استخلاص بعض المركبات الفعالة من أوراق نبات الغار السوري بجهاز الأمواج فوق الصوتية

أ. د. محمد هلال ** ، رويده الحمد *

ملخص البحث

تم في هذا البحث،استخلاص بعض المركبات الفعالة من نبات الغار السوري، باستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتية والتي بينت الدراسات السابقة أنها من أفضل طرائق الاستخلاص من حيث الكفاءة حيث أعطت نسبة استخلاص 25.45 % من المركبات الفعالة عند استخدام مزيج من الماء والايتانول كمذيب عند تركيز 70% للايتانول، وتمت دراسة تأثير عدد من البارمترات المؤثرة على نسبة الاستخلاص فكان أفضل كفاءة عند استخدام (الماء:الايتانول)(70:30) كمذيب عند زمن 45min وحجم 25ml من المذيب لكل 1g من المادة الصلبة. وتم ايضاً الكشف الكيفي عن بعض المركبات الفعالة في المستخلصات، حيث أثبتت النتائج احتواء المستخلصات على عدد من المركبات الفعالة والتي تشمل:البوليفينولات والقلويدات والفلافونيدات والغليكوزيدات والصابونينات. كما تم الكشف الكمي عن الفينولات في المستخلصات، وتبين أن أفضل قيمة هي $207.98\frac{mg\ GAE}{g\ DW}$ أي mg من حمض الغاليك المكافئ لكل غرام من الوزن الجاف للنبتة عند ايتانول 70% كمذيب و زمن 45min وحجم 25ml من المذيب لكل 1g من المادة الصلبة.

كلمات مفتاحية: الغار، استخلاص، أمواج فوق الصوتية، فينولات،مذيب.

*** طالب ماجستير هندسة كيميائية – قسم هندسة العمليات – كلية الهندسة الكيميائية والبترولية – جامعة حمص.**

**** استاذ– قسم الهندسة الكيميائية – كلية الهندسة الكيميائية والبترولية – جامعة حمص.**

Extraction of Some Active Compounds From The Leaves of The Syrian Laurel Plant Using an Ultrasound Device

Prof. Dr. Mohammad Hilal **, Rowaida Al-Hamad *

Abstract

In this research, some active compounds were extracted from the Syrian laurel plant, using an ultrasound device, which previous studies have shown to be one of the best extraction methods in terms of efficiency, as it gave an extraction rate of 25.45% of the active compounds when using a mixture of water and ethanol as a solvent at a concentration of 70% for ethanol. The effect of a number of parameters affecting the extraction rate was studied, and the best efficiency was when using (water: ethanol) (70:30) as a solvent at a time of 45 min and a volume of 25 ml of solvent for every 1 g of solid material. Some active compounds in the extracts were also qualitatively detected, as the results proved that the extracts contained a number of active compounds, including: polyphenols, alkaloids, flavonoids, glycosides and saponins. Polyphenols in the extracts were also quantitatively detected, and the best value was $207.98\frac{mg\ GAE}{g\ DW}$ i.e. mg of gallic acid equivalent per gram of dry weight of the plant at 70% ethanol as a solvent, 45min time and 25ml volume of solvent per 1g of solid.

Keywords: Laurel, Extraction, Ultrasound, Phenols, Solvent.

* Master Student, Chemical Engineering, Department of Process Engineering, Faculty of Chemical and Petroleum Engineering, Homs University.

** Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Chemical and Petroleum Engineering, Homs University.

I. مقدمة:

استخدم الإنسان النباتات لعلاج الأمراض المعدية والشائعة منذ العصور القديمة، ولا تزال بعض هذه الأدوية التقليدية مدرجة كجزء من العلاج المعتاد لمختلف الأمراض. حيث تستعمل المستخلصات للنباتات في البحوث العلمية لإنتاج المركبات المختلفة ومن أكثر الطرائق الحديثة انتشاراً في استخلاص المركبات الفعالة هي الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية، وتتمثل الفوائد الرئيسية لطريقة الاستخلاص هذه بالأمواج فوق الصوتية في تقليل وقت الاستخلاص واستهلاك المذيبات [1].

