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 طبيعة وحياة

شعبة: علوم البيولوجية

تخصص: التنوع الحيوي و فيزيولوجيا النبات

الموضوع

التأثيرات الفيتوكيميائية والبيولوجية للمستخلص الإيثانولي لثمار نباتي الخروب *Certonia siliqua* و البلوط *Quercus ilex*

من إعداد:

- بن علي عائشة
- مفتاح وفاء

نوقشت يوم 2019/06/23 من طرف لجنة المناقشة :

بالحبيب عبد الحميد	أ. مساعد (أ)	رئيسا	جامعة الشهيد حمه لخضر
خراز خالد	أ . مساعد (أ)	مؤطرا	جامعة الشهيد حمه لخضر
قادري منيرة	أ. مساعد (أ)	مناقشا	جامعة الشهيد حمه لخضر

الموسم الجامعي: 2019/2018

الشكر والعرفان

الحمد لله رب العالمين، والصلاة و السلام على أشرف الأنبياء والمرسلين سيدنا محمد عليه وعلى آله وصحبه أفضل الصلاة و أتم التسليم، فالشكر الكبير و الأول و الأخير إلى من يسر لنا أمرنا ووفقنا حتى الآن، فلك الشكر والحمد ربي حتى ترضى ولك الحمد بعد الرضى.

يجدر بنا في هذا المقام أن نتقدم بالشكر الجزيل و الامتنان عظيم العرفان وفير إلى أستاذنا الفاضل خراز خالد على تأطيره لهاته المذكرة وعلى رحابة صدره وصبره علينا و على ما بذله من جهد عظيم وإرشاد ومتابعة و تسهيل كل العقبات خلال مراحل إنجاز هذا البحث، و كان له الفضل في توفير جميع الامكانيات اللازمة لإتمام هذا العمل، فكان النبراس الذي أضاء طريقنا بفضل توجيهاته القيمة والتي نبع من خلالها هذا العمل.

كما نتقدم بالشكر الخالص لأستاذنا القدير بالحبيب عبد الحميد على قبوله رئاسة اللجنة، والأستاذة الفاضلة قادري منيرة على قبولها لعضوية اللجنة والتي ستثري مذكرتنا من خلال ما ستقدمه من نقد بناء.

كما تتسع دائرة شكرنا إلى كل أساتذتنا الأكارم الذين فتحوا لنا دروب البحث و التعلم في مشوارنا الدراسي من أول الطريق لآخره، لتنوير وفتح سبل العلم والمعرفة لنا، و إلى جميع موظفين وعمال المخابر بكلية علوم الطبيعة والحياة، وإلى جميع زميلاتي وطلبة دفعة ماستر 2019.

وإلى كل من ساعدني من قريب و بعيد في إنجاح هذا العمل من البداية إلى غاية الانتهاء.

الاهداء

نحمد الله سبحانه وتعالى الذي وفقنا على اتمام هذا العمل واهدي ثمرة مجهوداتي

الى الشمس التي أضاءت درب حياتي

الى التي شجعتني ولا تزال على مواصلة الدرب فاستحقت ان تكون الجنة تحت أقدامها

حفظها الله

أمي

الى الذي علمني الاخلاص والوفاء الى من صنع شقاؤه سعادتي الذي أعطاني دون

مقابل ودون حدود بطيبة وحنان

أبي

الى من هم سندي في الحياة الى من أقسمت معهم الحلوة والمرة اخواتي : الى الأخت

الكبرى

"هدى" ، رشيدة ، عواطف ، اشراق

الى اخوتي الأعزاء محمد و أمجد

الى كتاكيت البيت (محمد ضياء ، ندى ، بلقاسم ، بهاء الدين ، سيرين ، ابراهيم)

الى زميلتي في اعداد المذكرة " بن علي عائشة "

الى صديقاتي الأعزاء (خديجة ، سليمة ، سميرة ، أسماء ، هناء)

الى اساتذتي الأكارم وأستاذاتي الكريمات ، الى كل من رافقني في مساري الدراسي

، الى كل من ساعدني وأسعدني ، الى كل من حفظهم قلبي ونسيهم قلمي .

وفاء

الإهداء

إلى من ناما ....وسهرا هما...

إلى من شبعا ....وجاعا هما...

إلى من مرضا ... وتألما هما...

إلى من حاولت أن ارجع لهما الجميل ....

لكن هيهات هيهات...

إلى من أتمنى لهما الحج و العمرة قبلي وقبل كل الناس ....

إلى أمي وأبي وقرة عيني وأملي ومنجدي ورجائي ...

إلى كل من علمني حرفا من الحروف ، إلى كل الذين يحترقون كالشمعة لينيروا الدرب لغيرهم ،

والى كل الشغوفين للتعلم ، والى كل الساهرين على تربية النشئ الجزائري تربية صالحة

إلى كل الذين جعلوا من الكلمة الطيبة قصب السباق سبيلا لإيقاظ الضمائر وإزاحة غشاوة القلوب

وإبعاد شبح الأمية ، وتقريب نور العلم ، وتأزير أبناءنا الطلبة مئزر السؤال و الكمال .

إلى قرة عيني أختي الصغيرة نور الهدى والى إخواني وأخواتي وأبناء أخي .

إلى كل مفتسمات تعب هذا العمل المتواضع وفاء مفتاح.

والى رفيقات دربي ومشاركات أفراحي وإحزاني : قدوري زهية ، بكاكرة آسيا، طعبة سميحه ، سعدية

عائشة

الملخص

Abstract

الملخص

يهدف هذا العمل الى الدراسة الفيتوكيميائية وتقدير القيمة الغذائية والفعالية المضادة للأكسدة لنباتي الخروب *Ceratonia siliqua* ونبات البلوط *Quercuse ilex* قبل وبعد النضج. بينت النتائج أن مردود مستخلص الخروب قبل النضج بـ2.447% وقبل الناضج بـ 8.052%.

بينت نتائج تقدير القيمة الغذائية حيث قدرت نسبة الكربوهيدرات للخروب قبل النضج بـ51.84 mg/g ويليها الناضج بـ 18.39 mg/g ، وقدرت نسبة البروتينات في قبل النضج بـ 7.3mg/g بـ أما بعد الناضج بـ5.83 mg/g، أما الدهون قدرت عندا الثمار قبل النضج بـ 18.85 mg/g و الناضج بنسبة بـ 34.66 mg/g.

التقدير الكمي للفينولات الكلية كانت نسبة للخروب قبل نضج بـ µg EAG/mg 382.52 والناضج بـ µgEAG/mg 448.437، أما بالنسبة للفلافونويدات فكانت بكمية عالية قبل النضج قدرت بـ µgEQU/mg 101.29 وكمية ضئيلة جدا في الناضج قدرت ب µgEQU/mg 0.044 وأما التانينات المنحلة في الخروب قبل النضج كانت بنسبة µgEAT/mg 78.80 أما بعد قبل النضج µgEAT/mg 22.47 وقدرت كمية التانينات المكثفة في الخروب قبل النضج بنسبة 212.5µgECA/mg أما الناضج بنسبة µgECA/mg 109.5 . أبدت ثمار الخروب نشاطية مضادة للأكسدة جيدة قبل النضج بقيمة IC_{50} =17.171µg/ml وعالية عند الثمار الناضجة بقيمة IC_{50} = 1.70 µg/ml ونشاطية جيدة قبل النضج حيث بلغت نسبة التثبيط 93,293 % عند التركيز 100 µg/ml للخروب قبل النضج و 87,308 % عند التركيز 400 µg/ml للخروب الناضج.

كذلك أظهرت نتائج أعلى قيمة للمردود للمستخلص عند البلوط الناضج بـ 17.99 % ويليها البلوط قبل النضج بـ 13.429 % ، وتم تقدير القيمة الغذائية حيث قدرت نسبة

الكربوهيدرات عند البلوط قبل نضج بنسبةmg/g 25.01 ويليها البلوط الناضج بـ mg/g 30.3 اما البروتينات قدرت نسبة البلوط قبل نضج بـ mg/g 11.42 و 13.36mg/g عند البلوط الناضج كذلك الدهون قدرت بنسبة mg/g 10.28عند البلوط قبل النضج ويليها على التوالي الناضج بنسبة 17.1mg/g.

من خلال التقدير الكمي للفينولات الكلية حيث كانت أعلى نسبة للبلوط قبل النضج بـ 519.33 µgEGA/mg و الناضج 474.5µgEGA/mg أما بالنسبة للفلافونويدات للبلوط قبل النضج كمية عالية قدرت بـ 5.037 µgEQU/mg أما الناضج فقد أظهرت نسبة تقدر بـ 4.592 µg EQU/mg وتقدر كمية التانينات المنحلة عند البلوط قبل النضج بـ 39.54 µgETA/mg أما عند البلوط الناضج تقدر 16.92µgETA /mg، وقدرت التانينات المكثفة في البلوط الناضج قدرت بنسبة 149.5 µgECA/mg أما الناضج بـ 90.5 µgECA/mg.

أبدت ثمار البلوط نشاطية مضادة للأكسدة جيدة قبل النضج ب IC_{50} 1.866µg/ml و عالية جدا عند البلوط الناضج بقيمة IC_{50} =1.734 µg/ml حيث بلغت نسبة التثبيط 99.080 % عند أعلى تركيز التركيز 400 µg/ml للبلوط قبل النضج 94.789% للبلوط الناضج.

أما النشاطية المضادة للبكتيريا فقد أبرزت النتائج عدم وجود أي فعالية لجميع المستخلصات اتجاه السلالات المختبرة.

الكلمات المفتاحية: الخروب، البلوط، القيمة الغذائية، الفينولات، التانينات، الفعل المضاد للأكسدة.

Abstract

This study aimed to evaluate the nutritional value, phytochemical and antioxidant capacity of *Ceratonia siliqua* and *Quercuse ilex* for unripe stage (green) and Ripe stage (brown).

Concerning *Ceratonia siliqua*, the yield was 2.447% and 8.052%, The nutritional value showed that the carbohydrates ratio was 51.84mg/g and 18.38 mg/g, the proteins was 7.3mg/g and5.83 mg/g, the lipids was 18.85 mg / g and 34.66 mg/g for unripe stage (green pods) and the ripe stage (brown pods) respectively. The total phenols were 382.52µg EAG/mg and 448.437µg EAG/mg, Flavonoids content was 101.29 µg EQu/mg and 0,044 EQu/mg , the tannins hydrolysable and tannins condensed wer (78.80µgEAT/mg and 22.47 µgEAT/m,212.5 µgECA/mg and 109.5 µgECA/mg) for unripe stage (green pods) and the ripe stage (brown pods) respectively. *C.siliqua fruits showed a* good antioxidant activity for the unripe fruits with an IC50 17.171 µg/ml and high antioxidant activity in ripe fruits with an IC50 1.70 µg/ml . The inhibition rate was 93.29% at 100µg/ml for unripe stage and 87.30% at 400µg/ml in the ripe stage fruits.

Concerning Quercuse ilex, the yield was 17.99 % and 13.42%, the nutritional value showed that the carbohydrates ratio was 25.01mg/g and 30.3 mg/g, the proteins was 11.42 mg/g and 13.36 mg/g, the lipids was 10.28 mg / g and 17.1 mg/g for the unripe stage and ripe stage respectively.

The total phenols were 519.33µg EAG/mg and 474.5µg EAG/mg, Flavonoids content was 5.037 µg EQu/mg and 4. 592 EQu/mg, the tannins hydrolysable and tannins condensed were (39..54µgEAT/mg and 16.92 µgEAT/m, 149.5 µgECA/mg and 90.5 µgECA/mg) for the unripe stage (green pods) and ripe stage (brown pods) respectively.

Q.ilex fruits showed a good activity for the unripe fruits with an IC50 1.866 µg/ml and high antioxidant activity in ripe fruits with IC50= 1.734 µg/ml . The inhibition rate was 94.78% at 400µg/ml for unripe stage and 99.08% in the ripe stage fruits.

The antimicrobial activity showed that there was no effect of all the extracts on the strains tested.

Key words: *Quercuse ilex, Ceratonia siliqua,* nutritional value, total phenols, tannins, antioxidant effect.

الفهارس

فهرس المحتويات

الشكر والعرفان

الاهداء

الملخص

Abstract

فهرس المحتويات

فهرس الأشكال

قائمة الاختصارت

مقدمة

الجزء النظري

الفصل الأول: الدراسة النباتية

1- تعريف النباتات الطبية..... 5

2- أهمية النباتات الطبية..... 5

3- تعريف العائلة البقولية..... 5

3-1 أهمية البقوليات:..... 6

أ- جنس Ceratonia..... 6

4- الوصف المورفولوجي للخروب 7

4-1 الشجرة..... 7

4-2 الثمرة 7

4-3 الأوراق..... 8

4-4 البذور..... 8

4-5 التصنيف النباتي *Ceratonia siliqua L* 9

4-6 التوزيع الجغرافي..... 10

4-7 التركيب الكيميائي لنبات الخروب 10

4-8 استعمالات نبات *C. siliqua*..... 11

5- تعريف العائلة الزانية..... 11
5-1 جنس Quercuse..... 12
6- الوصف المرفولوجي لنبات البلوط (*Quercus ilex*)..... 12
6-1 شجيرة..... 12
6-2 الأوراق..... 13
6-3 الثمار..... 13
6-4 اللحاء..... 14
5 التصنيف العلمي لنبات البلوط..... 14
6-6 التوزيع الجغرافي لنبات البلوط Quercus ilex L 15
6-7 التركيب الكيميائي لنبات البلوط *Quercus ilex L* (القيمة الغذائية)..... 17
6-8 استعمال نبات البلوط في الطب التقليدي..... 17

الفصل الثاني المنتجات الحيوية الفعالة

1- مدخل..... 19
2-1 الأيض الثانوي Métabolites secondaires..... 19
1-2-1 المركبات الفينولية..... 19
1-1-2-1 تعريفها..... 19
2-1-2-1 الفلافونويدات..... 20
1-2-1-2-1 تعريف الفلافونويدات..... 20
2-2-1-2-1 تصنيفها..... 20
3-2-1-2-1 خواص الفلافونيدات 21
4-2-1-2-1 الخصائص البيولوجية والعلاجية للفلافونيدات 21
5-2-1-2-1 أهمية الفلافونويدات بالنسبة للنبات..... 22
2-2-1 التانينات Les Tanins..... 22
1-2-2-1 تصنيفها..... 22
2-2-2-1 دور و أهمية التانينات البيولوجية..... 23

1-2-3 التربينات Les terpénes..... 23
1-2-3-1 تعريفها..... 23
1-2-3-2 تصنيفها..... 24
1-2-4 القلويدات Les alcaloides..... 24
1-2-4-1 تعريف القلويدات..... 24
1-2-4-2 تصنيف القلويدات..... 25
1-2-4-3 دور وأهمية القلويدات البيولوجية..... 25
1-2-5 الصابونوزيدات..... 26
1-2-5-1 تعريف الصابونوزيدات..... 26
1-2-5-2 تصنيف الصابونوزيدات..... 26
1-2-5-3 دور و أهمية الصابونوزيدات البيولوجية..... 27

الفصل الثالث الدراسة البيولوجي

1- الاجهاد التأكسدي..... 29
1-1 تعريف الجذور الحرة..... 29
1-2 أنواع الجذور الحرة..... 29
1-2-1 على أساس الاستقرار..... 29
1-2-2 على اساس النوع..... 30
1-3 مصادر الجذور الحرة..... 31
1-4 طرق تفاعلات الجذور الحرة..... 32
1-5 أضرار الجذور الحرة..... 33
2- مضادات الاكسدة..... 34
2-1 تعريفها..... 34
2-2 انواع مضادات الاكسدة..... 34
2-2-1 مضادات الاكسدة الطبيعية..... 34
ب- مضادات الاكسدة غير انزيمية..... 35

2-2-2 مضادات الاكسدة الاصطناعية..... 37
2-3 الاضرارة الناجمة عن الاجهاد التاكسد..... 37
2-3-1 أكسدة اللبيدات..... 37
2-3-2 أكسدة ADN..... 38
2-3-3 أكسدة البروتينات..... 38
3- تعريف البكتيريا..... 39
3-1 خصائص البكتيريا 39
3-2 تصنيف البكتيريا..... 40
3-3 السلالات البكتيرية المستعملة..... 42

الجزء التطبيقي

الفصل الاول الطرق والوسائل

1- الدراسة الكيميائية..... 46
1-1 الأدوات المستعملة..... 46
1-2 تحضير العينة..... 49
2- تحضير المستخلص النباتي لنبات الخروب ونبات البلوط..... 51
3- تقدير القيمة الغذائية في النبات..... 53
3-1 تحضير المستخلصات..... 53
3-2 تقدير الكربوهيدرات..... 55
3-3 تقدير الدهون..... 55
3-4 تقدير البروتين..... 56
4- الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية..... 58
4-1 الكشف عن القلويدات (Les Alcaloide)..... 58
4-2 الكشف عن الصابونوزيدات (Les Saponosides)..... 58
4-3 الكشف عن الستيرولات والتربينات(Les Stérols et Triterpène).... 58
4-4 الكشف عن التانينات (Les Tanins)..... 59

4-5 الكشف عن الفلافونويدات (Les Flavonoides)..... 59
4-6 الكشف عن المركبات المرجعة (Les composée Réducteurs)..... 59
5- التقدير الكمي للمركبات الفينولية..... 59
5-1 تقدير الفينولات الكلية (Dosage des Polyphénols (PPT 59
5-2 تقدير الفلافونويدات (FV) Dosage des Flavonoides 60
5-3 تقدير التانيناتLes Tanins..... 61
5-3-1 التانينات المتحللة Tanins Hydrolisables..... 61
5-3-2 التانينات المكثفة Tanins condonsé..... 62
6- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة..... 62
6-1 اختبار DPPH..... 62
6-2 الدراسة البيولوجية..... 62
6-2-1 اختبار الفعالية البيولوجية ضد البكتيرية لمستخلص الايثانولي لثمار نبات الخروب والبلوط..... 64
6-2-2 تنمية مزارع البكتيرية حديثة..... 64
6-2-3 تحضير أوساط الزرع..... 65
6-2-4 تحضير المعلق البكتيري..... 65
6-2-5 زراعة البكتيريا..... 65

الفصل الثاني النتائج والمناقشة

1- نبات الخروب..... 67
1-1 الاختبارات الفيتوكيمائية الاولية.....**خطأ! الإشارة المرجعية غير معرّفة.**
1-2 نتائج الدراسة الكيميائية..... 67
1-2-1 دراسة المسح الفيتوكيميائي لثمار نبات الخروب*C. siliqua* 67
1-2-2 حساب المردود لمستخلص نبات الخروب 69
1-3 تقدير محتوى القيمة الغذائية..... 70
1-3-1 تقدير محتوى الكربوهيدرات لثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج. 70

1-3-2 تقدير محتوى البروتين لثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج..... 70
1-3-3 تقدير محتوى الدهون لثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج..... 71
1-4 التقدير الكمي لمركبات الفينولية..... 72
1-4-1 التقدير الكمي لعديدات الفينول (PPT)..... 72
1-4-2 التقدير الكمي للفلافونويدات (FV) 72
1-4-3 التقدير الكمي للتانينات Les tanins..... 74
1-4-3-1 التانينات القابلة للتحلل Les tanins Hydrolisables..... 74
1-4-3-2 التانينات المكثفة Les Tanins Condensés..... 75
1- 5 تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة 76
1-6 نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص الايثانولي..... 79
2- نبات البلوط..... 82
2-1 الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية..... 82
2-2-2 حساب المردود لمستخلص نبات البلوط..... 83
2-2 تقدير محتوى القيمة الغذائية..... 84
2-2-1 تقدير محتوى الكربوهيدرات لثمار نبات البلوط قبل وبعد النضج ... 84
2-2-2 تقدير محتوى البروتين لثمار نبات البلوط قبل وبعد النضج..... 84
2-3-3 تقدير محتوى الدهون لثمار نبات البلوط قبل وبعد النضج 85
2-4 التقدير الكمي لمركبات الفينولية..... 86
2-4-1 التقدير الكمي لعديدات الفينول (PPT)..... 86
2-4-2 التقدير الكمي للفلافونويدات (FV) 87
2-4-3 التقدير الكمي للتانينات Les tanins..... 88
2-4-3-1 التانينات القابلة للتحلل Les tanins Hydrolisables..... 88
2-4-3-2 التانينات المكثفة Les Tanins Condensés..... 89
2-5 تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة..... 90
2-6 نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص الايثانولي..... 92

الخاتمة

قائمة المصادر والمراجع

الملاحق

فهرس الوثائق

الوثيقة (01) : صورة توضيحية لنبات *C.siliqua*.....7
الوثيقة (02): ثمار الخروب قبل وبعد النضج.....8
الوثيقة (03) : أوراق شجرة الخروب.....8
الوثيقة (04): بذور الخروب 9
الوثيقة (05):التوزيع الجغرافي لنبات الخروب *Ceratonia* siliqua L.....10
الوثيقة (06): شجرة البلوط.....13
الوثيقة (07): أوراق البلوط.....13
الوثيقة (08) : ثمار نبات البلوط.....14
الوثيقة (09): لحاء شجرة البلوط 14
الوثيقة (10): التوزيع الجغرافي لنبات البلوط.....16
الوثيقة (11) :التوزيع الجغرافي للبلوط الأخضر في الجزائر 16
الوثيقة (12) : الهيكل العام للفلافونويدات.....20
الوثيقة (13): توضح مختلف هياكل الفلافونيدات.....21
الوثيقة (14): وحدة الايزوبرين.....24
الوثيقة (15): بنية المركب BHT 37
الوثيقة (16): بنية المركب BHT 37
الوثيقة (17) : ثمار الخروب قبل النضج.....50
الوثيقة (18): ثمار الخروب الناضجة 50
الوثيقة (19) : مسحوق ثمار قبل الخروب.....50
الوثيقة (20):مسحوق ثمارالخروب الناضجة.....50

الوثيقة (21) : ثمار البلوط قبل النضج.....51
الوثيقة (22): ثمار البلوط الناضج.....51
الوثيقة (23): مسحوق البلوط قبل نضج الوثيقة.....51
الوثيقة (24): مسحوق البلوط الناضج.....51
الوثيقة (25): تفاعل مضاد أكسدة مع جذر ثابتDPPH.....62
الوثيقة (26) : توضح تحول لون DPPH الى اللون الأصفر تدريجيا.....76
الوثيقة (27) : توضح تحول لون DPPH الى اللون الأصفر تدريجيا.....90
الوثيقة (28): صورة تقدير الكربوهيدرات.....118
الوثيقة (29):صورة توضح تقدير الدهون.....118
الوثيقة (30): صورة توضح تقدير البروتين.....118
الوثيقة (31): صورة توضح تقدير الفينولات الكلية.....119
الوثيقة (32): صورة توضح تقدير الفلافونويدات.....119

فهرس الأشكال

الشكل (01) : مخطط الاستخلاص بجهاز Soxhlet.....52

الشكل(02) : مخطط يوضح أهم الخطوات الرئيسية لاستخلاص الكربوهيدرات ،الدهون ، البروتين.....54

الشكل (03) : مردود المستخلص الميثانولي قبل وبعد النضج لثمار نبات الخروب. ..69

الشكل (04) : تقدير محتوى الكربوهيدرات في ثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج. ...70

الشكل (05): يوضح تقدير محتوى البروتينات في ثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج. 70

الشكل (06) يوضح تقدير محتوى الدهون في ثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج. ..71

الشكل (07) : كمية عديدات الفينول في المستخلص الايثانولي لنبات الخروب قبل وبعد النضج.....72

النضج بالميكروغرام المكافى لحمض الغاليك / ملغ من وزن المادة الجاف.....72

الشكل (08): كمية الفلافونويدات في المستخلص الايثانولي لثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج بالميكروغرام مكافئ للكريستين / ملغ من وزن المستخلص الجاف 73

الشكل (09) : تقدير محتوى التانينات المنحلة في ثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج 74

الشكل (10): تقدير محتوى التانينات المكثفة في ثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج..... 75

الشكل (11): نسبة التثبيط % I بدلالة التركيز (µg/ml) لمستخلص الخروب قبل النضج. 77

الشكل (12):نسبة التثبيط % I بدلالة التركيز (µg/ml) لمستخلص الخروب الناضج...77

الشكل (13) : مردود المستخلص الميثانولي قبل وبعد النضج لثمار نبات.....83

الشكل (14): تقدير محتوى الكربوهيدرات لثمار نبات البلوط قبل وبعد النضج 84

الشكل (15): تقدير محتوى البروتينات لثمار نبات البلوط قبل وبعد النضج.....84

الشكل (16): تقدير محتوى الدهون لثمار نبات البلوط قبل وبعد النضج.....85

الشكل (17) : كيمة عديدات الفينول في المستخلص الايثانولي لنبات البلوط قبل وبعد النضج بالميكروغرام المكافى لحمض الغاليك / ملغ من وزن المادة الجافة. 86

الشكل (18) : محتوى الفلافونويدات في المستخلص الايثانولي لنبات البلوط قبل وبعد النضج بالميكروغرام المكافى لحمض الغاليك / ملغ من وزن المادة الجافة. 87

الشكل (19) : تقدير محتوى التانينات المنحلة في ثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج 88

الشكل (20) : تقدير محتوى التانينات المكثفة في ثمار نبات البلوط قبل وبعد النضج...89 89

الشكل(21):نسبة التثبيط % I بدلالة التركيز (µg/ml) لمستخلص البلوط قبل النضج. .90

الشكل(22): نسبة التثبيط % I بدلالة التركيز (µg/ml) لمستخلص البلوط الناضج.....91

الشكل (22): المنحنى القياسي للغلوكوز لتقدير الكربوهيدرات. 120

الشكل(23):المنحنى القياسي لزيت الصوجا لتقدير الدهون..... 120

الشكل (24):المنحنى القياسي لـ BSA لتقدير البروتين 121

الشكل (25):المنحنى القياسي لحمض الغاليك لتقدير فينولات الكلية..... 121

الشكل (26):المنحنى القياسي لحمض الكرسيتين لتقدير الفلافونويدات..... 122

الشكل(27):المنحنى القياسي Acide Tannique لتقدير التانينات المنحلة..... 122

الشكل (28):المنحنى القياسي لحمض الكاتشين لتقدير التانينات المكثفة..... 123

الشكل (29):المنحنى القياسي حمض الأسكوربيك..... 123

فهرس الجداول

الجدول (01): التصنيف النباتي لنبات الخروب..... 9

الجدول (02): التصنيف النباتي لنبات البلوط Quercus ilex L 15

جدول (03): أقسام التربينات.....24

الجدول (04): أقسام الصابونوزيدات 26

جدول (05): الادوات والاجهزة المستعملة في العمل المخبري.....46

الجدول (07): الكشف عن المواد الفعالة في مستخلص نبات الخروب 67

الجدول (08): قيم IC_{50} المتحصل عليها لكل من مستخلصي الخروب وحمض الاسكوربيك 78

جدول (09) : متوسط الأقطار التثبيطية بمليمتر للسلالات البكتيرية المختبرة بواسطة المستخلص الإيثانولي لنبات الخروب بتركيز 10 ملغ/ملل.....79

جدول (10) :نتائج اختبار الفعالية المضادة لسلالات للبكتيريا المختبرة.....80

الجدول (11) : الكشف عن المواد الفعالة في مستخلصي نبات البلوط قبل وبعد النضج 82

الجدول(12): قيم IC50 المتحصل عليها لكل من مستخلصي الخروب وحمض الاسكوربيك 91

قائمة الاختصارات

PPT: Polyphénols total

FV: Flavonoïdes

% :pourcentage

$AlCl_3$: Aluminiumchloride

$FeCl_3$: Chlorure de fer

H_2SO_4: acide sulfurique

HCl : acide chlorhydrique

Na_2CO_3 :carbonate de sodium

E AG /mg : Acide Gallique Equivalent par milligramme

E CA /mg : Catéchine Equivalent par milligramme

E T /mg : Acide Tannique Equivalent par milligramme

E QU /mg : Quercitine Equivalent par milligramme

SOD : Superoxidedismutas

GPx: Glutathion peroxidase

GR : Glutathion reductase

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion oxydé

DPPH$^{\cdot}$:2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

IC_{50}: Inihibion Concentration 50%.

g : gramme

mg : milligramme

ml: millilitre

cm :centimétre

nm :nanométere

µg: microgamme

BHA : Butylated hydroxylanisole

BHT : Butyl hdroxyanisole

H_2 O_2 : peroxide d’hydrogène

TCA : d'acide trichloracétiques

مقدمة

مقدمة

خلال آلاف السنين التي عاش فيها الإنسان على وجه الأرض جرب العديد النباتات التي تنمو من حوله واختبر صفاتها وأحوالها باحثا عن الطعام لكنه تعلم أيضا في معظم الأحيان خلال تذوقه للنباتات أن بعضها يسبب له المرض وبعضها الآخر يمكن أن يشفيه من الألم.

تعتبر النباتات مورد أساسي وهام من ناحية الأهمية الإقتصادية والطبية خاصة النباتات البرية منها توفر النباتات الغذاء، الدواء، الوقود والماوئ لبني البشر بصفة خاصة والكائنات الأخرى بصفة عامة في مختلف مناطق العالم كما تلعب دورا هاما في الحفاظ على النظام البيئي واستقراره. (جغلان.، 2009)

ربط الإنسان الأول العلاقة بين النباتات البرية التي تغطي الأرض وبين الأمراض التى يصاب بها، فاستعمل هذه الأعشاب أو جزء منها في التداوي (صلاح.، 2011) ، حيث تعتبر النباتات الطبية مصدرا أساسيا لصحة الإنسان ولا تزال العديد من الثقافات تثمن الوصفات الطبية والعلاجية وتعتبر مصدر رئيسي للعقاقير النباتية التي تدخل في تحضير الأدوية على شكل خلاصات مواد فعالة ومواد خام لإنتاج بعض المركبات الكيميائية (العابد.، 2009).

ان لبعض هذه العقاقير قدرة علاجية قد تكون أكبر من تلك التي تملكها الأدوية المصنعة في معالجة بعض الأمراض بالإضافة لاحتوائها على مواد غذائية وفيتامينات وهذا راجع عن احتوائها على مواد الايض الثانوي (فلافونويدات، تريبينات والصابونوزيدات ...الخ) فهي تعتبر مصدرا طبيعيا في معالجة الأمراض المختلفة حيث تعمل كمضادات للأكسدة (Majed Et Ali-Shtayeb., 2008).

تمتلك الجزائر ثروة هائلة من الأعشاب الطبية والعطرية وهي تنتشر في مساحات شاسعة ومتفرقة وفي بيئات مناخية مختلفة في السواحل والوديان والهضاب والمرتفعات الجبلية والصحاري وفي الحقول الزراعية وغيرها، منها ماهي موسمية تظهر بعد هطول الأمطار وتختفي عند الجفاف ومنها المعمرة (بن مرعاش.،2012).

حاولنا في هذه الدراسة التطرق لنبتتي من نباتات الأطلس التلي وهما:

نبات الخروب *Ceratonia siliqua L* الذي ينتمي للعائلة البقولية Fabaceae ونبات البلوط*Qeurcuse ilex L* الذي ينتمي للعائلة الزانية Fagaceae وهذا بهدف معرفة خصائصهم الغذائية الكيميائية والعلاجية المتمثلة في دراسة فعاليتهم المضادة للأكسدة والمضادة للمكروبات وكذلك المحتوى الغذائي ، ولتحقيق ذلك قمنا بتقسيم بحثنا الى قسمين : جزء نظري وجزء عملي

الجزء النظري يتضمن ثلاثة فصول :

الفصل الأول : الدراسة النباتية تتمثل في تعريف النباتات المدروسة.

الفصل الثاني :دراسة مركبات الأيض الثانوي وذكر أهم أقسامه وبعض خواصه وتأثيراته البيولوجية

الفصل الثالث: الجذور الحرة ، تعريفها ، أنواعها وطرق تفاعلاتها ، وكذلك المواد المضادة للأكسدة ومصادرها وفعالية المضادة للميكروبات.

الجزء العملي يتضمن :

الفصل الأول:

الدراسة الكيميائية تتركز على :

التقدير الكمي للسكريات والدهون والبروتينات

استخلاص المركبات الفينولية وحساب مردوديتها

دراسة المسح الفيتوكيميائي للنباتات المدروسة

التقدير الكمي للفينولات والفلافونويدات والتانينات

الدراسة البيولوجية تشمل :

اختبار 2,2 diphenyl- 1-picrylhydrazy l(DPPH)

تقدير النشاط الفعال للمستخلص الايثانولي ضد السلاسلات البكتيرية المختبرة

الفصل الثاني:

النتائج والمناقشة.

الجزء النظري

الفصل الأول

الدراسة النباتية

1- تعريف النباتات الطبية

يعرف النبات الطبي بأنه النبات الذي يحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه المختلفة أو تحوراتها على مادة كيميائية واحدة أو أكثر بتركيز منخفض أو مرتفع ، وله القدرة الفيسيولوجية على معالجة مرض معين أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض (هيكل و عمر.،1988). كما يعرف بأنه ذلك النبات الذي يحتوي على مواد فعالة ذات قيمة علاجية للإنسان والحيوان (عبد الرضا و وداد.، 2013). وكما قال العالم Dragendroof أن النبات الطبي هو كل شيء من أصل نباتي ويستعمل طبيا فهو نبات طبي(هيكل و عمر.،1988).

2- أهمية النباتات الطبية

أكدت التجارب العديدة أن المواد الكيميائية الدوائية الصناعية في غالب الأحيان تملك تأثيرات جانبية ضارة بجانب الأثر الأساسي المستخدمة من أجله ، وكذلك قد لا تؤدي التأثير الوظيفي نفسه للمواد الفعالة في النباتات الطبية ومن هنا تظهر أهمية النباتات الطبية في العلاج ، ومداواة الأمراض المختلفة (مخدمي.،2014).

ونظرا للأهمية الطبية لهذه النباتات فقد تطرقنا إلى إجراء دراسة كيميائية وبيولوجية لنبات الخروب *Ceratonia siliqua L* التابع للعائلة البقولية ونبات البلوط *Quercus ilex L*. التابع للعائلة الزانية.

