الفصل الثاني :الجانب العملي

الشخص	النبتة	الفوائد	طريقة الاستعمال
شيخ تجاوز 70سنة	الجرتيل	يستعمل لمعالجة ضغط الدم ،جيد للمعدة	يطبخ أو ينقع في الماء الساخن مع جميع أعضائه
امرأة لها 65 سنة من عمرها	الجرتيل	يساعد على انخفاض درجة حرارة الجسم وليس لديه أي أضرار عند تناوله	يوضع في بعض الأغذية مثل اللبن والقهوة...الخ
امرأة تبلغ75سنة	الجرتيل	صالح أيضا للاستعمال الخارجي فمثلا كانت الأمهات في القديم يعطرون جسم الطفل به لأن للجرتيل رائحة عطرة	يستعمل وهو مطحون على الجسم

جدول 10:آراء بعض الأشخاص الذين يتداوون بالأعشاب وكيفية استعماله

2 تحليل الجدول :

بعد قراءتنا للجدول وإجابة الأشخاص عن فوائد النبتة نلاحظ أن للجرتيل فوائد مختلفة ومتنوعة وأنه من أهم النباتات في العلاج .

طريقة العمل.

1-المواد المستعملة والاجهزة المستعملة :

1-1-المواد الكيميائية المستعملة:

- الميثانول (CH_3OH)ذو نقاوة (99%).
- ماء مقطر.
- كاشف Folin-Ciocalteu .
- كربونات الصوديوم Na_2CO_3بنقاوة (99%) .
- حامض الغاليكGallic acid. $((OH)_3C_6H_2COOH,H_2O)$.
- كلوريد الالمنيوم $Al\ cl_3$ بنقاوة (99%).
- المركب الفلافونيديRutin درجة نقاوته (99%).

- هيدروكسيد الامونيوم (NH_4OH).
- حمض كلور الهيدروجين HCl(1%) .
- مسحوق نبتة الجرتيل .

1-2-الاجهزة المستعملة: تم الاستعانة بالاجهزة المتوفرة في المخبر وهي :

- جهاز التبخير الدوار Rotavapeur نوع (RV 06-ML) .
- جهاز UV-Visible نوع (PRIM Advenced-Spectrophotometers).
- الميزان التحليلي نوع (FA2004).
- ورق الترشيح (Whatman,N°1) .

2-جني نبات الجرتيل :

تم قطف نبات الجرتيل يدويا من منطقة بحرارة بالجلفة لسنة 2014ثم لسنة2015 في فصل الربيع لتكاثره فيه، ثم جففت وحفظت أعضاء النبتة المراد استعمالها حيث تم طحنها يدويا في مهراس مصنوع من الخشب لتفادي تفاعل الأوراق أثناء طحنها حيث طحنت بشكل ناعم وللتأكد من ذلك تغربل وتوضع في قنينة زجاجية لحين الاستعمال، وذلك لغرض القيام بالكشف عن المواد الفعالة ودراسة المحتوى الكلي للمستخلصين المائي والكحولي لنبات الجرتيل.

الشكل 33 :صورة مأخوذة من (Google Earth) لمنطقة الجني في منطقة بحرارة

3-طريقة حفظ النبتة:

قبل البدء في عملية التجفيف يتم تقسيمها إلى أعضائها المختلفة:(أوراق أغصان،أزهار،ثمار،جذور) ثم تنقى من الحشرات والأجزاء الخشنة والحصى ويتم تقسيمها إلى أجزاء صغيرة حتى تسهل عملية التجفيف ، ثم تنشر مختلف الأعضاء في غرفة مظلمة على قماش سميك على شكل طبقات رقيقة، ثم تقلب بمعدل مرتين في اليوم مع عدم تعرضها لأشعة الشمس لمدة طويلة وتنتهي مدة التجفيف بعد أن نتأكد من عدم وجود الماء في النبات. والتجفيف يسهل عملية السحق ويمنع النبات من التعفن[24][25][26].

تحفظ العينات النباتية وأعضائها في أوعية زجاجية محكمة الغلق و مغلفة بلون اسود بعيدة عن الضوء، ويجب التأكد من عدم تعفن النبات[25][27].

تم جمع عينات النبتة المدروسة بمنطقة بحرارة بالجلفة لسنتين متتاليتين 2014-2015 ثم جففت وحفظت أعضاء النبتة المراد استعمالها حيث تم سحقها يدويا في مهراس مصنوع من الخشب لتفادي تفاعل الاوراق اثناء طحنها حيث طحنت بشكل ناعم وللتأكد من ذلك تغربل وتوضع في قنينة زجاجية لحين الاستعمال، وذلك لغرض القيام بالكشف عن المواد الفعالة ودراسة المحتوى الكلي للمستخلصين المائي والكحولي لنبات الجرتيل.