ومن هذه النباتات شجرة الغار السوري (*Laurus nobilis L.*) الذي يتميز بأوراقها ذات الرائحة العطرية النفاذة ومذاقها القوي. تحتوي أوراق الغار المجففة على بروتين ودهون وكربوهيدرات وحمض الاسكوربيك(Ascorbic Acid) ونياسين(Niacin) وثيامين(Thiamine) وريبوفلافين(Riboflavin) وفيتامين A. كما أنها تعتبر مصدراً للعديد من المركبات الفينولية (Phenols) كالفلافونويد (Flavonoids) والأحماض الفينولية وتكون نسبة الفلافونيدات أكبر من الأحماض الفينولية، حيث يشكل الكامبيفرول (kaempferol) والغلايكوسيدات (glycosides) هم المكونين الرئيسيين (حوالي 50%)، يليهما كيرسيتين (Quercetin) وإيزوهرمانتين (isorhamnetin)، والتي توجد أيضاً بنسبة كبيرة والقلويدات (Alkaloids)، السكريات (polysaccharides) والأحماض العضوية **[2]**.

تستخدم أوراق الغار المجففة كتوابل منكهة للطعام، كما استخدمت الأوراق في الطب الشعبي لعلاج الصرع، والألم العصبي، والشلل الرعاشي[3].

استخدمت أيضاً الأوراق والفواكه كمضادات للميكروبات ولها خصائص مضادة للأكسدة، وأيضا أوراق الغار تستخدم عن طريق الفم لعلاج مشاكل الجهاز الهضمي، مثل انتفاخ البطن كما أن لديها أنشطة مدرة للبول ومضادة للفطريات وللتشنج ومضادات للالتهابات والسكري وللسرطان ومضادات للكولون، علاوة على ذلك، فقد تم استخدامها للتخفيف من آلام البواسير والروماتيزم [3].

وهناك عدة دراسات أثبتت كفاءة عملية الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية .

– أجريت دراسة (2013) حول استخلاص المركبات الفينولية من نبات الغار السوري بواسطة جهاز الأمواج فوق الصوتية، ودراسة قدرتها على الأكسدة حيث تم التوصل على نسبة 17.32mgلكل 1g من المادة الجافة عند زمن 40min وايتانول 35% [4].

–أجريت دراسة في عام 2021 استخلاص للمركبات الفغالة من نبات الغار بالأمواج فوق الصوتية، وتم التوصل أن أفضل شروط الاستخلاص ايتانول 70% وزمن 10min حيث تم الحصول على 29 مركباً في المستخلصات وتم إثبات قدرتها المؤكسدة [5].

–أجريت دراسة في عام 2022 بدراسة استخلاص المركبات الفعالة من نبات الغار السوري بالطرق التقليدية كالتشريب والسكسولية والهضم، والطرائق الحديثة كالأمواج فوق الصوتية والميكروويف واالاستخلاص بالسوائل فوق الحرجة [6].

II. مبررات البحث:

–تحسين كفاءة عملية الاستخلاص لنبات الغار بالأمواج فوق الصوتية.

–استخدامات نبات الغار الطبية والغذائية والكيميائية.

III. –هدف البحث:

يهدف هذا البحث إلى:

1) تحديد شروط الاستخلاص الأفضل بالأمواج فوق الصوتية (المدة، نوع المذيب وحجمه) للحصول على أعلى نسبة من المركبات الفعالة في المستخلص.
2) الكشف الكيفي والكمي لبعض المركبات الكيميائية في المستخلصات وتحديد كمية البوليفينولات في المستخلصات.

IV. 1–الأجهزة المستخدمة:

- حمام مائي بالأمواج فوق الصوتية، تردده 35KHZ، بسعة 2L، مزود بمؤقت زمنيmin 15–1، ويعمل بالتيار الكهربائي 230V، 50/60HZ ألماني الصنع، موديل HF–Frequ.
- فرن تجفيف.
- ميزان بدقة 0.0001.

