال العام، وعملية الازهار تتم في فصل الربيع (حليس، 2007)، بين شهري أفريل وماي (علية، 2022).

II-3-5 التوزيع الجغرافي

تنمو الزيتة وتنتشر في العروق الشمالية للمنطقة، مستوطنة في شمال افريقيا (حليس، 2007)، تتواجد في مستعمرات تغطى مساحات شاسعة على مستوى التربة الرملية العادية وشديدة الملوحة، وعلى حواف الشطوط والسبخات، كشط ملغيغ في الصحراء الجزائرية (بده زكري وزملائه، 2022).

II-3-6 استخدامات نبات الزيتة

- **من الناحية العلاجية**

يستخدم الجزء الهوائي للنبات في علاج السعال والتهاب اللوزتين والانفلونزا والقصبات الهوائية، كما يستعمل مع قشور الرمان ككمدات للجروح (بده زكري وزملائه، 2022)، وفي الطب التقليدي استعمل سكان المنطقة مغلى الجذور والسيقان والأوراق كمضاد للسكري، وللدغات العقارب ولسعات الثعابين (علية،

2022)، يعالج ارتفاع ضغط الدم وأمراض الكلى (Hadjadj et *al.*, 2016)، مضاد للفيروسات والفطريات (Hammami, 2011).

- **من الناحية الرعوية**

تأكله الحيوانات، خاصة الجمال ويمثل مصدرا هاما للغذاء في الفصول القاسية (حليس، 2007).

- **من الناحية البيئية**

تعتبر من النباتات المضادة للتصحر(علية، 2022)، كما تعمل على تثبيت الرمال الزاحفة، وتجري البحوث من أجل التحكم في هذه الثروة واستعمالها كمضادات لأمواج الرمل المتجهة نحو الشمال (حليس، 2007).

- **من الناحية الاقتصادية**

الزيتة أهم مصدر للحطب في منطقة سوف، ففي القديم وعندما كان الحطب يعتبر مصدر الطاقة الوحيد كانت الاغصان تباع في الأسواق (حليس، 2007)، وبالتالي فهو مصدر للدخل المادي عند بعض سكان الصحراء (علية، 2022).

II-4 المسح البيبليوغرافي للنبات

- توصل Medimagh ورفقائه (2010)، في دراستهم بعد عزل مركبين من المستخلص الميثانولي في طور البيوتانول لجذور نبات *L. guyonianum* هما Gallocatechin و Trans-Syringin (الشكلين في الملحق).

- وفي دراسة قامت بها Hammami ومعاونوها (2011)، على الزيوت الطيارة تم الحصول عليها من الجذور، الأوراق، البذور، الأزهار بعد التقطر المائي في جهاز كليفنجر كان مردود الاستخلاص يقدر ب0.014% ، 0.015% ، 0.025% ، 0.028% على الترتيب. وتم بعد ذلك اجراء التحليل الكيميائي للزيوت المتطايرة لهذه الأعضاء المختلفة بواسطة GC-FID و GC-MS، حيث وجد في زيوت الجذور والأوراق مركب Monoterpenes متساوي تقريبا بينهما (22.56 و 26.21% على التوالي)، تم الكشف عن hex-3-enylmethanoate (3Z) كنمط كيميائي في الجذور، بينما كان Furfural (14.63%)، methyl-2.4-dimethylbenzoate (14.70%) و3-phenylprop-2-enylpentanoate (15.05%) الأكثر وفرة من مكونات البذور والأوراق والزهور.

- وقامت Trabelsi ومعاونوها (2012)، تم فيها عزل مركبات وتقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص المائي وخلات الايثيل ومن أهم ما تم فصله المركبين Epigallocatechin وEpigallocatechin-3-O-gallate.

الفصل الثاني

نواتج الأيض الثانوي

I- تعريف المنتجات الطبيعية

تصنف المنتجات الطبيعية إلى مركبات داخلة في التفاعلات الأولية وتشير في الغالب إلى العمليات الأيضية الأولية التي ينتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة، الأحماض الأمينية، السكريات، الدهون، البروتينات والأحماض النووية. وتعتبر مركبات هذا القسم هي المواد البادئة لمركبات الأيض الثانوي التي تنقسم إلى أصناف مختلفة لتسهيل الدراسة فنجد التربينات ومشتقاتها، المركبات الفينولية القلويدات. ويعتبر حمض الشيكيميك، الأسيتات والأحماض الأمنية وحدات بناء للأيوض الثانوية (Wink, 2010).

I-1 الايض الاولي

هو مستوى الأيض الأساسي، يقوم بتصنيع كل الجزيئات المسؤولة عن الحياة الأساسية للنبات، فهي جزيئات لها دور في البناء كالسليلوز، و أخرى لها دور وظيفي (الكلوروفيل، حمض أميني) والنشاء كمركب مخزن. يضم الأيض الأولي العديد من الجزيئات العضوية (السكريات، اللبيدات، البروتينات) (Reynard, 2011).

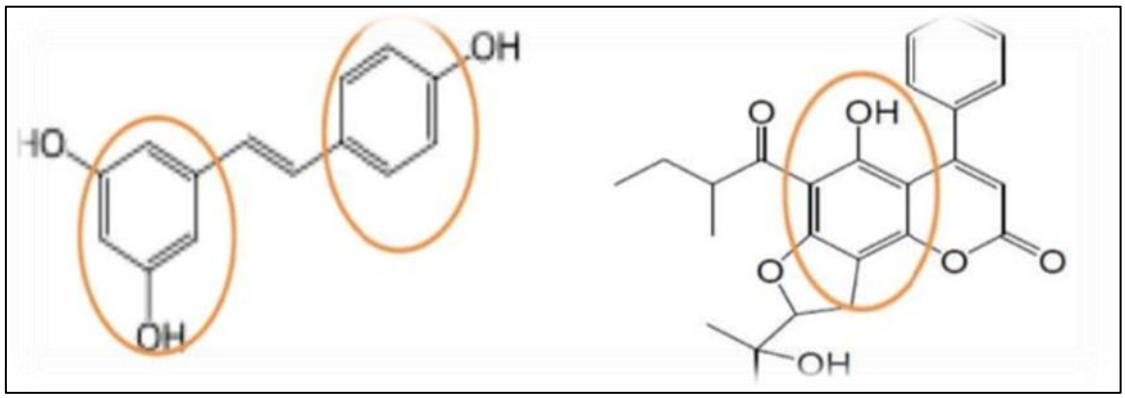
I-2 الايض الثانوي

يعرف الأيض الثانوي بأنه مجموعة من المسارات الأيضية التي تنتج مركبات عامة ذات وزن جزيئي منخفض، لا توجد لها وظيفة حيوية واضحة داخل الكائن الحي المسؤول عن إنتاجها ولكن لها دور إيكولوجي، على سبيل المثال في آليات الدفاع عن النباتات ضد الحيوانات المفترسة أو الممرضة (Nacoulma, 2012).

II- عديدات الفينول

II-1 تعريف المركبات الفينولية

تمثل المركبات الفينولية مجموعة واسعة من المواد النباتية التي تعرف على أنها مستقلبات ثانوية في المملكة النباتية **الوثيقة (02)**، تستعملها للدفاع ضد الأشعة فوق البنفسجية أو الأجسام الغريبة، تصنف هذه المركبات إلى مجموعات مختلفة حسب عدد الحلقات الفينولية المكونة لها بالإضافة إلى عدد المجاميع الميثيلية والهيدروكسيلية المرتبطة، يؤدي هذا الاختلاف إلى إعطاء العديد من المركبات: أحماض فينولية وفلافونويدات ودباغ و Stilbens و Lignans (Manach et *al*., 2004).



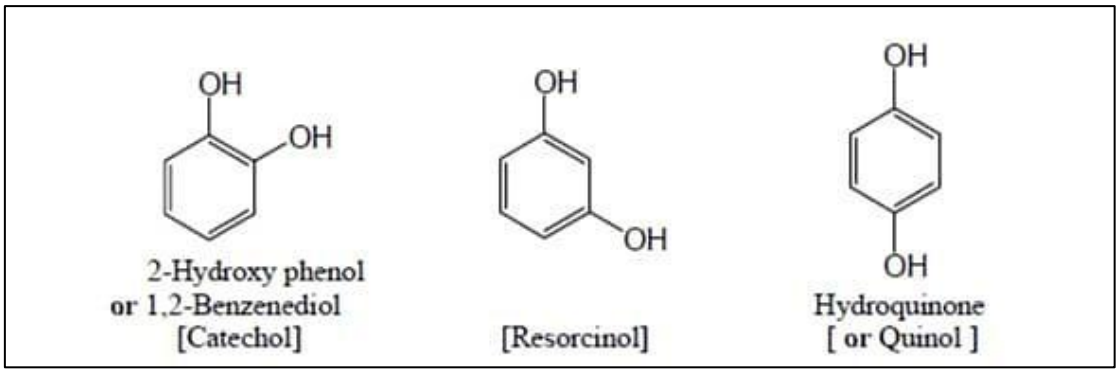
الوثيقة (02): نموذج بسيط لمركب فينولي

II-2 اقسام عديدات الفينول

يمكن تصنيف المجموعات الكبيرة من المركبات الفينولية على أساس عدد الذرات الكربون في الجزيء وحسب البنية وعدد الحلقات الأروماتية والعناصر المرتبطة بها ونلخص عملية التصنيف في جدول التالي (Bruneton, 2009; Sarni-Manchado, 2006).

II-2-1 الفينولات البسيطة (C6 Phénols simple)

وهي التي تحتوي على حلقة بنزين مرتبطة بواحد أو أكثر من مجموعات الهيدروكسيل **الوثيقة (03)**، فهي نادرة في الطبيعة بإستثناء الهيدروكينون موجود في كثير من العائلات (ورديات، خلنجية) (Laraoui, 2007)



الوثيقة (03): بعض بنى الفينولات البسيطة

II-2-2 الاحماض الفينولية

هي جزيئات فينولية بسيطة تمثل الوحدة الأساسية لبناء المركبات الفينولية الأخرى (Morton et *al.*, 2000)، تتواجد في النباتات الطبية (Psotova et *al.*, 2003)، وتنقسم إلى قسمين رئيسيين هما قسم الأحماض المشتقة من حمض Hydroxybenzoic وقسم الأحماض المشتقة من حمض Hydroxycinnamic.

❖ **الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك (C6-C1)**

في هذا النـوع تكون حلقة الفينولية الأروماتية التي تحتوي على مجموعة هيدروكسيل أو أكثر مرتبطة مباشرة بمجموعة الكربوكسيل COOH أي هيكله الأساسي حمض البنزويك هذه أحماض هي شائعة جدا سواء في شكل حر أو في شكل أسترات أو جليكوسيدات، هذه الفئة هي وفيرة في النباتات والأغذية (Lee, 2005).

❖ **الاحماض المشتقة من حمض السينامك (C6- C3)**

حيث تنتشر الاحماض المشتقة من حمض السينامك بكثرة ويعتبر حمض (Ferulic) وحمض (Caffeic) الانواع الرئيسية الاكثر انتشار(ربيعي، 2016).

أما بقية الاحماض الاخرى مثل(Coumaric Acide-2) تعد الاقل تكرار ونادرا ما تكون حرة، حيث يتكون الهيكل الكربوني لهذه المجموعة من حلقة بنزينية بالإضافة الي سلسلة جانبية من ثلاثة ذرات كربون.

II-3 اهمية ودور عديدات الفينول في النبات

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

- للفينولات خصائص مضادة للفطريات ومضادة للجراثيم.
- الفينولات هي عبارة عن أصبغة ومركبات عطرية تمنح اللون للنباتات والرائحة مما تؤدي الي جذب الحشرات والطيور الملقحة.

كما يكمن دور الفينولات في مراقبة نمو تطور النباتات بطريقة مباشرة أو غير مباشرة وذلك بتشكيلها معقدات مع هرمون النمو وقد لوحظ أيضا أن الفينولات تلعب دورا في وقاية النباتات من الأمراض التي تسببها البكتيريا والفطريات، فبعض النباتات تفرز مركبات فينولية على مستوى الأوراق والجذور كمواد سامة ضد نمو النباتات الطفيلية (Maillard, 1996).

II-4 الاستعمالات العلاجية لعديدات الفينول

تستخدم عديدات الفينول بشكل متزايد في الاستعمالات العلاجية، فهي تحتوي على مكونات فعالة لعديد من الأمراض: مضادة للسرطان، مضادة للالتهابات، مضادة للفيروسات، مضادة للجراثيم، ومكافحة تصلب الشرايين، مضادة للحساسية، ومضادات للأكسدة (Athamena, 2009).

III- الفلافونويدات

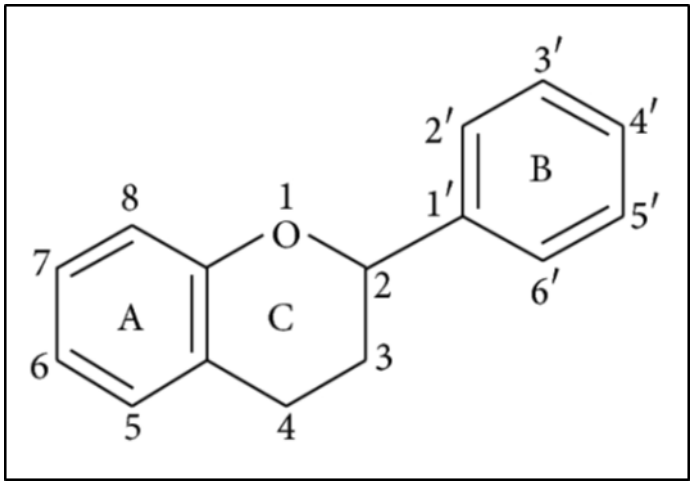
III-1 تعريف الفلافونويدات

الفلافونويدات هي عبارة عن مركبات طبيعية من نواتج الأيض الثانوي، واسعة الإنتشار في المملكة النباتية، إذ تحول النباتات نحو 2% مما تنتجه من الكربون العضوي إلى فلافونويدات ما يعادل 10 طن في العالم الواحد، وتشتق كلمة فلافونويدات من Flavus التي تعني اصفر في اللاتينية، وهو المصطلح العام لمجموعة كبيرة من المركبات الفينولية التي عرفت لأول مرة من قبل العالم "Albert Szent - gyorgyi" والذي صنفها على أساس أنها فيتامينP (آيت كاكي، 2011).

تمتاز الفلافونويدات بصفة التعدد والتنوع، بالإضافة إلى إختلاف فعاليتها البيولوجية وأثر استهلاكها لدى الإنسان، هذا ما جلب إليها إهتمام الباحثين والمخبريين في مجالات عدة خاصة في الطب والتغذية.

III-2 بنية الفلافونويدات

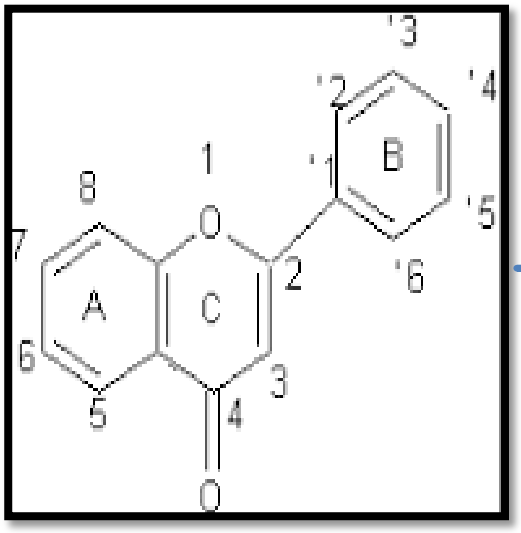
تظهر الفلافونويدات في النباتات ببنى كيميائية مختلفة، إذ تم التعرف على أكثر من 9000 فلافونويد، جميعا تشترك في الهيكل القاعدي الذي يتكون من 15 ذرة كربون، تتوزع على حلقتين عطريتين A و B ترتبطان بسلسلة من ثلاث ذرات كربون **الوثيقة (04)**، وفي غالب الأحيان الجسر الرابط بين حلقتين ليكون الحلقة البيرانية (Williams, 2004).



الوثيقة (04): البنية الكيميائية للفلافونويدات

III-3 تصنيف الفلافونويدات

تصنف حسب درجة تأكسد نواة البيرون وحسب موضع ارتباط الحلقة B بالحلقتين A وC (Harborne, 1988)، التي هي:



- الفلافونات Flavones
- الفلافانونات Flavonones
- ايزوفلافونات Isoflaves
- انثوسيانات Anthocyanidins
- الفلافونولات Flavonols

➢ **الفلافانونات (Flavonones)**

وهي مركبات التي تتكون فيها الرابطة C2-C3 في هيكل الفلافون المشبع (Saks,2006).

➢ **ايزوفلافونات (Isoflavones)**

تختلف في بنائها عن الفلافونات في موضع ارتباط الحلقة B اذ ترتبط هذه الاخيرة في الموضع رقم 3 بدلا من الموضع رقم (Sacks,2006) .

➢ **انثوسيانات (Anthocyanidins)**

الأنثوسيانات هي صبغات ذائبة في الماء، مسؤولة عن أغلب الألوان الحمراء والزرقاء والبنفسجية للفواكه والخضر والازهار (Mazza, 2004).

تظهر بشكل مركبات سكرية ترتبط أساسا في الكربون 3 للحلقة C أو في كربون 5 و 7 للحلقة A، كما أنه نادرا ما يتم اضافة سكريات على مستوى 3' و 4' و 5' للحلقة B. تتواجد هذه المركبات في بعض من الحبوب والخضار، وبكميات أكبر في الفواكه (Archivio, 2000).

