رقم الترتيب:
رقم التسلسل:

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جـــامعة قـــاصدي مـــرباح ورقلـــة

كلية الرياضيات وعلوم المادة

قسم الكيمياء

اطروحة محضرة لنيل شهادة دكتوراه علوم

تخصص: كيمياء عضوية

من طرف: الدراجي هادف

المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للاكسدة للزيوت العطرية و المستخلصات العضوية لاوراق نباتي *Origanum majorana L* و *Cymbopogon schoenanthus*

نوقشت يوم: **21/05/2017**

أمام لجنة المناقشة

أ.حجاج محمد	استاذ تعليم عال	جامعة ورقلة	رئيسا
أ.لحرش مختار	استاذ تعليم عال	جامعة الجلفة	مناقشا
أ.وهراني محمد رضا	استاذ تعليم عال	جامعة الوادي	مناقشا
أ.يوسفي محمد	استاذ تعليم عال	جامعة الاغواط	مؤطرامساعدا
أ.سعيدي مختار	استاذ تعليم عال	جامعة ورقلة	مؤطرا

السنة الجامعية **2016 – 2017**

الفـهرس

الـ فـهرس	الصفحة
الاهداء	////
الشكر	////
قائمة الاشكال و المخططات	////
قائمة الجداول	/////
قائمة الرموز	/////
الفصل الاول: النباتات الطبية و المنتجات الطبيعية	/////
الباب الاول: الجزء النظري	/////
I – 1– 1– تعريف النباتات الطبية	01
I – 1– 2– أهمية النباتات الطبية	01
I – 1– 3– دراسة النباتات الطبية	01
I – 2– المنتجات الطبيعية	02
I – 2– 1– تعريف المنتجات الطبيعية	02
I – 2– 2– تصنيف المنتجات الطبيعية	02
I – 3– المواد الفعالـة	03
I– 3– 1– التربينات	03
I– 3– 2– الكومارينات	05
I– 3– 3– الفلافونيدات	06
I– 3– 4– التنينـات	07
I– 3– 5– الزيوت الطيارة	08
I – 3– 6– الصابونيات	09
I– 4– التعريف بعائلتي النبتتين المدروستين	10
I– 4–1– العائلة الشفوية	10
I– 4–1– 1–التصنيف العلمي النظامي لنبتة البردقوش	10
I– 4–1–2–الوصف المرفولوجي للنبات	11
I– 4–1–3–المسح الكيميائي	11
I– 4–1–4– مجال استعماله	11
I– 4–2–العائلة النجيلية	12
I– 4–2–1– التصنيف العلمي النظامي لنبتة الإذخر	13

I- 4-2-2-الوصف المرفولوجي للنبات :	13
I- 4-2-3-المسح الكيميائي	14
I -5- الدراسات السابقة للنبتتين	14
I- 5-1-نبتة الاذخر	14
I- 5-2 نبتة البردقوش	16
الباب الثاني: الجزء العملي	
I -6- جني النبات	17
I -7- التجفيف	17
I -8-الطحن والتخزين	17
I- 9-الإختبارات الكيميائية الأولية	18
I- 9-1-إختبار الكشف عن الفلافونيدات	18
I- 9-2-إختبار الكشف عن العفصيات	18
I- 9-3-إختبار الكشف عن الصابونيات	18
I- 9-4-إختبار الكشف عن القلويدات	19
I- 9-5-إختبار الكشف عن الكومارينات	19
I- 9-6-إختبار الكشف عن الستيرولات غير المشبعة والتربينات الثلاثية	19
I- 10-الإستخلاص	19
I - 10 -1- إستخلاص صلب – سائل	20
I- 10-2- إستخلاص سائل –سائل	20
I- 10-2-1- الإستخلاص بالكلوروفورم	21
I- 10-2-2- الإستخلاص بأسيتات الإيثيل	21
I- 10-2-3- الإستخلاص بـ-ن- بالبيوتانول	21
I -10-3- تفسير النتائج	24
I -11- إستخلاص الزيوت الطيارة	25
I -11-1- تحديد نسبةالمئوية الوزنية للزيت الطيار	26
I -11-2- الثوابت الفيزيائية للزيت الطيار	26
I -11-2-1- قرينة الانكسار	26
I -11-2-2- الكثافة النوعية	26
I -11-2-3- مردود الزيت	27
I -11-2- الدلائل الكيميائية للزيوت الاساسية	27
I -11-2- 1- قيمة الحموضة	27

I –12– كروماتوغرافيا GC/MS للزيتين الاساسيين	29
I –13– كروماتوغرافيا الطور الغازي CPG للزيتين الاساسيين	34
I –14– النتائج و المناقشة	40
I –15– التقدير الكمي للفينولات الكلية	46
I –15–1– تحضير المحلول المعياري	46
I –15–2– تحضير العينات	46
I –15– تعيين كمية الفلافونيدات	47
I –15–1– تحضير المحلول المعياري	48
I –15–2– تحضير العينات	48
I –16– النتائج والمناقشة	49
I –16–1–المردودوالثوابت الفيزيائية و الكيميائية	49
I –16–2– تقدير كمية المركبات الفينوليةالكيلية و الفلافونويدات	49
المراجع	52
الفصل الثاني: النشاط المضاد للأكسدة	
الباب الاول: الجانب النظري	
II –1– الفعالية المضادة للأكسدة	57
II –2– مضادات الاكسدة	57
II –3– تعريف الجذور الحرة	57
II–3– 1– الجذور الحرة الأحادية (الأولية)	57
II– 3– 2– الجذور الحرة الثنائية (الثانوية)	57
II–4– الجذور النشطة أو غير المستقرة	58
II –5– الجذور المستقرة أو الصامدة	58
II – 6– متابعة حركية الجذور الحر	58
II – 7– تفاعلات الأكسدة الذاتية	58
II – 8– تفاعلات الأكسدة في النظام البيولوجي	59
II –9– تعريف مضادات الأكسدة	59
II – 9–1– مضادات الأكسدة المصنعة	60
II – 9–2– مضادات الأكسدة الطبيعية	61
II – 9–2– 1– فيتامين ج:Vitamin–C	61
II – 9–2– 2– فيتامين ه : Vitamin–E	62
II – 9–2–3– البوليفينولات polyphenols:	62

II -10- إختبار DPPH	62
II -11- إختبار FRAP : (إختبار مضاد للأكسدة)	63
II - 12- اختبار موليبدات الفوسفات	64
الباب الثاني : الجانب العملي	
II-1-اختبار DPPH	65
II-1 -1- تحضير المواد وطريقة العمل	65
II-1 -2-تفسير النتائج	70
II-2 – إختبار FRAP: (إختبار مضاد للأكسدة)	74
II-2- 1- طريقـة العمــل:	74
II-2-2- أ. رسم المنحنى القياسي	74
II-2-3- معاملـة المستخلصات	77
II-2-4-تفسيـر النتائج	78
II-3- اختبار موليبدات الفوسفات	82
II-3-1- تحضير المحاليل العيارية	82
II-3- 2- تحضير العينات	82
II-4- المناقشة و النتائج	84
المراجع	88
الفصل الثالث: النشاط المضاد للبكتريا	
الباب الاول: الجانب النظري	
III-1 – مدخل	90
III – 2 نبذة تاريخية حول البكتيريا	90
III – 3 تعريف البكتيريا	90
III – 4 خصائص البكتيريا	91
III – 5 تصنيف البكتيريا	92
III – 5 –1 من حيث توزيع أسواطها	92
III – 5 – 2 من حيث الشكل	92
III – 5 – 3 من حيث الوسط الذي تعيش فيه	93
III – 5 – 4 – من حيث التغذية	93
III – 5 – 5 من حيث طريقة التلوين	93
III – 5 – 6 من حيث الأثر على الإنسان	93
III – 5 – 6 – 1 Esherichia coli	94

III – 5 – 6 Staphylococcus aureus	95
III – 5 – 6 – 3– pseudomonas aeruginosa	95
III – 6 المضادات الحيوية :	97
III – 6 – 1 – تعريف المضادات الحيوية	97
III – 6 – 2 – من الناحية التاريخية	97
III – 6 – 3 – أنواع المضادات الحيوية	98
III – 6 – 3 – 1 مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية	98
III – 6 – 3 – 2 مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية	98
III – 6 – 4 تأثير المضادات الحيوية	98
III – 6 – 4 – 1 العمل على الجدار الخارجي للبكتيريا	98
III – 6 – 4 – 2 العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا	98
III – 6 – 4– 3 العمل على تثبيط نموADN	99
III – 6 – 5 – طريقة تحديد درجة حساسية المضادات الحيوية	99
III – 6 – 5 – 1 تمهيد	99
III – 6 – 5 – 2 – خواص الجذمة البكتيرية	99
III – 6 – 6 حساسية الميكروب	99
III– 6 – 6 – 1 دراسة فعالية المضاد الميكروبي	100
III – 6 – 6 – 2 طريقة الأنتيبيوغرام القياسي	100
III– 6 – 6 – 2 – 1 – طريقة التمديد	100
III – 6 – 6 – 2 –2 – طريقة الانتشار	100
III– 6 – 6 – 3 طريقة الأنتيبوغرام الآلي	101
III – 6 – 6 – 3 –1– قراءة النتائج	101
الباب الثاني : الجانب العملي	
III– 1 – دراسة الفعالية البيولوجية	103
III –1 – 1·العزلة البكتيرية	103
III– 1–2·تحضير الاقراص	103
III–1 –3·تحضيرالمعلق البكتيري	103
III–1–4·الزرع والحضن	103
III – 1–5– قراءة النتائج :	104
III – 1–6– المكـروبات المختبـرة	104
III–2– دراسة نوعية للفاعلية البيولوجية لمستخلص نباتي ضد البكتيريا بطريقة الانتشار	105

III-2-1-في وسط صلب	105
- طريقة العمل	105
III-2-2- تحضير الطبقة الأولى من الوسط الزراعي	105
III-2-3- تحضير المعلق البكتيري	105
III-2-4- تحضير الطبقة الثانية من الوسط الزراعي	105
III-2-5- وضع الأقراص	106
III-2-6- قراءة النتائج	106
III-2-7- نتائج و مناقشة	106
III-2-8- النتائج و المناقشة	108
III-2-9- تحديد أدنى تركيز للتثبيط CMI في وسط صلب	114
III-2-9-1- طريقة العمل	114
III-2-9-2- قراءة النتائج	114
III-2-10- النتائج	114
III-2-11- - تفسير النتائج	114
المراجع	116

الإهداء

أهدي ثمرة هذا العمل إلى اللذين كانا سببا في وجودي وأوصى الله بهما إحسانا والدي الكريمين أطال الله في عمرهما وإلى الذين تقر بهم الأعين زوجتي و أولادي الأوفياء وإلى طلبتي الكرام وإلى كل الإخوة الأعزاء وكل الأصدقاء من قريب أو بعيد وكل محب للغة الضاد.

كلمـة شكـر

الحمد لله رب العالمين و الصلاة و السلام على رسول الله .
أشكر الله الذي وفقني و هيأ لي الظروف والذي مكنني من إنجاز هذه الأطروحة.
– أتقدم بجزيل الشكر والتقدير و العرفان إلى أستاذي الفاضل الأستاذ الدكتور سعيدي مختار أستاذ تعليم عال بجامعة ورقلة على قبوله الإشراف على هذه المذكرة و على توجيهاته و نصائحه و مساعدته لي خلال مراحل إنجاز هذه الأطروحة .
– كما أتوجه بالشكر الخالص إلى أستاذي يوسفي محمد ، أستاذ تعليم عال بجامعة الاغواط

على قبوله الإشراف كمؤطر مساعد وعلى كل المساعدات المقدمة و النصائح القيمة .

– كما يسرني أن أتقدم بجزيل الشكر و التقدير إلى الاستاذ الدكتور حجاج محمد أستاذ تعليم عال بجامعة ورقلة على قبوله ترأس لجنة المناقشة .
– كما أتوجه بالشكر الخالص إلى أستاذي وهراني محمد رضا، أستاذ تعليم عال بجامعة الوادي

على قبوله المشاركة في لجنة المناقشة .

– كما أتوجه بالشكر إلى الدكتور لحرش مختار أستاذ تعليم عال بجامعة الجلفة على قبوله المشاركة في لجنة المناقشة .
–كما أتوجه بالشكر الخالص إلى الأستاذ الفاضل دندوقي حسين على كل المساعدات و النصائح القيمة.
–كما أتوجه بالشكر الخالص إلى الاستاذ موساوي ياسين أستاذ محاضر –أ– بجامعة ورقلة على كل المساعدات المقدمة.
–كما أتوجه بالشكر الخالص إلى الاستاذ نذير قورين أستاذ محاضر –أ– بجامعة الاغواط على كل المساعدات المقدمة.

قائمة المخططات

المخطط	الصفحة
المخطط (1): العلاقة بين الأيض الأولي و الثانوي	04
مخطط(2) مراحل الإستخلاص للنبتة	23
المخطط رقم(3) رسم تخطيطي يوضح مصدر مختلف الجذور الحرة المؤكسدة و أنماط تفاعلات الأكسجين المطبقة بيولوجيا	60
المخطط (4) تصنيف البكتريا	92

قائمة الاشكال

الشكل	الصفحة
شكل(1) GC/MS كروماتوغرافيا الزيت الاساسي للبردقوشOriganum Majorana L	30
شكل(2) GC/MS كروماتوغرافيا الزيت الاساسي الاذخر Cymbopogon Schoenanthus	30
شكل(3) اهم العائلات المكونة للزيت الاساسي لزيت الاذخر Schoenanthus Cymbopogon	32
شكل (4) اهم العائلات المكونة للزيت الاساسي لزيت البردقوش Origanum Majoran L	32
شكل (5)الرسم الكروماتوغرافي لزيت Origanum majorana L لشهراكتوبر بواسطة كروماتوغرافيا CPG	41
(6)شكل الرسم الكروماتوغرافي لزيت Origanum majorana L لشهرجانفي بواسطة كروماتوغرافيا CPG	42
(7)الشكل الرسم الكروماتوغرافي لزيت Cymbopogon schoenanthusلشهراكتوبر بواسطة كروماتوغرافيا CPG	43
(8)الشكل الرسم الكروماتوغرافي لزيت Cymbopogon schoenanthus لشهرجانفي بواسطة كروماتوغرافيا CPG	44
الشكل(9) الرسم الكروماتوغرافي لزيت Cymbopogon schoenanthus لشهرجوان بواسطة كروماتوغرافيا CPG	45
شكل (10)المنحنى العياري لحمض الغاليك	47
شكل (11)المنحنى العياري للكرستين	48
شكل (12)علاقة كمية الفينولات الكلية و الفلافونيدات لنبتة الاذخر مع اشهر القطف	51
شكل (13)علاقة كمية الفينولات الكلية و الفلافونيدات لنبتة البردقوش مع اشهر القطف	
الشكل رقم (14) : جزئية DPPH	62

الشكل (15) : معادلة تثبيط جدر DPPH في وجود مضادات الجذور الحرة	63
الشكل (16) : جزيئية TPTZ Fe+3	64
الشكل (17) منحنى DPPH لحمض الأسكوربيك (Vc)	66
الشكل (18) منحنى اختبار DPPH لمستخلص البيوتانول لنبتة البردقوش	67
الشكل (19) منحنى اختبار DPPH لمستخلص البيوتانول لنبتة الاذخر	67
الشكل (20) منحنى إختبار DPPH للطوكوفيرول (VE)	68
الشكل (21) منحنى إختبار BHT للـDPPH	68
الشكل (22) منحنى إختبار BHA للـDPPH	68
الشكل (23) منحنى إختبار DPPH لزيت البردقوش	69
الشكل (24) منحنى إختبار DPPH لزيت الاذخر	69
الشكل (25)التمثيل البياني لـ قيم IC50 للمستخلصات المدروسة خلال مارس	71
الشكل (26) التمثيل البياني لقيم IC50 للمستخلصات المدروسة خلال جوان	72
الشكل (27) التمثيل البياني لـ قيم IC50 للمستخلصات المدروسة خلال جانفي	72
الشكل (28) التمثيل البياني لـ قيم IC50 للمستخلصات المدروسة خلال اكتوبر	73
الشكل (29)التمثيل البياني لـ قيم IC50 للمستخلصات المدروسة خلال اشهر القطف	73
الشكل (30) المنحنى العياري لحمض الاسكوربيك بطريق الـ FRAP	75
الشكل (31) منحنى أثر القوة الاختزالية لمستخلص البيوتانول للاذخر	75
الشكل (32) منحنى أثر القوة الاختزالية لمستخلص البيوتانول للبردقوش	76
الشكل (33) منحنى أثر القوة الاختزالية لزيت الاذخر	76
الشكل (34) منحنى أثر القوة الاختزالية لزيت للبردقوش	77
الشكل (35)التمثيل البياني لـ قيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر جوان	79
الشكل (36)التمثيل البياني لقيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر مارس	80
الشكل (37)التمثيل البياني لقيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر جانفي	80
الشكل (38) التمثيل البياني لقيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر اكتوبر	81
الشكل (39)التمثيل البياني لقيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال اشهر القطف	81
الشكل (40) المنحنى العياري لحمض الاسكوربيك بطريقة موليبدلت الفوسفات الـ (MP)	82
الشكل (41) المنحنى العياري لـ BHT بطريقة موليبدلت الفوسفات الـ (MP)	83
الشكل (42) المنحنى العياري لـ BHA بطريقة موليبدلت الفوسفات الـ (MP)	83
الشكل (43)التمثيل البياني لـ قيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر جوان	85
الشكل (44)التمثيل البياني لـ قيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر مارس	86
الشكل (45)التمثيل البياني لـ قيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر جانفي	86

الشكل (46)التمثيل البياني لـ قيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر اكتوبر	87
الشكل (47)التمثيل البياني لـ قيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال اشهر القطف	87
الشكل (48) : بنية الخلية البكتيرية	91
الشكل رقم (49) : Esherichiacoli ملاحظة بالميكروسكوب الإلكتروني	94
الشكل رقم (50) : Staphylococcus aureus ملاحظة بالمكروسكوب الإلكتروني	95
الشكل رقم (51) : pseudomonas aeruginosa ملاحظة بالمكروسكوب	95
الشكل رقم (52) : فعالية البينيسيلين ضد بكتيرياStaphylococcus aureus	97
الشكل رقم (53) : الأنتيبيوغرام بعد الحضن و طريقة قياس قطر منطقة التثبيط	101
الشكل رقم (54) : أنواع القراءات الممكنة	101
الشكل رقم (55) : فئات الفعالية حسب تركيز المضاد الحيوي	102
الشكل (56) تغير قطر الانتشار للمستخلصات المدروسة لشهر مار**س**	107
الشكل (57)التمثيل البياني لتغير قطر الانتشار للمستخلص المدروسة لانواع البكتريا المستعملة لشهر مارس	108
الشكل (58) التمثيل البياني لتغير قطر انتشار مستخلص البيوتانول لنبتة البردقوش لانواع البكتريا المستعملة	112
الشكل (59)التمثيل البياني لتغير قطر انتشار مستخلص الزيت الاساسي لنبتة البردقوش لأنواع البكتريا المستعملة	112
الشكل (60)التمثيل البياني لتغير قطر انتشار مستخلص البيوتانول لنبتة الاذخر لانواع البكتريا المستعملة	113
الشكل (61)التمثيل البياني لتغير قطر انتشار مستخلص الزيت الاساسي لنبتة الاذخر لانواع البكتريا المستعملة	113

قائمة الجداول

الجدول	الصفحة
الجدول (1) تقسيم التربينات	03
الجدول (2):التصنيف العلمي النظامي لنبتة البردقوش	10
الجدول (3):التصنيف العلمي النظامي لنبتة الإذخر	13
الجدول(4) نتائج الإختبارات الكيميائية الأولية	20
الجدول(5):نتائج الإستخلاص للاطوار الثلاثة	22
جدول (6) علاقة اشهر القطف لنبتة الاذخر بمردود مستخلصات الاطوار المستعملة	24
جدول (7) علاقة اشهر القطف لنبتة البر دقوش بمردود مستخلصات الاطوار المستعملة	24
جدول (8) الثوابت الفيزيائية للزيتين	27

جدول (9) تغير الثوابت الفيزيائية و الكيميائية لزيت البردقوش خلال اشهر القطف	28
جدول (10) تغير الثوابت الفيزيائية و الكيميائية لزيت الاذخر خلال اشهر القطف	28
جدول(11) المكونات النصف كمية للزيت الاساسي لنبتة الاذخر Cymbopogon Schoenanthus	31
جدول(12) المكونات النصف كمية للزيت الاساسي لنبتة البردقوش Origanum Majorana L	33
جدول (13) خصائص جهازCPG	34
الجدول (14) المركبات المحتملة في زيت Origanum majorana L لشهراكتوبر بواسطة كروماتوغرافيا CPG	35
الجدول(15) المركبات المحتملة في زيت Origanum majorana L لشهر جانفي بواسطة كروماتوغرافيا CPG	36
الجدول(16) المركبات المحتملة في زيت Cymbopogon schoenanthus لشهر اكتوبر بواسطة كروماتوغرافيا CPG	37
جدول (17) المركبات المحتملة في زيت Cymbopogon schoenanthus لشهرجانفي بواسطة كروماتوغرافيا CPG	38
جدول(18) المركبات المحتملة في زيت Cymbopogon schoenanthus لشهرجوان بواسطة كروماتوغرافيا CPG	39
جدول(19) كمية المركبات الفينوليةالكيلية و الفلافونويدا ت لمستخلص البيوتانول لنبتة الاذخر	50
جدول (20) كمية المركبات الفينوليةالكيلية و الفلافونويدات لمستخلص البيوتانول لنبتة البردقوش	51
الجدول(21) قيم للمستخلصات المدروسةIC50	69
الجدول (22) قيم IC50 للمستخلصات المدروسة خلال اشهر القطف	71
الجدول (23) قيم AEAC للمستخلصات المدروسة	78
جدول(24) تغير قيم AEAC بتغير اشهر القطف	79
الجدول (25) قيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر جوان	84
الجدول (26) قيمAEAC للمستخلصات المدروسة خلال اشهر القطف	85
جدول (27): الامراض الناتجة عن السلالات الميكروبية قيد الدراسة	96
الجدول رقم (28): المكروبات المختبرة ونوع الـgram	104
جدول: (29) تغير قطر الانتشار للمستخلصات المدروسة لشهر مارس	106
الجدول (30) تغير قطر ا لتثبيط للمستخلصات المدروسة لشهر جانفي	109
الجدول (31) تغير قطر ا لتثبيط للمستخلصات المدروسة لشهر اكتوبر	109
الجدول (32) تغير قطر ا لتثبيط للمستخلصات المدروسة لشهر جوان	110
الجدول (33) قيم CMI لكل المستخلصات المدروسة على البكتيريا المختبرة	114

قائمـة الرمــوز

A	**الإمتصاصية الضوئيـة**
Acid gallique	**حمض الغاليك**
AEAC	**القدرة المكافئة لحمض الاسكوربيك المضادة للأكسدة**
BCP	**Gelose lactosee au pourpre de Bromocresol**
CMB	**التركيز الأدنى القاتل للبكتيريا**
CMI	**التركيز الأدنى للتثبيط**
DPPH	**الجذر الحر ل ثنائي فينيل بيكريل هايدرازيل**
Extrait n –Butanol Cymbopogon	**مستخلص ن–بيوتانول للاذخر**
DW	**الوزن الجاف**
Extrait n –Butanol Origanum	**مستخلص ن–بيوتانول للبردقوش**
FRAP	**قدرة اختزال الحديد المضاد للأكسدة**
HE de Cymbogopogn	**الزيت الاساسي الاذخر**
HE d' Origanum	**الزيت الاساسي البردقوش**
I %	**النسبة المئوية للتثبيـط**
IC_{50}	**تركيز المستخلص للقضاء على 50% من الجذور الحرة**
IK	**معامل كوفاتس**
MCF	**وحدة تركيز البكتيريا تعادل ($10^8 - 10^7$) بكتيريا / مل**
MH	**Muler–Hinton**
MP	**موليبدات الفوسفات**
TPTZ	**2,4,6–tripyridyl – s–triazine**
UFC	**وحدة تشكل مستعمرة Unité Farmont Colonnie**
UV-V	**الأشعـة الفوق البنفسجيـة – المرئيـة**
V_C	**حمض الأسكوربيك (الفيتامين C)**
V_E	**طوكوفيـرول (الفيتامين E)**
λ max	**طول الموجة الأعظمي**

الملخص

في هذا العمل ركزنا على استخلاص الزيوت الاساسية و المركبات الفينولية لنبتتين طبيتين هما البردقوش و الاذخر (تم قطفهما من منطقة تبسة خلال العام 2013−2014)،استخلاص الزيوت الاساسية كان بطريقة التقطير المائي،امااستخلاص المركبات الفينولية كان بطريقة النقع.تم استعمال مطيافية GC/MS لتحديد مكونات الزيوت الاساسية.بينما استعملت الطريقة اللونية باستعمال الاشعة فوق البنفسجية المرئية لتحديدالمركبات الفينولية. نتائج تحليل مطيافية GC/MS بينت ان *p*−Menth−1−èn−4−ol و6−isopropyl−1−méthyl−2−cyclohexèn−1−ol هما المركبان الرئيسيان للبردقوش و الاذخر على الترتيب إضافة إلى استعمال مطيافية CPG. تم تقييم كذالك النشاط المضاد للاكسدة للزيوت الاساسةوكذا المركبات الفينولية باستخدام ثلاث طرق هي ,، FRAP،DPPH وMP ، كم تم تقييم النشاط المضاد للبكترياللزيوت الاساسةوكذا المركبات الفينولية(مستخلص ن−بيوتانول) لعدد من البكتريا. .نتائج اختبار النشاط المضاد للبكتريا اظهرت نتائج واضحة للزيوت الاساسية تجاه البكتريا المستعملة .

الكلمات الدالة :GC/MS ،الزيت الاساسي،البردقوش ،الاذخر،التقطير المائي،المركبات الفينولية،النشاط المضاد للاكسدة و النشاط المضاد للبكتريا.تبسة

Abstract

This study is focused in extraction of essential oils and polyphenolic compounds of two medicinal plants, namely: Origanum Majorana L and Cymbopogon choenanthus (collected at the region of Tebbessa during the year of 2013-2014).The extraction by steam distillation was used to extract the essential oils, while the maceration method was applied to the polyphenolic compound. The gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS) was used for the identification of two essential oil composition. However, the method for colorimetric determination by UV-visible was used for polyphenolic compounds .The results of the GC/MS analysis showed that the *p*-Menth-1-en-4-ol and 6-isopropyl-1-methyl-2-cyclohexen-1-ol are the most abundant compounds for Origanum Majorana L and Cymbopogon Schoenanthus respectively and CPG spectrometry used too.

We also studied the antioxidant activity of the two essential oils and polyphenolic compounds by three methods which are: method DPPH, FRAP and MP.We also evaluated the antimicrobial activity of the two essential oils (fraction extracted by *n*-butanol), where several types of bacteria were tested.

The results of antimicrobial Test showed remarkable effectiveness of the two essential oils for the tested bacteria.

Key words : GC/MS, essential oils, Origanum Majorana L, Cymbopogon choenanthus, Hydrodistillation, polyphenolic compounds, antioxidant activity, antimicrobial activity, Tebbessa.

مقدمة عامة

يشهد العالم في السنوات الأخيرة إهتماما متعاظما بالنباتات الطبية و التي تعتبر مصدرا طبيعيا للمعالجة على شكل مستحضرات تقليدية أو مواد فعالة نقية، و هي تمتاز عن الأدوية الكيميائية بفعاليتها العلاجية العالية و كذلك قلة تأثيراتها الجانبية ، و في كل عام تكتشف الهيئات المعنية بالصحة و الدواء أن دواء كيميائيا متداولا لعدة سنوات أصبح يمثل خطرا على متناوليه ، تبادر بإبلاغ الدول المختلفة للتوقف عن استعماله . فالنباتات الطبية تحتل مكانة مميزة في الإنتاج الصناعي و تخص في الوقت الراهن بعناية بالغة . إذ تعتبر أهم المواد الإستراتيجية في صناعة الأدوية أو بالأحرى النواة البادئة في الاصطناع الكيميائي للأدوية . و عليه انصب التفكير العلمي الحالي في العلاج باستعمال التداوي بالنباتات الطبية بشعار جديد هو العودة إلى الطبيعة [1].

ان الجزائر بلد يطل على البحر الأبيض المتوسط ، وهو من بين بلدان المغرب العربي ، نظرا لما تزخر به بلادنا من نباتات متنوعة – لاسيما منها الطبية – موزعة على بيئات مختلفة و مناخات متباينة و تضاريس عدة ، لكل منها صفاتها و خصائصها . فهو يمتد جنوبا في العمق الصحراوي ، فهو واسع المساحة ، متعدد المناخات : بحرية ، قارية ، صحراوية . يجمع بذلك بين الحرارة و البرودة و بين الرطوبة و الجفاف ، كما أن تربته متنوعة في عمومها ، ولا شك لهذا التنوع في المناخ و التربة الأثر البالغ في اختلاف الغطاء النباتي الطبيعي من منطقة لأخرى ، و هذا ما جعل الجزائر تزخر بأنواع شتى من النباتات الطبية و بما لا يقل عن 3500 نوع ، منها ما يعود الى المناخات الحارة ومنها ما يعود إلى المناخات المعتدلة ، و أن من بين هذا العدد منها حوالي 1900 نوع يمكن العثور عليه في اسبانيا وما يقارب 1500 نوع في ايطاليا و أخرى لا يمكن العثور عليها إلا في البلدان الصحراوية وأخرى أصلية لا يمكن أن نجدها الا في بلدان شمال افريقيا بل هناك أنواع نباتية لا تظهر الا في اماكن معدودة او محدودة للغاية في الجزائر، وا ن هناك أنواع لا زالت مدسوسة في الطبيعة لم تكتشف بعد ، اذ تحوي النباتات العديد من المواد الكيميائية العلاجية منها و غير العلاجية ، لاستعمالها كمضادات حيوية او مبيدات حشرية أو مواد حافظة للأغذية او استعمالات اخرى[1].

و باعتبار النباتات مصدرا أساسيا لصحة الإنسان ، ازداد الاهتمام بدراستها في العصر الحالي ، بل يمكن الجزم على حصول ثورة طب البديل او ما يصطلح عليه بالطب الموازي ، إذ تسارعت الأبحاث في تحديد المكونات الفعالة في النباتات لكشف تأثيرها طبيا من جهة وقيمتها في الصناعات الغذائية و غيرها من جهة اخرى.و من العوامل التي أدت إلى تنامي استخدام النباتات الطبية كبديل للمواد المصنعة كيميائيا ، انخفاض كلفتها و سهولة الحصول عليها و تحضيرها ، و خلوها من الآثار الجانبية الضارة . [2]

و هذا ما جعل النباتات الطبية تخضع لتصنيفات عديدة للتعرف عليها مورفولجيا و تشريحيا لتحديد أجناسها و أنواعها و أصنافها للاستفادة منها طبيا و اقتصاديا. ان معرفة النبتة معرفة حقيقية بوصفها

و تحديد خصائصها وضبط مميزاتها و اسمها يعد أساس البحث العلمي الصحيح ، و لا نبالغ ان قلنا ان معرفة اسم النبتة معرفة صحيحة و تمييزها عن غيرها يعد مهما للغاية . العديد من الدراسات السابقة مكنت من التعرف على كثير من المواد الفعالة وطرق الكشف عنها و كذا فصل بعض المركبات الكيميائية في الجزء الهوائي للنبتتين المدروستين، غير ان هذا العمل سنتطرق فيه الى امكانية المساهمة في انتقال المواد الفعالة في مختلف اعضاا النبات وكذا وجودها في الزيوت العطرية الناتجة من التقطير.

وعلى هذا الاساس ارتأينا أن نعرج في هذه الاطروحة على نبتتين مختلفتين تنموان فى بلدنا احدهما من الفصيلة النجيلية وهو الاذخر و الثانية من الفصيلة الشفوية وهو البردقوش. تم تقسيم هذا العمل الى ثلاث فصول كل فصل يحتوي على بابين

الفصل الاول ويضم بابين

الباب الاول: تم التطرق فيه الى الجانب النظري حول النباتات الطبية وكذا المواد الفعالة التي تحتويها هذه النباتات .

الباب الثاني : تم التطرق فيه إلى الجانب العملي للنبتتين بحيث تم استخلاص بعض االمواد الفعالة لهما ، تقدير كمية الفينولات الكلية وتقدير الفلافونيدات بالطرق اللونية المعروفة.

الفصل الثاني :و يضم بابين

الباب الاول : تم التطرق فيه الجانب النظري للخواص المضادة للاكسدة الذي يعالج مفاهيم حول الشقوق الحرة ومضادات الاكسدة

الباب الثاني : تم التطرق فيه الى الجانب العملي لخواص مضادات الاكسدة للمستخلصات المدروسة بحيث تم استعمال ثلاث طرق هي طريقة DPPH وطريقة ارجاع الحديد الثلاثيFRAP واخيرا طريقة موليبدات الفوسفات MP

الفصل الثالث وقد ادرجنا فيه بابين

الباب الاول : تم التطرق فيه الى البكتريا، خصائصها و انواعها من الجانب النظري.

الباب الثاني : تم التطرق فيه الى الجانب العملي بحيث تمت دراسة تأثير المواد الفعالة المستخلصة على بعض أصناف البكتريا المختارة.

الملخص

في هذا العمل ركزنا على استخلاص الزيوت الاساسية و المركبات الفينولية لنبتتين طبيتين هما البردقوش و الاذخر(تم قطفهما من منطقة تبسة خلال العام 2013-2014)،استخلاص الزيوت الاساسية كان بطريقة التقطير المائي،امااستخلاص المركبات الفينولية كان بطريقة النقع.تم استعمال مطيافية GC/MS لتحديد مكونات الزيتين الاساسيين.بينما استعملت الطريقة اللونية باستعمال الاشعة فوق البنفسجية المرئية لتحديد المركبات الفينولية. نتائج تحليل مطيافية GC/MS بينت ان *p*-Menth-1-èn-4-ol و6-isopropyl-1-méthyl-2-cyclohexèn-1-ol هما المركبان الرئيسيان للبردقوش و الاذخر على الترتيب. تم تقييم النشاط المضاد للاكسدة للزيتين الأساسيين وكذا المركبات الفينولية باستخدام ثلاث طرق هي،DPPH،FRAP وMP ،كما تم تقييم النشاط المضاد للبكتريا للزيتين الأساسيين وكذا المركبات الفينولية (مستخلص ن-بيوتانول) لعدد من البكتريا..نتائج اختبار النشاط المضاد للبكتريا أظهرت نتائج واضحة للزيتين الأساسيين تجاه البكتريا المستعملة .

الكلمات الدالة: GC/MS ، الزيت الاساسي، البردقوش ، الاذخر، التقطير المائي، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للاكسدة، النشاط المضاد للبكتريا، تبسة

Abstract

This study is focused in extraction of essential oils and polyphenolic compounds of two medicinal plants, namely: Origanum Majorana L and Cymbopogon choenanthus (collected at the region of Tebbessa during the year of 2013-2014).The extraction by steam distillation was used to extract the essential oils, while the maceration method was applied to the polyphenolic compound. The gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS) was used for the identification of two essential oil composition. However, the method for colorimetric determination by UV-visible was used for polyphenolic compounds .The results of the GC/MS analysis showed that the *p*-Menth-1-en-4-ol and 6-isopropyl-1-methyl-2-cyclohexen-1-ol are the most abundant compounds for Origanum Majorana L and Cymbopogon Schoenanthus respectively.

We also studied the antioxidant activity of the two essential oils and polyphenolic compounds by three methods which are: method DPPH, FRAP and MP.We also evaluated the antimicrobial activity of the two essential oils (fraction extracted by *n*-butanol), where several types of bacteria were tested.

The results of antimicrobial Test showed remarkable effectiveness of the two essential oils for the tested bacteria.

Key words : GC/MS, essential oils, Origanum Majorana L, Cymbopogon choenanthus, Hydrodistillation, polyphenolic compounds, antioxidant activity, antimicrobial activity, Tebbessa.

الفصل الأول

النباتات الطبية والمنتجات الطبيعية

الباب الاول

الجانب النظري

I- 1- النباتات الطبية:

I - 1- 1- تعريف النباتات الطبية:

هناك العديد من التعاريف للنباتات الطبية فمنها ما يعتبر نباتا طبيا إذا أمتلك عضو على الأقل من أعضائه خصائص علاجية [1] و منها ما يعرف بالنبات الطبي على أنه النبات الذي يحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه المختلفة على مادة كيميائية فعالة واحدة أو أكثر بتراكيز منخفضة أو مرتفعة، ولها القدرة الفيزيولوجية على معالجة مرض معين أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض إذا أعطيت للمريض في صورتها النقية أو في صورة عشب نباتي طازج أو مجفف أو مستخلص جزئيا [2]. النباتات الطبية لها القدرة على إنتاج نوع أو عدة أنواع من المواد الفعالة، وهذا لا يعني أن كل ما تنتجه النبتة هي مواد فعالة، بل هناك مواد غير فعالة وليس لها تأثير طبي مثل: السيليلوز ومعظم مكونات خلايا النبات.

إن احتواء النباتات الطبية على عدد كبير من المواد الفعالة طبيا تعكس الامكانيات العلاجية لها،من المعلوم أن بعض العقاقيرالنباتية تمتلك قدرة علاجية تفوق تلك التي تمتلكها المواد المصنعة، إذا عين نبات على أنه نبات طبي، فإنه يدرج ضمن الدساتير الدوائية (Pharmacopia) لكن هذه الأخيرة يمكن أن تضمن نباتات ليست طبية إلا أنها مستعملة في الصيدلية [3].

I- 1- 2- أهمية النباتات الطبية

إن للنباتات الطبية أهمية كبيرة للإنسان و الحيوان وهذا لاحتوائها على المواد الفعالة التي تنتجها –مواد كيميائية– و هذا باعتبار النباتات الطبية مصدرا من المصادر الاساسية لصحة الانسان و الحيوان وهذا لتأثيرها الفيزيولوجي ونشاطها الدوائي على أعضاء الجسم البشري والحيواني.

I- 1- 3- دراسة النباتات الطبية :

إن إستعمال النباتات الطبية في الوهلة الأولى كان تقليديا، إذا كانت في البداية نتيجة لمراقبة بعض الحيوانات لتناولها بعض الأعشاب التي كانت تداوي بعض الأمراض ثم بعد ذلك استعمله الإنسان بصفة تقليدية لنفس السبب، بعدها اصبح التداوي أو العلاج بالنباتات الطبية يتم بوصفة تقليدية محددة. أما في الوقت الحالي فإن استخدام النباتات الطبية في العلاج يتم وفق منهج علمي بحت، بحيث يتم في البداية استخلاص المواد الفعالة الموجودة فيها ثم تنقيتها ثم فصل مكوناتها من بعضها البعض ثم تتبع بدراسة خواص المادة وصفاتها الكيميائية وتعين التركيب البنائي، مع إجراء بحوث معمقة لدراسة التأثيرات السمية والعلاجية والجرعات المسوح بها ودواعي استعمالاتها من عدمه كما يمكن استخدام بعض المكونات الطبيعية كمواد أولية في تحضير بعض المواد الطبية [1].

I- 2- المنتجات الطبيعية:

I- 2- 1- تعريف المنتجات الطبيعية:

تعتبر المنتجات الطبيعية تلك المركبات العضوية التي تنتجها الكائنات الحية في النباتات الطبية في كامل فروعها(الجذور- السيقان – الأوراق) و أكثر هذه المكونات أهمية هي تلك التي تؤدي دورا في التفاعلات الإستقلاب، والتي يتم فصلها من النباتات والكائنات الحية الدقيقة [4].

I- 2- 2- تصنيف المنتجات الطبيعية:

تصنف المنتجات الطبيعية إلى قسمين كبيرين:

القسم الأول: مركبات داخلة في التفاعلات الأولية وتشير في الغالب إلى العمليات الإيضية الأساسية (Métabolites Primaire Les) التي ينتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة والأحماض الأمينية، السكريات، الدهون، والبروتينات و الأحماض النووية.

وتعتبر مركبات هذا القسم هي المواد البادئة لمركبات تؤلف في مجملها القسم الثاني المتمثلة في مركبات الأيض الثانوي (Métabolite Secondaire).وهناك ثلاث مواد رئيسية: حمض الشيكميك، الأسيتات، والأحماض الأمينية، تعتبر وحدات البناء للأيض الثانوية وتقسم منتجات الأيض الثانوي في حد ذاتها إلى أصناف مختلفة لتسهيل دراستها، إلا أن الطريقة المتبعة في تقسيمها تختلف من مصدر لآخر.

فقد تصنف أحيانا وفقا للمصادر الطبيعية التي تنتج منها، وتصنف أحيانا أخرى لتأثيراتها الفيزيولوجية (إذ يستخدم بعضها كمضادات حيوية، وبعضها مضادات جرثومية و البعض الآخر مسكن للآلام)، كما قد تصنف وهي أكثر الحالات شيوعا تبعا لتركيبها البنائي أو على الأقل دراستها على هيئة مجموعات، حيث تصنف إلى:

- التربينات و مشتقاتها.
- المركبات الفينولية.
- القلويدات وأشباهها.
- المضادات الحيوية والفيتامينات.

وبالرغم مما تقدم العديد من المركبات المستخلصة من مصادرها الطبيعية من فوائد عظيمة للإنسان، إلا أن دورها في النبات لم يكن محددا من قبل، غير أنه في السنوات الأخيرة تبين أن من ضمن وظائفها تأمين العيش لكائن حي معين في ظروف حياتية قاسية [3].

- كما تعتبر منتجات الأيض الثانوي ذات خصائص علاجية متنوعة إذ تؤدي دورا كبيرا في ميدان الطب والصيدلة، لما لها من تأثيرات فيزيولوجية على الكائن الحي سيما الإنسان وتواجدها في النباتات يكسبها تصنيفا خاصا على أنها نباتات طبية ولعلى أهم الخطوات العملية التي يتعرض لها الدارس في حقل المنتجات الطبيعية يمكن حصرها في:

– كيفية الحصول على هذه المنتجات واستخلاصها من مصادرها الطبيعية.

– كيفية فصل هذه المكونات الطبيعية بعضها عن بعض، بغية الحصول على مركبات نقية.

– كيفية التعرف على التركيب البنائي للمركبات النقية بإستخدام الطرق الفيزيائية والكيميائية (درجة الغليان، قياس الفعالية الضوئية وإجراء بعض التفاعلات في تحديد هوية المجموعات الفعالة التي يحتويها المركب الطبيعي) وكذا طرق التحليل الطبيعي.

– الطرق التي تتكون بواسطتها المركبات الطبيعية داخل مصادرها الطبيعية أي عملية الإصطناع الحيوي [5].

I– 3– المواد الفعالـة :

تعتبر المكونات الكيميائية الفعالة للنباتات الطبية من عمليات ما بعد عملية التمثيل الضوئي المباشر كالغلوسيدات الثابتة أو غير المباشرة والزيوت الطيارة وغيرها، وتبعا لفاعليتها العلاجية لكثير من الأمراض وسرعة شفائها وإزالة أعراضها لذلك تسمى هذه المنتجات بالمواد الفعالة Active Ingredients وأهم هذه المواد هي:

I- 3– 1– التربينات Les Terpenes :

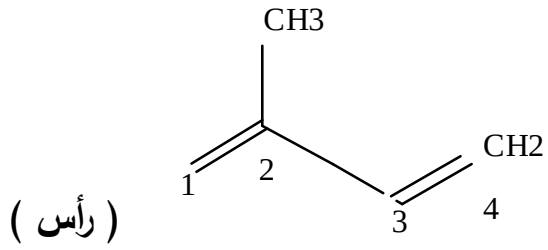
التربينات هي مركبات هيدرو كربونية الوحدة البنائية لها هي الايزوبرين Isoprène (C_5H_8) ذات 5 ذرات كربون وهي: ناتجة عن تجمع من وحدات الـ Isoprène [6]

وحسب هذه القاعدة تقسم التربينات حسب ما ذكره (Guignard) حسب الجدول الموضح أدناه إلى:

عدد ذرات الكربون	إسم التربين	وحدات الايزوبرين
10	أحادي الترابين Mono Terpènes	2
15	سيسكوتربينات Sesqui Terpènes	3
20	ثنائي التربين Diterpénes	4
30	الثلاثي التربين Tri terpènes	6
40	رباعي التربين Tétra terpènes	8
أكبر من 40	متعدد التربين Poly terpènes	أكبر من 8

الجدول (1) تقسيم التربينات

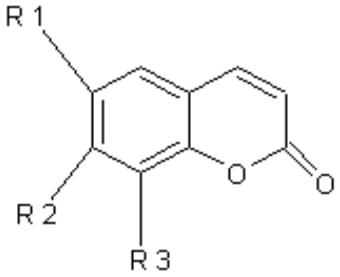
في أوائل القرن العشرين تمكن Ruzicka من إكتشاف الوحدة الأساسية لبناء التربينات و هي الإيزوبران Isoprène كما هو مبين أدناه.



Isopréne

I- 3- 2- الكومارينات Les Coumarines:

تتشكل الكومارينات أساسا من الحقيل النباتي ذي البنية C6-C3- إذ تمثل السلسلة من C3 حلقة أكسجينية غير متجانسة [7].

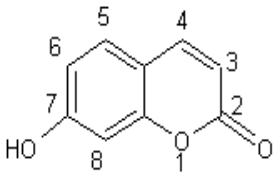


بنية الكومارينات

واشتقت هذه التسمية من النبات الذي فصل منه أول مرة وهو Dipterix odorata wild من قبل الباحث Vogel عام 1820 [8]. تتواجد الكومارينات بوفرة في بعض فصائل ثنائيات الفلقة مثل الفصيلة الخيمية Umbelliferae السذبية .Rutaceae البقولية .Fabaceae المركبةCompositae. والباذنجانية Solanaceae كما تتواجد بشكل محدود في أحاديات الفلقة لاسيما الفصيلة النجيلية Gramineae[9]، ويعتبر الـ Ombelliferone المركب الأم لكومارينات، تكون في الطبيعة على هيئة حرة أو جيكوسيدية أو مرتبطة ببعض أنواع التربينات مثل السسكوتربينات .يتم التحضير الحيوي للكومارينات انطلاقا من الحمض الأميني Phenylanine مع حمض-P Coumaric acid [10].

ويمكن لهيدركسيلات الكومارينات البسيطة أن تكون ميثيلية methylés وقد تكون إحداهما رابطة إتيروزدية و الكومارينات هي المسؤولة عن الرائحة الموجودة في الحشيش (grasse):

بعض الأمثلة عن الكومارينات



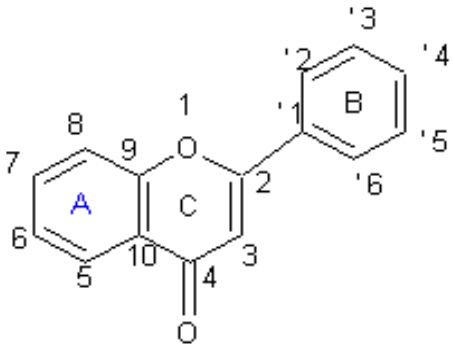
Coumarine (Benzo - α - Pyrones)

الجذور	R 1	R 2	R 3
Ombelliferone	H	OH	H
Hemiairine	H	OCH 3	H
Esculétol	OH	OH	H
Scopelétol	OCH 3	OH	H
Fraxétol	OCH 3	OH	OH

I- 3- 3- الفلافونيدات les Flavonoïdes:

تتشكل أساسا من العنصر ذي البنية C6-C3-C6_موزعة على ثلاث حلقات تدعى بالفلافون Flavone، والذي يعتبر المركب الأم للفلافونيدات[5].

