



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي
كلية العلوم الدقيقة
قسم الكيمياء

رقم الترتيب:.....
الرقم التسلسلي:.....

مذكرة تخرج لنيل شهادة
ماستر أكاديمي في الكيمياء
تخصص: كيمياء عضوية
إعداد الطالبة: نورالهدى حمادو

تحت عنوان:

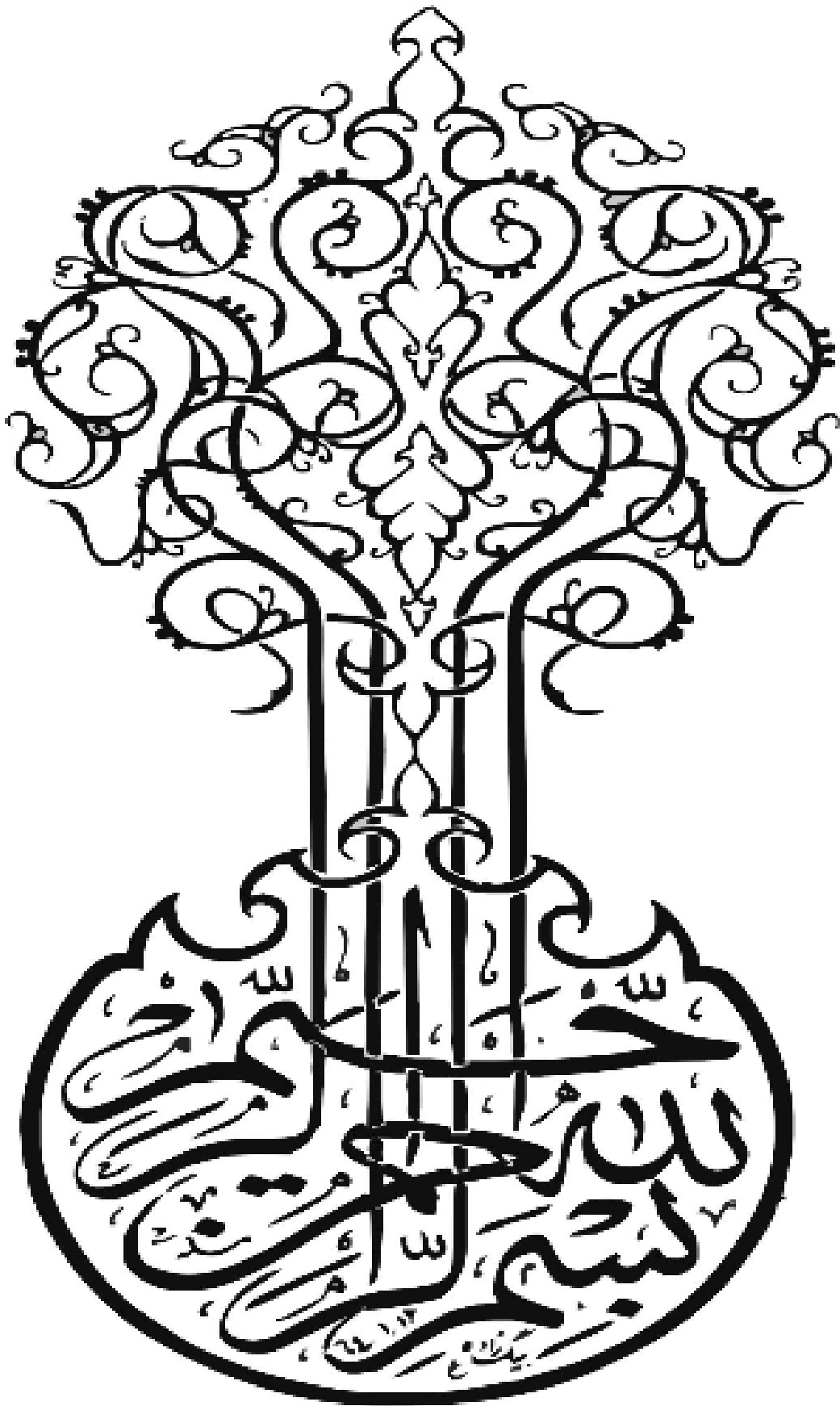
تقدير المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا
للنبته *Senecio delphinifolius Vahl*

نوقشت يوم: 2018/09/27

أمام اللجنة المكونة من:

رئيسا	جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي	أستاذ محاضر (ب)	مازري راضية
ممتحنا	جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي	أستاذ مساعد (أ)	نموسة يحيى التجاني
ممتحنا	جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي	أستاذ مساعد (أ)	زواري رشيدة
مؤطرا	جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي	أستاذ محاضر (ب)	التجاني سكيبة

السنة الجامعية : 2018/2017



الإهداء

أهدي هذا العمل المتواضع

إلى أعظم نساء الدنيا أمي الحبيبة حفظها الله

إلى من أحمل إسمه بفخر أبي رحمه الله

أخي توأم روعي نورالدين

إلى أخواتي : فتيحة، صبرينة، سهام، خاصة عايدة

إلى زوجي مولود وكل عائلته

إلى جميع الأهل و الأصدقاء وأخص بالذكر

سورية بن قدوج، زهرة جلابي، مريم بريك، مسعودة جعفر

إلى كل طلبة الماستر كيمياء دفعة 2018

"قلب لا يعرف اليأس"

شكر وتقدير

نحمد الله الذي تفرد بالجلال والعظمة والكبرياء،
ونشكره شكر عبد معترف بالتقصير عن شكر بعض ما أولاه من النعم والأفضال.
أتقدم بالشكر والثناء للأستاذ الدكتورة الفاضلة **التجاني سكيئة** لقبولها الإشراف على هذا العمل، وعلى
توجيهاتها ونصائحها القيمة لانجاز هذا العمل.
كما لا يفوتنا أن نشكر الأستاذ الفاضل الدكتور **العائز التهامي** على تأمينه لنا لمخبر ترقية وتكنولوجية
الموارد الصحراوية (VRTS) في جامعة الوادي الذي تمت فيه الدراسة.
وننتقدم بجزيل الشكر للأستاذ الدكتور **أحمادي رضا** على مده لي يد العون والمساعدة لإتمام هذا العمل
كما أتوجه بالامتنان و الشكر الجزيل للأساتذة الذين يتولون مناقشة هذه المذكرة،
" مازري راضية"، " ناموسة يحيى التجاني"، " زواري رشيدة".
كما أوجه خالص الشكر للأستاذ **ربيبي عبد الكريم**، الأستاذ **تليلي محمد العيد** على كرمهم ومساعدتهم لنا.
ولا يفوتني أن أشكر عمال مخابر الكيمياء على رأسهم مسؤول المخبر المهندس **محمد علي طليبة**.
كما أخص بالشكر كل من **الطالبة حنان مودع**، و**الطالبتين بليلة سعيدة**، و**نيس زكية اللاتي** لم يبخلن بمد
يد العون والمساعدة ولما بدلوه من وقت هم في أمس الحاجة إليه.
كما لا أنسى أن أشكر كل الأساتذة الذين ساهموا في تكويننا خلال مساري الدراسي،
وكل طالبة ماستر كيمياء دفعة 2018.

المخلص :

تهدف هذه الدراسة إلى تقدير المحتوى الفينولي واختبار الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا لمستخلصات n-butanol للنبته *VahlSenecio delphinifolius*.

لتحقيق هذا الهدف قمنا باستخلاص المركبات الفينولية. ومن بعدها تم التقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة الأشعة فوق البنفسجية والمرئية. ويليهما التقدير الكمي والنوعي بواسطة جهاز (HPLC) بالنسبة لمستخلصات n-butanol.

كما تمت دراسة الفعالية المضادة للأكسدة باستعمال الطريقة الكهروكيميائية وقد توصلنا إلى أن مستخلصات n-butanol تمتلك قدرة تثبيطية لجذر الأكسجين الحر.

وكخطوة أخيرة تم اختبار الفعالية المضادة للبكتيرية على سلالتين بكتيريتين ممرضتين وقد كانت النتائج متفاوتة.

الكلمات المفتاحية : *VahlSenecio delphinifolius* - Asteraceae - المركبات الفينولية - الفعالية المضادة للأكسدة- الفعالية المضادة للبكتيريا.

Résumé:

Le but de cette étude est d'estimer le contenu phénolique et de sélectionner l'activité antioxydant et antibactérienne des extraits de n-butanol de la plante *Senecio delphinifolius* Vahl .

Pour atteindre cet objectif, nous avons extrait des composés phénoliques par le n-butanol. Les composés phénoliques ont été quantifiés par rayonnement ultraviolet (Rayons UV) et visible. suivi par une évaluation quantitative et qualitative par l'appareil de (HPLC) pour les extraits de n-butanol.

l'activité antioxydant a été étudiée en utilisant la méthode électrochimique et nous avons trouvé que les extraits de n-butanol avaient une capacité inhibitrice de la racine d'oxygène libre.

En dernière étape, l'activité antibactérienne a été testée sur deux souches bactériennes et les résultats ont été mitigés.

Les mots clés : *Senecio delphinifolius* Vahl - Asteraceae - Composés phénoliques - l'activité antioxydant- l'activité antibactérienne.

14	3-2-2-2-I الفلافونيدات
14	1-3-2-2-2-I تعريف الفلافونيدات
15	2-3-2-2-2-I تصنيفها
17	3-3-2-2-2-I الفعالية البيولوجية للفلافونيدات
18	3-I الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الكهروكيميائية
18	1-3-I الفولطمترى
18	1-1-3-I الفولطمترى الحلقي
19	2-1-3-I مجالات استخدام التقنيات الفولطمترية
19	2-3-I تقدير الفعالية المضادة للأكسدة
19	1-2-3-I الطريقة الكهروكيميائية بإستعمال الفولطمترى الحلقي
20	2-2-3-I الجذور الحرة و مضادات الأكسدة
20	1-2-2-3-I الجذور الحرة
21	1-1-2-2-3-I جذر فوق أكسيد أنيون
21	2-2-2-3-I مضادات الأكسدة
21	1-2-2-2-3-I تعريفها
22	2-2-2-2-3-I تصنيفها
22	A-2-2-2-2-3-I مضادات الأكسدة المصطنعة
22	B-2-2-2-2-3-I مضادات الأكسدة الطبيعية
22	C-2-2-2-2-3-I مضادات الأكسدة تبعا للمنشأ
23	4-الفعالية المضادة للبكتيريا
23	4-I البكتيريا
23	1-1-4-I تعريفها
24	2-1-4-I بنيتها
25	3-1-4-I تصنيفها
25	1-3-1-4-I من حيث توزيع أسواطها
25	2-3-1-4-I من حيث الشكل
25	3-3-1-4-I من حيث الوسط الذي تعيش فيه
26	4-3-1-4-I من حيث التغذية
26	5-3-1-4-I من حيث طريقة التلويين
26	6-3-1-4-I من حيث الأثر على الإنسان
27	4-1-4-I البكتيريا المدروسة
27	2-4-I المضادات الحيوية
27	1-2-4-I تعريفها
27	2-2-4-I أنواع المضادات الحيوية
28	طريقة الإنتشار
	المراجع

الفصل الثاني

الطرق والوسائل

- 36 II-1- حصاد المواد النباتية
- 36 II-2- الأجهزة والمواد المستعملة
- 37 II-3- تعريف الإستخلاص
- 37 II-4- إستخلاص المركبات الفينولية لنبته *Senecio delphinifolius* Vahl
- 37 II-1-4- مستخلصات n-butanol
- 39 II-2-4- مستخلصات الميثانول
- 40 II-5- التقدير الكمي للفينولات بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية
- 40 II-1-5- رسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك
- 41 II-2-5- التقدير الكمي للفينولات في المستخلصات البوتانولية للنبته المدروسة
- 42 II-6-5- التقدير الكمي للفلافونيدات بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية
- 42 II-1-6- رسم المنحنى القياسي للكركستين
- 43 II-2-6- التقدير الكمي للفلافونيدات في المستخلصات البوتانولية للنبته المدروسة
- 44 II-7- التقدير الكمي والنوعي للفينولات بواسطة جهاز HPLC
- 44 II-1-7- الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)
- 44 II-1-1-7- المبدأ
- 45 II-2-1-7- مكونات الجهاز
- 45 II-2-7- تحضير العينات
- 46 II-3-7- التقدير الكمي والنوعي للفينولات بواسطة جهاز HPLC
- 47 II-1-3-7- شروط التجربة
- 48 II-8- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة
- 50 II-1-8- حساب نسبة القدرة اللازمة لتثبيط الجذور الحرة
- 52 II-2-8- حساب نسبة القدرة اللازمة لتثبيط الجذور الحرة لمستخلصات n-butanol
- 54 II-9- الفعالية المضادة للبكتيريا
- 55 II-1-9- تحضير اوساط الزرع
- 55 II-2-9- تحضير المعلق البكتيري
- 55 II-3-9- زراعة البكتيريا
- 55 II-4-9- وضع الاقراص
- المراجع

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة

- 61 III-1- مردود الإستخلاص
- 63 III-2- التقدير الكمي للفينولات بواسطة الجهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية

65	III-3- التقدير الكمي للفلافونيدات بواسطة الجهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية
67	III-4- التحليل الكمي والنوعي للفينولات بواسطة جهاز HPLC
69	III-5- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة
70	III-6- الفعالية المضادة للبكتيريا
75	خاتمة
	الملاحق

فهرس الأشكال

الفصل الأول	
الجزء النظري	
8	I.1- التصنيف العلمي للنبته
10	I.2- التوزيع الجغرافي للنبته
11	I.3- نموذج لمركبين غير فينوليين
11	I.4- نموذجين لمركبين فينوليين
12	I.5- نماذج فينولية من الشكل C6-C2.C6-C1. C6
12	I.6- نماذج فينولية من الشكل C6-C4. C6-C3
13	I.7- نماذج للفينولات من الشكل C6-C2-C6، C6-C1-C6
13	I.8- نماذج لأحماض البنزويك
13	I.9- نماذج لأحماض السيناميك
14	I.10 نماذج للكومارينات
15	I.11- الوحدة الأساسية للفلافونيدات
16	I.12- أهم أقسام الفلافونيدات
24	I.13- رسم تخطيطي يوضح التركيب العام للبكتيريا
الفصل الثاني	
الطرق والوسائل	
39	II.1- مخطط يوضح مراحل الإستخلاص العام لمستخلصات n-butanol
40	II.2- مخطط يوضح مراحل الإستخلاص العام لمستخلصات الميثانول
45	II.3- مكونات جهاز الـ HPLC
59	II.4- المكونات الأساسية لجهاز PGZ301 VoltaLab 40
الفصل الثالث	
النتائج والمناقشة	
62	III.1- مخطط يوضح نسبة مردود مستخلصات n-butanol
62	III.2- مخطط يوضح نسبة مردود مستخلصات الميثانول
62	III.3- كمية الفينولات الكلية في المستخلصات n-butanol
64	III.4- كمية الفينولات الكلية في المستخلصات الميثانولية
66	III.5- كمية الفلافونيدات الكلية في المستخلصات n-butanol

66	6.III - كمية الفلافونيدات الكلية في المستخلصات الميثانولية
67	7.III - كروماتوغرام مستخلص الزهرة
68	8.III - كروماتوغرام مستخلص الساق
68	9.III - كروماتوغرام مستخلص الجذور
72	10.III - مخطط يوضح أقطار تثبيط البكتيريا <i>Klebsiella Pneumoniae</i>
73	11.III - مخطط يوضح أقطار تثبيط البكتيريا <i>Listeria innocua</i>

فهرس الجداول

الفصل الأول

الجزء النظري

17	1.I - بعض المركبات الفينولية المستعملة في الطب والصيدلة
27	2.I - نوع البكتيريا المدروسة

الفصل الثاني

الطرق والوسائل

41	1.II - قيم الإمتصاصية لحمض الغاليك
43	2.II - قيم الإمتصاصية للكروستين
41	3.II - زمن المكوث للفينولات المرجعية
47	4.II - الشروط التجريبية لجهاز HPLC لفصل المركبات الفينولية
48	5.II - تغيرات نسبة الطور المتحرك A و B بدلالة الزمن

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة

61	1.III - مردود الإستخلاص بـ n-butanol
62	2.III - مردود الإستخلاص بالميثانول
63	3.III - قيم الإمتصاصية للتراكيز المحضرة بالنسبة للمستخلصات البوتانولية
63	4.III - قيم الإمتصاصية للتراكيز المحضرة بالنسبة للمستخلصات الميثانولية
63	5.III - كمية الفينولات الكلية في المستخلصات البوتانولية
64	6.III - كمية الفينولات الكلية في المستخلصات الميثانولية
65	7.III - قيم الإمتصاصية للتراكيز المحضرة بالنسبة للمستخلصات البوتانولية
65	8.III - قيم الإمتصاصية للتراكيز المحضرة بالنسبة للمستخلصات الميثانولية
65	9.III - كمية الفلافونيدات الكلية في المستخلصات البوتانولية
66	10.III - كمية الفلافونيدات الكلية في المستخلصات الميثانولية
69	11.III - المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلصات وكميتها
70	12.III - قيم IC_{50} بوحدة (مغ/مل) للعينات المدروسة
70	13.III - التركيز المحضرة لدراسة الفعالية المضادة للبكتيريا
72	14.III - الفعالية التثبيطية للمستخلصات البوتانولية تجاه <i>Listeria innocua</i> و <i>Klebsiella Pneumoniae</i> بـ (ملم)

فهرس الصور

الفصل الأول

الجزء النظري

- 9 1.I - عشبة *Senecio delphinifolius Vahl*
- 9 2.I - صورة لـ *Senecio delphinifolius Vahl*

الفصل الثاني

الطرق والوسائل

- 42 1.II - المحاليل بعد إضافة كاشف الفولين
- 43 2.II - المحاليل بعد إضافة ثلاثي كلوريد الألمنيوم
- 46 3.II - صورة العينات المحضرة بعد الفلترة
- 49 4.II - صورة للخلية الزجاجية (v=25ml)
- 55 5.II - وسط معقم بوجود موقد
- 56 6.II - أطباق بيتري تحتوي على البكتيريا و أقراص المضاد الحيوي والمستخلصات قبل الحضان

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة

- 71 1.III - الأثر التثبيطي للمستخلصات البوتانولية على بكتيريا *Listeria innocua*
- 71 2.III - الأثر التثبيطي للمستخلصات البوتانولية على بكتيريا *Klebsiella Pneumoniae*

فهرس المنحنيات

الفصل الثاني

الطرق والوسائل

- 41 1.II - المنحنى القياسي لحمض الغاليك
- 43 2.II - المنحنى القياسي للكرستين
- 50 3.II - المنحنى الفولطمترى الحلقى للكهروليت المساعد مع المذيب
- 51 4.II - المنحنى الفولطمترى الحلقى للكهروليت المساعد مع المذيب وبوجود الأكسجين
- 52 5.II - المنحنيات الفولطمترية الحلقية لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الكرستين
- 52 6.II - منحنى بياني لتغيرات نسبة القدرة اللازمة لتثبيط الجذور الحرة بدلالة تركيز الكرستين
- 53 7.II - المنحنيات الفولطمترية الحلقية لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من مستخلصات n-butanol (الساق، الزهرة، الجذور) للنبتة المدروسة
- 54 8.II - منحنيات بيانية لتغيرات نسبة القدرة اللازمة لتثبيط الجذور الحرة بدلالة التركيز لـ مستخلصات n-butanol (الساق، الزهرة، الجذور) للنبتة المدروسة

قائمة المختصرات

TBFP	Tetra butyl ammonium hexafluorophosphate
DMSO	Dimethyl sulfoxide
$O_2^{\bullet-}$	Superoxide anion
ROS	Reactive oxygen species
R %	Rendement en %
A	الامتصاصية
I%	النسبة المئوية للتثبيط
IC50	تركيز المستخلص اللازم لتثبيط % 50 من جذر $O_2^{\bullet-}$
EPa	كمون مصعدي
EPc	كمون مهبطي
FF ،F	الزهرة
BT ,B	الساق
R	الجذر
Red	الإرجاع
OX	الأكسدة
UV-Vis	الأشعة فوق البنفسجية - المرئية
Λ	الطول الموجي

المقدمة العامة

مقدمة عامة

إن دراسة خواص النباتات المختلفة وتميزها عن بعض ومعرفة أسمائها الحقيقية له أهمية كبيرة، ولهذا تضافرت جهود العلماء في حقب متعاقبة على دراسة هذه النباتات حتى يسهل التمييز فلا يؤدي الجهل بها إلى الخلط بين نبات وآخر. إن معرفة النباتات وفعاليتها يزيد قدرتنا لتوجيه نمو النباتات وتحسين الإنتاج واستغلاله أحسن إستغلال، ومن هذه النباتات النافعة نجد نبات *Senecio delphinifolius Vah* الذي له خصائص كيميائية يتميز بها عن باقي النباتات [1]

وفي الواقع إن مضادات الأكسدة الطبيعية هي موضوع لكثير من البحوث الجديدة نحو استغلال المركبات الثانوية من بينها المركبات الفينولية والفلافونيدية التي لهما خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للمواد المسرطنة المتواجدة في الأغذية والنباتات الطبيعية [2].

إن من أهم طرق تقدير المواد الفعالة هي الطرق الطيفية التي تعتمد على طيف الأشعة فوق بنفسجية والمرئية مثل طريقة (Singleton and Rossi) لتقدير الفينولات الكلية [3]، وطريقة (Woisky and Salatino) لتقدير الفلافونيدات الكلية وغيرها من الطرق [4]. الطرق التي يتم فيها تقدير المركبات الفينولية منفردة هي الطرق الكروماتوغرافية التي تعتمد على أجهزة الفصل ذات التصفية المتطورة كجهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء والمزودة بسلسلة متنوعة من الكواشف أو اللواقط [5][6].

المركبات الفينولية التي يتم تقديرها إجمالاً أو منفرداً تمتلك خاصية تجعلها فعالة حيويًا، تتمثل هذه الخاصية في قدرتها على اكتساح الجذور الحرة وتسمى عادة مضادات الأكسدة. يتم تقدير هذه الخاصية بعدة طرق من بينها الطرق اللونية في وجود كاشف معين وعدة ما يكون جذر حر، لكن هذه الطرق لم تعد كافية في ظل هذا الانتشار الواسع للأبحاث والدراسات المطروحة في هذا المجال. خاصة بعد الاكتشافات التي توصلت إلى الجذور الحرة والمتمثلة في أنواع الأوكسجين النشط (ROS) المسؤولة على تلف المواد الغذائية ونشوء عدة أمراض مثل : داء السكري والالتهابات المزمنة وبعض أنواع السرطان، مما تطلب البحث عن طرق تحليلية جديدة دقيقة وسهلة للتقدير السريع لمضادات الأكسدة من أجل ذلك توسعت دائرة البحث لتشمل طرق وتقنيات رخيصة التكلفة مثل الطرق الكهروكيميائية. أكثرها شيوعاً التي تعتمد على الفولطمري الحلقي التي يتم فيها إنتاج الجذور الحرة وتكميم إستهلاكها بنفس التقنية [7].

نظراً لما تتميز به بلادنا الجزائر من إتساع رقعتها وتنوع مناخها، ما يعكس الغطاء النباتي فيها. وبغرض تثمين الثروة النباتية في الجزائر. سعينا في هذا العمل إلى تقدير المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا للنبته *Senecio delphinifolius Vah*.

ومن أجل انجاز هذا البحث تم تقسيم هذا العمل الى ثلاثة فصول

❖ **الفصل الأول : الجزء النظري**

✓ الدراسة النظرية للنتبة

✓ المركبات الفينولية

✓ عموميات حول الفعالية المضادة للأكسدة والطريقة الكهروكيميائية

✓ عموميات حول البكتيريا

❖ **الفصل الثاني : الطرق والوسائل.**

❖ **الفصل الثالث : النتائج والمناقشة.**

المراجع

- [1] مهيري أحلام، رحيم هناء، 2005- دراسة النشاطية ضد الميكروبية لنبات *Senecio Delphinifolius Vahl*، مذكرة قدمت لنيل شهادة الدراسات العليا في الميكروبيولوجيا.
- [7] ربيعي عبد الكريم، 2016- تقدير المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للأكسدة لمنتجات النحل في الجزائر بالطرق الكهروكيميائية، رسالة محاضرة لنيل شهادة الدكتوراه، جامعة قاصدي مرباح ورقلة.

- [2] BENHAMMOU N., 2012-Activité antioxydant des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse doctorat. Université Aboubakr Belkaïd.Tlemcen. 174 p.
- [3] Bondet, V., Brand-Williams, W., & Berset, C., 1997- Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method. *LWT-Food Science and Technology*, 30(6), 609-615.
- [4] Dudonne, S., Vitrac, X., Coutiere, P., Woillez, M., & Mérillon, J. M. 2009- Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1768-1774.
- [5] Zulueta, A., Esteve, M. J., & Frígola, A., 2009- ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114(1), 310-316.
- [6] Bordonaba, J. G., & Terry, L. A., 2012- Electrochemical behaviour of polyphenol rich fruit juices using disposable screen-printed carbon electrodes: Towards a rapid sensor for antioxidant capacity and individual antioxidants. *Talanta*, 90, 38-45.

الفصل الأول

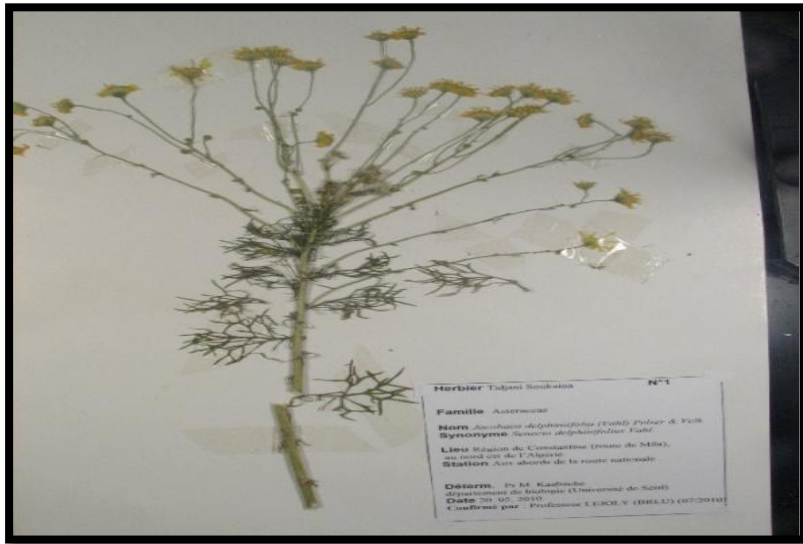
الجزء النظري

5. *Senecio delphinifolius*.
6. *Senecio gallieus*.
7. *Senecio nebrodeusis*.
8. *Senecio leucanthewifolius poiret*.
9. *Senecio mikanoi des otto*.
10. *Senecio auricula bourgeau*.
11. *Senecio linifolius L*.
12. *Senecio perralderianus. Cass et Dur*.
13. *Senecio giganteus. Desf*.
14. *Senecio jacobaea L*.
15. *Senecio gallerandians. Cass et Dur*.
16. *Senecio cineraria L*.
17. *Senecio erucaefolius L[3]*.

