

رقم الترتيب:

رقم التسلسل:

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا

مذكرة تخرج

لنيل شهادة ماستر أكاديمي

ميدان: علوم الطبيعة والحياة

شعبة علوم البيولوجيا

تخصص: التنوع البيئي وفيزيولوجيا النبات

الموضوع

مساهمة لدراسة مقارنة بين الفعالية البيولوجية لبعض مواد الأيض

الثانوي المستخلصة من قشور ثمار الرمان *Punica granatum L.*

من إعداد:

- بن خليفة شيماء

- قعيد هدى

نوقشت يوم 2018/06/04 من طرف لجنة المناقشة :

شمسة أحمد الخليفة	أستاذ مساعد قسم أ	رئيسا	جامعة الوادي
قادري منيرة	أستاذ مساعد قسم أ	مؤظرا	جامعة الوادي
مخدي نور الهدى	أستاذ مساعد قسم أ	ممتحنة	جامعة الوادي

الموسم الجامعي: 2017/2018

شكر وتقدير

اللهم لك الحمد على ما أعتت وأنعمت ولك الثناء على ما وفقت
وهديت فأوزعنا على أن نوّدي شكر هذه النعم وأن نعمل صالحا
ترضاه

بأسمي معاني التقدير والإحترام نتقدم بجزيل الشكر والإمتنان إلى كل
من ساعدنا من قريب أو بعيد على إنجاز هذا العمل وفي تذليل ما
واجهناه من صعوبات، ونخص بالذكر الأستاذة المشرفة "قادري
منيرة" التي لم تبخل علينا بتوجيهاتها ونصائحها القيمة التي كانت
عوناً لنا في إتمام هذا البحث.

ونتقدم بفائق التقدير والإمتنان للأستاذ "أحمد الخليفة شمسة"
وللأستاذة "مخدي نور الهدى" على قبولهم رئاسة لجنة المناقشة

نتقدم بجزيل الشكر إلى الأستاذ الفاضل "شويخ عاطف" والأستاذة
الفاضلة "فاطمة عليّة" اللذان كان لهما الفضل الكبير في مساعدتنا
ببعض المعلومات القيمة.

كما نتقدم بالشكر الخالص إلى جميع أفراد مخبر الكلية على ما قدموه
من نصائح ومساعدات وإلى كل أفراد دفعتي ٢٠١٨ وأتمنى لهم
جميعاً كل التوفيق والنجاح.



الملخص

تهدف هذه الدراسة لمقارنة الفعالية البيولوجية لمستخلصات قشور الرمان *Punica granatum.L* الذي ينتمي إلى العائلة الرمانية Punicaceae .

بغية تحقيق هذا الهدف قمنا أولاً بالحصص الكيميائي لبعض مواد الأيض الثانوي في المستخلص الميثانولي والمائي في قشور ثمار الرمان، يليه إستخلاص كل من عديدات الفينولو الفلافونويدات و التانينات، ثم التقدير الكمي لكل من المواد المستخلصة. وأخيراً إختبار الفعالية المضادة للأكسدة و الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلصات قشور ثمار الرمان .

أظهرت نتائج الإختبارات الأولية للكشف الكيميائي أن قشور ثمار الرمان تحتوي على معظم المواد الفعالة منها: التانينات والفلافونويدات، القلويدات، والستيرويدات والتربينات الثلاثية و الجليكوسيدات .

كما أظهرت هاته الدراسة غنى قشور ثمار نبات الرمان بالتانينات حيث سجل مستخلص التانينات مردود عالي مقارنة بباقي المستخلصات النباتية بقيمة %22.6.

نتائج التقدير الكمي لعديدات الفينول التي تم استخدام طريقة كاشف Folin-Ciocalteu قدرت ب (280.380±8.081µg E AG/ mg Ex) عند المستخلص الميثانولي، أما التقدير الكمي للفلافونويدات فكانت أعلى قيمة عند المستخلص الكلوروفورمي ب

(31.554±1.541 µg E Qu/ mg E)، و قدرت التانينات الكاتيشيكية في المستخلص الميثانولي ب (0.443±0.069µg ECA/ mg E).

أبدت قشور الرمان نشاطية مضادة للأكسدة عالية إذا قدر عند مستخلص n-بيتانول ب (IC₅₀=1.444±0,08µg/ml) و نشاطية مضادة للبكتيريا خاصة عند المستخلص التانينات ب 20.2±0.7mm عند *Staphylocoque aureus* ATCC 25923 و يليه المستخلص الميثانولي ب 18.12±0.17mm عند *Proteus mirabilis* ATCC 35659 .

الكلمات المفتاحية: *Punica granatum.L* - عديدات الفينول - الفلافونويدات - التانينات - النشاطية المضادة للأكسدة- النشاطية المضادة للبكتيريا

Résumé

Le but de cette étude est d'évaluer les propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des extraits de l'écorce de fruit de *Punica granatum*, appartenant à la famille de Punicaceae.

Pour atteindre cet objectif, nous avons d'abord restreint chimiquement certains des métabolites secondaires en extrait méthanolique et extrait aqueux dans l'écorce de fruits de *Punica granatum L.* Suivi par l'extraction du phénol, des flavonoïdes et des tanins, alors évolution quantitative de chaque matière extraite. Enfin, tester l'efficacité antioxydante et l'efficacité antibactérienne des extraits l'écorce de fruite de *Punica granatum L.*

Les résultats montrent que l'extrait méthanolique contient polyphenols totaux $280,380 \pm 8,08 \mu\text{g E AG/mg Ext}$, les flavonoïdes étaient la valeur la plus élevée ($31,554 \pm 1,541 \mu\text{g E Qu / mg E}$) lorsque l'extrait Chloroforme, alors que les tanins ($0,443 \pm 0,069 \mu\text{g E CA / mg E}$). L'évaluation de l'activité antioxydante montre une activité anti-radicalaire dans l'extrait n-butanol ($\text{IC}_{50} = 1.444 \mu\text{g/ml}$). d'extrait de l'écorce de *Punica granatum* et un remarquable effet antimicrobien à partir de $20.2 \pm 0.7 \text{ mm}$ pour *Staphylococcus aureus* et extrait méthanolique $18,12 \pm 0,17 \text{ mm}$ pour *Proteus mirabilis*

Mots-clés: *Punica granatum.L* - Polyphénols - Flavonoïdes - Tanins - Activité antioxydante - Activité antibactérienne

	فهرس المحتويات
	فهرس الجداول
	فهرس الأشكال
	فهرس الوثائق
	قائمة المختصرات
	ملخص
	مقدمة
	الجزء النظري
	الفصل الأول: دراسة نباتية وتصنيفية لنبات الرمان . <i>Punica granatum L</i>
03	1- نبذة تاريخية عن نبات الرمان . <i>Punica granatum L</i>
03	2- التصنيف النباتي لنبات الرمان . <i>Punica granatum L</i>
03	3- الأسماء الشائعة لنبات الرمان . <i>Punica granatum L</i>
04	4- الوصف المورفولوجي لنبات الرمان . <i>Punica granatum L</i>
06	5- التوزيع الجغرافي لنبات الرمان . <i>Punica granatum L</i>
06	6- التركيب الكيميائي لنبات الرمان . <i>Punica granatum L</i>
07	7- القيمة الغذائية لنبات الرمان. <i>Punica granatum L</i>
08	8- الاستعمالات العلاجية الشعبية لنبات الرمان . <i>Punica granatum L</i>
08	9- نبات الرمان في الطب الحديث
	الفصل الثاني: مواد الأيض الثانوي
10	1- تعريف مواد الأيض الثانوي
10	1-1- عديدات الفينول Les polyphénol
10	1-1-1- الفلافونويدات Les Flavonoïdes
14	1-1-2- التانينات (العفصيات) Les Tannins
	الفصل الثالث : دراسة الفعالية البيولوجية
17	1- الفعالية المضادة للبكتيريا
17	1-1- تعريف البكتيريا
17	1-2- الخواص العامة للسلاسل البكتيرية المختبرة
17	1-2-1- بكتيريا <i>Escherichia coli</i>
17	1-2-2- بكتيريا <i>Staphylocoque aureus</i>

17	3-2-1- <i>Salmenella enterica</i> بكتيريا
18	4-2-1- <i>Listeria innocua</i> بكتيريا
18	5-2-1- <i>klebsiella pneumonia</i> بكتيريا
18	6-2-1- <i>Proteus mirabilis</i> بكتيريا
18	2- مضادات الاكسدة
18	2-1- تعريف مضادات الأكسدة
18	2-2- عمل مضادات الأكسدة
19	3-2- مصادر مضادات الأكسدة
19	2-3-2-1- مضادات الاكسدة الأنزيمية
21	2-3-2-2- مضادات الأكسدة غير الإنزيمية
الجزء التطبيقي	
الفصل الأول : مواد وطرق البحث	
23	I- الدراسة الكيميائية
23	I-1- جمع العينات النباتية
23	I-2- الحصر الكيميائي الأولي لقشور ثمار الرمان. <i>Punica granatum L</i>
23	I-2-1- تحضير المستخلصات النباتية
23	I-2-2- الكشف عن مواد الأيض الثانوي للمستخلصات المدروسة
25	I-3- إستخلاص بعض مواد الأيض الثانوي
25	I-3-1- إستخلاص عديدات الفينول
26	I-3-2- إستخلاص الفلافونويدات
28	I-3-3- إستخلاص التانينات
29	I-4- حساب المردودية للمستخلصات النباتية
30	I-5- التقدير الكمي لبعض مواد الأيض الثانوي
30	I-5-1- التقدير الكمي لعديدات الفينول
30	I-5-2- التقدير الكمي للفلافونويدات
30	I-5-3- التقدير التانينات
31	II. الدراسة البيولوجية
31	II-1- دراسة النشاطية المضادة للأكسدة
31	II-1-1- اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH

32	II-1-1-1- حساب النسبة المئوية للتنشيط
32	II-1-1-2- تحديد مقدار IC_{50}
32	II-2- دراسة النشاطية البكتيرية
32	II-1-2- تحضير التخفيفات المختلفة لكل مستخلص
33	II-2-2- اختبار الفعالية ضد بكتيرية للمستخلصات بطريقة اختبار الحساسية بالأقراص
34	III- الدراسة الإحصائية
الفصل الثاني: النتائج والمناقشة	
35	1-الكشف عن مواد الأيض الثانوي في قشور ثمار الرمان <i>Punica granatum L.</i>
37	2-حساب مردود المستخلصات %
39	3-تقدير المركبات الفينولية والفلافونويدية و التانينات في مستخلصات قشور ثمار الرمان <i>Punica granatum L.</i>
39	3-1-التقدير الكمي لعديدات الفينول
40	3-2-التقدير الكمي للفلافونويدات
42	3-3-التقدير الكمي التانينات
44	4- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة باستعمال اختبار الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$
44	4-1- تمثيل النسبة المئوية للتنشيط
46	4-2- تحديد مقدار IC_{50} المثبطة للجذر الحر $DPPH^{\cdot}$
49	5- تقدير الفعالة المضادة للبكتيريا
49	5-1-تأثير المضادات الحيوية على السلالات البكتيرية المختبرة
50	5-2-تأثير المستخلص الميثانولي على السلالات البكتيرية المختبرة
51	5-3-تأثير المستخلص التانينات على السلالات البكتيرية المختبرة
53	5-4-تأثير المستخلص الكلوروفورمي على السلالات البكتيرية المختبرة
54	5-5-تأثير المستخلص خلاص الايثيل على السلالات البكتيرية المختبرة
56	5-6-تأثير المستخلص n- بيتانول على السلالات البكتيرية المختبرة
58	5-7-المقارنة بين تأثير المستخلصات على السلالات البكتيرية المدروسة
	الخلاصة
	المراجع
	الملحق

فهرس الأشكال

الرقم	العنوان	الصفحة
01	المراحل المتبعة في إستخلاص عديدات الفينول	25
02	المراحل المتبعة في إستخلاص الفلافونويدات	27
03	المراحل المتبعة في إستخلاص التانينات	29
04	مردود مستخلصات قشور ثمار الرمان	38
05	منحنى العيارية لحمض الغاليك	39
06	منحنى العيارية الكرسيتين	40
07	كمية الفلافونويدات في المستخلصات المدروسة	40
08	منحنى العيارية للكاتشين	42
09	كمية التانينات ($\mu\text{g E CA} / \text{mg Extrait}$)	42
10	منحنى العيارية لحمض الأسكوربيك في إختبار تثبيط الجذر الحر DPPH	44
11	النسبة المئوية للتثبيط % I بدلالة التركيز لعدة مستخلصات من قشور ثمار الرمان	45
12	قيم IC50 لمستخلصات قشور ثمار الرمان	46
13	أعمدة بيانية تمثل أقطار التثبيط (mm) للمستخلص الميثانولي و المضادات الحيوية	51
14	أعمدة بيانية تمثل أقطار التثبيط لمستخلص التانينات و المضادات الحيوية	52
15	أعمدة بيانية تمثل أقطار التثبيط لمستخلص الكلوروفورمي و المضادات الحيوية	54
16	أعمدة بيانية تمثل أقطار التثبيط لمستخلص خلات الايثيل و المضادات الحيوية	55
17	أعمدة بيانية تمثل أقطار التثبيط لمستخلص n- بيتانول و المضادات الحيوية	57

فهرس الجداول

الرقم	العنوان	الصفحة
01	تصنيف نبات الرمان. <i>Punica granatum L.</i>	03
02	وصف أعضاء نبات الرمان	05
03	التركيب الكيميائي لمختلف أجزاء نبات الرمان	07
04	القيمة الغذائية لعصير نبات الرمان	08
05	مختلف أنواع الفلافونويدات	12
06	أنواع السلالات البكتيرية المختبرة	33
07	أنواع المضادات الحيوية المستخدمة	33
08	نتائج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلص المائي لقشور ثمار الرمان	35
09	نتائج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلص الميثانولي لقشور ثمار الرمان	36
10	نتائج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلص المائي والميثانولي لقشور ثمار الرمان	37
11	مردودية المستخلصات	38
12	كمية الفلافونويدات في مستخلصات قشور الرمان	41
13	كمية التانينات في المستخلص التانيني والمستخلص الكحولي لقشور ثمار الرمان	43
14	قيم IC ₅₀ لمستخلصات قشور الرمان	46
15	مختلف الأقطار التثبيطية للمضادات الحيوية المختلفة بـ mm	49
16	مختلف الأقطار التثبيطية بـ (mm) للمستخلص الميثانولي لقشور ثمار الرمان	50
17	مختلف الأقطار التثبيطية بـ (mm) للمستخلص التانينات لقشور ثمار الرمان	52
18	مختلف الأقطار التثبيطية بـ (mm) للمستخلص الكلوروفورمي لقشور ثمار الرمان	53
19	مختلف الأقطار التثبيطية بـ (mm) لمستخلص خلاص الايثيل لقشور ثمار الرمان	55
20	مختلف الأقطار التثبيطية بـ (mm) للمستخلص n- بيتانول لقشور ثمار الرمان	56
21	مختلف الأقطار التثبيطية بـ (mm) مستخلصات قشور ثمار الرمان على السلالات البكتيرية المدروسة	58
22	بعض صور نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا	61

فهرس الوثائق

الرقم	العنوان	الصفحة
01	شجرة نبات الرمان <i>Punicagranatum L.</i>	04
02	الهيكل العام للفلافونويد	11
03	وحدة التانينات المتحللة	15
04	وحدة التانينات المكثفة	15
05	الآلية التفاعلية الإجمالية لنزع السمية بتدخل الإنزيمات المضادة للأكسدة	20
06	تفاعل كبح الجذر الحر DPPH	31

قائمة المختصرات

النسبة المئوية: %

A : Absorbance

AG: حمض الغاليك

طول الموجة: λ

النسبة المئوية للتشبيط: %I

μg : microgamme

μl : microlitre

g: Gramme

mg : Milligramme

ml: Millilitre

cm: سنتيمتر

mm: ميليمتر

nm: nanometer

درجة مئوية: $^{\circ}\text{C}$

E. Meth: مستخلص ميثانولي

E. T: مستخلصالتانينات

E. Chl: مستخلص كلوروفورمي

E. Ac: مستخلص إيثيلالأسيتات

E. n-bu: مستخلص n-بيتانول

DPPH : Radical 2,2- diphenyl-1picrylhydrazil

DMSO: Diméthyle sulfoxide

GPX: Glutathion Peroxidase

GSH: الجلبيثاثيون

CAT: Catalase

SOD: Superoxide dismutase

ROS: Reactive oxygen species

NH_3 : أمونيا

ROO : Peroxyde

$\text{O}_2^{\cdot-}$: Le radical superoxide

$\text{OH}^{\cdot}$: Le radical hydroxyle

HCl: حمض كلور الماء

H₂SO₄: حمض الكبريت

MeOH: ميثانول

Na₂CO₃: كربونات الصوديوم

AlCl₃: كلوريد الألمنيوم

CH₃COOK خلاص البوتاسيوم

Qu: الكرسيتين

CA: الكاتيشين

AC: حمض الأسكوربيك

FeCl₃: Chlorure de fer

IC50: Concentration inhibitrice 50 ou EC 50 Efficient concentration 50

DPPH : 2.2- diphenyl-1-picrylhydrazyl

ATCC: American Type Culture Collection

CIP: Collection de l'institut pasteur

C30: chloramphenicol

CFM: Céfixime

GEN: Gentamycine

MH: Muler Hinton

E.coli: *Escherichia coli*

K.pneumonia: *Klebsiella pneumonia*

S.enteric: *Salmonella enterica*

P.mirabilis: *Protus mirabilis*

L.innocua: *Listeria innocua*

S. aureus: *Staphylococcus aureus*

µg E AG/mg Extrait : ميكروغرام مكافئ لحمض الغاليك لكل ملغ من المستخلص

µg E Qu /mg Extrait : ميكروغرام مكافئ للكرسيتين لكل ملغ من المستخلص

µg E CA/mg Extrait : ميكروغرام مكافئ للكاتيشين لكل ملغ من المستخلص

المقدمة

مقدمة

من عظيم فضل المولى جل جلاله أن خلق النبات ليكون منه الغذاء وفيه الشفاء والدواء وهاهو الإنسان الآن يعود إلى التدواي بالأعشاب والنباتات بعدما هجرها ووجد أن بعض الأدوية الكيماوية لها بعض الآثار السلبية، وبعدها إقتنع بأن العلاج بالنباتات الطبية ليس بدعه وليس عودة للوراء ولكنها محاولة لإعادة النظر في النباتات وفوائدها الجمة، بل إن أبحاث العلماء في الدول المتقدمة عادت لكي تدعو للتداوي بالنباتات الطبية (العزیز و نجوى، 2000).

ومن بين النباتات الطبية التي جرى تداولها منذ العصور القديمة نبات الرمان *Punica granatum L.* الذي ينتمي إلى العائلة الرمانية Punicaceae، وقد ورد ذكره في القرآن الكريم في سورتي (الرحمن والأنعام)، وهو من ثمار الجنة.

لقشور ثمار الرمان استخدامات علاجية كثيرة و هذا لما يحتويه من مواد فعالة، حيث إستخدم في تخفيف آلام البطن والإسهال و هذا لما يحتويه من مواد دابغة (قيتار والشطي، 2002)، كما تساعد قشور الرمان في علاج قرحة المعدة (خلف الله، 1988) قاتلة للديدان الشريطية (قدامة، 1985). و قد وجد أن قشور ثمار الرمان تقي من الإصابة من مرض السرطان لكونها مضادة للأكسدة (Rahimi et al., 2012).

هذه الفعالية العلاجية لقشور الرمان تعزى لمواد الأيض الثانوي أو ما يطلق عليها بالمواد الفعالة التي يحتويها النبات، والتي من بينها التانينات مثل حمض الغاليك، الفلافونويدات مثل كاتشين، كيرسيتين، روتين، فلافونول، فلافون، فلافونون، انثوسيانين، الفلويدات و غيرها من مواد الأيض الثانوي (Ahmed et al., 2005).

إن وسائل التفريق اللوني أتاحت الفرصة للتعرف على مختلف المواد الفعالة في كل نبتة و هذا ما أتاح الفرصة لدراسة مختلف الخصائص الكيميائية و الحيوية لكل نبتة و بالتالي دراسة خصائصها السريرية المختلفة من استطباب وسمية و تأثيرات جانبية، و الجدير بالذكر أن معظم النباتات تحتوي على أكثر من مادة فعالة و بالتالي يكون لها عدة استطبابات في آن واحد.

فإلى ما تعود مختلف الفعاليات البيولوجية لقشور ثمار الرمان ؟ هل لكل مادة فعالة معزولة تأثير محدد و إيجابي؟ أم أن التأثير الطبي لقشور الرمان يعزى لتواجد المركبات معا ؟

و من هنا بادرنا بمحاولة البحث في هذا الجانب، فقمنا أولاً بالحصص الكيميائي لمختلف مواد الأيض الثانوي في النبات المدروس، يليه استخلاص كل من الفينولات التانينات و الفلافونويدات

من قشور ثمار الرمان و تقدير كميتها، و من ثم دراسة فعاليتها المضادة للأكسدة و فعاليتها المضادة للبكتيريا، وسعيا منا لتحقيق هدفنا المرجو قسمنا هذه الدراسة إلى جزئين :

✓ **الجزء النظري:** قسم إلى ثلاث فصول:

- فصل أول يشمل عموميات حول ثمار نبات الرمان *Punica granatum L.*
- فصل ثاني شمل دراسة بعض مواد الأيض الثانوي المتمثلة في الفلافونويدات و التانينات.
- فصل ثالث تم التطرق فيه إلى بعض المفاهيم الخاصة بالفعالية المضادة للأكسدة و كذا التعريف بالسلالات البكتيريا المدروسة.

✓ **الجزء التطبيقي:** يضم فصلين:

- فصل أول يبين المواد و الطرق المستخدمة للدراسة.
- فصل ثاني تم فيه عرض النتائج المتحصل عليها و تحليلها و مناقشتها.

الجزء

النظري

الفصل الأول

الدراسة النباتية
والتصنيفية

1- نبذة تاريخية عن نبات الرمان *Punica granatum* L.

عرف الرمان من قبل قدماء الفراعنة والاعريق قبل الرومان، و كان يعرف في مصر باسم ارهماني ثم من هذا الاسم اشتق اسمه القبطي "ارمين" أو "رمن" وسمي بالعربية رومون، وفي العربية سمي رمان (الشيخ حسن، 2005). وهو شجرة الفاكهة الذي ينتمي إلى العائلة الرمانية Punicaceae والجنس *Punica* وهو الوحيد في العائلة ويضم نوعين نباتيين الأول *P. granatum* والثاني هو *P. protopunica* Balf وكانت تزرع منذ العصور القديمة لثمارها الصالحة للأكل وأزهارها الكبيرة المستعملة في الزينة (الشاوش وآخرون، 2006).

2- التصنيف النباتي لنبات الرمان *Punica granatum* L.

تم تصنيف نبات الرمان *Punica granatum* L. في سنة 1753 م من قبل العالم Linné كما هو موضح في الجدول (1):

الجدول (1): تصنيف نبات الرمان *Punica granatum* L. (Ben Abdennebi, 2012)

المملكة	النباتية	Plante	Règne
الشعبة	النباتات البذرية	Spermaphyte	Embranchement
تحت الشعبة	كاسيات البذور	Angiosperme	Sous embranchement
الصف	ثنائيات الفلقة	Magnoliopsida	Classe
الرتبة	الأسية	Myrtales	Ordre
العائلة	الرمانية	Punicaceae	Famille
الجنس	الرمان	<i>Punica</i>	Genre
النوع	الرمان المثمر	<i>Punica granatum</i> L	Espèce

3- الأسماء الشائعة لنبات الرمان *Punica granatum* L.

الاسم الفرنسي : Grenadier

الاسم الإنجليزي : Pomegranate

الاسم العربي : الرمان (Hmid, 2014).

4-الوصف المورفولوجي لنبات الرمان . *Punica granatum L*

عبارة عن شجرة صغيرة أو شجيرة متساقطة الأوراق في المناطق الصحراوية الجافة ونصف متساقطة في المناطق الساحلية. وعادة يصل ارتفاع الشجرة ما بين 4-5 أمتار ولو أنها ممكن أن يزيد ارتفاعها كثيراً عن ذلك (متولي والوكيل، 2010)، شكل الأشجار غير منتظم فهي كثيرة التفرع وتعطي سرطانات عديدة تخرج من قرب سطح الارض (ناصر الربيعه، 2007). والأفرع أسطوانية ملساء ضاربة للسمره مرنة وتتحول بعض الفروع الجانبية إلى أشواك قصيرة (متولي والوكيل، 2010) و هذا ما توضحه الوثيقة(1). أما عن باقي أعضاء النبات من ثمار و أزهار و بذور و أوراق فهي موضحة في الجدول(2).



الوثيقة(1): شجرة نبات الرمان . *Punica granatum L*

الجدول(2): وصف أعضاء نبات الرمان(الشيخ حسن، 2005) و(Wald,2009).

العضو	الوصف	الشكل
الأوراق	اوراق الرمان كاملة ملساء لامعة تتوضع بشكل متقابل رمحيه الشكل، للورقة حامل قصير، طول الورقة 1-8سم وعرضها 0.5-2سم .	
الأزهار	زهرة الرمان حمراء كبيرة الحجم خنثى تكون مفردة او في نورات تحوي كل نورة على 1-5 زهرات، طول الزهرة 4-6سم وقطرها 5-7سم شكلها انبوبي او ناقوسي، كاس الزهرة ملتحم سميك لحمي، التويج لونه احمر تويجاته سائبة يختلف عدد كل من السبلات وعدد التويجات حتى ضمن الشجرة الواحدة ويتراوح بين 5-7، الاسدية حمراء كثيرة، المتك اصفر باهت وهو ذو فصين على شكل قلب ينفتح جانبا بعد تمام تفتح الزهرة. القلم قصير او طويل نسبيا وهو مطمور بين خطوط الاسدية او في مستوى طولها، المياسم بسيطة صغيرة مخضرة اللون، المبيض صغير وقد يكون لون القلم مستوى والمبيض احمر. يتركب المبيض من طابقين مفصولين بغشاء رقيق، يتكون كل طابق من عدة حبات عددها في بعض الازهار خمسا وفي البعض الاخر ثلاث حبات. تنفصل هذه الحبات عن بعضها بأغشية رقيقة شفافة، وبكل حجرة بروز لحمي سميك عبارة عن جزء من جدار المبيض الذي تلتصق به المشيمة البذرية.	

	الثمار غلاف الثمرة عبارة عن أنبوبة الكأس التي نمت بداخلها المبيض وقمة الثمار عبارة عن السبلات نفسها وبداخلها الأسدية، ويختلف لون القشرة من أبيض مصفر أو مخضر إلى قرمزي داكن حتى الأسود حسب الأصناف .	
	البذور البذرة مضلعة قشرتها عبارة عن طبقة جلاتينية رقيقة او سميكة مائية القوام تحتوي على بعض المواد الذائبة كالسكريات والاحماض، ويختلف لون هذه الطبقة من الابيض الى الاحمر وذلك حسب الاصناف. ان البذور وطبقاتها الجلاتينية هي الجزء الذي يؤكل من الثمرة. اما البذور الداخلية (النواة) فهي جلدية قرنية صلبة يوجد داخلها الجنين	

5-التوزيع الجغرافي لنبات الرمان . *Punica granatum L*

تنتشر زراعة الرمان وتزدهر في المناطق شبه المدارية من العالم بين خطي عرض 41° شمالا و 41° جنوبا (Levin,1994)، وتستطيع أشجار الرمان أن تنمو على ارتفاعات كبيرة من سطح البحر تصل إلى 2300 م في المنطقة الوسطى من اليمن، كما تنمو في بعض المناطق الساحلية والدافئة (Mars and Marrakchi ,1999). كما تتحمل الأشجار درجات حرارة منخفضة حتى قرب الصفر المئوي (ناصر الربيعه، 2007).

6- التركيب الكيميائي لنبات الرمان . *Punica granatum L*

لعل أبرز ما يميز الرمان، والعامل الذي أثار انتباه العلماء والباحثين، احتواءه على العديد من المركبات النباتية الطبيعية ذات التأثيرات الصحية النافعة والتي تم تحديد و تقدير العشرات منها في مختلف أجزاء الرمان كالعصير والورق وقشور الثمار، وتتميز الكثير من هذه المركبات النباتية بخاصية القدرة على منع التأكسد ومقاومة الجذور الحرة، التي تساهم في تطور الكثير من الأمراض الخطيرة كالسرطان و انسداد الشرايين. و تتميز ثمار الرمان وعصيره باحتوائهما على النسيب الأوفى والحظ الأوفر من المركبات

النباتية والعناصر الغذائية؛ مما يجعله الأكثر أهمية من الناحية الغذائية والعلاجية، حيث تم تحديد وتقدير حوالي ثلاثين من هذه المركبات، والتي تشمل عديدات الفينول Polyphenols و منها الأنثوسيانيدينات Anthocyanidins والتانينات Tannins والفلافونويدات Flavonoids، فضلاً عن الأحماض العضوية Organic acids الكثيرة مثل أحماض الفيوماريك Fumaric والخليك Acetic و الماليك Malik، والطرطريك Tartaric، وأخيراً حمض الإلاجيك Ellagic الأكثر أهمية حتى الآن من الناحية الصحية والوظيفية (Ahmed et al., 2005). والجدول (3) يوضح التركيب الكيميائي لمختلف أجزاء نبات الرمان.

جدول (3): التركيب الكيميائي لمختلف أجزاء نبات الرمان (Ben Abdennebi., 2012).

