



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



مذكرة تخرج

لنيل شهادة ماستر أكاديمي
ميدان: علوم الطبيعة والحياة
شعبة: علوم بيولوجية
تخصص: التنوع البيئي والمحيط
الموضوع

دراسة الفاعلية البيولوجية والكيميائية لنبات النعناع

من إعداد الطالبات :

- محدة سمية

- جعفرور رانيا

- بن عمر رحمه

- لخويمس مسعودة

نوقشت يوم / / من طرف اللجنة المناقشة :

جامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي
جامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي
جامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي

مؤطرا
رئيسا
مناقشا

أستاذ مساعد قسم أ

سنيقرة موسى

الشكر والعرفان

الحمد لله حمدا كثيرا كما ينبغي لجلال وجهه وعظيم سلطانه ، الحمد لله الذي هدانا وانا ر خطانا في طريق العلم والمعرفة
فكنا بفضلہ ونعمہ علينا ان كنا خير امة اخرجت للناس ، وسلام على خاتم الانبياء والمرسلين حبيبنا وسيدنا محمد
صلى الله عليه وسلم .

ومن ثم نتوجه بخالص الشكر والتقدير الى استاذنا ومشرفنا الفاضل "سنيقرة موسى" الذي كان خير عوننا لنا في
انجاز هذا العمل لما قدمه من نصائح وتوجيهات كانت قيمة في هذا البحث ، كما نشكره على حسن تعامله ورعاية
صدره

ونشكر اساتذتنا الكرام في لجنة المناقشة رئاسة واعضاء لقبولهم مناقشة هذه المذكرة ، وكما نشكر جميع اساتذتنا خلال
مشوارنا الدراسي

واخير نشكر كل من كان لنا عوننا لنا و شجعنا من الاهل والاصدقاء والاساتذة وغيرهم ونسال الله ان يجزيكم عنا
خير جزاء

إهداء

أهدي ثمرة كفاحي :

إلى من كان دعاءها لي دائما سر نجاحي وتوفيقي ومن تنير دربي بوجودها بجاني الى من تحلو الحياة بوجودها معي الى أُمي الحبيبة " زينب " حفظها الله وأطال الله في عمرها

إلى من سهر الليالي من اجلي وتعب كثيرا وكاف مرارة الحياة لكي يراني في اعلى المراتب وعلمني ان أكون سند لِنفسي و لم يخل علي طيلة حياته الى والدي العزيز "جيلاني" حفظه الله لي وأطال عمره وجعله سندا لي ورزقه من واسع رزقه

الى نور حياتي وعزها ، الى من اشدد بيه أزري الى سندي الغالي الى أخي خليل وفقه الله ورعاه إلى الذين كانوا معي دائما بدعئهم لي والذي بوجودهم ورؤيتهم سر سعادتي أخواتي هدى ، أسماء أميرة حفظكم الله من كل شر وأنا ر دريكم

والى صديقاتي الذين كنا معي في مشوار الدراسة والتخرج رحمة سمية رانيا ومن ذكرتن ولم اذكرهن واخص بالذكر صديقتي "حنان لخويس"

كما اتقدم بجزيل الشكر والتقدير الى الدكتور "يوسف ميلودي" على دعمه لي دائما

إلى جميع اصدقائي ولجميع أساتذة قسم بيولوجيا

وألى كل من سقط قلبي عن ذكره سهوا اهدي هذا العمل

إهداء

الحمد لله حق حمد، حمدا كثيرا مباركا ، والشكر له وحده بأن وهبنا العقل وفضلنا بالعلم ، ووفقنا لهذا العمل والصلاة والسلام على رسول الله صلى الله عليه وسلم.

إلى من فاق حنانه غزارة الأمطار ، وتحدى صبره مرارة الأقدار وبنى لي بعطفه قصرا من الأحلام والأسرار، الى من اشعل لهيب العلم في صدري وتلقى نجاحي دوما بالأحضان وتبع خطواتي رغم مشاكل الزمان ، الى من أدين له بحياتي إلى أبي الغالي "علي" شفاك الله وأطال في عمرك وأدام عافيتك.

إلى من غرست في العطف صفات ووصفت لي الأهل طرقات ومسحت بإبتسامتها من عيوني عبرات وفي صلاتها كم أكرت لي من الدعوات ، إلى من ربّنتي صغيرة وسهرت عليا كثيرا ، الى زهرة أيامي ونور إلهامي وعطر أحلامي ومنبع حناني فلها مني كل الحب والتقدير أُمّي الغالية "فوزية" ادام الله عليكى الصحة والعافيه وحفظك الله لي.

إلى صاحبة الوجه الطيب و الافعال الحسنة "ماما ساسية" شفاك الله وأطال في عمرك وادام عليكى الصحة والعافيه وحفظكي الله لي

إلى من أزهرت حياتي بوجوده فكان السند ومصدر الحب والأمل ليهو الذي كلما ضاقت بي الأيام وجدته بجانبى زوجي قرة عيني حفظه الله لي "حاتم"

إلى السند والدعم الحقيقي في الحياة أخوتي أيوب ، سيف وزوجته ، طه وزوجته ، عبد الحق ، عبد الستار 'لؤي وشقيقتاي الحادة وزوجها والتي تحملت معي مشقت الحياة وكانت الداعم الأول لي ايمان، حفظهم الله ورزقهم من واسع فضله

إلى عائلة زوجي اللهم أدمهم لي وأحفظهم لي يا رب هما سندي في حياتي مهدي ،وائل، صفاء، مروة

واتوجه بالشكر الجزيل الى الدكتور محده إسماعيل

إلى جميع اصدقائي وإلى كل من حملته ذاكرتي ولم تحمله مذكرتي ، اهديكم ثمرة جهدي

إهداء

أهدي ثمرة جهدي هذا إلى أعز وأغلى إنسانة في حياتي ، التي أنارت دربي بنصائحها ، وكانت بحرا صافيا يجري بفيض الحب ، و البسمة إلى من زينت حياتي بيضاء البدر ، و شموع الفرح ، إلى من منحتني القوة والعزيمة ، لمواصلة الصبر والاجتهاد ، إلى أمي وأبي اللهم أحفظهم لي يا رب ، إلى اهلي زوجي اللهم أدمهم لي وأحفظهم لي يارب هما سندي في حياتي وإلى زوجي الغالي (طيب) وأخيرا اهدي هذا التخرج إلى أخواتي (فاطمة ، و وفاء، و عبد اللطيف ، وصلاح الدين) كل كانوا معي في كل وقت وإلى العائلي الكريمة وزملاء الدراسة إلى كل من ساعدني وكنا سند لي في مذكرة تخرج (إيناس،هاجر ، ازدهار ، ورحمة ، منال ، شريفة)، وأيضا كل لأشخاص الذين أحمل لهم المحبة والتقدير واهدي هذا إلى صديقاتي التي كنا معي طيلة المشوار تخرج (رحمة ، مسعودة ، سميرة) ونسال الله أن يجعله نبراسا لكل طالب علم .

إهداء

الحمد لله الذي أعاننا بالعلم وزيننا بالحلم وأكرمنا بالتقوى

أتقدم بإهداء عملي المتواضع إلى سر الكيان ونبع الحنان وتحت أقدامها الجنان ومن أوصانا بها الرحان أمي مبروكة
إلى من أنار لي طريق الحياة وسأحمل جميله إلى آخر عمري إلى من لم ييخل عليًا بعبء المعنوي قبل المادي أبي
جمال الدين

إلى من كانوا خير سند وفخر لي في الحياة أخوتي (فتحي، ياسين والهادي) وإلى نبض الحياة وأمنها أخواتي (حكيمه،
امال، منى، خولة، كوثر، نجاة،

مغفرة وملاك) وإلى كل أحفاد البيت حفظهم الله وإلى من يرسم ابتسائي عند رؤيته ابن أختي "جود" وإلى من
ملأ البيت بهجة وسرورا بقدمه ابن أخي "عمار" وإلى صديقاتي في هذا العمل مسعودة وإلى كل من ساعدني
ولو بكلمة أو دعاء.

فهرس المحتويات

فهرس المحتويات

الصفحة	المحتوى
	شكر وعرفان
	إهداءات
I	الفهرس
VI	قائمة الأشكال
VIII	قائمة الجداول
X	قائمة المختصرات
	الجزء النظري
VII	ملخص الدراسة
1	مقدمة
	الفصل الأول : عموميات حول النباتات الطبية دراسة نبات النعناع عموما
5	I-1 - نظرة عامة حول النباتات الطبية والعطرية
5	I-2 - تعريف النباتات الطبية
5	I-3 - تعريف النباتات العطرية
5	I-4 - العائلة الشفوية
6	II دراسة نبات النعناع عموميات
6	II-1-نبات النعناع Menthe
6	II-2- التصنيف النباتي للنعناع
7	II-3 - الوصف المورفولوجي لنبات النعناع
7	II-4 - النوع Menthaspicata
7	II-5 - أماكن التواجد
	الفصل الثاني: نواتج الأيض
9	I-1- المركبات الأيضية
9	I-1-1 - المركبات الأولية
9	I-1-2 - المركبات الثانوية
10	I-2-1 - التانينات
10	I-2-2 - القلويدات
12	I-2-3 - الفلافونيدات
13	I-2-4 - الصابونيات
13	I-2-5 - التربينات
14	I-2-6 - الفينولات
	الفصل الثالث: الأكسدة مضادات والبكتيريا
17	I- مضادات الأكسدة
17	I-1- تعريف مضادات الأكسدة
17	I-2- تصنيف مضادات الأكسدة

19	II- الإجهاد التأكسدي
19	II-1 - تعريفه
19	II-2 - مؤشرات الإجهاد التأكسدي
20	II-3 - أضرار الإجهاد التأكسدي
20	II-4 - الإجهاد التأكسدي وعلاقته بالأمراض
20	II-5 - الجذور الحرة
20	II-5-1- تعريف الجذور الحرة
20	II-5-2- أنواع الجذور الحرة
22	II-5-3- مصادر الجذور الحرة
22	II-5-5- طرق تفاعلات الجذور الحرة
23	II-5-5- أضرار الجذور الحرة
23	III- دراسة البكتيريا
23	III-1 - البكتيريا
24	III-1-2 - تعريفها
24	III-1-3 - تسمية البكتيريا
24	III-1-4 - أصناف البكتيريا
25	III-1-5 - دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا
29	III-2- الفطريات
29	III-2-1- تعريف الفطريات
29	III-2-2- الفطر candida albicans.
31	III-2-3- الفرق بين البكتيريا والفطريات
الجزء التطبيقي	
الفصل الأول: طرق العمل	
35	I- الدراسة المخبرية
35	I-1- تحضير المادة النباتية المدروسة
35	I-1-1 - الحفظ والتجفيف
35	I-1-2 - الأدوات والوسائل والمحاليل المستعملة
36	I-1-3 - الهدف من الدراسة
36	I-2 - الاختبارات الفيتو كيميائية الأولية
36	I-2-1 - الكشف عن التانينات
36	I-2-2 - الكشف عن القلويدات
36	I-2-3 - الكشف على الفلافونيدات
36	I-2-4 - الكشف عن الصابونيات
36	I-2-5 - الكشف عن التربينات الثلاثية
37	I-2-6 - الكشف على الراتيجينات
37	I-3- استخلاص
38	I-4 - استخلاص الزيوت العطرية
40	II- تقدير انفعالية المضادة الأكسدة

40	1-II - اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH
40	1-1-II - اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH
42	2-1-II - اختبار القدرة الأرجاعية FRAP
43	2-II - التقدير الكمي لمركبات الفينولية
43	1-2-II - التقدير الكمي لعديدات الفينول
44	2-2-II - التقدير الكمي للفلافونيدات
45	III- البكتيريا
45	1-III - دراسة النشاط المضادة للسلالات البكتيرية
45	1-1-III - تنمية مزارع بكتيرية حديثة
45	2-1-III - تحضير أوساط الزرع
45	3-1-III - طريقة العمل
45	4-1-III - زراعة البكتيريا
45	5-1-III - تطبيق الأقراص
الفصل الثاني: النتائج والمناقشة	
48	1-I - النتائج المتحصل عليها بعد الكشف الكيميائي عن مركبات الأيض الثانوي لنبات النعناع Menthe
49	II- نتائج تقدير الفاعلية المضادة للأوكسدة
49	1-II - اختبار الجذر الحر DPPH
50	2-II - نتائج حمض الاسكروبيك
50	3-II - حساب قيمة IC50
51	4-II - نتائج FRAP
51	5-II - حساب قيمة IC50
52	6-II - نتائج حمض الغاليك
53	III- نتائج التقدير الكمي
53	1-III - التقدير الكمي للفينويدات
54	2-III - التقدير الكمي لعديدات الفينول
56	3-III - نتائج البكتيريا
58	الخاتمة
60	الملحق
63	المراجع

قائمة الأشكال

قائمة الأشكال

رقم الشكل	عنوان	الصفحة
1	نبات النعناع الأخضر	6
2	طرق تصنيع مركبات الايض الثانوي	9
3	بنية القلويدات الحقيقية	11
4	بنية القلويدات الأولية	11
5	بنية القلويدات الكاذبة	12
6	الهيكل الفلافونيدات و أهم المواقع المتداخلة في تأثيراته الحيوية	12
7	البنية الكيميائية الصابونيات	13
8	تشكل وحدة التربينات	14
9	بعض الأحماض الامينية الفينولية	15
10	أمثلة عن مضادات الأكسدة المستعملة في الصناعة الغذائية	18
11	اختلال في التوازن ما بين مولدات الأكسدة ومضادات الأكسدة	19
12	البنيات الرنينية في جزيء DPPH	21
13	الشكل الحر (المؤكسد) و المرجع ل DPPH	21
14	شكل يوضح بنية البكتيريا	24
15	تصنيف البكتيريا	25
16	ملاحظة بالمجهر بكتيريا <i>Escherichia coli</i>	26
17	ملاحظة بالمجهر بكتيريا <i>Staphylococcus</i>	27
18	ملاحظة بالمجهر بكتيريا <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28
19	صورة بكتيريا <i>Klebsiella pneumoniae</i>	29
20	فطر <i>Candida albicans</i>	30
21	عملية ترشيح النبات	37
22	المستخلص بعد الترشيح	38
23	المستخلص بعد التجفيف	38
24	مخطط طريقة انتشار أجار	46
25	منحنى يمثل نسبة إرجاع مستخلص (اثانول – ماء) لجذر DPPH	49
26	منحنى يمثل نسبة إرجاع حمض الاسكوربيك لجذر DPPH	50
27	منحنى يمثل التقدير الكمي للفلافونيدات لمحلول الكريستين	51
28	منحنى يمثل التقدير الكمي لعديدات الفينول ل Acide Gallique للجزء الهوائي لنبات النعناع	52
29	تمثل بعض المحاليل المدروس	53
30	الشكل 30: حالات التثبيت للزيت العطري على السلالات الجرثومية بالتراكيز المختلفة I=1% . II=2.5% . III=5%	54

قائمة الجداول

قائمة الجداول

الرقم	عنوان الجدول	الصفحة
1	يوضح التصنيف النباتي للنوع	7
2	يوضح تصنيف فطر <i>Candida. albicans</i>	30
3	المواد والأدوات والأجهزة المستعملة	35
4	يوضح مردود الاستخلاص	38
5	يمثل الجدول الأدوات والأجهزة والمحاليل المخبرية المستعملة أثناء عملية الاستخلاص	39
6	يبين كمية الزيت ونسبة المردود المستخلص لنبات النعناع menthe	40
7	المواد والأدوات المستعملة DPPH	40
8	تراكيز المحاليل المخففة المحضرة للمستخلص DPPH	41
9	تراكيز المحاليل المخففة المحضرة للمستخلص	41
10	المواد والأدوات والأجهزة المستعملة للقدرة الارجاعية FRAP	42
11	المواد والأدوات والأجهزة المستعملة للتقدير الكمي لعديد الفينول	43
12	المواد والأدوات والأجهزة المستعملة للتقدير الكمي للفلافونيدات	45
13	نتائج الكشف الكيميائي عن مركبات الأيض الثانوي في النبات النعناع	48
14	قيم الامتصاصية الضوئية للمحلول المحضر	53
15	كمية الفلافونيدات للمستخلص	54
16	قيمة الامتصاصية للمستخلص	54
17	كمية عديدات الفينول للمستخلص	55
18	فطر التثبيط نبات النعناع مع مختلف السلالات البكتيرية و الفطر	56

الإختصارات

غ:الغرام

ملغ:ملغرام

مل:مللتر

م:°درجة مئوية

%:النسبة المئوية

M:النعناع

nm:نانومتر

Rendement:R

R^2 :معامل الارتباط

Inhibition concentration:IC₅₀

Pourcentage d'Inhibition:I%

Ferric Reduging Antioxydant Power:FRAP

2,2-diphenyl-l-picrylhydrazyl:DPPH

microgramme:μg

الجزء النظري

الملخص

نبات النعناع *Mentha spicata* من النباتات الطبية والعطرية التابع للعائلة الشفوية، عرف منذ القدم بخصائصه العلاجية نظرا لاحتوائه على العديد من المركبات الفعالة لذا كان الهدف من هذه الدراسة هو الكشف الكيميائي عن بعض مركبات الأيض الثانوي وكذلك استخلاص الزيت الأساسي بالإضافة إلى دراسة الفعالية البيولوجية والكيميائية عن طريق اختبار تثبيط الجذر DPPH والقدرة الأرجاعية FRAP وكذلك التقدير الكمي لعديد الفينول والفلافونيدات.

أظهرت نتائج اختبارات الكشف الكيميائي للنبات المدروس عن وجود القلويدات، التانينات، الصابونيات، الفلافونيدات، التربينات الثلاثية وغياب الراتنجينات.

بعد عملية الاستخلاص قدر المردود في المستخلص (إيثانول_ماء) ب 0.92% ومردود الزيت الأساسي ب 1.04%.

ومن خلال نتائج تقدير النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص (إيثانول_ماء) للجزء الهوائي للنبات باستعمال اختبار DPPH بينت النتائج أن قيمة IC_{50} للمستخلص (إيثانول_ماء) قدرت ب 134,67 ug/ml. أما حمض الاسكوربيك قدرت ب 60.25 ug/ml.

وفي اختبار القدرة الأرجاعية FARP بينت النتائج أن قيمة IC_{50} للمستخلص (إيثانول_ماء) قدرت

ب 193,78 ug/ml أما بالنسبة لحمض الغاليك قدرت ب 148.80 ug/ml.

كما تم التقدير الكمي لعديد الفينول والفلافونيدات بالنسبة للمستخلص قدرت ب 97,76 ug/ml على التوالي.

وأخيرا دراسة النشاطية المضادة للبكتيريا من أجل معرفة مدى فعالية الزيت الأساسي على بعض السلالات البكتيرية *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* و *Klebsiella pneumoniae*، ومن خلال تحليل هذا الزيت الأساسي وجدنا أنه لديه نشاطية ضد البكتيريا المدروسة.

لكلمات المفتاحية: *Mentha spicata*. الاستخلاص. الكشف عن نواتج الأيض الثانوي. الفاعلية البيولوجية والكيميائية.

Abstract:

Mentha spicata is a medical and aromatic plant of the oral family The study aimed to detect secondary metabolites as well as extract essential oil as well as to study biological and chemical effectiveness by testing DPPH root inhibition and FRAP retrograde capacity as well as quantitative estimation of polyphenol and flavonides.

The results of the plant's chemical detection tests examined showed the presence of alkaloids, tannins, saponates, flavonides, triplets and the absence of ratings.

After the extraction process, the yield in the extract (ethanol _ water) is 0.92% and the base oil refund is 1.04%.

By estimating the antioxidant activity of the extract (ethanol _ water) of the plant's aerobic part using the DPPH test, the results showed that the IC₅₀ value of the extract (ethanol _ water) was estimated at 134.67 ug/ml. Ascorbic acid was estimated at 60.25 ug/ml.

In the FRAP retro-capability test the results showed that IC₅₀ value of extract (ethanol _ water) was estimated at 193.78ug/ml for galic acid was estimated at 148.80 ug/ml.