الشكل 34: عينة لمسحوق نبتة الجرتيل

4-اختبار الفلافونيدات :نأخذ 10g من المسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات نضيف لها 150ml من HCL(1%)،ثم نتركها 24 ساعة بعد الترشيح ،نقوم بأخذ 10ml من الرشاحة ونضيف لها هيدروكسيد الامونيوم (NH_4OH)، ظهور لون اصفر فاتح يدل على وجود الفلافونيدات[28][29][30].

5-تحضير المستخلصات النباتية :

5-1-المستخلص الكحولي:نأخذ مقدار 25g من مسحوق نبتة الجرتيل، ونضيف إليه 150ml ملل من الكحول الميثانولي(99%) ،ثم نمزج جيدا باستعمال المازج المغناطيسي ويترك لمدة 24 ساعة في درجة حرارة 25°م بعدها يرشح المستخلص باستعمال ورق ترشيح (Whatman,N°1) .ليركز الراشح بالمبخر المفرغ الدوار Rotary Vacuum Evaporator عند درجة حرارة 40 °م للتخلص من المذيب (الكحول) بعدها ترك الراشح عند درجة حرارة الغرفة حتى يتم الحصول على مادة لزجة ثم تم وضعها في قناني معتمة محكمة الاغلاق ثم حفظت في الثلاجة لاستعمالها لاحقا.

5-2-المستخلص المائي: نمزج مقدار 25g من مسحوق نبتة الجرتيل مع 150 ml من الماء المقطر المغلي ويترك لمدة 30 دقيقة على المازج المغناطيسي ثم يرشح بواسطة قمع بخنر موضوع فيه ورق ترشيح (Whatman N°:01) ،ثم يركز كذلك الراشح بالمبخر الدوار عند درجة حرارة 100 °م للتخلص من الماء.

بعد ذلك ترك الراشح ليجف ثم وضعت في قناني محكمة الغلق و معتمة وحفظت في الثلاجة الى حين استعمالها.

6-استخلاص المركبات الفينولية :

إنعملية استخلاص المركبات الفينولية من نبات الجرتيل خطوة مهمة من اجل دراسته كمصدر للمواد الفعالة ، ولذلك أردنا إجراء الدراسة على عينتين من النبات لسنتين متتاليتين 2014 و 2015 ولنرى أيهما يحتوي على مركبات فينولية أكثر .

-طريقة الاستخلاص :

وزنا كمية قدرها 1g من مسحوق نبات الجرتيل ثم قمنا بنقعها في الميثانول حجمه 30ml لمدة 24 ساعة ،ثم نضع المزيج في جهاز الطرد المركزي لمدة 30 دقيقة بسرعة 3500 دورة/دقيقة .

قمنا بترشيح الناتج فتحصلنا على مستخلص ميثانولي ، بخر الميثانول تحت التفريغ عند 40 °م ،قمنا بإذابة الناتج الجاف في 5ml من الميثانول ثم حفضناه لغاية التقدير الكمي[31][32][33][18] [36].

الشكل 35:عملية الترشيح

7-تقدير كمية الفينولات الكلية و الفلافونيدات:

7-1-تقدير كمية الفينولات الكلية :

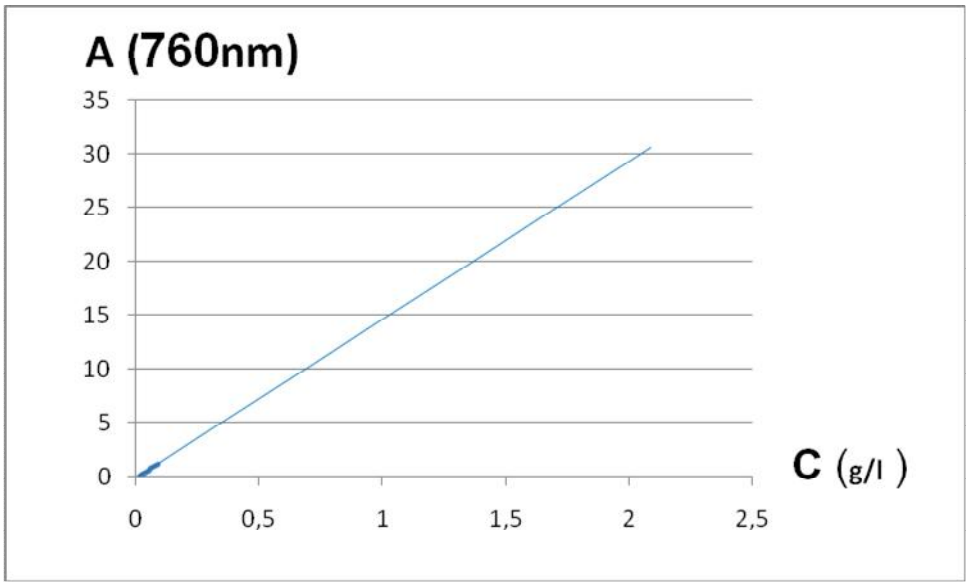
يمكننا هذا التحليل من معرفة كمية الفينولات الكلية للعينة ،ومقدار الفينولات تقاس بطريقة (Singleton,Ros1965) باستعمال الكاشف فولين (Reactif de Folinciocalta) [35] [34].