الجزء النباتي	التركيب الكيميائي
عصير الثمرة	الأنثوسيانين، الجلوكوز، حمض الاسكوريك، حمض الغاليك، ، حمض الالاجيك ، حمض الكافيك ، كاتشين ، كيرسيتين، روتين، المعادن والأحماض الأمينية.
زيت البذرة	95% حمض البونيك، حمض الجاليك، أحماض دهنية أخرى وستيرول.
قشرة الثمرة	حمض الغاليك ، كاتشين، كيرسيتين، روتين، فلافونول ، فلافون، فلافونون، أنثوسيانين.
الأوراق	التانينات ، جليكوسيدات فلافونويدية.
الازهار	حمض الغاليك، التربينات الثلاثية.
الجذور واللحاء	القلويدات و التربينات الثلاثية.

7- القيمة الغذائية لنبات الرمان. *Punica granatum L.*

تحتوي ثمار الرمان على الكثير من العناصر الغذائية، إذ بلغ نسبة البذور 80 % من وزن الثمرة ويعطى كل 100 جرام من العصير حوالي 23 - 87 سعرات حرارية، ويحتوى عصير الرمان على نسبة عالية من السكريات (16-18%)، أما البروتين فيكون حوالي 0.5-1% وهو فقير في الدهون (0.3-0.5 %) وتصل نسبة الألياف الى حوالي 1% كما أن العصير غنى بعناصر هامة كالبوتاسيوم والحديد والفسفور ويحتوى على كميات لا بأس بها من فيتامين ب ، ج. كما هو موضح في (الجدول 4) (متولي والوكيل، 2010).

الجدول(4): القيمة الغذائية لعصير نبات الرمان .(متولي والوكيل، 2010).

النسبة	العنصر الغذائي
%70	الماء
% 1-0.5	البروتين
%0.5 -0.3	الدهون
%18-16	السكريات
% 1	الالياف
% 8	فيتامين ب
%10	فيتامين ج
% 6	البوتاسيوم
كمية معتبرة	الحديد والفوسفور

8- الاستعمالات العلاجية الشعبية لنبات الرمان . *Punica granatum L*

- استخدم الرمان مضادا للإسهال، مخلصا من الطفيليات التي تصيب الأمعاء، مدرا ومضادا للجراثيم(Pradeep et al ., 2008).
- تستعمل قشوره في علاج أمراض البطن والإسهال لاحتوائها على مواد دابغة للمعدة (قيتار و الشطي، 2002).
- ثمار الرمان مقوية للقلب والمعدة والبذور مفيدة للمعدة، أما عصير الثمرة فهو مرطب ومبرد (خلف الله، 1988).
- تعتبر قشور الرمان من أشد العقاقير قتلاً للديدان الشريطية كما تستخدم في علاج الإسهال الدموي الحاد وغيرها (قدامة، 1985).
- استخدام عصارة ونقيع القشور والسيقان لعلاج كثرة الإفرازات المهبلية وذلك لخواصها القاتلة للجراثيم والطفيليات (الجنابي، 1996 ; Borton, 1986).
- تساعد قشور الرمان في تخفيف آلام الأسنان ولتخفيف حرارة الجسم (سامي هاشم، 1988).

9- نبات الرمان في الطب الحديث

يمنح تناول الرمان العديد من الفوائد الصحية لجسم الإنسان، ونذكر من بين هذه الفوائد ما يلي:

النشاطية المضادة للأكسدة

يحتوي الرمان على مضادات أكسدة التي وجد لها نشاطٌ مقاوم للأكسدة يتفوق بثلاث مرّات على ذلك الناتج من مستخلص الشاي الأخضر، وتحارب مضادات الأكسدة أمراض السرطان، وأمراض القلب، والشرابين، والأمراض الالتهابية وغيرها، وقد وجد أنّ عصير الرمان يقلل من تنشيط المواد المسرطنة ويحمي الخلايا، كما وجد أن له تأثيرات وقائية من أمراض القلب والأوعية الدموية تشمل خفض الكوليسترول الكلي والكوليسترول السيئ وضغط الدم وغيرها (Rahimi et al., 2012).

النشاطية المضادة للالتهاب

تعتبر استجابات الجسم الالتهابية الحادة عمليات مفيدة في وقاية الأنسجة من التضرر، ولكن استمرار الحالة الالتهابية في الجسم ترفع من خطر الإصابة بالعديد من الأمراض، مثل التهاب المفاصل الروماتيزمي وأمراض الأمعاء الالتهابية، ووجد للرمان نشاط مضاد للالتهاب عن طريق العديد من الميكانيكيّات (Rahimi et al., 2012).

النشاطية المضادة للسرطان

وجد للرمان نشاط مضاد للعديد من أنواع السرطان، مثل سرطان البروستاتا والثدي والقولون والرئة (Rahimi et al., 2012).

حيث وجد أنّه يمكن استعمال الرمان في علاج سرطان البروستاتا بسبب دوره في تثبيط نمو خلايا هذا السرطان وتحفيز موتها، كما وجد له تأثيرات على العديد من ميكانيكيّات نمو خلايا سرطان الرئة والقولون، ووجدت بعض الدراسات التي أجريت على فئران التجارب خصائص كيميائية لزيت بذور الرمان ضد خلايا السرطان تشمل تأثيره على سرطان الجلد (Zarfeshany et al., 2014).

كما وجدت العديد من الدراسات قدرة للرمان على منع تكون الأوعية الدموية الجديدة والتي تحتاجها الأورام السرطانية، الأمر الذي يعتبر أحد ميكانيكيّات مقاومته للسرطان (Rahimi et al., 2012).

الفصل الثاني

مواد الأيض الثانوي

1- مواد الأيض الثانوي

وهي المركبات العضوية التي تنتجها الكائنات الحية نتيجة عمليات الأيض الثانوي (الإستقلاب) الجارية في الخلايا الحية، وهي كثيرة ومتنوعة منها الفينولات، القلويدات الجليكوسيدات وغيرها وتؤدي المنتجات الطبيعية دورا مهما في عمليات الأيض داخل الخلية الحية، ولها تطبيقات عدة في شتى المجالات مثل : صناعة الأدوية، الأغذية وصناعة الروائح العطرية و غيرها (طاهر، 2008).

1-1- عديدات الفينول Les polyphénol

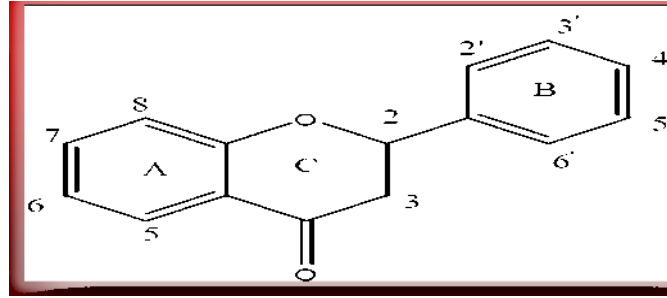
تشكل المركبات الفينولية حيزا كبيرا في حقل المنتجات الطبيعية، نظرا لكثرة عددها وتباين الهيكل البنائي لها (بوطيمة، 2012)، وقد تم عزل والتعرف على أكثر من 8000 مركب فينولي وتم توزيعها في مختلف الأقسام بدلالة هيكلها الكربوني (Benhammou, 2012).

تعرف المركبات الفينولية على أنها مستقلبات ثانوية في النباتات، تتميز بنيتها الأساسية بوجود حلقة عطرية أو أكثر مرتبطة بعدة مجاميع هيدروكسيلية حرة (بن سلامة، 2002). أو مرتبطة بمجاميع أخرى مثل الأستر والإيثر، ميثيل ... (Kanoun., 2011)، والإختلاف في عدد الحلقات وعدد ونوع المجاميع المرتبطة بها يجعلها تنقسم إلى عدة أقسام أهمها الأحماض الفينولية، الفلافونويدات الدباغ (التانينات)، حيث تمثل الفلافونويدات القسم الأكبر منها (جرموني، 2009).

1-1-1- الفلافونويدات Les Flavonoïdes

✓ تعريف الفلافونويدات

عبارة عن عائلة واسعة من مركبات عديدات الفينول التي ينتجها النبات (Lotito et Frei, 2006; فرحات أخرون، 2012) وهي مجموعة تضم أكثر من 6000 مركب طبيعي تميز عموما النباتات الوعائية (لموي، 2010). تتميز الفلافونويدات ببنية أساسية بسيطة نسبيا تتكون من 15 ذرة كربون موزعة وذلك في هيكلها الأساسي موزع على $(C_6 - C_3 - C_6)$ (Boumaza, 2011). بحيث تتصل الحلقتان البنزينيتان A و B بحلقة غير متجانسة C تحتوي على عنصر الأوكسجين (ميثاق، 2010)، كما هو موضح في الوثيقة (2) و الفلافونويدات صبغات صفراء اللون و من هنا اشتق اسمها من الكلمة اللاتينية Flavus التي تعني اللون الأصفر، وتنتشر في مختلف أجزاء النبات من جذور وأوراق والأزهار والثمار (علاوي، 2003; Hazimi, 1990).



الوثيقة (2): الهيكل العام للفلافونويد (ميثاق، 2010).

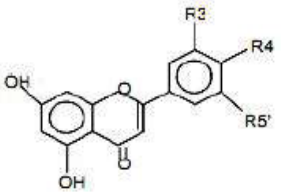
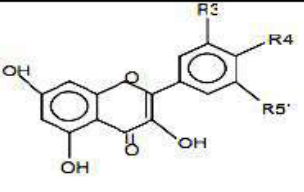
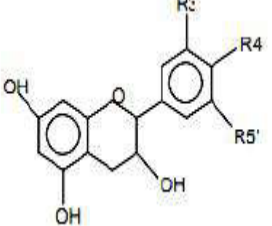
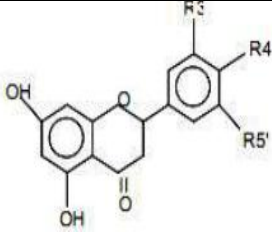
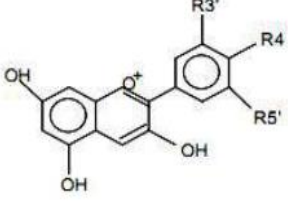
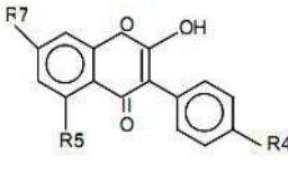
✓ خصائص الفلافونويدات

- تعتبر الفلافونويدات مركبات ذات صفة حامضية ضعيفة تذوب في القواعد القوية مثل هيدروكسيد الصوديوم.
 - تذوب الفلافونويدات في المذيبات القطبية مثل الميثانول والإيثانول والماء.
 - الفلافونويدات الأقل قطبية مثل الأيزوفلافونات وكذلك الفلافانونات تذوب في الكلوروفورم أو الإيثير.
- (عاشوري، 2004).

✓ تصنيفها

تختلف أقسام الفلافونويدات حسب نوع الحلقة، عدم تشبع ودرجة أكسدة الحلقة C، في حين يحدد نوع الفلافونويدات داخل المجموعة الواحدة من خلال المستبدلات على الهيكل الفلافونويدي ككل (Kijhnau, 1976). و يظهر الجدول (5) أهم أقسام الفلافونويدات :

الجدول (5): مختلف أقسام الفلافونويدات (Bruneton, 1999).

القسم Classes	البنية الكيميائية Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	أمثلة Exemples
Flavones فلافون		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols فلافونول		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols فلافانول		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones فلافانون		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines انتوسيانيدين		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones إيزوفلافون		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	H	Daidzeine

✓ الأهمية البيولوجية

❖ بالنسبة للنبات

- تساهم الفلافونويدات في إعطاء ولون الأزهار والثمار والأوراق .
- المقاومة ضد العوامل الممرضة للنبات والحماية من الأشعة فوق البنفسجية UV (Tanaka et al., 2008) .
- تلعب دور في عملية التأبير وذلك بجلب الحشرات (برحال، 2003).
- تساعد في تكوين مادة اللجنين التي تدخل في تركيب الجدر الثانوية للخلية النباتية وفي تكوين الخلايا المرستيمية (فاتن، 2006).

❖ بالنسبة للإنسان

- لها تأثير مضاد للالتهاب و التشنج (Ferraro, 1983; Elber et Wagner,1992) .
- منشطات للأوردة لكونها أدوية للعجز الوريدي (Wagner, 1977).
- تقلل من خطر الإصابة بالسرطان وتمنع نمو الخلايا السرطانية، كما تخفف أعراض الحساسية والتهاب المفاصل، (Zhou et al., 2001).
- تعتبر مضادة للتسمم الكبدي والجراثيم والفيروسات وخاصة الايزوفلافون (Wagner et al., 1986) (Hertog, 1995).
- تحمي من أمراض القلب و الأوعية (Hooper et al., 2008).
- تحمي الغشاء المخاطي للجهاز الهضمي (Dicarlo et al., 1999).
- لها أيضا دور في حماية الجهاز العصبي (Gutierrez-Merino et al., 2011) .
- تقلل من حدوث مرض السكري (Chaudhry et al., 1983).
- لها تأثير مضادة للأكسدة وذلك بـ: ازاحة الجذور الحرة (Cazarolli et al., 2008).
- تنظيم هرمونات التبويض عند الاناث (فاتن، 2006).

1-1-2-التانينات (العفصيات) Les Tannins

✓ تعريف التانينات

وهي عبارة عن مركبات عديدة الفينولات ذات تراكيب متنوعة ومعقدة (حجاوي وآخرون، 2009). ذات وزن جزيئي من 3000-500g/mol. كما لها خاصية ترسيب القلويدات والجلاتين والبروتينات الأخرى (زمالي، 2007). وتعرف أيضا بتأثيرها قابض (سراج والحسن، 2002).

تنتشر التانينات بوفرة في المملكة النباتية وتتواجد في مختلف أجزاء النباتات الجذور، الأوراق، الثمار والبذور (فاتن، 2006). وحسب الاشتقاق فإن التانينات هي المركبات المستخدمة في الدباغة (Tanerie) لها خاصية تحويل جلود الحيوانات الطرية إلى جلود غير قابلة للتعفن، وقليلة النفاذية، ويعزى ذلك على قدرتها على الإتحاد بالبروتينات (زمالي، 2007).

✓ خصائصها

حسب Rira (2006) فإن التانينات تتميز :

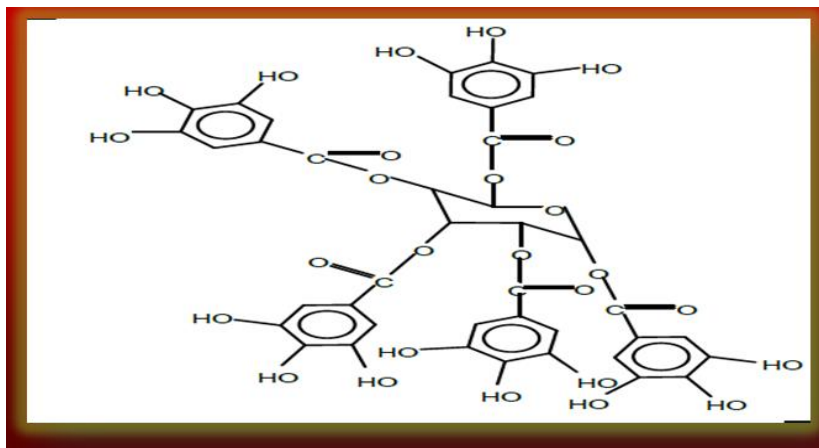
- مواد غير متبلورة تذوب في الماء مكونة مستحلب حامضي له طعم قابض (astringent)، وتذوب في الكحول ولا تذوب في الإيثر .
- تترسب التانينات بإضافة أملاح النحاس أو الرصاص أو القصدير، كما تترسب بواسطة محلول قوي من بيكربونات البوتاسيوم في المحاليل القوية .
- تمتص التانينات الأوكسيجن من الجو، وتتحول إلى اللون الأسود .
- لهذه المواد القدرة على ترسيب البروتينات، وهذه هي العملية التي تتم عند دباغة الجلود حيث تصبح غير قابلة لعمليات التحلل نتيجة ترسب البروتينات.

✓ تصنيفها

تصنف التانينات حسب بناءها ومنشأها الحيوي الوراثي إلى :

❖ التانينات المتحللة Les Tannins Hydrolysables

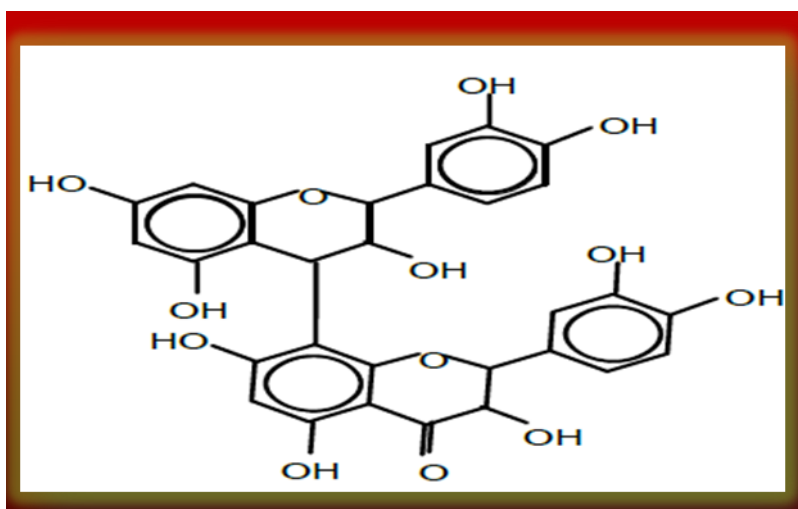
وهي عبارة عن جزيئات معقدة أسترات لسكر (أو عديد الهيدروكسي) وعدد متغير من جزيئات حمض الفينول، وعند إماهتها ينتج شقا سكريا؛ في أغلب الحالات غلوكوز (Glucose) وشقا فينوليا مشكلا أساسا من حمض الغاليك أو حمض الإيلاجيك كما هو موضح في الوثيقة (3) (زمالي، 2007).



الوثيقة (3) : وحدة التانينات المتحللة (بوقافلة، 2013)

❖ التانينات المكثفة Les Tannins Condensée

وهي مركبات الأكثر أهمية ناتجة من بلمرة لجزيئات أولية تملك البنية العامة للفلافونويدات ويعد (flavan-3-ols) catéchins و (flavan-3,4-diols) Leucoanthocyanidine الأكثر أهمية وترتبط فيما بينها بروابط C-C، كما هو موضح في الوثيقة (4) (زمالي، 2007). وترجع خواص التانينات المتراكمة إلى طبيعة الجزيئات الأولية الداخلة في تركيبها وخاصة الوزن الجزيئي، حيث أن الخواص الطبيعية لعينة ما أي قابليتها للارتباط بالبروتين تزداد من (bimere - decamere) وتنقص بعدها، فيمكن للجزيئات الكبيرة أن تكون عديمة الذوبان (قمولي، 2011).



الوثيقة (4): وحدة التانينات المكثفة (بوقافلة، 2013)

✓ الأهمية البيولوجية

❖ بالنسبة للنبات

- تعمل التانينات على التقليل من الإفرازات الزائدة وإصلاح الأنسجة التالفة (Boukri, 2014).
- مسؤولة عن الطعم اللاذع للفواكه الغير الناضجة (Benhammou, 2012).
- تعتبر مصدر للطاقة حيث يستعملها النبات في عمليات التحول الغذائي .
- تحمي النبات من الحشرات والفطريات الضارة (الخطيب، 2014).

❖ بالنسبة للإنسان

- تعتبر التانينات موقفة للنزيف بسبب تأثيرها القابض والمرسب للبروتينات .
- مضادة للأورام Antitumour حيث تثبط تكاثر الخلايا السرطانية ويوقي ADN من التخریب .
- لها القدرة على تثبيط نمو البكتيريا والفطريات .
- مضاد لإسهال Antidiarrhoeals .
- مضاد لإلتهابات الحلق والفم (Bouzid, 2009) (الخطيب، 2014).
- تعتبر كمضادات للأكسدة (Ferradji, 2011).
- تستخدم في عملية دباغة الجلود وعلاج الحروق (فاتن، 2006).
- تستخدم في معالجة البواسير والتشققات والتهابات الأغشية المخاطية (حجاوي وآخرون، 2009).

الفصل الثالث

دراسة الفعالية البيولوجية

1- الفعالية المضادة للبكتيريا

1-1- تعريف البكتيريا

البكتيريا كائنات حية دقيقة، لا ترى إلا بالمجهر، توجد في كل مكان، في الهواء، في الماء وعلى جسم الإنسان، وداخل قنوات الهضمية، وجهازه التنفسي.

تستطيع البكتيريا العيش لأعوام طويلة متحملة جميع الظروف غير الملائمة من ارتفاع درجة الحرارة أو انخفاضها، أو غير ذلك من الظروف البيئية القاسية حيث تعيش على شكل أبواغ، وعند تحسن الظروف البيئية ترجع إلى سابق عهدها نشاطاً وحيوية (العابد، 2009).

1-2-1- الخواص العامة للسلالات البكتيرية المختبرة

1-2-1- بكتيريا *Escherichia coli*

بكتيريا هوائية سالبة الغرام، تعيش في جسم الإنسان والحيوانات ذات الدم الحار والنبات وفي التربة، تكون متحركة على شكل عصيات، مسببة للأمراض من هذه الأمراض، أمراض الجهاز البولي، الإسهال الطفيلي، التهاب السحايا وتسمم الدم (العابد، 2009).

2-2-1- بكتيريا *Staphylococcus aureus*

بكتيريا ذات غرام موجب، كروية على شكل عناقيد ذات لون اصفر براق، عديمة الحركة، تتواجد في الأوساط البيئية المختلفة وفي جسم الإنسان والحيوان.

هذه البكتيريا مسؤولة على تشكل الصديد وتسبب التسمم الغذائي، التهابات جلدية خطيرة، وقد تتسبب البكتيريا في موجات وبائية ووفيات هائلة نتيجة التهابات الرئتين، وخراج المخ، وأمراض السحايا، وتسمم الدم، وغيرها من الأمراض قاتلة (لبوز، 2012).

3-2-1- بكتيريا *Salmonella enterica*

بكتيريا لاهوائية متحركة ذات الغرام السالب، خلاياها عصوية متوسطة، محبة للحرارة المعتدلة، تتواجد في أمعاء الإنسان والحيوان والطيور والحشرات، تعد مسبب رئيسي للأمراض المنقولة بالغذاء (سلمان، 2014).

4-2-1- بكتيريا *Listeria innocua*

بكتيريا لا هوائية إختيارية ذات غرام موجب، متحركة، خلاياها عصوية قصيرة (سلمان، 2014)، يمكن تواجدها في مختلف أنواع الأغذية، بحيث يسبب مرض التهاب السحايا (Slifman et al., 2003).

5-2-1- بكتيريا *Klebsiella pneumonia*

بكتيريا، خلاياها عصوية متوسطة، سالبة صبغة الغرام، لا هوائية إختيارية، مفردة أو بشكل أزواج متحركة، مكونة للمحفظة، محبة للحرارة المعتدلة، تتواجد في أمعاء الإنسان والحيوان و الطيور كما تتواجد في التربة والماء والحبوب (سلمان، 2014).

6-2-1- بكتيريا *Proteus mirabilis*

هي بكتيريا لا هوائية ذات الغرام السالب، تتواجد في المثانة البولية، لديها القدرة على إنتاج مستويات عالية من البكتيريا التحليل البولي، أذ بإمكانها تحليل اليوريا إلى أمونيا NH_3 ، وبذلك تجعل البول أكثر قلوية. وإذا تركت دون علاج زادت القلوية ويمكن أن تؤدي إلى تكوين بلورات من كربونات الكالسيوم (Joffin et Schuster, 2003).

2- مضادات الاكسدة**1-2- تعريف مضادات الأكسدة**

يطلق مصطلح مضادات الاكسدة على كل مادة أو مركب له فعالية ضد الأضرار التأكسدية ويعمل على تأخير أو الوقاية من فعل الجذور الحرة، تعمل مضادات الأكسدة على الحماية بعدة طرق إما بالتثبيط المباشر لإنتاج ROS أو منع إنتشارها أو هدمها (Miquel, 2002). وتنقسم الأنظمة المضادات للأكسدة إلى أنظمة إنزيمية وأخرى غير إنزيمية.

2-2- عمل مضادات الأكسدة

تعمل مضادات الأكسدة على منع تكوين أو منع تأثير أصناف الأوكسجين والنيوتروجين الفعال الناشئين داخل الجسم والذين يؤديان إلى أضرار في الأحماض النووية والدهون والبروتينات والجزئيات الحيوية الأخرى. وتصنف المادة المضادة للأكسدة بأنها تلك المادة التي لديها القدرة على تثبيط الجذور الحرة، لذا فإن القليل من المواد المضادة للأكسدة يفقدها الجسم. كما أن القليل من

جزيئات مضادات الأكسدة مثل بعض الإنزيمات تكون غير كافية لمنع هذا الضرر تماما (احمد فتحي، 2002).

إن إزالة الجذور الحرة بواسطة مضادات الأكسدة تبدو مهمة لصحة وحياة الإنسان ومع ذلك فإننا لا يمكن أن نعيش بدون الجذور الحرة. فالجسم يستخدم الجذور الحرة لتحطيم الجراثيم، بالإضافة إلى استخدامها لإنتاج الطاقة (قمولي، 2011).

2-3-3 مصادر مضادات الأكسدة

2-3-1-1 مضادات الأكسدة الأنزيمية

يملك الجسم العديد من الإنزيمات المضادة للأكسدة أهمها، SOD, CAT, GPX

(Desai et al., 2010)

• فوق أكسيد الديسميوتاز (SOD) Superoxide dismutase

يعتبر إنزيم Superoxide dismutase (SOD) من الإنزيمات التي تدخل في تحليل النواتج السامة للميتابوليزم الخلوي، فهو يقوم بإزالة الجذر $O_2^{\bullet -}$ وذلك بتسريع معدل تحوله إلى H_2O_2 بمساعدة بعض المعادن مثل السيلينيوم والنحاس والزنك، كما يوضحه التفاعل التالي :



• الكاتالاز Catalase

يوجد في الأجسام البيروكسومية Peroxisomes في خلايا أنسجة الكائنات الراقية كالدم ونخاع العظام والأغشية المخاطية والكلى والكبد، كما أن هذه الأجسام غنية بإنزيم آخر هو الأكسيداز Oxidase فبينما يعمل الأكسيداز على تكوين H_2O_2 يقوم الكاتالاز بتكسيده وتحويله إلى ماء وأكسجين، كما يوضحه التفاعل التالي.



• جلوتاثيون بروكسيداز Glutathion Peroxidase

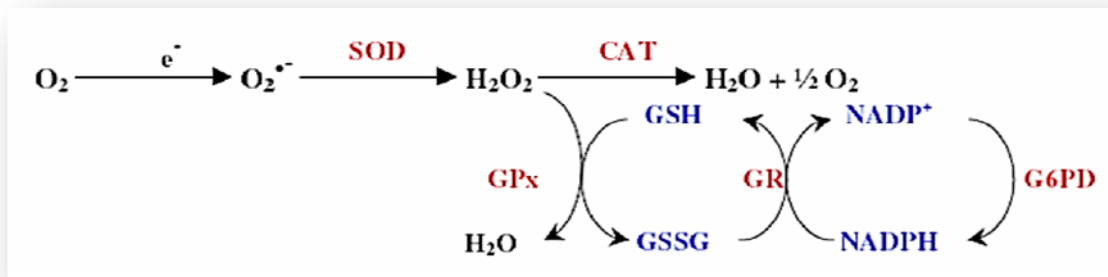
إنزيم متواجد في الميتكوندري والسائل الخلوي، وهو من أهم الأنظمة الإنزيمية المشاركة في الحماية، وذلك لأنه قادر على إزاحة كل من H_2O_2 و الهيدروبيروكسيدات الناتجة عن أكسدة وفق التفاعلات التالية:



يعمل إنزيم Glutathion réductase (GR) على إعادة تجديد GSH(γ-glutamyl-cysteinyl-glycine) انطلاقاً من، GSSG يتطلب هذا التفاعل عامل مساعد هو NADH.



هذا التفاعل ينتج عنه $NADP^+$ ، الذي يتحول من جديد إلى NADPH بواسطة إنزيم G6PD (Glucose-6phosphate-dehydrogenase). في المجموعات الآلية التفاعلية التي تتدخل في نزع السممية يمكن تلخيصها في المخطط التالي (Kanoun, 2011).



الوثيقة (5): الآلية التفاعلية الإجمالية لنزع السممية بتدخل الإنزيمات المضادة للأكسدة

(Kanoun, 2011)

2-3-2- مضادات الأكسدة غير الإنزيمية

على عكس مضادات الأكسدة الإنزيمية، معظم هذه المركبات لا تنتج من طرف العضوية وقد تأتي من الأغذية تشمل هذه المركبات كل من الجزيئات الصغيرة مثل الفيتامينات Vit. C و Vit. E و Ubiquinone و Glutathione (Karthikeyan and Rani, 2003). كما يمكنها أن تكون داخلية المنشأ مثل Coenzyme Q والميلاتونين وحمض اليوريا (Bodzek and Wielkoszynski, 2003). تتميز مضادات الأكسدة غير الإنزيمية بأوزان جزيئية منخفضة والقدرة على الوقاية أو الحد من أضرار الإجهاد التأكسدي (Yin et al., 2007). و نلخص بعضها فيما يلي:

• فيتامين C

يسمى كذلك بحمض الأسكوربيك *Ascorbic acid*، وهو مضاد أكسدة يذوب في الماء ويعمل داخل الخلايا ويستطيع إختزال الجذور الحرة من معظم مصادرها، كما يعمل على مساندة النظام الدفاعي للجسم ويستخدم أيضاً ضمن آليات الجسم لإزالة سمية بعض المواد الكيميائية وله دور هام في عملية الأكسدة والإختزال في الجسم. كما أن لهذا الفيتامين دوراً مضاداً للموت الخلوي، 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 عليه كالحمضيات (Chaabi, 2008).