3- تعريف العائلة البقولية

تعرف العائلة البقولية Leguminoseae باسم العائلة الفاصولية Bean Family ، وتعتبر هذه العائلة من أكبر العائلات النباتية التي تضم حوالي 2000 نوعا وقد وحد ذلك عالم النبات Hutchinson الى وضع جميع البقوليات في رتبة Les Legumineusesالتي ضمت اليها 3 تحت عائلات هي: البقمية Caesalpiniaceae العائلة الطليحة Mimosaceae ، والعائلة الفراشية Papilionaceae ، وتعتبر مناطق انتشار تحت العائلتين الأوليتين خاصة

في المناطق الاستوائية ، أما تحت العائلة الأخيرة نجدها ضمن المناطق معتدلة الحرارة (لعور وبن دهان.،2016) ونباتاتها أعشاب جنيبات أو أشجار معمرة الأوراق متبادلة بسيطة أو مركبة ، وفي هذه الحالة قد تحتوي أو لا تحتوي على معاليق والأوراق بها أذينات. قد تكون كبيرة كما في (Pisum) وقد تكون شوكية (Robinia) ، والغلاف الزهري يتكون من الكأس الذي يضم 5 سبلات ملتحمة وتحتوي على 5 أسنان ، غالبا ثنائية الشفة ، ويتكون التويج من 5 بتلات منفصلة ، واما الطلع يتكون من 10 أسدية وتكون منفصلة ، أو كلها ملتحمة في أنبوب (أحادية الخيط) أو 9 ملتحمة +1 منفصلة (ثنائية الخيط) والمأبر كبيرة غاليا ،والمتاع يتكون من كربلة واحدة تشكل مبيضا علويا يحتوي على حجيرة واحدة بها بويضات عديدة مرتبة في صفين ومقلوبة أو منحنية والثمرة غالبا قرن Pod (Legume) والبذور عديمة السويداء ، ذات فلقات كبيرة (بوروينة.،1990)

3-1 أهمية البقوليات:

تزرع البقوليات الغذائية أساسا من اجل حبها الغني بالبروتينات و بعض الأحماض الامينية الأساسية و الضرورية لجسم الإنسان. كما إن إدخالها في الدورة الزراعية مع المحاصيل الحبية الاخرى مثل الحبوب يساعد على تحسين انتاحية هذه الأخيرة و كذا تحسين خواص التربة الكيمائية و الفيزيائية و زيادة خصوبتها (حمداش.، 2001)

ومن أهم أجناس العائلة البقولية جنس:Ceratonia

أ- جنس Ceratonia

Ceratonia هو اسم لاتيني مشتق من الكلمة اليونانية Keratia وتعني قرن صغير. ينتمي هذا الجنس الى عائلة البقوليات، يمتاز بأشجاره المزهرة ويستوطن منطقة البحر الأبيض المتوسط والشرق الأوسط (Sbay.,2008)

4- الوصف المورفولوجي للخروب

4-1 الشجرة:

شجرة الخروب ذات اللون الأخضر دائمًا، لها قمة ممتدة للغاية، يمكن أن يصل ارتفاعها من 8 إلى 17 مترًا، وقطرها حوالي 85 سم، ويمكنها ان تعيش إلى 200 عام. اللحاء بني وخشن وأوراقها صلبة و خضراء داكنة اللون، تتراوح مساحتها من 10 إلى 20 سم، تحمل البشرة طبقة سميكة من البوليفينول لحمايتها (Sbay.,2008) ، كما انها تستخدم كأشجار للزينة على طول الطرق والحدائق (Batlle et Tous., 1997).الوثيقة (01)

الوثيقة(01) : صورة توضيحية لنبات *C.siliqua* (Sbay., 2008)

4-2 الثمرة:

الثمرة تسمى "كاروبس" ،هي قرون متدلية يتراوح طولها بين 10إلى 30 cm وعرضها من 1الى 3cm،أولها خضراء تتحول إلى اللون البني الغامق عندما تنضج ،شكلها قاسي و سميك. يمتلئ كل جراب ببذور بنيّة صلبة جداً حوالي 15 إلى 20 بذرة في كل جراب (Drici et Bensouna.,2017).

الوثيقة(02): ثمار الخروب قبل وبعد النضج (Mahdad., 2013)

4-3 الأوراق

الأوراق ريشية تتكون من عنق طويل يحمل من 6 – 10 وريقات متقابلة و الورقة بيضاوية الشكل الحافة مستوية مستديرة عند القمة وهي جلدية خضراء داكنة يبلغ طولها (2.5 – 6.25 cm) (الحسنين.، 2009)

الوثيقة(03) : أوراق شجرة الخروب (Drici et Bensouna.,2017)

4-4 البذور

بذور شجرة الخروب صغيرة ومسطحة، بيضاوية الشكل تقريبًا، مع قطب قاعدي مقطوع وسحق في المنطقة القمية. تكاملها عادة ما يكون قاسيا، تبلغ أبعادها من 8 إلى 10 mm وعرضها من 6 إلى 8 mm بسمك من 3 إلى 5 mm. (Mahdad.,2013) .

البذور ذات لون بني غامق أو باهت لامعة ذات غلاف صلب غير منفذ للماء وتكون سائبة قبل إكتمال جفاف القرن وتصبح ذات خشخشة بعد جفافه (الحسنين.،2009)

الوثيقة(04): بذور الخروب (Mahdad.,2013)

4-5 التصنيف النباتي *Ceratonia siliqua L*

حسب ما جاء به (Dakia *et al*., 2007) فان نبات *C.siliqua* يتبع التصنيف التالي

الجدول(01): التصنيف النباتي لنبات الخروب

المملكة	Plantae	Règne
الشعبة	Spermaphytes	Embranchement
تحت الشعبة	Angiospermes	Sous-embranchement
صف	Dicotylédones	Classe
تحت صف	Dialypétales	Sous-classe
الرتبة	Fabales (Rosales)	Ordre
العائلة	*Fabaceae (*Légumineuses)	Famille
الجنس	Ceratonia	Genre
النوع	*C.siliqua*	Espéce

4-6 التوزيع الجغرافي

تنمو شجرة الخروب في البرية، في تركيا وقبرص وسوريا ولبنان وفلسطين وجنوب الأردن ومصر والجزيرة العربية وتونس وليبيا قبل الوصول إلى غرب البحر الأبيض المتوسط. تم نشره من قبل الإغريق في اليونان وإيطاليا، والعرب على طول الساحل الشمالي لأفريقيا وجنوب إسبانيا وشرقها، مما سمح بعد ذلك بتوزيعها في جنوب البرتغال وجنوب شرق فرنسا. تم تقديمه بنجاح من قبل الإسبان والإنجليز في بلد ان مناخ البحر الأبيض المتوسط الأخرى بما في ذلك الولايات المتحدة (أريزونا وجنوب كاليفورنيا) والمكسيك و أستراليا وجنوب إفريقيا.(Mahdad.,2013)

الوثيقة(05):التوزيع الجغرافي لنبات الخروب *Ceratonia L siliqua* (Batlle et Tous, 1997).

4-7 التركيب الكيميائي لنبات الخروب

تحتوي قرون الخروب على الكربوهيدرات والدهون والبروتين والألياف الغذائية والمعادن والفيتامينات وتحتوي أيضا على نسبة عالية من السكريات الكلية بين 48 و 56 ٪ ،السكروز من 32 إلى 38 ٪ ،والجلوكوز 5 إلى 6 ٪ (**Baston**.،2016). ولكنها منخفضة الدهون (0.4–0.6 ٪) والبروتين (2–6 ٪).

تحتوي شجرة الخروب أيضًا على مركبات فينولية (2 إلى 20٪) تعطيها أدوارًا مختلفة: مضادات الأكسدة، سهولة الهضم، خفض الكوليسترول **(Elaoufi.,2013)**.

4-8 استعمالات نبات *C. siliqua*

يستعمل مشروب ثمار *Ceratonia siliqua* في الطب الشعبي لعلاج حالات الروماتيزم وارتفاع درجة الحرارة ، كما له دور في ادرار البول ، تخفيف ألم الأسنان ، علاج الاسهال ، وتنقيه الدم وإزالة الإرهاق (القحطاني.،2011).

ثمار شجرة الخروب صالحة للأكل لان طعمها حلو. حيث يستخدم الدقيق، الذي يتم الحصول عليه عن طريق تجفيف وتحميص القرون كمضاد للأكسدة بفضل تركيبته الغنية بالبوليفينول.(Sbay.,2008).

ويستعمل صمغه كمادة مضادة للحموضة ، إضافة إلى ترطيب وتوسيع الشعاب التنفسية ، وينصح المرضعات بتناول الخروب أو الشراب المصنوع منه لإدراك الحليب وتعزيز قوته الغذائية ، كما يستعمل لحاءه في توقيف النزيف وذلك لاحتوائه على التانينات القابضة للأوعية الدموية (ابراهيم.،2008).

5- تعريف العائلة الزانية:

تشمل العائلة على 5اجناس فقط ، وحوالي 350 نوع ،تحتل المناطق الحارة والدافئة في نصف الكرة الأرضية ، حيث تشكل غابات متساقطة الأوراق ونباتاتها غالبا أشجار راقية ، الأوراق متبادلة ، وعديمة الاذينات، متبادلة غالبا. أما الأزهار فتحمل في نورات هرية والزهرة وحيدة الجنس ،ماعدا في جنس أنثوية، ذكرية ما عدا في جنس *Castanea*، حيث تحمل الأزهار في نورات هرية أنثوية في القاعدة، و ذكرية في القمة النورة الأنثوية غالبا ضامرة. يتكون في الأزهار المذكرة من4-9 وحدات ملتحمة، صغيرة جدا وقليلة الوضوح أما الأزهار المؤنثة فتحتوي على 6 وحدات ملتحمة محاطة بقنبات كثيفة. الطلع يتكون من 4 ـ9 أسدية، وقد تكون كثيرة كما في *Castanea* والمتاع يتكون من ثلاث كرابل ملتحمة ومبيض

سفلي يحتوي على ثلاث حجيرات (قد يتكون من 6 كرابل تحتوي على 6 حجيرات كما في *Castanea*) والثمرة تكون فقيرة كبيرة Akene، مغلقة وغير تامة كما في *Quercus* أو تكون تامة كما في (*Castanea*، *Fagus*) (بوروينة.،1990).

5-1 جنس Quercuse

جنس Quercus هو واحد من أجناس الغابات الغنية بالأنواع. ويشمل عدة مئات من الأنواع الخشبية من المناطق المعتدلة والبحر الأبيض المتوسط وأمريكا وأوروبا وآسيا، من بينها بعض الأنواع ذات الأهمية الاقتصادية العالية (**Sarir r., 2016**).

البلوط الأخضر *Quercus ilex L* هو نوع دائم الخضرة من عائلة Fagaceae يعتبر واحدة من أكثر الأنواع المميزة في منطقة البحر الأبيض المتوسط (Haichour.,2009).

6- الوصف المرفولوجي لنبات البلوط (*Quercus ilex*)

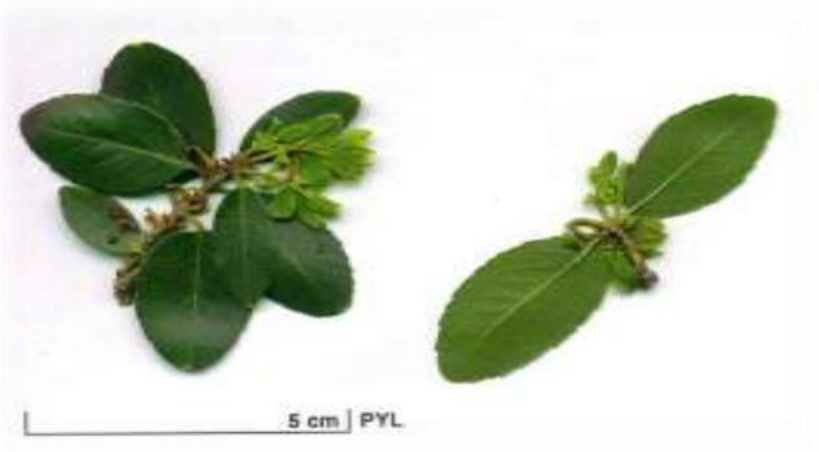
6-1 شجيرة

يكون البلوط الأخضر شائعًا في الغالب على شكل شجيرة أقل من 10 أمتار، ويصل قطرها إلى15 إلى20 مترًا وقطرها أكثر من1 متر، ويكون جذعها دائمًا قصير، متعرج ، وله جذر محوري قوي، ولكن جذور جانبية قوية. تاجها بيضاوي الشكل أو كروي ، كثيف للغاية له فروع مائلة كبيرة، ولحاءه رمادي اللون ، متشقق بشكل دقيق (Bouaziz Et .,2018 Bordjihane).

الوثيقة(06): شجرة البلوط (*Quercus ilex*) (Charef.,2011).

6-2 الأوراق

متبادلة، جلدية، صغيرة الحجم (طولها من3 إلى8 cm، وعرضها من1 إلى3 cm) ، ذات شكل متغير. قد تكون كاملة، مسننة شوكيّة، أو بيضاوية الشكل (Somon., 1987) .



الوثيقة (07): أوراق البلوط (*Quercus ilex*) (Charef.,2011)

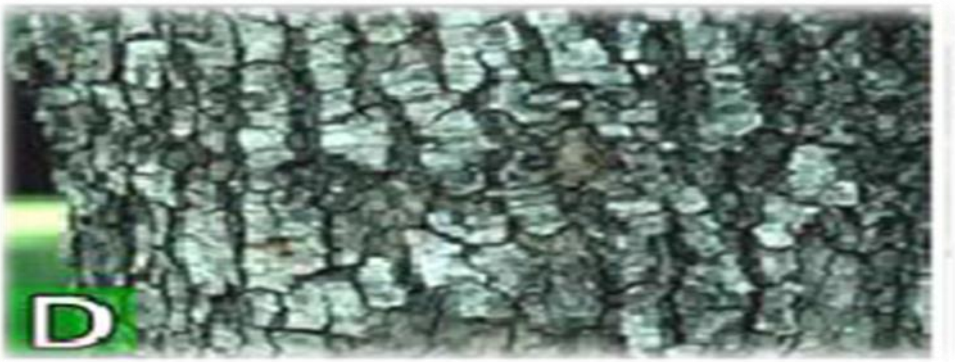
6-3 الثمار

تسمى البلوط، يتراوح حجمها بين1 و3 cm ذات شكل متغير للغاية بيضوي أو فرعي أو اسطواني تنضج الثمار في سنة واحدة يتم تغطيتها في قاعدتها الدائرية مع كوب نصف كروي له لون رمادي وتمتد فترة الإثمار من نوفمبر إلى ديسمبر (Boudy., 1952).

الوثيقة (08) : ثمار نبات البلوط *Quercus ilex* (Daoudi.,2017)

6-4 اللحاء

رمادي اللون الأخضر وسلس في سن مبكرة، ثم يسود والشقوق في لوحات صغيرة والخشب كثيف وصعب جدًا (Bekkar.,2017)



الوثيقة (09): لحاء شجرة البلوط (*Quercus ilex*) (Benia.,2010)

7- التصنيف العلمي لنبات البلوط

Quercus ilex L هو نوع من الأشجار الصلبة الدائمة الخضرة من عائلة Fagaceae وهو نوع مهم في منطقة البحر الأبيض المتوسط (Terradas., 1999).

الجدول (02): التصنيف النباتي لنبات البلوط Quercus ilex L

(Bouaziz Et Bordjihane., 2018).

المملكة	Végétal	Règne
الشعبة	Trachéophytes	Embranchement
تحت الشعبة	Ptéropsidés	Sous-embranchement
الصف	Angiospermes	Classe
تحت الصف	Dicotylédones	Sous classe
الرتبة	Fagales	Ordre
العائلة	Fagaceae	Famille
الجنس	Quercus	Genre
النوع	*Quercus ilex L*	Espèce

8- التوزيع الجغرافي لنبات البلوط *Quercus ilex L*

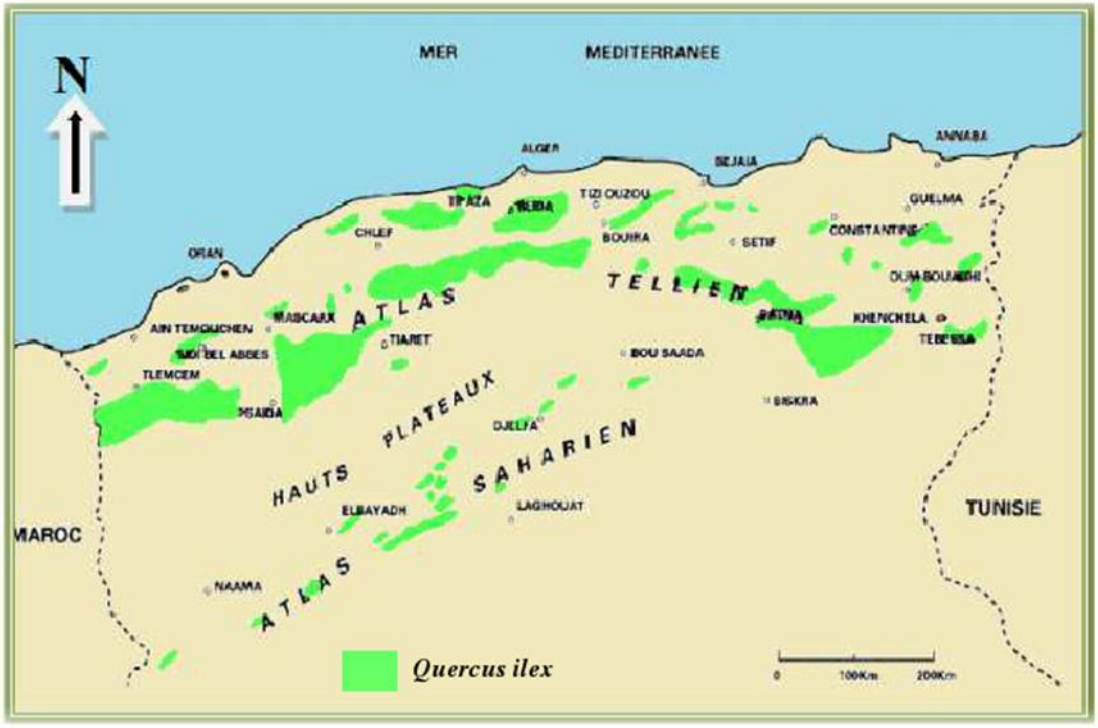
- **في العالم**

البلوط الأخضر هو موطنه الأصلي في جنوب أوروبا والبحر الأبيض المتوسط، ولكنه نما شمالًا منذ القرن الحادي والعشرين(.Russell T., 2012) وهو الاسم العام للعديد من أنواع الأشجار والشجيرات التي تنتمي إلى جنسQuercus. وتتألف الأخيرة من 200 إلى 500 نوع منها 6 أنواع موجودة في شمال إفريقيا. يعتبر البلوط الأخضر، من أهم الأنواع وأكثرها تميزا في منطقة البحر المتوسط بأكملها (Koumiche F.,2016) حيث يمتد أيضا هذا النوع من الصين ومن جبال الهيمالايا إلى بريطانيا، ثم إلى حدود الصحراء وفي إسبانيا يستعمر جميع المقاطعات ويتواجد أيضا في غرب الأندلس وفي البرتغال ، في إيطاليا، وفي صقلية، وأحيانا على الساحل الجنوبي للبحر الأسود(Farida., 2010).

الوثيقة (10): التوزيع الجغرافي لنبات البلوط *Quercus ilex L* (Berrichi,2011).

- **في الجزائر**

يغطي البلوط الأخضر جزءًا كبيرًا جدًا من مساحات الغابات الجزائرية. (Bouaziz Et Bordjihane.,2018) حيث يمتد من شمال الجزائر إلى أطلس الصحراء ومن الحدود المغربية على الحدود التونسية، أما في شرق الجزائر، فهو يتمركز على جبال تبسة التي تقع في أعلى المناطق (1200م) (Daoudi., 2017).



الوثيقة (11) :التوزيع الجغرافي للبلوط الأخضر (*Q. ilex*) في الجزائر(Daoudi., 2017)

9- التركيب الكيميائي لنبات البلوط *Quercus ilex L* (القيمة الغذائية)

البلوط الأخضر غني بالكالسيوم والبوتاسيوم والصوديوم، ويحتوي على آثار المغنيسيوم، ولديه نسبة منخفضة مننسبة السكر في الدم، إنه غني بالأحماض الدهنية الأساسية (**Belarbi M., 1990**).

تكون التنينات(Tannins) اكثر المواد فعالية في القلف حيث تعود الى بوليمرات الفينول التي لها القدرة على ترسيب الجيلاتين في المحاليل، كذلك توجد في كل اجزاء النبات في الخشب والاوراق والثمار والجذور. وتقسم الدباغات الى مجموعتين الاولى لها القدرة على التحلل في الماء (Hydrolasable) والثانية هي الدباغات المركزة (Condensed tannin) وهذه الدباغات صعبة الفصل لأنها لا تتبلور (ياس لهمود السعيدي.،2012).

10- استعمال نبات البلوط في الطب التقليدي

إن النوع الأكثر استعمالا في الطب التقليدي هو البلوط *Q. ilex*، فهو من النباتات الأكثر شيوعا في المغرب لعلاج الاضطرابات الهضمية (الإسهال والقرحة والتهاب المعدة) والإصابات الجلدية. تستعمل قشور جذور هذا النبات لعلاج آلام المعدة كمنقوع أو على شكل مسحوق وحده أو مختلط مع نبات الرمان *Punicagranatum* ونبات الخروب *Ceratonia siliqua*،كما يستعمل أيضا لعلاج التهاب اللوزتين و الحنجرة (ياس لهمود السعيدي.،2012) .

الفصل الثاني

الأيض الثانوي في النبات

1- مدخل

تنتج النباتات العديد من مركبات الأيض الثانوي ، حيث تمتاز هذه المركبات بفعاليتها البيولوجية جد المتنوعة والمهمة للوقاية والعلاج ضد أمراض عديدة قد يصاب بها الانسان أو التقليل من حدة أعراضها ، لذا نجد أغلبية مختصي مجال كيمياء النبات ، يهتمون بفصل وتنقية هذه المركبات لاكتشاف فعاليتها العلاجية (بيرش ومبروكي.، 2015)

1-2 الأيض الثانوي Métabolites secondaires

وهي المركبات العضوية التي تنتجها الكائنات الحية نتيجة عمليات الأيض الثانوي (الإستقلاب) الجارية في الخلايا الحية وهي كثيرة ومتنوعة منها الفينولات، القلويدات الجليكوسيدات و غيرها ،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)

1-2-1 المركبات الفينولية

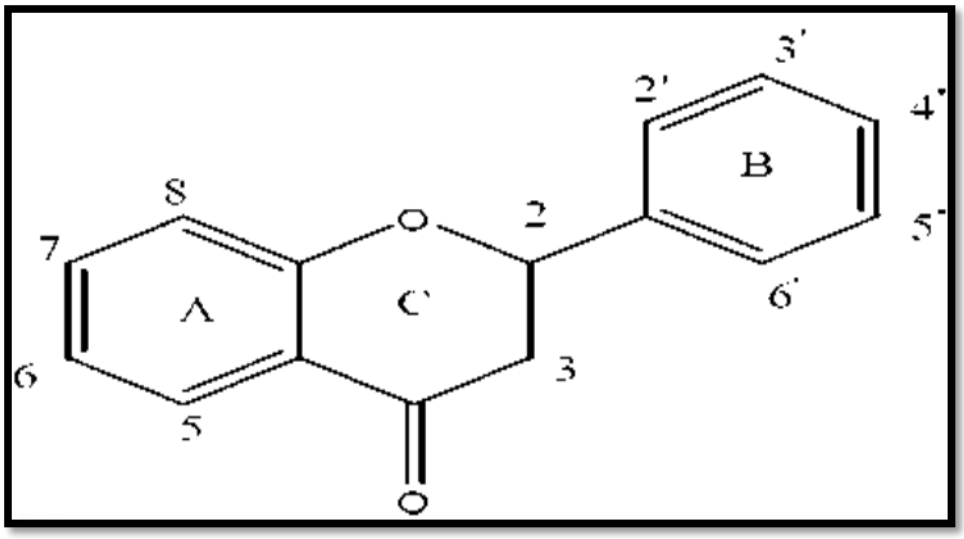
1-1-2-1 تعريفها

تعتبر المركبات الفينولية من أكثر المركبات انتشارا في المملكة النباتية حيث تم التعرف على أكثر من 8000 مركب فينولي، يتكون هيكلها القاعدي من الأحماض الفينولية البسيطة ، تتميز بنيتها بوجود حلقة عطرية أو أكثر مرتبطة مع وظيفة أخرى مثل : الأستر أو الايثر، والاختلاف في عدد ونوع الوظائف المرتبطة بها مما يجعلها تنقسم الى عدة مجاميع تتمثل في : الأحماض الفينولية، الفلافونويدات، التانينات، الكومارينات التي تتواجد في جل النباتات (جرموني.،2009).

1-2-1-2 الفلافونويدات

1-2-1-2-1 تعريف الفلافونويدات

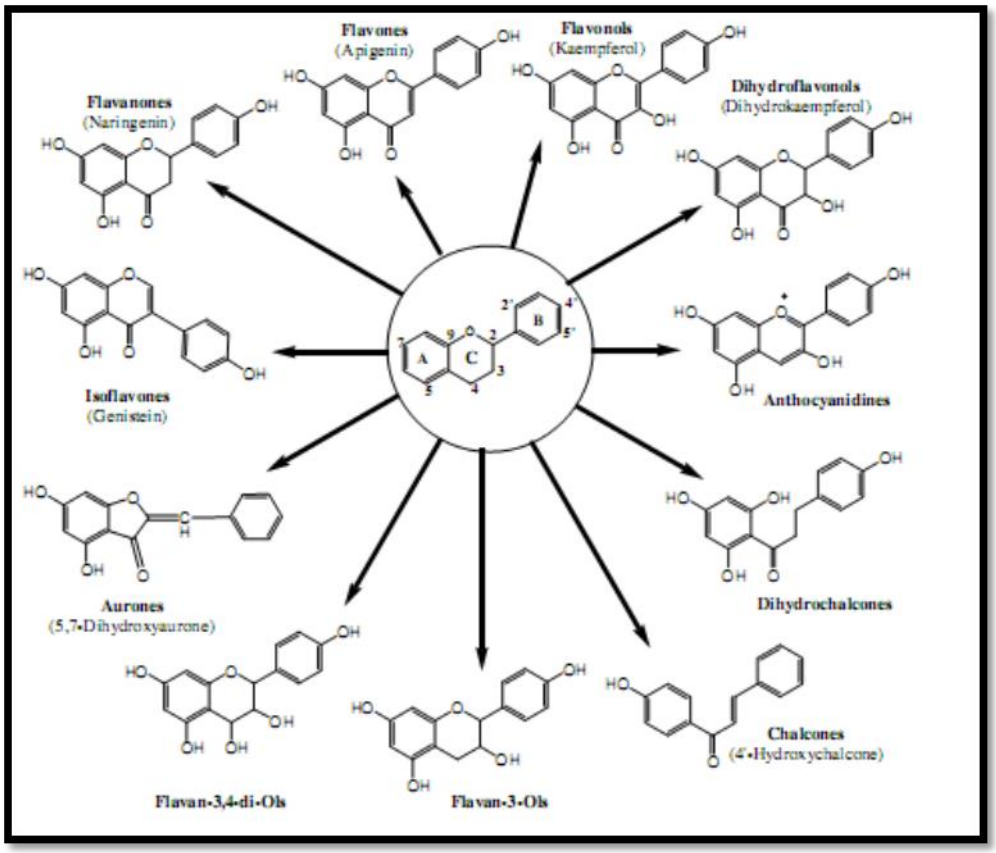
تمثل الفلافونيدات قسم مهم من الميتابوليزم الثانوي للنبات، وهي عبارة عن صبغات نباتية تنتشر في أجزاء النبات المختلفة ، تحوي الفلافونيدات 15 ذرة كربون في هيكلها الأساسي موزعة على ثلاث حلقات C,B, A إذ تتميز ببنية C6-C3- C6 (Madi.,2018) و أصل تسمية الفلافونود يرجع إلى الكلمة الإغريقية flavus التي تعني اللون الأصفر والفلافونيدات عموماً مركبات ملونة وهي المسؤولة عن لون الإزهار والثمار والأوراق في النبات ، توجد في معظم الأصناف النباتية بالأخص الراقية منها، و منعدمة تقريبا عند الطحالب.(**Sarker, Nahar., 2007**).



الوثيقة (12) : الهيكل العام للفلافونويدات (شباح.، 2008).

1-2-1-2-2 تصنيفها

يمكن تقسيم الفلافونويدات انطلاقا من الاصطناع الحيوي لها، فبعضها يعُتبر وسائط ومركبات نهائية في الاصطناع الحيوي مثل الشالكونات، الفلافانو-3- أول، فلافان3,4- ديول بعضها الاخر تعرف فقط بالمركبات النهائية في الاصطناع الحيوي كأننثوسيانيدات ،الفلافانونات، الفلافونولات.



الوثيقة(13): توضح مختلف هياكل الفلافونيدات (ريسكو،2011.).

1-2-1-2-3 خواص الفلافونيدات

تتصف الفلافونيدات التي تحمل عدداً أكبر من مجموعات هيدروكسيل حرة أو سكر بالصفة القطبية، وبالتالي فهي تذوب في المذيبات القطبية مثل: ميثانول، إيثانول، أسيتون، ماء.

أما الفلافونيدات الأقل قطبية مثل الإيزوفلافونات والفلافانونات والفلافونات والتي تحمل عدد أكبر من مجموعات الميثوكسيل فإنها تذوب في الايثر والكلوروفورم(ميثاق.،2010)

1-2-1-2-4 الخصائص البيولوجية والعلاجية للفلافونيدات

في الوقت الحاضر تم دراسة خصائص العلاجية للفلافونويدات، حيث تم التعرف على العديد من الأنشطة البيولوجية والدوائية لها وتتمثل في :مضادات للأكسدة، مضادات للحساسية، مضادات للالتهاب، مضادات لارتفاع الضغط، مضادات للفطريات ، مضادات للفيروسات، مضادات للقرحة المعدية، مضادات للتشنج، و لها دور في حماية الجهاز العصبي و أيضا تحمي من أمراض القلب و الأوعية (Ferradji, 2011 ; عمر،2010; بن سلامة،.2012)

1-2-1-2-5 أهمية الفلافونويدات بالنسبة للنبات

للفلافونويدات وظائف وأدوار عديدة عند النبات منها الحماية ضد الأشعة فوق البنفسجية(Uv) وضد الأكسدة ، الدفاع ضد مسببات الأمراض، كما يمكنها التحكم في نشاط الهرمونات المسئولة عن النمو مثل الأوكسينات، أيضا أهميتها في تلوين الأزهار و الفواكه، ففي الأزهار تكون مسؤولة عن إعطاء اللون المميز الذي يكون بمثابة العامل المساعد على جلب مختلف ملقحات النبات كذلك لها تأثيرات مضادة للفطريات و للميكروبات والحشرات(Athamena., 2009)

1-2-1-3 التانينات Les Tanins

هي عبارة عن مواد قابظة تنتج بشكل طبيعي في النباتات ، قابلة للذوبان في الماء ، وهي مركبات مستخدمة في الدباغة ولها خاصية تحويل جلود الحيوانات الطرية الى جلود غير قابلة لتعفن وقليلة النفاذية ويعزى ذلك الى قدرتها على الاتحاد بالبروتينات (بن عربية. ، 2013)، حيث تنتشر التانينات بوفرة في المملكة النباتية وتتواجد في مختلف أجزاء النباتات الجذور، الأوراق ، الثمار ، والبذور (فاتن. ،2016). 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)

1-2-1-3-1 تصنيفها

تصنف التانينات حسب بنيتها الكيميائية الى قسمين :

أ- التانينات المتحللة Les Tannins Hydrolysables

هي استرات لسكر وحمض الفينول، عند اماهتها ينتح جزء سكري في أغلب الأحيان يكون غلوكوز glucose وجزء فينوليا مشكل من حمض الجاليك (acide gallique) أو حمض الإيلاجيك (acide ellagique) (بن ذهبية.،2013).

ب- التانينات المكثفة Les Tannins condensée

هي مركبات ناتجة من بلمرة لجزيئات أولية تملك البنية العامة للفلافونويدات ، حيث تربط فيما بينها بروابط كربون – كربون (c-c) مما يجعلها صعبة الانحلال (بن ذهبية.،2013) وترجع خواص التانينات المتراكمة الى 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).

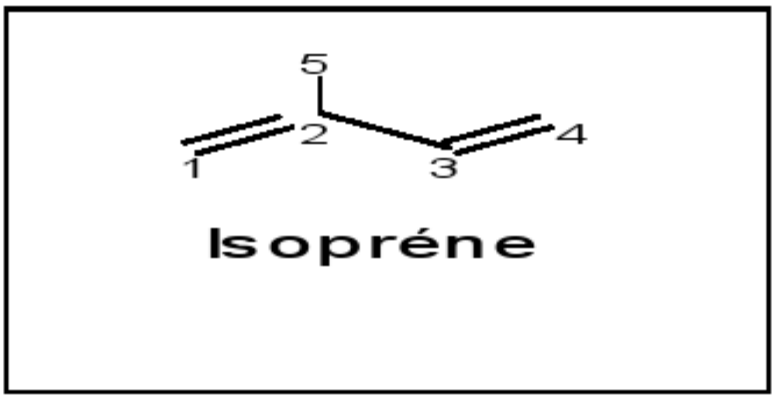
1-2-1-3-2 دور و أهمية التانينات البيولوجية

للتانينات خصائص بيولوجية مهمة ، فهي تستخدم طبيا كمضادات للتسمم بالقلويدات والمعادن الثقيل ،كما تستعمل كمواد قابضة في حالات الاسهال ومعالجة الأمراض الإشعاعية ، وعرفت أيضا بخاصيتها المضادة للالتهاب ولها دور أيضا في وقاية النبات من الامراض التي تسببها البكتيريا والفطريات(عودة.،2014). وتدخل هاته المركبات في الصناعات الكيميائية وفي دباغة الجلود وكذا إنتاج العقاقير والمواد الطبية وغيرها (الداؤدي وآخرون.،2012).