The quantitative estimate of many phenols and flavonides for the extract was estimated at 64.19 ug/ml and 97.76% respectively.

Finally ,the study of antibacterial activity in order to determine the effectiveness of essential oil on certain *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ,*Pseudomonas aeruginosa* ,*Klebsiella pneumoniae* and by analyzing essential oil, we found that has activity against bacteria .

Keywords: *Mentha spicata*. Debriefing .Detection of byproducts of metabolism .Biological and chemical effectiveness

.

مقدمة

بدأ اهتمام الإنسان بالنباتات الطبية والعطرية والسامة منذ نشأته ، استطاع الإنسان بفطرته أن يبحث عما يخفف آلامه وأمراضه باستخدام النباتات من حوله. من خلال التجربة ، كان قادراً على تحديد النباتات التي يمكنه استخدامها لتسميم الرماح لتمكينه من اصطياد الحيوانات. كما أدرك جودة النباتات التي تعطي اللحوم نكهة وطعمًا مقبولاً ، وكذلك النباتات التي تمكنها من الحفاظ على اللحوم من التلف. مع تطور المجتمع البشري ، تخصص بعض أعضائه - الذين عُرفوا بالأعشاب - في جمع الأعشاب والنباتات الطبية ، وكان من مهامهم تحضير الأدوية من الأعشاب ووصفها للحالات المرضية. ساهم الرومان والإغريق في التطوير العلمي للنباتات الطبية ، حيث اشتملت مراجعهم على حوالي 5000 نوع من النباتات الطبية ، ثم جاء العلماء العرب والمسلمون ، حيث كان لهم دور بارز في إثراء المعرفة بالأعشاب والنباتات الطبية (بوختي حبيبة. 2010).

تحتل النباتات الطبية حالياً مكانة كبيرة في الإنتاج الزراعي والصناعي ، وتحظى باهتمام كبير في العديد من البلدان المنتجة لها. أصبحت النباتات الطبية بديلاً للعديد من الأدوية والعقاقير التي كانت ذات يوم موضع اهتمام العديد من الجهات الصحية (بيكي امال 2020).

على الرغم من كثرة النباتات الطبية والعطرية البرية والمزروعة في الدول العربية ، ورغم الدور المهم والبارز لهذه النباتات في تأسيس وتصنيع الأدوية والعطور وبعض الصناعات الأخرى ، إلا أن تطويرها واستخدامها لم يتم بعد ، وبالرغم من ذلك فإن تنميتها والاستفادة منها لم تنظم على المستوى القومي حتى الآن، ولا يزال الاستفادة منها يعتمد على الجهود الذاتية لبعض الأفراد الذين يقومون بتصديرها للخارج بغرض الكسب المادي فقط. للأسف ، لا توجد سيطرة على جمع هذه النباتات وطرق الاستفادة منها ، على الرغم من أهميتها في الطب الشعبي في الدول العربية ، وتاريخها القديم. (عبد الباسط محمد السيد. 2010).

تعتبر منطقة البحر الأبيض المتوسط بمناخها المعتدل و الشمس مواتية بشكل خاص لزراعة النباتات الطبية والعطرية بفضل قدراتهم المطهرة. (Nadia.Meriem.2019) .

يعد نبات النعناع *Menthe spicata* واحداً من أهم النباتات الطبية والعطرية المعمرة، والذي ينتشر بصورة واسعة في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية من العالم، (فناش هاشم الداودي. 2013) والذي له تنوع لا حصر له من الاستخدامات ويحتل مكانة كبيرة في الطب التقليدي. يتم استخدامه لخصائصه الهضمية ومطهر ومنشط ومضاد للتشنج. غني بفيتامين C والحديد والمنغنيز. كما أنه يحتوي على خصائص مضادة للأكسدة. (Nadia.Meriem.2019).

الجزائر كغيرها من البلدان ، تزخر بكمية هائلة من النباتات الطبية والعطرية المحلية والإقليمية ، بما يعادل 3100 نوع من النباتات ، منها 19.7٪ مستوطنة نتيجة لاتساع المساحة وتنوع المناخ والتضاريس والتربة.(بيكي أمال، 2020).

يعتبر نبات النعناع خزائناً للجزيئات النشطة بيولوجياً التي لم يتم استكشافها بعد ، وهو مصدر هائل للمركبات الفينولية التي يجب استكشافها ، دعنا نذكر بشكل أساسي حمض الفينول والفلافونويد والفلافونول ... الخ. هذه المواد المضادة للأكسدة تقلل بشكل كبير من الأضرار التي تسببها الجذور الحرة في الجسم..(Nadia.Meriem.2019)

وهذا ما دفعنا في بحثنا للمساهمة في تبيين الثروة النباتية ودراسة بعض النباتات التي تنتمي إلى رتبة العائلة Lamiaceae ، فصيلة النعناعيات ، جنس *Menthe*، النوع النعناع الأخضر. *Mentha spicata* يعتبر هذا النوع من النباتات من أهم كنوز النباتات الطبية في جنوب الجزائر و منطقة ولاية الوادي بالضبط. يستخدم تقليدياً بشكل رئيسي في علاج العديد من الأمراض.

ولمعرفة ما مدى احتواء نبات *Mentha spicata* على المواد الفعالة ؟ وتقدير محتوى الفينولات والفلافونيدات و أيضا دراسة الفعالية مضادة للأكسدة و البكتيريا لمستخلص هذا النوع من النباتات.

أهداف هذه الدراسة هو إظهار استخلاص المواد الفعالة من هذا النبات ، وإبراز فعالية المستخلص الكيميائية والبيولوجية.

ومن أجل الإجابة عن هذه التساؤلات قسمنا دراستنا إلى جزئين:

الجزء النظري: يحتوي على 3 فصول وهي كالآتي :

- الفصل الأول: عموميات حول النباتات الطبية ودراسة نبات النعناع عموماً.

- الفصل الثاني: نواتج الأيض.

- الفصل الثالث: مضادات الأكسدة والبكتيريا.

الجزء التطبيقي: يحتوي على فصلين وهما كالآتي:

- الفصل الأول :الكشف عن المواد الفعالة واختبار تثبيط الجذر DPPH واختبار القدرة الارجاعية FRAP

- الفصل الثاني :التقديرات الكمية لمتعدد الفينول والفلافونيدات والبكتيريا.

الفصل الأول

عموميات حول النباتات

الطبيبة دراسة نبات النعناع عموما

1-I- نظرة عامة حول النباتات الطبية والعطرية:

يتواجد في الطبيعة النباتات الطبية والعطرية ولكن ليس هناك حدود فاصلة مفرقة بين النباتات الطبية والعطرية حيث أن بعض الزيوت المستخرجة من النباتات الطبية يكون لها تأثيرات فسيولوجية واستخدامات طبية مثل الزيوت المستخلصة من نباتات البردقوش والنعناع وقرفة... الخ ، كما أن بعض النباتات الطبية تحتوي مواد كيميائية طبية بالإضافة إلى الزيوت العطرية كما هو الحال في نبات الورد .(عنانة أمينة.2014).

2-I- تعريف النباتات الطبية:

عرف العالم Dragendra أن كل شيء من أصل نباتي ويمكن استعماله لمعالجة مرض معين فهو نبات طبي ، ويدعى النبات نباتاً طبيّاً إذا أمّلك عضو أو أكثر من أعضائه على مادة كيميائية واحدة أو أكثر بتركيز منخفضة أو مرتفعة وتكون لها القدرة الفسيولوجية على معالجة مرض معين أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض إذا أعطيته للمريض في صورتها النقية أو في صورة عشب نباتي طازج أو منخفض أو مستخلص جزئياً(مجراب حمزة.2020).

3-I- تعريف النباتات العطرية:

هي نباتات تحتوي في أوراقها أو أزهارها أو جذورها أو ثمارها أو بذورها على زيوت عطرية طيارة ذات رائحة . ويمكن استخلاصها بطرق مختلفة ، وتستخدم في مجالات متعددة.

للنباتات العطرية الطبية رائحة وذوق مميز ترجع إلى الزيوت الطيارة، كما لها فائدتين أساسيتين تتمثل في تحسين الذوق ورائحة الأغذية، كما تضاف إلى الأدوية المطهرة (هارون صبرينة.2019).

4-I- العائلة الشفوية:

تعتبر العائلة الشفوية (*Lamiaceae*) من النباتات التي تستعمل لعدة أعراض في حيلتنا اليومية، والتي تستعمل لعدة أغراض، وميزتها الزيوت الطيارة التي تفرزها الغدد المنتشرة على كافة الأجزاء النباتية والتي تستعمل في عدة مجالات صناعية من بينها صناعة العطور.

ومن بين هذه الأنواع الخرامة: Lavand، الجعدة Phlomis، النعناع menthe، الإكليل romarin.

ويعود أصل تسميتها إلى اللاتينية *labium*، والتي تعني شفتين، معظم نباتات هذه العائلة أعشاب حولية أو معمرة، أو شجيرات سيقانها قائمة أما أوراقها فتكون متقابلة متعامدة بسيطة. تشمل هذه الفصيلة حوالي 200 جنس و600 نوع تنتشر في جميع أنحاء العالم خصوصاً حوض البحر الأبيض المتوسط، كما ذكر مصدر آخر عن العائلة الشفوية يندرج ضمنها 266 جنس وحوالي 6000 نوع أغلب نباتاتها العطرية لها أهمية اقتصادية وطبية كبيرة لاحتوائها الزيوت الأساسية وعدد كبير من أجناس العائلة الشفوية تعتبر مصدر غني للتربينات والفلافونيدات . في الجزائر يوجد 140 نوع نباتي موزعة على 29 جنس من العائلة الشفوية تنتشر هذه الأنواع في مختلف مناطق البلاد.(عواوة آمنة.2017)

II- دراسة نبات النعناع عموما :

II-1- نبات النعناع *Menthe*:

يسمى بالعربية : النَّعْنَاع أو النَّعْنَع أو النَّعْنَع اللَّمَام وبالأمازيغية النعناعي (عثماني عبد العالي.2007) أما بالفرنسية *La menthe*، واسمه العلمي *Mentha spi cata* يعد نبات النعناع التابع للعائلة الشفوية من النباتات الطبية العطرية الهامة وكثير الانتشار في أنحاء العالم ، فهو يستخدم في الطب الشعبي وذلك لامتلاكه مدى واسع من الفعالية البيولوجية والصيدلانية ، ويمكن إضافته للشاي وبعض الأطعمة لإعطاء النكهة والمذاق، حيث أنه غني بالمغذيات والعناصر الغذائية ، وهو مصدر قوي لمضادات الأكسدة (د،ميساء ي و2آخرين .2015).



الشكل (1): نبات النعناع الأخضر.

II-2- التصنيف النباتي للنعناع:

المملكة	النباتية
الفرع	نباتات الأرض
القسم	النباتات الوعائية
الشعبة	البذريات
الصف	كاسيات البذور
الطائفة	ثنائيات الفلقة
الطبقة	لاميونات ورايات
الرتبة	الشفويات

الفصيلة	الشفوية
الاسم العلمي	<i>Mentha spicata</i>

الجدول (1) يوضح التصنيف النباتي للنعناع: (تليب مروة و بوخطة شهرزاد. 2022)

II-3- الوصف المورفولوجي لنبات النعناع :

هو نبات عشبي معمر يتراوح طوله بين 39 إلى 100 سم طويل القامة يبلغ طول أوراقه من 5 إلى 9 سم وعرضها 1.5 إلى 3 سم، يحتوي على هوامش مسننة وجذع على شكل مربع وهو سمة مميزة لعائلة هذا النوع من الأعشاب. (بيكي امال و بيكي عبد المالك. 2020)

II-4- النوع *Menthe spicata*:

هو نبات عشبي معمر، له ساق مربعة الشكل، الأوراق جالسة أو شبه جالسة ، مسننة ذات قمة حادة، عادة طول الورقة أكبر من عرضها على الأقل بثلاث مرات، ذات تعرق شبكي ، رمحية الشكل، خضراء اللون. الأزهار بنفسجية ، وردية أو بيضاء اللون، الأزهار على شكل سنبلية طرفية بدون أوراق (السنبل غير مورقة)، رقيقة و متطاولة (04-08) سم التويج لا توجد فيه شعيرات أو أوبار عند العنق، لها شعيرات أو أوبار جد رقيقة. زراعة هذا النوع النباتي منتشرة وغالبا ما ينمو طبيعيا . (بوخبتي حبيبة. 2010) .

II-5- أماكن التواجد:

النعناع يتواجد في المناطق المعتدلة في معظم بلدان العالم و خاصة في آسيا وإفريقيا وأوروبا. يفضل زراعة نبات النعناع في التربة الغنية بالمواد العضوية و تكون رطبة وطينية، ويتم زراعته في أماكن شبه مظلة أو مشمسة وكذلك تتم زراعته في الأراضي الرملية، ونبات النعناع يتحمل درجات عالية من الحموضة الأرضية (Hp5.2) يعتبر من النباتات المحببة للمزارعين لأنه يمكن زراعته في مناطق مختلفة المناخ . (فتيحة جمعة عبد الله عبد الله ، 2018).

الفصل الثاني

نواتج الأيض

I-1- المركبات الأيضية:

المركبات الأيضية هي مواد عضوية طبيعية يقوم بتركيبها النبات أو الكائنات الحية. وتكمن أهميتها في دورها في التفاعلات الأيضية التي يتم فصلها من النباتات وهي عبارة عن جزيئات ناتجة من عمليات الأيض (تامة نور الدين. 2018). تنتج عنها نوعين من المركبات هما المركبات الأساسية أو الأولية والمركبات الثانوية:

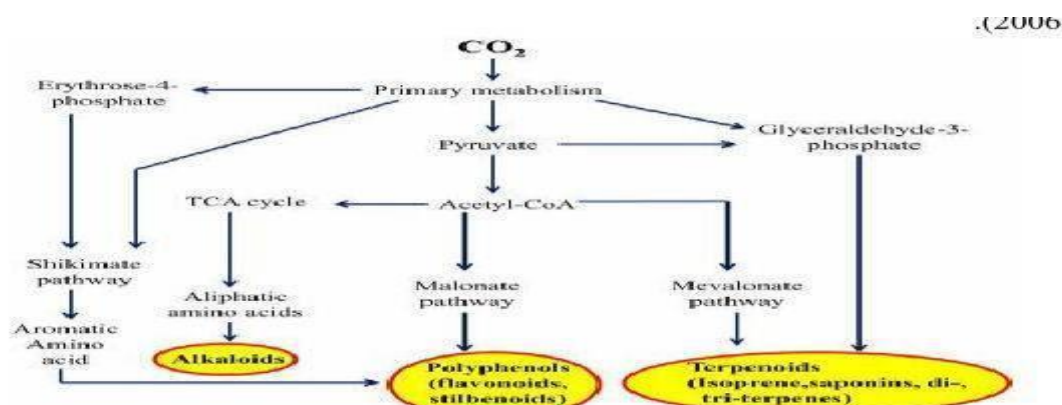
I-1-1- المركبات الأولية:

هي المركبات الأساسية في النبات كما تعرف بمواد البناء و تمتاز بحفاظها على استمرارية بقاء الخلية و ضرورية للنبات و تتمثل أهميتها بدورها الأساسي في عدة عمليات في النباتات مثل التنفس النمو والتطور والتركيب الضوئي وهي تتمثل في (الكربوهيدرات ،الدهون ،البروتينات)(إشراق دركي. 2020).

I-1-2- المركبات الثانوية:

هي مركبات عضوية معقدة كيميائيا تكون نتيجة لتفاعلات لاحقة وتنتج من مركبات الأيض الأولي ويتمثل دورها في النباتات كمقاومة الاجتهادات البيئية المتعددة والدفاع عن النبات من الكائنات المسببة للأمراض وكما أثبتت الدراسات أهميتها في صناعة الأدوية والعقاقير الطبية (حداء منال ودعمش مارية. 2017).

ويمكن تقسيم هذه المركبات كالتالي:



الشكل 02: طرق تصنيع مركبات الايض الثانوي (ذياب دنيا و 4 آخرون. 2022).

I- 1-2-التانينات:

هي عبارة عن مركبات أفضية ثانوية يتم إنتاجها من طرف النبات ، وهي مواد متعددة الفينول وفي بعض الأحيان تتكون على شكل حبيبات في السيتوبلازم وهي تربط القلويدات أو السيليلوز بكل سهولة و تمتاز بوزنها الجزيئي الذي يتراوح ما بين 500- 3000 دالتون (طبال يمنية و 3 آخرون. 2022).

كما أنها تتواجد التانينات في الكثير من النباتات كما يتم إنتاجه من قبل الطحالب البحرية. كما تتوزع في النباتات على مستوى اللحاء، الثمرة ، الأوراق، الجذور، وغيرها (دبار صفاء وزكايرة نرجس. 2020).

وتنقسم التانينات على حسب دورها كما يلي:

التانينات القابلة للتحلل:

وتتكون من أسترات الغلوكوز وحمض الغاليك وكما أن لها القدرة على التفكك بفعل التحلل الكيميائي .

□ التانينات المكثفة:

تختلف عن التانينات المحللة بغياب الوحدات السكرية في هيكلها البنوي (دبار صفاء و زكايرة نرجس. 2020).

وتتمثل أهمية التانينات فيما يلي:

- استعمالها في الصناعة الكيميائية
- تعتبر مضاد للإسهال
- معالجة الحروق
- دباغة الجلود
- أما بالنسبة للنباتات تعتبر وسيلة دفاعية في حالة تعرض النبتة للأضرار

I- 2-2-القلويدات:

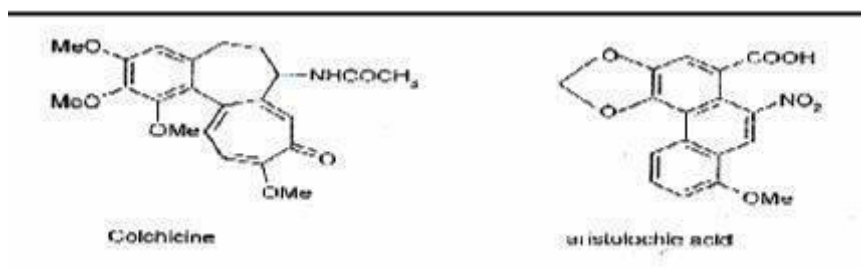
تعتبر من المركبات الأفضية الأكثر تنوعا في الكائنات الحية (طبال يمينه و 3 آخرون. 2021) وهي مركبات عضوية معقدة التركيب من أصل نباتي و تحتوي على النيتروجين، وقد تحتوي النباتات على أكثر من 100 من القلويدات (ضاوي هالة و أونيس لميس. 2021) .

تتوزع القلويدات في الغالب عند النبات على مستوى الجذور، الساق، الأوراق، اللحاء البذور، الزهور (ذياب دنيو 4 آخرون 2022).

ويتم تصنيف القلويدات على حسب الفصائل النباتية المستخلصة منها و تأثيراتها ومصادرها وكذلك الأحماض الامينية وتنقسم إلى أقسام:

*القلويدات الحقيقية:

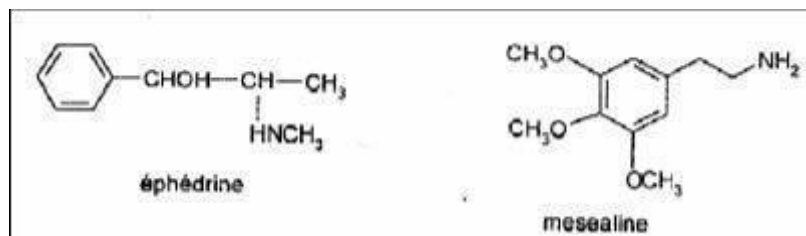
هي قلويدات سامة ذات تأثيرات فسيولوجية مختلفة كما أنها تحتوي على ذرة نيتروجين واحدة أو أكثر مشتقة من الأحماض الامينية وتوجد في النباتات كأملح عضوية.