➢ **الفلافونولات (Flavonols)**

تملك الفلافونولات (Flavonols) رابطة مزدوجة بين C2 و C3 مع وجود مجموعة هيدروكسيل في الكربون 3 للحلقة C وتمثل المجموعة الأكثر انتشارا في الأغذية ومن أهم أمثلتها ويعتبر البصل من أهم مصادر Flavonols أكثر من 1.2 غ/كغ من الوزن الطازج ووجد أن بناء هذه المركبات يكون محفز بواسطة الأشعة الضوئية وبذلك تكون مخزنة في الأجزاء الهوائية للفواكه (Cortell et Kemdy, 2006).

III-4 أهمية الفلافونويدات

III-4-1 بالنسبة للنبات

- يتمثل الدور الأساسي للفلافونويدات عند النبات في تلوينها، كذلك تعمل على حمايتها من الأشعة فوق البنفسجية والحشرات.
- تستعمل بعض الفلافونويدات مثل الإيزوفلافونات كمبيدات الحشرية وكمضادات حيوية.
- أما الفلافونول والفلافان تتميز بخاصية تثبيط الفطريات.
- بعض الفلافونويدات تحمي النباتات من خلال الطعم المر، الشيء الذي يؤدي بأكلات الأعشاب إلى إختيار نباتات أخرى (صحراوي، 2018).

III-4-2 بالنسبة للإنسان

حيث تم في الوقت الحاضر دراسة الخصائص العلاجية للفلافونويدات، حيث تم التعرف على العديد من الأنشطة العلاجية لها وتتمثل في:

- تقوي وتحسن أداء عضلة القلب وتقلل من مخاطر أمراض القلب.
- أثبتت الدراسات المكثفة حول الفلافونويدات متعددة الميتوكسيل أن لها فعالية ضد الخلايا السرطانية، وهذا من خلال تقوية الجهاز المناعي وذلك بمساعدته على مقاومة وتدمير الخلايا السرطان (Ferraro, 1983).

الفصل الثالث

الزيوت الأساسية

(Huiles essentielles)

I- تعريف الزيوت الأساسية (Huiles essentielles)

I-1 تعريف

الزيوت الاساسية او ما يسمى بالزيوت الايثرية او العطرية هي عبارة عن خلائط من المركبات العطرية والطيارة ذات المصدر النباتي والتي تعتبر من اهم منتجات الايض الثانوي في النبات تنتجها بعض النباتات الراقية الخاصة والمعروفة باسم النباتات العطرية والتابعة لعوائل نباتية محددة ونادرا جدا تلك التي يتم انتاجها من مصادر حيوانية او من طرف الكائنات الدقيقة (Baser et *al*., 1995)، وتتواجد الزيوت الاساسية في اكثر من 3000 نوع حيث تكون موزعة على مستوى الاجزاء الهوائية لنبات كالأزهار والاوراق والبذور والثمار. تتجمع داخل تراكيب خاصة مثل الشعيرات الغدية كما في العائلة الشفوية او القنوات الزيتية كما في العائلة الخيمية او الغدد الزيتية كما في العائلة السدبية.

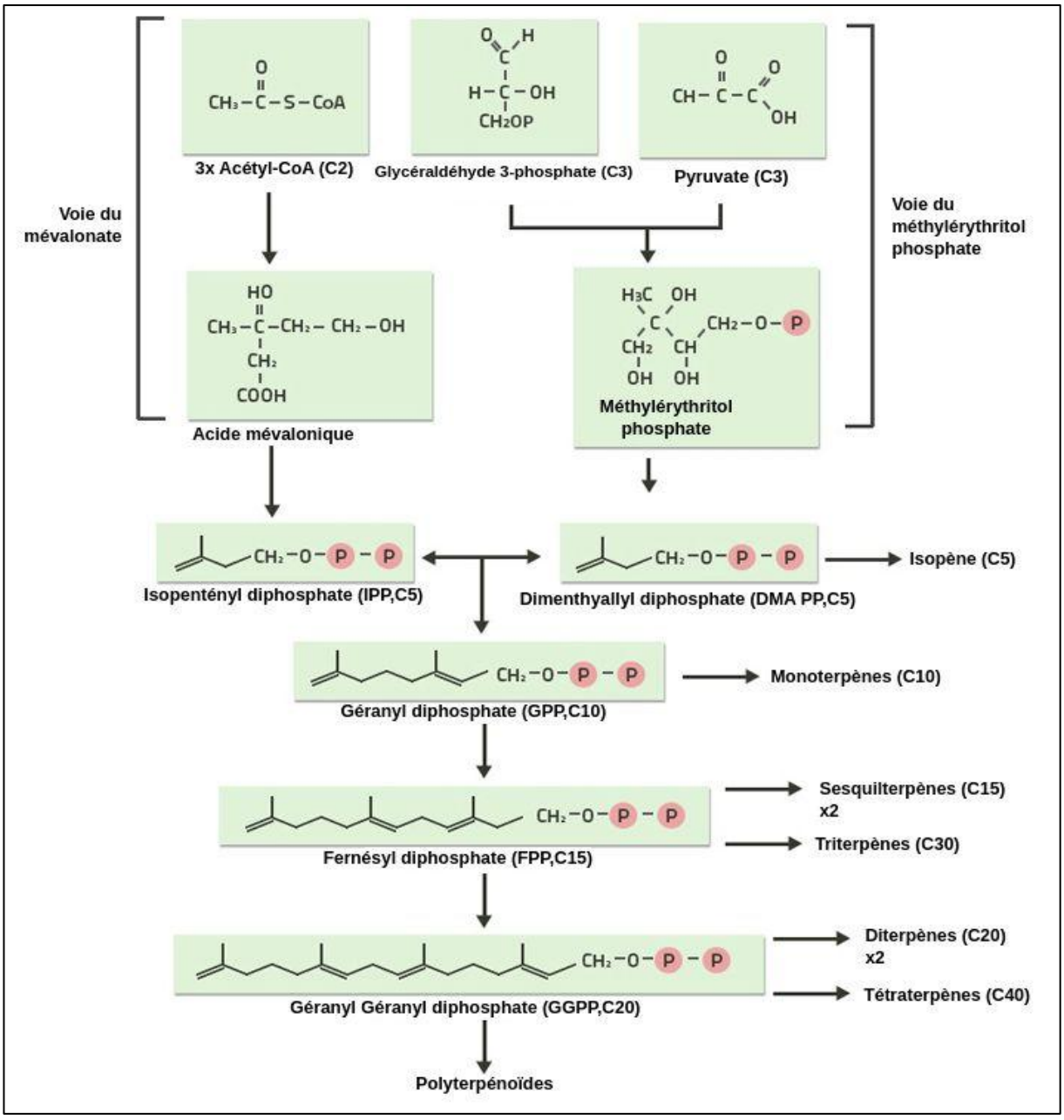
يتحصل عليها بواسطة السحب ببخار الماء او العصر على البارد (قشور الليمون) تكون معقدة ومتطايرة، كما تكون سائلة او نصف سائلة، شفافة او ملونة. مكونات الزيت العطري لا تختلف انواعها باختلاف العضو النباتي لمعظم النباتات العطرية (ابو زيد، 1992) لكن يمكن ان تعطي النباتات العطرية من نفس النوع زيوتا عطرية تختلف مميزاتها الكيميائية وذلك يرجع للظروف البيئية (Lamendin et *al*., 2004)، رغم مكوناتها المختلفة فإن الزيوت الاساسية تبدي عددا معينا من الخصائص المشتركة عموما ما تكون سوائل عند درجة الحرارة العادية، ذات رائحة قوية قليلة الذوبان في الماء، تذوب في المذيبات العضوية اللاقطبية وفي الكحولات ذات الدرجة المرتفعة (Action, Ethanol, Méthanol, DMSO) (مخدمي، 2014) تتميز الزيوت الاساسية بكثافة اقل من الماء ماعدا زيت القرنفل والقرفة.

I. -2 تخليقها

ان الزيوت الاساسية عبارة عن خليط من عدة مركبات تربينية وعطرية من مشتقات الفينيل بروبان وهما الاكثر تواجدا، واحيانا مشتقات هيدروكربونية.

يتم التخليق الحيوي للزيوت بصفة اساسية عبر مسلك Mévalonic **الوثيقة (05)**، حيث يؤدي ربط ثلاث سلاسل استيل (على شكل Acetyle COA) الى تحرير حمض ميفالونيك والذي بمجرد تنشيطه ونزع الكربوكسيل لاعطاء Pyrophosphat d'isopentenyle يمكن ان يتشابه الى Pyrophosphte de dimethyle عن طريق تكاثف جزيئتين متشابهتين يتم الحصول على Pyropha te de géranyle (C10)، يمكن ان يتحد هذا الاخير مع جزئ جديد من Pyrophsphte d'isopentényl واعطاء Pyrophosphat de farnésyle وهو Sesquiterpéne.

يمكن اضافـة وحـدة (C5) جديـدة لتكـويـن ((Ditrepénes en (C20 géranyle-géranyle pyrophosphte يمكن لجزيئتين من بيروفوسفاتفارنيزيل الارتباط لتشكيل Triterpénes (C30) وهكذا الى تشكيل Stéroides والمخطط التالي يوضح ذلك:



الوثيقة (05): مخطط يوضح كيفية تخليق الزيوت الأساسية

I-3 تواجدها

تنتشر الزيوت في بعض الفصائل النباتية الشائعة والمحددة مثل العائلة الخيمية (Apiaceae)، الشـــفوية (Lamiaceae)، الســـدبية (Rutaceae)، الميرتاســـية (Myrtaceae) ، الزنجبيليـــة (Zingiberaceae) ....الخ، حيث تتميز هده النباتات باحتوائها على بنية نسيجية خاصة لها القدرة على تجميع الزيت والتي يمكن ان توجد على البشرة الخارجية على شكل شعيرات افرازية كما في العائلة الشفوية، كما توجد داخل الانسجة المختلفة لبعض النباتات على شكل جيوب افرازية كما يمكن ان تكون على شكل قنوات افرازية كما هو الحال عند العائلة الخيمية او على شكل خلايا معزولة موجودة تحت البشرة في نباتات العائلة اللوراسية (Bruneton, 1999).

I-4 طرق استخلاص الزيوت الاساسية

I-4-1 التقطير

تستخرج الزيوت العطرية في معظم النباتات بهذه الطريقة وتتم عن طريق تبخير الزيت الاساسي باستخدام الحرارة وبالتالي يمكن فصلها عن باقي مكونات النبات الاخرى (Benjilali, 2004) و (ابو زيد، 2000)، يتم تكثيف الزيت عن طريق خفض الحرارة فيتحول من حالة الغازية الى السائلة لا يذوب في الماء فيسهل فصله وكلما انخفضت درجة حرارة التقطير كلما امكن الحصول على زيت على درجة عالية من الجودة والمواصفات الطبيعية والكيميائية بالإضافة لقلة التكاليف وللتقطير طريقتين هما:

- **طريقة التقطير المائي**

يغمر النبات في الماء في دورق او اناء معدني ويتم التسخين اما بواسطة النار مباشرة او ان يتم التسخين في حمام مائي حتى يمنع احتراق اجزاء النبات الملامسة للجدران، هذه الطريقة خاصة بالنباتات التي تتحمل الغليان والمجففة جزئيا والتي تحتوي على نسبة عالية من الزيت (ابو زيد، 2000).

- **طريقة التقطير بالبخار**

توضع النباتات في اوعية شبكية بطريقة تسمح لبخار الماء ان يتخللها ويستخلص منها الزيوت الطيارة فيحملها الى انابيب التكثيف فتحول الى الحالة السائلة وتنفصل عن الماء بسهولة، يفضل ان تكسر المادة النباتية الى اجزاء صغيرة حيث يمكن ان يتخللها الماء وتجمع اكبر مقدار من الزيت الطيار يمكن استعمال هده الطريقة مع جميع النباتات التي تحتوي على زيوت طيارة وتتحمل درجات حرارة عالية (Meyer-wornod,1984).

I-4-2 الاستخلاص باستعمال المذيبات

تعتبر هده الطريقة حديثة العهد استعمالا، سهلة التنفيذ وواسعة الانتشار لدى شركات الخلاصات الغذائية وتتم باستعمال المذيبات العضوية مثل الهكسان، البترول الايثيري، البنزين ورابع كلورور الكربون، الا أن الهكسان هو المفضل والاكثر شيوعا حيث تغمس الازهار الطازجة أو الأعضاء النباتية في المذيب العضوي مع الرج الجيد لعدة ساعات بعدها تجمع مستخلصات المذيب، ترشح ثم يبخر المرشح فوق حمام مائي تحت ضغط منخفض والراسب المتبقي عبارة عن عجينة الزيت العطري الخام يتم التخلص من المواد الدهنية والشموع النباتية بإضافة الكحول الدي يرشح ثانية والرشاحة الاخيرة تبخر فوق حمام مائي لنحصل اخيرا على الزيت العطري حرا (Bruneton,1999).

I-4-3 الاستخلاص بالعصر الهيدروليكي او الضغط

وتتم هده الطريقة بالضغط على العضو النباتي والانتاج المباشر للزيت اما عن طريق العصر اليدوي او باستعمال أجهزة العصر الميكانيكي لأن التراكيب الزيتية تتركز مواقعها على شكل غدد زيتية في طبقات القشرة أو في أكياس داخل فصوص العصيرية وهي طريقة تحافظ على الصفات الطبيعية للزيت الطيار دون حدوث اي فقدان لمكوناته الكيميائية (Bruneton,1999).

I-5 أهمية الزيوت العطرية

لم تعرف لحد الأن الفائدة الحقيقة من الزيوت الأساسية المفرزة من طرف النبات الا أن هده الاخيرة تستفيد منها بيولوجيا من حيث المساعدة في جدب الحشرات الحقلية الى ازهارها لزيادة التلقيح الخلطي بها، كما أنها تساهم في التخلص من الأوراق العائل بواسطة يرقات بعض الحشرات التي تبيض على تلك الأوراق وطرد بعض الحشرات والحيوانات لتفادي الضرر الذي تسببه لنبات وتثبط نمو الأعشاب الضارة كما تعد الزيوت الاساسية من أهم العوامل المقاومة للفطريات والبكتيريا والتي تستهدف بعض الأنواع النباتية وتساعد على التئام جروح النبات كما لها دور في مجال التفاعلات النباتية حيث تعمل على كبح الانتاش أو مقاومة المواد السامة بيولوجيا لبعض المركبات الناتجة عن عمليات الهدم الكيمائي (الأسود وعدايكة، 2015).

I-6 الخواص الفيزيائية والكيميائية

I-6-1 الخواص الفيزيائية

ويطلق عليها اسم الثوابت الطبيعية أو الفيزيائية لزيوت الطيارة والمتمثلة في ما يلي:

- **الرائحة**

أغلب الزيوت العطرية تتميز برائحتها العطرة ونكهتها العذبة وذلك يعود الى احتوائها على بعض المركبات ذات الأوزان الجزيئية الصغيرة المتطايرة سريعا عند درجات الحرارة العادية (الشحات نصر،1995)

- **اللون**

تختلف الزيوت الطيارة في درجة الوانها الطبيعية بعد استخلاصها أما أن تكون عديمة اللون أو صفراء باهتة أو صفراء خفيفة أو صفراء مخضرة أو بنية مصفرة (الشحات نصر، 1995)، ونادرا زرقاء كما في حالة زيت البابونج.

- **التطاير**

تتميز الزيوت العطرية بتطايرها أو تبخرها في درجة الحرارة العادية عدا القليل منها الذي لا يتطاير كما في حالة زيت الليمون لاحتوائه على بعض المركبات غير متطايرة وهو ما يميزها عن الزيوت الثابتة.

- **الذوبان**

لا تذوب في الماء أو قلة الذوبان فيه بل تطفو فوق سطحه لقلة كثافتها النوعية عن كثافة الماء وتتراوح كثافتها النوعية بين 0.75-0.99 قابلة للذوبان بشدة في الايثر الكلوروفورم، الكحولات، في الزيوت الثابتة وفي معظم المذيبات العضوية (اسماعيلي، 2015).

- **النوعية**

معظم الزيوت العطرية تعتبر سائلة تحت درجة حرارة العادية والقليل منها أما ان تتصلب او تتجمد عند تعرضها لدرجات الحرارة المنخفضة (8-5م) أو تنصهر تحت ظروف درجات الحرارة المرتفعة (19-17م) كما يمكنها الترسب على شكل بلورات صلبة عند تعرض الزيت لدرجة حرارة منخفضة جدا (6-5م)(مخدمي، 2014).

- **الكثافة**

تختلف الزيوت الطيارة باختلاف مصادرها النباتية و معظم الزيوت العطرية كثافتها اقل من الماء، مما يعمل على طفو الزيت العطري فوق سطح الماء، "عدا زيت القرنفل والقرفة" .

I-6-2 الخواص الكيميائية

من اهم الخصائص الكيميائية للزيوت الطيارة ما يلي:

- **رقم الحموضة**

وهو عبارة عن عدد المليغرامات من ايدروكسيد البوتاسيوم للازمة لمعادلة الاحماض العضوية والذهنية في غرام واحد من الزيت الأساسي.

يختلف رقم الحموضة من زيت عطري لأخر وذلك باختلاف المصدر والنوع النباتي والأعضاء المأخوذ منها (الشحات، 1995).

- **رقم الاستر**

وهو عدد مليغرامات هيدروكسيد البوتاسيوم اللازمة لتصبن غرام واحد من الزيت المتعادل (جليسيريد الثلاثي) الخالي من الاحماض الذهنية.

تختلف قيم الأستر في الزيت الاساسي تبعا لنوع النباتي واعضاء المختلفة (بوقوادة، 2007).

- **رقم التصبن**

عبارة عن عدد مليغرامات من ايدروكسيد البوتاسيوم اللازمة لمعادلة الاحماض الذهنية غرام واحد، تحتوي الزيوت العطرية على احماض الذهنية منخفضة المستوى على عكس الزيوت الثابتة.

تتميز الزيوت الاساسية بانخفاض رقم التصبن تبعا للمصدر النباتي (الشحات، 1995; بوقوادة، 2007).