وصيغته الكيميائية هي:



FLAVONE (pheny - 1,2 - chromone)

اشتقت كلمة الفلانويد من الكلمة اللاتينية flavus والتي تعني اللون الأصفر و الفلافونيدات تمثل غالبا المركبات المسؤولة عن اللون الأصفر المميز للأزهار، الثمار وأحيانا الأوراق[11]. تتواجد هذه المواد ألتي تشمل قسما كبيرا من نواتج الأيض الثانوي في النباتات الراقية حسب ماذكره – Harborne 1973– بصورة أكبر في الأجزاء الهوائية خاصة الأزهار الأوراق وذلك بشكل إيتروزيدات [12] ويضيف Markam [7]، على أن الفلافونيدات بالمعنى العام هي شبه أصباغ مسؤولة عن وجود الألوان في الأزهار والفواكه وأحيانا الأوراق، و تصنع الفلافونيدات في الكلوروبلاست

(Chloroplaste)، وذلك من خلال مركب Cinnamoyl CoA الذي يأتي من الشبكة الأندوبلازمية (endoplasmique) من الملونات (malonate)، بعض الفلافونيدات تغادر البلاستيدات وتخزن في الفجوات مثل الإثروزيدية و الأجليكونية تخزن في السيتوبلازم [8]. تذوب في الماء تتمركز في حوصلة الخلية ،أما التي تذوب في المذيبات غير القطبية مثل عديدة الميتوكسيل تتواجد في سيتوبلازم الخلية. تشتق بنية الفلافونويدات من مركب الفلافان Flavane، ويتم التحضير الحيوي لها انطلاقا من مسلك Acetate أو Shikimate [13]

ومن أهم فوائدها:-

1.- الفعل الجاذ ب : تعمل على جذب الكائنات بواسطة اللون، الذوق والرائحة.

2.- اللـون: خاصة لجذب الحشرات لإتمام عملية التلقيح وتوزيع البذور.

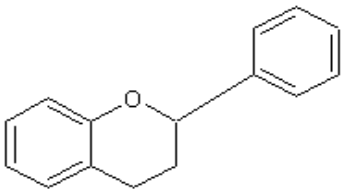
3.- الـذوق: بعض النباتات تطرد الحشرات بواسطة ذوقها غير المستساغ.

4.- الحمايـة: بعض الفلافونيدات الموجودة في الخشب الصلب لها خواص مبيدة للفطريات والبكتيريا وحتى الحشرات.

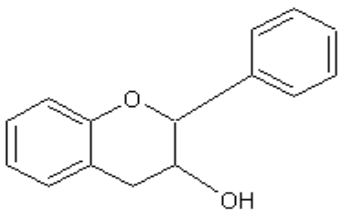
كما تلعب دور شاشة لتصفية الأشعة الشمسية، فهي تحمي النباتات من الأشعة فوق البنفسجية، خاصة الأحماض النووية.

- تصنيف الفلوفونيدات:

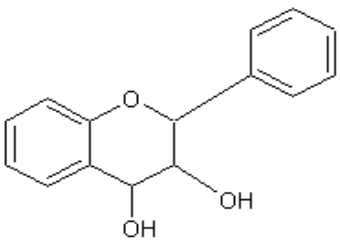
بنيويا تتفرع إلى عدة أنواع تبعا لعدد، مواضع و طبيعة المستبدلات التي تكون في أغلب الأحيان عبارة عن مجموعات ميثوكسيل أو غليكوز و أمثلة عن بعض أقسام هذه المركبات .



FLAVANE



FLAVANE -3 -OL

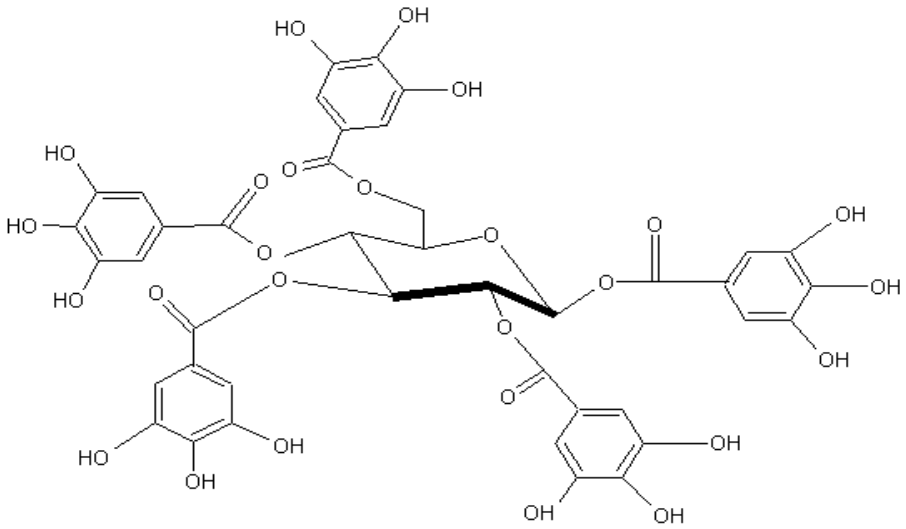


FLAVANE -3,4 -OL

I- 3- 4- التنينـات Les Tanins:

مركبات عديدة الفينولات ذات تراكيب متنوعة مثل تانين الغاليك ومذاق غير مستساغ، تستعمل في دباغة الجلود(Tanerie) ويعزى ذلك إلى قدرتها على الاتحاد بالبروتينات والتي لها خاصية تحويل جلود الحيوانات الطرية إلى جلود غير قابلة للتعفن وقليلة النفاذية، وهي ذات وزن جزيئي من 500- 3000 ولها بالإضافة الفينولات: ترسيب القلويدات (alcaloids) والجلاتين (Gelatine) والبروتينات الأخرى [14]. تنتشر بوفرة في المملكة النباتية خاصة الفصائل: Rosaeae.Myrtaceae.

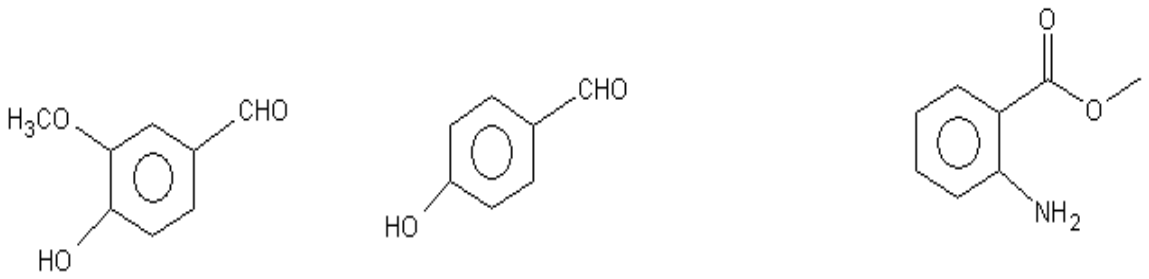
Rubiaceae. Polygniaceae تتوزع وتتراكم في كل أجزاء النبات.أماداخل الخلية تتواجد في الفجوات. قد يصل محتوي التينات إلى أعلى مستوى في النباتات مثل البلوط 70% [15].



TANIN GALLIQUE

I- 3- 5- الزيوت الطيارة L'huile essentielle:

هي عبارة عن مواد ذات روائح مميزة وتتطاير في درجات الحرارة العادية وسميت بعدة أسماء منها: الزيوت العطرية Aromatic oils نظرا لرائحتها العطرية الجميلة، والزيوت الإثيرية بـ Ethereal oils نظرا لقابليتها للذوبان في الإيثر[16].الزيوت الطيارة خليط من مواد ذات رائحة عطرية وطيارة، وهي تربينات أحادية وسيسكوتربينات، وهذه الأخيرة تؤلف ذلك الجزء من الزيت الطيار الذي له درجة الغليان أعلى [3] [4]، تتواجد الزيوت الطيارة في أكثر من ألفي نبات ومايزيد عن ستين فصيلة نباتية وقد تتواجد في جميع أجزاء النبات أوتتركز في أحد أجزائه وتختلف في نسبة تواجدها من نبات إلى آخر. .وهي عبارة عن مركبات أوكسجينية لا تذوب في الماء والكحول وأهمها هذه المركبات التي توجد بالزيوت الطيارة الالدهيدات المشتقة من أحماض بنزينية والتي تعد كزيوت طيارة [17] وهي تستخدم الزيوت الطيارة في المجالات العلاجية كمواد طاردة للديدان



Vanilline P.hydroxy benzaldehyde anthranilate méthyle

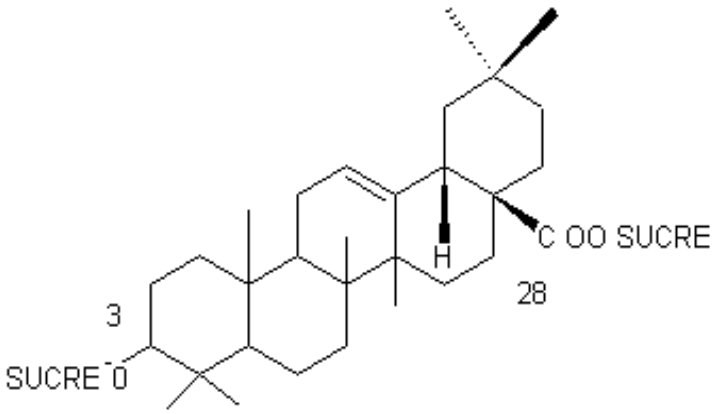
أو مدرة للبول أو مواد مطهر للأرياح والغازات المعوية والمعدية ولها تأثيرات على الجلد. وتستخدم في المجالات التغذية كتوابل أو بهارات أو مكسبات للطعم أو النكهة أو الرائحة في بعض الأغذية، أو مشروبات وتستخدم في تصنيع الروائح والعطور ومستحضرات التجميل[17].

I- 3- 6- الصابونيات Saponins :

تتواجد في النباتات أحادية الفلقة Monocotyledonae مثل الفصيلة الاماريلية Amarilidacee والاليلة Lilaceae وقليلة جدا في ثنائيات الفلقة Dicotyledonae مثل Scrophgariaceaeبينما إذاكان الGenine ثلاثي التربين تكون نادرة جدا في أحاديات الفلقة لكن تنتشر بكثرة في ثنائيات الفلقة مثل: Polygalaceae، primulaceae،carryophllaceae و rosaceae Heppocastanaceeae وهي عبارة عن تربينات ثلاثية حقيقية في صورة غليكوزيدية ويتعدد السكر ليصل من إثنين إلى عشرة مثل β -amyrine وعليه فالصابونيات ذات وزن جزئي عال وعند حلمهتها تحرر سكرا أو عدة سكريات،

(D-Fructose, D-xylose, L-arbinose, ،rhammose, D-galactose, D-glucose)

مع genie يسمى Sapogenine هذا الأخير عبارة عن نواة إستيرويدية وقليل منها يتألف من نواة ثلاثية التربين. وقد إشتق إسمها من الكلمة اليونانية sapo بمعنى صابون لأنها تعطي رغوة كثيفة إذا رجت مع الماء أو الكحولات المخففة وتستمر لمدة طويلة [18].



β - amyrine

I- 4- التعريف بعائلتي النبتتين المدروستين

I- 4-1- العائلة الشفوية (Lamiaceae)

تعتبر العائلة الشفوية من أهم النباتات التي تنتمي طائفة ثنائية الفلقة و تنقسم العائلة الشفوية الى سبع عائلات فرعية (تحت عائلة) [19]، و تتضمن العائلة الشفوية حوالي 200 جنس [20]، بما لا يقل عن 3500 نوع منتشر في أنحاء العالم [21]. معظم هذه الأنواع عطرية الرائحة ، وهي إما

حولية أو معمرة و تتميز هذه النباتات بان لها سيقان مضلعة او مربعة، الأوراق بسيطة متقابلة و متصالبة و معظم الأوراق بها الزغب، تتواجد الأزهار اما في مجموعات أو على شكل نورات عنقودية صغيرة أو سنبلية و تكون خنثى [20].تنتشر العائلة الشفوية بشكل عام في معظم دول العالم، و موطنها الأصلي حول حوض البحر الأبيض المتوسط اي في شمال أفريقيا و جنوب أوروبا تتوطن خصوصا التلال الصخرية الجافة منها، وكذلك تتواجد في الشرق الأقصى، ذكرت بعض الدراسات أن من أهم التربة التي يحبذها و يتواجد فيها نبات العائلة الشفوية بشكل عام التربة الكلسية [22].

I- 4-1-1-التصنيف العلمي النظامي لنبتة البردقوش

الجدول (2):التصنيف العلمي النظامي لنبتة البردقوش

Régne	Plantes	النباتات	**المملكة**
Branche	Angiospermae	البذريات	**الشعبة**
Division	Tracheophytes	النباتات المزهرة	**القسم**
Class	Dicotylédones vraies	ثنائيات الفلقة	**الصف**
Ordre	Lamiales	شفويات	**الرتبة**
Famille	Lamiaceae	الشفوية	**الفصيلة**
Genre	Origanum	المردقوش	**الجنس**
Espèce	*Origanum majoranaL*	الكبير	**النوع**

I- 4-1-2-الوصف المرفولوجي للنبات

البردقوش نبات عشبي معمر موطنه الأصلي حوض البحر المتوسط و شمال افريقيا و بعض مناطق غرب أسيا وجنوب أوروبا، وهو منتشر في معظم البيئات ذات الحرارة العالية والمعتدلة، وهو من فصيلة الشفويات ويصل ارتفاعه إلى 60 سم، ينمو على المنحدرات المشمسة، بالمروج والحقول والأراضي الحجرية في الأجواء الجافة، ساقه صلبة مضلعة، وتكسوها شعيرات دقيقة لونها في الأعلى أسمر ممزوج بالحمرة، والورقة بشكل اللسان، الازهار بيضاء فى شكل عناقيد فى طور اكتمال النمو تكون بذوره بنية اللون عند اكتمال نضجها ولها رائحة عطرية، و هى تزهر من نهاية يونيو و حتى أغسطس [23] الأجزاء المستعملة هي الاوراق و الازهار.

I- 4-1-3-المسح الكيميائي

يحتوي نبات البردقوش على مواد فعالة من اهمها

- التربينات Terpenes، الفلافونويدات Flavonoides، لينالوول Linalool، جرانيول Geraniol، تربينيول Terpineol، كارفاكرول Carvacrol، كامفور Camphor، اسيتات لينالیل Linalyl acetate، اوسيمين Ocimene، كادينين Cadinene، اسيتات جيرانيل Geranyl Acetate، سيترال Ciral، يوجينول Eugenol، سابينين Sabinene، تانينات Taninnes، ميرسين Myrcene، نياسين Niacin[24]، ويستخلص زيت البردقوش عن طريق التقطير بالبخار Steam distillation من الأزهار و من الاوراق الخضراء و المجففة على السواء و تعطى من 0،3 الى 5% زيت يتصف بانه له رائحة خفيفة عديم اللون الى أصفر شاحب [25].

I- 4-1-4- مجال استعماله:

يستعمل كمهضم و مدر للبول، و معرق ، مضاد للأكسدة ، مطهر للجراثيم، كما يستخدم كغرغرة لعلاج التهاب الحلق او كاستنشاق لعلاج الجيوب الانفية، و مخفض لضغط الدم.و يستعمل أيضاً كتابل للحساء و الصلصات و الأطعمة المطبوخة و فى صناعة يعض انواع الجبن و تستخدم اوراقه الجافة كبديل للشاى و الزيت الناتج من تقطير البردقوش بالبخار يستعمل فى علاج المفاصل و اورام الروماتزم اما منقوعه فيستخدم كدواء مهدئ و مصلح للمعدة و طارد للغازات و يستعمل منقوعه المغلى لتنظيم الدورة الشهرية لدى النساء اللائى يعانين من عدم انتظامها، يستعمل النبات لعلاج لسعات النحل و زيته كباسط للعضلات 'Muscle relaxant'، كما يستعمل فى صناعة العطور و الصابون و منتجات العناية بالشعر[25].

I- 4-2-العائلة النجيلية (Poaceae)

أغلب نباتات هذه الفصيلة أعشاب والقليل منها شجري، كما في أنواع البامبو، ومعظم النباتات حولي، والبعض معمر ،والسيقان غالبا أسطوانية جوفاء، ماعدا بعض النباتات كقصب السكر والذرة حيث تكون السيقان صماء، ولكثير من النجيليات سيقان أرضية. فنباتات هذه الفصيلة لها شكل مميز يطلق عليه نجيلي، وأزهارها هوائية التلقيح. تعد من أهم الفصائل النباتية من الوجهة الاقتصادية فهي تضم عددا كبيرا من نباتات المحاصيل مثل: القمح – الشعير – قصب سكر، كما تضم كثيرا من حشائش المراعي، يستعمل كثير من نباتات هذه الفصيلة في الطب [26]، فهي تتبع رتبة القبئيات من طائفة أحادية الفلقة، والنجيلية من أكثر الفصائل انتشارا وأشهرها في أحادية الفلقة من النباتات المزهرة [27]، فهي تشمل 450 جنسا، 4500 نوعا منتشرة في جميع العالم ، فيكون اختلاف الأجناس تبعا لنوع النورات وعدد السنيبلات والأزهار [26]. إن شساعة القطر الجزائري و موقعه الجغرافي وتعدد المناخات به (المناخ المتوسطي، المناخ القاري، المناخ الشبه الصحراوي، المناخ الصحراوي) قد جعلته

مكانا مناسبا لنمو العديد من الانواع و الاصناف النباتية المختلفة وهذا ما دفع بالباحثين الجزائريين لدراستها و تحليلها مكوناتها كيميائيا.

I- 4-2-1- التصنيف العلمي النظامي لنبتة الإذخر Poaceae:

الجدول (3):التصنيف العلمي النظامي لنبتة الإذخر			
Régne	Plantes	النباتات	**المملكة**
Branche	Angiospermae	مستورات البذور	**الشعبة**
Division	Tracheophytes	نباتات وعائية	**القسم**
Class	Monocotyled	أحادية الفلقة	**الصف**
Ordre	Poales	القبئيات	**الرتبة**
Famille	Poaceae	النجيلية	**الفصيلة**
Genre	Cymbopogon	الإذخر	**الجنس**
Espèce	*Cymbopogon schoenanthus*	إذخر مكي	**النوع**

I- 4-2-2-الوصف المرفولوجي للنبات :

هو نبات ينمو في شمال إفريقيا وشبه الجزيرة العربية وموطنه الأصلي الهند وجزرها الشرقية، موسمه أغلب فصول السنة [28]، وهو عبارة عن نبات عشبي معمر غليظ الأصل كثير الفروع دقيق الورق إلى حمرة صفرة وحدة [29]، فالإذخر معمر مداري آفروآسيوي يوجد بكثرة في الصحراء ،وفي الطاسيلي يوجد غالبا في مجاوي الأودية الصخرية وخاصة في المنحدرات [30]، يكون على هيئة خصلات متجمعة ويعتبر من النباتات الصحراوية من الدرجة الأولى [31]، فلاتظر رائحته إلا إذا فركتها بيدك جيدا أو أخذت من جذورها فستشم رائحتها [32]، عطري ثقيل الرائحة مر الطعم، حار، يابس [28]، جذره ريزومة قوية، وساقه قائمة كثيرة التفرع [33]، يصل طول إرتفاعه إلى حوالي 30-40 سم [34]، أوراقها نجيلية شريطية ضيقة وطويلة ملساء مدببة الأطراف [33]، حيث أنها في البداية تكون طرية ثم صلبة وتلتف على بعضها [34]، وتظهر الأزهار البيضاء فقاح الإذخر في نوراتها في شهر جوان [33]، سيقانها مزهرة ومتعددة منتصبة وطويلة، سنابلها ملونة نوعا ما بالبنفسجي ،كل النبتة وخاصة الجزء السفلي تفوح منه رائحة الورد قوية جدا عند التجفيف، أجوده أصفر مأخوذ من الحجازي ثم مصر [31]، وهو بري وليس بستاني ويأكله الإبل والماشية لذا سمي بحشيش الجمل [33]، تستخدم كل أجزائه (أوراق – سيقان – البذور) [33].

I- 4-2-3-المسح الكيميائي:

يحتوي على زيت عطري طيار المتقطر من الأوراق[29]، تصل نسبته إلى 1% يتكون معظمه من الجرانيول (Geranoil) من 75% إلى 95% حيث أن نسبة 5% إلى 11% من هذا الأخير على هيئة أثيرات مركبة من حموض خلية (Acide acetique) وكربونية (Acide carponique) [35]، زيتها يشبه lemon granoil [28]، كما يحتوي على قليلا من الألدهيدات، الديبنتان (Dipentene، آثار من الميثيل هيبتينون (Methylheptenone) والفرمول (Formol) [37]، وهو مزيج من رائحة النعناع ومادة راتنجية مرة [28]، وكما يحتوي على تانينات وعلى سترال Citral الذي يستخدم كمادة أولية في صناعة فيتامين (أ) بجانب تحويله إلى عطر الأينون، وكذالك مركب سترول Citrol كما يحتوي أيضا على الفلافونيدات [36].

I -5- الدراسات السابقة للنبتتين

لقد قام مجموعة من الباحثين بدراسة على النبتتين نذكر منها علي الذكر لا الحصر.

I- 5-1- نبتة الاذخر Cymbopogon schoenanthus:

1- KOBA. K. من الطوغو (ماي 2004) قام باستخلاص الزيت الاساسي للنبتة ودراسة تحليلية مكوناتها بواسطة HPLC بحيث وجد أن (Pipéritone بـ 68 %) هو المكون الاساسي للزيت ثم يليه (Carène 2- بـ 16.48%) وكذلك دراسة مدى تأثيره على بعض الفطريات المسببة لبعض الأمراض الناجمة من الفئران و القطط.

2- Hatil Hashim EL-Kamali من السودان (1999-2001- من مارس – اكتوبر) قام باستخلاص مواد فعالة من النبتة من طور الايثانول و دراسة فعاليتها على بعض أنواع البكتريا (Staphylococcus aureus و Bacillus subtilis و Escherichia coli و Pseudomonas) فوجد ان المستخلص المذكور له فعاليه جيدة تجاه البكتريا ذات الغرام لموجب.

3- Ayda Khadri من تونس (2006 جوان-جويلية مرحلة الإزهار) قام باستخلاص الزيت الاساسي للنبتة ودراسة تحليلية لمكوناته بواسطة GC/MS بحيث وجد ان (limonene بـ 27.3 **%**) المكون الاساسي للزيت ثم يليه (β-phellandrene بـ 16.3 %) وكذا دراسة الفعالية المضادة للاكسدة لهذا الزيت بواسطة طريقة DPPH بحيث وجد أن قيمة الـ IC50=$0.45mg.ml^{-1}$.

4- Guy Alain ALITONOU من البينين (2012 ماي) قام باستخلاص الزيت الاساسي للنبتة ودراسة تحليلية لمكوناته واسطة GC/MS بحيث وجد ان (Pipéritone بـ 68 %) هو المكون الاساسي للزيت ثم يليه (cis-p-menth-2-en-1-ol بـ 18.60%) و دراسة فعاليتها على بعض أنواع البكتريا Escherichia coli و Staphylococcus aureus.

5- Eliza Maria من البرازيل و معاونيها قاموا باستخلاص الزيت الاساسي للنبتة باستعمال طريقة CO_2 وجدو أن (cis-para-ment-2en-1-ol بـ % 17.78) هو المكون الاساسي وكذا طريقة استعمال المذيب القطبي اليثانول ووجدوا أن (Elemol بـ 27.19%) هو المكون الاساسي .

I- 2-5 نبتة البردقوش Origanum marjorana L

1- Prof.Dr. Mohamed N من مصر (2009 شهر جوان مرحلة الإزهار) قام باستخلاص مواد فعالة من النبتة من طور الايثانول وطور الماء و دراسة فعاليتها على بعض أنواع البكتريا ذات الغرام الموجب و السالب S. Aureus و B. cereus،S. entridis، E. coli فوجد ان البكتريا ذات الغرام السالب لها مقاومة اتجاه مستخلصي الايثانول والماء.

2- SQALLI.Hakima (2005) من المغرب قامت باستخلاص مواد فعالة من النبتة من طور الايثانول وطور الماء دراسة فعاليتها على بعض أنواع البكتريا المسببة لامراض السل والتي اظهرت عدم فعاليتها تجاه هذه البكتريا عكس تلك التي تم استخلاص المواد الفعالة منها والتي قطفت من اماكن اخرى(تركيا، الهند).

3- BAÂTOUR.OLFA من تونس(2012) قامت باستخلاص الزيت الاساسي للنبتة ودراسة تحليلية مكوناتها بواسطة GC/MS بحيث وجدت ان (cis-sabinene hydrate) بـ % 43.66 المكون الاساسي للزيت ثم يليه (terpinen-4-ol) بـ ,23.21%

4- Ali A. Shati من المملكة العربية السعودية (من سبتمبر الى دسمبر 2010) قام بدراسة التأثير الوقائي للمستخلص المائي لنبات البردقوش على كبد وكلى الجرذان البيضاء بعد تعرضها للتسمم بالكادميوم فوجد أن استخدام مستخلص البردقوش له أثر فعال ويقلل من التأثيرات الفسيولوجية والجزيئية الضارة للكادميوم على كبد وكلى الجرذان البيضاء.

5- Wei Zheng من الصين (سبتمبر2000) قام بتحديد كمية الفينولات الكلية والقدرة المضادة للاكسدة ORAC (oxygen radical absorbance capacity) فوجد ان كمية الفينولات الكلية تساوي 0.29 ± 11.65 مغ مكافئ حمض الغاليك بالنسبة لغرام من وزن النبتة ،اما والقدرة المضادة للاكسدة ORAC فوجدها تساوي 1.25 ± 71.64 ميكرومول مكافئ الترولوكس بالنسبة لغرام من وزن النبتة.

الباب الثاني

الجانب العملي

مقدمة

قبل البدء تجدر الإشارة أنه تم اختيار النباتين والبردقوشOriganum majoranaL و الاذخر Cymbopogon Schoeananthus كنموذج من نباتات العائلة الشفوية و العائلة النجيلية على الترتيب للدراسة و الفعالية المضادة الأكسدة وكذا الفعالية ضد البكتيريا باقتراح من الأستاذ المؤطر الاستاذ الدكتور سعيدي مختار.

بعد البحث المطول للنبتتين و من خلال الدراسات السابقة للعديد من الباحثين وجدنا ان كلتا النبتتين تنموان طوال السنة.

جميع المذيبات و الكواشف المستعملة في التجارب عالية النقاوة مقتناة من شركة Merck و SIGMA ALDRICH، المواد التالية: الكاشف Folin–Ciocalteu، $AlCl_3$، $(NH_4)_2SO_4$، N_2CO_3 ، حمض اورثو الفوسفوريك، كبريتات الصوديوم اللامائية، حمض الغاليك، الكرستين مقتناة من شركة Fluka.

I -6- جني النبات:

قمنا بجني نباتي الاذخر Cymbopogon Schoeananthus والبردقوش Origanum majoranaL من ولاية تبسة و التأكد منهما من طرف الاستاذ الدكتور سعيدي مختار، في البداية كان الجني في شهر مارس.

I -7- التجفيف:

هذه المرحلة تؤدي أفضل إستخلاص، لهذا قمنا بتجفيف النبتتين وفق الخطوات التالية:

1. تنقية النبات من الشوائب والأتربة الغير مرغوب فيها.
2. قمنا بتجزئة النبتتين وذالك بفصل الجزء الهوائي عن الترابي ثم وضعنا الجزء الهوائي على رداء نظيف.
3. جففنا النبتتين في الظل بعيدا عن أشعة الشمس والرطوبة وكان المكان جيدا التهوية [1].

I -8- الطحن والتخزين:

بعد التأكيد بأن أجزاء النبتتين قد جفتا جيدا، قمنا بسحقهما وذالك بواسطة غربال – إحتفظنا بالمسحوق النباتي في القارورة زجاجية عاتمة محكمة الإغلاق بعيدة عن الحرارة والضوء إلى حين استعمالها.

نبتة البردقوش قمنا باستعمال أوراقها في الدراسة أما الاذخر فاستعملنا الجزء الهوائي كامل.

I- 9-الإختبارات الكيميائية الأولية:

أجرينا الاختبارات الكيميائية الأولية قبل تحديد المادة الفعالة التي ستدرس وذالك من أجل تحديد وحصر مختلف المواد الفعالة الموجودة في النبتتين والتي نلخصها في مايلي:

I- 9-1-إختبار الكشف عن الفلافونيدات:

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

❖ **إختبار العام للفلافونيدات :**

نعاير حجما قدره 10مل من الراشح المحصل عليه بواسطة محلول النشادر (2N) NH_4OH ونقوم أثناء ذالك بمراقبة الـ PH بواسطة جهاز الـ PH متر بعد قاعدية الوسط نلاحظ ظهور لون أصفر فاتح يدل على وجود الفلافونيدات [2].

❖ **إختبار الفلافونيدات الحرة :**

نسكب 5 مل من الراشح المحصل عليه في أنبوبة إختبار ونضيف لها 2.5 مل من كحول إيزوأميليكي (alcool isoamylique)، بعد عمليتي الرج والتوازن نلاحظ تلون الطور الكحولي (الطور العلوي) بلون أصفر دلالة على تواجد الفلافونيدات الحرة [3].

❖ **إختبار الفلافونيدات الجلايكوزيدية :**

نقيس 5 مل من الراشح المحصل ونسكبه في أنبوبة إختبار ونضيف لها كمية قليلة من المغنيزيوم ونرجهما جيدا ، بعد مدة نلاحظ ظهور لون أحمر دلالة على تواجد الفلافونيدات الجلايكوزيدية [4].

I- 9-2-إختبار الكشف عن العفصيات:

نزن 10غ من المسحوق النباتي الجاف، ننقعه في الكحول الإيثيلي (50%) مدة 30 دقيقة ثم نرشحه.
الراشح المحصل عليه نضيف له قطرات من ثلاثي كلوريد الحديد، بعد مدة نلاحظ ظهور اللون الأخضر دلالة على تواجد العفصيات [4]، [5].

I- 9-3-إختبار الكشف عن الصابونيات:

أخذ كمية من المسحوق قدرها 2غ، وتضيف لها ماء المقطر حجما قدره 80مل ونسخنه لمدة 15د، بعدها نرشحه و نبرده، نسكب الراشح في أنبوبة إختبار ونرجه جيدا ثم نتركه لمدة زمنية معينة نلاحظ عندها ظهور رغوة تبقى لمدة15د، دلالة على تواجد الصابونيات [2]، [5].

I- 9-4-إختبار الكشف عن القلويدات:

القلويدات العامة:

نزن 10غ من المسحوق النباتي الجاف، ونضيف له 50مل من HCl المخفف 1%، ويترك المنقوع لمدة 48 ساعة. بعد الترشح نضيف للراشح NH_3 حتى القاعدية 8-9: PH ثم نستخلص بـ $CHCl_3$ والراسب نضيف له 2مل من HCl 1%، نضيف له ثلاث قطرات من كاشف ماير عند ظهور عكارة أوراسب أبيض يدل على تواجد القلويدات بصفة عامة [3]، [5].

I- 9-5-إختبار الكشف عن الكومارينات:

نأخذ 1 مل من المستخلص الكحولي لأجزاء النبات في بيشر وغطيت بورقة ترشيح مبللة (مرطبة) 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 [6]،[7].

I- 9- 6- إختبار الكشف عن الستيرولات غير المشبعة والتربينات الثلاثية:

نزن 5غ من مسحوق نباتي الجاف ،ننقعه في 20مل من كلوروفورم لمدة 30دقيقة ،ثم نرشحه نسكب الراشح المحصل عليه في أنبوب إختبار ونضيف له 1مل من حمض الكبريت H_2SO_4 بحذر على جدار الأنبوبة نلاحظ ظهور اللون الأخضر الذي يتحول بعد مدة الى اللون الأحمر في الطبقة بين الطورين دلالة على تواجد الستيرولات غير المشبعة والتربينات الثلاثية[8].

(+) إشارة تدل على الإختبار الإيجابي (–) إشارة تدل على الإختبار السلبي

المواد الفعالة	تواجد في نبتة البردقوش	تواجد في نبتة الاذخر
الفلافونيدات العامة	+	+
الفلافونيدات الحرة	+	+
الفلافونيدات الجلايكوزيدية	+	–
العفصيات	+	+
الصابونيات	+	+
القلويدات العامة	–	–
الكومارينات	+	+
الستيرولات غير المشبعة التربينات الثلاثية	+	+

الجدول(4) نتائج الإختبارات الكيميائية الأولية

من خلال الجدول أعلاه نلاحظ :

– كلا النبتتين يحتويان على بعض المركبات الفعالة مثل: الفلافونيدات العامة، الفلافونيدات الحرة العفصيات، الستيرولات غير المشبعة والتربينات الثلاثية.

– غياب القلويدات ،الفلافونيدات الجلايكوزيدية في نبتة الاذخر.

I- 10- الإستخلاص :

من بين طرق إستخلاص الفلافونيدات اتخذنا طريقة هاربون، لإستخلاص الفلافونيدات من مسحوق النبتة الموضحة في المخطط (02) أدناه.

I - 10 -1- إستخلاص صلب – سائل:

1. نزن بالميزان الإلكتروني كمية قدرها 100غ من مسحوق النبتة الجاف، ننقعها في حجم قدره 700مل من إيثر بترول لمدة 24ساعة، ثم يرشح والطور العضوي يركز بجهاز التبخير الدوراني(Rotavapeur) عند درجة حرارة لاتتجاوز 40م°($T < 40\ C°$).
2. نفرغ المسحوق النباتي على ورق ألمينيوم ونتركه في الهواء للتخلص من إيثر بترول.
3. بعد تأكد جفاف النبتة من إيثر بترول.

4. ننقع المسحوق في مزيج دافئ حجما قدره 400 مل من إيثانول/ماء بنسبة (70%/30%) لمدة 36 ساعة وتكرر العملية 3 مرات مع تجديد المذيب بعد كل عملية ترشيح .

5. نجمع المستخلصات الكحولية للنبتة وتركز بجهاز التبخير الدوراني للتخلص من إيثانول تحت درجة حرارة لا تتجاوز 40م°(T <40 C°).

6. يضاف الماء المقطر الدافئ حجما قدره 25مل إلي الطور المائي ويترك ليلة كاملة.

I- 10-2- إستخلاص سائل – سائل:

نجري سلسلة من الإستخلاصات سائلة – سائلة وحيث تتم في قمع فصل ذو سعة 500مل ،وذالك بإستخدام عدة مذيبات عضوية لا تمتزج مع الماء على حسب القطبية.

تتم العملية وفق الخطوات التالية :

I- 10-2-1- الإستخلاص بالكلوروفورم $CHCl_3$:

الراشح المحصل عليه نضيف له حجما من الكلوروفورم (ثلث حجم الرشاحة) يوضع في قمع الفصل، بعد عملية الرج جيدا والتوازن، بعد مدة نلاحظ تشكل طبقتين متمايزتين (طورين) عندها يتم الفصل الطور العضوي على الطور المائي وتتكرر العملية 3مرات.

تجمع المستخلصات الكلوروفورمية وتركز تحت ضغط منخفض في جهاز التبخير عند درجة حرارة لا تتجاوز 40م°، الراسب يذاب في الإيثانول ،يحفظ المستخلص بعيدا عن ضوء وفي مكان بارد .

I- 10-2-2- الإستخلاص بأسيتات الإيثيل $C_4H_8O_2$:

الطور المائي المحصل عليه نجري له عملية الإستخلاص بأسيتات الإيثيل مرة واحدة ،وذالك بإضافة حجما من أسيتات الإيثيل (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 40م°(T<40C°)، الراسب يذاب في إيثانول يحفظ المستخلص بعيدا عن ضوء وفي مكان بارد.

I- 10-2-3- الإستخلاص ب[-ن- بالبيوتانول $C_4H_{10}O$:

الطور المائي المحصل عليه نجري له عملية الاستخلاص بالبيوتانول 5 مرات ،وذالك بإضافة حجما من البيوتانول (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 لاتتجاوز 70م°(T<70C°)، الراسب يذاب في الميثانول، يحفظ المستخلص بعيدا عن الضوء وفي مكان بارد.

بعد الإنتهاء من عملية الإستخلاص نجري عملية الفصل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ، في هذا العمل قمنا بإستخدام نوع من كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM وهو السيليكاجال كطور ثابت لفصل

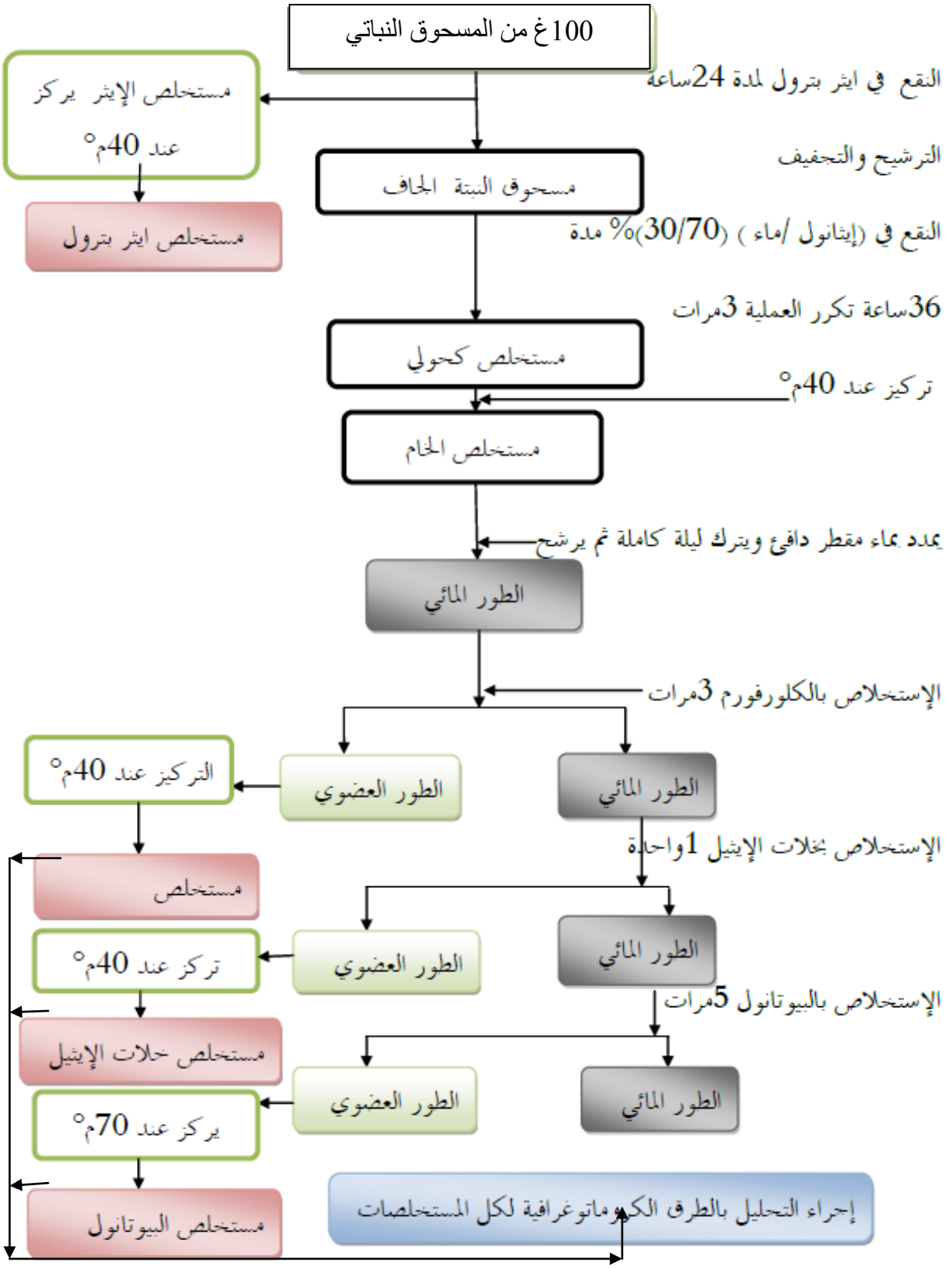
المواد الفعالة في نبات الإذخر 'Cymbopogon Schoeananthus و نبات البردقوش Origanum majorana L لمستخلص البيوتانول بإستخدام أطوار مختلفة القطبية ،وتمت ملاحظة النتائج والألوان تحت UV و ($UV+NH_3$).

1. **أزرق – أزرق لامع** : يدل على احتمالية وجود إيزوفلافون لايحوي على OH في موضع C_5 حرة.
2. **غير مرئي – أزرق** :يدل على احتمالية وجود إيزوفلافون لايحوي على OH في موضع C_5 حرة.
3. **أصفر**: يدل على احتمالية وجود فلافونول يحوي OHحرة في موضع C_3مع تواجد أوعدم تواجد OH حرة في موضع C_5.
4. **أزرق – أزرق مخضر**: يدل على احتمالية وجود فلافون وفلافانون لايحويOH حرة في موضع C_5. و إحتمال وجود فلا فونول لايحوي OH في موضعC_5 مع إستبدالOH في موضع C_3
5. **أحمر – برتقالي**: يدل على احتمالية وجود شالكونات تحتوي علىOH في موضعC_2 أو/OH في موضع C_4 [4].

العملية نفسها تمت لكلتا النبتتين.

المردود / وزن النبتة	المستخلص	وزن كل مستخلص (غ)	المردود R_d%
وزن نبتة البردقوش 100غ	الكلوروفورم	1.24	1.24
	أسيتات إيثيل	1.03	1.03
	البيوتانول	6.54	6.54
وزن نبتة الاذخر 100غ	الكلوروفورم	0.83	0.83
	أسيتات إيثيل	1.20	1.20
	البيوتانول	3.86	3.86

الجدول(5): نتائج الإستخلاص للاطوار الثلاثة



مخطط (2): مراحل الإستخلاص للنبتة

وبناءا على الدراسة السابقة قمنا باستخلاص المواد الفعالة باستعمال المذيبات السابقة خلال الاشهر التالية (جوان ،اكتوبر، جانفي، مارس) فكانت النتائج على النحو التالي

المستخلصات / اشهر القطف	مستخلص الكلوروفورم	مستخلص الاستات	مستخلص البيوتانول
جوان	0.72%	1.02%	5.21%
اكتوبر	0.85%	1.58%	3.58%
جانفي	0.43%	0.64%	1.41%
مارس	0.61%	0.46%	2.35%

جدول (8) علاقة اشهر القطف لنبتة الاذخر بمردود مستخلصات الاطوار المستعملة

المستخلصات / اشهر القطف	مستخلص الكلوروفورم	مستخلص الاستات	مستخلص البيوتانول
جوان	**1.24%**	**2.69%**	**8.54%**
اكتو بر	**0.78%**	**1.03%**	**6.25%**
جانفي	**2.31%**	**1.84%**	**5.70%**
مارس	**0.82%**	**1.65%**	**5.14%**

جدول (9) علاقة اشهر القطف لنبتة البر دقوش بمردود مستخلصات الاطوار المستعملة

تفسير النتائج

من خلال الجدول(8) والجدول(9) نلاحظ أن:

– مردود إستخلاص (نبتة البردقوش) للمستخلص البيوتانولى كان بأكثر نسبة في جميع اشهر القطف ويليه مستخلص أسيتات الإيثيل ثم مستخلص الكلوروفورم.

أعلى نسبة لمستخلص البيوتانول كان في شهر جوان وهو شهر الإزهار وهو شهر اكتمال دورة النمو للنبتة مما يعزز فرضية تكوين كميةكبيرة من المركبات الاكثر قطبية في هذا الشهر استنادا لبعض الدراسات لبعض النباتات، ولوحظ نفس الشيئ بالنسبة لمستخلص الاسيتات غير ان اعلى نسبة لمستخلص الكلوروفورم كان في شهر جانفي.

– أما مردود إستخلاص (نبتة الاذخر) للمستخلص البيوتانولى كان بنسبة عالية في شهر جوان وهو شهر الإزهاروهو شهراكتمال دورة النمو للنبتةكذالك لهذه النبتة ، ويليه أسيتات الإيثيل وكانت اكبر قيمة في شهر اكتوبرثم الكلوروفورم وكانت اعلى نسبة في شهرجوان.

I -12- إستخلاص الزيوت الطيارة :

نأخذ كتلة قدرها 100غ من نبتة الاذخر Cymbopogon Schoeananthus ونبتة البردقوش Origanum majoranaL من أجل استخلاص الزيوت الطيارة لكل نبتة.إتبعنا طريقة التقطير المائي لاستخلاص الزيوت الطيارة لنبتة الاذخر Cymbopogon Schoeananthus و نبتة البردقوش Origanum majoranaL باستعمال جهاز Clevenger و ذلك بإتباع الخطوات التالية:

– نأخذ عينة من النبتة الجافة وزنها 100 g و نضعها في دورق سعته 2L

– نضيف لها150 mL من الماء المقطر

– يسخن الدورق في جهاز التسخين الخاص به لمدة 3–4 ساعات

– بعد عملية التكثيف يتشكل طورين مختلفين(ماء –زيت) و يفصل هذين الطورين على أساس الاختلاف في الكثافة.

–كما نفصل الزيت المتبقي بالطور المائي عن طريق الاستخلاص سائل–سائل باستعمال مذيب ثنائي كلوروميثان.وبعد الحصول على الزيت يتم إضافة كمية من كبريتات الصوديوم اللآمائية Na_2SO_4 للتخلص من آثار الماء فنتحصل على زيت فنحفظه عند درجة 5م° لتفادي تبخر الزيت .

I -12-1- تحديد نسبة المؤية الوزنية للزيت الطيار:

نقوم بوزن كتلة الزيت الناتج ويمكن حساب المردود الزيت في العينة المدروسة من العلاقة التالية [11]:

$$\text{النسبة المؤية} = \frac{\text{كتلة الزيت المستخلص}}{\text{كتلة العينة}} \times 100$$

I -2-12- الثوابت الفيزيائية للزيت الطيار:

I -2-12-1- قرينة الانكسار:

هو النسبة بين جيب زاوية سقوط ضوء طول موجته 589.3 نانومتر الى جيب زاوية الإنكسار لذالك الضوءعند مروره من الهواء خلال الزيت في درجة حرارة معينة

أهميته: يستخدم في تميز وتحديد نقاوة المادة العضوية ويستفاد منه في معرفة التركيب الكيميائي (الكيمياوي) للزيت أو مشتقاته وله علاقة بمعامل اللزوجة واللون ،حيث يمكن قراءة قرينة الإنكسار مباشرة عند وضع العينة من السائل بين صفيحتين من الزجاج [12].

في حالة إستخدام درجة حرارة θ أعلى من درجة الحرارة القياسية نستخدم العلاقة التالية:

$$\eta_D^{20} = \eta^{\theta}_D + (\theta - 20) \times 0.0035$$

η_D^{20}= قرينة الإنكسار عند 20م°.

η^{θ}_D= قرينة الإنكسار عند درجة حرارة المخبر.

θ = دجة حرارة المخبر .

0.0035= معامل تغير قرينةالإنكسار عند تغيير درجة الحرارة بمقدار 1درجة.

I -2-12-2- الكثافة النوعية (الوزن النوعي) d:

تعرف بأنها النسبة بين وزن حجم معين من الزيت عند درجة حرارة معينة إلى وزن نفس حجم من الماء عند نفس درجة الحرارة (أوعند حرارة 15.5م°) [13]، (أو عند درجة حرارة 20م°) [14].