• فيتامين E

يعتبر فيتامين E من أكثر مضادات الأكسدة ذوبانية في الدهون وتعرف مركباته بالتوكوفيرولات Tocopherols من 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 البيروكسيلية في الأغشية الخلوية ولذلك يطلق عليه تعبير "كاسح الجذور". كما يعادل تأثير بعض الجذور الحرة الأخرى وبالتالي يعمل على الوقاية من بعض الأمراض. كما تعمل مركبات فيتامين E - هـ على منع أكسدة بعض العناصر الغذائية وإعاقة سلسلة التفاعلات التي تؤدي إلى أكسدة الدهون والزيوت (فرحات، 2003).

اكتسب فيتامين هـ أهمية بالغة بعد أن عرف دوره كمضاد للأكسدة وإطالة العمر الافتراضي لخلايا الجسم ومعالجة عدد من الأمراض كتقليل نسبة حدوث الإصابة بالجلطات القلبية وتصلب الشرايين، كما أن لهذا الفيتامين دور في وقاية الجينات من التطفر. ومن المصادر الغنية بهذا الفيتامين زيت النخيل والذرة والفاصوليا السوداني (Chaabi, 2008).

• الجلوتاثيون Glutathion

الجلوتاثيون (GSH) عبارة عن ببتيد قصير مكون من ثلاثة أحماض أمينية هي Glutamic و Cystein و Glycine يوجد الجلوتاثيون في الأنسجة الحيوانية ويلعب دورا مهما كمضاد للأكسدة داخل الجسم (بن خنثة، 2014). حيث يحمي الخلية من التلف التأكسدي (Jan et al., 2011). يستطيع GSH التفاعل مباشرة مع الجذور الحرة مثل $O_2^{\cdot-}$ و $OH^{\cdot}$ و $LO^{\cdot}$ و $LOO^{\cdot}$. حيث تفقد مجموعة الكبريت ذرة هيدروجين مما يؤدي إلى إنتاج جذر $thiyl(GS^{\cdot})$. بإمكانه الانضمام إلى جذر آخر لتكوين جزيئة GSSG (Biljak et al., 2010).

• الكاروتينويدات Carotenoides

الكاروتينويدات Carotenoides هي مواد صبغية موجودة في الفواكه والخضراوات (بن ذهبية، 2013). وتعتبر بادئات لفيتامين A الضروري للرؤية، النمو، وتتميز بوجود العديد من الروابط المزدوجة في بنيتها أكسبها فعل المضادة للأكسدة. حيث بينت العديد من التجارب In Vitro تأثيراتها المضادة للتأكسد الكانس للجذور الحرة (قندولي، 2009).

الجزء التطبيقي

الفصل الأول

المواد المستعملة والطرق
المتبعة

I الدراسة الكيميائية

I-1- جمع العينات النباتية

تم الحصول على قشور ثمار الرمان *Punica granatum L.* من منطقة غمرة التابعة إقليمياً لبلدية قمار ولاية الوادي بتاريخ 2017/9/21 بعد عملية جمع العينات قمنا بتجفيف القشور وذلك بتعريضها للهواء في مكان مظلل ومهوى بطريقة طبيعية، وبعد ذلك طحنت يدوياً للحصول على مسحوق نباتي ثم تحفظ في أكياس ورقية وتوضع في مكان جاف بعيداً عن الضوء .

I-2- الحصر الكيميائي الأولي لقشور ثمار الرمان *Punica granatum L.*

بغية الكشف عن ما تحتويه قشور ثمار الرمان من مواد فعالة، اعتمدنا طريقة الكشف اللوني.

I-2-1- تحضير المستخلصات النباتية

تم تحضير نوعين من المستخلصات المائي و الميثانولي و هذا اعتماداً على نوعية المادة الفعالة، وهذا عن طريق النقع (Macération) (Azzi, 2013).

✓ طريقة تحضير المستخلص المائي أو الميثانولي

نضع 10g من قشور ثمار الرمان في 100 ml من الماء المقطر أو الميثانول مع التحريك، تنقع لمدة 24 ساعة ثم يرشح المستخلص.

I-2-2- الكشف عن مواد الأيض الثانوي للمستخلصات المدروسة

يهدف هذا الكشف الكيميائي إلى معرفة أهم المواد الفعالة في مستخلصات المائية و الميثانولية لقشور ثمار نبات الرمان، فكشفنا على مختلف العناصر الموجودة فيه من القلويدات، التانينات، الفلافونويدات الاستيرولات أو التربينات الثلاثية الجليكوسيدات، الصابونيات وذلك بإتباعنا الطرق التالية:

✚ اختبار القلويدات

نضع في ثلاثة أنابيب اختبار 1ml من المستخلص ونضيف 5 قطرات من كاشف ماير، وانر و دراجندروف على التوالي .

- كاشف دراجندروف: ظهور راسب برتقالي يدل على وجود القلويدات.
- كاشف وانر: ظهور راسب بني يدل على وجود القلويدات.
- كاشف ماير: ظهور راسب أبيض يدل على وجود القلويدات (Harborne, 1973).

✚ اختبار التانينات

نضع في أنبوب اختبار 5 ml من المستخلص، نضيف له 3 قطرات من كلوريد الحديد الثلاثي (FeCl₃) (1-2 %).

- ظهور لون أزرق مسود يدل على وجود التانينات الغالية Tanins gallique.
- ظهور لون أزرق مخضر يدل على وجود التانينات المتحللة Tanins hydrolysable (Trease et Evans, 1987).

✚ اختبار الفلافونويدات

نضع في أنبوب اختبار 5ml من المستخلص، ونضيف 1ml من الكحول الأميلي، يليه قطع من المغنزيوم (0.5g)، ثم نضيف 1ml من HCl المركز.

- ظهور لون أحمر أو الوردي يدل على وجود الفلافونويدات (Azzi, 2013).

✚ اختبار الستيرويدات و التربينات الثلاثية

نأخذ 10 ml من المستخلص ثم ييخر (يوضع في الحاضنة 37°C ليلة كاملة)، نحصل على راسب الذي يذوب في 5ml من الكلوروفورم و 5ml من حمض الخليك الثلجي، وبواسطة ماصة نضيف وبحذر على حافة الأنبوب 1ml من حمض الكبريت H₂SO₄.

- ظهور حلقة بنفسجية في نقطة الاتصال بين المحولين، بعد 30 دقيقة يدل على وجود الستيرويدات

(Trease et Evans, 1987).

✚ اختبار الجليكوسيدات (المركبات المرجعة)

نضع في أنبوب اختبار 1ml من المستخلص، ونضيف 1ml من الماء المقطر، ثم نضيف 20 قطرة من محلول فهلنج، يسخن الأنبوب على حمام مائي.

- ظهور راسب أحمر أجوري يدل على وجود الجليكوسيدات (Trease et Evans, 1987).

✚ اختبار الصابونيات

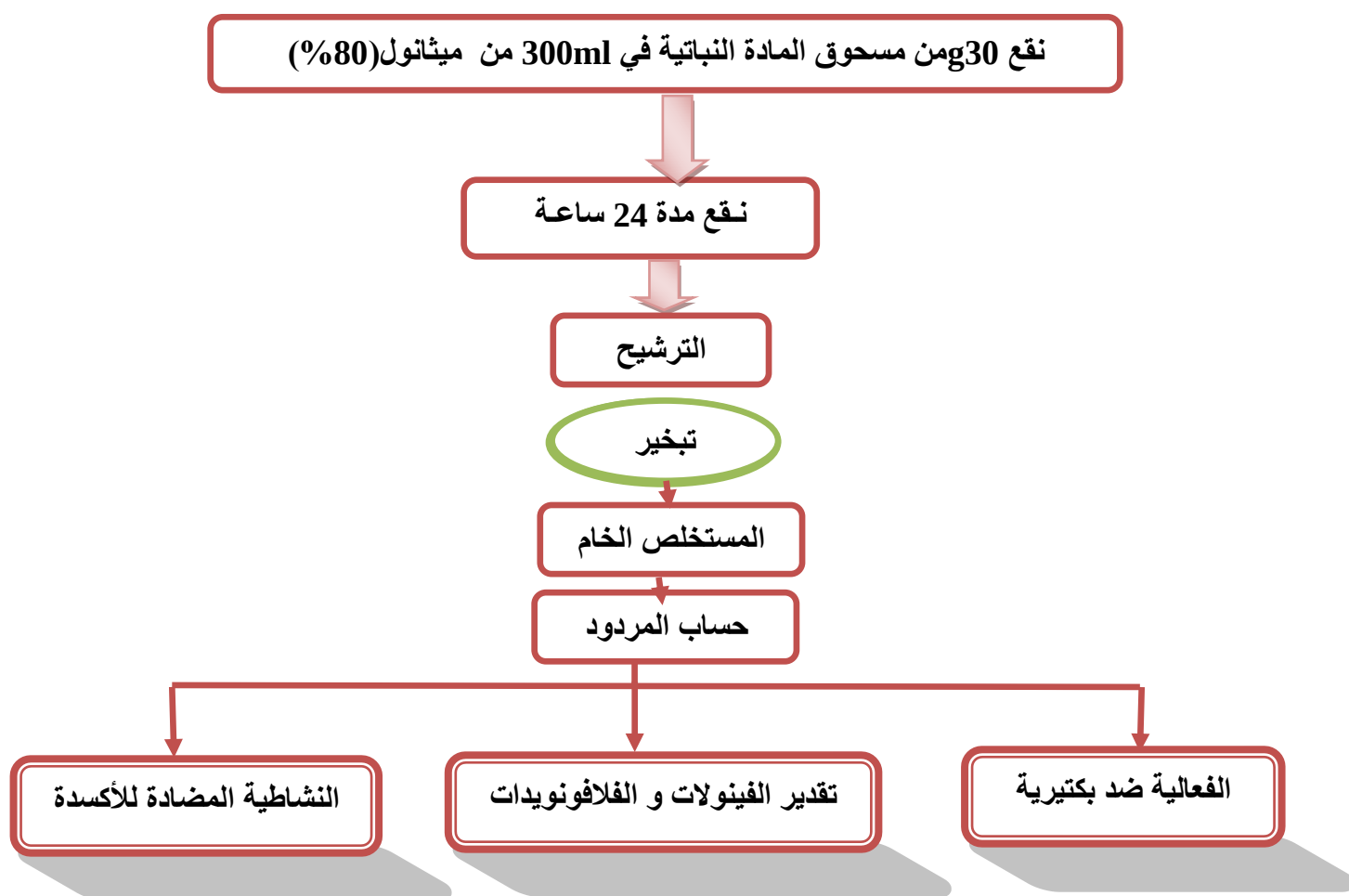
نضع 2ml من المستخلص في أنبوب اختبار، نضيف له 1ml من الماء المقطر، ثم نقوم بالرج عموديا لمدة 15 ثانية، وبعد 20 دقيقة نقوم بقياس طول الرغوة.

- عدم وجود الرغوة يدل على عدم وجود الصابونيات.
- ظهور رغوة أقل من 1cm يدل على وجود الصابونيات بكمية قليلة.
- ظهور رغوة محصورة بين 1-2 cm يدل على وجود الصابونيات بكمية معتبرة.
- ظهور رغوة أكثر من 2cm يدل على وجود الصابونيات بكمية كبيرة (Azzi, 2013).

I-3-إستخلاص بعض مواد الأيض الثانوي

I-3-1- إستخلاص عديدات الفينول

نقع 30 g من القشور المطحونة مع 300 ml ميثانول (80%)، في الظلام لمدة 24 ساعة، بعدها يتم الترشيح بواسطة ورق ترشيح (مع تكرار العملية مرتين)، وبعد الحصول على الرشاحة (المستخلص الميثانولي) يتم وضعه في جهاز التبخير الدوراني في 48°C ، لنتحصل على مستخلص ميثانولي خام، يحفظ في مكان جاف إلى حين استعماله كما هو موضح في الشكل (1) (Mahmoudi et al., 2012).



الشكل (1): المراحل المتبعة في إستخلاص عديدات الفينول حسب

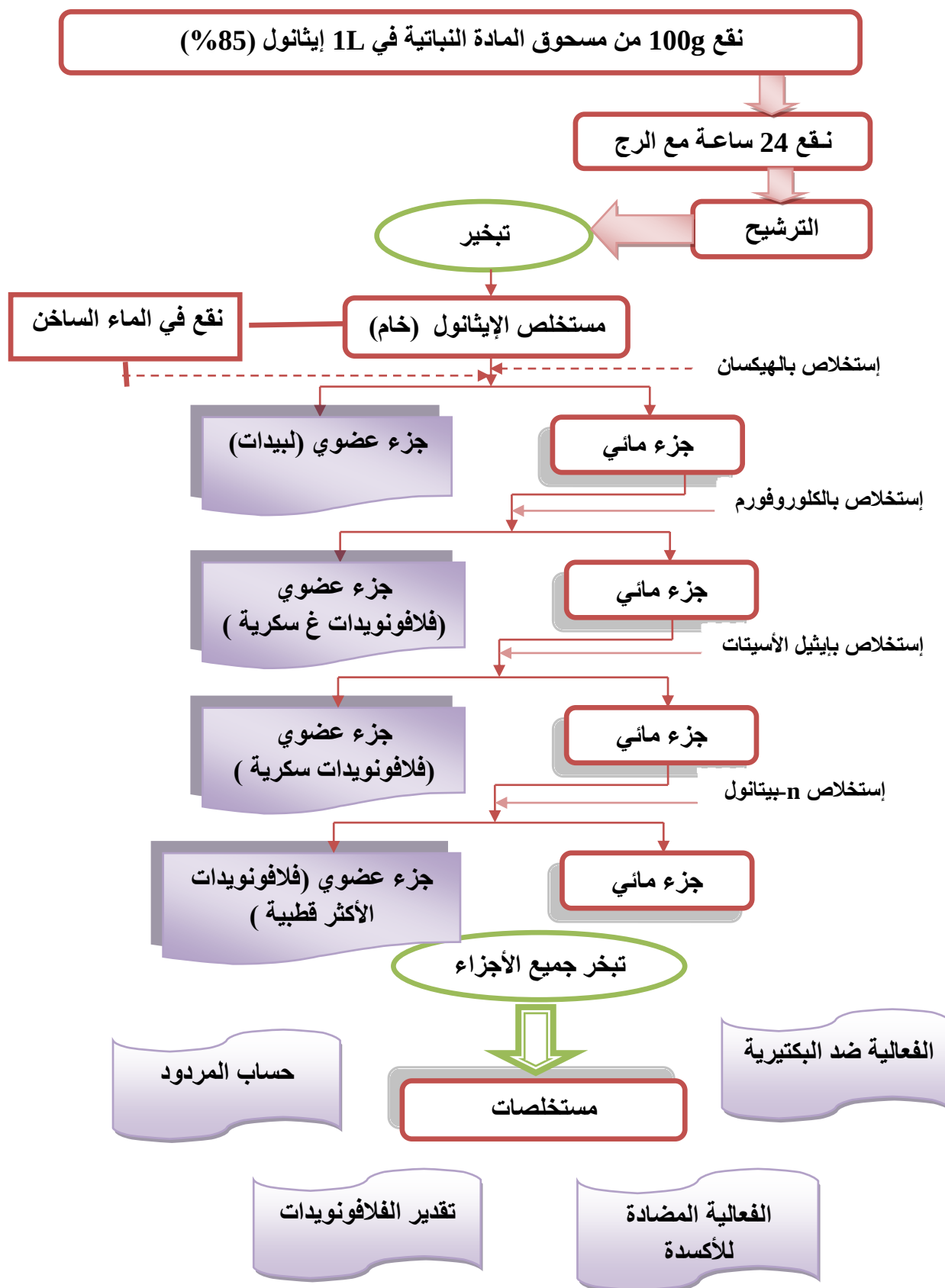
(Mahmoudi et al., 2012)

I-3-2-إستخلاص الفلافونويدات:

تتم عملية إستخلاص الفلافونويدات حسب طريقة Markham (1982) والتي تركز على درجة ذوبانية هذه المركبات في المذيبات العضوية .

يعتمد إستخلاص الفلافونويدات على إضافة 1L (85% إيثانول) إلى 100g من قشور الرمان، يعرض الخليط لعملية رج مدة ليلة كاملة في درجة حرارة 4°C بعدها يرشح المحلول بواسطة ورق الترشيح، ثم تحفظ الرشاحة الأولى المتحصل عليها في 4°C ويعاد إستخلاص الراسب مرة ثانية بنفس الطريقة لكن بإستعمال (50% إيثانول/ماء) فنتحصل على الرشاحة الثانية. تمزج الرشاحتين وترشح بواسطة ورق ترشيح ثم تبخر بإستعمال جهاز التبخير الدوراني تحت درجة حرارة 45°C ، نحصل في النهاية على ناتج عبارة عن مستخلص خام الذي يضاف له 300 مل من الماء المقطر الساخن ثم يخلط جيدا ويترك لمدة حوالي 5 ساعات، بعدها يرشح المحلول بواسطة ورق الترشيح، ثم يجفف في الحاضنة للحصول على مستخلص جاف.

وبواسطة قمع الفصل يتم نزع اللبيدات بإضافة حجم من الهكسان فينتج عنه جزء عضوي (مستخلص الهكسان)، وجزء مائي، الذي يضاف له الكلوروفورم لإستخلاص الفلافونويدات غير السكرية، أما الجزء المائي الناتج فيضاف له حجم مساوي له من إيثيل الأسيتات لإستخلاص الفلافونويدات أحادية وثنائية السكر، المستخلص المائي الناتج يحتوي على الفلافونويدات الأكثر قطبية ثنائية، ثلاثية، رباعية السكر يتم استخلاصها بإضافة حجم من ن- بوتانول كما هو موضح في الشكل (2)، ثم تعرض كل من المستخلصات العضوية لعملية التبخير بواسطة جهاز التبخير الدوراني في درجة حرارة 45°C ثم تحفظ (Markham, 1982).



الشكل (2): المراحل المتبعة في إستخلاص الفلافونويدات حسب طريقة Markham (1982)

I-3-3- إستخلاص التانينات

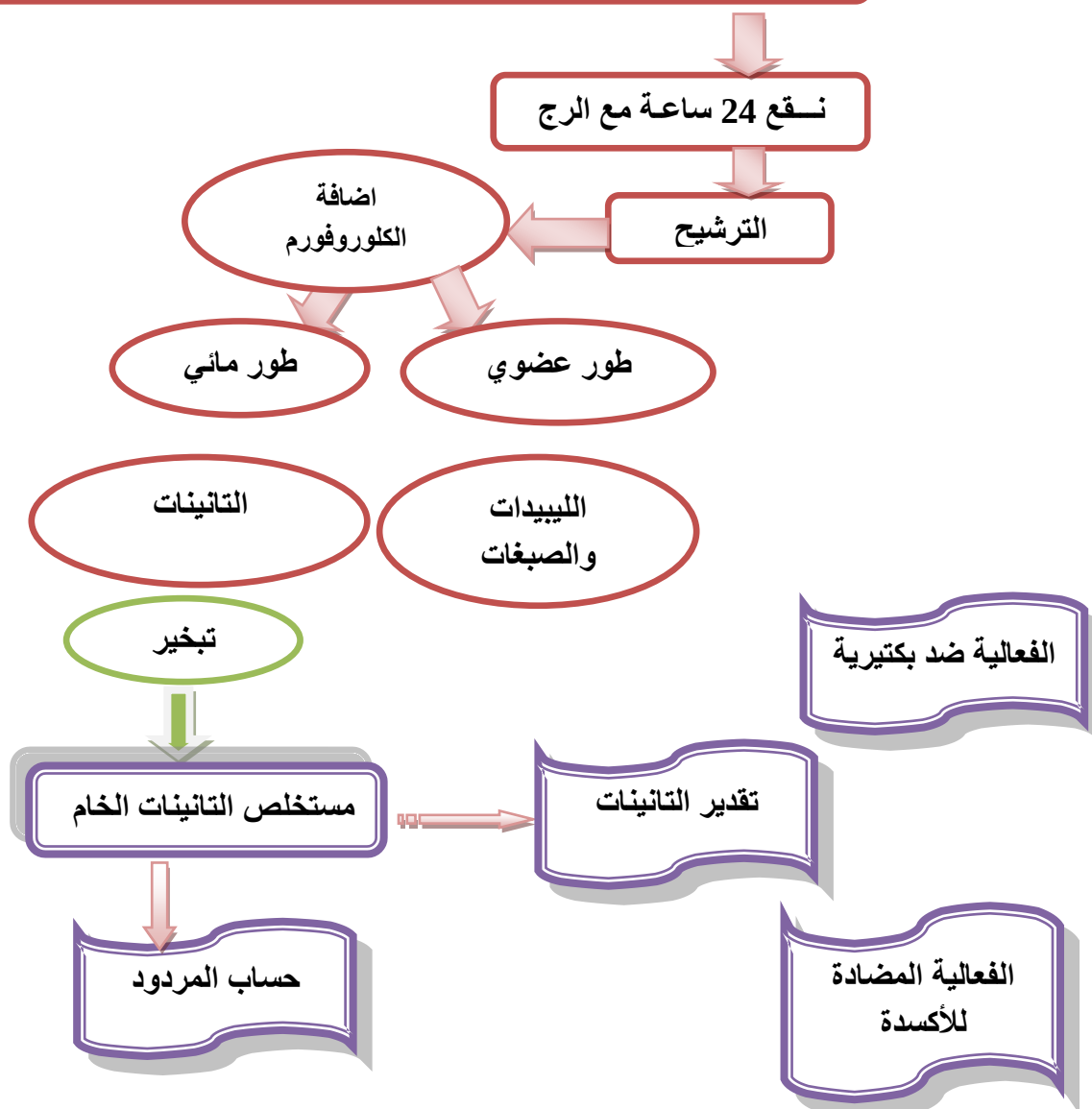
نضع 50g من النبات المطحون في بيشر ونضيف له 200ml من الإيثانول، ثم نضيف له 500ml من الماء المقطر، يوضع البيشر في خلاط مغناطيسي ثم يترك لمدة 24 ساعة ثم نقوم بترشيح المستخلص بإستعمال ورق ترشيح.

بعد الترشيح نضع المستخلص في قمع فصل ونضيف له 20ml من الكلوروفورم (بتكرار 4 مرات)، ثم نقوم بالرج جيدا، وبعد مدة نتحصل على طورين:

الطور العضوي (يكون في الأسفل): يحتوي على اللبيدات والصبغات ويتم التخلص منه.

الطور المائي (يكون في الأعلى): يوضع في جهاز المبخر الدوراني عند درجة حرارة 65°C من أجل تبخير المذيب (الماء والإيثانول)، و بعد ذلك نقوم بحساب المردود، وبعدها يجمع في دورق التجفيف ليتم إستعماله في دراسة الفعالية البيولوجية لاحقا (Zhang et al., 2008) كما هو موضح في الشكل (3).

نقع 50g من مسحوق المادة النباتية في 200ml إيثانول + 500ml ماء مقطر



الشكل (3): المراحل المتبعة في إستخلاص التانينات حسب (Zhang et al., 2008)

I-4- حساب المردودية للمستخلصات النباتية

وهي عبارة عن النسبية بين الكتلة الجافة المستخلصة التي تم الحصول عليها على كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة في الإستخلاص (كتلة المادة الابتدائية جافة)، وتقدر حسب (Guettaf et al., 2016) بالعلاقة التالية:

$$\text{المردودية \%} = \left(\frac{\text{الكتلة الجافة المستخلصة}}{\text{كتلة المادة النباتية الابتدائية جافة}} \right) \times 100$$

I-5- التقدير الكمي لبعض مواد الأيض الثانوي

I-5-1- تقدير الكمي لعديدات الفينول

تم التقدير الكمي لعديدات الفينول بإتباع طريقة Singleton و آخرون (1999) (باستخدام كاشف Folin-ciocalteau وذلك بأخذ 125µl من المستخلص ونضيف 500µl من الماء المقطر و نمزجها في 125µl من كاشف Folin-ciocalteau، ننتظر مدة 3 دقائق ثم نضيف 1250 µl من كربونات الصوديوم Na_2CO_3 (7.5%)، نضيف 1000µl من الماء المقطر وتوضع في الظلام لمدة 90 دقيقة ثم تقاس إمتصاصية المحلول المحضر عند طول موجة 760nm بجهاز مطيافية الضوئية Spectrophotomètre.

و نستعمل حمض الغاليك Acid Gallic لتحديد معادلة المنحنى الخطي، ويتم التعبير عن النتائج بعدد ميكروغرامات المكافئة لحمض الغاليك لكل ملغرام من وزن المستخلص (µl AGE/mg extrait). (Singleton et al., 1999) و (Slinkard and Singleton, 1977).

I-5-2- تقدير الكمي للفلافونويدات

تم التقدير الكمي للفلافونويدات بطريقة كلوريد الألمنيوم AlCl_3 ، حيث نأخذ 250 µl من المستخلص، نضيف لها 2250µl من الميثانول مع 100(Al(NO₃))₃, 9H₂O) µl (10%) و 100µl من خلات البوتاسيوم (CH₃COOK) ويحضن المحلول الناتج لمدة 40 دقيقة ثم تقاس الإمتصاصية عند طول الموجه 415nm من خلال جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotomètre،

ونستعمل الكرسيتين Quercetin لتحديد معادلة المنحنى الخطي، ويتم التعبير عن النتائج بالميكروغرامات مكافئ مع الكرسيتين Quercetin لكل ملغرام من المستخلص (µg QE/ mg extrait) (Türkoğlu et al, 2007).

I-5-3- تقدير التانينات

تم التقدير الكمي لتانينات حسب طريقة Sun (1998) باستخدام الفانلين وذلك من خلال أخذ 500µl من المستخلص ونضيف له 3ml من محلول (فانلين / ميثانول 4%) و 1.5ml من حمض كلور الماء HCl ، تخلط جيدا ثم تترك لمدة 15 دقيقة ثم تقاس الإمتصاصية في طول موجة 500nm بواسطة جهاز مطيافية الضوئية Spectrophotomètre.

ويتم التعبير عن النتائج بالميكروغرامات مكافئ مع الكاتشين Catéchine لكل ملغرام من المستخلص (µg E CA/ mg extrait) (Sun et al., 1998).

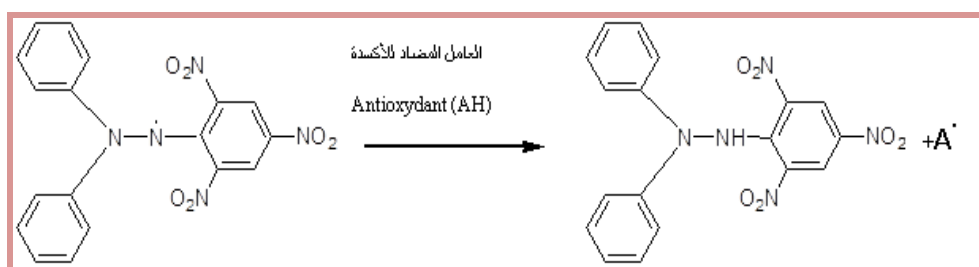
II. الدراسة البيولوجية

1-II- دراسة النشاط المضادة للأكسدة

لتقدير النشاط المضادة للأكسدة للمستخلصات تم إجراء اختبار: قياس قدرة العينة على إزاحة الجذور الحرة بإستعمال جذر $\text{DPPH}^{\bullet}$ (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

II-1-1- اختبار تثبيط الجذر الحر $\text{DPPH}^{\bullet}$

إختبار $\text{DPPH}^{\bullet}$ هو اختبار مضاد للجذور الحرة حسب Blois سنة 1958، هذا الاختبار يعتمد على تثبيط الجذر الحر $\text{DPPH}^{\bullet}$ ، وذلك اعتمادا على قابلية إعطاء المستخلصات (مضادات الأكسدة) لذرة الهيدروجين، ويظهر ذلك من خلال التفاعل اللوني للجذر الحر $\text{DPPH}^{\bullet}$ ذو اللون البنفسجي الذي يتحول إلى اللون الأصفر (Blois, 1958). كما هو موضح في الوثيقة (6)

الوثيقة (6): تفاعل كبح الجذر الحر $\text{DPPH}^{\bullet}$

(Maisuthisakul *et al.*, 2007)

✓ طريقة العمل

أولا تم تحضير محلول $\text{DPPH}^{\bullet}$ ذو تركيز (0.1Mmol) وذلك من خلال إذابة 4mg من $\text{DPPH}^{\bullet}$ في 100 ml من الميثانول. و لتحضير المحلول الأصلي أخذنا 5mg من كل مستخلص ومزجها مع 1ml ميثانول، فأصبح تركيز المحلول الأصلي 5000µg/ml، وإنطلاقا من هذا التركيز قمنا بتحضير بقية التراكيز المخففة بإضافة الميثانول. نأخذ من كل تركيز 200µl ونضيف له 800µl من $\text{DPPH}^{\bullet}$ ، نجانس المحلول ونضعها 30 دقيقة في الظلام، ثم تقاس إمتصاصية المحلول المحضر عند طول موجه 517nm بجهاز مطيافية الضوئية Spectrophotometer.