I-1-2-دراسة كيميائية نباتية لـ نبتة *Senecio delphinifolius Vahl*I-1-2-1-التصنيف العلمي لـ للنبتة [3]*Senecio delphinifolius Vahl*

	Plant Kingdom	المملكة النباتية	
	↓	↓	
Spermatophyta	Division	قسم	النباتات البذرية
	↓	↓	
Angiospermae	Sub Division	تحت القسم	مغطاة البذور
	↓	↓	
Dicotyledoneae	Class	الصف	ذوات الفلقتين
	↓	↓	
Sympetalatae	Sub Class	تحت الصف	ملتحمة البتلات
	↓	↓	
Campanulatae	Order	الرتبة	الكامبانيولات
	↓	↓	
Compositae	Family	الفصيلة	المركبة
	↓	↓	
Senecio	Genus	جنس	شيخة
	↓	↓	
Senecio	Specie	النوع	
delphinifolius Vahl			

الشكل 1.I : التصنيف العلمي لـ *Senecio delphinifolius Vahl*.



الصورة 1.I : عشبة *Senecio delphinifolius Vahl*.

1-2-2-1-وصف النبتة *Senecio delphinifolius Vahl* [3]

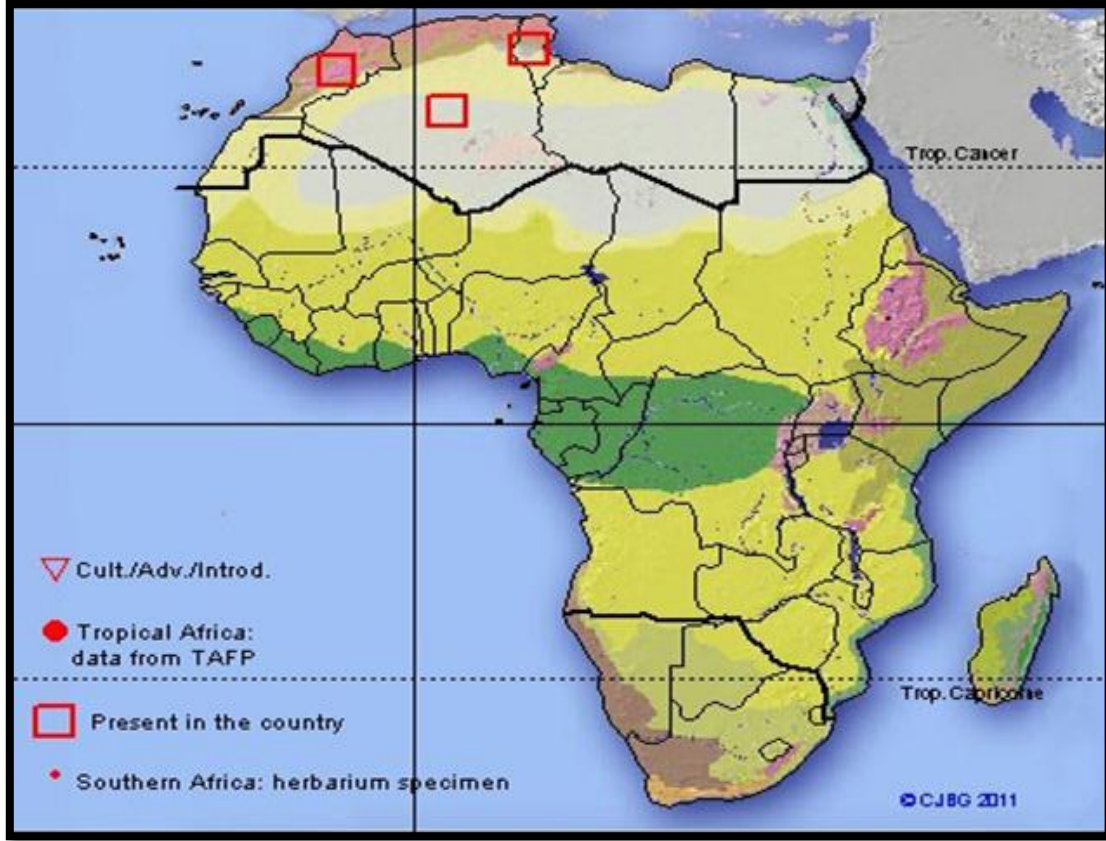
هو نبات مكسو بشعر غدي ولامع جد صغير (1-1.5م طولاً)، يكون إهليلجي، طول هذا النبات يتراوح بين 20-50 سم به جذوع زغبية، أوراق داخلية تمثل ذئب أي جزء دقيق من ضلع الورقة يوصل النصل بالقصيب و يؤمن له النسغ.



الصورة 2.I : صورة لـ *Senecio delphinifolius Vahl* [3].

I-1-2-3- الموطن والتوزيع الجغرافي

نبتة *Senecio delphinifolius Vahl*، موجودة في المنطقة المغاربية كما في الشكل (2.I)، اسمها بالعامية في الجزائر هو " حشيشة الطلبة ". تتواجد في الأماكن الصخرية وعلى جوانب الطرق [4].



الشكل 2.I : التوزيع الجغرافي لنبتة *Senecio delphinifolius Vahl* [5].

I-2- المركبات الفينولية

مدخل

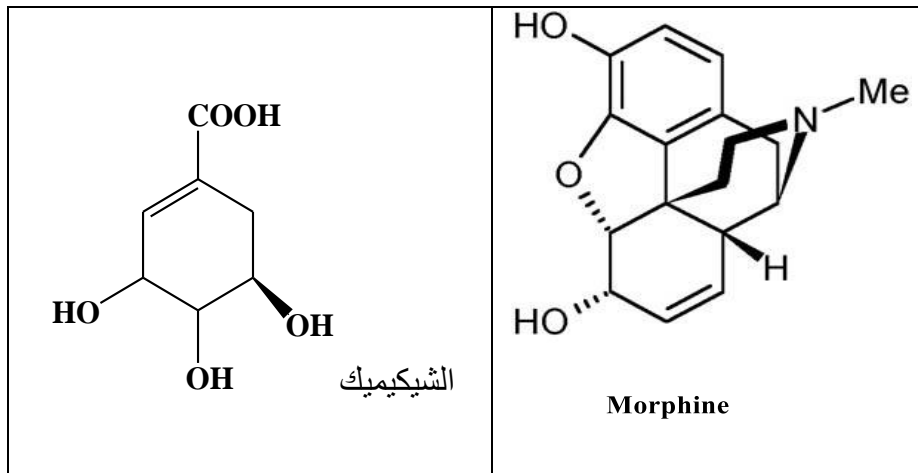
إهتم الباحثون في السنوات الأخيرة بالمركبات الطبيعية التي تتميز بصفات علاجية واقتصادية مهمة ومن بينها المركبات الفينولية .

إذ استغلت هذه المركبات بصفة واسعة في مجال العلاج النباتي <<phytothérapie>> وفي بعض الاختصاصات الأخرى نظرا لخواصها العلاجية المتعددة [6]. ولعل أهم فعالية تميزت بها هذه المركبات ولفتت انتباه الباحثين هي الفعالية المضادة للأكسدة.

1-2-I- تعريف المركبات الفينولية

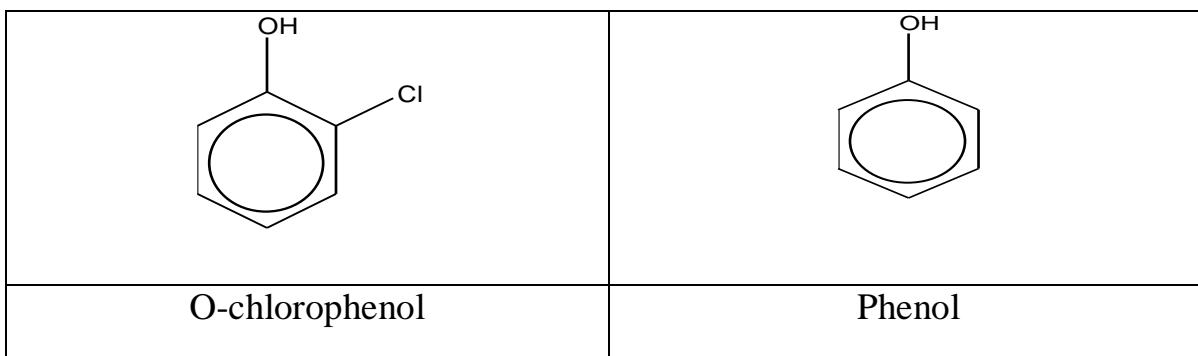
تشكل المركبات الفينولية المستخلصة من النباتات حيزا كبيرا في حقل المنتجات الطبيعية، نظرا لكثرة عددها ولتباين هياكلها، الأمر الذي يستدعي دراستها في مراجع متخصصة على هيئة مجموعات وفقا لهذه الهياكل.

والعنصر الأساسي المميز لها هو وجود حلقة بنزينية واحدة على الأقل، حاملة لمجموعة هيدروكسيلية حرة أو مرتبطة بوظيفة أخرى (إيثر، أستر، سكر) غير أن تعريفها كيميائيا صرفا للفينولات بهذه الطريقة يعد غير كاف لتشخيص المركبات الفينولية النباتية [7]، وليكون تعريفها أكثر ضبطا ينبغي تعريفه كالآتي: مشتق غير آزوتي حاوي على حلقة بنزين أو أكثر تحمل مجموعة هيدروكسيل حرة أو مرتبطة بوظيفة أخرى تكون حلقاتها العطرية إما من حمض شيكيميك أو عديد الأسيتات [8][9].



الشكل 3.I : نموذج لمركبين غير فينولين

وهي مركبات لها الصيغة العامة Ar-OH، كما تختلف عن الكحولات لارتباط OH مباشرة بالحلقة الأروماتية.



الشكل 4.I : نموذجين لمركبين فينولين.

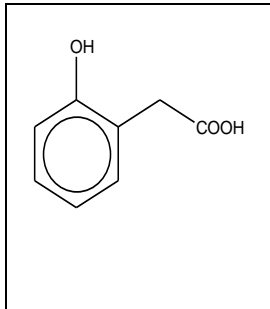
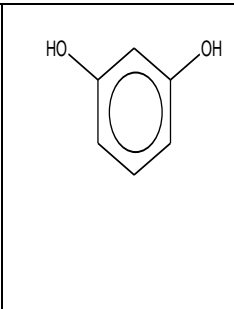
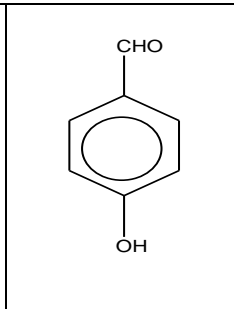
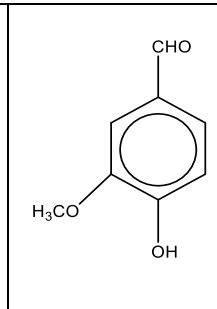
I-2-2- أقسامها

يمكن تقسيم المركبات الفينولية الطبيعية تبعاً لتواجدها وتعقيدها وحسب 1964 simmonds Harborne [7][10]:

1. عائلة المركبات الفينولية النباتية قليلة الانتشار.
2. عائلة المركبات الفينولية النباتية كثيرة الانتشار.
3. المركبات الفينولية النباتية المتواجدة في الطبيعة على صورة بوليميرات .

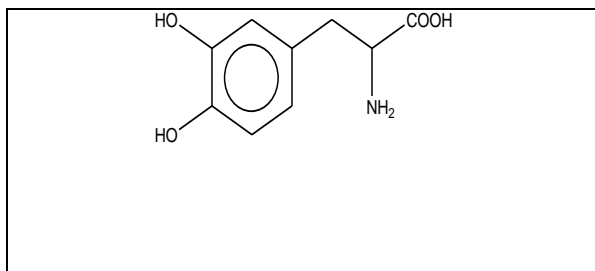
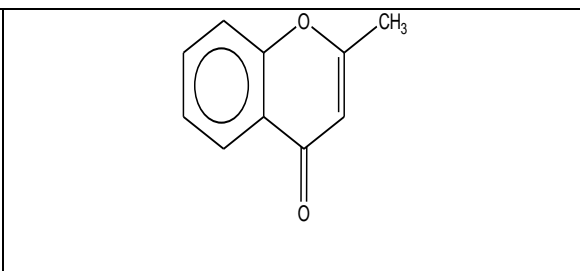
I-2-2-1- عائلة المركبات الفينولية النباتية قليلة الانتشار

I-2-2-1-1- المركبات الفينولية من الشكل C₆, C₆-C₁, C₆-C₂ : وهي مركبات ذات هياكل بسيطة قليلة الانتشار في الطبيعة، وتعد في معظم الأحيان مكونات للزيوت الطيارة وهي في الغالب كحولات، ألدهيدات كيتونات.

			
Ac.o-hydroxy Phénylacétique	Résorcinol	4-hydroxy- benzldehyde	Vanilline

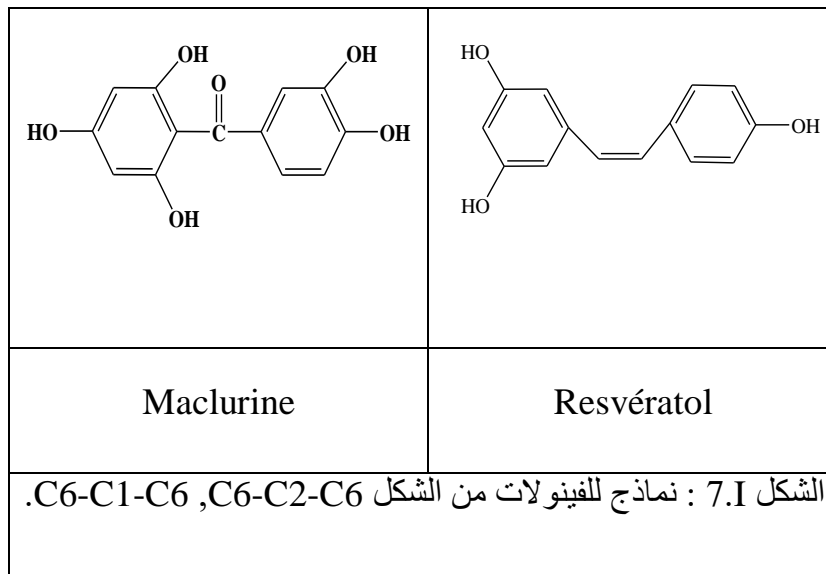
الشكل 5.I : نماذج لمركبات فينولية من الشكل C₆. C₆-C₂. C₆-C₁.

I-2-1-2-2- المركبات الفينولية من الشكل C₆-C₃, C₆-C₄

	
Dihydroxphénylalanine	Chromone

الشكل 6.I : نماذج للمركبات الفينولية من الشكل C₆-C₄. C₆-C₃.

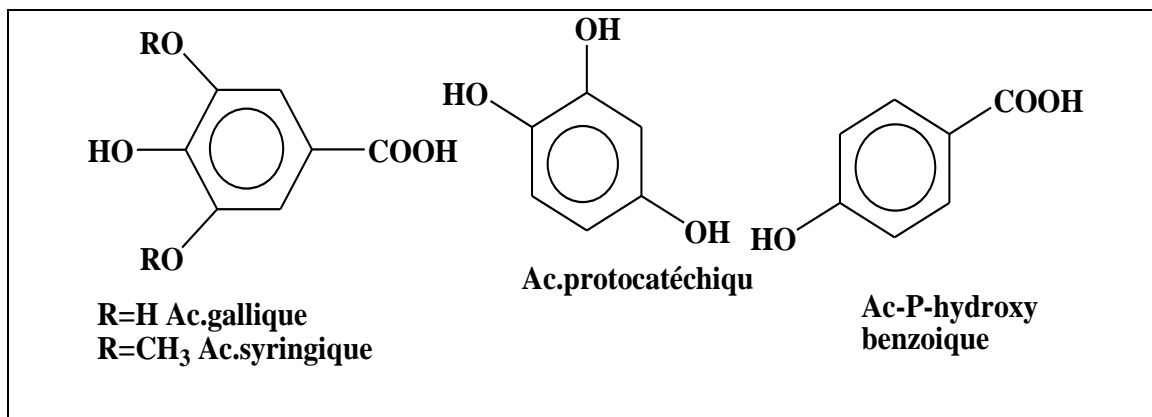
2-I-2-3-1- المركبات الفينولية من الشكل C6-C2-C6 , C6-C1-C6



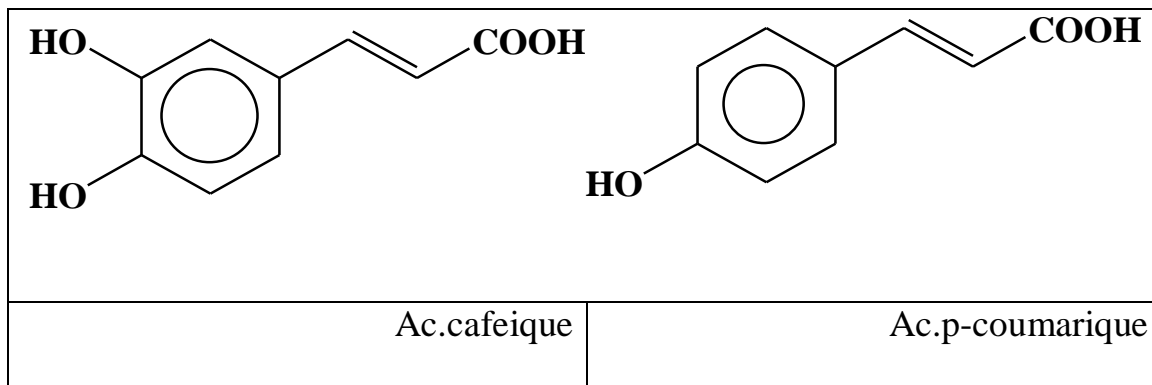
2-I-2-2-2- عائلة المركبات الفينولية النباتية واسعة الانتشار

2-I-2-2-2-1- الأحماض الفينولية

أحماض بنزويك C7 وأحماض سيناميك C9

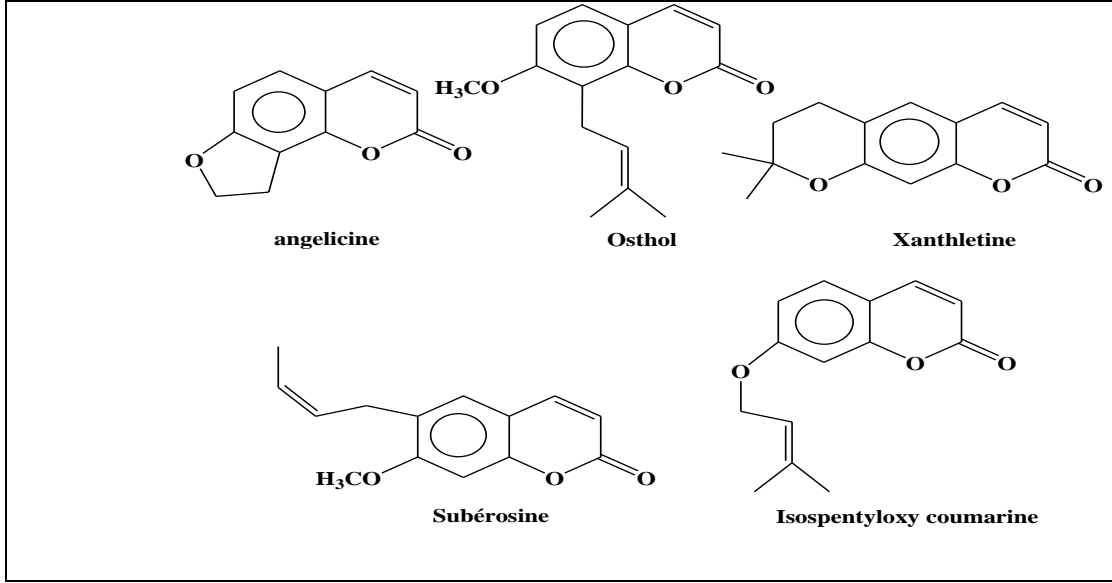


الشكل 8.I : نماذج لأحماض البنزويك



الشكل 9.I : نماذج لأحماض السيناميك

I-2-2-2-2 الكومارينات : تتشكل من حلقتين سداسيتين إحداها عطرية و الأخرى مغايرة ذات البنية (C₆-C₃).



الشكل I.10 : نماذج للكومارينات.

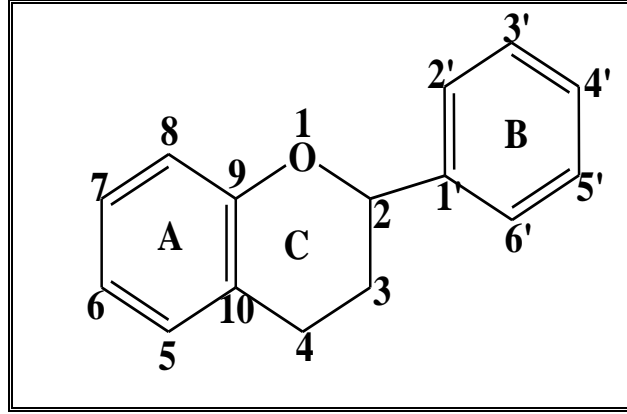
I-3-2-2-2 الفلافونيدات

I-1-3-2-2-2 تعريف الفلافونيدات

الفلافونيدات أحد أقسام المركبات الفينولية، أول مكتشف للمركبات الفلافونيدية تحصل على جائزة نوبل سنة 1936م، ومنذ ذلك العام تم التعرف على حوالي 9000 بنية فلافونيدية [6].

يرجع تسمية Flavonoïde في اللغة اللاتينية إلى الكلمة الإغريقية Flavus التي تعني اللون الأصفر، وهي عبارة عن صبغات نباتية موزعة على جميع أجزاء النبات، وبشكل أكبر في الجزء الهوائي منه، فهي عموماً المسؤولة عن ألوان الأزهار والثمار وأحياناً الأوراق، توجد في معظم الأصناف النباتية بالأخص الراقية منها، ومنعدمة تقريباً عند الطحالب [11]، ويمكن العثور على هذه المركبات في شكلها الحر (أجليكونات) أو على شكل جليكوزيدات (مرتبطة بالسكر) [12].

تمتلك جميع الفلافونيدات هيكلًا كربونياً مكوناً من 15 ذرة كربون موزعة على الشكل C₆-C₃، وهي عبارة عن وحدتين عطريتين تعرف إحداها بالحلقة A والأخرى بالحلقة B ترتبطان بسلسلة جانبية من 3 ذرات كربون قد تكون مفتوحة وقد تكون حلقة لتشكل الحلقة C التي تمثل حلقة Chroman (حلقة البيران المركزية) وتعطي الهيكل القاعدي للفلافونيدات التي تنحدر منه الوحدة الأساسية المسماة بـ 2-phenylchromane، كما في الشكل كما في الشكل التالي، [13] [14].

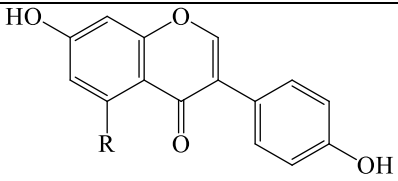
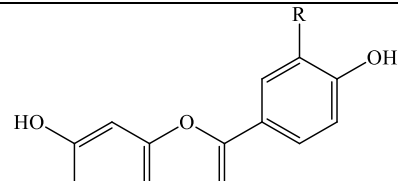
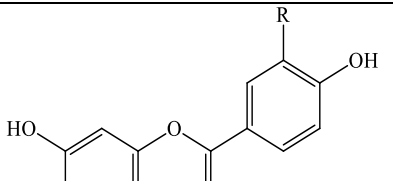
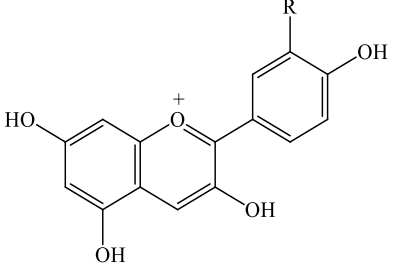
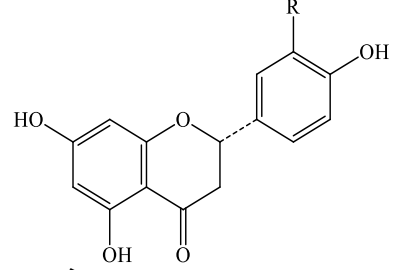
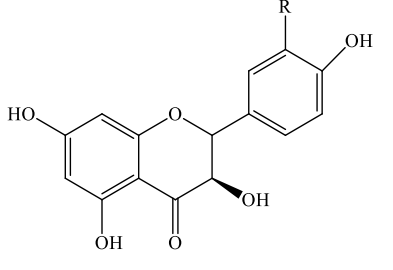
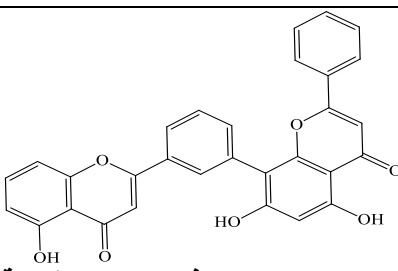
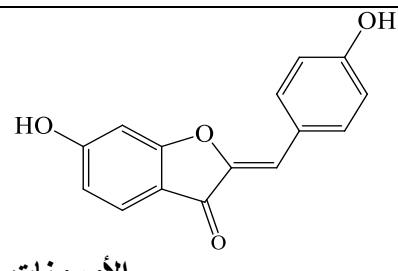
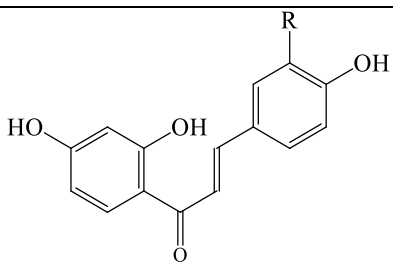


الشكل 11.I : الوحدة الأساسية للفلافونيدات.