ومن معرفة قيمة الكثافة يمكن تقدير مايلي:

- درجة نقاوة الزيت أو الدهن.
- حساب وزن الزيت في الأوعية المعروفة الحجم [13].

ويتم تعيين الكثافة النوعية عمليا وذالك بحساب كتلة حجم معين من الزيت ونقوم أيضا بحساب كتلة نفس الحجم من الماء عند نفس درجة الحرارة.

في حالة إستخدام درجة حرارة θ أعلى من درجة الحرارة القياسية نستخدم العلاقة التالية:

$$d^{20}{}_4 = d_4 + (\theta - 20) \times 0.00068$$

d_4^{20}=الكثافة عند 20م°.

d_4 = الكثافة عند درجة حرارة المخبر.

θ = درجة حرارة المخبر .

0.00068 = معامل التغير الكثافة عند تغيير درجة الحرارة بمقدار 1درجة مئوية [14].

I -12-2-3- مردود الزيت:

تحصلنا على زيت من نبتة الإذخر من منطقتتين النتائج مدونة في الجدول (10) ثم جمع الزيت كلا النبتتين وجفف بكبريتات الصوديوم اللآمائية وتحفظ تحت درجة 5م°:

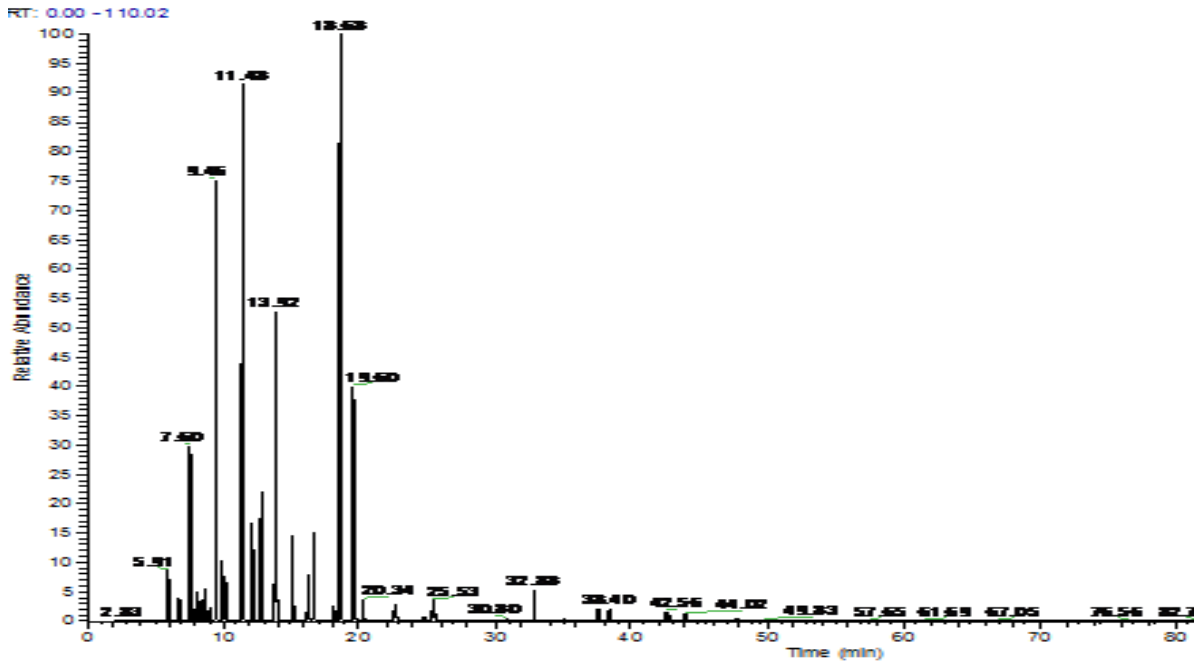
الثوابت	البردقوش Origanum majoranaL	الاذخر Cymbopogon Schoenanthus
اللون	ابيض شفاف	أصفر فاتح
الرائحة	رائحة النعناع	رائحة الليمون
المردود %	0.60	0.40
قرينة الإنكسار	1.452	1.485
كثافة	0.851	0.801

جدول (10) الثوابت الفيزيائية للزيتين

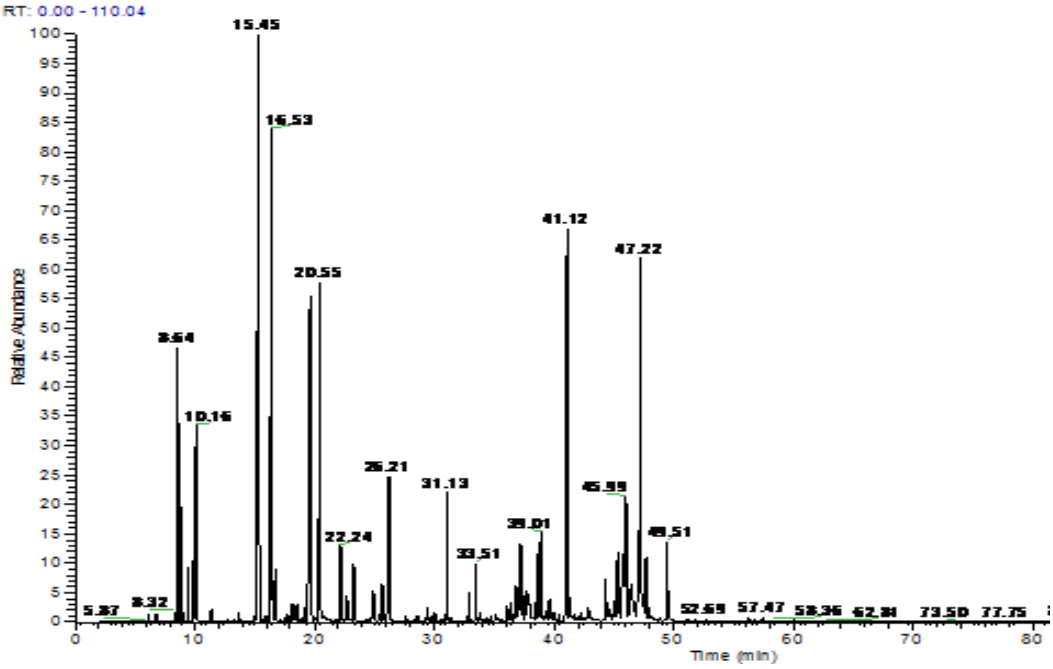
I -13- كروماتوغرافيا GC/MS للزيتين الاساسيين

ادى التحليل الكروماتوغرافي للزيتين شكل (1) زيت البرقوش وشكل (2) زيت الاذخر بواسطة كروماتوغرافيا GC/MS (**Thermo électron corporation trace GC Ultra DSQ II** Thermo Fisher, Rodano MI, Italy) إلى تحديد أهم المكونات الرئيسية لهذين الزيتين، بحيث اعطى كروماتوغرافيا زيت البردقوش الى تحديد 20 مركب بنسب متفاوتة كان منها المركب p-Menth-1-en-4-ol هو المركب الرئيسي بنسبة 21%، اما كروماتوغرافيا زيت الاذخر ادى الى تحديد 21 مركب بنسب متفاوتة كان منها المركب الرئسي (Cis)4-Isopropyl-1-methyl-2-cyclohexen-1-ol, بنسبة 15%.

أن تحليل مكونات الزيت الاساسي لنبتة البردقوش في مناطق مختلفة من العالم اظهرت اختلافا في المكون الاساسي فمثلا في الارجنتين المكون الاساسي كان (Carvacrol 77%) [37] وفي ايطاليا المكون الاساسي كان (33.5-50.9 %) 1,8-cineole [38] [39] وفي فلندا المكون الاساسي كان Linalool (15.5-37.8 %) [40] وفي استراليا و مصر المكون الاساسي هو(20.0-55.1%) Terpinen-4-ol [41] [42] وفي المانيا و المجر كان المكون الاساسي هو(0.5-14.1%) γ-Terpinene [43] [44] وفي بولندا كان المكون الاساسي هو (0.0-11.3 %) p-Cymene [45]، اما المكون الاساسي للزيت الاساسي لنبتة الاذخر في مناطق مختلفة من العالم فقد اظهرت مثلا في الطوغو المكون الاساسي كان (68%) Piperitone [46] وفي بوركينافاسو كان المكون الاساسي هو(42%) Piperitone [47] وفي تونس كان المكون الاساسي هو (13%) β-Phellandrene [48] وفي ايران كان المكون الاساسي هو (11%) 4-Carene [49].



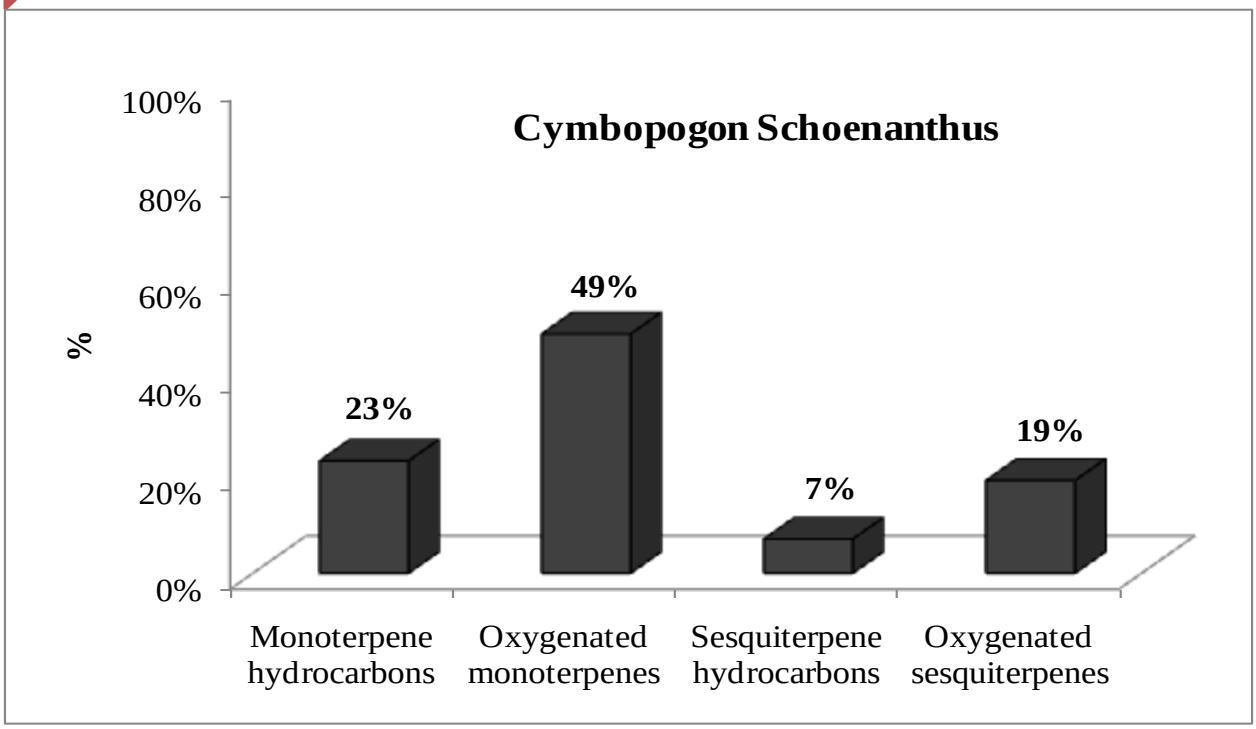
شكل(1) GC/MS كروماتوغرافيا الزيت الاساسي للبردقوش Origanum Majorana L



شكل(2) GC/MS كروماتوغرافيا الزيت الاساسي الاذخر Cymbopogon Schoenanthus

الرقم	زمن الاحتجاز (min)	المركبات	%
01	8.63	2-Carene	07
02	9.00	α-phellandrene	03
03	9.44	*p*-Mentha-1,4(8)-diene	01
04	9.89	*p*-Cymene	02
05	10.02	d-Limonene	05
06	10.16	β-phellandrene	05
07	15.40	4-Isopropyl-1-methyl-2-cyclohexen-1-ol, (Cis)	15
08	16.49	4-Isopropyl-1-methyl-2-cyclohexen-1-ol, (Trans)	13
09	16.76	Camphor{1R, 4R}	01
10	19.65	*p*-Menth-1-en-3-ol, cis	08
11	20.51	*p*-Menth-1-en-3-ol, trans	09
12	22.23	*p*-Menth-4(8)-en-3-one	02
13	23.30	*p*-Menth-1-en-3-one	01
14	25.69	Carvacrol	01
15	31.11	Cyclohexene, 2,4-diisopropenyl-1-methyl-1-vinyl-(1S, 2R, 4R)	03
16	32.86	6-Chamigrene	01
17	37.22	Isolongifolan-8-ol	02
18	38.73	γ-Cadinene	02
19	41.09	Cyclohexanemethanol, 4ethylene-α,α, 4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)-, [1R(1 α, 3 α, 4β)]-	10
20	47.18	2-Naphtalenemethanol, decahydro-α, α, 4a-trimethyl-8-methylene-, [2R(2 α, 4a α, 8aβ)]-	09
21	57.47	1,7,7-Trimethylbicyclo(2,2,1)-hept-2-yl 3-methylenecyclopentacarboxylate	<1

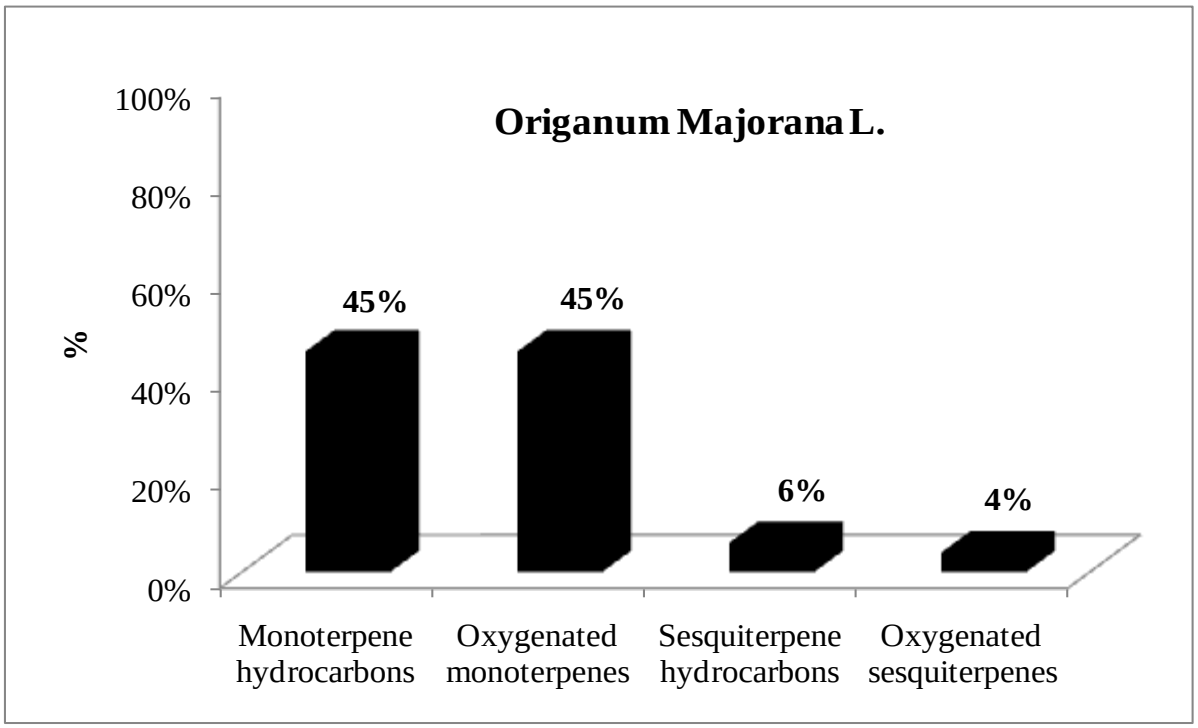
جدول(11) المكونات النصف كمية للزيت الاساسي لنبتة الاذخر Cymbopogon Schoenanthus



شكل (3) اهم العائلات المكونة للزيت الاساسي لزيت الاذخر Cymbopogon Schoenanthus

الرقم	زمن الاحتجاز (min)	المركبات	%
01	7.59	β-phellandrene	06
02	9.45	α-Terpinene	15
03	11.67	τ-Terpinene	19
04	12.16	4-Isopropogenyl-1-methylcyclohexanol	03
05	12.80	*p*-Mentha-1,4(8)-diene	05
06	13.90	Terpineol (cis)	11
07	15.16	4-Isopropyl-1 methyl-2-cyclohexen-1-ol	01
08	16.76	Camphor{1R, 4R}	03
09	18.64	*p*-Menth-1-en-4-ol, (R)	21
10	19.58	*p*-Menth-1-en-8-ol, (S)	08
11	20.32	*p*-Menth-1-en-3-ol trans	01
12	22.49	Acetic acid linalool ester	01
13	24.78	Bornyl acetate	<1
14	25.69	*p*-Menth-1-en-4-ol acetate	01
15	32.88	Caryophyllene	01
16	37.57	*o*-Menth-8-ene, 4-isopropylidene-1-vinyl	<1
17	38.39	1,5-Heptadiene, 6-methyl-2-(4-methyl-3-cyclohexen-1-yl)-, (S)	<1
18	42.56	Spathulenol	<1
19	44.01	Carotol	<1
20	47.79	Ar-Tumenone	<1

جدول (12) المكونات النصف كمية للزيت الاساسي لنبتة البردقوش Origanum Majorana L



شكل (4) اهم العائلات المكونة للزيت الاساسي لزيت البردقوش Origanum Majorana L

كروماتوغرافيا الـطور الـ غازي CPG للزيتين الاساسيين

إن التحليل الكروماتوغرافي للزيتين زيت البرقوش و زيت الاذخر بواسطة كروماتوغرافيا **CPG** بواسطة الجهاز المعرف بالخصائص المبينة في الجدول (13) ادى إلى تحديد مجموعة من المركبات لهذين الزيتين، بحيث اعطى كروماتوغرافيا زيت البردقوش الى تحديد 76 مركب بنسب متفاوتة الجدول(14) كان منها المركب camphene hydrate هو المركب الرئيسي بنسبة 24.99% هذا بالنسبة لشهر اكتوبر الشكل(5) ، اما بالنسبة لشهر جانفي فقد تم تحديد 91 مركب الجدول(15) منها المركب ethyl octanoate هو المركب الرئيسي بنسبة 22.33% الشكل(6) ،اما كروماتوغرافيا زيت الاذخر ادى الى تحديد 88 مركب بنسب متفاوتة الجدول(16) كان منها المركب الرئسي linalool بنسبة 27% الشكل(7) هذا بالنسبة لشهر اكتوبر، اما بالنسبة لشهر جانفي فقد تم تحديد 64 مركب بنسب متفاوتة الجدول(17) كان منها المركب الرئسي هو linalool بنسبة 26.14% الشكل(8)، و بالنسبة لشهر جوان فقد تم تحديد 86 مركب بنسب متفاوتة الجدول(18) كان منها المركب الرئسي هو beta-ionone بنسبة 14.23 % الشكل(9).

Chromatographe	**Chromapack CP9002**
Détecteur	**FID (Detecteur á Ionisation de Flamme)**
Colonne	**DB-5 : 30m 0.25mm**
Phase stationnaire	**Apolaire avec 0.25µm d'épaisseur de film**
Gaz Vecteur	**Azote 1ml/min**
Mode d'injection	**En split 1/50**
Température d'injection	**250°C**
Programation de température	**50°C (3min) á2/min gusqu'a 250°C 10min**

جدول(18) خصائص جهاز CPG

I -2-13- الدلائل الكيميائية للزيوت الاساسية:

I -2-13- 1- قيمة الحموضة:

هو عدد ميليغرامات هيدروكسيد البوتاسيوم اللازمة لمعادلة الأحماض الدهنية الحرة الموجودة في واحد غرام من الزيت او الدهن وهو يعطي فكرة عن نسبة الأحماض الدهنية الحرة ومعرفة مدى تحلل الجلسريدات الموجودة في الزيت ويعطي هذا التقدير بصفة عامة دليل على صلاحية الزيوت للاكل [49–51] .

يتم تعيين قيمة الحموضة عمليا وفق معيار (AFNOR NET 60–204) [45] . و ذلك بإذابة كتلة قدرها 0.2g من الزيت في 10ml من الهكسان ثم إضافة قطرات من كاشف الفينول فتالين، فعاير المحلول بهيدروكسيد البوتاسيوم KOH الكحولي عيارته (0.01N) حتى الوصول الى نقطة التعادل،ونسجل حجم القاعدة اللازم.

ويحسب قيمة الحموضة من العلاقة التالية:

$$IA=\frac{VXNX56.1}{m}$$

IA : رقم الحمض

V : حجم محلول هيدروكسيد البوتاسيومKOH

N : عيارية محلول هيدروكسيد البوتاسيومKOH

m : كتلة عينة الزيت

56.1:الكتلة المولية لهيدروكسيد البوتاسيوم

العينة / الثوابت	البردقوش	الاذخر
Rendement	0.60	0.40
D^{20}	0.851	0.801
η_D^{20}	1.452	1.485
IA***(mgKOH/1g fat)***	1.00	2.82

جدول (13) الثوابت الكيميائية للزيتين

بنفس الطرق السابقة استطعنا الحصول على الثوابت الفيزيائية و الكيميائي لزيتي النبتتين خلال الاشهر (جوان، اكتوبر، جانفي، مارس)

اشهر القطف / الثوابت	جوان	اكتوبر	جانفي	مارس
المردود	0.70	0.48	0.45	0.60
D^{20}	0.837	0.841	0.850	0.851
n^{20}	1.465	1.460	1.450	1.452
IA	1.12	1.15	1.08	1.00

جدول (14) تغير الثوابت الفيزيائية و الكيميائية لزيت البردقوش خلال اشهر القطف

اشهر القطف / الثوابت	جوان	اكتوبر	جانفي	مارس
المردود	0.63	0.59	0.58	0.40
D^{20}	0.801	0.797	0.811	0.801
n^{20}	1.482	1.475	1.484	1.485
IA	3.05	2.61	2.72	2.82

جدول (15) تغير الثوابت الفيزيائية و الكيميائية لزيت الاذخر خلال اشهر القطف

%	IK	produits	%	IK	produits
0.87	867	Hexanol	0.90	1300	Ascaridole
0.65	878	1,2-Dimethylpyrrole	0.38	1320	(E,Z)-2,4-decadienal
0.14	890	1,3,5-cyclooctatriene	0.07	1332	Piperitol acetate
0.07	902	3-methylthiopropanal	0.09	1339	Elemene
0.03	936	α-Pinene	0.10	1351	Cubebene
1.42	960	5-methylfurfural	0.14	1357	Octadecanal
1.21	975	5-methyl-2-furanthiol	0.07	1367	Furfuryl hexanoate
6.20	993	(E,E)-2,4-nonadiena	0.02	1370	undecanol
6.35	1003	octanal	0.06	1374	Copaene
5.01	1008	Phellandrene	0.09	1385	Isocomene
0.05	1019	α -Terpinene	0.12	1392	Damascone <(E)-alpha->
0.05	1031	limonene	0.09	1402	Caryophyllene <(Z)->
11.09	1044	phenylacetaldehyde	0.10	1408	Cedrene
2.00	1052	citral methyl acetal	1.88	1414	Ambrinol
0.05	1057	Benzene Methanol	0.17	1422	alpha-ionone
2.91	1076	Benzyl formate	0.39	1433	Ambrinol
6.86	1089	2,3-diethylpyrazine	0.14	1445	Citronellyl propanoate
0.04	1102	linalool	0.03	1448	Isoeugenol <(E)->
1.64	1108	(E,E)-2,4-octadienal	0.57	1457	Aromadenrane
0.06	1116	2-phenylethanol	0.17	1463	Aromadenrene
1.13	1119	2-formyl-5-methylthiophene	0.08	1466	Caryophyllene <9-epi-(E)->
0.07	1123	Chrysanthenone	0.07	1471	Terpinyl isobutyrate
0.11	1125	2-formyl-3-methylthiophene	0.03	1477	4-pentylbenzaldehyde
0.07	1127	2-ethylhexanoic acid	0.30	1484	Curcumene
0.11	1130	Ocimene <allo->	0.07	1490	Isomethyl lactate
0.07	1133	Cresol acetate	0.08	1493	Indipone
0.04	1136	2-propylthiazolidine	0.12	1497	2-tridecanone
0.04	1149	camphene hydrate	0.54	1510	Lavanduly isovalerate
0.14	1155	citronellal	0.07	1590	Copaen-4-alpha-ol
24.99	1158	Dihydroterpineol	0.19	1604	Isoamyl nerolate
5.51	1162	chrysanthenole	0.47	1613	tetradecanal
0.18	1168	Cresol acetate	0.14	1629	Acorenol
0.50	1169	2-butyl-4-methylthiazole	0.22	1645	Amyl cinnamaldehyde <(Z)->
0.04	1175	4-ethylbenzaldehyde	0.53	1651	isopentanoic acid
0.07	1183	octanoic acid	0.41	1659	Curzerenone
0.13	1191	2-isobutyl-4,5-dimethylthiazole	1.35	1673	Isobornyl isobutyrate <8-hydroxy->
0.36	1198	alpha terpineol	0.22	1695	2-pentadecanone
2.12	1252	Anis aldehyde			
0.47	1276	Carvone oxide			

المركبات المحتملة الموجودة في زيت *Origanum majorana L* لشهراكتوبر بواسطة كروماتوغرافيا *CPG*

%	IK	Produits	%	Produits	IK
0.03	933	2-methylthiazolidine	0.37	2-dodecanone	1398
0.04	947	Citronellene	0.07	Ambrinol	1415
0.08	991	(E,E)-2,4-nonadiena	0.06	alpha-ionone	1422
11.54	1003	octanal	0.06	Cymene <2,5-dimethoxy-para->	1425
0.50	1005	(Z)-3-hexenyl acetate	0.03	Ionone	1427
0.15	1017	4-ethyl-5-methylthiazole	0.06	Ambrinol	1434
1.12	1024	Menthene <1-para->	0.03	Cedrane	1438
1.11	1030	limonene	0.05	Citronellyl propanoate	1444
0.09	1038	p-cymene	0.06	Himachalene	1447
0.04	1049	2-isobutylthiazole	0.10	Isoeugenol <(E)->	1449
0.03	1059	(E)-2-octenal	0.13	Geranyl acetone	1452
0.10	1089	2-hexylfuran	0.14	Humulene	1454
0.03	1101	linalool	0.23	Aromadendrane	1457
0.16	1109	(E,E)-2,4-octadienal	0.24	Aromadendrene	1460
15.36	1116	2-phenylethanol	0.21	Caryophyllene <9-epi-(E)->	1468
0.07	1118	2-formyl-5-methylthiophene	0.32	Terpinyl isobutyrate	1472
9.73	1126	2-formyl-3-methylthiophene	0.10	4-pentylbenzaldehyde	1475
0.03	1130	Ocimene	6.92	Phenyl ethyl 3-methyl butanoate	1488
0.05	1139	Pinocarveol	0.08	Isomethyl lactate	1491
0.08	1140	Verbenol	0.04	Indipone	1494
0.08	1146	isopulegol	0.05	2-tridecanone	1497
0.33	1152	2-acetyl-5-methylthiophene	0.12	Calamenene	1521
1.11	1155	citronellal	0.28	Thymohydro quinone	1553
3.52	1159	Dihydroterpineol	0.08	Isoamyl nerolate	1604
0.13	1162	chrysanthenole	0.04	butanoic acid	1609
4.95	1166	Lavandulol	0.39	tetradecanal	1614
0.23	1173	Menthol	0.60	Acorenol	1629
0.53	1179	2-propyl-4,5-dimethylthiazole	1.84	Cadinol	1641
0.04	1183	octanoic acid	0.94	Amyl cinnamaldehyde <(Z)->	1645
0.06	1186	2-methoxy-3-isobutylpyrazine	0.76	isopentanoic acid	1652
0.06	1189	methyl salicylate	3.23	Lyral	1661
22.83	1195	ethyl octanoate	2.79	Turmerone	1665
0.04	1199	alpha terpineol	0.90	Isocedranol <5->	1669
0.09	1207	tetradecanal	0.04	Tetradecanol	1676
0.28	1227	nerol	0.09	Muurol-5-en-4-one	1681
0.07	1265	ethyl salicylate	0.03	2-pentadecanone	1695
0.04	1290	Thymol	0.15	Santalol <(Z)-beta->	1707
0.20	1305	undecanal	0.05	Nuciferol <(Z)->	1729
0.08	1320	(E,Z)-2,4-decadienal	0.08	Santalol acetate <(Z)-beta->	1823
0.05	1323	Methyl geranate	0.03	Isoamyl dodecanoate	1844
0.07	1327	methyl decanoate	0.03	Laneol acetate <(Z)->	1858
0.04	1338	Verbanol acetate	0.04	Nonadecane	1898
0.02	1355	Thymol acetate	0.07	6,10,14-trimethyl-5,9,13-pentadecatrien-2-one	1910
0.05	1362	Eugenol	0.16	isophytol	1943
0.04	1388	(E)-2-hexenyl hexanoate			
0.07	1391	ethyl decanoate			

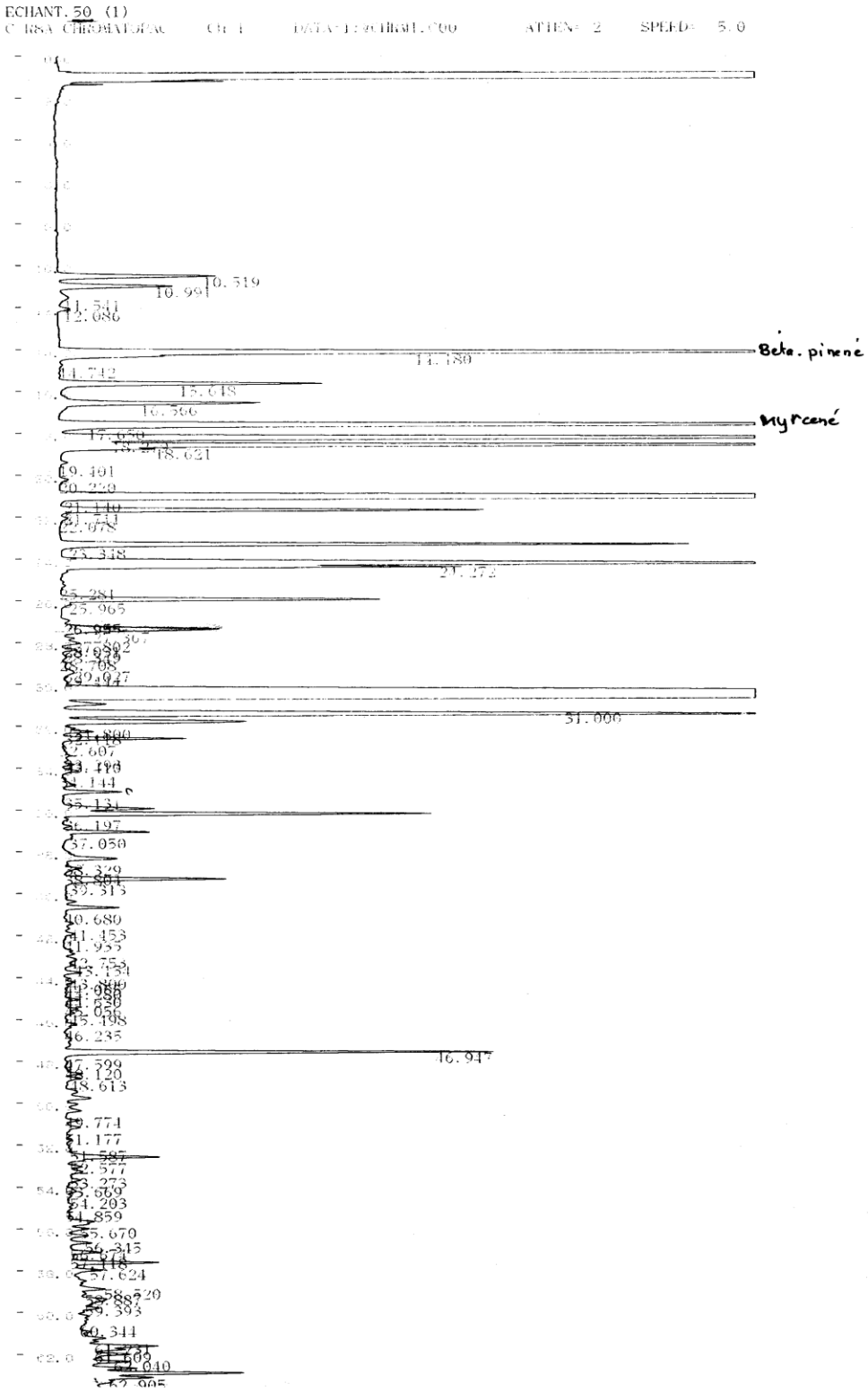
المركبات المحتملة الموجودة في زيت *Origanum majorana L* لشهر جانفي بواسطة كروماتوغرافيا *CPG*

%	IK	Produits	%	IK	Produits
3.79	834	methyl pentanoate	0.13	1329	nerol
0.20	865	Hexanol	0.19	1334	Phenyl pentan-3-one <1->
0.07	932	2-methylthiazolidine	0.37	1353	Thymol acetate
0.88	972	heptanol	0.10	1368	decanol
0.06	975	5-methyl-2-furanthiol	0.66	1378	Methyl cinnamate
0.34	991	(E,E)-2,4-nonadiena	0.11	1387	(E)-2-hexenyl hexanoate
0.08	1001	2-ethyl-3-methylpyrazine	1.22	1397	2-dodecanone
0.06	1008	2-ethyl-6-methylpyrazine	0.60	1409	Cedrene
0.07	1016	4-ethyl-5-methylthiazole	0.08	1414	dodecanal
0.85	1024	Cymene	0.57	1422	alpha-ionone
0.43	1028	limonene	0.16	1435	Nerone
0.94	1059	isophorone	0.21	1439	Cedrane
0.40	1068	2-butylthiophene	0.10	1446	Citronellyl propanoate
1.23	1073	3-tetradecene	0.10	1452	Geranyl acetone
0.39	1090	2,3-diethylpyrazine	0.42	1454	Humulene
0.29	1103	Thujone	0.16	1457	Aromadendrane
27.71	1104	linalool	0.31	1461	Aromadendrene
0.60	1109	Phellandrene	0.35	1464	Decalactone
0.17	1114	2,6-dimethylcyclohexanol	0.15	1467	Caryophyllene <9-epi-(E)->
2.16	1116	2-phenylethanol	0.35	1472	Terpinyl isobutyrate
0.09	1120	Pinan-2-ol	0.27	1475	4-pentylbenzaldehyde
0.27	1125	2-formyl-3-methylthiophene	0.06	1486	Ionone
1.83	1127	2-ethylhexanoic acid	3.15	1489	Phenyl ethyl 3-methyl butanoate
3.05	1130	Ocimene	0.11	1491	(E)-9-octadecene
0.12	1133	Limonene oxide	0.09	1493	Indipone
0.24	1138	2-propylthiazolidine	0.07	1496	2-tridecanone
0.18	1140	Verbinol	0.08	1498	Himachalene
3.56	1147	Isopulegol	0.06	1516	tridecanal
4.55	1151	2-acetyl-5-methylthiophene	0.21	1549	Occidentalol
0.68	1155	(E,Z)-2,6-nonadienal	0.89	1601	hexadecane
1.15	1158	Dihydroterpineol	0.06	1613	Cedrol
0.69	1161	chrysanthenole	0.29	1617	tetradecanal
0.07	1165	Lavandulol	0.09	1626	Cubenol <1-epi->
1.43	1168	pentylbenzene	1.04	1640	Cadinol
0.12	1171	Menthol	0.96	1644	Occidentalol
0.17	1177	Terpin-4-ol	0.88	1650	Isoamyl geranate
0.72	1180	2-propyl-4,5-dimethylthiazole	0.86	1659	Curzerenone
0.08	1182	octanoic acid	1.89	1662	Lyral
0.28	1185	2-methoxy-3-isobutylpyrazine	2.32	1667	Citronellyl tiglate <(E)->
0.21	1194	ethyl octanoate	0.88	1681	Muurol-5-en-4-one
8.20	1220	geraniol	0.25	1691	2-pentadecanone
5.03	1263	Dec-9-en-1-ol	0.40	1695	2-pentadecanone
0.24	1280	3-acetyl-2,5-dimethylthiophene	0.14	1699	Heptadecane
0.91	1303	2-undecanone			
0.43	1323	Methyl geranate			

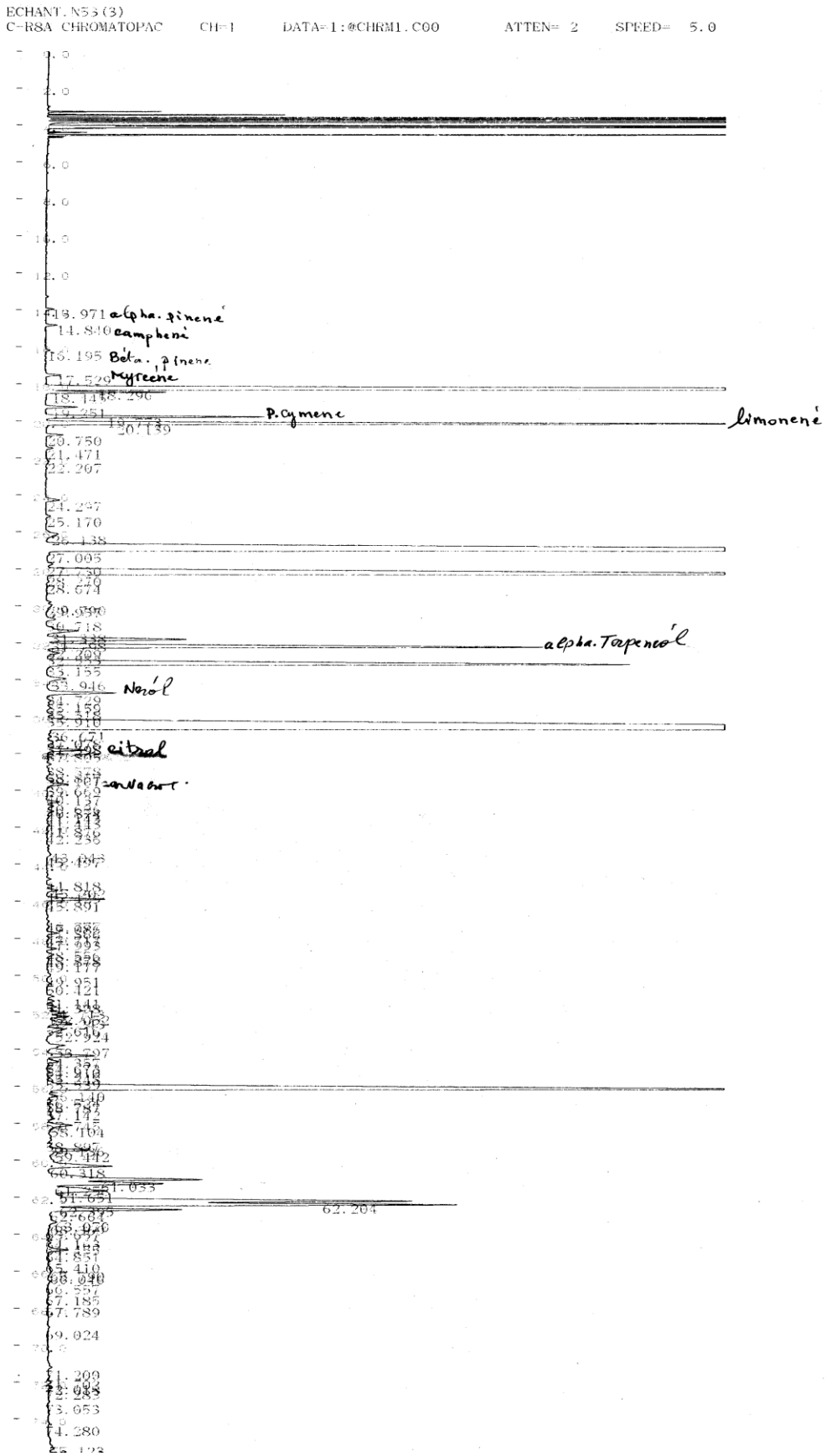
المركبات المحتملة الموجودة في زيت *Cymbopogon schoenanthus* لشهر اكتوبر بواسطة كروماتوغرافيا *CPG*

النتائج و المناقشة

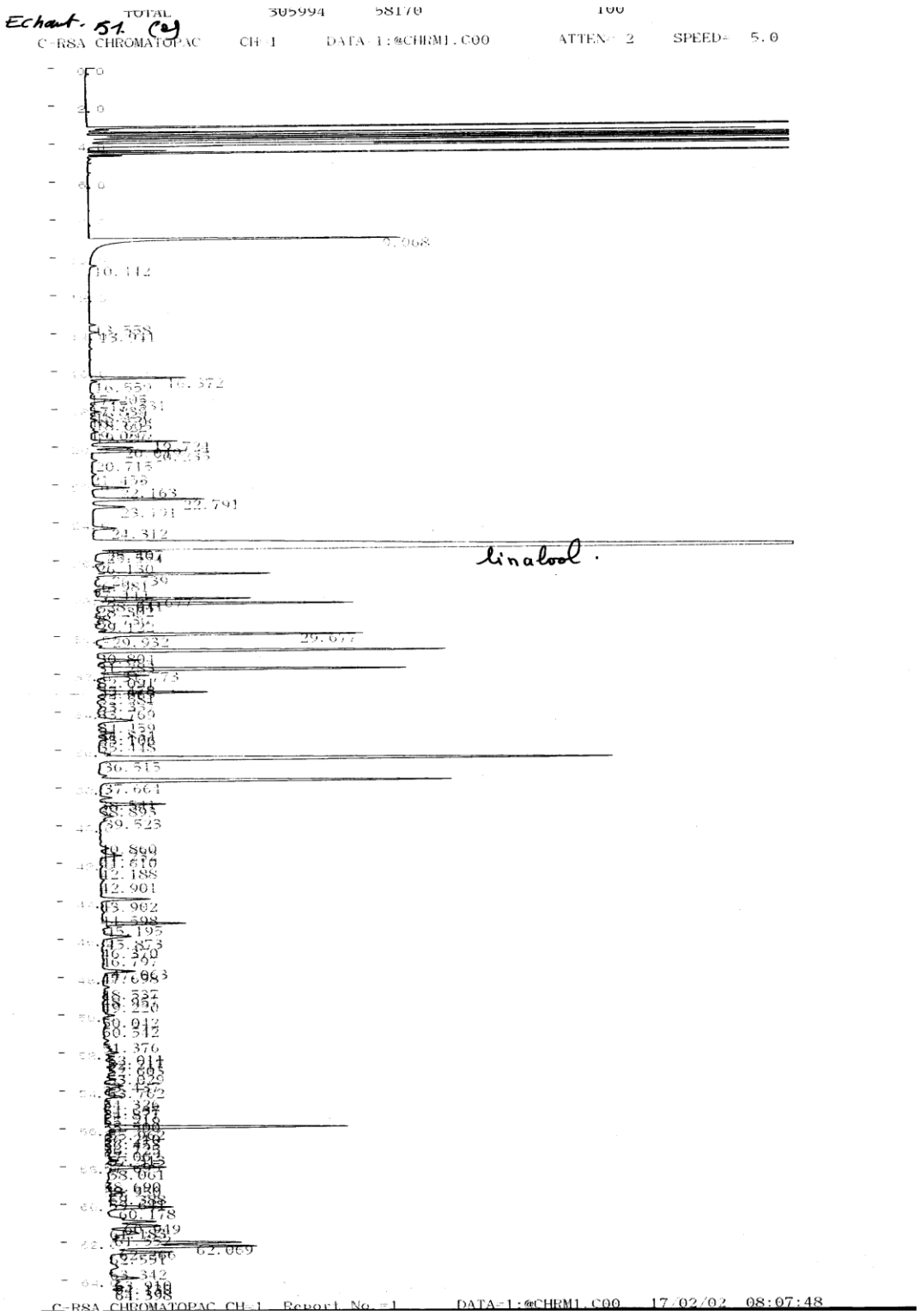
ان نتائج كروماتوغرافيا الطور الغازي CPG المتحصل عليها لزيتي النبتتين البردقوش و الاذخر تظهر و بالنظر الى الرسم الكروماتوغرافي (chromatogramme) ظهور نتؤات في شهر واختفاؤها في شهر اخر اوظهورها في نفس الاشهر ولكن بشدات مختلفة، فمثلا وجود نتؤ عند 10.51min في الرسم الكروماتوغرافي لزيت البردقوش في شهر اكتوبر واختفاؤه في الرسم الكروماتوغرافي في شهر جانفي ، اما عند الزمن 18.27min فهناك نتؤ في شهر اكتوبر بنسبة 6.35% اقل منه في شهر جانفي الذي كان بنسبة 11.54%، اما بالنسبة لزيت نبتة الاذخر وجود نتؤ عند 8.97min في شهر جانفي واختفاؤه في شهري اكتوبر و جوان ، و عند الزمن 25.24 min وجود نتؤ في شهري اكتوبر و جانفي و اختفاؤه في جوان(Linalool)، وعند الزمن 36.36 min وجود نتؤ بنسبة 8.67 % في شهرجانفي بينما بنسبة % 2.77 في شهر جوان و بنسبة 8.67 % في شهر اكتوبر.هذه النسب المتفاوتة من شهر لاخر و اختفاؤها في بعض الاشهر مرده الى ان النبات ينتج مركبات كيميائية بنسب مختلفة قصد الحماية من جهة من بعض الحشرات الضارة وكذا لجلب بعض الحشرات النافعة لاجل التلقيح.



