

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة قاصدي مرباح ورقلة

كلية الرياضيات وعلوم المادة

قسم الكيمياء



مذكرة مقدمة لإستكمال متطلبات نيل شهادة ماستر أكاديمي

في الكيمياء

التخصص: كيمياء مطبقة

من إعداد: دقموش سعيدة، ربوح فهمي

بعنوان

المساهمة في الإستخلاص و إجراء إختبارات الكشف عن مركبات الإيض
الثانوي والفعالية البيولوجية لنبته أكليل الجبل

نوقشت علنا يوم: 23/05/ 2017 أمام لجنة المناقشة:

رئيسا	أستاذ مساعد – ب-	مخلفي طارق
مناقشا	أستاذة محاضر – ب-	سلوقي نبيلة
مقررا	أستاذ محاضر – ب-	هادف الدراجي

العام الجامعي : 2016 / 2017

تشكرات

الحمد لله الذي أنار لنا ورب العلم و المعرفة و أعاننا على أداء هذا الواجب و وفقنا إلى إنجاز هذا العمل
أولاً نشكر المولى عز و جل الذي رزقني العقل و حسن التوكل عليه سبحانه و تعالى , و على نعمه الكثير
التي رزقني إياها .. فالحمد لله و الشكر لله على كل حال
نتوجه بجزيل الشكر و الامتنان إلى كل من ساعرننا من قريب أو بعيد على إنجاز هذا العمل و في تزييل ما واجهناه
من صعوبات , و نخص بالذكر الأستاذ المشرف هاوف الدرراجي الذي لم يبخل علينا بتوجيهاته و نصائحه القيمة
التي كانت عوناً لنا في إتمام هذا العمل.
و نحن كذلك ندين لكثير من الناس , أقرباء كانوا أو أصدقاء ... بكثير من المحرمات , و لعل أصغر شيء يمكننا فعله من

أجلهم هو شكرهم

فلا شيء عندنا أعظم أفتخر به , أعظم من وين أو من به
و امرأة عظيمة قامت بإنجابي و أخت عظيمة قامت بتربيته
و أب , أفخر و إنما عندما يحتتم إسمي ...

باسمه

و إلى أساترتنا و أستاذاتنا , و كل من أشرف على تعليمي منذ الصغر إلى الآن , أرجوا من المولى عز و جل أن
يجمعني و إياهم في جنانه الواسعة
..... آمين

و لايفوتنا أن نشكر كل من موصفي المخبر مكاوي رمضان , خضراوي عباس , انيسة , حنان
و عمال المستشفى و خاصة الدكتور شربي يوسف
و كما نتقدم بالشكر إلى لجنة المناقشة
رئيس اللجنة : مخلفي طارق
مناقشة: سلوقي نبيلة
إلى أصدقائنا نرجوا لكم التوفيق في مشواركم الدراسي و كذا المستقبلي
شكراً لكم جميعاً



أهدي عملي هذا :

الى الوجه الذي لا يكف ابتساما ،الى من علمني كل حرف فكان نعم المعلم ، الى الذي علمني طعم الحياة
وعلمي كيف امضي في درهما.....أبي الغالي.

الى النهر الذي لا يجف حنانا أُمي الحنون التي اسأل الله ان يرزقني دوام برها ما حييت ،فهني التي كانت
ومازالت تغرق على برعايتها وعطفها .

والى اشقاء روحي وبلسم جروحي اخواني الاعزاء من كبيرهم الى صغيرهم ، وعمي وأفراد اسرته الكريمة .

والى جدتي الكريمة اطال الله في عمرها ، والى خالي واسرته الكريمة .

والى أصدقائي الاعزاء بدون استثناء .

والى كل طلبة الماستر كيمياء مطبقة والى زميلاتي في هذا العمل دقموش سعيدة وكل افراد عائلتها

الكريمة .

والى استاذي الفاضل هادف الدراجي .

والى استاذ رئيس اللجنة مخلفي طارق والى استاذة المناقشة سلوفاي نبيلة.

كما اهدي العمل الى كل من ساعدني من قريب او بعيد في إنجاز هذا العمل من البداية الى النهاية، واخص

بذكر الى كل افراد المخبر الكيمياء : عباس ، رمضان ، حنان ، أنيسة .

واحمد الله الذي وفقني الى اتم هذا العمل .

إهداء

الحمد لله الذي وفقنا لهذا ولم تكن لنصل إليه لو فضل الله علينا أما بعد

لابد لنا ونحن نخطو خطواتنا الأخيرة في الحياة الجامعية من وقفة نعود إلى أعوام قضيناها في رحاب الجامعة مع اساتذتنا الكرام الذين قدموا لنا الكثير باذلين بذلك جهودا كبيرة في بناء جيل الغد لتبعث الامة من جديد

أهدي هذا العمل إلى :

كل من علمني حرفا في هذه الدنيا الفانية.

روح أمي العزيزة الغالية بخالد جمعة و روح أبي الزاكية الطاهرة محمد بلخير

إلى من لا يمكن لأرقام أن تحصي فضائلها، لا يمكن للكلمات أن توفي حقها

روح أخي الغالية على قلبي أحمد

إخوتي و أخواتي و آخر العنقود روميضاء وخاصة اختي التي ربنتني فاطمة خليفة أمي -رحمها الله-

إلى كل من أولاد أختي و أولاد أخواتي

كل من عائلة دقوش و بخالد من كبيرها إلى صغيرها

ولا أنسى مجزيل الشكر أستاذي و مؤطري هادف الدراجي

من جعلهم الله أخوتي بالله.....ومن أحببتهم بالله طلاب قسم الكيمياء دفعة 2017

خاصة صديقاتي أحلام و نسرين و هدى و فاطمة و حفيظة و إلخ.....

من كانوا ملاذي و ملجئي، من تذوقت معهم أجمل اللحظات و من سأقتدمو أتمنى أن يفتقدوني

إلى من يجمع بين سعادي و حزني، من أتمنى أن أذكرهم إذا ذكروني

إلى من أتمنى أن تبقى صورهم في عيوني

كل أساندي من بداية مشواري الدراسي إلى وصولي على ما أنا عليه وخاصة أقرهم

وإلى أخي وزميلي في هذا العمل روح فهمي

dek mouche
saida

الفصل الأول

الدراسة النظرية للهيئة

الفصل الثاني

الدراسة النظرية

أهم المركبات الفعالة

الفصل الثالث

المسح الفيتو كيميائي

الفصل الرابع

الدراسة

الميكروبيولوجية

الفهرس

الصفحة	المحتويات
	تشكر
	الإهداء
1	مقدمة
الفصل الأول : الدراسة النظرية للنبته	
3	I-1- تمهيد عن النبات
3	I-2- وصف النباته
4	I-3- التصنيف
5	I-4- الوصف المورفولوجي للنبته
5	I-4-1- الاوراق
6	I-4-2- الازهار
6	I-4-3- البذور
7	I-5- الموطن الأصلي للنبات والزراعة
7	I-5-1- عالميا
7	I-5-2- محليا
9	I-6- استخداماته الطبية وفوائده
الفصل الثاني: الدراسة النظرية لأهم المركبات الفعالة	
10	II- منتجات الايض
10	II-1- تمهيد
10	II-2- المركبات الكيمائية الثانوية الفعالة في النباتات الطبية
10	II-2-1- تمهيد
10	II-2-2- الزيوت الطيارة
11	II-2-2-1- الخواص العامة للزيوت الطيارة
11	II-2-2-2- أهميتها
12	II-2-2-3- استعمالاتها
12	II-2-3- إستخلاص الزيوت الطيارة
13	II-2-4- طريقة إستخلاص الزيوت الطيارة باستخدام الماء
13	II-2-4-1- التقطير المائي
13	II-3- المركبات الفينولية

14	II-4 - الكومارينات
15	II-5 - التانينات (العفصيات)
15	II-6 - القلويدات
15	II-7 - الصابونيات
16	II-8 - الفلافونيدات
16	II-8-1 - مدخل
16	II-8-2 - تعريف
17	II-8-2-1 - تصنيف الفلافونيدات
19	II-8-2-2 - طرق إستخلاص الفلافونيدات
19	II-8-2-3 - الطرق المستخدمة لفصل وتنقية الفلافونيدات
19	II-8-2-4 - خواص الفلافونيدات
19	II-8-2-5 - الكشف اللوني للفلافونيدات
20	II-8-2-6 - أهمية الفلافونيدات
21	II-9 - التربينات
21	II-9-1 - تعريف
21	II-9-2 - أقسامها
الفصل الثالث : المسح الفيتو كيميائي (الجانب العملي)	
22	III - الجانب العملي
22	III-1 - الأدوات والمواد المستعملة
22	III-1-1 - الأدوات المستعملة
22	III-1-2 - المواد المستعملة
22	III-2 - جني النبات
22	III-3 - التجفيف
23	III-4 - الطحن والتخزين
23	III-5 - الإختبارات الكيميائية الأولية
23	III-5-1 - إختبار الكشف عن الفلافونيدات
23	III-5-1-1 - الإختبار العام للفلافونيدات
23	III-5-1-2 - إختبار الفلافونيدات الحرة
24	III-5-1-3 - إختبار الفلافونيدات الجلايكوزيدية
24	III-5-2 - إختبار الكشف عن العفصيات
24	III-5-3 - إختبار الكشف عن الصابونيات

24	III -4-5- إختبار الكشف عن القلويدات
25	III -5-5- إختبار الكشف عن الكومارينات
25	III -6-5- إختبار الكشف عن الستيرويدات غير المشبعة والتربينات الثلاثية
26	III -6- الإستخلاص سائل - سائل
26	III -1-1-6- الإستخلاص بالكلوروفورم $CHCl_3$
27	III -2-1-6- الإستخلاص بأسترات الإيثيل $C_4H_8O_2$
28	III -3-1-6- الإستخلاص بالبيوتانول $C_4H_{10}O$
30	III -7- الفصل الكروماتوغرافيا
30	III -1-7- الفصل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM
32	III -1-1-7- مناقشة النتائج
الفصل الرابع: الدراسة الميكروبيولوجي	
34	IV -1- مدخل
34	IV -2- تعريف البكتيريا
35	IV -3- تصنيف البكتيريا
36	IV -4- جمع السلالات البكتيريا المستعملة
36	IV -1-4- بسيدوموناس 'Pseudomonas aeruginosa'
37	IV -2-4- ستافيلوكوكيزأروز 'Staphylococcus aureus'
37	IV -3-4- "Esherichia Coli"
38	IV -5- دراسة الفعالية البيولوجية لمستخلص البيوتانول نظامي للنبته ضد البكتيريا
38	IV -5- 1- العزلة البكتيرية
38	IV -5- 2- تحضير الاقراص
39	IV -5- 3- تحضير الوسط الزراعي
39	IV -5- 4- تحضير المعلق البكتيري
39	IV -5- 5- الزرع و الحضان
39	IV -5- 6- قراءة النتائج
40	IV -5- 7- مناقشة النتائج
42	الخاتمة
43	المراجع بالعربية
45	المراجع باللاتينية
47	الملحق

قائمة الجداول

الصفحة	الجدول
4	الجدول (1-I): التصنيف لنبته اكليل الجبل
17	الجدول (1-II): أقسام الفلافونيدات
20	الجدول (2-II): العلاقة بين طبيعة الفلافونيد والإشعاع UV
25	الجدول (1-III): نتائج الإختبارات الكيميائية الأولية
30	جدول (III-2-): نتائج الإستخلاص
31	الجدول (3-III): نتائج الفصل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM للمستخلص الكلوروفورم للنبته
32	الجدول (4-III): نتائج الفصل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM لمستخلص البيوتانولي نظامي للنبته
40	الجدول (1-IV): نتائج اختبارات الفعالية البيولوجية لمستخلص البيوتانول نظامي للنبته

قائمة المخططات

الصفحة	المخطط
13	مخطط (II-1): مخطط أستخلاص الزيوت الطيارة
29	مخطط (III-1): مراحل الإستخلاص للنبته
35	مخطط (IV-1): تصنيف البكتيريا
38	مخطط (IV-2): دراسة الفعالية البيولوجية لمستخلص البيوتانول نظامي للنبته ضد البكتيريا

قائمة الاشكال

الصفحة	الشكل
5	شكل (1): نبتة اكليل الجبل لمنطقتين (جيجل و البيض) قبل القطف
6	شكل (2): نبتة اكليل الجبل اثناء ازهارها
6	شكل (3): صورة لبذور نبتة اكليل الجبل
7	الشكل (4): الموقع جغرافي لولاية البيض
8	شكل (5): الموقع الجغرافي لولاية جيجل
14	شكل (6): بنية الفينول
14	شكل (7): بنية الكومارين
16	شكل (8): هيكل الأساسي للفلافونيدات
21	شكل (9): هيكل العام للترينينات