الشكل 03:بنية القلويدات الحقيقية (ضاوي هالة أونيس لميس 2021).

*القلويدات الأولية:

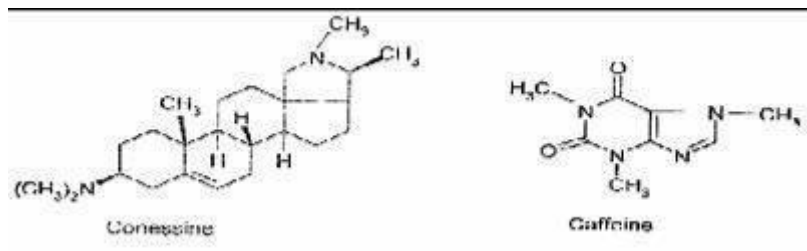
يطلق عليها اسم الأمينات حيوية المنشئ وهي قلويدات أساسية تتكون من أحماض أمينية بسيطة.



الشكل 04:بنية القلويدات الأولية (ضاوي هالة أونيس لميس 2021).

*قلويدات كاذبة:

يحتوي هذا الصنف على القلويدات الستيرويدية والقلويدات البيرينية وهي قاعدية لا تشتق من الأحماض الامينية .



الشكل 05: بنية القلويدات الكاذبة (ضاوي هالة أونيس لميس. 2021).

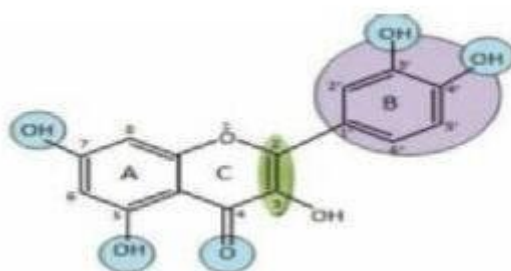
I- 2-3 - الفلافونيدات :

اسم فلافونيد مشتق من الكلمة اللاتينية *Flaves* (ذياب دنيا و 4 آخرون. 2022) وهي مركبات عضوية طبيعية وهي مركبات فينولية يتم إنتاجها من طرف النبات و تعتبر قسم رئيسي من الميتابوليزم الثانوي في النبات وهي صبغيات نباتية متوزعة على النبات كما أنها تتكون من بنية كيميائية مشتركة يتشكل منها الهيكل الكربون من 15 ذرة كربون 6C6-C3-C موزعة على حلقتين عطريتين سداسيتين (الحلقة A و B). (دبار صفاء و زكايرة نرجس. 2020).

زاد الاهتمام في السنوات الأخيرة بالمركبات الفلافونيدية بحيث بينت نتائج الأبحاث مكثفة في ميدان الطب البيولوجيا فعاليتها المضادة للسرطان ومضاد للحساسية ومضاد للفيروسات والبكتيريا والمضاد الأكسدة. (ذياب دنيا و 4 آخرون . 2022).

تتواجد الفلافونيدات في النباتات الوعائية وتوزع في مختلف أجزاء النبات في الجذور، أزهار، ثمار، وتتركز في الخلايا النباتية و بكميات كبيرة في الأوراق، البراعم الزهرية (دبار صفاء و نرجس زكايرة. 2022).

كما تساعد الفلافونيدات في عمليات التلقيح والإخصاب في النباتات عن طريق الأصبغة المسؤولة عن إعطاء الألوان الجاذبة للحشرات والطيور المساهمة في هذه العملية كما أن لها أدوار بيولوجية علاجية. (دبار صفاء و زكايرة نرجس. 2022).



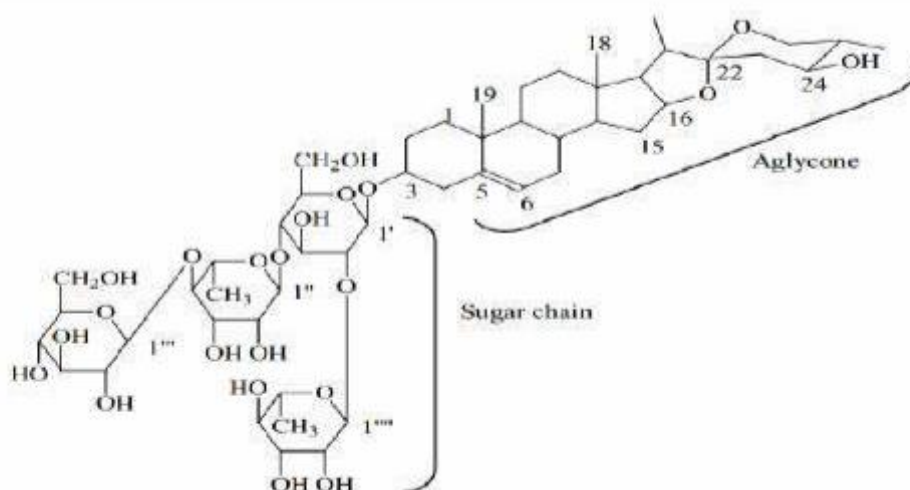
الشكل 06: الهيكل الفلافونيدات و أهم المواقع المتداخلة في تأثيراته الحيوية. (حذاء منال و دعمش مارية. 2017).

I- 2-4- الصابونيات :

اسم الصابونيات من الكلمة اللاتينية "صابو" والذي تعني رغوة وتتشكل من مجموعة من الغليكوزيدات غير متجانسة (بوليف هاجر. 2020) وتتميز بتشكلها رغوة خاصة مع اشتق الماء، وهي عبارة أيضا عن مجموعة كبيرة من الستويدات متواجدة عند النبات وتستعمل الصابونيات في عمليات التنظيف كمطهرات ومنظفات .

تتواجد الصابونيات في معظم النباتات وخاصة الأوراق لكنها لا تتواجد في البذور والساق. (دبار صفاء و زكايرة نرجس. 2020).

وكما أن لها فوائد للإنسان كمنعها لتخثر الدم عن طريق الحقن الوريدي ويعتبر مضاد للالتهابات الفطريات والبكتيريا. (هارون صابرينة . 2019).

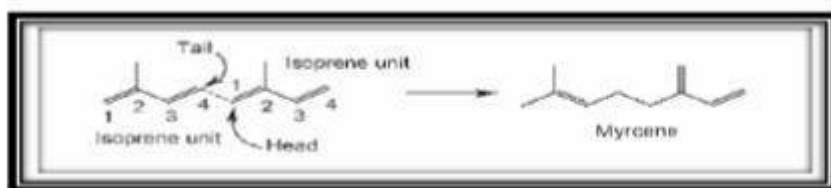


الشكل 07: البنية الكيميائية الصابونيات. (ذياب دنيا و 4 آخرون. 2022).

I- 2-5 - التربينات:

هي أحد المركبات الكيميائية الثانوية المتواجدة في النباتات (ضاوي هالة و أونيس لميس 2021) وتكون ذاتية في الدهون وذات تركيب حلقي (حداء منال و دعمش مارية. 2017) تحتوي على مركبات هيدروكربونية ذات صيغ كيميائية تدخل هيكلها مضاعفات من 5 ذرات كربون أي مضاعفات وحدة الأيزو برين الشكل 1. الذي يعرف كيميائيا ب(2-ميثيل 1، البيوتاديين). (بوليف هاجر. 2020).

كما تدخل التربينات في عملية التركيب الضوئي وفي تركيب بعض الهرمونات كما أن التركيب الحيوي للتربينات ليس خاص بالنباتات فقط. (دبار صفاء وزكايرة نرجس. 2020).



الشكل 08:تشكل وحدة التربينات.(ضاوي هالة أونيس لميس 2021).

أهمية التربينات:

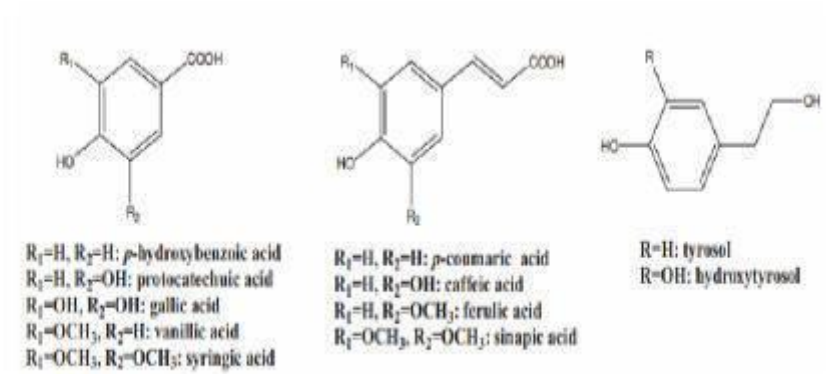
تتمثل أهمية التربينات عند النباتات في أن لها دور في التلقيح وتمنع الرائحة والطعم للكثير من النباتات، كما أنها تشمل العديد من المواد الهامة لنبات كزيوت الطيارة، المطاط، وغيرها كما تستعمل كمضادات للحشرات تحمي النباتات من الأضرار التي تسببها الحشرات وعند الإنسان لها أهمية بيولوجية كبيرة وذلك لأن لها عدة استعمالات مثل:

تعتبر مضادات للميكروبات والسرطان وللتهابات ومسكن للألم وكذلك مخدر للبول ومدر أيضا، كما يستعمل في العلاج الكيماوي لسرطان الرحم والثدي وبعض أنواع السرطان الرئة.(ضاوي هالة أونيس لميس 2021).

I- 2-6 - الفينولات:

هي مركبات أساسية من المركبات الثانوية في النباتات(إشراق دركي 2020) وهي الأكثر انتشارا في المملكة النباتية حيث تم اكتشاف أكثر من 8000 مركب فينولي (ذياب دنيا و 4 اخرون 2022) وتتميز بنية هذا المركب بوجود حلقة عطرية أو أكثر مرتبطة بعدة مجاميع هيدروكسيل (إشراق دركي 2020).

وتتواجد الفينولات عادة مرتبطة مع السكريات أو أسترات مبلورة أو الأحماض العضوية كما يمكن أن تتواجد حرة، على حسب عدد وترتيب ذرات الكربون الخاصة بها، كما يمكن تصنيف هذه الجزيئات إلى عدة مجموعات: الأنثوسيانين، الكومارين، الفلافونيد، التانينات، الأحماض فينولية.



الشكل 09: بعض الأحماض الامينية الفينولية. (ذيابدنيا و 4 آخرون. 2022).

الفصل الثالث

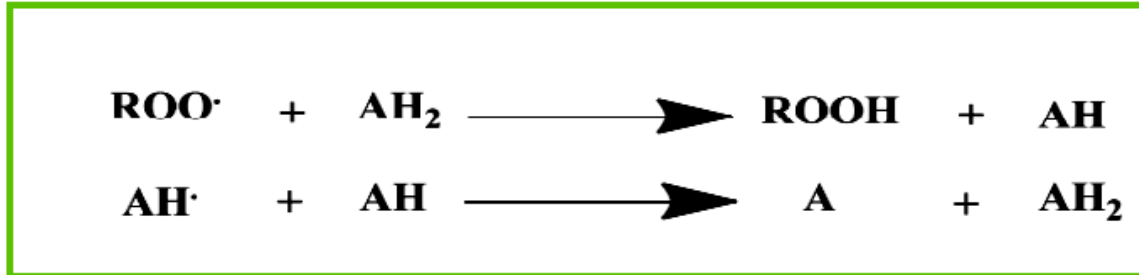
مضادات الأكسدة والبكتيريا

I- مضادات الأكسدة:

I-1- التعريف مضادات الأكسدة:

تعرف مضادات الأكسدة بأنها تلك المواد التي لها القدرة على تثبيط المواد المؤكسدة فهي تعمل منع تكوين أو منع تأثير أصناف الأكسجين والنتروجين الفعال الناشئين داخل الجسم ويؤديان إلى أضرار في الجزيئات الحيوية للخلية يتم ذلك بإضافة كم هائل من الإلكترونات إلى داخل الأوعية الدموية مما يحقق التوازن لذرات الأكسجين التي تحمل عناصر حرة وأيضاً والأهم أنه يعيد الخلية مسلوقة الإلكترون إلى توازنها وطبيعتها. ومن بين الشروط التي يجب أن تتوفر في مضادات الأكسدة المناسبة للجسم هي أن تتفاعل مع نواتج الأيض الأكسجين التفاعلية التي هي مواد بيولوجية سامة ، تعديل الجذر الحر دون أن تتحول بنفسها إلى جذر حر، وفصل الجذر الحر المرتص على مستقبلات خاصة معينة عن هذا المستقبل، وألا تكون سامة و مؤذية للجسم وقابلة للإنطراح من الجسم وغير قابلة للتخزين، و يجب أن يكون نصف عمر مضادات الأكسدة كبير بما فيه الكفاية للتفاعل مع المؤكسد. إلا أنه في الحقيقة فإن مواد قليلة تحقق هذه الشروط مجتمعة. (Howard, J. A,1968; Ursini, F,1999).

يتم الاتحاد بين الجذر و المضاد لتكوين مركب أكثر استقراراً كما هو توضحه المعادلة التالية :



I-2- تصنيف مضادات الأكسدة:

• تصنيف مضادات الأكسدة إلى نوعين اعتماداً على طبيعتها:

أ- مضادات الأكسدة الإنزيمية :التي تشمل إنزيمات مثل: الكاتالز، كلوتاتايون

S- ترانسفيريز (GST) وإنزيم ريل استيريز.

ب -مضادات الأكسدة غير الإنزيمية: مصدرها الغذاء أو تصنع داخل الجسم مثل: الألبومين وفيتامينات A, C, E. (علاوي مسعودة.2015).

تصنف مضادات الأكسدة اعتمادا على مصدرها:

أ- مضادات الأكسدة الطبيعية:

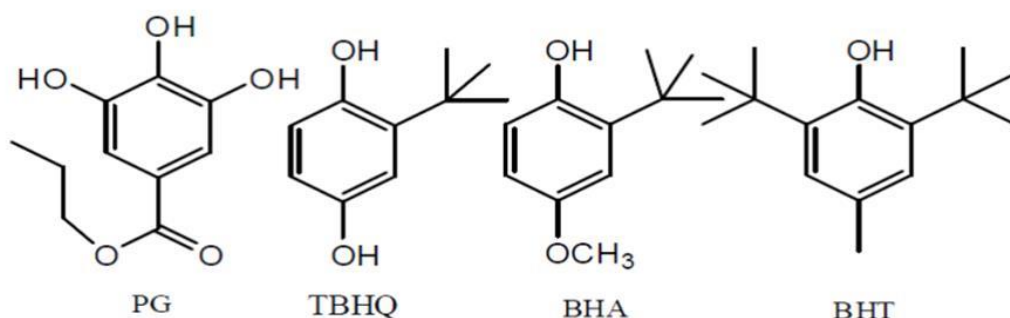
مضادات الأكسدة الطبيعية هي الطريقة الأفضل لإمداد الجسم بالحماية اللازمة ضد ضرر الشوارد الحرة منها وسائل دفاع طبيعية ذاتية داخلية مثل إنزيمات (Peroxydases, catalases) ومضادات خارجية وهي عوامل مضادة للأكسدة تستخرج من الغذاء كالفيتامين C، E، الزنك، السيلينيوم و البيتاكاروتين، ومما سبق يمكن أن نعرف مضادات الأكسدة بأنها مواد داخلية المصدر أو خارجية تستطيع أن تعدل أو تصلح الإتلاف الذي سببته الجذور الحرة. (خضرة عزري، 2013).

ب - مضادات الأكسدة الاصطناعية:

تستخدم المضادات الأكسدة الصناعية كثيرا في صناعة المواد الغذائية، مثل بوتيل هيدروكسي الانيسول (butylated hydroxyanisole (BHT))، بيوتل هيدروكسي طولوين (Butylated hydroxytoluene (BHT))، بروبيل غالاتي (propyl gallate (PG)) و ثالثي بوتيل الهيدروكينون (tert-butyl hydroquinone (TBHQ))، لأنها فعالة و اقل تكلفة من مضادات الأكسدة الطبيعية. تستخدم BHT و BHA للحفاظ على الدهون و الزيوت في مستحضرات التجميل و المستحضرات الصيدلانية. ومن أجل الحفاظ على نكهة و اللون و القيمة الغذائية . و مع ذلك ما زالت تحتاج إلى دراسة من الناحية سلامة استعمالها مثل المواد المضادة للأكسدة الطبيعية كالمستخرجة من الغذاء. (محمد الأخضر بالفار 2016). كما انه غير سام (معلول نجاح، 2021).

من أمثلتها:

Gallate : (PG) , Butyl hydroxyl toluene : (BHT), Butyl hydroxyl anisole : (BHA) , Tetra-bulhydroquinon : (TBHQ) , Propylée

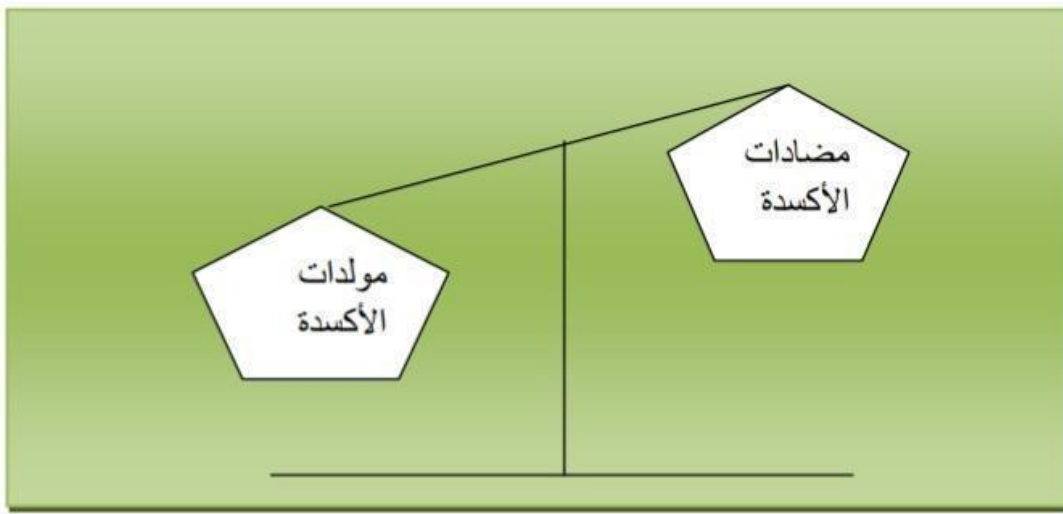


الشكل 10: أمثلة عن مضادات الأكسدة المستعملة في الصناعة الغذائية. (معلول نجاح، 2021).

II- الإجهاد التأكسدي:

II- 1- تعريفه:

في النظام البيولوجي يعرف الإجهاد التأكسدي على أنه اختلال في التوازن بين مضادات الأكسدة ومولدات الأكسدة، هذا الاختلال راجع إلى الإنتاج المفرط لمولدات الأكسدة أو نقص في مضادات الأكسدة وزيادة العناصر الانتقالية خاصة الحديد والنحاس (kirschvink N et al.2000) فيؤدي عدم التوازن هذا إلى ظهور أضرار خلوية غالبًا ما تكون غير عكسية (Tunez L et al.2011).



الشكل 11: اختلال في التوازن ما بين مولدات الأكسدة ومضادات الأكسدة. (ضاوي هالة و اونيس لميس. 2021).

II- 2- مؤشرات الإجهاد التأكسدي:

بينت دراسات بأنه يمكن استخدام طرق غير مباشرة لقياس حالة الأكسدة والإجهاد التأكسدي لدى الأشخاص عن طريق قياس نواتج عمليات الأكسدة المختلفة التي يمكن أن تحدث داخل الخلايا الحية من بين هذه المؤشرات:

*زيادة موت الخلايا ومؤشراتها الكيموحيوية.

*قياس زيادة أيونات الحديد وهو دليل على تلف وأكسدة متأخرة في الدم.

*انخفاض في مستويات مضادات الأكسدة الغير إنزيمية مثل فيتامين C.

*انخفاض فعالية مضادات الأكسدة الإنزيمية مثل إنزيم الكاتالاز (CAT).