- طاحونة لطحن المادة الصلبة (خلاط ميكانيكي).
- جهاز المطيافية الضوئية(سبيكتروفوتومتر) .
- أوراق ترشيح.
- كما استُخدمت مجموعة من العبوات الزجاجية وسلندرات وأقماع زجاجية وبياشر.

.IV

– المواد الكيميائية المستخدمة:

مواد كيميائية للمساعدة في عملية الاستخلاص والكشف عن المركبات الفعالة.

- المذيبات (إيتانول، ماء مقطر).
- خلات الرصاص –كلوريد الحديد–كاشف دراغندروف –كاشف فولين سوكاليتو– كاشف ماير–كاشف حمض المر–حمض كلور الماء–بلورات المغنزيوم –كلوريد الألمنيوم–حمض الغاليك– كاشف فهلنغ).

IV. 3–تحضير أوراق نبات الغار لعملية الاستخلاص :

تم جمع عينات نبات الغار من حرم جامعة حمص ومسحها بقطعة قطنية مبللة بالماء لتنظيفها من الغبار والشوائب ثم تجفيفها في الظل من الماء .

ثم تم بعد ذلك تجفيفها بمجفف عند درجة حرارة $30C^o$ [2] حتى ثبات الوزن، وثم حساب نسبة الرطوبة للأوراق وفق العلاقة التالية:

$$\text{نسبة الرطوبة} = \frac{\text{وزن العينة قبل التجفيف} - \text{وزن العينة بعد التجفيف}}{\text{وزن العينة قبل التجفيف}}$$

تم طحن الأوراق الجافة بخلاط ميكانيكي حتى الحصول على شكل متجانس ،ثم تمت عملية الاستخلاص بجهاز الأمواج فوق الصوتية.

V. –المعاملات المدروسة :

V. 1-العوامل المؤثرة على نسبة الاستخلاص.

– دُرست بعض العوامل المُؤثرة في عملية الاستخلاص والمتمثلة بما يلي:

1–دراسة تأثير تركيز المذيب:

قمنا في دراستنا التجريبية بدراسة ثلاث مذيبات وهي الماء والايتانول مطلق والايتانول والماء لذلك بدايةً قمنا بتحديد أفضل تركيز للمذيب ايتانول وماء.

أُجريت سلسلة من التجارب باستخدام تراكيز مختلفة من المذيب ايتانول وماء قيمتها 30،40،50،60،70،80،90% ووجدنا أنّ أفضل تركيز 70% لأنه أعطى أعلى قيمة لنسبة الاستخلاص 25%.

2-دراسة تأثير نوع المذيب:

أُجريت سلسلة من تجارب الاستخلاص بالحمام المائي للأمواج فوق الصوتية باستخدام ثلاث أنواع من المذيبات وهي الماء والايتانول المطلق والايتانول 70% ووجدنا أن أفضل نوع مذيب هو الايتانول70% لانه أعطى أعلى نسبة استخلاص.

3-حجم المذيب المستخدم.

أُجريت سلسلة من التجارب باستخدام أحجام مختلفة من المذيبات الثلاثة المستخدمة قيمتها 5و15و25و35و45و55ml ووجدنا أن أفضل حجم للمذيب كان25ml للماء وللايتانول والماء في حين وجد أفضل حجم للايتانول المطلق كان 45ml .

4-زمن الاستخلاص:

أجريت سلسة من التجارب للمذيبات الثلاثة المستخدمة حيث غيرنا زمن الاستخلاص من 5 حتى 55min بفواصل زمنية مقدار عشرة دقائق وخلصت هذه السلاسل من التجارب إلى أن أفضل زمن استخلاص بناءاً على أعلى نسبة استخلاص تم الحصول عليها وذلك عند 25min للماء في حين كان 45min لكل من الايتانول المطلق والايتانول مع الماء بنسبة70% إلى 30% على الترتيب.

-حصلنا من سلسلة التجارب السابقة على مستخلص مع المذيب بالإضافة إلى المادة الجافة المتبقية من أوراق الغار، قمنا بترشيح العينات بأوراق ترشيح (11cm,0.33mm) التي حصلنا عليها بعد عملية الاستخلاص لفصل المادة الجافة عن المذيب والمستخلص.