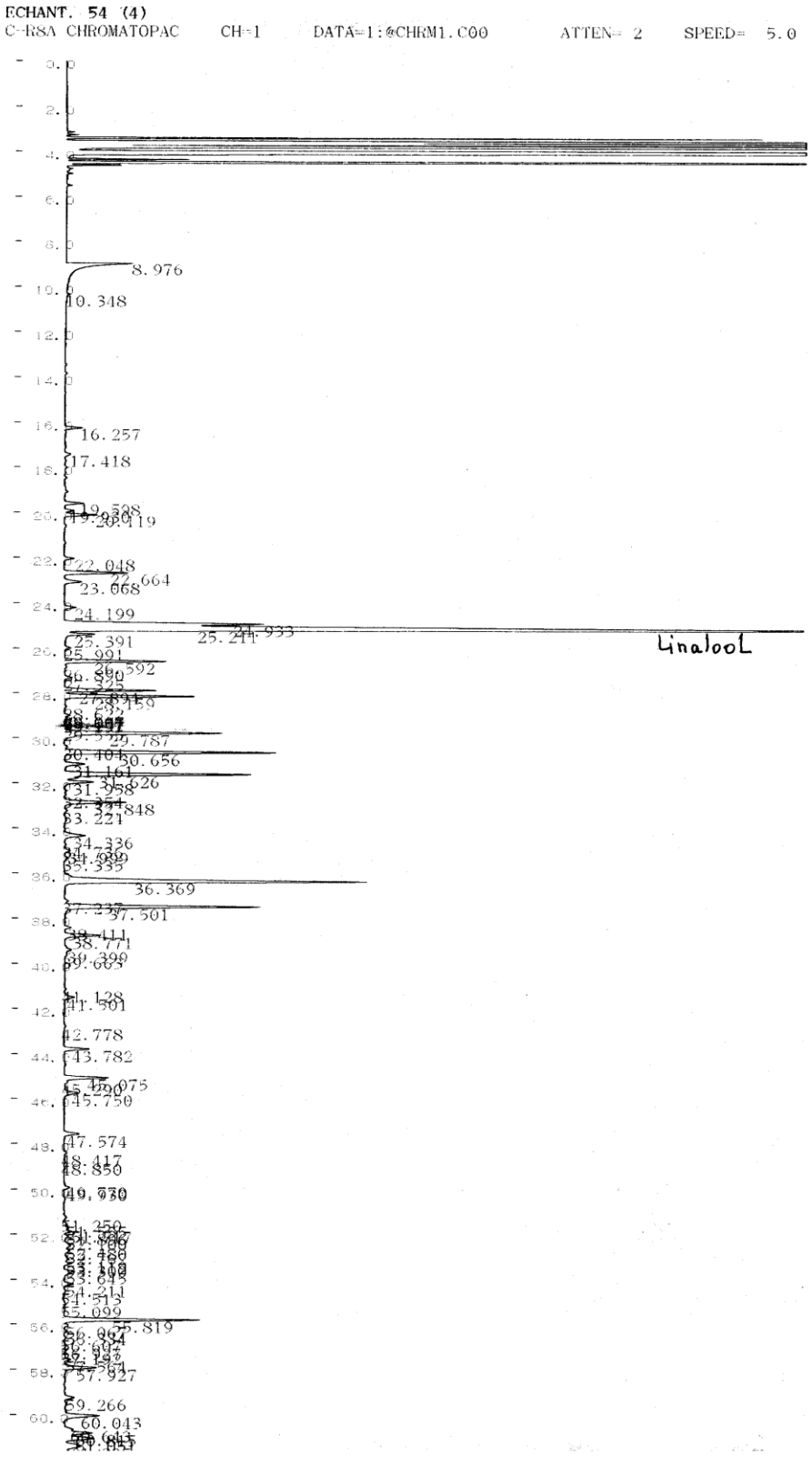
الرسم الكروماتوغرافي لزيت *Origanum majorana L* لشهر اكتوبر



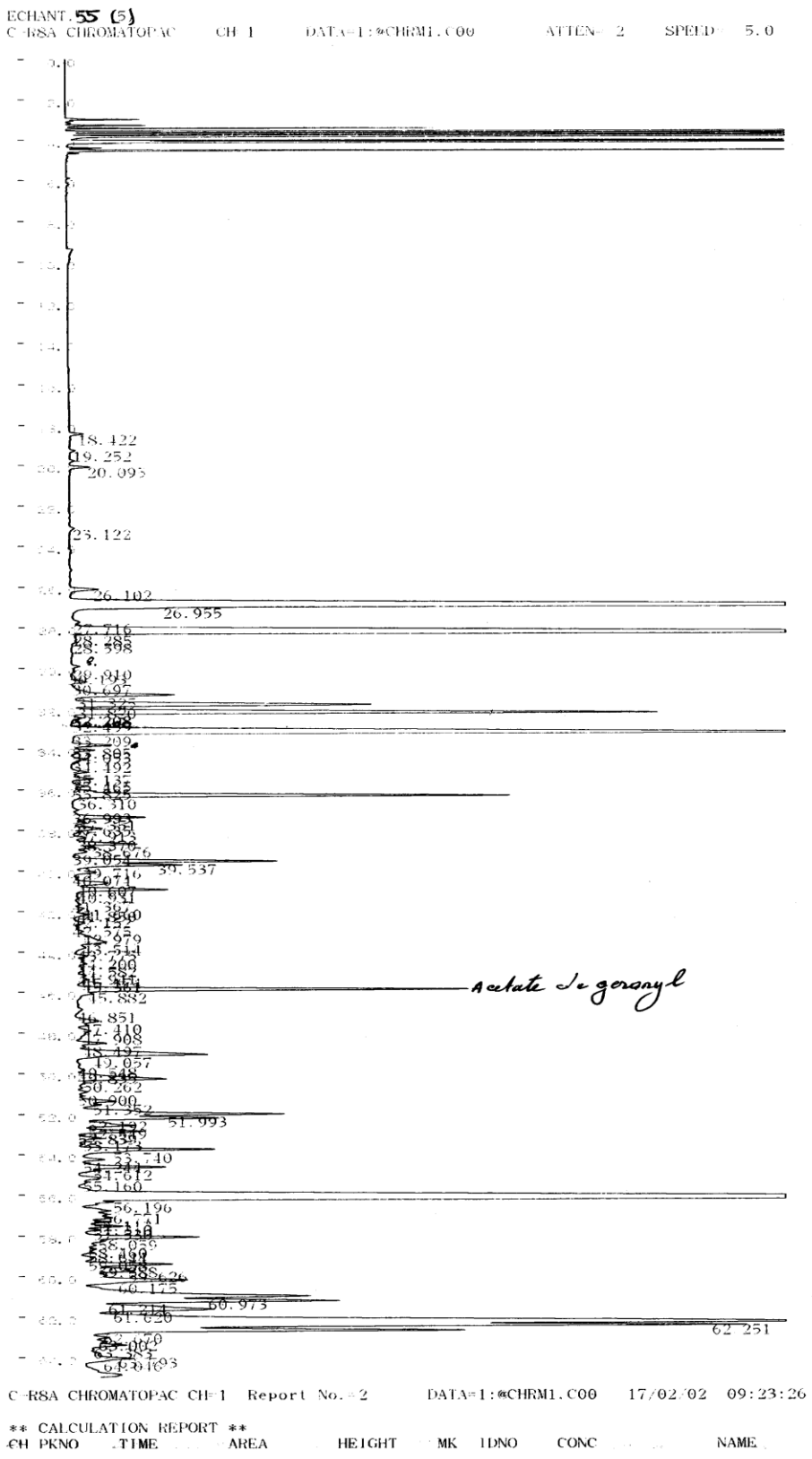
الرسم الكروماتوغرافي لزيت *Origanum majorana L* لشهرجانفي



المركبات المحتملة الموجودة في زيت *Cymbopogon schoenanthus* *لشهراكتوبر بواسطة كروماتوغرافيا CPG*



المركبات المحتملة الموجودة في زيت *Cymbopogon schoenanthus* *لشهرجانفي بواسطة كروماتوغرافيا CPG*



المركبات المحتملة الموجودة في زيت *Cymbopogon schoenanthus* لشهرجوان بواسطة كروماتوغرافيا *CPG*

I -14- التقدير الكمي للفينولات الكلية

تم تعيين كمية المركبات الفينولية الكلية باستخدام الطريقة اللونية لـ Singleton and Rossi [52]، باستخدام كاشف فولين Folin–Ciocalteu في وسط قاعدي، يتكون كاشف فولين من حمض فوسفوتنغيستينيك (acide phosphotungstenique $H_3PW_{12}O_{40}$) وحمض فوسفوموليبديك (acide phosphomolybdique $H_3PM_{12}O_4$) و الذي يرجع بواسطة المجموعات المؤكسدة للمركبات الفينولية الى اكاسيد معدنية ذات لون ازرق.عند شدة امتصاصية عضمى، تظهر هذه الاكاسيد المعدنية علاقة بكمية المركبات الفينولية الموجودة في العينات .[53]، في هذه الطريقة استعملنا حمض الغاليك كمرجع شكل (5).

I -1-14- تحضير المحلول المعياري

نحضر محلول عياري من حمض الغاليك بتركيز 0.3g/l ثم نحضر منه سلسلة عيارية ممدة بتراكيز (0.3g/l–0.02g/l) ناخذ 100µl من كل محلول عياري و نضيف له 500µl من كاشف فولين ممدد عشر مرات (500mM) ، ثم نضيف له 2ml من محلول كربونات الصوديوم 20% (Na_2CO_3)، يمزج الناتج ويحفظ في درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة، ثم نقيس الامتصاصية بجهاز مطياف (UV– visible spectrophotometer –Shimadzu) عند طول موجة 760nm.

I -2-14- تحضير العينات

ناخذ 100µl من العينتين ممددة 10مرات و نضيف لها نفس المحاليل التي اضيفت للمحاليل المعيارية لحمض الغاليك وقيست الامتصاصيات عند طول موجة 760nm. قدرت كمية المركبات الفينولية الكلية في المستخلصات البيوتانولية للعينات من المنحنى القياسي لحمض الغاليك و عبر عنها بالميليغرام من حمض الغاليك المكافئ اكل 100غرام من الوزن الجاف للمادة النباتية (mgGAE/100g DW) و لحساب كمية المركبات الفينولية الكلية طبقنا العلاقة التالية

$$C(mg/g)= \frac{A}{K} x\ F x \frac{V}{P}$$

حيث ان

A : الامتصاصية عند 760nm

K:هو ميل المنحنى القياسي لحمض الغاليك (GA)

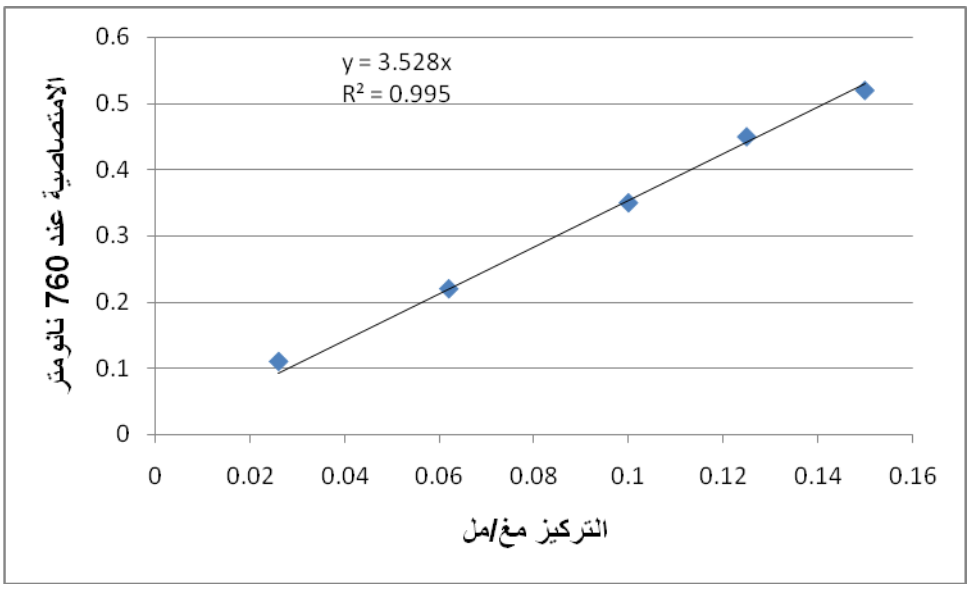
F: التمديد معامل بالنسبة للمستخلصات

C: كمية المركبات الفينولية الكلية

V: حجم المذاب فيه الخلاصة الفينولية

P:الكتلة الابتدائية للعينة الجافة بالغرام

DW: الوزن الجاف



شكل (5) المنحنى العياري لحمض الغاليك

I -15- تعيين كمية الفلافونيدات

تم تحديد كمية الفلافونيدات الكلية وفق الطريق اللونية لكلوريد الالومينيوم التي وصفها Chang et ell [54]، و اعتمدنا على طريقة Woisky and Salatino. [55]، تعتمد في تقدير الفلافونيدات على قدرة تكوين المعقد الاصفر بين ثلاثي كلوريد الالومينيوم $AlCl_3$ مع مجموعة الهيدروكسيل OH الموجودة في الحلقات البنزيلية للفلافونيدات، النتائج المتحصل عليها نعبر عنها بالمليغرام من الكرستين المكافئ لكل 100غرام من الوزن الجاف من المادة النباتية (QE/100gDW) ولحساب كمية المركبات الفلافونودية الكلية طبقنا العلاقة التالية

$$C'(mg/g)= \frac{A'}{K'} \times F' \times \frac{V}{P}$$

حيث ان

A' : الامتصاصية عند 430nm

K':هو ميل المنحنى القياسي لحمض الغاليك (QE)

F': التمديد معامل بالنسبة للمستخلصات

C': كمية الفلافونيدات الكلية

V: حجم المذاب فيه الخلاصة الفينولية

P:الكتلة الابتدائية للعينة الجافة بالغرام

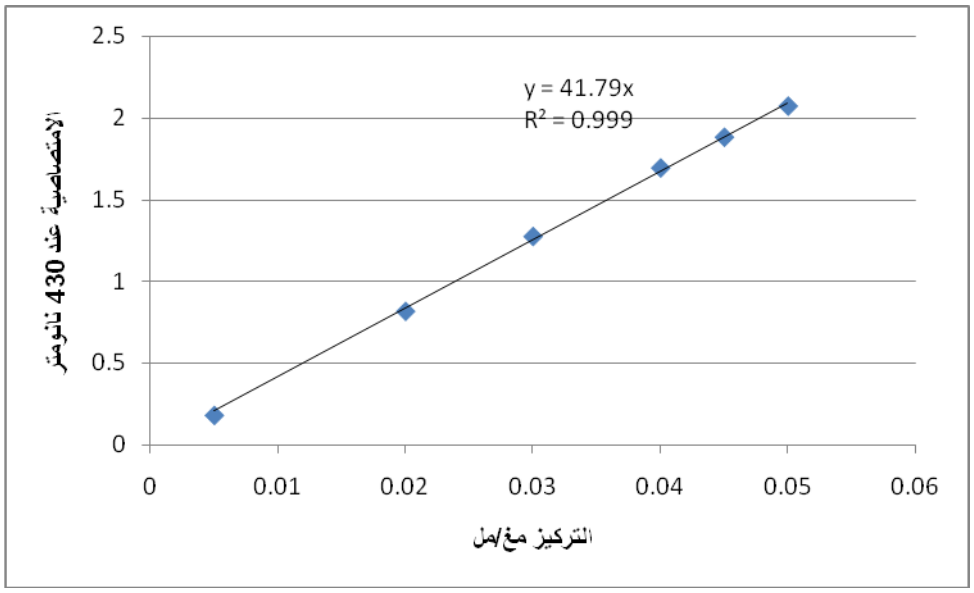
DW: الوزن الجاف

I -1-15- تحضير المحلول المعياري

نحضر محلول عياري من الكرستين بتركيز (0.1g/l) ثم نحضر منه محاليل معيارية بتراكيز تتراوح بين (0.1-0.005g/ l)، نأخذ 100µl من المحاليل الممددة ونضيف لها 1ml من محلول ثلاثي كلور الالمينيوم (10٪) ثم نضع المحاليل في الظلام لمدة ساعة عند درجة حرارة الغرفة بعدها نقرأ الامتصاص عند 430 nm.

I -2-15- تحضير العينات

ناخذ 100µl من كل من العينتين ممددة 10مرات و نضيف لها نفس اضافات المحاليل المعيارية من الكرستين و قيست الامتصاصيات عند 430 nm قدرت كمية المركبات الفلافونيدية الكلية في المستخلصات البيوتانولية للعينتين من المنحنى القياسي للكرستين و نعبر عنها بالميليغرام من الروتين المكافئ لكل 100غرام من الوزن الجاف للمادة النباتية (QE/100gDW)



شكل (6)المنحنى العياري للكرستين

I -16- النتائج والمناقشة:

I -16-1-المردودوالثوابت الفيزيائية و الكيميائية:

من خلال النتائج المتحصل عليها بالنسبة لزيتي النبتتين و المردود وكذا الثوابت الفيزيائية والكيميائية نلاحظ ان بالنسبة لزيت نبتة البردقوش كان المردود يتراوح بين0.45% و0.70% وكانت أكبر نسبة في شهر جوان شهر الإزهار و قد تعزى هذه القيمة في هذا الشهر الى اكتمال النمو مما يؤدي الى تكوين كمية من الزيت في الاوراق. الدراسة التي قامت بها Khoulkhal fatima على زيتي نبتتي Thymus ciliatus ssp coloratus et ssp euciliatus (من شهر مارس الى شهر سبتمبر) اظهرت إن مردود الزيت الطيار يتزايد قبل مرحلة الإزهار إلى أن يبلغ أكبر قيمة عند الإزهار ثم بعد ذالك يتناقص(جويلية هو شهر الإزهار)، أما بالنسبة للكثافة فكانت ما بين 0.837 و 0.851 وكانت القيمة الصغرى في شهر جوان وقد يعزى هذا الى درجة الحرارة التي بزيادتها تقلل من كثافة الزيت، أما بالنسبة لقرينة الانكسار فبقيت تقريبا ثابتة. قيمة ثابت الحموضة IA كانت تتراوح قيمته بين 1.00 إلى 1.12 وهي أقل من 2 و بالتالي فهو يعتبر متعادل غذائيا فهو يصلح للاستعمال الادمي [56].

أما بالنسبة لزيت الأذخر كان المردود يتراوح بين0.40% و0.63% وكانت أكبر نسبة في شهر جوان شهر الإزهار و قد تعزى هذه القيمة في هذا الشهر إلى إكتمال النمو مما يؤدي الى تكوين كمية من الزيت في النبات. أما بالنسبة للكثافة فكانت ما بين 0.797 و 0.801 وكانت تقريبا متقاربة فكانت القيمة الصغرى في شهر اكتوبر والقيمة الكبرى كانت في شهر مارس. أما بالنسبة لقرينة الانكسار فبقيت تقريبا ثابتة.قيمة ثابت الحموضة IA كانت تتراوح قيمته بين 2.61 إلى 3.05 حيث تاخذ اقل قيمة في شهر اكتوبر و أعلى قيمة في شهر جوان وهي أقل من 5 ،وبالتالي فهو يعتبر متعادل غذائيا [57] .

I -16-2- تقدير كمية المركبات الفينولية الكيلية و الفلافونويدات

قدرت كمية المركبات الفينولية الكلية باستعمال المنحنى القياسي لحمض الغاليك acide Gallic كما في الشكل (5) ، إذ حسبت المركبات الفينولية الكلية بالميليغرام على أساس حمض الغاليك المكافئ بالنسبة لـ 100 غرام من الوزن الجاف، يبين الجدول (16) الكمية الكلية للمركبات الفينولية لمستخلص الايثانول لنبتة البردقوش خلال أشهر القطف (جوان، اكتوبر، جانفي، مارس) فكانت تتراوح بين 3671.88 (mg/100g) و 3485.30 (mg/100g) فكانت أعلى قيمة في شهر جوان و أدنى قيمة في شهر جانفي وقد يفسر هذا على أن في شهر جوان هو شهر الإزهار وبالتالي يميل النبات الى تكوين العديد من المركبات الفينولية عنه بالنسبة لشهر جانفي.

أما بالنسبة للفلافونيدات فقد قدرت كمية الفلافونويدات باستعمال المنحنى القياسي للكرستين إذ حسبت المركبات الفلافونيدية بالميليغرام على أساس الكرستين المكافئ بالنسبة لـ 100 غرام من الوزن الجاف، يبين الجدول (16) الكمية الكلية للمركبات الفلافونيدية لمستخلص الايثانول لنبتة البردقوش خلال اشهر القطف (جوان، اكتوبر، جانفي، مارس) فكانت تتراوح بين 109.56(mg/100g) و 132.76(mg/100g) فكانت أعلى قيمة في شهر جوان و أدنى قيمة في شهر مارس وقد يفسر هذا

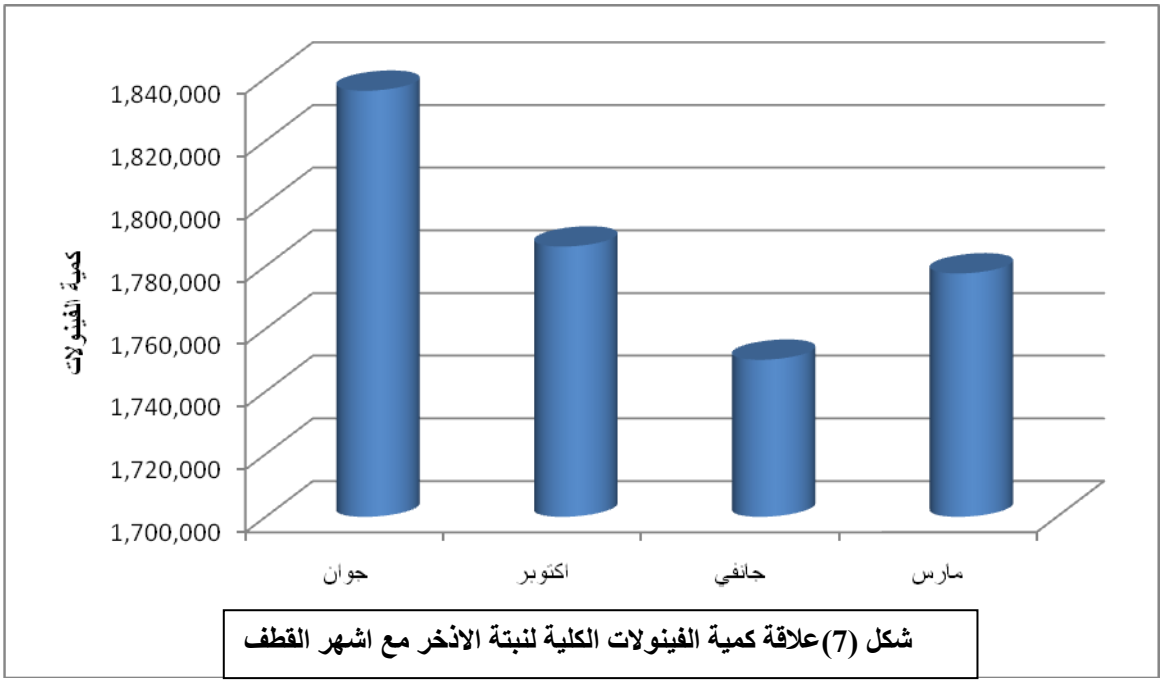
على ان في شهر جوان هو شهر الإزهار وبالتالي يميل النبات الى تكوين العديد من المركبات الفلافونيدي عنه بالنسبة لشهر مارس.

أما بالنسبة لنبتة الأذخر يبين الجدول (17) الكمية الكلية للمركبات الفينولية لمستخلص الايثانول لنبتة الأذخر خلال اشهر القطف (جوان، اكتوبر، جانفي، مارس) فكانت تتراوح بين 1750.11 (mg/100g) و 1835.94 (mg/100g) فكانت أعلى قيمة في شهر جوان و أدنى قيمة في شهر جانفي وقد يفسر هذا على ان في شهر جوان هو شهر الإزهار وبالتالي يميل النبات الى تكوين العديد من المركبات الفينولية عنه بالنسبة لشهر جانفي.

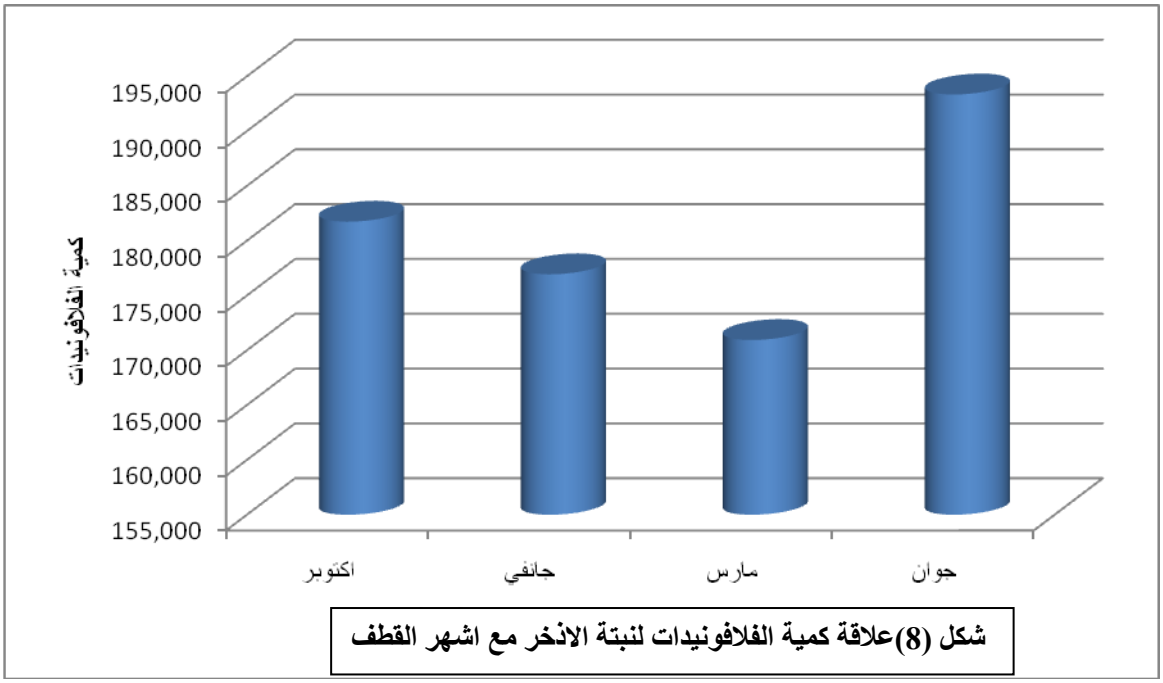
اما بالنسبة للفلافونيدات فقد قدرت كمية الفلافونويدات باستعمال المنحنى القياسي للكرستين إذ حسبت المركبات الفلافونيدية بالميليغرام على أساس الكرستين المكافئ بالنسبة 100 غرام من الوزن الجاف ، يبين الجدول (17) الكمية الكلية للمركبات الفلافونيدية لمستخلص الايثانول لنبتة الاذخر خلال اشهر القطف (جوان، اكتوبر، جانفي، مارس) فكانت تتراوح بين 170.94(mg/100g) و 193.34(mg/100g) فكانت أعلى قيمة في شهر جوان و أدنى قيمة في شهر مارس وقد يفسر هذا على أن في شهر جوان هو شهر الإزهار وبالتالي يميل النبات الى تكوين العديد من المركبات الفلافونيدي عنه بالنسبة لشهر مارس.

مستخلص البيوتانول / أشهر القطف	الفينولية الكيلية (mg/100g)	الفلافونويدات(mg/100g)
جوان	1835,940	193,345
اكتوبر	1786,231	181,742
جانفي	1750,110	176,940
مارس	1777,653	170,943

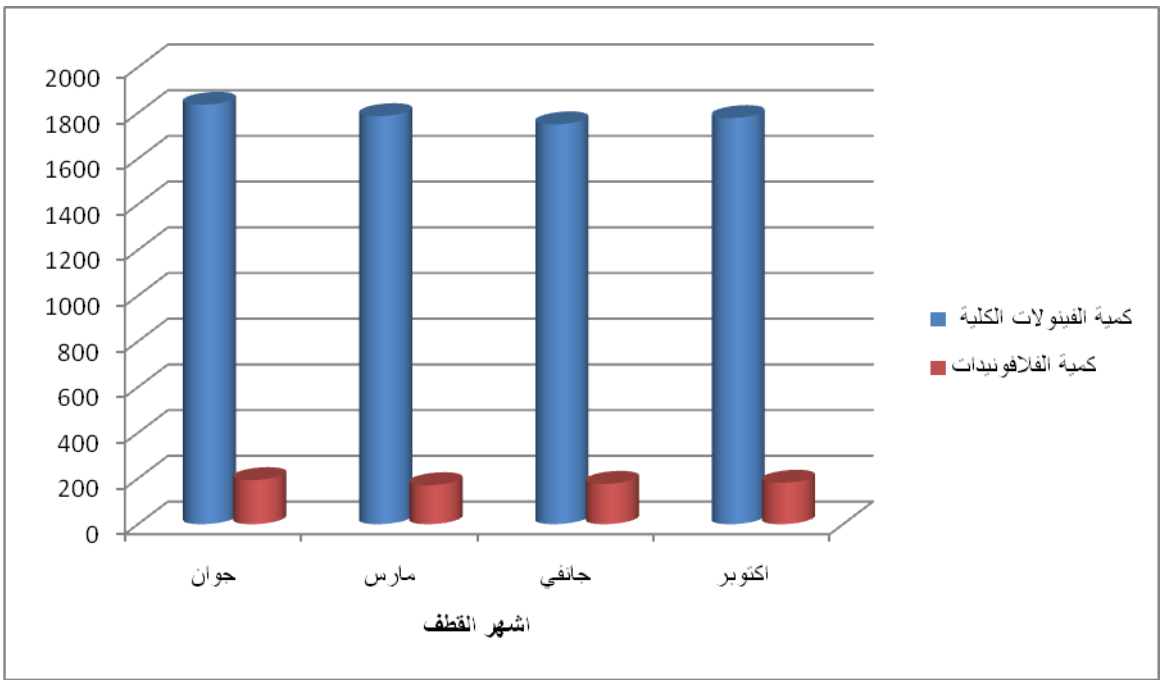
جدول(16) كمية المركبات الفينولية الكيلية و الفلافونويدات لمستخلص البيوتانول لنبتة الاذخر



شكل (7)علاقة كمية الفينولات الكلية لنبتة الاذخر مع اشهر القطف



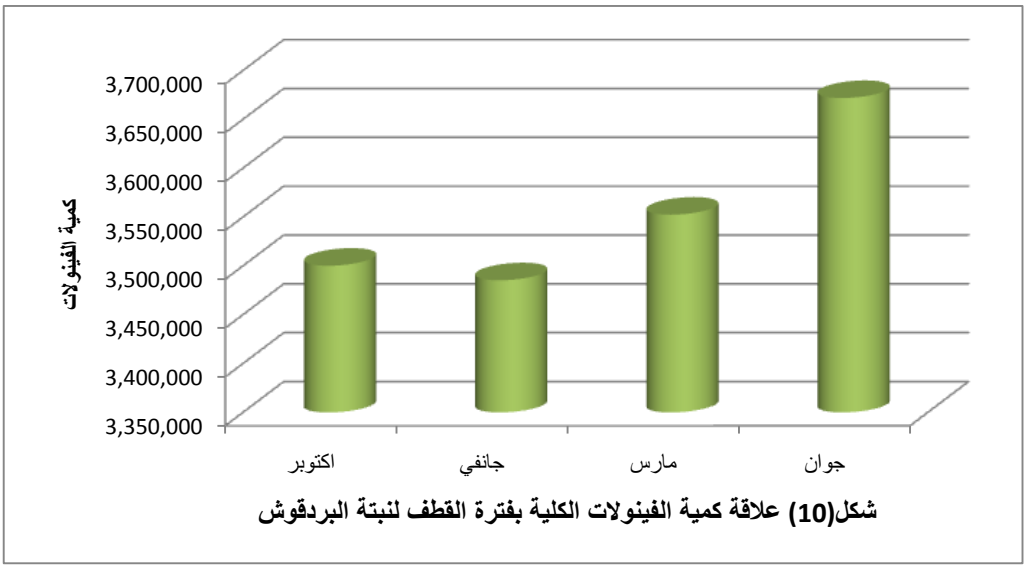
شكل (8)علاقة كمية الفلافونيدات لنبتة الاذخر مع اشهر القطف



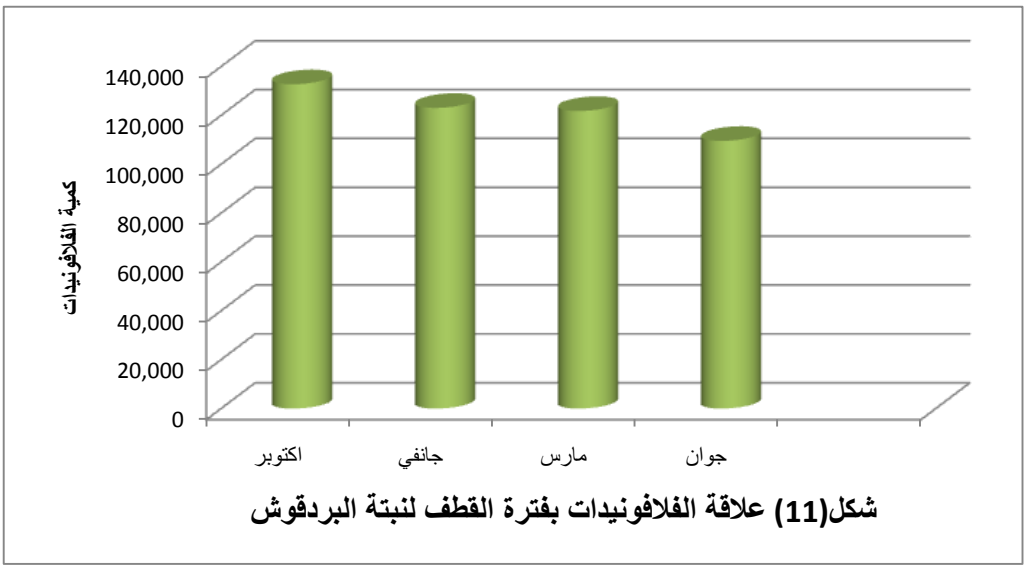
شكل (9)علاقة كمية الفينولات الكلية و الفلافونيدات لنبتة الاذخر مع اشهر القطف

مستخلص البيوتانول / التاريخ	الفينولية الكيلية (mg/100g)	الفلافونويدات(mg/100g)
جوان	3671,881	132,766
اكتوبر	3500,228	123,098
جانفي	3485,302	121,809
مارس	3552,470	109,564

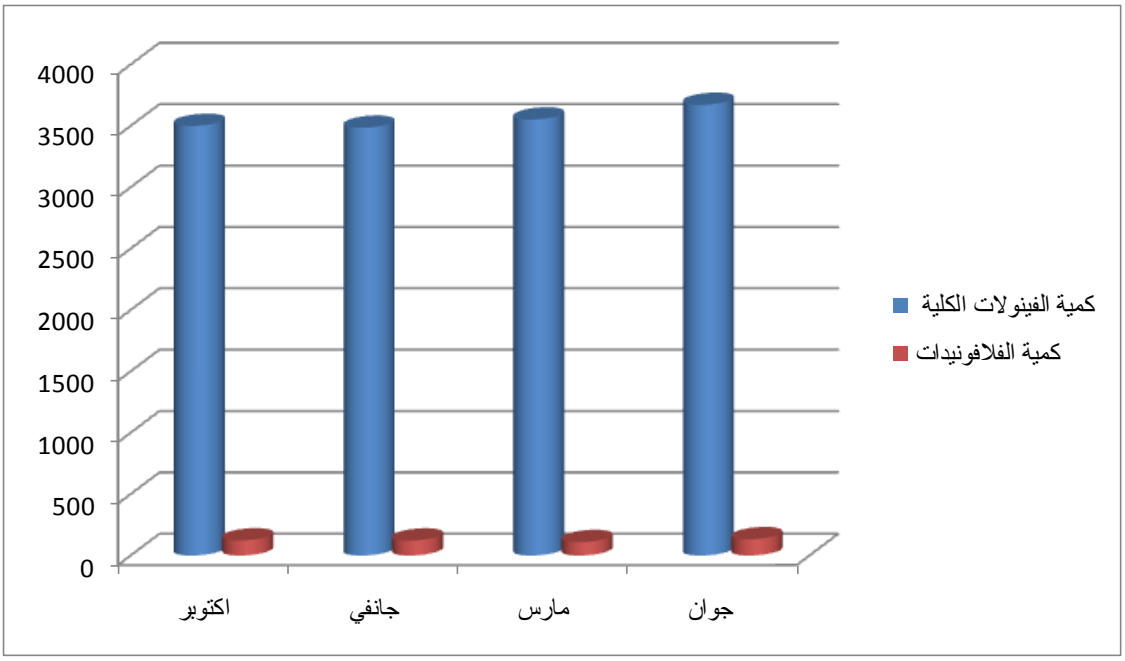
جدول (17) كمية المركبات الفينولية الكيلية و الفلافونويدات لمستخلص البيوتانول لنبتة البردقوش



شكل(10) علاقة كمية الفينولات الكلية بفترة القطف لنبتة البردقوش



شكل(11) علاقة الفلافونيدات بفترة القطف لنبتة البردقوش



شكل (12)علاقة كمية الفينولات الكلية و الفلافونيدات لنبتة البردقوش مع اشهر القطف

المراجع بالعربية

[1]- حوة ابراهيم ،'دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية و الفعالية ضد الاكسدة ' مذكرة ماجستير جامعة ورقلة 2013م.

[2]– العابد إبراهيم، دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران Traganum nudatum ، مذكرة ماجستير جامعة ورقلة (2000).

[3] – الخفاجي . النباتات الطبية . العقاقير العربية ، الإسكندرية (1995) ص. 1–31 .

[5] – الحازمي ، ح ، م (1995) . المنتجات الطبيعية . الطبعة الثانية . عماد شؤون المكتبات ، جامعة الملك سعود (السعودية) .

[6] – م.عبد العزيز ، أ.م.مجاهد ، النبات العام ، الطبعة الخامسة ، 1993 ، المكتبة الأنجلو مصرية القاهرة ، 73–143 .

[16] - الصيدلاني غسان حجاوي ، الصيدلانية حياة حسين السيمي ،رولا محمد جميل قاسم ، 'علم العقاقير والنباتات الطبية 'المكتبة الطبية 3 ، 2004م .

[17] - 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 .

[20] - د.محمود صالح سراج علي، تأثير استزراع النباتات الطبية البرية على خواصها الكيميائية والحيوية، جامعة الملك فيصل السعودية، 1423 هـ.

[22]– د.حليمي عبد القادر، النباتات الطبية، وزارة الفلاحة،الجزائر،1997.

[25] - د . مينا حنا جندى بحث عن إقتصاديات إنتاج نبات البردقوش جامعة عين شمس كلية الزراعة 2008 ص 19 – 23 .

[26] - د-شكري ابراهيم سعد "النباتات الزهرية "دكتور بجامعة الإسكندرية دار الفكر العربي طبعة 1421ه-2000م ص241.

[27]- د. فوزي محمود سلامة "تصنيف النباتات الزهرية "جامعة التحدي ،الدار الدولية للنشر والتوزيع القاهرة /مصر ،طبعة 1994م.

[28] – د. عبد الباسط محمد سيد "موسوعة الأم للعلاج بالأعشاب والنباتات الطبية "دار ألفا للتوزيع والنشر، الطبعة الرابعة 1431ه-2010م.

[29] – د. شحات نصر أبوزيد "فسولوجيا وكيمياء الزيوت الطيارة للنباتات العطرية "دار المريخ للنشر ص 29.

[31] – محمد السيد هيكل ، ع . عبد الرزاق عمر ، النباتات الطبية و العطرية – كيمياؤها – إنتاجها– فوائدها ، الطبعة الثانية ، 1993 ، منشآت المعارف الإسكندرية ، 13– 134

[34] – الدكتور أحمد فرج العطيات ، النباتات الطبية و العطرية في الوطن العربي زراعة و تصنيع النباتات الطبية في الوطن العربي . المؤسسة العربية للدراسات و النشر ص21–22.

[35]- د. أحمد شمس الدين 'التداوي بالأعشاب والنباتات قديما وحديثا 'دار الكتب العلمية ،منشورات محمد علي بيضون –بيروت – لبنان ص 41-42 .

[50]- فؤاد عبد العزيز أحمد الشيخ، 1993 ، صناعة الزيوت والدهون،دار النشر لمجامعات المصرية الطبعة الأولى.

[51]- الهيئة العربية السعودية للمواصفات والمقاييس، 1911 ، طرق الاختبار الفيزيائية والكيميائية للزيوت والدهون النباتية المعدة للطعام.

المراجع بالفرنسية

[4] –BRUNETON J., Pharmacognosie Phytochimie Plantes Médicinales, 3édition , Paris, 1999.
[7] –MARKHAM K . R . , Techniques of flavonoid identication , Acadimic press, edition London, 1982 , p. 6-10 .
[8] –GUIGNARD J.,COSSON L.,.HENRY M., Abrège Phytochimie, 1985.
[9] – Rizk, A. M., Heiba, H. I., Ma'yergi, H. A., and Batanouny, K. H. (1996) Fitoterapia, 57(1)p.3.[12] Heywood, V.H., Harborne. J.B.and Turner, B. L. (1977) Academic Press London.,pp. 359,
[10] – Elija Khatiwora , Vaishali B. Adsul, Manik M. Kulkarni, N.R. Deshpande and R.V Kashalkar, Spectroscopic determination of total phenol and flavonoid contents ofIpomoea carnea , International Journal of ChemTech Research,Vol.2, No.3, pp 1698-1701, July-Sept 2010.
[11] –J. González-Gallego, S. Sánchez-Campos y M. J. Tuñón, Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids, Nutr Hosp. 2007;22(3):287-93.
[12] – Géraldine Isorez, «Contribution à la chimie des flavonides Accés à des analogues de pigments du vins rouges ,Universite louis pasteur de strasbours école Doctorale de chimie (13/09/2007).
[13] –Abdelghafour Marfak, Radiolyse gamma des flavonoids . Etude de leur reactivite avec les radicaux issus des Alcools : Formation de depsides, Doctorat, Université de Limoges , 2003.
[14] –Séverine BRUNET, Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants.Doctorat, Université de TOULOUSE, 2008.
[15] –Min, B. R. Pinchak, W. E. Comparative antimicrobial activity of tannin extractsfrom perennial plants on mastitis pathogens, Scientific Research and Essay Vol.3 2), pp. 066-073, February 2008
[18] –A.Wioleta , Thése de Doctorat, Universitté Blacksburg, Virginia,1997.
[19] –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)
[21] –Claire Hoefler , née Vigeron, Contribution à lrétude pharmacologique des extraits de Rosmarinus officinalis L., et notamment des jeunes pousses activités cholérétiques, anti-hépatotoxiques,anti-inflammatoires et diurétiques, DOCTORAT, Université de IMET, 1994.

[23] –Naser Montazeri, Khalil Pourshmsian ,Zahra Barami and Safar-Ali Dorrieh, Essential Oil Analysis by Headspace Solvent Microextractioncoupled with Hydro-Distillation Method (HD-HSME) of Rosmarinus officinalis L. from Noshahr , Oriental Journal Of Chemistry, 2011, Vol.27, No. (4):Page.1317-1324.
[24] –Aligiannis, N., E.Kalpoutzakis, S. Mitaku andI.B. Chinou, 2001. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two *Origanum species*. J. Agar. Food Chem., 49:4168–4170.
[31] – Khanuja, S.P.S.; Shasany, A.K.; Pawar, A.; Lal, R.K.; Darokar, M.P.; Naqvi, A.A.; Rajkumar, S.; Sundaresan, V.; Lal, N.; Kumar, S. Essential oil constituents and RAPD markers to establish species relationship in Cymbopogon Spreng. (Poaceae). Biochem. Syst. Ecol. 2005, 33, p171–186.
[32] –Lemongrass Production: In Essential Oil Crops, Production Guideslenes for Lemongrass;A Publication of the Department of Agriculture, Forestry and Fisheries; Directorate Communication Services, Department of Agriculture, Forestry and Fisheries Pretoria: Pretoria, South Africa, 2012;pp. 1–26.
[33] –Dr.Abdelmadjide CHEHMA 'Catalogueldes Plantes Spontanées du Sahara Septentrional algérien'
[36] –Secoy, D.M.; Smith, A.E. Use of plants in control of agricultural and domestic pests. Econ. Bot 1983, 37, 28–57.
[37] –D. M. Maestri, J. A. Zygadlo, A. L. Lamarque, D.O. Labuckas, C.A. Guzma, Grasas Aceites, 47, 397. (1996).
[38] –I. Camele, V. De Feo, L. Altieri, E. Mancini, L. De Martino and G.L. Rana, J. Med. Food, 13, 1515 (2010)
[39] –L.F. Rolim de Almeida, F. Frei, E. Mancini, L. De Martino and V. De Feo, Molecules,15, 4309 (2010).
[40] –S. Hälvä, J. Agric. Sci. Finland, 59, 31 (1987).
[41] –E.H. Koschier, K.A. Sedy and J. Novak, Crop. Prot. 21, 419. (2002).
[42] –A.E. Edris, A. Shalaby, H.M. Fadel, Flav. Fragr. J. 18, 345 (2003).
[43] –J. Richter and I. Schellenberg, Anal. Bioanal. Chem., 387, 2207. (2007).
[44] –E. Vági, B. Simándi, A. Suhajda and E. Héthelyi, Food Res. Int., 38, 51(2005).
[45] –A. Dawidowicz and E. Rado, J. Pharm. Biomed. Anal., 52, 79 (2010).
[46] –K. Koba, K. Sanda, C. Raynaud, Y.A. Nenonene, J. Millet and J.P. Chaumont ,Ann. Méd. Vét., 148, 202-206. (2004).
[47] –Onadja,Y.2006,physical characterization of essential oil *Cymbopogon schoenanthus*.DEAin physics,(LCOA),Univ, Ouagadougou .
[48] –Khadri, A.; Serralheiro, M.L.; Nogueira, J.M.; Neffati, M.; Smiti, S.; Araújo, M.E. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of essential oils from *Cymbopogon schoenanthus* L.Spreng.Determination of chemical composition by GC-mass spectrometry and ^{13}C NMR. *Food Chem.***2008**, *109*, 630–637.

[49] –Bagheri, R.; Mohamadi, S.; Abkar, A.; Fazlollahi, A. Essential oil components of *Cymbopogon parkeri* STAPF from Iran. *Pak. J. Biol. Sci.* **2007**, *10*, 3485– 3486.

[52] - Singleton, V. L., Rossi, J.A., (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*,16: 144-158.

الفصل الثاني

النشاط المضاد للأكسدة

الباب الأول

الجانب النظري

II –1– الفعالية المضادة للأكسدة

تعتبر مضادات الأكسدة ثورة العالم الحديث فهي تعتبر مواد ذات أهمية بالغة كونها تحمي الجسم عن طريق محاربة الجذور الحرة و الناتجة عن الإجهاد التأكسدي مثلا و بذلك خلق التوازن بين المواد المؤكسدة من جهة و المواد المضادة للأكسدة من جهة أخرى[1]

II –2– مضادات الاكسدة

من المعروف أن الجذور الحرة يتم التغلب عليها بما يسمي المواد المضادة للأكسدة والتي تقوم بمعادلة الجذور الحرة في الخلايا الحيوانية و الأنسجة النباتية و لكن هذه المواد يقل محتواها تدريجيا وذالك بزيادة ظروف الإجهاد آو التقدم في السن[2].

II –3– تعريف الجذور الحرة:

تعتبر عملية أنتاج الجذور الحرة أو الشقوق الطليقة في الجسم من الأمور الطبيعية وتحصل نتيجة عملية تدعى الأيض الخلوي، وتعتبر بيوت الطاقة (الميتوكوندريا)داخل الخلية المصدر الرئيسي للإنتاج هذه الجذور و تتسرب من2% الى 5%من الأوكسجين المستخدم في الأيض الأوكسجيني داخل الميتوكندريا خارج النظام لتشكل ما يطلق عليها الجذور الحرة[3] . تجتمع الذرات في الجزيئات بروابط قوية بواسطة الكترونات حلزونية متعاكسة تكون حاملة لطاقة كافية قادرة على أن تؤدي إلى تخريب هذه الروابط وبهذا تؤدي الى ظهور وحدات كيميائية تمتلك إلكترون غير مرتبط على المدار الخارجي . تسمي هذه الوحدات الكيميائية الجذور الحرة[4] .

فالجذور الحرة هي أصناف كيميائية ذرية أو جزئية تحتوي على إلكترون أو أكثر غير مزدوج ، تتولد أثناء التفاعلات الكيميائية كمركبات وسطية و تنتهي بنهاية التفاعل منها :

*II –3- 1- الجذور الحرة الأحادية (الأولية) : تحتوي على إلكترون أحادي و متعادل مثل $H^{\bullet}$, $N^{\bullet}$, $F^{\bullet}$, $CL^{\bullet}$ ، $C^{\bullet}H_3$, $C^{\bullet}{}_6H_5$ ، $N^{\bullet}H_2$.