*قياس المجموع الكلي لمضادات الأكسدة في الجسم .(ضاوي هالة و اونيس لميس .2021).

II-3- أضرار الإجهاد التأكسدي:

الإجهاد التأكسدي هو السبب الأول والرئيسي للعديد من الأمراض حيث يؤدي غالبا إلى موت الخلايا ومن بين الأمراض الناتجة عن الإجهاد التأكسدي نجد السرطان ،الشيخوخة المبكرة ،مرض السكري الزهايمر، تصلب الشرايين والأوعية الدموية (Favier A.2003) واعتماد عدسة العين وأمراض الشبكية، التهاب القصبات الهوائية الربو، فشل كلوي مزمن، الروماتيزم، السكتة الدماغية داء باركنسون .(Pham-Huy et al.2008).

II-4- الإجهاد التأكسدي وعلاقته بالأمراض:

يمكن أن تؤدي تأثيرات الجذور الحرة على العديد من الجزيئات البيولوجية إلى تغيرات في شكل الخلية ووظيفتها ونموها (Cakir et al,2010). حيث أظهرت العديد من الدراسات أن الإجهاد التأكسدي له دور مهم وإن لم يكن حاسما في بدء وتطوير العديد من الأمراض الحالية .ومن بين الأمراض التي يكون فيها الإجهاد التأكسدي عاملا مساعدا لها ، كالسرطان وأمراض القلب والأوعية الدموية ، الزهايمر والسكري.(Mohammedi,2013;Ksouri,2013).

II-5- الجذور الحرة:

II-5-1 تعريف الجذور الحرة:

تعرف الجذور الحرة على أنها وحدات كيميائية (ذرات أو جزيئات) تمتلك إلكترون أو أكثر حرا في مدارها الخارجي ما يجعلها غير مستقرة وتتفاعل بسرعة مع مركبات أخرى محاولة اقتناص ما ينقصها من إلكترونات لتصل إلى الثبات الكيميائي وعادة ما تهاجم الجذور الحرة أقرب جزيء ثابت إليها آخذة إلكترونات التي تحتاجها وفي هذه الحالة تتحول الجزيئات المهاجمة بدورها والتي فقدت إلكترون جذور حرة تبحث عن الاستقرار.(زكري روضة وساسوي رشيدة.2019).

II-5-2 أنواع الجذور الحرة:

تقسم الجذور الحرة إلى قسمين حسب النوع وحسب الاستقرار

*أ: تقسيم حسب النوع:

-الجذور الحرة الأكسجينية:مثل جذر الهيدروكسيل.

-الجذور الحرة النتروجينية:أكسيد النتريك وثنائي أكسيد النتروجين.

ب-الجذور الحرة الدهنية:جذور طويلة العمر لذلك تعتبر خطيرة.

-جذور السموم:وتشمل معظم المواد السامة..(Halliueil B et al .1984)

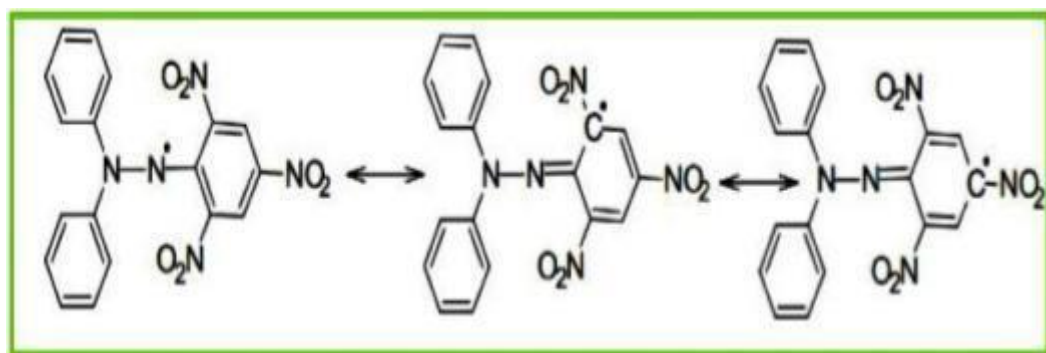
*ب: تقسيم حسب الاستقرار:

- جذور غير مستقرة: وهي جذور نشطة ولها أعمار قصيرة قد تصل أحيانا أعمارها إلى حدود البيكو ثانية ولها عدة أوزان صغيرة جدا من أمثلتها الكلور، الفلور، الهيدروجين، النروجين. (مهند حسن. 2018).

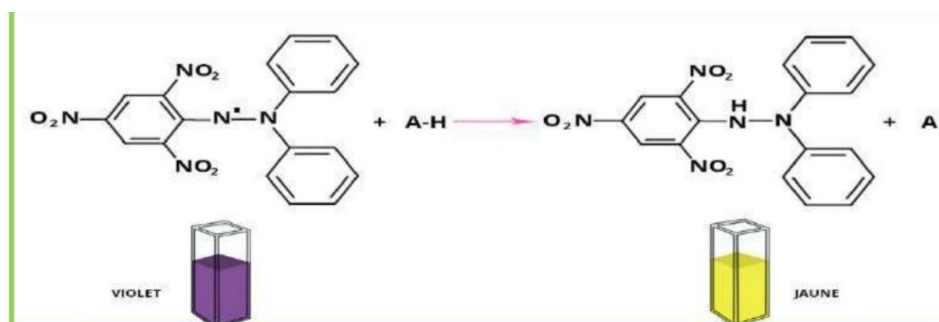
- جذور حرة مستقرة: حيث يقدر أعمار حياتها بالثواني أو الدقائق أو الساعات وحتى بالأيام مثل جذر ميثيل أمين وجذر ثنائي فينيل بكريل هيدرازيل DPPH. (زواد الهام و بوهلال أمال. 2022).

- الجذر DPPH: 2.2-ثنائي فينيل -1-بيكريل هيدرازيل

يبقى هذا الجذر مستقر لعدة أيام وذلك لوجود الحلقات الأروماتية والتي تحمل أشكالاً رنينية متعددة وهذا يعني عدم تركز الإلكترونات بوقع واحد DPPH و هو اختصار 1_ثنائي فينيل بكريل هيدرازيل وهو مادة صلبة ذات لون بنفسجي مسود يشبه لونه لون محلول $KMnO_4$ ويعطي لون برتقالي مصفر عند استقراره. (Ionita P. 2005).



الشكل 12: البنات الرنينية في جزيء DPPH



الشكل 13 : الشكل الحر (المؤكسد) والمرجع لـ DPPH. (تليب مروة و بوخطة شهرزاد. 2013).

II-5-3 - مصادر الجذور الحرة:

***مصادر داخلية:**

-عمليات الأكسدة.

-التنفس وسلسلة نقل الإلكترونات .

-نقص المناعة .

-الأمراض والالتهابات.

***مصادر خارجية :**

-التعرض للإشعاع .

-التلوث.

-التدخين.

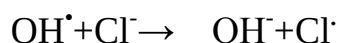
-الأدوية. (حداء منال و دعمش مارية .2017).

II-5-4 - طرق تفاعلات الجذور الحرة:

تتفاعل الجذور الحرة بكافة أنواعها المستقرة أو النشطة المشحونة والمتعادلة بتفاعلات سريعة جدا ومختلفة .

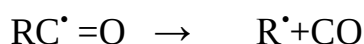
***تفاعلات التبادل الإلكتروني :**

يتم في هذا التفاعل انتقال إلكترون من المادة المستقرة المتواجدة بالمحيط إلى الجذر الحر وبذلك يتكون أيون سالب مشتق من الجذر الحر وجذر حر جديد مشتق من الأيون السالب.



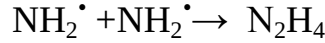
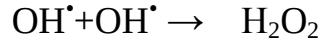
***تفاعلات تفكك الجذر الحر:**

تتفكك الجذور الحرة بصورة مختلفة معتمدة بذلك على الجذر الحر ومثال ذلك تفكك جذور الأسيل بواسطة فقدان أول أكسيد الكربون.



***تفاعلات اتحاد الجذور الحرة:**

ان تفاعلات الجذور الحرة مع بعضها البعض تعد من التفاعلات المهمة جدا حيث ينتهي وجود هذه الجذور بنظام ما بهذه التفاعلات مع تكوين مركبات مستقرة ويطلق على هذه التفاعلات بتفاعلات الاتحاد. (بن ذهبية خضرة.2013).

**II-5-5- أضرار الجذور الحرة:**

-انهيار اشارات الأكسدة والاختزال. (Naspolini et al.2015).

-تنشيط السلسلة التنفسية للمايتوكوندريا التي لها أهميتها في إنتاج الطاقة التي يحتاجها جسم الكائن الحي. (لؤي عبد علي الهلالي.2019).

-تكوين طفرات وراثية نتيجة تحوير في الحامض النووي DNA والتي تؤدي إلى موت الخلايا أو تسرطنها. (لؤي عبد علي الهلالي. 2019).

III- دراسة البكتيريا:**III-1 - البكتيريا:**

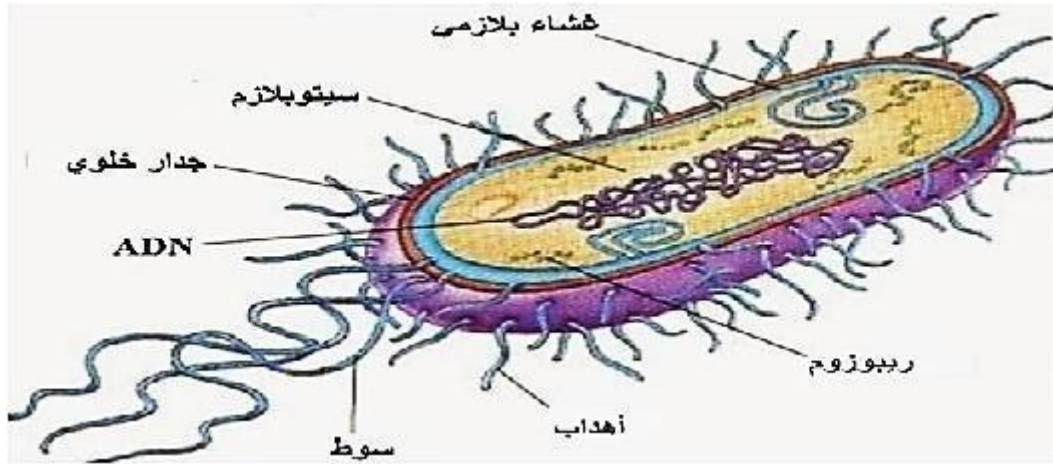
إن كلمة ميكروب (*microorganisme*) تستعمل لوصف الكائنات الدقيقة التي لا يمكن ملاحظة بنيتها إلا بواسطة المجهر، و التي تشمل الفيروسات ،البكتيريا ، الفطريات وبعض الطحالب و نسمي المجال الذي يدرس هذه الكائنات بالميكروبيولوجيا ،و الذي تطور بتطور البحث و الدراسة انطلاقا من القرن 17م عندما تعرف العالم Antoine van Leeuwenhoek عام 1668 م بواسطة مجهره البسيط على بعض الفطريات و البكتيريا ،وفي سنة 1859 م تمكن الكيميائي الفرنسي pasteur من التعريف على هذه الكائنات و التأكيد على ماهيتها ،حيث اكتشف البكتيريا الهوائية و اللاهوائية من خلال تجاربه على التخمر، واكتشف أيضا طعومها ، وارتبط اسمه بعملية البسترة لقتل الكائنات الحية المجهرية المتواجدة في السوائل ،وقد أثبت أيضا أن البكتيريا كائن حي لا يتولد إلا من كائن حي آخر.

أما العالم الألماني روبرت كوخ Robert koch فقد ساهم في اكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض حيث ارتبط اسم البكتيريا كثيرا بالمرض الذي تسببه ،لكن الاكتشافات الحديثة والتقدم السريع الذي حدث في العلوم التطبيقية اظهر أن البكتيريا تلعب دورا هاما في كثير من الصناعات الغذائية و الدوائية

و التخلص من المواد العضوية وغير العضوية وكذلك معالجة المياه العتمة المعالجة الحيوية لمخلفات المزارع و لها استخدامات في إنتاج الطاقة وغاز الميثان. (الاحمادي بشيرة.2022).

III-2-1- تعريفها:

البكتيريا (Bactérie) كائنات حية دقيقة مجهرية بدائية النوى بسيطة وحيدة الخلية وتعتبر من أصغر الكائنات الحية يتراوح قطر معظمها ما بين 0.3 و 2 ميكرون منها المكورات والعصيات وهي تتجمع مع بعضها وتأخذ أشكالاً متعددة مثل عقد أو سبحة فتسمى مكورات عقدية أو على شكل عنقود فتسمى مكورات عنقودية، تتراوح أبعاد البكتيريا ما بين (0.5-5 ميكرو متر) مع أن التنوع الواسع للبكتيريا يمكن أن يظهر تعدد أشكال كبيرة جداً. (بوغزالة كريمة و بوهني أسماء.2020).



الشكل 14: شكل يوضح بنية البكتيريا. (فاطمة حمودي. 2021).

III-3-1- تسمية البكتيريا:

التسمية البكتيريا كسائر الكائنات الحية وبناء على ذلك فإن اسم البكتيريا يتكون من كلمتين ذات أصل يوناني أو لاتيني (محمد حامى عبد العزيز، 1994). وتأخذ البكتيريا أسماء ثنائية binominal بحيث يشير المقطع الأول من الاسم إلى الجنس genre والمقطع الثاني إلى نوع espace وقد يجمع اسم الجنس شكل البكتيريا كما هو الحال في Escheriche.coli أو اسم المكتشف مثل streptocoque staphylocoque أما بالنسبة للنوع فقد يشير إلى المرض كما هو الحال (cholera) و (vibrio cholera) أو مكان عزلها كما هو الحال في E.c. (ثليب مروة وبوخة شهرزاد.2022).

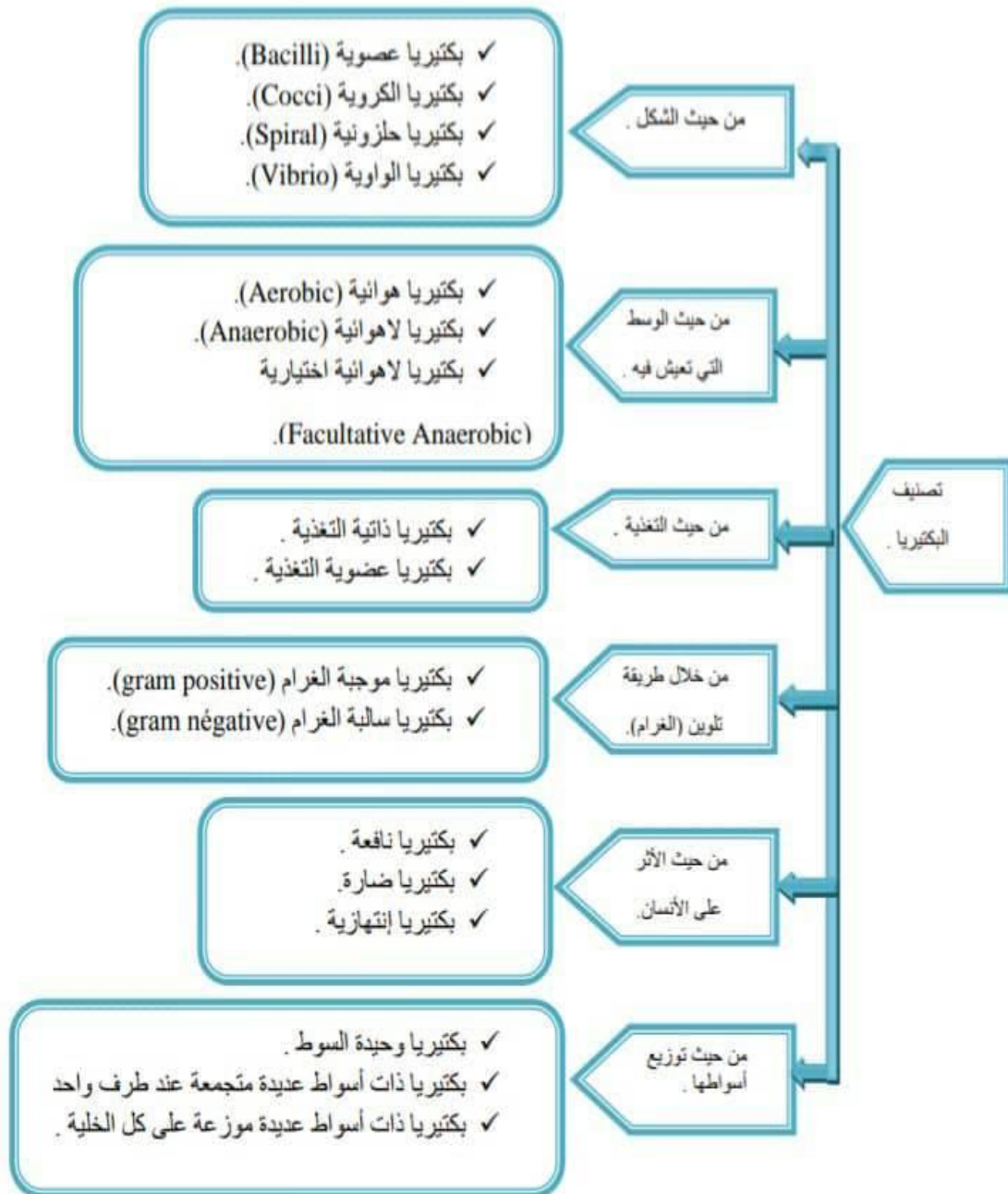
III-4-1- تركيبة البكتيريا:

تركيب الخلية البكتيرية بسيطة، إذ تتركب من جدار وغشاء خلويين يحيطان بالسيتوبلازم فالأول جدار خلوي سميك وصلب وهو الذي يعطيها شكلها الثابت ويحميها من أي هجوم خارجي، أما الثاني رفيع السمك يسمى بالغشاء الخلوي السيتوبلازمي، أما المساحة الداخلية للخلية فهي تمثل السيتوبلازم، وهي في الغالب جد متجانسة تحتوي على ريبوزومات ذات شكل حبيبي كروي، كما تحتوي على أجسام ذات قوام حبيبي يمكن للبكتيريا أن تخزن بها الطاقة، إضافة إلى احتوائها على جزيئة أو أكثر من الـ ADN البلازمي أو ما يسمى بالبلازميدات، وهي تتكاثر بصورة مستقلة عن كروموزم الـ ADN الخاص بالنواة، وإن هذه الأخيرة ليس لها غشاء نووي. الجدار والغشاء

الخلويين، السيتوبلازم والنواة هي عناصر ثابتة وأساسية لكل أنواع الخلايا البكتيرية فبعض الأنواع تكون محاطة من الخارج بمحفظة (capsule)، أو لها سوط يساعدها على الحركة إذا كانت من البكتيريا المتحركة، إضافة إلى أن بعض أنواع البكتيريا لها زوائد خلوية تسمى البيلي (pili) وهي تساعد الخلية البكتيرية على الالتصاق بالوسط الذي تكون فيه. (Hamidi N. et al. 2014).

III-1-5 - أصناف البكتيريا

صنف العلماء البكتيريا لعدة تصنيفات وهي:



الشكل 15: تصنيف البكتيريا. (يمينة حرز ولي، 2018).

III-1-6 - دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا:

تهدف هذه الدراسة لمعرفة مدى تأثير المستخلصات العضوية على البكتيريا التالية:

1- اشيريشياكولي - *Escherichia coli* :

الشعبة	<i>Bacteria</i>
الطائفة	<i>Gammaproteobacteria</i>
الرتبة	<i>Entérobacteriales</i>
العائلة	<i>Enterobacteriaceae</i>
الجنس	<i>Escherichia</i>

وهي بكتيريا سالبة الغرام ، تعيش في جسم الإنسان و الحيوان و النبات و في التربة ، تكون متحركة على شكل عصيات ،مسببة الأمراض: أمراض الجهاز البولي ،الإسهال الطفيلي ، التهاب السحايا و تسمم الدم .