I-2-2-2-3-2- تصنيف الفلافونيدات

تصنف الفلافونيدات إلى عدة أقسام، حيث يمكن تقسيمها حسب درجة تأكسد الحلقة البيروانية C [15]، أو على أساس طريقة إرتباط الحلقة B مع الحلقة C إنطلاقاً من الكربون 2 فهي الفلافونيدات العادية، أو الكربون 3 فهي الايزوفلافونيدات، أو التبادل الموضعي بين الحلقة B والوظيفة الكيتونية في هيكل الفلافونيد حيث الحلقة B في الموضع 4 والوظيفة الكيتونية في الموضع 2 وتعرف بالنيوفلافونيدات [16].

يوضح الشكل التالي أهم أقسام الفلافونيدات [17].

 <p>الإيزوفلافونات Isoflavones R = H, Daidzeine. R = OH, Genisteine.</p>	 <p>الفلافونات Flavones R = H, Apigènine. R = OH, Lutèoline.</p>	 <p>الفلافونولات Flavonols R = H, Kaempferol. R = OH, Quercètol.</p>
 <p>الأنثوسياندين Anthocyanidine R = H, Pelargonidine . R = OH, Cyanidine .</p>	 <p>الفلافانون Flavanones R = H, Naringètole . R = OH, Eriodictyol .</p>	 <p>فلافانون-3-اول Flavanone-3-ol R=H,Dihydrokaempferol R=OH,Dihyraquercetine</p>
 <p>الفلافونويدات الثنائية Biflavonoide Amentoflavone</p>	 <p>الأورونات Aurones Hispidol</p>	 <p>الشالكونات Chalcones R = H, Isoliquiritigènine R = OH, Butèine .</p>

الشكل 12.I : أهم أقسام الفلافونيدات

I-2-2-2-3-3 الفعالية البيولوجية للفلافونيدات

الفلافونيدات تعمل على تكسير تسلسل التفاعلات الجذرية نتيجة لبنيتها المستقرة الناتجة عن ظاهرة الرنين الإلكتروني الناشئة عن حلقات أروماتية، وقد بينت الدراسات أن فعالية الفلافونيدات المضادة للأكسدة متعلقة بموقع وعدد وموقع مجاميع الهيدروكسيل، خاصة منها المستبدلة في الموقع 3 للحلقة C وأورثونائي هيدروكسي 4، 3 للحلقة B، كما تعود مقاومتها للتأكسد لإحتوائها على الرابطة المضاعفة في الحلقة C بين C₂ – C₃ المترافقة مع 4-سيتون، وجود OH في الموقع 3 وOH في الموقع 5 بالإتحاد مع مجموعة 4-كربونيل والرابطة المضاعفة بين C₂ – C₃ يزيد من فعالية أسر الجذور الحرة، فكلما زادت مجموعة الهيدروكسيل في البنية الفلافونيدية زادت القدرة على أسر الجذور الحرة [18].

الجدول 1.I: بعض المركبات الفينولية المستعملة في الطب و الصيدلة [19][20].

المركب الفينولي	الفعالية البيولوجية
الأحماض الفينولية	- مضادات للبكتيريا - مضادات للأكسدة - مضاد للطحالب
الكومارينات	- حماية الأوعية الدموية - مضاد للأمراض الجلدية
الفلانويدات	- مضاد للأكسدة - تخفض ارتفاع الدم - تخفض نسبة الكوليسترول في الدم - تقلل من حدوث مرض السكري - تحمي الغشاء المخاطي للجهاز الهضمي - تزيد من نشاط الفيتامين C - تقوي وتحسن أداء عضلة القلب وتقلل من مخاطر أمراض القلب
التانينات	- مضاد للأكسدة

I-3- الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الكهروكيميائية

مدخل

اتخذت الكيمياء الكهربائية صورتها الحالية عبر ما يقارب قرنين من النمو [21]، حيث لعبت دورا هاما في تطوير مجالات جديدة للعلوم والتكنولوجيا، وهي طريقة جيدة لدراسة تفاعلات أكسدة-إرجاعية، المرتبطة بتفاعلات تبادل الطاقة [22].

إن للكيمياء الكهربائية تطبيقات مختلفة وهذا في كثير من المجالات (كيمياء عضوية، كيمياء غير عضوية، الفيزياء)، وهي بدورها تعتمد على العديد من التقنيات، أهمها: الفولطمترية، البولاروغرافي، التحليل الكهربائي.... الخ [22].

I-3-1- الفولطمترية

الفولطمترية هي تقنية تحليلية كهربائية تعتمد على قياس تدفق التيار الناتج من إرجاع أو أكسدة الأنواع المتواجدة في المحلول وهذا تحت تأثير فرق جهد بين مسريين نوعيين. والتي تسمح بتحديد وقياس كمي لعدد كبير من المركبات (شوارد موجبة، بعض الشوارد السالبة، مركبات عضوية)، كما تسمح أيضا بدراسة التفاعلات الكيميائية التي تحتوي على هذه المركبات [23].

هناك طرق عديدة للقياس الفولطمترية تعطي لنا معلومات حول خصائص المواد المدروسة، وفي هذا العمل تم استخدام طريقة الفولطمترية الحلقي (VC).

I-3-1-1- طريقة الفولطمترية الحلقي

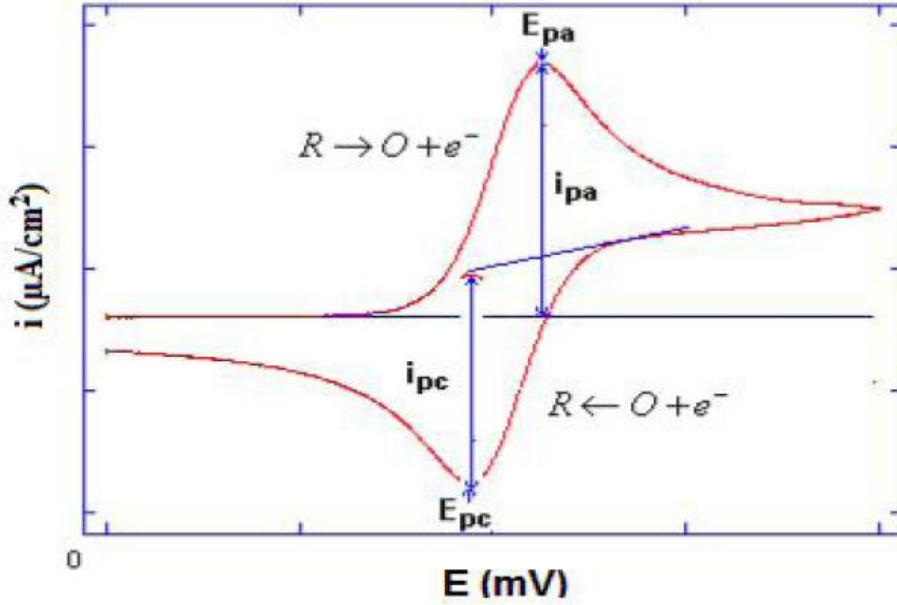
الفولطمترية الحلقي هي تقنية كهروكيميائية تسمح بمعرفة سلوك نظام أكسدة إرجاعية، وكذا تقدير درجة عكسية جملة (أكسدة - إرجاع)، كما تسمح أحيانا بتحديد آلية التفاعل عند المسرى خاصة عندما تشترك تفاعلات كيميائية في نقل الإلكترونات (الآلية ECE. EE. EC)، وكذلك تحديد ثوابت السرعة للتفاعلات الكهروكيميائية السريعة، حيث أن ظاهرة الانتشار هي المسؤولة الوحيدة عن نقل المواد الفعالة، أما الهجرة الأيونية يتم عزلها باستعمال الكهروليت المساعد [24].

تعتمد تقنية الفولطمترية الحلقي على قياس التيار بدلالة فرق الكمون المتغير المطبق بين مسرى العمل والمسرى المرجعي، هذا الكمون يتغير بصفة خطية بين قيمتين حديتين E_i (كمون ابتدائي) و E_f (كمون نهائي). يتم مسح الكمونات في هذه الطريقة بصورة حلقيّة، فبعد إجراء المسح مثلا باتجاه فرق الكمونات المصعدية وإنجاز تفاعل أكسدة $(E(t) = E_i + vt)$ ، يتم عكس اتجاه تغيرات فرق الكمون لإجراء مسح في اتجاه فرق الكمونات المهبطية $(E(t) = E_i - vt)$ [24].

حسب المنحنى الفولطمترى المحصل عليه في حالة نظام عكوس المنحنى (1.I)، نستنتج المعطيات :

ipa و ipc وهما على التوالي تيار النتوء المصعدي وتيار النتوء المهبطي، كما نستنتج :

Epa و Epc كمونات النتوءات المصعدية والمهبطية على الترتيب [24].



المنحنى 1.I : المنحنى الفولطمترى الحلقى للثنائية (Ox/Red)

I-3-1-2- مجالات استخدام التقنيات الفولطمترية

التقنيات الفولطمترية متعددة الاستعمالات في مختلف مجالات البحث العلمي وخاصة في مجال الكيمياء الكهربائية وتفاعلاتها، وكان استخدامها متعدد المجالات [25][26] مثل :

- من أهم التطبيقات الفولطمترية هي التحليل الكمي لآثار المعادن مثل الذهب من أكسدة وإرجاع هذه المواد الكيميائية؛
- استخدمت مؤخرا في تقدير فعالية المواد المضادة للأكسدة باستعمال تقنية الفولطمترى الحلقى.

I-3-2- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

I-3-2-1- الطريقة الكهروكيميائية باستعمال الفولطمترى الحلقى

الطريقة الكهروكيميائية هي أنسب الطرق التحليلية لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة لما تتمتع به من إيجابيات والمتمثلة في : حساسيتها، قلة تكلفتها، سرعتها والكم الهائل من المعلومات المفيدة التي توفره، حيث كانت الخصائص الكهروكيميائية هي العوامل الأساسية التي تم توظيفها لتقدير القدرة الإرجاعية أو الفعالية المضادة للأكسدة، لكون كمون الأكسدة الكهربائي له علاقة بمفهوم القدرة الإرجاعية [27].

ولأنها بسيطة وتفاعلاتها تتم من خلال آلية مماثلة لما يحدث في خلايا جسم الإنسان والكائنات الحية الأخرى، ستكون الطرق الكهروكيميائية البديل الأفضل للطرق التقليدية لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة [28][29][30].

تتميز طريقة التحليل الفولطمترية الحلقي عن الطرق البولاروغرافية الأخرى بأن قياس منحنيات التيار- جهد تتم على قطب صلب ساكن مثل البلاطين ويظهر المنحنى الفولطمترية الكامل على هيئة قمم مهبطية ومصعدية متعكسة تقريبا والتي تمثل عمليتي الإرجاع والأكسدة على التوالي، ويتم ذلك بسرعات تسجيل مختلفة وقد يستغرق تسجيل المخطط ثابنتين أو أقل.

حديثا قام كوروتكوف وزملاؤه بتطوير طريقة فولطمترية جديدة لتحديد فعالية مضادات الأكسدة [31][32]، هذه الطريقة مبنية على حركية التفاعل بين الأكسجين النشط (O_2^-) والمواد المضادة للأكسدة، التقنية الفولطمترية استخدمت لإنتاج الأكسجين النشط (O_2^-) وذلك بإرجاع الأكسجين في أوساط غير مبرتنة (aprotique) حيث يتميز الأكسجين النشط (O_2^-) بأنه طويل العمر في هذه الأوساط [33]، في نفس التقنية يمكن قياس الانخفاض في مستوى الجذور الحرة (O_2^-) مباشرة من قيمة التيار المصعدي الذي يتناقص عند أكسدة هذه الجذور بواسطة تراكيز متزايدة للمواد المضادة للأكسدة محل الدراسة [34].

I-3-2-2- الجذور الحرة ومضادات الأكسدة

يزداد يوم بعد يوم اهتمام العديد من الباحثين بدور الجذور الحرة (Les radicaux libres) في الآليات الجزيئية للعديد من الأمراض، كونها تتولد بشكل طبيعي في جسم الإنسان ويزداد تشكلها بفعل عدة عوامل داخلية وخارجية، وبموازاة ذلك يتركز الاهتمام على دراسة مضادات الأكسدة (antioxydant) داخلية وخارجية المنشأ لأنها النظام الذي يحمي العضوية من أضرار الجذور الحرة [35][36].

I-3-2-2-1- الجذور الحرة

الجذور الحرة عبارة عن ذرة أو مجموعة من الذرات المتعادلة أو المشحونة بشحنة سالبة أو موجبة تحتوي على إلكترون غير مزدوج على الأقل، وعندما يتحول الإلكترون من مزدوج إلى غير مزدوج فإن خطره يزيد ويصبح نشط لفترة وجيزة وشديد التفاعل، وخلال تفاعلها مع ذرات أخرى تحتوي على إلكترونات ناقصة، يتم إنتاج جذور حرة أخرى جديدة، و هكذا تبدأ سلسلة من التفاعلات. ولكن ليست جميعها ضارة بل هي ضرورية لأجل الحياة [37].

توجد الجذور الحرة داخل جسم الإنسان أو الحيوانات الثديية في شكل أنواع أكسجينية فعالة (ROS) نشطة، نتروجينية (RNS)، أو كلورين (RCS) ومن أهمها: أنيون السوبرأكسيد ($O_2^{\bullet-}$)، بيرهيدروكسيل

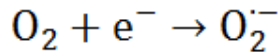
(OH₂⁻)، (N[•])، (R[•])، بيروكسيل (OCI[•])، بيروكسيل الليبيد (L[•])، كما يمكن أن تتحول الجذور الحرة للأكسجين و النتروجين إلى متفاعلات خطيرة جدا على صحة الإنسان، مثل فوق أكسيد الهيدروجين (H₂O₂) ، الأوزون (O₃)، حمض النتروز (HNO₂)، حمض الهيپوكلوريد (HOCL)، بيروكسيد الليبيد (LOOH) [38][39].

تنتج الجذور الحرة في الجسم الحي من مصادر داخلية وخارجية وتزيد في حالات المرض والإرهاق النفسي والجسدي وبتقدم العمر شيئا فشيئا، فمن المصادر الداخلية لتوليد الجذور الحرة عملية التنفس وتوليد الطاقة، كذلك فإن العديد من خلايا الجسم المناعية تنتج جذورا حرة لقتل البكتيريا الغازية، وما دامت هذه العملية تحت السيطرة فلا مشاكل تذكر في حين عندما تكون هذه العمليات خارج السيطرة كما يحدث في بعض أمراض المناعة الذاتية التي تنتج بعض الجذور الحرة التي تسبب الأذى لخلايا الجسم، كما تنتج هذه الجذور داخل الجسم كنتيجة لعمل أنزيمات الجسم والتفاعلات الكيميائية [40]. ومن المصادر الخارجية لتوليد الجذور الحرة، الأشعة المؤينة والتدخين وأشعة X والمواد الكيميائية كالمبيدات والأشعة فوق البنفسجية والهواء الملوث (أوزون، دخان) والتوكسينات وبعض الأدوية والقلبي المفرط للأطعمة والجهد الفيزيائي والأغذية المبالغ بتبيلها [41].

ومع هذا لا نستطيع إيقاف تكون الجذور الحرة، لأنها جزء من عملياتنا الأيضية وحياتنا اليومية في هذا العالم الصناعي.

I-3-2-2-1-1- جذر فوق أكسيد أنيون O₂⁻ (Superoxide anion)

يعتبر جذر فوق أكسيد O₂⁻ في طليعة العملية التأكسدية داخل الخلية، إذ يمكنه أن يتحول إلى أنواع أكسجينية أخرى، حيث ينتج هذا الجذر عن إرجاع جزيئة الأكسجين وهذا باستقبالها لإلكترون واحد. تقوم مجموعة من الانزيمات الإرجاعية بإنتاج O₂⁻، حيث أنه أكثر من 2% من الأكسجين الذي بالمتكوندري يتحول إلى O₂⁻ [42].



I-3-2-2-2- مضادات الأكسدة

I-3-2-2-2-1- تعريف مضادات الأكسدة

مضادات الأكسدة هي مجموعة من المواد التي تحمي الخلايا من الأضرار التي تسببها الجزيئات غير المستقرة والتي تعرف بالجذور الحرة. و يمكن تعريفها في النظام البيولوجي على أنها أي مادة تكون بتركيز منخفضة مقارنة بما كانت عليه المواد القابلة للأكسدة وتمنع أكسدتها، وتوجد مضادات الأكسدة بصورة طبيعية في معظم الخضروات والفواكه والأعشاب الطبية، فهي تعد كمانحات للهيدروجين أو

جسم الإنسان مع الطعام ومنها ألفا التوكوفيرول (α -Tocopherol)، البيتاكاروتين (β -carotène)، حمض الأسكوربيك (Acide ascorbique)، ومتعددات الفينول (Polyphenole) وغيرها [40].

I-4- الفعالية المضادة للبكتيريا

مدخل

تهدف هذه الدراسة إلى معرفة الفعالية البيولوجية للمستخلصات n-butanol لسيفان وأزهار وجذور نبات (*Senecio delphinifolius Vahl*) في تثبيط بعض أنواع من البكتيريا.

تشكل البكتيريا مجموعة من الكائنات بدائية النوى، تعامل معها الإنسان دون أن يراها فقد عرف أنها تسبب المرض واستعمل بعضها في عمليات التخمر المختلفة.

ولقد كان للمجهر الأثر الأكبر في التعرف عليها، أول من اكتشف وجود البكتيريا العالم الكيميائي الفرنسي باستور (pasteur) من خلال تجاربه على التخمر واكتشف أيضا طعومها وارتبط اسمه بعملية البسترة لقتل الكائنات الحية المجهرية التي يمكن أن تتواجد في السوائل وخاصة الحليب أما العالم الألماني روبرت كوخ فقد أسهم في اكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض وهو أول من عمل مزارع نقية للبكتيريا.

ولقد ارتبط اسم البكتيريا كثيرا بالأمراض التي تسببها للإنسان، ولكن الاكتشافات الحديثة والتقدم السريع الذي حدث في العلوم التطبيقية أظهرت أن البكتيريا تلعب دورا هاما في كثير من الصناعات الدوائية والغذائية والتخلص من المواد العضوية وغير العضوية وكذلك معالجة المياه والمعالجة الحيوية لمخلفات المزارع واستخدامها في إنتاج الطاقة وغاز الميثان [49].

I-4-1- البكتيريا

I-4-1-1- تعريف البكتيريا

البكتيريا كائنات دقيقة لا ترى إلا بالمجهر الإلكتروني ($10^6 \times$) أو المجهر الضوئي ($10^3 \times$)، نجدها في كل مكان في الماء الهواء والتربة وداخل جسم الإنسان وداخل قناته الهضمية وجهازه التنفسي [50].

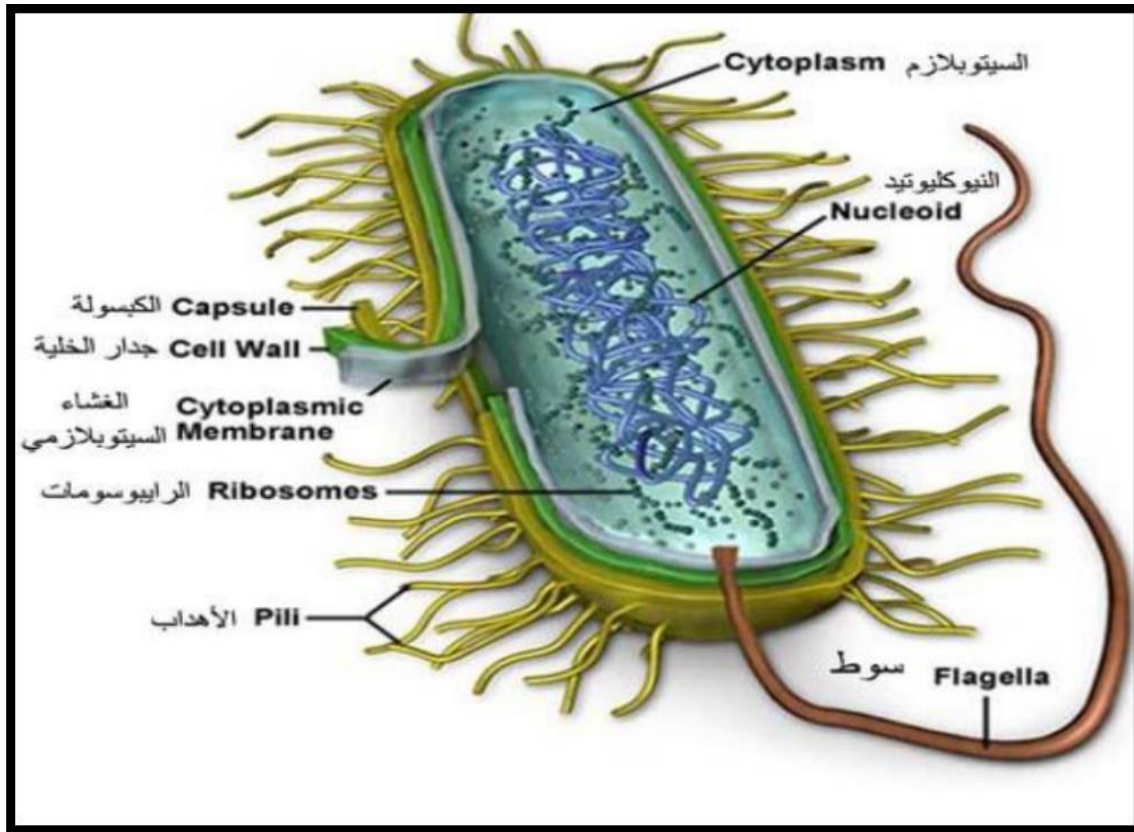
تستطيع البكتيريا العيش لأعوام طويلة متحملة جميع الأحوال غير الملائمة من ارتفاع درجة الحرارة وانخفاضها أو غير ذلك من الظروف القاسية، وعند تحسن الأحوال البيئية المحيطة بها تتخلص الجرثومة من الغشاء السميك وترجع إلى سابق عهدها [51].

I-4-1-2- بنية البكتيريا

تركيبية الخلية البكتيرية بسيطة حيث يحيط بها غلافين الأول جدار خلوي سميك وصلب وهو الذي يعطيها شكلها الثابت ويحميها من الهجوم الخارجي، أما الثاني فهو رفيع ويسمى بالجدار الخلوي السيتوبلازمي.

محتواها مؤلف من سيتوبلازم متجانسة وفجوات، ولا تحتوي على نواة إلا أنها تحتوي على ADN الذي يتحكم في نمو الخلية وتكاثرها وجميع النشاطات الأخرى. وأغلب الجراثيم عديمة اللون لكن بعضها تحتوي على أصباغ تعطي الجراثيم ألوانها، مثل الكبريتية الحمراء Thiorhodaceae والكبريتية الخضراء Chlorobium.

الجدار، الغشاء الخلوي، السيتوبلازم والكروموزومات كلها عناصر ثابتة وأساسية في جميع أنواع الخلايا البكتيرية، ولكن قد نجد بعض الاختلاف فبعض الخلايا البكتيرية تكون محاطة من الخارج بمحفظة capsule، أو تملك سوطا يساعدها على الحركة بالإضافة إلى أنه توجد من البكتيريا من لديها زوائد خلوية pili وهي تساعد الخلية على الالتصاق [52].



الشكل I.13: رسم تخطيطي يوضح التركيب العام للبكتيريا [53].

دورة حياة الخلية تتركز في إستمرارية إنقسامها، حيث حوالي كل 20د تنقسم الخلية البكتيرية إعطاء خليتين جديتين خلال ساعات تعطي خلية بكتيرية واحدة الملايين من الخلايا، وأغلب البكتيريا تتكاثر

بطريقة الانتشار الثنائي. ولدرجة الحرارة تأثير على بقاء وتكاثر البكتيريا, فمنها من تعيش في درجات الحرارة المنخفضة 0-81° م ومنها من تعيش في درجات حرارة عالية 45 – 60° م بالإضافة إلى أن PH المثالي لنمو البكتيريا هو في حدود PH = 7. كما أن الأوساط الغنية بالرطوبة والماء تعتبر وسط جيد لتكاثر البكتيريا [49].

I-4-1-3- تصنيف البكتيريا

صنف العلماء البكتيريا على الأخذ بعدة معايير منها

I-4-1-3-1- من حيث توزيع أسواطها : فيمكن تقسيمها إلى [49]

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

I-4-1-3-2- من حيث الشكل [52]

1. البكتيريا العصوية (Bacilli) : التي تأخذ خلاياها شكل العصويات الصغيرة تحت المجهر
2. البكتيريا الكروية (Cocci) : التي تأخذ خلاياها شكل الكريات الصغيرة
 - البكتيريا الكروية المضاعفة Diplococci .
 - البكتيريا الكروية المتجمعة بشكل سبحة Streptococci.
3. البكتيريا الحلزونية (Spiral) : التي تأخذ الشكل الحلزوني.
4. البكتيريا الواوية (Vibrio) : التي تأخذ شكل الواو أو الضمة العربية.

I-4-1-3-3- من حيث الوسط الذي تعيش فيه

فيمكن تقسيمها إلى ثلاثة أنواع [51]

1. بكتيريا هوائية (Aerobic) : وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الهواء الجوي وتعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية و من أمثالها Neisseria.
2. بكتيريا لا هوائية (Anaerobic) : وهي البكتيريا التي تعيش فقط في غياب الهواء الجوي ومن أمثالها Clostridium.
3. بكتيريا لاهوائية إختيارية (Facultative Anaerobic) : وهي البكتيريا التي يمكنها العيش والنمو في ظل وجود الهواء الجوي, أو عدمه.

I-4-3-1-4- من حيث التغذية

فيمكن تقسيمها إلى نوعين [51]

1. بكتيريا ذاتية التغذية (Autotrophie) : هي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو.
2. بكتيريا عضوية التغذية (Hétérotrophie Bactérie) : وتنقسم هذه المجموعة إلى قسمين :
 - بكتيريا رمية : تتغذى هذه البكتيريا على المواد العضوية للعضيات الميتة.
 - بكتيريا طفيلية : تعيش هذه البكتيريا على سطح جسم الكائن الحي (نبات أو حيوان) وتتغذى على حسابه.