*II –3– 2– الجذور الحرة الثنائية (الثانوية) : تحتوي على إلكترونين أو أكثر غير مزدوج و متعادل مثل : $N^{\bullet\bullet}$ [5] $H\,C^{\bullet\bullet}$ [6] $H_2O^{\bullet\bullet}$ ذات أعمار قليلة جدا تصل إلى بيكرو ثانية(10^{-12} ثانية) و الميزة الغالبة على الجذور الحرة شدة الفعالية الكيميائية العالية [7][8] .

إن حجم الذرة و الوضعية الفراغية و الخاصية الميزوميرية لهذه العناصر لها علاقة مباشرة في استقرار أو عدم استقرار الجذر ، و تقسم على هذا الأساس إلى :

II –4– الجذور النشطة أو غير المستقرة :

هي مواد أكسيجنية نشطة وخاصة (OH)، (O_2) وهي مواد مؤكسدة قوية جداً وتقوم سريعاً بمهاجمة الجزيئات البيولوجية مثل جزيئات DNA مما يؤدي إلى خلل شديد في عمليات ميثابوليزم (Metabolism) واختلال وظيفي لا يمكن إصلاحه أو تعويضه مما يؤدي إلى هدم الخلايا الأنسجة النباتية،الحيوانية. هي التي لها أعمار قصيرة جدا أي غير مستقرة في الضرورة الإعتيادية لها أوزان جزئية صغيرة مثل جذر الهيدروجين ، الفلور ، الكلور $H_2O^{\bullet+}$, $I_2^{\bullet-}$, $C^{\bullet}H_3$, CH^{5+} , NO^{-} , $O^{\bullet}H$ و ما شابه ذلك ، طاقة تنشيطها تقترب من الصفر أثناء التفاعل[2] [4] .

II –5– الجذور المستقرة أو الصامدة :

هي التي لها أعمار طويلة تقدر بالثواني أو بالساعات أو حتى بالأيام مثل جذور ثلاثي فينيل مثيل (TP_3M) و جذور ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل (DPPH) و جذور ثنائي فينيل و أكسيد النيتريك (Ph_2NO) و مشتقاته . و نستطيع القول أن معظم الجذور الأروماتية التي تشمل على تراكيب رنينية متعددة في تركيبها تكون مستقرة في أغلب الأحيان ، فكلما زاد ثبات الجذر الحر قلت فعاليته ، و من الناحية الديناميكية الحرارية فإن قلة فعاليته تعود إلى أنه يحتاج إلى طاقة تنشيط عالية نسبيا أثناء التفاعل[9]

II – 6- متابعة حركية الجذور الحرة :

إن الجذور الحرة إما أن تكون ذات أعمار طويلة أو قصيرة ، القصيرة منها لا يمكن متابعة حركية تفاعلاتها إلا بالطرق الطيفية السريعة مثل أطياف تجزيء الكتلة و أطياف رنين البرم الإلكتروني ، أما الجذور المستقرة نسبيا فيمكن متابعة حركية تفاعلاتها في الطرق التقليدية مثل قياس التغير بالتوصيلة الكهربائية بوحدة الزمن ، أو التغير بالتركيز المولاري بوحدة الزمن ، أو التغير بحجم الغاز عن طريق التسحيح بالحامض أو القاعدة . و لكن أدق هذه الطرق هي قياس تغير كثافة الضوء الممتص بوحدة الزمن بواسطة أجهزة قياس أطياف الأشعة فوق البنفسجية – المرئية (UV–V) شرط أن يمتص الجذر الحر الضوء بمنطقة تختلف عن منطقة إمتصاص المادة الناتجة فمثلا يمتص الجذر ثلاثي فينيل المثيل (Ph_3C) الضوء عند 345 nm و عن 510 nm بينما يمتص ثلاثي ميثان (Ph_3CH) الضوء عند 262 nm فقط [5]

II – 7– تفاعلات الأكسدة الذاتية :

هناك الكثير من تفاعلات الأكسدة للمركبات العضوية تتم وفق آلية الجذور الحرة .

و الأكسدة العضوية هي تحول المركبات في وجود أكسجين الهواء و العوامل المساعدة على الأكسدة ، وجود كميات ضئيلة من بادئات الجذور الحرة الموجودة في الهواء و مدى حساسية المركبات للضوء [7] [8] [10] و يعتبر فساد الأطعمة من نتائج الأكسدة الذاتية ، فالسلاسل غير المشبعة في الأحماض الذهنية تتأكسد إلى أحماض كربوكسيلية ذات أوزان جزئية أقل ، معظمها ذات رائحة كريهة جدا . و يعتبر تلف معظم المواد

العضوية عند تعرضها للهواء و الضوء كجفاف الطلاءات ، و تغير تركيبة اللدائن و المطاط و تحول المذيبات إلى بروكسيدات أحد نواتج الأكسدة [11]

II – 8– تفاعلات الأكسدة في النظام البيولوجي :

بلا شك تعتبر التفاعلات الجذرية المساهم الأول في نمو الإنسان و الحفاظ عليه[6] ، و هذا لما تقوم به هذه التفاعلات من أدوار مهمة في العملية البيولوجية [7] حيث أن الخلايا تحتوي على الجذور الحرة لاسيما في مرحلة التصنيع الحيوي للمركبات الفعالةBoisynthèse أو في عمليات الهدم العادية للمركبات الفعالة boiactive. الأكسجين هو العنصر الأساسي للخلايا التي يتم فيها عملية الإحراق و هي عبارة عن تفاعل بين مركب عضوي و أكسجين الهواء ، و أهم ما ينتجه هذا التفاعل هي الطاقة التي تدخل في تصنيع العديد من المركبات منها المواد الخلوية ، بالإضافة إلى القيام بنشاطات وظيفية معقدة مثل الحركة ، النمو ، الإفرازات و الإمتصاص [12] .

من بين الأنواع الجذرية القابلة للتصنيع في الخلايا نميز مجموعة من المكونات و التي تلعب دورا خاصا في علم الخلايا و التي تدعى بالجذور الأولية مع مكونات بيوكيميائية في الخلية [13] مثلا سلاسل نقل les perox ysomes و cytochrome هذه الجذور تكون مسؤولة عن فساد ADN ، و التي هي أساس منشئ بعض الأمراض الشكل (12) مثل : السرطان ، مرض الشلل الإهتزازي ، مرض التصلب العضلي .

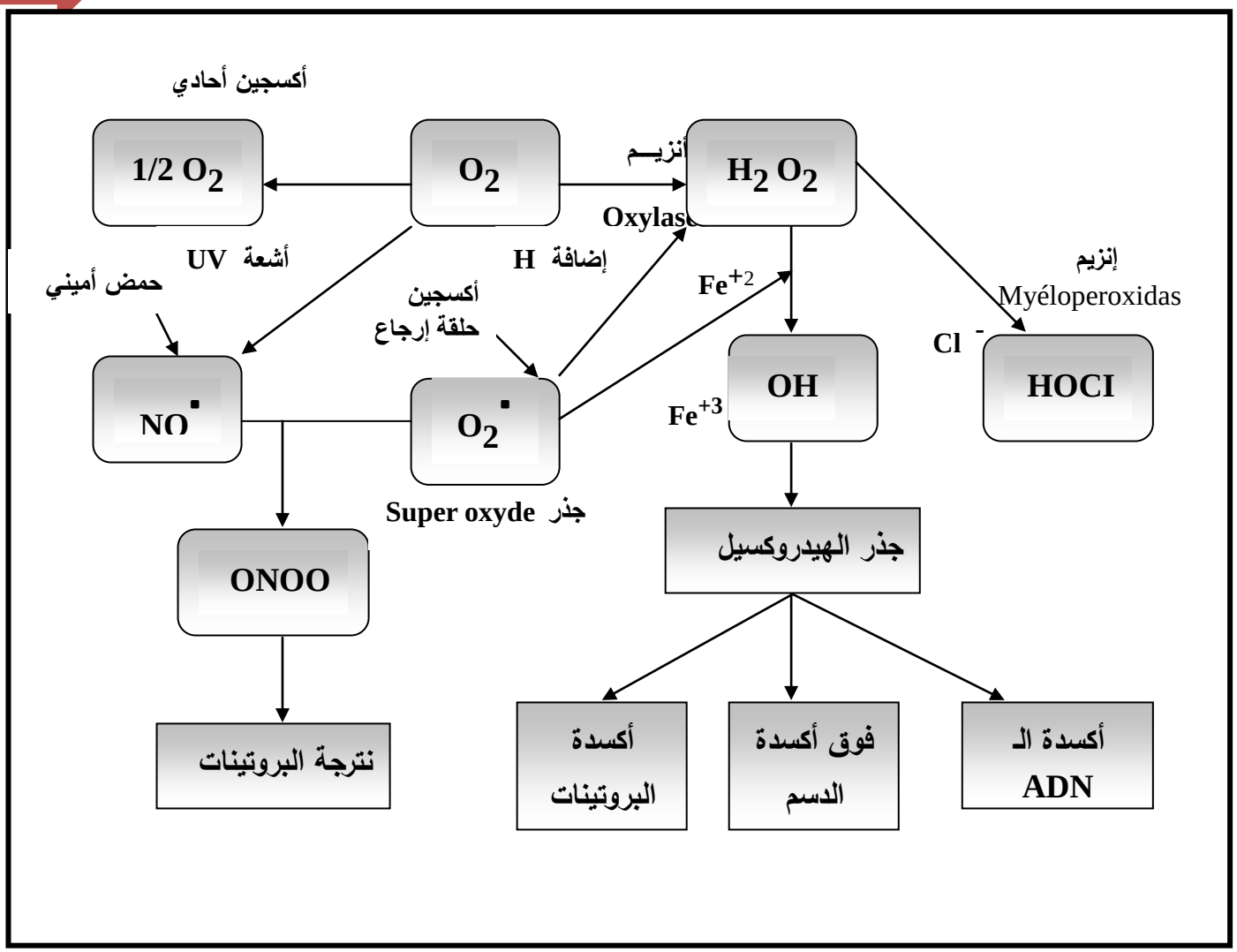
II –9– تعريف مضادات الأكسدة :

هي عبارة عن مواد مانحة لذرات الهيدروجين [14] [15] ، أو أنها تتحد مع الجذر و تحوله إلى مركب مستقر كما هو موضح في المعادلة التالية :

$$ROO^{\bullet} + AH_2 \longrightarrow ROOH + AH^{\bullet}$$

$$AH^{\bullet} + AH \longrightarrow A + AH_2$$

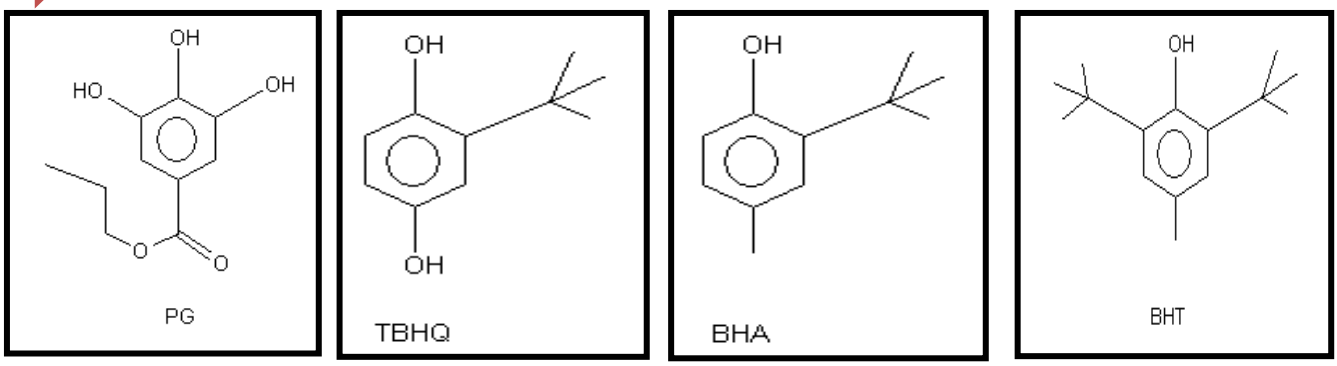
و الدور الأساسي لمضادات الأكسدة هو كسر سلسلة التفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة و تقسم مضادات الأكسدة من حيث مصادرها إلى الطبيعية و المصنعة .



المخطط رقم 3 : رسم تخطيطي يوضح مصدر مختلف الجذور الحرة المؤكسدة و أنماط تفاعلات الأكسجين المطبقة بيولوجيا

II – 9-1- مضادات الأكسدة المصنعة :

تعتبر عنصر أساسي يجب إضافته للأطعمة المعلبة للتقليل من إفسادها إلى أقصى حد و ذلك لتأكسدها قبل غيرها ، منها Butylhydroxyanisole (BHA) و Butylhydroxytoluene (BHT) و gallate propylée (PG) و tetre-butylhydroquinone (TBHQ) هذه المركبات واسعة الإستعمال في الصناعة الغذائية ، لأنها فعالة و قليلة التكلفة بالمقارنة مع المضادات للأكسدة الطبيعية [16] و غير السامة ، و لكن لها أضرار جانبية على المدى البعيد لذلك تم التخلي عنها في دول الإتحاد الأوروبي مؤخرا .



مضادات الأكسدة المستعملة في الصناعة الغذائية

II – 9-2- مضادات الأكسدة الطبيعية :

في الحالة الفيزيولوجية العادية فإن تركيز الجذور الحرة مثل $^{\bullet\bullet}O_2$, $HOO^{\bullet}$, $OH^{\bullet}$ تكون مراقبة من طرف الخلايا التي تستعمل العديد من الإستراتيجيات المضادة للأكسدة و تستهلك طاقة كبيرة من أجل مراقبة مستوى تفاعلات الأكسجين ، بإستعمال وسائل دفاع طبيعية ذاتية داخلية مثل إنزيمات (Peroxydases , catalases , superoxyde dismutases) و عوامل مضادة للأكسدة و التي تستخرج من الغذاء (مضادات خارجية) كالفيتامين C (Acide ascorbique) الفيتامين ubiquinone Q ( ) و حمض اليوليك (Acide urique) , vitamine E و الجزريات و التي تستخلص من الغذاء ، فتشكل فخ للجذور الحرة و تقتبض على الإلكترونات الحرة و تحولها إلى مركبات ثابتة [17] . و مما سبق يمكن أن نعرف مضادات الأكسدة بأنها مواد داخلية المصدر أو خارجية تستطيع أن تعدل أو تصلح الإتلاف الذي سببته الجذور الحرة .

II – 9-2- 1- فيتامين ج:Vitamin-C

يسمى، كذلك، بحمض الأسكوربك Ascorbic acid و هو مضاد أكسدة يذوب في الماء ؛ ويعمل داخل الخلايا ويستطيع اختزال الجذور الحرة من معظم مصادرها،كما يعمل على مساندةالنظام الدفاعي للجسم ويستخدم أيضاً ضمن آليات الجسم لإزالة سمية بعض المواد الكيميائية وله دور هام في عملية الأكسدة والاختزال في الجسم .كما أن لهذا الفيتامين دوراً مضاداً للموت الخلوي المبرمج ويؤثر أيضاً على بعض المواد المضادة للتكاثر .وبصفة عامة يلعب فيتامين ج دوراً هاماً في الحفاظ على الصحة العامة ومقاومة الأمراض وتقوية الأغشية الخلوية وإبطال فعل السموم والجذور الحرة. ولأن جسم الإنسان لا يستطيع إنتاج

هذا الفيتامين، يجب تناول الأطعمة التي تحتوي على ه كالحمضيات وخاصة من قبل الأشخاص المدخنين. [18]

II – 9–2– 2– فيتامين ه : Vitamin-E

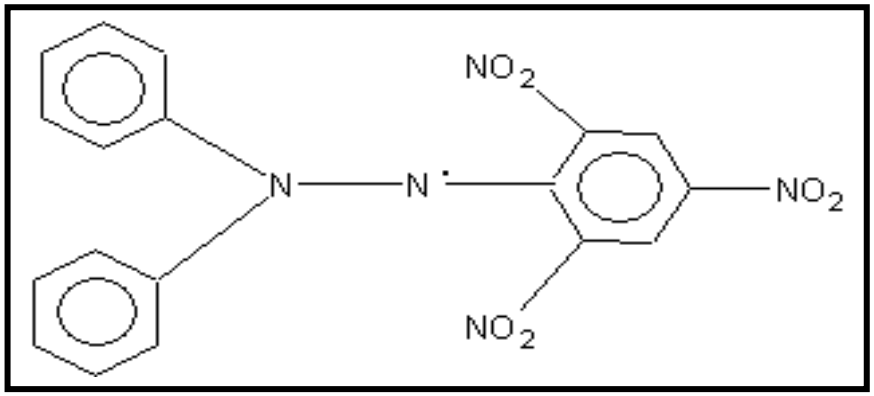
يعتبر فيتامين ه من أكثر مضادات الأكسدة ذوبانية في الدهون وتعرف مركباته بالتوكوفيرولات Tocopherols والتوكوترينولات Tocotrenols ومن أهمها مركب ألفاتوكوفيرول الذي يلعب دوراً حيوياً في حماية الأغشية الخلوية من التلف التأكسدي وبالتالي منع الكولسترول من الالتصاق بجدران الشرايين حيث إن هذا الفيتامين يقوم باقتناص الجذور البيروكسية في الأغشية الخلوية ولذلك يطلق عليه تعبير " كاسح الجذور" Radicals Scavenger . كما يعادل تأثير بعض الجذور الحرة الأخرى وبالتالي يعمل على الوقاية من بعض الأمراض .كما تعمل مركبات فيتامين – ه على منع أكسدة بعض العناصر الغذائية وإعاقة سلسلة التفاعلات التي تؤدي إلى أكسدة الدهون والزيوت وذلك بمعادلة مركبات أنواع الأكسجين النشط.
اكتسب فيتامين ه أهمية بالغة بعد أن عرف دوره كمضاد للأكسدة وإطالة العمر الافتراضي لخلايا الجسم ومعالجة عدد من الأمراض كتقليل نسبة حدوث الإصابة بالجلطات القلبية بمعدل77٪ وتصلب الشرايين بنسبة47 ٪ ومن المصادر الغنية بهذا الفيتامين زيت النخيل والذرة والفول السوداني[18].

II – 9–2–3– البوليفينولات polyphenols:

تمتلك تركيبة كيميائية مثالية للتخلص من الجديرات الحرة . و هي أكثر فاعلية في التجارب المعملية أكثر من التوكوفيرول والأسكوربات[18]

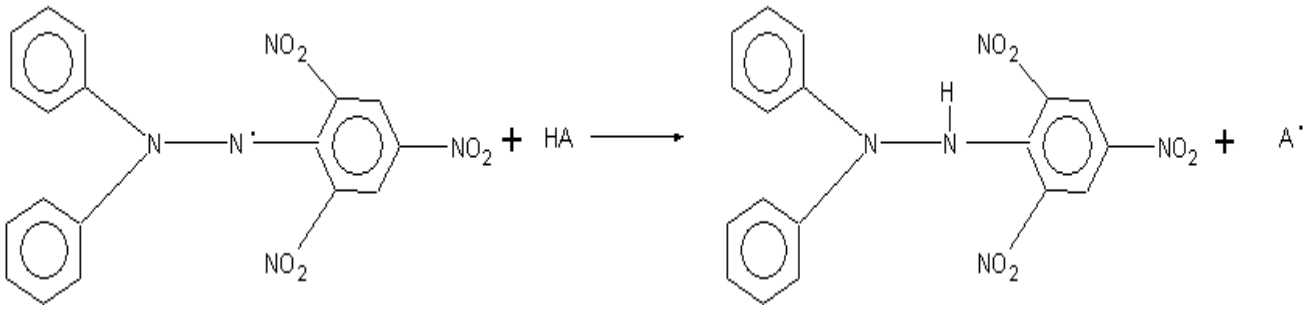
II –10– إختبار DPPH :

هو اختبار مضاد للجذور الحرة و لقد سبق تعريفه من 50 سنة ماضية من طرف العالم "بولواز" سنة 1958 ولقد اعتمد في ذلك على توضيح بعض الحسابات الخاصة بمضادات الأكسدة .



الشكل رقم (13) : جزئية DPPH

DPPH ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل (diphenyl picrylhydrazyl) هي مادة صلبة لونها بنفسجي – مسود ، يشتق هذا الجذر الحر من جزئية DPPH–H ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل (dipheny lpicry lhydrazine) وهي مادة صلبة غير جذرية لونها أصفر [19].



الجذر الحر DPPH ذو اللون البنفسجي

الجزيئ المستقر DPPH-H ذو اللون الأصفر

الشكل رقم (14) : معادلة تثبيط جدر DPPH في وجود مضادات الجذور الحرة

هذا الإختبار يعتمد على تثبيط الجذور الحرة حيث يترك 30 دقيقة مباشرة مع المستخلصات المضادة للجذور ، مع العلم أن الجذر DPPH مستقر نسبيا يتفاعل مع جزئية مضادة للجذور ليتحول إلى DPPH–H مع فقدان الإمتصاصية بطول الموجة الأعظمية

$$\lambda_{max} = 517\ nm$$

إن قدرة مضادات الجذور الحرة تحدد بعبارة كمية حسابية بدلالة تركيز المحلول للقضاء على 50% من الجذور الحرة ، النتيجة نعبر عليها بـ : **IC50** وهي معرفة بتركيز المحلول المعبر عنه بوحدة **(g/l)** بالنسبة للمستخلصات الخام أو بـ(mM) لمسح % 50 من جذور DPPH ، وتحسب إنطلاقا من منحنيات التغير في نسب التثبيط المئوي **%** بدلالة تركيز المحلول ، كلما كانت قيمة **IC50** صغيرة كانت فعالية مضادات الجذرية كبيرة . [20] .

هذا الإختبار مستعمل بكثرة نظرا للخصائص التي يتميز بها : سريعة ، سهلة ، غير مكلفة [56] كما استخدم هذا الجذر بصورة شائعة كمادة كاسحة للجذور، يتحد جذر DPPH على الفور مع جميع أنواع الجذور الحرة أو مضادات الجذور الحرة مكونا نواتج أخف لونا بكثير من لون الجذر لمتابعة حركية هذا التفاعل نستعمل جهاز UV–V.في إختبار DPPH نلاحظ تغيرات مختلفة لمضادات الأكسدة تبعا

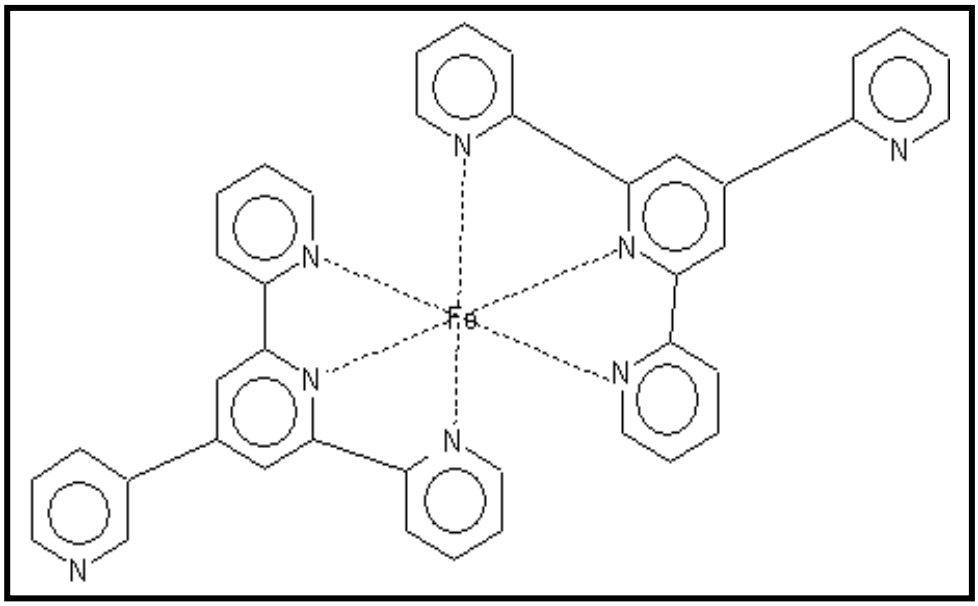
لطبيعتها، من بينها الحركية السريعة، المتوسطة أو البطيئة وفقا للزمن اللازم للوصول إلى نتيجة وقدرة مضاد الجذور تحسب انطلاقا من نسبة DPPH المتبقية في نهاية الوقت المحدد للتفاعل [19].

II -11- إختبار FRAP : (إختبار مضاد للأكسدة) :

الإختبار FRAP (Ferric Reducing / Antioxydant power) يدرس فاعلية مضادات الأكسدة الإرجاعية في تفاعل الإرجاع اللوني ، أي تدرس مدى قدرة المستخلصات كمثبطات لعملية الأكسدة يعتمد مبدأ الطريقة على تلوين أو عدم تلوين للمعقد ثلاثي بيريديل ثلاثي أزين فريك 2 , 4 , 6 -tripyridyl-s-triazine ferrique (TPTZ) في الوسط الحامضي. [21]. طريقة التحليل بـ **FRAP** هي تجربة سريعة مباشرة نوظفها لقياس مضادات الأكسدة لا إنزيمية داخل السائل البيولوجي الحيوي (البلازمة البشرية) ونحن استعملنا هذا الإختبار لدراسة ومتابعة مضادات الأكسدة في مستخلصاتنا. وبصورة أدق هذا الإختبار يسمح لنا بمتابعة حركية التفاعل وكذلك متابعة كثافة الضوء الممتص بدلالة الزمن ومن ثم حساب ثابت معدل سرعة التفاعل .

$$Fe^{+3} + TPTZ \xrightarrow{} Fe^{+2} + TPTTZ$$

بني فاتح ← أزرق غامق



الشكل رقم (15) : جزيئية TPTZ Fe^{+3}

II- 12- اختبار موليبدات الفوسفات

هو اختبار سريع و منخفض التكلفة وسهل التكرار، يسمح بقياس القدرة المضادة للاكسدة للمستخلصات المدروسة في وجود عامل ارجاع و هو ارجاع حمض فوسفوموليبدات (Acide Phosphomolybdic) الى فوسفوموليبدات (Phosphomolybdate) ذو اللون الأزرق حسب المعادلة

$$Mo^{+6} \longrightarrow Mo^{+5}$$

قدرناالفعالية المضادة للأكسدة على أساس طريقة Prieto et al [22] وتتضمن أخذ 0.3ml من تراكيز ممددة من المستخلصات المدروسة ونضيف لها 3ml من محلول محضر يحتوي على موليبدات الامونيوم(4mM)، فوسفات الصوديوم (28mM) وحمض الكبريت (0.6M). يحضن الخليط في حمام مائي عند درجة حرارة 95°C لمدة 90 دقيقة. نترك العينات تبرد في درجة حرارة الغرفة ثم نقيس الامتصاصية عند طول الموجة 700nm، استعمل حمض الاسكوربيك كعيار. حسبت القدرة المضادة للأكسدة اعتمادا على العلاقة البيانية بين تركيز حمض الاسكوربيك و الامتصاصية.

الباب الثاني

الجانب العملي

تمهيد

تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة هي قياس لقدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذر الحر أو توقيف عملية الأكسدة ، وتقدر الفاعلية المضادة للأكسدة بعدة طرق نذكر منها:

- إختبار DPPH
- إختبار FRAP
- إختبار ABTS
- إختبار PM

هذه الطرق تعتمد على التلوين ونزع التلوين في طول موجي معين .

في دراستنا هذه قمنا باختبار DPPH، إختبار الـ FRAP و_اختبار موليبدات الفوسفاتPM .

II-1- اختبار DPPH

II-1 -1- تحضير المواد وطريقة العمل :

نقوم بتحضير محلول DPPH بتركيز 500 mM المحضر في الميثانول وذلك بإذابته. في الميثانول علما أن الكتلة المولية الجزئية لـ DPPH هي

$$M_{DPPH} = 394\ g/mol$$

– نحضر تراكيز مختلفة من كل مستخلص البيوتانول لنبتة البردقوش و الاذخر المخففة في الميثانول وكذا زيت نبتة البردقوش وزيت نبتة الاذخرفي البداية كان لشهر مارس.

من كل تركيز نأخذ 100µl ونضيف لها 1 ml من DPPH نجانس المحلول ونضعها 30 دقيقة في الظلام بعدها تتم القراءة في جهاز UV-V عند طول الموجة الأعظمي ثم نرسم منحنيات المستخلصات السابقة، الشكل (17) يمثل اختبارDPPH لمستخلص البيوتانول لنبتة البردقوش و الشكل (18)يمثل اختبارDPPH لمستخلص البيوتانول لنبتة الاذخر

$$\lambda_{max} = 517\ nm$$

نجري العملية نفسها على المركبات النقية حمض الأسكوربيك (Vc) الشكل (16) والطوكوفورول (VE) الشكل (19) و BHT الشكل (20) و BHA الشكل (21) كما هو مدون في الجدول(18) ذلك من أجل مقارنة فعالية المستخلصات مستخلص البيوتانول لنبتة البردقوش و الاذخر وكذا زيت نبتة البردقوش وزيت نبتة الاذخر بالمركبات المضادة للجذور الحرة وللأكسدة المستعملة في الصناعة الغذائية.

أ نتائج الإختبار :

نقوم بحساب النسبة المئوية للتثبيط (I%) وذلك من العلاقة التالية:

$$I\ \% = \frac{(A_0 - A_i)}{A_0} \times 100$$

حيث أن :

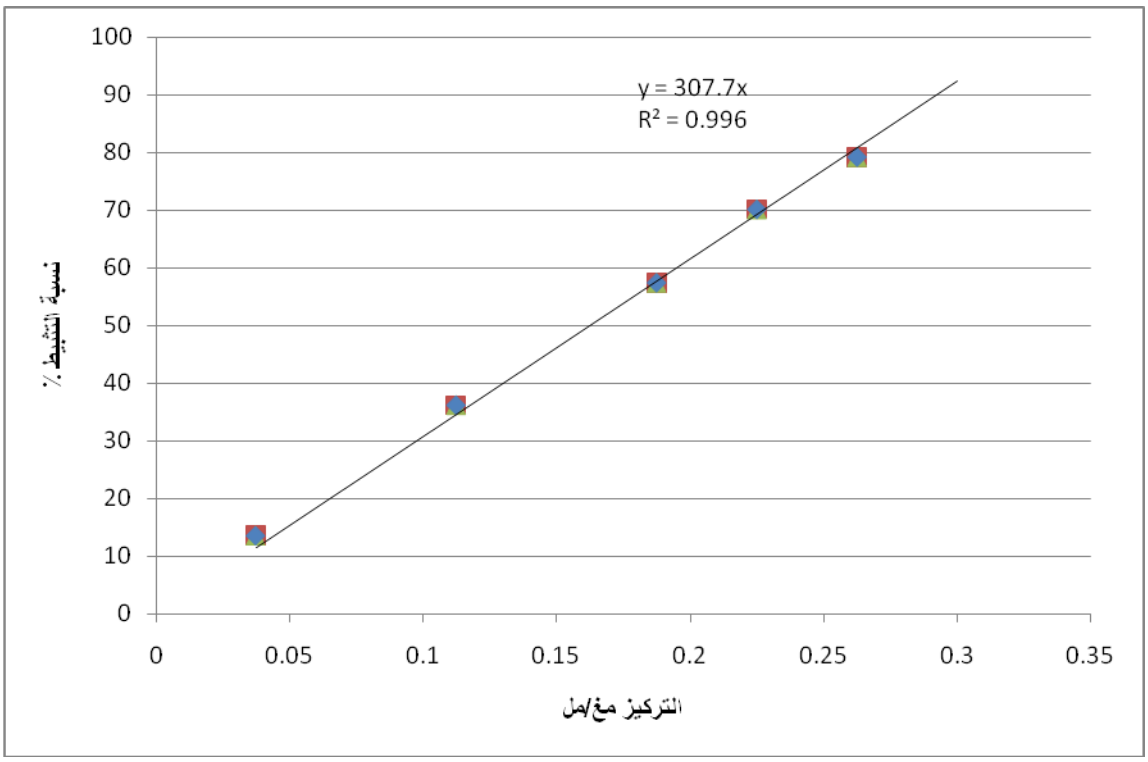
A0 : الإمتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلصات .

Ai : الإمتصاصية الضوئية للخليط (الجذر + المستخلص) بعد مرور 30 دقيقة.

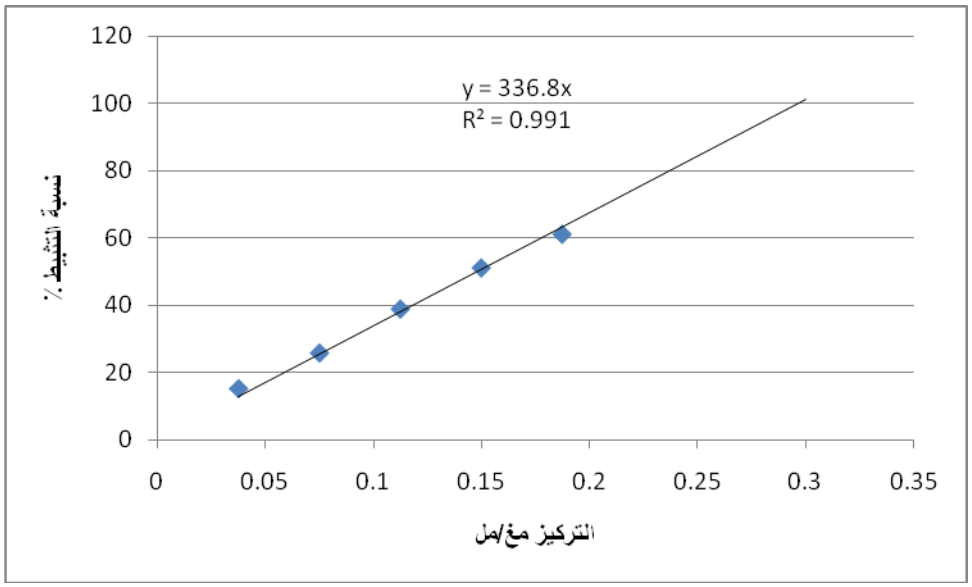
نرسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التراكيز.

من المنحنيات نحصل على التركيز المناسب للقضاء على 50 % من الجذور الحرة من كل مستخلص وحمض الأسكوربيك (Vc) المأخوذ كمرجع قياسي.

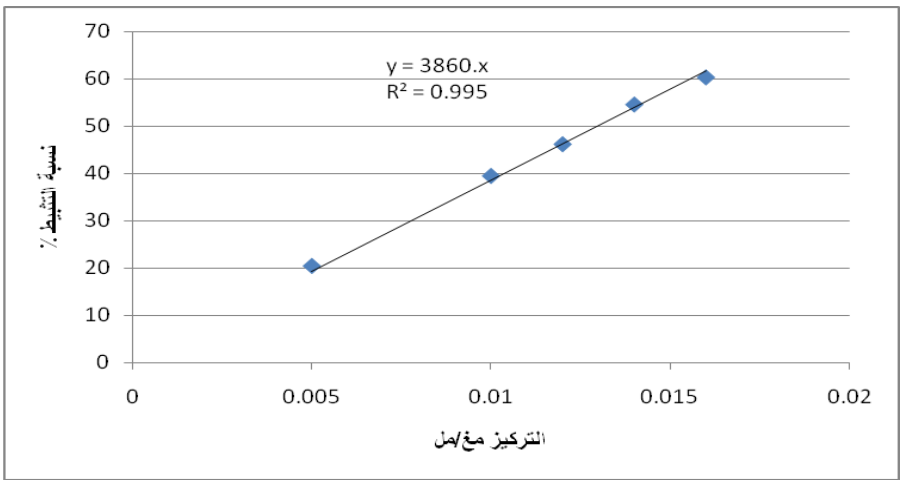
الشكل (16) منحنى DPPH لحمض الأسكوربيك (Vc)



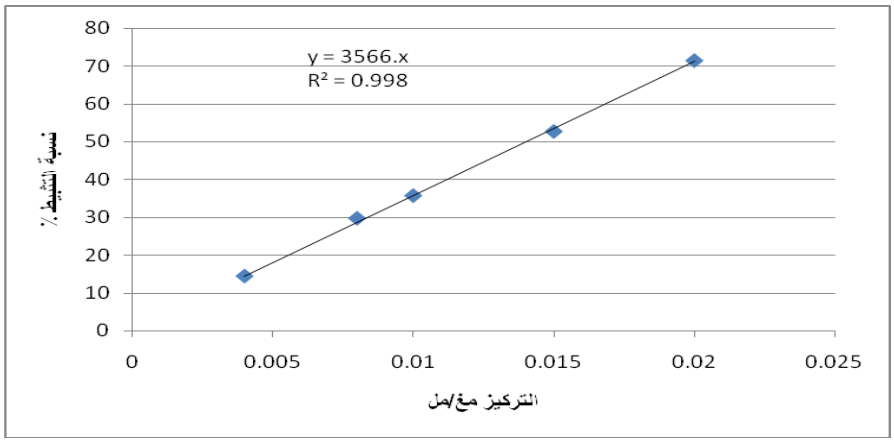
الشكل (17) منحنى اختبارDPPH لمستخلص البيوتانول لنبتة البردقوش



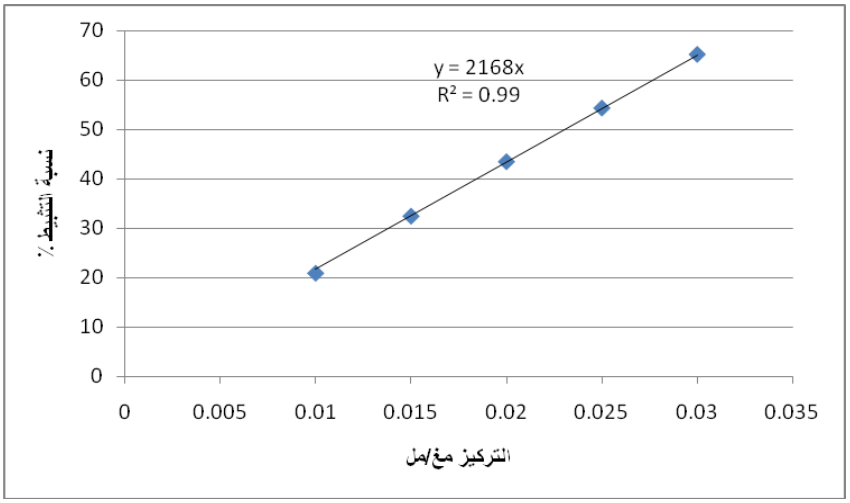
الشكل (18) منحنى اختبارDPPH لمستخلص البيوتانول لنبتة الاذخر



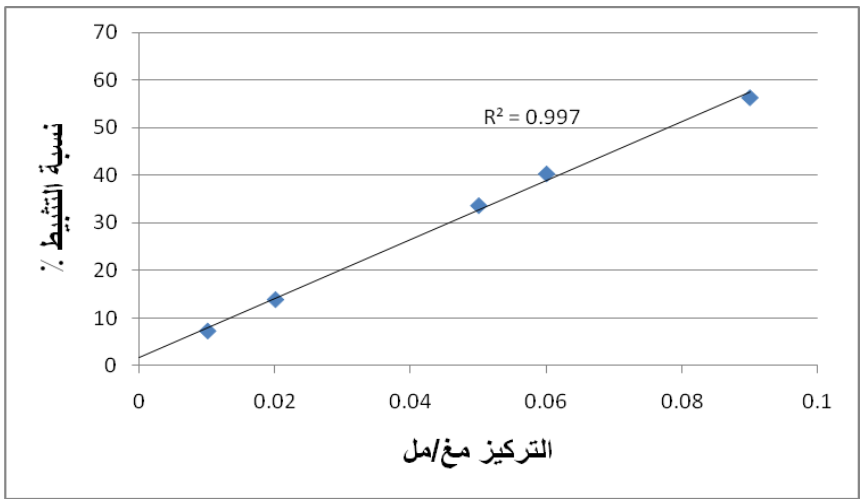
الشكل (19)منحنى إختبار DPPH للطوكوفيرول (VE)



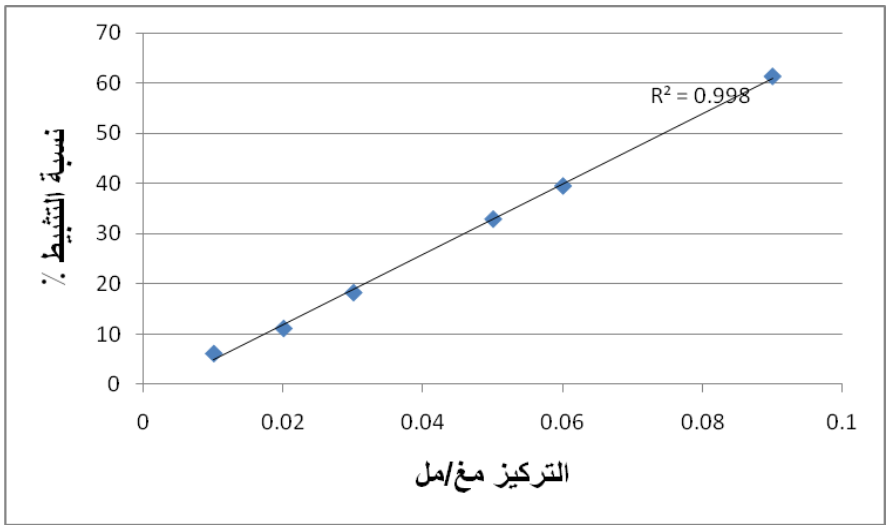
الشكل (20) منحنى إختبار DPPH لـ BHT



الشكل (21) منحنى إختبار DPPH لـ BHA



الشكل (22) منحنى إختبار DPPH لزيت البردقوش



الشكل (23) منحنى إختبار DPPH لزيت الاذخر

المستخلصات المدروسة	قيمDPPH IC50 (غم /ل)
مستخلص البيوتانول للبردقوش	174.14
مستخلص البيوتانول للاذخر	152.90
حمض الاسكوربيك	78.93
الطوكوفيرول	13.84
زيت البردقوش	8.36
زيت الاذخر	5.72
BHA	14.31
BHT	23.27

الجدول(18) قيم IC50 لـ لمـ سـ تخـ لـ صات الـ مدرو سة

II -2-1- تفسيـر النتائج :

من منحنيات تغير النسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز لكل مستخلصات مستخلص البيوتانول للبردقوش ، مستخلص البيوتانول للاذخر، حمض الاسكوربيك، الطوكوفيرول ، زيت البردقوش، زيت الاذخر ،BHA ، BHT نحسب قيم **IC50** والتـي بلغـت على الترتيب : 174.14مغ/ل ، 152.90مغ/ل ،78.93 مغ/ل ،13.84 مغ/ل ، 8.36 مغ/ل ، 5.72 مغ/ل ، 14.31 مغ/ل ،23.27مغ/ل.يتضح من خلال هذه القيم أن الفعالية المضادة للأكسدة :

– لمستخلص مستخلص البيوتانول للبردقوش أضعف اكثر من مرتين من حمض الأسكوربيك (Vc) و اضعف من الطوكوفورول (VE) 12مرة و نصف واضعف ب 12مرة من BHA و اضعف ب 7مرات ونصف من BHT.

– مستخلص البيوتانول للاذخر أضعف بـ مرتين من حمض الأسكوربيك (Vc) و واضعف من الطوكوفورول (VE) بـ 11 مرة و اضعف و اضعف بـ 10 مرات ونصف من BHA واضعف بـ 6 مرات ونصف من BHT .

– زيت البردقوش اقوى بـ مرة ونصف من الطوكوفورول (VE) .

– زيت الاذخر اقوى بـ مرتين ونصف من الطوكوفورول (VE).

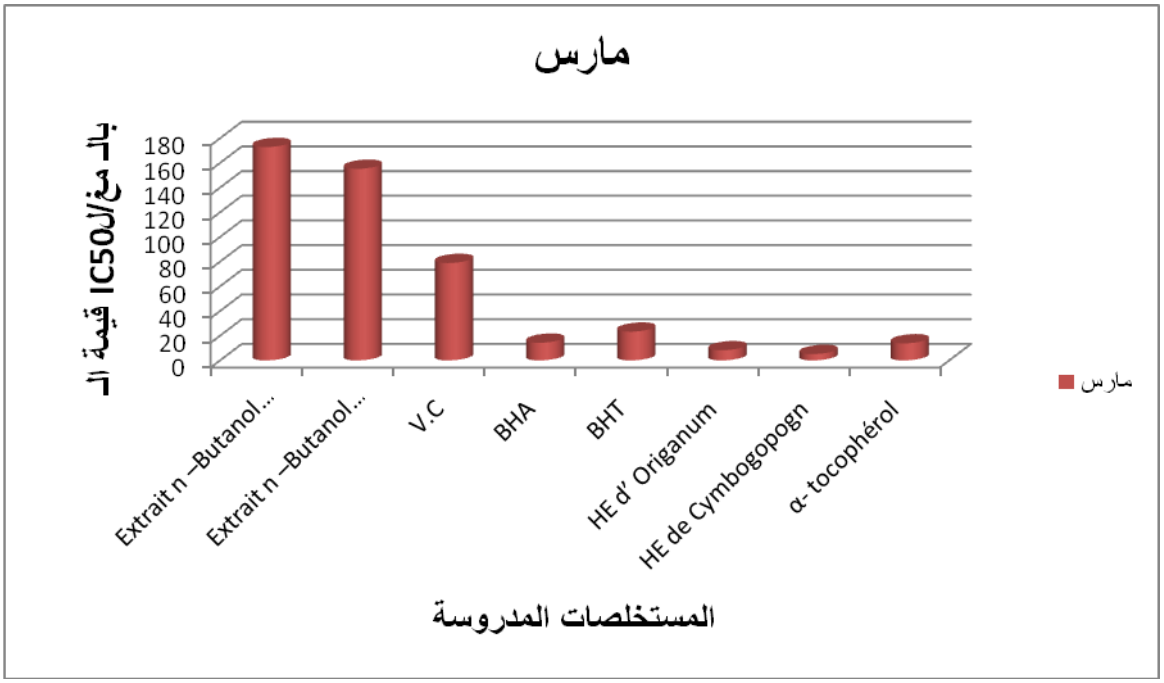
حيث حمض الأسكوربيك (Vc) والطوكوفورول (VE) يستعملان كمواد حافظة في الصناعة الغذائية.

هذه الـ عمـ لـ ية بـ عد قمنا بنفس الخطوات بالنسبة للاشهر (جوان ،اكتوبر ، جانفي) فكانت النتائج وفق الجدول (2).