I-7 استخدامات الزيوت الاساسية

الزيوت الطبيعية ذات أهمية كبيرة لكثير من المجالات من بينها:

I-7-1 صناعة عطور التجميل

تشكل بعض الزيوت الاساسية العديد من العطور ذات الاصل الطبيعي فمن بينها (الورد، الياسمين.... الخ) (Paris et Hurabielle, 1981).

يعمل زيت النعناع على التحكم في الافرازات الذهنية ومحاربة حب الشباب.

I-7-2 التغذية

تدخل الزيوت الاساسية في مجال تغذية وذلك بإعطاء النكهة والمذاق للأطعمة من بينها "زيت الليمون والنعناع والقرنفل"، وكدلك في منتجات الألبان، كمواد حافظة ومضادة للجراثيم والميكروبات والأكسدة.

I-7-3 الزراعة

- تدخل الزيوت الاساسية في مجال الزراعة كمواد فعالة لتصنيع مبيدات زراعية لمكافحة الامراض والآفات الحشرية.
- تحافظ على الرطوبة الكافية لحياة النبات في المناخ الصحراوي.
- تستخدم كمواد طاردة او قاتلة للآفات الفطرية والبكتيريا المسببة للأمراض النباتية (CH.Ourtda, 2012).

I-7-4 الطب والصيدلة

- كمواد فعالة مضادة للجراثيم الممرضة او كمواد مساعدة للمادة الفعالة او كمكسبات للطعم والنكهة في الكثير من الادوية
- تستخدم كمهدئات ومسكنات للألم حيث أشار (Lamandin et *al.*, 2004)، أن مغلي البابونج Camomille استعمل كمهدئ واستخدم الزيت الاساسي له كمضاد للالتهاب وكمسكن للجهاز العصبي.
- أكدت بعض الدراسات ان للزيوت الاساسية خاصية ضد التأكسدية (Delfine et *al.*, 2005).
- تدخل معظم الزيوت في علاج عدة أمراض كأمراض الصدر والتخفيف من التشنجات العصبية والأمراض التنفسية وكذلك تقوية المناعة وألام الروماتيزم والعين، كما أنها تعتبر مضادة للالتهابات والتعفن (ايت كاكي، 2011).

الجزء التطبيقي

الفصل الأول

المواد والطرق المستعملة

I- في الميدان

I-1 الموقع الجغرافي لولاية وادي سوف

تقع منطقة وادي سوف في الجنوب الشرقي للعاصمة الجزائرية، على بعد 510 km^2، بين خطي عرض7-33 شمالا وخطي طول 7-11 شرقا، وتبلغ مساحتها 82.800 km^2.

تنتهي حدودها الشمالية عند الخطوط المالحة, والجنوبية بالكثبان الرملية الحمراء لولاية ورقلة، أما الحدود الشرقية فتصل الى الشطوط المالحة لتونس أما غربا فتنتهي عند الأراضي المنبسطة لمنطقة وادي ريغ ومنطقة تقرت (Nadjah, 1971).

يسود منطقة وادي سوف مناخ جاف يتميز بدرجة حرارة عالية في فصل الصيف، ومنخفضة في فصل الشتاء.

I-2 جني المادة النباتية المدروسة

في هذه الدراسة تم جمع أوراق وأزهار نبات الزيتة (*Limoniastrum guyonianum*)، خلال شهر جوان 2022 من بلدية الطالب العربي **(الوثيقة 06)**، بلدية حدودية من بلديات الوادي، تقع في الشمال الشرقي من عاصمة الولاية، اسمها السابق بلدية بوعروة ثم غير اسمها الى اسم شهيد الثورة الطالب العربي قمودي، وتعتبر واجهة دولة الجزائر، وفي الوثيقة أدناه يوضح الموقع الجغرافي للمنطقة.

الوثيقة (06): الموقع الجغرافي لمنطقة الطالب العربي مكان جلب العينة (Google Earth, 2023)

I-3 الأدوات والطرق المستعملة في تحضير عينة النبات المدروس

تلخص **الوثيقة (07)** خطوات تحضير المادة النباتية كالتالي:

1- القطف

مقص، أكياس	قمنا بجمع الجزء الهوائي لنبات الزيتة

2- التجفيف

ماء، حوض	بعد الجمع نقوم بغسل النبات بماء الحنفية لإزالة الشوائب والعوالق	**الغسل**
شفرة حادة	بواسطة الشفرة نقوم بتجزئة النبات لتسهيل وتسريع عملية التجفيف	**التجزئة**
قطع قماش	على القماش أو الكرتون وبعيدا عن الشمس والرطوبة والغبار عند درجة حرارة الغرفة	**النشر**

3- الطحن

بواسطة آلة الطحن الكهربائية

4- الحفظ

في علب زجاجية عاتمة محكمة الغلق، وبعيدا عن الرطوبة

الوثيقة (07): مخطط يوضح خطوات تحضير العينة النباتية

II- في المخبر

II-1 الأدوات والمحاليل والأجهزة المستعملة

استعملت هذه الأدوات والمحاليل والأجهزة **الجدول (02)، (03)، (04)، (05)، (06)، (07)، (08)** عند استخلاص الزيت الأساسي وتحضير المستخلص النباتي لنبات الزيتة، وللتقدير الكمي للفينولات والفلافونويدات، ومن أجل اختبار النشاطية المضادة للأكسدة والمضادة للأحياء الدقيقة.

الجدول (02): يبين الأدوات والمحاليل والأجهزة اللازمة لاستخلاص الزيت الأساسي

الأدوات	المحاليل	الأجهزة	المواد البيولوجية
- بيشر مدرج - أنبوب مدرج - أوراق ألمنيوم - قارورة Flacon	- ماء مقطر - محلول الهكسان	- ميزان رقمي -جهاز التقطير Clevenger	- أوراق وأزهار نبات الزيتة (*L. guyonianum*)

الجدول (03): يبين الأدوات والمحاليل والأجهزة اللازمة لتحضير المستخلص النباتي الخام

الأدوات	المحاليل	الأجهزة	المواد البيولوجية
- أحواض زجاجية - حوجلة، دورق - مخبار مدرج - بيشر، ملعقة Spatule - قارورات عاتمة - أوراق ترشيح سميكة	- ميثانول	-جهاز Soxhlet - جهاز المخبر الدوراني Rota vapeur - حاضنة Etuve - ميزان رقمي	-المادة النباتية (الزيتة)

الجدول (04): يوضح لوازم التقدير الكمي للفينولات

الأدوات	المحاليل	الأجهزة	المواد
- بيشر، حوجلة - أنبوب مدرج - أنابيب اختبار	- ماء مقطر - كاشف folin ciocalteau	- ميزان حساس - جهاز المطيافية الضوئية	- مسحوق حمض الغاليك - مسحوق كربونات الصوديوم Na_2CO_3

- حامل أنابيب الاختبار - أوراق الألمنيوم - Micropipette - Les Cuves - ملعقة Spatule	- المستخلص النباتي	Spectrophotomètre	

الجدول (05): مستلزمات التقدير الكمي للفلافونويدات

الأدوات	المحاليل	الأجهزة	المواد
- بيشر - أنبوب مدرج - أنابيب اختبار - حامل الأنابيب اختبار - Micropipette - les cuves - ملعقة Spatule - أوراق الألمنيوم	- ماء مقطر - ميثانول - المستخلص النباتي	- ميزان حساس - جهـــاز المطيافيـــة الضوئية	- مسحوق الكرستين - نترات الألمنيوم

الجدول (06): مستلزمات تحضير محلول الDPPH

الأدوات	المحاليل	الأجهزة	المواد
- قارورة Flacon - بيشر مدرج، ملعقة	- ميثانول	- ميزان حساس Agitateur - مخلاط مغناطيسي	- مسـحوق جـدر الحـر DPPH$^{\bullet}$

الجدول (07): مستلزمات اختبار النشاطية المضادة للأكسدة للزيت الأساسي والمستخلص الايثانولي

الأدوات	المحاليل	الأجهزة	المواد
- أنابيب اختبار - حامل الأنابيب اختبار	- ماء مقطر - المستخلص النباتي	- جهـاز المطيافيـة الضـوئية (Spectrophotomètres)	- حمـــض الأسكوربيك

- مكعبات (Les cuves) - ماصـــــة صـــــغيرة (Micropipette) - بيشر مدرج - ملعقة	(Les extraits de plante) - محلول DMSO - محلول DPPH		

الجدول (08): مستلزمات اختبار النشاطية المضادة للبكتيريا

الأدوات	المحاليل	الأجهزة	المواد
- بيشر - أطباق بيتري - ماسح قطني - مسطرة مدرجة - Pipette Pasteur - micropipette - أقراص صغيرة معقمة	- ماء مقطر - وسط مغذي الجيلوز - مستخلص نباتي	- ميزان حساس - موقد بنزن - حاضنة (Etuve) - autoclave - مخـــــلاط مغناطيســـــي (Agitateur)	- Muller Hinton

II- الطرق المستخدمة في الدراسة

II-1 المادة النباتية

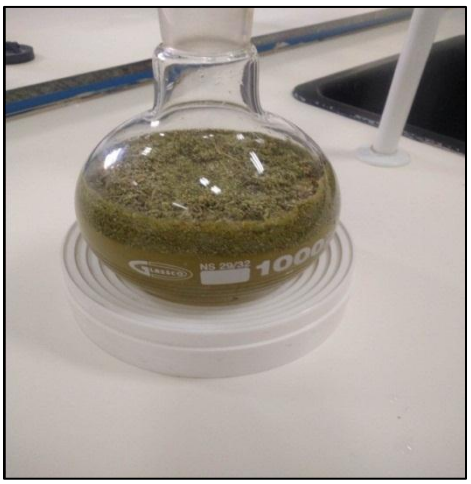
نقوم بطحن مقدار 250g من نبات الزيتة بواسطة آلة الطحن الكهربائية، ومن الأفضل تركها خشنة قليلا، ثم نقسمها الى وزنان مختلفان وذلك من أجل عملية استخلاص الزيت الأساسي، وتحضير المستخلص الايثانولي.

II-1-1 استخلاص الزيت الاساسي للنبتة

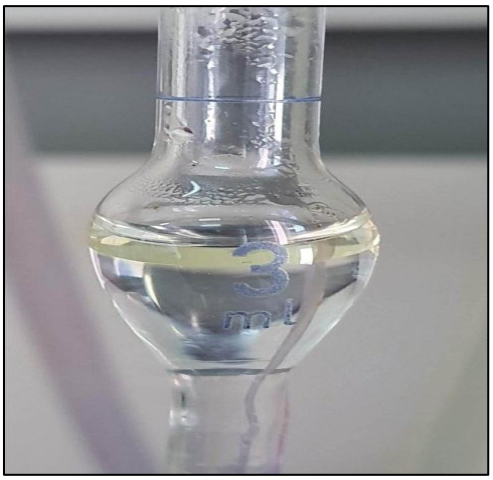
تم استخلاص الزيت الاساسي باستعمال جهاز التقطير المائي يدعى جهاز كليفنجر **الوثيقة (08)**، حيث يعتمد التقطير المائي على قدرة بخار الماء حمل الزيت العطري للنبات، بعد طحن النبات باستعمال جهاز هاون يوضع 50g في دورق زجاجي به 700ml ماء مقطر **الوثيقة (09)**، يملأ ثلثين من حجم

الدورق على الاكثر وذلك لتجنب فوران الخليط بتأثير المنبع الحراري يغلي الماء المقطر ويتبخر حاملا معه الزيت الاساسي فينتقل عبر انبوبة تمر عبر جهاز التبريد الذي يعمل على تكثيف الماء المشبع بالزيت، فتتكون قطرات صغيرة وتتراكم في انبوب به ماء مقطر، يبقى الزيت طافيا فوق الماء وهذا يرجع لفرق الكثافة بين الماء والزيت **الوثيقة (10)**، تستغرق عملية التقطير 3 ساعات يوميا لمدة ثلاثة ايام على التوالي يجمع الزيت الاساسي في قارورة معتمة زجاجية تحفظ القارورة بعيدا عن الضوء والحرارة في درجة حرارة تتراوح بين 0-4°.

الوثيقة (08): جهاز التقطير المائي كليفنجر



الوثيقة (09): دورق به ماء + نبات



الوثيقة (10): صورة توضح الزيت الأساسي لنبات *L. guyonianum*

2-1-II تحضير المستخلص النباتي

تمت عملية الاستخلاص باستعمال جهاز السوكسلي، حيث تم الحصول على المستخلص النباتي بمذيب الايثانول، وفيما يلي التعريف بالجهاز ومبدأ العمل.

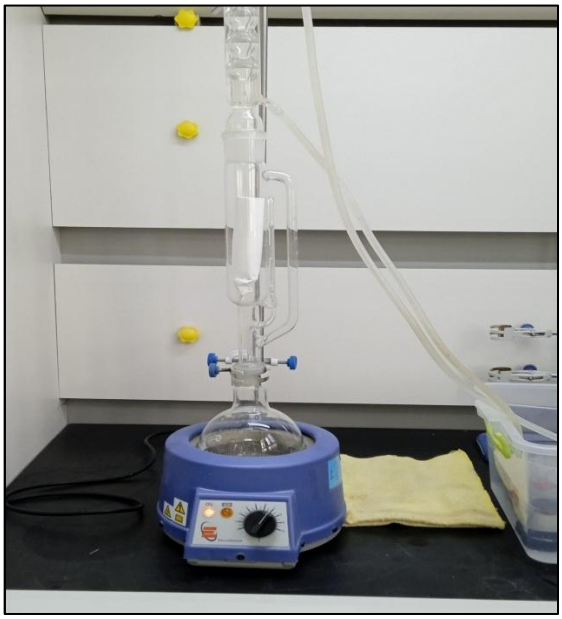
- **الاستخلاص باستعمال جهاز السوكسلي**

السوكسلي هو جهاز معملي اخترعه فرانزفونسوكسلت عام 1879، ولكن السوكسلت ليس محدودا باستخلاص الليبيدات من المواد الصلبة، عادة ما يكون السوكسلت مطلوبا فقط في حالة المركب المرغوب محدود الذوبانية في المذيب والشوائب غير ذائبة في هذا المذيب (عسيلة، 2017).

الاستخلاص بجهاز (Soxhlet) الموضح في **الوثيقة (11)** هو طريقة بسيطة ومريحة لتكرار دورة الاستخلاص المستمر بالمذيب حتى يتم استنفاد المذاب في المواد الخام تماما (بوليف وعثمان، 2020).

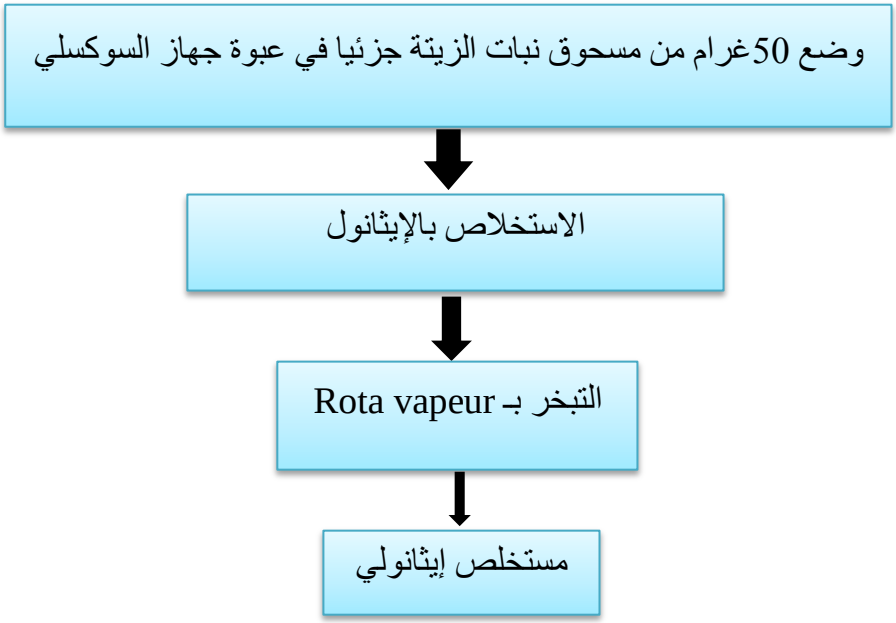
توضع 20 غرام من المادة النباتية المسحوقة جزئيا في عبوة جهاز الاستخلاص (Cartouches)، ثم ادخال العبوة في الغرفة الرئيسية للجهاز، ونوصلها بالحوجلة كروية بها 350 مل من الايثانول، وفي الأخير يوضع السوكسلي فوق السخان الكهربائي الذي يتم ضبطه على درجة غليان المذيب، يترك الجهاز يعمل حوالي 4 سا الى 5 ساعات.

يتم التخلص من الايثانول بعد الاستخلاص عن طريق جهاز التبخير الدوارني (Rota vapeur) الموضح في **الوثيقة (12)**، للحصول على المستخلص الخام الذي يجفف بواسطة الحضن في جهاز الحاضنة Etuve لمدة 3 أيام على درجة حرارة 40°C للحصول على مستخلص نباتي خالي من المذيب ويتم جمع المستخلص النباتي في قارورة زجاجية مظلمة **الوثيقة (13)**.



الوثيقة (11): جهاز السوكسلي Soxhlet

الوثيقة (12): جهاز Rota vapeur



الوثيقة (13): مخطط يوضح خطوات الاستخلاص لنبات الزيتة باستعمال جهاز السوكسلي Soxhlet

2-II تقدير نسبة المردود

هي عبارة عن حاصل قسمة بين كتلة المستخلص النباتي على كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة في الاستخلاص وتقدر حسب (Gettaf et *al.*, 2016) بالعلاقة التالية:

المردود % = (كتلة المستخلص النباتي/كتلة المادة النباتية الابتدائية الجافة) × 100

3-II التقدير الكمي للمركبات

1-3-II تقدير المحتوى الفينولي

تم تقدير المحتوى الفينولي بإتباع طريقة (Slinkard et Singleton, 1977) وباستعمال الكاشف اللوني Folin-ciocalteu.