22	شكل (10): اوراق نبتة اكليل الجبل اثناء التجفيف
27	شكل (11): استخلاص الكلورفورم لنبتة جيغل
27	شكل (12): استخلاص الكلورفورم لنبتة البيض
27	شكل (13): استخلاص أسيتات الايثيل لنبتة جيغل
27	شكل (14) : استخلاص أسيتات الايثيل لنبتة البيض
28	شكل (15): استخلاص البيوتانول نظامي للنبتة جيغل
28	شكل (16): استخلاص بيوتانول نظامي للنبتة البيض
33	شكل (17): كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM لمستخلص الكلورفورمي كلا للنبتتين للطور المتحرك (طوليان /اسيتات الايثيل /حمض اسيتيك)
33	شكل (18): كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM لمستخلص البيوتانولي نظامي لنبتة اكليل الجبل للطور المتحرك (بيوتانول /حمض أسيتيك /ماء)
36	شكل (19): <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ملاحظة بالميكروسكوب
37	شكل (20): <i>Staphylococcus aureus</i> ملاحظة بالميكروسكوب
37	شكل (21): <i>Esherichia Coli</i> " ملاحظة بالميكروسكوب
41	شكل (22) : تأثير مستخلص البيوتانول نظامي علي بكتيرية <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
41	شكل (23) : تأثير المستخلص البيوتانول نظامي علي بكتيرية <i>Esherichia Coli</i>
41	شكل (24) : تأثير مستخلص البيوتانول نظامي علي بكتيرية <i>Staphylococcus aureus</i>
47	شكل (25): جهازالتبخير الدوراني
47	شكل (26): ميزان تحليل لقياس الأوزان

قائمة الرموز

هيدروكسيد الصوديوم	NaOH
ورق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة	CCM
الاشعة فوق البنفسجية - المرئية	UV-Visble
حمض كلور الماء	HCl
كلوروفورم	CHCl_3
نشادر	NH_3
حمض الكبريت	H_2SO_4
اسيتات الايثيل	$\text{C}_2\text{H}_8\text{O}_2$
ن - البيوتانول	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$
طول الموجي	λ
كبريتات الصوديوم	Na_2SO_4

المقدمة:

بدأت علاقة الإنسان بالنبات منذ لحظة الخلق الأولى حيث كان سيدنا آدم في الجنة ينعم بما فيها من خيرات عدا نباتا واحدا أمره الله سبحانه وتعالى بعدم الإقتراب منه حيث قال الله تعالى لآدم في سورة البقرة الآية رقم 3: ﴿وَقُلْنَا يَا آدَمُ اسْكُنْ أَنْتَ وَزَوْجُكَ الْجَنَّةَ وَكُلَا مِنْهَا رَغَدًا حَيْثُ شِئْتُمَا وَلَا تَقْرَبَا هَذِهِ الشَّجَرَةَ فَتَكُونَا مِنَ الظَّالِمِينَ﴾ صدق الله العظيم . ونظرا لأهمية النباتات الطبية لأحتوائها على مواد كيميائية ذات فائدة عظيمة وأهمية كبرى لتأثيرها الفيزيولوجي ونشاطها الدوائي على أعضاء الجسم البشري والحيواني .

أن النبات يمكن إن يعالج العديد من الامراض وذلك لأحتوائه على أكثر من مادة فعالة وكما ان الإنسجام المتوفر طبيعيا في النبات له الأثر البالغ في أحداث الشفاء دون أعراض جانبية ، مما دفع الباحثين الجزائريين الى دراسة واستثمار هذه الثروة النباتية خاصة النباتات الطبية لما تحويه على مواد كيميائية عن عمليات الايض الثانوي ذات الفعالية البيولوجية الهامة مثل الفلافونيدات وغيرها.و كمثال على النباتات الطبية الموجودة في بلدنا ،قمنا بدراسة نبتة أكليل الجبل .

يعرف النبات الطبي بأنه كل شئ من اصل نباتي ويستعمل طبيا، كما يعرف ايضا بأنه النبات الذي يحتوي على مادة او مجموعة مواد طبية قادرة على علاج مرض معين او تقليل الاصابة به [1] ، او حتى الذي يحتوي على المواد الاولية المستخدمة في تحضير المواد الطبية، كما تعرف النباتات العطرية بأنها النباتات التي تحتوي في اي جزء من أجزائها على زيوت عطرية او طيارة [2] .

أن أحتواء النباتات الطبية على عدد كبير من المكونات الفعالة طبيا تعكس الإمكانيات العلاجية الكبيرة لها ، من المعلوم أن بعض العقاقير النباتية تمتلك قدرة علاجية تفوق التي تمتلكها الأدوية المصنعة ، كما يخلو أستعمال العقاقير من الإثار الجانبية الضارة التي تصاحب أستعمال الأدوية المصنعة أحيانا .

هذه العوامل وغيرها أدت الى تنامي أستخدام النباتات الطبية والإهتمام بدراستها ، قصد معرفة ما تحويه من مواد ذات فعالية و تأثير فسيولوجي تعرف بالمواد الفعالة .

ونظرا لتربع الجزائر على مساحات شاسعة فقد أكسبها ذلك وجود تضاريس وظروف مناخية متعددة وقد انعكس ذلك على النمط النباتي، مما جعلها من البيئات النباتية النادرة حيث تنوع الغطاء النباتي والتدرج من الغابات الرطبة الكثيفة الى النباتات الجافة الصحراوية المبعثرة والمحدودة الانتشار، و انعكس ذلك بدوره على وجود العديد من الفصائل والأجناس والأنواع النباتية وترتب عن هذا كله نمو مئات من الانواع النباتية البرية المختلفة والتي بدورها تضم العديد من النباتات الطبية . وعليه أنصب التفكير العلمي الحالي في العلاج بأستعمال التداوي بالنباتات الطبية بشعار جديد هو العودة الي الطبيعة، مما دفع الباحثين الجزائريين الى دراسة وإستثمار هذه الثروة النباتية، خاصة النباتات الطبية لما تحتويه على مواد كيميائية عن عمليات الإيض الثانوي ذات الفعالية البيولوجية الهامة، غنى هذه النباتات بنواتج الايض مثل الفلافونيدات وغيرها.

وقد دلت الاحصائيات التي قدمتها وزارة الفلاحة والصيد البحري بفرعها A.N.N و I.U.C.N لعام 1997 على ذكر 118 نبتة طبية تنتمي الى 49 العائلة من بينها العائلة الشفوية و الدراسة التي نحن بصددتها تخص نبتة أكليل الجبل نظرا لتوفرها و كثرة تداولها في مجال الطب البديل كنموذج للعائلة الشفوية و لمعرفة الخصائص العلاجية وغيرها بدراسة الفعالية البيولوجية لمستخلص نبتة أكليل الجبل ولتحقيق ذلك قمنا بتقسيم العمل الى أربعة فصول :

الفصل الأول تناولنا فيه دراسة للعينة (أكليل الجبل) دراسة شاملة تخص : التصنيف ، الوصف المورفولوجي ، أستخداماته الطبية وفوائده.

الفصل الثاني: تخص فيه دراسة المنتجات الإيض الثانوية وتطرقنا فيه الى أهم المواد الفعالة التي تحويها العائلة الشفوية.

الفصل الثالث: تطرقنا فيه الى الجانب العملي و المركبات الفعالة المستخلصة للنبته أكليل الجبل .

الفصل الرابع: يتضمن تعريف البكتيريا وخصائصها وأشكالها ثم التطرق لأنواع البكتيرية المستعملة في الدراسة البيولوجية .

I . الدراسة النظرية لنبات أكليل الجبل:

I-1- تمهيد:

الفصيلة الشفوية الاسم العلمي (*Lamiaceae*): هي فصيلة نباتية تتبع رتبة الشفويات من طائفة الثنائيات الفلقة ، تضم حوالي 210 جنس . من أشهر نباتاتها النعناع والخزامى والزعرن الإبري والزعرن النابلسي والمردكوش و أكليل الجبل .

تتميز الفصيلة الشفوية بنباتاتها العطرة ، وبسوقها الفتية المربعة ، وأوراقها المتقابلة المتصالبة ، وتوجيهها الثنائي الشفة ، نوراتها سنمية ، ثنائية الجانب، متفاوتة درجة الانكماش، معظم أزهارها حشرية التأثير، تضم قرابة 200 جنس و4000 نوع واسعة الانتشار في منطقة حوض البحر المتوسط. تتمثل في المجموع النباتي السوري اللبناني (النبيت) بـ 31 جنساً و235 نوعاً، وتحتل المكان الرابع بالنسبة إلى عدد الأنواع السورية اللبنانية .

يعتبر النباتات من فصيلة الشفويات، وهي عشبة معمرة قد يصل ارتفاعها من متر إلى مترين، رائحتها تشبه رائحة الكافور .

وقد تطرقنا في هذا العمل الى دراسة نبات أكليل الجبل في الاجزاء الهوائية لم يتميز بمساهمة الطبية .

I-2- وصف النبات:

إكليل الجبل (بالإنجليزية: *Rosemary*) له العديد من الأسماء الأخرى وأكثرها شهرة حصى البان وأيضاً ندى البحر، والروزماري والخوران وحشيشة العرب وإكليل النفساء وعشب البوصلة وغيرها من الأسماء [3]، وتزهر عادة نبتة إكليل الجبل في المناخ المعتدل وقد تزهر في المناخ الدافئ ، أزهارها متعددة الألوان منها الأبيض والوردي والبنفسجي والأزرق الغامق ، ولكنها تستطيع أن تزهر خارج مواسم إزهارها الطبيعية على أن يكون الجو دافئاً ، تزهر النبتة في الأول من ديسمبر ومنتصف فيفري وهذا ما يسمى بالأزهار المتأخر.

الاسم العلمي : *Rosmarinus officinalis* [4] .

I-3 - التصنيف يصنف نبات اكليل الجبل وفق الجدول الآتي [5].

الجدول (I-1):التصنيف نبات اكليل الجبل			
Régne	Végétal	نبات	المملكة
Embranchement	Spermaphytes	بذر	الشعبة
Sous-Embranchement	Angiospermes	كاسيات البذور	تحت الشعبة
Classe	Dicotylédones	ثنائيات الفلقة	الطائفة
Ordre	Tubiflorales	انوبيات الزهر	الرتبة
Sous-Ordre	Iamiales	شفويات	تحت الرتبة
Famille	Lamiaceae	الشفوية	العائلة
Genre	<i>Rosmarinus</i>	روزمارينوس	الجنس
Espèce	<i>Officinalis</i>	اوفيسيناليس	النوع



صورة لنبته جيجل



صورة لنبته البيضا

شكل (1) : نبتة أكليل الجبل لمنطقتين (جيجل و البيضا) قبل القطف

I- 4 الوصف المورفولوجي للنبته:

نبات أكليل الجبل هو نبات عشبي شبه شجري معمر مستديم الخضرة ، شجيرته برية شديد التفرع ، عطرية لها رائحة قوية وطعم كافوري مر قليلا [6] ، تنمو في جميع الاتربة وبالأخص الكلسية ، تتواجد نبتة أكليل الجبل في التلال الصخرية الجافة لبلدان البحر الابيض المتوسط [7] ، ويخشى الرطوبة العالية جدا ، كما يتحمل التباين الشديد في درجات الحرارة [8] ، يصل ارتفاعه الى 90 سم وقد يصل الى مترين .

I-4-1- الاوراق:

اوراق لونها اخضر باهت و متقابلة ، ضيقة، كثيفة، أطراف يصلها منعطفة خضراء وملساء من فوق ، بيضاء ومرغبة من الاسفل ، طولها من 2سم الى 3 سم وتكون الاوراق على الساق في تجمعات كل مجموعة بما ثلاثة اوراق [6-9] .

I-4-2- الأزهار:

تكون أزهارها طول العام عدا فصل الشتاء [9] ، ازهارها جميلة عنقودية زرقاء اللون الى بنفسجية أو مائلة الى البياض ، لها شفتان ، علوية كاملة و سفلية مفصصة الى ثلاثة فصوص ، وافرّة الرحيق ، يجرسها النحل ، ازهارها سنبلية التجمع [6].



شكل (2) : نبتة أكليل الجبل أثناء ازهارها

I-4-3- البذور:

بذرها اسمر اللون ، يتكاثر نبات أكليل الجبل يزرع بذرها في فصل الخريف جنسيا ، يتكاثر كذلك خضريا بتجذير العقل الطرفية أوالعقل الوسطية وكذلك يتكاثر بالقصيص وهذا في الربيع و الخريف [9].