I-4-3-1-5- من حيث طريقة التلوين [53]

توضح هذه الطريقة الإختلاف في تركيب جدار الخلية وهذا عن طريق التلوين وتسمى تقنية غرام نسبة للعالم Gram وهذا سنة 1884م.

- بكتيريا غرام موجب (Gram positive) : عند تلوينها تمتص اللون وتظهر أرجوانية.
 - بكتيريا غرام سالب (Gram négative) : تحرر صبغ وتظهر حمراء.
- يظهر جدار خلية البكتيريا غرام موجب (Gram positive)، أسمك من جدار خلية البكتيريا غرام سالب (Gram négative).

I-4-3-1-6- من حيث الأثر على الإنسان

يمكن تقسيمها إلى ثلاثة أقسام

1. بكتيريا نافعة Bénéficial bacterie

وهي التي تقدم خدمات جلية للإنسان، والحيوان والبيئة فهناك نوع من البكتيريا يعيش في أمعاء الإنسان فتساعده على هضم الطعام، ومنها بعض المواد المفيدة للجسم مثل الفيتامينات وتعمل على تدمير البكتيريا الضارة، وهناك نوع آخر من البكتيريا يعيش في التربة ويلعب دورا مهما في الغذاء والنبات. تستعمل أيضا في صناعة منتجات الألبان، وبعض الأدوية [52].

2. البكتيريا الإنتهازية Opportunistic Bacteria

هناك أنواع من البكتيريا تعيش في جسم الإنسان من دون أن تسبب له أي أضرار صحية إلا أنها تؤدي إلى إنخفاض مناعة الإنسان لأي سبب من الأسباب، تهاجم الجسم، متحولة إلى بكتيريا ضارة تسبب العديد من الأمراض مثل الإصابة بالتهاب الحلق أو إلتهاب اللوزتين [52].

3. البكتيريا الضارة Bactéries nocives

تسبب للإنسان أمراضا كثيرة ومشاكل صحية عديدة مثل السل، الكوليرا، التيفوئيد، السعال الديكي... إلخ. وتدخل البكتيريا عن طريق الفتحات الطبيعية مثل فتحة الأنف والفم أو عبر شقوق الجلد وتحمل البكتيريا مع الهواء، الطعام والماء. وقد تصيب البكتيريا النبات مثل اللقحة النارية التي تصيب أشجار التفاح والتعفن البكتيري الذي يسبب تلف بعض الفواكه والخضروات [49].

I-4-1-4- البكتيريا المدروسة

• *Klebsiella Pneumoniae*

تعود جرثومة *Klebsiella pneumoniae* إلى العائلة المعوية (*Enterobacteriaceae*) وهي غير متحركة وعصوية الشكل وسالبة لغرام لاهوائية اختيارية. تسبب الجرثومة العديد من الأمراض مثل إلتهابات الرئة، إلتهاب المجاري البولية [54].

• *Listeria innocua*

البكتيريا الليستريا شائعة في منتجات الألبان وهي عبارة عن عصيات صغيرة إيجابية الغرام مع نهايات مستديرة غير سريعة الحمضية، متحركة في 20-25 درجة مئوية [55].

الجدول 2.I : نوع البكتيريا المدروسة.

المرجع	البكتيريا المدروسة
ATCC 74915	<i>Listeria innocua</i>
CLIP 74915	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>

I-4-2- المضادات الحيوية

I-4-2-1- تعريف المضادات الحيوية

استعملت الكلمة لأول مرة بواسطة العالم Vullemin سنة 1889 الذي عرفها بأنها الظروف التي يمكن تحتها لكائن حي إبادة كائن حي آخر ليحتفظ هو بحياته ووجوده ولا يختلف تعريف فيولمين لهذه الظاهرة كثيرا عن التعريف الحالي والذي ذكره Waksman سنة 1945 في أن هذه الظاهرة ترجع إلى إفراز مواد كيميائية ذات تأثير ضار بالميكروبات [49].

I-4-2-2- أنواع المضادات الحيوية

تقسم المضادات الحيوية حسب وظيفتها إلى

1. مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية

يمنع تكاثرها، وهو ما يساعد في القضاء عليها مثل: سلفوناميد، كلورام فينكول.

2. مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية

إما عن طريق التأثير على جدار خليةها، أو بالتسبب في انتفاخ خليةها وانفجارها، أو بمنع تكوين مادة البروتين داخل خليةها مثل: أمبسلين، جنتاميسين، بنسيلين [57].

✓ طريقة الانتشار:

من أجل تحديد مدى حساسية السلالات البكتيرية للعوامل المضادة للبكتيريا وهي تقدير جرعة تركيز) المضاد الحيوي القادر على احداث هذا التأثير، نلجأ إلى طريقة Antibiogramme عن طريق الانتشار على وسط صلب، حيث تحضر الأقراص بورق واتمان التي تشبع بالتركيز المحدد من المضادات الحيوية (أو المواد معروفة تأثيرها على البكتيريا) وتوضع في أحواض بترية على الوسط الصلب تكون مشبعة مسبقا بلقاح بكتيري بطريقة المسح، وتعتبر هذه الطريقة شائعة الإستعمال في مخابر الميكروبيولوجيا وهذا راجع لسهولة تحقيقها وتعتبر كذلك طريقة غير مكلفة بالمقارنة بالطرق الأخرى، وبالمقابل تعطي نتائج جيدة بحيث تمكننا من معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي [58].

يمكن القول أن :

- البكتيريا مقاومة (غير حساسة) للمضاد الحيوي إذا كان قطر التثبيط أقل من 8 ملم.
- البكتيريا متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي إذا كان القطر ما بين 9 و 14 ملم.
- البكتيريا حساسة للمضاد الحيوي إذا كان القطر ما بين 15 و 20 ملم.
- البكتيريا حساسة جدا للمضاد الحيوي إذا كان القطر أكبر من 20 ملم [59][60].

المراجع

المراجع باللغة العربية :

- [6] برحال جمعة، S.D- فصل وتحديد بعض منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدي لبعض نباتات العائلة الريحانية (Resedaceae)، رسالة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه، تخصص كيمياء عضوية، جامعة منتوري، قسنطينة، ص4.
- [7] ربيعي عبد الكريم، 2010- المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيمائية والكهروكيميائية، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء تحليلية ومراقبة المحيط، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.
- [11] عاشوري أمال ، 2006- فصل وتحديد منتجات الأيض الفلافونيدي *Pulicaria crispa* (Forsk)، مذكرة ماجستير، جامعة منتوري قسنطينة، ص21-26-36.
- [14] غياية زينب، 2015- دراسة تحليلية للبيدات وفينولات ومكونات أخرى لبعض أصناف نخيل التمر المحلية، رسالة دكتوراه، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص40-106-113-120.
- [16] باز مسعود، 2006- استخلاص فصل وتحديد بنيات منتج الأيض الثانوي عند نبات جنس *c. sphaerocephala L. centaurea*. مذكرة ماجستير، جامعة منتوري.
- [18] خلف الله أسية، 2012- الدراسة الفيتوكيميائية والفعالية البيولوجية للنباتات *Ammi visnaga* و *Eryngium triquetrum Vahl.* (Apiaceae) و *Astragalus armatus Willd.* (Fabaceae)، رسالة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه، تخصص كيمياء عضوية، جامعة منتوري، قسنطينة.
- [19] بن عاشور صبرينة البتول، 2007- الفعالية المضادة للأكسدة الزيوت الطيارة والمركبات الفينولية "deverra scoparia"، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الهندسة الكيميائية، تخصص التحضير العضوي والفيتوكيمياء، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.
- [21] محمد محمد الصاوي، 1981- الكيمياء الكهربائية أسسها وتطبيقاتها، ديوان المطبوعات الجامعية، الجزائر.
- [42] ربيعي عبد الكريم، 2016- تقدير المحتوى الفينولي و الفعالية المضادة للأكسدة لمنتجات النحل في الجزائر بالطرق الكهروكيميائية، رسالة محضرة لنيل شهادة الدكتوراه، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، ص72.
- [46] بن عشورة، ص.، 2007- الفعالية المضادة للأكسدة - الزيوت الطيارة و المركبات الفينولية لـ *Deverra scoparia*، رسالة ماجستير. جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.
- [48] غياية زينب، 2015- دراسة تحليلية للبيدات وفينولات ومكونات أخرى لبعض أصناف نخيل التمر المحلية، رسالة دكتوراه، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص40-106-113-120.

[49] العابد إ.، 2009- دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية التطبيقية، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، ص106.

[50] مصطفى د.، وآخرون.، 1979- النبات العامة، منشأة المعارف، الإسكندرية، ص1100.

[51] حوة إ.، 2013- دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية وفيزيوكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، ص109.

[52] لبوز م.، 2012- الدراسة الفيتوكيميائية لنبته *Rhazinolepis lonadioides* Coss (الزيوت الطيارة والليبيدات). مذكرة ماستر أكاديمي، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص80.

[53] أبوالذهب م.، الكثير ح.، القزاز س.، عاية ش.، 1997- البكتيريا. دار المعارف. الجزء الأول، ص20.

المراجع باللغة الأجنبية :

[1] Geppert, B., Drozd, B., Kielczewski, M. and Holub. M., 1980-

Acta.Soc. Bot. Pol. 52,p.23.

[2] Bruneton, j., 1999- Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes Medicinales Technique et Documentation Paris.

[3] Quézel, P. et S. Santa 1962- NOUVELLE FLORE DE L'ALGERIE et des régions désertiques.

[4] Zellagui, A., Tidjani, S., Gherraf, N., and Rhouati, S., 2012- *Der Pharma Chemica* 4(5): 2080-2084.

[5] Conservatoire et jardin botanique (CBG) ville de Genève [http : www.villege . Ch/musinfo/bd/cbj/africa/results.php](http://www.villege.ch/musinfo/bd/cbj/africa/results.php). consulté le 09/01/ 2013 et revue le 01/ 01/ 2016.

[8] P.K. Steumpf, E. Conn (Eds),1981- The Biochemistry of Plants: A Comprehensive Treatise, vol. 7.Secondary Plant Products, Academic Press, New York, NY, USA.

[9] P. Ribereau Gayon., 1968- Les composés phénoliques des végétaux. Imp. Samie, Bordeaux, France.

- [10] E. Grotebold., 2006- The Science of Flavonoids (1 - 123), 1st ed, Columbus, Ohio, USA, Springer Science-Business Media, Inc.
- [12] N .ZERROUKI., 2009- Contribution à l'étude phytochimique de la plante *Tetraclinis articulata*. Activité biologique et biochimique de la plante *Tetraclinis articulata*. Mémoire de Magister. Oran : Université d'Oran, 17-18p.
- [13] S. ATHAMENA., 2009- Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Mémoire de Magister. Batna : Université Hadj Lakhdar, 19-20p.
- [15] K .BENZAHI., 2001 Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante *Cynodon dactylon-L* " chiendent". Thème de Magister. Ouargla. Université Kasdi Merbah, 4p.
- [17] E. GROTEWOLD., 2006- The science of flavonoids. Columbus, Ohio. USA: Springer, 2-3p.
- [20] B. Jean., 1999- pharmacognosie phytochimie plantes médicinales, 3eme edition Technique. et Documentation, paris.
- [22] Mouats, N., 2010- Etude Electrochimique Des Dérives De L'Acide 2-Nitrophenyl Sulfonyl Acétique. Diplôme de Magister, Université du 20 AOUT 1955, SKIKDA.
- [23] Bard, A.J., Faulkner, L.R. « Electrochemical Methods. Fundamentals and Applications, 2nd ed ». John Wiley and Sons, New York, (2001).
- [24] BARD, A., FAULKNER, L.R. Electrochimie, Principes, Méthodes et Applications. Masson Paris ed, (1983).
- [25] Vire, J. C., Kauffmann, J. M., Patriarche, G. J. J. Pharm. Biomed. Anal, 7, 1323.
- [26] Kalvoda, R. Kopanica, M. Pure Appl. Ch, 61,97 (1987).
- [27] M.L. Magalhaes, M.A. Segundo, S. Rreis, J.L.F.C. Lima. Anal. Chim. Acta. 613 (2008) 1-19.
- [28] M. Valko, D. Leibfritz, J. Monocol, M.T.D. Cronin, Mazur, J. Telsler, Int. J. Biochem. Cell Biol. 39 (2007) 44.
- [29] E.N. Frankel, J.B. German, J. Sci. Food Agric. 86 (2006) 1999.
- [30] E.N. Frankel., 1996- Food Chem. 57 - 51.
- [31] Korotkova, E. I., 200- New method of determining antioxidant activity. J. Phys. Chem, 74:1544-1546.

- [32] Korotkova, E. I., Avramchik, O. A., Kagiya, T. V., Karbainov, Y. A., Tcherdyntseva, N.V., 2004- Study of antioxidant properties of a water-soluble Vitamin E derivative-tocopherol monoglucoside (TMG) by differential pulse voltammetry. *Talanta*, 63: 729-734.
- [33] Sawyer, D.T. *Oxygen Chemistry*, Oxford University Press, Oxford, 1991, p. 27.
- [34] C. Le Bourvellec., D. Hauchard., A. Darchen., J.L.Burgot., M.L.Abasq. *Talanta*, 75 (2008) 1098–1103.
- [35] Barry Halli Well., John MC., et al. Free radical, antioxidants, and Human disease: Where are we now?. *J. Lab. Chim. Med*, (1992), Vol 119, N6.
- [36] Barry Halli Well.; et al. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. *Acad. Press*. (1996).
- [37] Ferrari, C. K. B. Functional foods and physical activities in health promotion of aging people. *Maturitas*, (2007), 58: 327-339.
- [38] Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd ed., Oxford University Press: New York, USA, (1999), pp 10-121.
- [39] Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huy, C., Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int. J. Biomed. Sci*, (2008), 4: 89-96.
- [40] Hudson, B.J.F., Goordon, M.H. *The Mechanism of Antioxidant Action In Vitro*, Food Antioxidant, Elsevier Applied Food Science Serie, 1-21.
- [41] Pourmourade, F., Hosseinimehe, S.J., And Shahabimajd, N. 2006- Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plant. *African journal of biotechnology*, 5(11): 1142-1145.
- [43] Y.MOULAY., 2012- Investigation phytochimique de *l'Acacia arabica* aux propriétés antioxydantes et inhibitrices. Mémoire de Magister. Ouargla : Université Kasdi Merbah, 5-8 p.
- [44] P. SYKES. *A guide book to mechanism in organic chemistry*. Sixth Edition. New York : Longman scientific & technical, 1985, 299-339 p.
- [45] Wang, L., JUI-Hungyeni., Lingliang., Juan, H. WU. M. 2003- Antioxidant Effect of Methanol Extracts from lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn). *Journal of food and Drug Analysis* , Vol 11, No. 1.
- [47] Olive, G. 1998- Synthèse de nouvelles nitrones du Type Pyrroline-N- Oxide et leur utilisation en spin-trapping», Thèse de doctorate, université d'Aix – Marseille III.
- [54] Wen-Chien Ko, David L. et al., 2002- Community-Acquired *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia: Global Differences in Clinical patterns. *Pubmed Central*. Vol. 8, No. 2.

- [55] Service de Bactériologie., DCEM1, 2003- Bactériologie, Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, Université PARIS-VI Pierre et Marie Curie, p58.
- [56] H. M. Ericsson, J. C. O Sherris., 1971- Antibiotic Sensitivity Testing, Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica, p90.
- [57] V. Guerin-Faubleé., C, Carret., 1999- L'antibiogramme : principes méthodologie, intérêt et limites, Journées nationales GVT-INRA, p5-12.
- [58] A.W. Bouter, W.M.Mkirry, J.C.A.Sherris, M. Truch., 1966- Antibiotic susceptibility testing by a standardized single, Journal of clinical pathology, p493-496.
- [59] G.poncea,Fritzer,I.Del valc et Rouras, 2003- Antimicrobial activity of essential oil of the native microflora of organic Swiss chard, Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie.
- [60] Duraffourd C., D'Hervicourt L. et Lapraz J. C. 1990 - Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris , Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb.

الفصل الثاني

الطرق والوسائل

II-1- حصاد المواد النباتية

عند إكمال الإزهار لكل الأجزاء المختلفة من النبتة *Seneciodelphinifolius Vahl*، تم جمعها في أبريل 2010 على طول الطريق من Grareme Mila (منطقة قسنطينة) إلى الشمال من الجزائر من قبل البروفيسور أ. زيلجي من جامعة العربي بن مهيدي - أم البواقي وموتقة من قبل الأستاذ محمد كعباش قسم علم الأحياء (جامعة سطيف)، أكدها البروفيسور ليجولي من الجامعة الحرة في بروكسل. تم إيداع العينة في معهد الكيمياء بجامعة قسنطينة تحت رقم الرمز ZA 117 وفي المعشبة من الحديقة النباتية الوطنية في Meise، بلجيكا تحت رقم الرمز (BR0000005333899).

II-2- الأجهزة و المواد المستعملة

تم انجاز هذا العمل في مخابر الكيمياء في كلية العلوم الدقيقة ومخبر ترقيية وتكنولوجية الموارد الصحراوية VTRS ومخابر العلوم الطبيعية والحياة بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي.

✓ الأجهزة و الأدوات

- ميزان حساس نوع (ALS220-4N) ، بدقة (0.1mg)، صنع (KERN).
- جهاز UVspectrophotométr نوع (PRIMAdvancedSpectrophotométrs) بدقة (± 1nm) صنع (SCHOTT Instruments GmpH).
- الحاضنة Etuves نوع (LIB-060M) صنع (Korea).
- جهاز الكروماتوغرافيا العالية الأداء HPLC الموجودة بالمخبر في جامعة حمه لخضر مصنعة من طرف شركة (SHIMADZU) وهي مرفقة ببرنامج تشغيل (LC solution) مبرمج في جهاز كومبيوتر متصل بالجهاز لتسجيل منحنيات المساحة بدلالة الزمن , وعمود يتكون C18 (25 cm x 46 cm) .
- PGZ301 VoltaLab40 موصول ببرنامج 4 Volta Master
- جهاز المبخر الدوار Rotavapeur .
- جهاز المعقمة (Autoclave)
- موقد Bec Benzéne
- ✓ المواد الكيميائية المستعملة:
- ماء مقطر عالي النقاوة.
- كاشف الفولين (Réactif de Folin-ciocalteai)، إنتاج (VWR PROLABO).

- حمض الغاليك ($C_7H_6O_5, H_2O$)، (99%)، (M=188.14g/mol)، إنتاج (MERCH EUROLAB)
- ميثانول (CH_4OH).
- هكسان (C_6H_{12}).
- محلول ثلاثي كلوريد الألمونيوم ($ALCL_3$) (M=241.43 g/mol).
- كبريتات الصوديوم (Na_2SO_4).
- *Dimethyl sulfoxide* (DMSO)
- *tetrabutyl ammonium hexafluorophosphate* (TBFP)
- *dichlorométhane*
- Muller Hinton

II-3- تعريف الإستخلاص

الإستخلاص هو عملية فصل فيزيائية تتضمن فصل سائلين أو أكثر عن بعضهما البعض وهذه العملية تتطلب وجود سائل آخر ليضاف لهما وله خاصية الذوبان مع أحد مكونات الخليط الأساسي، وعند إضافة هذا السائل للخليط (ويسمى المذيب *solvant*) يذيب جزءا من السائل المراد فصله من الخليط ويكونان معا طبقة من مزيج غير ذائبة في المحلول المتبقي ويسمى (المستخلص) وما تبقى من الخليط الأساسي مع ما تبقى من المذيب يسمى المصفى.

وفي عملية الإستخلاص يتم الإستخلاص طبقا للخواص الكيميائية والفيزيائية لمواد الخليط [1].

II-4- إستخلاص المركبات الفينولية للنبتة *Senecio delphinifolius Vahl* :

II-4-1- مستخلصات n-butanol :

يتم الإستخلاص وفقا للبروتوكول الذي أوصى به Mezzach [2] والذي وصفه Bruneton [3]. يتم سحق 600 غ من الأزهار الجافة لنبتة *Senecio delphinifolius Vahl*، ثم يتم النقع ثلاث مرات بـ 5ل من n-hexane، وثلاث مرات بـ 5ل من *dichlorométhane*، تجمع مستخلصات كل نقع ثم تبخر حتى الجفاف تحت ضغط منخفض. تم الحصول على التوالي 26.14 غ من مستخلص n-hexane، 35 غ من المستخلص *dichlorométhane*. تستخلص بقايا المادة النباتية ثلاث مرات بـ 8ل من المزيج 3:7 ميثانول-ماء الساخن، تجمع مستخلصات النقع الاخير ثم يتم تبخيرها دون الوصول لحالة الجفاف وتأخذ في وقت لاحق مع الماء الساخن. تترك ليلة كاملة من أجل إزالة الكلوروفيل.

يتم إستخلاص المزيج المفلتر بواسطة n-butanol عدة مرات. بعد التبخير و التركيز بواسطة جهاز rotavapeur يتم الحصول على حوالي 47.8 غ من الزهرة.

بطريقة مماثلة يتم أخذ 364 غ من مسحوق الساق و 144 غ من مسحوق الجذور لنبته *Senecio delphinifolius Vahl* وتستخلص بالنقع ثلاث مرات (24سا) على التوالي 3ل و 2ل في n-hexane وتخضع لنفس خطوات الإستخلاص السابقة.

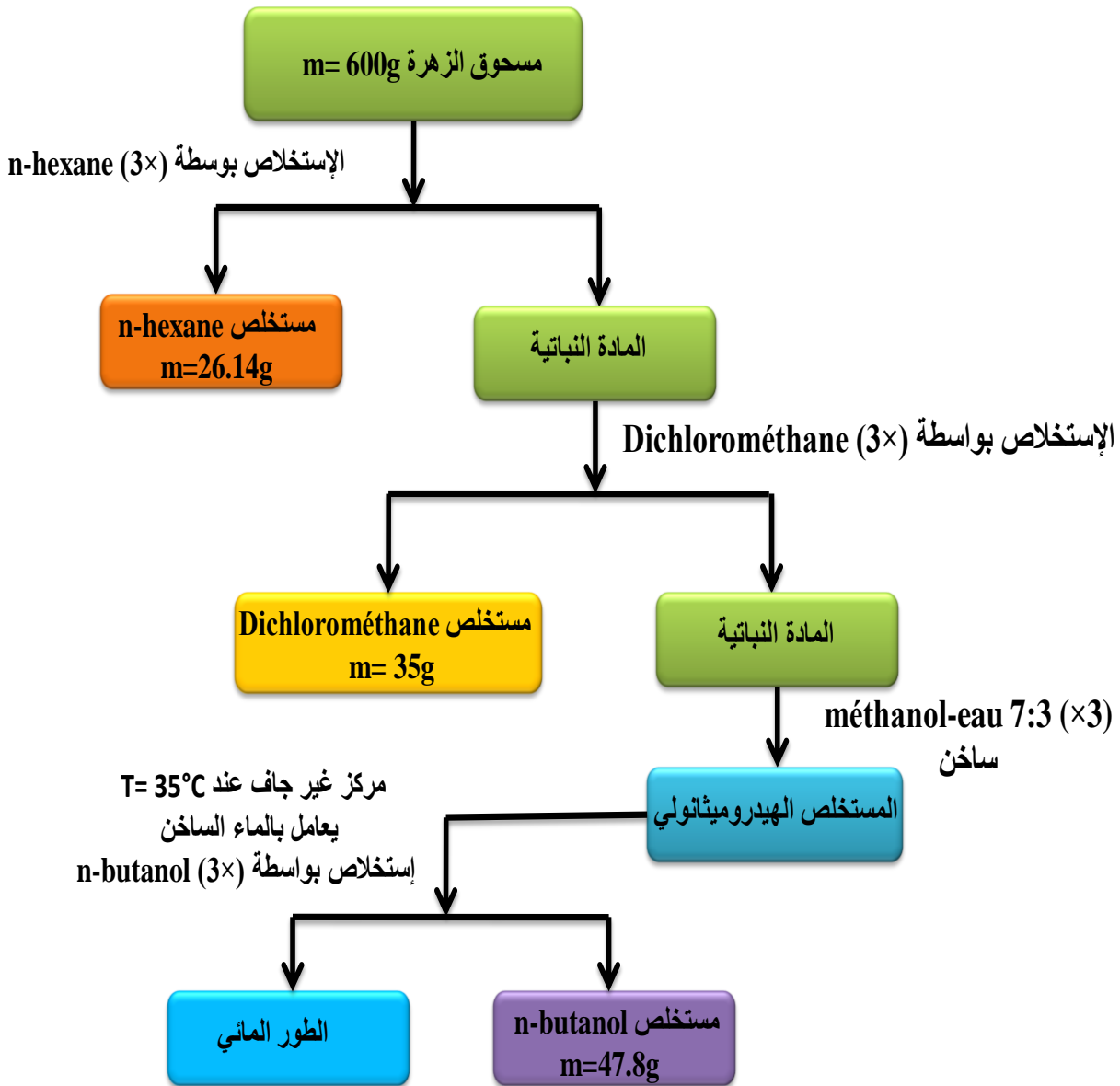
الإستخلاص بـ n-hexane يعطي على التوالي 1.66 غ و 0.295 غ, البقايا المتحصل عليها استنفذت على التوالي ثلاث مرات (24سا) في الإستخلاص بـ 3ل و 2ل من dichlorométhane, تم الحصول على المستخلص الجاف 1.26 غ و 0.42 غ على التوالي.

في الأخير البقايا المتحصل عليها إستنفذت على التوالي ثلاث مرات (24سا) في المزيج 3:7 ميثانول-ماء 6ل و 4ل .

المستخلصات الهيدروميثانولية يتم تبخيرها دون الوصول إلى حالة الجفاف تحت ضغط منخفض ثم يضاف لها لاحقا الماء المغلي و تترك ليلة كاملة من أجل إزالة الكلوروفيل.

المزيج المرشح يتم استخلاصه عدة مرات بواسطة n-butanol بعد التركيز حتى الجفاف يتم الحصول على التوالي 16.66 غ من مستخلص الساق و 4.33 غ من مستخلص الجذر.