في انبوب اختبار يوضع 0.2ml من المستخلص (اذابة 1مغ من المستخلص في 1مغ ميثانول) بعدها اضافة 1مل من الكاشف Folin-ciocalteu ثم يضاف 0.8 ml من كربونات الصوديوم Na_2CO_3 (7.5%)، يوضع المزيج في الظلام لمدة 40 دقيقة ثم نقرأ على جهاز المطياف على طول موجة 765 nm.

ولتحضير المنحنى القياسي نستعمل حمض الغاليك Acide gallique وكذا معادلة المنحنى الخطي حيث قمنا بتحضير سلسلة مختلفة من تراكيز على التوالي (0.5 µg/ml ;0.25 µg/ml ;0.125 µg/ml ; 0.0625µg/ml) ثم اضافة 1ml من الكاشف ثم ننتظر 5 دقائق بعدها اضافة 0.8 ml من كربونات

الصوديوم، يوضع المزيج في الظلام لمدة 40 دقيقة ثم نقرا على جهاز المطياف على طول موجة 765nm، واعتمادا على المعادلة المتحصل عليها من الرسم البياني تمكنا من قياس النسبة الفينولية.

II-3-2 المحتوى الكمي للفلافونويدات

تم تقدير المحتوى الكمي للفلافونويدات باستعمال الكاشف $ALNO_3$ والموضحة عند (Arvouet-Grand et *al*., 1994).

نقوم بأخذ 250µl من المستخلص (1مغ من المستخلص في 1 مل ميثانول) يضيف لها 250µl ميثانول مع 100µl من استات البوتاسيوم 100µl من نترات الالمنيوم، ترج الانابيب وتحضن لمدة 40 دقيقة ثم نقرأ الامتصاصية بواسطة جهاز Spectrophotomètre على طول موجة 415nm.

ونستعمل الكرستين لتحضير منحنى القياسي وكدا معادلة المنحى الخطي، حيث قمنا بتحضير سلسلة من التراكيز المختلفة على التوالي (0.015/0.031/0.625/0.125/0.25/0.5) .

II-4 تقدير النشاطية البيولوجية

لغرض تقدير الفعل التثبيطي المضاد للأكسدة للمستخلص النباتي والزيت الأساسي تم استعمال اختبار DPPH واختبار النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة.

II-4-1 دراسة الفعالية المضادة للأكسدة

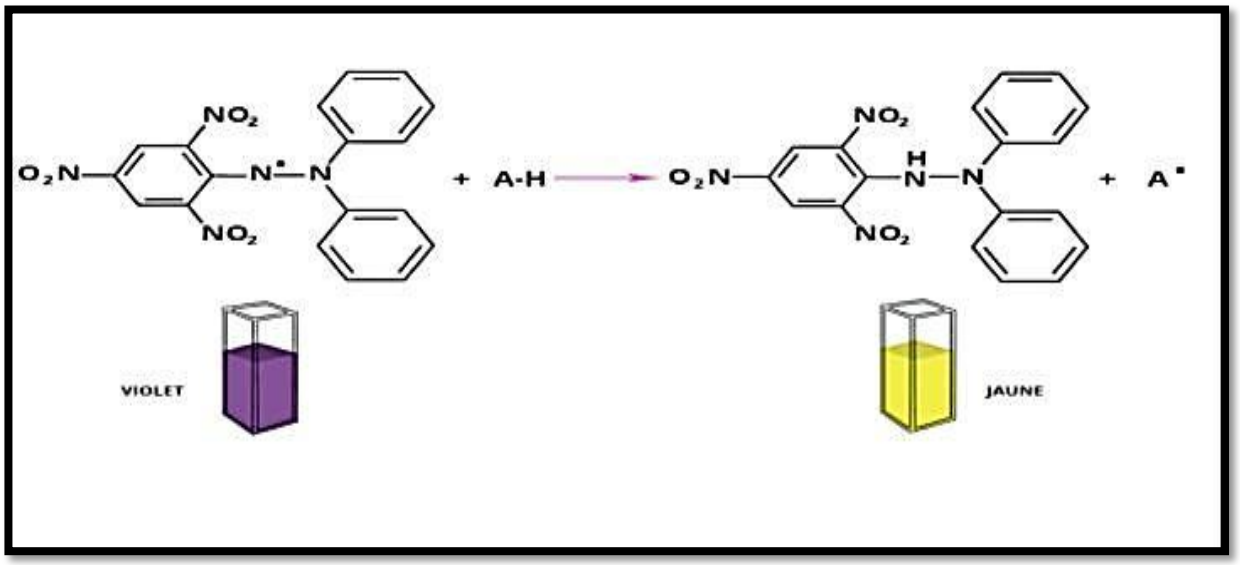
هي قياس لقدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذر الحر أو توقيف عملية الأكسدة، تقدر الفعالية المضادة للأكسدة بعدة طرق التي من بينها FRAP, TRAP, DPPH, ABTS, PR, PM, OH وO2، وفي دراستنا هذه قمنا باختبار الأسر الجذري ($DPPH^{\bullet}$).

- **اختبار الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$**

هو اختبار مضاد للجذور الحرة وقد سبق تعريفه من 50 سنة ماضية من طرف العالم Blois سنة 1958 بجامعة ستانفورد (Molyneux, 2004)، ولقد اعتمد في ذلك على توضيح بعض الحسابات الخاصة بمضادات الأكسدة. وفي السنوات الأخيرة تم تطبيق هذه الطريقة على نطاق واسع لتقدير النشاط المضاد للأكسدة، نظرا للخصائص التي تتميز بها بسيطة وسريعة (بلفار، 2018).

هذا الاختبار يعتمد على تثبيط الجذر ($DPPH^{\bullet}$، ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل) المستقر ذو اللون البنفسجي، هذا الاستقرار ناتج عن تمركز الالكترون الحر على مستوي الجزيء، حيث يتفاعل مع جزيئة مضادة للجذور الحرة ويتحول الى جزيئة (DPPH-H) وهي مادة صلبة غير جذرية ذات اللون الأصفر **الوثيقة (14)**، يتبع ذلك نقصان الامتصاصية عند طول الموجة الأعظمية عند 517nm والمذيب المستعمل هنا هو الميثانول. المركب المراد اختباره يضاف ال محلول DPPH المحضر، بعد مدة 30 دقيقة، يتم قياس الامتصاصية الضوئية بجهاز Spectrophotomètre عند الطول الموجي 517 nm (حمودي وشنوف، 2021)، وتحدد قدرة مضادات الجذور الحرة بعبارة كمية حسابية انطلاقا من نسب التثبيط المئوي بدلالة

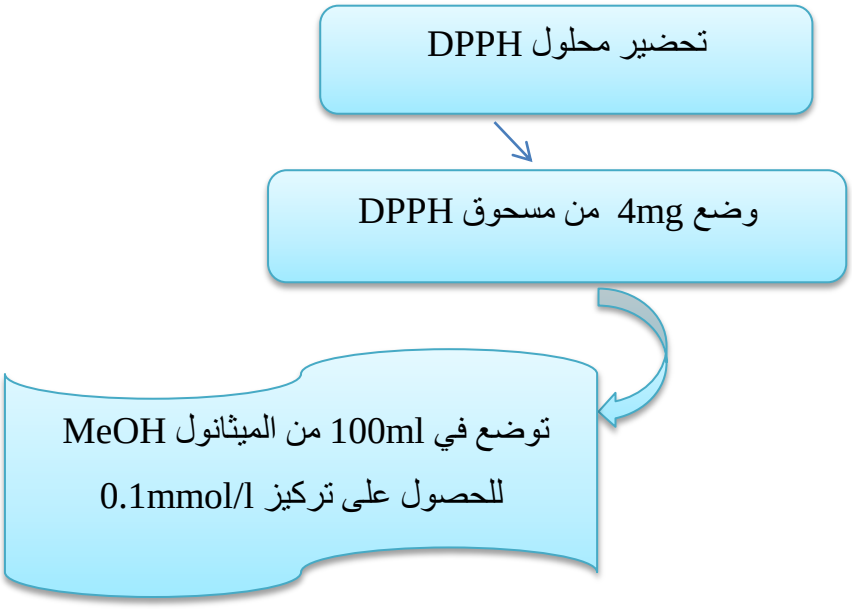
تركيز المحلول، النتيجة نعبر عنها ب IC_{50}، والتي تعرف بأنها كمية مضادات الأكسدة اللازمة لتثبيط 50% من الجذر $DPPH^{\bullet}$ (بلفار، 2018).



الوثيقة (14): معادلة تثبيط جذر ال$DPPH^{\bullet}$ في وجود مضادات الأكسدة

➢ **تحضير محلول DPPH**

كما هو موضح في **الوثيقة (15)** نقوم بإذابة 4mg (DPPH) في 100ml من الميثانول، ثم يتم وضعه في مخلاط مغناطيسي Agitateur **الوثيقة (16)** مع الرج لمدة 15 دقيقة للحصول على محلول الDPPH ذو التركيز 0.1mmol/l.

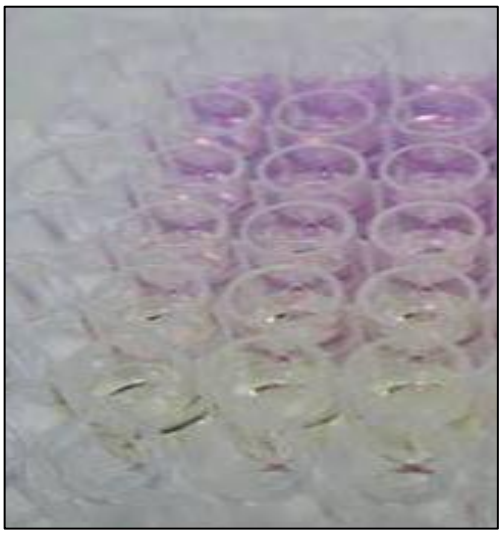


الوثيقة (15): مخطط يوضح كيفية تحضير الDPPH

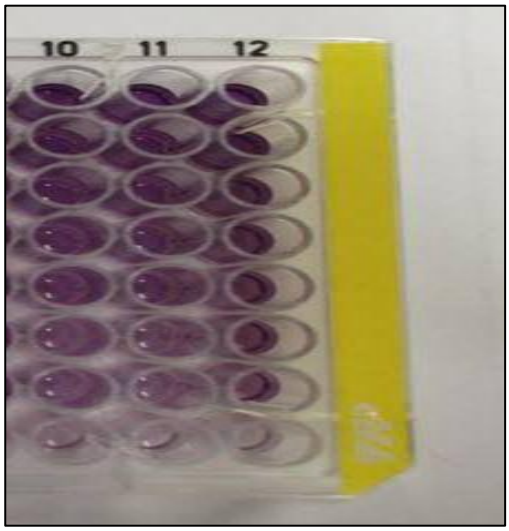
الوثيقة (16): محلول الDPPH في جهاز الرج Agitateur

➢ **تحضير سلسلة التراكيز**

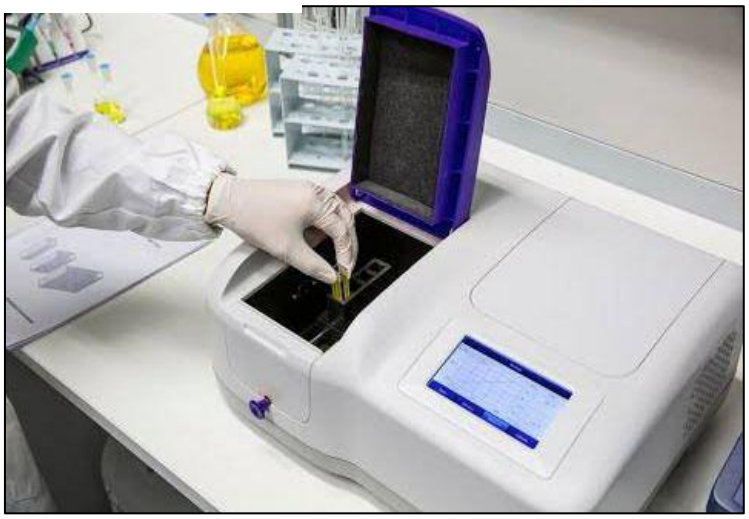
- نقوم بتحضير مركز المستخلص الخام (اذابة 1mg من المستخلص في 1ml من الميثانول)، انطلاقا من هذا التركيز يتم تحضير تراكيز مخففة من المستخلص النباتي.
- تضاف 200µl من كل تركيز الى 800µl من محلول الDPPH (3 تكرارات) **الوثيقة (18)**، بعد ترك المزيج في الظلام لمدة 30 دقيقة نقوم بقراءة الامتصاصية عند طول الموجة 517nm **الوثيقة (19)**.
- بنفس طريقة العمل نقوم بالاختبار على الزيت الأساسي **الوثيقة (17)**.



الوثيقة (18): سلسلة تراكيز لمحلول الDPPH والمستخلص الايثانولي



الوثيقة (17): سلسلة تراكيز لمحلول الDPPH والزيت الأساسي



الوثيقة (19): صورة لجهاز قياس الامتصاصية الضوئية (Spectrophotomètre)

بعد قراءة النتائج الخاصة بالامتصاصية الضوئية، نقوم بحساب نسبة تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ للتراكيز المدروسة وفقا للعلاقة التالية:

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

حيث:

I%: نسبة تثبيط الجذر الحر

A_0: الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلص بعد 30 دقيقة

A_i: الامتصاصية الضوئية للجذر الحر مع المستخلص النباتي

➢ **تحديد مقدار IC_{50}**

يعرف هذا المقدار على أنه تركيز المستخلص اللازم لتثبيط أو كبح 50% من DPPH• والذي يحسب من خلال المعادلة الخطية لمنحنيات تغيير نسبة التثبيط (I%) بدلالة تركيز المستخلصات (بلقاس، 2017).

II-4-2 دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا

الهدف من هذه الدراسة هو معرفة تأثير الزيت الأساسي والمستخلص الميثانولي لنبات الزيتة على بعض الأنواع البكتيرية، أي اختبار حساسية البكتيريا للمستخلصات النباتية، وهذا بتطبيقها على ثلاثة سلالات بكتيرية ممرضة، والتي تم الحصول عليها من معهد باستور بالجزائر العاصمة.

➢ **تعريف البكتيريا**

هي مجموعة من الأحياء الدقيقة المجهرية، تقاس أبعادها بالميكرون، تكون على عدة أشكال منها الكروية والعصوية، منها النافعة ومنها الضارة التي تسبب الأمراض والأوبئة، تتواجد في كل من التربة، الماء، الهواء، الأغذية وتكون أيضا على سطح الجلد والأغشية المخاطية وداخل القناة الهضمية والجهاز التنفسي (الأسود وعدايكة، 2017)، تسبب بعض الأمراض كالتيفوس وحمى الخنادق للإنسان والحيوان (بلفار، 2018)، والبكتيريا التي اختيرت للدراسة موضحة في **الجدول (09)** كالتالي:

الجدول (09): الأنواع البكتيرية المستعملة

الرمز	الصنف	الاسم العلمي
Sa	Gram+	*Staphylococcus aureus* ATCC25923
Pa	Gram-	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853
Ec	Gram-	*Escherichia coli* ATCC25922

➢ **الأنواع البكتيرية المستعملة في الدراسة**

- ***Staphylococcus aureus***

هي بكتيريا موجبة الغرام، كروية الشكل (الشيب، 2009)، قطرها حوالي 1µm غير متحركة ترتبط في مجموعات على شكل عنقود عنب، توجد في الانسان الا أنها تسبب العديد من الأمراض كالتهاب الجلد، التهاب الأذن الوسطى، تسمم الدم، وهي أيضا مسؤولة عن التسمم الغذائي (Beli et *al.*, 2014).

- ***Pseudomonas aeruginosa***

هي بكتيريا عصوية كروية سالبة الغرام، كثيرة الحركة وهوائية تنتمي الى عائلة Pseudomonaceae (Lambert, 2002)، تشكل كتل حيوية (Bio film) على الأسطح الرطبة، تنمو في التربة والمستنقعات وكذلك في النبات والأنسجة الحيوانية (Stover et *al*., 2000).

- ***Escherichia coli***

هي بكتيريا اختيارية سالبة الغرام، تنتمي الى عائلة Enterobacteriaceae (الشيب، 2009)، تكون متحركة على شكل عصيات ذات أبعاد 1µm الى 3µm (Michanie, 2003)، تعيش في جسم الانسان والحيوان والنبات وفي التربة مسببة للأمراض كأمراض الجهاز البولي والاسهال والتهاب السحايا وتسمم الدم والالتهابات المعوية (ثليب وبوخطة، 2022).

➢ **طريقة دراسة الفعالية ضد البكتيريا للمستخلصات باستعمال طريقة الانتشار على الأقراص**

في الدراسة تم اتباع طريقة الانتشار على وسط صلب، وذلك بتشبع الأقراص بالمستخلصات بنسبة 100% (ثليب وبوخطة، 2022)، وبقيمة 10µl من المستخلصات (بلفار، 2018). في بداية العمل نقوم بتنشيط البكتيريا.

- **تنشيط البكتيريا**

تمت تنمية السلالات البكتيرية المستعملة في التجربة في أطباق بترية محتوية على الجيلوز المغذي Gélose nutritive وتؤخذ الأطباق بعد ذلك الى الحاضنة وتحضن لمدة 24 ساعة على درجة حرارة37° قبل اجراء الاختبار.

- **تحضير المستخلصات**

نقوم بإذابة 10g من المستخلص الايثانولي في 2ml من DMSO، انطلاقا من هذا التركيز حضرنا عدة تراكيز مختلفة C1=5mg/ml وC2=2.5mg/ml وC3=1.25mg/ml، اضافة الى التركيز. C4=12.5mg/ml

- **تحضير الأقراص**

يتم تحضير الأقراص من ورق وتمان، ذات قطر6مم، توضع في أنبوب اختبار مغلق، وبعدها يتم تعقيمها بواسطة جهاز Autoclave لمدة 20 دقيقة على درجة حرارة 120° (بوختي، 2010).