يأخذ 200µl من تراكيز مختلفة من المستخلصات المذابة في الميثانول ويضاف لها 800µl من محلول $\text{DPPH}^{\bullet}$ ذو تركيز (4mg/100ml MeOH)، نجانس المحلول ثم تحضن الأنابيب في الظلام لمدة

تتراوح حوالي 30 دقيقة، ثم يتم قياس الإمتصاصية المحلول المحضر عند طول موجه 517 nm بجهاز مطيافية الضوئية Spectrophotometer.

تطبق طريقة العمل على المركب النقي حمض الأسكوربيك (Vc) وذلك من أجل مقارنة فعالية المستخلصات بالمركبات المضادة للجذور الحرة وللأكسدة المستعملة في الصناعة الغذائية (Dziri et al., 2012).

1-1-1-II- حساب النسبة المئوية للتثبيط

نحسب نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH^{*} (I%) كما يلي:

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

حيث أن :

A₀: الإمتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلصات.

A_i: الإمتصاصية الضوئية للجذر الحر في وجود المستخلصات

2-1-1-II- تحديد مقدار IC₅₀

يعرف هذا المقدار على أنه تركيز المستخلص اللازم لتثبيط أو كبح 50% من DPPH^{*} والذي يحسب من خلال المعادلة الخطية لمنحنيات تغيير نسبة التثبيط (I%) بدلالة تركيز المستخلصات

(Aktumsek et al., 2011; Dziri et al., 2012; Ramesh et al., 2015)

2-II- دراسة النشاطية البكتيرية

1-2-II- تحضير التخفيفات المختلفة لكل مستخلص

بغية الكشف عن مدى فعالية المستخلصات المدروسة اتجاه السلالات البكتيرية الممرضة و المقارنة بينها، قمنا بتحضير 4 تراكيز مختلفة من كل مستخلص و ذلك باستخدام DMSO.

II-2-2-اختبار الفعالية ضد بكتيرية للمستخلصات بطريقة اختبار الحساسية بالأقراص

لتقدير الفعالية ضد بكتيرية للمستخلصات اعتمدنا طريقة الانتشار بالأقراص وذلك بتشجيع الأقراص من كل مستخلص (Ngameni *et al.*, 2009) على نمو 6 سلالات بكتيرية، والمتحصل عليها من مستشفى الحكيم سعدان – بسكرة و الموضحة في الجدول (6). كما استعملنا أيضا ثلاثة أنواع من المضادات الحيوية بهدف المقارنة مع الأثر التثبيطي للمستخلصات المدروسة وهي موضحة في الجدول (7).

الجدول(6): أنواع السلالات البكتيرية المختبرة

البكتيريا المدروسة	المرجع	طبيعة الجدار الخلوي
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	سالبة الغرام
<i>Staphylocoque aureus</i>	ATCC 25923	موجبة الغرام
<i>Salmenella enterica</i>	Arizonae CIP 81-3	سالبة الغرام
<i>Listeria innocua</i>	clip74915	موجبة الغرام
<i>klebsiella pneumonia</i>	ATCC 700603	سالبة الغرام
<i>Protus mirabilis</i>	ATCC35659	سالبة الغرام

الجدول(7): أنواع المضادات الحيوية المستخدمة

المضاد الحيوي	الاسم	التركيز(μg)
GEN	Gentamycine	50
CFM	Céfixime	10
C30	Le chloramphénicol	30

🚦 تنمية مزارع بكتيرية حديثة

نقوم بتنشيط سلالات البكتيريا التي سوف نستخدمها في الدراسة ذلك بأخذ مسحة من العزلات البكتيرية باستعمال Anse de platine وتنميتها في وسط زراعي مغذي gélose nutritive وحضانها في الحاضنة Etuve تحت درجة حرارة 37° C لمدة 24 ساعة (حوة، 2013).

🚦 تحضير أوساط الزرع

تتم إذابة وسط الزرع (MH) Muller-Hinton ويسكب في علب بتري (1mm) ونتركها تتجمد على سطح طاولة المخبر المعقمة (حوة، 2013).

✚ تحضير المعلق البكتيري

يحضر المعلق البكتيري انطلاقاً من مزارع بكتيرية حديثة، حيث نأخذ في كل مرة مستعمرة أو إثنان من كل نوع بكتيري ووضعها في أنابيب اختبار حيث يحوي كل أنبوب 5 مل من الماء الفيزيولوجي ونقوم بالرج جيداً حتى تصبح المعلقات متجانسة و متعكرة (العابد، 2009).

✚ تحضير الأقراص

تحضر الأقراص انطلاقاً من ورق واتمان (Papier Wattman N⁰³) تكون الأقراص متجانسة ذات قطر 6mm. تعقم في جهاز Autoclave من 20 – 25 دقيقة على درجة حرارة 120°C (بوخبتي، 2010).

✚ زراعة البكتيريا

نقوم بغمس الماسحة القطنية المعقمة في المعلق البكتيري لإحدى الأنواع البكتيرية المدروسة ثم يمسح به سطح وسط الزرع على شكل خطوط متوازية ومتقاربة مع تكرار العملية ثلاث مرات وذلك بتدوير الطبق 60° في كل مرة (بوخبتي، 2010).

✚ تطبيق الأقراص

بعد تحضير الأوساط الزراعية وزراعة السلالات البكتيرية الستة، نضع أقراص المضادات الحيوية و الأقراص الورقية المشبعة بالمستخلصات بمختلف تراكيزها. كل منها على حدى داخل الأطباق المحضرة سابقاً. بعد ذلك نترك الأطباق مدة 30 دقيقة قرب الموقد الحراري بعدها نضع في الحاضنة Etuve بوضع مقلوب في درجة حرارة 37°C⁰ لمدة 24 ساعة. و بعد انتهاء مدة الحضانة يتم قياس قطر منطقة التنشيط بواسطة ورق ميليمترية (العابد، 2009).

III- الدراسة الإحصائية

كل القيم المحصل عليها عبر عنها بالمتوسط الحسابي (M) ± الانحراف المعياري (SD)

حللت النتائج عن طريق اختبار one-way Anova لـ Tukey

الفصل الثاني

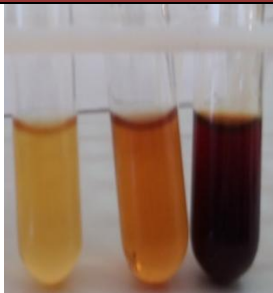
النتائج والمناقشة

النتائج والمناقشة

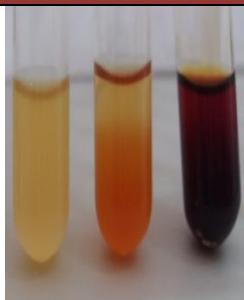
1- الكشف عن مواد الأيض الثانوي في قشور ثمار الرمان *Punica granatum L.*

إختبارات الكشف الكيميائي تتضمن الكشف عن مختلف المركبات الفعالة الموجودة في النبات المدروس وذلك من خلال اختبار تفاعلات نوعية، وتعتمد هذه التفاعلات إما بتشكيل راسب أو بتغير في اللون بواسطة الكواشف الخاصة بكل عائلة من المركبات الفعالة نتائج اختبارات الكشف النوعية على قشور ثمار الرمان *Punica granatum L.* وضحت الجدول 8، 9، 10.

الجدول (8): نتائج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلص المائي و لقشور ثمار الرمان

القلويدات	التانينات	الفلافونويدات
		
راسب برتقال محمر/ غياب راسب بني / غياب راسب أبيض	ظهور لون أزرق مسود	ظهور لون أحمر أجوري
الستيرويدات والتربينات الثلاثية	المركبات المرجعة	الصابونيات
		
ظهور حلقة حمراء بنفسجية	ظهور راسب أحمر أجوري	غياب ظهور الرغوة

الجدول (9): نتائج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلص الميثانولي لقشور ثمار الرمان

القلويدات	التانينات	الفلافونويدات
		
راسب برتقال محمر/ راسب بني / راسب أبيض	ظهور لون أزرق مسود	ظهور لون أحمر أجوري
الستيروولات والتربينات الثلاثية	المركبات المرجعة	الصابونيات
		
غياب ظهور حلقة حمراء بنفسجية	ظهور راسب أحمر أجوري	غياب ظهور الرغوة

الجدول (10): نتائج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلص المائي و الميثانولي لقشور ثمار الرمان

المستخلص الميثانولي	المستخلص المائي	المستخلصات المواد الفعالة	
		ماير	القلويدات
-	-	وينر	
+	-	دراجندروف	
+	+		
++	++	التانينات	
++	++	الفلافونويدات	
-	+	الاسترولات والتربينات الثلاثية	
+	+	الجليكوسيدات	
-	-	الصابونيات	

ملاحظة:

(+): وجود المادة الفعالة.

(++): وجود المادة الفعالة بكمية معتبرة.

(-): غياب المادة الفعالة.

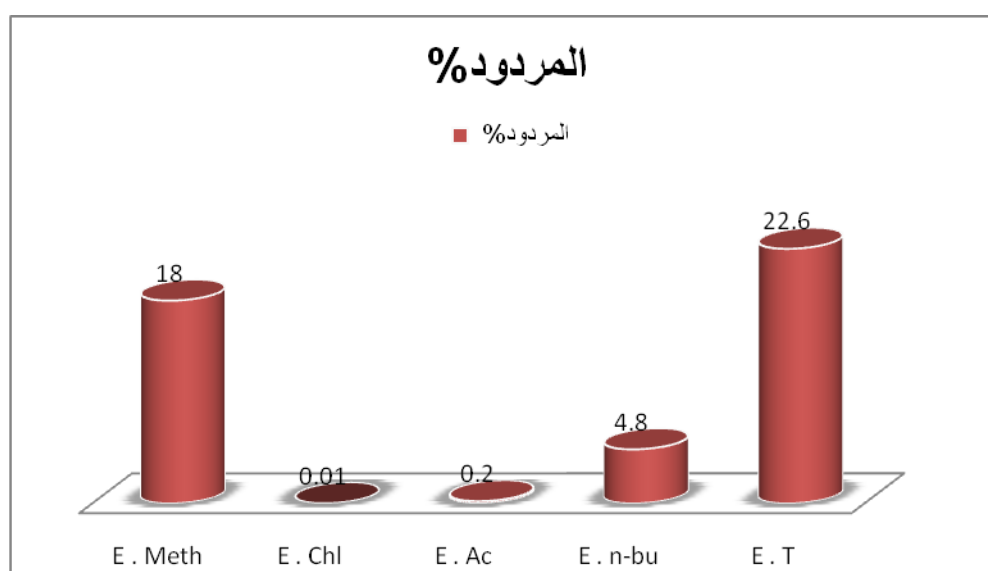
أظهرت نتائج اختبارات الكشف الكيميائي الأولي أن قشور ثمار نبات الرمان غني بالتانينات و الفلافونويدات ، وكذا احتواءه على القلويدات، الجليكوسيدات والستيرولات والتربينات الثلاثية و هذه النتائج تتوافق مع العديد من الدراسات (الإمارة، 2006; Mahmoud et al., 1994) (Moneam et al., 1988; Hussein et al., 1997)، بينما لاحظنا غياب الصابونيات رغم إثبات وجودها في دراسات أخرى مثل (طالب حميد وآخرون، 2009; محمد علي وآخرون، 2010) و قد يرجع هذا الاختلاف عدة عوامل من بينها نوع الثمار (حلو، حامض، المعتدل)، وقت القطف (فترة نموه ونضجه)، طريقة التجفيف، والعوامل البيئية المختلفة (Rosella, 2005).

2- حساب مردودية المستخلصات

تم حساب مردودية المستخلصات انطلاقاً من كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة وكتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة كما هي موضحة في الجدول (11) والشكل (4).

الجدول (11): مردودية المستخلصات

المردود %	لون المستخلص	شكل المستخلص	المستخلص
18	بني محمر	عجينة	الميثانولي Meth
0.01	بني	مسحوق	الكلوروفورمي Chl
0.2	بني مخضر	مسحوق	ايثيل الأسيتات Ac
4.8	بني	مسحوق	ن- بوتانول n-bu
22.6	شكلاطي	عجينة	التانيات T



الشكل (4): مردود مستخلصات قشور ثمار الرمان

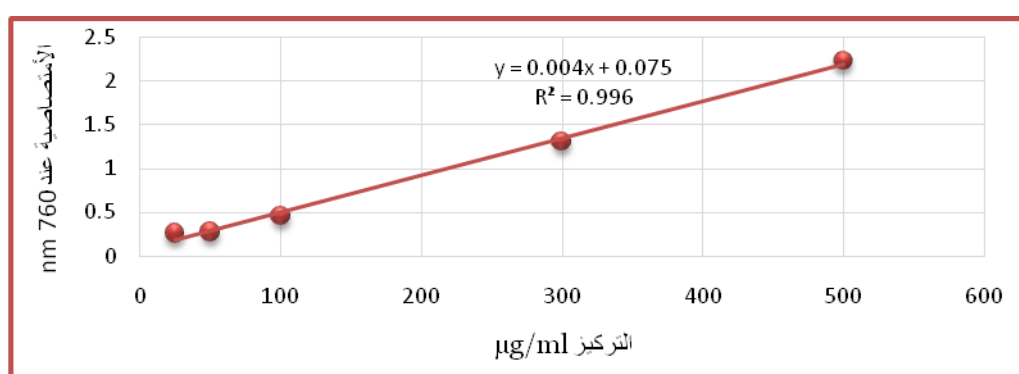
يتبين من خلال الجدول (11) والشكل (4) أن مردود مستخلص التانيات كان معتبر حيث بلغ 22.6% و هذا يبين غنى قشور ثمار الرمان بالتانيات، هذه النتائج تتوافق مع أعمال كل من (وصيفي وآخرون ، 1982; جنيدي، 2001)، ثم يليه المستخلص الميثانولي حيث بلغ 18% في حين أن نسبة مردود مستخلص n- بيتانول كان اقل مقارنة بالمستخلص التانيات والميثانولي إلا أن مردود المستخلص أستيل الأسيتات والكلوروفورمي كانتا جد ضعيفة مقارنة بالمستخلصات السابقة حيث بلغ 0.2% و 0.01% على الترتيب، اختلاف المردود يعود إلى درجة قطبية المركبات و المذيبات المستعملة .

3- تقدير المركبات الفينولية والفلافونويدية و التانينات في مستخلصات قشور ثمار

Punica granatum L. الرمان

1-3- تقدير الكمي لعديدات الفينول

تم التقدير الكمي لعديدات الفينول اعتمادا على طريقة Singleton و آخرون (1999) وذلك باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu، حيث يعبر كميّا عن المحتوى الكلي لعديدات الفينول باستخدام المعادلة الخطية للمنحنى القياسي لحمض الغاليك Acide Gallique كما هو موضح في الشكل (5):



الشكل (5): منحنى المعايرة لحمض الغاليك

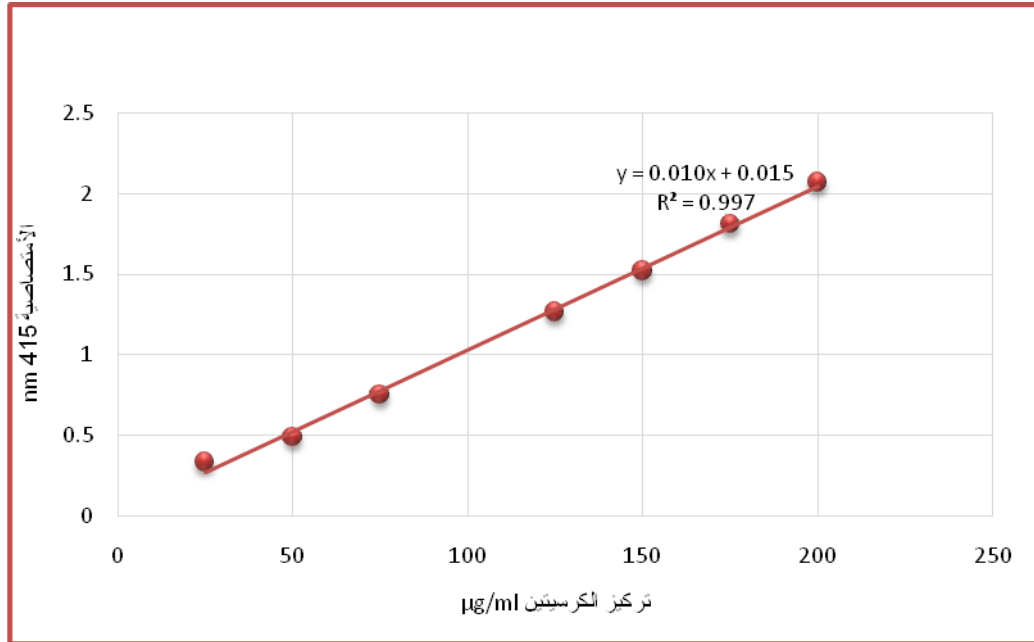
تقدر قيم عديدة الفينول للمستخلص الميثانولي بالميكروغرام المكافئ لحمض الغاليك لكل ملغ من وزن المستخلص (µg EAG/mg Extract).

قدرت عديدة الفينول في المستخلص الميثانولي لقشور ثمار الرمان بـ $(280.380 \pm 8.081 \mu\text{g E AG/ mg Ex})$.

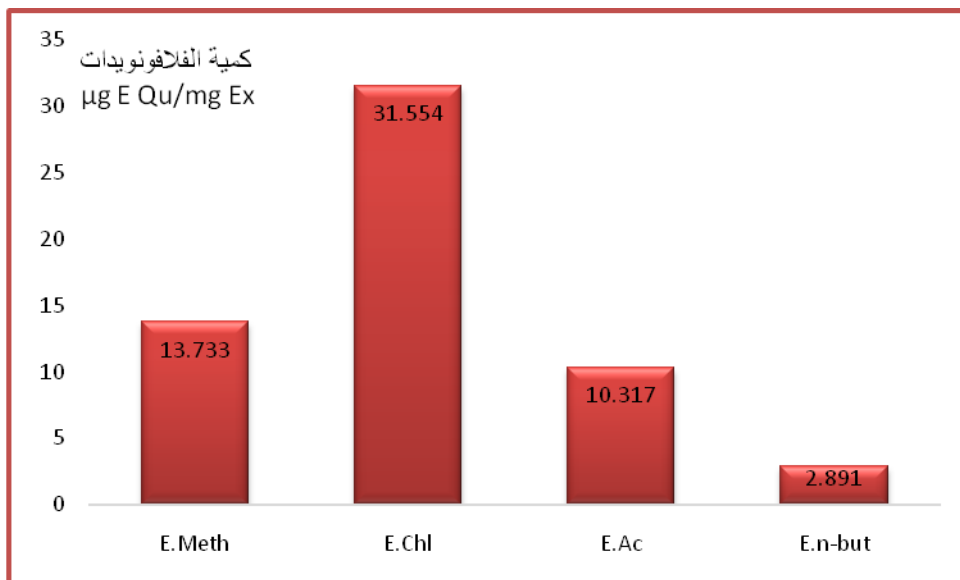
يتبين غنى قشور الرمان بالمركبات الفينولية، مثلما أظهرته نتائج قاسم السابعي وآخرون (2014) من قشور الرمان الطائفي المأخوذ من منطقتين مختلفتين السعوديتين واليميني بحيث قدرت كمية الفينولات في المستخلص الميثانولي لكل من الرمان السعودي واليميني بـ $(23 \text{ g E AG/ Kg Ms})$ و $(19 \text{ g E AG/ Kg Ms})$ على الترتيب. كما أظهرت نتائج الإستخلاص للمركبات الفينولية من قشور الرمان على إحتواءه على 3 أنواع من المركبات وهي gallic acid، ellagic acid و tannic acid وقد بلغ وزن الفينولات في قشور الرمان (12 mg/ g Ms) (عبيد وآخرون، 2011).

2-3- التقدير الكمي للفلافونويدات

تم التقدير الكمي للفلافونويدات اعتماداً على طريقة Türkoğlu و آخرون (2007) حيث يعبر كميًا عن المحتوى الكمي للفلافونويدات باستخدام المعادلة الخطية للمنحنى القياسي للكركوتين كما هو موضح في الشكل (6):



الشكل (6): منحنى المعايرة الكركوتين



الشكل (7): كمية الفلافونويدات في المستخلصات المدروسة

الجدول (12): كمية الفلافونويدات في مستخلصات قشور الرمان

نوع المستخلص	كمية الفلافونويدات
ميثانولي	13.733 ± 0.560^b
كلوروفورمي	31.554 ± 1.541^a
إيثيل الأسيتات	$10.317 \pm 1.190^{b,c}$
n-بيتانول	2.891 ± 3.991^c
$P \leq 0.001$	

من خلال الشكل (7) والجدول (12) اللذان يعبران عن كمية الفلافونويدات يتبين أنه يوجد هناك فرق جد عالي المعنوية في كمية الفلافونويدات للمستخلصات المدروسة، حيث سجلت أعلى كمية لها في المستخلص الكلوروفورمي حيث بلغ ($31.554 \pm 1.541 \mu\text{g E Qu/ mg E}$)، يليها مستخلص الميثانولي ومستخلص خلات الايثيل، حيث ينتميان إلى نفس المجموعة و قدر ب ($13.733 \pm 0.560 \mu\text{g E Qu/ mg}$) (Extrait)؛ ($10.317 \pm 1.190 \mu\text{g E Qu/ mg}$ Extrait) على الترتيب، إلا أن كمية المستخلص n-بيتانول كانت ذات قيمة منخفضة مقارنة بالمستخلصات السابقة، حيث قدرت ب ($2.891 \pm 3.991 \mu\text{g E Qu/ mg E}$).

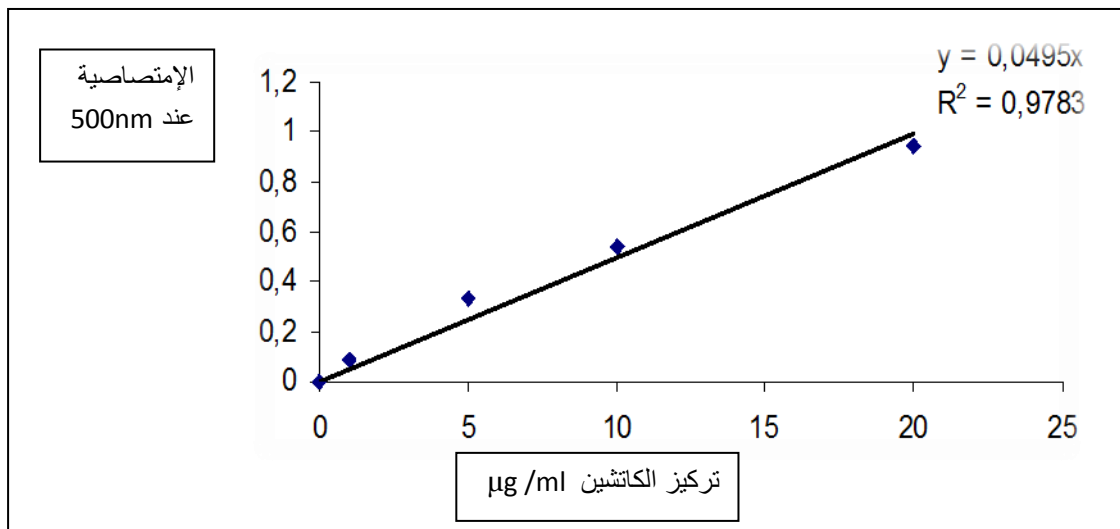
ويعود هذا التباين في النتائج إلى نوع المذيب المستعمل في عملية الإستخلاص ونسبة الماء في المذيب، حيث أشارت الدراسات إلى أن إضافة نسبة من الماء إلى المذيبات الكحولية مثل الميثانول من شأنها زيادة كمية الفلافونويدات في المستخلص (جيدل، 2015) و (Sahreen et al., 2010). في حين أشار Sideney وآخرون (2016)، كما أن الطبيعة الكيميائية للفلافونويدات تلعب دورا في ذوبانيتها، حيث أن الفلافونويدات الأقل قطبية مثل الايزوفلافونات وكذلك الفلافونات التي تحمل عددا من مجموعات الميثوكسيل فإنها تذوب في الكلوروفورم و الإيثر (عاشوري، 2004). كما أن للفلافونويدات خاصية زيادة قطبيتها إذا كانت تحتوي على عدد أكبر من مجموعات الهيدروكسيل الحرة أو الجزيئية للسكر أو أكثر وهذا ما يجعلها ذوابة في المذيبات القطبية (مخلوفي، 2008).

كما لطرق الإستخلاص والمذيبات المستعملة دور مهم في تغير كمية الفلافونويدات المستخلصة حسب Toledo وآخرون (2011) وقت الجمع والتجفيف وطريقة التخزين

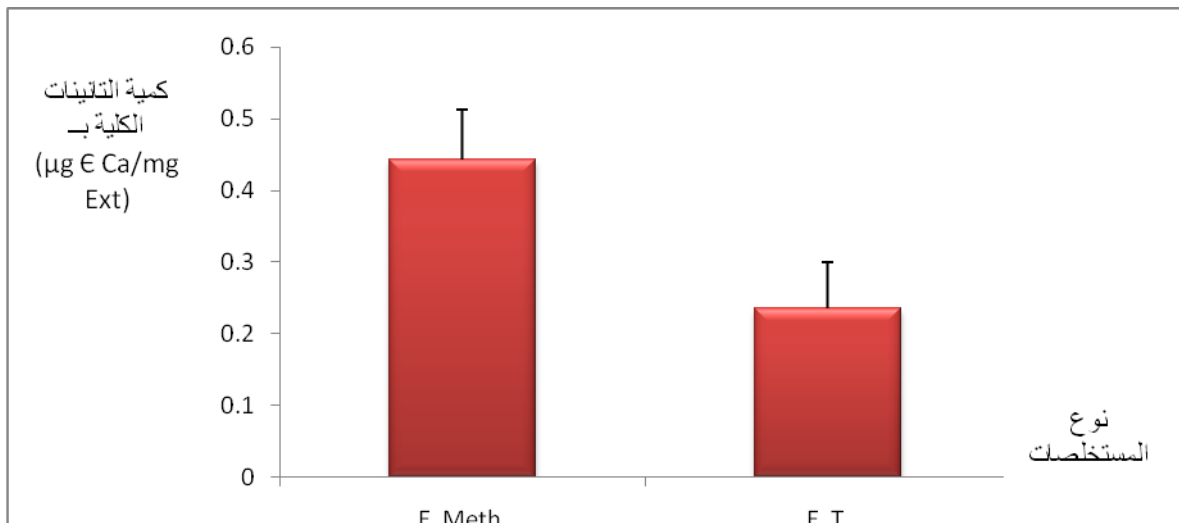
تؤثر على كمية المواد الفعالة في النبات (Rebiai et al., 2013). وأيضاً المكان والمناخ وبيئة النبات تؤثر على تغير كمية الفلافونويدات (Atmani et al., 2009; Ksouri et al., 2008).

3-3-تقدير التانينات

تم التقدير التانينات اعتماداً على طريقة Sun و آخرون (1998) الذي يعتمد على الفانيلين ككاشف، حيث يعبر كمية عن المحتوى الكمي للتانينات الكاتيشيكية باستخدام المعادلة الخطية للمنحنى القياسي لمحلول الكاتشين كما هو موضح في الشكل (8):



الشكل (8): منحنى العيارية للكاتشين



الشكل (9): كمية التانينات (µg E CA / mg Extrait)

الجدول (13): كمية التانينات في المستخلص التانيني و المستخلص الكحولي لقشور ثمار الرمان

كمية التانينات	نوع المستخلص
0.443 ± 0.069^a	ميثانولي
0.235 ± 0.064^b	تانينات
$P \leq 0.01$	

من خلال الشكلين (8، 9) والجدول (13) التي تعبر عن كمية التانينات بالميكروغرام مكافئ للكاتشين/ مغ من وزن المستخلص، أنه يوجد فرق عالي المعنوية، إذ نلاحظ أن كمية التانينات للمستخلصات كانت متفاوتة، حيث سجلت أعلى كمية لها في المستخلص الميثانولي بقيمة $(0.444 \pm 0.057 \mu\text{g E CA/ mg E})$ ، ويليها مستخلص التانينات بقيمة $(0.236 \pm 0.053 \mu\text{g E CA/ mg E})$.

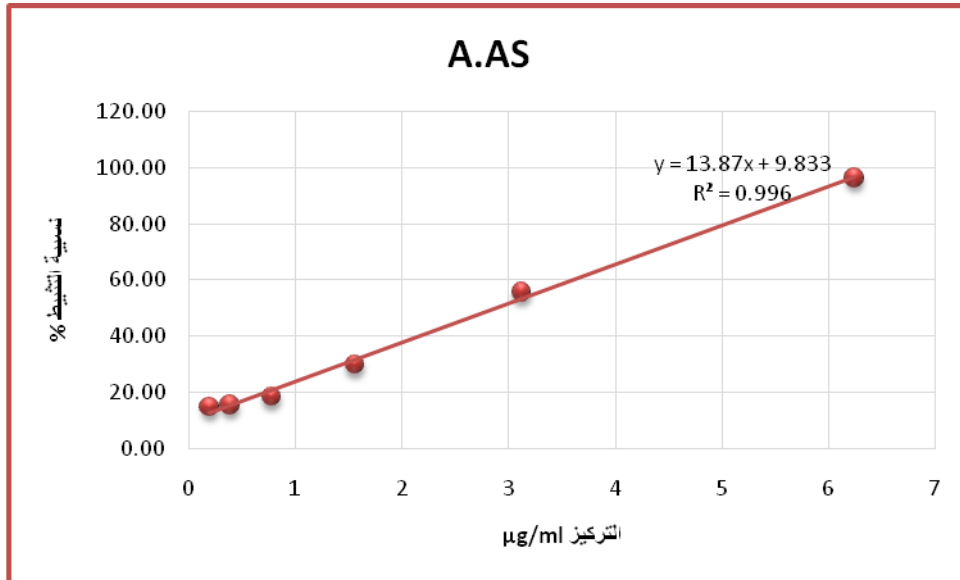
ذكر في دراسة أن مادة الأيض الأساسية الموجودة في ثمار الرمان هي عديدات الفينول و تتضمن الفلافونويدات و التانينات (Gil et al., 2006).