1-2-1-4 التربينات Les terpénes

1-2-1-4-1 تعريفها

مركبات صلبة ، بيضاء، أغلبها ينصهر عند درجة حرارة عالية، موجودة في الطبيعة في صورة حرة أو ايتيروزيدية Hétérosid. حيث تنتمي معظم مكونات الزيوت الطيارة الى مجموعة التربينات، التي تمثل القسم الأكبر من منتجات الأيض الثانوي للنباتات والصيغة العامة للتربينات هي $(C_5H_8)n$ حيث : n عدد وحدات الأيزوبرين (بن خثانة. ، 2014).



الوثيقة (14): وحدة الايزوبرين (بن عربية.، 2013) .

1-2-1-4-2 تصنيفها

تقسم التربينات حسب عدد وحدات الايزوبرين الى عدة أقسام:

جدول (03): أقسام التربينات (بن عربية.،2013)

عدد ذرات الكربون	اسم التربين	وحدة الايزوبرين
10	تربينات أحادية	2
15	سيسكوتربينات	3
20	التربينات الثنائية	4
25	سيسترتربينات	5
30	التربينات الثلاثية	6
40	التربينات الرباعية	8
أكثر من 40	متعدد التربينات	أكثر من 8

1-2-1-5 القلويدات Les alcaloides

1-2-1-5-1 تعريف القلويدات

مصطلح قلويد أدخل في عام 1881 من طرف العالم Meissner والقلويد عبارة عن مركب عضوي قاعدي له صفات القلوية (شبوعات.،2003) تم عزل أول مركب قلويدي هو الأفيون من طرف العالم ديرسون والذي أستخدم كمسكن ، وبصفة عامة القلويدات هي قواعد

أزوتية معقدة البنية، تحتوي على وظيفة حمضية أمينية واحدة أو عدة وظائف (بن ذهبية.،2013).

1-2-1-5-2 تصنيف القلويدات

تنقسم القلويدات عادة الى مجموعات على أساس التركيب الكيميائي للحلقة الأساسية في جزي القلويد (بوقافلة.،2013).

وتنقسم الى ثلاث أقسام رئيسية هي :

أ- **القلويدات الحقيقة (Pseudoalcaloids)**

هي قلويدات سامة ولها تأثيرات فيزيولوجية متباينة ومختلفة في القاعدية وتحتوي على ذرة نيتروجين واحدة أو أكثر في حلقات متغايرة وهي مشتقات من الأحماض الأمينية وتوجد في النباتات على هيئة أملاح للأحماض العضوية، لكن هذه الخواص ليست دائما محققة فمثلا الكولشسين فهو غير قاعدي (شبوعات.،2003).

ب- **القلويدات الأولية (Protoalcaloids)**

عبارة عن أمينات بسيطة تكون فيها ذرة الأزوت خارج الحلقة وهي قلويدات قاعدية يتم تخليقها داخل اللأنسجة النباتية من الأحماض الأمينية وغالبا ما يطلق عليها بالأمينات الحيوية (علاوي.،2003).

ج- **القلويدات غير الحقيقية (Pseudoalcaloids)**

قلويدات قاعدية لا تشتق من الأحماض يندرج تحت هذا القسم القلويدات الستيرويدية والقلويدات بيورينات (شبوعات.،2003).

1-2-1-5-3 دور وأهمية القلويدات البيولوجية

للقلويدات تأثير طبي يختلف حسب نوع القلويد فمثلا الكودايين Codaine قلويد مسكن ومخدر ، والكافيين Caffeineيعتبر منبها ومزيل التعب ، الكولشيسين Colchicine يستعمل لعلاج الروماتيزم (حوة.،2013) الافدرين Ephedrine يسبب ارتفاع ضغط الدم ، ويستعمل قلويد الأتروبين Atropine في جراحة العيون (العابد.،2009).

1-2-1-6 الصابونوزيدات

1-2-1-6-1 تعريف الصابونوزيدات

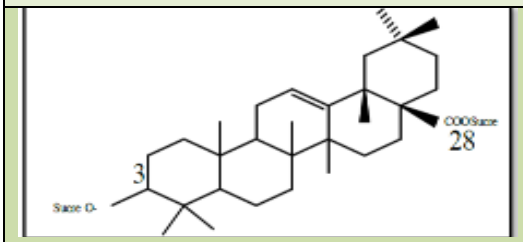
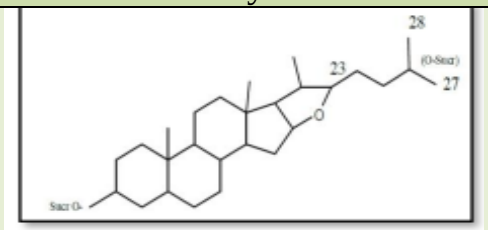
اشتق اسمها من الكلمة اليونانية sapo بمعنى صابون لأنها تعطي رغوة كثيفة اذا رجت مع الماء أو الكحولات المخففة وتستمر مدة طويلة (صندالي.،2013)، وهي عبارة عن تريبينات حقيقية في صورة غليكوزيدية ويتعدد السكر ليصل من اثنين الى عشرة، وعليه فالصابونوزيدات تنقسم الى قسمين هما: الصابونوزيدات ذات نواة ثلاثية التربين (Group des triterpénes) والصابونوزيدات ذات نواة تريبينية استرويدية (Group des steroids) (بوقافلة.،2013).

تتواجد الصابونوزيدات في النباتات أحادية الفلقة Monocotyledonae مثل العائلة النرجسية Amarilidaceae والزنبقية Liliaceae وقليل جدا في ثنائيات الفلقة Dicotyledonae مثل العائلة الغدبية Scrophulariacea.

وهي ذوابة في الماء الدافئ (قابلة لإماهة بسهولة) وذوابة في مزيج (ماء – كحول) بعد استخلاصها بايثر البترولي (زمالي،.2007).

1-2-1-6-2 تصنيف الصابونوزيدات

الجدول (04): أقسام الصابونوزيدات (بوقافلة.،2013)

القسم	النوع	المثال
الصابونوزيدات ذات نواة ثلاثية التربين Group des triterpènes	Mono bidesmosides	 B-amyrine
الصابونوزيدات ذات نواة تريبينية استرويدية Group des steroid	Bidesmosides	 Furostanes

1-2-1-6-3 دور و أهمية الصابونوزيدات البيولوجية

تستخدم الصابونوزيدات كمضادة للبكتيريا والفطريات ، وكمضاد للالتهابات، ولها أثار سامة لغذاء الانسان والحيوان، تستخدم فيالمنظفات ، تأثر على الأغشية الدهنية ، وتعمل على حث تمديد الدم في المخبر ، أو حقنها وريديا (Bruneton،2009).

الفصل الثالث

الدراسة البيولوجية

1- الاجهاد التأكسدي

يعرف الاجهاد التأكسدي بإختلال التوازن ما بين الأليات التي تؤدي إلى إنتاج الجذور الحرة والميكانيزمات التي تعمل على التخلص منها أو ما تسمى بمضادات الأكسدة (antioxidant).
و قد يرجع ذلك الإختلال إما إلى تنشيط الأليات الأولى أو إلى تثبيط الميكانيزمات الثانية أو الإثنين معا وتؤدي كل تلك الحالات إلى تراكم الجذور الحرة و التي تتميز بقدرة عالية على إتلاف الانسجة (Halliwel.,1997).

1-1 تعريف الجذور الحرة

الجذور الحرة عبارة عن ذرة أو مجموعة من الذرات تحتوي على إلكترون غير مزدوج على الأقل، وعندما يتحول الإلكترون من مزدوج إلى غير مزدوج فإن خطره يزيد ويصبح غير مستقر، وعموما فإن الجذور الحرة تنتج طبيعيا من خلال التفاعلات الحيوية داخل الجسم والذي يحاول أن ينظم تركيزها، ولذلك فإن تواجدها في الدم بتركيز منخفض يعتبر أمرا طبيعيا ولكن المشكلة تكمن عندما يزيد تركيزها داخل الجسم (بن مرعاش.، Hamidi *et al.*,2014;2011).

1-2 أنواع الجذور الحرة

تقسم الجذور الحرة الى:

1-2-1 على أساس الاستقرار

أ- الجذور النشطة (غير المستقرة)

وهي التي لها أعمار قصيرة قد تصل أحيانا حدود أعمارها البيكوثانية و لها عادة أوزان جزيئية صغيرة من أمثلتها جذور .$Cl^{\bullet},H^{\bullet},F^{\bullet},NO^{\bullet-},HO^{\bullet},I_2^{\bullet-}CH_3^{\bullet}$.

ب- الجذور المستقرة (الصامدة)

1-2-2 على اساس النوع

وتكون لها أعمار طويلة تقدر بالثواني و يمكن ان تصل إلى أيام من أمثلة ذلك جذر ثلاثي ميثيل أمين و جذر ثنائي فينيل لبكريل هيدرازين (DPPH) (حوة.،2013).

وتقسم الجذور الحرة على اساس النوع الى:

أ- الجذور الحرة الاكسجينية

أهمها شق الهيدروكسيل الحر قد يكون أخطرها غير أن الجذر الحر له لا يدوم فهو مرحلة انتقالية عمرها قصير .(ريدة.،1999).

❖ **جذر فوق الأكسيد $O_2^{\cdot -}$ Superoxide anion**

و هو عبارة عن جذر أحادي مشحون بشحنه سالبة، وينتج عن إختزال الأكسجين الجزيئي الذي يستقبل إلكترونا أثناء التفاعل ويتطلب طاقة (محمد بو عبد الله.،2011).

$$O_2 + 1\,é \xrightarrow{\text{Oxydses}} O_2^{\cdot -}$$

❖ **جذر فوق أكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide**

ينتج H_2O_2عن عملية دسمته (dismutation) أيون-O_2• بواسطة إنزيم Superoxide dismutase (SOD) حسب التفاعل التالي: (Vinatier et al.2010).

$$2\,O_2^{\cdot -} + 2\,H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

ان H_2O_2 يعتبر من الأنواع الأكسيجينية الأكثر سمية، وذلك بسبب غياب شحنة عليه مما يجعله قابل للمرور عبر الأغشية البيولوجية، كما يمكنه أن يتحول إلى جذر

$OH^{\bullet}$ في وجود بعض أيونات المعادن وفقا لتفاعل Fenton بتفاعله مع $O_2^{\bullet -}$ حسب المعادلة (Sato *et al*., 2011).

$$H_2O_2 + O_2^{\cdot -} \xrightarrow{Fe^{+2}/Cu^{+2}} HO^- + HO\cdot + O_2$$

❖ جذور الهيدروكسيل (OH)

إن جذر $OH^{\cdot}$ هو جزيء نشط جدا ويمكن أن يتفاعل مع البروتينات والأحماض النووية والليبيدات وغيرها من الجزيئات ليغير من تركيبها ويسبب تلفاً للأنسجة(جبالي.،2012).

$$H_2O_2 + Fe^{+2} \longrightarrow OH\cdot + Fe^{+3} + OH^-$$

وهذا التفاعل يتوقف بسرعة عند نفاذ أيونات Fe^{2+} ،وأيضا يملك جذر $OH^{-\cdot}$ نصف عمر يقدر بـ 10^{-9} نانو ثانية، كما يساهم هذا الجذر بشكل كبير في السمية الخلوية التي تحدثها ROS (Halliwell et Gutteridge .,1989)

ب- الجذور الحرة النتروجينية

أكسيد النتروجين و بيروكسيد النتروجين الهيدروجيني و بيروكسيد النتريت و هو الأكثر خطورة.

ج - الجذور الحرة الدهنية

تتميز الدهون بكونها أعلى درجة اختزال من عناصر الجسم، و بالتالي فهي عرضة أكثر من غيرها للتأكسد بجذور الاكسجين و النتروجين خاصة من ها الدهون غير المشبعة، وهي أطول عمرا .

د- جذور السموم الحرة وتمثل معظم المواد السامة و المسرطنات الكيميائية . (ريدة.،1999).

1-3 مصادر الجذور الحرة

تنشأ الجذور الحرة في جسم الإنسان من مصادر داخلية Endogenous وخارجية Exogenous وتزداد في حالات المرض والإرهاق النفسي والجسدي وبتقدم العمر شيئاً فشيئاً ،

ويعتبر النشاط الأيضي داخل الخلايا مصدراً داخلياً للجذور الحرة، كما أن العديد من المركبات في الجسم مثل الأدرينالين والدوبامين وبعض مكونات الميتوكوندريا و هذا خلال التنفس الخلوي حيث تخلق الميتوكندري الـ ATP عن طريق اختزال الأكسجين الجزيئي من خلال سلسلة نقل الإلكترونات، و أيونات الـ H^+ على مستوى الغشاء الداخلي للميتوكندري وينتج كذلك أنيون $O_2^{-\circ}$ الذي يتحول فيما بعد الى H_2O_2 أو $HO^\cdot$ يمكن أن تتفاعل مع الأكسجين لإنتاج جذر فوق الأكسيد والذي يتم إنتاجه كذلك داخل الجسم من خلايا الدم البيضاء كآلية دفاعية ضد البكتيريا.

كما تنشأ الجذور الحرة في جسم الكائن الحي من عدة مصادر خارجية أهمها :الأشعة فوق البنفسجية وكل أنواع التدخين والمبيدات والمواد البتروكيميائية والمذيبات كالبنزين وبعض العقاقير وأشعةX والقوى الكهرومغناطيسية المنبعثة من خطوط الضغط العالي والمولدات الكهربائية والهواتف الجوالة وشاشات التلفزيون والحاسب الآلي وبعض المركبات الموجودة ضمن الأطعمة المأكولة والغازات المنبعثة، إننا لا نستطيع إيقاف تكون الجذورالحرة، لأنها جزء من عملياتنا الأيضية وحياتنا اليومية في هذا العالم الصناعي (محمد بو عبد الله.، 2011).

1-4 طرق تفاعلات الجذور الحرة

تتفاعل الجذور الحرة بمعظم أنواعها طويلة أو قصيرة العمر، المشحونة منها والمتعادلة بتفاعلات سريعة جدً ا ومختلفة وهذه بعض طرق تفاعلاتها:

أ- تفاعلات التبادل الالكتروني

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 (قمولي.،2011)

$$OH^\cdot + Cl^- \rightarrow OH^- + Cl^\cdot$$

ب- تفاعلات تفكك الجذور الحرة

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

$$RC^{\cdot}=O \rightarrow R^{\cdot} + CO$$

ج- تفاعلات اتحاد الجذورالحرة

إن تفاعلات الجذور الحرة مع بعضها البعض يعد من التفاعلات المهمة جداً ا، حيث ينتهي وجود هذه الجذور بنظام ما لهذه التفاعلات مع تكوين مركبات مستقرة ويطلق على هذه التفاعلات تفاعلات الاتحاد أو تكوين الدايمر (Sykes.,1985).

$$OH^{\cdot} + OH^{\cdot} \rightarrow H_2O_2$$

$$NH_2^{\cdot} + NH_2^{\cdot} \rightarrow N_2H_4$$

1-5 أضرار الجذور الحرة :

- زيادة سرعة أعراض الشيخوخة.
- أمراض القلب والأوعية الدموية.
- أمراض الجهاز الهضمي.
- أمراض العيون واضطرابات الرؤية.
- أمراض الكلى.
- الأمراض الجلدية.
- الاضطرابات العصبية.
- أمراض الكبد (Drog.,2002 ; Ciulel.,1983)

2- مضادات الاكسدة

2-1 تعريفها

مضادات الأكسدة هي مجموعة من العناصر والمركبات الموجودة بصورة طبيعية في معظم الخضروات والفاكهة ومعظم الأعشاب الطبية، حيث جرى التعرف على تركيب وآلية عمل عدد قليل منها، وتعمل مضادات الأكسدة بالدرجة الأولى كمانحات للهيدروجين أو مستقبلات للجذور الحرة وعليه فإن الدور الأساسي لمضادات الأكسدة هو كسر تفاعل السلسلة للأكسدة الذاتية و ذلك بالتفاعل مع جذور الهيدروبيروكسيدات، ويمكن تقسيم مضادات الأكسدة إلى قسمين :طبيعية ومصنعة(رضوان صدقي.،1991؛ بن عاشورة.، 2006).

2-2 انواع مضادات الاكسدة

إن الدور الأساسي لمضادات الأكسدة هو كسر سلسلة التفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة وتقسم مضادات الأكسدة من حيث مصادرها إلى الطبيعية والمصنعة (Miquel., 2002).

2-2-1 مضادات الاكسدة الطبيعية

أ- مضادات الاكسدة الانزيمية

وتلعب دوارً هاما و أساسياً في حماية الخلية من الإجهاد التأكسدي، وتنقسم هذه المجموعة إلى ثلاث فئات هي:

- **انزيم فوق أكسيد الديسموتاز Superoxide dismutase**

عبارة عن بروتين معدني يتواجد في كل العضيات الحيوانية و النباتية وفي الكائنات الدنيئة الهوائية يحفز هذا الإنزيم تحويل جذر فوق الأكسيد -.O2 الى H2O2 يحدث هذا التفاعل تلقائيا، ولا يحتاج إلى طاقة أو إلى عامل مساعد

(Antwerpen., 2006 ;Goudable Et Favier., 1997)

$$2\ O_2^{\cdot -} + 2\ H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

الكاتالاز Catalase

ويوجد في الأجسام البيروكسية في خلايا أنسجة الكائنات الراقية كالدم ونخاع العظام والأغشية المخاطية والكلى والكبد كما أن هذه الأجسام غنية بإنزيم آخر هو الاكسيداز Oxidase فبينما يعمل الاكسيداز على تكوينH2O2 يقوم الكاتالاز بتكسيره وتحويله إلى ماء وأكسجين حيث إن الماء والأكسجين الناتجة ثابتة ومستقرة ولا ضرر منها (Delattre et al.,2005) ولكن دورهم مهم للغاية خاصة في وجود أيونات حديدية (1993.، Lindau-) Sehpard et Shaffer.

جلوتاثيون بيروكسيداز Glutathione peroxidas

يوجد هذا الإنزيم في خلايا الدم الحمراء والأنسجة الأخرى. ويقوم هذا الإنزيم بتحفيز تكسير H2O2 و Hydroperoxides اللبيدات بواسطة الجلوتاثيون المختزل(GSH) و H2O2 لتعطي الجلوتاثيون المؤكسد (GSSG) والماء، كما هو موضح في المعادلة التالية:

$$H_2O_2 + H_2O + 2\ GSH \longrightarrow 3H_2O + GSSG$$

يقوم الجلوتاثيون بيروكسيداز بحماية دهون الأغشية الحيوية والهيموجلوبين ضد الأكسدة بواسطةPeroxides التي يمكن أن يستخدمها كركائز أخرى(عزري.،2013).

ب- مضادات الاكسدة غير انزيمية

هناك عدة أنواع من مضادات الأكسدة غير الإنزيمية ومنها

- **الفيتامين C**

يسمى كذلك بحمض الأسكوربيك Ascorbic acid، وهومضادأكسدة يذوب في الماء ويعمل داخل الخلايا ويستطيع إختزال الجذور الحرة من معظم مصادرها، كمايعمل على مساندة النظام الدفاعي للجسم ويستخدم أيضا ضمن آليات الجسم لإزالة سمية بعض المواد الكيميائية وله دور هام في عملية الأكسدة والاختزال في الجسم (جابو وذكار.،2017).

- **الفيتامين E**

مصطلح فيتامين (هـ) يدل على مجموعة من Isomères ،tocopherol (تتألف من نواة واحدة chromanol وسلسلة جانبية مشبعة تحتوي على 16 ذرة كربون) و tocotriénols (والتي تختلف عن tocols بوجود 3 روابط مزدوجة في هذه السلسلة الجانبية Haleng *et al*., 2007)، وفيتامين E من المركبات المضادة للأكسدة الذائبة في الدهون، بسبب سلسلته الأليفاتية الطويلة التي تحتوي على 16 ذرة كربون، يتواجدعلى مستوى الأغشية ويثبط سلسلة تفاعلات فوق أكسدة الدهون يتفاعل فيتامين E مع الجذور الليبيدية ويمنع انتشارها،حيث يعمل على إستخلاب هذه الجذور ويتحول بدوره إلى جذر حر لكنه أقل نشاطا مقارنة بجذرالبيروكسيل.(Gardesalbert *et al*.,2003). يتم تجديد فيتامين (E) بفيتامين (C) الذي هو نفسه تم تجديده بواسطة الإنزيمات (Favier., 2003).

- **الجلوتاثيون Glutathione**

هو ببتيد يمثل تميم انزيمي Goenzyme للغليوكسالاز Glyoxalas ، والذي يساهم في النقل الفعال للأحماض الأمينية ، ونتيجة لاكسدته السريعة فهو يساهم أيضا في كثير من تفاعلات الأكسدة والارجاع Redex ينتشر بشكل واسع في الحيوانات ، النباتات الحية المجهرية.(قلاب ذبيح.،2018)

- **الكاروتينويدات Carotenoids**

هي ملونات طبيعية متواجدة في النباتات وقد بينت الدراسات أن التغذية المعتمدة على الخضر والفواكه الغنية بالكروتانويد تنقص من ظهور أمراض الأوعية الدموية القلبية (Steinberg., 1992) وتعود الفاعلية المضادة للأكسدة لهذه المركبات بصفة عامة لتواجد الكاروتينويدات وذل ك راجع لوجود سلسة كربونية أليفاتية طويلة حاملة لعدة روابط ثنائية كماتبين أن β–Caroten مركب مضاد للسرطان ، حيث له القدرة المضادة للأكسدة وذلك عن طريق إنقاص التوتر الأكسدي لبعض الخلايا أو يعمل على تقليص الأضرار الناتجة

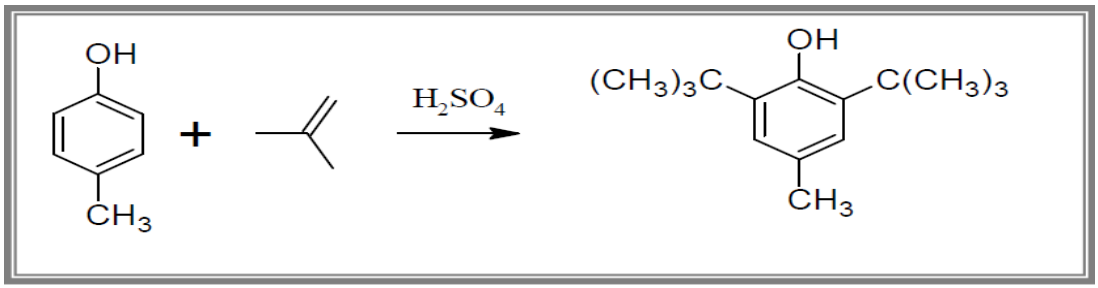
عن هذا التوتر على مستوى الخلايا، وبالتالي ينقص خطر الإصابة بالسرطان(Edge *et al*.,1997 Van Poppel et Van den Berg., 1997;)

2-2-2 مضادات الاكسدة الاصطناعية

هي مضادات أكسدة تحضر وتستعمل تجاريا حفظ المنتجات الطبيعية وكذا في الصناعة كصناعة المطاط والمشتقات البترولية من أمثلة ذلك:(وائل غالب..،2008)

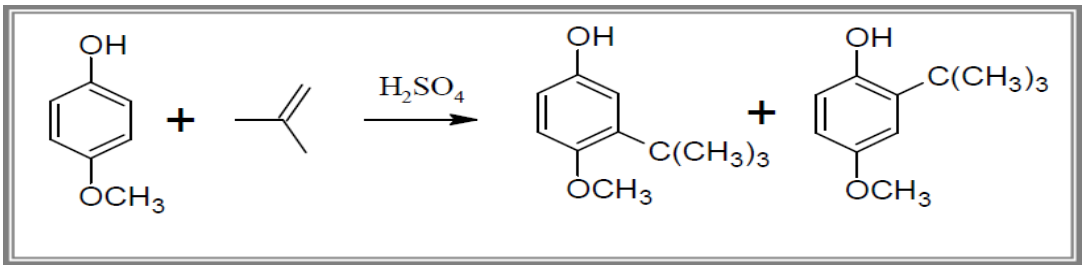
- **مركب BHT**

لتحضيره يستعمل تفاعل فريدل – كارفت ويستخدم في حفظ الأطعمة ومنع تأكسدها، ويتم وفق التحول التالي.



الوثيقة(15): بنية المركب BHT

- **مركبBHA**



الوثيقة(16): بنية المركب BHT

2-3 الاضرارة الناجمة عن الاجهاد التاكسد

2-3-1 أكسدة الليبيدات

المركبات الليبيدية التي تحتوي على روابط كبيرة غير مشبعة تتاثر كثيرا بالاكسجين ، ففي وجوده تتهدم الليبيدات وتأخذ رائحة مزعجة ، هذه الآلية تسمى بفوق أكسدة الليبيدات ، هذا التفاعل ينقسم الى ثلاثة مراحل:

– **المرحلة الابتدائية:** تحدث هذه المرحلة بتحفيز جذري للرابطة C-H لسلسلة الاحماض الدهنية وتشكل جذور جد فعالة في وجود الأكسجين وهي جذور بيروكسيلية.

– **مرحلة الانتشار:** امتداد للمرحلة الأولى ، الجذر البيروكسيلي يأخذ هيدروجين من جزيئة أخرى من الاحماض الدهنية وبالتالي تخليق جذر جديد يتحول الحمض الدهني الى هيدروبيروكسيد.

– **مرحلة النهائية:** تتعرض الهيدروبيروكسيدات الناتجة الى عدة تحولات اما تراجع بواسطة انزيم GPx أو تستمر أكسدتها وتتجزأ الى ألدهيدات سامة.

تتوقف هذه التفاعلات المتتالية اما بتدخل مركب مضاد للاكسدة والذي يقوم بدور كاسر للسلسلة أو تفاعل جذرين مع بعض لانتاج جزيئة مستقرة (Hannebell *et al.*,2004).

2-3-2 أكسدة ADN

تعلى حسب (Halliwell P., 2000; Singal P et al., 1988) تؤدي أكسدة الجذور الحرة المختلفة على مستوى ADN إلى تشكل أربعة أنواع من الأضرار:

– تغيرات على مستوى القواعد الآزوتية.

– تغيرات على مستوى المواقع غير القاعدية.

– تشكل جذور بين ADN والبروتين.

– كسر على مستوى السلاسل (الأحادية والمزدوجة)،والتي تعتبر مصدرا للعديد من الأضرار التي تصيب القواعد مثل : 8-oxoguanine الذي ينتج عن هجوم جذر الهيدروكسيل peroxynitiete أو الأكسجين المفرد guanine في الموقع C-8 وتؤدي هذه الأضرار إلى الخطأ في القراءة خلال عملية الاستنساخ (بوبلوطة.،2009)

2-3-3 أكسدة البروتينات

ان البروتينات الأكثر عرضة للأكسدة هي تلك الحاملة للوظيفة SH مثل الإنزيمات الخلوية وبروتينات النقل وتؤدي إلى إحداث أضرار غير رجعية حيث تخضع لتجمعات

شبكية أو تخضع لقطع في حالة الصدمات القوية او الى التغيرات على مستوى الأحماض الامينية عند التعرض لصدمات معتدلة (Fu *et al.,1998*)، تفقد البروتينات خصائصها البيولوجية وتصبح أكثر عرضة للتحلل والبروتينات المؤكسدة تصبح كارهة للماء بتثبيط مجموعة الامين المؤينة أو إظهار المناطق الكارهة للماء المركزية وبذلك تشكل كتلا ترتبط مع الليبيدات لتشكل ما يعرف بـ lipofuschins المميزة للأنسجة المسنة. (Favier. , 2003) .

3- تعريف البكتيريا

البكتريا كائنات دقيقة الحجم ، ولا ترى إلا بواسطة المجهر ، تتواجد في كل مكان في الماء والهواء وأيضا في جسم الإنسان. تستطيع البكتيريا العيش والتأقلم لمدة طويلة متحملة جميع الأحوال غير ملائمة من انخفاض وارتفاع درجة الحرارة وغيرها من الظروف البيئية القاسية وعندما تتحسن الظروف البيئية المحيطة تتخلص البكتيريا من الغشاء السميك وبذلك ترجع إلى نشاطها وحيويتها (العابد.، 2009).

3-1 خصائص البكتيريا

- البكتيريا كائنات دقيقة الحجم يتراوح حجمها بين 2- 0.3 ميكرون .
- البكتيريا كائنات دقيقة مجهرية بدائية النوى .
- تتميز البكتيريا ببساطة التركيب.

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

- تحتوي الخلية البكتيرية على غلاف ، قاس ، متماسك ، متمم للبكتيريا ، وهو المسؤول عن حماية و شكل الخلية من الاضطرابات الناتجة عن تأثير الضغط الخارجي . وهناك أنواع أخرى تحتوي على حافظة خارجية تدعى capsule.

•درجة الحرارة المناسبة لنمو البكتيريا تتراوح بين 37 – 45 م° بحيث يمكنها التكاثر خلال مدة وجيزة إلى أعداد كبيرة (العابد.،2009).

3-2 تصنيف البكتيريا

صنف العلماء البكتيريا على إعتبار عدة معايير :

❖ **من حيث توزيع أسواطها**

يمكن تقسيمها إلى :

1.بكتيريا وحيدة السوط .

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

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

❖ **من حيث الشكل**

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

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

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

– البكتيريا الواوية(Vibrio): التي تأخذ شكل الواو أو الضمة العربية.(علاوي.،2003)

❖ **من حيث الوسط الذي تعيش فيه**

– بكتيريا هوائية (Aerobic) : وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الهواء الجوي

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

– بكتيريا لاهوائية إختيارية (Facultative Anaerobic) : وهي البكتيريا التي يمكنها العيش والنمو،فيظل وجود الهواء الجوي أوعدمه .(حوة.،2013).

❖ **من حيث التغذية**

– بكتيريا ذاتية التغذية : و هي التي لنموها تستخدم الكربون.

– بكتيريا عضوية التغذية : و هي التي لنموها تستخدم الكربون المحلل من السكر.
(Cristina et Ilonka.,2009)

❖ **من حيث التلوين**

يوضح الاختلاف في تركيب جدار الخلية بالتلوين ، حسب تقنية غرام (Gram) نسبة

1. بكتيريا غرام موجب (Gram Positive) : عند تلوينها تمتص اللون وتظهر أرجوانية.
2. بكتيريا غرام سالب: (Gram Négative) تحرر صبغ وتظهر حمراء.

ويظهر جدار خلية البكتيريا غرام موجب (Gram Positive) أسمك من جدار خلية البكتيريا غرام سالب (Gram Négative) (ابو الذهب واخرون.،1997)

❖ **من حيث أثرها على الإنسان**

1. البكتيريا نافعة Bénéficial bactérie

وهي التي تقدم خدمات جليلة للإنسان والحيوان والبيئة فهناك نوع من البكتيريا يعيش في أمعاء الإنسان ، يساعده على هضم الطعام ، ويفرز بعض المواد المفيدة للجسم ، مثل ، الفيتامينات ، ويعمل على تدمير البكتيريا الضارة.

وهناك نوع آخر من البكتيريا يعيش في التربة ، ويلعب دو ا ر هاما في غذاء النبات ، إذ يقوم بتثبيت النيتروجين الموجود في الهواء الجوي ، ليكون بمثابة عنصر أولي ، يستطيع من خلاله النبات أن يكون البروتين ، كما تقوم بكتيريا التربة بتحليل أجسام الكائنات الحية بعد موتها ،وكذا المواد العضوية المعقدة ، وتحويلها إلى صور بسيطة ، تستفيد منها التربة والنبات والحيوان . ولا يقتصر الأمر على ذلك فحسب ، بل إن هناك صناعات كاملة تقوم على استخدام بعض أنواع البكتيريا النافعة ، فصناعة بعض منتجات الألبان ، وبعض الأدوية ما هي إلا ناتج عمل البكتيريا النافعة (ربيعي.،2010)

2. البكتيريا الإنتهازية Opportunistic Bacteria

هي البكتيريا المتعايشة في جسم الإنسان ويمكن أن تسبب المرض عندما تقل مقاومة الإنسان للمرض. فمثلاً، إذا كان تكاثر البكتيريا في الحلق أسرع من قدرة الجسم على

التخلص منها، فمن المحتمل أن يصاب الشخص بالتهاب في الحلق . وكذلك الحال بالنسبة لمرض التهاب اللوزتين.(لبوز.،2012)

3. البكتيريا الضارة Bactéries nocives

تسبب بعض أنواع البكتيريا كثيرا من الأمراض للإنسان من بينها الكلوليرا والسيلان و الالتهاب الرئوي وحمى التيفوئيد والسعال الديكي وغيرها، وتدخل البكتريا إلى الجسم عن طريق الفتحات الطبيعة مثل الفم أو فتحة الأنف أو عن طريق شقوق في الجلد ،وبالإضافة تحمل البكتيريا من شخص إلى أخر بواسطة الهواء والطعام والماء، وتمنع البكتيريا الضارة الجسم من أداء وظائفه.(حميدي.،2015)

3-3 السلالات البكتيرية المستعملة

❖ ***Escherichia coli***

هي بكتريا عصوية سالبة الغرام تنتمي إلى العائلة Enterobacreriaceae ، ذات أبعاد 1-3 Mm معظمها ليست ممرضة ، متواجدة عادة في أمعاء الثديات بما فيها الإنسان ، ويمكنها أن تسبب عدة أمراض منها : التهابات معوية ، التهابات الأعضاء التناسلية والتهاب السحايا لدى الأطفال حديثي الولادة (Singleton. ,2004 ; Silvia ., 2003).