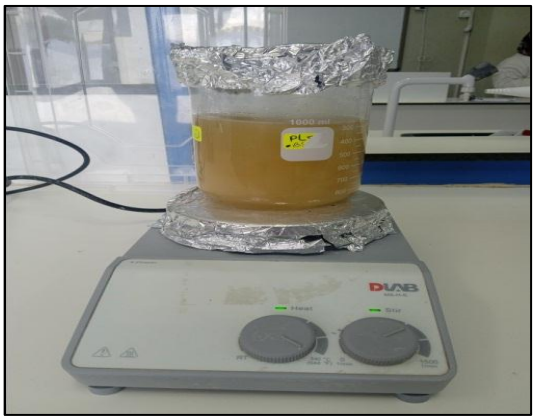
- **تحضير أوساط الزرع**

1- اذابة 16.5g من الوسط المغذي Muller Hinton في 500ml من الماء المقطر، ثم يتم تسخين هذا الوسط مع الخلط وذلك بواسطة المخلاط المغناطيسي Agitateur. **الوثيقة (20)**

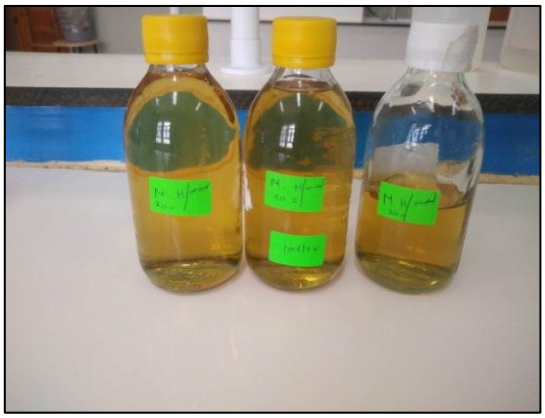
2- تعقيم الوسط المغذي في جهاز التعقيم لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة 120°.

3- سكب 20 مل من الوسط المغذي **الوثيقة (21)** في علب بتري ذات قطر 90mm، وتتم العملية في لهب موقد بنزن لخلق وسط معقم.

4- يترك في مكان السكب الى أن يبرد ويجف.



الوثيقة (20): اذابة الوسط المغذي في جهاز Agitateur



الوثيقة (21): الوسط المغذي بعد التسخين

- **زراعة البكتيريا**

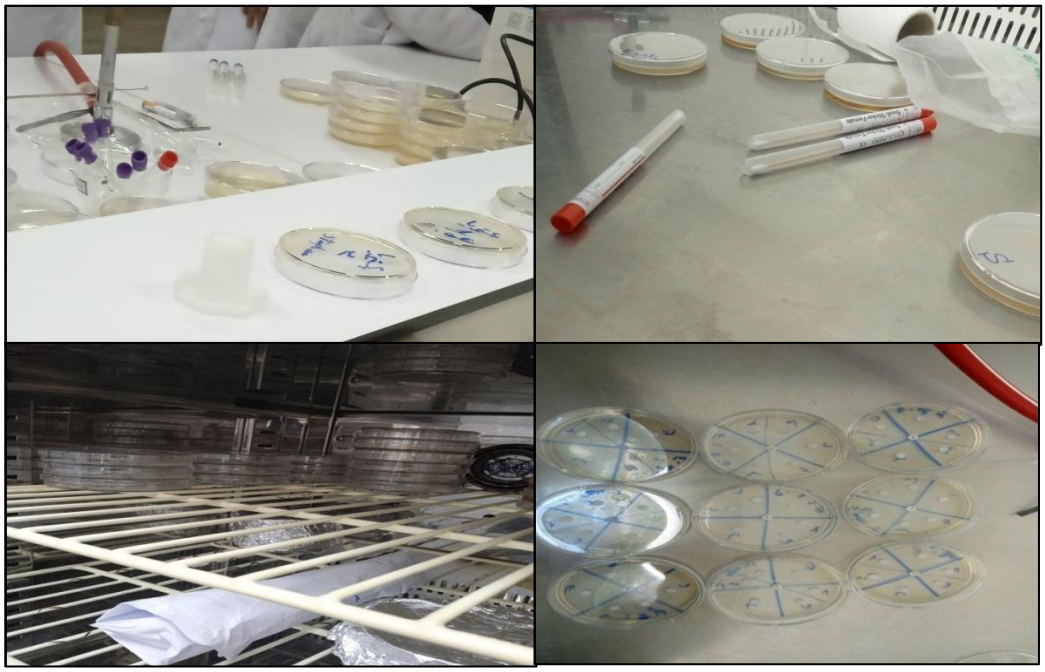
– تتم هذه العملية أمام موقد بنزن لضمان تعقيم منطقة العمل.

– يغمس ماسح قطني في البكتيريا المنشطة في كل مرة لأحد الأنواع البكتيرية، ثم يمسح وسط الزرع بشكل خطوط متوازية ومتقابلة مع تدوير الطبق 60°.

– بعد زراعة كل السلالات البكتيرية، تأخذ الأقراص الورقية المغموسة في المستخلص والمضادات الحيوية بواسطة ملقط معقم ونضعها في كل طبق، ثم نضع الأقراص الحاوية على DMSO.

– وبعد ذلك توضع الأطباق مقلوبة في الحاضنة على درجة حرارة 37° لمدة 24 ساعة.

– بعد انتهاء وقت الحضن يتم اخراج علب بتري لقراءة النتائج وذلك بقياس مناطق التثبيط بـmm، للمستخلصات والمضادات الحيوية والشاهد **الوثيقة (22)** (منصر واخرون، 2022).



الوثيقة (22): خطوات زراعة البكتيريا

الفصل الثاني

النتائج والمناقشة

I- النتائج

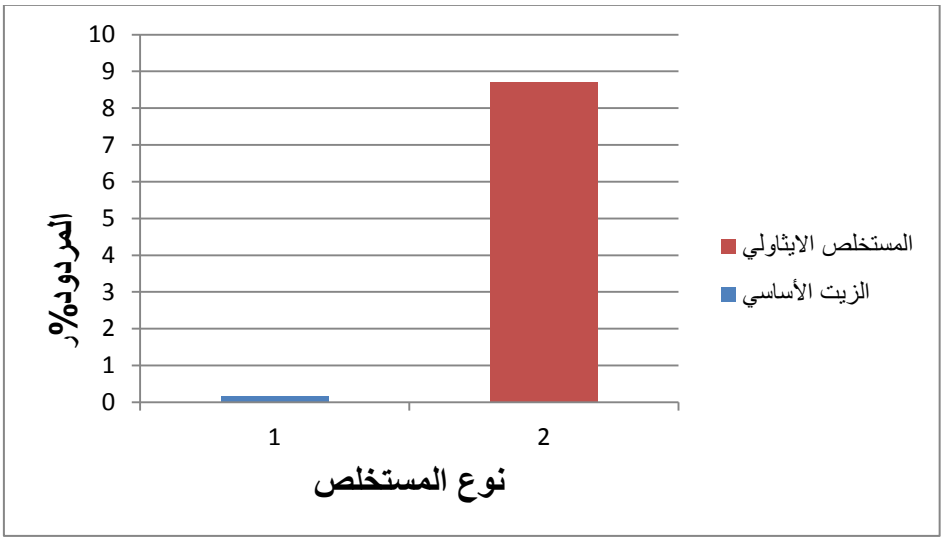
I-1 مردود الاستخلاص

بعد عملية استخلاص الزيت الأساسي بجهاز Clevenger، والمستخلص النباتي بجهاز Soxhlet تم تقدير المردود (%) للمستخلصات اعتمادا على العلاقة المذكورة عند (Gettaf et *al.*, 2016)، حيث كانت النتائج كما هي موضحة في **الجدول (10)** و **الوثيقة (23)**.

المردود % =(كتلة المستخلص النباتي/كتلة المادة النباتية الابتدائية الجافة) × 100

الجدول (10): كتلة المستخلص (g) وكمية المردود (%) للزيت الأساسي والمستخلص الايثانولي لنبات الزيتة.

كتلة العينة	المستخلص	الكتلة المتحصلة عليها	المردود(%)
150g	الزيت الأساسي	250mg	0.16%
20g	المستخلص الايثانولي	1.744g	8.72%



الوثيقة (23): قيمة المردود (%) لكل من الزيت الأساسي والمستخلص الايثانولي

I-2 التقدير الكمي للمركبات الفينولية والفلافونويدية للمستخلص

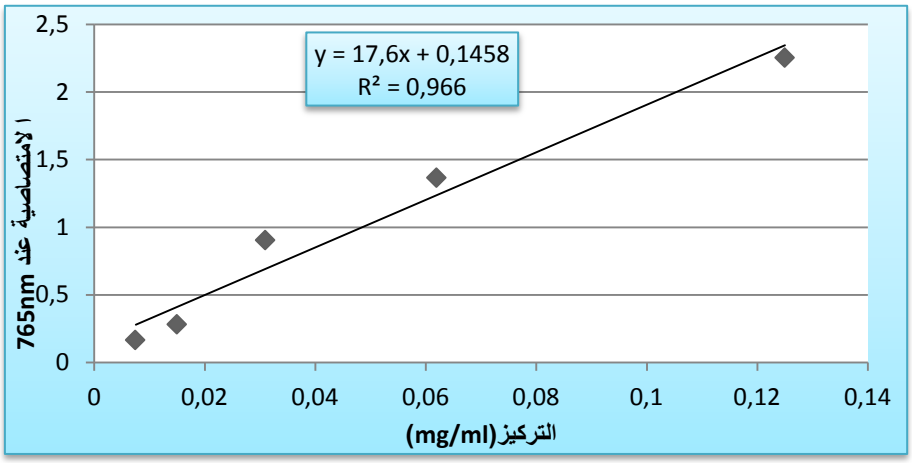
تـم تقـدير المحتـوى الكمـي لعديـدات الفينـول، الفلافونويـدات للمستخلصـات بـالميكروغرام المكـافئ لحمض الغاليك (AG)، للكيرسيتين (QE) على التوالي، على الميلغرام من كتلة المستخلص، كما هو موضح في **الجدول (11)**.

الجدول (11): كمية عديدات الفينول، الفلافونويدات للمستخلص الايثانولي لنبات الزيتة بالميكروغرام مكافئ للمركب القياسي على المليغرام من كتلة المستخلص

المركبات	عديدات الفينول	الفلافونويدات
المحتوى الكمي	97.51 ± 0.92 µg EAG/mg Extract	38.35 ± 3.87 µg EQ/mg Extract

I-2-1 التقدير الكمي للفينولات

لقد تم تقدير محتوى عديدات الفينول باعتماد الطريقة التي تستعمل الكاشف Folen-Ciocalteu ، حيث يعبر عن المحتوى الفينولي للمستخلص الايثانولي لنبات *Limoniastrum guyonianum* وباستعمال المعادلة الخطية لحمض الغاليك كما عليه في **الوثيقة (24)**.

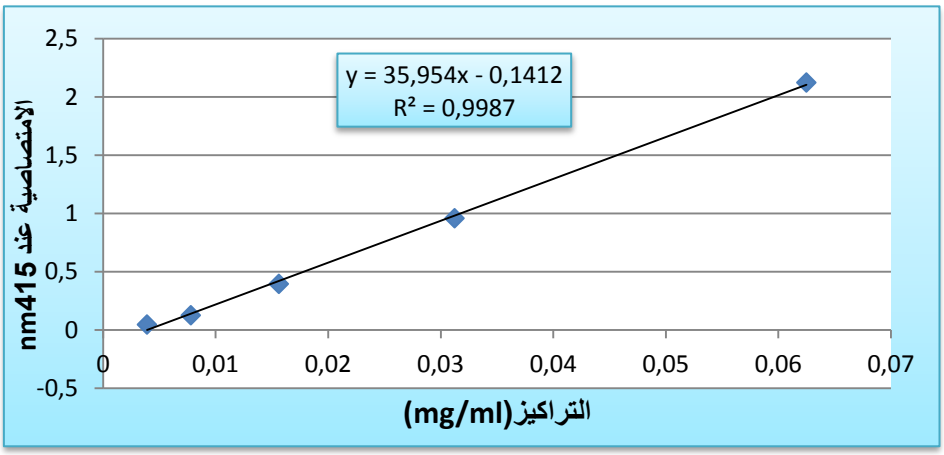


الوثيقة (24): المنحنى القياسي لحمض الغاليك لتقدير الفينولات

من خلال النتائج المدرجة في **الجدول (11)**، والتي تمثل التقدير الكمي لعديدات الفينول بالميكروغرام المكافئ لحمض الغاليك على الميلغرام من وزن المستخلص لوحظ أن كمية عديدات الفينول في المستخلص الايثانولي قدرت قيمتها ب 97.51 ± 0.92 µg EAG/mg Extract.

I-2-2 التقدير الكمي للفلافونويدات

تم التقدير الكمي للفلافونويدات باستعمال كاشف AlNO3، حيث يعبر كميا عن المحتوى الكمي للفلافونويدات باستعمال المعادلة الخطية للمخطط المعياري لامتصاصية الكير سيتين بدلالة التراكيز الواردة في **الوثيقة (25)**.



الوثيقة (25): المنحنى القياسي للكير سيتين لتقدير الفلافونويدات

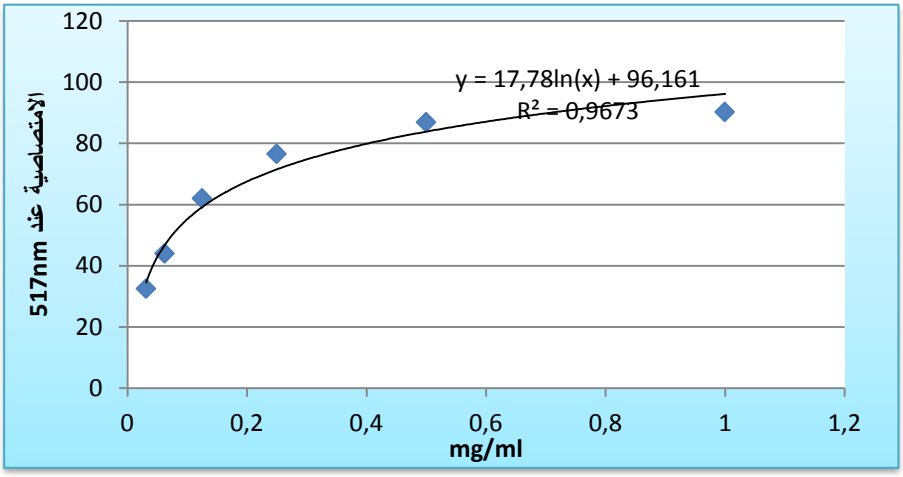
من خلال **الوثيقة (25)**، والنتائج المدونة في **الجدول (11)** والتي تمثل التقدير الكمي للفلافونويدات بالميكروغرام المكافئ للكيريستين لكل ميلغرام من وزن المستخلص، لوحظ أن كمية الفلافونويدات في المستخلص الايثانولي قدرت قيمتها ب 38.35 ± 3.87 µg EQ/mg Extract.

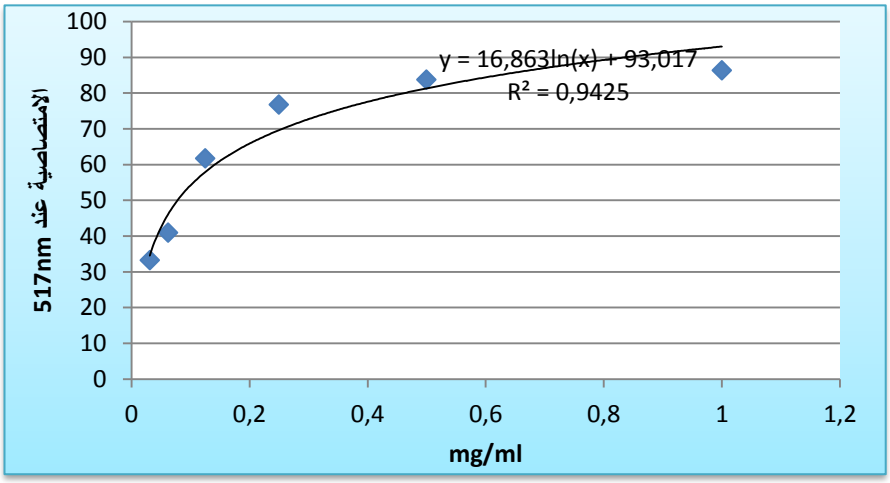
I-3 تقدير النشاطية البيولوجية

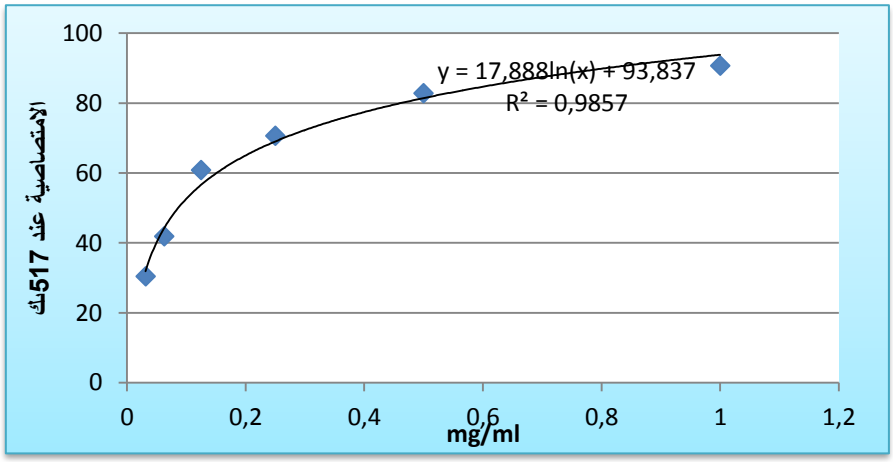
I-3-1 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

حددنا النشاطية المضادة للأكسدة باستعمال طريقة جذر DPPH$^{\bullet}$ وهذه الطريقة من أشهر الطرق المستعملة في قياس النشاطية كونها سهلة وسريعة وكانت العملية وفق ثلاث تكرارات، تم قياس الامتصاصية الضوئية للمستخلص الايثانولي والزيت الأساسي.