وجد أن قشور الرمان تحتوي على مواد حمضية بنسبة (20-25%) وهو عبارة عن حمض الجاليك عن (Gallique Acid) وحمض الإيلاجيك (Ellagic Acid)، و هي تانينات جاليكية و هي الغالبة في قشور الرمان (Gil et al., 2006). وفي دراسة أشار لها القطب (2001) أن قشور ثمار الرمان تحتوي على نسبة (25-28%) من التانينات و أهم مركب في هذه المجموعة الكيميائية مركب بيونيكالين (Punicalin)، ومركب بيونيكالاجين، كما يحتوي على جراناتين (أ)، جراناتين (ب).

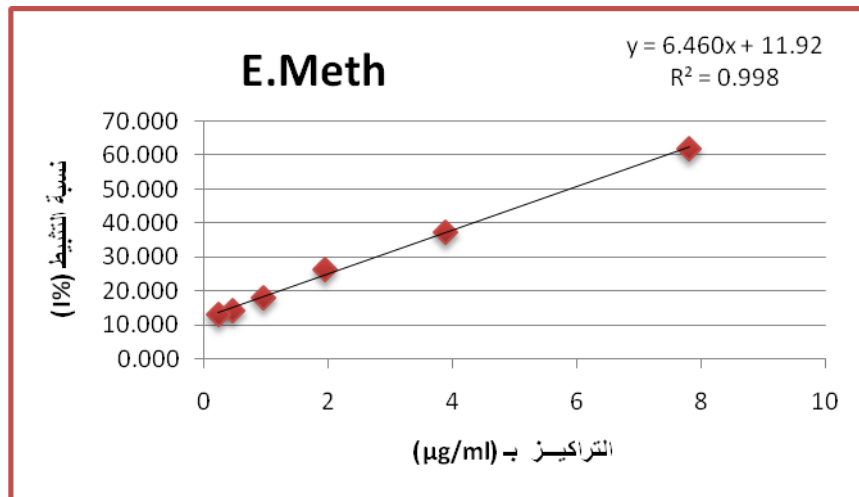
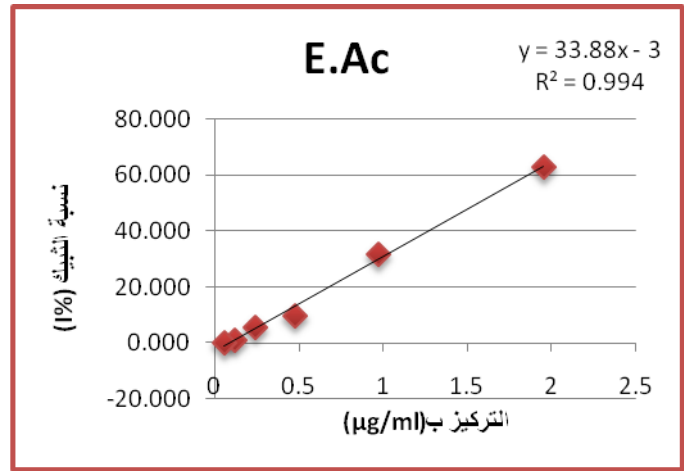
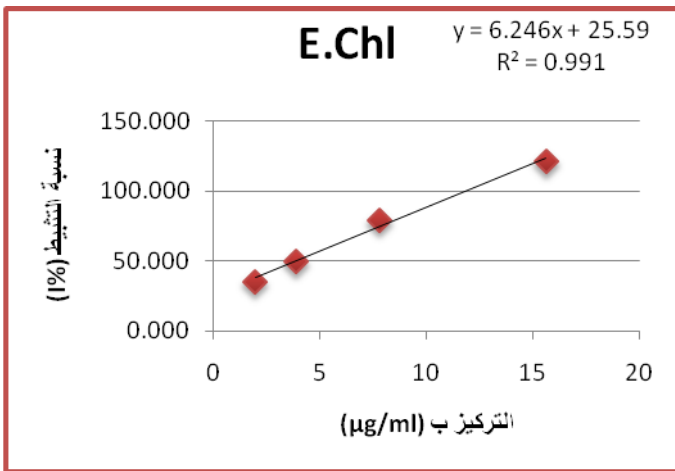
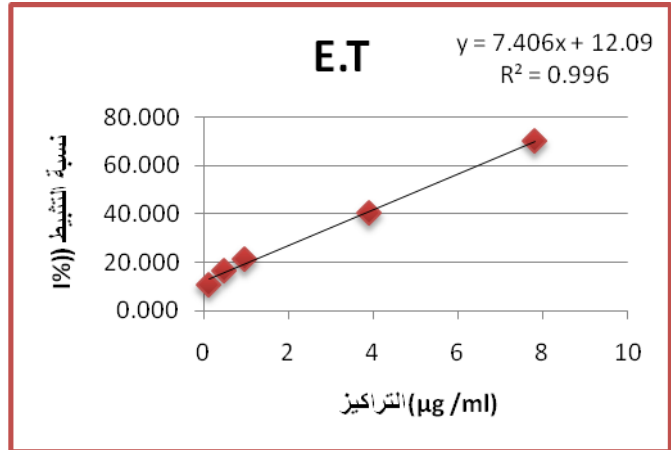
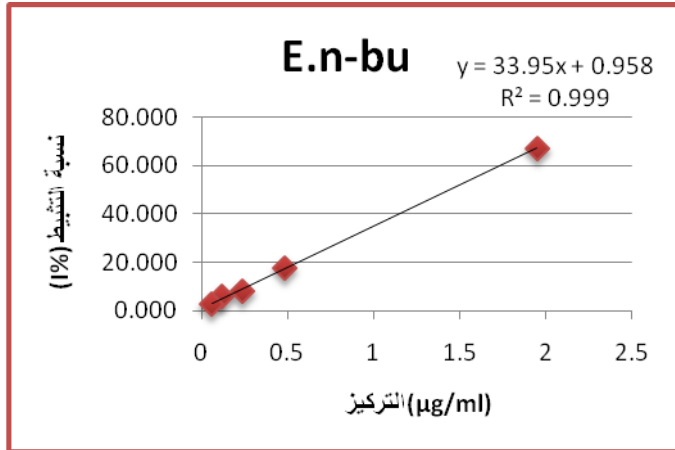
4-تقدير الفعالية المضادة للأكسدة باستعمال اختبار الجذر الحر DPPH[•]

4-1- تمثيل النسبة المئوية للتثبيط

بهدف تقدير النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات النباتية، باستعمال الجذر الحر DPPH[•] وإستعمال حمض الأسكوربيك كمركب مرجعي (الشكل 18)، وقياس الامتصاصية الضوئية للمستخلصات النباتية التالية (الميثانولي، التانينات، الكلوروفورمي، خلات الايثيل، n-بيتانول) بواسطة جهاز Spectrophotomètre حيث تنظم النتائج المتحصل عليها في منحنيات عيارية لتحديد قدرة المستخلصات في تثبيط الجذر الحر DPPH[•] . حيث كانت النتائج المتحصل عليها مبينة في الشكل(10) :



الشكل (10): منحنى العيارية لحمض الأسكوربيك في إختبار تثبيط الجذر الحر DPPH[•]



الشكل (11): النسبة المئوية للتشيط I% بدلالة التركيز لعدة مستخلصات من قشور ثمار الرمان

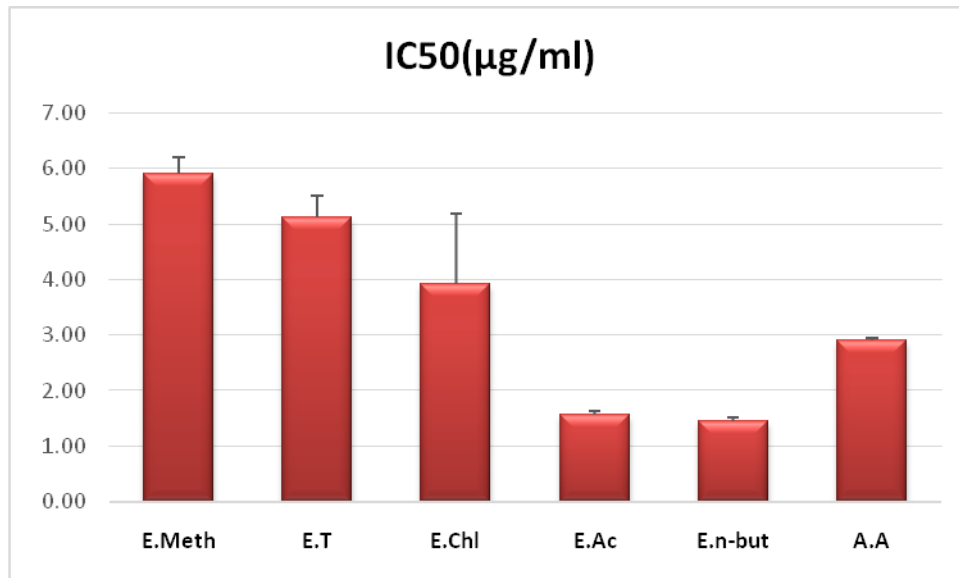
2-4- تحديد مقدار IC_{50} المثبطة للجذر الحر DPPH $^{\cdot}$

نقوم بتحديد قيمة IC_{50} المثبطة للجذر الحر DPPH $^{\cdot}$ من خلال المعادلات الخطية لمنحنيات نسبة التثبيط (I%) للمستخلصات النباتية وحمض الأسكوربيك.

علما أن الفعالية المضادة للأكسدة تتناسب عكسيا مع قيم IC_{50} ، فكلما كانت قيمة IC_{50} ضعيفة كانت النشاطية المضادة للجذر الحر أفضل.

الجدول (14): قيم IC_{50} لمستخلصات قشور الرمان

المستخلصات	IC_{50} ($\mu g/ml$)
E.Meth المستخلص الميثانولي	$5,89^a \pm 0,31$
E.T مستخلص التانينات	$5,12^{ab} \pm 0,38$
E.Chl المستخلص الكلوروفورمي	$3,90^{bc} \pm 1,28$
E.Ac مستخلص خلات الايثيل	$1,56^d \pm 0,07$
E.n-but مستخلص ن-بوتانول	$1,44^d \pm 0,08$
A.A حمض الأسكوربيك	$2,89^{cd} \pm 0,06$
$P \leq 0,0001$ ***	



الشكل (12): قيم IC_{50} للمستخلصات قشور ثمار الرمان

من خلال النتائج المتحصل عليها والموضحة في الشكل (12) نلاحظ أنه يوجد هناك فرق جد عالي المعنوية للمستخلصات المدروسة، حيث نجد أن قشور ثمار نبات الرمان لها فاعلية مضادة للأكسدة عالية، إذ نجد أن المستخلص خلات الايثيل و n - بيتانول يمتلكان قدرة كاسحة للجذر الحر أعلى من باقي المستخلصات حيث قدرت بـ $(1.444\mu\text{g/ml} - 1.563\mu\text{g/ml})$ على الترتيب، مشابهين في ذلك، حمض الأسكوربيك حيث قدر بـ $(2.913\mu\text{g/ml})$. أما المستخلص الميثانولي والتانينات والكلوروفورمي تقريبا نفس القدرة الكاسحة للجذر الحر $\text{DPPH}^\bullet$ إذ بلغت قيمة IC_{50} $(5.753\mu\text{g/ml}, 5.25\mu\text{g/ml}, 3.923\mu\text{g/ml})$ على الترتيب.

وتفسر القدرة التثبيطية للمستخلصات إلى كونها تحتوي على مواد فعالة قادرة على إرجاع الجذر أو إقتناصه، و منه تعود هذه الفعالية إلى غنى قشور ثمار الرمان من المواد الفينولية المختلفة أي غناه بالفلافونويدات و التانينات كما لاحظناه سابقا.

بالنسبة لمستخلص خلات الايثيل نجد أن احتواءه على كمية لابأس بها من الفلافونويدات هو ما منحه هذه القدرة التثبيطية للجذور الحرة مثل ما توصل إليه Wu وآخرون (2010) في دراسة لتأثير مضاد للأكسدة لمختلف المستخلصات *Gernium sibiricum* حيث وجد أن المستخلص الأغنى بالفلافونويدات يمتلك أكبر تأثير إزاحي للجذر الحر $\text{DPPH}^\bullet$.

لكن ماذا عن المستخلص الكلوروفورمي فبرغم أنه يحتوي على كمية معتبرة من الفلافونويدات إلى أن الفعالية كانت أقل من المستخلصات الأخرى، و كذا مستخلص ن-بوتانول فهو المستخلص الأقل كمية و الأكثر فعالية مضادة للأكسدة.

فسر Miliauskas وآخرون (2004) هذا التفاوت بين المستخلصات في النشاطية المضادة للأكسدة في إختلاف سلوك إعطاء بروتون وإلكترون. وهذا يؤكد أن النشاط المضاد للأكسدة له علاقة ببنية ونوعية المركبات التي يحويها المستخلص (Baghianiet al., 2010). العديد من الباحثين أكدوا أن القدرة الإزاحية للمركبات الفينولية والفلافونويدية على جذر $\text{DPPH}^\bullet$ لها علاقة وطيدة بالبنية الكيميائية حيث أظهر Zhang وآخرون (2009) في دراسة التأثير الإزاحي ل 31 فلافونويد على جذر $\text{DPPH}^\bullet$ أن عدد مجموعات الهيدروكسيل وتموضعها لها دور كبير في التأثير الإزاحي وذلك من خلال قدرتها على منح

الهيدروجين. أما بالنسبة للفلافونويدات فإن وجود السكر أو الميثيل وإحتواءها على الرابطة المزدوجة بين ذرتي الكربون في الموضع C2-C3 يرفع من الفعل الإزاحي (Cai *et al.*, 2004).

ذكر Ismail (2009) أن ثمار الرمان يكتسب أهمية بسبب فاعليته المضادات للأكسدة، حيث أن بعضها يمكن أن يتم عزلها أو فصلها من عصير الفاكهة، وهي ذات تأثير بيولوجي. وأيضاً فقد تبين أن كلا من ثمار فاكهة الرمان، والعصير، ومستخلصات الأوراق والقشرة، زيوت البذور ومستخلصات للرمان، تمتلك نشاطاً مؤثراً وقوياً لمضادات الأكسدة.

وفي دراسة أجراها Silivia وآخرون (2005) للنشاط المضاد للأكسدة في مستخلص قشور وبذور الرمان، و إتضح أنها تتميز بغناها بالمركبات المضادة للأكسدة.

حيث تمتلك ثمار الرمان نشاطاً مضاداً للأكسدة عالياً أعلى مما هو عليه في ثمار السفرجل، والتفاح، والإجاص، والعنب Karadenize وآخرون (2005) وهذا بالطبع عائد لغناه بالفينولات الكلية التي قدرت نسبتها في عصير الرمان ما بين 100-200mg/100g (Gil *et al.*, 2000).

كما ذكر Tanaka وآخرون (1993) أن قشرة الرمان تحتوي على كثير من الفينولات العديد مثل (Gallic tannins, Ellagic acid, Chlorogenic) وكلها تثبت بالأبحاث العديدة أن لها تأثير مضادة للأكسدة .

5-تقدير الفعالة المضادة للبكتيريا

تم تقدير الفعالية ضد بكتيرية باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص في وسط صلب، حيث طبقنا 5 مستخلصات من قشور ثمار نبات الرمان (المستخلص الميثانولي، مستخلص التانيات، مستخلص الكلوروفورمي، مستخلص خلاص الايثيل، مستخلص n- بيتانول) على 6 سلالات بكتيرية (*Proteus mirabilis* ATCC 35659, *Staphylocoque aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Listeria innocua* Cip 74915, *Salmenella enterica* arizonae CIP81-3, *Klebsiella pneumonia* ATCC 7000603) و النتائج مبينة في الجداول (15-16-17-18-19-20-21).

1-5- تأثير المضادات الحيوية على السلالات البكتيرية المختبرة

استعملنا في هذه الدراسة المضادات الحيوية التالية (chloramphenicol(C30), Céfixime(CFM), Gentamycine(GEN) النتائج موضحة في الجدول (15).
الجدول(15): مختلف الأقطار التثبيطية للمضادات الحيوية المختلفة بmm

GEN	CFM	C30	المضاد الحيوي البكتيريا
25.830±1.174 ^{ab}	15.665±0.940 ^b	23.165±0.233 ^d	<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 700603
18.500±0.707 ^c	22.665±3.769 ^a	24.330±0.467 ^d	<i>Salmenella enterica</i> Arizonae CIP 81-3
32.330±3.295 ^a	28±0 ^a	31.660±0 ^a	<i>Listeria innocua</i> clip74915
28.165±1.648 ^a	23.330±0.467 ^a	27.5±0.707 ^{bc}	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
20±0 ^{bc}	26±0 ^a	25±0 ^{cd}	<i>Staphylocoque aureus</i> ATCC 25923
31.500±2.121 ^a	0±0 ^c	29±1.414 ^{ab}	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC35659
P≤0.001	P≤0.0001	P≤0.0001	تحليل التباين

من خلال الجدول (15) نلاحظ أن هناك فروقات جد عالية المعنوية بين تأثير المضادات الحيوية على السلالات البكتيرية المختبرة و هذا يعود إلى خصائص كل مضاد حيوي و طريقة تأثيره على السلالة البكتيرية .

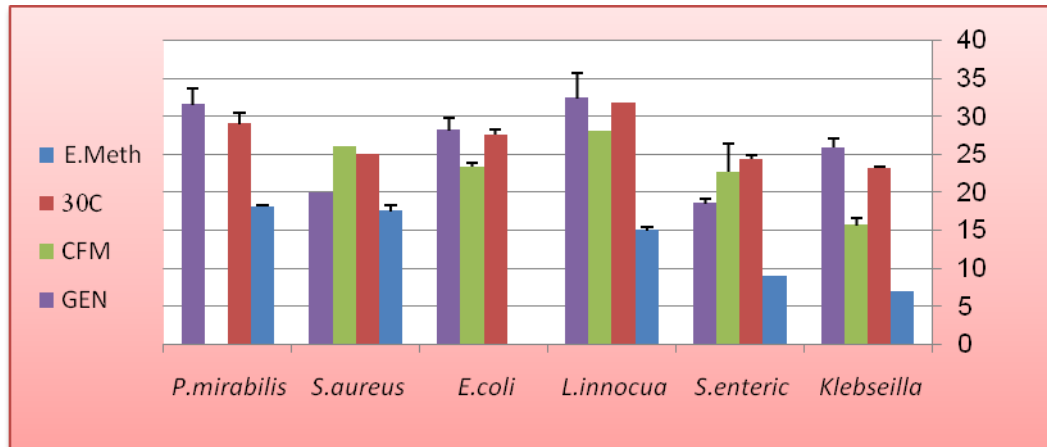
2-5- تأثير المستخلص الميثانولي على السلالات البكتيرية المختبرة

أظهرت معاملة السلالات البكتيرية المختبرة بالمستخلص الميثانولي وبتراكيز مختلفة إلى ظهور أقطار تثبيطية موضح في الجدول (16) والشكل (13)

الجدول (16): مختلف الأقطار التثبيطية ب (mm) للمستخلص الميثانولي لقشور ثمار

الرمان

قطر التثبيط ب (mm)				التراكيز البكتيريا
C4 (1,25mg/ml)	C3 (2,5 mg/ml)	C2 (5mg/ml)	C1 10mg/ml	
0 ^b	0 ^c	0 ^c	7±0 ^d	<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 700603
0 ^b	7±0 ^b	8 ^b	9±0 ^c	<i>Salmenella enterica</i> Arizonae CIP 81-3
11.75±0.35 ^a	11.62±0.88 ^a	12.97± 0.31 ^a	14.985±0.375 ^b	<i>Listeria innocua</i> clip74915
0 ^b	0 ^c	0 ^c	0 ^e	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
11.5±0.7 ^a	13±0.7 ^a	14±1.41 ^a	17.5±0.707 ^a	<i>Staphylocoque aureus</i> ATCC 25923
10.5±0.7 ^a	13.12±1.23 ^a	16±1.41 ^a	18.125±0.177 ^a	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC35659
P≤0.0001				



الشكل (13): أعمدة بيانية تمثل أقطار التثبيط (mm) للمستخلص الميثانولي و المضادات الحيوية

عند المستخلص الميثانولي (E.Meth): نلاحظ أن هناك فروقات جد عالية المعنوية بين السلالات البكتيرية المختبرة . حيث كانت السلالات البكتيرية حساسة له، حيث سجلنا أعلى الأقطار التثبيطية عند *S.aureus* و *P.mirabilis* تليها *L.innocua* بقيم (17.5 ± 0.707 mm و 18.125 ± 0.177 mm و 14.985 ± 0.375 mm) على

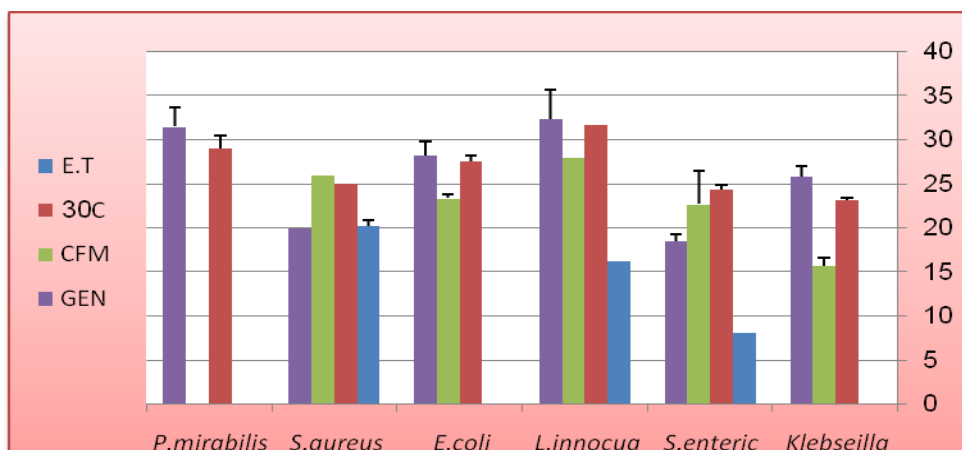
الترتيب، حيث سجل أقل قطر تثبيطي عند كل من *S.enteric* و *Klebseilla* ب: (7 mm و 9 mm) على الترتيب، أما *E.coli* فحساسيتها كانت منعدمة . في حين أظهرت جميع السلالات البكتيرية حساسية معتبرة اتجاه المضادات الحيوية سواء C30, CFM, GEN وبأقطار تثبيطية عالية مقارنة بالمستخلص الميثانولي . حيث نلاحظ أن المستخلص الميثانولي أثر على السلالات البكتيرية موجبة الغرام أكثر من سالبة الغرام، يعود الاختلاف في تركيبة الجدار الخلوي وبنيته وطبيعته وتأثير المادة الفعالة على جدار الخلية البكتيرية (الهالي وآخرون، 2002; 2016; Lambert).

5-3- تأثير مستخلص التانينات على السلالات البكتيرية المختبرة

أظهرت معاملة السلالات البكتيرية المختبرة بمستخلص التانينات وبتراكيز مختلفة حساسية بعض السلالات كما هو موضح في الجدول (17) والشكل (14)

الجدول (17): مختلف الأقطار التثبيطية ب (mm) للمستخلص التائينات لقشور ثمار الرمان

قطر التثبيط ب (mm)				التركيز البكتيريا
C4 (1,25mg/ml)	C3 (2,5mg/ml)	C2 (5mg/ml)	C1 (10mg/ml)	
0 ^b	0 ^b	0 ^c	0 ^d	<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 700603
0 ^b	0 ^b	0 ^c	8±0 ^c	<i>Salmenella enterica</i> Arizonae CIP 81-3
8.37±1.23 ^a	12.25±0 ^a	13.6 ±0.14 ^b	16.20±0 ^b	<i>Listeria innocua</i> clip74915
0 ^b	0 ^b	0 ^c	0 ^d	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
10.5±0.7 ^a	12.6±0.56 ^a	18.5±0.70 ^a	20.20±0.707 ^a	<i>Staphylocoque aureus</i> ATCC 25923
0 ^b	0 ^b	0 ^c	0 ^d	<i>Protus mirabilis</i> ATCC35659
P≤0.0001				



الشكل (14): أعمدة بيانية تمثل أقطار التثبيط لمستخلص التائينات و المضادات الحيوية

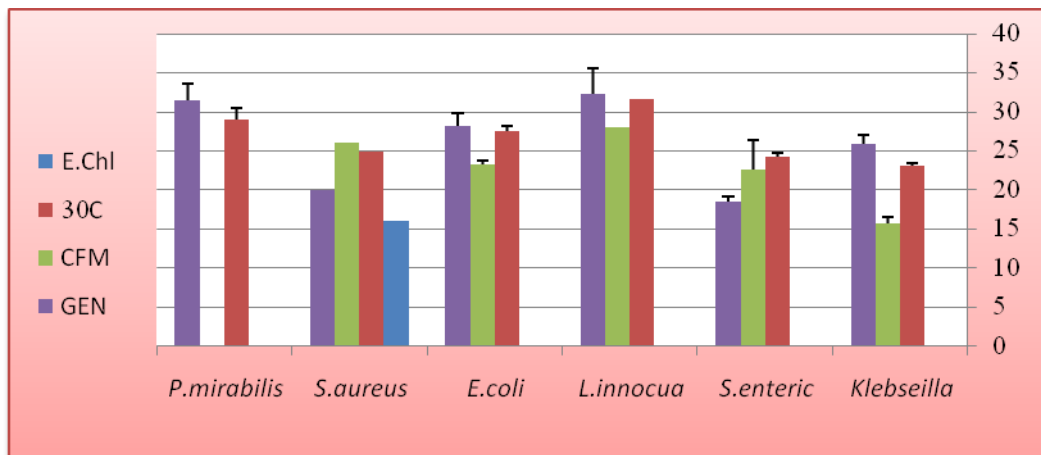
من خلال الشكل (14) والجدول (17) الذي يمثل مختلف الأقطار التثبيطية لمستخلص التانيات والمضادات الحيوية على بعض السلالات البكتيرية، نلاحظ أن هناك فروقات جد عالية المعنوية حول تأثير التانيات على السلالات البكتيرية المختبرة. حيث كانت السلالة *S.aureus* أكثر حساسية تليها *L.innocua* ثم *S.enterica* حيث تم تسجيل الأقطار التثبيطية على الترتيب ($20.2 \pm 0.707\text{mm}$ و 16.2mm و 8mm)، حيث كل ما نقص التركيز قل الأثر التثبيطي. أما السلالات *E.coli* و *K.pneumonia* و *P.mirabilis* أبدو مقاومة شديدة لهذا المستخلص حيث لم يتم تسجيل أي أقطار تثبيطية. أما بالنسبة للمضادات الحيوية كانت لديها أقطار تثبيطية عالية مقارنة بالمستخلص.

4-5- تأثير المستخلص الكلوروفورمي على السلالات البكتيرية المختبرة

نتائج معاملة السلالات البكتيرية المختبرة بمستخلص التانيات وبتراكيز مختلفة موضحة في الجدول (18) والشكل (15)

الجدول (18): مختلف الأقطار التثبيطية ب (mm) للمستخلص الكلوروفورمي لقشور ثمار الرمان

قطر التثبيط ب (mm)				التركيز البكتيريا
C4 (1,25mg/ml)	C3 (2,5mg/ml)	C2(5mg/ml)	C1(10mg/ml)	
0^b	0^b	0^b	0^b	<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 700603
0^b	0^b	0^b	0^b	<i>Salmenella enterica</i> Arizonae CIP 81-3
0^b	0^b	0^b	0^b	<i>Listeria innocua</i> clip74915
0^b	0^b	0^b	0^b	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
9.5 ± 0.7^a	10.875 ± 0.175^a	12.75 ± 1.061^a	16 ± 0^a	<i>Staphylocoque aureus</i> ATCC 25923
0^b	0^b	0^b	0^b	<i>Protus mirabilis</i> ATCC35659
$P \leq 0,0001$				



الشكل (15): أعمدة بيانية تمثل أقطار التثبيط لمستخلص الكلوروفورمي و المضادات الحيوية

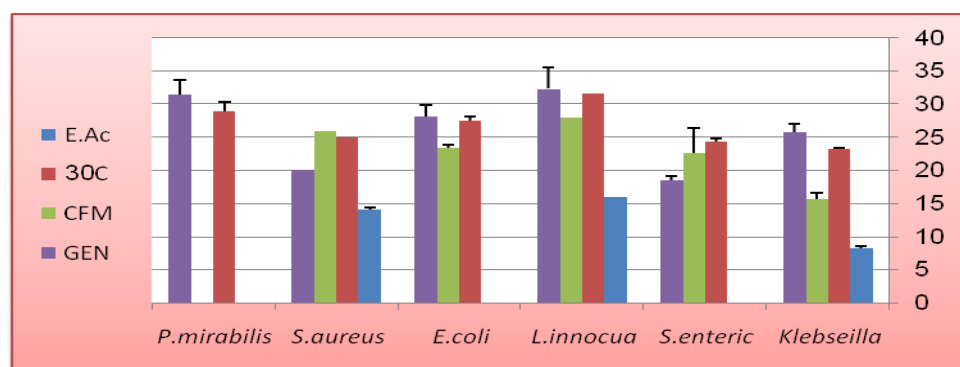
من خلال الشكل (15) والجدول (18) الذي يمثل مختلف الأقطار التثبيطية لمستخلص الكلوروفورمي و المضادات الحيوية على بعض السلالات البكتيرية، نلاحظ فروقات جد عالية المعنوية بين تأثير المستخلص الكلوروفورمي على السلالات البكتيرية المختبرة، فجل السلالات كانت مقاومة لمستخلص الكلوروفورم ماعدا السلالة البكتيرية *S.aureus* التي أظهرت حساسية متوسطة، حيث سجلت قطر تثبيطي قدر ب(16mm) عند تركيز 10mg/ml.