مع استعمال حمض الغاليك كأساس مرجعي ، حيث يتأكسد هذا الكاشف فيتغير لونه من الأصفر إلى الأزرق .

ترجع المركبات الفينولية كاشف الفولين ذو اللون الأزرق والذي تقاس امتصاصيته عند λ max=760nm .

أ-رسم المنحنى :

انطلاقا من قيم الامتصاصية (A) المأخوذة من قراءات جهاز (UV-visible) عند طول الموجة λ max=760nm نرسم المنحنى القياسي الذي يوضح تغير الامتصاصية (A) بدلالة التراكيز g/L .



المنحنى 01 :منحنى شدة الامتصاص بدلالة التركيز(الفينولات)

من خلال المنحنى نلاحظ تزايد قيمة الامتصاصية (A) بزيادة التركيز g/L (علاقة طردية).

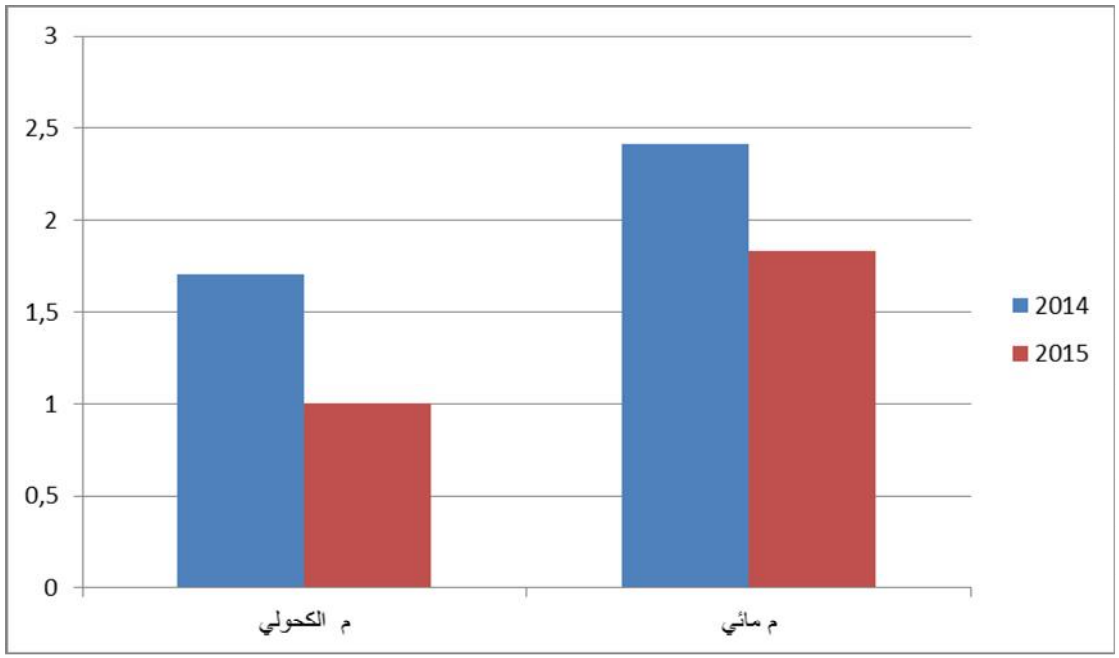
ب - التقدير الكمي للفينولات في المستخلصات المائي والكحولي :بنفس الطريقة التي عاملنا بها حمض الغاليك عاملنا المستخلصات ، نأخذ 100µl من المستخلص المائي والكحولي ونعاملها ب0,5ml من كاشف فولين و 2ml من كربونات الصوديوم ونتركها في الظلام لمدة 30 دقيقة .