شكل (3) : صورة لبذور نبتة اكليل الجبل

I-5- الموطن الأصلي للنبات والزراعة:

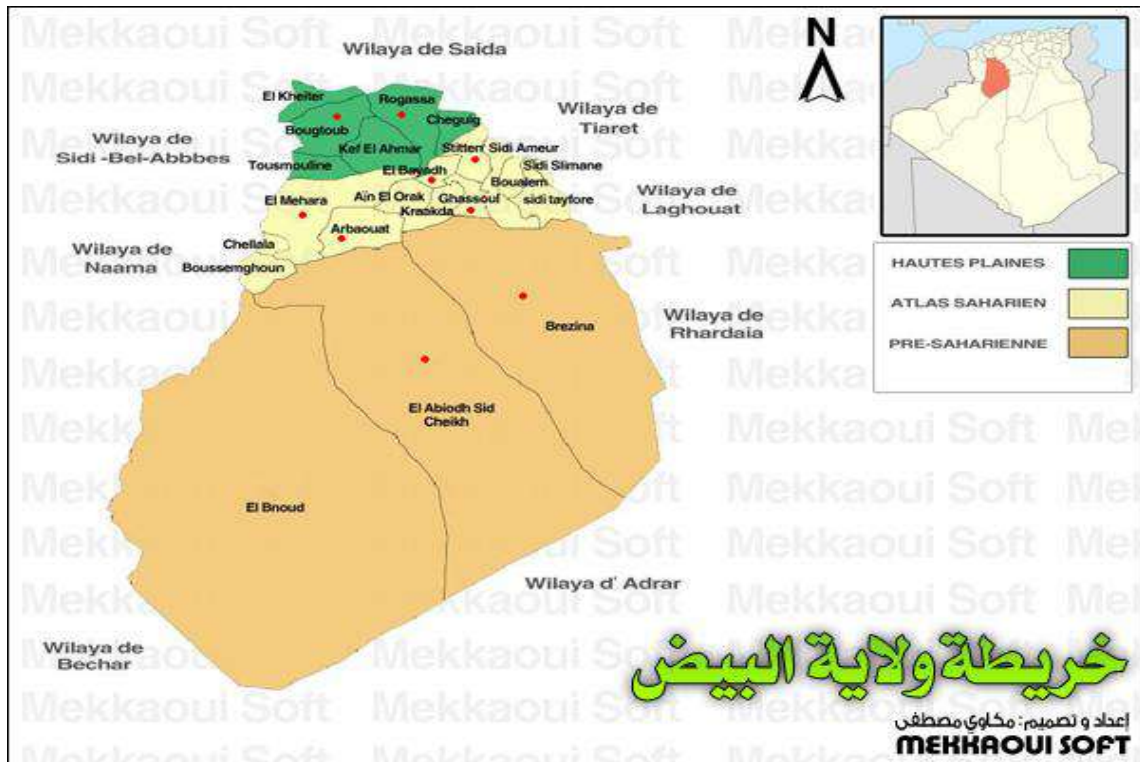
تواجد في بلدان البحر الأبيض المتوسط وفي غرب وجنوب غرب شبة الجزيرة العربية ، كما أنه تنمو في كثير من بلدان العالم، وتصلح زراعة إكليل الجبل في مكان مفتوح حديقة أو داخل المنزل في البلكونة أو عند أي شرفة.

I-5-1- عالميا:

الموطن الاصلي لنبات اكليل الجبل هو حوض دول البحر الابيض المتوسط ينمو بالجزائر وفي فرنسا وايطاليا و البرتغال و اسبانيا [10]، كما يزرع في اسيا الوسطي و الهند وجنوب شرق افريقيا و جنوب افريقيا و استراليا و الولايات المتحدة الامريكية و جنوب البرازيل [11] .

غير ان بعض الدول اهتمت بإنتاجه كونه اصبح واسع الاستعمال في العالم [12] ، كمستحضر للتجميل وغيرها ومن اهم الدول المنتجة للزيوت الاساسية له المغرب واسبانيا والولايات المتحدة الامريكية وتونس[10] .

I-5-2- محليا:



الشكل (4): الموقع جغرافي لولاية البيض

مناخ ولاية البيض:

تمتاز ببردها الشديد في الشتاء وحر في الصيف تجمع بين كونها تظل على الصحراء وكونها تعتبر من مناطق الهضاب العليا فمناخها مصنف على انه قاري حيث تتميز بجو بارد جدا تصل درجات الدنيا إلى أكثر من 9 درجات مئوية تحت الصفر وتساقط كميات ثلوج تجعل من المنطقة تظهر بمنظر خلاب كما تمتاز المنطقة بعواصف رملية بسبب الرياح الجنوبية الشمالية وأمطار طمية عديمة الأحماض.



شكل (5): الموقع الجغرافي لولاية جيجل

جيجل: ولاية ساحلية تقع شرق الجزائر يبلغ طول ساحلها 120 كلم وتشتهر بكورنيش رائع الجمال يجمع بين البحر و الجبال الصخرية الممتدة حتى حدود ولاية بجاية ، وتوجد به مغارات عجيبة ، من أهم مدن الولاية : جيجل، الميلية، الطاهير . جيملة وتاكسنة ولاية جيجل تتميز بمجال جد متضرس حيث تشمل الجبال لوحدها 82 % من المساحة الإجمالية ، وتتميز بمناخ متوسطي معتدل رطب شتاء حار جاف صيفا .

I- 6 - استخداماته الطبية وفوائده:

- مرض الزهايمر ولتحسين الذاكرة: يحتوي أكليل الجبل على مواد مضادة للأكسدة مثل حمض الروزمارينيك ومركبات تمنع تكسر أو تحطم المادة الكيميائية الدماغية التي يسبب تكسرها مرض الزهايمر ومن أهمها الزيت الطيار وحمض العفص، كما له تأثير منبه على الذاكرة فهو يعتبر أحد منبهات دوران الدم الجيدة وله شأن كبير في طب الأعشاب الأوروبي فهو يحسن القدرة على التركيز والذاكرة.
- مشاكل الشعر: إكليل الجبل يستخدم كغسول للشعر حيث أنه يؤدي إلى تماسك الشعر ومنع سقوطه والقضاء على القشرة ومساعدته على النمو ووصول وتدفق الدم الكافي إلى الرأس.
- إفرازات المهبلية: استعمال منقوع أكليل الجبل كغسول مهبلي دافئ مرتين باليوم ، يعالج زيادة الإفرازات المهبلية .
- الاضطرابات العصبية لدى مدمني الكحوليات: شرب منقوع العشب أربع أكواب خلال اليوم ولمدة ثلاثة أسابيع يهدئ هذه الاضطرابات، وقد يرافق ذلك قيء أو إسهال ولكن هذا أمر طبيعي.
- للتعب وضعف الأعصاب: تناول منقوع أكليل الجبل بعد الوجبات وقبل النوم منشط لمن يعانون من سرعة التعب والخمول وضعف الأعصاب.
- إكليل الجبل كمادة حافظة: يحتوي إكليل الجبل على مواد مضادة للأكسدة وكان يستعمل كحافظ للحوم من التعفن حيث يضاف إليها لمنع التأكسد والتلف.
- عشب أكليل الجبل مفيدة في علاج اضطرابات القلب، وهي طاردة للرياح وتقضي على الطفيليات ومدرة للبول والطمث وضد السعال والربو، وكعلاج مساعد لحالات الاكتئاب الخفيف.
- أثبتت بعض الدراسات الحديثة أن نبات أكليل الجبل يمنع تكون الأورام وتطورها.

II- منتجات الأيض الثانوي :

II-1 - تمهيد:

تعد مركبات الأيض الثانوي مواد كيميائية تنتج عن الأيض الحيوي في النبات وهي كثيرة ومتنوعة تعود إلى مجاميع مختلفة منها الفينولات، التربينات، القلويدات... الخ، فقد أظهرت هذه المركبات فاعلية واضحة للنبات فهي مصدر للصبغات النباتية والزيوت العطرية كما أنها تحمي النبات من الميكروبات والحشرات بالإضافة إلى كونها جدهامة للإنسان حيث تستخدم في كثير من الصناعات كصناعة الأدوية، الصابون، مواد تجميل، صباغة الجلود.

سنتطرق في دراستنا هذه إلى أهم المركبات الفينولية (الفلافونيدات) والزيوت الطيارة .

II-2 - المركبات الكيميائية الفعالة الموجودة في نبات أكليل الجبل :

II-2-1 - تمهيد:

مجموع الدراسات التي تعرضت لإكليل الجبل اهتمت بدراسة الزيوت الطيارة ذلك لكون النبات عطري بالدرجة الأولى غير ان النبات يحتوي مواد اخرى اثبتت فعاليتها في دراسات متفرقة في مجملها اعتمدت على الاوراق كمصدر رئيسي لها ، في مايل نشرح المركبات الفعالة في اكليل الجبل .

II-2-2 - الزيوت الطيارة:

هي عبارة عن زيوت أساسية ذات روائح عطرية مميزة وتتطاير في درجات الحرارة العادية وهناك عدة أسماء لها:

الزيوت العطرية Aromatic oils نظرا لرائحتها العطرية الجميلة، والزيوت الأثيرية بـ Ethereal oils نظرا لقابليتها للذوبان في الإيثر.

تتواجد الزيوت الطيارة في أكثر من ألفي نبات وما يزيد عن ستين فصيلة نباتية وقد تتواجد في جميع أجزاء النبات من الأوراق والأزهار وتختلف في نسبة تواجدتها من نبات إلى آخر [13] ، كما يمكن فصلها بواسطة مطيافية الكتلة .

II -2-2-1- الخواص العامة للزيوت الطيارة :

- 1 - أغلب الزيوت الطيارة عديمة اللون و عند خزنها تتأكسد.
- 2- رائحتها مريحة وعطرة وبعضها له رائحة مميزة.
- 3- معظمها سائلة في درجات الحرارة العادية، وبعضها صلب مثل: الكافور.
- 4- بعضها يترسب بالتبريد ويترك جزءا سائلا مثل : الزعتر.
- 5- جمعيتها أخف من الماء ماعدا زيت القرفة،القرنفل.
- 6- لاتذوب في الماء،ولكنها تذوب في المركبات العضوية مثل :كلوروفورم،الإيثر،الكحول .
- 7- تتميز الزيوت الطيارة بمعامل إنكسار .
- 8- تتميز الزيوت الطيارة بخاصية الدوران الضوئي[13] .

تتواجد الزيوت في النبات حسب العائلة النباتية كمايلي:

- أ- داخل الشعيرات غدية كما في العائلة الشفوية والتي من أمثلتها نباتات اكليل الجبل،النعناع،الزعتر...الخ.
- ب- داخل أنابيب محتواة الزيت فيها تسمى Vitta كما في العائلة المظلية Umbiliferae والتي من أمثلتها: نباتات الكرواية...الخ.
- ج- داخل القنوات خاصة كما في العائلة السذابية Rutaceae والتي من أمثلتها نباتات قشرة الليمون،البرتقال المر[13].

II-2-2-2- أهميتها:

- تستعمل لإزالة نواتج العمليات الحيوية وطرحها خارج أنسجة النبات .
- اجتذاب الحشرات مما يساعد على تلقيح الأزهار وزيادة الإنتاج.
- مذيّب يساعد على الإلتئام الجروح النباتية بعد ذوبان الراتينج فيها .
- طرد الحشرات للدفاع عن النبات وذلك لما لبعض الزيوت الطيارة من روائح كريهة.

- كما ان لها دور في تنبيه وتنظيم نمو النباتات [13] .

II-2-3- استعمالاتها:

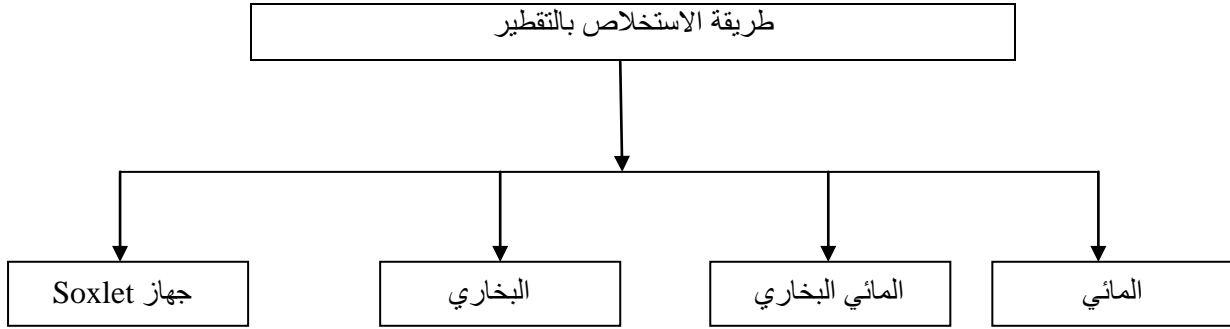
- تستعمل في المجالات العلاجية :
- مطهرة للأرياح والغازات المعوية والمعدية وكمخدر للآلام واللثة الأسنان .
- كمواد طاردة للديدان ومدرة للبول.
- تستعمل في مجالات الأغذية :
- كالتوابل أو المكتسبات للطعم أو النكهة أو الرائحة في بعض الأغذية أو المشروبات.
- كثيرا ما تستعمل في صناعة الروائح والطور ومستحضرات التجميل مثل: زيت الورد [13].

II-2-3- إستخلاص الزيوت الطيارة:

يستخدم لإستخلاص الزيوت الطيارة عدة طرق اعتمادا على:

- * التركيب الكيميائي للزيت الطيار .
 - * الجزء في النبات الذي يحتوي على الزيت الطيار .
 - * الحصول على الزيت بمواصفاته الأساسية وبأقل كلفة اقتصادية .
 - * كمية الزيت الطيار المتواجدة في النبات.
- كما يجب أن يؤخذ بعين الاعتبار عدة عوامل عند استخلاص الزيت من مصدره، وتتلخص في وقت جمع النبات العطري وطريقة إعداده ومعاملته قبل الاستخلاص.

مخطط (II-1) : أستخلاص الزيوت الطيارة:



II-2-4- طريقة استخلاص الزيوت الطيارة باستخدام الماء :

نذكر إحدى طرق الاستخلاص: التقطير.