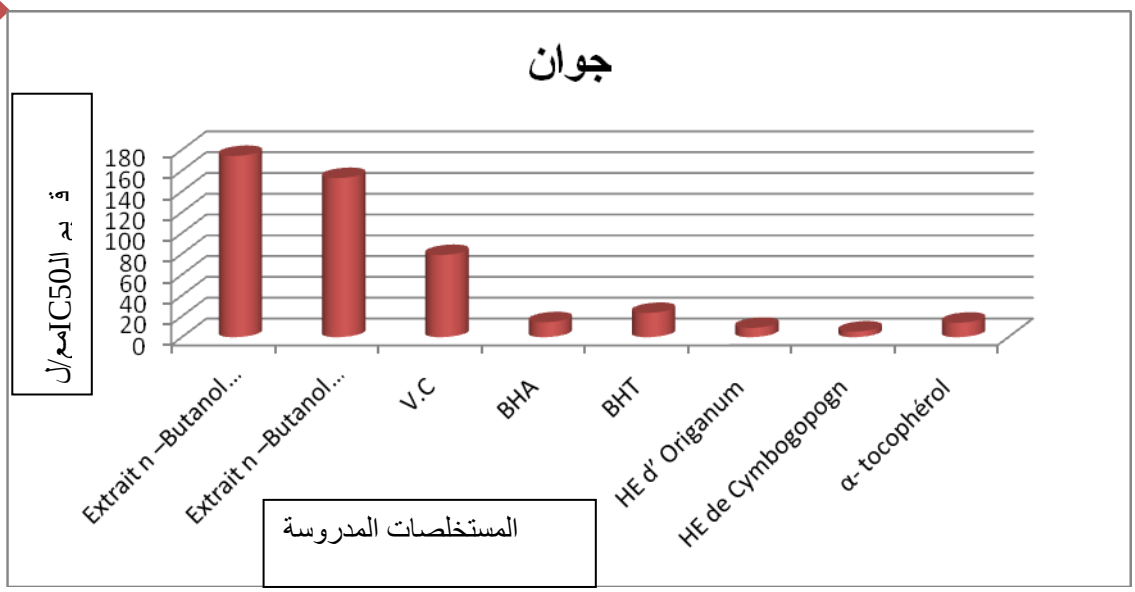
نلاحظ من خلال الجدول لقيم IC50 للمستخلصات المدروسة انها تقريبا متقاربة خلال فترة القطف بحيث نسجل بالنسبة لـ مستخلص البيوتانول لنبتة البردقوش ان القيم تتراوح بين 170.34 غم/ل–174.14 غم/ل و بالنسبة لمستخلص البيوتانول للاذخر فكانت القيم تتراوح بين 128.37 غم/ل–155.23 غم/ل، اما بالنسبة لزيت البردقوش فكانت تتراوح بين8.22 غم/ل–8.91 غم/ل ، و زيت الاذخر5.14 غم/ل–5.41 غم/ل . ان هذه القيم المتقاربة لقيمIC_{50} قد يعزو هذا الى ان النباتات و اثناء دورة النمو قبل مرحلة الإزهار تميل الى تكوين مركبات و بكميات معينة هذه الكمية تتزايد الى مرحلة الإزهار اين تبلغ القيمة الكبرى ثم تتناقص بعد فترة الإزهاركما ان و اثناء فترة النمو فإن النبات ينتج مركبات في فصل وتختفي منه مركبات في فصل اخر وهذا مرده تارة للجذب لبعض الحشرات وتارة للحماية من بعض الحشرات على ان تكون هذه المركبات الكيميائية مكملة لبعضها البعض اوتكون متدافعة فيما بينها.

المستخلصات	قيم IC50 DPPH (غم /ل)			
	جوان	مارس	جانفي	اكتوبر
Extrait n –Butanol Origanum	174.14	172.89	170.34	171.34
Extrait n –Butanol Cymbopogon	152.90	155.23	154.41	128.37
V.C	78.93	78,93	78.93	78.93
BHA	14.31	14.31	14.31	14.31
BHT	23.27	23.27	23.27	23.27
HE d' Origanum	08.91	8.22	8.36	8.62
HE de Cymbogopogn	05.36	5.14	5.72	5.41
α- tocophérol	13.84	13.84	13.84	13.84

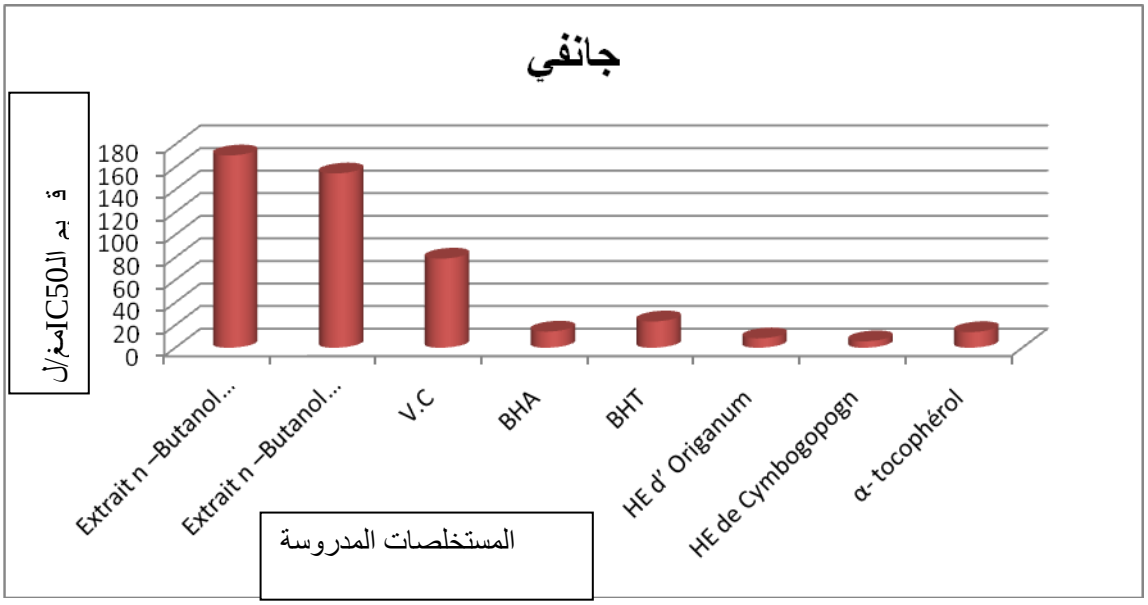
الجدول (19) قيم IC50 للمستخلصات المدروسة خلال اشهر القطف



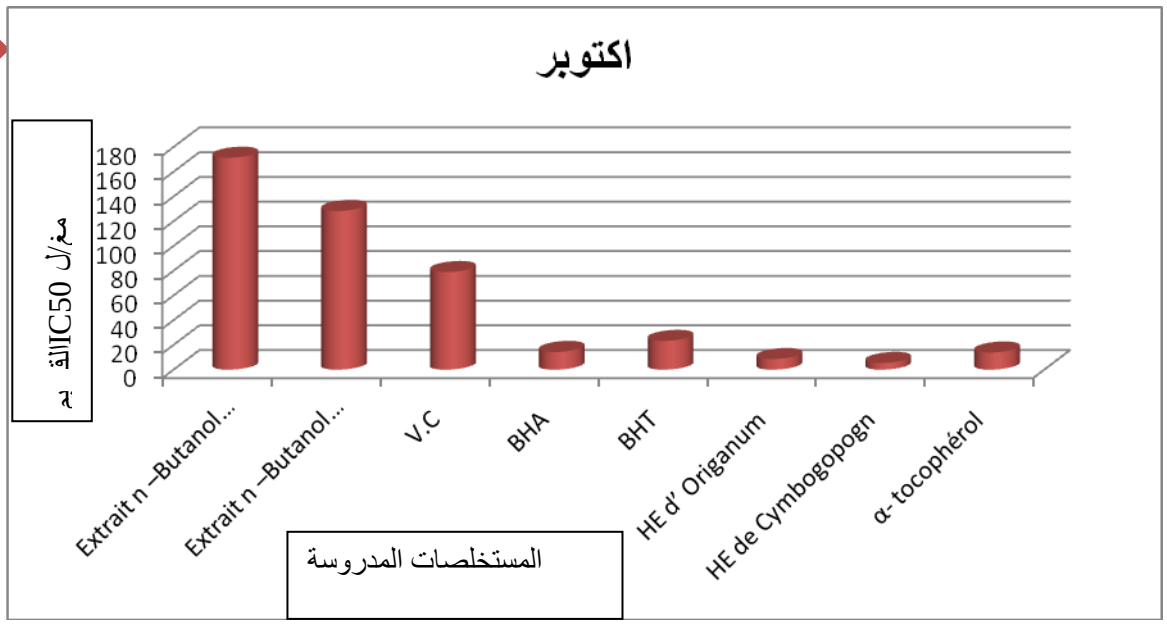
الشكل (24)التمثيل البياني لـ قيم IC50 للمستخلصات المدروسة خلال مارس



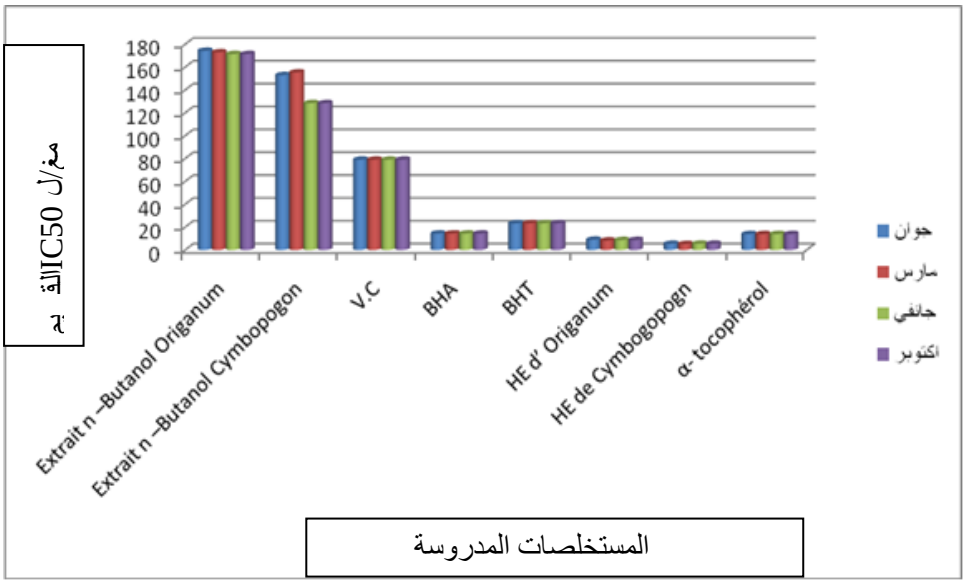
الشكل (25) التمثيل البياني لقيم IC50 للمستخلصات المدروسة خلال جوان



الشكل (26) التمثيل البياني لـ قيم IC50 للمستخلصات المدروسة خلال جانفي



الشكل (27) التمثيل البياني لـ قيم IC50 للمستخلصات المدروسة خلال اكتوبر



الشكل (28)التمثيل البياني لـ قيم IC50 للمستخلصات المدروسة خلال اشهر القطف

II–2 – إختبار FRAP : (إختبار مضاد للأكسدة) :

للحصول على خليط FRAP نحضر ثلاث محاليل في أوساط مائية كالتالي :

المحلـول الأول: هو محلول منظم (الموقي –Tampon) نحضر 0,3 M من أسيتات الصوديوم عند pH =3.6 [نحضر 0,62 g من أسيتات الصوديوم (CH_3COONa) مع 3,2 ml من حمض الخل المجمد (CH_3COOH) يكمل المحلول إلى 200 ml بالماء المقطر] .

المحلـول الثاني :

نحضر 0,01 M من (TPTZ) في 0,04 M من HCL أي [نزن 0,078 من (TPTZ) في 25 ml من HCL] .

المحلـول الثالث :

نحضر 0,02 M من ثلاثي كلوريد الحديد المائية $(FeCL_3{-}6H_2O)$ أي نزن 0,135 g في 25 ml من الماء .نخلط المحاليل الثلاثة بتكافؤ 10:1:1 ونسميه خليط FRAP . [48]

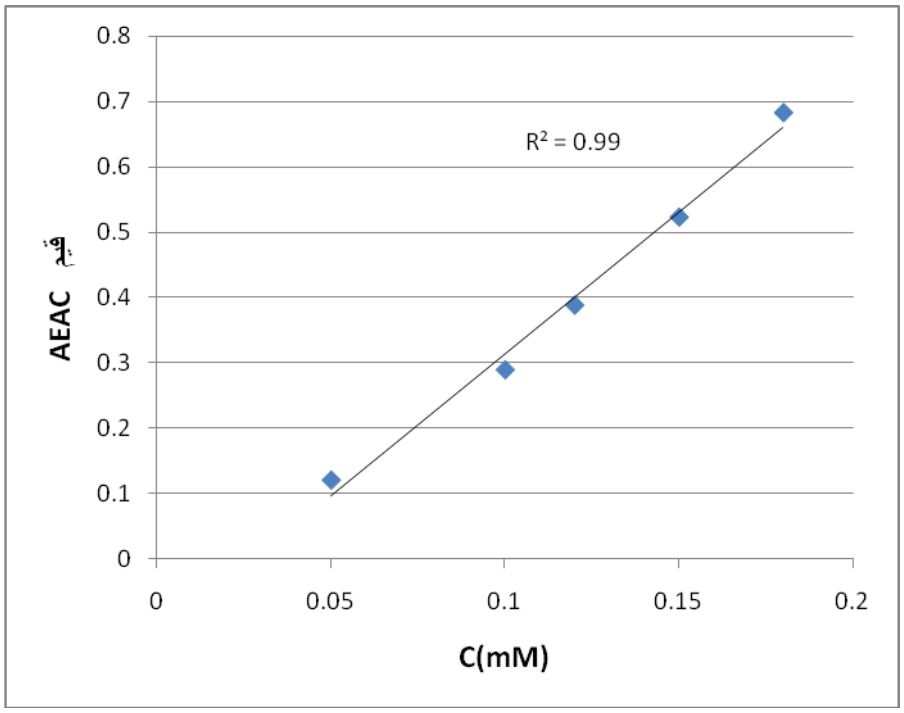
تم تعيين القدرة الارجاعية للمستخلصات حسب طريقة Oyaizu (..)نأخذ 1ml من المستخلصات و بتراكيز مختلفة و نضيف لها 2.5ml من محلول منضم فوسفاتي (0.2M , PH=6.6) ، ثم نضيف 2.5ml من المحلول (1% w/v) $K_3Fe(CN)_6$ ، يحضن الخليط عند درجة حرارة 50°C لمدة 20دقيقة ويضاف اليه 2.5 ml من محلول(10%) TCA ، وتؤخذ 2.5ml من الخليط و تضاف لها 2.5ml من الماء المقطر و 0.5ml من محلول (0.1%) $FeCl_3$ ونقيس الامتصاصية عند طول الموجة 700nm.استخدم حمض الاسكوربيك كمعيار و كل منBHA و BHT كشواهد و كذا حمض الغاليك.

طريقـة العمـل:

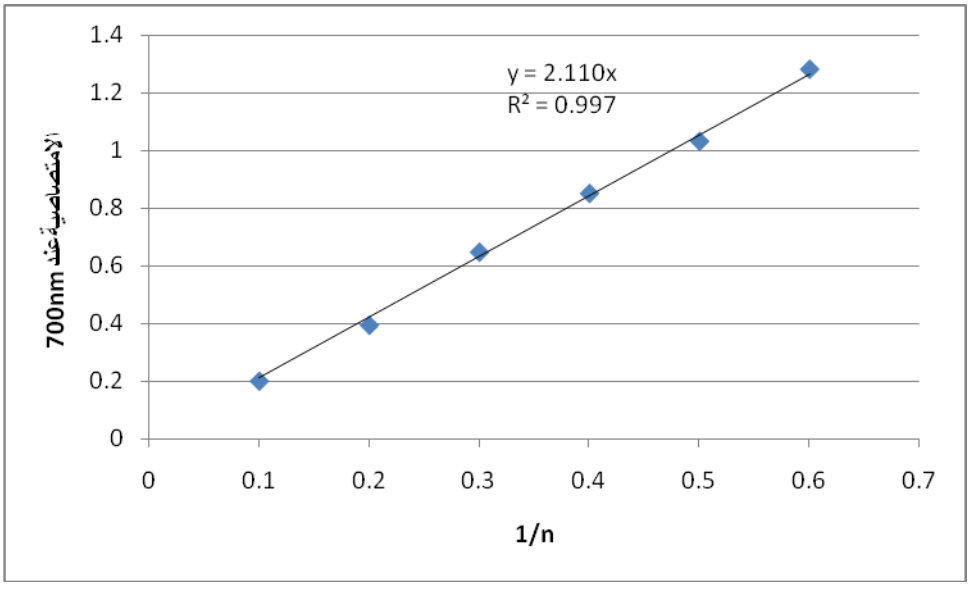
أ. رسم المنحنى القياسي:

نقوم بتحضير تراكيز مختلفة من حمض الاسكوربيك (VC) تكون محصورة بين 0.01mM - 0.2m M . نأخذ 2 ml من الميثانول نضيف لها 1ml من الخليط FRAP و 100 µl من التركيز الأول لـ حمض الاسكوربيك مع إضافة القطرة الأولى تبدأ القراءة في جهاز UV-V وتسجل القيم كل دقيقة ولمدة 10 دقائق ، نكرر العملية مع جميع التراكيز المحضرة من حمض الاسكوربيك.

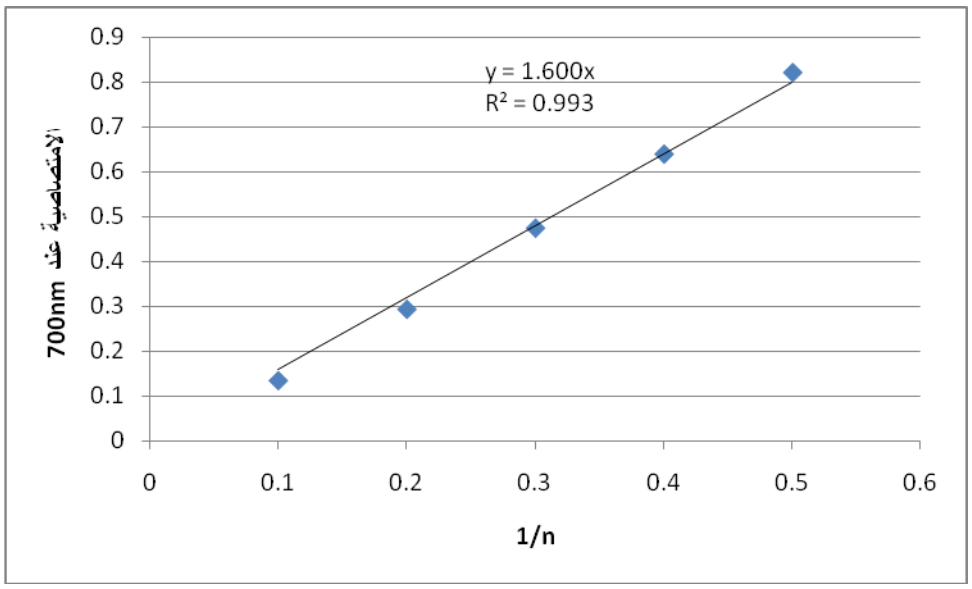
نلاحظ أن الإمتصاصية تزداد بمرور الزمن إلى أن يثبت ، وكلما كان تركيز المستخلص كبير كلما كانت الإمتصاصية كبيرة وبالتالي التقدير الكيفي للفعالية المضادة للأكسدة .نرسم المنحنى العياري لحمض الاسكوربيك الشكل (29).



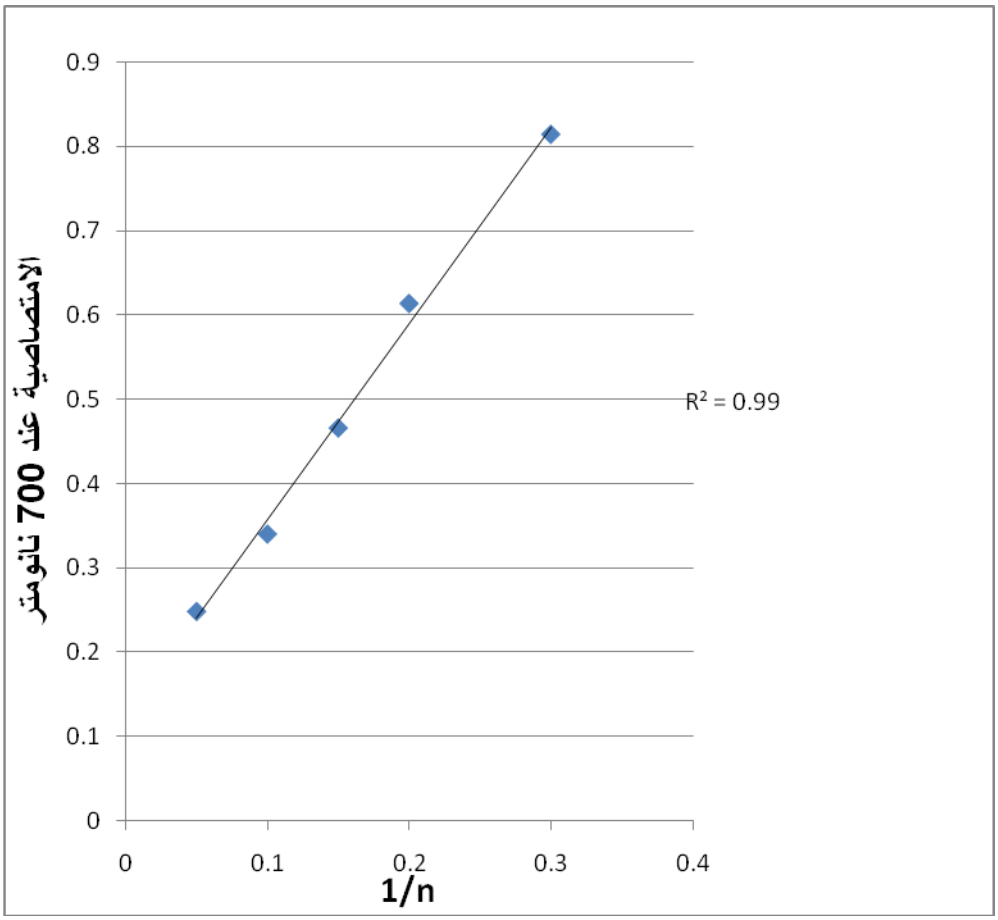
الشكل (29) المنحنى العياري لحمض الاسكوربيك بطريق الـ FRAP



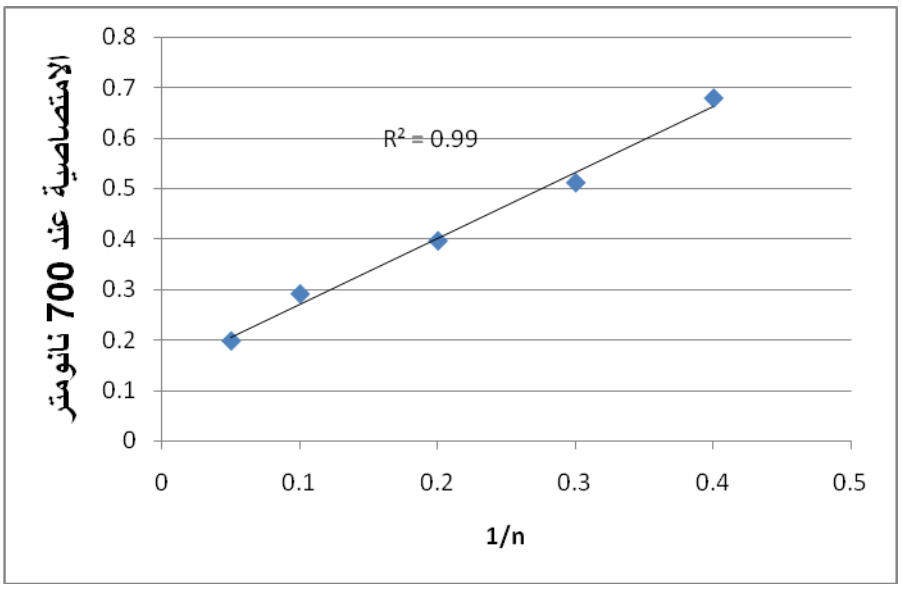
الشكل (30) منحنى أثر القوة الاختزالية لمستخلص البيوتانول للاذخر



الشكل (31) منحنى أثر القوة الاختزالية لمستخلص البيوتانول للبردقوش



الشكل (32) منحنى أثر القوة الاختزالية لزيت الاذخر



الشكل (33) منحنى أثر القوة الاختزالية لزيت للبردقوش

ب معاملة المستخلصات :

نحضر تراكيز مختلفة من المستخلصات المدروسة الممدة في الإيثانول نأخذ من كل تركيز 100µl ونعاملها بنفس الكيفية التي عاملنا بها حمض الاسكوربيك (VC) (100µl من كل مستخلص) + 2ml من الميثانول + 1ml من خليط FRAP في نفس الوقت نجري نفس العملية على BHT و BHA المستعملان في الصناعة و كذا حمض الغاليك وذلك قصد مقارنة النتائج .باستعمال المنحنى القياسي حمض الاسكوربيك (VC) تحصلنا على النتائج الموضحة في الجدول(20) التالي :

تم تعيين القدرة التثبيطية للمستخلصات وفق العلاقة (1) ، يتم قياس الفعالية المضادة للاكسدة للمستخلصات المدروسة وفق معيار AEAC وهو يمثل الفعالية المضادة للاكسدة المكافئة لحمض الاسكوربيك بطريقة FRAP وفق العلاقة (2) ويظهر هذا من خلال رسم منحنى التثبيط للعينات المدروسة بدلالة مقلوب التمديد، بالاسقاط على المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك

$$I\% = \frac{A0 - A\,Extrait}{A0}$$

العلاقة (1)

$A0$: الامتصاصية في غياب المستخلص.

$A\,Extrait$: الامتصاصية في وجود مستخلص.

I%: نسبة تثبيط الفعالية المضادة للاكسدة.

لحساب قيمة الـ AEAC فيجب الحساب بالعلاقق (2)

$$AEAC = \frac{I\%}{K} xF$$

العلاقة (2)

حيث ان

AEAC : القدرة المضادة للأكسدة المكافئة لحمض الاسكوربيك.

K :ميل المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك.

F : معامل التمديد بالنسبة للمستخلصات.

I% : نسبة تثبيط الفعالية المضادة للأكسدة

- تفسير النتائج :

كلما كانت قيمة :

(Vitamine C , Equivalent , Antioxydant , Capacity) = (AEAC)

كبيرة كانت الفعالية المضادة للأكسدة كبيرة أيضا.

بلغت القدرة المضادة للأكسدة المكافئة حمض الاسكوربيك (VC) وللمستخلصات وكذا BHT و BHA على التوالي : 0.54mM لحمض الغاليك , 9.89mM مستخلص البردقوش و 7.56mM مستخلص الاذخر , BHA 0.37mM, BHT 0.46mM.

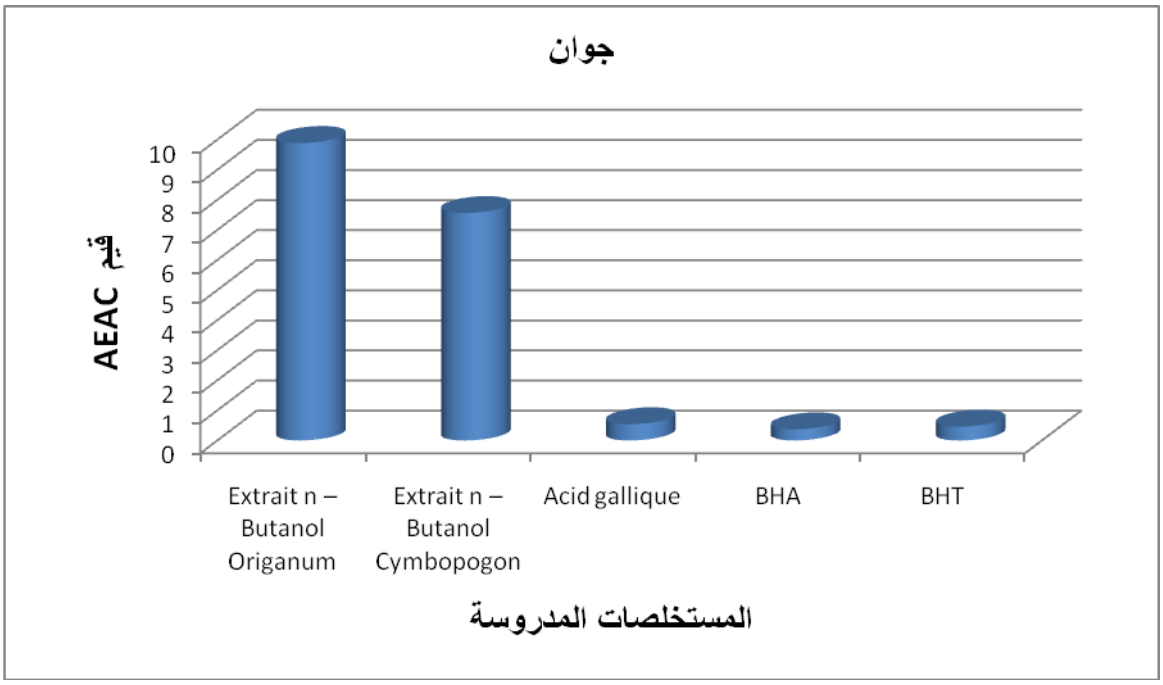
المستخلصات	قيم AEAC (mM)
Extrait n –Butanol Origanum	9.89
Extrait n –Butanol Cymbopogon	7.56
Acid gallique	0.54
BHA	0.37
BHT	0.46

الجدول (20) قيم AEAC للمستخلصات المدروسة

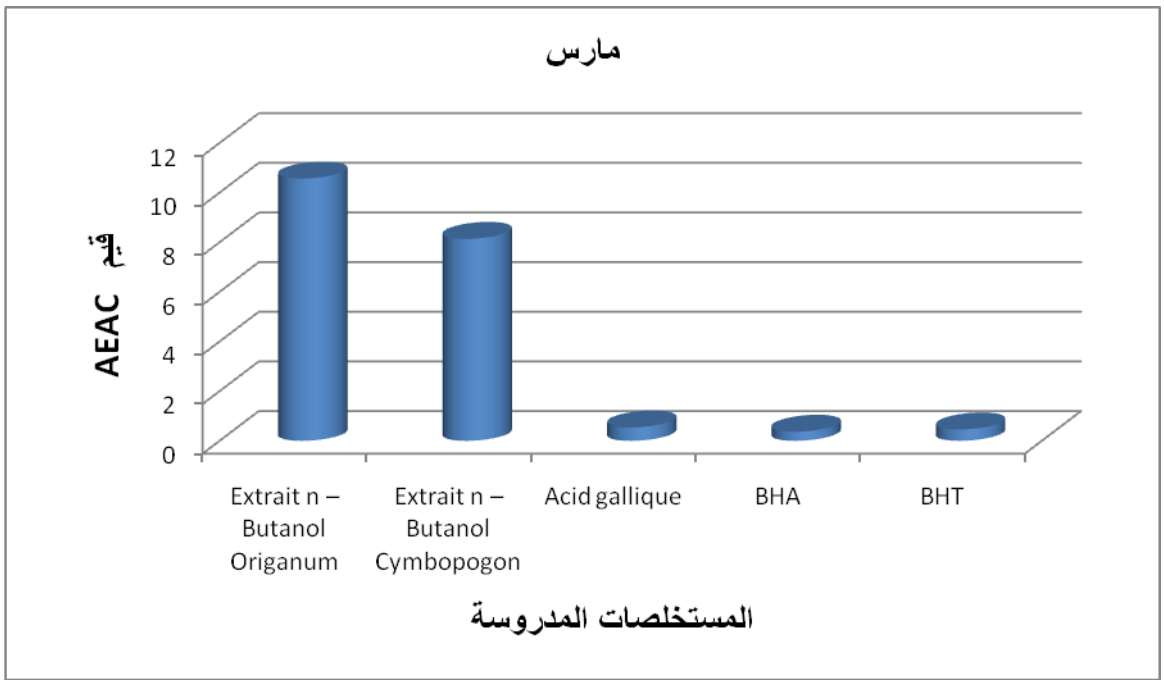
تدل هذه النتائج لشهر جوان أن حمض الـ غالـ يك المستعمل اقل من مستخلص البردقوش بـ22 مرة ونصف ، ومن مستخلص الاذخر 17 مرة كما ان BHA اقل من مستخلص البردقوش باكثر من26 مرة ومن مستخلص الاذخر باكثر من16 مرة اضافة الى ذالك BHT اقل من مستخلص البردقوش باكثر من21.5 مرة ومن مستخلص الاذخر باكثر من16 مرة .هذه النتائج تبين ان المستخلصات المدروسة للنبتتين لها فاعلية مضادة للاكسدة كبيرة مقارنة بالمواد العيارية.نفس العمل قمنا به بالنسبة للاشهر المتبقية(مارس، جانفي، اكتوبر) فكانت النتائج كما يلي

المستخلصات	قيم AEAC(mM)			
	جوان	مارس	جانفي	اكتوبر
Extrait n –Butanol Origanum	9.89	10.57	10.35	11.01
Extrait n –Butanol Cymbopogon	7.56	8.14	7.98	8.68
Acid gallique	0.54	0.54	0.54	0.54
BHA	0.37	0.37	0.37	0.37
BHT	0.46	0.46	0.46	0.46

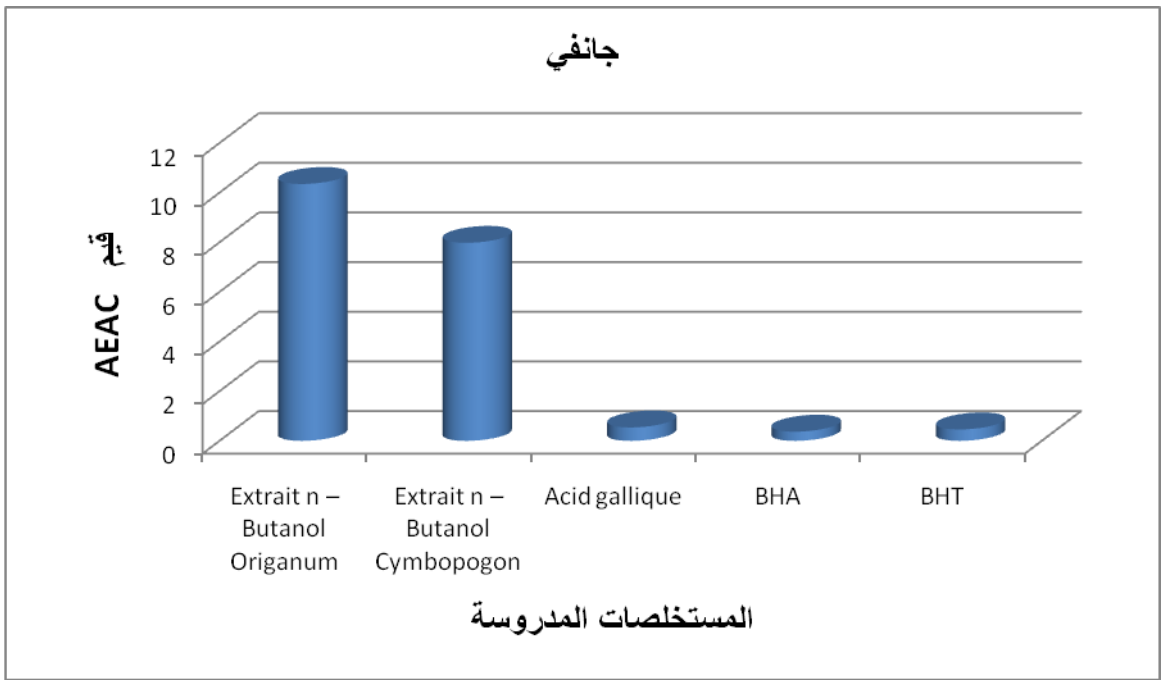
جدول(21) تغير قيم AEAC بتغير اشهر القطف



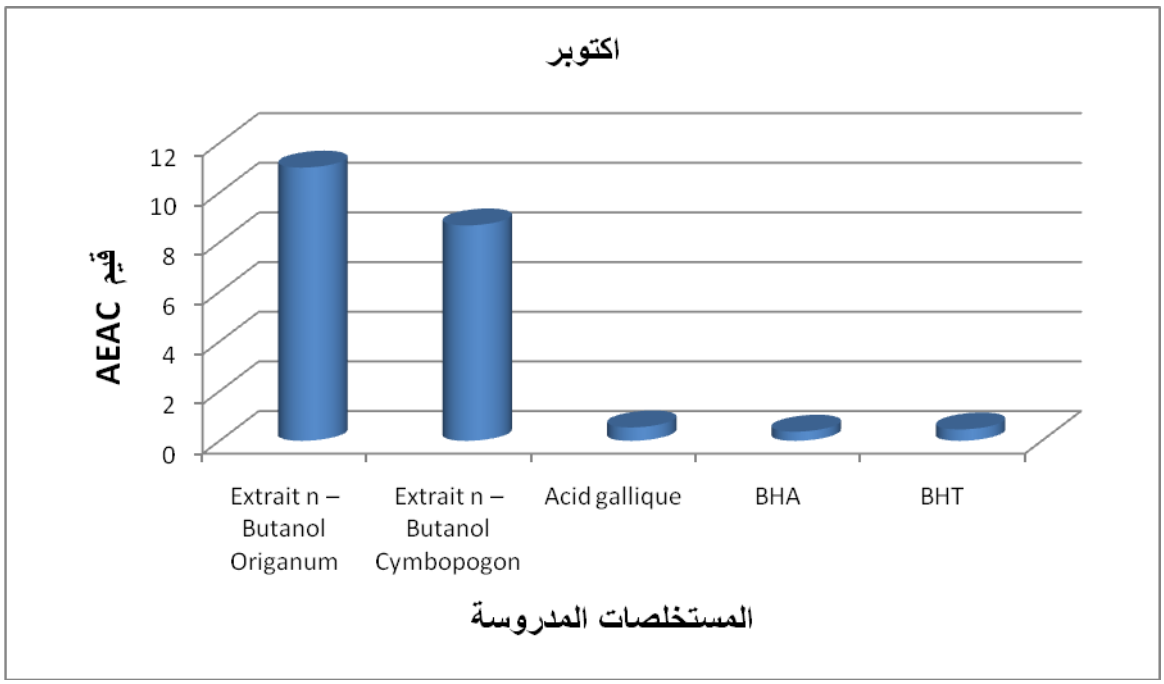
الشكل (34)التمثيل البياني لـ قيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر جوان



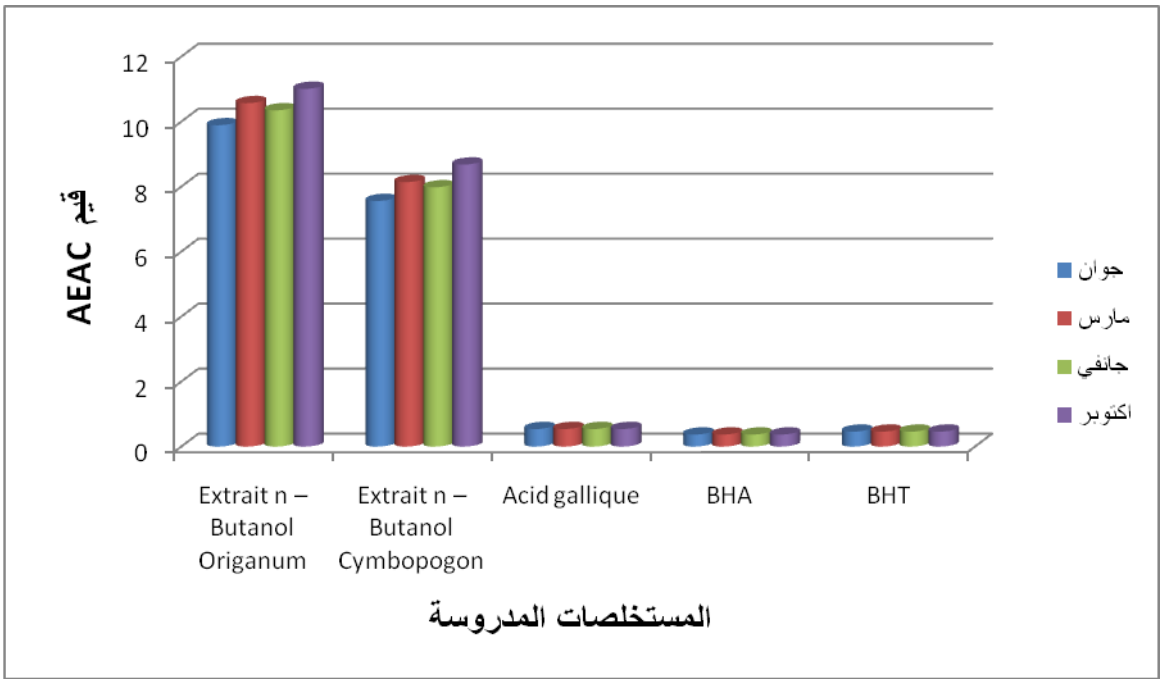
الشكل (35)التمثيل البياني لقيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر مارس



الشكل (36)التمثيل البياني لقيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر جانفي



الشكل (37) التمثيل البياني لقيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر اكتوبر



الشكل (38)التمثيل البياني لقيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال اشهر القطف

النتائج المتحصل عليها خلال أشهر القطف تبين أن المستخلصات المدروسة لها فاعلية مضادة للأكسدة اكبر من المواد العيارية المستعملة.

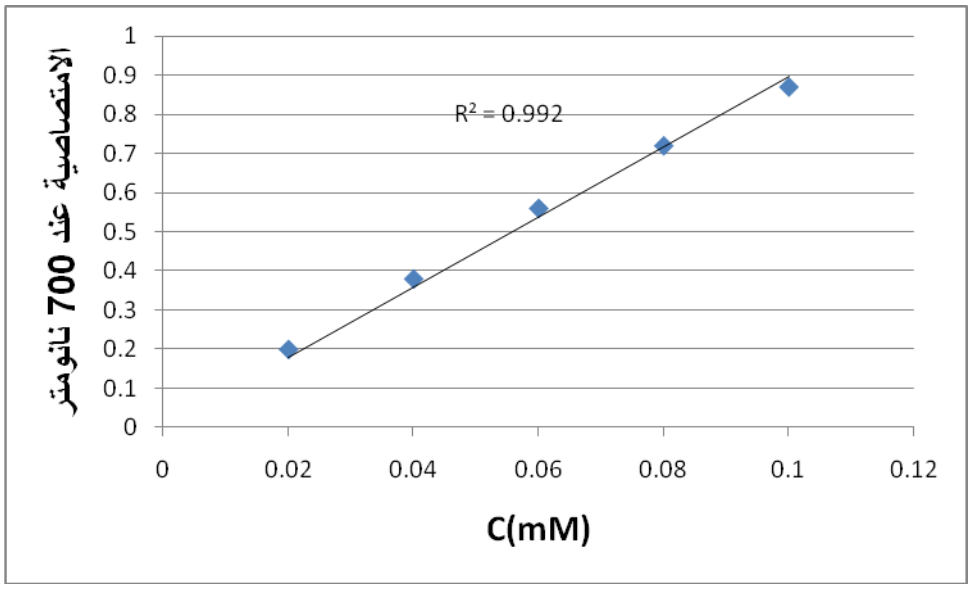
II-3- اختبار موليبدات الفوسفات

تحضير المحاليل العيارية

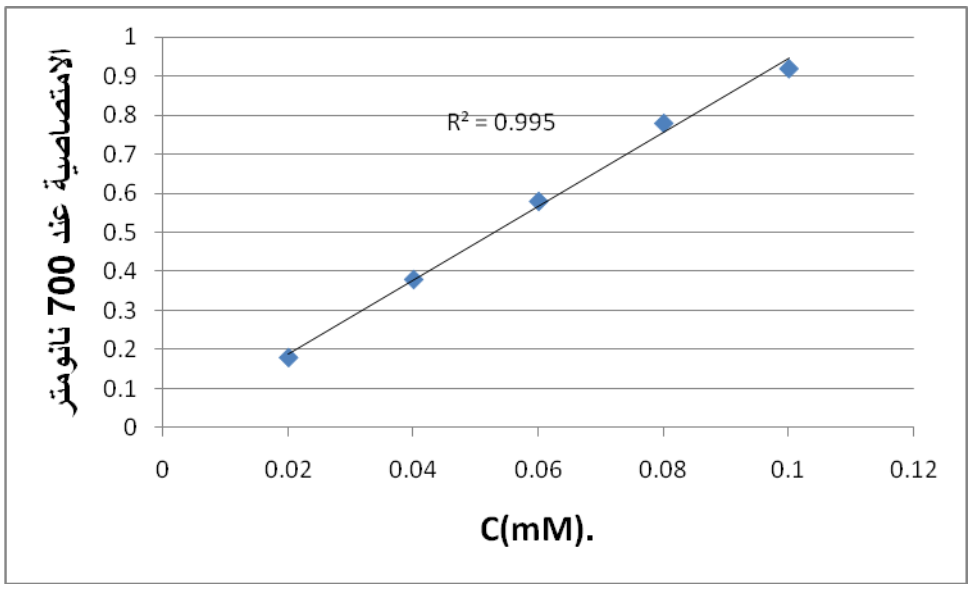
نحضر محلول عياري من حمض الاسكوربيك بتركيز 0.3mg/ml ثم نحضر منه محاليل عيارية 0.03الى 0.3mg/ml .نأخذ 300µlمن كل محلول عياري و نضيف إليه 3ml من المحلول المحضر، ثم نقوم بنفس الخطوات السابقة، نقيس الامتصاصية عند طول الموجة 700nm (142).

تحضير العينات:

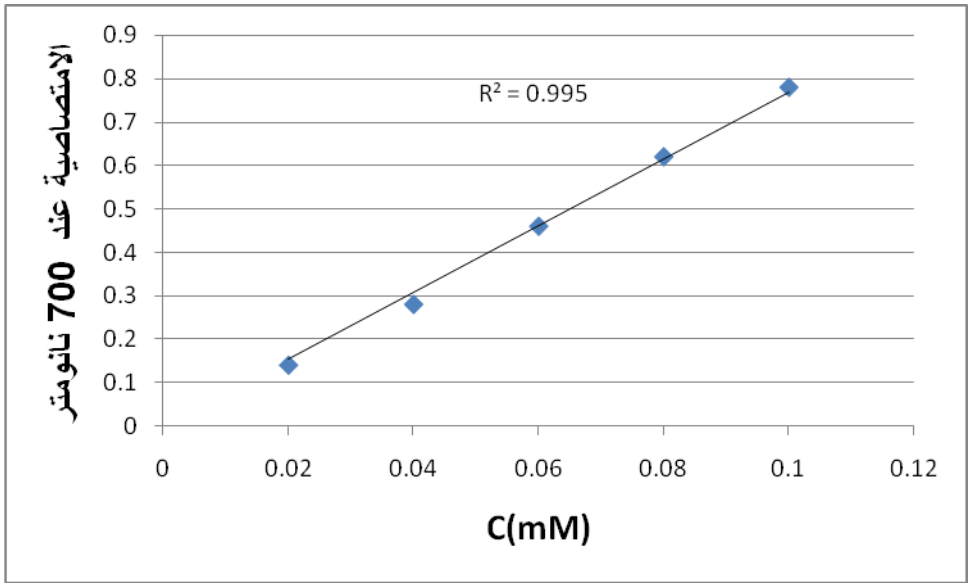
نضيف عوض محلول حمض الاسكوربيك 3ml من كل عينة ممددة الى مواد تحضير المحاليل العيارية، و نقيس الامتصاصيات بدلالة التركيز. تم تعيين القدرة التثبيطية للمستخلصات المدروسة بنفس الطريقة الحسابية لطريقة إرجاع الحديد الثلاثي.



المنحنى(12) العياري لحمض الاسكوربيك بطريقة موليبدات الفوسفات(MP)



المنحنى(13) العياري لـ BHT بطريقة الموليبدات الفوسفات(MP)



المنحنى(14) العياري لـ BHA بطريقة موليبدات الفوسفات(MP)

بلغت القدرة المضادة للأكسدة المكافئة حمض الغاليك (acid gallique) وللمستخلصات وكذا BHT و BHA على التوالي لودجلا(5) : 0.40mM لحمض الغاليك , 5.41mM و مستخلص البردقوش HE d' Origanum , BHT 0.46mM ,BHA 0.37mM , مستخلص الاذخر 4.19mM . 1.13 mM HE de Cymbopogon ,0.32 mM α- , tocophérol , 2.35mM

المستخلصات	قيم (mM)AEAC
Extrait n –Butanol Origanum	05.14
Extrait n –Butanol Cymbopogon	04.19
Acid gallique	0.40
BHA	0.37
BHT	0.46
HE d' Origanum	2.35
HE de Cymbogopogn	1.13
α- tocophérol	0.32

الجدول (5) قيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر جوان

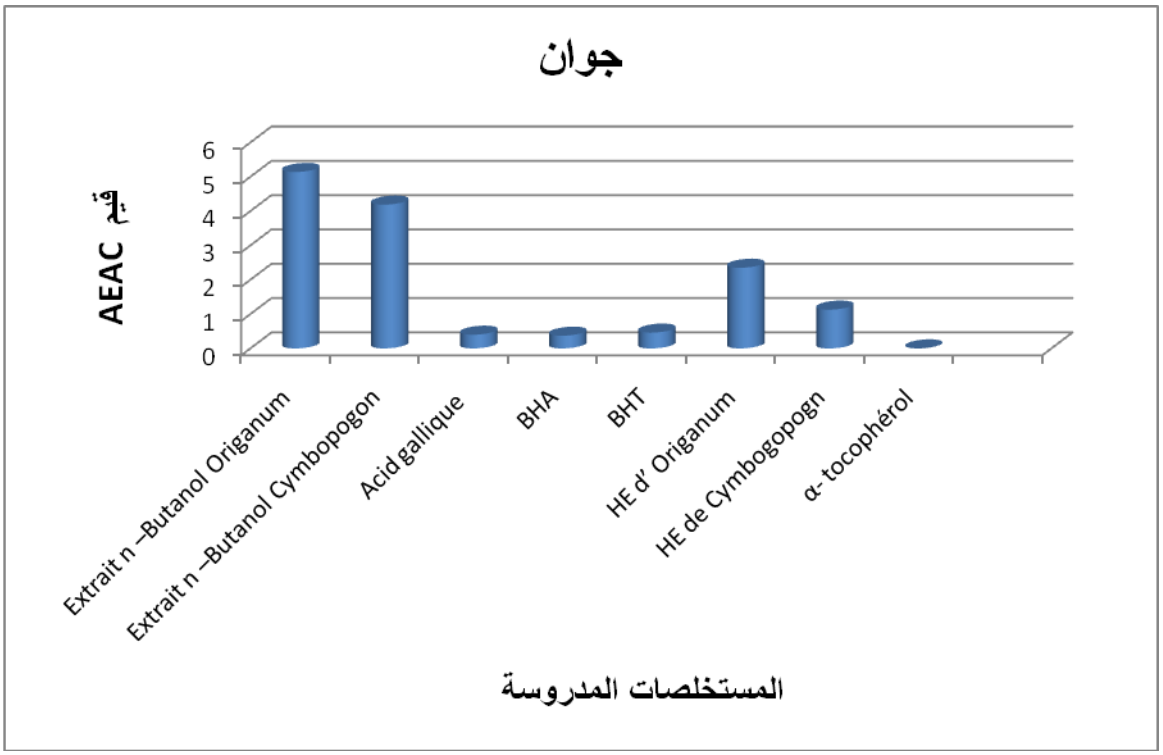
II-4-النتائج و المناقشة

تدل هذه النتائج لشهر جوان أن مستخلص البردقوش اكبر من حمض الغاليك المستعمل بـ12 مرة ونصف ، و مستخلص الاذخر بـ10 مرات و HE d' Origanum باكثر من 5 مرات و HE de Cymbopogonباكثر من مرتين كما ان BHA اقل من مستخلص البردقوش باكثر من13 مرة ومن مستخلص الاذخر باكثر من11 مرة و HE d' Origanum اكثر من6مرات و HE de Cymbopogon اكثر من 3مرات اضافة الى ذالك BHT اقل من مستخلص البردقوش باكثر من11مرة مرة ومن مستخلص الاذخر باكثر من9 مرات و HE d' Origanum باكثر من 5 مرات و HE de Cymbopogon باكثر من مرتين و α- tocophérol اقل من مستخلص البردقوش باكثرمن 16مرة و من مستخلص الاذخر 13 مرة و HE d' Origanum باكثر من 7مرات و من HE de Cymbopogon باكثر من 4 مرات .هذه النتائج تبين ان المستخلصات المدروسة للنبتتين لها فاعلية مضادة للاكسدة كبيرة مقارنة بالمواد العيارية.

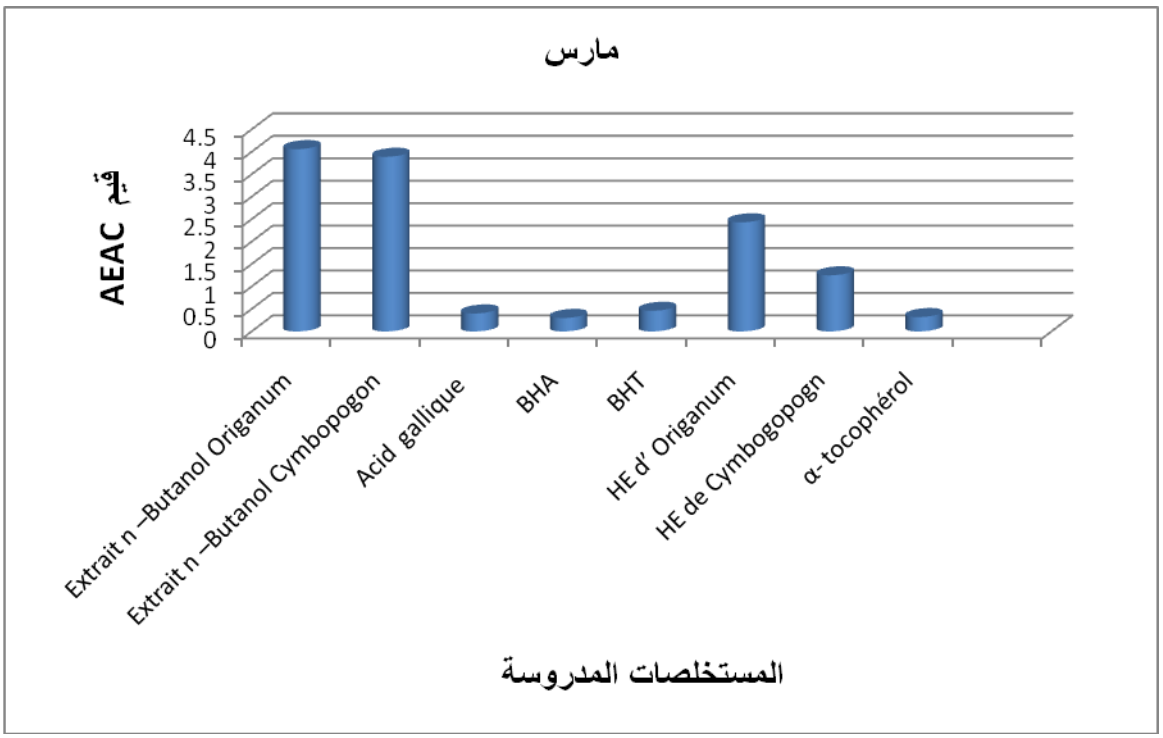
نفس العمل قمنا به بالنسبة للاشهر المتبقية(مارس، جانفي، اكتوبر) فكانت النتائج موضححة في الجدول (6) و التي تبين ان النشاط لمضاد للاكسدة للنبتتين المدروستين لها فاعلية كبيرة لاشهر القطف مقارنة بالمواد العيارية.

اشهر القطف / قيم (AEAC mM) المستخلصات	جوان	مارس	جانفي	اكتوبر
	قيمة AEAC(mM)	قيمة AEAC(mM)	قيمة AEAC(mM)	قيمة AEAC(mM)
Extrait n –Butanol Origanum	05.14	4.86	4.06	5.06
Extrait n –Butanol ymbopogon	04.19	4.62	3.89	4.27
Acid gallique	0.40	0.40	0.40	0.40
BHA	0.37	0.37	0.37	0.37
BHT	0.46	0.46	0.46	0.46
HE d' Origanum	2.35	2.15	2.43	2.05
HE de Cymbogopogn	1.13	1.33	1.25	1.03
α- tocophérol	0.32	0.32	0.32	0.32

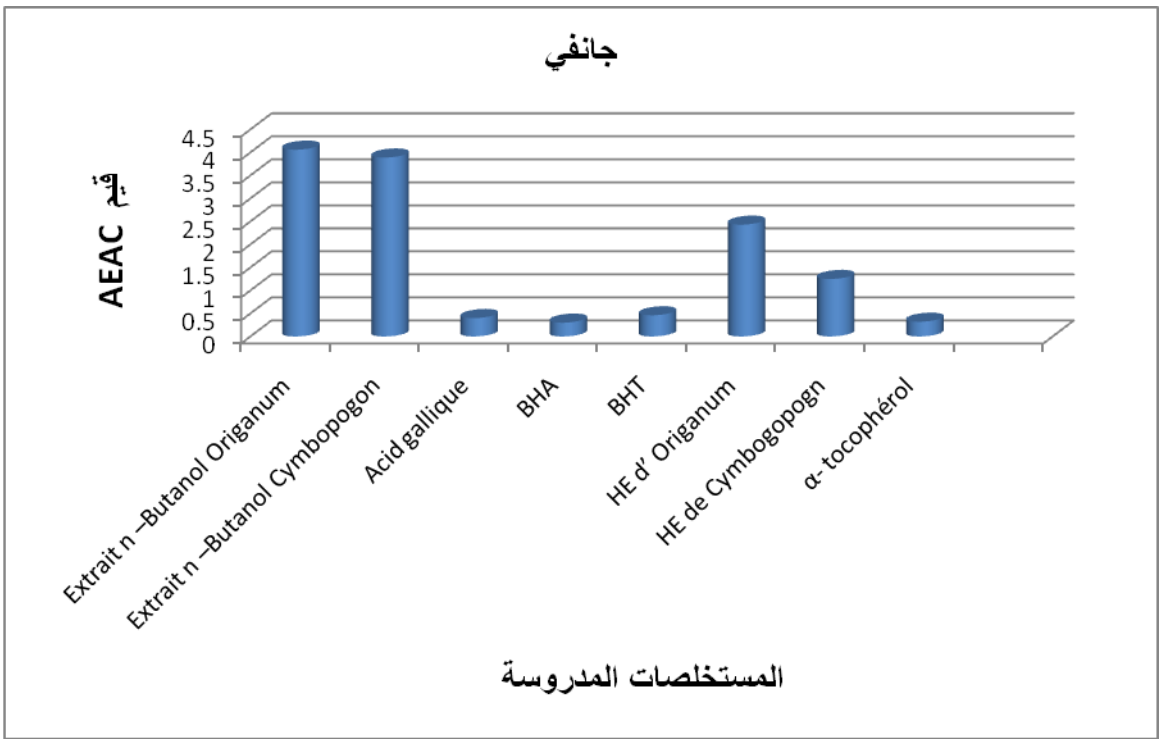
الجدول (6) قيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال اشهر القطف



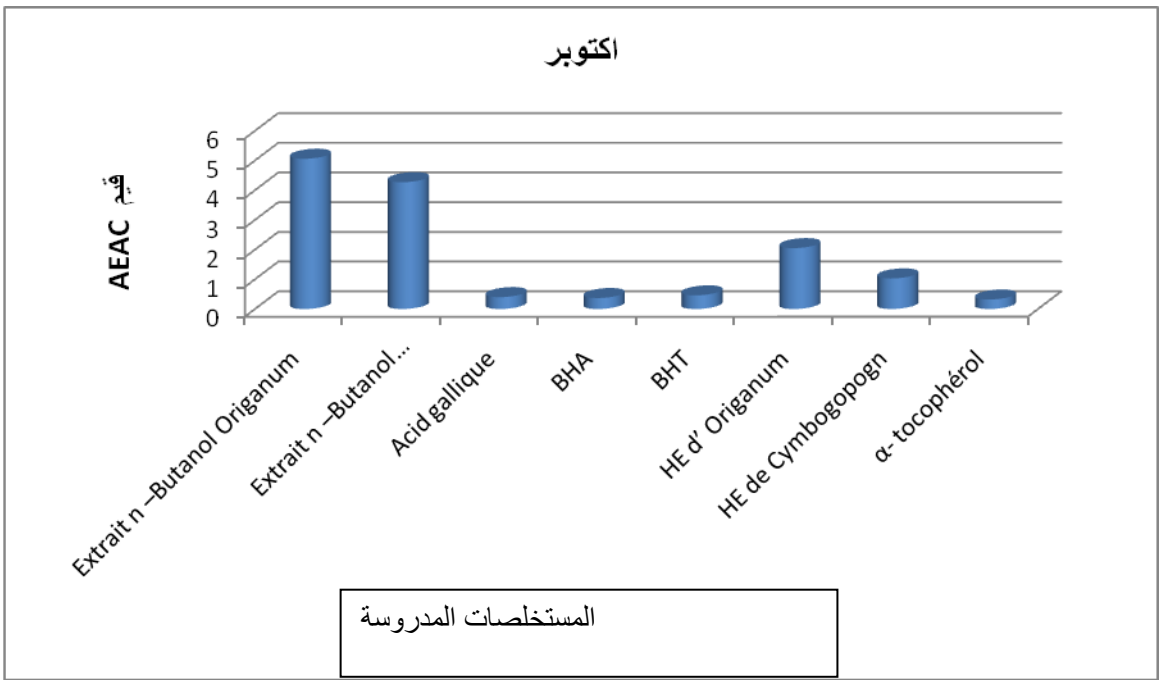
التمثيل البياني (11) قيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر جوان



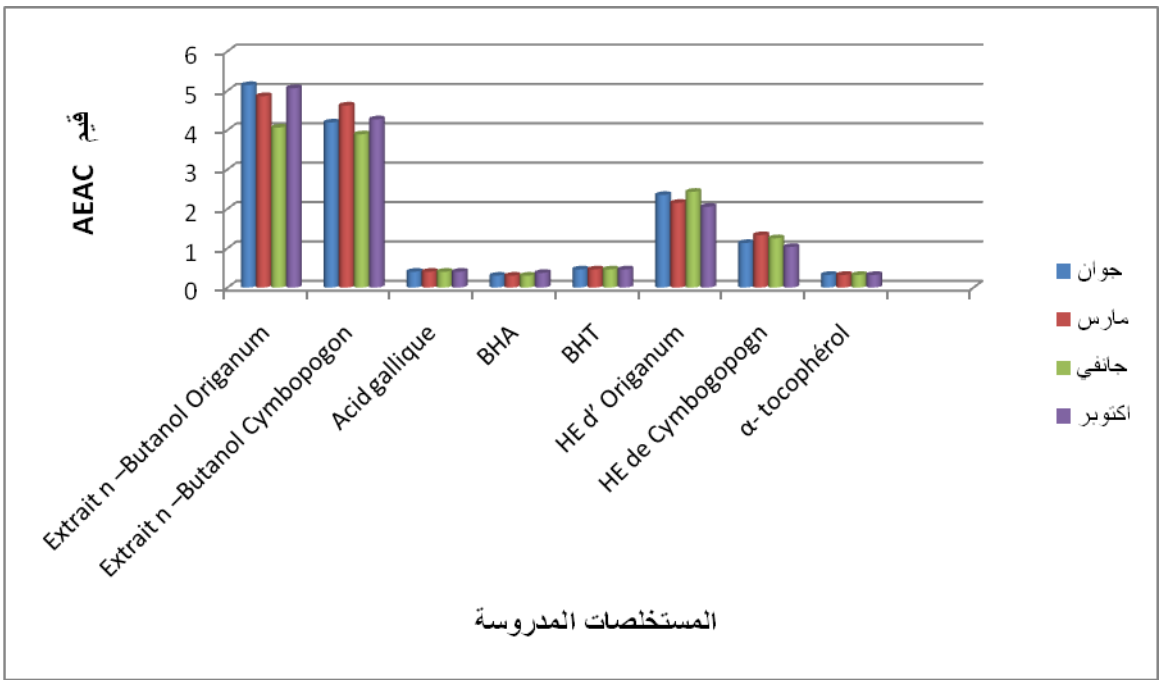
التمثيل البياني (12) قيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر مارس



التمثيل البياني (13) قيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر جانفي



التمثيل البياني (14) قيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال شهر اكتوبر



التمثيل البياني (15) قيم AEAC للمستخلصات المدروسة خلال اشهر القطف

من نتائج إختبار DPPH و إختبار FRAP و اختبار موليبدات الفوسفات نستنتج أن الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة للجذور الحرة لمستخلصات النبتتين المدروستين البردقوش و الاذخر عالية بالنسبة للمواد العيارية.

المراجع بالعربية

[2] – د . محب طه صقر، أستاذ فسيولوجيا النبات، منشور بعنوان فسيولوجيا الإجهاد Stress Physiology كلية الزراعة، جامعة المنصورة.

[3]– د .أبو العلا أحمد عبد الفتاح، الشقوق الطليقة العدو الحقيقي للأداء الرياضي،2003 .

[4] – بوبلوطة حورية ،النشاط المضاد للتأكسد وإمكانية وقاية المستخلص الميثانوليين لنبتتي الـ MatricariaPubescens و Centaurea incana على السمية الكبدية أطروحة دكتوراء، جامعة منتوري قسنطينة 2009.

[5]– الدكتور: ع. ع سعيد " كيمياء الجذور الحرة " دار المسيرة للنشر و التوزيع والطباعة – الأردن – 2001 الطبعة الأولى ص 192.

[7] – س.هـ. باين، ج. ب. هندريكسون، د. ج. كرام، ج. س. هاموند الكيمياء العضوية المجلد الثاني الطبعة الرابعة 1995 ، الدار الدولية للنشر و التوزيع . ص 385 – 840 .

[8] – الدكتور. ي. ل. على " الأسس الإلكتروني لميكانيكية التفاعلات العضوية " الطبعة الأولى 2002 دار الفجر للنشر و التوزيع .

[9]– العابد إبراهيم، دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران Traganum nudatum ، مذكرة ماجستير جامعة ورقلة (2000).

[12] – الدكتور. س. ع. الصقر، " الكيمياء الحياتية " الجزء الثاني 1981 .France – Sima – Rotomage

[15] – الدكتور. ب. كامل. ك. الركابي، " كيمياء الأغذية " ، 1981 ، المكتبة الوطنية بغداد .

[18] – بوالقندول رمزي، الدور الوقائي لبعض المستخلصات الفلافونيدية ضد الالتهاب الكبدي المحرض بالباراسيتامول لدي الجرذان، جامعة قسنطينة 2011 ، ص33–39.

المراجع بالفرنسية

[1]− Cristina Popovici , Ilonka Saykova, Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel 2009, 4, 25- 39.

[6] -DOMINIQUE G., Etude des nouvelles réactions radicalaires application à la Synthèse d'alcaloïdes, Thèse de Doctorat , Ecole Polytechnique, 2004 .

[10]- TURBO N.J. MASAYUKI A . GOULD L . R. J . AM . Chem. Soc , 1982 , p . 104 , 856 - 858 .

[11] – VOLLHARDT . K . P . C . Schore . N . E . « Traité de la chemie organique» traduction 3ème éd , De Boeck et larcier . s . a , 1999 .

[13] – FAVIER . A , « le stressoxydant : Intérêt conceptuel et expérimenta dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique l'actualité chimique 2003 »

[14] – HILCENTR . « chimie organique hétérocyclique»,EDP.Sciences, 2003

[16] – WANGL . L , JUI - HUNGYENI , LINGLIANG 3.H , JIUAN . WU 1 . M , « Antioxidant Effect of Methanol Extracts from lotus Plumule and Blossom (Nelumbo nucifera Gertn) Journal of food and Drug Analysis » , Vol 11 , No1, 2003 .

[17] – MARNEY BUTZ . " Use of the ferrie Reducing Antioxidant Power Test (FRAO) Assay as a Measurement of Antioxidant of Plant Phenylpropannoids , Undergraduate Research conference Centennial Studebt Union Minnesota State University, Mankatomars 2002 , p : 25 - 26

[19] – Molyneux – P , " the use of the stable free radical diphenylpicrylhdrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity " song klana karim J.sci technol ., 2004 , p : 2 – 211 - 219.

[20] – BRAND WILLIAMS .W, BERSET.C,CUVELIER.M.E," Use of free redica method to evalute antioxidant activity lebens " Wissen .U.Tech , 1995 , p: 28 -30.

[21] – I.F.F BENZIE , J.J.STAIN ." the ferric reducing ability of plasma (FRAP) as Measure of antioxidant power, FRAP essay Anal Biochen . 1996 , p : 239 , 70 – 76 .

[22] –Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M., (1999): Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Anal. Biochem, 269: p 337-341.

الفصل الثالث

النشاط المضاد للبكتريا

الباب الأول

الجانب النظري

III-1 – مدخل :

تشكل البكتيريا مجموعة الكائنات بدائية النوى ، تعامل معها الإنسان دون أن يراها فقد عرف أنها تسبب المرض واستعمل بعضها في عمليات تخمر مختلفة .ولقد كان للكشف المجهري الأثر في التعرف عليها ، أول من إكتشف وجود البكتيريا العالم الكيميائي الفرنسي (باستير) من خلال تجاربه على التخمر و اكتشف أيضا طعومها و إرتبط إسمه بعملية البسترة لقتل الكائنات الحية المجهرية التي يمكن أن توجد بالسوائل وخاصة الحليب.أما العالم الألماني روبرت كوخ فقد أسهم في اكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض وهو أول من عمل مزارع نقية للبكتيريا [1]. ولقد إرتبط إسم 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 الغذائية والدوائية والتخلص من المواد العضوية وغير العضوية وكذلك معالجة المياه والمعالجة الحيوية لمخلفات المزارع واستخدامها في إنتاج الطاقة وغاز الميثان[2].

III – 2 نبذة تاريخية حول البكتيريا :

تميل بعض الأبحاث العلمية إلى الاعتقاد بأن البكتيريا – أو بعض صورها – تمثل أول صورة للحياة ظهرت على سطح الأرض ، فأقدم الحفريات المعروفة ، كانت لبكتيريا عاشت وتكاثرت ، على ظهر الأرض ، منذ أمد بعيد ، قد يصل إلى 3.5 ألف مليون عام الأمر الذي حدا ببعض العلماء إلى الاعتقاد بأن بعض أنواع البكتيريا ، قد تطورت تدريجيا ، إلى كائنات متعددة الخلايا[1].وكان أول من وصف البكتيريا ، هو العالم الألماني أنتوني فان لوفينهوك(Antonie Van Leewenhoek) ، وذلك عقب تطويره لجهاز مبسط من العدسات يشبه المجهر ، وقد اعتقد العلماء في بداية الأمر ، أن البكتيريا إن هي إلا ناتج مواد غير حية إلى أن أثبت العالم الفرنسي لويس باستير (Pasteur Louis) في نهاية القرن الثامن عشر ، أن البكتيريا كائن حي ، وأن الكائن الحي لا يتولد إلا من كائن حي آخر . ثم توالت بعد ذلك مجموعة من الأبحاث والأعمال العظيمة الناجحة التي قام بها كل من لويس باستير والعالم الألماني روبرت كوخ (Robert koch) اللذين يعزى إليهما الفضل في إنشاء علم دراسة البكتيريا في العصر الحديث [2].

III – 3 تعريف البكتيريا :

البكتيريا كائنات دقيقة الحجم ، لا ترى إلا بالمجهر ، توجد البكتيريا في كل مكان ، في الهواء وفي الماء ، وعلى جسم الإنسان ، وداخل قناته الهضمية ، وجهازه التنفسي وتكون أيضا على سطح الجلد . أبعادها بالميكرون حيث أن عرضها مابين (0.2-2) ميكرون ،وطولها مابين (2-10) ميكرون ،ولا تحتوي على اليخضور وتكون على عدة أشكال منها كروية وعصوية، ومنها نافعة وضارة[3]،[4] ، وتستطيع جرثومة البكتيريا العيش لأعوام طويلة متحملة جميع الأحوال غير الملائمة من إرتفاع درجة الحرارة ، أو انخفاضها ، أو غير ذلك من الظروف البيئية القاسية ، وعند تحسن الظروف البيئية المحيطة تتخلص الجرثومة من الغشاء السميك ، وترجع إلى سابق عهدها نشاطا وحيوية [5].

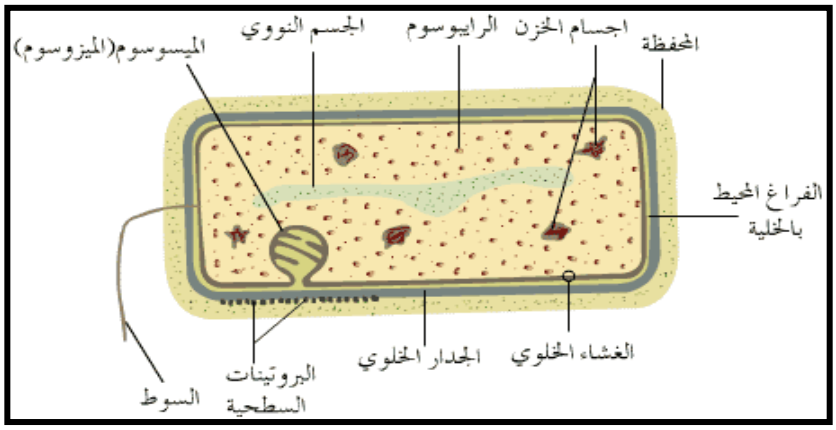
III – 4 خصائص البكتيريا :

– البكتيريا كائنات دقيقة الحجم يتراوح حجمها بين 0.3 – 2 ميكرون .

– البكتيريا كائنات دقيقة مجهرية بدائية النوى .

– تتميز البكتيريا ببساطة التركيب

إذ تتركب من جدار وغشاء خلويين يحيطان بالسيتوبلازم الذي يحوي كروموزوما حلقيا واحدا DNA ولا يحتوي على بروتين الهستون وقد يحتوي على واحد أو أكثر من جزئيات DNA على شكل دوائر صغيرة تسمى البلازميدات وتتكاثر بصورة مستقلة عن الكروموزوم و الرايبوزومات وبعض الأجسام التخزينية .



الشكل رقم (39) : بنية الخلية البكتيرية

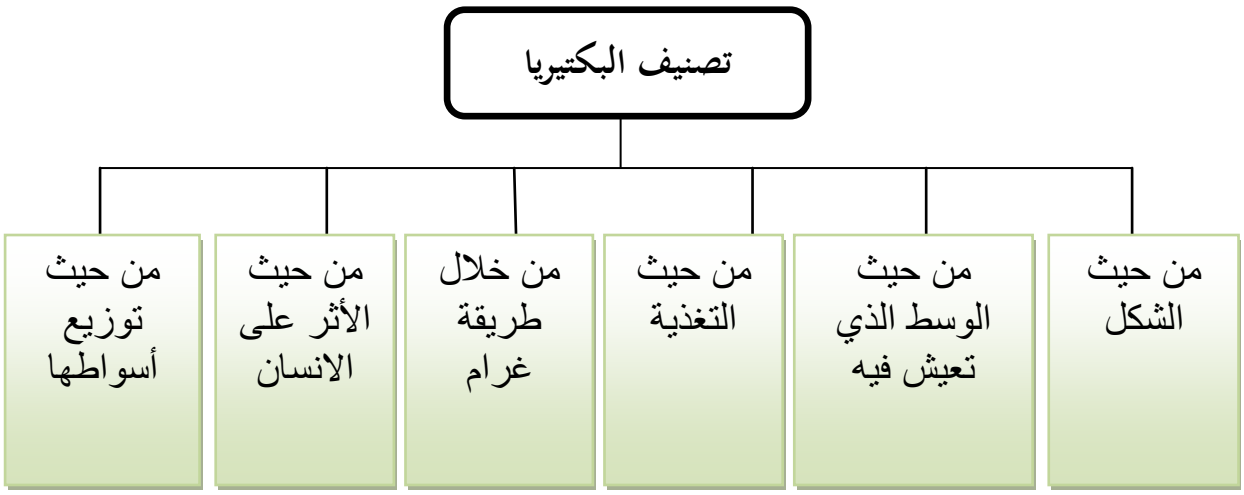
– تحتوي الخلية البكتيرية على غلاف ، قاس ، متماسك ، متمم للبكتيريا ، وهو المسؤول عن حماية شكل الخلية من الإضطرابات الناتجة عن تأثير الضغط الخارجي كالأجسام الغريبة .

وهناك أنواع أخرى تحتوي على حافظة خارجية حول غلاف تدعى capsule .

– درجة الحرارة المناسبة لنمو البكتيريا تتراوح بين 37 – 45 ° م بحيث يمكنها التكاثر خلال مدة وجيزة إلى أعداد كبيرة [6] .

III – 5 تصنيف البكتيريا :

صنف العلماء البكتيريا إلى عدة تصنيفات كما هو موضح في المخطط(4) التالي:



المخطط (4) تصنيف البكتريا

- ✓ 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 [7].

III – 5 –1 من حيث توزيع أسواطها [8] :

فيمكن تقسيمها إلى :

1 – بكتيريا وحيدة السوط .

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

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

III – 5 – 2 من حيث الشكل [8] :

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

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

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

4 – البكتيريا الواوية (Vibrio) : التي تأخذ شكل الواو أو الضمة العربية .

III – 5 – 3 من حيث الوسط الذي تعيش فيه [8] :

فيمكن تقسيمها إلى ثلاثة أنواع :

1 – بكتيريا هوائية (Aerobic) : وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الهواء الجوي وهي تعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية .

2 – بكتيريا لا هوائية (Anaerobic) : وهي البكتيريا التي تعيش فقط ، في غياب الهواء الجوي .

3 – بكتيريا لا هوائية اختيارية (Facultative Anaerobic) : وهي البكتيريا التي يمكنها العيش و النمو ، في ظل وجود الهواء الجوي ، أو عدمه .

III – 5 – 4 – من حيث التغذية [8] :

فيمكن تقسيمها إلى نوعين :

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

2 – بكتيريا عضوية التغذية : هي البكتيريا التي تحصل على الكربون من تحليل المواد النيئة كالسكر .

III – 5 – 5 من حيث طريقة التلوين (غرام) [9] :

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

1 – بكتيريا غرام موجب (gram positive) : عند تلوينها تمتص اللون وتظهر أرجوانية

2 – بكتيريا غرام سالب (gram négative) : تحرر صبغ وتظهر حمراء .

ويظهر جدار خلية البكتيريا موجب (gram positive) ، أسمك من جدار خلية البكتيريا غرام سالب (gram négative) .

III – 5 – 6 من حيث الأثر على الإنسان [10] :

يمكن تقسيمها إلى ثلاث انواع :

1 – بكتيريا نافعة : وهي التي تقدم خدمات جليلة للإنسان والحيوان والبيئة .

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

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

البروتين ، كما تقوم بكتيريا التربة بتحليل أجسام الكائنات الحية بعد موتها ، وكذا المواد العضوية المعقدة ، وتحويلها إلى صور بسيطة ، تستفيد منها التربة والنبات والحيوان . ولا يقتصر الأمر على ذلك فحسب ، بل إن هناك صناعات كاملة تقوم على إستخدام بعض أنواع البكتيريا النافعة ، فصناعة بعض منتجات الألبان ، وبعض الأدوية ما هي إلا ناتج عمل البكتيريا النافعة .وحديثا تمكن العلماء من استخدام البكتيريا في معالجة مياه الصرف الصحي ، حماية للبيئة من التلوث ، ويطلق على كل هذه الأنواع البكتيرية إسم البكتريا النافعة (Bénéficial bactérie).

2 – البكتيريا الإنتهازية : هناك أنواع من البكتيريا تعيش في جسم الإنسان من دون أن تسبب له أي أضرار صحية إلا أنها تؤدي إلى ، انخفاض مناعة جسم الإنسان لأي سبب من الأسباب ، تهاجم الجسم ، متحولة إلى بكتيريا ضارة تسبب عديدا من الأمراض ، وذلك على نحو ما هو شائع في الإصابة بالتهاب الحلق أو التهاب اللوزتين ، ويطلق على هذه البكتيريا ، إسم البكتيريا الانتهازية (Opportunistic Bacteria)

3 – البكتيريا الضارة : توجد بكتيريا ضارة تهاجم الإنسان ، ويطلق على هذا النوع من البكتيريا إسم البكتيريا الممرضة (bactérie pathogenic) ، فتسبب له أمراضا ومشاكل صحية عديدة ، وذلك على نحو ما يحدث في أمراض : السل والكوليرا ، والتيفوئيد ، السعال الديكي ، والزهري والسيلان – ومن بين البكتيريا الضارة والمسببة للأمراض :

III – 5 – 6 – 1 Esherichia coli :

_ هي بكتيريا سالبة الغرام وهي بكتيريا هوائية سالبة الغرام ، تعيش في جسم الإنسان والحيوان والنبات وفي التربة ، تكون متحركة على شكل عصيات ، مسببة للأمراض من هذه الأمراض :

أمراض الجهاز البولي ، الإسهال الطفيلي ، التهاب السحايا وتسمم الدم .

الشـــكل رقـــم (40) : **Esherichiacoli ملاحظـــة بالميكروســـكوب**

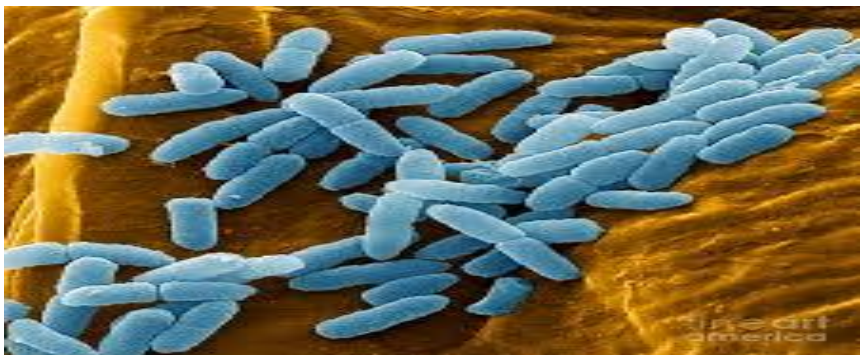
III – 5 – 6 Staphylococcus aureus :

هي بكتيريا موجبة الغرام . هي بكتيريا كروية الشكل تسمى كوكسي (Cocci) ذات لون أصفر براق ، عديمة الحركة ، تكون عناقيد على شكل أكوام ، وتتواجد لدى الإنسان في الجلد والأمعاء والجهاز التناسلي وعلى الوجه .هذه البكتيريا مسؤولة على تشكل الصديد وتسبب تسمم الغذاء ، وتتسبب في التهابات جلدية خطيرة ، ويتسبب هذا النوع من البكتيريا بالعديد من الإلتهابات التي تسهل إنتشارها في الأماكن المزدحمة المغلقة . وقد تسبب البكتيريا في موجات وبائية ووفيات هائلة نتيجة إلتهابات الرئتين ، وخراريج المخ ، وأمراض السحايا ، وتسمم الدم ، وغيرها من أمراض قاتلة .

الشكل رقم (41) : Staphylococcus aureus **ملاحظة**

III – 5 – 6 –3 pseudomonas aeruginosa

هي بكتيريا ذات سالبة الغرام متحركة هوائية مصدر هذه البكتيريا الجهاز الهضمي للإنسان والحيوان والماء والتربة تعمل على الإتلاف السطحي للأغذية المبردة وتعد من بين المكروبات المحللة للدهون باللبن مما يؤدي إلى تغير لونه وطعمه وهي مقاومة للعديد من المضادات الحيوية والمطهرات مما يفسر نموها وتكاثرها في الأوساط الإستشفائية حيث تنمو في الأجهزة الطبية ، الأفرشة ، الألبسة .....وتكون ممرضة بضعف الجهاز المناعي للجسم .



الشكل رقم (42) : **pseudomonas aeruginosa ملاحظة**

البكتريا المستعملة في الدراسة	الامراض المعدية
Condida albicans	– عدوى فطرية للغشاء المخاطي الهضمي و الامراض النسائية – داء المبيضات الفموي و المريء – المبيضات في الدم – عدوى الجلد السطحية – طفح جلدي لحديثي الولادة – الالتهاب الرئوي و التهاب الرحم
klebsiella pneumoniae	– التهاب الجهاز التنفسي العلوي – التهاب المسالك البولية – التهاب الثدي
Staphylococcus aureus	– التهاب الجلد و الأنسجة الرخوة – الالتهاب الرئوي الحاد في المستشفيات
E.coli	– التهاب القولون النزفية ومتلازمة انحلال الدم، اعراض الدوسنتاريا . – الإسهال المعوية الغازية وممرض للامعاء – التهاب المسالك البولية والتناسلية – التهاب السحايا ،الدماغ ،الإجهاض – التهاب الأطفال حديثي الولادة.
pseudomonas aeruginasa	– عدوى المستشفيات – التهاب الأذن الوسطى الحاد – التهاب الجروح و التهاب المسالك البولية، تعفن الدم.

جدول(22) الامراض الناتجة عن السلالات الميكروبية قيد الدراسة

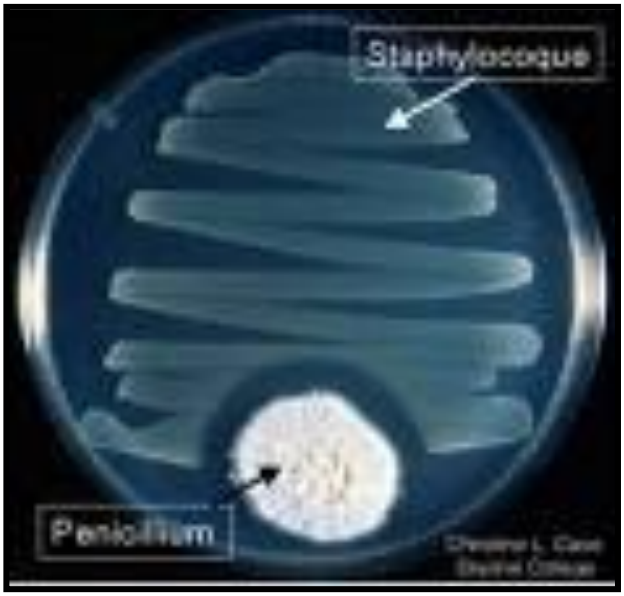
III – 6 المضادات الحيوية :

III – 6 – 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 كيماوية ذات تأثير ضار بالميكروبات [11].

III – 6 – 2 – من الناحية التاريخية :

رغم أن مفهوم المضاد الحيوي لم ينشأ إلا في القرن العشرين إلا أن إستخدامها قد بدأ في الصين منذ أكثر من 2500 سنة ، وكثيرا من الحضارات القديمة كالحضارة الفرعونية و الحضارة الإغريقية قد إستعملوا النباتات في علاج الكثير من الأمراض والعدوى دون التنبه إلى المادة الفعالة داخل النباتات ، في ألمانيا عام 1909 طور بول أرليك (Paul Ehrlich) مضاد حيوي ضعيف المدى أسماه سالفرسان (Salvarsan) وأستخدم في علاج السيلان الذي كان منتشرا بكثرة في هذه الفترة ، وكان الإكتشاف الحقيقي للمضادات الحيوية في إنجلترا عام 1928 بواسطة أليكساندر فليمينج (Alexander Fleming) حيث إكتشف البينيسيلين وأثبت أن عفن Penicillium notatum ينتج مادة البنسلين القادرة على القضاء على بعض أنواع الجراثيم مثل : Staphlocoque .



الشكل رقم (43) : فعالية البينيسيلين ضد بكتيريا Staphylococcus aureus

وبعد عشرة أعوام قام أرنست تشين وهاورد فلوري بتحضير نوع صافي من البنسلين وحصل الثلاثة على جائزة نوبل في الطب عام 1945 .ومنذ ذلك الوقت إكتشفت مئات من المضادات الحيوية ، وأمكن التعرف عليها وأستعمل بعضها في العلاج الداخلي للإنسان [12].

III – 6 – 3 – أنواع المضادات الحيوية :

إن الوظيفة الأساسية للمضاد الحيوي في الجسم تنقسم إلى قسمين [13] :

III – 6 – 3 – 1 مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية :

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

III – 6 – 3 – 2 مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية :

إما عن طريق التأثير على جدار خليتها ، أو بالتسبب في انتفاخ خليتها وانفجارها ، أو بمنع تكوين مادة البروتين داخل خليتها .

مثل : أمبسلين ، جنتاميسين ، بنسلين .

III – 6 – 4 تأثير المضادات الحيوية :

تعمل المضادات الحيوية على قتل الميكروب ، أو كبح الميكروبات ، وقد يكون مفعول المضاد على الغلاف الخارجي (Cell wall) ، أو الغلاف الداخلي (Membrance cell) ، أو يعمل على مستوى الخلية لإيقاف تصنيع البروتين (Protéine Synthesis) .

III – 6 – 4 – 1 العمل على الجدار الخارجي للبكتيريا : المضاد الحيوي يوقف تركيب الجدار بتثبيط transpeptidase هذا ما يمنع من تركيب peptidoglycane .وهذا يوقف نموها وعملها ويمكن أن يشمل تدمير تلك الأخيرة بالفعل وتعمل وفق هذا الأسلوب من العمل :

- بنسلين penicillin
- سيفلوسبورين céphalosporine
- فانكوميسين vancomycin
- سيكلوسبرين cyclosporine

III – 6 – 4 – 2 العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا : المضاد الحيوي له خواص سطحية التي تمكنه من تخريب عمل نفاذية الغشاء الداخلي (زيادة غير طبيعية) ، ويسمح بطرح المواد السائلة خارج البكتيريا ، هذا ما يسمح بتدميرها ، مثل ، (lipopeptides cycliques) polymyxines يعمل وفق هذا الأسلوب من العمل .

III – 6 – 4– 3 العمل على تثبيط نمو ADN :

يعمل المضاد الحيوي على المعقد ADN-ADN ، حيث يعمل المضاد الحيوي على التثبيط الأيضي لنمو ADN للبكتيريا وتعمل وفق هذا الأسلوب من العمل :

- ستربتوميسين Streptomycin
- كاناميسين Kanamycin
- أرثروميسين Erythromycin
- ريفامبيسين Rifampicin
- سبترين Septrin

III – 6 – 5 – طريقة تحديد درجة حساسية المضادات الحيوية : [13] [12] [14]

III – 6 – 5 – 1 تمهيد :

المضادات الحيوية هي مركبات كيميائية محضرة ذات فاعلية خاصة بتراكيز مخففة .

بعض المضادات الحيوية تملك فاعلية (كبيرة أو صغيرة) تختلف بحسب البكتيريا الحساسة لفعل المضاد .

نظرية : معرفة الفاعلية للمضادات الحيوية (المقاومة الطبيعية للبكتيريا) تسمح بالقيام بالمعالجة .

حقائق : البكتيريا تستطيع أن تملك مقاومة للمضاد الحيوي بتعديل أساسي لجيناتها .

نتيجة : معرفة العنصر البكتيري لا يسمح بتوقع الفاعلية للمضاد الحيوي .

III – 6 – 5 – 2 – خواص الجذمة البكتيرية (la souche bactérienne) :

في علم الطب ، الجذمة البكتيرية هي مقاومة للمضاد الحيوي على حسب تركيز المضاد الحيوي ، أي بإرتفاع التركيز تقل المقاومة لإعطاء أفق لكي تتم المعالجة .

III – 6 – 6 حساسية الميكروب [11] [12] [14] :

إن دراسة حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي لها عدة أهداف ، أولها إختيار المضاد الأكثر نشاطا ، إضافة إلى أنه في حالة معالجة الأمراض المعدية ، يجب معرفة المضاد الحيوي الفعال وهذا بإختباره على الميكروب المسؤول عن المرض ، وأخيرا تحديد التركيز اللازم للتخلص من العامل المعدي والممرض للعضو المريض ، ولتحقيق هذا توجد طريقتين :

III– 6 – 6 – 1 دراسة فعالية المضاد الميكروبي :

وهي تدرس مدى حساسية الميكروب لمضاد حيوي بدلالة الزمن وبدلالة التركيز ، وهذا برسم منحنيين الأول يسمى منحنى النمو ، حيث عدد البكتيريا بدلالة الزمن (ساعات) ، والثاني نسبة التثبيط بدلالة تركيز المضاد الحيوي ، ويحدد من المنحنيين التركيز الأدنى للتثبيط CMI La Concentration Minimale Inhibitrice ، وتحديد التركيز الأدنى القاتل للبكتيريا La Concentration Minimal Bactéricide أو ما يسمى CMB .

والقيمتين CMB,CMI ، متقاربة بالنسبة للمضادات الحيوية القاتلة ، ومتباعدة بالنسبة للمضادات المثبطة .

و توجد عدة طرق لقياس التزايد البكتيري كإستعمال خلية hématimètre (هيما سيما تر) ، قياس الوزن الجاف ، تقدير قيمة استهلاك البكتيريا للمادة العضوية أو الأكسجين .

III – 6 – 6 – 2 طريقة الأنتيبيوغرام القياسي : L'antibiogramme

وهي طريقة تحليلية لتحديد مدى فعالية المضاد الحيوي على الميكروب (CMI) ، وهي الأفضل لمعالجة المرض المتسبب في هذا الأخير .

وهي تنقسم بدورها إلى طريقتين :

III– 6 – 6 – 2 – 1 – طريقة التمديد : (Méthode de dilution) ، والتي تتم على وسط سائل أو صلب ، وهي صعبة التطبيق في حالة التحليل الروتيني .

III – 6 – 6 – 2 –2 – طريقة الانتشار : (Méthode de diffusion) [12] :

وهي الأكثر استعمالا في المستشفيات لتشخيص الأمراض المعدية ، ويكون الوسط المستعمل صلب من الجيلوز gélose وأهم وسط جيلوزي هو وسط Hilton Muller ، نسبة للباحث الذي حضره Hilton Muller عام 1941 ، والهدف من هذه الطريقة التحليلية هو معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي ، وتحديد التركيز الأدنى للتثبيط CMI (وهو أقل تركيز يبدأ عنده تثبيط نمو البكتيريا) ويتم التحليل بإتباع الخطوات التالية :

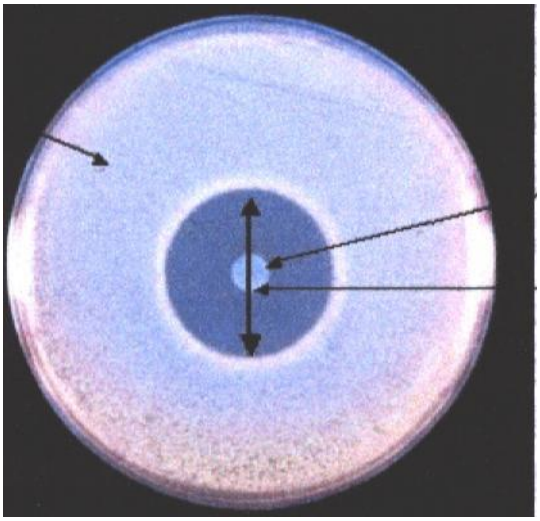
بعد إذابة معقمة للوسط الجيلوزي ، يسكب بكميات محددة في علب بتري ، يحضر المعلق الميكروبي بوضع جذمة منه في الماء الفيزيولوجي ، ثم يشتل في علب بتري المحضرة مسبقا (بعد تصلب الوسط الجيلوزي) ، تدخل العلب الحاضنة للتجفيف ، بعدها توضع أقراص الإختبار معقمة و مشبعة بتراكيز مختلفة للمضاد الحيوي المراد اختبار فعاليته ، ثم تعاد العلب للحاضنة تحت درجة 37°م لمدة 18 سا – 24 سا .

ولمعرفة مدى حساسية البكتيريا وتأثير المضاد الحيوي ، نقيس قطر طبقة التثبيط بعد مرور الفترة الزمنية المذكورة سابقا (طريقة قياس قطر الكبت موضحة في الشكل (44)) .