نستخدم المنحنى القياسي لحمض الغاليك لحساب تراكيز الفينولات للمستخلصين المائي والكحولي .

النتائج المتحصل عليها مدونة في الجدول (11) التالي :

المستخلص	المستخلص الكحولي	المستخلص المائي
2014	49.4966mg/ l	50.6152mg/l
2015	46.9798mg/l	49mg/l

الجدول 11 : كمية الفينولات بالنسبة لسنتي 2014و 2015



المنحنى 2 : المقارنة بين كمية الفينولات في المستخلصات المائية والكحولية لسنتي 2014 و 2015.

III.7-2تقدير كمية الفلافونيدات:

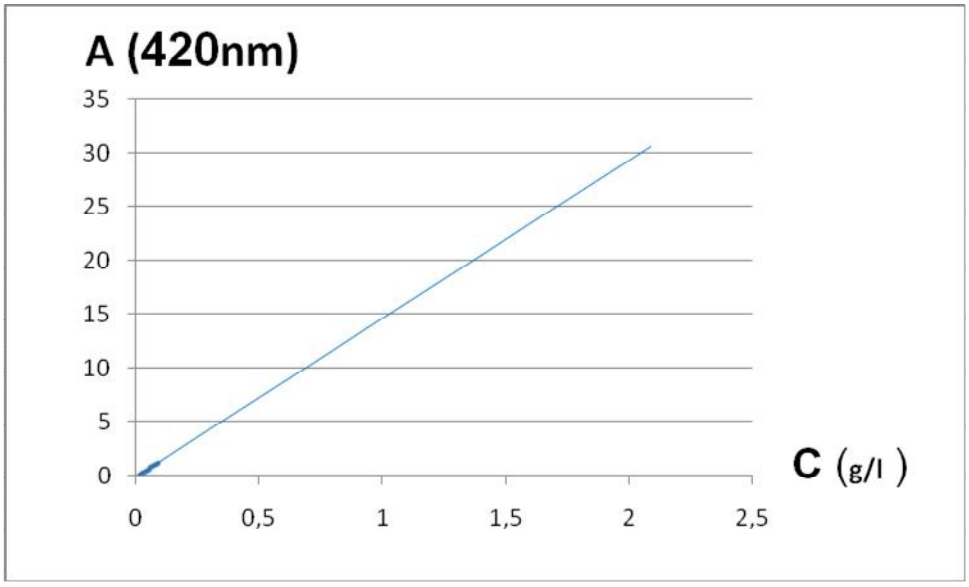
لتقدير كمية الفلافونيدات نعتمد على قدرته في تكوين المعقد الأصفر بين ثلاثي كلور الألمنيوم ($AlCl_3$) مع مجموعة هيدروكسيل(OH) الموجودة على الحلقات البنزينية للفلافونيدات ، حيث يشكل معقدا ثابتا بين مجموعة الكربونيل وهيدروكسي الموقع 5 و3 ، كما يشكل معقدات غير ثابتة مع مجموعتي اورثو هيدروكسي ،ذو معامل امتصاص عال وليمتص عند طول موجة [18]λmax= 420 nm.

يستعمل الروتين كأساس مرجعي (قياسي) لرسم المنحنى القياسي .

أ -رسم المنحنى :

قمنا بتحضير تراكيز مختلفة من محلول الروتين الممدد في الميثانول محصورة بين 0,01g/l و 0,09g/l ، من كل تركيز أخذنا 1ml من ثلاثي كلور الألمنيوم($AlCl_3$) في الميثانول ، يترك المزيج لنصف ساعة في الظلام حتى إتمام التفاعل ، ثم قرانا شدة الامتصاص الضوئي لكل محلول عند طول الموجة λmax = 420nm.

قمنا بقراءة شدة الامتصاص الضوئي لكل محلول عند طول موجة يساوي 420nm ،ثم رسمنا المنحنى البياني لتغيير الامتصاصية الضوئية (A) بدلالة التركيز (g/l) .



المنحنى3 :منحنى شدة الامتصاصية بدلالة التركيز(الفلافونيدات).

يوضح المنحنى (3) العلاقة الطردية بين شدة الامتصاص الضوئي والتركيز للمحلول فكلما زادت قيمة التركيز للمحلول (g/l) تزداد قيمة شدة الامتصاص الضوئي A(nm) .