يتم تمثيل مراحل هذا الإستخلاص في المخطط التالي :

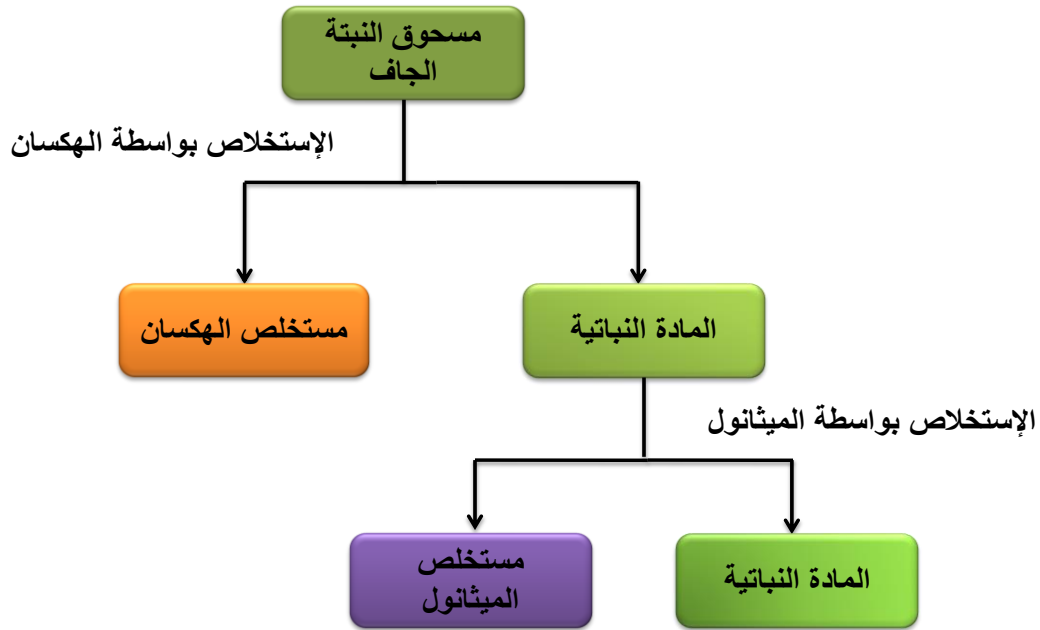


الشكل II.1 : مخطط يوضح مراحل الإستخلاص العام لمستخلصات n-butanol.

II-4-2- مستخلصات الميثانول:

يتم سحق 26 غ لكل من الأجزاء (الأزهار، الساق، الجذور) الجافة لنبتة *Senecio delphinifolius* *Vahl*، ثم يتم النقع ثلاث مرات بـ الهكسان لليلة كاملة، تجمع مستخلصات كل نقع ثم تبخر حتى الجفاف تحت ضغط منخفض، تستخلص بقايا المادة النباتية ثلاث مرات بالميثانول لمدة 24 ساعة، بعد التبخير والتركيز بواسطة جهاز rotavapeur يتم الحصول على التوالي (5.068 غ، 2.39 غ، 1.616 غ) لكل من الزهرة، الساق، الجذور.

يتم تمثيل مراحل هذا الإستخلاص في المخطط التالي:



الشكل II.2 : مخطط يوضح مراحل الإستخلاص العام لمستخلصات الميثانول.

II-5-5- التقدير الكمي للفينولات بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية

تقدر الفينولات بطريقة (Singleton Rossi) بمساعدة كاشف الفولين Folin-ciocalteai، حيث أن هذا الكاشف يتكون من حمض فوسفوتنغستينيك ($H_3PW_{12}O_{40}$) وحمض فوسفوموليبيديك ($H_3PMO_{12}O_{40}$)، الذي يرجع بواسطة الفينولات إلى أكاسيد التنغستين (W_8O_{23}) والموليبيدين (Mo_8O_3) ذات اللون الأزرق [4].

يتم تقدير المركبات الفينولية كميًا بواسطة جهاز طيف الأشعة فوق البنفسجية والمرئية (UV-Vis) باستعمال حمض الغاليك كفينول مرجعي عند الطول الموجي $\lambda_{max}=760 \text{ nm}$.

II-5-1- رسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك

ويتم ذلك عمليًا بتحضير محاليل ممددة لحمض الغاليك ذو تراكيز مختلفة محصورة ما بين mg/ml (0.3-0.03)، يتم أخذ 0.1 ml من التركيز المحضر ثم يضاف له 6 ml من الماء المقطر، ثم بعدها إضافة 0.5 ml من كاشف الفولين، ثم يتم إضافة 1.5 ml من محلول كربونات الصوديوم Na_2CO_3 بتركيز

20%، في الأخير نضيف الماء المقطر حتى 10ml ثم يرج المزيج قليلا وبعدها يترك في الظلام لمدة ساعتين، تتم بعد ذلك قراءة الإمتصاصية الضوئية لها بواسطة جهاز UV-Vis عند الطول الموجي $\lambda_{max} = 760\text{nm}$.

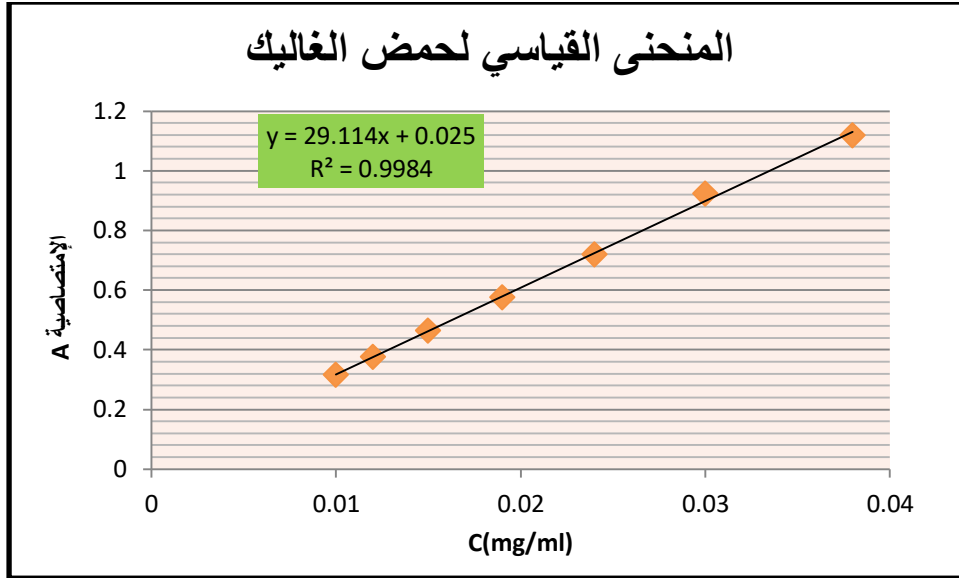
قيم الإمتصاصية مدونة في الجدول التالي :

الجدول 1.II : قيم إمتصاصية حمض الغاليك.

التركيز mg/ml	0.01	0.012	0.015	0.019	0.024	0.03	0.038
الإمتصاصية A	0.315	0.374	0.462	0.574	0.718	0.923	1.118

نتحصل على المنحنى القياسي لحمض الغاليك برسم تغيرات الإمتصاصية الضوئية بدلالة التركيز

$A = f(C)$ كما هو موضح في المنحنى (1.II)

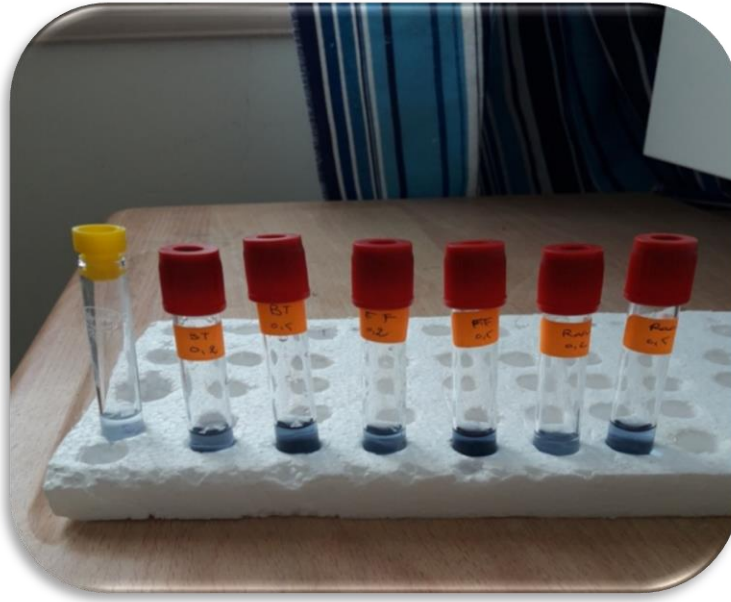


المنحنى 1.II: المنحنى القياسي لحمض الغاليك.

II-5-2- التقدير الكمي للفينولات في مستخلصات النبتة المدروسة

تعامل المحاليل المحضرة لمستخلصات بنفس معاملة حمض الغاليك، وبعد الحصول على قيم الإمتصاصية الضوئية لهذه المحاليل تستخدم المعادلة التالية في حساب كمية الفينولات.

$$A = 29.11C + 0.025$$



الصورة 1.II: المحاليل بعد إضافة كاشف الفولين.

II-6-6- تقدير كمية الفلافونيدات بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية

يعتمد في تقدير الفلافونيدات على قدرة تكوين المعقد الأصفر بين ثلاثي كلور الألمنيوم ($AlCl_3$) مع مجموعة الهيدروكسيل (OH) الموجودة على الحلقات البنزينية للفلافونيدات، ويمتص عند طول موجة $\lambda_{max} = 430 \text{ nm}$.

II-6-6-1- رسم المنحنى القياسي للكرستين

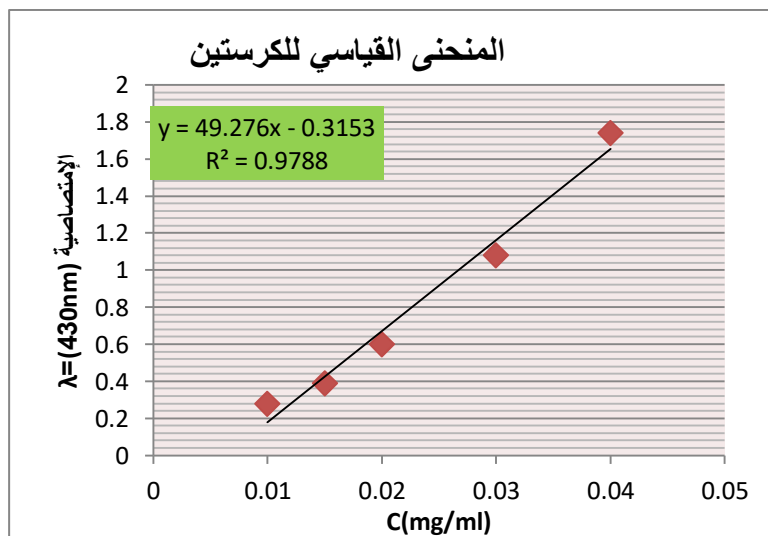
تقدر كمية الفلافونيدات بواسطة جهاز طيف الأشعة فوق البنفسجية والمرئية (UV-Vis) باستعمال الكرستين كمحلول قياسي عند الطول الموجي $\lambda_{max} = 430 \text{ nm}$. ويتم ذلك عمليا بتحضير محاليل بتركيزات مختلفة للكرستين محصورة ما بين $(0.1-0.02) \text{ mg/ml}$ ، وبإضافة 1ml من محلول ثلاثي كلور الألمنيوم $AlCl_3$ ذو تركيز 2% لكل 1ml من التراكيز المحضرة، ثم تركها في الظلام لمدة 15 min، تتم بعد ذلك قراءة الإمتصاصية الضوئية لها بواسطة جهاز طيف الأشعة فوق البنفسجية والمرئية (UV-Vis) عند الطول الموجي $\lambda_{max} = 430 \text{ nm}$. [4].

ومن ثم نتحصل على المنحنى القياسي للكرستين برسم تغير الإمتصاصية الضوئية بدلالة التركيز

$$A = f(C) \text{ ، قيم إمتصاصية الكرستين موضحة في الجدول (2.II) .}$$

الجدول 2.II : قيم إمتصاصية الكرسيتين.

0.04	0.03	0.02	0.015	0.01	C (mg/ml)
1.74	1.08	0.6	0.39	0.28	A

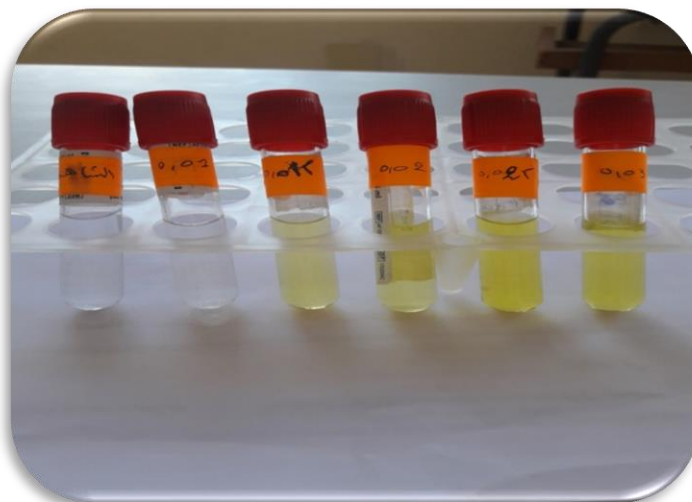


المنحنى 2.II : المنحنى القياسي للكرستين.

II-6-2- التقدير الكمي للفلافونيدات في مستخلصات النبتة المدروسة

تعامل المحاليل المحضرة للمستخلصات بنفس معاملة الكرسيتين، و بعد الحصول على قيم الإمتصاصية الضوئية لهذه المحاليل تستخدم المعادلة التالية في حساب كمية الفلافونيدات :

$$A = 49.27C - 0.315$$



الصورة 2.II : المحاليل بعد إضافة ثلاثي كلوريد الألمنيوم.

II-7-التقدير الكمي والنوعي بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)**II-7-1- الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)****مدخل :**

فتحت تجارب العالم الروسي Tswett مكتشف الكروماتوغرافيا في عام 1952م عهدا جديدا لتقنيات هامة جدا من تقنيات التحليل الكيميائي، ومن بينها الكروماتوغرافيا السائلة والتي تطورت إلى ما يعرف الآن بكروماتوغرافيا السائلة ذو الكفاءة العالية (HPLC High) Liquide Chromatography (Prefomance)، و التي تعتبر أفضل أجهزة الفصل الكيميائي، التي تتميز ببساطتها وسرعتها العالية في الفصل ودقتها المتناهية [5].

في هذا النوع يستخدم عمود من الحديد (Fe) أو من الزجاج المقاوم للضغط و الذي يعبأ بحبيبات صغيرة يتراوح قطرها من 5 إلى 50 مايكرومتر من السليكا النفاذ أو الالوميا (Al₂O₃) أو الراتنجات بالنسبة للطريقة الإمتزازية (طور ساكن صلب) أو تكون هذه الحبيبات مغطاة (مطلية أو مرتبطة كيميائيا) بطبقة رقيقة من سائل بالنسبة للطريقة التجزيئية [6].

تستعمل طريقة كروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) للتوصل إلى الشروط المثلى في تحليل بعض الفيتامينات الموجودة في بعض المستحضرات الدوائية والمواد الكيماوية، بعض الفواكه، العصائر [7].

II-7-1-1- المبدأ

تحقق مكونات العينة ثم يتم فصلها عن بعضها بناء على اختلاف اوزان التوزع لكل مكون بين الطور الساكن السائل والطور المتحرك السائل. التركيز النسبي للمكون في الطور الساكن Cs إلى الطور المتحرك Cm يعبر عنه بمعامل التجزؤ k حيث :

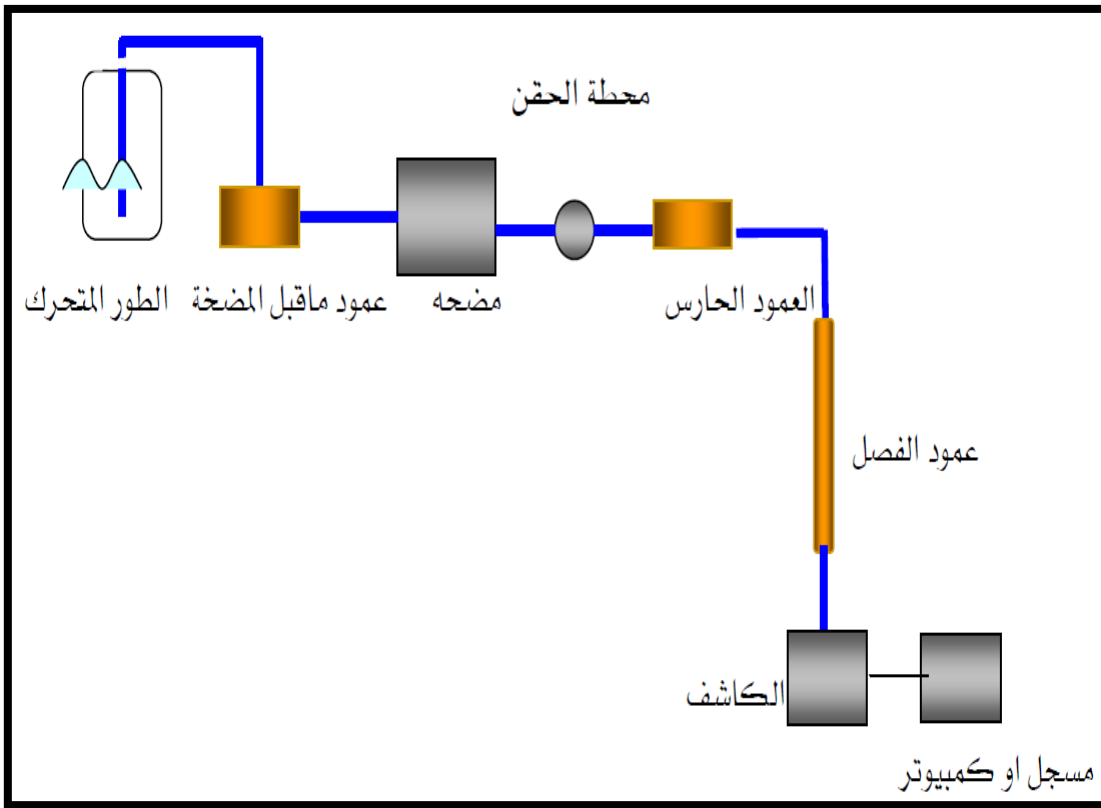
$$K = \frac{Cs}{Cm}$$

المعادلة أعلاه توضح أن حركة المكون تتناسب عكسيا مع معامل التجزؤ أي أن المكون ذو معامل التجزؤ لمكونات الخليط ويمكن الوصول إلى هذا بتغيير ظروف التجربة مثل تغيير تركيب الطور المتحرك وتغيير الطور الساكن ودرجة الحرارة [8].

II-7-1-2- مكونات الجهاز

يتكون الجهاز من الأجزاء الرئيسية التالية :

- مستودع الطور المتحرك.
- المضخة.
- محطة الحقن.
- العمود.
- الكاشف.
- وسيلة التسجيل الكروماتوغرام (مسجل أو كمبيوتر).



الشكل II.3 : مكونات جهاز HPLC [9].

II-7-2- تحضير العينات

عند تحليل عينة صلبة بواسطة جهاز HPLC يجب أن تكون مذابة بشكل جيد في محلول مشابه للطور المتحرك.

تم تحضير تركيز 2mg/ml من مستخلصات البوتانولية (الزهرة، الساق، الجذور) للنبتة المدروسة وذلك بإذابة 10mg من كل عينة في 5ml من الميثانول, تتم إزالة الجزيئات الصغيرة باستخدام عملية الفلترة لتفادي انسداد العمود.



الصورة 3.II : صورة العينات المحضرة بعد الفلترة.

II-7-3- التقدير الكمي والنوعي للفينولات بواسطة جهاز HPLC

للتأكد من وجود المركبات الفينولية وعددها نستعمل جهاز الـ HPLC بغرض التحليل الكيفي، وذلك بحقن عينة المركب المرجعي لمعرفة زمن المكوث المميز له، ثم نحقن بعد ذلك العينة المراد تحليلها في نفس شروط حقن المركب المرجعي وبنفس الحجم (20µl) بتركيز 5mg/ml من الميثانول 100%، ثم نقرأ على الكروماتوغرام زمن المكوث للمركبات المكونة للعينة ونقارنها مع القيم المرجعية، وبذلك نحدد المركبات الفينولية التي تم تحديد زمن مكوثها والمدون في الجدول (3.II).

الجدول 3.II: زمن المكوث للفينولات المرجعية.

المركبات الفينولية المرجعية	زمن المكوث t_r (min)	المعادلة	R^2
Gallic acid	5.29	$y = 54681x$	$R^2 = 0.9956$
Chlorogenic acid	13.392	$y = 21665x$	$R^2 = 0.9853$
Vanilic acid	15.531	$y = 65077x$	$R^2 = 0.9921$
Caffiec acid	16.277	$y = 84066x$	$R^2 = 0.9974$
Vanilin	21.46	$y = 58930x$	$R^2 = 0.9966$
P-Coumaric acid	23.817	$y = 49495x$	$R^2 = 0.9961$
Rutin	28.37	$y = 28144x$	$R^2 = 0.9869$
Nargining	34.788	$y = 19379x$	$R^2 = 0.9968$
Quercetin	45.047	$y = 45378x$	$R^2 = 0.9962$

II-7-3-1- شروط التجربة

الجدول (4.II) يوضح الشروط التجريبية لجهاز HPLC لفصل المركبات الفينولية في العينات :
الجدول 4.II : الشروط التجريبية لجهاز HPLC لفصل المركبات الفينولية.

العامل	الشروط
النظام	الطور المعكوس Rp-HPLC
العمود	(25cm×46cm)C18
حجم	20µl
معدل الحقن	1ml/min
طول الموجة	$\lambda=268\text{nm}$
الزمن	50min
درجة الحرارة	25C°
الطور المتحرك	Acetonitrile : A (0.2% acide acetique) : B

تغيرات نسبة الطور المتحرك A و B بدلالة الزمن الموضحة في الجدول (5.II)

الجدول 5.II : تغيرات نسبة الطور المتحرك A و B بدلالة الزمن.

الزمن (min)	نسبة A %	نسبة B %
0.01	10	90
0.02	10	90
6	14	86
16	17	83
23	19	81
28	23	77
30	10	90
50	10	90

8-II- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

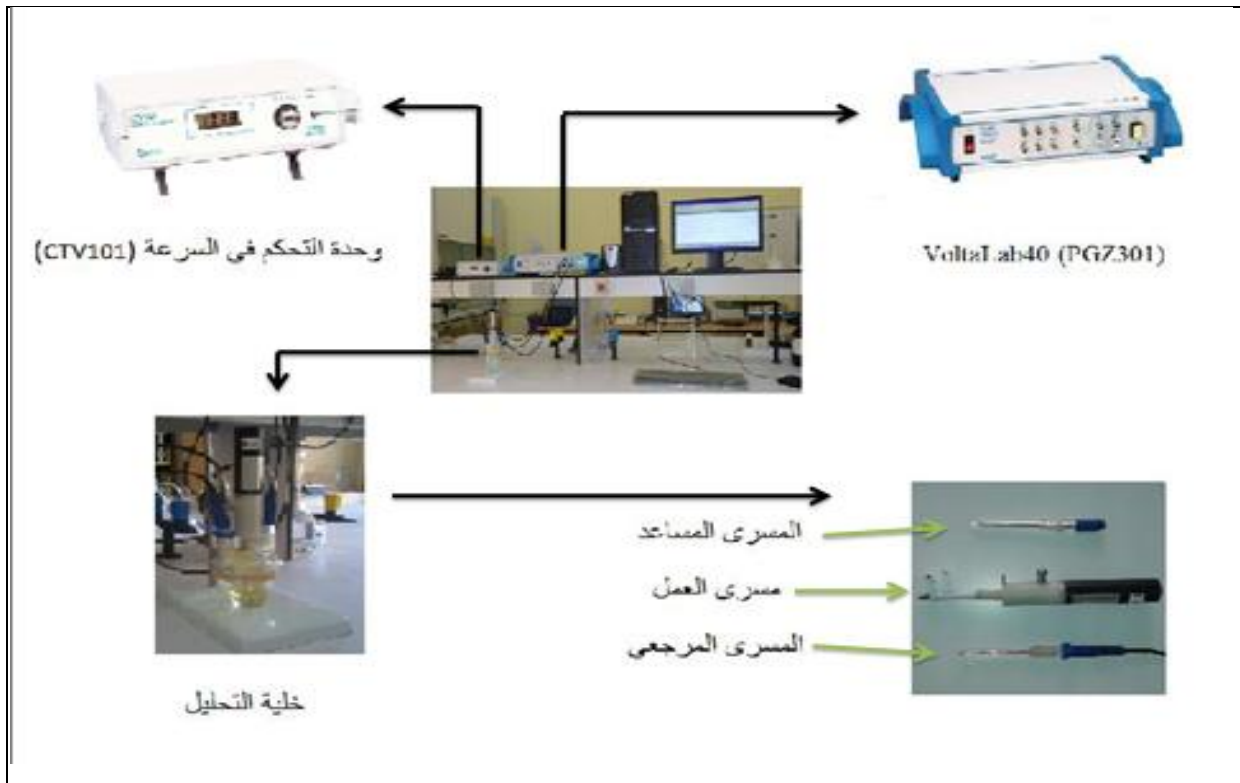
تمت دراسة السلوك الكهروكيميائي بواسطة جهاز VoltaLab40 PGZ301، المتصل بخلية زجاجية (V=25ml)، غطاؤها يحتوي على خمس فتحات، ثلاثة منها تسمح بدخول المساري والمتمثلة في (الكتروود العمل، الكتروود المرجع، الكتروود المساعد)، أما الثقبان الآخران فأحدهما يسمح بتزويد الوسط بالأزوت الذي يعمل على نزع الأكسجين ويمكن أن يكون نشط كهربائياً، والثقب الآخر لإضافة المواد [10].

الكتروود العمل: هو عبارة عن أسطوانة من كربون زجاجي أو أسطوانة من البلاتين، وهو الذي تنم فيه عمليات الأكسدة والإرجاع.