الشكل 16: ملاحظة بالمجهر بكتيريا *Escherichia coli*.

الشعبة	2ستافيلوكوكيز- <i>Staphylococcus</i> :
	<i>Bacteria</i>
الطائفة	<i>Bacilli</i>
الرتبة	<i>Bacillales</i>
العائلة	<i>Staphylococcaceae</i>
الجنس	<i>Staphylococcus</i>

بكتيريا موجبة الغرام، هي بكتيريا كروية الشكل تسمى كوكسي (cocci) ذات لون اصفر براق، عديمة الحركة، تكون عناقيد على شكل أكوام، و تتواجد لدى الإنسان في الجلد و الأمعاء و الجهاز التناسلي و على الوجه . هذه البكتيريا مسؤولة عن تسمم الغذاء، و تسبب في الالتهاب الجلدية خطيرة، و تسبب هذا النوع من البكتيريا بالعديد من الالتهابات التي يسهل انتشارها في الأماكن المزدوجة و المغلقة.



شكل رقم 17: ملاحظة بالمجهر بكتيريا. *Staphylococcus*

3- أبسودومينوس-*Pseudomonas aeruginosa*

الشعبة	<i>Bacteria</i>
الطائفة	<i>Gammaproteobacteria</i>
الرتبة	<i>Pseudomonadales</i>
العائلة	<i>Pseudomonadaceae</i>
الجنس	<i>Pseudomonas</i>

بكتيريا سالبة الغرام، متحركة هوائية مصدر هذه البكتيريا الجهاز الهضمي للإنسان و الحيوان و الماء و التربة تعمل على الإلتلاف السطحي للأغذية المبردة و تعد من بين الميكروبات المحللة للدهون بالبن مما يؤدي إلى تغير لونه و طعمه و هي مقاومة

للعديد من المضادات الحيوية و المطهرات مما يفسر نموها و تكاثرها في الأوساط الاستشفائية حيث تنمو في الأجهزة الطبية، الإفرشة، الألبسة، و تكون ممرضة بضعف الجهاز المناعي للجسم. (زواري احمد رشيدة، 2017).



الشكل 18: ملاحظة بالمجهر بكتيريا *Pseudomonas*.

4- كاليسي بن مونيا- *Klebsiella pneumoniae* :

<i>Bacteria</i>	الشعبة
<i>Gammaproteobacteria</i>	الطائفة
<i>Enterobacteriales</i>	الرتبة
<i>Enterobacteriaceae</i>	العائلة
<i>Klebsiella</i>	الجنس

تنتمي إلى *Enterobacteriaceae* تعتبر من بين البكتيريا البيئية (تتواجد في الماء، تربة، هواء....)، هي عبارة عن عصويات سالبة لغرام، غير متحركة تتميز بشكلها الدائري محدبة (Berche, p. 1989 etc) لا هوائية إختيارية يتراوح طولها من 1 إلى 2 ميكرو متر وعرضها حوالي (0.5- 0.8) ميكرو متر تكون منفردة أو ثنائية أو على هيئة سلاسل قصيرة، تتواجد بصورة طبيعية في الفم، الأمعاء وعلى الجلد تسبب التهاب شديد في المثانة، الرئة، الأذن، الأنف والجيوب الأنفية. (محمد م و 2 آخرين. 2013).



الشكل 19: صورة بكتيريا *Klebsiella pneumoniae*

III -2- الفطريات:

III -2- 1 - تعريف الفطريات :

الفطريات كائنات حية ثالوسية تنتشر في الأوساط المختلفة في التربة الرطبة لأنها تحتاج بشكل كبير للرطوبة المرتفعة حيث ان الحد الأدنى الذي يمكن ان تتحملة هو ما يقارب ،و المناطق الجافة و في المياه العذبة و المالحة و في الهواء و يهاجم الكثير منها النبات و الإنسان و الحيوان كما يستعمل بعضها كغذاء و تعتبر من الكائنات الدقيقة الخالية من الكلوروفيل كما ان لها جدار خلوي صلب يحدد شكلها ما عدا الفطريات المخاطية وهي عادة عديمة الحركة ولكن لها خلايا تناسلية متحركة .

عموما تتكون من خلية واحدة، بصفة عامة شبيهة بالنبات تنمو بغزارة في الظلام أو بالأحرى في الضوء الضعيف، ويمكن القول انه لا توجد حواجز جغرافية تقف أمام توزيعها .

الخلية الفطرية تختلف عن مثيلتها النباتية بعدم احتوائها على بلاستيدات و بالتالي فان الفطريات تعتبر كائنات غير ذاتية التغذية (Hétérotrophe) أي أنها تعتمد على غيرها في الحصول الغذاء .(جلال آسيا، 2015).

III -2-2 فطر *Candida albicans*:

وهناك عدة أنواع من الفطريات أثناء الدراسة تم استخدام فطر *Candida albicans*.

المملكة	<i>Fungi</i>
القسم	<i>Ascomycoata</i>
الصف	<i>Saccharomycetes</i>
الرتبة	<i>Saccharomyces</i>
العائلة	<i>Saccharomycetaceae</i>
الجنس	<i>Candida</i>
النوع	<i>C.albicans</i>

الجدول 2: يوضح تصنيف فطر *Candida. albicans*

يعتبر فطر *Candida albicans* من أشهر و أهم أنواع جنس *Candida* ترى بوضوح تحت المجهر على شكل بيضاوي أو كروي أحيانا تكون الخلية جوفاء ، ينمو على بيئة Gelose-sang و Sabouraud، مستعمراته دائرية كبيرة ذات لوان ابيض فثدي .

تتكاثر بالتبرعم و تكون سلسلة طويلة تكون على شكل مستعمرات تظهر هذه المستعمرات بلون ابيض مائل للأصفر، تعيش في أنبوب الهضم و مستوى الجلد ،تسبب عدوى مرضية *Candidose* و الذي يكون أساسا على مستوى الأغشية المخاطية و التناسلية . (Bennett, & Johnson.2003) (R. Bennett, R.& Johnson. 2005).



الشكل 20: فطر *Candida albicans*

III-2-3- الفرق بين البكتيريا والفطريات.

البكتيريا والفطريات تندرجان تحت فئات مختلفة ، الأولى منهما هي الخلية البروكاريوتية في حين أن الثانية هي الخلايا العضوية. بالإضافة إلى ذلك، هناك العديد من الاختلافات بينهما، فالبكتيريا تحتاج إلى مضيف للعيش، ويمكن أن تكون متغذية ذاتياً ومتغذية على الآخرين، في حين تنمو الفطريات بأنفسها وهي متغذية على الآخرين. البكتيريا لا تحتوي على غشاء نووي يحيط بالنواة، في حين أن الفطريات (الخلايا العضوية) لديها نواة جيدة التعريف تحيط بها الغشاء النووي.

البروكاريوت وخلايا العضوية هما المظللان رئيسيتان للتصنيف التي يتم تصنيف جميع الكائنات تحتها. البروكاريوت هي النوع الأولي من الكائنات الحية الدقيقة ، وهي خلايا أحادية الخلية وتفتقر إلى العديد من الأجهزة الداخلية ، بينما تطورت خلايا العضوية من البروكاريوتات فقط ولكنها متعددة الخلايا وتحتوي على جميع الأجهزة الداخلية ذات الوظائف محددة.

البكتيريا والفطريات تتشارك بعض التشابهات أيضاً، فكلاهما يتكاثران ويعيشان، ويمكن أن يكون كل منهما طفيلياً ويتميزان بالحجم مجهري أيضاً. فيما يلي سناقش الاختلافات العامة بين ميكروبات الاثنين، مع ميزاتهم المختلفة. ("Medical Microbiology" by Murray, Rosenthal, and Pfaller)

الحجم:

الفطريات عادةً ما تكون أكبر من البكتيريا، حيث تتراوح أحجامها بين 2 إلى 100 ميكرو متر، في حين أن البكتيريا تتراوح أحجامها بين 0.2 إلى 10 ميكرو متر.

النواة:

الفطريات تحتوي على نواة حقيقية، تحتوي على دنا خطي مغلف داخل غلاف نووي، بينما يحتوي البكتيريا على كروموسوم واحد دائري بدون غلاف نووي.

سيتوسول:

تحتوي الفطريات على سيتوسول معقد يحتوي على العديد من الأجهزة الداخلية مثل الميتوكوندريا والشبكة الإندوبلازمية وجهاز جولجي والبروكسيسومات. بينما تحتوي البكتيريا على سيتوسول أبسط يحتوي على عدد قليل من الأجهزة الداخلية.

الغشاء البلازمي:

كلا الفطريات والبكتيريا لهما غشاء بلازمي يعمل كحاجز للبيئة الخارجية. ومع ذلك، تحتوي غشاء البلازمي للفطريات على إرجوستيرول، بينما يحتوي غشاء البلازمي البكتيري على هوبانويدات.

جدار الخلية:

الفطريات لها جدار خلوي فريد متكون من الكايتين والجلوكانات، في حين أن جدران الخلايا البكتيرية تتكون من الببتيدوجلايكان.

الخصائص الفيزيولوجية:

للفطريات والبكتيريا خصائص فيزيولوجية مختلفة. على سبيل المثال، تعتبر الفطريات متنوعة الأطعمة وتحصل على العناصر الغذائية من خلال الامتصاص، بينما تعد البكتيريا متنوعة الأطعمة والمصادر الغذائية، حيث يمكنها العيش ذاتيًا أو تحتاج إلى مصادر غذائية خارجية. كما يمكن للفطريات النمو بشكل هوائي وبدون هواء، في حين أن للبكتيريا مجموعة واسعة من المسارات الأيضية التي تسمح لها بالعيش في بيئات متنوعة.

وقت التوليد:

تتطلب الفطريات عمومًا وقت توليد أطول من البكتيريا ، حيث تستغرق عدة أيام للنمو في الثقافة ، بينما يمكن للبكتيريا النمو والانقسام بسرعة في مدة ساعات. (Murray, Rosenthal, and Pfaller).

الجزء التطبيقي

الفصل الأول

طرق العمل

I. الدراسة المخبرية.

I-1- تحضير المادة النباتية المدروسة:

النبات الذي تتم دراسته هو نبات النعناع الأخضر تم جلب العينة من منطقة الوادي و كان ذلك في شهر فيفري 2023.

I-1.1 - الحفظ والتجفيف:

بعد جني نبات النعناع الأخضر يتم غسل النبات للتخلص من الأتربة و الشوائب العالقة به ليتم بعد ذلك تقطيعه وتوزيعه على قماش رقيق على شكل طبقات رقيقة بعيدا عن أشعة الشمس وأي مصدر حراري آخر تحت درجة حرارة عادية ما بين (25 – 30)°م، وفي مكان ذو تهوية جيدة بعيدا عن الرطوبة مع تقلبيه من حين إلى آخر لمدة أسبوعين أو أكثر.

-الطحن:

بعد انتهاء مدة التجفيف تطحن العينة بواسطة مطحنة كهربائية ليتم الحصول على مسحوق نباتي، و يتم حفظه في علبة زجاجية مغلقة بإحكام بعيدا عن الضوء. (هارون صبرينة. 2019).

I-2.1 - الأدوات والوسائل والمحاليل المستعملة:

الأدوات	المحاليل و المواد	الأجهزة
-بيشر.	-المادة النباتية المدروسة	- فرن.
-قمع.	نبات النعناع .	- ميزان الكتروني
- ورق الترشيح.	-ميثانول CHCOH	- جهاز ريفراكتومتر
-أنابيب اختبار.	-إيثانول $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	- جهاز كليفنجر
-ملعقة.	-ماء المقطر H_2O	-
-سحاحة	-ثلاثي كلوريد الحديد	
-مصاصة (100)مكرو لتر	FeCl_3	
-	-كلوروفورم CHCl_3	
-حوجلة	-حمض كلور الماء HCl	
-لنبوب مدرج	-الامونياك NH_3	
-حامل الانابيب الاختبار	-حمض الخليك	
-Micropipette-	CH_3COOH	
	-كاشف Wenger	
	-كاشف فلهينج	
	-هيدروكسيد البوتاسيوم	
	-محلول الأسيتون	
	-DPPH-	

جدول 3: المواد و الأدوات و الأجهزة المستعملة.

3.1-I - الهدف من الدراسة:

-تستند دراستنا إلى تحديد واستخلاص المواد الفعالة
-تحديد الفاعلية البيولوجية و الكيميائية في مستخلصات نبات النعناع .

2.I - الاختبارات الفيتو كيميائية الأولية:**1.2.I - الكشف عن التانينات :**

أخذنا 1مل من المستخلص النباتي في أنبوب اختبار مع قطرتين من كلوريد الحديد $FeCl_3$ وبعد المزج لاحظنا ظهور اللون الأخضر الداكن . (Kanoun. 2011).

2.2.I - الكشف عن الفلويونات:

وضعنا 1مل من المستخلص المائي لنبات في أنبوب اختبار مع كاشف دراجندروف لاحظنا ظهور راسب برتقالي .(نعمة و آخرون .2007).

3.2.I - الكشف على الفلافونيدات:

وضعنا 2 مل من المستخلص الإيثانول في أنبوب اختبار مع 1 مل من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 0,5 فظهر لنا اللون الأصفر دليل على وجود فلافونيدات.(نعمة و آخرون . 2007).

4 .2.I - الكشف عن الصابونيات :

نقوم بوزن 1غ من المسحوق النباتي ووضعه في بيشر خلاط مغناطيسي ثم نضع له 50 مل من الماء المقطر بعدها وضعناه على جهاز الرج المتعدد لمدة 5 دقائق و نقوم بترشيح المزيج و قسمنا الرشاحة على 3 أنابيب :

-الأنبوب(1): 100 % ← من الرشاحة

-الأنبوب (2): 50% ← من الرشاحة + 50% ماء مقطر

- الأنبوب (3): 30 % ← من الرشاحة + 70% ماء مقطر

و بعد ذلك نقوم بالرج لمدة دقيقة لاحظنا ظهور رغوة وهذا دليل على وجود لصابونيات. Kanoun. (2011).

5.2.I - الكشف على التربينات الثلاثية:

قمنا بمزج 1مل من المستخلص المائي في أنبوب اختبار مع 2مل من الكلوروفورم و ثم إضافة قطرة من حمض الخليك و قطرة من حامض الكبريت المركز لاحظنا ظهور اللون البني الفاتح يدل على وجود التربينات . (Al-Maisry . 1999).

6.2.I - الكشف على الراتيجينات :

نزن 5 غ من المسحوق النباتي ونضيف 25 مل من كحول الايثانول و يترك المزيج لدقيقتين في حمام مائي مغلي ثم نقوم بترشيح المزيج ثم نضيف له 5 مل من الماء و المحمض بحمض كلور الماء 4 %، فلاحظنا عدم ظهور عكارة (اللون الابيض) 100% → 50 ذلك يدل على سلبية الفحص. (Harbone. 1984).

3.I- استخلاص :

هناك عدة طرق لاستخلاص المواد الفعالة من النبات، وفي بحثنا تطرقنا إلى الاستخلاص بالنقع على البارد لضمان عدم تلف المواد المستخلصة و ضمان بقاء المواد الفعالة على حالها

نضع مسحوق النبتة مع مزيج من الكحول الإيثيلي و الماء المقطر (2/8) لمدة يوم عند درجة حرارة عادية. (هارون صبرينة. 2019).

*طريقة الاستخلاص :

في البداية يتم أخذ مسحوق النبتة وبعدها قمنا بتحضير كمذيب قطبي (ايثانول 800 مل مع الماء المقطر 200 مل).

نأخذ كتلة قدرها 100 غ بواسطة ميزان الكتروني من مسحوق النبتة الجافة (الجزء الهوائي) و نضعها داخل بيشر، بعد ذلك نسكب المذيب الذي حضرناه (ايثانول 800 مل + الماء المقطر 200 مل) ، ثم نقوم بتغطيته لمنع تبخره ولمنع دخول شوائب خارجية بعدها يخلط بجهاز الرج المغناطيسي لمدة 24 ساعة. (هارون صبرينة. 2019).

*طريقة الترشيح :

نقوم بالترشيح العادي للمستخلص (عينة النباتية و المذيب)، نتحصل على رشاحة نباتية في حالة سائلة كما في الشكل 21. (هارون صبرينة. 2019).



الشكل 21: عملية ترشيح النبات

بعدما قمنا بترشيحه نضعه في صفيحة زجاجية ونتركه في الفرن في درجة حرارة لا تتعدى 50° حتى ينشف تماما وبعدها نخرجه من الفرن ونقوم بشطفه بشفرة حلاقة-مشرط-حتى نتحصل على مستخلص صلب نضعه في العلبة مباشرة وبعده نقوم بوزنه بواسطة الميزان .كتلته 0,92غ.



الشكل 23: المستخلص بعد التجفيف



الشكل 22: المستخلص بعد الترشيح.

*المردود:

المردود هو عبارة عن حاصل قسمة بين كتلة المستخلص النباتي و كتلة المادة الجافة المستخدمة في الاستخلاص (كتلة المادة الابتدائية الجافة) . (Guettat et al .2016)و تعطى بالعلاقة التالية :

$$\text{المردود} \% R = (\text{وزن المستخلص} / \text{وزن المادة الابتدائية الجافة}) \times 100$$

*مناقشة و تحليل النتائج :

حساب المردود لنبات النعناع :

العينة غ	المردود غ	نسبة المردود %
100	0.92	0.92

جدول 4: يوضح مردود الاستخلاص %

من خلال النتائج التي حصلنا عليها في الجدول ،قدرت قيمة المردود للمستخلص الايثانولي لنبات النعناع 0,92%،ومنه يمكننا القول أن كمية الاستخلاص لنبات النعناع لا باس بها .

4.I - استخلاص الزيوت العطرية:

يتم تقطيع المواد النباتية إلى قطع صغيرة وتميرها من خلال مستخرج للتقطير المائي عبر جهاز استخلاص الزيوت الأساسية معروف باسم Clevenger .

يعتمد التقطير المائي على قدرة بخار الماء على حمل الزيوت العطرية للنبات ، تغمر كمية معينة من النبات في الماء المقطر في حوجة زجاجية ballon .

تبلغ سعة الحوجة 1 لتر ، وإذا لم يتم ملء هذا الأخير بالكامل ، فيمكنه ملء ما يصل إلى ثلثي حجم الدورق.

ومن اجل تجنب تجاوز ساحة الغليان وفوران الخليط ، يعد الغليان تحت تأثير منبع حراري يتم تشبع بخار الماء بزيت النبات النعناع المحدد ويتم نقله عبر الجهاز عبر أنابيب عمودية . حيث تحدث عملية تكثيف البخار وتشكل قطرات سائلة صغيرة تتجمع في الأنبوب الماء المقطر بسبب الاختلاف في الكثافة بين الماء المقطر والزيت النعناع (النعناع الأخضر) ، يبقى الزيت المحدد من النعناع طائف على سطح الماء المقطر ، تستغرق عملية التقطير ثلاث دورات أي بعد ثلاثة ساعات من الغليان.

يتم جمع الزيت العطري للنعناع الناتج في قارورة زجاجية محكمة الغلق وغير شفافة ومن الأحسن تكون مغلفة بورق الألمنيوم, ويتم التخلص من كمية الماء التي يمكن أن تبقى في قاع القارورة ، بواسطة سولفات الصوديوم , تحفظ قارورة الزيت الناتج بعيدا عن الضوء وفي درجة الحرارة ما بين 4 ° 6 .

-الأدوات والأجهزة والمحاليل المستعملة عند الاستخلاص:

عند عملية الاستخلاص قمنا باستعمال الأدوات والمحاليل والأجهزة الموضحة في الجدول التالي :

الأجهزة	المواد	المحاليل
-ميزان عادي	- دورق زجاجي	- المادة النباتية
-جهاز كليفنجر	-بيشر	-ماء مقطر
	-ورق الألمنيوم	
	-قارورة زجاجية	

الجدول 5 : يمثل الجدول الأدوات والأجهزة والمحاليل المخبرية المستعملة أثناء عملية الاستخلاص .