-تم تبخير المذيب الموجود في المستخلص عند درجة حرارة $40C^{o}$ وحصلنا على المادة المستخلصة وقمنا بوزنها لحساب نسبة الاستخلاص[2].

-تم حساب نسبة الاستخلاص من المعادلة الأتية:

$$\text{نسبة الاستخلاص} = \frac{\text{وزن المادة المستخلصة (المتبقية في الجفنة)}}{\text{وزن عينة الغار الأولية}}$$

V. 2-الكشف الكيفي عن المركبات في المستخلص:

تم اجراء كشف كيفي للمركبات الموجودة في المادة المستخلصة للمذيبان الماء والإيتانول عند أفضل شروط الاستخلاص التي تمّ التوصل إليها.

-البوليفينولات:

تم الكشف عنها باستخدام نوعين من الكواشف كلوريد الحديد وخلات الرصاص حيث أعطى الكاشف الأول لون مائل للبني والثاني لون مائل للأصفروهذا دليل على وجود البولي فينولات [8] في المستخلصات المدروسة.

-القلويدات :

استخدم ثلاث انواع من الكواشف وهي كاشف دراغندروف و كاشف ماير (HgCl2+KI) وكاشف حمض المر(6,4,2 ثلاثي نترو فينول) حيث أعطى الكاشف الأول لون مائل للبرتقالي والثاني راسب أبيض والثالث راسب أبيض وهذا دليل على وجود القلويدات [8] في المستخلصات المدروسة.

-الفلافونيدات:

استخدم نوعين من الاختبارات الأول اختبار شينودا(Mg+HCL) والثاني كلوريد الألمنيوم بحضور الأشعة فوق بنفسجية حيث اعطى الاختبار الأول لون مائل للأحمر والثاني أزرق [9].

- الصابونينات:

تم أخذ 2ml من الخلاصة المائية والايتانولية في أنبوب اختبار كلٌّ على حدة وثم رج الأنبوب فظهور رغوة دائمة لا تزول بإضافة قطرة من حمض كلور الماء دليل على وجود الصابونينات[9].

-السكاكر والمواد المرجعة(الغليكوزيدات):

استخدم كاشف فهلنغ مع المستخلص حيث حصلنا على راسب بلون أبيض وهذا دليل على وجود السكاكر[9].

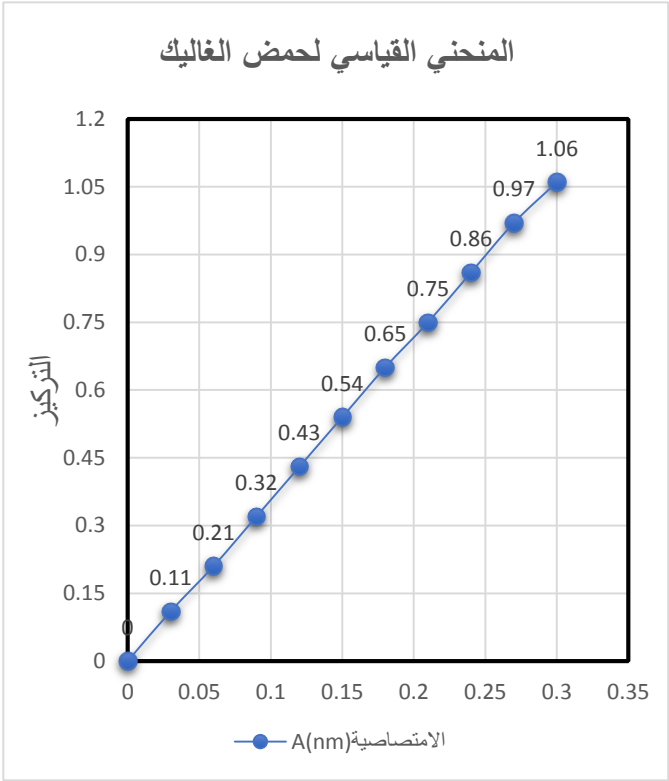
V. 3-الكشف الكمي عن الفينولات في الخلاصات[11-10]:

لاجراء الحساب الكمي لابد من اجراء سلسلة عيارية تربط بين تركيز الفينول والامتصاصية.