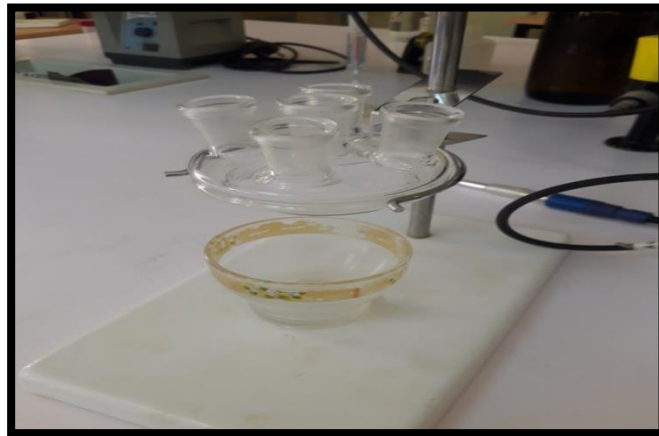
الكتروود المرجعي: هو عبارة عن الكتروود من الكالومال المشبع بـ KCl.

الكتروود المساعد: هو عبارة عن الكتروود مصنوع من البلاتين يضمن مرور التيار الكهربائي.

و قد تمت معالجة المعطيات بواسطة برنامج Volta Master 4 باستعمال تقنية الفولطمترية الحلقية.

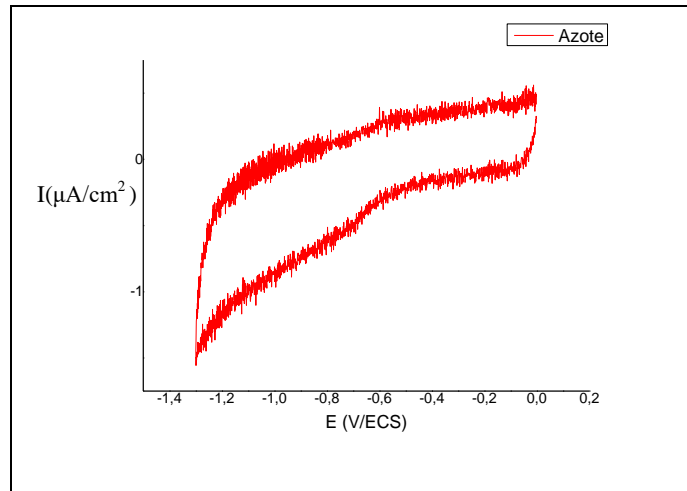


الشكل II.4 : المكونات الأساسية لجهاز 40 VoltaLab PGZ301 .



الصورة II.4 : صورة للخلية الزجاجية (V=25ml).

أنجزت الدراسة الكهروكيميائية للمواد المضادة للأكسدة، باستعمال تقنية الفولطمترية الحلقي في وسط عضوي والمتمثل في *DMSO* (Dimethyl sulfoxide) كمذيب وفي وجود الملح *TBFP* (tetrabutyl ammonium hexafluorophosphate) بتركيز 0.1 M كمادة كهروليونية. قبل مباشرة الدراسة، قمنا بتحديد مجال الكهروفاعلية للكهروليت المساعد مع المذيب، للتأكد من عدم نشاطيته، حيث تم طرد كل الأكسجين المتواجد في الخلية بالنتروجين، وحدد مجال الدراسة من 0 إلى -1.4V/ECS و بسرعة مسح تساوي 100 mV/s والشكل الموالي يوضح المنحنى الفولطمترية الحلقي للكهروليت المساعد مع المذيب وذلك فوق مسرى من الكربون الزجاجي (مسرى العمل).



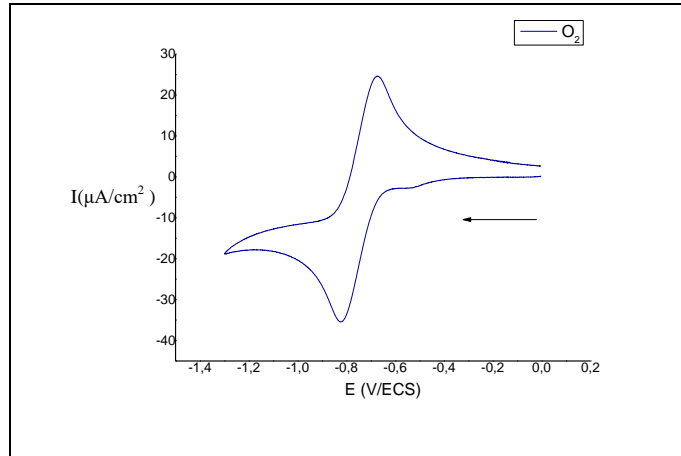
المنحنى II 3 : المنحنى الفولطمترى الحلقى للكهروليت المساعد مع المذيب المسجل من 0 إلى

-1.4 V/ECS وعند سرعة مسح 100 mV/s.

يوضح المنحنى الفولطمترى الحلقى المتحصل عليه في المنحنى (3.II) أن قيمة شدة التيار العظمى المصعدية المسجلة في فرق كمون 0 V/ECS على مسرى الكربون الزجاجي تقدر بـ $1.5 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ، أما قيمة شدة التيار العظمى المهبطية المسجلة في فرق كمون -1.4V/ECS فتقدر بـ $-2.5 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ، هذه القيم تدل على عدم وجود أي عناصر فعالة كهربائياً.

II-8-1- حساب نسبة القدرة اللازمة لتثبيت الجذور الحرة

نشبع محتوى الخلية التي تحتوي على الـ DMSO كمذيب وفي وجود الملح *TBFP* بتركيز 0.1M كمادة كهروليزية بالأكسجين من جديد، ونقوم بعملية الرج لمدة 5 دقائق وذلك للعمل في محلول متجانس. نرسم المنحنى الفولطمترى الحلقى الذي يظهر نتوء الأكسجين، المسجل على مسرى الكربون الزجاجي في مجال فرق كمون محصور ما بين 0 إلى -1.4V/ECS وعند سرعة مسح 100 mV/s.



المنحنى 4.II : المنحنى الفولطمترى الحلقى للكهروليت المساعد مع المذيب وبوجود الأكسجين، المسجل من 0 إلى -1.4V/ECS وعند سرعة مسح 100 mV/s.

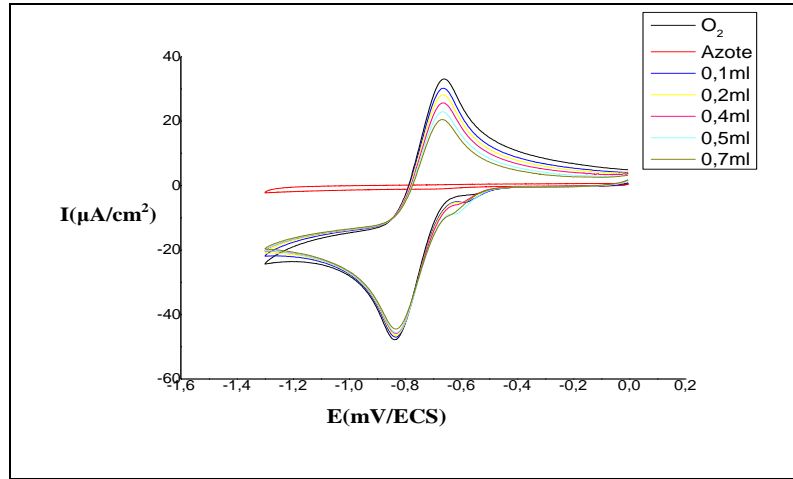
تم تحضير 7.852 مغ من الكرسيتين (مركب قياسي) في 1مل من المذيب العضوي DMSO، وباستخدام حقنة بحجم 1مل تتم إضافة محلول الكرسيتين المحضر تدريجياً بحجوم مختلفة من 0.1 إلى 1مل، ونرسم المنحنيات الفولطمترية الحلقية الخاصة بكل إضافة عند نفس الشروط التجريبية السابقة

بين المنحنى (5.II) أن الزيادة في تركيز الكرسيتين يؤدي إلى نقصان في شدة التيار المصعدي $O_2 \rightarrow I_{pa}^s$ ، بينما شدة التيار المهبطي لم تتغير.

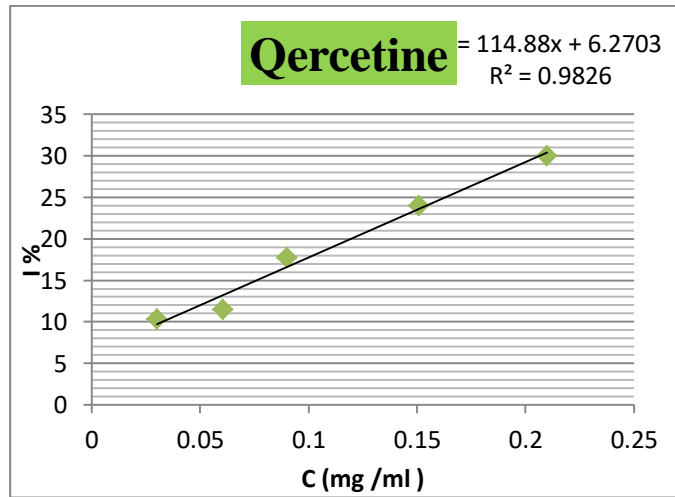
يمكن التعبير عن استهلاك الجذر الحر $O_2^{\bullet -}$ بالعلاقة التالية :

$$I(\%) = \frac{(ip_a - ip_s)}{ip_a} \times 100$$

(حيث ip_0 و ip_s ، هما على التوالي قيم شدة تيار الأوكسدة للجذر الحر $O_2^{\bullet -}$ في غياب وفي وجود العينة)، والتي يمكن رسم منحناها بدلالة تركيز المواد المضادة للأوكسدة المتزايد فتكون النتيجة عبارة عن خط مستقيم كما هو موضح في المنحنى (6.II).



المنحنى 5.II : المنحنيات الفولطومترية الحلقية لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الكرسيتين المسجل من 0 إلى -1.4V/ECS وعند سرعة مسح 200 mV/s.



المنحنى II 6. : منحنى بياني لتغيرات نسبة القدرة اللازمة لتنشيط الجذور الحرة بدلالة تركيز الكرسيتين.

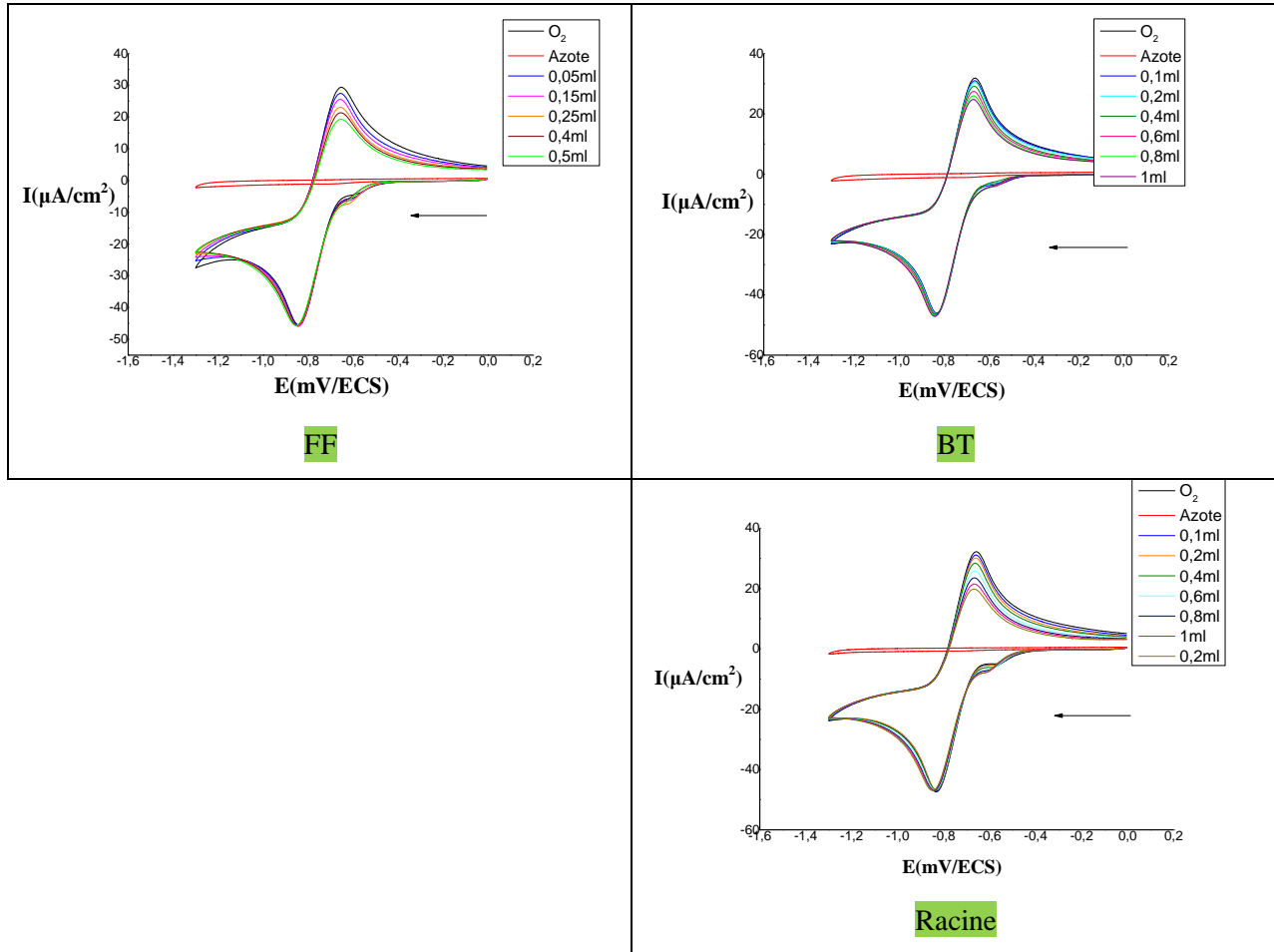
II-8-2- حساب نسبة القدرة اللازمة لتنشيط الجذور الحرة لمستخلصات n-butanol

من أجل دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات n-butanol تم إتباع نفس الدراسة التي أنجزت على المركب القياسي (الكرستين).

حيث تم تحضير المحاليل التالية :

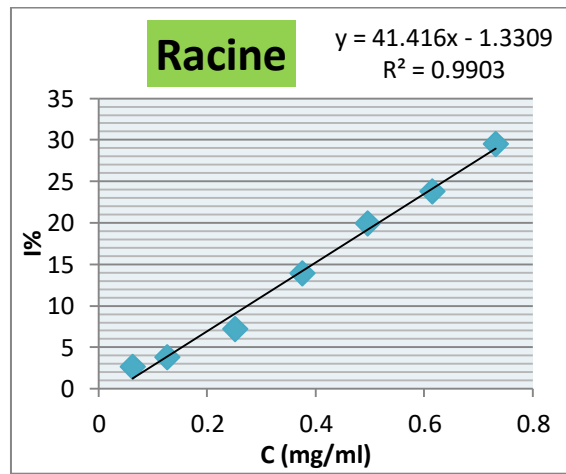
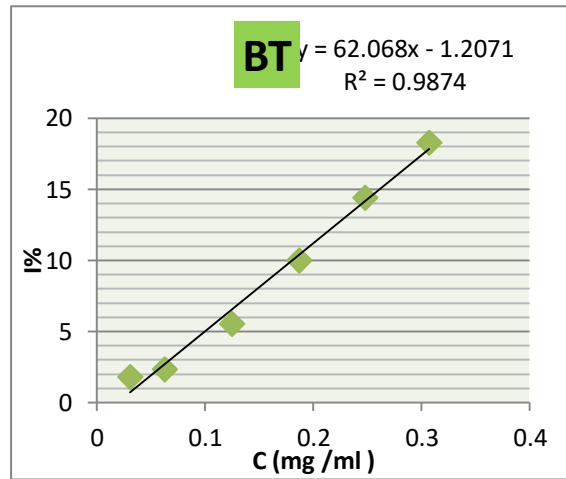
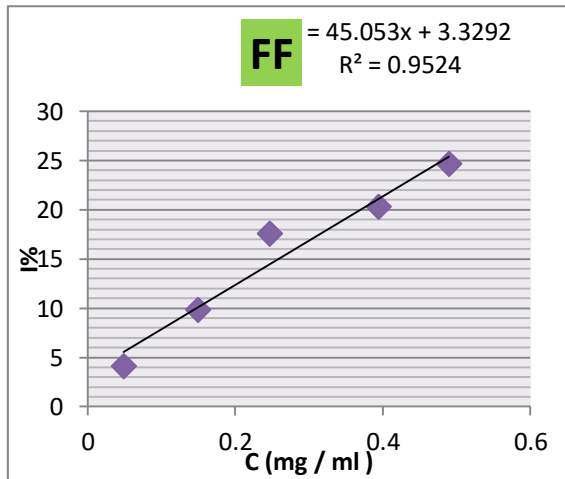
8مغ/مل من مستخلص الساق (BT)، و25مغ/مل مستخلص الزهرة (FF)، و16مغ/مل من مستخلص الجذور (Racine).

يتم التحصل على المنحنيات الفولطومترية الحلقية المتناقصة بزيادة التراكيز المضافة للمحلول المحضر ابتداء من 0.05 إلى 1مل.



المنحنى 7.II : المنحنيات الفولطمترية الحلقية لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من مستخلصات n-butanol (الساق والزهرة والجزور) للنبتة المدروسة المسجلة من 0 إلى V/ECS - 1.4 وعند سرعة مسح 200 mV/s.

بعد حساب قيم نسبة القدرة لتنشيط الجذور الحرة $O_2^{\bullet-}$ يتم رسمها بدلالة التركيز.



المنحنى 8.II : المنحنيات البيانية لتغيرات نسبة القدرة اللازمة لتثبيط الجذور الحرة (% I بدلالة التركيز (C) لمستخلصات n-butanol (الساق والزهرة والجذور) للنبتة المدروسة.

9-II- الفعالية المضادة للبكتيريا

تهدف الدراسة البيولوجية إلى معرفة مدى تأثير مستخلصات n-butanol للنبتة المدروسة على سلالات البكتيريا المدروسة. حيث تم جمع السلالات البكتيريا من كلية العلوم الدقيقة لجامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي.

9-II-1- تحضير أوساط الزرع

أولا تعقم منطقة العمل ثم يتم تحضير أطباق بتري ونسكب فيها وسط الزرع (Muller Hinton) الذي تم إذابته في جهاز التعقيم (Autoclave) في درجة حرارة 121°C ، بوجود موقد (Bec Benzéne) في طاولة العمل للحصول على وسط معقم وتترك الأطباق لتبرد وتتجمد [11].



الصورة 5.II : وسط معقم بوجود موقد (Bec Benzéne)

II-9-2- تحضير المعلق البكتيري

لتحضير معلق بكتيري نقوم بأخذ مستعمرة من كل سلالة بكتيرية (البكتيريا تكون منشطة مسبقا) بواسطة ماصة باستور معقمة، ثم نضع في أنبوب اختبار يحتوي على ماء فيزيولوجي وترج قليلا حتى نتحصل على معلق متجانس وعكر [12].

II-9-3- زراعة البكتيريا

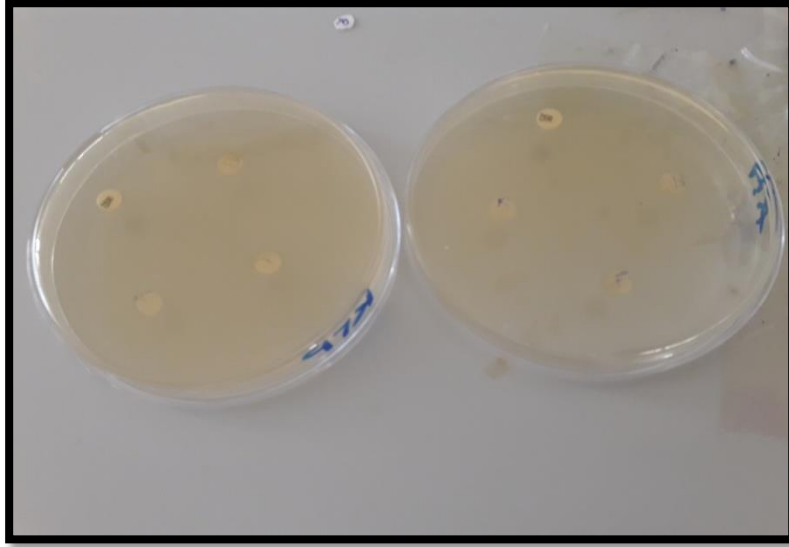
لزراعة البكتيريا نغمس الماسح القطني المعقم في المعلق البكتيري ثم يتم مسحه على كامل أوساط الزرع المحضرة سابقا في أطباق بتري بشكل خطوط متقاربة مع تكرار العملية 3 مرات مع تدوير الطبق بزواوية 60° في كل مرة [11].

II-9-4- وضع الأقراص

بعد تحضير الأوساط الزراعية، وزراعة البكتيريا، يتم وضع أقراص المضادات الحيوية كل واحد في المكان الخاص به داخل الأطباق المحضرة سابقا، بواسطة ملقط معقم نقوم بوضع في كل طبق بيتري ثلاثة أقراص فارغة ذات أقطار متساوية (5mm) ومعقمة. نضع في كل قرص 0.01 ml من المستخلصات المحضرة ذات تركيز 5mg/ml.

حيث تم إذابة 5 mg من كل عينة من مستخلصات n-butanol للأجزاء (الزهرة FF، الساق Bt، الجذور R) من النبتة المدروسة في 1ml من DMSO.

بعدها يتم وضع علب بتري بشكل مقلوب في الحاضنة تحت درجة حرارة 37° لمدة 24 ساعة .



الصورة 6.II: أطباق بيتري تحوي على البكتيريا وأقراص المضاد الحيوي والمستخلصات قبل الحضانة.
بعد انتهاء مدة الحضانة يتم إخراج علب بيتري لقياس الأقطار التثبيطية بـ (mm) للمستخلصات والمضادات الحيوية.

المراجع

- [1] S. Chevion, M. Chevion, P.B. Chock, G.R. Beecher, 1999- *Journale of Medicinal Food*.
- [2] Mezzache.N., Derbré, S., Akkal, S., Louaer. H., Séraphin,D., Richomme, P ., 2009- *FastCounter Current Chromatography of n - Butanolic Fraction from Senecio giganteus (Asteraceae)Natural Product Communications 4: 1-6.*
- [3] Bruneton, J., 1999- *Pharmacognosie -Phytochimie, Plantes M édicinales, 3ème édition, Ed. Tec et Doc Lavoisier, Paris, P: 312- 400.*
- [4] *INTERNATION JOURNAL OF FOOD PROPERTIES 2017, VOL. 20, NO. S2, S2070-S2083. https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1362650.*
- [8] A.S. Abd Elchakour., 1987- *chimie organique moderne et pratique, Université du Roi Abd Elaziz, Djeddah, p132.*
- [9] T.Sirard., 2012- *Fundamentals of HPLC. Water corporation, the science of what spossible, p103.*

- [5] مذكرة ماجستير قسم الكيمياء جامعة الملك سعود، تقدير نسبة الكوليستيرول في الأطعمة والدهون وبلازما الدم بواسطة كروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء سنة 2004 ص28-31-33-34-38-49.
- [6] المؤسسة العامة للتدريب التقني والمهني - الإدارة العامة لتطوير المناهج- طرق الفصل الكيميائي- نظري ص42-45-67.
- [7] مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية المجلد 23- العدد الأول-2007.
- [10] لقميريسهيلة، 2008- تحضير ودراسة الكتر وكيميائية وبنوية للأمينات فيروسيثيلامين-2- (4و3)- نترولونزين، مذكرة ماجستير، جامعة قاصديمرباح، ورقة، ص24-30.
- [11] حوة إ.، 2013- دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية وفيزيوكيمياء، جامعة قاصديمرباح ورقة، ص109.

المراجع

[12] العابد إ.، 2009- دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية التطبيقية، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، ص106.

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة

III-1- مردود الاستخلاص

$$R\% = \frac{mf}{mi} \times 100$$

R% : المردود %

mf : الكتلة النهائية

mi : الكتلة الابتدائية

نرمز لمردود المستخلصات بالرموز التالية :

➤ مستخلص ال n-butanol لزهرة النبتة المدروسة بـ (F')

➤ مستخلص ال n-butanol لسيقان النبتة المدروسة بـ (B')

➤ مستخلص ال n-butanol لجذور النبتة المدروسة بـ (R')

➤ مستخلص الميثانول لزهرة النبتة المدروسة بـ (F'')

➤ مستخلص الميثانول لسيقان النبتة المدروسة بـ (B'')

➤ مستخلص الميثانول لجذور النبتة المدروسة بـ (R'')

بعد عملية الاستخلاص تم التحصل على النتائج المدونة في الجدول التالي :

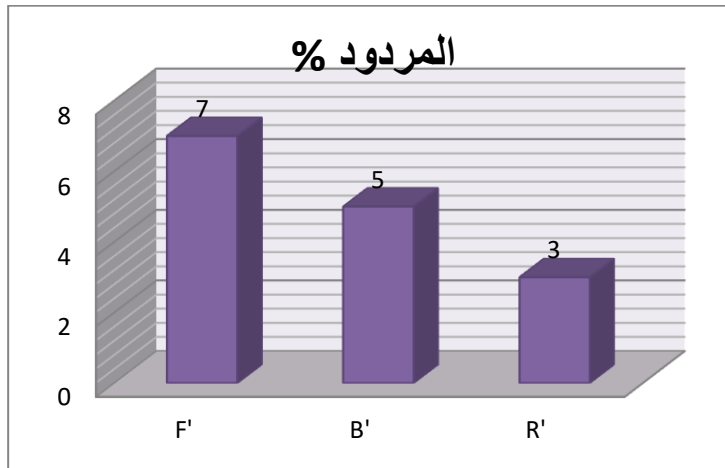
الجدول III. 1 : مردود الاستخلاص بـ n-butanol

العينة	الكتلة الكلية (غ)	الكتلة النهائية (غ)	المردود %
F'	600	47.8	7
B'	364	16.66	5
R'	144	4.33	3

من خلال النتائج المدونة في الجدول (III.1) نجد أن مردود الإستخلاص بالنسبة العينة (F') أكثر من

مردود العينة (B') ثم يليهما مردود العينة (R').