تقدير نسبة المردود Rendement:

المردود هو عبارة عن حاصل قسمة بين كتلة الزيت النباتي المستخلص التي تم الحصول عليها وكتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة وتقدر حسب (al et guettaf.2016) بالعلاقة التالية :

$$\text{المردود} = \%R = \frac{\text{كتلة الزيت المستخلص}}{\text{كتلة المادة النباتية الابتدائية الجافة}} \times (100)$$

تم الحصول على الزيت النباتي باستعمال طريقة الاستخلاص وذلك باستعمال جهاز Clevenger .

وقد بينت النتائج أن النوع النباتي للنوع يحتوي على كمية من المستخلص الزيتي حيث قدرت نسبته بوزن معين وذلك على حسب المادة النباتية الجافة، والجدول التالي يبين كمية الزيت ونسبة المردود المستخلصة من نوع لنبات النعناع menthe .

العينة غ	المردود	نسبة المردود %
150	0.01041	1.04

الجدول (6) : يبين كمية الزيت و نسبة المردود المستخلص لنبات النعناع menthe .

II.- تقدير الفعالية انمضادة للأكسدة:

1.II- اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH :

1.1.II- اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH:

الأدوات	المحاليل و المواد	الأجهزة
- أنابيب اختبار - حامل أنابيب الاختبار - Micropipette - ملعقة - قنينة - كبسولة مغناطيسية - Barro magnétique.	- المستخلص النباتي. - الميثانول - ماء مقطر - جذر DPPH. - حمض الاسكوربيك.	- ميزان حساس (Balance analytique) - جهاز المطيافية الضوئية (spectrophotomètres) - جهاز الخلط المغناطيسي

الجدول (7) : المواد و الأدوات و الأجهزة المستعملة.

***طريقة العمل :**

-تحضير الكاشف DPPH :

نقوم بإذابة 2 ملغ من مسحوق DPPH في 50 مل من الميثانول فنحصل على لون بنفسجي داكن .

نذوب 3 ملغ من المستخلص النباتي في 3 مل من الميثانول لتحضير تراكيز 1 ملغ/مل من المستخلص الميثانولي ، ومن المستخلص الميثانولي قمنا بتحضير المحاليل المخففة كما هي في الجدول:

الأنابيب	1	2	3	4	5	6	7
التركيز مغ/مل	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6

الجدول (8): تراكيز المحاليل المخففة المحضرة للمستخلص

بعد تحضير المحاليل المخففة نقوم بوضعها في أنابيب و نأخذ من كل عينة حجم 500 ميكرو لتر كل تركيز على حديو نضيف إليه 1 مل ونقوم بعدها بالخلط و المزج جيدا و تحضن أنابيب المزيج التفاعلي في الظلام لمدة 30 دقيقة وفي درجة حرارة المخبر ثم نقرأ الامتصاصية عند طول الموجة 517 نانومتر.

بنفس الشروط التجريبية و بنفس الطريقة نقوم بتحضير الشاهد يتم مزج 4 مغ من حمض الاسكوربيك في 5 مل من الميثانول، و انطلاقا منه يتم تحضير التراكيز كما هي موضحة في الجدول:

الأنابيب	1	2	3	4	5	6	7
التركيز مغ/مل	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6

الجدول (9): تركيز المحاليل المخففة المحضرة للمستخلص.

بعد تخفيف المحاليل يتم أخذ عينة من كل تركيز من المحلول الميثانولي لحمض الاسكوربيك ذات حجم 500 ميكرو لتر كل تركيز على حدي ثم قمنا بإضافة إليه 1 مل من المحلول الميثانولي DPPH و يخلط ثم يترك المزيج في الظلام لمدة 30 دقيقة و يتم بعدها قراءة الامتصاصية عند طول موجة 715 نانومتر. (طبال يمينية و 3 آخرون. 2022)

* حساب نسبة التثبيط I % الجذر الحر DPPH:

تم حساب نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH لتراكيز مختلفة للمستخلصات المدروسة وفق المعادلة التالية:

$$I\% = ((A_c - A_s) / A_c) \times 100$$

حيث أن:

A_c: امتصاصية الشاهد . Contrôle

A_s: امتصاصية DPPH • مع المادة النباتية المدروسة أو مع حمض الاسكوربيك.

I: % نسبة تثبيط الجذر الحر

* تحديد مقدار IC₅₀ المثبطة لجذر DPPH:

لغرض مقارنة الفعالية المضادة للأكسدة بين المستخلصات وحمض الاسكوربيك (فيتامين C) تقدر قيم IC₅₀ المثبطة لجذر DPPH • والذي يعرف على انه تركيز المستخلص لازم لتثبيط كبح %

17 من جذر DPPH، والذي يحسب من خلال المعادلة الخطية لمنحنيات تغير نسبة التثبيط I % بدلالة تركيز المستخلصات المدروسة.

2.1.II - اختبار القدرة الارجاعية FRAP:

الأدوات	المحاليل و المواد	الأجهزة
-أنابيب اختبار -بيشر -حامل أنابيب اختبار Micropipette- Les Cuves- - أوراق ألومنيوم d'aluminium	-المستخلص النباتي Les extraits de plante - محلول الفوسفات Phosphate Buffer (0.2 M; pH=6.6) - الماء المقطر Eau distillé - فيرسيانيد البوتاسيوم Ferricyanure De %1 (Potassium (K ₃ [Fe(CN) ₆]) -حمض ثلاثي كلورو الخليك (10% TCA) -ثلاثي كلوريد الحديد %0.1 (FeCl ₃)	-ميزان حساس (Balance analytique) - جهاز المطيافية الضوئية (spectrophotomètres)

الجدول (10): المواد و الأدوات و الأجهزة المستعملة.

*طريقة العمل:

ندوب 4 مغ من المستخلص النباتي في 4 مل من الميثانول لتحضير تراكيز 1 مغ/مل من المستخلص الميثانولي، ثم نأخذ الأنبوب اختبار لأول و نضع في 50 ميكرو لتر من المستخلص الميثانولي ثم أضافنا إليه الميثانول حتى نتحصل على 1 مغ/مل من المزيج و هكذا نواصل إلى غاية آخر أنبوب، من أجل تخفف المحاليل، ثم نأخذ من كل عينة 250 ميكرو لتر من المستخلص و نضعها في الأنابيب ثم نقوم بإضافة 625 ميكرو لتر من المحلول المنظم فوسفات (0,2:6,6Ph=M)، ونقوم بعدها بإضافة المزيج 625 ميكرو لتر من المحلول فريسيانيد البوتاسيوم (1%)، و بعدها وضعناه يحتضن لمدة 20 دقيقة في حمام مائي درجة الحرارة 50°. ثم يضاف للمزيج 625 ميكرو لتر من حمض الخل ثلاثي الكلورو (10% TCA trichloroacet acide) ثم قمنا لعرضه بعدها للطرد المركزي 3000 دورة /د خلال 10 دقائق، ثم نأخذ الجزء الطافي حجم 625 ميكرو لتر و يضاف إليه 625 ميكرو لتر من الماء المقطر و 125 ميكرو لتر من كلور الحديد (FeCl₃) (0,1%). ثم قمنا بقياس الامتصاصية عند طول موجه 700 نانومتر. وتم مقارنة النتائج باستعمال فيتامين C كشاهد موجب محضر في الشروط التجربة و بنفس الخطوات. (بورا بح نورة و 4 آخرون. 2022).

2.II. التقدير الكمي لمركبات الفينولية.

1.2.II التقدير الكمي لعديدات الفينول :

الأدوات	المحاليل و المواد	الأجهزة
أنابيب اختبار - بيشر - حامل أنابيب الاختبار Micropipette -ملعقة Les Cuves- - أوراق ألومنيوم - أنبوب مدرج - قنينة	-المستخلص النباتي extraits de plante - الميثانول -كيرستين -نترات الألومنيوم $(\text{Al}(\text{NO}_3)_3)$ 10% -أسيئات البوتاسيوم (CH_3COOK) (1M)	-ميزان حساس (Balance analytique) - جهاز المطيافية الضوئية (spectrophotomètres)

الجدول (11):المواد و الأدوات و الأجهزة المستعملة.

*طريقة العمل:

ندوب 2 مغ من المستخلص النباتي في 2 مل من الميثانول لتحضير تراكيز 1 مغ/مل من المستخلص الميثانولي، ثم نأخذ الأنبوب اختبار لأول و نضع في 50 ميكرو لتر من المستخلص الميثانولي ثم أضافنا إليه الميثانول حتى نتحصل على 1 مغ/مل من المزيج و الأنبوب اختبار الثاني نضع فيه 100 ميكرو لتر من المستخلص الميثانولي نضيف له الميثانول حتى يصبح 1 مغ/مل من المزيج، هكذا نواصل إلى غاية آخر أنبوب من أجل تخفف المحاليل، ثم نأخذ من كل عينة 200 ميكرو لتر من المستخلص و نضعها في الأنابيب ثم نقوم بإضافة 1 ml من كاشف Folin-ciocalteau في كل عينة يتم وضع كاشف و نضيف للمزيج 800 ميكرو لتر من كربونات الصوديوم (7,5%) و بعدها ترج الأنابيب و تحضن في درجة حرارة المخبر لمدة 30 دقيقة في الظلام. ثم قمنا بقياس الامتصاصية عند طول موجه 765 نانومتر بجهاز المطيافية الضوئية. وتم مقارنة النتائج باستعمال حمض الغاليك كشاهد موجب محضر في الشروط التجربة و بنفس الخطوات ..(طبال يمينية و 3 آخرون. 2022)

2.2.II- القدير الكمي للفلافونيدات :

الأجهزة	المحاليل و المواد	الأدوات
-ميزان حساس (Balance analytique) - جهاز المطيافية الضوئية (spectrophotomètres)	-المستخلص النباتي Les extraits de plante -الميثانول كربونات الصوديوم (Na_2CO_3 (2%)) - كاشف Folin cioalteau -حمض الغاليك	-أنابيب اختبار - أنبوب مدرج - بيشر - حامل أنابيب الاختبار -أوراق ألمنيوم - Micropipette - ملعقة - Les cuves -قنينة

الجدول (12): المواد و الأدوات و الأجهزة المستعملة.

*طريقة العمل:

تمثل الفلافونيدات مجموعة كبيرة المركبات الفينولية ، و يمكن تقدير الفلافونيدات كمي بوابسطة التفاعل AlCl_3 و تشكيل ذو لون أصفر مع الفلافونيدات .

نذوب 2 مغ من المستخلص النباتي في 2 مل من الميثانول لتحضير تراكيز 1 مغ/مل من المستخلص الميثانولي ،ثمأخذأنبوب اختبار الأول و نضع في 50 ميكرو لتر من المستخلص الميثانولي ثم أضفنا إليه الميثانول حتى نتحصل على 1 مغ/مل من المزيج و أنبوب الاختبار الثاني نضع فيه 100ميكرو لتر من المستخلص الميثانولي نضيف له الميثانول حتى يصبح 1 مغ/مل من المزيج وهكذا حتى يتم تخفيف كل العينات يضاف إلى الأنابيب 0.5مل من AlCl_3 و ترج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة ساعة بعيد عن ضوء.

ونقوم بتحضير محاليل ذو تراكيز معلومة من الكرسيتين من اجل التقدير الكمي للفلافونيدات عند المستخلص الميثانولي .

بعدها يتم قياس شدة امتصاص المزيج عند طول موجة 420نانو متر ،حيث يتم تعبير عن نتائج بعدد الملغيرامات المكافئة للكرستين لكل غرام من كتلة المستخلص..(طبال يمينة و 3 آخرون. 2022)

III - البكتيريا:

III.1- دراسة النشاطية المضادة للسلاسل البكتيرية :

في هذه الدراسة قمنا باختيار أربعة سلالات بكتيرية وفطر هي :

Escherichia coli-

Staphylococcus-

Pseudomonas-aeruginosa

Klebsiella pneumonia-

Candida albicans -

III.1.1- تنمية مزارع بكتيرية حديثة :

تم تنشيط السلالات البكتيرية المختبرة المذكورة سابقا و ذلك باخذمسحة من العينات البكتيرية باستعمال Anse de platine و تنمية وسط زراعي مغذي *gélouse nutritive* و حضنها في الحاضنة Etuve بدرجة حرارة 37°C لمدة 24 ساعة. (Bauer, A, et al.1966).

III.2.1- تحضير أوساط الزرع :

تم بإذابة وسط الزرع Muller-Hinton (MH) ويتم أيضا تعقيم بجهاز Autoclave في درجة حرارة 121°C، يتم إعداد مجموعة من أطباق بتري و تكون ذات أقطار متساوية ثم نضيف له وسط الزرع MH والذي يكون معقم ، تتم كل هذه الخطوات بالقرب من موقد بنزين للحصول على وسط معقم وبعدها نتركها تبرد و تتجمد. (Bauer, A, et al.1966).

III.3.1- طريقة العمل :

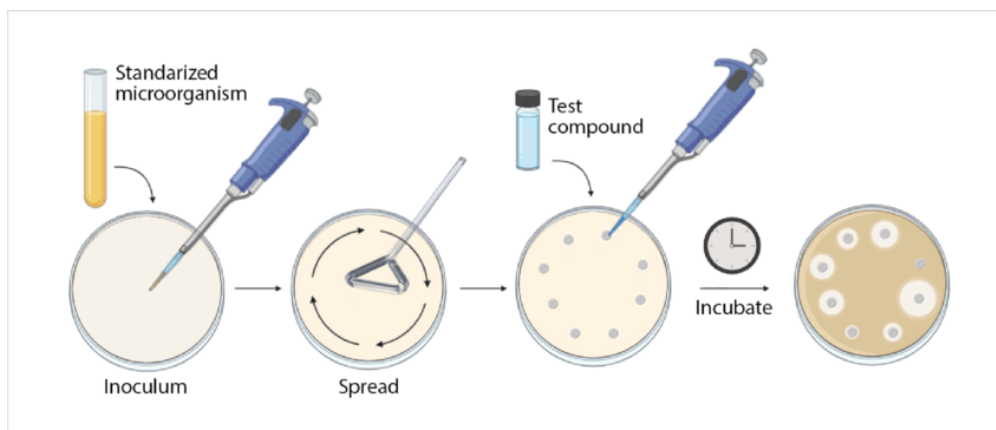
قبل الشروع في العمل يجب تعقيم كل الأدوات في المعقمة و التنظيف الجيد لمكان العمل بالقرب من موقد بنزين سنعتمد في دراستنا على طريقة الانتشار .

III.4.1- زراعة البكتيريا :

نزرع البكتيريا في علبة بتري حيث يتم مسح بالعود القطني و التوزيع على مستوى السطح بشكل خطوط ثم نضعه في أنبوب و ندخله للحاضنة تحت درجة الحرارة 37°C لمدة 37 ساعة. (Bauer, A.W. 1960).

III.5.1- تطبيق الأقراص:

باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص ، و بعد تحضير أوساط الزرع ،نضع ثلاثة أقراص بتراكيز مختلفة من مستخلص الزيت النباتي المخفف DMSO لكل عينة داخل علبة بتري و ذلك بواسطة ملقط (Pince) ،و نقوم بوضع ثقب داخل علبة بتري.(Correa, M., et al..1469).



الشكل 24: مخطط طريقة انتشار أجار .

الفصل الثاني

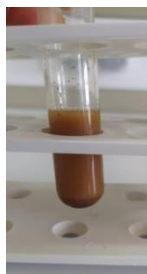
النتائج و المناقشة

1.I- النتائج المتحصل عليها بعد الكشف الكيميائي عن مركبات الأيض الثانوي لنبات النعناع :Menthe

النتائج	الملاحظة	مواد الأيض الثانوي	العينة
+++	ظهور اللون الأخضر الداكن	التانينات	الذعناع Menthe
++	ظهور راسب برتقالي	القلويدات	
+++	ظهور اللون الأصفر	الفلافونيدات	
+	ظهور رغوة	الصابونيات	
++	ظهور اللون البني الفاتح	التربينات الثلاثية	
-	عدم ظهور عكارة	الراتنجينات	

الجدول(13): نتائج الكشف الكيميائي عن مركبات الأيض الثانوي في النبات النعناع.

-صور لبعض النتائج المتحصل عليها بعد إجراء الاختبارات الأولية عن مركبات الأيض الثانوي.

				
الكشف عن التربينات الثلاثية	الكشف عن الصابونيات	الكشف عن الفلافونيدات	الكشف عن القلويدات	الكشف عن التانينات

مناقشة النتائج :

- (+): موجود.
- (++) :موجود بكمية جيدة.
- (+++) :موجود بوفرة
- (-) :نسبة غير موجودة

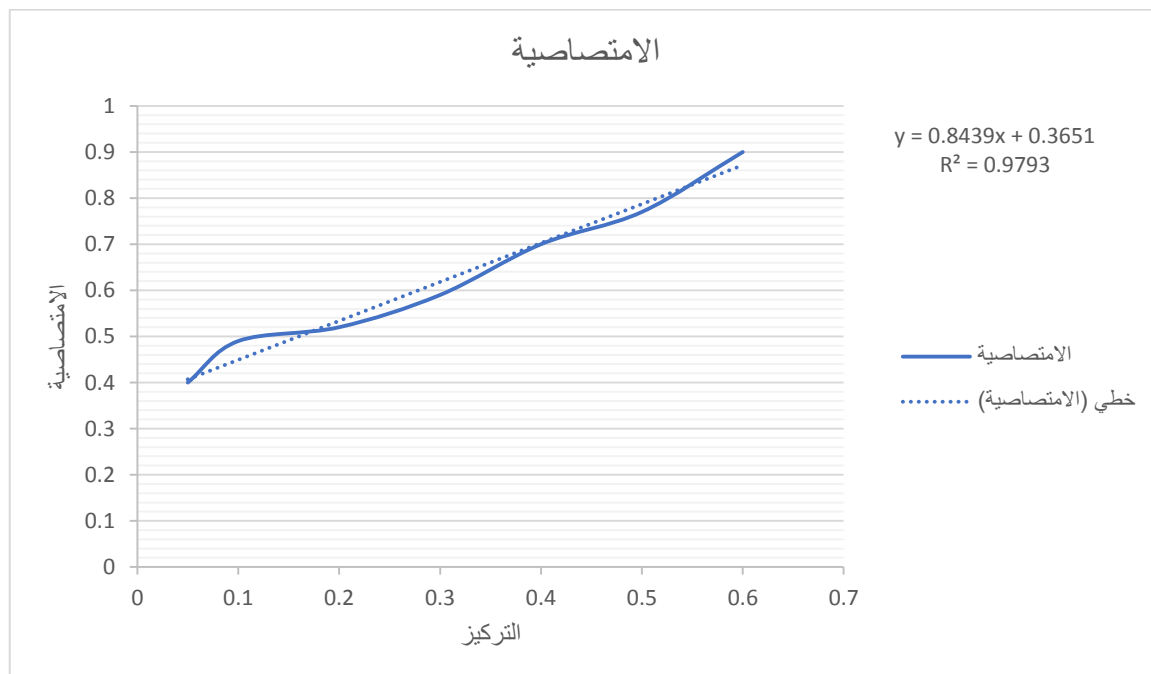
من خلال النتائج المتحصل عليها من الاختبارات الفيتو كيميائية تبين أن الجزء الهوائي لنبات النعناع يحتوي على المواد الفعالة بنسب مختلفة كالفلافونيدات والتينينات موجود بوفرة وهذه النتيجة توافق النتائج التي تحصلت عليها (عنانة أمينة 2014) من خلال بحثها عن المواد الفعالة في نبات النعناع البري بينما القلويدات والتربينات الثلاثية تتواجد بكمية جيدة وهذه النتيجة توافق ما تحصلت عليه (هارون صبرينة 2019) خلال دراستها على نبات النعناع والريحان و الصابونيات بكمية قليلة. وغياب الراتيجينات.