5-5- تأثير المستخلص خلاات الايثيل على السلالات البكتيرية المختبرة

معاملة السلالات البكتيرية المختبرة بمستخلص خلاات الايثيل كانت متباينة الجدول (19) والشكل (16)

الجدول (19): مختلف الأقطار التثبيطية ب (mm) لمستخلص خلاص الايثيل لقشور ثمار الرمان

قطر التثبيط ب (mm)				التراكيز البكتيريا
C4 (1,25mg/ml)	C3 (2,5mg/ml)	C2 (5mg/ml)	C1 (10mg/ml)	
0 ^b	0 ^c	7 ^c	8.25±0.354 ^c	<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 700603
0 ^b	0 ^c	0 ^d	0 ^d	<i>Salmenella enterica</i> Arizonae CIP 81-3
11.5±0.7 ^a	13.75±0.354 ^a	14.85±0.212 ^a	16±0 ^a	<i>Listeria innocua</i> clip74915
0 ^b	0 ^c	0 ^d	0 ^d	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
11 ^a	12± 0 ^b	12.75± 0.35 ^b	14±0.354 ^b	<i>Staphylocoque aureus</i> ATCC 25923
0 ^b	0 ^c	0 ^d	0 ^d	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC35659
P≤0.0001				



الشكل (16): أعمدة بيانية تمثل أقطار التثبيط لمستخلص خلاص الايثيل و المضادات الحيوية

من خلال الشكل (16) والجدول (19) الذي يمثل مختلف الأقطار التثبيطية لمستخلص إيثيل أسيتات و المضادات الحيوية على بعض السلالات البكتيرية، نلاحظ أن هناك فروقات جد عالية المعنوية بين السلالات البكتيرية المختبرة، حيث نلاحظ أن هناك

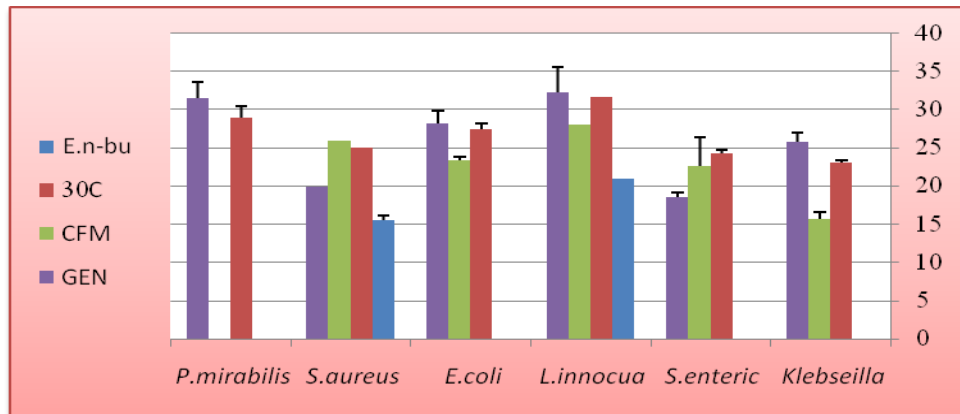
تأثير على السلالات البكتيرية *S.aureus* و *L.innocua* و *K.pneumonia* حيث سجلنا أعلى قطر تثبيطي عند *L.innocua* ب (16mm) ثم *S.aureus* (0.354 mm) وتليها *K.pneumonia* (8.25 ± 0.354 mm)، كما لاحظنا أنه كلما نقص التركيز قل الأثر التثبيطي، أما *S.enteric* و *E.coli* و *P.mirabilis* اظهروا مقاومة شديدة للمستخلص حيث لم يتم تسجيل أي قطر تثبيطي . في حين كانت للمضادات الحيوية C30 و CFM و GEN أثر واضح .

6-5- تأثير المستخلص n- بيتانول على السلالات البكتيرية المختبرة

أظهرت معاملة السلالات البكتيرية المختبرة بمستخلص n- بيتانول بتركيز مختلفة موضح في الجدول (20) والشكل (17)

الجدول (20): مختلف الأقطار التثبيطية ب (mm) للمستخلص n- بيتانول لقشور ثمار الرمان

قطر التثبيط ب (mm)				التركيز البكتيريا
C4 (1,25mg/ml)	C3 (2,5mg/ml)	C2 (5mg/ml)	C1 (10mg/ml)	
0 ^c	0 ^c	0 ^c	0 ^c	<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 700603
0 ^c	0 ^c	0 ^c	0 ^c	<i>Salmenella enterica</i> Arizonae CIP 81-3
13.5±0 ^a	15.125± 0.88 ^a	19.85± 0.212 ^a	21±0 ^a	<i>Listeria innocua</i> clip74915
0 ^c	0 ^c	0 ^c	0 ^c	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
11.25±0.7 ^b	12.625± 0.53 ^b	13.625± 0.53 ^b	15.625±0.530 ^b	<i>Staphylocoque aureus</i> ATCC 25923
0 ^c	0 ^c	0 ^c	0 ^c	<i>Protus mirabilis</i> ATCC35659
P≤0.0001				



الشكل (17): أعمدة بيانية تمثل أقطار التثبيط لمستخلص n-بيتانول و المضادات الحيوية

من خلال الشكل (17) والجدول (20) الذي يمثل مختلف الأقطار التثبيطية لمستخلص n-بيتانول و المضادات الحيوية على بعض السلالات البكتيرية، نلاحظ أن هناك فروقات جد عالية المعنوية بين السلالات البكتيرية المختبرة، حيث أبدت كل من السلالة البكتيرية *K. pneumonia* و *S. enteric* و *E. coli* و *P. mirabilis* مقاومة شديدة للمستخلص، حيث لم يتم تسجيل أي أقطار تثبيطية، أما السلالتين *L. innocua* و *S. aureus* أظهرتا حساسية معتبرة بقطر 21mm و 15.625 ± 0.530 mm على الترتيب، وكلما نقص التركيز تنقص الفعالية. في حين كانت للمضادات الحيوية تأثير كبير على جميع السلالات البكتيرية المختبرة.

7-5-المقارنة بين تأثير المستخلصات على السلالات البكتيرية المدروسة

جدول(21): مختلف الأقطار التثبيطية ب(mm) مستخلصات قشور ثمار الرمان على السلالات البكتيرية المدروسة

البكتيريا المستخلص	<i>Klebseilla</i>	<i>S.enterica</i>	<i>L.innocua</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.mirabilis</i>
E.Meth	7 ^c	9 ^d	14.98± 0.37 ^c	0 ^c	17.5± 0.7 ^c	18.12± 0.17 ^b
E.T	0 ^d	8 ^d	16.2 ^c	0 ^c	20.2± 0.7 ^b	0 ^c
E.Chl	0 ^d	0 ^e	0 ^d	0 ^c	16 ^{cd}	0 ^c
E.Ac	8.25± 0.354 ^c	0 ^e	16 ^c	0 ^c	14± 0.35 ^e	0 ^c
E.n-bu	0 ^d	0 ^e	21 ^b	0 ^c	15.62± 0.53 ^{de}	0 ^c
C30	23.99± 0.94 ^a	24.33± 0.46 ^a	31.66 ^a	27.5± 0.70 ^a	25 ^a	29± 1.41 ^a
CFM	15.66± 0.94 ^b	15.66± 0.94 ^c	28 ^a	23.33± 0.46 ^b	26 ^a	0 ^c
GEN	25.83± 1.17 ^a	18.5± 0.7 ^b	32.33± 3.29 ^a	28.16± 1.64 ^a	20 ^b	31.5± 2.12 ^a
P≤0.0001						

من خلال الجدول (21) نلاحظ أن هناك فروقات جد عالية المعنوية بين المستخلصات النباتية المدروسة لتأثيرها على السلالات البكتيرية المختبرة حيث نلاحظ أن لمستخلص التانينات و المستخلص الميثانولي الفعالية العظمى مقارنة بباقي المستخلصات على السلالات البكتيرية التالية إذ أثر على أغلب السلالات و بأقطار تثبيطية عالية قدرت ب 20.2±0.7 mm و 18.12±0.17 mm.

اظهرت العديد من الدراسات التأثير المضاد للبكتيريا من التانينات على مختلف أنواع البكتيريا. (Backous et al., 1997).

يرجع النشاط المضاد للبكتيريا في المستخلص الميثانولي إلى عدة مواد موجودة فيه مثل الفينولات والتانينات و القلويدات والفلافونويدات. وقد أظهرت دراسات أخرى أن

مركبات الفينولية تعمل على تعطيل الآليات الإنزيمية المشاركة في إنتاج الطاقة للبكتيريا (Egwaikhide et al., 2010; Sikkema et al., 1995).

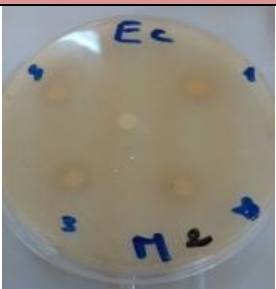
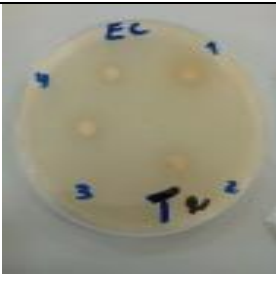
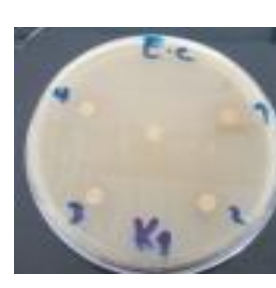
وأكثر السلالات مقاومة هي السلالة *E.coli* حيث لم تتأثر بأي مستخلص. رغم أن دراسات سابقة أظهرت تأثير لمستخلصات قشور ثمار الرمان على السلالة البكتيرية *E.coli* حيث عند طالب حميد وآخرون (2009) كان قد بلغ القطر التثبيطي للمستخلص الكحولي والكلورفورمي 22 mm و 16 mm على الترتيب. كما أشارت دراسة الهمالى وآخرون (2016) إلى تأثير مستخلصات قشور الرمان على نمو السلالة البكتيرية *E.coli*. ويرجع هذا الاختلاف إلى نوع ثمار ومكان تواجده وفترة نموه (نضجه) (طالب حميد وآخرون، 2009).

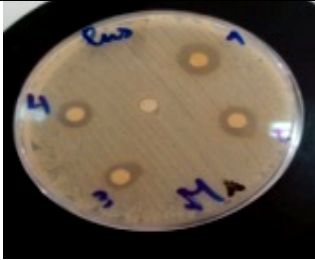
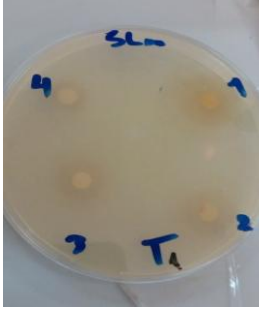
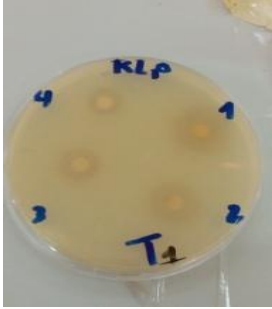
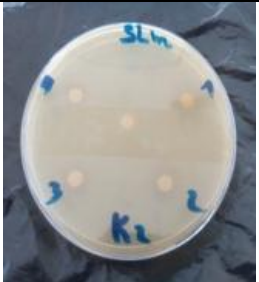
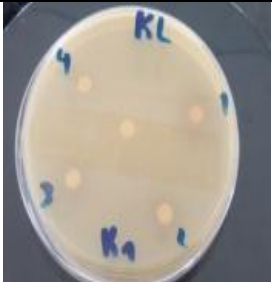
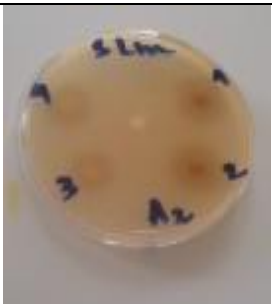
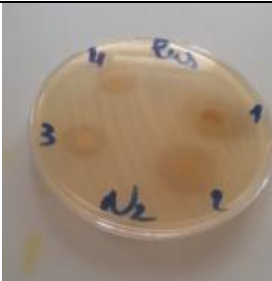
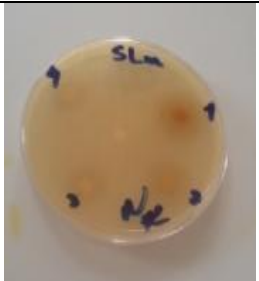
من خلال تحليل نتائج الأثر التثبيطي لمستخلصات قشور ثمار الرمان و المضادات الحيوية على السلالات البكتيرية المدروسة نلاحظ أن هناك تأثير متباين من حيث فعل المستخلص وقدرة السلالة البكتيرية على المقاومة.

حيث نلاحظ أن المستخلص الميثانولي له تأثير أكبر على السلالات البكتيرية حيث أثار على *S.aureus* و *P.mirabilis* و *L.innocua* و *S.enteric* و *Klebseilla* مقارنة بالمستخلصات الأخرى، التانيينات (*S.aureus* و *L.innocua* و *S.enterica*) والكلوروفورمي (*S.aureus*) و إيثيل اسيتات (*S.aureus* و *L.innocua* و *Klebseilla*) (n- بيتانول (*S.aureus* و *L.innocua*). إذن يمكننا القول أن المستخلص الميثانولي له فعالية ضد نمو البكتيريا الممرضة، وذلك يعود إلى كمية ونوعية المواد الفعالة المتحررة والمذابة في الميثانول حيث قدرت كمية الفينولات الموجودة فيه ($280.380 \pm 8.081 \mu\text{g E AG/mg Ex}$) والفلافونويدات ($13.733 \pm 0.560 \mu\text{g E Qu/ mg Extrai}$) والتانيينات ($0.444 \pm 0.057 \mu\text{g E Qu/ mg E}$)، حيث يعد الميثانول مذيب ممتاز للمواد الفعالة، فقد تفوق المستخلص الميثانولي عند أغلب الباحثين في مجال الفعالية الحيوية على باقي المستخلصات لكون المادة الفعالة التي تؤثر على البكتيريا تذوب في المذيبات العضوية (العاني وآخرون، 2003؛ زنكنة وآخرون، 2004؛ Buwa, 2006)، وهذا ما أكدته طالب حميد وآخرون (2009) بأن المستخلص الكحولي عند تركيز 15% أعطى أعلى معدل لقطر التثبيط مقارنة بباقي المستخلصات بمعدل 21 mm.

يمكن أن نفسر تأثير الفعالية المضادة للبكتيريا إلى إمتصاص الأغشية الخلوية للبكتيريا للمركبات الفعالة (منها الأحماض الفينولية والفلافونويدات والتانينات وغيرها) ويؤدي إلى تفاعلها مع الأنزيمات الفعالة والعناصر المعدنية في الجدران الخلوية و تعطيل الغشاء السيتوبلازمي (الذي يسبب تسرب المكونات الخلوية)، وتأثير على تخليق الحمض النووي ADN و الحمض النووي الريبي ARN، كذا تخليق البروتينات والدهون ووظيفة الميتوكوندريا (Dhaouadi *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2009).

جدول (22): بعض صور نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا

<i>P.mirabilis</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	
			E.Meth
			E.T
			E.Chl
			E.Ac
			E.n-bu

<i>L.innocua</i>	<i>S.enterica</i>	<i>K.pneumonia</i>	
			E.Meth
			E.T
			E.Chl
			E.Ac
			E.n-bu

الخلاصة

الخلاصة

استخدم الرمان *Punica granatum L* التابع للعائلة الرمانية Punicaceae لعدة قرون في الطب القديم إذ يعتبر نبات الرمان صيدلة في حد ذاتها. وقد استخدم الرمان ومنتجاته في تحضير الكثير من العلاجات الطبية لأمراض العين والحساسية وتنظيف الفم وعلاج أمراض القلب وتصلب الشرايين، و مقاومة أنواع من السرطانات ومنع الالتهابات والتقليل من حدة بعض الأمراض المزمنة كالسكري.

لعل أبرز ما يميز الرمان، والعامل الذي استدعى انتباه العلماء والباحثين، احتواءه على العديد من المركبات النباتية الطبيعية ذات التأثيرات الصحية النافعة، والتي تم تحديد وتقدير العشرات منها في مختلف مكونات الرمان كالعصير والورق والقشور.

سعيًا منا للتعرف على هذه المكونات و تقدير كميتها و فعاليتها، قمنا باستخلاص بعض مواد الأيض الثانوي و دراسة فعاليتها .

من خلال النتائج المتحصل من الحصر الكيميائي الأولي لقشور ثمار نبات الرمان وجد أنه يحتوي على العديد من المواد الفعالة والمتمثلة في الفلافونويدات، التانينات القلويدات الجليكوسيدات، التربينات الثلاثية لكن لاحظنا غياب الصابونيات.

كخطوة ثانية قمنا باستخلاص التانينات و الفلافونويدات (مستخلص كلوروفورمي خلات الايثيل و n-بيتانول) و مقارنتها بالمستخلص الميثانولي.

قد أظهرت الدراسة غنى قشور ثمار الرمان بالتانينات حيث أعطى أعلى مردود قدر بـ 22.6% يليه المستخلص الميثانولي بـ 18% ثم مستخلص n-بيتانول 4.8% أما المستخلصين إيثيل الأسيتات والكلوروفورمي كان ذات مردود ضعيف قدر بـ 0.2% و 0.01% على الترتيب.

إنطلاقًا من هذه المستخلصات قدرنا كمية عديدات الفينول والفلافونويدات والتانينات وذلك باستخدام طريقة كاشف Folin-Ciocalteu وطريقة كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ و كاشف الفانيلين على الترتيب. قدرت عديدات الفينول في المستخلص الميثانولي بـ $280.380 \pm 8.08 \mu g \text{ E AG/mg Ext}$ ، أما عن كمية الفلافونويدات فكانت أعلى

كمية في المستخلص الكلوروفورمي يليه الميثانولي بـ 31.544 ± 1.541 —
Ext Qu/mg E $13.733 \pm 0.56 \mu\text{g}$ على الترتيب المستخلص خلات الايثيل بـ
Ext Qu/mg E 10.317 ± 1.190 و أخيرا n- بيتانول بـ $2.891 \pm 3.991 \mu\text{g}$.

أما التانينات فقدرت بـ Ext Ca/mg E $0.443 \pm 0.069 \mu\text{g}$ في المستخلص
الميثانولي و Ext Ca/mg E $0.235 \pm 0.064 \mu\text{g}$.

وبغية تحديد تأثير المواد المستخلصة و مقارنتها بالمستخلص الميثانولي تطرقنا
لدراسة النشاطية المضادة للأكسدة وذلك بإستعمال إختبار الجذر الحر DPPH•، من
أجل تحديد قدرة المستخلص في إقتناص الجذر الحر لـ DPPH• وذلك من خلال
تحديد قيمة IC_{50} ، حيث أظهرت نتائج هذا الإختبار أن مستخلصات نبات
Punica granatum L. تمتلك نشاطية عالية و لو كانت بنسب متفاوتة فقد أظهر
مستخلص n- بيتانول ومستخلص ايثيل الأسيتات أعلى نشاطية مقارنة حمض
الأسكوربيك حيث قدرا بـ $(1.566 \pm 0.07 \mu\text{g/ml} - 1.447 \pm 0.08 \mu\text{g/ml})$ على
الترتيب، مشابهين في ذلك، حمض الأسكوربيك حيث قدر بـ $(2.895 \pm 0.06 \mu\text{g/ml})$.
أما المستخلص الميثانولي والتانينات والكلوروفورمي تقريبا نفس القدرة الكاسحة للجذر
الحر DPPH• إذ بلغت قيمته IC_{50} $(5.899 \pm 0.31 \mu\text{g/ml})$ ،
 $(5.126 \pm 0.38 \mu\text{g/ml}, 3.907 \pm 1.28 \mu\text{g/ml})$ على الترتيب.

و من هنا نجد أن القدرة الازاحية للجذر الحر لا تعتمد فقط على المحتوى الكمي
للفينولات عموما سواء كانت فلافونويدات أو تانينات و إنما تعتمد أيضا على نوعية تلك
المركبات، كما توصلنا أن استعمال المادة المفصولة من النبات يمكن أن يكون أكثر
فعالية من تواجدها مع المركبات الأخرى.

الفعالية البيولوجية الثانية و التي تخص النشاطية المضادة للبكتيريا اعتمدنا فيها
طريقة الإنتشار بالأقراص، أظهرت النتائج المتحصل عليها أن مستخلصات قشور
ثمار الرمان *Punica granatum L.* لها نشاط ضد بكتيري على بعض السلالات
البكتيرية.

أظهرت الدراسة أن الفعالية المضادة للبكتيريا تعزى إلى غنى النبات بالمواد الفينولية
و تحديدا التانينات حيث أعطى أعلى قطر تثبيطي بـ $20.2 \pm 0.7 \text{mm}$ عند السلالة
S.aureus و يليه المستخلص الميثانولي بـ $18.12 \pm 0.17 \text{mm}$ عند *P.mirabilis*.

و كانت السلالة (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) السلالة الأكثر حساسية لمختلف مستخلصات قشور الرمان من فلافونويدات أو تانينات أو المستخلص الميثانولي.

رغم أن المستخلص التانيني كان له أعلى قطر تثبيطي إلى أن المستخلص الميثانولي أثر على عدد أكبر من السلالات البكتيرية المختبرة و هذا يعزى إلى الفعل التآزري للمواد الفعالة الموجودة في المستخلص التانيني الكشف عنها سابقا وتقديرها (التانينات والفلافونويدات أو غيرها).

خلاصة القول للمداواة النباتية أسسها العلمية، فكل نبتة خصائصها البيولوجية من استطباب و مضادات استطباب وتأثيرات جانبية و مضاعفات التي يجب أخذها بعين الاعتبار عند استعمالها وفق الضرورة و أن تتم المعالجة بها على أيد خبيرة للوصول إلى نتائج أفضل و إنفاق مثمر، فاحتواء النبات على أكثر من مادة فعالة أمر ايجابي كما قد يكون سلبي في بعض الأحيان مثل سمية بعض النباتات مثل نبات الدفلة الذي لا تأكله الأغنام أبدا و لو جاعت، و نبات البيلادونا حيث يحوي مادة فعالة مضادة للمغص لكن من جهة أخرى فإن زيادة جرعه تزيد من نبضات القلب، و هنا يمكن معالجة الأمر باستخلاص المادة الفعالة (مادة مفصولة) من المصدر الطبيعي و ليست خلاصة واحدة للنبات.

قائمة

المراجع

- ✓ أحمد فتحي س.، 2002- الكيمياء الحيوية، دار الفجر للنشر والتوزيع.
- ✓ برحال ج.، 2003- فصل وتحديد منتوجات الأيض الفلافونويدي لبعض العائلة اليزيدية (Resedaceae). رسالة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه. جامعة منتوري. قسنطينة. ص: 170.
- ✓ بن خناثة م.، 2014-المساهمة في دراسة مستخلصات نبتة الكلخة *Ferula Vesceritensis*. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي. جامعة قاصدي مرباح. ورقلة. ص 83.
- ✓ بن ذهبية خ.، 2013- دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء من ولاية ورقلة *Lawsonia Inermis*. مذكرة ماستر أكاديمي. جامعة قاصدي مرباح. ورقلة. ص 74.
- ✓ بن سلامة ع. ا.، 2012- النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق *Hertia cheirifolia* L. مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء. جامعة فرحات عباس. سطيف. الجزائر ص 90.
- ✓ بوبطيمة ا.، 2012- مقارنة بين الطريقة الفيتوكيميائية والطريقة الإلكتروكيميائية في دراسة فينولات بعض نوى التمر المحلي. مذكرة ماستر أكاديمي. جامعة قاصدي مرباح. ورقلة. الجزائر. ص 97.
- ✓ بوخبتي ح.، 2010-النباتات الطبية المتداولة في المنطقة الشمالية لولاية سطيف دراسة تشريحية لنوعين من جنس *Mentha* والنشاطية ضد البكتيرية لزيوتها الأساسية. مذكرة ماجستير. قسم بيولوجيا. جامعة فرحات عباس. سطيف. ص: 116.
- ✓ بوقافلة ر.، 2013-دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء *LawsoniaInermis* لمنطقة بسكرة. مذكرة ماستر. جامعة قاصدي مرباح. ورقلة. 17-18 ص.
- ✓ جرموني م.، 2009- النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة الخياطة *Teucrium polium*. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء والفيزيولوجيا التجريبية. جامعة فرحات عباس. سطيف. الجزائر. 95 ص.
- ✓ الجنابي ع.، 1996- تأثير بعض المستخلصات النباتية على نمو بعض الفطريات الممرضة لجلد الإنسان. أطروحة ماجستير، كلية العلوم. الجامعة المستنصرية.
- ✓ جنيدي س.، حجازي م.، 2001- حقائق البحث والتطبيق في تغذية النبات. الدار العربية للنشر والتوزيع.

- ✓ **جيدل ص.**، 2015- تقدير المحتوى الفينولي والتأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات نباتات *Pistacia lentiscus* L. و *Artemisia campestris* L. و *Argania spinosa* L. أطروحة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه. جامعة فرحات عباس. سطيف. ص 1-85-76.
- ✓ **حجاوي غ.**، **حسين المسمي ح.ز.**، **محمد جميل قاسم ر.**، 2009- علم العقاقير والنباتات الطبية . دار الثقافة للنشر والتوزيع .بيروت .ص:312 .
- ✓ **حوة إ.**، 2013-دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة .مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح . ورقلة. ص:65-109 .
- ✓ **الخطيب ر.**، 2014- علم العقاقير (التانينات و الكومارينات). كلية الصيدلة للسنة الثالثة . ص:20 .
- ✓ **خلف الله ع.**، 1988-النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي ،جامعة الدول العربية ،المنظمة العربية للتنمية الزراعية، الخرطوم. دار مصر للطباعة. ص: 60.
- ✓ **زمالي ج.**، 2007- دراسة فيتوكيميائية وبيولوجية لنبته *Solanum nigrum* . مذكرة ماجستير في الكيمياء . جامعة قاصدي مرباح .ورقلة.ص:39 .
- ✓ **زنكنه م.**، **شكريه ع.**، 2004- تأثير مستخلصات عدد من النباتات على نمو بعض أنواع البكتيرية الممرضة . رسالة ماجستير . كلية العلوم .جامعة الأنبار . 123 ص.
- ✓ **سامي هاشم م.**، 1988- النباتات و الاعشاب العراقية بين الطب الشعبي و البحثالعلمي. الطبعة الأولى. دار الثورة للطباعة والنشر. بغداد. ص: 211.
- ✓ **سراج م.ص.**، **الحسن م.**، 2002-تأثير استزراع النباتات الطبية والبرية على خواصها الكيميائية والحيوية .جامعة الملك فيصل .المملكة العربية السعودية.ص:39.
- ✓ **سلمان ج.**، 2014- البكتيريا في الأغذية. قسم علوم الحياة. كلية العلوم الجامعة المستنصرية. ص:25-29.
- ✓ **الشاوش ف.**، **حامد ف.**، **العيسي ع.**، 2006- تحديد الصفات النوعية والكيميائية لأهم طرز الرمان *Punica granatum* في اليمن . مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية .المجلد 22.العدد(2). ص: 241-228.
- ✓ **الشيخ حسن ط.**، 2005- كتاب النخيل-التين-الكاكي-الرمان. دار علاء الدين. ص133-135.