وكنتيجة من هذا الإختبار يحدد CMI ، ويقارن بالتركيز المتوسط للمضاد الحيوي اللازم للعلاج (الجرعة اللازمة للعلاج) Taux thérapeutique ، وعندها نقول عن البكتيريا أنها :

- **حساسة :** إذا كان CMI أقل من Taux thérap للمضاد الحيوي .
- **مقاومة :** إذا كان CMI أكبر من Taux thérap للمضاد الحيوي .
- **محدودة :** إذا كان CMI مطابق لـ Taux thérap للمضاد الحيوي .

ويعتمد نجاح هذه الطريقة على مدى الإنتشار الجيد للمضاد الحيوي في وسط الزرع ، فإن لم يكن كذلك فنتبع طريقة أخرى لقياس مدى حساسية الميكروب .



الشكل رقم (44) : الأنتيبيوغرام بعد الحضن و طريقة قياس قطر منطقة التثبيط

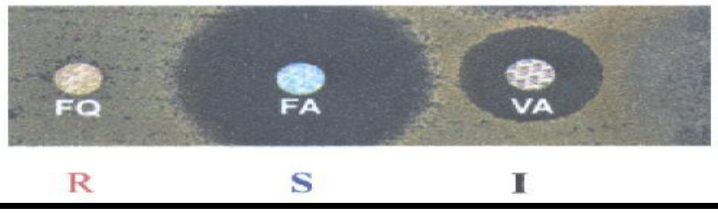
III– 6 – 6 – 3 طريقة الأنتيبوغرام الآلي : Antibiogramme automatisé [12]:

وهذا بإستعمال عدة أنواع من الأجهزة لقياس مدى حساسية الميكروب وتحديد CMI وكمثال جهاز Autobac ، جهاز MS2 .....الخ .

III – 6 – 6 – 3 –1– قراءة النتائج :

خاصية الجذمة البكتيرية هي حساسة (S) ، مقاومة (R) ، حساسية وسطية (I) .

هذا كما يوضحه الشكل رقم (10) حيث : **FQ – FA – VA** مضادات حيوية

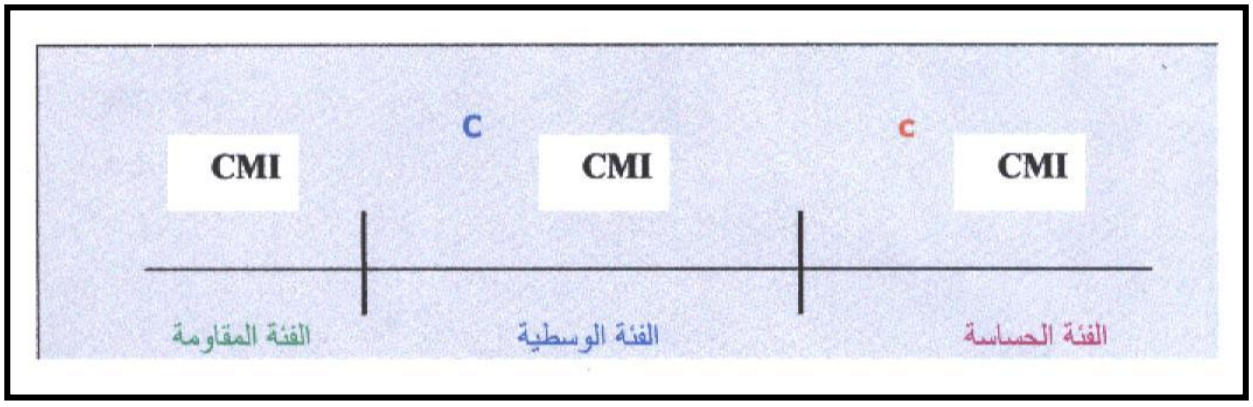


الشكل رقم (45) : أنواع القراءات الممكنة

ونعتمد في القراءة على المعطيات التالية :

(C) : هو التركيز الأعلى الحرج للمضاد الحيوي وتكون فيه الفعالية ضعيفة .

(c) : هو التركيز الأقل الحرج للمضاد الحيوي المحقون و تكون فيه الفعالية كبيرة .



الشكل رقم (46) : فئات الفعالية حسب تركيز المضاد الحيوي

ونعرف الفئات حسب التركيز كالتالي :

- **إذا كان CMI < c** : الجذمة البكتيرية حساسة للمضاد الحيوي (S) .
- **إذا كان CMI > C** : الجذمة البكتيرية مقاومة للمضاد الحيوي (R) .
- **إذا كان التركيز C > CMI > c** : الجذمة البكتيرية ذات حساسية وسطية للمضاد الحيوي (I) .

الباب الثاني

الجانب العملي

III- 1 - دراسة الفعالية البيولوجية

بعد عملية استخلاص الزيت للنبتتين ومستخلصي البيوتانول لكلا النبتتين الاذخر (*Cymbopogon Schoenanthus*) و البردقوش(Origanum majoranaL) قمنا بدراسة بيولوجية لمعرفة مدى تأثير هذه المستخلصات على بعض أنواع البكتيريا الممرضة التي تصيب الإنسان وما إذا كان لها القدرة على القضاء أوتقليص هذه البكتيريا وتمت هذه الملية في مخبر التحاليل في مستشفي العمومي محمد بوضياف بورقلة. قمنا باختبار هذه المستخلصات على 4 أنواع من البكتيريا ونوع واحد من الخمائر : pseudomonas aeruginasa, E.coli , Staphylococcus aureus , condida albicans, klebsiella pneumoniae

III – 1 – 1.العزلة البكتيرية :

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

III – 1–2.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 .

تحضير الوسط الزراعي :

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

III–1 –3.تحضيرالمعلق البكتيري :

نحضر أنابيب إختبار وفيها 5مل من الماء الفيزيولوجي حيث نضع في كل انبوبة جذمة من كل بكتيريا المرادة ،ونرجه 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 وذالك بتدوير الطبق 60°في كل مرة ،واخيرا يجفف في الفرن (37م°) لمدة 5دقائق .

III–1–4.الزرع والحضن :

نأخذ الاقراص المحضرة سابقا ونضعها في المستخلصات ،ثم ناتي بالعلب البتري السابقة ،وبواسطة الملقط نضع الاقراص بها حيث نترك مسافات منتظمة بينها وفي الاخير ناخذ العلب للحضن في الفرن (37م°)بشكل مقلوب لمدة 24ساعة .

III - 1-5- قراءة النتائج :

قراءة النتائج تكون من خلال ملاحظة مناطق الدوائر التثبيط حول هذه الاقراص ،نلخص هذه النتائج في الجدول التالي :

أ –تحديد تركيز كل مستخلص: في هذا العمل اخذنا تركيز مستخلص البيوتانول لنبتة البردقوش ونبتة الاذخر_200 mg/ml.

ب– اما بالنسبة لزيت نبتة البردقوش و زيت نبتة الاذخر فاخذنا التركيز الخام واجريت هذه العملية في البداية لشهر مارس

في هذه الدراسة قمنا بالعمل التالي :

1.اختبار الفعالية البيولوجية لهذه المستخلصات على اربعة أنواع من البكتيريا ونوع من الخمائر les (levures)

2. تحديد قيمة CMI أقل تركيز لتثبيط نمو البكتيريا لكل مستخلص على كل نوع من المكروبات المختبرة .

III - 1-6– المكـروبات المختبـرة:

المكروبات المدروسـة	نوع غـرام (gram)
E.coli	–
pseudomonas aeruginasa	–
Staphylococcus aureus	+
klebsiella pneumoniae	–
Condida albicans	خميرة levures

الجدول رقم (23) : المكروبات المختبرة ونوع الـgram

III-2- دراسة نوعية للفاعلية البيولوجية لمستخلص نباتي ضد البكتيريا بطريقة الانتشار

III-2-1-في وسط صلب:

- طريقة العمل:

هذه الطريقة تبين مدى فعالية المستخلص النباتي ضد البكتيريا المحضرة بتركيز **0.5 Mc Farland** هذه القيمة توافق المجال التركيز **مل/بكتيريا** (10^7-10^8) المقاسة بواسطة جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية المرئية Spectrophotométre à UV-V الأقراص الممتصة والمعقمة تبلل بكمية من المستخلص النباتي وتوضع داخل علبة بتري على سطح الجيلوزي المحتوى على البكتيريا المختبرة .

- إنتشار المادة المستخلصة في الوسط الجيلوزي تمنع نمو البكتيريا حول القرص .
- في حالة وجود منع لنمو البكتيريا تظهر حالة (حلقة) حول القرص (منطقة التثبيط) .
- قراءة النتائج تكون بعد وضع علب بتري في الحاضنة تحت درجة حرارة 37°C لمدة 24 ساعة .

III-2-2- تحضير الطبقة الأولى من الوسط الزراعي:

- نذوب وسط Muler-Hinton (MH) ، وسط Gélose Sabouraud بالنسبة للخمائر في حمام مائي تحت درجة حرارة 95°C .
- نسكب 15 مل من وسط (MH) في علب بتري ذات قطر 90 مليمتر يترك يبرد ويتجمد على سطح طاولة المخبر Paillasse .

III-2-3- تحضير المعلق البكتيري :

إنطلاقا من زراعة حديثة من 18- 24 ساعة نحضر معلق بكتيري بأخذ 3 إلى 5 مستعمرة بكتيرية بعيدة عن بعضها ومعزولة توضع في 5 إلى 6 ملل ماء فيزيولوجي معقم نخلط جيداً بجهاز Vortex .

ملاحظة:

المعلق البكتيري المحضر يجب استخدامه بعد 15 دقيقة بعد تحضيره .

III-2-4- تحضير الطبقة الثانية من الوسط الزراعي:

- نذوب وسط (MH) في حمام مائي تحت درجة حرارة 95°C.
- نخفظ درجة الحرارة إلى 45°C .
- نضع في قارورات زجاجية معقمة 50 ml من وسط زراعي(MH) ونزرع في كل وسط 200µl من كل جذمة [عينة] بكتيرية.

– نخلط القارورات جيداً.

– نسكب بسرعة 5 مل من محتوى كل قارورة في علب بتري المحتوية على الطبقة الأولى من الوسط الزراعي على كل المساحة نتركها تتجمد على سطح طاولة المخبر Paillasse .

III-2-5- وضع الأقراص :

– بواسطة ملقط (pince) معقم نأخذ قرصا معقما وبطرف القرص نلمس المستخلص النباتي سيتبلل تلقائيا.

– نضع القرص فوق سطح الجلوزي داخل علب بتري .

– نترك العلب على سطح طاولة المخبر لمدة 30 دقيقة ثم نضعها بشكل مقلوب في الحاضنة تحت درجة حرارة 37°C لمدة 24 ساعة .

III-2-6- قراءة النتائـج:

المستخلصات الطبيعية للنبات لها قدرة فعالة ضد البكتيريا إذا كان قطر التثبيط أكبر من محيط القرص .

– وجود منطقة واضحة حول القرص إختبار إيجابي .

– غيابها إختبار سلبي .

الشروط التجريبية لدراسة الفعالية البيولوجية:

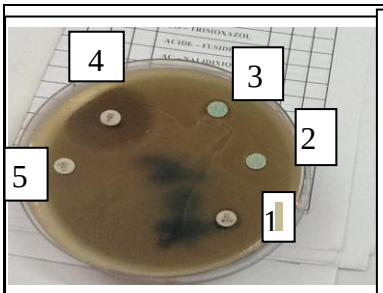
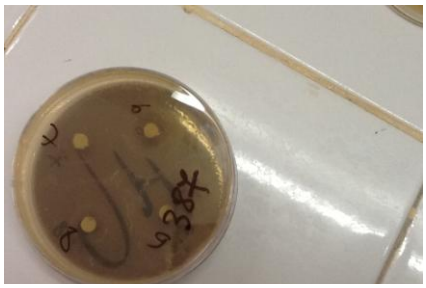
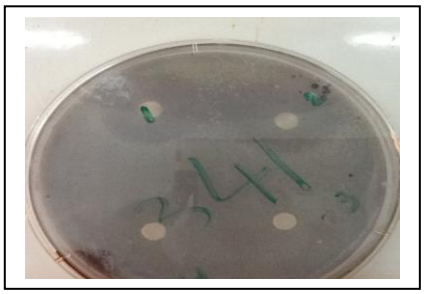
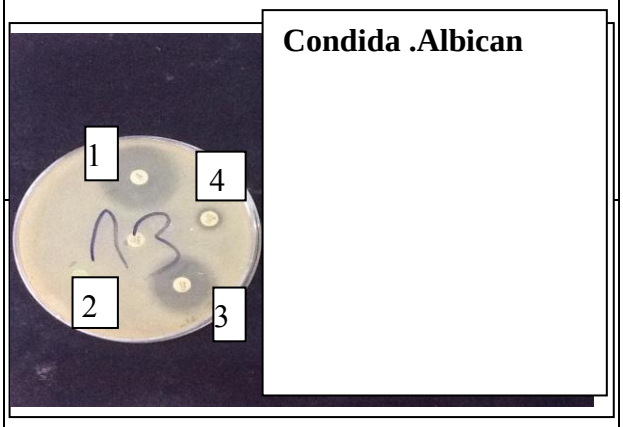
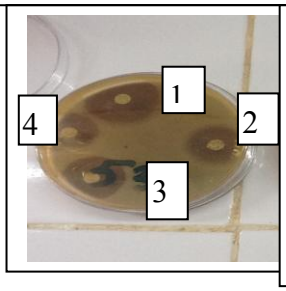
- درجة الحـرارة 22°C

III-2-7- نتائـج و مناقشـة :

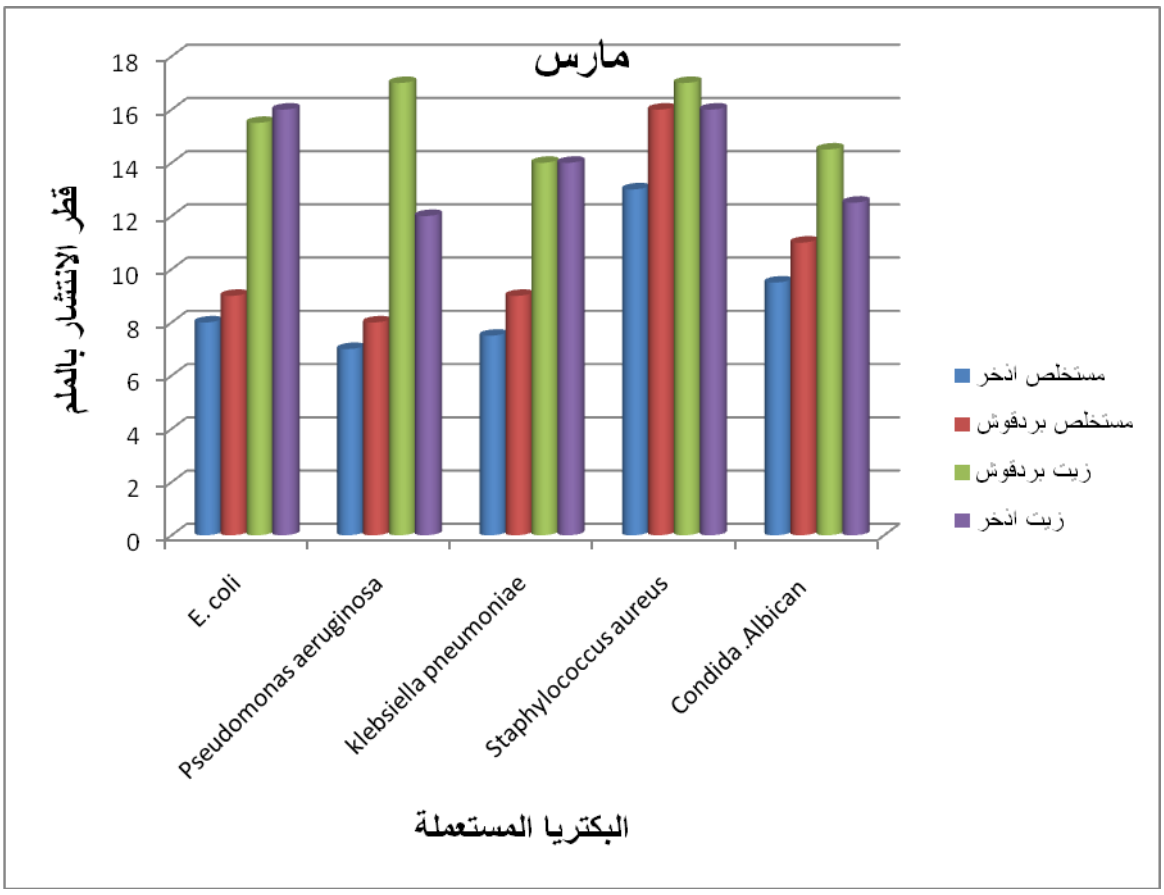
عند دراسة الفعالية البيولوجية تحصلنا على النتائج الموضحة في الجدول رقم (24) حيث : نقوم بقياس قطر منطقة التثبيط المتواجد على علبة بتري ، وكررنا العملية ثلاث مرات للتأكد من النتائج المتحصل عليها و حساب القطر المتوسط كما في الشكل رقم (47) :

المكروبات المختبرة	نوع الغرام	قـطر المتوسط للتثبيط (ملم) للمستخلصات			
		مستخلص البيوتانول للاذخر	مستخلص البيوتانول للبردقوش	زيت البردقوش	زيت الاذخر
E. coli	_	9	9	15.5	16
Pseudomonas aeruginosa	_	8	8	17	12
klebsiella pneumoniae	_	8.5	9	14	14
Staphylococcus aureus	+	13	16	17	16
Condida .Albican	فطر	9.5	11	14.5	12.5

جدول: (24) تغير قطر الانتشار للمستخلصات المدروسة لشهر مارس

 **Pseudomonas aeruginosa**	1 -مستخلص البيوتانول للاذخر 2 -مستخلص البيوتانول للبردقوش 3 -زيت البردقوش 4 -زيت الاذخر 5 -DMSO
 **klebsiella pneumoniae**	**6- زيت الاذخر** **8- زيت البردقوش** **7- مستخلص البيوتانول للاذخر** **9- مستخلص البيوتانول البردقوش**
 **E. coli**	**1- زيت الاذخر** **2- زيت البردقوش** **3- مستخلص البيوتانول للاذخر** **5 -مستخلص البيوتانول البردقوش**
 **Condida .Albican**	**1- زيت البردقوش** **2- مستخلص البيوتانول للاذخر** **3- زيت الاذخر** **4- مستخلص البيوتانول البردقوش**
 Staphylococcus aureus	1 - زيت البردقوش **2- مستخلص البيوتانول للاذخر** **3- زيت الاذخر** **4- مستخلص البيوتانول البردقوش**

الشكل (47) تغير قطر الانتشار للمستخلصات المدروسة لشهر مارس



الشكل (48)التمثيل البياني لتغير قطر الانتشار للمستخلص المدروسة لانواع البكتريا المستعملةلشهر مارس

III-2-8- النتائج و المناقشة:

من خلال النتائج المتحصل عليها في الشكل (47) نلاحظ أن كل المستخلصات لها تاثير ايجابي على الانواع المدروسة للبكتريا أي لها فعالية متثبطة على المكروبات المدروسة (+) grame , (−) grame بدرجات مختلفة الفعالية .

كما نلاحظ أن قطر منطقة التثبيط يختلف من عينة بكتيرية إلى أخرى .فمثلا

- مستخلص البوتانول للبردقوش له فعالية ضد البكتيريا E. coli وكان قطر التثبيط 9ملم.
- مستخلص البوتانول للاذخر له فعالية ضد البكتيريا Pseudomonas aeruginosa وكان قطر التثبيط 8ملم .
- مستخلص زيت للبردقوش له فعالية ضد البكتيريا Staphylococcus aureus وكان قطر التثبيط 17ملم.
- مستخلص زيت الاذخر له فعالية ضد البكتيريا Klebsiella pneumonie وكان قطر التثبيط 14ملم
- مستخلص البوتانول للبردقوش له فعالية ضد البكتيريا Canidida albicans وكان قطر التثبيط 11ملم.

نفس الشيء قمنا به بالنسبة للمستخلصات المدروسة للاشهر (جوان ، اكتوبر ، جانفي) فتحصلنا على النتائج التالية

المكروبات المختبرة	نوع الغرام	قـطر المتوسط للتثبيط (ملم) للمستخلصات			
		مستخلص البيوتانول للاذخر	مستخلص البيوتانول للبردقوش	زيت البردقوش	زيت الاذخر
E. coli	–	8.5	8.5	14	15.5
Pseudomonas aeruginosa	–	9	8	18	13.5
klebsiella pneumoniae	–	9	9	13.5	14
Staphylococcus aureus	+	12.5	14.5	19	18.5
Condida .Albican	خميرة	10	11	14	12

الجدول (24)تغير قطر ا لتثبيط للمستخلصات المدروسة لشهر جانفي

المكروبات المختبرة	نوع الغرام	قـطر المتوسط للتثبيط (ملم) للمستخلصات			
		مستخلص البيوتانول للاذخر	مستخلص البيوتانول للبردقوش	زيت البردقوش	زيت الاذخر
E. coli	–	8	10	13	17
Pseudomonas aeruginosa	–	10	14.5	19.5	13
klebsiella pneumoniae	–	8.5	8	12	14
Staphylococcus aureus	+	13	16	24	18.5
Condida .Albican	فطر	10	13.5	15	13

الجدول (25) تغير قطر ا لتثبيط للمستخلصات المدروسة لشهر اكتوبر

المكروبات المختبرة	نوع الغرام	قـطر المتوسط للتثبيط (ملم) للمستخلصات			
		مستخلص البيوتانول للاذخر	مستخلص البيوتانول للبردقوش	زيت البردقوش	زيت الاذخر
E. coli	_	7	11	19.5	16
Pseudomonas aeruginosa	_	9.5	13	19.5	12.5
klebsiella pneumoniae	_	10	7	12	14
Staphylococcus aureus	+	15	17	24	18.5
Condida .Albican	فطر	10	14	15	13

الجدول (26) تغير قطر ا لتثبيط للمستخلصات المدروسة لشهر جوان

تفسير النتائج

من خلال النتائج المتحصل عليهاخلال اشهر القطف بالنسبة للمستخلصات و تأثيرها على انواع البكتريا المدروسة نلاحظ مايلي

1 بالنسبة لمستخلص البيوتانول للاذخر

- **E. coli** منطقة التتثبيط من 8الى9ملم
- **Pseudomonas aeruginosa** منطقة التثبيط من 8 الى 10ملم.
- **klebsiella pneumoniae** منطقة التثبيط من 8.5 الى 10ملم.
- **Staphylococcus aureus** منطقة التثبيط من 12.5 الى 15ملم.
- **Condida .Albican** منطقة التثبيط من 9.5 الى 10ملم.

2 بالنسبة لزيت للاذخر

- **E. coli** منطقة التتثبيط من 8الى9ملم
- **Pseudomonas aeruginosa** منطقة التثبيط من 15.5 الى 16ملم.
- **klebsiella pneumoniae** منطقة التثبيط ثابتة عند 14 ملم.
- **Staphylococcus aureus** منطقة التثبيط من 16 الى 18.5ملم.
- **Condida .Albican** منطقة التثبيط من 12 الى 13ملم.

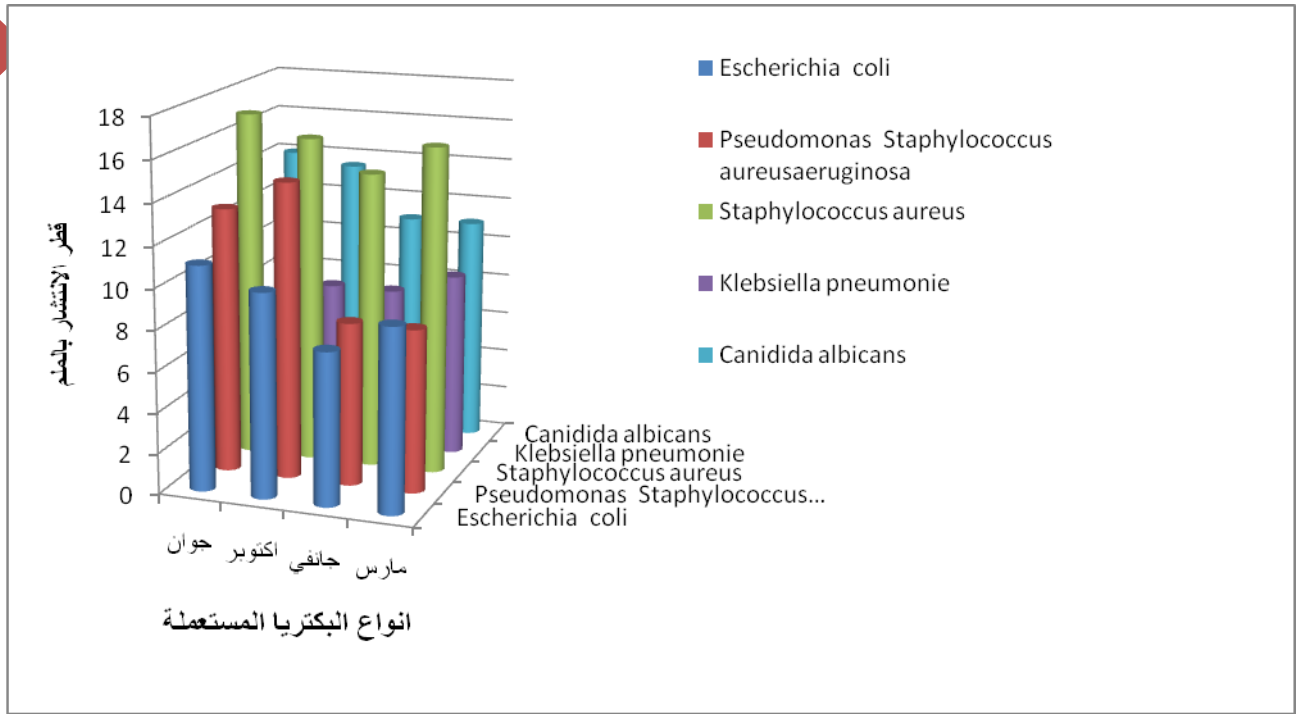
4 بالنسبة للمستخلص البيوتانولي للبردقوش

- **E. coli** منطقة التثبيط من 8.5 الى11ملم
- **Pseudomonas aeruginosa** منطقة التثبيط من 8 الى 14.5ملم.
- **klebsiella pneumoniae** منطقة التثبيط من 8 الى 10 ملم.
- **Staphylococcus aureus** منطقة التثبيط من 14.5 الى 17ملم.
- **Condida .Albican** منطقة التثبيط من 11 الى 14ملم.

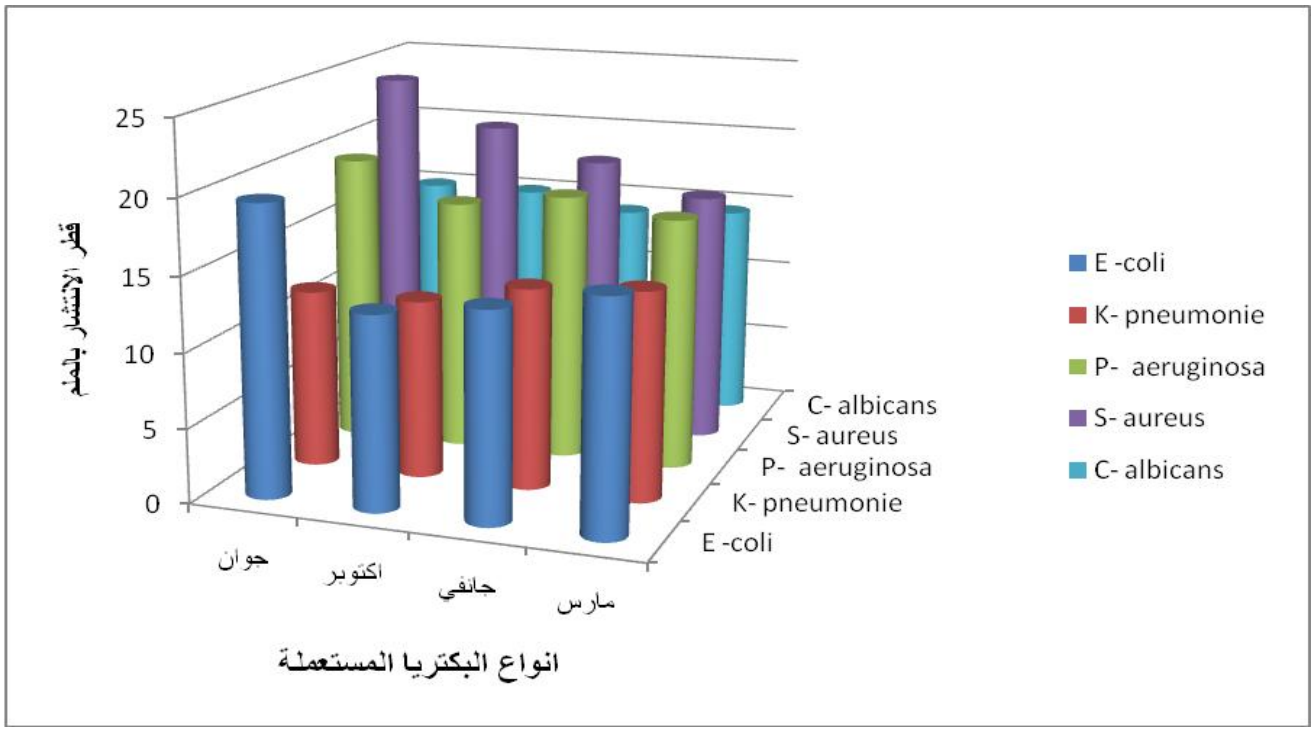
5- بالنسبة لزيت للبردقوش

- **E. coli** منطقة التثبيط من 8.5 الى11ملم
- **Pseudomonas aeruginosa** منطقة التثبيط من 13 الى 19.5ملم.
- **klebsiella pneumoniae** منطقة التثبيط من 12 الى 14 ملم.
- **Staphylococcus aureus** منطقة التثبيط من 17 الى 24ملم.
- **Condida .Albican** منطقة التثبيط من 14 الى 15ملم.

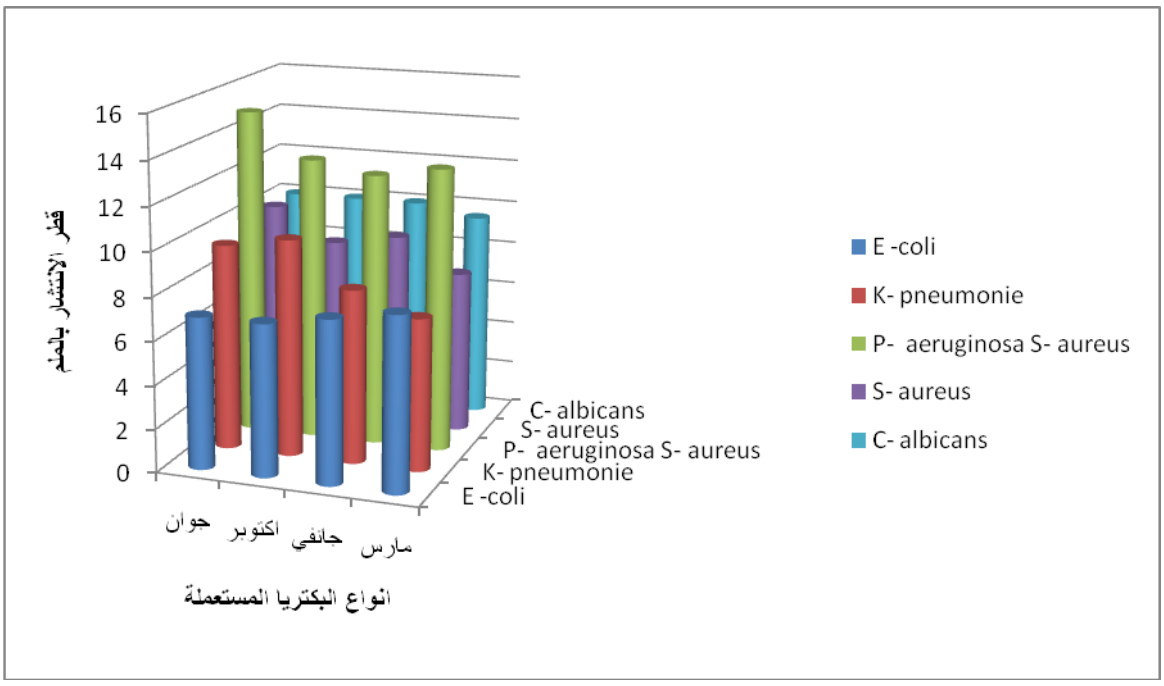
النتائج هذه تظهر ان قيم التثبيط للمستخلصات تكون واضحة عند مستخلص الزيوت عنه بالنسبة لمستخلص البيوتانول، كذالك قيم التثبيط خلال أشهر القطف تكون متقاربة خلاف بعض انواع البكتريا و نوع المستخلص(Pseudomonas aeruginosa للمستخلص البيوتانولي للبردقوش) و (Staphylococcus aureus لزيت للبردقوش).



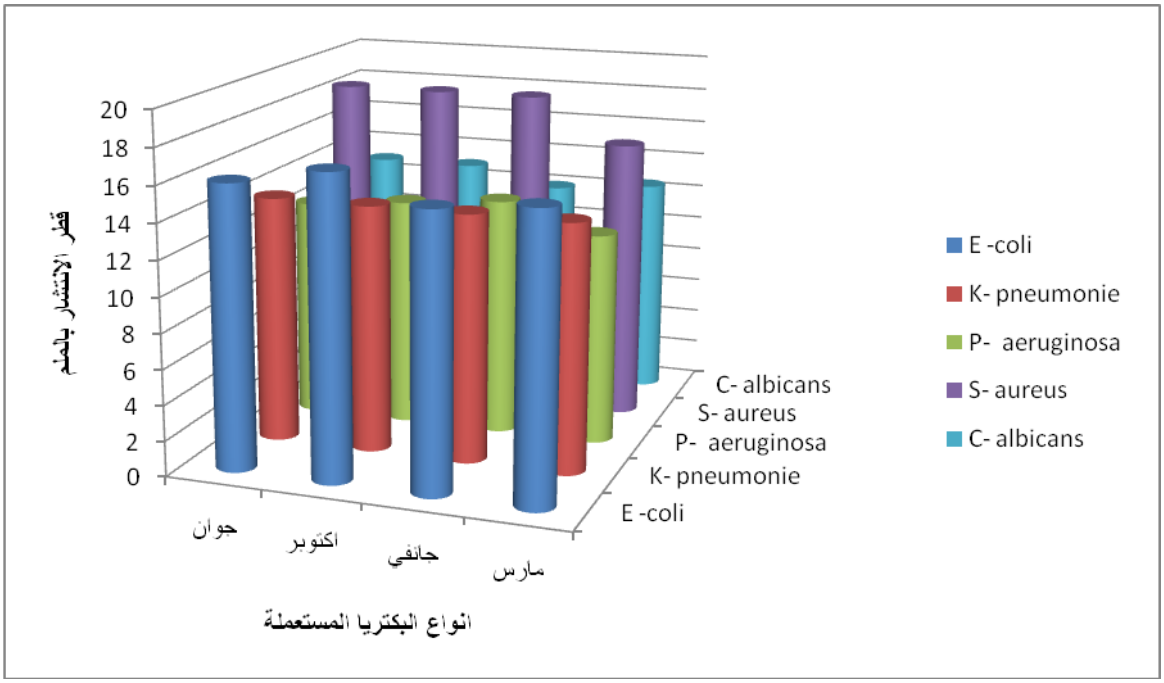
الشكل (49) التمثيل البياني لتغير قطر انتشار مستخلص البيوتانول لنبتة البردقوش لانواع البكتريا المستعملة



الشكل (50)التمثيل البياني لتغير قطر انتشار مستخلص الزيت الاساسي لنبتة البردقوش لانواع البكتريا المستعملة



الشكل (51)التمثيل البياني لتغير قطر انتشار مستخلص البيوتانول لنبتة الاذخر لانواع البكتريا المستعملة



الشكل (52)التمثيل البياني لتغير قطر انتشار مستخلص الزيت الاساسي لنبتة الاذخر لانواع البكتريا المستعملة

III-2-9- تحديد أدنى تركيز للتثبيط CMI في وسط صلب:

التركيز الأدنى للتثبيط CMI لعينات بكتيرية مختلفة يحدد عن طريق تخفيف المستخلص النباتي في وسط DMSO .

حيث يعرف CMI بأنه أدنى تركيز من المضاد الحيوي لتثبيط نمو البكتيريا في مدة 24 ساعة.

- طريقة العمل:

- تحضير الوسط الجيلوزي (MH) وهذا بعد تعقيم الوسط .
- تحضير المعلق البكتيري إنطلاقا من مزرعة بكتيرية حديثة من 18- 24 ساعة.
- تحضير المحاليل المخففة من المستخلصات من 10% إلى 0.15%.

- قراءة النتائج:

- تحدد قيمة CMI بعد 24 ساعة
- نقرأ CMI أين لا يوجد نمو واضح للبكتيريا.

III-2-10- النتائج :

قيـــــم CMI بـ (mg/ml)				
البكتيريـــا	مستخلص البيوتانول للبردقوش	مستخلص البيوتانول للاذخر	زيت البردقوش V/V	زيت الاذخر V/V
E.Coli	6.25	0.78	٪40	٪45
Klebsiella pneumonie	12.5	12.5	٪10	٪20
Staphylococcus aureus	6.25	0.39	٪10	٪10
Pseudomonas aeruginasa	1.56	1.56	٪45	٪20
Condida albicans	6.25	6.25	٪15	٪20

الجدول (24)قيم CMI لكل المستخلصات المدروسة على البكتيريا المختبرة

III-2-11- - تفسير النتائج :

من خلال النتائج المتحصل عليها في الجدول رقم (07) :

نلاحظ أن قيم CMI لمستخلص مستخلص البيوتانول للبردقوش على البكتيريا E.Coli كانت ثابتة تقدر بـ6.25mg/ml ، وعلى Staphylococcus aureus ثابتة تقدر بـ 6.25mg/ml ، Klebsiella pneumonie ثابتة تقدر بـ 12.5 mg/ml، وعلى Pseudomonas aeruginasa 1.56 mg/ml،وعلى Condida albicans ثابتة تقدر 6.25mg/ml اما بالنسبة لمستخلص مستخلص البيوتانول للاذخر على البكتيريا E.Coli كانت ثابتة تقدر بـ0.78mg/ml Guy Alain ALITONOU () وجد القيمة 2.63mg/ml، وعلى Staphylococcus aureus ثابتة تقدر بـ 0.39mg/ml Guy Alain ALITONOU () وجد القيمة 2.63mg/ml، Klebsiella pneumonie ثابتة تقدر بـ 12.5

mg/ml، وعلىPseudomonas aeruginasa 1.56 mg/ml،وعلى Condida albicans ثابتة تقدر 6.25mg/ml ، بالنسبة لزيت البردقوش فكانت قيمCMI على البكتيريا E.Coli كانت ثابتة تقدر بـ40٪ ، وعلى Staphylococcus aureus ثابتة تقدر بـ10٪ ،Klebsiella pneumonie ثابتة تقدر بـ10٪ وعلىPseudomonas aeruginasa 45٪،وعلى Condida albicans ثابتة تقدر 15٪ اما بالنسبة لزيت الاذخر فكانت قيمCMI على البكتيريا E.Coli كانت ثابتة تقدر بـ45٪ ، وعلى Staphylococcus aureus ثابتة تقدر بـ10٪ ،Klebsiella pneumonie ثابتة تقدر بـ20٪ وعلى Pseudomonas aeruginasa 20٪،وعلى Condida albicans ثابتة تقدر 20٪.

كلما كانت قيمة CMI صغيرة كلما كان للمستخلص فعالية كبيرة اتجاه البكتيريا المختبرة .

وعليه نستطيع مقارنة المستخلصات بالنسبة لبعضها من حيث الفعالية البيولوجية ضد البكتيريا حيث نجد أن مستخلص البيوتانول للاذخر له فعالية على البكتيريا :

Klebsiella ، Pseudomonas aeruginasa ، E.Coli، Staphylococcus aureus pneumonie ثم Condida albicans أحسن من مستخلص البيوتانول للبردقوش اما بالنسبة **لزيت البردقوش** له فعالية على البكتيريا Klebsiella pneumonie، Staphylococcus aureus، Condida albicans، E.Coli أحسن من زيت الاذخر.

المراجع بالعربية

[1]- العابد إبراهيم ،'دراسة فعالية المضادة للبكتيريا ومضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران Traganum nudatum ' مذكرة ماجستير جامعة ورقلة 2009م.

[2]- حوة ابراهيم ،'دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية و الفعالية ضد الاكسدة ' مذكرة ماجستير جامعة ورقلة 2013م.

[3]– أنور الحاج علي .صباح يازجي "عزل بكتيريا ' Pseudomonas aeruginosa ' وتشخيصها من ترب سورية ملوثة بالزيت تقييم إنتاجها الإنزيم الليباز " مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية (2011)، المجلد 27،العدد 1،الصفحات 229–242.

[5] – د . محمد عبد المحسن معارج 1995 وراثة الأحياء الدقيقة . شركة الشهاب للنشر و التوزيع ص 18 – 20 .

[13] – محمد الأزهر القادري،تصنيع بعض الامبيسيلين و دراسة فعاليتها البيولوجية على بعض أنواع البكتريا، ماجستير جامعة قاصدي مرباح ورقلة 2008

المراجع بالفرنسية

[4]–Rozier.J.Bolnot.Carlier.V.(1985)Bases Microbiologique de l'Hiygiene des Aliments Maisson Alfort Paris.p75-203.

[6]– EMILE Pr, DE LAVERGNE, BURDIN Jean-Claude, Les Bactéries, Paris, 1973 , p. 11-14 .

[7] Jorgensen.J.H.Ferrqro.M.J.(1995)Antimicrobial Suscptibility ractices.Clin.Infect.Dis.26:973-9 testing :general principles and contemporary

[8] – COUVQLIN ,. Interprétative Reading of antimicrobial susceptibility testes ASM News. 1992, p. 58- 368 – 375.

[9] – JORGENSEN J . H., FERRQRO M . J., Antimicrobial susceptibility testing: general principles and contemporary practices Clin Infect Dis , 1998, p. 26- 973 – 980.

[10] – ROBERT – DERNMET S . Antibiotique et antibiogrammes . Décarie Vigot , Montréal,1995, p.322 .

[11] – ERICSSON H. M . O SHERRIS . J. C ., Antibiotic Sensitivity Testing Report of an International Collaborative Study Actes Path. Microbiol Scand , B Suppl, 1971, p.90 - 217.

[12] – BAURER A. W ., KIRRY W . M . SHERRES . J.C.A . TURCH . M . Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method - Amer J. Clin Pathol., 1966, p. 45-493 - 496 .

[14] – GUERIN-FAUBLEEV,CARRET.C.L'antibiogramme : principes , méthodologie , intérêt et limites . Journées nationales GVT– - INRA,1999, p.5-12.

[15] - Alitonou GA. 2006. Huiles essentielles extraites de plantes aromatiquesacclimatées au Bénin: étude chimique, évaluation biologique et applications potentielles. Thèse de doctorat des Universités d'Abomey-Calavi, Bénin et Montpellier II, France.

الخلاصة العامة

ان هذا العمل يندرج في إطارتثمين نبتتيCymbopogon schoenanthus و Origanum majorana L المعروفتين في الأوساط الشعبية بالاذخر و البردقوش على التوالي و هما عبارة عن شجرتين معمرتين تنتمي الاولى إلى العائلة النجيلية (Poaceae) و الثانية الى العائلة الشفوية (Lamiaceae).

إن للنبتتين المذكورتين سابقا فوائد علاجية هامة سبق التطرق إليها و التي أجمع ذوو الخبرة في مجال الطب الشعبي .

ونظرا لما تحتويه هاتين النبتتين من عناصر و مواد فعالة ويستدل على ذلك من خلال نتائج الاختبارات الأولية على المواد الفعالة التي كانت إيجابية حيث وجدنا من نتائج الكشف أنها تحتوي على الصابونيات و العفصيات و الفلافونيدات في الأعضاء المدروسة و كذا الزيوت الطيارة و هذا يعزى أساسا إلى نوعية المادة المختبرة و أماكن تصنيعها و تراكمها .

- كانت بداية هذا العمل الأولي باستخلاص المواد الفعالة وتقدير كمية الفينولات الكلية باستخدام حمض الغاليك كمرجع و كذا تقدير كمية الفلافونيدات باستخدام الكرسيتين كمرجع خلال فصول السنة و كذا الزيوت الطيارة ، حيث كانت هذه الإختبارات إيجابية .

ارتأينا أن ندعم هذا العمل الكيميائي بـ :

- تحديد الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المثبطة للجذور الحرة باستخدام ثلاث طرق هي DPPH، MP،FRAP حيث من خلال الدراسة وجدنا أن المستخلصات المدروسة و بمقارنة هذه المستخلصات بالفعالية المضادة للأكسدة و الفعالية المضادة لتثبيط الجذور الحرة مع حمض الأسكوربيك (Vc) و الطوكوفرول (Ve) المستعملة كمواد حافظة في الصناعة الغذائية وكذا BHT،BHA وجدنا لها فعالية واضحة، بينت النتائج أن هذه المستخلصات تمتلك قدرة معتبرة في مواجهة الجذور الحرة مقارنة بمضادات الأكسدة المعيارية ،حيث اظهرت ان المستخلص البيوتانولي للنبتتين له فعالية مضادة للاكسدة احسن من زيتيهما في طريقة DPPH بحيث تزايدت وفق النمط التالي

مستخلص البردقوش< مستخلص الاذخر<حمض الاسكوربيك < BHT < BHA < α- tocophérol

< زيت البردقوش < زيت الاذخر.

اما بالنسبة لطريقة FRAP فلقد اظهرت المستخلصات المدروسة فعالية مضادة للاكسدة جيدة و تزايدت وفق النمط التالي

مستخلص البردقوش< مستخلص الاذخر< Acid galique < BHA < BHT.

بالنسبة لطريقة MP فلقد اظهرت جميع المستخلصات المدروسة فعالية مضادة للاكسدة جيدة و تزايدت وفق النمط التالي

مستخلص البردقوش< مستخلص الاذخر < زيت البردقوش < زيت الاذخر< Acid galique < BHT <α- tocophérol < BHA.

هذا يعني إمكانية استعمال المستخلصات المدروسة في حماية الأغذية من الأكسدة لزيادة عمر تخزينها مثلا.

– تحديد الفعالية البيولوجية لهذه المستخلصات على بعض المكروبات :

E.coli ،pseudomonas aeruginas، Staphylococcus aureus ، klebsiella pneumoniae ، Condida albicans و التي اعطت هذه المستخلصات نتائج ايجابية بحيث اظهرت ان لها القدرة على تثبيط نمو هذه المكروبات ، مما يعني إمكانية استعمال هذه المستخلصات النباتية لتثبيط أو كبح انتشار البكتيريا لضمان وقاية صحية من جهة، وللمحافظة على الأغذية من جهة أخرى كذلك. امكن مقارنة المستخلصات بالنسبة لبعضها من حيث الفعالية البيولوجية ضد البكتيريا حيث نجد أن مستخلص البيوتانول للاذخر له فعالية على البكتيريا: Staphylococcus aureus، E.Coli ، Pseudomonas aeruginasa ، Klebsiella pneumonie ثم Condida albicans أحسن من مستخلص البيوتانول للبردقوش اما بالنسبة لزيت البردقوش له فعالية على البكتيريا Klebsiella pneumonie، Staphylococcus aureus، Condida albicans، E.Coli أحسن من زيت الاذخ