مردود استخلاص عينات n-butanol للنبتة المدروسة موضح في الشكل الموالي :



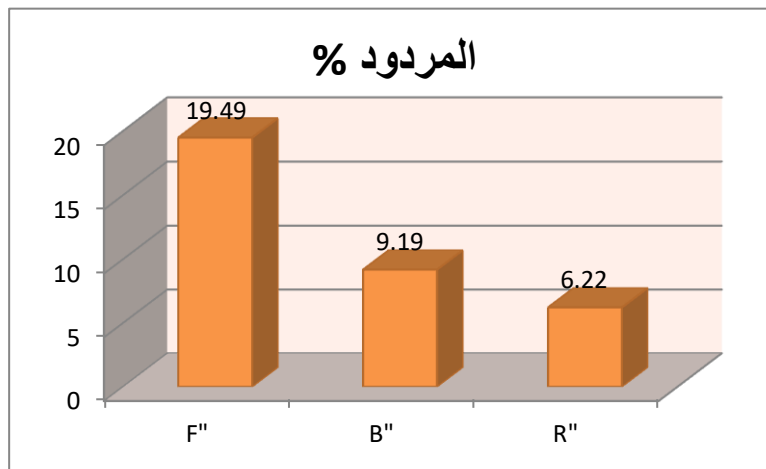
الشكل III.1: مخطط يوضح نسبة مردود مستخلصات n-butanol.

الجدول III.2 : مردود الاستخلاص بالميثانول.

العينة	الكتلة الكلية (غ)	الكتلة النهائية (غ)	المرودود %
F''	26	5.068	19.49
B''	25	2.39	9.19
R''	25	1.616	6.22

من خلال النتائج المدونة في الجدول (III.2) نجد أن مردود الاستخلاص بالنسبة العينة (F'') أكثر من مردود العينة (B'') ثم يليهما مردود العينة (R'').

مردود استخلاص عينات الميثانول للنبتة المدروسة موضح في الشكل الموالي :



الشكل III.2: مخطط يوضح نسبة مردود مستخلصات الميثانول.

III-2- التقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز مطيافية الأشعة UV-Visible

نتائج الإمتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في الجدول (3.III و 4.III).

الجدول 3.III : قيم الإمتصاصية للتركيز المحضرة في مستخلصات البوتانولية.

العينة	المستخلص البوتانولي للزهرة	المستخلص البوتانولي للساق	المستخلص البوتانولي للجذور
التركيز (مغ/مل)	0.3	0.3	0.3
الإمتصاصية A	0.96	0.93	0.74

الجدول 4.III : قيم الإمتصاصية للتركيز المحضرة في مستخلصات الميثانولية.

العينة	المستخلص الميثانولي للزهرة	المستخلص الميثانولي للساق	المستخلص الميثانولي للجذور
التركيز (مغ/مل)	0.3	0.3	0.3
الإمتصاصية A	0.76	0.73	0.65

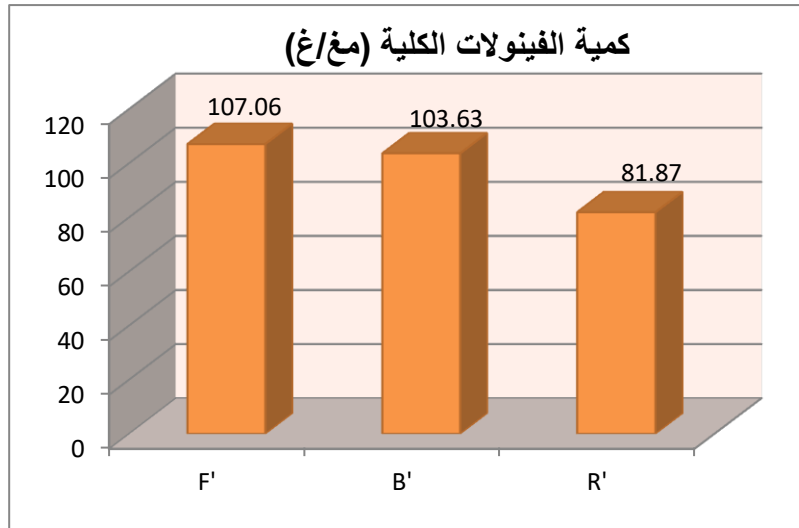
تم تقدير كمية الفينولات الكلية للمستخلصات البوتانولية والميثانولية بحساب رياضي وذلك باستعمال علاقة المنحنى القياسي لحمض الغاليك، حيث تم التعبير عن المحتوى الفينولي لكل مستخلص بعدد الملغرامات المكافئة من حمض الغاليك لكل غرام من الوزن الجاف للنبتة (مغ/غ).

$$A = 29.11C + 0.025$$

الجدول 5.III : كمية الفينولات الكلية في المستخلصات البوتانولية.

المستخلص	المستخلص البوتانولي للزهرة	المستخلص البوتانولي للساق	المستخلص البوتانولي للجذور
كمية الفينولات (مغ/غ)	107.06	103.63	81.87

تتواجد المركبات الفينولية بكمية معتبرة على مستوى نبات *Senecio delphinifolius Vahl*، حيث نلاحظ من النتائج المدونة في الجدول أن المستخلص البوتانولي للزهرة يحوي أكبر كمية من الفينولات قدرت بـ 107.06 مغ/غ، يليها المستخلص البوتانولي للساق بكمية 103.63 مغ/غ، ثم المستخلص البوتانولي للجذور بكمية 81.87 مغ/غ.

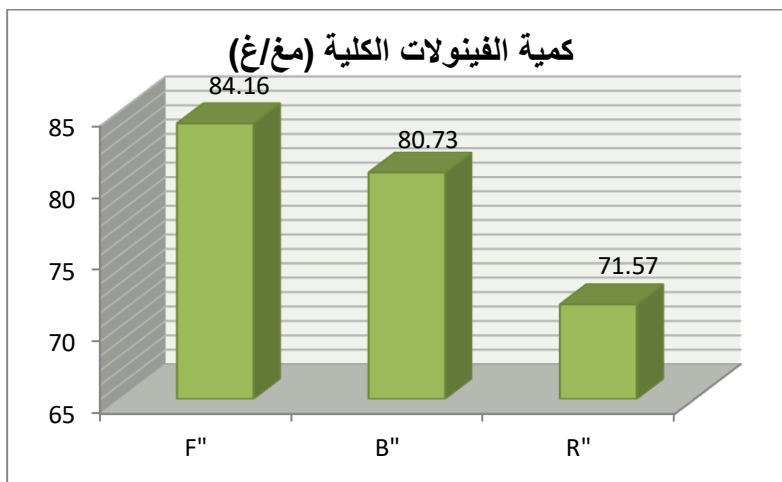


الشكل 3.III: كمية الفينولات الكلية في المستخلصات البوتانولية.

الجدول 6.III: كمية الفينولات الكلية في المستخلصات الميثانولية.

المستخلص	المستخلص الميثانولي للزهرة	المستخلص الميثانولي للساق	المستخلص الميثانولي للجذور
كمية الفينولات (مغ/غ)	84.16	80.73	71.57

تتواجد المركبات الفينولية بكمية معتبرة على مستوى نبات *Senecio delphinifolius Vahl*، حيث نلاحظ من النتائج المدونة في الجدول أن المستخلص الميثانولي للزهرة يحوي أكبر كمية من الفينولات قدرت بـ 84.16 مغ/غ، يليها المستخلص الميثانولي للساق بكمية 80.73 مغ/غ، ثم المستخلص الميثانولي للجذر بكمية 71.57 مغ/غ.



الشكل 4.III: كمية الفينولات الكلية في المستخلصات الميثانولية.

III-3- التقدير الكمي للفلافونيدات بواسطة جهاز مطيافية الأشعة UV-Visible

نتائج الإمتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في الجدول (7.III و 8.III) :

الجدول 7.III : قيم الإمتصاصية للتركيز المحضرة بالنسبة للمستخلصات البوتانولية:

العينة	المستخلص البوتانولي للزهرة	المستخلص البوتانولي للساق	المستخلص البوتانولي للجذور
التركيز (مغ/مل)	0.3	0.3	0.3
الإمتصاصية A	0.247	0.213	0.158

الجدول 8.III : قيم الإمتصاصية للتركيز المحضرة بالنسبة للميثانولات:

العينة	المستخلص الميثانولي للزهرة	المستخلص الميثانولي للساق	المستخلص الميثانولي للجذور
التركيز (مغ/مل)	0.25	0.25	0.25
الإمتصاصية A	0.393	0.220	0.382

تم تقدير كمية الفلافونيدات للمستخلصات البوتانولية والميثانولية بحساب رياضي وذلك باستعمال علاقة المنحنى القياسي للكرستين، إذ حسبت كمية الفلافونيدات الكلية بالمليغرام المكافئ للكرستين لكل غرام من الوزن الجاف للنبتة (مغ/غ).

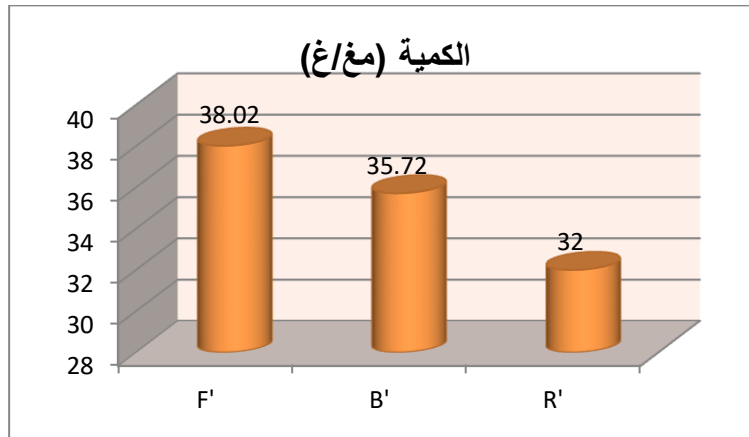
$$y = 49.27x - 0.315$$

الجدول 9.III : كمية الفلافونيدات الكلية في المستخلصات البوتانولية.

المستخلص	المستخلص البوتانولي للزهرة	المستخلص البوتانولي للساق	المستخلص البوتانولي للجذور
كمية الفلافونيدات (مغ/غ)	38.02	35.72	32

حيث سجلت أكبر كمية للفلافونيدات في المستخلص البوتانولي للزهرة بمقدار 38.02 مغ/غ ويليها المستخلص البوتانولي للساق بمقدار 35.72 مغ/غ ثم تليهم كمية المستخلص البوتانولي للجذور بمقدار 32 مغ/غ.

والشكل التالي يوضح الفرق بين الكميات.



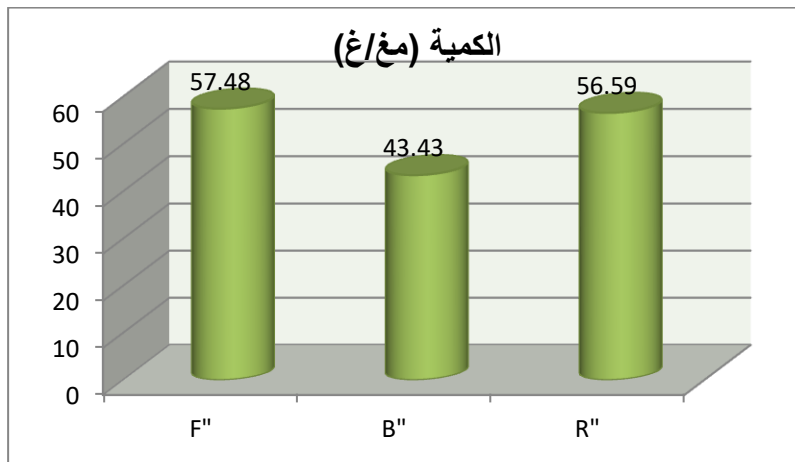
الشكل III.5 : كمية الفلافونيدات الكلية للمستخلصات n-butanol.

الجدول III.10 : كمية الفلافونيدات الكلية في المستخلصات الميثانولية.

المستخلص الميثانولي	المستخلص الميثانولي	المستخلص الميثانولي	المستخلص
للجذر	للساق	للزهرة	
56.59	43.43	57.48	كمية الفلافونيدات (مغ/غ)

حيث سجلت أكبر كمية للفلافونيدات في المستخلص الميثانولي للزهرة بمقدار 57.48 مغ/غ ويليها المستخلص الميثانولي للساق بمقدار 43.43 مغ/غ ثم تليهم كمية المستخلص الميثانولي للجذر بمقدار 56.59 مغ/غ.

والشكل التالي يوضح الفرق بين الكميات.



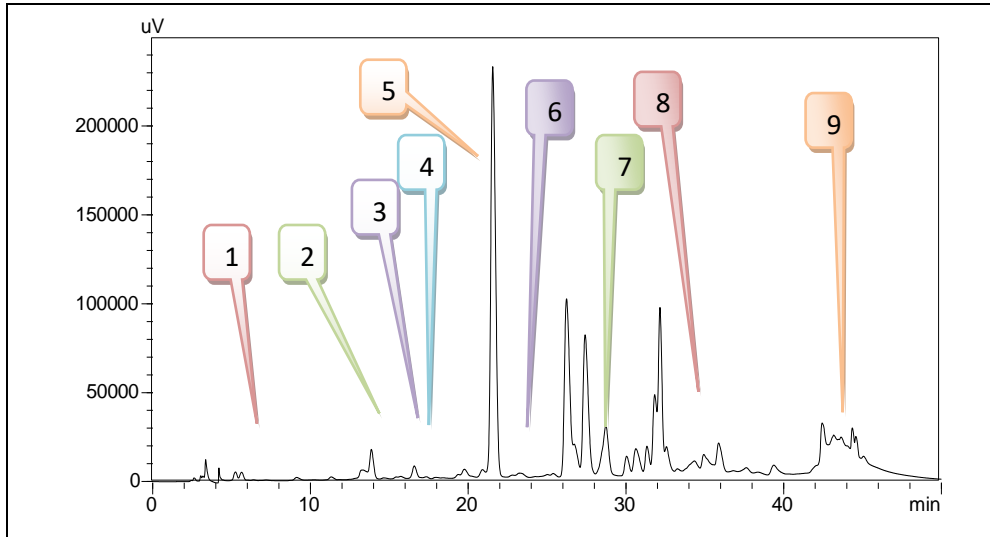
الشكل III.6 : كمية الفلافونيدات الكلية للمستخلصات الميثانولية.

III-4- التحليل الكمي والنوعي بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)

تم الحصول على مجموعة من المنحنيات الكروماتوغرافية الخاصة بكل عينة حيث أن كل عينة تتميز بزمن إستبقاء ومساحة عيارية، كما يتميز بها أي مركب تم فصله بجهاز HPLC.

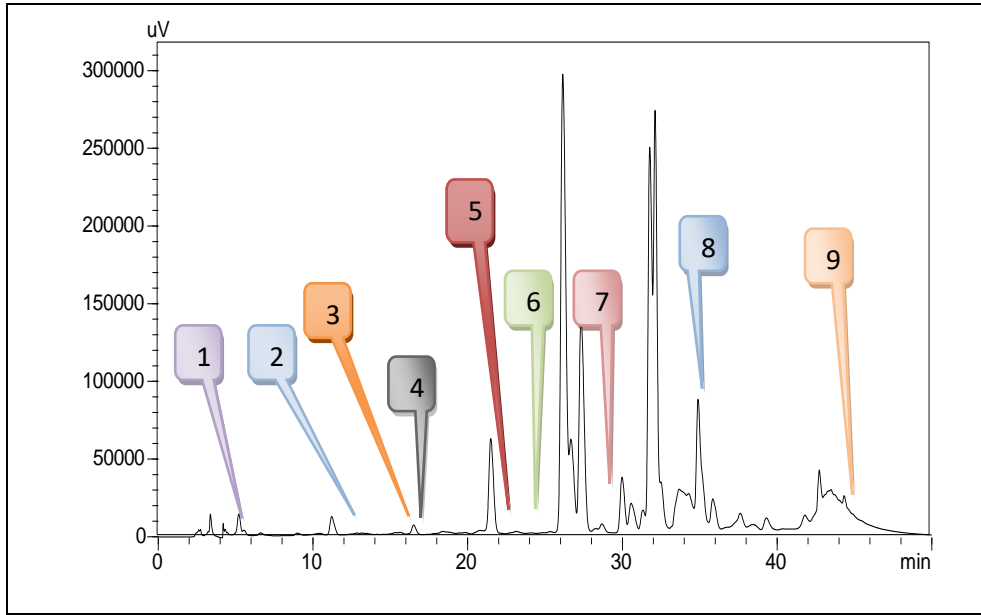
- **زمن الاستبقاء T_R** : هو الزمن اللازم لخروج المركب من عمود الفصل ووصوله إلى الكاشف حيث لكل مركب زمن بقاء يميزه عن غيره ومنه يتم التحديد النوعي.
- **المساحة العيارية A** : وهي مساحة القمة الناتجة عن المركب والتي يتم تحديدها من قبل الكاشف، ومنها يتم التحديد الكمي.

الكروماتوغرام الناتج عن الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمستخلص n-butanol للزهرة موضح في الشكل التالي :



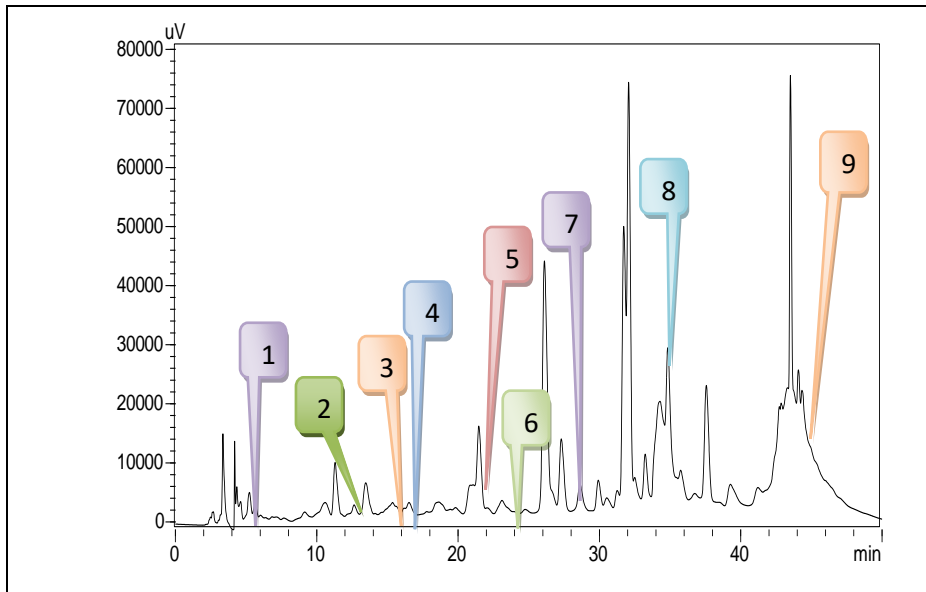
الشكل III.7: كروماتوغرام مستخلص الزهرة F.

الكروماتوغرام الناتج عن الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمستخلص n-butanol للساق موضع في الشكل الموالي :



الشكل 8.III : كروماتوغرام مستخلص الساق B.

الكروماتوغرام الناتج عن الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمستخلص n-butanol للجذور موضع في الشكل (9.III).



الشكل 9.III : كروماتوغرام مستخلص الجذور.

جدول 11.III: المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلصات وكميتها.

رقم المركب	المركبات الفينولية	زمن الكوثر (min)	زمن الكوثر (min)	زمن الكوثر (min)	زمن الكوثر (min)	كمية كل مركب في العينة R (µg/mg)	كمية كل مركب في العينة B (µg/mg)	كمية كل مركب في العينة F (µg/mg)	زمن الكوثر (min)
1	حمض الغاليك	5.29	5.243	5.205	5.232	1.263	2.363	2.273	المركب المرجعي
2	حمض كلوروجينيك	13.392	13.321	13.455	12.639	2.905	0.939	14.162	المركب المرجعي
3	حمض الفانيليك	15.531	15.720	15.642	15.362	1.377	0.398	1.404	المركب المرجعي
4	حمض الكافيك	16.277	16.578	16.502	16.184	0.206	1.013	2.984	المركب المرجعي
5	الفانيلين	21.46	21.553	21.487	21.062	0.645	11.869	85.224	المركب المرجعي
6	حمض بيوكومارين	23.817	23.240	24.108	23.102	1.124	0.664	4.111	المركب المرجعي
7	روتين	28.37	28.720	28.674	28.619	2.062	4.154	37.727	المركب المرجعي
8	الترجينين	34.788	34.933	34.266	34.280	20.608	17.462	27.737	المركب المرجعي
9	الكرستين	45.047	45.054	44.327	44.325	19.115	21.132	25.504	المركب المرجعي

من خلال المقارنة بين كروماتوغرام العينة F وكروماتوغرام العينة B وكروماتوغرام العينة R نستنتج أن المستخلصات تحتوي على المركبات الفينولية المرجعية التسعة التي تم تحديدها سابقا غير أن كمياتها تختلف من مركب لآخر .

III-5- تقدير الفعالية المضادة للأوكسدة

تم تعيين التركيز المناسب لتثبيط 50 % من الجذور الحرة -O₂ (IC₅₀) للعينات المدروسة من العلاقة الخطية لنسبة القدرة اللازمة لتثبيط الجذور الحرة -O₂ بدلالة تركيز، تدون النتائج المتحصل عليها لقيم IC₅₀ بوحدة (مغ/مل) في الجدول التالي :

الجدول 12.III: قيم IC_{50} بوحدة (مغ/مل) للعينات المدروسة

المركب	قيمة r^2	المعادلة	طريقة	قيمة IC_{50} (mg/ml)
المستخلص البوتانولي للساق	0.987	$Y = 62.06X - 1.207$	O_2^-	0.825
المستخلص البوتانولي للجذور	0.999	$Y = 41.41X - 1.330$	O_2^-	1.239
المستخلص البوتانولي للزهرة	0.952	$Y = 45.05X + 3.329$	O_2^-	1.035
Quercetine	0.982	$Y = 114.8X + 6.270$	O_2^-	0.380

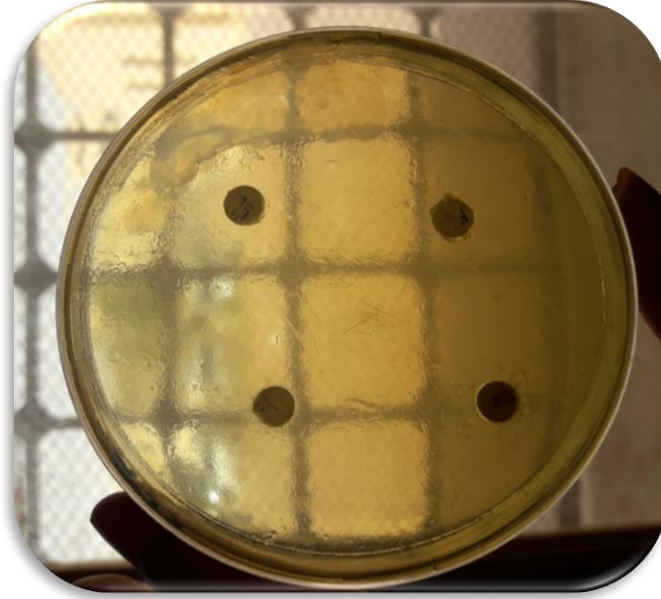
تشير النتائج الموضحة في الجدول أعلاه إلى أن مستخلصات n-butanol لنبته *Senecio delphinifolius* *Vahl* تملك القدرة على تثبيط الجذر الحر، بحيث تبين أن لمستخلص للساق فعالية جيدة يليها مستخلص الزهرة ثم مستخلص الجذور، وذلك بمقارنة قيم IC_{50} لمستخلصات النبتة مع قيمة IC_{50} للكركستين الذي تم أخذه كمرجع قياسي، و منه فإن لـ مستخلصات n-butanol لنبته *Senecio delphinifolius* *Vahl* فعالية مضادة للأكسدة و هذا دليل على غنى النبتة بالمركبات الفينولية.

III-6- الفعالية المضادة للبكتيريا

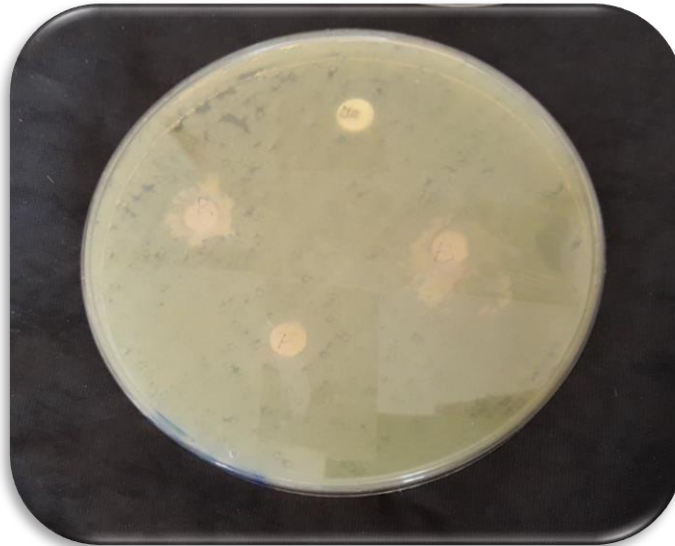
بعد الزرع والحضن لمدة 24س، نقوم بقياس قطر التثبيط حول الأقراص المشبعة بتركيز المستخلصات البوتانولية، مع الأخذ بعين الإعتبار قطر تثبيط المضاد الحيوي.

الجدول 13.III: التراكيز المحضرة لدراسة الفعالية المضادة للبكتيريا.

العينة	المستخلص البوتانولي للزهرة	المستخلص البوتانولي للجذر	المستخلص البوتانولي للساق
التركيز (مغ/مل)	5	5	5



الصورة III.1 : الأثر التثبيطي للمستخلصات البوتانولية على البكتيريا *Listeria innocua*.



الصورة III.2 : الأثر التثبيطي للمستخلصات البوتانولية على البكتيريا *Klebsiella Pneumoniae*.

جدول 14.III: الفعالية التثبيطية للمستخلصات البوتانولية تجاه *Klebsiella* و *Listeria innocua* Pneumoniae بـ (ملم).

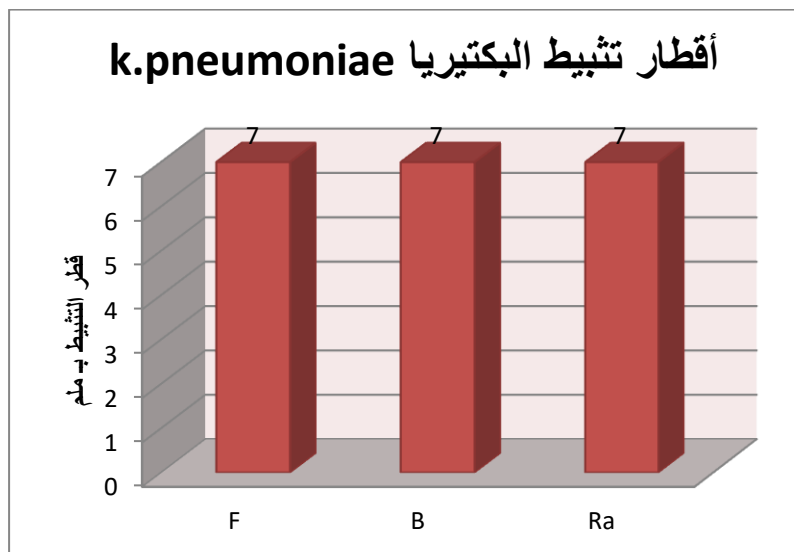
قطر التثبيط (ملم)		نوع المستخلص
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	<i>Listeria innocua</i>	
7	10	المستخلص البوتانولي للزهرة
7	10	المستخلص البوتانولي للجذر
7	15	المستخلص البوتانولي للساق
7	14	قرص المضاد الحيوي

• بالنسبة للبكتيريا *Listeria innocua*

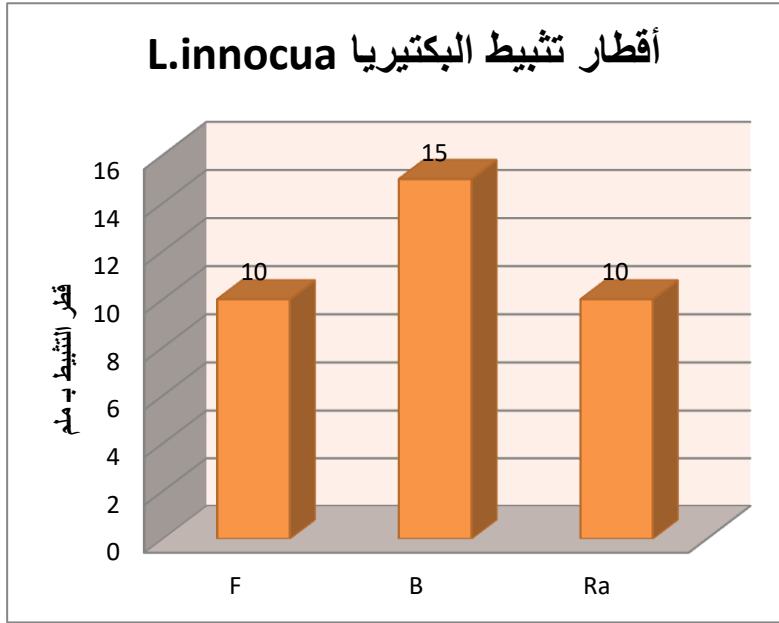
من خلال الجدول تبين أنه لمستخلص الزهرة والجذور فعالية تثبيطية متوسطة حيث بلغ القطر التثبيطي إلى 10 ملم وذلك راجع إلى أن البكتيريا تمتلك حساسية متوسطة للمستخلصين الزهرة والجذور، بينما كانت الفعالية التثبيطية لمستخلص الساق جيدة حيث بلغ قطر تثبيطه إلى 15 ملم الذي فاق قطر المضاد الحيوي وذلك راجع إلى أن البكتيريا حساسة لمستخلص الساق.

• بالنسبة للبكتيريا *Klebsiella Pneumoniae*

• من خلال النتائج المتحصل عليها تبين أن كل من المضاد الحيوي وكذا المستخلصات البوتانولية (الزهرة، الساق، الجذور) لا تمتلك فعالية تثبيطية ضد البكتيريا *Klebsiella Pneumoniae* حيث بلغت جميع الأقطار 7 ملم، وذلك راجع إلى أن هذه البكتيريا تمتلك مقاومة ضد المضاد الحيوي والمستخلصات.



الشكل 10.III: مخطط يوضح أقطار تثبيط البكتيريا *Klebsiella Pneumoniae*



الشكل 11.III : مخطط يوضح أقطار تثبيط البكتيريا *Listeria innocua*

الختامة

الخاتمة

يندرج هذا العمل في إطار تبيين الموارد النباتية في الجزائر، وقد وقع الاختيار على النبتة *Senecio Delphinifolius Vahl*، إذ تم القيام بتقدير المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا.

وكخطوة أولى قمنا باستخلاص المركبات فينولية بطريقتين، تمت الطريقة الأولى بواسطة مذيبات مختلفة حيث إستعملنا الهكسان و ثنائي كلوروميثان ثم المزيج ميثانول-ماء (3:7) وبعدها إستعملنا n-بوتانول للحصول على المستخلصات البوتانولية لأجزاء النبتة، وبعد الإستخلاص تمكنا من حساب مردود كل مستخلص حيث أعطت المستخلصات البوتانولية مردودا معتبرا بالمقارنة مع المستخلصات الأخرى، حيث قدر مردود المستخلصات البوتانولية لكل من الزهرة، الساق والجذور على التوالي بـ (7%، 5%، 3%). بينما تمت الطريقة الثانية للإستخلاص من خلال استعمال الهكسان ثم الميثانول من أجل الحصول على المستخلصات الميثانولية، حيث قدر مردود المستخلصات البوتانولية لكل من الزهرة، الساق والجذور على التوالي بـ (19.49%، 9.19%، 6.22%).

من ثم قمنا بالتقدير الكمي للفينولات الكلية للمستخلصات البوتانولية والميثانولية بإستعمال كاشف Folin-Ciocalteu حيث قدرت كمية الفينولات في المستخلصات البوتانولية لكل من الزهرة، الساق والجذور على التوالي بـ (107.06مغ/غ، 103.63مغ/غ، 81.87مغ/غ). بينما قدرت كمية الفينولات في المستخلصات الميثانولية لكل من الزهرة، الساق والجذور على التوالي بـ (84.16مغ/غ، 80.73مغ/غ، 71.57مغ/غ).

أما بالنسبة للتقدير الكمي للفلافونيدات فقد قمنا بإستعمال $AlCl_3$ حيث قدرت كمية الفلافونيدات في المستخلصات البوتانولية لكل من الزهرة، الساق والجذور على التوالي كالاتي (38.02مغ/غ، 35.72مغ/غ، 32مغ/غ). بينما قدرت كمية الفلافونيدات في المستخلصات الميثانولية لكل من الزهرة، الساق و الجذور على التوالي (57.48مغ/غ، 43.43مغ/غ، 56.59مغ/غ).

كما قمنا بالتحليل الكمي لبعض المركبات الفينولية للمستخلصات البوتانولية عن طريق التحليل الكمي والنوعي باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا السائلة العالية الأداء (HPLC) إذ سجلنا وجود 9 مركبات المتمثلة في: حمض الغاليك، حمض الكلوروجينيك، حمض الفانيليك، حمض الكافيك، فانيلين، بيوكومارين، روتين، نرجينين، كرسيتين.

وقد قمنا بعدها بتقدير الفعالية المضادة للأكسدة بإستعمال الطريقة الكهروكيميائية المتمثلة في طريقة الفولطمري الحلقي، وقد كانت النتائج جيدة حيث توصلنا إلى أن مستخلصات n-butanol لنبتة *Senecio delphinifolius Vahl* تملك القدرة على تثبيط الجذر الحر O_2^- ، بحيث تبين أن لمستخلص للساق فعالية جيدة يليها مستخلص الزهرة ثم الجذور، وذلك بمقارنة قيم IC_{50} لمستخلصات النبتة مع قيمة

IC₅₀ للكرستين الذي تم أخذه كمرجع قياسي، وقد سجلت قيم IC₅₀ للمستخلصات على التوالي (0.825مغ/مل، 1.035مغ/مل، 1.239مغ/مل) وهذا راجع إلى غنى النبتة بالمركبات الفينولية. وقد ختمنا بحثنا هذا باختبار الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلصات البوتانولية على سلالتين بكتيريتين (*Listeria innocua* و *Klebsiella Pneumoniae*)، حيث تبين لنا بأن البكتيريا *Klebsiella Pneumoniae* تمتلك مقاومة ضد جميع المستخلصات البوتانولية لأجزاء النبتة المدروسة. بينما كانت البكتيريا *Listeria innocua* حساسة للمستخلص البوتانولي للساق، ومتوسطة الحساسية بالنسبة للمستخلصين البوتانوليين (الزهرة والجدور). وفي الأخير ونظرا للنتائج المشجعة المتحصل عليها مع المستخلصات البوتانولية للنبتة *Senecio delphinifolius Vahl*, يمكن تثمين خصائص هذه النبتة لتكون ضمن النباتات المستعملة في الطب العشبي.

الملاحق

❖ جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية (UV-VIS)



❖ جهاز كروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)



❖ جهاز المعقمة (Autoclave)



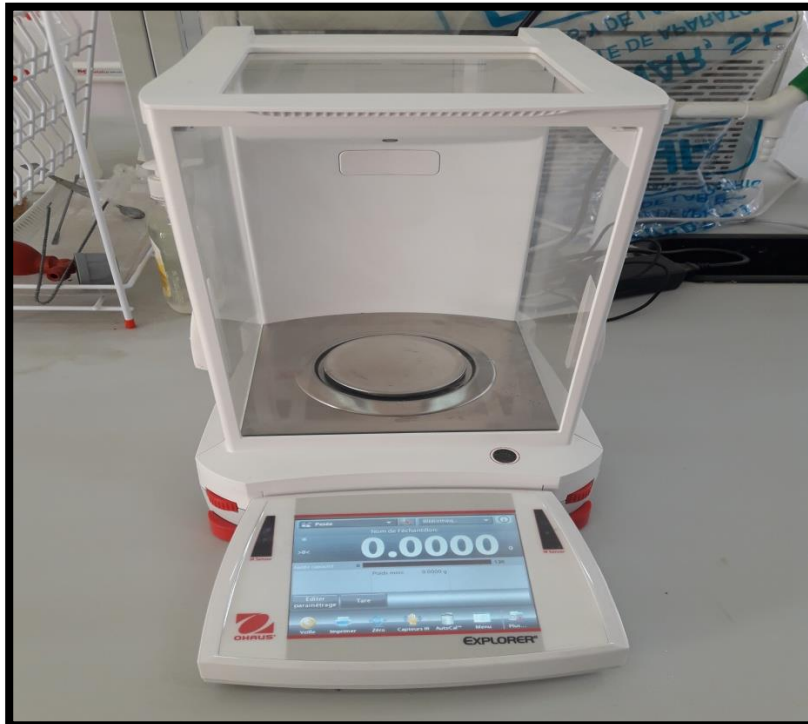
❖ جهاز الحاضنة (Etuve)



❖ جهاز التبخير والدوران (Rotavapeur)



❖ جهاز الميزان الحساس



❖ خلية كهروكيميائية



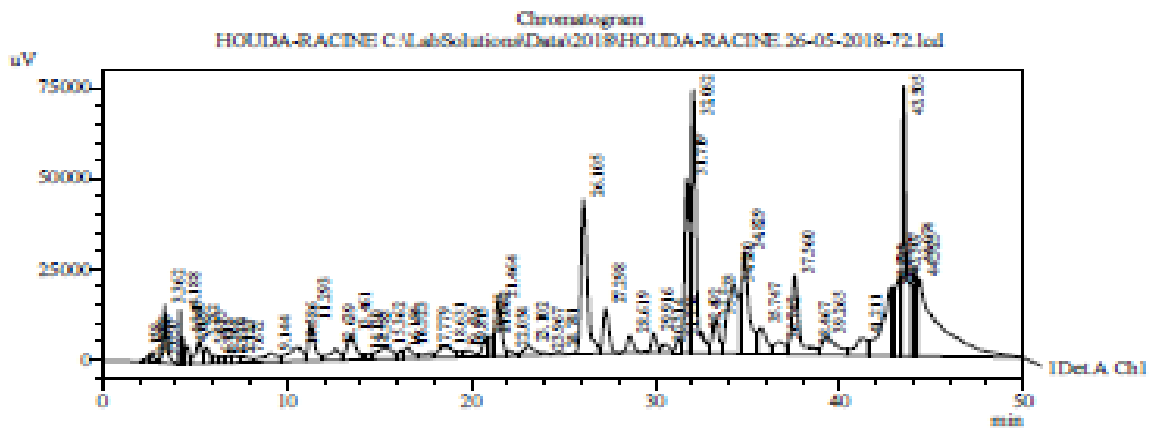
الملحق 02 : نتائج الـ HPLC للعينة Ra (الجزور)



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
 République Algérienne Démocratique et Populaire
 وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
 Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
 جامعة الشهيد حمة لخضر السوادي
 Université Echahid Hamma Lakhdar d'EL Oued
 مختبر الموارد الصحراوية وتكنولوجياها
 Laboratoire de Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes



Sample Information
 Acquired by : Admin
 Sample Name : HOUDA-RAI
 Sample ID : HOUDA-RAI
 Vial# :
 Injection Volume : 20 uL
 Data Filename : HOUDA-RAI
 Method Filename : Nouria21.m
 Batch Filename :
 Report Filename : dis01.r
 Date Acquired : 26-05-2018 8
 Data Processed : 26-05-2018 9



Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
18	11.293	251373	10491	1.677	1.700
19	12.639	125867	3107	0.840	0.504
20	13.461	220215	6739	1.469	1.092
21	14.130	24307	1479	0.162	0.240
22	14.583	28582	1613	0.191	0.261
23	15.362	179247	3167	1.196	0.513
24	16.184	34661	2109	0.231	0.342
25	16.523	101033	3027	0.674	0.491
26	17.779	51583	1330	0.344	0.216
27	18.631	156470	2833	1.044	0.459
28	19.439	32843	1498	0.219	0.243
29	19.815	59145	1750	0.395	0.284
30	20.833	111200	5420	0.742	0.878
31	21.062	75419	5437	0.303	0.881
32	21.464	360080	15337	2.402	2.486
33	22.054	36276	1423	0.242	0.231
34	23.102	111277	2534	0.742	0.411
35	23.987	11135	542	0.074	0.088
36	24.741	25288	814	0.169	0.132
37	26.105	1090633	42716	7.008	6.923
38	27.298	282639	12419	1.885	2.013
39	28.619	116070	4649	0.774	0.753
40	29.916	106930	5203	0.713	0.843
41	30.514	64735	2250	0.432	0.365
42	31.254	66796	3533	0.446	0.573
43	31.719	803277	48305	5.358	7.829
44	32.062	1317825	72728	8.790	11.787
45	32.492	14369	1171	0.096	0.150
46	33.233	229294	9830	1.529	1.583
47	34.280	798703	18843	5.327	3.054
48	34.829	793008	27957	5.289	4.531
49	35.747	220400	7283	1.470	1.180
50	36.742	147222	3417	0.982	0.554
51	37.560	619920	21767	4.135	3.528
52	38.467	3294	158	0.021	0.026
53	39.265	288347	5135	1.923	0.832
54	41.211	205075	4730	1.368	0.767
55	42.725	619185	18539	4.130	3.005
56	42.853	223679	19134	1.492	3.101
57	43.307	459158	21759	3.063	3.525
58	43.505	1183682	74653	7.889	12.099
59	44.074	396982	24820	2.648	4.027
60	44.325	1735051	21394	11.573	3.467
Total		14992409	617017	100.000	100.000

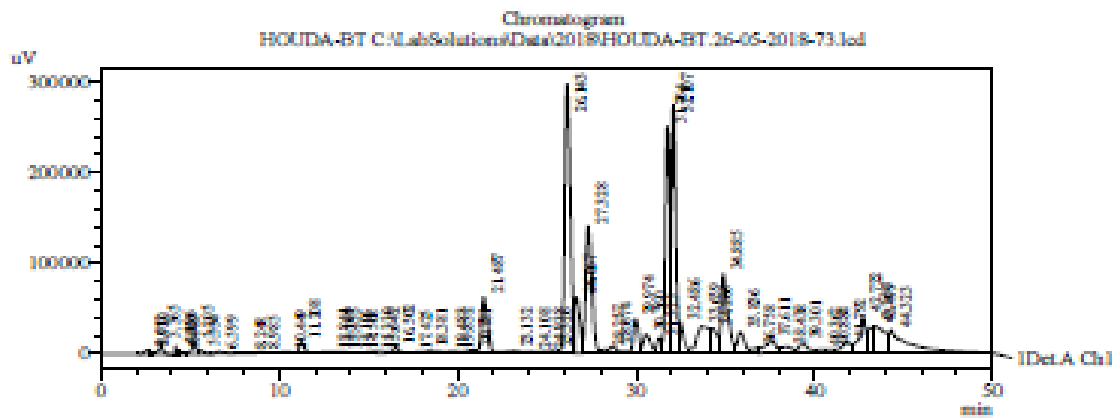
الملحق 03 : نتائج الـ HPLC للعينة BT (الساق)



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



Sample Information
 Acquired by : Admin
 Sample Name : HOUDA-BT
 Sample ID : HOUDA-BT
 Vial# :
 Injection Volume : 20 µL
 Data Filename : HOUDA-BT1
 Method Filename : Nouria21.m
 Batch Filename :
 Report Filename : dia01.r
 Date Acquired : 26-05-2018 9
 Data Processed : 26-05-2018 11



PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.612	62320	4619	0.161	0.276
2	2.720	43391	4914	0.113	0.294
3	3.365	205176	15087	0.532	0.902
4	4.196	39479	9137	0.102	0.348
5	4.323	41305	5339	0.107	0.319
6	4.440	43491	3300	0.113	0.197
7	5.205	258449	14841	0.671	0.888
8	5.534	81442	4347	0.211	0.260
9	6.599	72233	2223	0.187	0.133
10	8.248	3628	138	0.009	0.008
11	8.985	44932	1706	0.117	0.102
12	10.440	76958	1525	0.200	0.081
13	11.208	266958	12351	0.693	0.739
14	12.841	70669	1731	0.183	0.103
15	13.160	32906	1681	0.085	0.101
16	13.435	40687	1543	0.106	0.082
17	14.106	16597	848	0.043	0.051

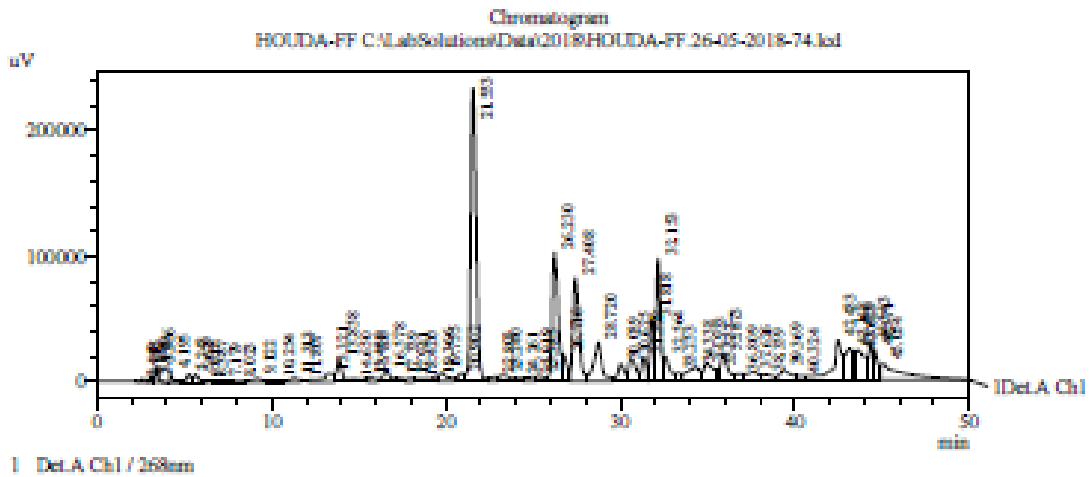
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
18	14.508	17510	852	0.045	0.051
19	15.330	68942	2044	0.179	0.122
20	15.642	51715	2136	0.134	0.128
21	16.502	170271	6867	0.442	0.411
22	17.425	21095	828	0.055	0.049
23	18.381	186070	2682	0.483	0.160
24	19.483	31782	1704	0.082	0.102
25	19.832	62545	1995	0.162	0.119
26	20.781	121717	3299	0.316	0.197
27	21.487	1398843	62444	3.629	3.735
28	23.132	142797	2645	0.370	0.158
29	24.108	65720	1650	0.171	0.099
30	24.938	58815	1802	0.153	0.108
31	25.326	71448	2533	0.185	0.152
32	26.143	6670012	296832	17.305	17.753
33	26.667	1299176	61954	3.371	3.705
34	27.328	3202958	139909	8.310	8.367
35	28.257	101509	4381	0.263	0.262
36	28.674	233785	7407	0.607	0.443
37	29.974	800262	37439	2.076	2.239
38	30.560	575602	20604	1.493	1.232
39	31.325	305172	16245	0.792	0.972
40	31.764	4344808	249774	11.272	14.938
41	32.107	4530275	273454	11.754	16.354
42	32.486	575995	34327	1.494	2.053
43	33.659	1380112	29695	3.581	1.776
44	34.266	676790	26941	1.756	1.611
45	34.885	2233366	87490	5.794	5.233
46	35.836	641467	23367	1.664	1.397
47	36.758	122840	5145	0.319	0.308
48	37.611	625230	14140	1.622	0.846
49	38.438	315838	6862	0.819	0.410
50	39.301	409368	11116	1.062	0.665
51	40.362	137380	4081	0.356	0.244
52	40.884	119877	4038	0.311	0.242
53	41.792	485539	12845	1.260	0.768
54	42.722	1070060	41939	2.776	2.508
55	43.367	714001	28580	1.852	1.709
56	43.479	1184258	29289	3.073	1.752
57	44.323	1917856	25368	4.976	1.517
Total		38543529	1672055	100.000	100.000



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
 République Algérienne Démocratique et Populaire
 وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
 Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
 جامعة الشهيد حماد لخباز EL Oued
 مخبر الموارد الصحراوية تراثها وتكنولوجياها
 Laboratoire de Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes



Sample Information
 Acquired by : Admin
 Sample Name : HOUDA-FF
 Sample ID : HOUDA-FF
 Vial# :
 Injection Volume : 20 uL
 Data Filename : HOUDA-FF.L
 Method Filename : Nourris21.m
 Batch Filename :
 Report Filename : dis01.r
 Date Acquired : 26-05-2018 1
 Data Processed : 26-05-2018 1



PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.448	7490	763	0.028	0.070
2	2.615	21622	2344	0.102	0.305
3	3.040	27778	3633	0.103	0.333
4	3.172	28011	3470	0.104	0.318
5	3.356	140310	12847	0.518	1.176
6	4.195	86318	8476	0.319	0.776
7	5.243	124305	6136	0.460	0.562
8	5.629	114330	5023	0.423	0.543
9	6.017	20597	1480	0.076	0.135
10	6.387	42454	1611	0.157	0.148
11	7.179	88646	1482	0.328	0.136
12	8.023	37104	1090	0.137	0.100
13	9.122	127049	2863	0.470	0.362
14	10.254	80310	1415	0.297	0.129
15	11.313	116879	3049	0.431	0.279
16	11.807	39909	1526	0.148	0.140
17	13.321	306820	6843	1.135	0.626

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
18	13.858	373107	18405	1.380	1.685
19	14.650	87848	2356	0.325	0.216
20	15.439	62612	2823	0.232	0.258
21	15.720	91395	3143	0.338	0.288
22	16.578	250825	8998	0.928	0.824
23	17.339	80368	2860	0.297	0.262
24	17.941	80542	3462	0.298	0.225
25	18.420	81326	2235	0.301	0.206
26	19.366	100356	4061	0.371	0.372
27	19.755	266688	6976	0.986	0.639
28	20.902	175402	6704	0.641	0.614
29	21.553	5022222	233377	18.574	21.365
30	22.803	98388	3540	0.364	0.324
31	23.240	203459	4661	0.752	0.427
32	24.261	77590	2655	0.287	0.243
33	25.019	143593	3766	0.531	0.345
34	25.385	120130	4321	0.444	0.396
35	26.230	2438359	102586	9.019	9.392
36	26.716	409186	20760	1.513	1.901
37	27.408	1990404	82286	7.361	7.533
38	28.720	1061799	31224	3.927	2.858
39	30.039	341990	13813	1.265	1.265
40	30.625	524095	18040	1.938	1.652
41	31.329	381309	19442	1.410	1.780
42	31.818	799824	48453	2.958	4.436
43	32.153	1662563	97460	6.149	8.922
44	32.564	440038	19128	1.627	1.751
45	33.253	169209	6588	0.626	0.603
46	34.338	569685	10976	2.107	1.006
47	34.933	537526	14582	1.988	1.335
48	35.533	61503	8851	0.227	0.810
49	35.873	614998	20978	2.274	1.921
50	36.809	189685	5375	0.702	0.492
51	37.626	328161	7052	1.214	0.646
52	38.359	209298	4509	0.774	0.413
53	39.369	379434	8367	1.403	0.766
54	40.324	84118	3360	0.311	0.308
55	42.433	1282119	31940	4.742	2.924
56	43.168	815841	25190	3.017	2.306
57	43.475	158372	22691	0.586	2.077
58	43.629	854423	23977	3.160	2.195
59	44.343	402612	29112	1.489	2.665
60	44.571	445726	24273	1.648	2.222
61	45.054	1157342	13114	4.280	1.201
Total		27039045	1092320	100.000	100.000

المخلص :

تهدف هذه الدراسة إلى تقدير المحتوي الفينولي واختبار الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا لمستخلصات n-butanol للنبته *VahlSenecio delphinifolius*.

لتحقيق هذا الهدف قمنا باستخلاص المركبات الفينولية. ومن بعدها تم التقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة الأشعة فوق البنفسجية والمرئية. ويليهما التقدير الكمي والنوعي بواسطة جهاز (HPLC) بالنسبة لمستخلصات n-butanol.

كما تمت دراسة الفعالية المضادة للأكسدة باستعمال الطريقة الكهروكيميائية وقد توصلنا إلى أن مستخلصات n-butanol تمتلك قدرة تثبيطية لجذر الأوكسجين الحر.

وكخطوة أخيرة تم اختبار الفعالية المضادة للبكتيرية على سلالتين بكتيريتين ممرضتين وقد كانت النتائج متفاوتة.

الكلمات المفتاحية : *VahlSenecio delphinifolius* - Asteraceae - المركبات الفينولية - الفعالية المضادة للأكسدة- الفعالية المضادة للبكتيريا