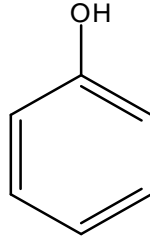
II-2-4-1- التقطير المائي:

تستخدم هذه الطريقة للنباتات الجافة التي لا تتأثر بالجلي من اجل حصول على الزيوت من البذور والأوراق والقشور، ومن الملاحظ أنها تعطي كمية أقل من الزيت وتحتاج لوقت أطول كمايلي:

نضع في وعاء النبات المراد إستخلاص الزيت الطيار منه ،بعد تجزئته ونغمره بالماء وباستعمال لهب وذلك ليتطاير الزيت والماء ،ويمران خلال المكثف وبالتالي يستقبل الزيت والماء في وعاء الاستقبال عندئذ نلاحظ طبقتين العليا وهو الزيت لانه اخف من الماء اما السفلى فهو الماء ،بعدها نفرغ الماء في بيشر اما الزيت فيوضع في أنبوب زجاجي صغير عاتم محكم الإغلاق ويحفظ [13].

II-3- المركبات الفينولية:

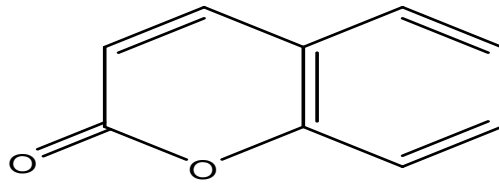
المركبات الفينولية هي عبارة عن مركبات عطرية آروماتية تتكون من حلقة بنزن مرتبطة بمجموعة هيدروكسيل (OH) واحدة أو أكثر، وهي عبارة عن مواد ذائبة في الماء الموجود في الفجوات الخلايا وأبسط أنواعها الكومارين، تضم الفينولات أنواعا مختلفة منها الفلافونيدات، العفصيات، وغيرها .وتنتج النباتات الآلاف من المركبات النباتية و التي تحتوي نوعا أو أكثر من المواد الفينولية ، و يمكن تقسيمها على مجاميع تبعا لعدد ذرات الكربون في تركيبها الكيميائي [2].



شكل (6): بنية الفينول

II-4- الكومارينات :

تشكل أساسا من الهيكل ذي البنية C_6-C_3 إذ تمثل السلسلة من C_3 حلقة أكسجينية غير متجانسة [14] ، اشتق اسم الكومارين من كلمة " Coumarou " وهو أسم نبات *Dipteryx odorata willd* من عائلة Fabaceae الذي فصل منه الكومارين سنة 1820 شكل (3) ، تعتبر الكومارينات مركبات مهمة جدا حيث تستعمل كمواد حافظة للأغذية وكذلك مواد تجميل ، وتنتمي الكومارينات إلى مجموعة من مركبات تسمى benzopyron تتكون من حلقة عطرية مرتبطة مع حلقة بيران ، تتواجد الكومارينات في الطبيعة بشكل أجليكونات أو مرتبطة بجزيئات سكرية مشكلة جليكوزيدات (glycosides) [15].



شكل (7): بنية الكومارين

II -5- التانينات (العفصيات):

هي مركبات فينولية ذات أوزان جزيئية تتراوح بين 500-3000 ولها بالإضافة الى الخواص الفينولات: ترسيب القلويدات و البروتينات [16] ، و العقص يشير إلى دباغة الجلود وعرفت هذه العملية منذ العصور ما قبل التاريخ . كما استخدم اليابانيين والصينيين في الطب الطبيعي كمركبات مضادة للالتهاب ومطهر ، وكذلك أستخدم لعلاج مجموعة واسعة من الأمراض ،وبما ذلك الإسهال والأورام في المعدة [17]، العفص متوفر في كثير من النباتات خاصة البلوط فهي خالية من النيتروجين وتتواجد في الأوراق، و السيقان ،الشمار ، واللحاء ،تعمل على تثبيط بعض أنواع الفطريات [13].

II -6- القلويدات:

تعد احدى نواتج الأيض الثانوي للبروتينات ،فهي مواد آزوتية أساسية ذات منشأ طبيعي كما أن بنيتها معقدة صنفت القلويدات حسب وضع ذرة النيتروجين في الصيغة البنائية فقد يكون أزوت خارج أو داخل الحلقة (حلقة غير متجانسة) [18].

II -7- الصابونيات:

هي مجموعة متنوعة تشمل العديد من منتجات الأيض لها وزن جزيئي ولها نطاق واسع الإنتشار في المملكة النباتية التركيب الكيميائي للصابونيات يتكون من مجمع أغليكون له طبيعة التربينات الثلاثية أو السترويدات ومن مجموعة سكرية (glucose) أو أكثر .

الصابونيات إسمها مشتق من الإسم اللاتيني " صابو " بمعنى رغوة ،قد تشكل رغوة مستقرة في المحاليل المائية سابقا وبصفة تقليدية كانت تستخدم في المنظفات ،ولها فوائد صحية حيث لها تأثير على الأغشية الدهنية وتعمل على حث تمديد الدم في المختبر أو عند حقنها وريديا [19].

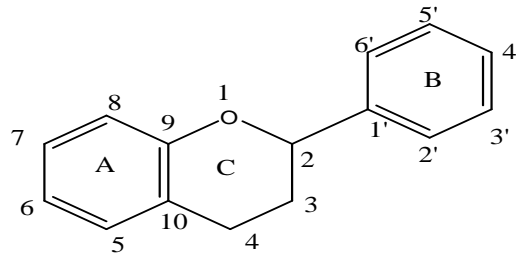
II - 8 - الفلافونيدات :

II - 8 - 1 - مدخل :

لقد أثارت الفلافونيدات إهتمام العديد من الباحثين منذ أمد بعيد ليس لفائدتها الصيدلانية التي تمثلها فحسب بل استعمالها، الفلافونيدات إحدى المكونات الطبيعية الأكثر عددا إذ تم حصر أكثر من 10000 بنية في صورة الأصناف النباتية تقريبا ، كما أنها توجد في معظم الأعضاء النباتية (الفواكه ، الخضر ، البذور ، الأوراق، الجذور) غير ان نسبتها تكون أعظمية عند الأعضاء الفتية الأوراق البراعم الزهرية، والفلافونيدات عموما مركبات ملونة وهي مسؤولة عن لون الأزهار والثمار وبعض الأحيان الأوراق [20].

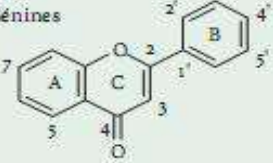
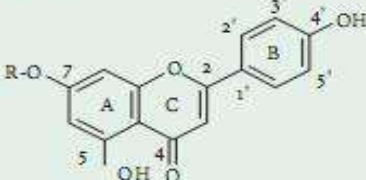
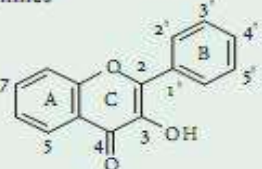

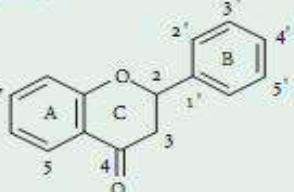
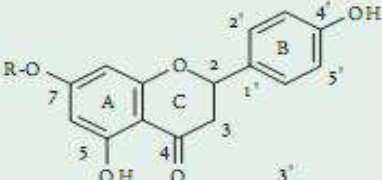
II - 8 - 2 - تعريف :

كلمة الفلافونيدات مشتقة من إسم يوناني 'Flavus' التي تعني الأصفر فهي عبارة عن صبغيات ملونة تنتشر في الأجزاء المختلفة من النبات وتتمركز بصفة خاصة في الجزء الهوائي منه [21]، تعتبر الفلافونيدات من أهم المركبات الفينولية التي تتميز بهيكل أساسي يحتوي على 15 ذرة كربون موزعة على حلقتين عطريتين A و B مرتبطتين بحلقة C غير متجانسة تحتوي على ذرة أوكسجين من الصيغة $C_6 - C_3 - C_6$ كما موضح [22] :

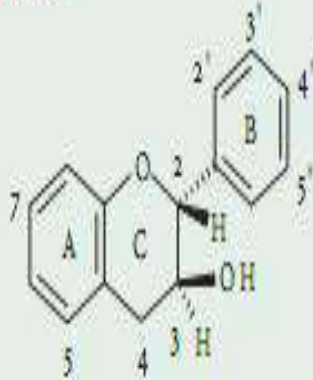


شكل (8) : هيكل الأساسي للفلافونيدات

II-8-2-1- تصنيف الفلافونيدات: بعض الأقسام موضحة في الجدول (II-1) التالي [23]:

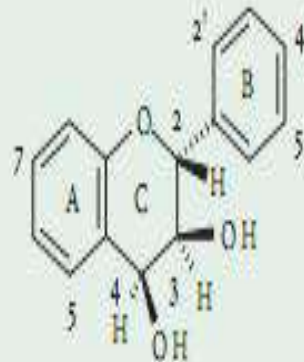
Flavones					
Génines			Hétérosides		
					
	5	6	7	4'	
Apigénine	OH	-	OH	OH	
Lutéoline	OH	-	OH	-	
					R = néohespéridoside (Glc-Rha) : Apigénine-7-néohespéridoside
Flavonols					
Génines			Hétérosides		
					
	5	7	3'	4'	5'
Quercétine	OH	OH	OH	OH	-
Kaempférol	OH	OH	-	OH	-
Myricétine	OH	OH	OH	OH	OH
					R = rhamnose : Quercitroside
Flavanones					
Génines			Hétérosides		
					
	5	7	4'		
Naringénine	OH	OH	OH		
					R = néohespéridoside : Naringine

Flavanols



Catéchine OH OH OH OH

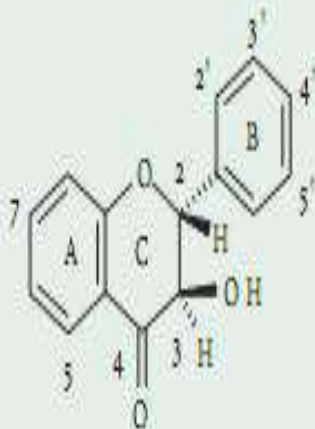
Flavan-3'4'-diols



Leucopélargonidol OH OH H OH

Leucocyanidol OH OH OH OH

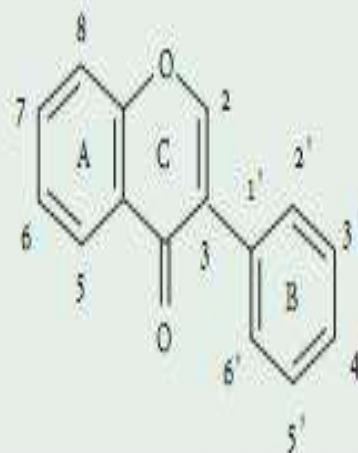
Dihydroflavonols



Dihydrokaempférol OH OH H OH

Dihydroquercétine OH OH OH OH

Isoflavone



II-8-2-2- طرق إستخلاص الفلافونيدات :

أهم طرق الإستخلاص :

- الإستخلاص بواسطة الماء وحمض كلور الماء (طريقة لبروتون)، - الإستخلاص بواسطة الإيثانول والماء (طريقة هاربون)، - الإستخلاص بواسطة الماء والأسيتون [20].

II-8-2-3- الطرق المستخدمة للفصل وتنقية للفلافونيدات :

هناك أربعة طرق للفصل:

- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM ،- كروماتوغرافيا الورق CP، - كروماتوغرافيا العمود CC.
- كروماتوغرافيا الأداء العلى HPLC.

و طريقة التي استعمالها في فصل الفلافونيدات هي طريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM .

II-8-2-4- خواص الفلافونيدات :

تتميز الفلافونيدات أنها مركبات هيدروكسيلية ذات صفة حمضية ،تذوب في قواعد قوية مثل: هيدروكسيد الصوديوم

. NaOH

تتصف الفلافونيدات التي تحمل عددا أكبر من مجموعات الهيدروكسيل الحرة التي تحوي على سكر، بالصفة القطبية وبالتالي فهي ذوابة في المذيبات القطبية مثل :ماء، الأسيتون ،الإيثانول ،الميثانول .

أما الأقل قطبية مثل :الإيزوفلافونات ،الفلافونولات ،الفلافونات التي تحمل عدد أكبر من مجاميع الهيدروكسيل فإنها تذوب في الكلوروفورم ، أو الإيثر [20] .

II-8-2-5- الكشف اللوني للفلافونيدات :

تتم دراسة المستخلصات الفلافونيدية بإستعمال طريقة الفصل الكروماتوغرافي الطبقة الرقيقة CCM متبوعة

بالكشف اللوني بإستعمال جهاز الأشعة فوق البنفسجية لمختلف أنواع الفلافونيدات كما هو موضح في الجدول الموالي.

الجدول (II-2): العلاقة بين طبيعة الفلافونيد والإشعاع UV:

لون بقعة الفلافونيد	نمط الفلافونيد
أسود - بنفسجي	فلافون 5،6،7 أو 5،7،8 ثلاثي OH
	فلافونول مستبدل بالموقع 3
	بعض الشالكونات
أسود	فلافانول أو فلافانول يملك OH-3
	فلافون أو فلافانول دون OH بالموقع 5
	فلافونول مستبدل بالموقع 3 بدون OH بالموقع 5
الأصفر	فلافونول مع OH بالموقع 5
أصفر مخضر	أورون
أصفر لامع	فلافونول مستبدل بالموقع 5
برتقالي لامع	أيزوفلافون
أخضر	بعض الشالكونات
أزرق مخضر	فلافانول بدون OH بالموقع 5

II-8-2-6- أهمية الفلافونيدات :

الفلافونيدات هي عناصر مسئولة عن إعطاء اللون للنبته وبصفة خاصة للأزهار مما يمنحها الصفة الجاذبة للحشرات والطيور التي تنقل حبوب الطلع وبذلك تمنح دورة جديدة لحياة هذه النباتات كما تلعب دور حماية لها إذ تعطي طعما مميزا للنبته مما يبعد الحشرات الضارة عنها .