❖ ***pseudomonas aeruginosa***

هي بكتيريا ذات سالبة الغرام متحركة هوائية مصدرها الجهاز الهضمي للإنسان والحيوان والماء والتربة، وهي تعمل على الإتلاف السطحي للأغذية المبردة وتعد من بين المكروبات المحللة للدهون باللبن مما يؤدي إلى تغير لونه وطعمه و هي مقاومة للعديد من المضادات الحيوية والمطهرات مما يفسر نموها وتكاثرها في الأوساط الإستشفائية حيث تنمو في الأجهزة الطبية، الأفرشة، الألبسة وتكون ممرضة بضعف الجهاز المناعي للجسم (قميني والعيفاوي.،2016).

❖ ***Micrococcus sp***

هي بكتريا موجبة الغرام تتواجد على مستوى البشرة للانسان والحيوان على حد سواء، نادرا ما تكون متحركة ولها قطر يتراوح 0,5 –3 ميكرومتر وهي عموما تعتبر بكتريا غير ضارة (Hajek., 2004).

❖ ***Staphylocoques aureus***

بكتيريا لا هوائية، موجبة الغرام، تنتشر في مختلف الأوساط البيئية ، قطرها يتراوح 0,5 – 1,5 ميكرومتر (Harrar.,2012).

❖ ***Salmonella typhi***

بكتيريا لا هوائية اختيارية ، سالبة الغرام، عصوية، حركية، ضارة بالإنسان حيث تسبب حمى اليتفويد (Zhang *et al*.,2008) تسبب هذه البكتيريا مرض يتميز بالتهاب حاد في الأمعاء و القولون في بداية الأمر وبعد وقت من الإصابة تنتشر البكتيريا مع الدم لتسبب الإلتهاب في أي عضو تستقر فيه(العابد.،2009).

❖ ***Fusarium culmorum***

هو فطر لا جنسي طفيلي يصيب العديد من أنواع النباتات من بينها الحبوب والبقوليات وبالأخص بادرات القمح (بوزيد.، 2008).

الجزء التطبيقي

الفصل الأول

الطرق والوسائل

1- الدراسة الكيميائية

1-1 الأدوات المستعملة

جدول(05): الادوات والاجهزة المستعملة في العمل المخبري

الأدوات	المحاليل والمواد	الاجهزة
تقدير القيمة الغذائية		
تحضير المستخلصات		
بيشر ملعقة Spatule حامل انابيب انابيب مغلقة انبوب اختبار مدرج انابيب جهاز الطرد المركزي Micropipette	ماء مقطر TCA Ether Chloroforme NaOH	جهاز الرج المغناطيسي ميزان جهاز الطرد المركزي
تقدير الكربوهيدرات		
انابيب اختبار زجاجية حامل انابيب الاختبار Micropipette ملعقة Spatule بيشرBecher	مستخلصات نباتية غلوكوز حمض الكبريت فينول ماء مقطرL'eau distillée حمض الغاليك	ميزان حساس جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotomètres)
تقدير البروتين		
انابيب اختبار زجاجية حامل انابيب الاختبار Micropipette بيشر Becher	مستخلصات نباتية كربونات الصوديوم Na_2CO_3 هيدروكسيد الصوديوم NaOH كبريتات النحاس $CuSO_4$	ميزان حساس جهاز الرج المغناطيسي جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotomètres)

ملعقة Spatule انبوب اختبار مدرج	تيترات الصوديوم–بوتاسيوم $kNaC_4H_4.O_64H_2O$ فولن سيكالتو Folin-Ciocalteau كبريتات النحاس مصل البقر(BSA) ماء مقطر L'eau distillée	
تقدير الدهون		
انابيب اختبار زجاجية حامل انابيب الاختبار Micropipette بيشر Becher ملعقة Spatule انبوب اختبار مدرج	مستخلصات نباتية زيت الصوجا Ether Chloroforme ماء مقطر L'eau distillée Vanilline حمض الفوسفريك H_4PO حمض الكبريت المركز	ميزان حساس جهاز الرج المغناطيسي جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotomètres)
تقدير المواد الفعالة		
تحضير المستخلصات		
بيشر Becher ملعقة Spatule ورق ترشيح Les cuves انبوب اختبار مدرج	المادة النباتية ايثانول Ethanol	ميزان Balance جهاز Soxhlet جهاز التبخير الدوراني Rotavapor حاضنة
تقدير محتوى الفينولات الكلية		
انابيب اختبار زجاجية حامل انابيب الاختبار Micropipette	مسخاصات نباتية ايثانول Ethanol Folin-Ciocalteau	ميزان حساس جهاز الرج المغناطيسي جهاز المطيافية الضوئية

بيشر Becher ملعقة Spatule ورق ألمنيوم Papier aluminium انبوب اختبار مدرج	كربونات الصوديوم Na_2Co_3 حمض الغاليك ماء مقطر L'eau distillée	(Spectrophotomètres)
تقدير محتوى الفلافونويدات		
انابيب اختبار زجاجية بيشر Becher ملعقة Spatule حامل انابيب الاختبار انبوب اختبار مدرج Pipette	مستخلصات نباتية ايثانول Ethanol $AlCl_3$ الكرستين	ميزان حساس جهاز الرج المغناطيسي جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotomètres)
الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية		
انابيب اختبار زجاجية بيشر Becher ملعقة Spatule حامل انابيب الاختبار انبوب اختبار مدرج Pipette	مستخلصات نباتية ايثانول Ethanol كاشف وينر ماء مقطر حمض الخليك الثلجي Anhydride acétique كلوروفورم حمض الكبريت H_2SO_4 كلوريد الحديد الثلاثي $FeCl_3$ هيدروكسيد الصوديوم NaoH كاشف فهلنج Fehling de liqueur	ميزان حساس جهاز الرج المغناطيسي موقد حراري (حمام مائي)
تقدير الفعالية المضادة للأكسدة		

انابيب اختبار زجاجية بيشر Becher ملعقة Spatule حامل انابيب الاختبار انبوب اختبار مدرج Micropipette ورق المنيوم Papier aluminium	DPPH ميثانول Methanol مستخلصات نباتية حمض الاسكوربيك	ميزان حساس جهاز الرج المغناطيسي جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotomètres)
دراسة الفعالية ضد بكتيرية للمستخلصات		
انابيب اختبار حامل انابيب الاختبار اطباق بيتري ماسح قطني Pipette pasteur	وسط الزرع Muller Hinton ماء فيزيولوجي معقم مستخلصات نباتية Methanol سلالات بكتيرية	ميزان حساس موقد بنزن حاضنة ملقط Autoclave

1-2 تحضير العينة

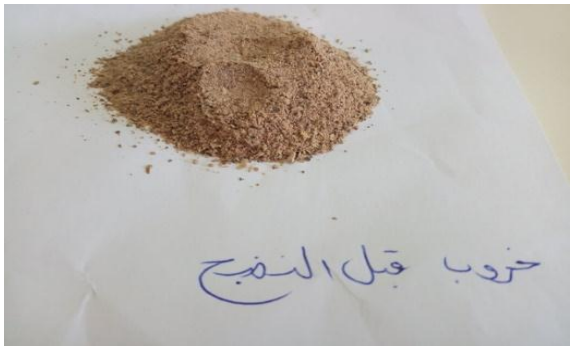
تم قطف ثمار نبات الخروب *Ceratonia Siliqua* غير ناضجة في شهر جوان 2018 م في حين تم قطف الثمار الناضجة في شهر أوت 2018 م من منطقة البليدة (منطقة حمام ملوان) على بعد 30 كم شرق البليدة و40 كلم جنوب الجزائر العاصمة، أما ثمار البلوط *Quercuce ilex* غير ناضجة فقد تم قطفها في شهر أكتوبر 2018 م في حين تم قطف الثمار الناضجة في شهر جانفي 2019 من منطقة البليدة (بلدية الشفة) التي تقع غرب ولاية البليدة، على بعد 6 كم غرب البليدة، وحوالي 55 كم جنوب غرب الجزائر العاصمة.

قمنا بغسل ثمار قرون الخروب وثمار البلوط قبل وبعد النضج جيدا ثم قمنا بنزع البذور بالنسبة للخروب و بوضعهم في مكان جاف ومظلم ،بعد عملية تجفيف الثمار لكل

من النبتتين نقوم بتقطيعهم الى أجزاء صغيرة لتسهيل عملية الطحن ،نقوم بطحن الثمار جزئيا بآلة الطحن الكهربائية.

الوثيقة(17) : ثمار الخروب قبل النضج

الوثيقة (18): ثمار الخروب بعد النضج



الوثيقة(19): مسحوق ثمار الخروب قبل النضج

الوثيقة (20):مسحوق ثمار الخروب قبل النضج

الوثيقة(21) : ثمار البلوط قبل النضج

الوثيقة(22): ثمار البلوط بعد النضج

الوثيقة (23): مسحوق البلوط قبل النضج

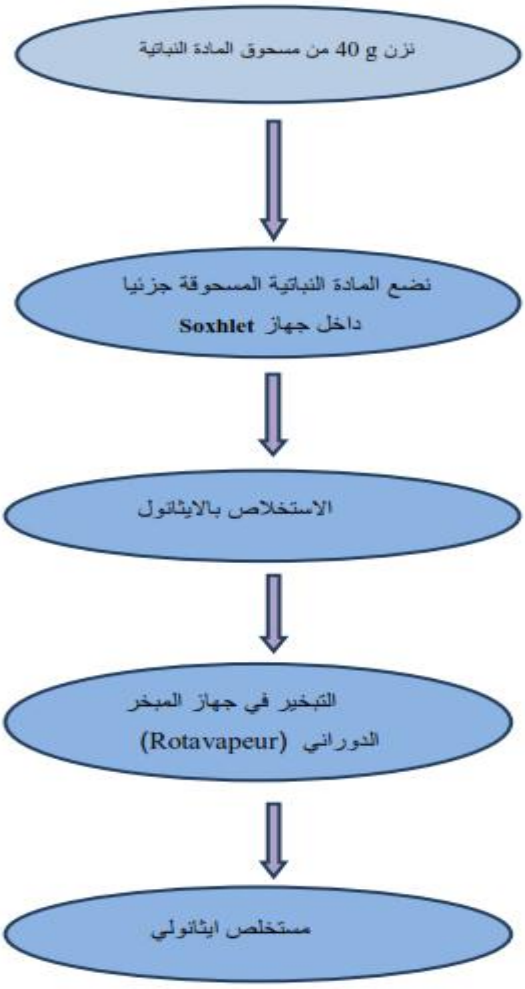
الوثيقة (24): مسحوق البلوط بعد النضج

2- تحضير المستخلص النباتي لنبات الخروب ونبات البلوط

❖ الاستخلاص بجهاز Soxhlet

نضع g 40من المادة النباتية المسحوقة داخل العبوة (*cartouches*)، ندخل العبوة داخل الجهاز، ونوصله بحوجلة كروية بها حجما من المذيب (éthanol)، حوالي ml 300، وبعدها نضع جهاز سوكسلي فوق المسخن الكهربائي ، درجة حرارة السخان تضبط على درجة غليان المذيب ، نترك الجهاز يعمل لخمس أو ستة دورات (حوة.،2013).

وبعد الحصول على المستخلص النباتي نقوم بتبخيره بجهاز التبخير الدوراني على درجة حرارة مناسبة لتبخر المذيب الموجود في المستخلص، نضع هذا المستخلص النباتي في بيشر ويترك في الحاضنة للحصول على مستخلص نباتي خالي من المذيب.



الشكل (01) : مخطط الاستخلاص بجهاز Soxhlet

يتم وزن المستخلصات الناتجة لنتحصل على مردود الاستخلاص ، بحيث يقدر المردود بالعلاقة التالية :

المردود = (وزن المستخلص /وزن المادة الابتدائية الجافة) × 100

3- تقدير القيمة الغذائية في النبات

3-1 تحضير المستخلصات

تم استخلاص مواد الأيض الأولي حسب طريقة (Shibko *et al.*,1966) الموصوفة من طرف (Beldi.,2007;Amira.,2013) وذلك باتباع الخطوات التالية :

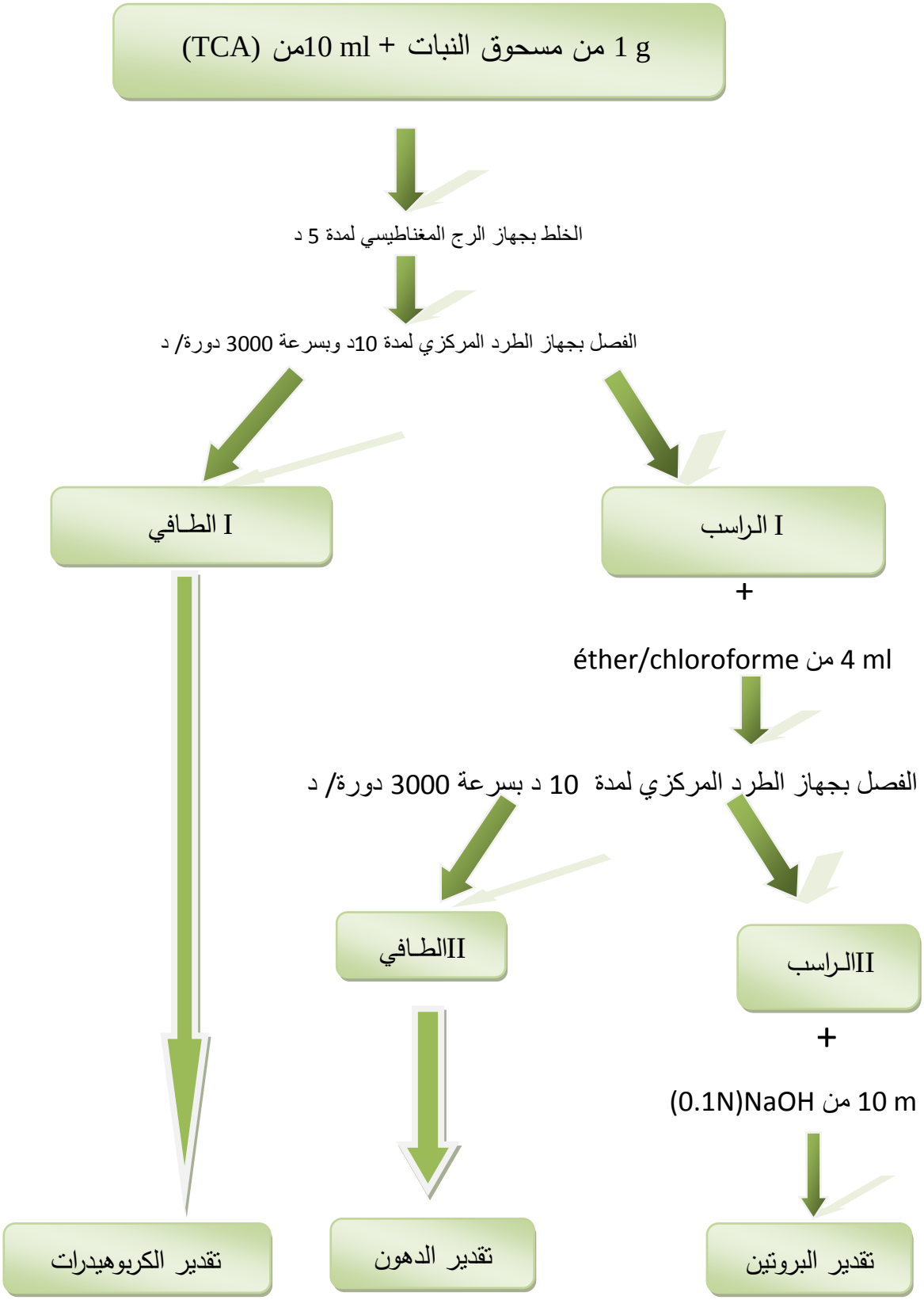
- أخذ 1g من مسحوق النباتات المدروسة كل عينة ووضعها في بيشر.
- اضافة 10ml من(TCA) d'acide trichloracétiques (20%) ثم الخلط بجهاز الرج المغناطيسي لمدة 5 د ثم وضعها في أنابيب زجاجية.
- فصل الخليط بجهاز الطرد المركزي لمدة 10 د وبسرعة 3000 دورة / د للحصول على الطافي I الذي نقدر به الكربوهيدرات.

اما الراسب I نضيف له 4ml من محلول éther/chloroforme (V1/V1)

- فصل الخليط مرة أخرى بجهاز الطرد المركزي لمدة 10 د وبسرعة 3000 دورة / د للحصول على الطافي II الذي نقدر به الدهون.

أما الراسب II نضيف له 10ml من محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH (0.1 N) ويرج الخليط ثم نقدر به البروتين.

والشكل (02) يوضح أهم مراحل استخلاص الكربوهيدرات ، الدهون ، البروتين حسب طريقة Shibko *et a*l.(1966) من مسحوق نباتات المدروسة.



الشكل(02) : مخطط يوضح أهم الخطوات الرئيسية لاستخلاص الكربوهيدرات ،الدهون ، البروتين (Beldi . ,2007 ;Amira . ,2013)

3-2 تقدير الكربوهيدرات

تم تقدير الكربوهيدرات وفق طريقة Dubois et al.(1956) الموصوفة من طرف (بن جامع.، 2008) وذلك بإتباع الخطوات التالية مع إجراء التعديلات :

❖ **تحضير المحلول القياسي للغلوكوز**

إذابة 5mg من الغلوكوز في 5ml من حمض الكبريت (1N) للحصول على محلول ذو تركيز 1000 µg/ml ، ومنه تم تحضير سلسلة المحلول القياسي ذو التراكيز µg/ml (0، 25، 100، 200).

❖ **خطوات العملية للتقدير**

- وضع1ml من سلسلة المحلول القياسي المحضرة وكذلك من مستخلص العينات (الطافي I) في أنابيب اختبار زجاجية.
- إضافة 1ml من الفينول (5%) ثم 5ml من حمض الكبريت المركز.
- رج وترك العينات لمدة 15 دقيقة.الوثيقة (28) في الملحق (I).
- قراءة شدة الامتصاصية الضوئية عند طول الموجة 490 نانومتر بواسطة المطيافية الضوئية.
- رسم المنحنى القياسي باستغلال نتائج قراءة المحاليل القياسية التي تحدد تركيز الكربوهيدرات في كل عينة والموضح في الشكل (22) في الملحق (II)

3-3 تقدير الدهون

تم تقدير الدهون وفق Goldsworthy *et al.*,(1972) الموصوفة من طرف (Beldi.,2007) مع إحداث التعديلات وذلك بإتباع الخطوات التالية:

❖ **تحضير المحلول القياسي للدهون**

إذابة 2.5 mg من الزيت (صوجا 100%) في 1ml من محلول éther/chloroforme (1V /1V) للحصول على محلول ذو تركيز 2500µg/ml، ومنه تم تحضير سلسلة المحلول القياسي ذو التراكيز µg/ml(0، 500، 1000، 1500، 2000، 2500).

❖ **تحضير المحلول الكاشف sulfophosphovanillinique**

إذابة 76 mg من Vanilline في 11ml ماء مقطر ثم إضافة 39 ml من حمض الفوسفوريك H_3PO (85%) للحصول على حجم 50 ml.

❖ **خطوات العملية للتقدير**

- وضع 0.1ml سلسلة المحلول القياسي المحضرة وكذلك من مستخلص العينات (الطافيII)في أنابيب اختبار زجاجية.
- إضافة 1ml من حمض الكبريت المركز.
- رج الأنابيب ثم تترك لمدة 10 د في حمام مائي عند 100 م°.
- بعد أن تبرد الأنابيب نأخذ منها 0.15 ml ونضعها في أنابيب أخرى.
- إضافة 1.5mlمن الكاشف المحضر (sulfophosphovanillinique).
- رج الأنابيب وتركها في الظلام لمدة 30 دقيقة.الوثيقة(29) في الملحق(I).
- قراءة شدة الامتصاصية الضوئية عند طول الموجة 530 nm بواسطة جهاز المطيافية الضوئية.
- رسم المنحنى القياسي باستغلال نتائج قراءة المحاليل القياسية التي تحدد تركيز الدهون في كل عينة والموضح في الشكل (23) في الملحق (II).
- في وجود الدهون يتحول لون المحلول إلى اللون الوردي.

3-4 تقدير البروتين

تم تقدير البروتين وفق طريقة Lowry *et al*.,(1951) الموصوفة من طرف (Prabhu et Krishmaszamy.,2012) وذلك تبعا للخطوات التالية:

❖ **تحضير المحاليل**

- **المحلول (أ):** يتم تحضيره بمزج 50 ml من كربونات الصوديوم Na_2CO_3 (2%) مع 50 ml من هيدروكسيد الصوديوم NaOH (0.1N).

- **المحلول (ب):** يتم تحضيره بمزج 10 ml من محلول كبريتات النحاس $CuSO_4$ (0.5%) مع 10 ml من محلول تيترات الصوديوم – بوتاسيوم$KNaC_4H_4.O_64H_2O$ (0.1%).

- **المحلول (ج):** يتم تحضيره بإماهة محلول الفولنسيكالتو Folin-Ciocalteau المركز بنسبة (1V /1V)

- **المحلول (د):** يحضر كاشف كبريتات النحاس القاعدي بمزج 50 ml من المحلول (أ) مع 1ml من المحلول (ب).

❖ **تحضير المحلول القياسي للبروتين**

إذابة 3mg من بروتين ألبومين مصل البقر (BSA) في 3ml من هيدروكسيد الصوديوم NaOH (0.5N) للحصول على محلول ذو تركيز 1000µg/ml ، ومنه تم تحضير سلسلة المحلول القياسي ذو التراكيز µg/ml (0، 100، 400، 600، 800، 1000).

❖ **الخطوات العملية للتقدير**

- وضع 0.2 ml من سلسلة المحلول القياسي المحضرة وكذلك من المستخلص البروتيني للعينات في أنابيب اختبار زجاجية.
- إضافة 2mlمن المحلول (د).
- إضافة 0.2mlمن المحلول (ج).
- تترك في الظلام لمدة 30 د بدرجة حرارة المختبر. الوثيقة(30) في الملحق(I).
- قراءة شدة الامتصاصية الضوئية عند طول الموجة 750 nmبواسطة جهاز المطيافية الضوئية.

- رسم المنحنى القياسي باستغلال نتائج قراءة المحاليل القياسية التي تحدد تركيز البروتين في كل عينة والموضح في الشكل (24) في الملحق(II).

4- الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية

وهي جملة من الاختبارات وذلك لتحديد وحصر مختلف المواد الفعالة التي يحتويها النبات:

4-1 الكشف عن القلويدات (Les Alcaloide)

- نحضر أنبوبي اختبار نضع في كليهما ml 1من المستخلص الايثانولي ثم نضيف لكل أنبوب 5 قطرات من كاشف وينر Wagner

- ظهور راسب بني يدل على وجود القلويدات (Azzi.,2013)

4-2 الكشف عن الصابونوزيدات (Les Saponosides)

-يتم تحضير مغلي من النبات وهذا بوضع 2 غ من المادة النباتية الجافة مع 100 ملل من الماء المقطر ثم يتم تسخينه لمدة 10 دقائق على درجة حرارة 100 م ونقوم بتبريد وتصفية المغلي ثم نقوم برج الأنبوب لمدة 15 ثانية (Dahou *et al*., 2003).

-ظهور رغوة وبقائها لمدة 20 دقيقة يدل على وجود الصابونوزيدات.

4-3 الكشف عن الستيرولات والتربينات(Les Stérols et Triterpène)

❖ **اختبار Liberman – Bucharis**

- نضع في بيشر ml 10 من المستخلص ثم نتركها تتبخر كليا وبعدها نضيف لها 5 مل من حمض الخليك الثلجي و 5mlمن الكلوروفورم ، وبواسطة ماصة Pipette نضيف وبحذر على حافة الأنبوب ml 1من حمض الكبريت H_2SO_4وننتظر 30 دقيقة.

- ظهور حلقة حمراء بنية في منطقة المماس بين المحلولين يدل على وجود الستيرولات والتربينات (Trease et Evane.,1989)

4-4 الكشف عن التانينات (Les Tanins)

نضع في أنبوب اختبار 2ml من المستخلص ونضيف له 0.4 ml من محلول كلوريد الحديد الثلاثي$FeCl_3$ المخفف (1%).

- ظهور لون أزرق مسود يدل على وجود tanins gallique
- ظهور لون أزرق مخضر يدل على وجود tanins cathéchique (Trease et Evane.,1989)

4-5 الكشف عن الفلافونويدات (Les Flavonoides)

يتم الكشف عن الفلافونويدات بمزج 2 ml من المستخلص الايثانولي مع 1 ml من هيدروكسيد الصوديوم NaoH بتركيز 0.5 مولاري ، فاذا لاحظنا ظهور اللون الأصفر فهذا دليل على وجود الفلافونويدات في العينة النباتية (نعمة و اخرون.،2007).

4-6 الكشف عن المركبات المرجعة (Les composée Réducteurs)

نضع في أنبوب اختبار 2 ml من المستخلص ونضيف له 1 ml من محلول فهلنج ونقوم بتسخين المزيج في حمام مائي Bain marie عند ظهور راسب أحمر أجوري دليل على وجود المركبات المرجعة في النبات (Trease et Evane.,1989).

5- التقدير الكمي للمركبات الفينولية

5-1 تقدير الفينولات الكلية (Dosage des Polyphénols (PPT

تم تقدير محتوى المركبات الفينولية الكلية في مختلف المستخلصات باستعمال Folin-Ciocalteau حسب طريقة Singleton و اخرون (1996) حيث تعطي هذه المركبات لونا أزرقا بارتباطها مع حمض phosphomolybdic – phosphotungstic الذي يتم قياس امتصاصيته عند طول موجة 765 nm.

❖ **الخطوات العملية للتقدير**

وضع 0.2ml من سلسة المحلول القياسي المحضرة وأيضا من المستخلصات في أنابيب اختبار زجاجية.

- إضافة 1ml من محلول Folin-ciocalteau المخفف 10 مرات.
- ترج الأنابيب جيدا، وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة 5 دقائق.
- إضافة 0.8 ml من كربونات الصوديوم Na_2Co_3بتركيز (20%).
- نرج ونترك الأنابيب في درجة حرارة المخبر في الظلام لمدة 30 دقيقة. الوثيقة(31) في الملحق (I)
- نقيس امتصاصية المزيج عند طول الموجة 765nm في جهاز المطيافية الضوئية.

كما تم تحضير المنحنى القياسي لحمض الغاليك وذلك باذابة 8mg من هذا الحمض في 2ml ماء المقطر للحصول على محلول ذو تركيز 4000 µg/ml ومنه تم تحضير سلسلة المحلول القياسي ذو التراكيز µg/ml (5، 62، 125، 250) ثم معاملة الانابيب بنفس الخطوات السابقة لتقدير المحتوى الفينولي ، بعد ذلك قراءة شدة الامتصاصية بجهاز المطيافية ورسم المنحنى القياسي للتراكيز بدلالة شدة الامتصاصية الذي يعتبر عنه بمعادلة خطية التي تحدد تراكيز المحتوى الفينولي في عينة (بوحدة mg/g من المادة الجافة لحمض الغاليك) الشكل (25) في الملحق (II).

5-2 تقدير الفلافونويدات (FV) Dosage des Flavonoides

تم تقدير كمية الفلافونويدات الكلية في مختلف المستخلصات حسب طريقة Ordonez واخرون (2006) باستعمال ACl_3 حيث يشكل هذا الأخير معقدات مع الفلافونويدات ذات الون أصفر ، يتم قياس كمية هذه المعقدات لونيا باستعمال جهاز المطيافية الضوئية عند طول موجة 420 nm .

❖ **الخطوات العملية للتقدير**

- اخذنا 1 ml من كل مستخلص ونضيف لها 1ml من محلول ACl_3 ذو تركيز (2%) المذاب في الايثانول
- نرج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة ساعة واحدة. الوثيقة (32) في الملحق(I)
- نقوم بقياس الامتصاصية في طول موجة 420nm
- كما حضر المنحنى القياسي للكرسيتين وذلك بإذابة 5mg من هذا الحمض في 10 ml ميثانول للحصول على محلول ذو تركيز 500µg/ml ومنه تم تحضير سلسلة المحلول القياسي ذو التراكيز (0،25،50،100،150 µg/ml) ثم معاملة الأنابيب نفس الخطوات السابقة لتقدير المحتوى الفلافونويدات بعد ذلك قراءة شدة الامتصاصية بجهاز المطيافية ورسم المنحنى القياسي للتراكيز بدلالة شدة الامتصاصية الذي يعبر عنه بمعادلة خطية التي تحدد تراكيز الفلافونويدات في كل عينة (بوحدة mg/g من المادة الجافة المكافئة الكرسيتين) في الشكل (26) في الملحق (II).

5-3 تقدير التانينات Les Tanins

5-3-1 التانينات المتحللة Tanins Hydrolisables

نأخذ 0.5 مل من المستخلص ونضيف له 1.75 مل من كلوريد الحديد Fecl3 ثم نضيف له 1.5 مل من حمض الكلور المركز Hcl نمزج المزيج جيدا ونترك الانابيب في درجة حرارة المخبر ثم يتم قياس الامتصاصية في طول موجة 600 nm ,.Mole et Waterman) 1987).

5-3-2 التانينات المكثفة Tanins condonsé

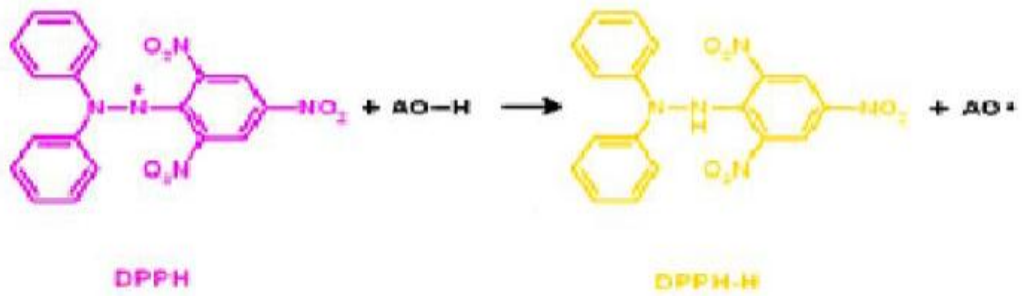
اعتمدنا على طريقة الفالنينLa vanilline مع حمض الكلور المركز Hcl نأخذ 0.5 مل من المستخلص ونضيف له 1.75 مل من كلوريد الحديد Fecl3 ثم نضيف له 1.5 مل من حمض الكبريت المركز Hcl نمزج المزيج جيدا ونترك الانابيب في درجة حرارة المخبر ثم يتم قياس الامتصاصية في طول موجة 600nm (Rebay *et al*., 2014).

6- الدراسة البيولوجية

6-1 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

6-1-1 اختبار DPPH

هو اختبار مضاد للجذور الحرة سبق تعريفه من50 سنة ماضية من طرف Blois سنة 1985 ، هذا الاختبار يعتمد على تثبيط الجذر الحر DPPH وذلك اعتمادا على قابلية اعطاء المركبات (مضادات الأكسدة) لذرة الهيدروجين أو الكترون حيث يمكن تتبع عملية ارجاع جذر DPPH لونيا باستعمال جهاز المطيافية الضوئية وذلك بقياس مقدار الانخفاض في الامتصاصية ، هذا الانخفاض في الامتصاصية يمكننا من معرفة قدرة وكفاءة المركبات من تثبيط الجذور، ويعتمد هذا الاختبار على قدرة المستخلص على أسر الجذر المستقر بعد مدة زمنية قدرها 30 دقيقة ، ويظهر ذلك من خلال التفاعل اللوني للجذر $DPPH^{\cdot}$ ذو اللون البنفسجي الذي يتحول الى DPPH-H ذو اللون الأصفر.



الوثيقة (25): تفاعل مضاد أكسدة مع جذر ثابتDPPH

يعبر عن النشاط المضاد للأكسدة لكل مستخلص بقيمة IC_{50} وهي تركيز المادة القادرة على تثبيط 50% من جذر DPPH ويتم حسابها بتطبيق المعادلة الخطية لمنحنى تغير نسبة التثبيط (I%) بدلالة التراكيز المختلفة للمستخلصات النباتية (بن عربية.،2013)

❖ **طريقة العمل**

- نقوم بتحضير محلول DPPH وذلك باذابة 4 ملغ من مسحوق DPPH في 100 ml من الميثانول للحصول على تركيز 0.1 ملي مول/ل (mmol/L).
- نقوم بالرج جيدا قبل استعماله في دراسة النشاطية المضادة للأكسدة.
- نقوم بتحضير مجموعة من التراكيز لمختلف المستخلصات (1000 µg/ml ، 500µg/ml،250µg/ml ،125µg/ml، 65.5µg/ml ، 32.75µg/ml،16.5µg/ml)
- اخذ 0.2ml من كل تركيز ونضيف له 0.8ml من محلول DPPH
- يرج جيدا ويترك في الظلام مدة 30 دقيقة في درجة حرارة المخبر.
- نقيس الامتصاصية عند طول موجة 517 nm بواسطة جهاز قياس المطيافية الضوئية.

ومن خلال النتائج نقوم بحساب النسبة المئوية للتثبيط I% وذلك وفق المعادلة التالية:

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

A_0 :امتصاصية DPPH في غياب المستخلص.

A_i: امتصاصية DPPH في وجود المستخلص بعد 30 دقيقة.

ثم نقوم برسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز $I\% = f(C)$

6-2 اختبار الفعالية البيولوجية ضد المكروبات للمستخلص الايثانولي لثمار نبات الخروب والبلوط

تم في هذا الجزء من العمل دراسة التأثير المضاد للبكتيريا بواسطة المستخلص الايثانولي لثمار نبات الخروب والبلوط قبل وبعد النضج حيث تم اذابة 10ml من المستخلصات النباتية في 1ml من الايثانول على نمو 6 سلالات بكتيرية حيث اتبعنا طريقة الانتشار حول الأقراص على أطباق بيتري Muller Hinton وذلك بتشبيع الاقراص بـ 10µl من المستخلص

جدول (06) : أنواع السلالات البكتيرية المختبرة

السلالات البكتيرية	صبغة الغرام
Staphylococcus aureus	غرام موجب
Micrococcus sp	غرام موجب
Escherichia coli	غرام سالب
Pseudomonas aeruginosa	غرام سالب
Salmonella typhi	غرام سالب
Fusarium culmarum	فطر

6-2-1 تنمية مزارع البكتيرية حديثة

تمت تنمية هذه السلالات البكتيرية المستعملة في هذه التجربة بأخذ مستعمرة من العزلات البكتيريا وتنميتها في أطباق بيتري محتوية على جيلوز مغذي Gélose nutritive بعد ذلك تحضن مقلوبة في الحاضنة لمدة 24 ساعة على درجة حرارة 37 م° قبل إجراء الاختبار (حوة.، 2013).