- ✓ طاهر ح.، 2008 - كيمياء المنتجات الطبيعية. الجزء النظري. منشورات جامعة البعث كلية العلوم. ص: 362.
- ✓ طالب حميد أ.، نواف فرحان ح.، محمد تركي أ.، 2009 - الفعالية التثبيطية لمستخلصات قشور الرمان تجاه البكتيريا الممرضة المعزولة من الأمعاء والمعدة في الإنسان. مجلة الأنبار للعلوم الصرفة. المجلد 3. العدد (2). ص 4-5.
- ✓ الإمارة ي.، كاظم م.، حسن ز.، 2006 - علاج الدجاج المحلي المصاب بطفيلي *Eimeriatenella* بمستخلص قشور الرمان المائي وعقار Tinidazole. مجلة القادسية لعلوم الطب البيطري، المجلد 5. العدد 2. ص: 6.
- ✓ العابد إ.، 2009 - دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران. مذكرة ماجستير. جامعة قاصدي مرباح. ورقلة. ص 38-39-103.
- ✓ عاشوري أ.، 2004 - فصل وتحديد منتجات الأيض الفلافونويدي *Pulicaria crispa*. مذكرة ماجستير. جامعة منتوري. قسنطينة. ص 89.
- ✓ العاني ع.، قيس م.، ادھام ع.، تركي أ.، 2003 - تأثير بعض المستخلصات النباتية على نمو بعض الأجناس المرضية البكتيرية والفطرية. مجلة الأنبار للعلوم الزراعية. المجلد 1. العدد (1). ص 8-13.
- ✓ عبيد ع.، رائد معلق ح.، ناهي ي.، واثق س.، حيدر ر.، 2011 - عزل الفينولات من بعض النباتات ودراسة فعاليتها المضادة للسرطان. المجلد 4. العدد (2). جامعة ذي قار. المستنصرية. ص: 6.
- ✓ العزيز ع.، نجوى ح.، 2000 - العلاج بالأعشاب. مكتبة الصفاء، القاهرة. ص: 1-5.
- ✓ علاوي م.، 2003 - مساهمة في دراسة بعض المركبات العضوية الفعالة في الرمث (*Haloxylon Scoparium*). مذكرة ماجستير. جامعة ورقلة. ص 35.
- ✓ فاتن ز.، 2006 - دراسة التصنيف الكيميائي وحبوب اللقاح لنبات السنا سنا (الفصيلة القرنية) النامية في وديان وعلى جبال مكة المكرمة. شهادة لنيل درجة الماجستير في العلوم. جامعة الملا عبد العزيز. جدة. ص 119.
- ✓ فرحات س.، دبات ك.، شمس ب.، 2012 - تأثير المستخلص الميثانولي لجنس نبات الخياطة *Marrubium deserti De Noe* على بعض الأنواع البكتيرية. مذكرة

- تخرج لنيل شهادة ليسانس أكاديمي في بيولوجيا و فيزيولوجيا النبات .جامعة الوادي ص33.
- ✓ فرحات س.، 2013- دراسة مقارنة فعالية المواد المضادة للأكسدة للبروبوليس لمناطق مختلفة في الجزائر حسب الخريطة المناخية بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية. مذكرة ماستر، جامعة الوادي. ص24.
- ✓ قاسم السباعي م.أ.، الفواز م.ع.ا.، 2014-محتوى الفينولات الكلي ونشاط مركبات مضادات الأكسدة المستخدمة من قشور الرمان. مجلة السعودي. بحوث العلوم الزراعية. المجلد 13. العدد 2. ص: 8.
- ✓ قدامة أ.، 1985- قاموس الغذاء والتداوي بالنبات. الطبعة الخامسة ، منشورات دار النفائس . بيروت. ص245.
- ✓ القطب م.، 2001- الطب النبوي لابن القيم جوزية المكتبة العصرية. صيدا . بيروت. ص20
- ✓ قمولي ا.، 2011- دراسة إلكتروكيميائية لفينولات بعض نوى التمر المحلي. شهادة ماستر في علوم المادة. جامعة قاصدي مرباح. ورقلة. ص22-39.
- ✓ قندولي ش.، 2009- دراسة تأثير النشاط المضادة للسكري وللتأكسد للألوان Aloin في جردان مصابة بالسكري المحرض بStreptozotocin. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيولوجيا الخلوية والجزيئية. جامعة منتوري .قسنطينة. ص97.
- ✓ قيثار ر.، الشطي ص.، 2002- تأثير الفعالية التضادية لبعض المستخلصات النباتية على نمو بعض الأحياء المجهرية. قسم الصناعات الغذائية والألبان، كلية الزراعة، جامعة البصرة. ص 231.
- ✓ لبوز م.، 2012- الدراسة الفيتوكيميائية لنبته *Rhinolepis lonadioides* Coss (الزيوت الطيارة والليدات). مذكرة ماستر في علوم المادة. جامعة قاصدي مرباح. ورقلة. ص34.
- ✓ لموي ر.، 2010- فصل وتحديد منتجات الأيض الثانوي للمستخلص البوتانولي لنبات *Haloxylon coparium* (Chenopodiaceae). مذكرة لنيل شهادة الماجستير . جامعة منتوري . قسنطينة . ص78 .
- ✓ متولي أ.، الوكيل ح.، 2010- خدمة الحاصلات البستانية (الفاكهة) . مصر العربية. ص338.

- ✓ محمد علي أ.، حميد مجيد ش.، 2010- التأثير المثبط لمستخلص قشور الرمان *Punica granatum* L. تجاه بعض الأعفان. مجلة كلية التربية الأساسية. الجامعة المستنصرية. العدد 63. ص 9.
- ✓ مخلوفي أ.، 2008- فصل وتحديد فلافونويدات الأجزاء الهوائية للنباتة *Hypericum tomentosum* مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية. جامعة منتوري قسنطينة. الجزائر. ص 99.
- ✓ ميثاق ج.، 2010- بحث وتحديد نواتج الأيض الثانوي لنبات القات *Catha edulis* من العائلة *Celastraceae* و نبات البوليكارييا *Pulicaraijoubertii* من العائلة *Asteraceae* وتقييم الفعالية البيولوجية. رسالة لنيل شهادة دكتوراه علوم في الكيمياء العضوية. جامعة منتوري. قسنطينة. ص 117.
- ✓ ناصر الربيعه ع.، 2007- الإدارة المتكاملة لمحصول الرمان. جامعة الملك سعود. المملكة العربية السعودية. السعودية. ص 5.
- ✓ وصيفي ع.س.، زجانييت ت. ق.، 1982- كيمياء النواتج الطبيعية. كلية العلوم. جامعة بغداد. ص 314.
- ✓ الهمالي س.ع.، أمال ق.ع.، عمرف.ه.، إبراهيم س.م.، 2016- تأثير مستخلصات قشور الرمان المجففة على نمو بعض أصناف البكتيريا السالبة والموجبة الغرام. مجلة جامعة سبا (العلوم البحتة والتطبيقية). المجلد 15. العدد (1). ص: 13-16.

المراجع الأجنبية:

- ✓ **Ahmed S., Wang N., Bin Hafeez B., Cheruvu V. K.,** 2005-*Punica granatum L.* Extract Inhibits IL-1–Induced Expression of Matrix Metalloproteinases by Inhibiting the Activation of MAP Kinases and NF- κ B in Human Chondrocytes In Vitro. The Journal of Nutrition, 135. 2096-2102p.
- ✓ **Aktumsek A., Zengin G., Guler GO., Cakmak YS., Duran A.,** 2011- Food and Chemical Toxicology. 49(11): 2914-2920.
- ✓ **Atmani D., Chahar N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudoud H. D., Atmani D.,** 2009- Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. Food Chemistry, 112: 305p.
- ✓ **Azzi R.,**2013 - Contribution A L'étude De Plantes Médicinales Utilisées Dans Letraitement Traditionnel Du Diabète Sucré Dans L'quest Algérien :Enquête Ethnopharmacologique ; Analyse Pharmaco-Toxicologique De Figuier (*Ficus carica*) Et De Coloquinte(*Citrullus Colocynthis*) Chez Le Rat Wister .These Doctorat En Biologie , Université Abou Bekr Belkaid .Tlemcen 48-50p.
- ✓ **Backous N., Delporte C. and Andrad C.,** 1997- Phytochemical and biological study of *Radallomatia hirsuta*(Proteaceae). *Journal of Enthnopharmacology*, 57: 81-83p.
- ✓ **Baghiani A, Boumerfeg S, Belkhiri F, Khennouf S, Charef N, Harzallah D, Arrar L, Abdel-Wahhab M.,** 2010- Antioxidant and radical scavenging properties of *Carthamus caeruleus* L. extracts grow wild in Algeria flora. *Comunicata Scientiae*.1: 128-136p.
- ✓ **Ben Abdennebi M.,** 2012- Le grenadier tunisien (*Punica granatum*) stimule le transport de glucose dans les cellules musculaires C2C12

- via la voie. insulino-dépendante de l'Akt et la voie insulino-indépendante de l'AMPK. Mémoire présenté à la Faculté de Médecine en vue de l'obtention du grade de Maîtrise en pharmacologie. Université de Montréal. 23p.
- ✓ **Ben hammou N.**, 2012 - Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse doctorat. Université Aboubakr Belkaid. Tlemcen. 174 p.
 - ✓ **Biljak V. R., Rumora L., Cepelak I., Popovic-Grle S., Soric J., Grubisic T.Z.**, 2010 - Glutathione cycle in stable chronic obstructive pulmonary disease. *Cell BiochemFunct.* 28. 448-453p.
 - ✓ **Bodzek P., and Wielkoszynski T.**, 2003 - Evaluation of vitamin C and E concentration—some nonenzymatic indicators of antioxidant protective barrier in pregnant women. *WiadLek.* 56. 508-514p.
 - ✓ **Borton S. D .**, 1986- Advanced in medicinal phytochemistry. Center De Recherche Pierre faber. 64p.
 - ✓ **Boumaza D.**, 2011- Séparation et Caractérisation Chimique De quelques Biomolécule Actives De Deux Plantes Médicinales : *InulaViscosa* , *RosmarinusOfficinalis* De La Région D'oran. Diplôme De Magister En Chimie .Université D'oran. 56 p.
 - ✓ **Boukri N H.**, 2014 -Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Thème Master Academique. Université KasdiMerbah .Ouargla. 99 p.
 - ✓ **Bouزيد W.**, 2009 - Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *crataegus monogynajacq.* diplôme de magister. Université -el hadj lakhder .Batna .99p.

- ✓ **Bruneton J.**, 1999- Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed : Tec & Doc Lavoisier. Paris. 1120 p.
- ✓ **Blois M. S.**,1958- Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 181.p 1199-1200.
- ✓ **Buwa LV., Staden JV.**, 2006- Antibacterial and antifungal activity of traditional medicinal plants used against venereal diseases in South Africa Journal of Ethnopharmacology 103:139-142.
- ✓ **Cai Y., Luo Q., Sun M., &Corke H.**, 2004- Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional chinese medicinal plants associated with anticancer. Life science, published by Elsevier In., 74: 2176.
- ✓ **Cazarolli L. H., Zanatta L., Alberton E .H., Figueiredo M. S., Folador P., Damazio R. G., Pizzolatti M.G. and Silva F. R.**, 2008- Flavonoids: prospective drug candidates. *Mini Rev Med Chem.* **8**: 1429-1440 p.
- ✓ **Chaabi M.**,2008 - Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines : *Euphorbiastenoclada*Baill. (Euphorbiaceae), *Anogeissusleiocarpus*Guill. &Perr. (Combretaceae), *Limoniastrumfeeii*(Girard) Batt. (Plumbaginaceae). Mémoire de magister. universite louis pasteur.
- ✓ **Chaudhry P., Cabrer A ., Juliani H., Varma S.**, 1983- Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and Indomethacin BiochemPharmacol, vol 32.1995p.
- ✓ **Desai P. B., Manjunath S., KadiS., Chetana K., VanishreeJ.**, 2010 - Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in rheumatoid arthritis: a case control study. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 14. 959-967p.

- ✓ **Dicarlo G., Mascolo N., Izzo A., Capasso F.,** 1999- Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences*, 65(4) . 337-353p.
- ✓ **Dhaouadi K., Raboudi F., Estevan C., Barrajon E., Vilanova E.,Hamdaoui M. and Fattouch S.,** 2010- Cell Viability Effects and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts. *J.Agric. Food Chem.* 59: 402-406p.
- ✓ **Dudonne S and al.,** 2009- Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *J Agric Food Chem.* 57: 1768-1774p.
- ✓ **Dziri S, Hassen I, Fatnassi S, Mrabet Y, Casabianca H, Hanchi B, Hosni K.,** 2012- Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (*Allium roseum*var. *odoratissimum*). *Journal of Functional Foods.* 4: 423- 432.
- ✓ **Egwaikhide P.A., Bulus T. and Emua S. A.,** 2010- Antimicrobial activities and phytochemical screening of extracts of the fever tree, *eucalyptus globules*.*Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 9 (5): 940-945p.
- ✓ **Elber G., Wagner H.,** 1992- *Planta Med*, 57, 137-141p.
- ✓ **Ferradji A.,** 2011- Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacialentiscus*. Mémoire Présenté Pour l'obtention du Diplôme de magister. Université Ferhat Abbas.Setif. 90p.
- ✓ **Ferraro G.E.,**1983- *Acta Farm. Bonaerense*, 2, 97p.

- Guettaf S. Abidli N. Kariche S. Bellebcir L. Bouriche H.,** 2016- Phytochemical screening and antioxidant activity of aqueous extract of *GenistaSaharae* (Coss. &Dur.). Scholars Research Library, 8 (1): 51p.
- Gil M.I ., Tomas Barberan , F .A., Hess Pierce, B., Holcrogt , D .M .and Kedar , A .A.,** 2000 -Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with Phnlic composition and processing . J .Agric FoodChem .10 :4581 .p9 .
- ✓ **Gutierrez-Merino C., Lopez-Sanchez C., Lagoa R., Samhan-Arias A. K., Bueno C. and Garcia-Martinez V.,**2011- Neuroprotective actions of flavonoids. *Curr Med Chem.* 18: 1195-1212p.
 - ✓ **Harborne, J. B.,** 1973- Flavonoids in phytochemistry, ed. Lawrence, P. Miller, Litton Eduction Publishing Inc, vol 2.p: 344.
 - ✓ **Hazimi M.,**1990- Natural productefficedes publications universitaires. Université Du Roi. Saoud. 152 .
 - ✓ **Hertog M.,** 1995- Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart. disease and cancer in the seven countries study. Archives of Internal Medicine, Vol. 155 No. 4.p:28.
 - ✓ **Hooper L., Kroon P. A., Rimm E. B., Cohn J. S., Harvey I., Le Cornu K. A., Ryder J. J., Hall W. L.and Cassidy A.,** 2008- Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J ClinNutr.* 88: 38-50p.
 - ✓ **Hmid I.,** 2014- contribution a la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (*Punicagranatum L.*) : caracterisation physicochimique, biochimique et stabilite de leur jus frais. thèse de doctorat .Universite d'Angers, French. 180p.

- ✓ **Huang T.H., Peng G., Kota B.,**2005- Anti-diabetic action of punica.Granatum flower extract .Toxicological applied pharmacology207 :160 -169.
- ✓ **Hussein , S.A.M.; Barakat, H.H .,**1997- Merfort,I. and Nawwar , M.A.M..Tannins from the leaves of Punicagranatumphytochemistry 45:819-823p .
- ✓ **Ismaeil C, Atilla T, Ishak I.,** 2009- Hepatoprotective role and antioxidant capacity of pomegranate. .Food and chemical toxicology 47 (1) 145-149p.
- ✓ **Ivana K., Milena N., and Miodrag L.,** 2011- Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the Artemisia sp. recovered by different extraction techniques. Biotechnology and bioengineering chinese journal of chemical engineering. 19 (3): 504-511.
- ✓ **Jan A. T., Alia .andHaq Q.,** 2011- Glutathione as an antioxidant in inorganic mercury induced nephrotoxicity. J Postgrad Med. 57 72-77p.
- ✓ **Joffin J.N., Schuster C.,**2003- Pseudomonas et apparentés ou bactéries gram négatif aérobies strictes .
- ✓ **Kanoun K.,** 2011- Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtuscommunis*L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire En vue de l'obtention du Diplôme de Magister. UniversiteAboubekrBelkaid.Tlemcen.118p.
- ✓ **Karadeniz F., S. H Burdurlu N. Koca., Soyer Y.,** 2005- Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. J. Agric., 29:297-303.

- ✓ **Karthikeyan J., Rani P., 2003** - Enzymatic and non-enzymatic antioxidants in selected Piper species. *Indian J ExpBiol*;41. 135-140p.
- ✓ **Kijhnau J., 1976**- The flavonoids. A class of semi-essential food components: Their role in human nutrition. *Wld. Rev. Nutr. Diet.* 24. 117-191p.
- ✓ **KsouriR., MegdicheW., Falleh H., TrabelsiN.,BoulaabaM., SmaouiA., AbdellyC.,2008**- Influence of biological environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes.*C,R, Biol*,331:865-873p.
- ✓ **Lambert P., 2002**- Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in gram - positive bacteria and mycobacteria .*Jornal of applied microbiology* .92:46-54p.
- ✓ **Levin G. M., 1994** - Pomegranate (*Punica granatum*) Plant Genetic Resources in Turkmenistan. *Plant Genetic Resources Newsleter*, 1994. No. 97. 31 – 36p.
- ✓ **Linné C., 1753**- *Systema Naturae*. No:01.p472
- ✓ **LotitoS.B.,Frei B.,2006**- Relevqnce of apple polyphenole as antioxidants in human plasma : Contrasting in vitro and in vivo effects, *Free, Radical. Biol. Med.* 36, 201-21p.
- ✓ **Ngameni B., Kuete V., Simo I.K., Mbaveng A.T., Awoussong P.K., Patnam R., Roy R. and Ngadjui B.T., 2009**- Antibacterial and antifungal activities of the crude extract and compounds from *Dorstenia turbinata*(Moraceae). *South African J Botany*. 75 : 256-261p.
- ✓ **Mahmoud ,a.;Nawwar ,M.; Sahar ,A.; Hussein ,M. and Merfort ,I.,- 1994**. NMR spectral analysis of polyphenols from *Punica granatum* .*phytochemistry* , 36: 793-798p.

- ✓ **Mahmoudi D., Khali M., Mahmoudi N.,**2012- Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*).Algérie .6p.
- ✓ **Markham K. R.,** 1982- *Techniques of flavonoid identification.* Academic press, London. 133p.
- ✓ **Mars M., and Marrakchi M.,** 1999 - Diversity among pomegranate (*Punica granatumL.*) germplasm in Tunisia. Genetic Resources and Evolution 46. 461 – 467p.
- ✓ **Maisuthisakul P, Suttagit M, Pongsawatmnit R.,** 2007- Assessment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some that indigenous plants.Food Chemistry 100: 1418-1409.
- ✓ **Miquel J.,**2002 - Can antioxidant diet supplementation protect against age-related mitochondrial damage Ann N Y Acad Sci. 959. 508-516p.
- ✓ **Miliauskas G., Venskutonis P. R., Van Beek T. A.,** 2004- Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromativ plant extract. Journal of Food Elsevier Chemistry, 85: 233.
- ✓ **Moneam ,N.M., el-sharaky ,A.S. and Badreldin ,M.,**-1988. Oestrogen content of pomegranate seeds .J.chromatogr 438(2).438-442p .
- ✓ **Pradeep B V., Manojbabu M K., PalaniswamM .,** 2008 - Antibacterial Activity of *Punica granatum L.* against Gastro Intestinal Tract Infection Causing Organisms. Ethnobotanical Leaflets 12. 89p.
- ✓ **Rahimi H.R., Arastoo M., Ostad S. N.,**2012-A Comprehensive Review of *Punica granatum* (Pomegranate) Properties in Toxicological, Pharmacological, Cellular and Molecular Biology

- Researches Iranian Journal of Pharmaceutical research/ 11/ 2. 385-400p.
- ✓ **Ramesh D, Ramesh D, PrashithKekuda TR, Onkarappa R, Vinayaka K S , Raghavendra L.,**2015- Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.7(1) : 105-110.
 - ✓ **Rebiai A, Lanez T, Belfar M.,** 2013- Total Polyphenol Contents. Radical Scavenging And Cyclic Voltammetry Of Algerian Propolis. Int J Pharm Pharm Sci.(6): 395-400p.
 - ✓ **Rira M.,** 2006- Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. diplôme de Magister. University mentouri constantine facult des sciences. 95p.
 - ✓ **Rosella D. S.,** -2005. *Punica granatum L.* whole fruit extract as a protection against the hydrogen peroxide-induced damage. Rev Cubana Plant .
 - ✓ **Sahreen A. Khan M. R. et Khan R. A.,** 2010- Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of Carissa opaca fruits. Food Chemistry, 122: 1205.
 - ✓ **Sideney B, O., Dirceu A., Amarildo A. T., Alessandra B. T.,** 2016- Total phenolic, flavonoid content and antioxidant activity of Vitexmegapotamic (Spreg.) Moldenke. Ciencia Natura, 38 (3): 1199 – 1200. Med. 10(2).
 - ✓ **Singleton V.L R., Orthofer And R.M .,** 1999- Lamuela-Raventos: Analysis Of Total Phenols And Other Oxidation Substrates And Antioxidants By Means Of Folin- Ciocalteu Reagent. Met. Enzym. , 299, 152-
 - ✓ **Slifman N. R., Gershon S. K., Lee J. H., Edwards, E. T. & Braun, M. M.,** 2003- *Listeria monocytogenes* infection as a

- complication of treatment with tumor necrosis factor alpha-neutralising agents. *Arthritis Rheum* 48, 319–324.178p.
- ✓ **Slinkard K. ,Singleton V.L.,** 1977- Total Phenol Analys: Automation And Comparison Withmanual Methods. *Am. J. Enol. Viticult.* 28. 49-55p.
 - ✓ **Sikkema J., De Bonte J.A.M. and Poolman B.,** 1995- Mechanisms of membranetoxicity of hydrocarbons. *Microbiol Rev Oxford*, 59: 201-222.
 - ✓ **Silvia ,H.A; Sandra , A.A ; and Olga , M. F.,** 2005-Partial purification and characterization of pectin methylsterase from orange citrus sinensis) CV. Pere RIO .journal of food biochemistry) . 367p.
 - ✓ **Sun BS, Ricardo-Da-Silva JM, Spranger MI.,**1998-Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J Agric Food Chem*, Vol.46; 4267-4274p.
 - ✓ **Tanaka Y., Sasaki N. and Ohmiya A.,** 2008 - Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *Plant J.* 54: 733-749p.
 - ✓ **Tanaka T., Kojima T., Kawamori T., Wang A., SuzuiM., Okamoto K ., Mori H.,**1993 - Inhibition of 4-nitroquinoline -1-oxide -induced rat tongue Carcinogenesis by the naturally occurring plant phenolicscaffeic, Chlrogenic and ferulic acids .*Carcinogenesis* , 14 , 1321 -1325
 - ✓ **Trease E., Evans W.C.,** 1987- Pharmacognosie. Billiaire Tindall, London 13 Th Edition.61-62 P.
 - ✓ **Toledo C, Brittaa E, Ceoleb L, Silvaca E, DeMelloa J, Dias Filho B, Nakamura., Nakamuaa T.,** 2011-Antimicrobial and cytotoxic activities of medicinal plants of the Brazilian cerrado ,using

- Brazilian cachaca as extractor liquid. Journal of Ethnopharmacology. 133:420-425p.
- ✓ **Turkoglu A., Duru M E., Mercan N., Kivrak I et Gezer K .,** 2007- Antioxidant And Antimicrobial Activities Of Laetiporus Sulphureus (Bull.) Murrill. *Food Chemistry*, 101(1), 267-273p.
 - ✓ **Wald E.,** 2009- le grenadier (punicagranum) : plante historiquete volutions therapeutique srecentes. le diplôme d'etat de docteur en pharmacie ,université henri poincare nancy 1. 158p.
 - ✓ **Wagner H., Wirer M., Bauer R.,** 1986- Planta Med. 184-187p.
 - ✓ **Wagner H.,** 1977- Biology and Chemestry of Compositae. 1, 411p.
 - ✓ **Wu B.,Song J.,Beitw., E.,**2010-Novel channel enzyme fusion proteins confer arsenate resistance. J Biol Chem (51): 285p.
 - ✓ **Voravuthi kunchai S., Lortheeranuwat A., Jeeju W., Sririrak T., Phongpaichit S., Supawita T.,** 2004-Effective medicinal plants against Enterohaemorrhagic E.coli O157: H7 Journal of Ethnopharmacology 94:49-54p
 - ✓ **Yin M. C., and Chan K. C.,** 2007 – Nonenzymatic antioxidative and antiglycative effects of oleanolic acid and ursolic acid. *J Agric Food Chem.* 55.7177-7181p.
 - ✓ **Zarfeshany A., Asgary S., Javanmard S.H.,**2014-Potent health effects of pomegranate. Advanced Biomedical Research. 100p.
 - ✓ **Zhang, S.Y., Zheng, C.G., Yan, X.Y., Tian, W.X.,**2008- Low concentration of condensed tannins from catechu significantly inhibits fatty acid synthase and growth of MCF-7 cells. *Biochemical and Biophysical Communications*, Vol. 371; 654-658p.

- ✓ **Zhang H., Kong B., Xiong Y .L. and Sun X.,** 2009- Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4°C. *Meat Science*.81: 686-692.
- ✓ **Zhou J., Wang L., Wang J., Tang N.,** 2001- Antioxidative and antitumour activities of solid quercetin metal(II) complexes. *Transition Met. Chem*,26(1-2) .57-63p.

المحقق

الأدوات والأجهزة والمحاليل المستعملة

الكشف عن مواد الأيض الثانوي		
الأجهزة	المحاليل والمواد	الأدوات
- حمام مائي - حاضنة Étuve	- ماء مقطر L'eaudistillée - كاشف ماير Mayer - كاشف وينر Wagner - كاشف دراجندورف Dragendorff - كلوريد الحديد الثلاثي FeCl ₃ - كحول أميلي - مغنزيوم Magnusiom - حمض كلور الماء المركز HCl - حمض الخليك الثلجي Anhydride acétique - كلوروفورم chloroforme - حمض الكبريت H ₂ SO ₄ - كاشف فهلنج Fehling de liqueur	- أنابيب اختبار Tubes à essayés - ماصة Pipette - حامل أنابيب الإختبار Porte des tubes à essayés
تحضير المستخلصات		
الأجهزة	المحاليل والمواد	الأدوات
- ميزان إلكتروني Balance électrique	- المادة النباتية - ماء مقطر L'eaudistillée	- بيشر Becher - ورق ترشيح Papier filter

- جهاز التبخير الدوراني Rotavapeur	- ميثانول Methanol - إيثانول Ethanol - حمض الكبريت المخفف H_2SO_4 (2%) - كلوروفورم chloroforme - الهكسان - اثيل الاسيتات - n-Beutanol	- قمع Entonnoir - ملعقة Spatule - ورق ألمنيوم Papier aluminium - أنبوب مدرج - دورق Ballon - قمع - فصل Empouldéconte - Bara-Film - Erlenmeyer
---------------------------------------	---	---

التقدير الكمي لعديدات الفينول

الأجهزة	المحاليل والمواد	الأدوات
- ميزان حساس Balance analytique - جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotomètre	- المستخلص النباتي - ماء مقطر L'eaudistillée - حمض الغاليك Acide gallique - كربونات الصوديوم (Na_2CO_3) (7.5%) - FolinCiocalteau (10%)	- أنابيب اختبار Tubes à essayer - essayés - حامل أنابيب الإختبار Porte des tubes à essayés - بيشر Becher - ملعقة Spatule - ورق ألمنيوم Papier aluminium - أنبوب مدرج - Micropipette - Les cuves

التقدير الكمي للفلافونويدات

الأجهزة	المحاليل والمواد	الأدوات
---------	------------------	---------

- ميزان حساس - Balance - analytique - جهاز المطيافية - الضوئية - Spectrophotomètre	- المستخلصات النباتية - كرسيتين Quercetin - ميثانول Methanol - نترات البوتاسيوم (CH₃COOK) - كلوريد الألمنيوم - الثلاثي (AlCl₃) (2%)	- أنابيب اختبار Tubes à essayer - حامل أنابيب - الإختبار Porte des tubes à essayer - بيشر Becher - ملعقة Spatule - ورق ألومنيوم Papier aluminium - أنبوب مدرج - Micropipette - Les cuves
---	---	--

التقدير الكمي لتانينات

الأجهزة	المحاليل والمواد	الأدوات
- ميزان حساس - Balance - analytique - جهاز المطيافية - الضوئية - Spectrophotomètre	- المستخلص النباتية - كاتشين Chatéchine - ميثانول Methanol - فانيلين - حمض الهيدروكلوريك - HCl	- أنابيب اختبار Tubes à essayer - حامل أنابيب - الإختبار Porte des tubes à essayer - بيشر Becher - ملعقة Spatule - ورق ألومنيوم Papier aluminium - أنبوب مدرج - Micropipette - Les cuves

تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

الأجهزة	المحاليل والمواد	الأدوات
- ميزان حساس	- المستخلصات النباتية	- أنابيب اختبار Tubes à essayer

Balance analytique - جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotomè tre	Methanol ميثانول - Acide حمض الأسكوربيك - Ascorbique DPPH ⁻ محلول جذر -	essayés - حامل أنابيب الإختبار Porte des tubes à essayés Becher بيشر - Spatule ملعقة - Papier ورق ألومنيوم - aluminium أنبوب مدرج - Micropipette - Les cuves -
تقدير الفعالية ضد الأحياء الدقيقة		
الأجهزة	المحاليل والمواد	الأدوات
Etuve الحاضنة - أوتوكلاف - Autoclave موقد حراري Becken	- المستخلصات النباتية - ماء فيزيولوجي L'eauphysiologique DMSO - جيلوز مغذي gélose - nutritive جيلوز ميلر Mueller Hinton هانتون	- أنابيب إختبار Tubes à essayés - حقنة seringue - ماسحة قطنية Ecouvillons tube plastique - ملقط Pince - أطباق بيري Anse de platine - ورق واتمان Whatman

صور لبعض الأجهزة المستعملة في العمل التطبيقي



أوتوكلاف



جهاز التبخير الدوراني



جهاز الإمتصاصية الضوئية



الحاضنة

جداول النشاطية المضادة للأكسدة لمختلف المستخلصات النباتية المدروسة

النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلص الميثانولي							
AA	AA3	AA2	AA1	Obs3	Obs2	Obs1	Conc
94.489	94.267	94.267	94.933	0.043	0.043	0.038	1000
95.022	93.600	95.067	96.400	0.048	0.037	0.027	500
96.667	96.267	96.400	97.333	0.028	0.027	0.02	250
95.733	96.267	95.467	95.467	0.028	0.034	0.034	125
96.533	97.200	95.333	97.067	0.021	0.035	0.022	62.5
96.133	96.400	96.400	95.600	0.027	0.027	0.033	31.25
94.311	95.600	93.200	94.133	0.033	0.051	0.044	15.62
62.000	61.600	64.400	60.000	0.288	0.267	0.3	7.81
37.244	37.333	38.933	35.467	0.47	0.458	0.484	3.9
26.133	32.533	24.400	21.467	0.506	0.567	0.589	1.95
17.956	17.333	18.933	17.600	0.62	0.608	0.618	0.97
14.356	13.867	13.867	15.333	0.646	0.646	0.635	0.48
13.022	13.467	12.800	12.800	0.649	0.654	0.654	0.24
11.733	13.200	11.600	10.400	0.651	0.663	0.672	0.12
14.222	17.067	13.600	12.000	0.622	0.648	0.66	0.06

النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلص الكلوروفورمي							
Conc	Obs1	Obs2	Obs3	AA1	AA2	AA3	AA
7.81	0.28	0.081	0.102	62.667	89.200	86.400	79.422
3.9	0.52	0.327	0.288	30.667	56.400	61.600	49.556
1.95	0.474	0.486	0.497	36.800	35.200	33.733	35.244
0.97	0.617	0.588	0.549	17.733	21.600	26.800	22.044
0.48	0.632	0.632	0.621	15.733	15.733	17.200	16.222
0.24	0.629	0.643	0.63	16.133	14.267	16.000	15.467
0.12	0.65	0.71	0.687	13.333	5.333	8.400	9.022
0.06	0.723	0.749	0.749	3.600	0.133	0.133	1.289

النشاطية المضادة للاكسدة لمستخلص الخلايا ايثيلاسيتات							
Conc	Obs1	Obs2	Obs3	AA1	AA2	AA3	AA
5000	0.079	0.07	0.07	89.467	90.667	90.667	90.267
2500	0.061	0.056	0.051	91.867	92.533	93.200	92.533
1250	0.055	0.036	0.057	92.667	95.200	92.400	93.422
625	0.047	0.048	0.057	93.733	93.600	92.400	93.244
312.5	0.048	0.049	0.052	93.600	93.467	93.067	93.378
156.25	0.052	0.049	0.043	93.067	93.467	94.267	93.600
78.125	0.065	0.048	0.048	91.333	93.600	93.600	92.844
39.0625	0.07	0.059	0.051	90.667	92.133	93.200	92.000
19.53	0.092	0.061	0.172	87.733	91.867	77.067	85.556
9.7	0.254	0.29	0.29	66.133	61.333	61.333	62.933
4.88	0.493	0.518	0.528	34.267	30.933	29.600	31.600
2.44	0.683	0.694	0.65	8.933	7.467	13.333	9.911
1.22	0.692	0.747	0.687	7.733	0.400	8.400	5.511
0.61	0.732	0.749	0.741	2.400	0.133	1.200	1.244
0.3	0.75	0.75	0.745	0.000	0.000	0.667	0.222

النشاطية المضادة للاكسدة لمستخلص n-بيتانول							
Conc	Obs1	Obs2	Obs3	AA1	AA2	AA3	AA
3.9	0.064	0.165	0.177	90.857	76.429	74.714	80.667
1.95	0.244	0.201	0.245	65.143	71.286	65.000	67.143
0.97	0.303	0.528	0.527	56.714	24.571	24.714	35.333
0.48	0.576	0.57	0.582	17.714	18.571	16.857	17.714
0.24	0.639	0.62	0.671	8.714	11.429	4.143	8.095
0.12	0.659	0.658	0.659	5.857	6.000	5.857	5.905
0.06	0.669	0.682	0.692	4.429	2.571	1.143	2.714

النشاطية المضادة للاكسدة لمستخلص التانيات							
AA	AA3	AA2	AA1	Obs3	Obs2	Obs1	Conc
92,844	93,733	92,800	92,000	0,047	0,054	0,06	1000
93,156	92,000	92,933	94,533	0,06	0,053	0,041	500
77,911	94,533	93,867	45,333	0,041	0,046	0,41	250
94,978	94,400	95,200	95,333	0,042	0,036	0,035	125
95,467	95,600	95,467	95,333	0,033	0,034	0,035	62,5
95,111	94,933	94,800	95,600	0,038	0,039	0,033	31,25
93,511	93,600	93,467	93,467	0,048	0,049	0,049	15,62
70,044	74,400	72,400	63,333	0,192	0,207	0,275	7,81
40,267	42,133	35,867	42,800	0,434	0,481	0,429	3,9
23,022	21,333	23,867	23,867	0,59	0,571	0,571	1,95
21,200	19,067	21,600	22,933	0,607	0,588	0,578	0,97
16,444	21,467	12,933	14,933	0,589	0,653	0,638	0,48
16,356	18,667	8,533	21,867	0,61	0,686	0,586	0,24
10,889	12,933	9,867	9,867	0,653	0,676	0,676	0,12

للحصول على نتائج الإحصائية و تحديد الفروقات المعنوية قمنا بإستعمال برنامج

Minitab

1- التقدير الكمي للفلافونويدات

One-wayANOVA:reponce versus extrai

Source	DF	SS	MS	F	P
extrai3	888.28	296.09	57.65	0.001	
Error	4	20.55	5.14		
Total	7	908.83			

S = 2.266 R-Sq = 97.74% R-Sq(adj) = 96.04%

Individual 95% CIs For Mean Based on
Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	
1	2	13.486	0.910	(---*---)
2	2	31.554	1.541	(----*---)
3	2	10.317	1.190	(---*---)
4	2	2.891	3.991	(----*---)

Pooled StDev = 2.266

Grouping Information Using Tukey Method

extrai	N	Mean	Grouping
2	2	31.554	A
1	2	13.486	B
3	2	10.317	B C
4	2	2.891	C

Means that do not share a letter are significantly different.

2- التقدير الكمي للتانينات

One-way ANOVA: reponce versus extrait

Source	DF	SS	MS	F	P
extrait	1	0.06531	0.06531	14.37	0.019
Error	4	0.01817	0.00454		
Total	5	0.08349			

S = 0.06741 R-Sq = 78.23% R-Sq(adj) = 72.79%

Individual 95% CIs For Mean Based on
Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	
1	3	0.44367	0.06986	(-----*-----)
2	3	0.23500	0.06486	(-----*-----)

Pooled StDev = 0.06741

Grouping Information Using Tukey Method

extrait	N	Mean	Grouping
1	3	0.44367	A
2	3	0.23500	B

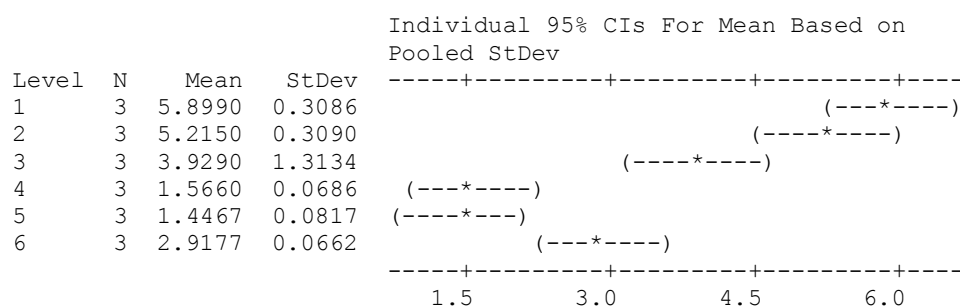
Means that do not share a letter are significantly different.

3-النشاطية المضادة للأوكسدة

One-way ANOVA: REPONCE versus EXTRAI

Source	DF	SS	MS	F	P
EXTRAI	5	51.528	10.306	32.01	0.000
Error	12	3.863	0.322		
Total	17	55.391			

S = 0.5674 R-Sq = 93.03% R-Sq(adj) = 90.12%



Grouping Information Using Tukey Method

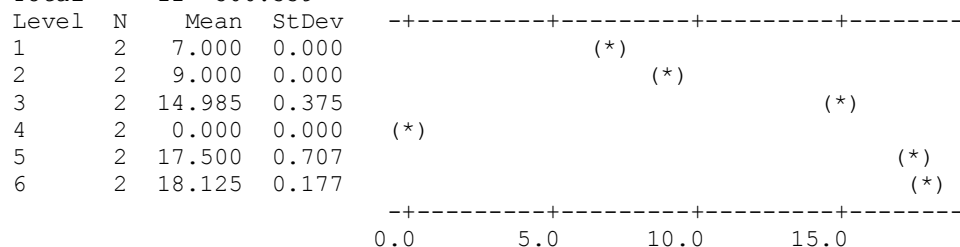
EXTRAI	N	Mean	Grouping
1	3	5.8990	A
2	3	5.2150	A B
3	3	3.9290	B C
6	3	2.9177	C D
4	3	1.5660	D
5	3	1.4467	D

Means that do not share a letter are significantly different

4- النشاطية المضادة للبكتيريا

One-way ANOVA: reponce_1 versus souche_1

Source	DF	SS	MS	F	P
souche_1	5	499.668	99.934	892.66	0.000
Error	6	0.672	0.112		
Total	11	500.339			



Grouping Information Using Tukey Method

souche_1	N	Mean	Grouping
6	2	18.125	A
5	2	17.500	A
3	2	14.985	B
2	2	9.000	C
1	2	7.000	D
4	2	0.000	E

Means that do not share a letter are significantly different.

One-way ANOVA: reponce2 versus souche2

Source	DF	SS	MS	F	P
souche2	5	811.8400	162.3680	1948.42	0.000
Error	6	0.5000	0.0833		
Total	11	812.3400			

Level	N	Mean	StDev	
1	2	0.000	0.000	(*)
2	2	8.000	0.000	*)
3	2	16.200	0.000	(*)
4	2	0.000	0.000	(*)
5	2	20.200	0.707	(*)
6	2	0.000	0.000	(*)

0.0 6.0 12.0 18.0

Grouping Information Using Tukey Method

souche2	N	Mean	Grouping
5	2	20.200	A
3	2	16.200	B
2	2	8.000	C
6	2	0.000	D
4	2	0.000	D
1	2	0.000	D

Means that do not share a letter are significantly different

One-way ANOVA: reponce3 versus souche3

Source	DF	SS	MS	F	P
souche3	5	426.6667	85.3333	*	*
Error	6	0.0000	0.0000		
Total	11	426.6667			

Level	N	Mean	StDev	
1	2	0.0000	0.0000	*
2	2	0.0000	0.0000	*
3	2	0.0000	0.0000	*
4	2	0.0000	0.0000	*
5	2	16.0000	0.0000	*
6	2	0.0000	0.0000	*

0.0 4.0 8.0 12.0

Grouping Information Using Tukey Method

souche3	N	Mean	Grouping
5	2	16.0000	A
6	2	0.0000	B
4	2	0.0000	C
3	2	0.0000	D
2	2	0.0000	E
1	2	0.0000	F

Means that do not share a letter are significantly different

One-way ANOVA: reponce4 versus souche4

Source	DF	SS	MS	F	P
souche4	5	552.4375	110.4875	2651.70	0.000
Error	6	0.2500	0.0417		
Total	11	552.6875			

S = 0.2041 R-Sq = 99.95% R-Sq(adj) = 99.92%

Individual 95% CIs For Mean Based on
Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	
1	2	8.250	0.354	(*)
2	2	0.000	0.000	(*)
3	2	16.000	0.000	(*)
4	2	0.000	0.000	(*)
5	2	14.000	0.354	(*)
6	2	0.000	0.000	(*)

0.0 5.0 10.0 15.0

Pooled StDev = 0.204

Grouping Information Using Tukey Method

souche4	N	Mean	Grouping
3	2	16.000	A
5	2	14.000	B
1	2	8.250	C
6	2	0.000	D
4	2	0.000	D
2	2	0.000	D

Means that do not share a letter are significantly different.

One-way ANOVA: reponce4 versus souche4

Source	DF	SS	MS	F	P
souche4	5	552.4375	110.4875	2651.70	0.000
Error	6	0.2500	0.0417		
Total	11	552.6875			

S = 0.2041 R-Sq = 99.95% R-Sq(adj) = 99.92%

Level	N	Mean	StDev	
1	2	8.250	0.354	(*)
2	2	0.000	0.000	(*)
3	2	16.000	0.000	(*)
4	2	0.000	0.000	(*)
5	2	14.000	0.354	(*)
6	2	0.000	0.000	(*)

0.0 5.0 10.0 15.0

Pooled StDev = 0.204

Grouping Information Using Tukey Method

souche4	N	Mean	Grouping
3	2	16.000	A
5	2	14.000	B
1	2	8.250	C
6	2	0.000	D
4	2	0.000	D
2	2	0.000	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of souche4

Individual confidence level = 99.27%

souche4 = 1 subtracted from:

souche4	Lower	Center	Upper	-----+-----+-----+-----+-----
2	-9.063	-8.250	-7.437	(*)
3	6.937	7.750	8.563	(*)
4	-9.063	-8.250	-7.437	(*)
5	4.937	5.750	6.563	(*)
6	-9.063	-8.250	-7.437	(*)
				-----+-----+-----+-----+-----
				-10 0 10 20

souche4 = 2 subtracted from:

souche4	Lower	Center	Upper	-----+-----+-----+-----+-----
3	15.187	16.000	16.813	(*)
4	-0.813	0.000	0.813	(*)
5	13.187	14.000	14.813	(*)
6	-0.813	0.000	0.813	(*)
				-----+-----+-----+-----+-----
				-10 0 10 20

souche4 = 3 subtracted from:

souche4	Lower	Center	Upper	-----+-----+-----+-----+-----
4	-16.813	-16.000	-15.187	(*)
5	-2.813	-2.000	-1.187	(*)
6	-16.813	-16.000	-15.187	(*)
				-----+-----+-----+-----+-----
				-10 0 10 20

souche4 = 4 subtracted from:

souche4	Lower	Center	Upper	-----+-----+-----+-----+-----
5	13.187	14.000	14.813	(*)
6	-0.813	0.000	0.813	(*)
				-----+-----+-----+-----+-----
				-10 0 10 20

souche4 = 5 subtracted from:

souche4	Lower	Center	Upper	-----+-----+-----+-----+-----
6	-14.813	-14.000	-13.187	(*)
				-----+-----+-----+-----+-----
				-10 0 10 20

One-way ANOVA: reponce5 versus souche5

Source	DF	SS	MS	F	P
souche5	5	923.1510	184.6302	3938.78	0.000
Error	6	0.2813	0.0469		
Total	11	923.4323			

S = 0.2165 R-Sq = 99.97% R-Sq(adj) = 99.94%

				Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev	
Level	N	Mean	StDev	-----+-----+-----+-----+-----	
1	2	0.000	0.000	(*)	
2	2	0.000	0.000	(*)	
3	2	21.000	0.000	(*)	
4	2	0.000	0.000	(*)	
5	2	15.625	0.530	(*)	
6	2	0.000	0.000	(*)	
				-----+-----+-----+-----+-----	

0.0 6.0 12.0 18.0

Pooled StDev = 0.217

Grouping Information Using Tukey Method

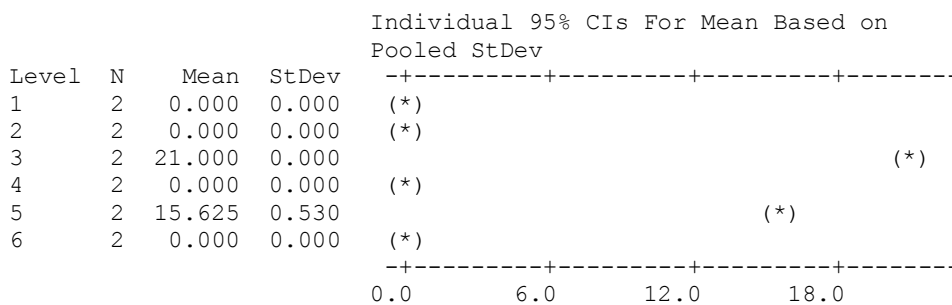
souche5	N	Mean	Grouping
3	2	21.000	A
5	2	15.625	B
6	2	0.000	C
4	2	0.000	C
2	2	0.000	C
1	2	0.000	C

Means that do not share a letter are significantly different

One-way ANOVA: reponce5 versus souche5

Source	DF	SS	MS	F	P
souche5	5	923.1510	184.6302	3938.78	0.000
Error	6	0.2813	0.0469		
Total	11	923.4323			

S = 0.2165 R-Sq = 99.97% R-Sq(adj) = 99.94%



Pooled StDev = 0.217

Grouping Information Using Tukey Method

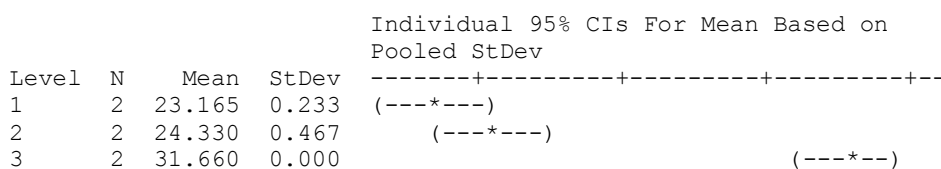
souche5	N	Mean	Grouping
3	2	21.000	A
5	2	15.625	B
6	2	0.000	C
4	2	0.000	C
2	2	0.000	C
1	2	0.000	C

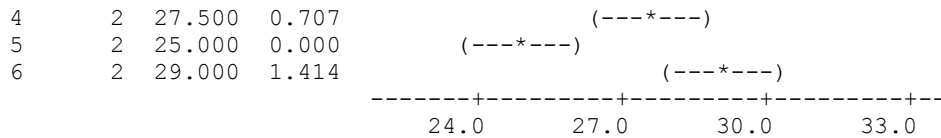
Means that do not share a letter are significantly different.

One-way ANOVA: reponce6 versus souche6

Source	DF	SS	MS	F	P
souche6	5	103.000	20.600	44.58	0.000
Error	6	2.772	0.462		
Total	11	105.773			

S = 0.6797 R-Sq = 97.38% R-Sq(adj) = 95.19%





Pooled StDev = 0.680

Grouping Information Using Tukey Method

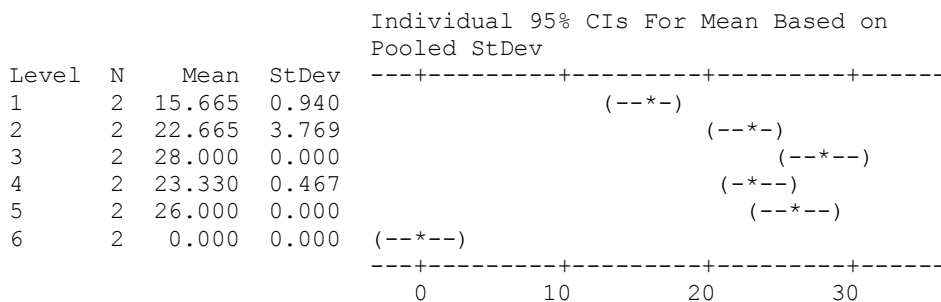
souche6	N	Mean	Grouping
3	2	31.660	A
6	2	29.000	A B
4	2	27.500	B C
5	2	25.000	C D
2	2	24.330	D
1	2	23.165	D

Means that do not share a letter are significantly different.

One-way ANOVA: reponce7 versus souche7

Source	DF	SS	MS	F	P
souche7	5	1067.69	213.54	83.70	0.000
Error	6	15.31	2.55		
Total	11	1082.99			

S = 1.597 R-Sq = 98.59% R-Sq(adj) = 97.41%



Pooled StDev = 1.597

Grouping Information Using Tukey Method

souche7	N	Mean	Grouping
3	2	28.000	A
5	2	26.000	A
4	2	23.330	A
2	2	22.665	A
1	2	15.665	B
6	2	0.000	C

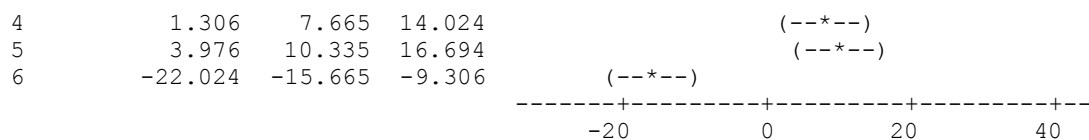
Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of souche7

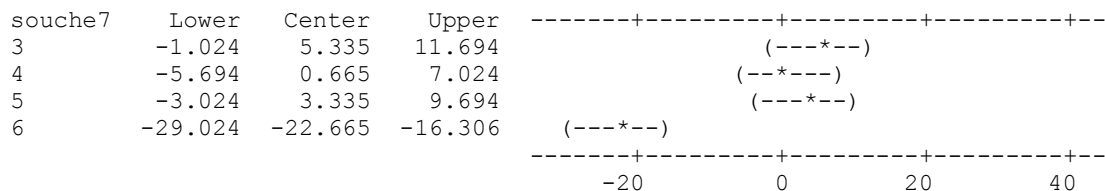
Individual confidence level = 99.27%

souche7 = 1 subtracted from:

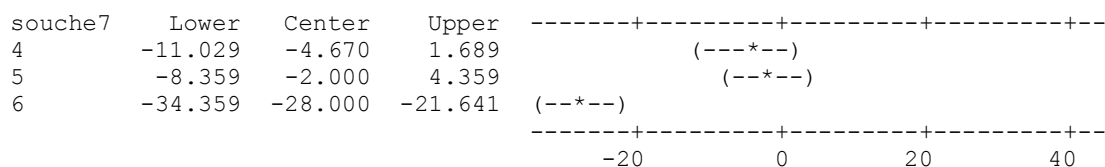
souche7	Lower	Center	Upper
2	0.641	7.000	13.359
3	5.976	12.335	18.694



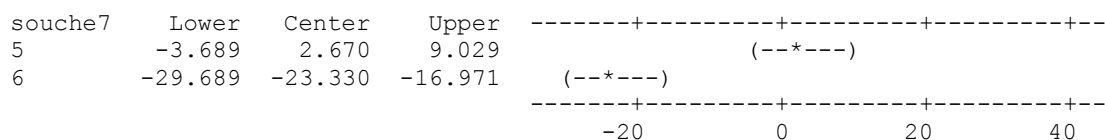
souche7 = 2 subtracted from:



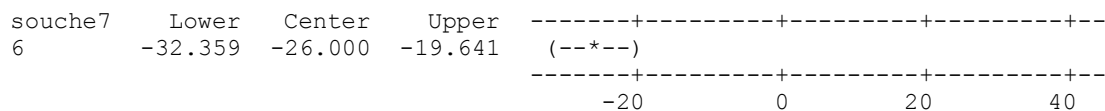
souche7 = 3 subtracted from:



souche7 = 4 subtracted from:



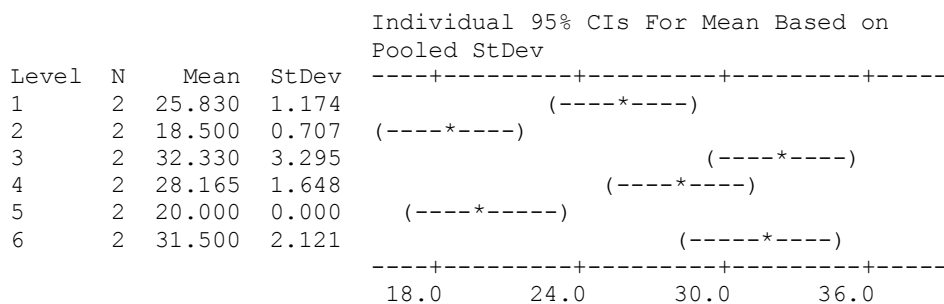
souche7 = 5 subtracted from:



One-way ANOVA: reponce8 versus souche8

Source	DF	SS	MS	F	P
souche8	5	334.53	66.91	20.12	0.001
Error	6	19.95	3.33		
Total	11	354.48			

S = 1.823 R-Sq = 94.37% R-Sq(adj) = 89.68%



Pooled StDev = 1.823

Grouping Information Using Tukey Method

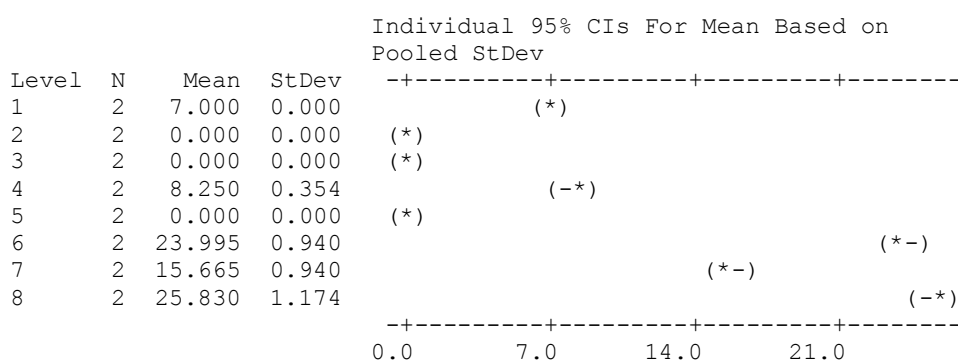
souche8	N	Mean	Grouping
3	2	32.330	A
6	2	31.500	A
4	2	28.165	A
1	2	25.830	A B
5	2	20.000	B C
2	2	18.500	C

Means that do not share a letter are significantly different.

One-way ANOVA: reponce a versus extrait a

Source	DF	SS	MS	F	P
extrait a	7	1581.070	225.867	552.29	0.000
Error	8	3.272	0.409		
Total	15	1584.342			

S = 0.6395 R-Sq = 99.79% R-Sq(adj) = 99.61%



Pooled StDev = 0.640

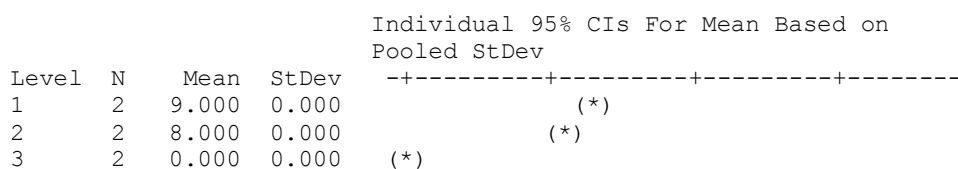
Grouping Information Using Tukey Method

extrait a	N	Mean	Grouping
8	2	25.830	A
6	2	23.995	A
7	2	15.665	B
4	2	8.250	C
1	2	7.000	C
5	2	0.000	D
3	2	0.000	D
2	2	0.000	D

One-way ANOVA: reponce b versus extrait b

Source	DF	SS	MS	F	P
extrait b	7	1224.308	174.901	873.28	0.000
Error	8	1.602	0.200		
Total	15	1225.911			

S = 0.4475 R-Sq = 99.87% R-Sq(adj) = 99.75%



4	2	0.000	0.000	(*)
5	2	0.000	0.000	(*)
6	2	24.330	0.467	(*)
7	2	15.665	0.940	(*)
8	2	18.500	0.707	(*)

+-----+-----+-----+-----+-----+
0.0 7.0 14.0 21.0

Grouping Information Using Tukey Method

extrait b	N	Mean	Grouping
6	2	24.330	A
8	2	18.500	B
7	2	15.665	C
1	2	9.000	D
2	2	8.000	D
5	2	0.000	E
4	2	0.000	E
3	2	0.000	E

Means that do not share a letter are significantly different.

One-way ANOVA: reponce c versus extrait c

Source	DF	SS	MS	F	P
extrait c	7	1617.14	231.02	168.04	0.000
Error	8	11.00	1.37		
Total	15	1628.14			

S = 1.173 R-Sq = 99.32% R-Sq(adj) = 98.73%

Grouping Information Using Tukey Method

extrait c	N	Mean	Grouping
8	2	32.330	A
6	2	31.660	A
7	2	28.000	A
5	2	21.000	B
2	2	16.200	C
4	2	16.000	C
1	2	14.985	C
3	2	0.000	D

Means that do not share a letter are significantly different.

One-way ANOVA: reponce d versus extrait d

Source	DF	SS	MS	F	P
extrait d	7	2627.560	375.366	874.91	0.000
Error	8	3.432	0.429		
Total	15	2630.992			

S = 0.6550 R-Sq = 99.87% R-Sq(adj) = 99.76%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev				
Level	N	Mean	StDev	
1	2	0.000	0.000	(*)
2	2	0.000	0.000	(*)
3	2	0.000	0.000	(*)
4	2	0.000	0.000	(*)
5	2	0.000	0.000	(*)
6	2	27.500	0.707	(*)
7	2	23.330	0.467	(*)
8	2	28.165	1.648	(*)

+-----+-----+-----+-----+-----+
0.0 8.0 16.0 24.0

Pooled StDev = 0.655

Grouping Information Using Tukey Method

extrait d	N	Mean	Grouping
8	2	28.165	A
6	2	27.500	A
7	2	23.330	B
5	2	0.000	C
4	2	0.000	C
3	2	0.000	C
2	2	0.000	C
1	2	0.000	C

Means that do not share a letter are significantly different.

One-way ANOVA: reponce e versus extrait e

Source	DF	SS	MS	F	P
extrait e	7	268.810	38.401	218.46	0.000
Error	8	1.406	0.176		
Total	15	270.216			

S = 0.4193 R-Sq = 99.48% R-Sq(adj) = 99.02%

Grouping Information Using Tukey Method

extrait e	N	Mean	Grouping
7	2	26.000	A
6	2	25.000	A
2	2	20.200	B
8	2	20.000	B
1	2	17.500	C
3	2	16.000	C D
5	2	15.625	D E
4	2	14.000	E

Means that do not share a letter are significantly different.

One-way ANOVA: reponce f versus extrait f

Source	DF	SS	MS	F	P
extrait f	7	2778.059	396.866	486.11	0.000
Error	8	6.531	0.816		
Total	15	2784.590			

S = 0.9036 R-Sq = 99.77% R-Sq(adj) = 99.56%

Grouping Information Using Tukey Method

extrait f	N	Mean	Grouping
8	2	31.500	A
6	2	29.000	A
1	2	18.125	B
7	2	0.000	C
5	2	0.000	C
4	2	0.000	C
3	2	0.000	C
2	2	0.000	C

Means that do not share a letter are significantly different.