ب- تقدير كمية الفلافونيدات في المستخلصات :

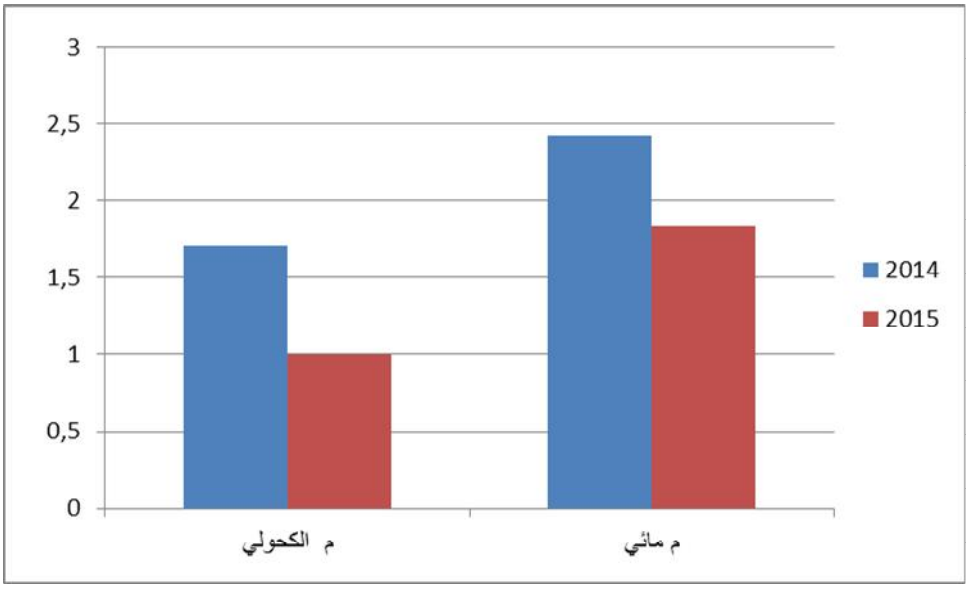
نعامل المستخلصات للنبتة بأخذ 1ml من كل مستخلص و نعامله ب 1ml من ثلاثي كلور الألمنيوم($AlCl_3$ 2%) في الميثانول .

نستخدم المنحنى القياسي للروتين لحساب تراكيز الفلافونيدات للمستخلص المائي والكحولي .

النتائج المتحصل عليها مدونة في الجدول (12) التالي :

المستخلص	الكحولي	المائي
2014	1.7082mg/l	2.4193mg/l
2015	1mg/l	1.8328mg/l

الجدول12: كمية الفلافونيدات لسنتي 2014 و2015



المنحنى 4: المقارنة بين كمية الفلافونيدات في المستخلصات المائية والكحولية لسنتي 2014 و 2015

1-مناقشة نتائج مقارنة لكمية الفينولات المتحصل عليها :

من خلال نتائج التقدير الكمي للفينولات المدونة في الجدول (9) والموضحة في المنحنى 2 نستنتج النقاط التالية :

نستنتج ان سنة 2014 هي التي لاحظنا فيها استخلاص اكبر للفينولات حيث تقدر كميتها ب 49.4966mg/ l بالنسبة للمستخلص الكحولي و50.6152mg/l بالنسبة للمستخلص المائي ،كما لاحظنا لي سنة 2015 الكمية كانت أقل حيث كانت الكمية 46,9798mg/l بالنسبة للمستخلص الكحولي

و49mg/l بالنسبة للمستخلص المائي وعليه نقول ان نقص الكمي للمركبات في المنتوجات الطبيعية لسنة 2015 يمكن أن يعود إلى أسباب طبيعية نقص الامطار مثلا .

وأما بخصوص المستخلصات فلاحظنا فرق في كمية الفينولات المستخلصة واظهرت النتائج أعلاه أن الماء أعطي مردود اكبر بالمقارنة مع الكحول لذلك نحرص على اخذ الماء كمذيب في عمليات الاستخلاص التالية .

2-مناقشة نتائج المقارنة لكمية الفلافونيدات المتحصل عليها:

من النتائج المدونة في الجدول 10 الموضحة بالمنحنى 4 نستنتج النقاط التالية : أن مردود عملية استخلاص الفلافونيدات للجرتيل (المقطوف سنة 2014) اكبر من مردود الجرتيل (المقطوف سنة 2015) .

حيث أن كمية الفلافونيدات من المستخلص الكحولي للجرتيل (المقطوف سنة 2014) والتي تقدر ب 1,7082mg/g اكبر من كمية الفلافونيدات المتواجدة بالجرتيل (المقطوف سنة 2015) والمقدرة ب 1mg/l ، وكذلك النتائج بالنسبة لكمية الفلافونيدات من المستخلص المائي ف جرتيل2014 كانت الكمية اكبر وقدرت ب 2,4193mg/g أما الجرتيل لسنة 2015 ف 1,8328mg/g.