6-2-2 تحضير أوساط الزرع

- تعقيم المنطقة أولا ثم يتم تحضير أطباق بيتري
- نضع الوسط الغذائي Muller Hinton في جهاز التعقيم Autoclave
- نفرغ الوسط في علب بيتري الى مستوى 3mmونتركه يبرد ويتماسك قبل القيام بعملية زراعة البكتيريا تتم هذه العملية أمام موقد حراري من أجل العمل في وسط معقم (حوة.،2013)

6-2-3 تحضير المعلق البكتيري

يحضر المعلق البكتيري ، انطلاقا مزارع بكتيرية حديثة حيث نأخذ في كل مرة مستعمرتين أو ثلاثة من كل نوع بكتيري و وضعها في أنابيب اختبار حيث يحتوي كل أنبوب على 10 مل من الماء الفيزيولوجي ونقوم بالرج جيدا حتى تصبح المعلقات متجانسة ومتعكرة (العابد.،2009).

6-2-4 زراعة البكتيريا

قبل الزراعة نقوم بتحضير الأقراص انطلاقا من ورق واتمان wattman N 3 تعقم في جهاز Autoclave (بوخبتي.،2010).

يغمس ماسح قطني معقم في المعلق البكتيري لاحدى الأنواع البكتيرية المدروسة ثم يمسح بها سطح وسط الزرع على شكل خطوط متوازية ومتقاربة مع تكرار العملية ثلاثة مرات وذلك بتدوير الطبقة 60 درجة في كل مرة (بوخبتي.،2010).

بعد تحضير الأوساط الزراعية وزراعة السلالات البكتيرية المدروسة، نضع أقراص مشبعة بالمستخلص داخل الأطباق المحضرة سابقا. وتوضع في الحاضنة في درجة حرارة 37م لمدة مابين 18- 24 ساعة وبعد انتهاء مدة الحضن يتم قياس قطر منطقة التثبيط (العابد.، 2009).

الفصل الثاني

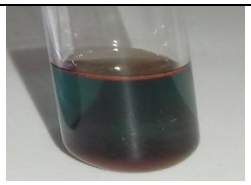
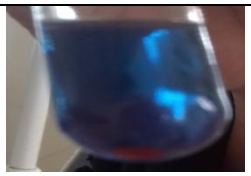
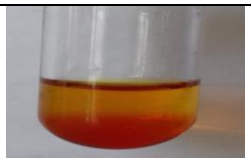
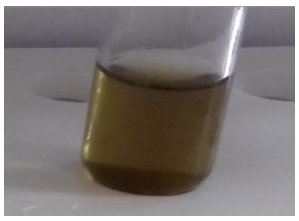
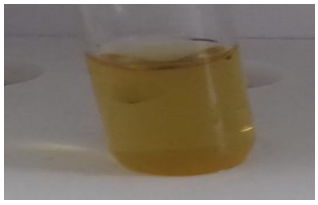
النتائج والمناقشة

1- نبات الخروب

1-2 نتائج الدراسة الكيميائية

1-2-1 دراسة المسح الفيتوكيميائي لثمار نبات الخروب *C. siliqua*

بعد الكشف عن المواد الفعالة التي اجريت على المستخلصات تحصلنا على النتائج التالية :

مركبات الأيض الثانوي	خروب قبل النضج	خروب ناضج	الملاحظة
الصابونوزيدات			ظهور رغوة في الخروب قبل النضج والخروب الناضج
المركبات المرجعة			ظهور راسب أحمر اجوري في الخروب قبل وبعد النضج
الفلافونويدات			ظهور اللون الاصفر الغامق في الخروب قبل النضج وعدم ظهوره في الخروب الناضج
القلويدات			ظهور راسب بني في الخروب قبل وبعد النضج
الستيرويلات والتربينات الثلاثية			ظهور طبقة بنية حمراء تفصل بين الطبقتين عند الخروب قبل النضج والخروب الناضج
التانينات			ظهور اللون أزرق مخضر بنسبة كبيرة في الخروب قبل النضج وبنسبة ضئيلة عند الخروب بعد النضج

الجدول (07): الكشف عن المواد الفعالة في مستخلص نبات الخروب

من خلال نتائج الجدول (07) يتضح لنا أن المستخلص الايثانولي لثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج يحتوي على العديد من المركبات الكيميائية والمتمثلة في التانينات ، المركبات المرجعة ، الفلافونويدات (قبل نضج فقط)، القلويدات ، الصابونيات ، التربينات والستيرويلات ، في حين سجلنا غياب مركب الفلافونويدات عند الخروب الناضج .

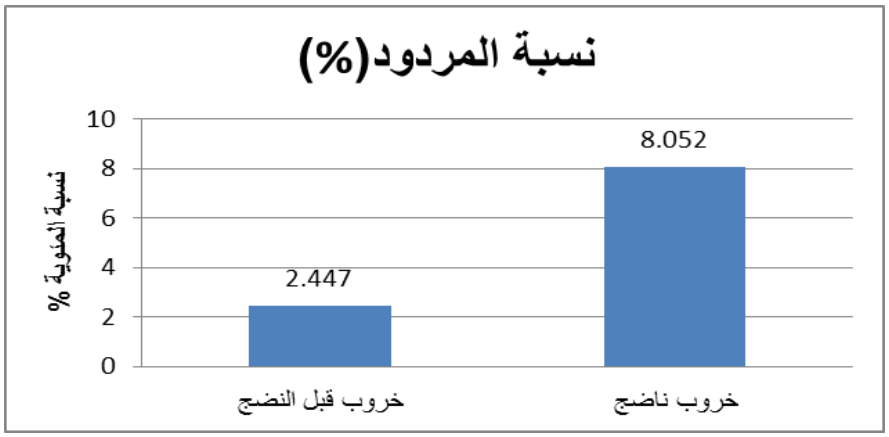
اكدت النتائج في اختبار الفلافونويدات (قبل النضج) بعد معاملة المستخلص بهيدروكسيد الصوديوم ظهور اللون الأصفر، اما في اختبار التربينات والستيرويلات عند معاملة المستخلص بحمض الكبريت وفق تفاعل Lieeberman-Burchard. فظهرت لنا حلقة حمراء في منطقة اتصال الطبقتين اضافة الى تشكل راسب بني في اختبار الكشف عن القلويدات في وجود كاشف ماير ، في حين لوحظ تشكل راسب احمر في اختبار المركبات المرجعة عند معاملة المستخلص الكحولي بمحلول فهلنج هذه النتائج متفقة مع نتائج العمل التي قام بها .(Ouis et Hariri. 2017)

كما بين العيد (2010) أن التانينات تلعب دور في علاج التلبكات المعوية لمفعولها القابض على الأمعاء وتاثيرها المطهر وتستعمل في ايقاف النزيف ومعالجة الجروح .

كانت النتيجة ايجابية للكشف عن الصابونيات والمتمثلة في ظهور رغوة كثيفة تؤكد دراسة (Fadel *et al.*,2011) ان للصابونيات دور فعال في الدفاع عن نبات *C. Siliqua* ضد الهجمات الفطرية.

1-2-2 حساب المردود لمستخلص نبات الخروب

بعد عملية الاستخلاص تم تقدير المردود ب (%) والنتائج مدونة في الشكل التالي:



الشكل (03) : مردود المستخلص الايثانولي قبل وبعد النضج لثمار نبات الخروب.

أظهر تقدير مردود الاستخلاص للخروب الناضج انه يمتلك أحسن مردود والذي قدر ب 8.052% في حين أظهرت النتائج للمستخلص الايثانولي للخروب قبل النضج مردود أقل بنسبة 2.447%.

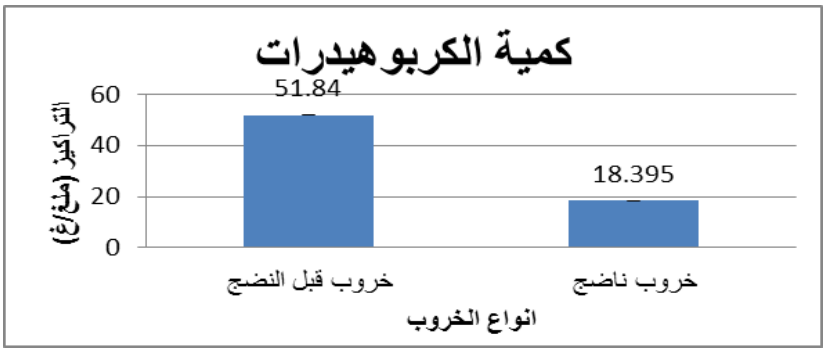
في دراسة سابقة لنفس النبات لكن من منطقة بجاية حيث أظهرت النتائج أن أكبر مردود كان للمستخلص الميثانولي والذي تقدر نسبته ب 4.32% أما مستخلص البيتانول كانت نسبته 1.96 % و أخيرا أسيتات الايثيل 0.68 % (Ouis *et* Hariri.,2017).

نلاحظ أن مردود المستخلص الايثانولي المتحصل عليه في دراستنا يختلف نوعا ما بالمقارنة مع الدراسات الأخرى ربما يعود هذا الى تنوع المنشأ الجغرافي الظروف المناخية ، درجة النضج ووقت الحصاد ، وطرق التخزين (Khlifa *et al.*,2008).

ويرتبط الاختلاف في نسبة المردود بقطبية المحلول ونوعيته الذي يحدد كمية المركبات المستخلصة ، وهذا ما أكدته العديد من الدراسات التي بينت أن المحاليل القطبية من أكثر وأحسن الأنظمة استعمالا للاستخلاص ، وأن التركيب الكيميائي للنبات له دور مهم في عملية الاستخلاص (Robards.,2003).

3-1 تقدير محتوى القيمة الغذائية

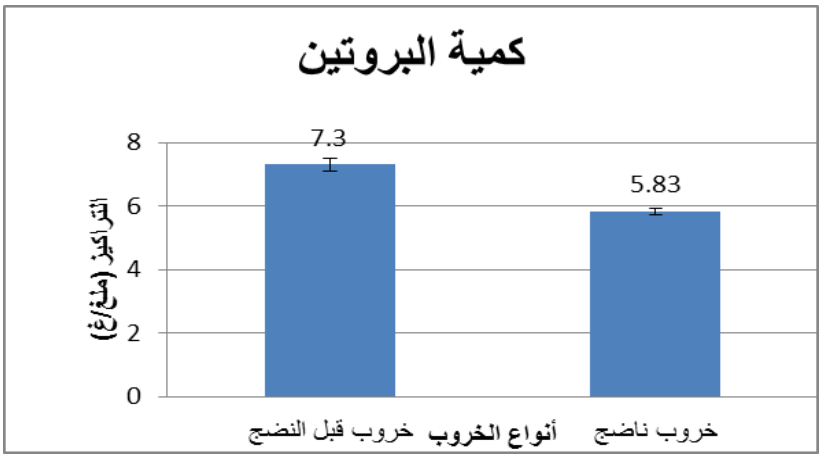
1-3-1 تقدير محتوى الكربوهيدرات لثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج



الشكل (04) : تقدير محتوى الكربوهيدرات في ثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج.

تبين النتائج الموضحة في الشكل (04) أن ثمار الخروب غير الناضجة غني جدا بالكربوهيدرات اذ تقدر بـ 51.84 ± 0.13mg/g أما الثمار الناضجة فكانت قيمتها أقل بكثير حيث قدرت بـ 18.395 ± 0.03mg/g

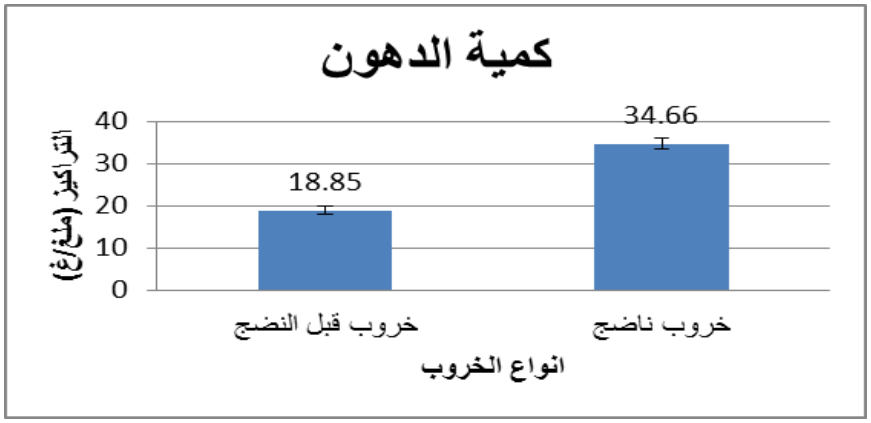
2-3-1 تقدير محتوى البروتين لثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج



الشكل (05): يوضح تقدير محتوى البروتينات في ثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج.

تبين النتائج الموضحة في الشكل (05) أن ثمار الخروب الغير ناضجة غنية جدا بالبروتينات اذ قدرت نسبتها 7.3 ±0.2mg/g أما الثمار الناضجة فكانت نسبتها أقل حيث قدرت بـ 5.83 ±0.1mg/g.

1-3-3 تقدير محتوى الدهون لثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج



الشكل (06) يوضح تقدير محتوى الدهون في ثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج.

تبين النتائج الموضحة في الشكل (06) أن ثمار الخروب الناضجة غنية بالدهون اذ قدرت نسبتها ب34.66±1.2mg/g أما الثمار غير الناضجة فكانت قيمتها أقل حيث قدرت18.85 ±0.9mg/g

أكدت نتائج (Avallone *et all.,2002*) أن مسحوق قرون الخروب غني جدا بالمواد الغذائية أهمها الكربوهيدرات بنسبة % 55 ومحتوى بروتيني عالي الجودة بنسبة 15% ودهون بنسبة 6%

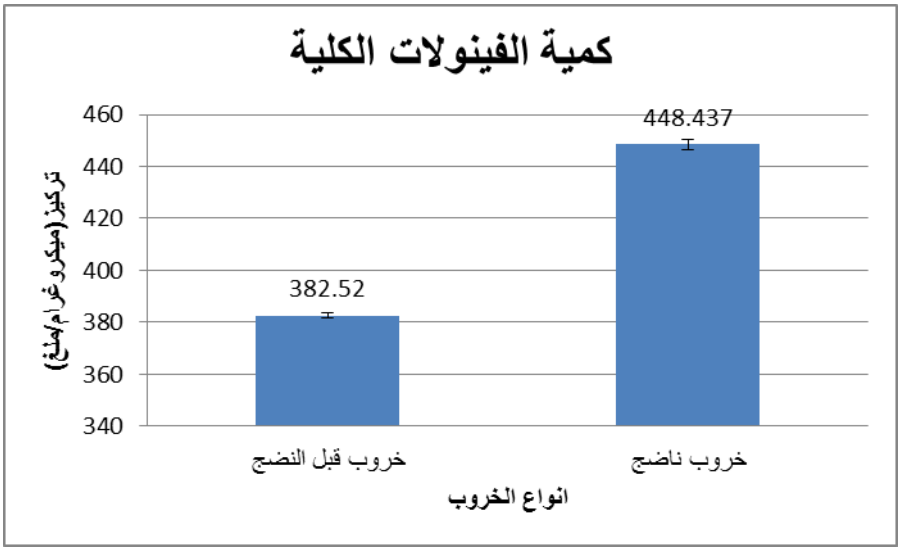
و وجد (Owen *et all.,2003*) أن مسحوق قرون الخروب يحتوي على ما يفوق 48% من الكربوهيدرات كما تحتوي على بروتينات بنسبة 6% ونسبة دهون تقدر ب 18%، اضافة الى المعادن والفيتامينات .

يحتوي مسحوق قرون الخروب على كميات كبيرة من الألياف الغذائية لكن يرجع الاختلاف في محتوى البروتينات والدهون الى الظروف البيئية والترابية و وقت الجني (El Bouzdoudi *et al 2016*).

4-1 التقدير الكمي لمركبات الفينولية

1-4-1 التقدير الكمي لعديدات الفينول (PPT)

قدرت كمية المحتوى الفينولي باستعمال المعادلة الخطية للمنحنى القياسي لحمض الغاليك في الماء، حيث حسبت كمية المركبات الفينولية للمستخلص الايثانولي بالميكروغرام (µg) على أساس حمض الغاليك المكافئ / ميلغرام (mg) من وزن المادة الجافة.

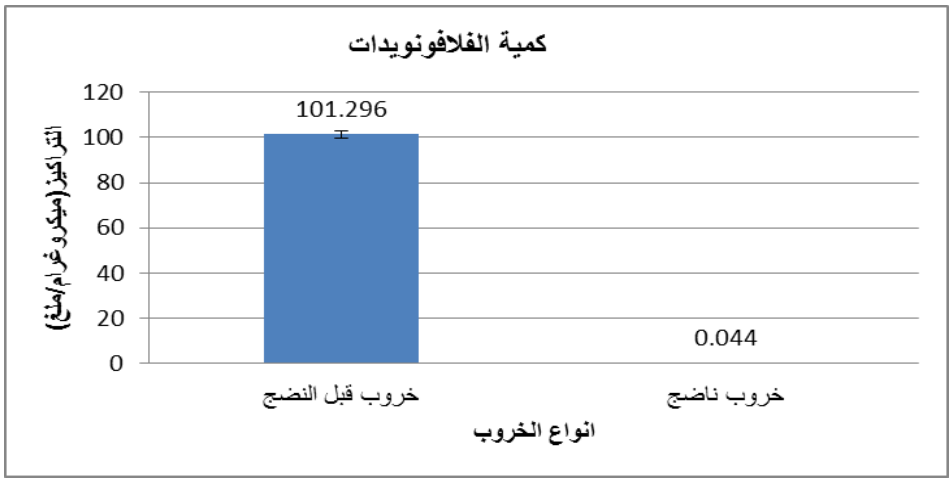


الشكل (07) : كمية عديدات الفينول في المستخلص الايثانولي لنبات الخروب قبل وبعد النضج بالميكروغرام المكافئ لحمض الغاليك / ملغ من وزن المادة الجافة.

أعطت النتائج الشكل (07) اعلى قيمة عند المستخلص الايثانولي للخروب الناضج ب 448.437±2,03 µg AGE/mg EX أما بالنسبة للمستخلص قبل نضج فقد كانت نسبته أقل بقليل 382.52 ± 1.05 µg AGE/mg EX

2-4-1 التقدير الكمي للفلافونويدات (FV)

قدرت كمية الفلافونويدات باستعمال المنحنى القياسي للكريستين في الايثانول ، حيث حسبت كمية الفلافونويدات بالميكروغرام (µg) على أساس حمض الكريستين المكافئ / ميلغرام (mg)من وزن المستخلص الجاف.



الشكل (08): كمية الفلافونويدات في المستخلص الايثانولي لثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج بالميكروغرام مكافئ للكريستين / ملغ من وزن المستخلص الجاف .

من خلال النتائج المبينة في الشكل (08) وجود فرق في كمية الفلافونويدات لكلا المستخلصين حيث أن المستخلص الايثانولي قبل النضج غني جدا بالفلافونويدات بقيمة 101,296±1,45 µg QUE/mg EX ويليه المستخلص الناضج قيمته شبه منعدمة و وصلت الى 0,044±0,0026 µg QUE/mg EX.

أظهرت نتائج التقدير الكمي للمركبات الفينولية (الفينولات الكلية والفلافونويدات) ان ثمار نبات الخروب *تحتوي على كميات* كبيرة من هذه المركبات ، هذا التباين في كمية المركبات الفينولية يتعلق بقطبية المذيب المستعمل في الاستخلاص فالتراكيز العالية للمركبات الفينولية تكون نتيجة الذوبانية عالية لها في المذيبات القطبية (ydjedd *et al* *2017*.,) وهذا يعني أيضا أن الايثانول لديه قدرة عالية على استخلاص المركبات الفينولية المتواجدة في ثمار هذا النبات.

أشار (ydjedd *et al* .,*2017*) من خلال تجاربه على ثمار نبات الخروب الجزائري أن المستخلص الأسيتوني يحتوي على أعلى قيمة فينولية قدرت ب 5.44mg AGE/g ± 162.55 في المرحلة الغير ناضجة (خضراء اللون) وهي نسبة كبيرة جدا ، أما في مرحلة النضج (بنية اللون)سجل مستخلص الهكسان محتوى فينولي ضعيف قدر ب ±0.46

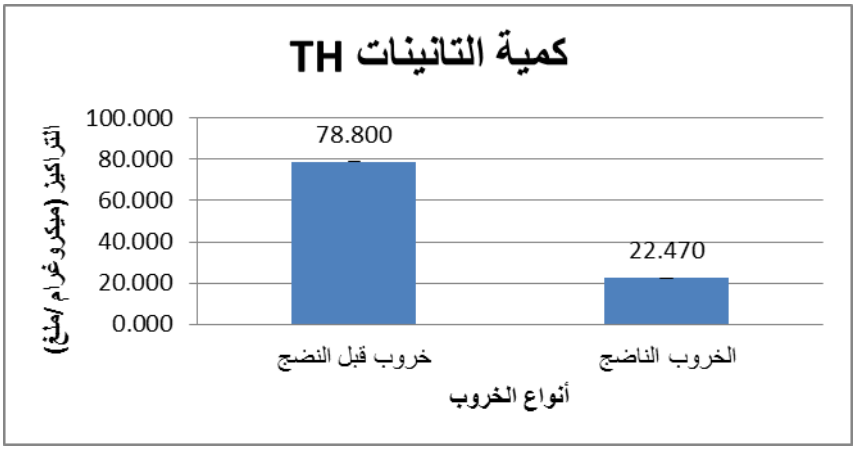
9.70 وفسر ذلك بأن الفاكهة لا تزال في مرحلة النمو وهي تحتاج للمركبات الفينولية لحمايتها مسببات الأمراض ، الحرارة والأشعة فوق البنفسجية.

في حين بين (El Bouzdoudi *et al 2016*) أن نبات الخروب المغربي يحتوي على الكثير من الفينولات المتعددة تختلف نسبتها باختلاف الظروف البيئية والجغرافية المختلفة (المناخ ، التربة ...) وكذلك الجينات الحامل لها.

1-4-3 التقدير الكمي للتانينات Les tanins

1-4-3-1 التانينات القابلة للتحلل Les tanins Hydrolisables

تم تقدير التانينات اعتمادا على طريقة كلوريد الحديد ككاشف، حيث يعبر كميا عن المحتوى الكمي للتانينات المنحلة باستخدام المعادلة الخطية للمنحنى القياسي المعبر عنه (µg) على أساس حمض التانيك المكافئ / (mg) من وزن المادة الجاف كما هو موضح في الشكل (27) في الملحق (II).

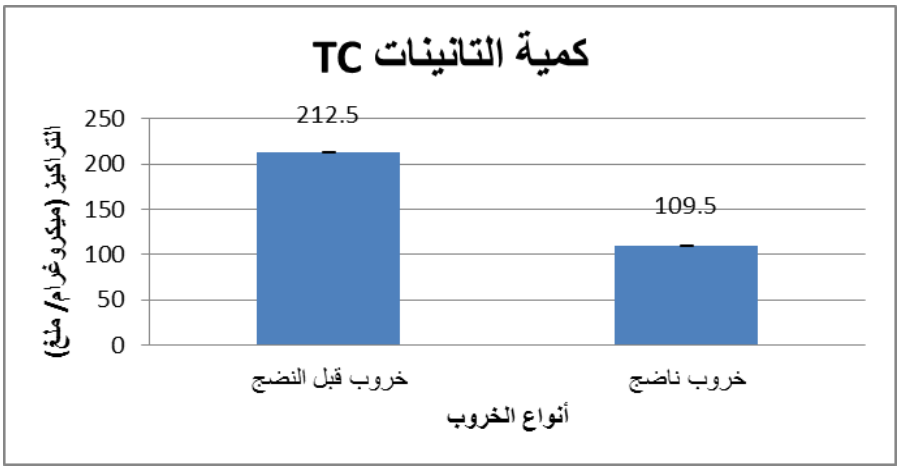


الشكل (09) : تقدير محتوى التانينات المنحلة في ثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج (ug AHE/mg Extrait).

بينت النتائج أن المستخلص الايثانولي للخروب قبل النضج غني جدا بالتانينات المنحلة بنسبة 78.80±0.004 µg EAT/mg Extrait في حين كانت نسبة المستخلص الناضج ضعيفة والتي تقدر ب 22.47±0.006 µg EAT/mg Extrait.

1-4-3-2 التانينات المكثفة Les Tanins Condensés

تم تقدير التانينات اعتمادا على طريقة الفانيلين ككاشف، حيث يعبر كميا عن المحتوى الكمي للتانينات الكاتيشيكية باستخدام المعادلة الخطية للمنحنى القياسي المعبر عنه (µg) على أساس حمض الكاتشين المكافئ / (mg) من وزن المادة الجاف كما هو موضح في الشكل (28) في الملحق (II).



الشكل (10) : تقدير محتوى التانينات المكثفة في ثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج (ug EC/mg Extrait)

أعطت النتائج ان المستخلص الايثانولي للخروب قبل النضج غني جدا بالتانينات المكثفة بنسبة 212.5±0,38µg EC/mg Extrait في حين كانت نسبة المستخلص الناضج متوسطة والتي تقدر ب 109.5±0.17µg EC/mg Extrait.

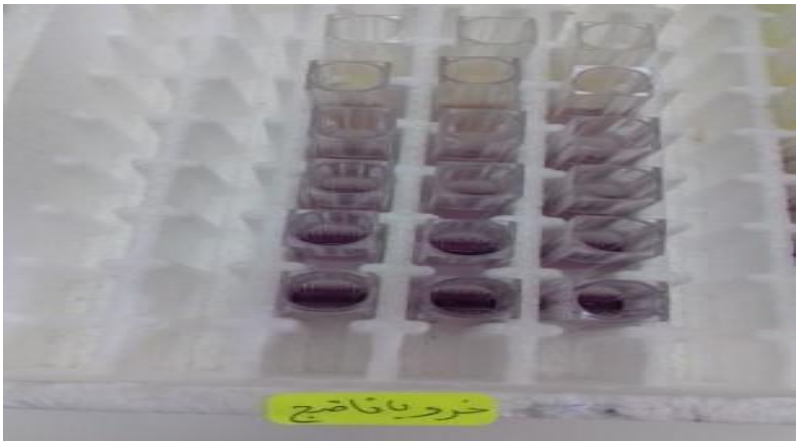
أظهرت نتائج (Aichaiou *et* Saidani.,2014) في دراساته السابقة لنفس النبات نتائج تقدير محتوى التانينات المنحلة في المستخلص ايثانول – ماء لبذور نبات الخروب، حيث أظهرت النتائج أن البذور غنية بالتانينات المنحلة والتي قدرت نسبتها ب (mg EAT / g MS 15.87 الى 9.75) ، كذلك وجد ايضا أن بذور نفس النبات غنية بالتانينات المكثفة وقدرت قيمتها بـ (1.69 – 5.3mg EAC / g MS).

عند مقارنة دراستنا بالدراسات السابقة وجدنا أيضا أن قرون الخروب غنية بالتانينات المنحلة والمكثفة وتكون بوفرة عند الثمار الغير الناضجة وتختلف نتائجنا مع نتائج الدراسات السابقة نوعية الجزء المدروس ، تنوع الثمار، درجة النضج، الظروف المناخية، الارتفاع، الحصاد، ويعزى هذا الى أن التانينات تتواجد بكثرة في الثمار الغير ناضجة لكنها تختفي عند نضوجها (Rira.,2006)، أي أن النبات في مراحل نضوجه يحتاج الى هذه المركبات لكي تحميه وتمنع اصابته بالكائنات الدقيقة.

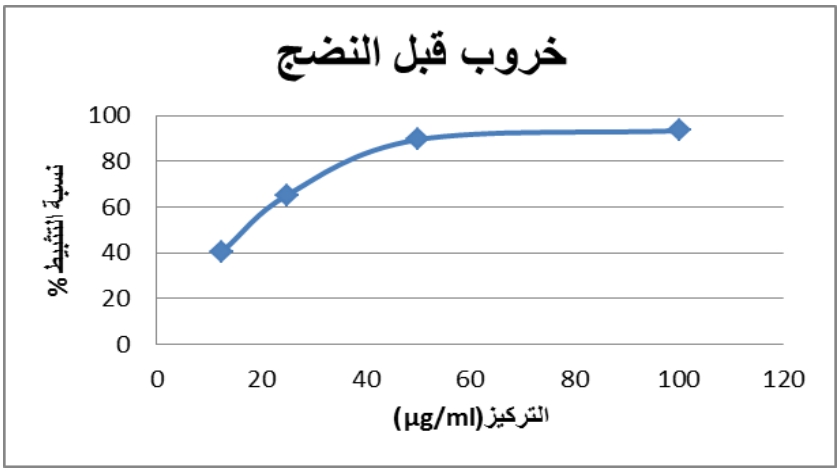
1- 5 تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة

تم تقدير الفعل الإزاحي لمستخلصي الخروب عن طريق اختبار الجذر الحر DPPH· وعموما تستعمل هذه الطريقة بكثرة في تحديد التأثير المضادة للأكسدة للمستخلصات النباتية وذلك لسرعة و فعاليته (Mosquera *et al*., 2007).

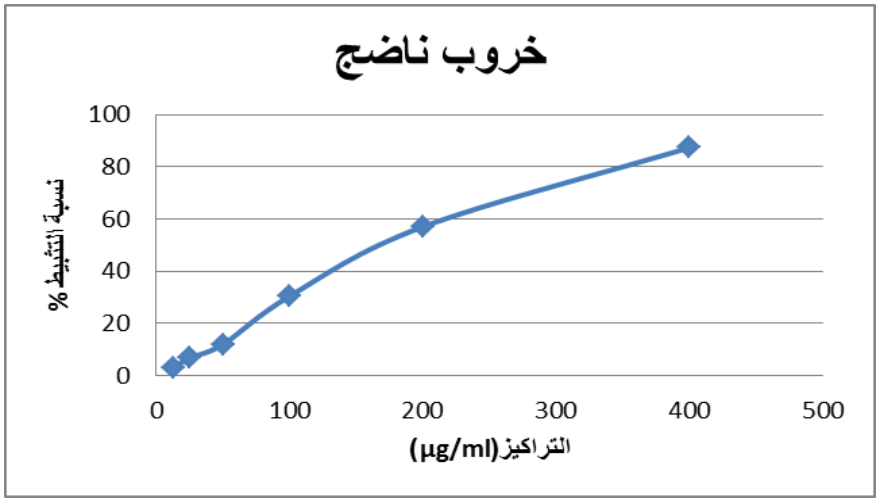
لاحظنا في هذا الاختبار تحول تلون DPPH الى الأصفر تدريجيا وفق تدرج التركير وهذا يدل على ارجاعه الوثيقة (26)، استعملنا في هذه الدراسة حمض الأسكوربيك كنموذج مرجعي للمقارنة .



الوثيقة (26) : توضح تحول لون DPPH الى اللون الأصفر تدريجيا.



الشكل (11): نسبة التثبيط I % بدلالة التركيز(µg/ml) لمستخلص الخروب قبل النضج.



الشكل (12):نسبة التثبيط I % بدلالة التركيز(µg/ml) لمستخلص الخروب الناضج.

من خلال نتائج الشكلين (11) و(12) نلاحظ ان كلا المستخلصين لهما القدرة على ازاحة جذر DPPH بشكل يتوافق مع تراكيز المستخلصين أي هناك علاقة طردية بين تركيز المستخلص ونسبة تثبيط الجذر الحر.بالنسبة لمستخلص الخروب قبل النضج عند التركيز 100 µg/ml أعطى افضل نشاطية مضادة للأكسدة قدرت بـ 93,293% مقارنة بمستخلص الخروب الناضج حيث كانت قيمته 87,308 % عند التركيز 400 µg/ml.

تم تعيين قدرة مستخلصي الخروب المدروسين على كبح الجذر DPPH من خلال منحنيات التثبيط بدلالة التركيز و بحساب قيمة IC_{50} وهذه القيم تعبر عن تراكيز

المستخلصين المدروسين اللازمة لإنقاص نصف تركيز الجذر DPPH ومن المعروف أنه كلما كانت قيم IC50 صغيرة تكون الفاعلية المضادة للأكسدة للمستخلص جيدة.

الجدول (08): قيم IC_{50} المتحصل عليها لكل من مستخلصي الخروب وحمض الاسكوربيك

المستخلص	الخروب قبل النضج	الخروب الناضج	حمض الاسكوربيك
IC50 (µg/ml)	17,171	1,710	14,686

أظهر مستخلص الخروب الناضج القدرة الاكبر وذلك بقيمة IC_{50} تقدر بـ µg/ml 1,710 في حين كان مستخلص الخروب قبل النضج أقل تأثيرا وقدر بـ µg/ml 17,171

بمقارنة قيمة IC_{50} لحمض الأسكوربيك والتي تم تقديرها بـ 14,68µg/ml مع IC_{50} لكل من مستخلصي الخروب نجد أن الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص خروب قبل النضج تقارب فعالية حمض الأسكوربيك وهذا يدل على أن الفعالية المضادة للأكسدة له جيدة، ونجد أن الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص الخروب الناضج أكبر فعالية من حمض الأسكوربيك وهذا يدل على أن الفعالية المضادة للأكسدة لهذا المستخلص جيدة جدا.