II- نتائج تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

1- اختبار الجذر الحر DPPH:

1) نتائج dpph

نتائج مستخلص ايثانول -ماء :



الشكل 25: منحنى يمثل نسبة ارجاع مستخلص ايثانول - ماء لجذر DPPH

تحدد قيمة IC_{50} المستخلص ايثانول – ماء من خلال المنحنى البياني من خلال حساب المقدار الموافق ل 50% اعتمادا على معادلة المنحنى للمستخلص :

$$Y = 0.365x + 0.843$$

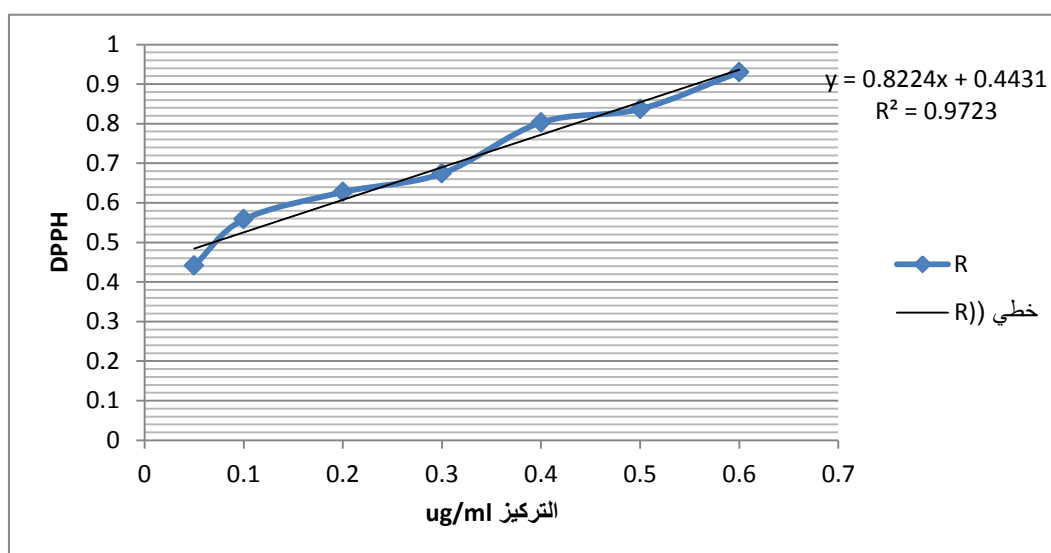
إذا كانت Y تساوي القيمة 50% تكون قيمة IC_{50} كما يلي :

$$X = (50 - 0.843) / 0.365$$

ومنه قدر تركيز عند قيمة IC_{50} للمستخلص ايثانول – ماء

$$IC_{50} = 134.67 \text{ ug/ml}$$

II-2- نتائج حمض الاسكروبيك:



الشكل 26: منحنى يمثل نسبة إرجاع حمض الاسكروبيك لجذر DPPH

II-3- حساب قيمة IC_{50} :

تحدد قيمة IC_{50} لحمض الاسكروبيك من خلال المنحنى البياني من خلال حساب قيمة المقدار الموافق ل 50% اعتمادا على معادلة المنحنى لحمض الاسكروبيك:

$$Y = 0.8224x + 0.4431$$

إذا كانت Y تساوي القيمة 50% تكون قيمة IC_{50} كما يلي:

$$X = (50 - 0.4431) / 0.8224$$

مناقشة النتائج:

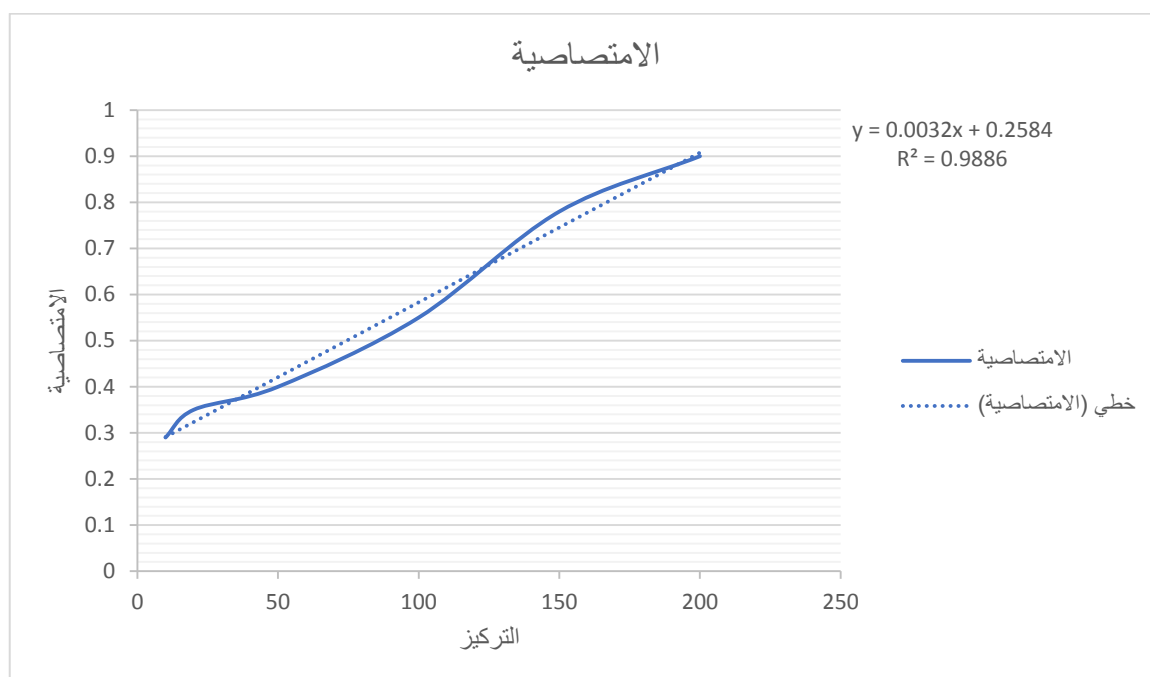
ومنه قدر تركيز عند القيمة IC_{50} لحمض الاسكروبيك :

$IC_{50} = 60.25 \text{ ug/ml}$ من خلال حساب IC_{50} أظهرت النتائج أن حمض الاسكروبيك يمتلك أكثر فعالية مضادة للأكسدة قدرت بـ 60.25 ug/ml من المستخلص ايثانول -ماء المقطرة بـ 134.67 ug/ml في اسر وكبح الجذور الحرة لجذر DPPH وهذا عند مقارنة الفعالية المضادة للأكسدة عند حمض الاسكروبيك الذي يعرف بأنه الأقوى بالنسبة لعديدات الفينول (طبال يمينه و3 اخرون.2022)

4-II- نتائج FRAP

نتائج FRAP

نتائج مستخلص ايثانول-ماء :



الشكل 26: منحنى يمثل نسبة ارجاع مستخلص ايثانول - ماء بالنسبة لحمض الغاليك لFRAP

5-II - حساب قيمة IC_{50}

تحدد قيمة IC_{50} للمستخلص من خلال المنحنى البياني من خلال حساب المقدار الموافق 50% اعتمادا على معادلة المنحنى للمستخلص:

$$Y = 0.258x + 0.003$$

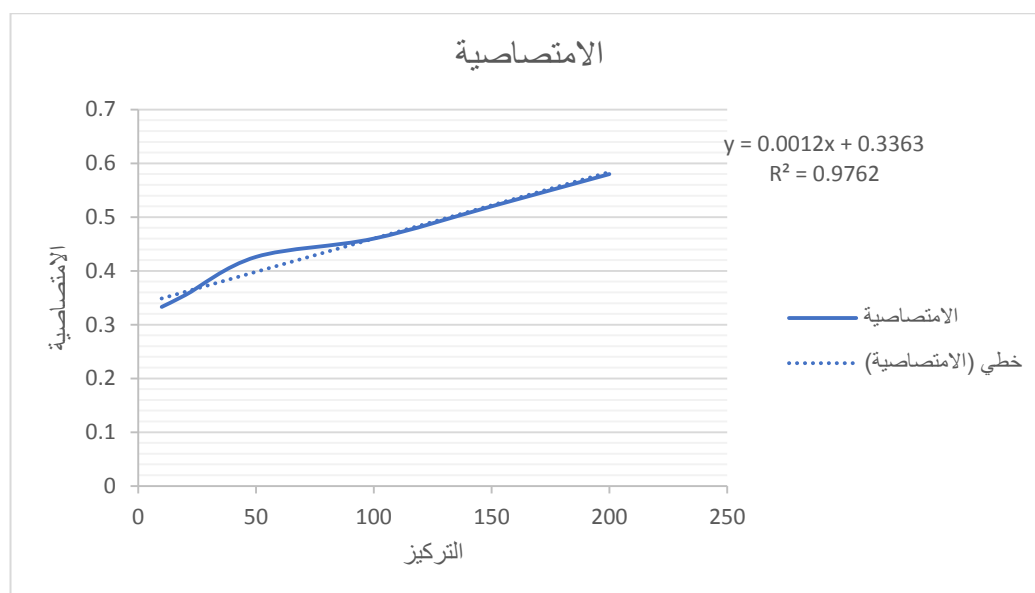
إذا كانت Y تساوي القيمة 50% تكون قيمة IC_{50} كما يلي:

$$X = (50 - 0.003)/0.258$$

ومنه قدر تركيز عند القيمة IC_{50} المستخلص ايثانول -ماء:

$$IC_{50} = 193.78 \mu\text{g/ml}$$

6-II - نتائج حمض الغاليك:



الشكل 26: منحنى يمثل نسبة القدرة الارجاعية للحديد FRAP

حساب قيمة IC_{50} :

تحدد قيمة IC_{50} لحمض الغاليك من خلال المنحنى البياني من خلال حساب قيمة المقدار الموافق ل 50% اعتمادا على معادلة المنحنى لحمض الغاليك:

$$Y = 0.336x + 0.001$$

إذا كانت Y تساوي القيمة 50% تكون قيمة IC_{50} كما يلي:

$$X = (50 - 0.001)/0.336$$

ومنه قدر تركيز عند القيمة IC_{50} لحمض الاسكروبيك :

$$IC_{50} = 148.80 \mu\text{g/ml}$$

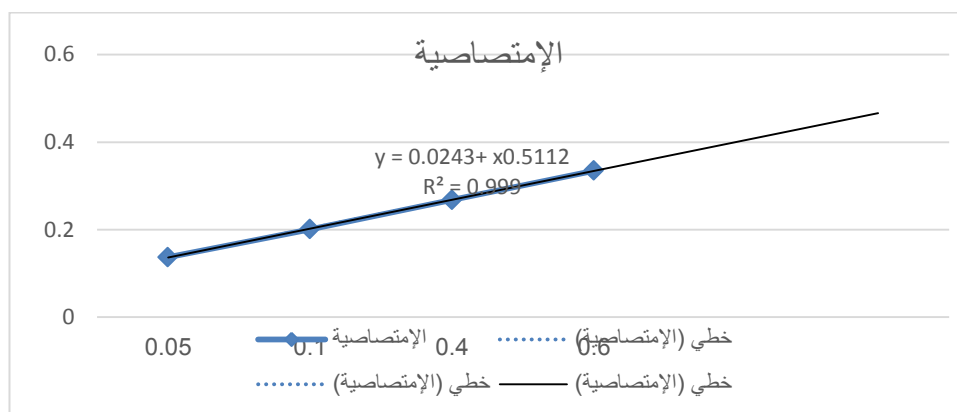
مناقشة النتائج:

من خلال النتائج المتحصل عليها وباعتماد على القاعدة التي تقول كلما زادت الامتصاصية الضوئية لمزيج التفاعل تزيد القدرة الارجاعية للمستخلص المدروس ،فانه يمكن القول ان القوة الارجاعية للمستخلص النباتي ضعيفة نوعا ما مقارنة مع المرجع القياسي حمض الغاليك.(ضاوي هالة اونيس لميس 2021)

III- نتائج التقدير الكمي:

III-1 - التقدير الكمي للفينويدات

تم التقدير الكمي للفلافونيدات للجزء الهوائي لنبات النعناع باستخدام AlCl_3 ككاشف .



الشكل 28: منحنى يمثل التقدير الكمي للفلافونيدات لمحلول الكريستين .

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحلول المحضر مدونة في الجدول التالي :

العينة	مستخلص ايثانول - ماء (2/8)
التركيز (مللتر /ملغ)	0.331
الامتصاصية الضوئية	0.6

الجدول 14: قيم الامتصاصية الضوئية للمحلول المحضر

من خلال علاقة المنحنى القياسي للكريستين نجد تركيز الفلافونيدات الكلية في المستخلص المدروس، حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة ل2 ملغ من المستخلص النباتي .

$$Y = 0.5112x + 0.0243$$

كمية الفلافونيدات للمستخلص :

العينة	المستخلص ايثانولي- ماء (2/8)
كمية الفلافونيدات (غ/ملغ)	97.76

الجدول 15: كمية الفلافونيدات للمستخلص

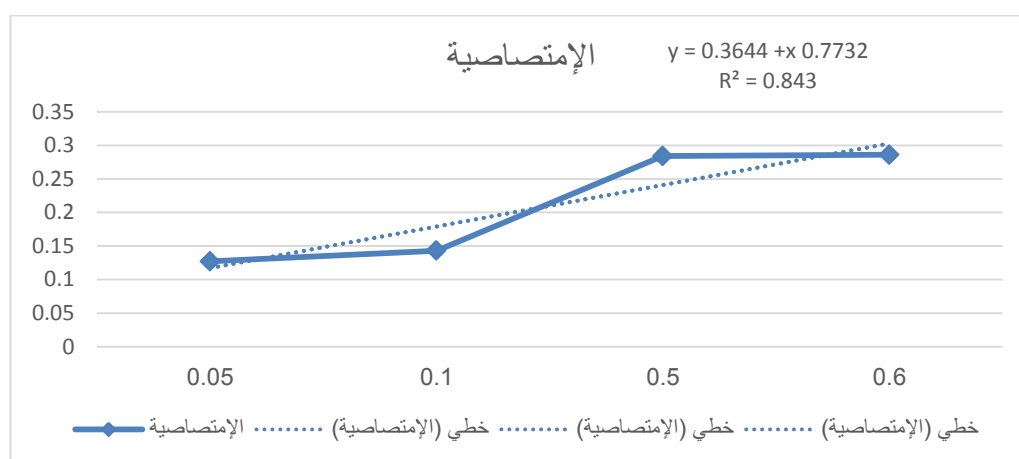
مناقشة النتائج :

من خلال النتائج المتحصل عليها يمكننا القول أن الفلافونيدات تتواجد على مستوى الجزء الهوائي لنبات النعناع بكمية معتبرة ، حيث قدرت كمية الفلافونيدات عند مستخلص ايثانول -ماء (2/8) ب 97.76 غ/ملغ. كما درسه ارون صبرينة ، 2019 سابقا، فتحصلوا على نتائج كما يلي. g / 0.0974mg Matière sèche AG E ومنه القول انه نتائج التي حصلنا عليها تقرب متشابهة من نتائج المدروسة سابقا .

III-2- التقدير الكمي لعديدات الفينول

تم التقدير الكمي لعديدات الفينول بالاعتماد على طريقة singleton et Rossi، و ذلك باستخدام كاشف

Folin- Cioalteau .



الشكل 29: منحني يمثل التقدير الكمي لعديدات الفينول ل Acide Gallique للجزء الهوائي

لنبات النعناع

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحلول المحضر مدونة في الجدول التالي :

العينة	مستخلص الكحول الإيثيلي و الماء المقطر (2/8)
التركيز (مللتر /ملغ)	0.828
الامتصاصية الضوئية	0.6

جدول 16: قيمة الامتصاصية الضوئية للمستخلص .

من خلال علاقة المنحنى القياسي لحمض الغاليك نجد تراكيز الفينولات الكلية في المستخلص المدروس، حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة 2 ملغ من المستخلص النباتي .

$$Y=0.7732x+0.3644$$

نتائج كمية عديدات الفينول للمحلول المحضر مدونة في الجدول التالي :

العينة	المستخلص ايثانول -ماء (2/8)
كمية عديدات الفينول (غ/ملغ)	64.19

الجدول 17 : كمية عديدات الفينول للمستخلص

مناقشة النتائج:

من خلال النتائج المتحصل عليها يمكننا قول أن المركبات الفينولية تتواجد على مستوى الجزء الهوائي لنبات النعناع بكميات معتبرة ، حيث قدرت عند مستخلص ايثانول -ماء (2/8) ب 64.19(غ/ملغ).وهي نسبة اقل بقليل من النسبة التي تحصلت عليها (طبال يمينية و 3 آخرون 2022)في دراستها والتي كانت 67.49 ملغ/غ.

III-3- نتائج البكتيريا

نشاط مضاد للجراثيم			
البكتيريا	التركيز	5%	2.5%
Escherichia coli ATCC25922	لا نشاط	لا نشاط	لا نشاط
Staphylococcus aureus ATCC25932	11	لا نشاط	لا نشاط
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	10	لا نشاط	لا نشاط
Klebsiella pneumoniae ATCC 13883	11	لا نشاط	لا نشاط
نشاط مضاد للفطر			
Candida albicans ATCC14053	21	لا نشاط	لا نشاط

الجدول 18: يمثل الجدول قطر التثبيط نبات النعناع مع مختلف السلالات البكتيرية والفطر .

المناقشة النتائج

من الجدول 19 نلاحظ أن :

مستخلص الزيت الأساسي يمتلك نشاطية مع جميع السلالات البكتيرية المدروسة ما عدا السلالة Escherichia Coli, حيث أعطى لنا نتائج ايجابية اتجاه السلالات المدروسة حيث تم تسجيل اكبر قطر تثبيط 11 ملليمتر اتجاه كل من Klebsiella pneumoniae و Staphylococcus aureus عند التركيز 5 ملغ/مليلتر واصغر قطر تثبيط 10 ملليمتر اتجاه Pseudomonas aeruginosa عند التركيز 5 ملغ/مليلتر. لهذا يمكننا القول أن هذا الزيت يمتلك فعالية مضادة للبكتيريا.

كما تم تسجيل قطر تثبيطي كبير لنوع الفطر حيث كان قطر تثبيطه 21 ملليمتر عند التركيز 5 ملغ/مليلتر ولذا يمكننا القول انه يملك فعالية مضادة للفطريات

كما نلاحظ من النتائج المتحصل عليها أن السلالات الموجبة الغرام تظهر حساسية أكثر من السلالات سالبة الغرام للزيوت الأساسية .

خاتمة عامة

يهدف هذا العمل لدراسة الفاعلية البيولوجية و الكيميائية لنبات النعناع *Mentha spicata* و دراسة المحتويات الكيميائية الموجودة في بعض مواد الايض الثانوي للمستخلص الايثانولي العينة المدروسة (نبات النعناع) من مختلف مناطق ولاية الوادي و قمنا أولا بالتجفيف و طحن العينة و يحفظ بعيد عن الضوء و الاستخلاص حيث حصلنا على مردود (0,92%) و الكشف عن المواد الفعالة لنبات النعناع قمنا بتحضير المستخلص الايثانولي حيث أظهرت نتائج عن وجود القلويدات و الفلافونيدات و التانينات و الصابونيات و التربينات الثلاثية وكما قمنا بدراسة التقدير الكمي للعديد الفينول و الفلافونيدات في المستخلص الميثانولي .

ولمعرفة الفاعلية المضادة للأكسدة للمستخلص الايثانولي بطريقتين DPPH و FRAP حيث أن تقدير النشاطية المثبطة للجذر باستعمال اختبار DPPH حيث تبين لنا أن المستخلص الايثانولي له قدرة ارجاعية ضعيفة مقارنة بالشاهد حمض الاسكوربيك أما بالنسبة لاختبار القدرة الارجاعية FRAP فقد تبين لنا انه له قدرة ارجاعية جيدة مقارنة بشاهد حمض الغاليك ثم دراسة نشاطية البكتيريا لمعرفة قدرة فعالية الزيت الأساسي على بعض سلالات البكتيريا الموجودة في نبات النعناع.

كما أثبتت النتائج أن الزيوت العطرية لنبات النعناع يقوم بتنشيط مجموعة من السلالات موجبة الغرام و سالبة الغرام و لكنها تبقى مختلفة الحساسية مع الزيوت العطرية .