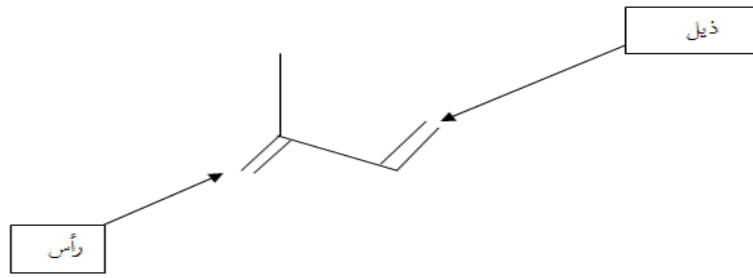
كما ان لها دور في مراقبة نمو وتطور النبات وهذا بتفاعلها بطريقة معقدة مع مختلف هرمونات النمو النباتية كما تتكامل فيما بينها لتساهم فيما يسمى بـ: Phytoxines وهو إنتاج النبتة للأبيض الذي يعالج الإصابات التي تسببها البكتيريا والفطريات [24]، تحمي نسيج النبات لكونها تمتص الأشعة فوق البنفسجية (250-270 نانومتر) وعليه فهي تحمي

المواد الأساسية (البروتينات والأحماض النووية) من الآثار السامة لهذه الإشعاعات كما تساعد على الإنقاص من ظاهرة النتح في المناطق الجافة [25].

II-9- التربينات:

II-9-1- تعريف:

التربينات مجموعة هائلة من المنتجات الطبيعية ذات الهياكل الكربونية المتنوعة بدءاً من السلاسل الخطية البسيطة و انتهاءً إلى بني متعددة الحلقات الكربونية، إذ أحصى العلماء أكثر من 30000 مركب. فهي تشكل بتلك المنتجات الطبيعية.



شكل (9): هيكل العام للتربينات

II-9-2- أقسامها:

التربينات الأحادية: هي تلك التربينات التي تحتوي جزيئاتها على 10 ذرات كربون وبالتالي تتكون من وحدتين من الإيزوبرين مثل: المنثول والجراينول والماليسين.

التربينات الثنائية: تتكون جزيئاتها من 4 وحدات أيزوبرين مثل فيتامين أ.

التربينات أحادية نصفية: هذا النوع من التربينات يتكون من 3 وحدات أيزوبرين.

التربينات الثلاثية: تتكون من 6 وحدات أيزوبرين [26].

III - الجانب العملي :

III -1- الأدوات والمواد المستعملة:

III -1-1- الأدوات المستعملة:

ميزان الكتروني ، جهاز التبخير الدوراني ، جهاز التسخين والرج ، آلة تصوير فوتوغرافية ، مصباح UV-Visible ، صفائح CCM ، ورق الترشيح ، يياشر، قمع، انبوب مدرج، زجاجة ساعة.

III -1-2- المواد المستعملة:

النبته (الجزء الهوائي) ، الماء المقطر ، أيثر بترول ، إيثانول ، كلوروفورم ، اسيتات الإيثيل ، البيوتانول.

III -2- جني النبات :

قمنا بجني نبات أكليل الجبل من ولايتي جيجل والبيض وذلك يوم 2016/10/29 ووصلت يوم

2016/11/03 الى ورقلة.

III -3- التجفيف:

هذه المرحلة تؤدي لأفضل إستخلاص ، لهذا قمنا بتجفيف النبته وفق الخطوات التالية :

✚ تنقية النبات من الشوائب والأترية الغير مرغوب فيها .

✚ قمنا بتجزئة النبته وذلك بفصل الجزء الهوائي عن الترابي ثم وضعنا الجزء الهوائي على رداء نظيف.

✚ جففنا النبات في الظل بعيدا عن أشعة الشمس والرطوبة وكان المكان جيد التهوية [1].



شكل(10): اوراق نبته أكليل الجبل اثناء التجفيف

III -4- الطحن والتخزين:

بعد التأكد من الطحن لأجزاء البنتة قد جفت جيدا، قمنا بسحقها وذلك بواسطة غربال قطر مسامه 1.25 سم و 1.60 سم .

-إحتفظنا بالمسحوق النباتي في القارورة زجاجية عتمة محكمة الإغلاق بعيدة عن الحرارة والضوء إلى حين استعمالها .

III -5- الإختبارات الكيميائية الأولية :

أجرينا الإختبارات الكيميائية الأولية في الاوراق من اجل تحديد المادة الفعالة الموجودة في البنتتين والتي نلخصها في مايلي :

III -5-1- إختبار الكشف عن الفلافونيدات :

نأخذ كمية قدرها 10 غ من المسحوق النباتي الجاف ، ننقعه في 150 مل من حمض كلور الماء (HCl) المخفف 1% ، لمدة 48 ساعة ثم نجري له الترشيح .

❖ III -5-1-1- الإختبار العام للفلافونيدات :

نعاير حجما قدره 10 مل من الرشح المحصل عليه بواسطة محلول النشادر (NH₄OH (2N) ونقوم أثناء ذلك بمراقبة ال PH .

بواسطة جهاز ال PH متر بعد قاعدية الوسط نلاحظ ظهور لون أصفر فاتح يدل على وجود الفلافونيدات [2].

❖ III -5-1-2- إختبار الفلافونيدات الحرة :

نسكب 5 مل من الرشح المحصل عليه في أنبوبة إختبار ونضيف لها 2.5 مل من كحول إيزوأميليكى (alcool isoamylique) ، بعد عمليتي الرج والتوازن نلاحظ تلون الطور الكحولي (الطور العلوي) بلون أصفر دلالة على تواجد الفلافونيدات الحرة [27] .

❖ III-5-1-3- إختبار الفلافونيدات الجلايكوزيدية :

نقيس 5مل من الرشح المحصل عليه ونسكبه في أنبوبة إختبار ونضيف لها كمية قليلة من المغنيزيوم ونرجهما جيدا ، بعد مدة نلاحظ ظهور لون أحمر دلالة على تواجد الفلافونيدات الجلايكوزيدية [14].

III-5-2- إختبار الكشف عن العفصيات :

نزن 10 غ من المسحوق النباتي الجاف ، ننقعه في الكحول الإيثيلي (50%) مدة 30 دقيقة ثم نرشحه .
الرشح المحصل عليه نضيف له قطرات من ثلاثي كلوريد الحديد، بعد مدة نلاحظ ظهور اللون الأخضر دلالة على تواجد العفصيات [14] ، [15] .

III-5-3- إختبار الكشف عن الصابونيات :

أخذ كمية من المسحوق قدرها 2 غ ، وتضيف لها حجما قدره 80 مل من الماء المقطر ونسخنه لمدة 15د، بعدها نرشحه و نبرده ، نسكب الرشح في أنبوبة إختبار ونرجه جيدا ثم نتركه لمدة زمنية معينة نلاحظ عندها ظهور رغوة تبقى لمدة 15د ، دلالة على تواجد الصابونيات [2]، [15].

III-5-4- إختبار الكشف عن القلويدات :

القلويدات العامة :

نزن 10 غ من المسحوق النباتي الجاف ، ونضيف له 50 مل من HCl المخفف 1% و يترك المنقوع لمدة 48 ساعة.

بعد الترشيح نضيف للرشح NH_3 حتى قاعدية PH 8-9: ثم نستخلص ب $CHCl_3$ والراسب نضيف له

2 مل من HCl 1%

نضيف له ثلاث قطرات من كاشف ماير عند ظهور عكارة أو راسب أبيض يدل على تواجد القلويدات بصفة

عامة [15] ، [27] .

III-5-5- إختبار الكشف عن الكومارينات :

نأخذ 1مل من المستخلص الكحولي لأجزاء النبات في بيشر و تم وضع غطاء بورقة ترشيع مبللة (رطبة) بمحلول هيدروكسيد الصوديوم المخفف ثم نسخنه في حمام مائي مغلي لبضع دقائق ، جفت ورقة الترشيح وعرضت لمصدر أشعة فوق البنفسجية ، نلاحظ عندها ظهور اللون أصفر المخضر دلالة على تواجد الكومارينات [17] ، [28] .

III-5-6- إختبار الكشف عن الستيروولات غير المشبعة والتربينات الثلاثية:

نزن 5غ من مسحوق نباتي الجاف ، ننقعه في 20مل من كلوروفورم لمدة 30دقيقة ، ثم نرشحه نسكب الرشح الحصل عليه في أنبوب إختبار ونضيف له 1مل من حمض الكبريت H_2SO_4 بجذر على جدار الأنبوبة نلاحظ ظهور اللون الأخضر الذي يتحول بعد مدة الى اللون الأحمر في الطبقة بين الطورين دلالة على تواجد الستيروولات غير المشبعة والتربينات الثلاثية [13].

الجدول (III-1) نتائج الإختبارات الكيميائية الأولية :

المواد الفعالة	تواجد في نبتة جيغل	تواجد في نبتة البيض
الفلافونيدات العامة	+++	+++
الفلافونيدات الحرة	+++	+++
الفلافونيدات الجلايكوزيدية	-	-
العفصيات	+++	+++
الصابونيات	+++	+++
القلويدات	+++	+++
الكومارينات	+	+
الستيروولات غير المشبعة التربينات الثلاثية	+	+++

(+++) إشارة تدل على الإختبار الإيجابي، (-) إشارة تدل على الإختبار السلبي، (+) إشارة تدل على الإختبار متوسط .

من خلال الجدول أعلاه نلاحظ :

- كلا المنطقتين يحتويان على بعض المركبات الفعالة مثل : الفلافونيدات العامة، الفلافونيدات الحرة العفصيات، الصابونيات، القلويدات .

- غياب الفلافونيدات الجلايكوزيدية في نبته أكليل الجبل .

- ان بعض المركبات تتواجد في نبته (البيض) بنسبة اجابية وتتواجد بنسبة متوسط في نبته (جيغل) مثل :السترولات غير المشبعة التربينات الثلاثية ، و تدل الإختبارات الاولية للنبته بان نسبة متوسط للكومارينات .

الإستخلاص :

من بين طرق إستخلاص الفلافونيدات اتخذنا طريقة هارون ، لإستخلاص الفلافونيدات من مسحوق النبته الموضحة في مخطط الإستخلاص صفحة 29 .

III -6- إستخلاص سائل -سائل :

نجري سلسلة من الإستخلاصات سائلة -سائلة وحيث تتم في قمع فصل ذو سعة 250 مل ،وذالك بإستخدام عدة مذيبات عضوية لا تمتزج مع الماء على حسب القطبية .

تتم العملية وفق الخطوات التالية :

➤ III -6-1-1- الإستخلاص بالكلوروفورم $CHCl_3$:

الرشح المحصل عليه نضيف له حجما قدره 40مل من الكلوروفورم (ثلث حجم الرشاحة) يوضع في قمع الفصل ،بعد عملية الرج جيدا والتوازن، بعد مدة نلاحظ تشكل طبقتين متميزتين (طورين) عندها يتم فصل الطور العضوي على الطور المائي وتكرر العملية 3مرات وتجمع المستخلصات الكلوروفورمية وتركز تحت ضغط منخفض في جهاز التبخير عند درجة حرارة لا تتجاوز 40م°،الراسب يذاب في الإيثانول ، يحفظ المستخلص بعيدا عن الضوء وفي مكان بارد .



شكل (11): استخلاص الكلورفورم لنبته جيغل شكل (12): استخلاص الكلورفورم لنبته البيض

➤ III -6-1-2- الإستخلاص بأسيئات الإيثيل $C_4H_8O_2$:

الطور المائي المحصل عليه نجري له عملية الإستخلاص بالإسيئات مرة واحدة ، وذلك بإضافة حجما قدره 45مل (ثلث حجم الطور المائي) ، بعد عملية الرج والتوازن نلاحظ تشكل طورين مختلفين عندها يتم فصل الطور العضوي عن المائي يركز بواسطة جهاز التبخير ، عند درجة حرارة لا تتجاوز $40^{\circ}C$ ($T < 40^{\circ}C$) ، الراسب يذاب في الإيثانول يحفظ المستخلص بعيدا عن الضوء وفي مكان بارد .



شكل (14) : استخلاص أسيئات الايثيل لنبته البيض

شكل (13): استخلاص أسيئات الايثيل لنبته جيغل

III -6-1-3- الإستخلاص بالبيوتانول نظامي $C_4H_{10}O$:

الطور المائي المحصل عليه نجري له عملية الاستخلاص بالبيوتانول 3مرات، وذلك بإضافة حجما قدره 40مل (ثلث الطور المائي)، بعد الرج الجيد والتوازن نلاحظ تشكل طبقتين مختلفتين، عندها يتم فصل الطور العضوي عن المائي .
يركز الطور العضوي بواسطة جهاز التبخير الدوراني عند درجة حرارة لا تتجاوز $70^{\circ}C$ ($T < 70^{\circ}C$)، الراسب يذاب في الميثانول، يحفظ المستخلص بعيدا عن الضوء وفي مكان بارد.

بعد الإنتهاء من عملية الإستخلاص نجري عملية الفصل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.

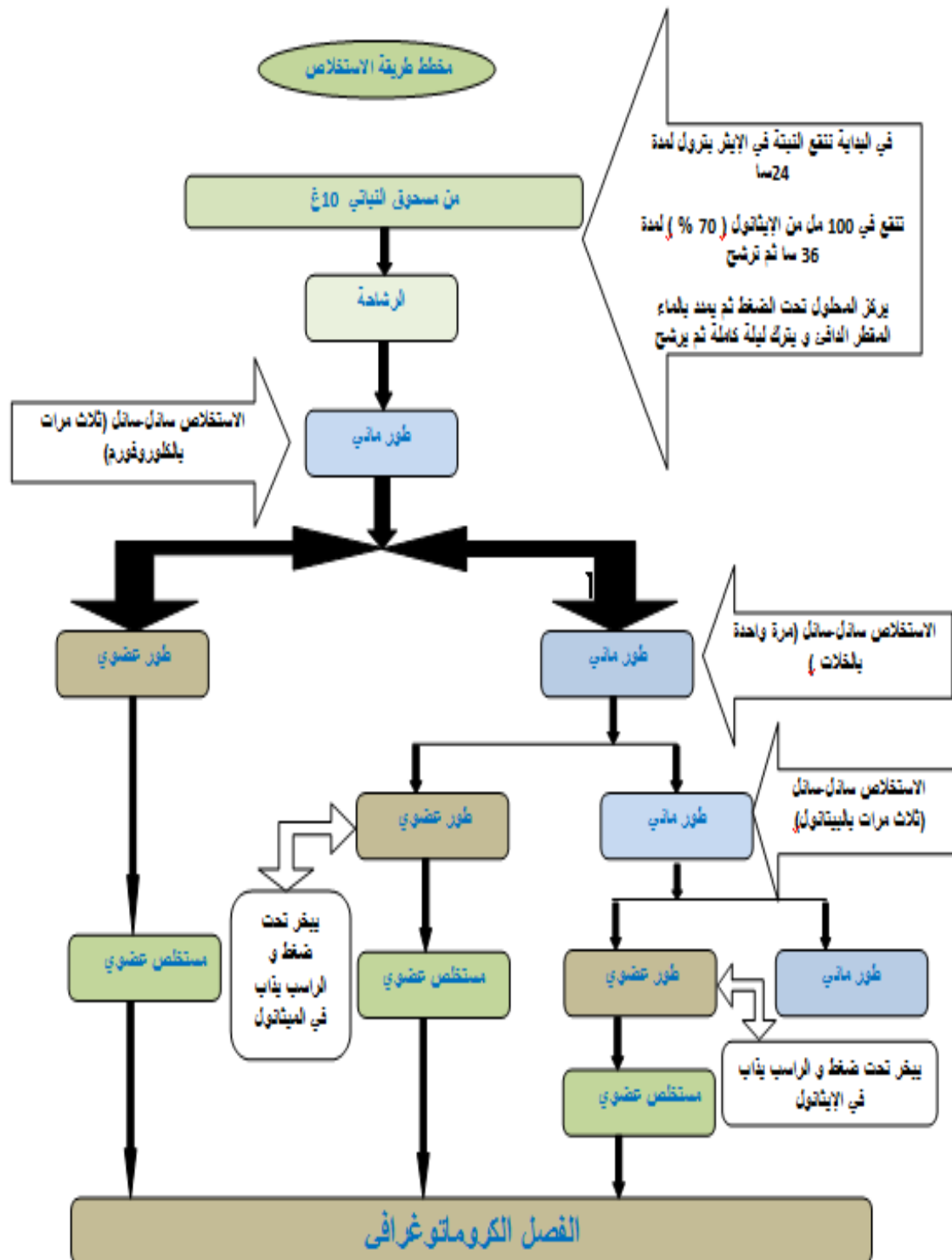


شكل(16): استخلاص بيوتانول نظامي للبننة البيض



شكل(15): استخلاص البيوتانول نظامي للبننة جيحل

مخطط (III-6-1) : مراحل الإستخلاص للنبئة



الجدول (III-2): نتائج الإستخلاص

المردود % R _d	وزن كل مستخلص (غ)	المستخلص	
0.73	0.073	الكلوروفورم	وزن النبتة جيغل 10 غ
2.43	0.243	أسيئات إيثيل	
2.73	0.273	البيوتانول	
0.4	0.04	الكلوروفورم	وزن النبتة البيض 10 غ
0.261	0.0261	أسيئات إيثيل	
11.53	1.153	البيوتانول	

من خلال الجدول نلاحظ أن:

- مردود إستخلاص (نبته جيغل) للمستخلص البيوتانولي و اسيئات الايثيل ذو نسبة عالي ، اما الكلوروفورم بنسبة اقل .
- أما مردود إستخلاص (نبته البيض) للمستخلص البيوتانولي ذو نسبة عالية ، ممايليه أسيئات الإيثيل، والكلوروفورم على التوالي.
- مردود استخلاص (نبته البيض) للمستخلص البيوتانولي كان بنسبة عالية من مردود مستخلص البيوتانولي لنبته جيغل ،أما بالنسبة لمردود المستخلصي الكلوروفورم والاسيئات الايثيل نجده عند نبته جيغل بنسبة كبيرة من نبته البيض .

III-7- فصل الكروماتوغرافيا :

III-7-1-الفصل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM :

في عملنا هذا قمنا بإستخدام نوع من كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM وهو السيليكاكاجال كطور ثابت لفصل المواد الفعالة في نبات أكليل الجبل 'لمستخلص الكلوروفورم ومستخلص البيوتانول بإستخدام أطوار مختلفة القطبية ،وقمت ملاحظة النتائج والألوان تحت UV و (UV+NH₃) ، النتائج والألوان مدونة في الجداول التالية:

الجدول (III-3): نتائج الفصل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM لمستخلص الكلوروفورم للبنتة

UV+NH ₃	لون UV	R _f	عدد البقع	طور المتحرك	
بنفسجي	زرق	0.16	6	طوليان/اسيتات ايثيل/حمض اسيتيك (1/4/5)	نبات البيض
صفراء	صفراء	0.36			
برتغالي	بني	0.45			
بني	بني	0.57			
اخضر مصفر	علم اللون	0.59			
بني	علم اللون	0.67			
صفراء	زرق	0.51	6	طوليان/اسيتات ايثيل/حمض اسيتيك (1/4/5)	نبات جيجل
خضراء	صفراء	0.65			
وردي	وردي	0.71			
بني	بنفسجي	0.79			
صفراء	صفراء	0.82			
وردي	وردي	0.85			
حمراء	حمراء	0.15	10	هكسان/كلورفورم/اسيتات ايثيل (1/2/2)	نبات البيض
صفراء	صفراء	0.18			
صفراء	صفراء	0.22			
خضراء	خضراء	0.24			
بنفسجي	بنفسجي	0.25			
بني	بني	0.4			
برتغالي	وردي	0.52			
خضراء	خضراء	0.56			
بني	بني	0.78			
خضراء	خضراء	0.89			
بنفسجي	بنفسجي	0.35	7	هكسان/كلورفورم/اسيتات ايثيل (1/2/2)	نبات جيجل
بنفسجي	بنفسجي	0.40			
خضراء	زرق	0.71			
صفراء	صفراء	0.78			
بني	وردي	0.75			
وردي	وردي	0.79			
بنفسجي	بنفسجي	0.84			

III -7-2- مناقشة النتائج:

مستخلص الكلوروفورم للنبته :

من خلال مقارنة عدد بقع في نبته جيجل ونبته البيض في الطور المتحرك: (طوليان/أستيات إيثيل /حمض أستيك) نلاحظ أن عدد بقع نبته جيجل يساوي عدد بقع نبته البيض ، وظهر ألوان مختلفة ، وكذلك نلاحظ تقارب وتشابه في اللون . وهذا يدل على احتمالية وجود : أهم المركبات على سبيل المثال : التربينات (ذات بقع بنية ، خضراء ، صفراء)، كومارينات التي تأخذ ألوان مختلفة من الأزرق إلى الأصفر [18].

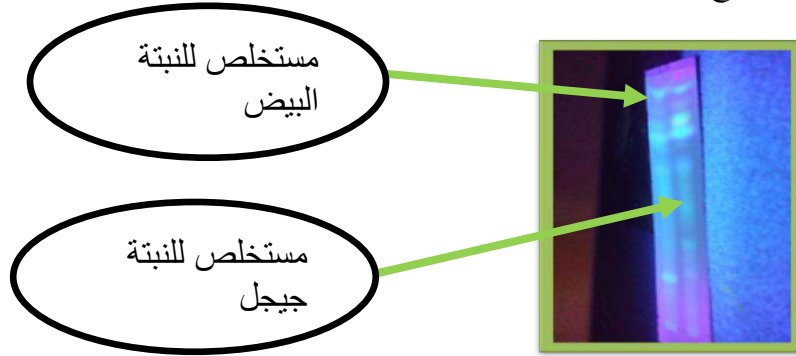
عندما تغير الطور المتحرك : (هكسان/كلورفورم/استيات ايثيل) نلاحظ ان عدد بقع في نبته البيض أكثر عددا من بقع نبته جيجل ، و ظهر ألوان مختلفة .

الجدول (III-4): نتائج الفصل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM لمستخلص البيوتانولي نظامي للنبته

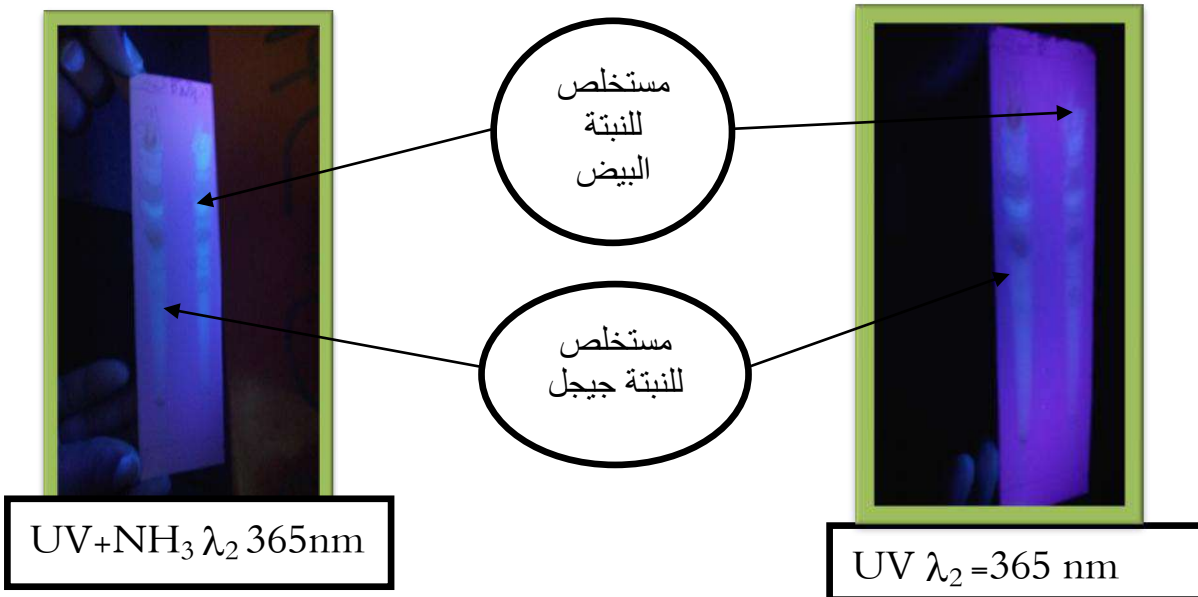
UV+NH ₃	لون UV	R _f	عدد البقع	طور المتحرك	
بني	بني	0.54	5	بيوتانول /حمض أستيك /ماء (10/2/8)	نبات البيض
بني	بنفسجي	0.62			
صفراء	صفراء	0.64			
بني	وردي	0.68			
صفراء	وردي	0.81			
صفراء	صفراء	0.25	7	بيوتانول /حمض أستيك /ماء (10/2/8)	نبات جيجل
بني	بني	0.44			
بني	بنفسجي	0.52			
صفراء	صفراء	0.61			
بني	بني	0.71			
صفراء	وردي	0.80			
بني	بني	0.90			

مستخلص البيوتانولي نظامي للنبته:

من خلال مقارنة بين عدد بقع في نبته جيغل والبيض في الطور المتحرك (بيوتانول /ماء /حمض أسيتيك) نلاحظ عدد بقع نبته جيغل اكبر من عدد بقع قليلا لنبته البيض ،ونلاحظ أيضا ظهور ألوان مختلفة وهذا يدلنا على احتمالية وجود بعض الانواع من المركبات الفلافونيدية .



شكل(17): كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM لمستخلص الكلوروفورم للنبته للطور المتحرك (طوليان /اسيتات الايثيل /حمض اسيتيك)



شكل (18): كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM لمستخلص البيوتانولي نظامي لنبته اكليل الجبل للطور المتحرك (بيوتانول /حمض أسيتيك /ماء) .