-تحضير محاليل معيارية من حمض الغاليك:

حضرت سلسلة عيارية من حمض الغاليك بتراكيز مختلفةg/L 0.3-0.03 ، وأُخذ 2mL من المحلول المعياري وأضفنا له 2mL من كاشف فولين الممدد عشر مرات، و 2mL من كربونات الصوديوم بتركيز20% وحفظت المحاليل في الظلام لمدة 90min، وتمت قراءة الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي عند طول موجة760nm.

تم رسم المنحني القياسي للامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الغاليك، وهي عبارة عن معادلة مستقيم من الدرجة الأولى يمر بالمبدأ وفق الشكل (5-1):



-الشكل (5-1) علاقة الامتصاصية بتركيز حمض الغاليك عند طول موجة 760nm

-تحضير العينة من المستخلص لأوراق نبات الغار:

أخذ 2mL من المستخلص من الأوراق الجافة المطحونة لنبات الغار وثم تم تمديدها عشر مرات عند استخدام المذيبات الثلاثة الماء والايتانول والايتانول وماء بنسبة 70% إلى 30%، وثم أضيفت نفس المواد المضافة للمحلول العياري لحمض الغاليك، وبعد ذلك أخذت قراءة الامتصاصية عند طول موجة 760nm.

حُسبت كمية المركبات الفينولية في المستخلصات بالنسبة لحمض الغاليك المعبر عنه بال mg من حمض الغاليك المكافئ لكل غرام من الوزن الجاف للنبتة(C(mg GAE/DW g بالعلاقة[13]:

$$\mathbf{(1)}\quad \mathbf{C}\ \left(\frac{mg\ GAE}{g\ DW}\right)= \frac{A}{K} * F * \frac{V}{P}$$

حيث أن:

C: كمية المركبات الفينولية الكلية ().$\frac{mg\ GAE}{g\ DW}$

V: حجم الخلاصة .

P: الكتلة الابتدائية للعينة الجافة 1g.

A: الامتصاصية عند 760nm.

K: ميل المنحني القياسي لحمض الغاليك، ويساوي في هذه الدراسة 3.57.

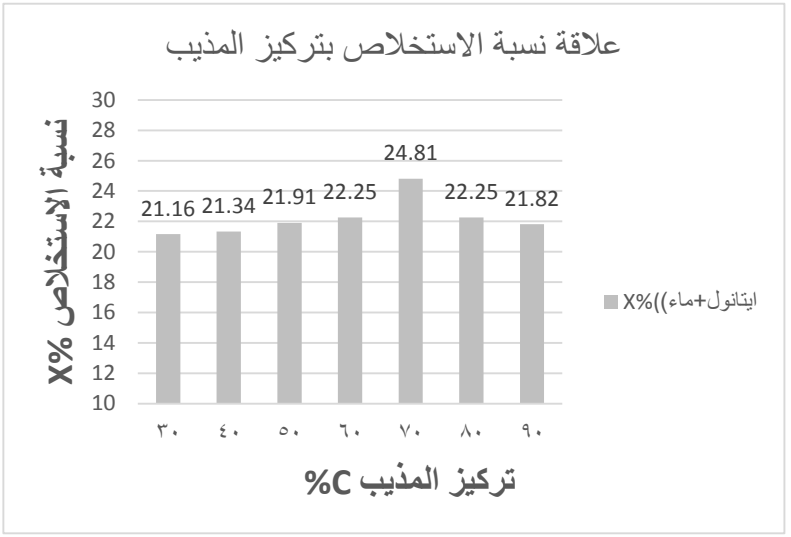
F: معامل التمديد بالنسبة للمستخلصات.

VI. النتائج والمناقشة:

-يلاحظ من الشكل (6-1) أن نسبة الاستخلاص تزداد بازدياد تركيز الايتانول بالنسبة للماء ويبدو لنا واضحاً من الشكل أن أعلى نسبة استخلاص هي 24.81% عند تركيز للمذيب 70% ايتانول مع 30% ماء.

تتناقص نسبة الاستخلاص بازدياد تركيز الايتانول فوق 70% وهذا عائد لقطبية المذيب والمركبات التي يتم استخلاصها ونشير هنا إلى أن جزء من المركبات ينحل بالماء ذو القطبية العالية، أما الجزء الأخر ينحل بالكحول ذو القطبية الأقل [10].

تتواجد المركبات المستخلصة على جدران خلايا الأوراق وضمن المساحات الداخلية بينها وذلك ضمن المادة المستخلصة.



الشكل (6−1) علاقة نسبة الاستخلاص مع تركيز المذيب

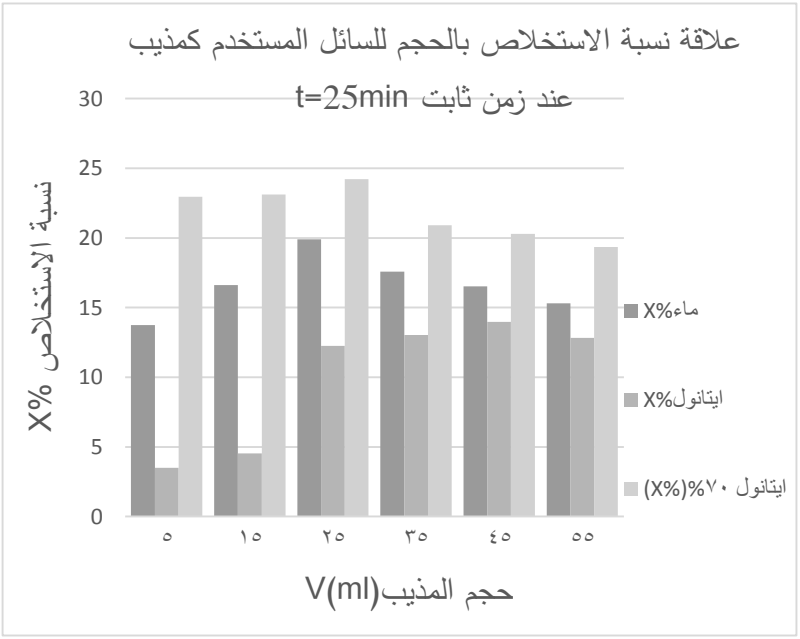
يوضح الشكل (6−2) والجدول (6−1) نتائج نسبة الاستخلاص للمذيبات الثلاثة المستخدمة كتابع لحجم المذيب ويلاحظ أنّ نسبة الاستخلاص تغيرت بتغير نوع المذيب وأفضل مذيب كان الايتانول70%.

حصلنا على أعلى نسبة استخلاص للماء والايتانول70% مع 30% ماء عند استخدام نسبة مذيب إلى مادة جافة $\frac{25}{1}$ على التوالي 19.89 ، 24.22 .

نشير إلى أنه عند استخدام الايتانول المطلق فإن أفضل نسبة للمذيب بالنسبة للمادة الجافة كانت $\frac{45}{1}$ حيث بلغت نسبة الاستخلاص 13.97.

الجدول (6-1) النتائج التجريبية لنسبة الاستخلاص عند زمن استخلاص min25

	V(ml)	ماء%X	ايتانول%X	ايتانول 70%(X%)
1	5.00	13.74	3.50	22.96
2	15.00	16.62	4.54	23.12
3	25.00	19.89	12.26	24.22
4	35.00	17.59	13.03	20.92
5	45.00	16.52	13.97	20.28
6	55.00	15.31	12.83	19.35



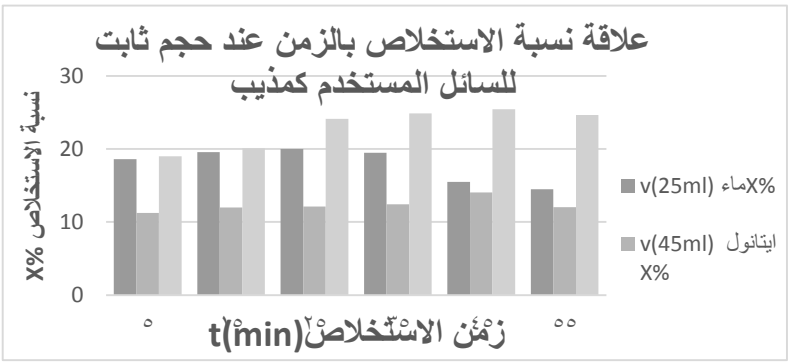
الشكل(6-2)علاقة نسبة الاستخلاص بحجم المذيب عند زمن ثابت