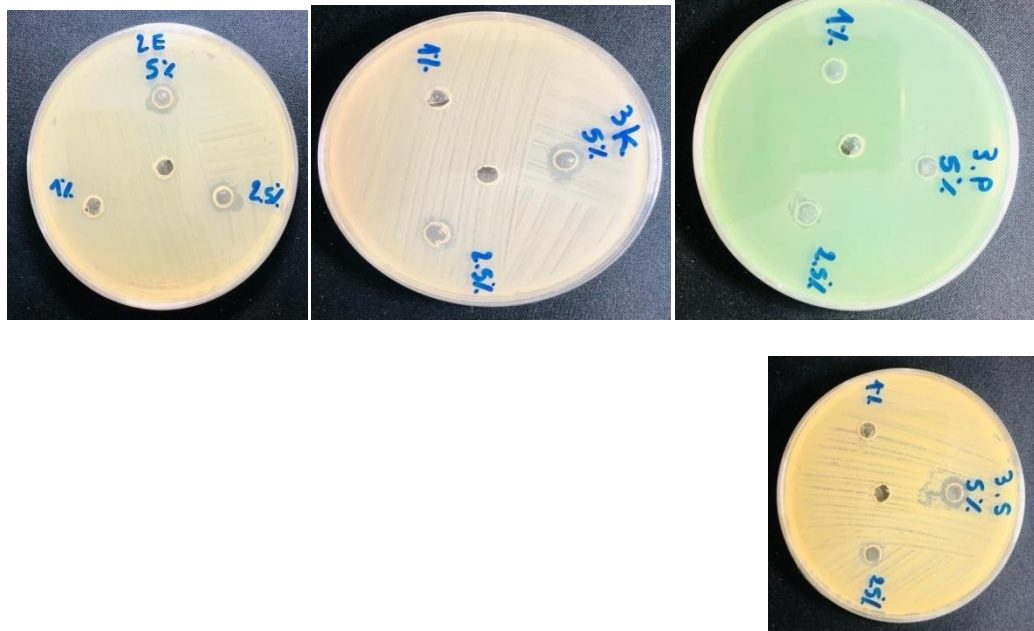
وكخلاصة يمكن القول أن نبات النعناع له قدرة تثبيطية لنمو بعض البكتيريا كبيرة وهذا يعود لتوفرها على الفلافونيدات .

وفي الأخير نرجو أننا توصلنا إلى الأهداف المرجوة وهي تحديد النشاطية البيولوجية والكيميائية لنبات النعناع كما نرجو أننا قد فتحنا مجال للبحث في المستقبل لمواصلة البحث هذا الموضوع .

الملاحق



الشكل 29: تمثل بعض المحاليل المدروس .



الشكل 30: حالات التثبيط للزيت العطري على السلالات الجرثومية بالتراكيز المختلفة
I=1% . II=2.5% . III=5%

المراجع

المراجع:

الاحمادي بشيرة. 2017: التقدير الكمي، الكيفي للمركبات الفينولية و دراسة الفعالية المضادة للأكسدة و الضد بكتيرية لمستخلصات ثمار نبات القناوية *Abelmoschus esculentus* ،مذكرة لنيل شهادة ماستر كلية العلوم الدقيقة، قسم الكيمياء ،جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي.

إشراق دراكي. 2020: المساهمة في الدراسة العوامل المناخية و التربية على الخصائص البيوكيميائي لنبات النعناع المائي *Mentha aquatica*، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر تخصص التنوع الحيوي و وفيزيولوجيا لنبات ،جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي .

بيكي أمال. 2020: المساهمة في الدراسة الإحصائية للزيت الأساسي و المحتوى الكيميائي لنبات النعناع *Menthe spicata*، مذكرة لنيل شهادة الماستر كلية علوم الطبيعة و الحياة ،جامعة حمه لخضر –الوادي.

بوغزالة كريمة و بوهني أسماء. 2020: المساهمة في دراسة التحول الكيميائي والنوعي للمحتوى الكيميائي لنباتة كرشة الأرنب لمنطقة الوادي، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، كلية العلوم الدقيقة جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي.

بوخبتي حبيبة. 2010: النباتات الطبية المتداولة في المنطقة الشمالية لولاية سطيف دراسة تشريحية لنوعين من جنس *Mentha* والنشاطية ضد البكتيرية لزيوتهما الأساسية. مذكرة لنيل شهادة الماجستير ،كلية العلوم قسم البيولوجيا .جامعة فرحات عباس -سطيف .

بن ذهيبة خضرة. 2013: دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء من ولاية ورقلة *Lowsonia Inermis*. مذكرة ماستر أكاديمي، كلية العلوم والتكنولوجيا و علوم المادة جامعة قاصدي مرباح- ورقلة

بوليف هاجر –عثمان نور الهدى. 2020: دراسة المحتوى الفينولي و الفلافونويدي و الفعالية المضادة للأكسدة لصنفين من النباتات الصحراوية (أم درقية *Ammodaucus leucostriclus* و النقد *Avilla garvircirili ass et dur*)، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر تخصص التنوع الحيوي و وفيزيولوجيا لنبات ،جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي.

تامة نور الدين. 2018: الدراسة الفيتو كيميائية للمنتجات الفعالة (القلويدات ،الفينولافونويدات التربينات الثلاثية و النشاط المضاد للأكسدة للميكروبات لنبات الناقل و الحمير الذي ينمو جنوب شرق الجزائر. مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتورا ، تخصص كيمياء نباتية جامعة العربي بن مهيدي .

ثليب مروة و بوخطة شهرزاد. 2022: دراسة تأثير الأساسي لنبات النعناع على النشاطية ضد البكتيرية وال ضد التأكسدية. مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي، كلية العلوم التطبيقية جامعة قاصدي مرباح- ورقلة..

- جلال آسيا. 2015: مقارنة للمكافحة البيولوجية ضد فطر *Fusarium sp* المصاحب لنبات الحمص (*Cicer arietinum L*)، مذكرة لنيل شهادة الماستر شعبة البيولوجيا، كلية العلوم الدقيقة و علوم الطبيعة و الحياة، جامعة العربي بن مهيدي – أم البواقي.
- حسن عبد الله عباس فاطمة: النعناع نبات عطري طبي. مملكة البحرين ووزارة التربية والتعليم. مدرسة مدينة عيسى الثانوية التجارية للنبات.
- حداء منال ودعشمش مارية. 2017: المساهمة في الدراسة التشريحية والمحتوى الكيميائي وفعالية مستخلص أوراق نبات العرفج *Rhanterium Suavealens Desf*. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، كلية علوم الطبيعة والحياة جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي.
- حوة إبراهيم. 2013: دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة. مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير، كلية العلوم والتكنولوجيا و علوم المادة جامعة قاصدي مرباح – ورقلة.
- دبار صفاء وزكايرة نرجس. 2020: المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمواد الايض الثانوي لنباتين من العائلة الشفوية الناحية في منطقة وادي سوف النعناع الأخضر *Mentha spicata* والنعناع طويل الأوراق *Mentha Longifolia*. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، كلية علوم الطبيعة والحياة جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي .
- د. ميساء، د. دانيال العوض، بلسم ج. 2015: دراسة الفعالية التثبيطية لمستخلصات النعناع *Mentha Longifolia* تجاه عزلة من الفطر *Drechslera dematioidea*، مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية-سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (37) العدد (1) 2015.
- ذياب دنيا-بورقعة أشواق -حاصي أحلام – بورا بح نورة -خلايفة مروة. 2022: استخلاص الزيوت من درنات السعد و دراسة فعاليتها، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر تخصص التنوع الحيوي و فيزيولوجيا لنبات، جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي .
- زمالي جعفر. 2022: الفحص الفيتو كيميائي و الأنشطة المضادة للبكتيريا لمستخلصات ورق نبات ايسيل *Ibicella leuta (lindl)van Eselt*، مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء كلية العلوم الدقيقة قسم الكيمياء، جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي.
- زكري روضة و ساسوي رشيدة. 2019: تقييم قلويدات نبات *Retama raetam* النامي بضواحي الحجرية ورقلة. مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماستر، كلية العلوم التطبيقية جامعة قاصدي مرباح -ورقلة .
- زواد الهام و بوهلال أمال. 2022: محتوى المركبات الفينولية والأنشطة البيولوجية لمستخلصات نبات طبي *Artemisia absinthium* المزروعة في تقرت. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، كلية العلوم الدقيقة جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي.

- ضاوي هالة و اونيس لميس.2021: الدور الوقائي للمركبات النشطة بيولوجيًا اتجاه الإجهاد التأكسدي. كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة جامعة العربي بن مهيدي - أم البواقي.
- طبال يمينه - زغدي حفصة - لموسخ لمياء - مازوزي جميلة.دراسة الفعالية الكيميائية و البيولوجية للجزء الهوائي لنبات السعد البني *cgperus fuscus*, مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر تخصص التنوع الحيوي وفيزيولوجيا لنبات ,جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي.
- عثماني عبد العالي.2007:دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا لمختلف مستخلصات بعض النباتات الطبية في المناطق الجافة.
- علاوي مسعودة. 2015:الدراسة الفيتو كيميائية و التقييم الميكروبيولوجي لنبتين من الفصيلة الرمرامية تستعملان في الطب التقليدي الصحراوي. لنيل شهادة دكتوراه علوم فرع كيمياء كلية الرياضيات و علوم المادة . جامعة قاصدي مرباح -ورقلة .
- عزري خضرة.2013:دراسة الليبيات و الفينولات في بعض أنواع التمر المحلي مذكرة الماجستير في الكيمياء . قسم الفيزياء . كلية العلوم و التكنولوجيا و علوم المادة .جامعة قاصدي مرباح -ورقلة
- عنانة أمينة. 2014:مساهمة في الدراسة الكيميائية والفعاليات ضد البكتيرية عند نبات النعناع البري *Mentha pulegium L* من العائلة الشفوية *Lamiaceae*.مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماستر ،كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة. جامعة العربي بن مهيدي- أم البواقي .
- عواوة آمنة. 2017: Etude de l'extraction des lipids polyphenol, flavonoïdes et des Huiles essentielles de deux plantes medicinales (cotula cinerea - rosmarinus officinalis)de la région d'El-oude.مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي،كلية العلوم الدقيقة.جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي.
- فاطمة حمودي.2021:محتوى المركبات الفينولية و الأنشطة البيولوجية لمستخلصات نبات طبي *Artemisia absinthium*، مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي كلية العلوم الدقيقة جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي .
- فتيحة جمعة عبد الله عبد الله. 2018:الاستعمالات الطبية للنعناع و طرق استخلاصه، ورقة بحثي الاستكمال متطلبات درجة البكالوريوس ، كلية التقنية الطبية مرزق قسم تقنية الأدوية , جامعة سبأ.
- فنار هاشم الداودي.2013:تأثير التسميد النتروجيني والرش بحامض الجبرليك والجامكس في نوعية وكمية عدد من المركبات الفعالة *Mentha spicata* و *Mentha piperita* لزيت نوعيين من النعناع، مجلة زراعة الرافدين المجلد (14) العدد(3)، ISSN: 2224-9796 (Online) ISSN: 1815-316 X (Print) جامعة الموصل.
- لؤي عبد علي الهلالي. 2019: الأكسدة ومضادات الأكسدة في الخلايا الحية. دار اليازوري للنشر والتوزيع ص27_28.

محمد السيد عبد الباسط. 2010: للعلاج بالأعشاب والنباتات الطبية، الموسوعة الأم، تفخر دار ألفا لنشر و التوزيع، الطبعة الرابعة سنة 1431هـ، الموافق سنة 2010، عدد النسخ 3000 نسخة، رقم لايداع 2004/13060.

مجرب حمزة. 2020: النباتات الطبية و العطرية و طرق استخدامهما في التداوي. مذكرة التخرج للحصول على شهادة الماستر ميدان علوم الطبيعة و الحياة تخصص . التنوع البيئي و فزيولوجيا النبات جامعة الإخوة متتوري-قسطنطينة .

محمد الأخضر بالفار. 2016: المساهمة في دراسة القدرة المضادة للأكسدة لبروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية و الكهروكيميائية، رسالة محضرة لنيل شهادة دكتوراه في العلوم تخصص كيمياء، كلية الرياضيات و علوم المادة، جامعة قاصدي مرباح-ورقلة .

مغلول نجاح. 2021: دراسة المستخلص الميثانولي النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلص نبات القرينة *Halacnemun strobilaceum*. مذكرة ماستر أكاديمي كلية علوم الطبيعة والحياة . قسم بيولوجيا جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي...

محمد حامى عبد العزيز. 1994: أساسيات في علم البكتيريا قسم النبات كلية العلوم-جامعة قناة السويس، الطبعة الأولى 1994. الناشر دار المعرفة 1119 شارع كورنيش أيل ج. م. ع.

محمدم . عبد الرزاقس. عبد الباسط. 2013: أساسيات التشخيص البكتيريولوجيا المعملية والسريري، الطبعة الأولى، مركز التقنيات الحيوية . جامعة ليبيا . الفصل الأول . ص: 2.

مهند حسن . 2018: دراسة وتحديد مكونات المستخلصات المأخوذة من نبات الطيون (*Inulaviscosa L*) المنتشر في الساحل السوري. رسالة أعدت لنيل درجة الماجستير . كلية العلوم جامعة تشرين الجمهورية العربية السورية.

نعمجد. أبو مجد ادنج

جبروم، 2007: تقييم الفعالية الضد ميكروبية للمستخلص المائي الكحول للأوراق النباتية *ziziphus spina_chrisit(L) Desf* مجلة البصرة للعلوم (ب) _ مجلد (25)، العدد (1) _ 16.

هارون صبرينة. 2019: دراسة الفعالية البيولوجية لبعض النباتات الطبية النعناع *Menthe* والريحان *Basilic*. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، كلية العلوم والتكنولوجيا . جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي

- Activities**, Phytochemical Screening of Bioactive Extracts From the Aerial Parts of *Fagonia Longispina*. Asian Journal of Natural & Applied Sciences Vol. 3(3) September 2014 .
- Al-Maisry M.** Effect of Oil and Alcoholic Extract of *Azdirachtaindica* on some Pathogenic Fungi of Plants. M.SC. Thèses.Sciencecollege, Al-MustansriaUniversity, 1999.
- Berche, P., Gaillard, J.L., Simont, M. (1989).**Bactériologie : les bactéries des infections humaines, Flammarion (1ere édition), Paris. Carbonelle,
- B., Denis, F., Marmonier, A., Varguas, R. (1987).**Bactériologie médicale, Techniques usuelles. SIMEP. Paris.
- Bauer, A., et al., turck, Turck M.** *Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method.* American journal of clinical pathology, 1966. 45(4): p.
- Benett,R.J &Johnson , A.D(2003).**Completion of parasexual cycle in *Candida albicans* by induced chromosome loss in tetraploid strains .Embo J .22:2505-2515
- . -**Benett,R.J &Johnson , A.D(2005).**Mationg in *candida albicans* and the search for sexual cycle ,Annu .Rev .Microbiol .n°59,P.233-225.
- BENZIE,STRAIN ,J,J,(1996):** the ferric reducing ability of plasma (FRAP)as A measure of (antioxidant power) the FRAP assay .Anal Biochhem ,239:70-76.
- Bauer, A.W., D.M. Perry, and W.M. Kirby,***Drug usage and antibiotic susceptibility of staphylococci.* Journal of the American Medical Association, 1960. 173(5): p. 475-480.
- Correa, M., et al.,** *Antimicrobial metal-based nanoparticles: a review on their synthesis, types and antimicrobial action* Open Access. Beilstein Journal of Nanotechnology, 2020. 11: p. 1450-1469.
- CAKIR B., KASIMAY O., KOLGAZI M., ERSOY Y., ERCAN F. AND YEGEN B. - C.2010:** Stress-induced multiple organ damage in rats is ameliorated by the antioxidant and anxiolytic effects of regular exercise. Cell Biochem Funct. 28: 469-479.
- Carbonelle, B., Denis, F., Marmonier, A., Varguas, R.(1987).**Bactériologie médicale, Techniques usuelles. SIMEP. Paris.
- **Favier A.(2003).**Le stress oxidant . Intérêt conceptuel et expérimental dans la comtéhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique.108-115..
- Howard, J. A., and Ingold, K. U., (1968):** The self-reaction of sec-butyl-peroxyl-radicals: confirmation of the Russell mechanism.*J. Am. Chem. Soc*, 90: 1056-1058.

- Halliwell. B and Gutteridge, J. M. c:** Oxygen toxicity Oxygen Radicals transition metals and disease. REVIEW, ARTICLE Biochem. J. 2019; (1984). pp1-14.
- Harborne JB. Phytochemical methods:** A guide to Modern Techniques of Plant Analysis, 2nd ed. Chapman and Hall, London, 1984.
- Kirschvink N; de Moffarts B; and Lekeux P; (2000):** the oxidant/antioxidant equilibrium in horses. V et J 177:178_191.
- KSOURI WM., MEDINI F., MKADMINI K., LEGAULT J., MAGNÉ C., ABDELLY C., KSOURI R., 2013:** LC-ESI-TOF-MS identification of bioactive secondary metabolites involved in the antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of the edible halophyte *Zygophyllum album*. Desf. Food Chemistry. 139 : 1073–1080.
- KATLINIC, MODUN, D, MUSIC, T. I. BOBAN, M (2005)** Gender differences in – antioxidant capacity of rat tissues determined By 2, 2'-Azinobis(3-ethylbenzothiazole 6-sulfonate; ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. Comp Biochem physical, 140:47-52.
- Kanoun K., 2011** - Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honnaine). Mémoire En vue de l'obtention du Diplôme de Magister. Université Aboubekr Belkaid Tlemcen. 118 p
- Leclerc, H. (1975).** Microbiologie générale. Edition.
- Louafi Nadia et Boualleg Meriem. 2019:** Évaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle extraite à partir de la *Mentha spicata*. Mémoire en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master L. M. D. universités Larbi Tebssi_ Tebassa.
- MOHAMMEDI Z ., 2013:** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud ouest de l'Algérie. Thèse doctorat. Université Abou Bekr. 170 p
- Napolini Nathalia Ferraço; Maiara Brusco De Fereits; Emilia Addison Machado Moreira; Raquel Kurten De Salles; Sônia Maria De Medeiros --- Batista et Danilo.** Wilhelm Filho: Effects of calorie restriction and soybean and olive oils on oxidative stress in obese. Journal of Food & Nutritional Disorders Scitechnol, 2015. 4:6.
- N. Hamidi 1, H. A. Lazouni 2, A. Moussaoui 3, L. Ziane 4, M. Djellouli 5, A. Belabbesse 6, (2014):** Ethnopharmacology, Antibacterial and Antioxidant
- Pham-Huy LA; Hua He; and Pham-Huy C (2008):** free Radicals Antioxydants in disease and Health. Int J Biomed Sci, 4(2):89-96
- P. IONITA (2005):** Is DPPH Stable Free Radical a Good Scavenger for Oxygen Active Species, Chem. Pap. 59 (1) 11—16 (2005).

- Tunez I; Sanchez-lopez F; Aguera E; Fernandez R; Sanchez F; Tasset I; (2011):** Important role of Oxidative Stress Biomark in Huntingtons Disease. *J. Med Chem*; 54(15): 5602-5606.
- Ursini, F., Tubaro, F., Rong, J., and Sevanian, A., (1999):** Optimization of nutrition: Polyphenols and vascular protection. *Nutrition Reviews*, 57: 241-24.
- "Principles of Microbiology" by Pelczar, Reid, and Chan. Ninth edition
- ،-"Microbiology: An Introduction" by Tortora, Funke, and Case. 13th edition
- ،Eight edition ' .-"Medical Microbiology" by Murray, Rosenthal, and Pfaller
- "Medical Microbiology" by **Murray, Rosenthal, and Pfaller**. Ninth edition, ISBN-13: 978-0323673228