IV-1- مدخل:

تشكل البكتيريا مجموعة الكائنات بدائية النوى تعامل معها الإنسان دون أن يراها فقد عرف أنها تسبب المرض وإستعمل بعضها في عمليات تخمر مختلفة، ولقد كان لكشف المجهرى الأثر الكبير في التعرف عليها .
أول من أكتشف وجود البكتيريا العالم الكيميائي الفرنسي 'باستير' حيث أكتشف البكتيريا الهوائية واللاهوائية من خلال تجاربه على التخمر، وأكتشف أيضا طعومها وأرتبط اسمه بعملية البسترة لقتل الكائنات الحية المجهرية التي يمكن ان توجد بالسوائل وخاصة الحليب.

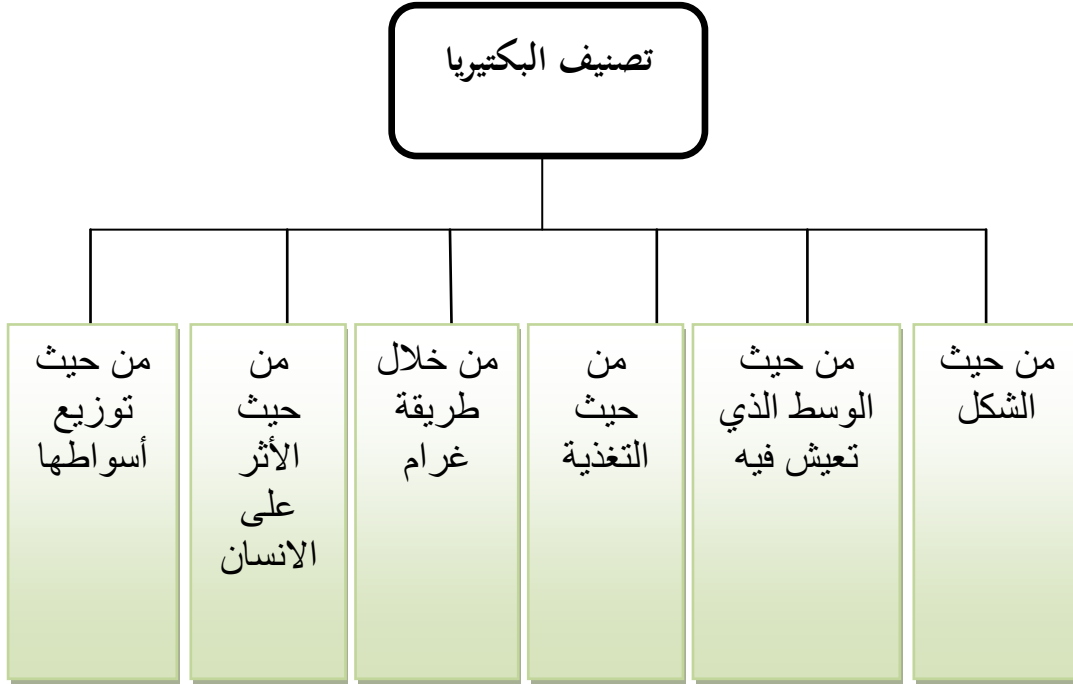
أما العالم الألماني روبرت كوخ فقد أسهم في اكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض وأول من عمل مزارع نقية للبكتيريا .
ولقد ارتبط اسم البكتيريا كثيرا بالأمراض التي تسببها للإنسان ولكن الاكتشافات الحديثة و التقدم السريع الذي حدث في العلوم التطبيقية أظهرت أن البكتيريا تلعب دورا هاما في كثير من الصناعات الغذائية والدوائية والتخلص من المواد العضوية وغير العضوية وكذلك معالجة المياه والمعالجة الحيوية لمخلفات المزارع واستخدامها في إنتاج الطاقة وغاز الميثان .

IV-2- تعريف البكتيريا:

البكتيريا كائنات دقيقة الحجم وهي خلايا حية، لا ترى إلا بالمجهر، وتقاس أبعادها بالميكرون حيث أن عرضها ما بين (0.2-2) ميكرون، وطولها ما بين (2-10) ميكرون، ولا تحتوي على اليخضور وتكون على عدة أشكال منها كروية وعصوية، ومنها نافعة وضارة، حيث تتواجد البكتيريا في كل مكان، في الهواء، ماء، وعلى جسم الإنسان وتكون أيضا على سطح الجلد وداخل قناة الهضمية وجهاز التنفسي [1]، [2].

IV-3- مخطط تصنيف البكتيريا:

صنف العلماء البكتيريا إلى عدة تصنيفات كما هو موضح في المخطط (IV-1) التالي:



- ✓ من حيث الشكل: - بكتيريا عصوية - بكتيريا كروية - بكتيريا حلزونية.
- ✓ من حيث الوسط الذي تعيش فيه: بكتيريا هوائية - بكتيريا لاهوائية - بكتيريا لاهوائية اختيارية .
- ✓ من حيث التغذية: - بكتيريا ذاتية التغذية - بكتيريا عضوية التغذية.
- ✓ من خلال طريقة الغرام: - بكتيريا موجبة الغرام - بكتيريا سالبة الغرام.
- ✓ من حيث الأثر على الإنسان: - بكتيريا نافعة - بكتيريا ضارة - بكتيريا إنتهازية .
- ✓ من حيث توزيع أسواطها: - بكتيريا وحيدة السوط - بكتيريا ذات أسواط عديدة متجمعة عند طرف واحد - بكتيريا ذات أسواط عديدة موزعة على كل الخلية [1].

طريقة التلوين (غرام) :

يوضح الاختلاف في تركيب جدار الخلية بالتلوين ، حسب تقنية غرام (GRAM) نسبة للعالم J.GRAM المكتشفة سنة 1884 ، واستنبط نوعين من خلال هذا طريقة :

1-بكتيريا غرام موجب (gram positive) : عند تلوينها تمتص اللون وتظهر ارجوانية .

2-بكتيريا غرام سالب (gram négative) : تخرر صبغ وتظهر حمراء .

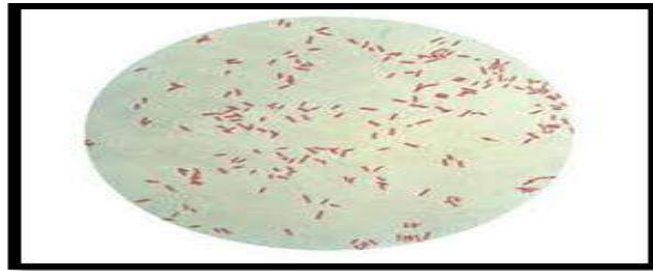
و يظهر جدار خلية البكتيريا غرام موجب (gram positive) ، أسمك من جدار خلية البكتيريا غرام (gram négative)

IV- 4 - جمع السلالات البكتيرية المستعملة:

تم جمع والحصول على السلالات البكتيرية من مستشفى محمد بوضياف بورقلة ، و أجرينا التجارب في كل من المستشفى والكلية بمساعدة المختصين في هذا المجال وهذه العينات هي :

IV-4-1- بسيدوموناس " *Pseudomonas aeruginosa* " :

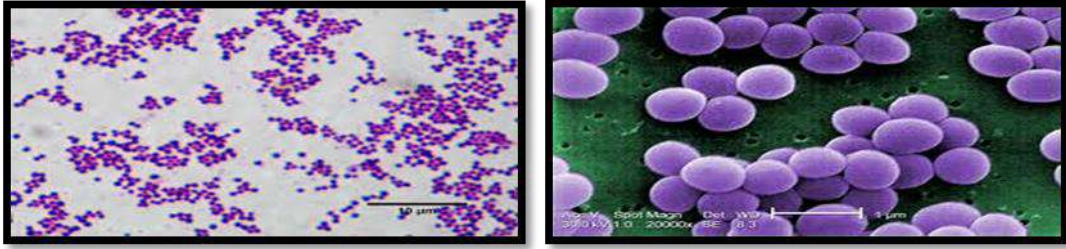
تعد هذه البكتيريا من الأكثر أنتشارا بشكل عام في التربة ،الماء ،فهي عصبية سالبة الغرام هوائية ،ولها القدرة على إنتاج أصبغة ملونة ،ليس لها متطلبات نمو خاصة ودرجة حرارة مثالية لنمو 37 م° وتستطيع النمو حتى 42 م° وهي مسؤولة عن التعفنات الخطيرة بعد العمليات الجراحية ،تمتاز بمقاومتها للمضادات الحيوية والمطهرات ،وهي ممرضة للجهاز البولي والدموي للإنسان والحيوان [1]،[14]،[24].



شكل (19): *Pseudomonas aeruginosa* ملاحظة بالميكروسكوب

IV-4-2- Staphylococcus aureus" ستافيلوكوكيزأروز":

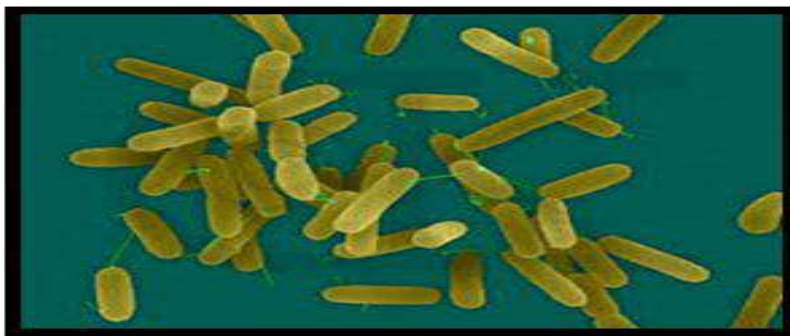
هي بكتيريا هوائية إختيارية ،موجة الغرام ،تعد من الانواع المهمة إذتوجد بشكل أساسي في أغشية الانف وعلى جلد الانسان والحيوان ،تكون كروية الشكل تسمى كوكسي (Cocci) كما أنها عديمة الحركة وتشكل عناقيد ،ولقد وجد أنها المسببة في التسمم الغذائي ،والأمراض المعديّة وغيرها من الامراض القاتلة [1]،[14]،[29].



شكل (20): "Staphylococcus aureus ملاحظة بالميكروسكوب

IV-4-3- Esherichia Coli" الإشيريشيا كولي":

هي بكتيريا سالبة الغرام وهي بكتيريا هوائية سالبة الغرام ، تعيش في جسم الانسان والحيوان و نبات وفي تربة، تكون متحركة على شكل عصيات ،مسببة للأمراض من هذه الامراض :
امراض الجهاز البولي ، الاسهال الطفيلي ،التهاب السحايا وتسمم الدم .



شكل(21): " Esherichia Coli " ملاحظة بالميكروسكوب

IV-5- دراسة الفعالية البيولوجية لمستخلص البيوتانولي نظامي لنبته ضد البكتيريا:

بعد عملية استخلاص مستخلص البيوتانول نظامي لنبته أكليل الجبل قمنا بدراسة بيولوجية لمعرفة مدى تأثير هذه المستخلص على بعض أنواع البكتيريا الممرضة التي تصيب الإنسان وما إذا كان لها القدرة على القضاء وتقليص هذه البكتيريا أولاً ولهذا قمنا مخبرياً بمايلي على حسب مخطط (IV-2) التالي [1]، [14]، [16].



IV-5-1- العزلة البكتيرية:

نأخذ البكتيريا المسماه سابقا ونضعها في علب بتري وفيها وسط الزراعي MH ونتركها لمدة 24 ساعة.

IV-5-2- تحضير الاقراص:

أخذنا ورق ترشيح من نوع واتمان رقم 3 ،وقمنا بقصها أقراص صغيرة الحجم ،ونضعها في أنبوب إختبار للتعقيم داخل الفرن في درجة حرارة 130م° لمدة زمنية معية قدرها 45دقيقة .

IV-5-3- تحضير الوسط الزراعي:

نقوم باذابة معقمة للوسط MH ،ثم نسكبه في علب بتري بكميات محددة ونتركه ليحجف ويتصلب ،ثم نضعه في الفرن لمدة 30دقيقة .

IV-5-4- تحضيراً لمعلق البكتيري:

نحضر أنابيب إختبار و فيها 5 مل من الماء الفيزيولوجي حيث نضع في كل انبوية جذمة من كل بكتيريا المراد ، و نرجه جيدا حتى يتجانس المحلول ، حيث يغمس ماسح القطني المعقم في المعلق البكتيري ثم يمسح به على كامل الوسط الجاف ، بشكل خطوط متلاصقة مع تكرير العملية ثلاث مرات وذلك بتدوير الطبق 60° في كل مرة ، و أخيرا يجفف في الفرن (37م°) لمدة 5دقائق .

IV-5-5- الزرع والحضن:

نأخذ الاقراص المحضرة سابقا ونضعها في المستخلص حيث اخذنا التركيز $C=0.1g/mL$ ،ثم نأتي بالعلب البتري السابقة ،وبواسطة الملقط نضع الاقراص بها حيث نترك مسافات منتظمة بينها وفي الاخير نأخذ العلب للحضن في الفرن (37م°) بشكل مقلوب لمدة 24ساعة .