-نشاهد من الشكل (6-3) والجدول (6-2) تغير نسبة الاستخلاص كتابع لزمن الاستخلاص الذي تمَّ تغيره من 5 وحتى 55min وذلك لأجل نسبة $\frac{\text{مذيب}}{\text{مادة جافة}}$ يساوي $\frac{25}{1}$ لكل من الماء والايتانول70% و$\frac{45}{1}$ للايتانول المطلق ونلاحظ من الشكل أن أفضل أزمنة للاستخلاص هي على التوالي 25 و45 و 45min لكل من المذيبات الثلاثة المستخدمة. والتي أعطت نسبة استخلاص قيمتها 20.01% للماء و25.45 للايتانول70% و14.04% للايتانول المطلق.

الجدول (6-2) النتائج التجريبية لنسبة الاستخلاص عند حجم ثابت للمذيب

	t(min)	v(25ml)ماء X%	v(45ml) ايتانول X%	v(25ml) ايتانول70% X%
1	5	18.6	11.23	19.01
2	15	19.58	11.98	20.11
3	25	20.01	12.1	24.12
4	35	19.49	12.41	24.86
5	45	15.47	14.01	25.45
6	55	14.5	12.02	24.66

الشكل(6-3)علاقة نسبة الاستخلاص بالزمن عند حجم ثابت للمذيب



VI. 1-الكشف الكيفي عن المركبات الكيميائية في المستخلصات[9-8]:

تم اجراء كشف كيفي للمركبات الموجودة في المادة المستخلصة عند أفضل شروط للاستخلاص باستخدام مذيبي الماء والإيتانول ونشاهد في الجدول (6-3) النتائج التجريبية.

الجدول (6-3) نتائج الكشف الكيفي عن المركبات الكيميائية.

المذيب	المركب العضوي				
	فينولات	قلويدات	فلافونيدات	صابونينات	جليكسودات
الماء	+	+	−	+	+
الايتانول100%	+	+	+	+	+

VI. 3-الكشف الكمي عن الفينولات في الخلاصات[13-12-11]:

لتحديد كفاءة الاستخلاص تم اجراء الكشف الكمي عن الفينولات، حيث تم الكشف عند أفضل الشروط التي حصلنا عليها للمذيبات الثلاث. ويوضح الجدول (6-4) نتائج الكشف الكمي باستخدام كاشف فولين سوكاليتو.

حيث حصلنا على أفضل كفاءة استخلاص عند استخدام الايتانول والماء بنسبة 70% إلى 30% كمذيب وعند زمن 25min وعند حجم 45ml لكل 1g من المادة الجافة، ونشير أن التركيز تمّ حسابه من العلاقة (1).

الجدول (6-4) نتائج الكشف الكمي بكاشف فولين سوكاليتو

المذيب	الزمن min	حجم المذيب ml	الامتصاصية	التركيز C(mgGAE/DW g)
ايتانول100%	45	45	1.21	**152.52**
ماء	25	25	0.83	**58.12**
ايتانول70%	45	25	2.97	**207.98**

VII. الاستنتاجات:

1. إن أفضل مذيب يمكن استخدامه بعملية الاستخلاص هو الايتانول والماء بنسبة 70%ايتانول و30%ماء.

2. عند العمل بأفضل الشروط حصلنا على أعلى مردود لكل من المذيبات الثلاثة المستخدمة الماء والايتانول والماء والايتانول المطلق كانت على التوالي 20.01% و25.45% و14.01%.

3. لوحظ وجود البوليفينولات والقلويدات والفلافويندات والغليكوزيدات والصابونينات عند الكشف الكيفي للمركبات الكيميائية في المستخلصات.