وفي دراسة اجراها (Ydjedd *et al.,2017*) على ثمار *C.Siliqua* الناضجة والغير ناضجة، باستعماله لاربعة مذيبات هكسان،كلوروفورم، أسيتات الايثيل والأسيتون حيث سجلت أكبر فعالية لمستخلص الأسيتون بقيمة تقدر ب µg/ml 9.03± 536.80 (ثمار *C.Siliqua* الغير ناضجة) و µg/ml 5.67± 795.32 (ثمار الناضجة)، يليه مستخلص أسيتات الايثيل ب µg/ml 5.67±792.54 (ثمار الغير ناضجة) و µg/ml 14.44 ± 992.04 (ثمار الناضجة)، بينما سجلت أقل قيم لل IC_{50} مع باقي المستخلصات، مؤكدا بذلك أن القدرة المضادة للأكسدة تختلف مع طبيعة المستخلصات ومرحلة النضج.

وفي بحث أخر بين(Benchikh *et al.,2014*) أن ثمار نبات *C.Siliqua* الغير ناضجة لديها فعالية تثبيط أكبر للجذور الحرة مقارنة بالثمار الناضجة، قد يكون الانخفاض في النشاطية المضادة للأكسدة للعينات الناضجة مرتبطا بانخفاض تركيز المركبات الكيميائية النباتية النشطة بيولوجيا نتيجة تطور الفاكهة.

يرجع هذا التأثير المضاد للأكسدة للمستخلصين إلى الكمية للمركبات الفينولية والفلافونويدات التى يحتويها كلا المستخلصين، فقد أكدت دراسات أن هناك ارتباط وثيق بين المحتوى الفينولي والفلافونويدي والتأثير الازاحي للمستخلصات النباتية.

.(Nowak et Gawlik-Dziki.,2007)

6-1 نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص الايثانولي

سمحت طريقة الانتشار حول الأقراص بالكشف على مدى تأثر السلالات البكتيرية بالمستخلص الايثانولي للنباتات المدروسة حيث يظهر التأثير على شكل هالة حول القرص المشبع.

اعتمدنا مقياس (Duraffourd et *al* ., 1990) في تحديد حساسية السلالات البكتيرية اتجاه كل من المستخلص الايثانولي للنباتات المدروسة حيث تكون الحساسية:

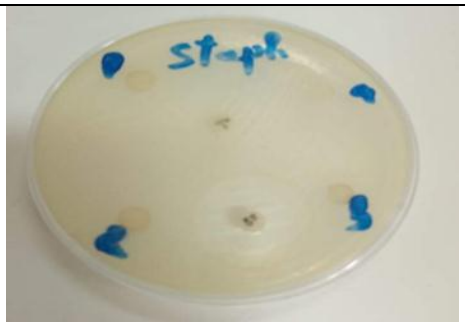
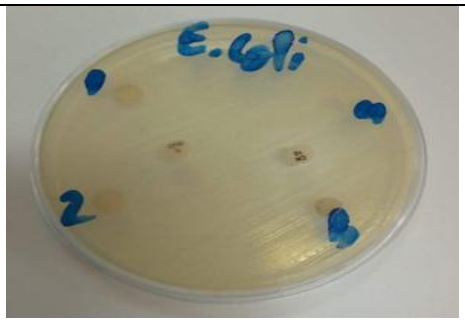
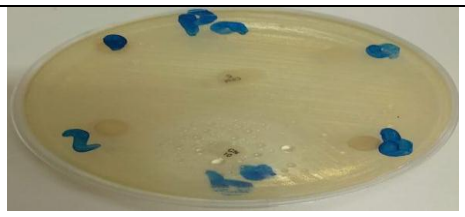
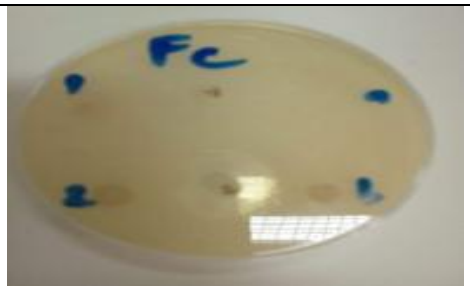
- منعدمة إذا كان قطر التثبيط اقل من أو يساوي 08 ملم.
- ضعيفة عندما يتراوح قطر التثبيط بين 14- 08 ملم.
- متوسطة عندما يكون قطر التثبيط يتراوح بين 14 -20 ملم.
- جيدة عندما يكون قطر التثبيط اكبر من 20 ملم

و النتائج موضحة في الجداول التالية :

جدول (09) : متوسط الأقطار التثبيطية بمليمتر للسلالات البكتيرية المختبرة بواسطة المستخلص الإيثانولي لنبات الخروب بتركيز 10 ملغ/ملل.

السلالات البكتيرية	CFM5	CN10	خروب قبل النضج	خروب ناضج
Staphylococcus aureus	0	23.33333	6	6
Micrococcus sp	0	22.33333	6.667	7.667
Escherichia coli	0	20	6.333	6.333
Pseudomonas aeruginosa	0	30	6	6
Salmonella typhis	0	22.33333	6.333	6.667
Fusarium culmarum	0	24.33333	7.667	6.667

جدول (10) **:**نتائج اختبار الفعالية المضادة لسلالات للبكتيريا المختبرة

السلالات البكتيرية	النتائج
Staphylococcus aureus	
Micrococcus sp	
Escherichia coli	
Pseudomonas aeruginosa	
Salmonella typhis	
Fusarium culmarum	

a: خروب ناضج

b: خروب قبل النضج

1: بلوط ناضج

2: بلوط قبل النضج

يتضح من خلال الجدولين (09) و(10) عدم وجود فعالية تثبيطية لكلا مستخلصي نبات الخروب ضد السلالات البكتيرية الستة المختارة، هذه النتيجة المسجلة كانت مستنبطة انطلاقا من غياب الاقطار حول الاقراص المستعملة والمحتوية على المستخلص.

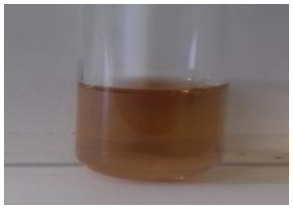
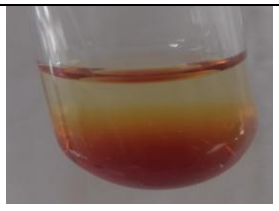
النتائج المتحصل عليها غير مطابقة اطلاقا للنتائج التي جاء بها (Benchikh *et al.,2014*) التي تبين أن ثمار نبات *C. Siliqu*a الغير ناضجة لديها فعالية تثبيط أكبر للجذور الحرة مقارنة بالثمار الناضجة، قد يكون الانخفاض في النشاطية المضادة للأكسدة لثمار الخروب مرتبطا بانخفاض تركيز المركبات الكيميائية النباتية النشطة بيولوجيا نتيجة لتطور الفاكهة

2- نبات البلوط

2-1 الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية

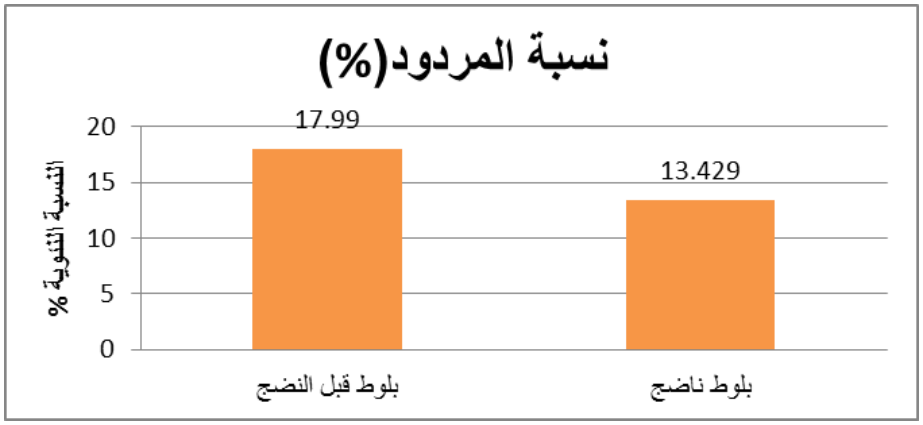
بعد الكشف عن المواد الفعالة التي اجريت على المستخلصات تحصلنا على النتائج التالية :

الجدول (11) : الكشف عن المواد الفعالة في مستخلصي نبات البلوط قبل وبعد النضج

مركبات الأيض الثانوي	بلوط قبل النضج	بلوط ناضج	الملاحظة
الصابونوزيدات			ظهور ضئيل جدا للرغوة في البلوط قبل وبعد النضج
المركبات المرجعة			ظهور راسب أحمر اجوري في البلوط قبل وبعد النضج
الفلافونويدات			ظهور اللون الاصفر في البلوط قبل وبعد النضج
القلويدات			ظهور راسب بني في البلوط قبل وبعد النضج
الستيرويلات والتربينات الثلاثية			ظهور طبقة بنية حمراء تفصل بين الطبقتين عند البلوط قبل النضج والبلوط الناضج

أظهرت نتائج الكشف الكيميائي أحتواء المستخلص الايثانولي لثمار البلوط قبل وبعد النضج على عدد من المركبات الفعالة وتبين نتائج الجدول (11) احتواء ثمار البلوط على التانينات والمركبات الفعالة و الفينولات و القلويدات والتربينات والستريلات ، في حين سجلنا غياب مركب الصابونوزيد قبل وبعد الضج تتفق هذه النتائج مما توصل اليه (محمد و الريس.،1981) بأن التانينات مركبات مضادة للأكسدة أي تحمي المركبات الحيوية وتمنع الاصابة بالكائنات الدقيقة ، كما تعد الدباغيات الموجودة في البلوط لها تأثير سام على الفطريات والأحياء المجهرية.

2-2-2 حساب المردود لمستخلص نبات البلوط



الشكل (13) : مردود المستخلص الميثانولي قبل وبعد النضج لثمار نبات.

أظهر تقدير مردود الاستخلاص بالنسبة ل 40 غ من الوزن الجاف للثمار أن المستخلص الايثانولي للبلوط قبل النضج يمتلك أعلى مردود الذي قدر ب 17.99% في حين أظهرت النتائج للمستخلص الايثانولي للبلوط الناضج مردود أقل بنسبة 13.429%.

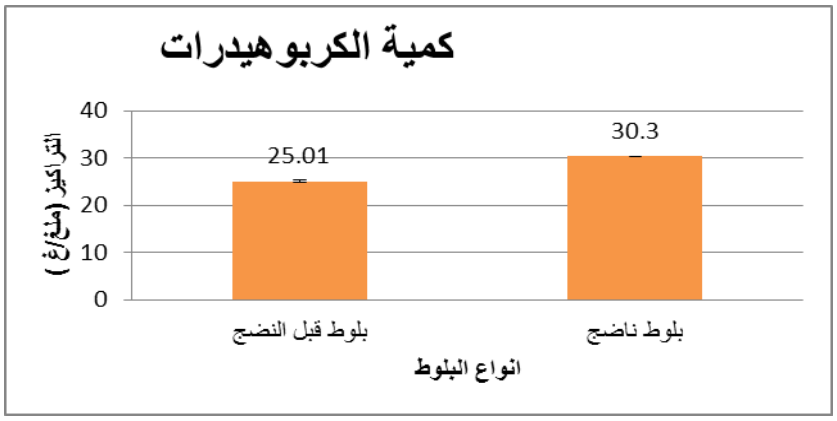
أظهرت نتائج (Bouaziz Et Bordjihane.,2018)، عند دراسته لقشور ثمار البلوط أن أعلى قيمة للمردود كانت للمستخلص الايثانولي بنسبة 19%.

نفسر هذه النتائج بأن الايثانول موصى به بدرجة كبيرة في الاستخراج الكمي للمركبات الفينولية ، ولديه قوة عالية في الاستخلاص مما ينتج عنه الحصول على أعلى محتويات فينولية.

نلاحظ أن مردود المستخلص الفينولي المتحصل عليه في دراستنا يختلف نوعا ما بالمقارنة مع الدراسات الأخرى ربما يعود هذا الى تنوع البلوط ، تنوع المنشأ الجغرافي ، درجة النضج ، الظروف المناخية ، وقت الحصاد ، والارتفاع ، وطرق التخزين اضافة الى منهجيات الاستخراج (Khlifa *et al.*,2008).

2-2 تقدير محتوى القيمة الغذائية

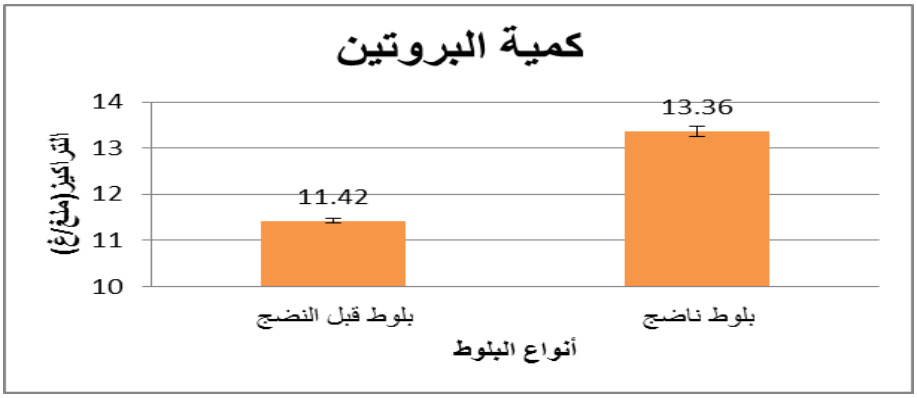
2-2-1 تقدير محتوى الكربوهيدرات لثمار نبات البلوط قبل وبعد النضج



الشكل (14): تقدير محتوى الكربوهيدرات لثمار نبات البلوط قبل وبعد النضج

تبين النتائج الموضحة في الشكل (14) أن ثمار البلوط الناضجة غنية جدا بالكربوهيدرات اذ تقدر بـ 30.3mg/g أما الثمار الناضجة فكانت قيمتها أقل بكثير حيث قدرت ب 25.01 mg/g.

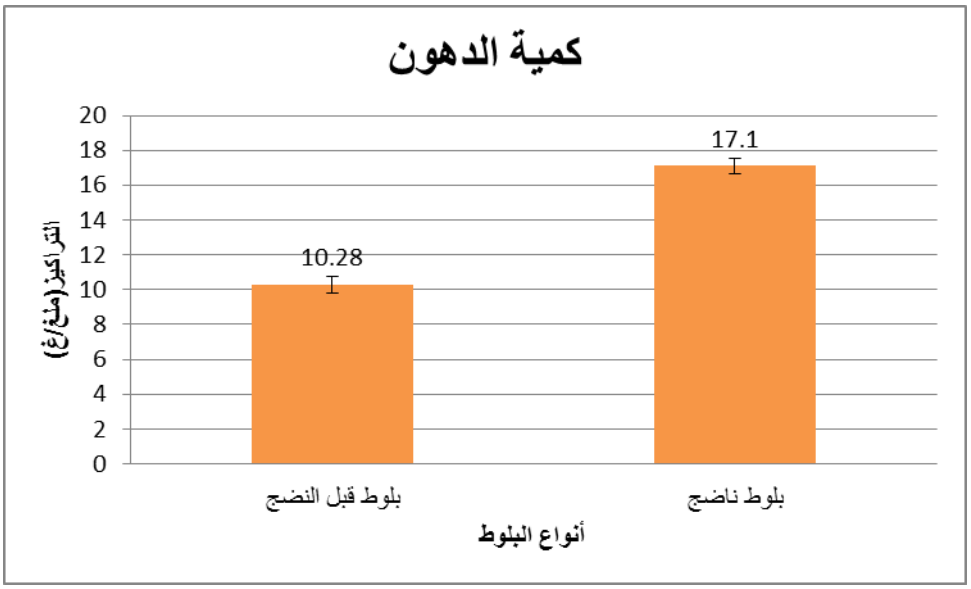
2-2-2 تقدير محتوى البروتين لثمار نبات البلوط قبل وبعد النضج



الشكل (15): تقدير محتوى البروتينات لثمار نبات البلوط قبل وبعد النضج

تبين النتائج الموضحة في الشكل (15) أن ثمار البلوط الناضجة غنية جدا بالبروتينات اذ قدرت نسبتها13.36 mg/g، أما الثمار غير الناضجة فكانت نسبتها أقل حيث قدرت بـ11.42 mg/g

3-3-2 تقدير محتوى الدهون لثمار نبات البلوط قبل وبعد النضج



الشكل (16): تقدير محتوى الدهون لثمار نبات البلوط قبل وبعد النضج.

تبين النتائج الموضحة في الشكل (16) أن ثمار البلوط الناضجة غنية بالدهون اذ قدرت نسبتها 17.1 mg أما الثمار غير الناضجة فكانت قيمتها أقل بقليل حيث قدرت بـ 10.28 mg.

يحتوي البلوط الأخضر *Q.ilex* على نسبة عالية من الكربوهيدرات حيث وجد (Bonfils.,2012) قيمة الكربوهيدرات في الثمرة تتروح بين 32.7 الى 89.7 %وهذه النتائج تتطابق مع نتائجنا حيث وجدنا أن ثمار نبات البلوط غنية جدا بالكربوهيدرات وتكون في أعلى قيمتها في مرحلة النضوج .

وأشار أيضا الى أن ثمار البلوط الأخضر يحتوي على نسبة عالية من البروتينات في مرحلة النضوج وان الثمار الناضجة تكون غنية بالأحماض الامينية المتنوعة.

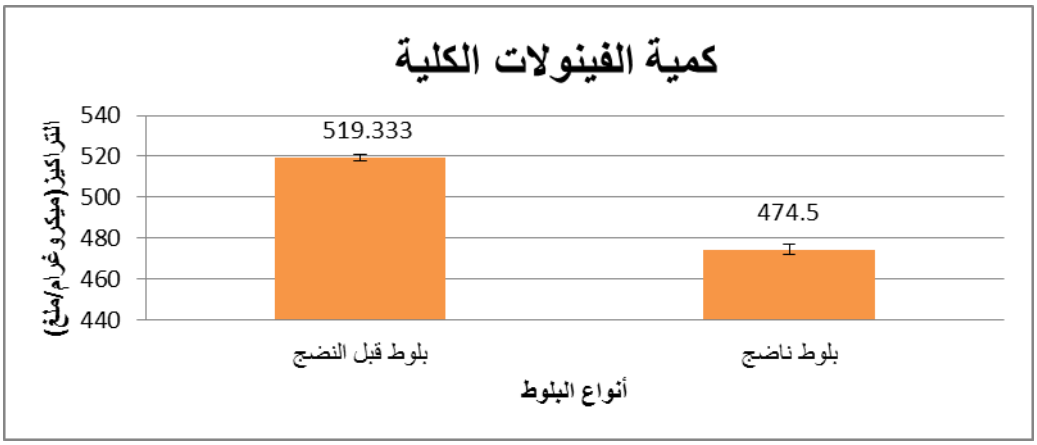
أما الدهون فهي تمثل نسبة مقبولة وهذه النسبة لها أثر ايجابي على الطاقة.

ومن هنا يمكننا القول ان الثمار البلوط تكون غنية جدا بمحتويات القيمة الغذائية في مرحلة النضوج أي تكتمل فيها كل الفوائد وتصبح صالحة للأكل.

4-2 التقدير الكمي لمركبات الفينولية

2-4-1 التقدير الكمي لعديدات الفينول (PPT)

قدرت كمية المحتوى الفينولي باستعمال المعادلة الخطية للمنحنى القياسي لحمض الغاليك في الايثانول، حيث حسبت كمية المركبات الفينولية للمستخلص الايثانولي بالميكروغرام (µg) على أساس حمض الغاليك المكافئ / الميلغرام (mg) من وزن المستخلص الجاف.

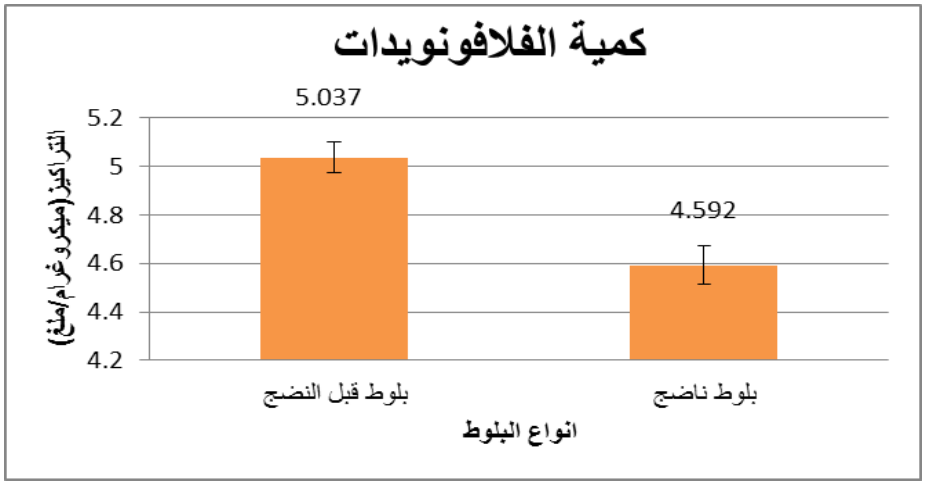


الشكل (17) : كيمة عديدات الفينول في المستخلص الايثانولي لنبات البلوط قبل وبعد النضج بالميكروغرام المكافئ لحمض الغاليك / ملغ من وزن المادة الجافة.

يظهر الاختلاف في كمية المركبات الفينولية بين المستخلص الايثانولي للثمار قبل وبعد النضج، حيث كانت كمية عديدات الفينول قبل النضج تقدر ب µg AGE/mg 519,333±1,41 اما بالنسبة لكمية عديدات الفينول بعد النضج فقد أظهرت نسبة أقل حيث قدرت قيمتها ب µg AGE/mg ± 2,46 474.500.

2-4-2 التقدير الكمي للفلافونويدات (FV)

قدرت كمية الفلافونويدات باستعمال المعادلة الخطية للمنحنى القياسي للكريستين في الايثانول، حيث حسبت كمية الفلافونويدات (µg) على أساس حمض الغاليك المكافئ / (mg) من وزن المستخلص الجاف.



الشكل (18) : محتوى الفلافونويدات في المستخلص الايثانولي لنبات البلوط قبل وبعد النضج بالميكروغرام المكافئ لحمض الغاليك / ملغ من وزن المادة الجافة.

بينت النتائج عدم وجود فروقات معنوية في محتوى الفلافونويدات بين المستخلص الايثانولي للثمار قبل وبعد النضج، حيث قدرت نسبة الفلافونويدات قبل النضج ب µg 5,037±0,63 AQE/mg اما بعد النضج فقد أظهرت نسبة أقل بقليل حيث قدرت قيمتها ب 4.592 ±0,782 µg AQE/mg.

تعد الفينولات مركبات نباتية جد هامة بسبب قدرتها الكابحة لأحتواء جزء منها على مجموعة الهيدروكسيل، حيث تساهم هذه المركبات في التأثير المضاد للأكسدة فهي تنتشر بشكل واسع في المنتجات النباتية الثانوية (بوبلوطة.،2009)

أظهرت نتائج (Bouaziz Et Bordjihane.,2018) أن ثمار نبات البلوط الأخضر يحتوي على نسب جيدة من البوليفينول حيث وجد قيمتها في المستخلص الايثانولي ذو

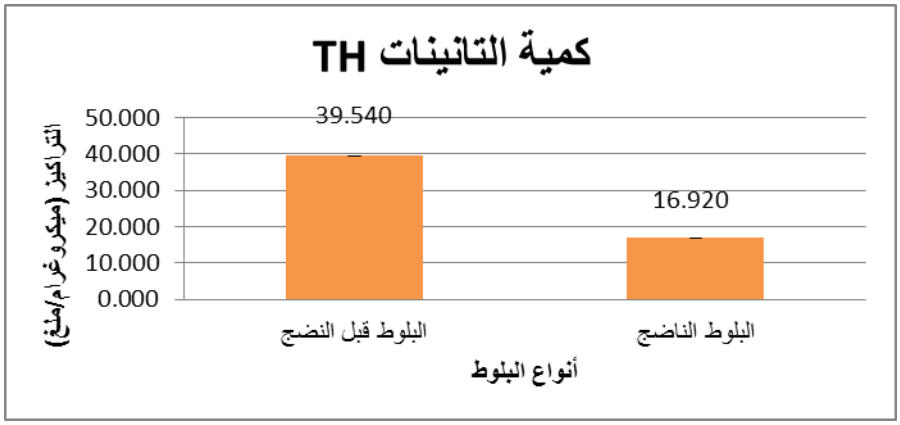
تركيز 60% ب (48.7±8.0mg AGE/g MS) وهي نتائج جيدة. ووجد أيضا على مستوى قشور البلوط الاخضر نسبة ضعيفة للفلافونويدات والتي تقدر (4.9±0.6 mg EQ/g MS)

عند تركيز الايثانولي 50%، هذا التباين في كمية المركبات الفينولية يتعلق بقطبية المذيب المستعمل في الاستخلاص فالتراكيز العالية للمركبات الفينولية تكون نتيجة الذوبانية عالية لها في المذيبات القطبية (ydjedd et al .,2017) وهذا يعني أيضا أن الايثانول لديه القدرة الأكبر على استخلاص المركبات الفينولية المتواجدة في ثمار هذا النبات.

2-4-3 التقدير الكمي للتانينات Les tanins

2-4-3-1 التانينات القابلة للتحلل Les tanins Hydrolisables

تم تقدير التانينات اعتمادا على طريقة كلوريد الحديد ككاشف، حيث يعبر كميا عن المحتوى الكمي للتانينات المنحلة باستخدام المعادلة الخطية للمنحنى القياسي المعبر عنه (µg) على أساس حمض التانيك المكافئ / (mg) من وزن المادة الجاف كما هو موضح في الشكل (27) في الملحق (II)



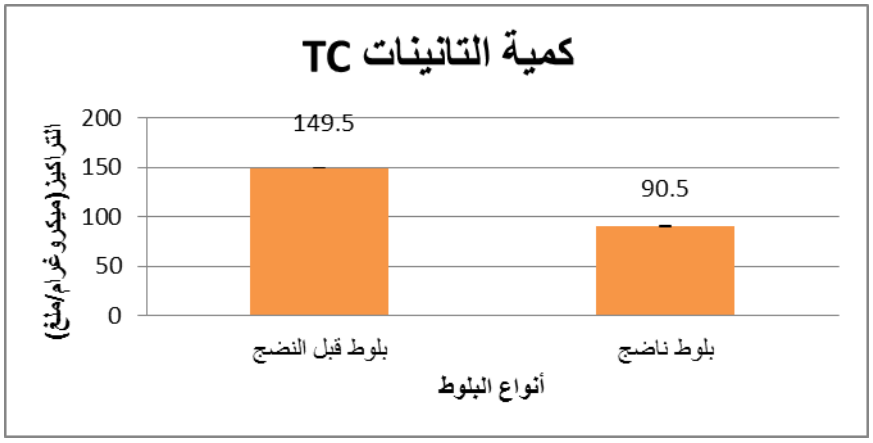
الشكل (19) : تقدير محتوى التانينات المنحلة في ثمار نبات الخروب قبل وبعد النضج (ug AHE/mg Extrait)

وجود فروق معنوية، اذ نلاحظ أن كمية التانينات المنحلة للمستخلص الايثانولي كانت متفاوتة، حيث سجلت أعلى كمية لها قبل النضج بقيمة (µg EAT/mg Extrait 39.540±0,012) وتليها المرحلة الناضجة بقيمة (16.92±0,001 µg EAT/mg Extrait).

2-3-4-2 التانينات المكثفة Les Tanins Condensés

تم تقدير التانينات اعتمادا على طريقة الفانيلين ككاشف، حيث يعبر كميا عن المحتوى الكمي للتانينات الكاتيشيكية باستخدام المعادلة الخطية للمنحنى القياسي المعبر عنه (µg) على أساس حمض الكاتشين المكافئ / (mg) من وزن المادة الجاف .

كما هو موضح في الشكل (28) وفي الملحق (II).



الشكل (20) : تقدير محتوى التانينات المكثفة في ثمار نبات البلوط قبل وبعد النضج (ug ACE/mg Extrait).

نلاحظ أن المستخلص الايثانولي للثمار البلوط غنية بالتانينات المكثفة حيث سجلت أعلى كمية لها قبل النضج بقيمة(149.5±0.6 µg EAC/mg Extrait) ويليها المستخلص الايثانولي للثمار الناضجة ب (90.5±0.17µg EAC/mg Extrait).

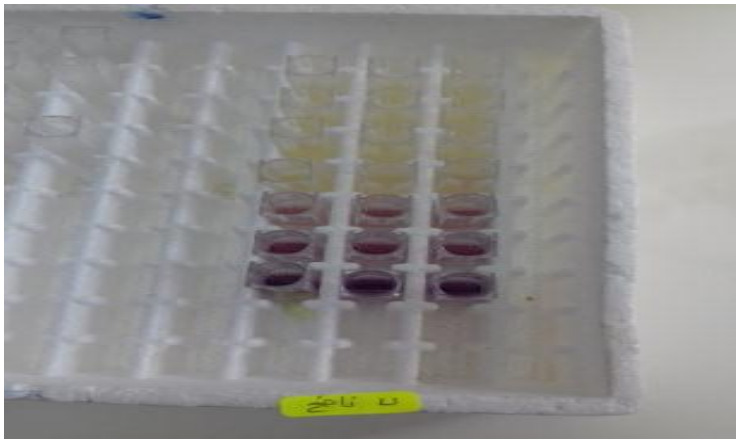
تنتشر التانينات بوفرة في المملكة النباتية وتتوزع في جميع أعضاء النبات، قد تصل التانينات في بعض النباتات الى 70% كماهو الحال عند البلوط وقشور الرمان (زمالي.،2007)، وتتواجد أيضا في الأوراق، والسيقان، كما تتواجد بوفرة في الثمار الغير ناضجة لكنها تختفي عندما يتم نضجه (Rira.,2006).

حيث اكد (Baldosano *et al*.,2015) أن الايثانول بتركيز % 50 فعال لاستخراج كمية كبيرة من التانينات، وان ثمار البلوط الأخضر تحتوي على نسبة كبيرة منها (Bouziz *et* Bordjihane.,2018).

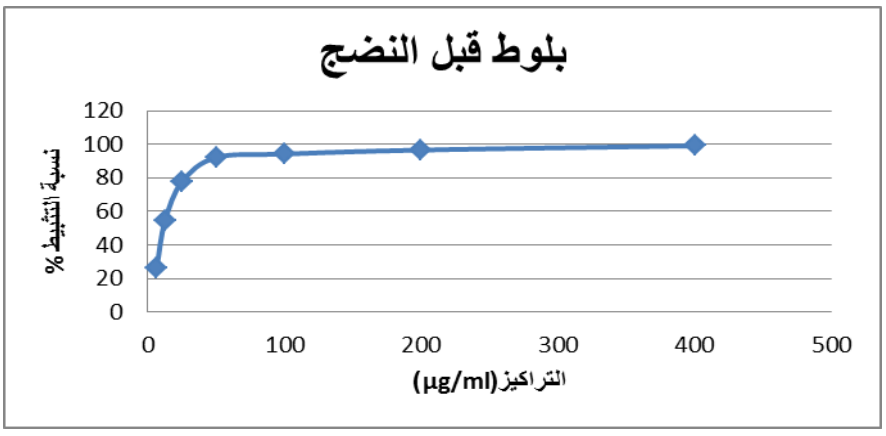
2-5 تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة

تم تقديرالفعل الازاحي لمستخلصي البلوط عن طريق اختبار الجذر الحر DPPH. وعموما تستعمل هذه الطريقة بكثرة في تحديد التاثير المضادة للاكسدة للمستخلصات النباتية وذلك لسرعة فعاليته (Mosquera et al., 2007).

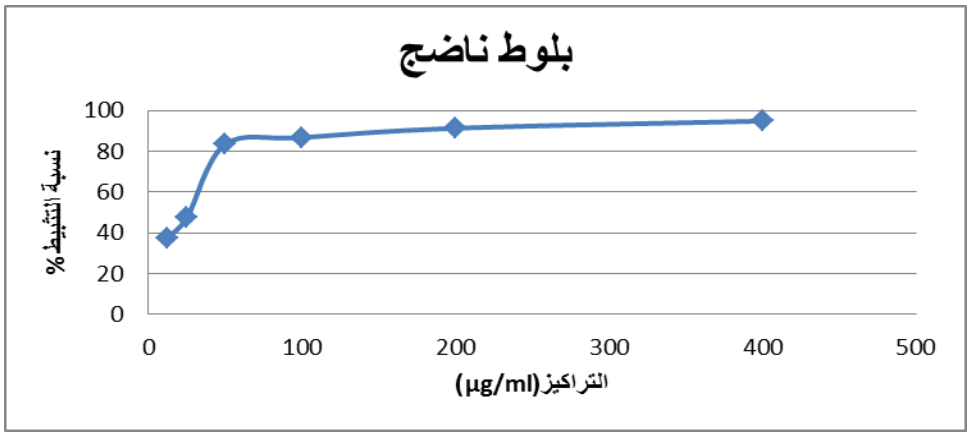
لاحظنا في هذا الاختبار تحول لون DPPH الى اللون الأصفر تدريجيا وفق التدرج في التركيز وهذا يدل على ارجاعه. **الوثيقة (27)** استعملنا في هذه الدراسة حمض الأسكوربيك كنموذج مرجعي للمقارنة.



الوثيقة (27) : توضح تحول لون DPPH الى اللون الأصفر تدريجيا.



الشكل(21):نسبة التثبيط I % بدلالة التركيز (µg/ml) لمستخلص البلوط قبل النضج.



الشكل(22): نسبة التثبيط I % بدلالة التركيز (µg/ml) لمستخلص البلوط الناضج.

من خلال نتائج الشكلين (21)و(22) نلاحظ ان كلا المستخلصين لهما القدرة على ازاحة جذر DPPH بشكل يتوافق مع تراكيز المستخلصين أي هناك علاقة طردية بين تركيز المستخلص ونسبة تثبيط الجذر الحر .