IV-5-6- قراءة النتائج :

قراءة النتائج تكون من خلال ملاحظة مناطق الدوائر التشبيط حول هذه الاقراص ،نلخص هذه النتائج في الجدول

التالي:

الجدول (IV-1): نتائج اختبارات الفعالية البيولوجية لمستخلص البيوتانول نظامي لاكلييل الجبل :

قطر mm	المستخلص	نوع الغرام	اسم البكتيريا	
7	البيوتانول نظامي	-	Pseudomonas aeruginosa	جيجل
8	البيوتانول نظامي	+	Staphylococcus aureus	
7	البيوتانول نظامي	-	E.Coli	
10	البيوتانول نظامي	-	Pseudomonas aeruginosa	البيض
8	البيوتانول نظامي	+	Staphylococcus aureus	
7	البيوتانول نظامي	-	E.Coli	

IV-5-7- مناقشة النتائج :

من خلال نتائج الجدول (IV-1) اعلاه سمحت لنا بالملاحظة النقاط التالية :

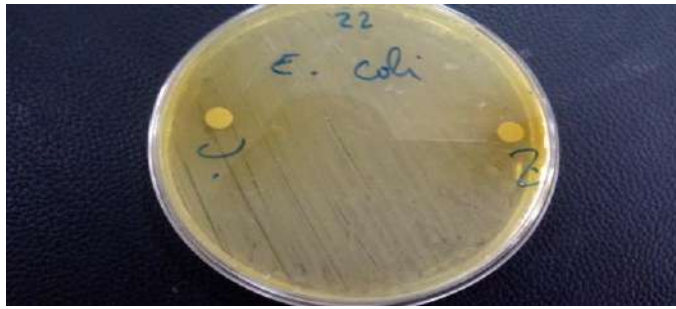
مستخلص البيوتانولي :

✓ لبننة جيجل يرمز لها (ج) حيث اعطت قيم متوسطة لكلا النوعين Pseudomonas aeruginosa و E.Coli و قيم اجابية بنسبة Staphylococcus aureus من البكتيريا المذكورة اما من ناحية القطر فسجلت نفس النتائج.

✓ لبننة البيض يرمز لها (ب) حيث اعطت قيم متوسطة نوع E.Coli وقيم اجابية متوسطة لنوع Staphylococcus aureus وقيم جيد بنسبة لنوع Pseudomonas aeruginosa من البكتيريا المذكورة اما من ناحية القطر فسجلت نفس النتائج .



شكل (22) : تأثير مستخلص البيوتانول نظامي علي بكتيرية *Pseudomonas aeruginosa*



شكل (23) : تأثير المستخلص البيوتانول نظامي علي بكتيرية *Esherichia Coli*



شكل (24) : تأثير مستخلص البيوتانول نظامي علي بكتيرية *Staphylococcus aureus*

الخاتمة:

ان هذا العمل يدخل في اطار المساهمة في إستخلاص بعض المركبات الفعالة الموجودة في نبات طبي وهو أكليل الجبل والذي ينتمي الى العائلة الشفوية.

من خلال الدراسة الفيتو كيميائية لهذا النبات لمنطقتين (البيض - جيغل) أثبتت النتائج تواجد بعض المواد الفعالة بما فيها الفلافونيدات وغيرها، مما جعلنا نقوم بدراستها تحليليا، بعدها اتبعنا الطريقة الامثل للاستخلاص الفلافونيدات وهي طريقة هاربون (إيثانول / ماء)، فتحصلنا على مستخلصات (كلوروفورم - أسيتات الايثيل - بيوتانول)، بعدها قمنا بالدراسة التحليلية لمستخلص كلوروفورم - بيوتانول بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM والتي من خلالها بينت وجود بعض أنواع من التربينات، الفلافونيدات... الخ.

وكما ارتأينا أن ندعم هذا العمل بالفعالية البيولوجية لمستخلص (بيوتانول نظامي) للنبته، نتائج اختبار فعالية هذه الاخيرة على ثلاثة انواع من البكتيريا وهي E.Coli و Pseudomonas aeruginosa و Staphylococcus aureus، فكانت نتيجة بالنسبة لمستخلص بيوتانول نظامي لنبته البيض ايجابية لنوع pseudomonas وبالنسبة لنوع Staphylococcus aureus متوسطة الايجابية على النوع E.Coli، وبالنسبة لمستخلص بيوتانولي نظامي لنبته جيغل اعطى نتيجة متوسطة لكلا النوعين E.Coli و Pseudomonas aeruginosa، وأعطى نتيجة جد ايجابية للنوع Staphylococcus aureus، ومن هذه النتائج تبين لنا بان الفعالية البيولوجية بان لها فعالية متوسطة مما يجعل امكانية استخلاص مواد لها فعالية بيولوجية من نبته تكون بديلة للمواد الكيميائية المصنعة المستعملة في الادوية المضادة للبكتيريا .

وفي الاخير فأننا نأمل ان هذه الدراسة لا تتوقف عند استخلاص المركبات الخام والدراسة البيولوجية بل نقترح مواصلة هذا العمل بصورة ادق او الى فصل مركبات ومن بعدها تحديد الصيغ الكيميائية ومعرفة الفعالية المضادة للبكتيريا لنبته اكليل الجبل .

المراجع:

المراجع بالعربية :

- [1]- الدكتور م. السيد هيكل .الدكتور ع ،عبد الرزاق عمر 'النباتات الطبية والعطرية كيميائؤها ،إنتاجها ،فوائدها '1993م، الطبعة الثانية ص 96-97.
- [3] د. رفيق صالح ، دراسة مورفولوجي وكيميائية لنبات أكليل الجبل السوري ، جامعة دمشق سوريا ، 1998.
- [4] د.حليمي عبد القادر، النباتات الطبية، وزارة الفلاحة الجزائرية، 1997.
- [5] حوة ابراهيم ، دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية و الفعالية ضد الأكسدة ،مذكرة ماجستير جامعة ورقلة 2013 .
- [6] مها عبد اللطيف ، دراسة تأثير الخلاصة الكحواية لأوراق نلات اكليل الجبل في نمو فطر *Aspergillus flavus* وإفراز إفلاتوكسين B₁ ، مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ، مجلد 25 العدد 1 ، 2009 ص 121 – 134 .
- [9] د . عبد الباسط محمد سيد ، الموسوعة الام للعلاج بالأعشاب النباتات الطبية ، دار الفا للطبع و النشر 2004.
- [13]- العابد إبراهيم ،'دراسة فعالية المضادة للبكتيريا ومضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران *Traganum nudatum* ' مذكرة ماجستير جامعة ورقلة 2009م.
- [14]- أ.مسعودة علاوي مساهمة في دراسة مركبات العضوية الفعالة في نبات الرمث *Haloxylon Scoparium* مذكرة ماجستير جامعة ورقلة 2003 م .
- [15]- عهد ابو يونس .صياح ابو غرة،سمير سليقة "عزل بكتيريا *Staphylococcus aureus* من الثلجات البنية وتشخيصها بالاعتماد علة تقنيتي *API-PCR* " مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية (2012) ،المجلد 28، العدد 1، الصفحات 289-300.
- [16]-بوخبتي حبيبة'النباتات الطبية المتداولة في المنطقة الشمالية لولاية سطيف دراسة تشريحية لنوعين من جنس *Mentha* والنشاطية ضد البكتيرية لزيوتهما الاساسية ' مذكرة ماجستير جامعة فرحات عباس سطيف 2010.

- [17]- مؤيد صبري شوكت .عبد الأمة بركة .علي حسين على فرحان ،'دراسة تأثير الخلاصات المائية لبعض النباتات في علاج إلتهاب اللثة الحاد والمزمن' المجلة العراقية للعلوم ،المعهد التقني الطبي -هيئة التعليم التقني -بغداد - العراق .
- [19]-دكتور الشحات نصر أبوزيد ،'النباتات والأعشاب الطبية'المركز القومي للبحوث القاهرة ، ،دار مكتبة الهلال ،الطبعة الأولى 1982م.
- [20]- زعيتر لحسن ،'تحديد المكونات الكيميائية لأطوار الكلوروفورم والزيوت الأساسية لأنواع من العائلتين المركبة Compositae والسيستية Cistaceae' رسالة مقدمة لنيل درجة دكتوراه الدولة في العلوم تخصص كيمياء عضوية ،جامعة منتوري قسنطينة .
- [21]- فؤاد عبد العزيز أحمد الشيخ 'صناعة الزيوت والدهون' دار النشر للجامعات المصرية الطبعة الأولى 1993.
- [22]- الهيئة العربية السعودية للمواصفات والمقاييس طرق الاختبار الفيزيائية والكيميائية للزيوت والدهون النباتية المعدة للطعام 1977م.
- [23]- د- عمري أمل ، دراسة دور الفيتامين E و C والمستخلص البيوتانول لنبات *Rhantherim suaveolens* و *Chrysonthemum fontanesii* في الوقاية من التسمم المحرض بدواء *Sodium valproate* لدي الفئران الحوامل .دراسة *In vivo* و *In vitro* ، جامعة قسنطينة I ، 2013 .
- [26]-وائل غالب محمد ،وليد محمد السعيطي ،'أسس الكيمياء العضوية' دار الكتب الوطنية بنغازي-ليبيا ،الطبعة الاولى 2008.
- [28]-علي صادق محمد -محمد عباس الدليمي'الكشف عن المركبات الكيميائية والتنقية الجزئية للقلويدات في مستخلصات (ثمار -أوراق -جذور) نبات عنب الذيب *Solanum nigrum* المجلة العراقية للعلوم ،المجلد 50- العدد 3-2009،ص 303-314.

المراجع باللاتينية :

[2]- K. Benzahi, Contribution à l'étude des flavanoide dans le plant cynodon Dactylon –L'Chiendenr' mémoire de magister Université de Ouargla 2001, p15-17.

[7] Nurdan Sarac, Aysel Ugur, Antimicrobial activities and usage in folkloric medicine of some Lamiaceae species growing in Mugla, Turkey, EurAsia J BioSci 4, 28-37 (2007).

[10]-A -Crozier, MichaelN .clifford Hiroshi, Ashihara “plant Secondaary Metabolites Occurrence, Structure and Roline the Humandiet”.

[11]Yilan Fung BoixCristiane Pimentel Victoria, Volatile Compounds from Rosmarinus officinal is L. AND Baccharats dracunculifolia DC. Growing In Southeast Coast of Brazil, Quim. Nova, Vol. 33, No. 2, 255-257, 2010.

[12] Kiarostami, Kh, Mohseni, R., Saboora, A, Biochemical changes of RosmarinusOfficinal is under salt stress, Journal of Stress Physiology & Biochemistry, Vol. 6 No.3 2010, pp. 114-122 ISSN 1997-0838.

[19]- Bruneton, j, Pharmacognosie, Phytochimie, Plante médicinales, (4ème éd), Paris : Editions médicales internationales, édition Tec & Doc lavoisier, 2009.

[24]-Marfak A(2003). Thèse de Doctora de l'Universite de Limoges Spécialité : Biophysique.p187.

[25]- Wollenweber, Edits, V, H, (1980), Biochemical Systematic and ecology, 8, 21.

[27]- N. Chouch, Etude des Alcaloide dans le Coloquinte Colocynthis Vulagaris (L) Schrad (Cucurbitacées) Region de Oued N'se (Wilaya de Ouargla) mémoire de magister, Université de Ourgala ,2001p44 .

[29]- Amina,R.M,Aliero,B.L.and Gumi ,A,M. 'Phytochemical Screening and oil yield of a potential herb ,camel grass (Cymbopogon Schoenanthus Spreng) Central European journal of Experimental Biology , 2013.



شكل (25):جهازالتبخير الدوراني



شكل(26): ميزان تحليل لقياس الأوزان

الملخص:

إن الهدف الرئيسي من عملنا هو المساهمة في الدراسة الفيتو كيميائية لنبته أكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* من العائلة الشفوية من منطقتين مختلفتين، وذلك بعملية الاستخلاص لأهم المركبات الفعالة وهذا بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM حيث تبين من خلال المستخلص الكلوروفورمي والبيوتانولي نظامي وجود بعض الكومارينات ، التربينات والفلافونيدات. ونحتم عملنا هذا بالنشاط البيولوجي حيث قمنا بدراسة التأثير البكتيري لمستخلص البيوتانول لثلاثة انواع من البكتيريا حيث أعطت نتائج متوسطة الفعالية.

الكلمات الدالة : فيتوكيمياء، أكليل الجبل ، الشفوية ، فلافونيدات ، كروماتوغرافيا.

Résumé: L'objectif principal de notre travail est de contribuer à l'étude, phytochimique de la plante *Rosmarinus officinalis* de la famille de Lamiaceae de deux régions différents, par l'extraction et la séparation des principaux composés actifs à l'aide de la chromatographie couche mince (CCM).

Il a montré dans l'extrait de chloroforme et le butanol systématique qu'il peut y avoir certaines coumarines et terpènes et des flavonoïdes.

En conclue notre travail par l'activité biologique, où nous avons étudié l'activité antibactérienne pour les deux extraits d'un butanol systématique sur trois types de bactéries où le résultat a donné moyennes efficacité.

Mots clés : phytochimie, *Rosmarinus officinalis*, Lamiaceae, flavonoïdes, chromatographie.

Summary :

The main objective of our work is to contribute to the study of the chemical viability of *Rosmarinus officinalis* from the Lamiaceae family of two different regions. This is done by the extraction of the most important active compounds. This is done by the CCM chromatography. The chlorophormic and butane extracts show the presence of some comarins, terpènes and flavonoids.

We concluded this work by biological activity, where we studied the bacterial effect of the Butanol extract for three types of bacteria, which gave moderate results.

Key words: phytochemistry, *Rosmarinus officinalis*, Lamiaceae, flavonoids, chromatography .