ولحساب قيمة الIC_{50} يتم رسم المنحنى البياني للفعالية المضادة للأكسدة بدلالة التراكيز, ومنه نستخرج المعادلة وقيمة الR^2، ويتم تعويض قيمة Y ب50 واستخراج قيمة X وهي التي تمثل IC_{50}، والنتائج موضحة في **الوثيقة (26)**.







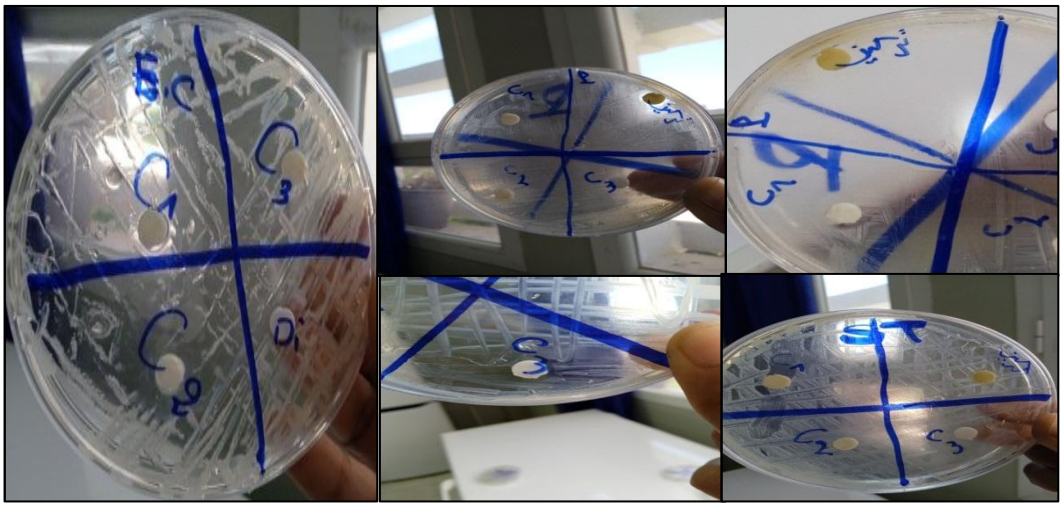
الوثيقة (26): منحنيات اختبار الDPPH (3تكرارت) للمستخلص الايثانولي لنبات الزيتة (*L.guyonianum*)

I-3-2 الفعالية المضادة للبكتيريا

تهدف هذه الدراسة إلى معرفة تأثير الزيت الأساسي والمستخلص الايثانولي والمضادات الحيوية على بعض أنواع البكتيريا ويتم تقييم هذه الفعالية باستعمال الانتشار، ثم قياس هالات عدم النمو لتحديد الحساسية وحددت النتائج كما هو موضح في **الجدول (12)**، و**الوثيقة (27)**.

الجدول (12): متوسط قطر مناطق التثبيط للفعالية المضادة للبكتيريا للزيت الأساسي والمستخلص الايثانولي لنبات *L.guyonianum* والمضادات الحيوية.

السلالات البكتيرية	متوسط قطر مناطق التثبيط						
	المستخلص الايثانولي				الزيت الاساسي	المضادات الحيوية	
	C_1=5mg/ml	C_2=2.5 mg/ml	C_3=1.25 mg/ml	C_4=12.5mg/ml	نفس التراكيز	Amoxcilline (25 mcg)	Erythromycin (15 mcg)
E. coli	0	0	0mm	0	0	18 mm	33 mm
S. aureus	0	0	7.3mm	9mm	0	19 mm	9 mm
P. aeruginos	8.5mm	6mm	5.5mm	7mm	0	23mm	/



الوثيقة (27): صور توضح تأثير مستخلص *L.guyonianum* الايثانولي على السلالات البكتيرية

II- المناقشة

II-1 المردود

بعد تقدير مردود مستخلص الزيت الأساسي والمستخلص الايثانولي كانت نسبة المردود في هذه الدراسة كالتالي 0.16% و 8.72%.

وعند مقارنة هذه النتائج بدراسات سابقة نجد أن مردود الزيت الأساسي للنبات المدروس أكبر من النتائج التي توصل اليها (Hamidi, 2013) حيث قدر مردود الزيت لنفس النبات ب0.025%.

وكذلك الدراسة التي قامت بها (Hammami et *al*., 2011) على نفس النبات، تم الحصول على الزيوت الطيارة من الجذور، البذور، الأوراق، الأزهار بعد التقطير المائي في جهاز كليفنجر وكان مردود الاستخلاص كالتالي 0.014% ، 0.015% ، 0.025% ، 0.028% على الترتيب.

ترجع الاختلافات في المردود بشكل أساسي الى اختلاف الأصول الجغرافية للنباتات وكذا الظروف البيئية السائدة، ومرحلة نمو النبات وحالته الفسيولوجية، وتجدر الاشارة الى أن المردود والتركيب الكيميائي للزيوت الأساسية يعتمدان على عدة عوامل وهي النوع ومكان وتقنية القطف، تجفيف وحفظ العينات المدروسة (Ayaidia, 2010).

وبمقارنة نتائج مردود المستخلص الايثانولي بدراسة (بلفار، 2018) نجدها أكبر منها حيث قدر مردود الاستخلاص في دراستها ب5.881%.

يمكن أن نفسر سبب التذبذب في قيمة المردود الى عدة أسباب منها:

حسب النبات المدروس والطبيعة الكيميائية للمركبات الفعالة له والاختلاف في درجة ذوبانية المذيب (Djemai,2009)، وطرق الاستخلاص والجزء النباتي المستعمل وشروط التجفيف والتخزين، اضافة لهذا قد يعود السبب الى مدى تعرض النبات الى الاجهادات المختلفة التي تلعب دورا في التغيير من فسيولوجيته مؤديا بذلك الى التغيير في طبيعة ونوعية المركبات التي ينتجها كما ونوعا (Ibrahimi et *al*., 2008).

II-2 التقدير الكمي للمركبات

II-2-1 التقدير الكمي للفينولات

خلال هذه الدراسة تم تقدير كمية المواد الفينولية للمستخلص الايثانولي للنوع النباتي المدروس، حيث بينت النتائج أن كمية الفينولات المتحصل عليها قدرت ب(97.51± 0.92µg EAG/mg Extract).

عند مقارنة كمية الفينولات المتحصل عليها مع بعض الدراسات الأخرى نجدها أعلى من النتائج المتحصل عليها في دراسات أخرى.

كدراسة التي قامت بها بلفار(2018) على نبات *L.guyonianum* ففي نظام الاستخلاص (A.Ac/H2O) قدر محتوى الفينولات ب 50.06mg/g ويليها نظام الاستخلاص(At/H2O) بقيمة قدرها 26.16µg، أما في نظام الاستخلاص (EtOH/H2O) قدرت فيه الفينولات ب 5.99mg/g.

وحددت الفينولات في الدراسة التي قامت بها Trabelsi Nadjla ومعاونها(2010) على نبات *L. guyonianum*، في نظام الاستخلاص (MeOH/H2O) قدرها 11.64mg/g و 14.68mg/g في النظام (EtOH/H2O) أما في النظام (At/H2O) قدرت ب 73.13mg/g ، وفي دراسة علية (2020) قدرت بـ36.372±0.768mg E GA/g Ex.

أما في الدراسة التي قام بها (Hamidi, 2013) كانت كمية الفينولات في نبات *L.guyonianum* 1.78mg/g في المستخلص الميثانولي و3.07mg/g في مستخلص الأستون.

وأقل بكثير في دراسات أخرى، كالدراسة الذي قام بها Mohamed debouba ومعاونوه(2013) حددت قيم المحتوى الكلي للفينولات في نبات L.*guyonianum* في نظام الاستخلاص (MeOH/H2O) ب 217.82mg/gوفي نبات *L.monopetalum* قدرت ب 225.22mg/g.

اضافة الى الدراسة التي قام بها كل من Benslama Abderrahim ومعاونوه(2016) على نبات *L.guyonianum* فقدر المحتوي الكلي للفينولات ب 285.38mg/g في المستخلص الميثانولي.

يعود عدم توافق ما سجلناه من نتائج مع ما توصلت اليه الدراسات السابقة المشار اليها اعلاه الى اختلاف اليات التعديل الفيزيوحيوية المختلفة، اذ يتم تخليق هذه المركبات كوسائط للتكيف بسرعة مع الظروف البيئية الخارجية فهي تعمل كمواد منظمة للتوازن الخلوي.

كما نجد من خلال النتائج أن اختلاف في نوع المذيب وطريقة الاستخلاص يؤثر في مردود الفينولات الكلية، اضافة لذلك فان كمية الفينولات المستخلصة من الأنواع النباتية تتأثر بتغير مكان ومناخ النبات وعدم تجانس الظروف البيئية ويظهر ذلك في تباين الغطاء النباتي بين المناطق واختلاف التضاريس وظروف التربة (Saada et *al*., 2018).

II-2-2 التقدير الكمي للفلافونويدات

تعتبر الفلافونويدات واحدة من أكثر المركبات الطبيعة تنوعا وانتشارا، وهي تملك مجموعة واسعة من الأنشطة الكيميائية والبيولوجية بما في ذلك كسح الجذور الحرة (Adetuyi and Ibrahim, 2014).

حيث تم في هذه الدراسة تقدير المحتوي الكمي للفلافونويدات للمستخلص الايثانولي للنبات الزيتة *L. guyonianum*، حيث أظهرت النتائج أن كمية الفلافونويدات تقدر بـ (38.35 ± 3.87 µg EQ/mg Extract).

وهذه النتيجة أعلى من نتائج الدراسة التي قامت بها علية(2022) لنفس النبات حيث قدرت كمية الفلافونويدات بـ (27.516±0.353mg E Q/g Ex)، وكذلك في الدراسة التي قام بها Ksouri Riadh

ومعـاونوه (2008) علـى نبـات مـن نفـس العائلــة *L. monopetalum* قـدرت 0.17mg/g فـي نظـام الاستخلاص (EtOH/H2O).

اضـافة الـى الدراسـة التـي أجراهـا (Hamidi, 2013) علـى نبـات *L. guyonianum* قـدرت الفلافونويدات في مستخلص الأستون والمستخلص الميثانولي على التوالي 3.27mg/g و1.26mg/g.

أما في الدراسة التي قامت بها بلفار(2018)، على نفس النبات قدرت كمية الفلافونويدات في نظام (A.Ac/H2O) ب 6.33mg/g وفي نظام الاستخلاص(At/H2O) قدرت قيمتها ب 3.15mg/g ، وكانت بقيمـة 1.13mg/g فـي نظـام (MeOH/H2O). أمـا فـي الدراسـة التـي قامـت بهـا Faten Medini وزملاؤهـا(2014) علـى نبـات مـن نفـس العائلـة والمتمثـل فـي *Limonium delicatulum* قـدرت كميـة الفلافونويدات ب9.23mg/g في المستخلص الميثانولي.

في حين الدراسة التي أجرتها hadjadj soumia ومعاونوها (2016) قدرت كمية الفلافونويدات في نبـات *L. guyonianum* ب 865mg/g فـي المسـتخلص الميثـانولي و 774mg/g فـي المسـتخلص الايثانولي.

يكمن الاختلاف في كمية الفلافونويدات الى المرحلة العمرية للنبات، حيث تتزايد كميتها في الجزء الهوائي للنبات أثناء تشكل الأعضاء النباتية الجديدة، الأزهار، الأوراق، الثمار والبذور، وقد يعود السبب في تباين قيمتها الى طبيعة التربة في مناطق نمو النبات حيث أن نقص العناصر المعدنية المغذية في التربة يؤدي، واعتبار الفلافونويدات مركبات ناتجة من تحول النشاط الفيتوكيميائي، فيمكن أن يعود سبب انخفاض محتواها ف المستخلص الى تراجع عملية التركب الضوئي (Michalak, 2006).

II-3 تقدير الفعالية البيولوجية

II-3-1 النشاطية المضادة للأكسدة

ان الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو التأكد والتحقق من القدرة المضادة للتأكسد لكل من الزيت الأساسي والمستخلص الايثانولي لنبات *L guyonianum*، على الجذور الحرة عن طريق اختبار DPPH$^{\bullet}$ وعمومـا تستعمل هذه الطريقة بكثرة لسرعتها وفعاليتها حيث أن درجة التغير اللوني من البنفسجي الى الأصفر يرتبط بالتراكيز المختلفة للعينات، وبعدها يتم حساب IC_{50} لهذه المستخلصات وهو التركيز الموافق لتثبيط 50% من جذر الDPPH$^{\bullet}$، أي أنه كلما نقصت قيمة IC_{50} زادت الفعالية المضادة للأكسدة.

وبناءا على النتائج المتحصل فان الزيت الأسـاسي للنبات المدروس، يملك نشاطية مضـادة للأكسدة ضعيفـة جـدا الـى منعدمـة لعدم توفـر الشـرط الأسـاسي فـي اختبـار الDPPH$^{\bullet}$ وهـو تغيـر لونـه مـن البنفسـجي الـى الأصـفر، ومـن المحتمل أن ضـعف النشـاطية المضـادة للأكسدة الخاصـة بالزيت الأساسـي للنبـات *L guyonianum* يعود الى عدم احتوائه على المركبات الكيميائية التي تعمل على تثبيط الجذور الحرة وزيادة النشاطية المضادة للأكسدة.

كما بينت النتائج المتحصل عليها في دراسة النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص الايثانولي لنفس النبات كانت معتبرة، حيث قدرت قيمة IC_{50} في هذه الدراسة ب(15.35±0.31µg/ml)، وهي تعتبر ضعيفة مقارنة بما وجد في نشاطية المحلول القياسي لحمض الأسكوربيك والمقدرة ب (3.76±0.6µg/ml).

وعند مقارنة النتائج التي توصلنا اليها مع بعض الدراسات التي قام بها الباحثين حول ما تملكه المستخلصات النباتية من قدرة تثبيطية للجذر الحر DPPH°، فكانت قيمة IC_{50} أقل بكثير مما تحصلنا عليه أي لها فعالية أكبر، نذكر منها الدراسة التي قامت بها بلفار (2018) على نفس النبات المدروس حيث قدرت قيمة IC_{50} في نظام الاستخلاص (At/H2O) ب5.1µg وفي نظام الاستخلاص (MeOH/H2O) و(EtOH/H2O) قدرت على التوالي ب5.6µg و 8.3µg.

وعند مقارنة نتائج دراستنا مع الدراسة الذي قام بها (Hamidi, 2013) على نفس النبات نجدها أعلى منها أي لها فعالية أقل، حيث قدرت الIC_{50} في المستخلص الميثانولي ومستخلص الأستون على التوالي ب29.64mg/ml و24.85mg/ml.

تعود الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية المرتبطة بتوزيع المجاميع الوظيفية حول البنية الأساسية بالإضافة الى عدد ومواقع مجاميع الهيدروكسيل المانحة للهيدروجين (Pannala et *al*., 2001)، حيث كلما زادت مجاميع الهيدروكسيل في البنية الفلافونويدية زادت القدرة على كبح الجذور الحرة (Heijnen et *al*., 2001).

قد يرجع سبب تفاوت العينات في فعاليتها ضد جذر الDPPH° لعدة أسباب أهما:

- ✓ عدم تجانس المناخ والتربة والغطاء النباتي للمناطق التي تم قطف العينات (حليس، 2007)، والذي يؤثر على المحتوى الكيميائي للنبات وبالتالي يؤثر على فعالية المستخلصات في النشاطية المضادة للأكسدة.
- ✓ كما أن المرحلة العمرية خاصة في النباتات المعمرة قد تؤثر على مردود المواد الفعالة في أعضاء النبات (معلول وآخرون، 2021).

II-3-2 النشاطية المضادة للبكتيريا

من خلال النتائج المتحصل عليها لنمو وتطور البكتيريا في وسط الزرع Muller-Hinton والذي تم وضع أقراص تحتوي على الزيت الأساسي لنبات *L.guyonianum*، لاحظنا أن الزيت الأساسي بتراكيزه لم يبدي خلال هذه الدراسة أي تأثير نوعي على السلالات البكتيرية المدروسة، مقارنة بالدراسة التي قامت بها Hammami (2011) ومعاونوها حيث كان للزيت الأساسي لنفس النبات فعالية متوسطة اتجاه الأنواع البكتيرية وهذا يدل على أن فعالية الزيت الأساسي مرتبطة بأنواع المركبات الموجودة فيه وطريقة تأثيرها على البكتيريا، وعموما لا يمكننا الجزم بذلك لأنه لن نتمكن من الحصول على دراسات أكثر تم فيها التطرق لفعالية الزيت الأساسي لل *L.guyonianum* .

ومن خلال الدراسة التي قمنا بها أوضحت النتائج التي توصلنا إليها بأن المستخلص الايثانولي لنبات *L.guyonianum* أبدى نشاطية ضد السلالات البكتيرية *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa*، في حين لم يبدي أي نشاط اتجاه السلالة *E.coli* وذلك بمختلف التراكيز 12.5mg/ml و5mg/ml و2.5mg/ml و1.25mg/mL، بينما كان للمضادان الحيويان (Er, Am) فعالية كبيرة اتجاه هذه السلالة بمناطق تثبيط كبيرة قدرت بـ18mm و 33mm على التوالي، أي أن البكتيريا لها حساسية عالية. أبدت كل من السلالة البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa* حساسية ضعيفة في كل التراكيز، بينما كانت لها حساسية عالية من المضاد الحيوي (Am) بقطر تثبيط 23mm. أما السلالة البكتيرية *Staphylococcus aureus* لا تبدي أي حساسية في تركيز 5mg/ml و2.5mg/ml أما في تركيز 1.25mg/ml و تركيز 12.5mg/ml حساسية ضعيفة بقطر تثبيط 7.3mm و 9mm بنفس قطر تثبيط المضاد الحيوي (Er) ، على عكس المضاد الحيوي (Am) كانت لها حساسية أكبر بكثير من (Er) اذ قدرت بقطر تثبيط يساوي 19mm.