بالنسبة لمستخلص البلوط قبل النضج عند التركيز 400 µg/ml أعطى أفضل نشاطية مضادة للأكسدة قدرت بـ 99,080 % مقارنة بمستخلص البلوط الناضج حيث كانت قيمته 94,789 %.

تم تعيين قدرة مستخلصي البلوط المدروسين على كبح الجذر DPPH من خلال منحنيات التثبيط بدلالة التركيز وذلك بحساب قيمة IC50 وهذه القيم تعبر عند تراكيز المستخلصين المدروسين الازمة لانقاص نصف تركيز الجذرDPPH ومن المعروف أنه كلما كانت قيم IC50 صغيرة تكون الفاعلية المضادة للأكسدة للمستخلص جيدة.

الجدول(12): قيم IC50 المتحصل عليها لكل من مستخلصي الخروب وحمض الاسكوربيك

المستخلص	البلوط قبل النضج	البلوط الناضج	حمض الاسكوربيك
IC_{50} (µg/ml)	1,866	1,734	14,686

أظهر كل من مستخلص البلوط الناضج و البلوط قبل النضج قدرة عالية وذلك بقيمة IC_{50} تقدر بـ 1,734 µg/ml و 1,866 µg/ml على التوالي.

بمقارنة قيمة IC_{50} لحمض الأسكوربيك 14,686 µg/ml مع IC_{50} لكل من مستخلصي البلوط نجد أن الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصي البلوط أكبر من فعالية حمض الأسكوربيك وهذا يدل على أن الفعالية المضادة للأكسدة لكلا المستخلصين جيدة جدا.

في دراسة اجرتها (Bouaziz Et Bordjihane.,2018)، أن لحاء البلوط الاخضر يحتوي على أفضل نشاطية مضادة للأكسدة، حيث يحتوي مستخلص الايثانول 60% على أقل نسبة IC_{50} حيث قدرت بـ 0.9±0.1 µg/ml، اما ثمار البلوط الأخضر لديها أعلى قدرة نشاطية لنفس المستخلص وقدرت IC_{50} بنسبة 0.85±0.1µg/ml .

يمكن أن تعزى الاختلافات في النشاط المضاد للأكسدة بين نفس النبات إلى بعض العوامل البيئية مثل المناخ والموقع الجغرافي ودرجة الحرارة والتي يمكن ان تؤثر بشكل كبير على تراكم المركبات المضادة للأكسدة في المادة النباتية (Vangalapati et *al*., 2011).

2-6 نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص الايثانولي

جدول (13) : متوسط الأقطار التثبيطية بمليمتر للسلالات البكتيرية المختبرة بواسطة المستخلص الإيثانولي لنبات البلوط بتركيز 10 ملغ/ملل.

بلوط ناضج	بلوط قبل النضج	CN10	CFM5	
6	7.333	23.33333	0	*Staphylococcus aureus*
7.667	7.333	22.33333	0	*Micrococcus sp*
6	6.333	20	0	*Escherichia coli*
7	7.667	30	0	*aeruginosa Pseudomonas*
7	7.667	22.33333	0	*Salmonella typhis*
7.667	6	24.33333	0	*Fusarium culmarum*

يتضح من خلال الجدولين (13) و(10) عدم وجود فعالية تثبيطية لكلا مستخلصي نبات البلوط ضد السلالات البكتيرية الستة المختارة، هذه النتيجة المسجلة كانت مستنبطة انطلاقا من غياب الاقطار حول الاقراص المستعملة والمحتوية على المستخلص.

خاتمة

الخاتمة

ارتفعت مؤخرا الكثير من الأبحاث التي ترتكز على تحديد وفتح افاق جديدة لخدمة المجال الطبي في اطار العلاج بالنباتات الغابية، لهذا قمنا بدراسة نبتتين مهمتين وهما : نبات من العائلة البقولية وهو الخروب *Ceratonia siliqua* و نبات من العائلة الزانية *Quercus ilex* *في مراحل قبل وبعد النضج.*

للتعرف على محتوى المواد الفعالة في هذين النبتين قمنا بدراسة الكشف الكيميائي لنواتج الأيض الثانوي وذلك باستخدامنا للمستخلص الايثانولي في الكشف عن بعض المركبات المتمثلة في التانينات، القلويدات، الفلافونويدات، صابونيات، التربينات والستيرويلات، كما تمت دراسة التقدير الكمي للفينولات والفلاونويدات والتانينات المنحلة والمكثفة، ثم قمنا بدراسة محتوى القيمة الغذائية للكربوهيدرات والبروتينات والدهون.

للوقوف كذلك على الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص الايثانولي تم تقدير النشاطية المثبطة للجذور الحرة باستعمالنا اختبار DPPH،وقد بينت النتائج أن المستخلص الايثانولي لثمار نبات الخروب والبلوط له فعالية كبيرة جدا في تثبيط الجذر الحر، بعد ذلك لجأنا للدراسة البيولوجية فقد بحثنا عن التأثير المضاد للبكتيريا للمستخلص الايثانولي لكلا النبتتين قبل وبعد النضج واستخدمنا في هذا الاختبار ستة سلالات بكتيرية مختلفة موجة غرام + Gram *وسالبة* Gram – *والمتمثلة في : Staphylococcus aureus – Micrococcus sp – Escherichia coli – Pseudomonas aeruginosa –Salmonella typhi –Fusaruim culmarum باستعمال طريقة الانتشار بالأقراص.*

وفي الأخير انطلاقا من استقراء النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة، أن المستخلص الايثانولي لثمار نبات الخروب والبلوط الأخضر قبل وبعد النضج لايملكان أي أي تأثير تجاه السلالات البكتيرية المختبرة، وهذا راجع للاختلاف المورفولوجي و المكونات الكيميائية للنبات

وذلك حسب البيئة التي يتواجد فيها والظروف المناخية السائدة وغيرها من العوامل التي تؤثر فيه.

النتائج المتوصل اليها أظهرت أن نبات C.siliqua L ونبات Q. ilex L هما مصدران طبيعيان غنيان بالمواد الفعالة مما يفسر شيوعهما في الطب التقليدي لذلك يتطلب اجراء دراسات اضافية لمعرفة هذه المركبات بالتحديد وذلك عن طريق فصلهما بطرق مختلفة وحساسة واختبار فعاليتها المضادة للأكسدة مع تحديد قيمة IC_{50} لكل مركب على خدا بالاضافة الى ذلك يتطلب دراسة تأثير المستخلص على نماذج حيوانية (*In ViVo*) للتأكد من التأثير العلاجي الفعال لمستخلص ثمار النبتتين، كما لا ننسى دراسة الأعراض الجانبية الناتجة عن استخدام هذا الجزء النباتي حتى نحتاط من كيفية استعماله والعلاج به لمختلف الأمراض.

قائمة المصادر والمراجع

قائمة المصادر والمراجع باللغة العربية

- **ابراهيم ع.،2008**- دليل محصول الخروب ، المركز القومي للبحوث المكتبة التعليمية للنشر.
- **ابو الذهب م.، الكشير ح.، القزاز س.، عاية ش.، 1997**- البكتيرتا .دار المعارف .الجزء الأول. ص 20.
- **بن ذهبية خ.،2013**- دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء من ولاية ورقلة . مذكرة ماستر ، 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 90 .ص.
- **بن عاشورة ص .،2006**-الفعالية المضادة للأكسدة الزيوت الطيارة والمركبات الفينولية لـ « Deverra scoparia»، مذكرة ماجستير ، جامعة ورقلة.
- **بن عربية ع .، 2013** - دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء *LawsoniaInermis* لولاية أدرار . مذكرة ماستر ، قاصدي مرباح ، ورقلة ص **54.**
- **بن مرعاش ع .، 2012** – دراسة نواتج الأيض الفلافونويدي والفعالية المضادة للأكسدة لنبتة *Convolvulus supinus* . مذكرة ماجستير ، جامعة منتوري قسنطينة ، الجزائر ص 91-102.
- **بويلوطة ح.، 2009** -النشاطية المضادة للتأكسد وامكانية وقاية المستخلصين الميثانولي لنبتتي *Matricaria pubescens* و *Centaurea incan* *على السمية الكبدية ، مذكرة لنيل شهادة الماجستير ، جامعة منتوري قسنطينة ،ص 194.*

- **بوخبتي ح .،2010 –** النباتات الطبية المتداولة في المنطقة الشمالية لولاية سطيف دراسة تشريحية لنوعين من من جنس *Mentha* والنشاطية ضد البكتيرية لزيوتها الأساسية . شهادة الماجستير . جامعة فرحات عباس بسطيف ص 116.
- **بوروبنة ع .،**1990- مغلفات البذور علم التقسيم النباتي،جامعة هواري بومدين، ص12-62.
- **بوزيد ن.، 2008 –** أهم الأمراض الفطرية للحبوب والبقوليات في تونس.مركز النشر الجامعي.
- ***بوقفالة ر.،2013-*** *دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء Lawsonia Inermis* لمنطقة بسكرة، مذكرة ماستر ، جامعة قاصدي مرباح ، ورقلة ،ص 78.
- **بيرش ك ومبروكي س.، 2015-** المساهمة في التعرف على طبيعة المستخلص الكلوروفرمي لاحد نباتات الفصيلة القرعية المحلية ،مذكرة ماستر أكادمي، جامعة قاصدي مرباح ، ورقلة ،ص 56.
- **جابو خ وذكار ز .،2017-** مساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة لتآكل الفولاذX70 في وسط حمضي لمستخلصات نبات المورينجا *Moringa oliefera(L.)* ،مذكرة ماستر أكاديمي ، قاصدي مرباح، ورقلة، ص32.
- **جبالي هـ** ., 2012 -التقدير المخبري النشاطية المضادة للأكسدة والجذور الحرة لبعض المركبات الكبريتية .مذكرة لنيل شهادة ماستر ,جامعة قاصدي مرباح ,ورقلة ,ص23-24
- **جرموني م.، 2009-** النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة الخياطة *Teucriumpolium. مذكرة الماجستير ، جامعة* فرحات عباس سطيف **ص 95.**
- **جغلان أ .، 2009-** *اتفاقية المتعلقة بالتنوع البيولوجي ، استعراض التقدم المجرز في تنفيذ الاستراتيجة العالمية لحفظ النباتات (GSPC)* ص 48.
- **الحسنين ي.،2009-**النبات الاقتصادي،المكتبة الاكاديمية ص154.

- **حمداش ع.، 2001-** زراعة محصول الحمص بالمناطق الساحلية والشبه الساحليه معهد التقني للمحاصيل الحلقية –ص- 21.
- **حميدي ن د.،2015 –** الدراسة الفيتو كميائية والتقييم البيولوجي للفاقونيا لونجيسينا (*FagoniaLongispina*) (Zygophyllaceae)) نبات من الجنوب الغربي للجزائر، مذكرة دكتورا، جامعة ابي بكر بلقايد، تلمسان، ص 49-54.
- **حوة ا.،*2003-*** *دراسة الفعالية البيولوجية لبعض النباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة ، مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة ص56، 98،*109 .
- **الداؤدي ا . ج .، قصير و . ع سلمان مذيب طاهر .، 2012-** استخلاص وتشخيص تانينات قلف أشجار الصنوبر البروتي *Quercus aegilops*وبلوط الأكل *PinusbrutiaTen* *النامية في العراق ، جامعة الموصل ص 9.*
- **ربيعي ع .ك، 2010-**المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء تحليلية ومراقبة المحيط، جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- **رضوان صدقي ف.،1991** ،كيمياء اليبيدات ،مركز النشر لجامعة القاهرة .
- **ريدة . أ، 1999-**الجذور الحرة، جملة مضادات المؤكسدات وداء التهاب المفاصل الرثياني . مجلة جامعة دمشق، المجلد (5) العدد (2) .
- **ريسكو ف.، 2011-** الدراسة فيتوكيميائية و تقدير الفعالية التثبيطية لمستخلص نبات الرقيق(*Hélianthemum lippii)* مذكرة ماستر ،جامعة قاصدي مرباح ورقلة، ص *92.*
- **زعيتر ل .،2000-** تحديد المكونات الكيميائية لأطوار الكلوروفورم والزيوت الأساسية لأنواع من العائلتين المركبة (Comosition)والسيستسية (Cistaceae). رسالة دكتوراه العلوم . جامعة منتوري قسنطينة . ص219.
- **زمالي ج .،2007-** دراسة فيتوكيميائية وبيولوجية لنبتة *Salanumnigrum* . مذكرة *ماجستير في الكيمياء. جامعة قاصدي مرباح ورقلة . ص 39،* 104.

- **شباح ك.، - 2007** فصل و تحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدي Phoenix dactylifera (Degla beida) مذكرة ماجستير ،جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص 98.
- **شبوعات ي.،2003**– دراسة القلويدات في نبات السدر *Zizyphs Mauritiana*. *مذكرة ماجستير ، جامعة قاصدي مرباح ، ورقلة ،ص 124.*
- **صبحي ع .،2010**– صيدلية النباتات والأعشاب الشفية ، دار عالم الثقافة للنشر ص 11.
- **صلاح ع .،2011**– مقدمة عن النباتات الطبيعية ، كلية العلوم النبات ، جامعة بابل . العراق.
- **صندالي ع.،2013**– المسح الكيميائي لنبتتين من عائلة Chénopodiaceae و Brassicaceae مذكرة ماستر . جامعة قاصدي مرباح ورقلة .ص 78.
- **طاهر ح .، 2008** –كيمياء المنتجات الطبيعية . الجزاء النظري . منشورات جامعة البعث كلية العلوم ص 362.
- *العابد ا. 2009– دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة للمستخلص القلويدي الخام لنبات الضمران Traganum nudatum، مذكرة ماجستير في الكيمياء ، جامعة قاصدي ، مرباح، ورقلة ص38–39-106.*
- **عبد الرضا أ ووداد م .، 2013**– النباتات الطبية والتداوي بالأعشاب ، مطبعة البصائر ، بيروت ، لبنان ، ص 1.
- **عبد الناصر إ.، 2011**– السيلينيوم ودوره في الانسان والحيوان ، مجلة أسيوط للدراسات البيئية ، العدد(35)، ص16–17.
- **عزري خ.،2013** – دراسة الليبيدات والفينولات في بعض أنواع التمر المحلي، مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص 53–55.

- **علاوي م.،2003** -الدراسة الفيتوكميائية و التقييم الميكروبيولوجي لنبتتين من الفصيلة الرمرامية تستعملان في الطب التقليدي الصحراوي) HaloxylonscopariumPomel : Remth) Traganumnudatum (Thamran).
- **عمر ل. ،2010-** دراسة بعض الخصائص البيوكيميائية لنبات الشيح Artemisia herba albaAsso . مذكرة لنيل شهادة الماجستير في بيولوجيا و فيزيولوجيا النبات .جامعة فرحات عباس. ص 90.
- **عودة س.م .،2014–** محاضرات في النباتات الطبية والعطرية ، قسم البستنة وهندسة الحدائق ، كلية الزراعة ، المحاضرة الثالثة ، ص 11.
- **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.
- **القحطاني ج.،2011–** الطب البديل مكمل للطب الحديث ، الطبعة الأولى ، مكتبة العبيكان للنشر ، ص 467.
- **القحطاوي ج.،2013–** معدن الزنك دراسات تربط بين انخفاض مستواه في الجسم وبين مشكلات الحمل والاجهاض والعيوب الخلقية ، مجلة الرياض، العدد (16338)، ص1.
- **قلاب ذبيح ن هـ .،2018–**دراسة فيتوكميائية وبيولوجية لبذور نبات حب الرشاد ***Lepidium sativium L*** ، مذكرة ماستر ، جامعة العربي بن مهيدي ، ام البواقي،ص 51.
- **قمولي أ .، 2011–** دراسة الكتروكيميائيةلفينولات بعض نوى التمر المحلي . شهادة ماستر. جامعة قاصدي مرباح . ورقلة . ص 22– 39 –69.
- **قميني س والعيفاوي د.،2016–** مساهمة في دراسة كيميائية والفعالية البيولوجية لنبات من العائلة الخيميةL . *Ammi visnaga* ،شهادة ماستر، جامعة العربي بن مهيدي ام البواقي،ص27.

- **لبوز م.، 2012**- الدارسة الفيتوكيميائية لنبتة Rhetinolepis lonadioides Coss) الزيوت الطيارة والليبيدات. (مذكرة ماستر أكادمي، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص8 .
- **لعور أ وبن دهان إ.،2016**– تقدير كمية البروتين في المجموع الخضري لنبات الحمص المعامل بهرمون الكينتين ،مذكرة ماستر ، جامعة العربي بن مهيدي، أم البواقي، ص 7.
- **محمد بو عبد الله س.، 2011** –دراسة بعض التأثيرات البيولوجية لمستخلص نبات الشاي الأخضر *Camellia sinensis* على النشاطية المضادة للأكسدة والنشاطية المضادة للبكتيريا . مذكرة ماجستير ,جامعة منتوري ,قسنطينة،ص11-12 .
- **محمد ع والريس ع.، *1918*** – فسجلة النبات ، الجزء الثاني ،(1) مؤسسة دار الكتاب للطباعة .
- **محمد عبد العظيم والريس ، عبد الهادي (1981)** فسجلة النبات ، الجزء الثاني مؤسسة دار دار الكتب للطباعة .
- **مخدمي ن.،2014** –مذكرة ماجستير : استعمال المستخلصات المائية لنبتتي *Matricariapubsccns* و *Pituranthoschoranthos*كمعطرات طبيعية لجبن أمير ، ودراسة النشاطية ضد البكتيريا لزيتها العطرية، مذكرة ماجستير، جامعة فرحات عباس، سطيف ، ص 6
- **ميثاق ج.،2010 –** بحث وتحديد نواتج الايض الثانوي لنبات القات *Catha edulis من العائلة* (Celastraceae) ونبات البوليكاريا *Pulicaria jauberti* من العائلة (Asteraceae) وتقييم الفعالية البيولوجية،رسالة دكتوراه، جامعة منتوري ، قسنطينة،ص 39
- **نعمه ج، أبو مجداد،جبر م.، 2007**- تقيم الفعالية الضد المايكروبية للمستخلص المائي والكحولي لأوراق نبات السدر *Ziziphus spina- christi* (L) Desf . مجلة البصرة للعلوم(ب) ، مجلد (25)، العدد(1)،1- 16.
- **هيكل م وعمر ع.، 1988**– النباتات الطبية والعطرية كيمياؤها– انتاجها – فوائدها، الطبعة الثانية، دار منشأة المعارف ، الاسكندرية،مصر ، ص 13.

- **وائل غالب م.،2008**– أسس الكيمياء العضوية، دار الكتب الوطنية ليبيا، طبعة1.
- **ياس لهمود السعيدي و.،2012**–تقييم كفاءة المستخلصات المائية والكحولية لثمار البلوط وبذورالحلبة قياسا" ببعض المبيدات الفطرية في السيطرة على الفطريات المرافقة لبذور الباقلاء والسبانغ ،مذكرة ماجستير،جامعة القادسية، **ص 13.**

قائمة المصادر والمراجع باللغة الأجنبية

- **Aichiou K., Nileilaa S., 2014-** teneur en composés phénoliques et activité antioxydante d'extraits bruts du fruit de caroubier *(Ceratonia siliqua l).* diplôme de master. université abderrahmane mira de bejaia
- **Amira K** ., 2013 - Caractérisation des hydrocarbures cuticulaires et l'effet d'un régulateur de croissance, RH-0345 sur le développement et la reproduction de Culex pipiens. Thèse de Doctorat, Université Annaba, Algérie, p75.
- **Antwerpen P V., 2006**. Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système mycloperoxydase / Peroxyole d'hydrogène / Clilorure. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Science Pharmaceutiques Bruxelles.
- **Athamena S., 2009 -** Etude quantitative flavonoides des grains de *Cuminum cyminum* et Les feuiles de *Rosmarinus officinalis* et l'evaluation de l'activite biologique. Memoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Magister. Université El -Hadj Lakhder Batna. 126p
- **Avallone R, Plessi M, Baraldi M, Et Monzani A, 1997-**determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): protein, fat, carbohydrates, and tannins. journal of food composition and analysis p: vol. 10, p:166–172
- **Azzi R ,**2013 - Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le -traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Quest algérien :enquéte ethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de figuire *Ficus carica* et de coloquinte(*Citrullus colocynthis*) chez le rat wister.these doctrorat en biologie , Universite Abou Bekr Belkaid Tlemcen ,169p.
- **Baldosanoh Y ,Castillom G, Beatriz M ,Danicachantal H ,Ellora N ,Florinda T ,Bacani**., 2015-effect of article size .solvant and extraction time on tannin extractfromspondiaspurpureabarkthroughsoxhletextraction.proceedings of the dlsu researchcongress.

- **Baston D.,** 2016- production and analysis of *ceratonia siliqua L*. article, jos university of galati, romania, p 50
- **Batlle I , Tous J., 1997-**Carob tree(*Ceratonia siliqua L*.) Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops,vol. 17, Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetics Resources Institute, Rome ,p. 20- 92
- **Bekkar S., 2017-** Etude de l'effet des substrats sur la germination des glands de chêne vert (Quercus rotundifolia Lam , DIPLOME DE MASTER, UNIVERSITE DE TLEMCEN, **P 04**
- **Belarbi M., 1990**- Contribution à l'étude des composés chimiques des glands des différentes espèces. mémoire de magistère en biologie. univ de tlemcen. p187.
- **Beldi H** ., 2007- Etude de gambusia affinis (poisson, téléostéen) et donax trunculus (mollusque, pélécypode) : écologie, physiologie et impacts de quelques. thèse de doctorat, université annaba, algérie, p86.
- **Benchikh Y , Louaileche H , Georgeb B And Merlinb A., 2014-** changes in bioactive phytochemical content and in vitro antioxidantactivity of carob (*Ceratonia siliqua L*.) as influenced by fruit ripening. industrialcrops and products. 60. p : 298–303.
- **Benchikh Y , Louaileche H , Georgeb B And Merlinb A., 2014**- changes in bioactive phytochemical content and in vitro antioxidantactivity of carob (*Ceratonia siliqua L*.) as influenced by fruit ripening. industrialcrops and products. 60. p : 298–303.
- **Benia F., 2010**- Étude de la faune entomologique associée au chêne vert (Quercus ilex L.) dans la forêt de Tafat (Sétif, Nord-est d'Algérie) et bio-écologie des espèces les plus représentatives, diplome de doctora, université ferhat abbas, sétif, p**4-** 27 **-31**.

- **Benyahkem M. ,2017-** Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques des trois espèces: *Punica granatum L*. (Grenadier); *Zea mays L*. (Maïs) et *Lawsonia inermis L*. (Henné). **mémoire master academique,** université kasdi merbah ouargla,p22 .
- **Berrichi M. (2011).** Détermination des aptitudes technologiques du bois de Quercus rotundifolia Lamk et possibilités de valorisation , UNIVERSITE de TLEMCEN p16
- **Bonfils M., 2012**- les glands de chêne. las encatadas011300 festes st. andré. france
- **Bouaziz S Et Bordjihane Y. ,**2018 - Enrichissement d'un produit laitier par des antioxydants d'origine naturelle, diplôme master, université amar mira,bejaia , p 4 -19-22-28
- **Boudy P., 1952.-** Guide du forestier en Afrique du Nord. Ed. La Maison Rustique, Paris. 505p
- **Bruneton J., 2009-**Pharmacognosie,Phytochimie. Plantes médicinales. (4ème éd.). Paris: Editions médicales internationnales, éditions Tec & Doc Lavoisier. p: 353
- **Charef M .,2011-** Contribution à l'étude de la composition chimique et étude des propriétés phytochimiques et nutritionnelles des lipides des fruits de *Pistacia lentiscus* et du *Quercus* , diplôme docteura, universite kasdi merbah ouargla,p13-14.
- **Ciulel I., 1983-** methdology for analysis of vegetable drug. romania. 1 tinal ltd, london. 13 th edition. 62p.
- **Cristina Popovici , Ilonka Saykova.,** 2009-Evaluation de l'activité antioxydant des composésphénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel .
- **Dahou N, Yamki K, Tahrouch S, Idrissi- Hassini L M , Gmira N., 2003-** screening phytochimique d'une endémiqueibéromarocainethymelaealythroides. ed., bull. soc. pharm., bordeaux.67p.

- **Dahou N, Yamki K, Tahrouch S, Idrissi- Hassini L M , Gmira N**., 2003- screening phytochimique d'une endémiqueibéromarocainethymelaealythroides. ed., bull. soc. pharm., bordeaux.67p.
- **Dakia P., Wathelet B. et Paquot M.,** ***2007***. Isolation and chemical evaluation of carob *(Ceratonia siliquaL.)* seed germ. Food Chem., 102, 1368-1374.
- **Daoudi I. , 2017-** Diagnostic écologique et conservation des chênaies de Chêne vert (*Quercus ilex* : Fagaceae) du Parc National de Belezma (massifs de tuggurt et boumerzoug, mémoire de magister , universite de batna 1, **p10-73.**
- **Debouba M, Balti R, Hwiwi S, Zouari S, 2012-**Antioxidant capacity and total phenols richness of *Cistanche violacea* hosting *Zygophyllum album.* International Journal of Phytomedicine.4(3): 399-402.
- **Delattre J., Beaudeux Et J.L., D. Bonnefont., Rousselot 2005.** Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques . P 87 .108.
- **Dorman H J D. , D Hiltunen R. , 2004**- fe (iii) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (saturejahortensis l.) extract and subfractions. food chemistry 88:193-199
- DRICI F . , BENSOUNA M ., 2017- Caractérisation et mesures morpho-métriques des ressources du caroubier (*Ceratonia siliqua L.)* au niveau de la Wilaya de Tlemcen, diplôme de master ,abou bakar belkaid, tlemcen p09
- Drog, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. Cell Physiol. 82, 42.
- **Dubois M K ., Gilles K A , Hamilton J K , Rebers P A , Smith F.,1956** - Colorimetric method for determination of sugars and related substances.Anal.chem . 28:350-356.
- **Edge R, McGarvey D J , Truscott T G.,1997**-The carotenoids as anti-oxidants- a review. *J. Photochem. Photobiol. B,* **41**: 189-200.

- **El Bouzdoudi B., Nejjar El Ansari Z., Mangalagiu I., Mantu D., Badoc A Et Lamarti a., (2016).** determination of polyphenols content in carob pulp from wild and domesticated moroccan trees. *american journal of plant sciences***.** vol.7 no.14.

- **El Bouzdoudi B., Nejjar El Ansari Z., Mangalagiu I., Mantu D., Badoc A Et Lamarti a., (2016).** determination of polyphenols content in carob pulp from wild and domesticated moroccan trees. *american journal of plant sciences***.** vol.7 no.14.

- **Elaoufi M .,2013-** Activité antioxydante des extraits phénoliques de caroube, diplôme de Magiste, Université de Mostaganem,p8 .
- **Fadel F., Chebli B., Tahrouch S., Benddou A Et Hatimi A., 2011-**activité antifongique d'extraits de *Ceratonia siliqua* sur la croissance in vitro de penicillium digitatum. bull. soc. pharm. bordeau150(1-4), p: 19-30
- **Favier A., 2003**-Le stress oxydant, intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, p108 -115.
- **Ferradji A., 2011-** Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies Pistacia lentiscus. Mémoire Présenté Pour l'obtention du Diplôme de magister. Université Ferhat Abbas.Setif. 90p.
- **Fu S , Davies M J, Stocker R , Dean R T., 1998**- Evidence for roles of radicals in protein oxidation in advanced human atherosclerotic plaque. *Biochem J* .**333**: 519-525.
- **Gardes-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D., 2003**- Espèces réactives de l'oxygène, Comment l'oxygène peut-il devenir toxique?. L'actualité chimique, 96p.
- **Goldsworthy A . C., Mordue W., Guthkelch J**., **1972 -** Studies on insect adipokinetic hormone.Gen. Comp. Endocrinol . 18: 306-314.

- **Goudable J. Et Favier A., 1997**- Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Laboratoire de biochimie C. hôpital Edouard. Herriot. Lyon. GREPO. Université de Grenoble. la Tronche.
- **Haichour R.,2009 -** Stress thermique et limite écologique du Chêne vert en Algérie , MEMOIRE MAGISTER , UNIVERSITE MENTOURI – CONSTANTIN ,p 3 .
- **Hajek V., 2004**. Identification staphylococcus specis micrococcus species and rothia species, public health england, vol.3, P :8-32
- HALENG J., PINCEMAIL J., DEFRAIGN J.O., CHARLIER C., CHAPELLE J.P., 2007. Le stress oxydant. Rev med liege, (62): 10: 628-638.
- **Halliwel B., 1997**-Antioxidants and human disease: General Introduction. Nutrition Revieus; 55(1): 544 – 552
- **Halliwell B. Gutteridge J M C., 1989-** Free radical in biology and medicine. 2nd Ed. *Clarendon Press*, Oxford University.
- **Halliwell B., 2000**- Oxidative stress markers in humaine disease : application to diabetes and to evalution of the effect of antioxidant in antioxidant in diabetes management, 33-52p.
- **Hamidi N, Lazouni H A , Moussaoui A, Ziane L, Djellouli M, Belabbesse A., 2014**-Ethnopharmacology, Antibacterial and AntioxidantActivities, Phytochemical Screening of Bioactive ExtractsFrom the Aerial Parts of Fagonia *Longispina*. *Asian Journal of Natural& Applied Sciences Vol.(3)*
- **Hannebelle T., Sahpaz S. And Bailleul F**., **2004**- Polyphénols végétaux,
- **Harrar A ., 2012**- activités anti oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Mémoire magister ,Université Farhat Abbas Sétif, p 95.
- **Jacqueline S.,2009** - Les huiles essentielles. Laboratoire de chimie des substances naturelles et des sciences des aliments, Université de la réunion,52p

- **Khlifa M, Bahloul A Et Kitane S., 2013-** determination of chemical composition of carob pod (*Ceratonia siliqua L*) and its morphological study. j. mater. 4 (3), pp : 348-353
- **Koumiche F.,** 2016- Effet de quelques traitements physiques sur la germination des glands et la croissance ultérieure des plants de chêne vert (Quercus ilex), Diplôme de MASTER, UNIVERSITE de TLEMCEN ,p 04 .
- **Lindau-Sehpard B, Shaffer J., 1993-** Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxiadative damage. Free rad boil Med. p 8-15-581.
- **Lowry O H , Rosebrough N J , Farr A L , Randall R J., 1951**- Protein measurments with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem 193: 265-275.
- **Madi A.,2018** - Caractérisation phytochimique et évaluation des activités biologiques de *Cleome arabica* , diplôme de Doctorat en Sciences , universite des freres mentouri. constantine 1 , p12
- **Mahdad M. ,2013 –** Situation et perspectives d'amélioration du caroubier (Ceratoniasiliqua L.) dans le Nord-ouest de l'Algérie, diplôme de magister, abou bakar belkaid,tlemcen P5-17 .
- **Majed Jamous R, Ali-Shtayeb M S., 2008**-traditional arabic palestinia herbal medicine. biodiversity and environmental reasherch center (berc), til, nablus
- **Miquel J., 2002**- Can antioxidant diet supplementation protect against age-related mitochondrial damage? Ann N Y Acad Sci. 959.PP: 508-516.
- **Mole S And Waterman P., 1987**-"a critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies." oecologia, 72(1), 137-147
- **Mosquera Om , Correa Ym , Buitrago Dc , Ni J., 2007**-Antioxidant activity of twenty five plants from Colombian biodiversity. *mem inst oswaldo cruz*, 102: 631-634.
- **Nowak R., Gawlik-Dziki U., 2007** - Polyphenols of Rosa L. leaves extracts and their radical scavenging activity. *Z. Naturforsch*. 62: 32-38P.

- **Ordonez A., Gomez J., Vattuone M., Lsla M. I., 2006-** Antioxidant activities of Sechium edule (Jacq.) Swartz extracts. Food Chemistry, vol.99. 452–458p
- **Ouis, N And Hariri, A., (2017).** phytochemical analysis and antioxidant activity of the flavonoids extracts from pods of *Ceratonia siliqua L*. banat's journal of biotechnology. viii(16
- **Owen R W , Haubner R , Hull W E, Spiegelhalder B, Bartsch And Haber., 2003**- isolation and strucidation of the major individual polyphenols in carob fibre . food and chemicaltoxicology .41: 12, 1727 – 1738 .
- **Prabhu I , Krishnaswamy J ., 2012** - Combined effects of zinc and high irradiance stresses on photoinhibition of photosynthesis. Bean Journal of Stress Physiology et Biochemistry, p14.
- **Re db N I, Le Goff L K , Had-Aisouni L., 2005-** Stress oxidatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérable aux faibles concentrations intracellulaires de glatamate ? Implication sur la survie neuronale. *Ann. Fr. Anesth. Réanim*. 24, 502-509.
- **Rebaya1 A, Igueldbelghith S, Baghdikian B, Mahiouleddet V, Mabrouki F, Olivier E, Kalthoum Cherif1 J, Trabelsiayadi M .,2014**- total phenolic, total flavonoid, tannin content, and antioxidantcapacity of halimiumhalimifolium (cistaceae). journal of applied pharmaceutical science vol. 5 (01), pp. 052-057
- **Rira M., 2006-** effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbioteruminal d'ovins. diplôme de magister. Universite mentouri constantine. p 95.
- **Riti Sha Ran Sanjay Chhibber., 2011-**Inactivation and sub-lethal injury of salmonella typhi,salmonella typhimurium and vibrio cholera in copper water storage vessels, Sharan etal . BMC Infectious Diseases.