4. وجد عند العمل بأفضل الشروط أن أكبر تركيز للفينول في المستخلص 207.98 $\frac{mg\ GAE}{g\ DW}$.

وبناءاً على ذلك نقترح مايلي:

-الاستخلاص باستخدام انزيمات أو حفازات تعطي كفاءة استخلاص واقتصادية عالية.

VI. المراجع:

[1]. **Dias, M. I., Barros, L., Dueñas, M., Alves, R. C., Oliveira, M. B. P., Santos-Buelga, C., and Ferreira, I. C. (2014).** Nutritional and antioxidant contributions of *Laurus nobilis L.* leaves: would be more suitable a wild or a cultivated sample?. *Food chemistry*, *156*, 339-346.

[2]. **Batiha, G. E. S., Beshbishy, A. M., Alkazmi, L., Adeyemi, O. S., Nadwa, E., Rashwan, E., ... and Igarashi, I. (2020).** Gas chromatography-mass spectrometry analysis, phytochemical screening and antiprotozoal effects of the methanolic Viola tricolor and acetonic *Laurus nobilis* extracts. *BMC complementary medicine and therapies*, *20*, 1-14.

[3]. **Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Nasr, S. B., El Beyrouthy, M., and Mnif, W. (2018).** Phytochemical composition and antioxidant activity of Tunisian *Laurus nobilis*. *Pak. J. Pharm. Sci*, *31*(6), 2397-2402.

[4]. **Muñiz-Márquez, D. B., Martínez-Ávila, G. C., Wong-Paz, J. E., Belmares-Cerda, R., Rodríguez-Herrera, R., and Aguilar, C. N. (2013)**. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Laurus nobilis L.* and their antioxidant activity. *Ultrasonics sonochemistry*, *20*(5), 1149-1154.

[5]. **Dobroslavić, E., Elez Garofulić, I., Zorić, Z., Pedisić, S., and Dragović-Uzelac, V. (2021).** Polyphenolic characterization and antioxidant capacity of *Laurus nobilis L.* leaf extracts obtained by green and conventional extraction techniques. *Processes*, *9*(10), 1840.

[6]. **Dobroslavić, E., Repajić, M., Dragović-Uzelac, V., and Elez Garofulić, I. (2022).** Isolation of *Laurus nobilis* leaf polyphenols: A review on current techniques and future perspectives. *Foods*, *11*(2), 235.

[7]. Alejo-Armijo, A., Altarejos, J., and Salido, S. (2017). Phytochemicals and biological activities of laurel tree (*Laurus nobilis*). *Natural product communications*, *12*(5), 1934578X1701200519.

[8]. Haddouchi, F.; Chaouche, T.; Benmansour, A. and Lazouni, H. A.(2011). Phytochemical study of *Thymus fontanesii* and *Laurus nobilis*. J. Scholars Research Library Der Pharmacia Letter. 3(2):343-350.

[9]. Bowen, I.H& Perera, K.P.W.(1982). Coumarins and Flavonoids of Micromelum zeylanicum. Photochemistry. 21(2):43-437

[10]. Tomöik, A.; Pavlic, B.; Vladic, J.; Ramie, M.; Brindza, J.; Vidovic, S.(2016). Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from wild garlic (*Allium ursinum L.*). Ultrason. Sonochem. 29: 502-511.

[11]. . **Kratchanova, M.; Denev, P.; Ciz, M.; Lojek, A.; Mihailov**, A. Evaluation of antioxidant activity of medicinal plants containing polyphenol compounds. Comparison of two extraction systems. Acta Biochim. Pol. **2010**, 57, 229–234. [

[12]. Muchuweti, M.; Kativu, E.; Mupure, C.H.; Chidewe, C.; Ndhlala, A.R.; Benhura, M.A.N. Phenolic composition and antioxidant properties of some spices. Am. J. Food Technol. **2007**, 2, 414–420.

[13]. Asses, N. L. , Ayed, H., Bouallagui, S., Hamdi, M.(2009). Biodegradation of different molecular-mass polyphenols derived from olive mill wastewaters by geotrichum candidum int, Biodeter, Biodegr. 63:407-413.