وبمقارنة النتائج المتحصل عليها في دراستنا مع دراسات أخرى على نفس النبات بينت أن مستخلصات النبات لها فعالية أكبر من الفعالية التي تحصلنا عليها، ومن بين هذه الدراسات دراسة (بلفار، 2018) التي أظهرت فيها كل المستخلصات نشاطية ضد جميع السلالات البكتيرية حيث كانت سلالة *Pseudomonas aeruginosa* تملك حساسية عالية في تركيز 800g/l بمنطقة تثبيط قطرها 20.33mm وكانت لها حساسية متوسطة في تركيز 100g/l و400g/l أما في التركيز 50g/l كانت لها حساسية محدودة، وأبدت كل من السلالة البكتيرية *E.coli* و *Staphylococcus aureus* حساسية محدودة في جميع التراكيز ماعدا السلالة *E.coli* كانت لها حساسية ضعيفة جدا في تركيز 50g/l بقطر تثبيط7.33mm.

وفي مستخلصات البيوتانول فقد أبدت السلالة *E.coli* حساسية عالية في تركيز800g/l وكانت لها حساسية محدودة في تركيز200g/l و400g/l. أما في تركيز 450g/l كانت لها حساسية ضعيفة وأبدت السلالة *Staphylococcus aureus* حساسية محدودة في تركيز800g/l و400g/l أما في تركيز100g/l و200g/l كانت لها حساسية ضعيفة وعند50g/l لا تبدي أي حساسية، أما *Pseudomonas aeruginosa* لها حساسية متوسطة عند تركيز 800g/l بقطر تثبيط 15.66mm أما في تركيز100g/l و200g/l كانت لها حساسية محدودة. وضعيفة في التركيزين 50g/l و 200g/l.

أما في دراسة (Ben khaled, 2018) بينت أن المستخلص المائي للأوراق *Limonistrum guyonianum* (Dur) كان فعالا ضد *Staphylococcus aureus* في التركيز 5mg/l.

وفي الدراسة التي قام بها (Hamidi, 2013) أوضح أن المستخلص الميثانولي لأوراق *Limonistrum guyonianum* أبدى نشاط متوسط ضد كل من *E.coli* و *Staphylococcus aureus* في المقابل المستخلص الأسيتوني أظهر فعالية جيدة ضدهما.

يلاحظ اختلاف في الأنشطة المضادة للبكتيريا للمستخلصات وهذا راجع الى الاختلاف في تركيبتها الكيميائية وكذلك آلية عمل مكوناتها النشطة بيولوجيا (Nabila et *al*.,2016).

ويفسر حساسية البكتيريا السالبة الغرام لمعظم المستخلصات النباتية الى وجود طبقة من الغشاء الخارجي تتكون من السكريات الدهنية المتعددة كحاجز للمواد الكيمائية النباتية المسؤولة على نشاط البكتيريا (Nawchoo, 2012).

وتفسر فعالية مستخلصات *L.guyonianum* لاحتوائها على المواد الفعالة التي لها فعالية على نمو البكتيريا منها المركبات الفينولية التي تمتاز بوجود مجموعة الهيدروكسيل التي تكون قاتلة أو مثبطة للبكتيريا بسبب قدرتها على الاتحاد مع بروتين الخلية وترسيبه فتغير من طبيعته وتعمل على اذابة المواد الدهنية أي أنها تسبب التحطيم الكامل للأغشية والجدران الخلوية للبكتيريا، وعلى الفلافونويدات التي تعمل على تدمير جدار البكتيريا بتكوين معقد مع البروتينات الخلوية والتأثير على الجدار البكتيري مما يؤدي الى موت البكتيريا، وأيضا تتدخل في ADN مؤثرة على الفعاليات الحيوية للخلية البكتيرية (بلفار، 2018).

الخاتمة

الخاتمة

رغم التطورات الحاصلة في العلوم الطبيعية بمختلف تخصصاتها الا أنه ازداد الاهتمام أكثر اليوم بالنباتات الطبية، بغية اكتشاف مواد فعالة تستعمل لعلاج العديد من الأمراض كمحتويات الزيوت الأساسية والمركبات الفينولية، هذه الأخيرة التي تعتبر القسم الأكبر انتشارا في المملكة النباتية والتي تلعب دور مهما كمضادات للأكسدة.

واهتمامنا في هذا العمل اجراء دراسة حول النبات الطبي *Limonaistrum guyonianum* المعروف في الأوساط الشعبية بنبات الزيتة والتي تنتمي الى العائلة الرصاصية وتستعمل في الطب الشعبي لعلاج بعض الأمراض كالإسهال والحمى والحساسية، لهذا كان الهدف من هذه الدراسة تقييم الفعالية البيولوجية والتقدير الكمي للفينولات والفلافونويدات للعينة النباتية المأخوذة من الجنوب الشرقي للجزائر(وادي سوف).

حيث أنجزت هذه الدراسة بمخابر كلية العلوم الطبيعية بجامعة الشهيد حمة لخضر الوادي وتحت اشراف الدكتور شمسة أحمد الخليفة.

في بداية هذه الدراسة تم استخلاص الزيت الأساسي من أوراق وأزهار نبات الزيتة بجهاز كليفنجر (Clevenger)، من بعدها تم الحصول على المستخلص الايثانولي للعينة النباتية بواسطة جهاز السوكسلي (Soxhlet)، ومن خلال ذلك تم تقدير نسبة المردود لكليهما (الزيت الأساسي، المستخلص الايثانولي) على التوالي 0.16% و 8.72%.

وقد أظهر التقدير الكمي لعديدات الفينول استنادا على طريقة (Slinkard et Singleton) وبالاعتماد على الكاشف Folen ciocalteau قيمة معتبرة قدرت ب 97.51±0.92ug EAG/mg Extract ومتوافقة مع تقدير المحتوى الكمي للفلافونويدات حيث قدرت حسب طريقة (Arvouet-Grand et *al*., 1994) وبالاعتماد على الكاشف(AlNO3) بـ 38.35±3.87 ug EQ/mg Extract.

وبدراسة الفعالية المضادة للأكسدة للزيت الأساسي والمستخلص الايثانولي بطريقة اختبار جذر الـ$DPPH^{\bullet}$ لمعرفة القدرة المضادة للأكسدة على الجذور الحرة، فكانت الفعالية ضعيفة جدا الى منعدمة الخاصة بالزيت الأساسي وقيمة معتبرة للفعالية الخاصة بالمستخلص الايثانولي حيث قدرت ب IC_{50}=15.35 وتعود هذه الفعالية الى المحتوى الكيموحيوي للنبات، الذي يمثل بدوره المعيار الأساسي لتحديد مدى قدرته على ابراز خواصه البيولوجية والفسيولوجية.

وفي الخطوة الأخيرة من هذا العمل تمت دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا للزيت الأساسي وللمستخلص الايثانولي على ثلاث سلالات بكتيرية تمت باستعمال طريقة الأقراص فكانت جميع السلالات ليس لها حساسية من الزيت الأساسي، ولديها حساسية ضعيفة من المستخلص الايثانولي، فقد أظهر هذا الأخير نشاطية ضعيفة على السلالتين *P.aeruginos* و*S.aureus* ولم يبدي أي نشاط على السلالة *E.coli*

من خلال هذه الدراسة نستنتج أن للنبات أهمية بيولوجية من ناحية المحتوى الكمي للمركبات الفينولية حيث يمكن استعماله كمصدر طبيعي لاستخلاص العديد من المواد الفعالة بيولوجيا، والتي تلعب دور مركبات علاجية ضد العديد من الإجهادات المؤكسدة وهذا ما أثبت من خلال تفوق قدرة النبات المضادة للأكسدة الناتجة عن الجذور الحرة.

سيكون من الأفضل دعم هذه الأعمال بدراسات كيميائية ودوائية أخرى من أجل عزل وتوصيف وتنقية المكونات النشطة المسؤولة عن الأنشطة المحتملة لمضادات الأكسدة والمضادات للالتهابات والمسكنات والبكتيرية للمستخلص، أيضا سيكون من المرغوب جدا اختبار الأنشطة الأخرى مثل الأنشطة المضادة للطفرات ومضادات السرطان وتوسيع الدراسة لتشمل أجزاء أخرى من النبات.

قائمة المراجع

قائمة المراجع

1. المراجع باللغة العربية

1- أبو زيد ش. ن (2000): الزيوت الطيارة الطبيعية الأولى، دار العربية للنشر.

2- ابو زيد ش-ن (1992) : النباتات العطرية ومنتجاتها الزراعية و الدوائية –الدار العربية للنشر والتوزيع

3- اسماعيلي ط (2015): دراسة الزيوت الأساسية للمركبات الفينولية وفعاليتها البيولوجية في بعض الأنواع التابعة للعائلة الخيمية. رسالة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه في العلوم، جامعة العربي بن مهيدي.

4- الأسود س، عدايكة ص (2017): دراسة النشاطية المضادة للأكسدة والمضادة للأحياء الدقيقة لزيت الأساسي لأزهار نبات اللبين ***Euphorbia guyoniana*** بمنطقة وادي سوف. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي.

5- آيت كاكي ف (2011): فصل وتحديد نواتج الأيض الثانوي ودراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا لمستخلص خلات الاثيل لنبتة ***Dest letswaart, Organum Glandulosum Sbsp. L. vulgare***. مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء النبات. جامعة منتوري قسنطينة ص 11.

6- بده زكري ن، يسر ص، بلعروسي س، شنيبة عباس س(2022) : دراسة النشاطية البيولوجية للمستخلصات الخام للنبات الطفيلي الصحراوي الذنون ***Cistanche violaceae(Desf).Beck***. النامي في منطقة شمال افريقيا دراسة مقارنة ومراجعة .مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي.

7- بلفار آ،(2018) : دراسة القدرة المضادة للأكسدة وللبكتيريا وللتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات ***Limoniastrum guyonianum*** **(Dur)**. رسالة محضرة لنيل شهادة الدكتوراه ل.م.د، جامعة قاصدي مرباح-ورقلة.

8- بلقاسم ع،(2017) :دراسة الزيوت الأساسية، المركبات الفينولية وفعاليتها البيولوجية في بعض الأنواع التابعة للفصيلتين(السذبية **Rutaceae** والمركبة **Compositae**). أطروحة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه في العلوم، جامعة العربي بن مهيدي-أم البواقي.

9- بوختي ح،(2010) : النباتات الطبية المتداولة في المنطقة الشمالية لولاية سطيف، دراسة تشريحية لنوعين من جنس **Mentha** والنشاطية ضد البكتيرية لزيوتها الأساسية. مذكرة لنيل شهادة الماجيستير، جامعة فرحات عباس-سطيف.

10- بوقوادة م(2007): دراسة الفيتو كيميائية للبيدات والفينولات في بعض أنواع نوى التمر المحلي. مذكرة ماجيستر في تحضير عضو وكيميائي, ورقلة.

11- بوليف ه، عثمان ن،(2020): دراسة المحتوى الفينولي والفلافونويدي والفعالية المضادة للأكسدة لصنفين من النباتات الصحراوية (أم دريقة ***Ammodaucus leucotrichus Coss. Dur*** والنقد ***Anvilla garcinii Coss.et Dur***). مذكرة ماستر، جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي.

12- ثليب م، بوخطة ش،(2022) : دراسة تأثير الزيت الأساسي لنبات النعناع على النشاطية الضد بكتيرية والضد التأكسدية. مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة قاصدي مرباح-ورقلة.

13- حليس ي، (2007) : الموسوعة النباتية لمنطقة وادي سوف، النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير. مطبعة الوليد، الوادي، الجزائر.

14- حليمي ع ، النباتات الطبية، الجزائر: وزارة الفلاحة، 1997 .

15- حمودي ف، شنوف خ،(2021): محتوى المركبات الفينولية والأنشطة البيولوجية لمستخلصات نبات طبي ***Artemisia absinthium***. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي.

16- الدكتور الشحات ن (1995): فسيولوجيا النبات وكيمياء الزيوت الطيارة(للنبات العطري)، دار المريخ للنشر، الرياض، المملكة العربية السعودية.

17- ربيعي ع(2016) : تقدير المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للأكسدة لمنتجات النحل في الجزائر بالطرق الكهروكيميائية. جامعة قاصدي مرباح-ورقلة.

18- رويحة أ(1983) : التداوي بالأعشاب. دار القلم، بيروت لبنان.

19- شعوبي أ، بن ققة أ(2019) : المساهمة في الدراسة الفيتوكيميائية وتقييم الفعالية البيولوجية لمستخلصات نبات الكينوا *chenopodium quinoa*. مذكرة مقدمة لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح-ورقلة.

20- شيخة بلقاسم ع، مسعي بلقاسم ك : تقدير القيمة الغذائية ودراسة الفعالية البيولوجية لنبات الخروب النامي في منطقة عنابة والبليدة. مذكرة ماستر أكاديمي، جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي.

21- صحراوي ص(2018) : مساهمة في تحسين ظروف الاستخلاص المركبات الفينولية من الماستر في الكيمياء. تخصص كيمياء عضوية. جامعة حمه لخضر الوادي ص 24.

22- العابد ا،(2009): دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة للمستخلص القلويدي الخام لنبات الضمران. مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح-ورقلة.

23- عبود ووحيد(2017) : أهمية النباتات الطبية واستعمالاتها في الحضارة القديمة-مجلة كلية الأدب.

24- عسيلة س،(2017) : التحليل الكمي والكيفي لمحتوى الأحماض الذهنية لزيت الفول السوداني لمنطقة وادي سوف. مذكرة ماجيستر أكاديمي في الكيمياء، الوادي.

25- علية ف، (2022) : المساهمة في دراسة العلاقة الفيتو كيميائية والفيزيولوجية التطفلية بين نبات الذنون ***cistanche violacea(Desf.) Beck.*** الطفيلي والنباتات المضيفة له الزيتة ***limoniastrum guyonianum*** **Dur** والباقل **bioss.** ***Haloxylon articulatum***. أطروحة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه ل.م.د، جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي.

26- عياط أ(2020) : قسم النباتات الطبية والعطرية، كلية الزراعة بني سويف.

27- مخدمي ن،(2014) : استعمال المستخلصات المائية لنبتتي ***Matricaria*** و ***pituranthos*** كمعطرات طبيعية للجبن "أمير" ودراسة النشاطية ضد البكتيريا لزيوتها العطرية. مذكرة ماجستير في البيولوجيا، جامعة فرحات عباس-سطيف.

28- معلول ن، أوذيني س، أوذيني و،(2021) : دراسة المستخلص الميثانولي والنشاطية المضادة للأكسدة لمستخلص نبات القرينة ***Halocnemum strobilaceum***. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي.

29- منصر ا، محيده س، حمامة خ،(2022) : دراسة التركيب الكيميائي والفعالية البيولوجية للزيت الأساسي لنبات الكينوا ***chenopodium quinoa willd*** النامي في منطقة وادي سوف. مذكرة ماستر، جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي. والتوزيع، مدينة نصر.

المراجع باللغة الأجنبية

1. . Dicaarlo M. N G., Izzo A., Capasso F, "Flavonoids : old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs," Review, Life Sci, , vol. 65, pp. 53-337., 1999.

2. Adetuyi F, and Ibrahim T, Effect of Fermentation time on the phenolic, Flavonoid and vitamin C contents and antioxidant activities of okra(Abelmoschus esculentus)seeds. Nigerian Food journal, 2014.32(2).

Algérien. Thèse doctort. Université Aboubakr Belkaid. Tlemcen. 174 p. .a

3. ALIBERI, G., RANJEVA, R., BOUDET, M.A. 1977-Organisation subcellulaire des voies des synthèses des composés phénoliques. Physiol. Veg. 15 : 279-301.

4. APak.R.GUclu ,k,Demirata, b,ozyurek,M,gelik.s.E.bekalsoglu b.,berker,k,L.,ozyurt,D(2007).Comparative Evaluation of various total antioxidant ,

capacity assays applied to phénlic , compounds with the GUPRAC,Molecules ,12,1496-1547.

5. Archivio M, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C Masella R. (2007) Polyphenols, dietary sources and bioavaility. Ann Ist Super Sanità. 43(4) : 348-361.

6. Archivio M. D , C. Filesi, R. Di Benedetto, R. Gargiulo, C. Giovannini, and R. Masella, "Polyphenols, dietary sources and bioavailability," Annali-Istituto Superiore di Sanita, vol. 43, p. 348, 2007

7. Arvouet-Grand A, Vennat B, Pourrat A, Legret P(1994) : standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. Jornal de pharmacie de biologique, 49 :462-468.

8. ATHAMENA S., (2009) :Etude quantitative flavonoides des grains de Cuminum cyminum et Les feuiles de Rosmarinus officinalis et l'evaluation de l'activite biologique. Memoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Magister. Université El -Hadj Lakhder Batna. 126p

9. Ayaidia boutheina (2010) : etude compative de trois varietes d'huilles essentielles de menthe dans la région de ouargla.

10. Ayaidia boutheina (2010) : etude compative de trois varietes d'huilles essentielles de menthe dans la région de ouargla.

11. B. H. Havsteen, "The biochemistry and medical significance of the flavonoids," Pharmacology & therapeutics, vol . 96 , pp. 67-202, 2002.

12. Baser,K,H,C,(1995): AManual on essentail oil Industry UNIDO.veemma p-155.

13. Beli E, Maci R, Cocoli S, and Memoci H, staphylococcus aureus in locally produces white cheese in tirana market. Albanian Journal of Agricultural sciences, 2014 : p.519.

14. Beli E, Maci R, Cocoli S, and Memoci H, staphylococcus aureus in locally produces white cheese in tirana market. Albanian Journal of Agricultural sciences, 2014 : p.519.

15. Ben Khaled A(2018) : activités anti inflammatoire, anti-oxydante et antimicrobienne de l'extrait aqueux d(***limoniastrum guyonianum***). Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat en science, université farhet abas-Sétif 1.

16. BENHMMOU N., 2012-Activité antioxydante des extraits des composes phénolique de dix plantes médicinales de l'Ouest et du sud-Ouest

17. Benjilali B(2004) : extraction des plant aromatiques et médicinales cas praticulire de l'entrainement a la vapeur d'eau et ses épuipements .Manuel pratique. Huielle essentielles de plante a la commercialisation (17.59).

18. Benslama A, Afissa S, Saidi A, and Harrar A, total phenolic contents, Antioxidant and Antibacterial activities of ***Limoniastrum guyonianum*** (***plumbaginaceae***) extracts. International journal of current Research,2016.8(12).

19. Bruneton .J, Pharmacognosie et phytochimie des plants médcinales, 2 éme ed. Pqris: Tec et Docum, 1999.

20. Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes médicinales, 2émeEd, Paris

21. Bruneton, J. (2009) : Pharmacognosie – Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et augmentée, Paris, Tec & Doc – Editions médicales internationales, P.1120, 1288(ISBN 978-2-7430-1188-8).

22. Bruneton,j.(1999) : pharmacognosie phytochimie des plante médicinale 3é edition Tec8DOC3

23. Chaabi M, Beghidja N, Benayache S, and Lobstein A, Activity-Guided Isolation of Antioxidant principles from Limoniastrum Feei (Girard) batt. Zeitschrift fur Naturforschung. 2008. 63(11-12) :p801-807.

24. Cortell JM, Kenndy JA. (2006) Effect of shading on accumulation of flavonoid compounds in (Vitis vinifera L.) pinot noir fruit and extraction in a model system. *J Agric Food Chem*.54 : 8510-8520.

25. Debouba M, Zouari S, and Zouari N, Evaluation of antioxidant status of two ***limoniastrum*** species growing Wild in Tunisian salty Lands. Antioxidant,2013.2(3) :p 122-126.

26. Delfine s.lareto f.pinelli p.tognetti r.alvino a.(2005) : isoprenoid .content and photosynthetic limitations in rosemary and spearmint plant under water stress, Agriculure ecosystem and envernement.

27. Djemai S,(2009) : Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de zizyphus lotus. Thèse magister. Université Elhadj Lakhder-Batna.

28. E. WOLLENWEBRE and V. Dietz, "Biochemical Systematic and Ecology," V8, vol. 21, 1980.

29. Ferraro, G. E. , (1983): Acta farm. Bonaerense, 2, 97-103.

30. Guettaf S, Abidli N, Kariche S, Belebcir L, Bouriche H,(2016) :Phytochemical screening and antioxidant activity of aqueous extract of Genista saharae (Coss. Dur). Scholars Research Library,8(1) :p51.

31. H. A. Stafford, "Roles of flavonoids in symbiotic and defense functions in legume roots," The Botanical Review, vol. 63, pp . 27 - 39 , 1997

32. Hadjadj S, Khadir A, bensaci S, Didi Ould elhadj M, and Ould elhadj kaelil A(2016) : comparison of phenolic contente et antioscidant activity of methanolic and ethanolic Extracts of ***limoniastrum guyonianum***. International journal of biosciences(IJB),2016. 9(6) :35-44.

33. Hamidi A(2013) : étude photochimique et activité biologique de la plante ***limoniastrum guyonianum***. Mémoire présenté obtenir le diplôme de magister en chimie organique, université kasdi merbah-ourgla.

34. Hammami S, Nguir A, Saidana D, Mighiri Z (2011) : chimicals analysais et antimicrobial effects of essential oil from ***limoniastrum guyonianum*** growing in Tunisia. Journal of médicinal plants Research, 5(12) 2540-2545.

35. HARBORNE, J.B., (1973): Flavonoids in phytochemistry, eds, j B Litton, 276P.

36. Harborne, J.B., (1988) : The flavonoids , Advances in research since 1980 Chapman & Hall. London 678.

37. Heijnen C, Haenen G, Van acker F, Van der vijgh W, and bast A, flavonoids as peroxynitrite scavengers : the role of the hydroxyl groups. Toxicology in vitro, 2001.15(1) : p.3-6.

38. Ibrahimi N.S, Hadian J, Mirjalili M.H, Sonboli A, et Yousefzadi M(2008): Essential oil composition and antibacterial activity of thymus caramanicus at different phonological stages. Journal of Food Elsevier chemistry, 110

39. Ksouri R, Megdiche W, Falleh H, Trabelsi N, Boulaaba M, smaoui A, and Abdelly C, Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. Comptes Rendus Biologies,2008.331(11) : p865-873.

40. Lamendin-G-H et toscano-p(2004)-phytothérapie et armothérapie buccodentaires Réquirand- EMC –Dentistrie, 1,179-192.

41. Landolfi . R, Mower R. L., and M. Steiner, "Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids: structure-activity relations," Biochemical pharmacology, vol. 33, pp. 1525-1530, 1984.

42. Lanks s,wewg aspects of natural products , in drug discoverg trends in microbiology , 2007,(6) :279-86.

43. Laraoui., H. (2007) : Etude phytochimique L'Extrait chloroformique de Bupleurum Atlanticum Docteur de l'université Louis pasteur (Chimie Organique, UV El Hadj Lakhdar Batna.

44. Lebrun jp, 1982: introduction a la flore d'afrique , faits et chiffers IEMVT.89.P7.

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

46. Maillard, M. N., (1996) : Thèse Doct., E.N.S.IA., Paris. P148

47. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. (2004) Polyphenols: Food sources and bioavailability. Am J Clin Nutr.79:727-747.

48. Marten s.Mithofer A.(2005) : flavones and flavone synthases phytovhemistry .66(19).2399-407.

49. Mazza G, Cacace JE, Kay CD. (2004) Methods of analysis for anthocyanins in plants and biological fluids. J AOA Int. 87 :129-145.

50. Medimagh S, Hammami S, Faidi K, Hajji N, Marcedo Abreu P.J, Mighri Z., (2010): Gallocatechin et trans syringing from ***limoniastrum guyonianum bois.*** Growing in Tunisia. journal de la société chimique de tunisie, 12: 207-210.

51. Medini F, Fellah H, Ksouri R, and Abdelly C, total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of shoots of the plante ***Limonium delicatulum***. Journal of taibah university for science,2014.8(3) : p 216-224.

52. Meyer warnod .(1984) : natural essentielles oils .extraction processes, and application to some major oils .perfumer R.flavorist

53. MICHALAK, A., (2006) : Phenlic compounds and their antioxidant activity in plants growing Under heavymetal stress. J of Environ stud, 15(4) : 526.

54. Michanie S, Escherichia coli 0157 :H7 la bacteria que disparo el HACCP en la industria de la carne. Enfasis alimentos, 2003.9(3) : p.1-7.

55. Michanie S, Escherichia coli 0157 :H7 la bacteria que disparo el HACCP en la industria de la carne. Enfasis alimentos, 2003.9(3) : p.1-7.

56. Molyneux P, the use of the stable free raical iphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. sci. Technol, 2004. 26(2).

57. Morton LW, Abu-Amsha CR, Puddey IB, Croft KD (2000) Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease. Clin Exp Pharmacol Physiol. 27: 152–159.

58. Nabila M, Ouahiba B, Nedjoud G,Meriem F, Bensaid M, M.A Leila, and D.M Reda, study of the Antimicrobial Activity of the Extracts of the Zucalyptus camadulensis and Eucalyptus globulus Stemming from the Algerian Northeast. Int.J.Pharm. Sci. Rev. Res,2016.39(2) :p1-5

59. Nacoulma AP., (2012) .Reprogrammation métabolique induite dans les tissus hyperplasiques formés chez le tabac infecté par Rhodococcus

fascinas :aspects fondamentaux et applications potentielles. Thèse de Doctorat en Sciences Pharmaceutiques. Université Libre de Bruxelles Europe. Belgique. 92

60. Nadjah A(1971) : les souf d'oasis. Edition la Maison de livres Alger,171

61. Nawchoo.I.A, In vitro antibacterial actinity and phytochmical studies of menthanolic extract of leaves of Hypericum perforatum L.growing wild in kashmir Himalaya. Asian Journal of Plant Science and Research, 2012.2(4) :p414-420

62. NITSCH, J.P., NITSCH, C. 1961-Synergis tes naturels des auxinexet des giberellines. Bull. Soc. Fr. 26 :2237-2240. Cité par

63. OURTDA. ch, (2012)composition chimique et activité antibacteriens des huielle essentielles des fuilles, de glcyrrhiza glabra, théses de doctorat faculté des sciences . universti-oran.

64. Ozenda P(2004) : flore et végétation du Sahara. 3éme édition, CNRS, paris, France.

65. Pannala A.S, Chan T.S, O'Brien P.J, Rice-Evans C.A, Flavonoid antioxidant activity : fast reaction kinetics. Journal of biochemical and biophysical Research communication, 2001. 282(5) :p. 1161-1168.

66. Pannala A.S, Chan T.S, O'Brien P.J, Rice-Evans C.A, Flavonoid antioxidant activity : fast reaction kinetics. Journal of biochemical and biophysical Research communication, 2001. 282(5) :p. 1161-1168.

67. Pereira R.C.P.DaGamaB.A,Teixeira V-Lyone shigue valentin y.y Ecological roles of natural products of the brazilian red, seaweed laurencia obtuse, B raz.j bio(2003,63)(4)-667-672.

68. Perveen A, and Qaiser M, pollen Flora of Pakistan-XXXIX. *Plumbaginaceae*. Pakistan journal of botany,2004.36(2).

69. Proceedings ,of first interrantional conference on islamic , medicine (1981)national al counicil for culture , arts , and letters, kuwait ,767.

70. Psotova J, Kolar M, Sousek J, Švagera Z, Vicar J, Ulrichova J. (2003) : Biological activities of Prunella vulgaris extract. Phytother Res. 17: 1082-1087.

71. Radjah A(2020) : valorisation et identification phytochimique des prencipes actifs de quuelques plants médicinales de la région biskra. Thése en vus de l'obtention du diplôme de doctorat LMD, universite mohamed khaider-biskra.

72. Reynard J., (2011). Comprendre la botanique. Chap 1.48-49 p

73. Saada M, Kasmi M, Ben jemaa M, Ksouri R., 2018- Antioxidant and antimicrobial activites of fractions an their related bioactive molecules identification by GC/MS and HPLC. Research Journal of Recent Sciences, vol. 7(5),1-5.

74. Sacks FM, Lichtenstein A, Van Horn L,Harris W, Kris-Etherton P, Winston M. (2006) Science Advisory for Professionals From the Nutrition Committe Soy Protein, Isoflavones, and Cardiovascular Health : An American Heart Association. Circulation. 2006 ;113 :1034-1044.

75. Sarni-Manchado P,V. Cheynier (2006) : Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 398 p.(ISBN 2-7430-0805-9).

76. Slinkard J, Signleton V(1977) : total phenol analysis : automation and comparison with manual methods. American Journal of enology and viticulture, 28 :49-55.

77. Stover C.K., Pham X.Q., Erwin A.L., Mizoguchi S.D., Warrener P., Hickey M.J., Brinkman F.S.L., Hufnagle W.O., Kowalik D.J., Lagrou M., Garber R.L., Tolentino E., Westbrock-Wadman S., Yuan Y., Brody L.L., Coulter S.N.K., Folger R., Kas A., Larbig K., Lim R ., Smit K ., Spencer D ., Wong G.K.S., Wu Z., Paulsenk I.T., Reizer J., Saier M.H., Hancock R.E.W., Lory S. et Olson M.V., (2000) Complete genome sequence of Pseudomonas aerugimosa PAO1, an apportumistic pathogen.(406).959-964 P.

78. Trabelsi N, Megdiche W, Ksouri R, Falleh H, Oueslati S, Hajlaoui H, and Abdelly C, solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte ***Limoniastrum monopetalum*** leaves. LWT-Food science and technology,2010.43(4) :p 632-639.

79. Trabelsi N, Oueslati S, Falleh H, Ksouri R, Abdelly C, Merillin J, Waffo-Teguo P, Papastamoulis Y (2012): Isolation of powerful antioxidants from the medicinal halophyte ***limoniastrum guyonianum***, Food chemisty, 135: 1419-1424.

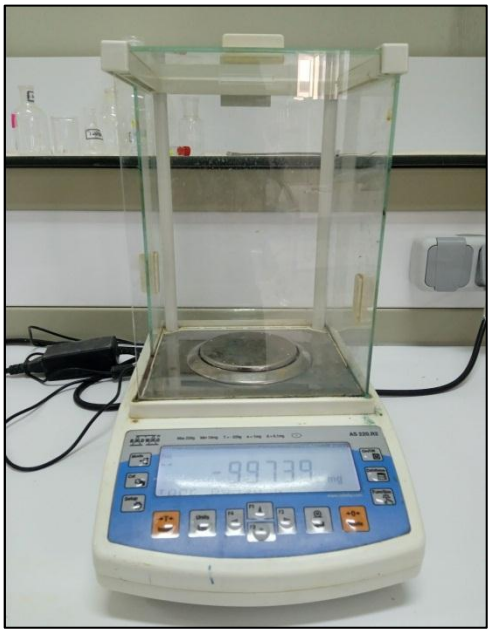
80. Williams , CA., Grayer , RJ.,(2004) : Anthocyanins and other flavonoids. Nat. Prod. Rep, 21, pp. 539-573.678.

81. Wink, M., (2010). introduction: Biochemistry, physiology and ecological functions of secondary metabolites, university Heidelberg. Germany(9):93-103.

82.

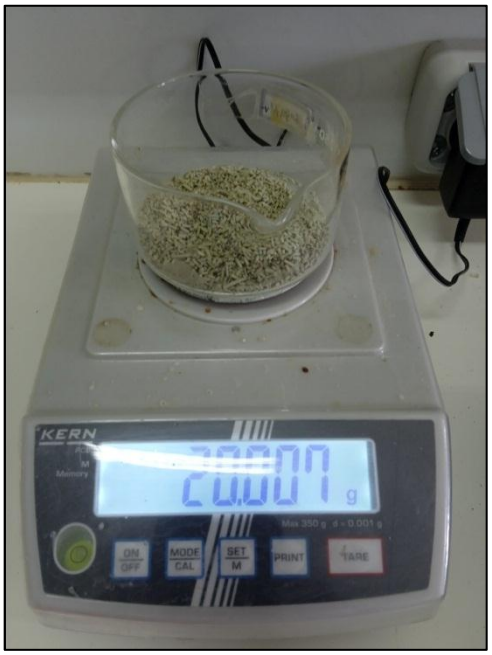
الملاحق

الملاحق



الملحق 01: الميزان الحساس

الملحق 02: Sentrvuges



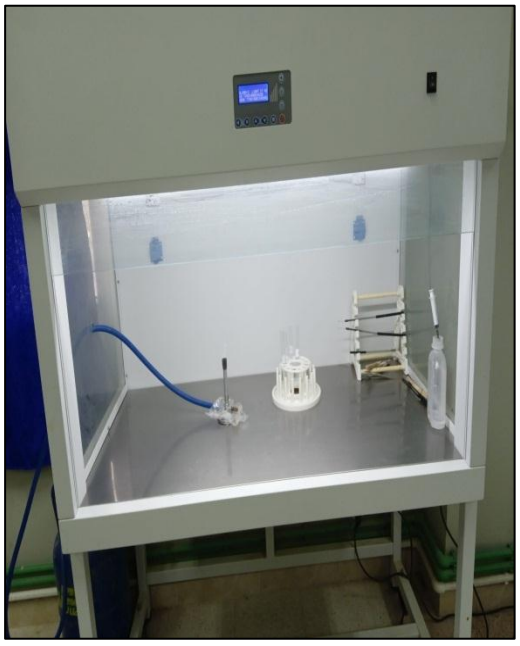
الملحق 03: ميزان(g)

الملحق 04: Ultrason laboratoire

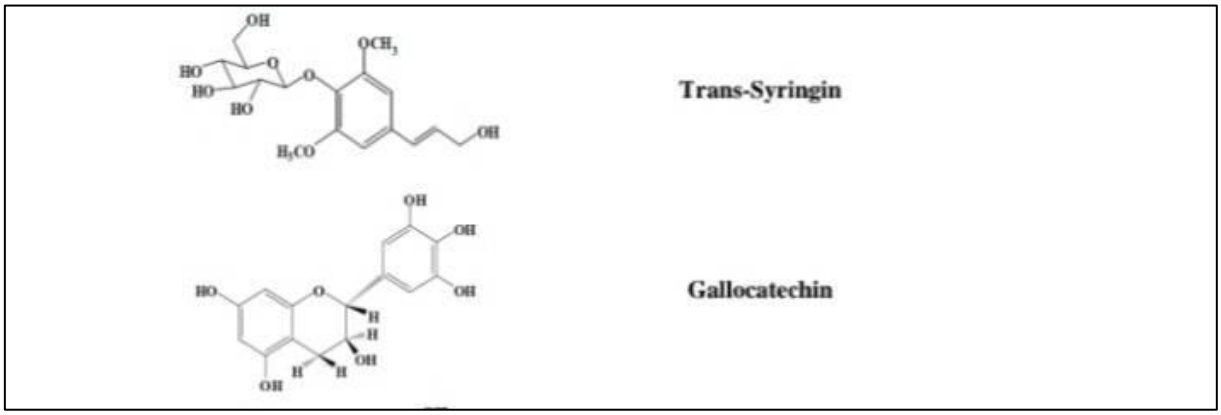
الملحق 05: الفرن

الملحق 06: Autoclave

الملحق 07 : Bain marin



الملحق 08: Bec benzène



الملحق 09: المركبات المعزولة من نبات الزيتة حسب دراسات سابقة