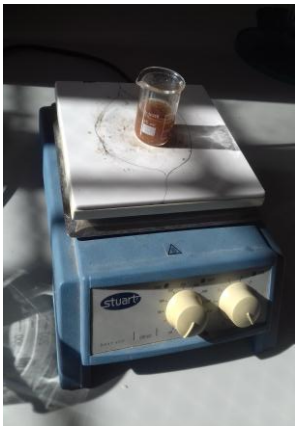
- **Robards K., 2003**-strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. j chromatogr a, 1000: 657-691 international food research journal 24(5): 2041-2049 (october 2017)
- **Russell T. ,2012-** Les guides nature Larousse arbre du monde. Londres, p16-75.
- **Sarir R., 2016–**Etude comparative de la croissance végétative et du développement de jeunes semis de trois espèces de chênes (chêne vert, chêne liège et chêne zéen) cultivés en pépinière ,memoire diplôme de master, universite de tlemcen, p01
- **Sarker,S .,Nahar,L.,2007.**Chemistry for Pharmacy Students General, Organic and Natural Product Chemistry.p396**.**
- **Sato E , Mokudai T , Niwano Y And Kohno M., 2011-** Kinetic analysis of reactive oxygen species generated by the in vitro reconstituted NADPH oxidase and xanthine oxidase systems. J Biochem. **150**:173-81
- **Sbay H .,2008**- Le caroubier au Maroc Un arbre d'avenir,Charia Omar Ibn Kahattab,B .P763 Agbal ,Rabart . Maroc, P 09
- **Shibko S., Koivistoinen P., Tratyneck C., Hall N., Feidman L ., 1966**- A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction . Analyt. Biochem . 19: 415-528.
- **Silvia M., 2003**- Escherichia coli O157:H7 la bacteria que dispar el HACCP en la indu stria de la carne, Enfasis Alimentos.17, P :40-42.
- **Singal P Et Al.,1988**- Ferr radical in health and disease, biochem, 121-122p.
- **Singleton P., 2004**- Bactériologie pour la médicine la biologie et le biotechnologie, Ed dunod, paris, p 542.
- **Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M., 1999 -** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. In: Packer L, editor. Methods in enzymol: oxidant and antioxidants (part A), 299. San Diego, CA: Academic Pres.152–78p.

- **Somon, E., 1987**.- Arbres, Arbustes et Arbrisseaux, Ed.O.P.U.143pp - 1d‟Algérie. sources utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie.*1: 3-6.
- **Steinberg D., 1992-.**Antioxydants in the prevention of human atherosclerosis. Summary of the proceedings of a national heart, lung and blod institute wrkshop : september. *Circulation,* **85** (6): 2337-2344.
- **Suntres Z E, Omri A.,2006**-. The role of liposomal antioxidants in oxidative stress. *frontiers nanother.* 191-205.
- **Sykes P.، 1985** -A guide book to mecanisam in organic chemistry. Sixth Edition. New York : Longman scientific & technical, p 299-339.
- **Terradas J., 1999**-Holm oak and holm oak forests: an introduction. In Ecology of Mediterranean evergreen oak forests.Edited by: Rodà F, Retana J, Gracia C, Bellot J. Springer, Berlin,Springer; pp. - 14.
- **Trease E., Evans W., 1987**- A textbook of Pharmacognosy Bacilluere
- **Van Poppel, G., Van Den Berg, H., 1997**-Vitamins and cancer. *Cancer Letter*, **114**, , 195-202.
- **Vangalapati B., Poornima A., Anupama H., 2014** - Total phenolic content and free radical scavenging activity of *Pterocarpus marsupium* heartwood & *Tribulus terrestris* dry fruits: An *in vitro* comparative study.Journal of Pharmacy Research. Vol. 8(5).610-613.
- **Vinatier V, Guieu V, Madaule Y, Maturano M, Payrastre C And Hoffmann P.,2010**- Superoxideinduced bleaching of streptocyanine dyes: application to assay the enzymatic activity of superoxide dismutases. *Anal Biochem*. **405**: 255-259.
- **Ydjedd, S., Chaalal, M., Richard, G., Kati, D.E., Lopez-Nicolas R , Fauconnier M. L. And 1louaileche, H**1laboratoire de biochimie appliquée, faculté des sciences de la nature et de la vie, eassessment of antioxidant potential of phenolic compounds fractions of algerian ceratoniasiliqua l. pods during ripening stages (article

- **Zhang X L , Jeza V T , Pan Q., 2008** - *Salmonella Typhi*: from a Human Pathogen to a Vaccine Vector. Cellular & Molecular immunology. Vol .5.N (2): 91-97.

الملاحق

الملحق I



جهاز الرج المغناطيسي

جهاز سوكسلي soxhlet

جهاز التبخير الدوراني Rotavapeur

موقد بنزن

ميزان حسان

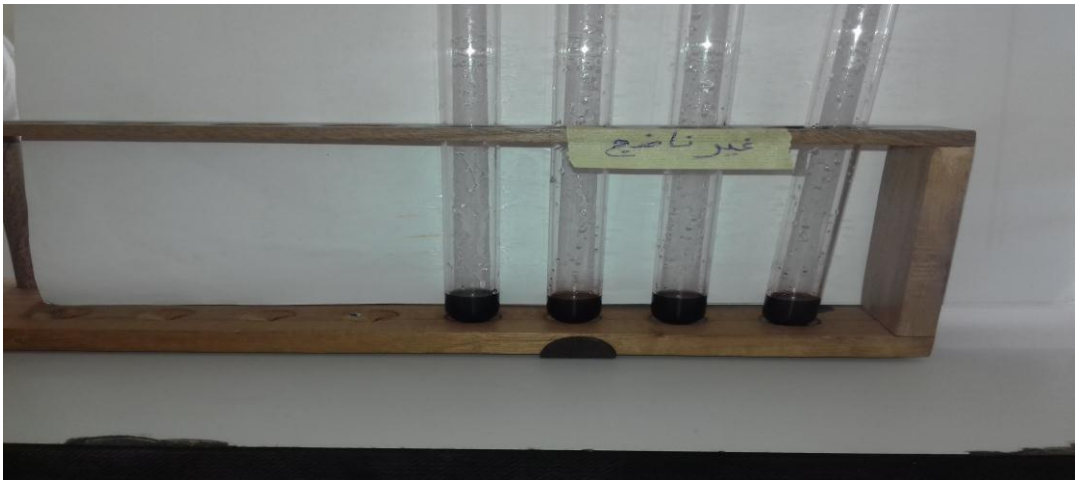
Autoclave

حاضنة

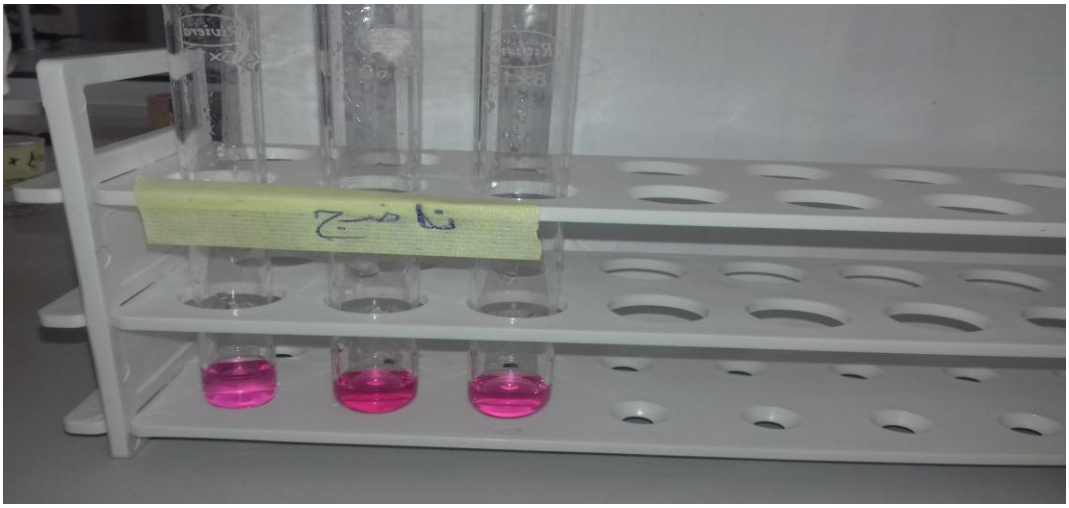
جهاز قياس المطيافية

جهاز الطرد المركزي

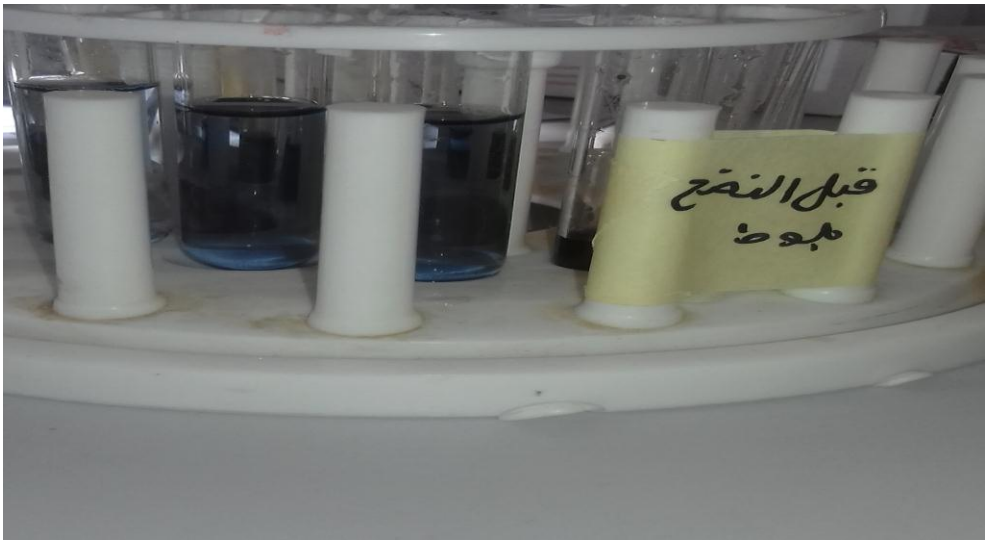
صور الأجهزة المستعملة.



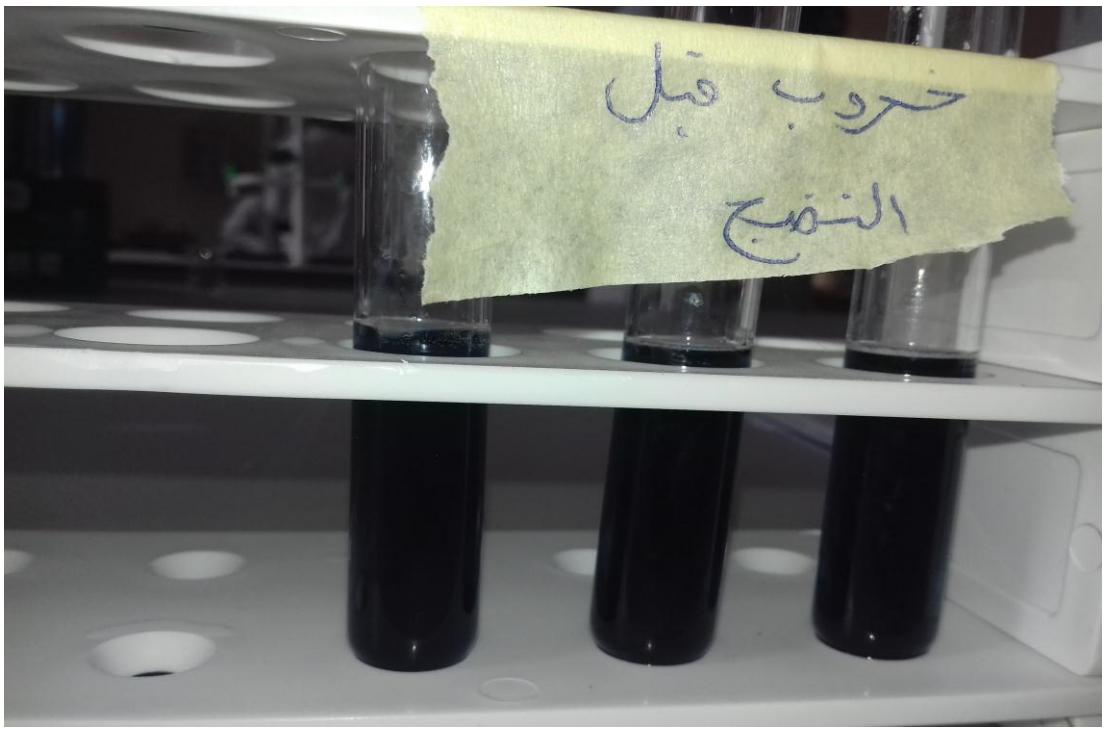
الوثيقة (28): صورة تقدير الكربوهيدرات



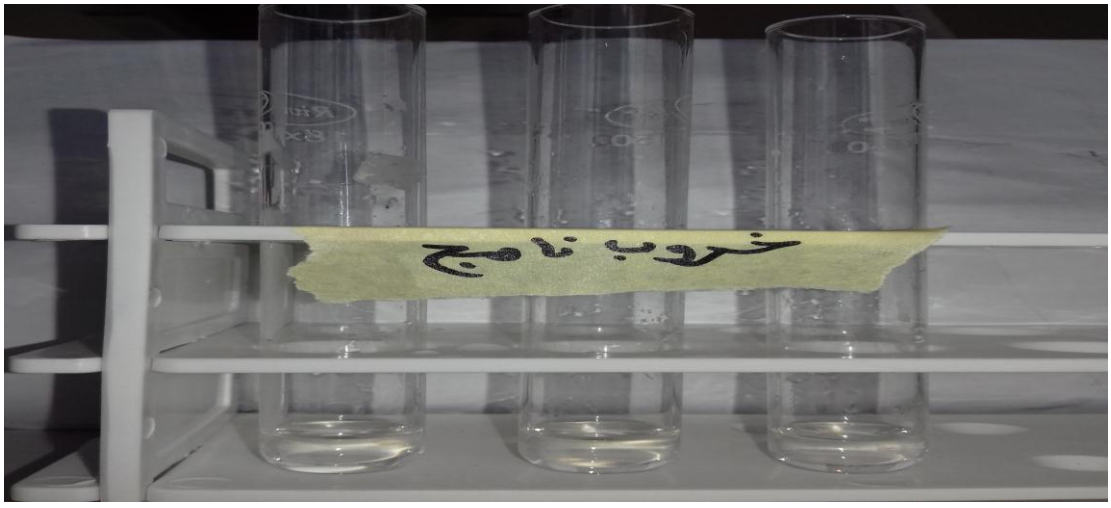
الوثيقة (29):صورة توضح تقدير الدهون



الوثيقة (30): صورة توضح تقدير البروتين

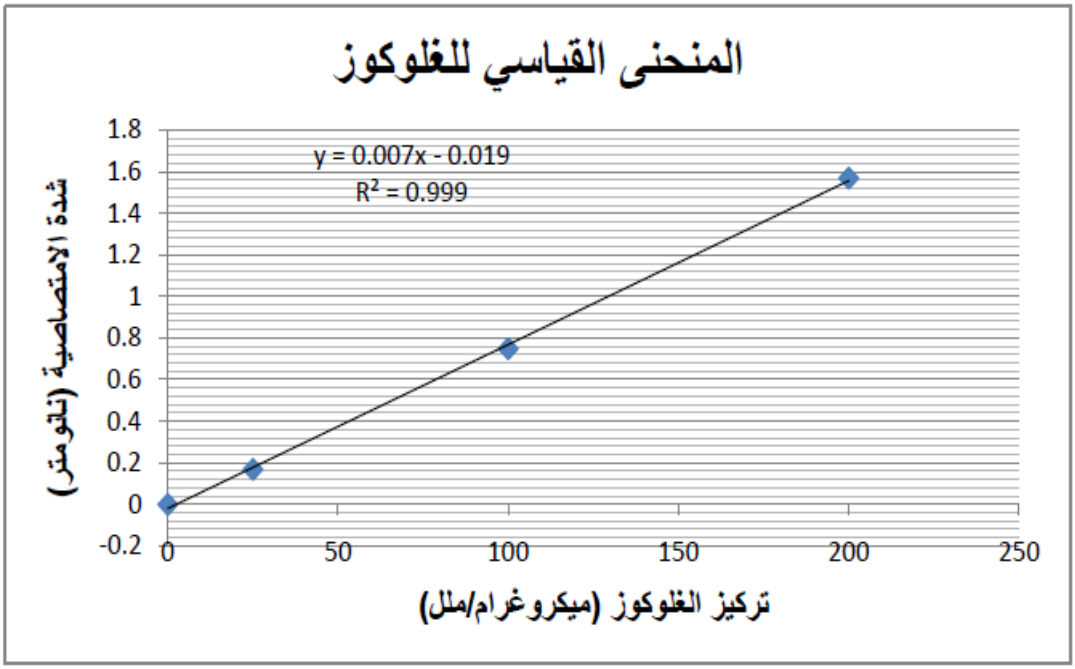


الوثيقة (31): صورة توضح تقدير الفينولات الكلية

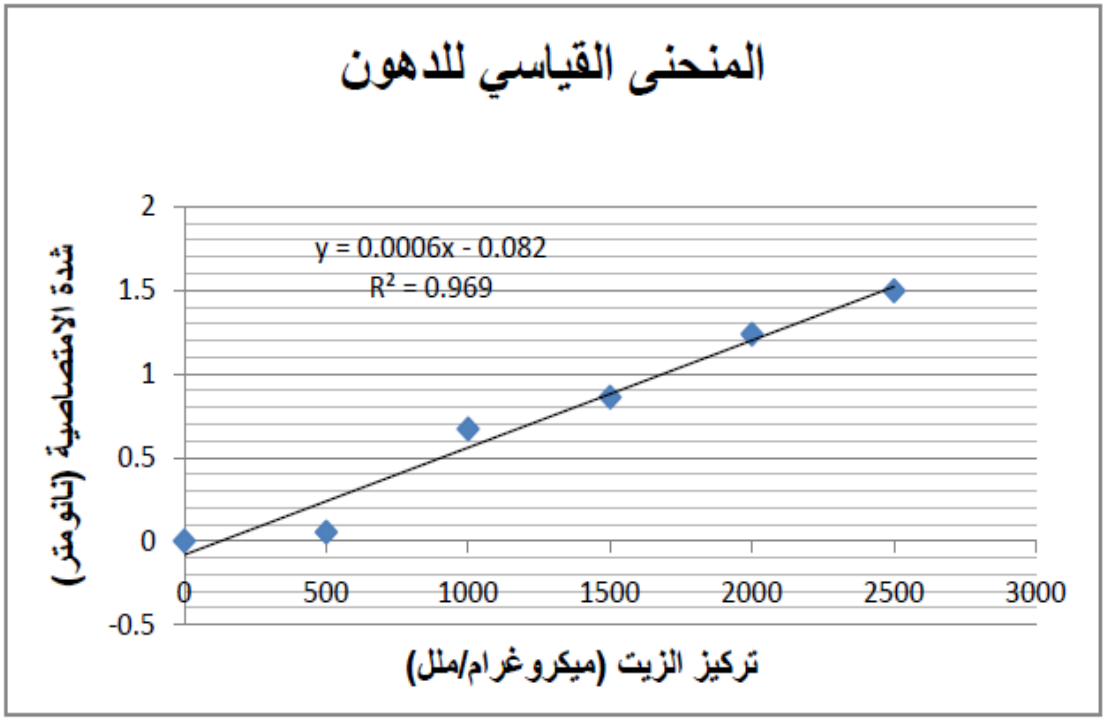


الوثيقة(32): صورة توضح تقدير الفلافونويدات

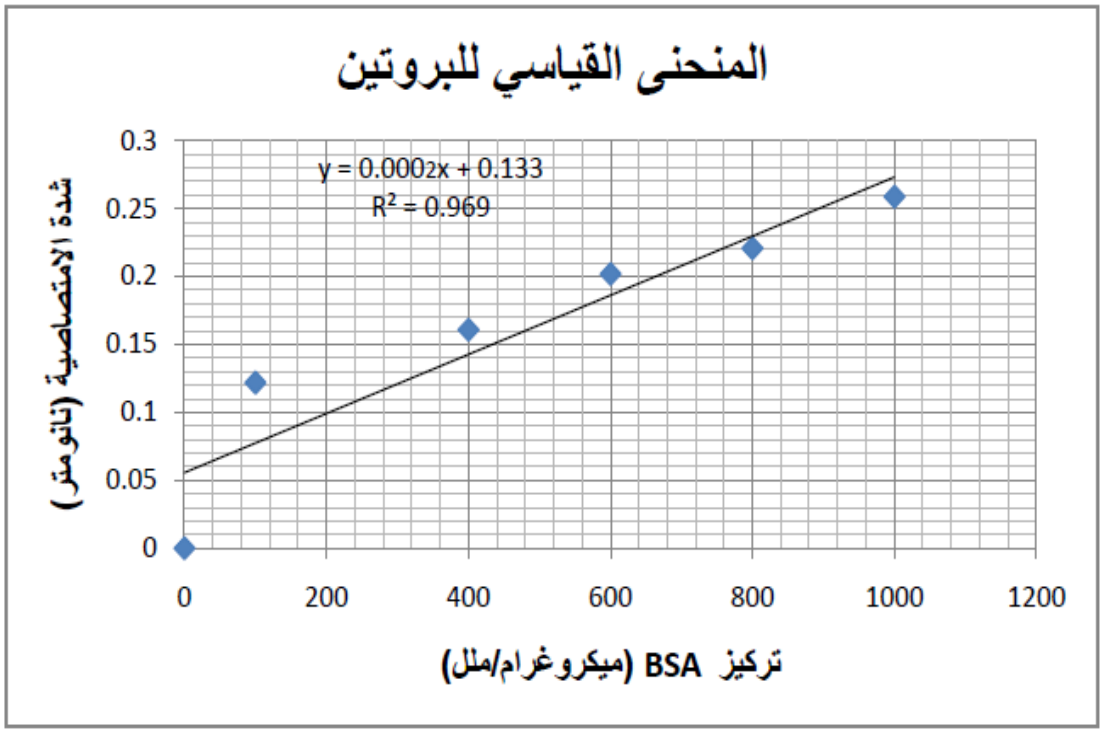
الملحق II



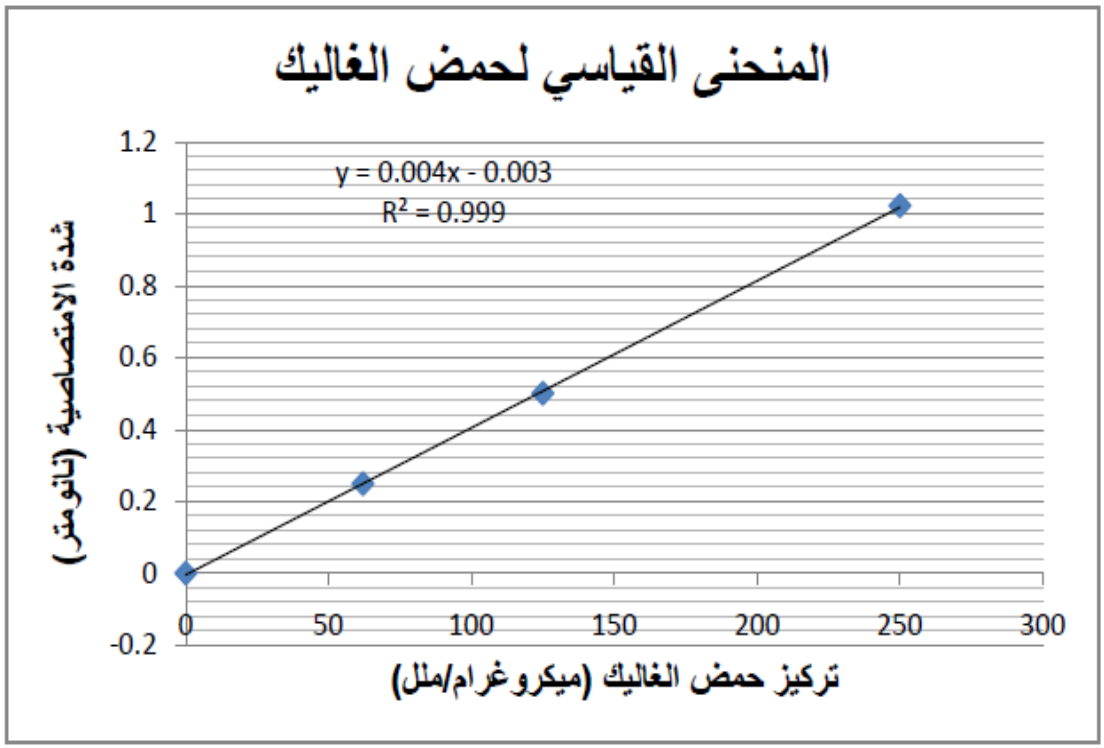
الشكل (22) المنحنى القياسي للغلوكوز لتقدير الكربوهيدرات.



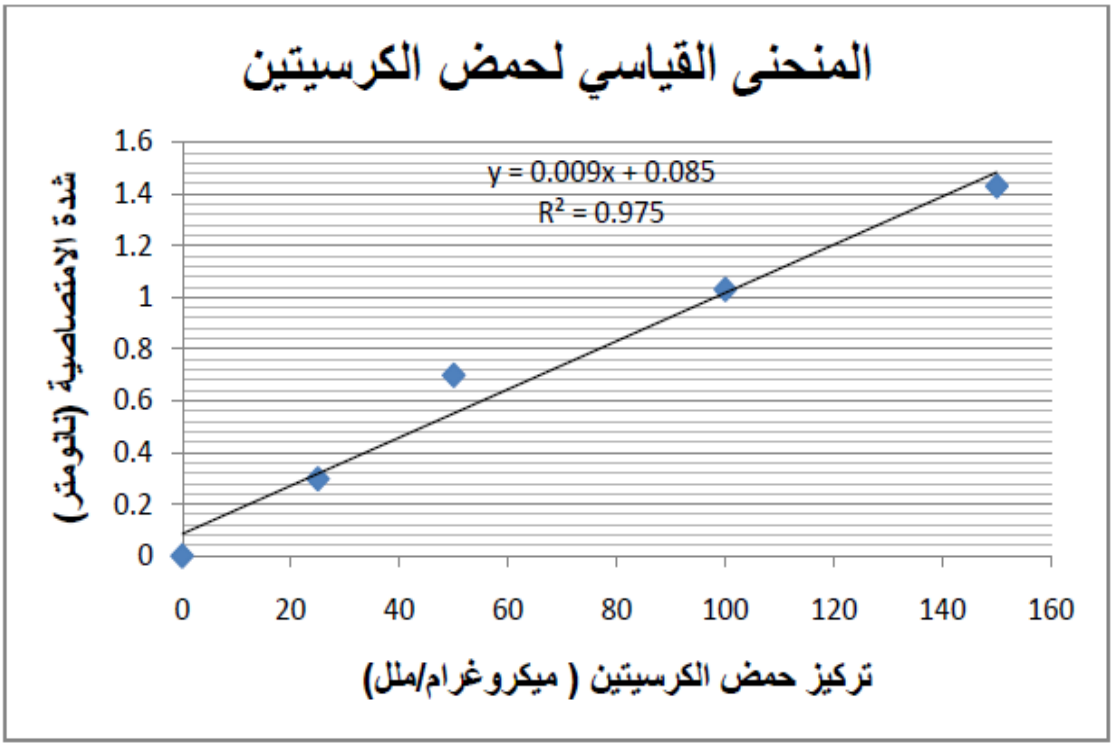
الشكل(23):المنحنى القياسي لزيت الصوجا لتقدير الدهون



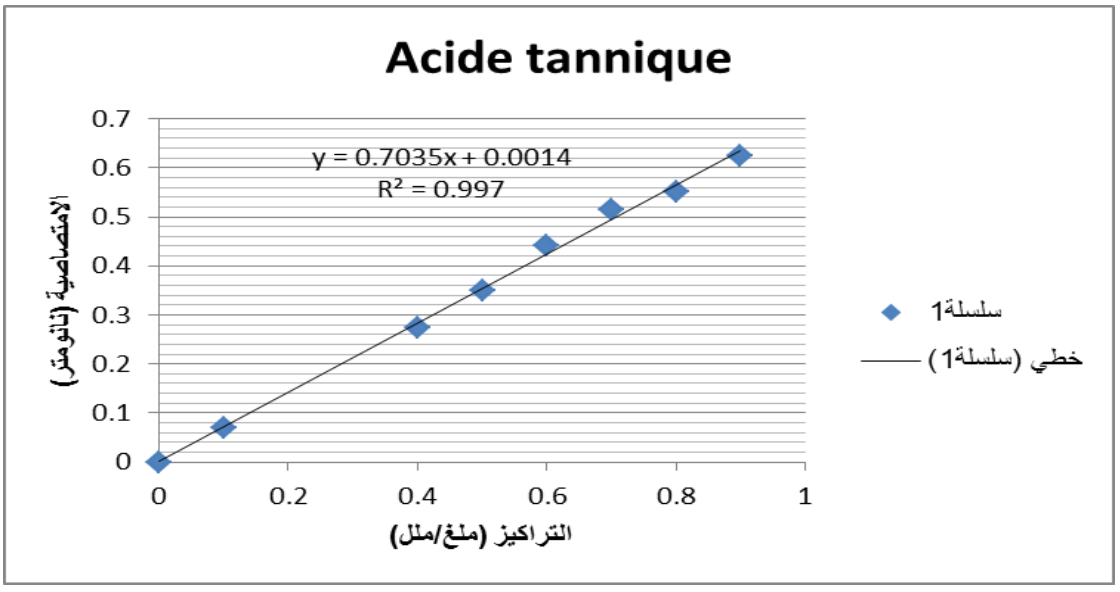
الشكل (24):المنحنى القياسي لـ BSA لتقدير البروتين



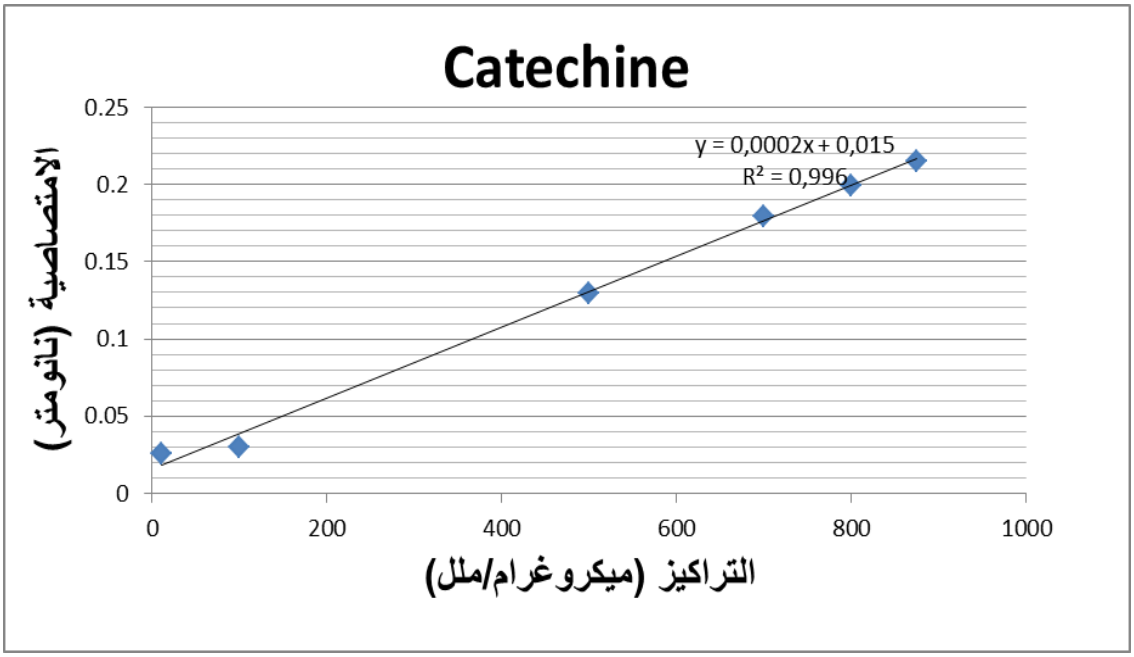
الشكل (25):المنحنى القياسي لحمض الغاليك لتقدير فينولات الكلية



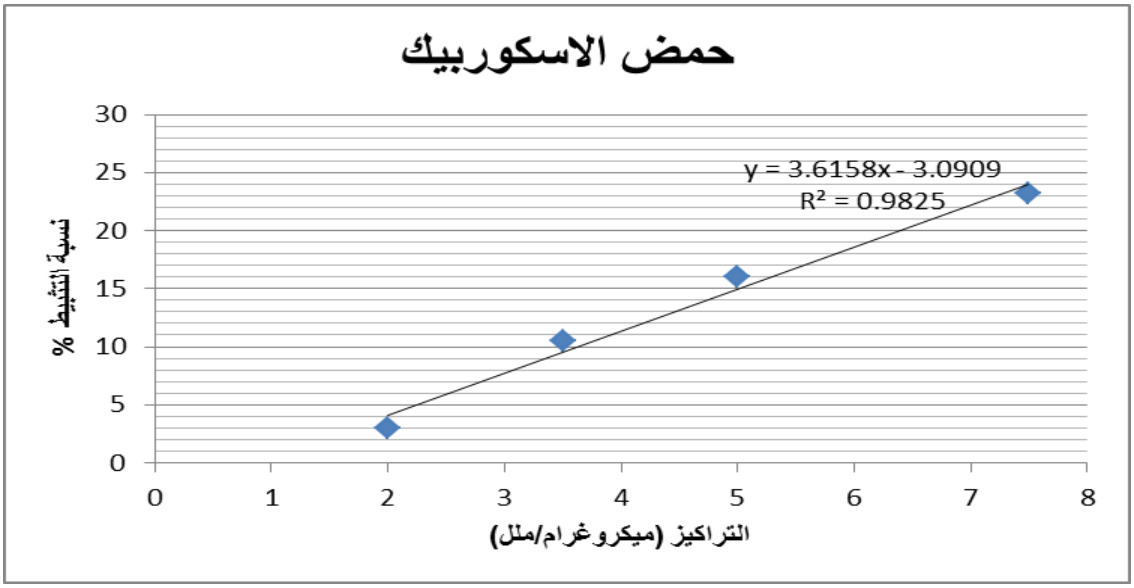
الشكل (26):المنحنى القياسي لحمض الكرسيتين لتقدير الفلافونويدات



الشكل(27):المنحنى القياسي Acide Tannique لتقدير التانينات المنحلة



الشكل (28):المنحنى القياسي للكاتشين لتقدير التانينات المكثفة.



الشكل (29):المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك