



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمّـة لخضر - الوادي -

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص: كيمياء العضوية

من إعداد: نسرین مجيدي

نور الهدى دركي

تحت عنوان:

مقارنة كمية للمستخلصات الخام الفينولية بمختلف طرق الاستخلاص للقاح النخيل (الذكار) ودراسة الفاعلية البيولوجية استنادا لدراسات سابقة

نوقشت يوم: 2020/09/14

أمام لجنة المناقشة:

| | | | |
|--------|-----------------------|-----------------|----------------|
| رئيسا | جامعة الشهيد حمه لخضر | أستاذ محاضر (أ) | جمال عطية |
| مقررا | جامعة الشهيد حمه لخضر | أستاذ محاضر (ب) | نور الدين تامة |
| ممتحنا | جامعة الشهيد حمه لخضر | أستاذ محاضر (أ) | محمد زيدان |

السنة الجامعية: 2020/2019

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

الهدى

اهدي ثمرة جهدي هذا.....

إلى من بلغ الرسالة وأدى الأمانة .. ونصح الأمة .. إلى نبي الرحمة ونور العالمين

سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم

إلى تاج راسي وعوني في هذه الحياة إلى الذي تعب لأرتاح وكافح لأنال ورباني

على الصبر والقوة والإيمان أبي الغالي "السعيد " حفظه الله لي وأطال الله في عمره.

إلى من تعجز كلماتي وتنحني هاماتي .. إلى شمس حياتي التي لا تغيب .. وسيلي إلى الجنة
إلى من كان دعاؤها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي إلى أغلى الاحباب..أمي الحبيبة.

إلى من أسعد الله بهم أيامي وأعطاني من نبض حبهم حتى أَرْضاني إلى منبع الحنان والعطف
والأمان إلى جدتاي "الزهرة" و "القادة" وأتمنى لهما دوام الصحة والعافية.

إلى من شاركوني تفاصيل الحياة أمضيت معهم أسعد الأوقات إلى أخواتي ودفي البيت

"منيرة، أحلام، هناء، صفاء" وإخوتي "وليد، صابر، مسعود، عبد الرحمن"

إلى براعم بيتنا "ابراهيم ومحمد، نورهان"

إلى من تقاسمت معها ضحكتي وفرحتي وعملي هذا "نور الهدى دركي"
أدامها الله ذخرا لي

إلى من تحلو بالإخاء وتميزوا بالعطاء إلى رياحين الحب والوفاء إلى اخواتي التي لم تلهن لمي
"نور الهدى، مروة، آمنة، عبير، حنان"

إلى من تسعهم ذاكرتي ولم تسعهم مذكرتي

إليك انت الذي تتصفح مذكرتي الآن

نسرین

أهدى ثمره جهدي هذا.....

أهدى ثمره جهدي هذا.....

إلى من نطق بكلمة التوحيد لسانه وصدقها قلبه، إلى كل من صلى على خير البرية محمد
صلى الله عليه وسلم

إلى من كلله الله بالهيبة و الوقار .. إلى من علمني العطاء بدون انتظار .. إلى من أحمل اسمه
بكل افتخار .. أرجو من الله أن يمد في عمره ليرى ثمارا قد حان قطافها بعد طول انتظار و
سيبقى كلماته نجوم اهتدي بها اليوم و في الغد و إلى الأبد.. والدي العزيز "دم"
إلى ملاكي في الحياة .. إلى معنى الحب والحنان .. إلى بسمه وسر الوجود إلى من كان دعاؤها
سر نجاحي وحنانها بلمس جراحي إلى اغلى الحبايب .. امي الحبيبة " فتيحة "
إلى من لا يمكن للكلمات أن توفي حقه ولا للأرقام أن تحصي فضائله أخي العزيز
"محمد فوزي"

إلى النور الذي يضيئ حياتي وسند قوتي ومالذي بعد الله إلى من آثرني على أنفسهم إلى من
أظهروا لي ما هو أجمل في الحياة أختاتي: عفاف، سارة، مروة، أمنة إيناس.

وإلى ثريا، حكيمة، صفاء وأزواجهم وأبنائهم
إلى أختي التي لم تلتها امي زوجة اخي "سعاد"
وإلى الروح التي سكنت روعي ابناء أخي
"محمد البراء، اسحاق"

إلى من أسعد الله بهم أيامي وأعطاني من نبض حبهم حتى أرضاني إلى منبع الحنان والعطف
والامان جدي وجدتي.

إلى أمامي وعماتي وأخوالي وخالتي
إلى من تقاسمت معها ضحكتي وفرحتي وعملي هذا "مجيدي نسرين"
إلى من تحلو بالإخاء وتميزوا بالعطاء إلى رياحين الحب والوفاء صديقاتي: منار، عبير، منال،
انتصار، فاطمة الزهراء، أمنة، رانيا، سمية، نور الايمان، عبير، داليا.
إلى كل من نساهم قلبي ولم ينساهم قلبي

نور الهدى

شكرنا وإعترافنا

الشكر لله أولاً وأخراً كما ينبغي لجلال وجهه وعظيم سلطانه فلولاه لما حملت يدنا قلماً ولا خطت حرفاً في سبيل العلم والتعلم فأشكره شكراً عظيماً يليق بجلال وجهه وعظيم سلطانه وبعد:

نتقدم بالشكر الجزيل إلى والدينا إلى من كلهم الله بالهيبة والوقار وكانا حافزا لنا على مواصلة دارستنا، لذا نطرز من خيوط الشمس اللامعة حروف شكر، ومن ماء الذهب عرفان لحرصهم الدائم بالدعاء لنا وتشجيعينا.

شكراً جزيلاً إلى الأستاذ المؤطر تامة نور الدين، الذي شرفنا وقبوله الإشراف على هذه المذكرة وعلى دعمه وتوجيهاته القيمة فجزاه الله خير الجزاء فله منا كل التقدير والإحترام.

كما نتقدم بالشكر إلى كل من علمنا حرفاً وأشاد في تعليمينا.

كما نتقدم بالشكر الجزيل لأساتذتنا أعضاء اللجنة المناقشة لقبولهم بمناقشة هذه المذكرة وإفادتنا بتصحيحاتهم وتوجيهاتهم القيمة.

كما لا يفوتنا أن نذكر جميع أفراد وعمال مخابر بكلية العلوم الدقيقة خاصة كنزة ومنى على ما قدموه لنا من مساعدات.

كما تتسع دائرة شكرنا لصديقاتنا: فوحمة عبير، دركي مروة، سيفي هاجر، نجار مروة.

دون ان ننسى أفراد دفعة 2020

وأخيراً نتقدم بجزيل الشكر والعرفان إلى كل من ساهم في انجاز هذا العمل ونرجو من المولى عز وجل أن نكون من العارفين للناس فضلهم وأن يمكننا من رد جميلهم، وما توفيقنا إلا بالله.

تهدف هذه الدراسة إلى مقارنة كمية للمستخلصات الخام الفينولية للقاح النخيل المتحصل عليها بطرق الاستخلاص المختلفة مع الإستناد إلى بعض الدراسات السابقة في تحديد الفاعلية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا.

ولتحقيق هذا الهدف قمنا بعملية الاستخلاص للمواد الفعالة (فينولات والفلافونيدات) لحبوب لقاح النخيل بطريقتين كيميائيتين سوكلية والتنقيع وباستعمال مذيبات متدرجة القطبية ميثانول، ايثانول والبوتانول ، ومن تمّ تمّ التقدير الكمي لهذه المواد بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية.

توصلنا من خلال هذه الدراسة إلى غنى حبوب اللقاح بنواتج الأيض الثانوي المتمثلة في الفينولات والفلافونيدات، كما يتضح أيضا أفضلية واضحة لطريقة التنقيع في قدرتها على استخلاص المواد الفعالة ، بالإضافة إلى قطبية المذيب الذي له دور هام في زيادة المقدار الكمي لهذه المواد، فكل مازادت القطبية زاد المقدار الكمي. حيث كانت أعلى كمية للفينولات والفلافونيدات للمستخلص الميثانولي المقدر بـ (148.38 mgEAG/g) و (31.44 mgEQ/g) على التوالي.

ثم بعد مراجعة بعض الدراسات السابقة تبين أن لحبوب اللقاح فاعلية مضادة للأكسدة ومضادة للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية: حبوب لقاح النخيل، المواد الفعالة (الفينولات والفلافونيدات)، الفاعلية المضادة للأكسدة، الفاعلية المضادة للبكتيريا.

This study aims to compare quantitatively the phenolic contents of date palm pollen extracts obtained by different extraction methods, based on some previous studies in determining the antioxidant and antibacterial activities.

To realize this objective, we performed the extraction of bioactive substances (phenols and flavonoids) from palm pollen by two different methods, using a Soxhlet apparatus and maceration and using polar gradient solvents (methanol, ethanol and butanol). Then, quantification of these substances was done using UV and visible spectroscopy.

Through the study, we found that pollen grains are rich in secondary metabolites represented in phenols and flavonoids. It also shows a clear preference for the maceration method in its ability to extract bioactive substances, in addition to the polarity of the solvent that has an important role in increasing the quantitative amounts of these substances. Whenever the polarity increased, the contents of bioactive substances increased. Where the highest contents of phenols and flavonoids for the methanolic extracts were (mg EAG / g 148.38) and (mg EQ / g 31.44), respectively.

Through the current study, it was found that palm pollen grains have a significant contents of bioactive substances, and the effect of this quantity is evident through some previous studies where it was found that it has an antioxidant and antibacterial activities. Hence, it is a source of interest for researchers for its importance in the medical field.

Key words: pollen grains palm, bioactive substances (phenols and flavonoids), the antioxidant activities, the antibacterial activities.

الفهارس

المحتويات

| | |
|--|-------------------------------------|
| | الإهداء |
| | شكر وعرفان |
| | ملخص |
| | فهرس المحتويات |
| | قائمة الجداول |
| | قائمة الأشكال |
| | قائمة الرموز والاختصارات |
| 1 | مقدمة |
| | المراجع |
| الجزء النظري | |
| الفصل الأول: عموميات حول حبوب لقاح النخيل | |
| 7 | I. 1. دراسة عامة حول نخلة التمر |
| 7 | تمهيد |
| 7 | I.1.1. أصل نخلة التمر |
| 8 | I.1.2. التوزيع الجغرافي لنخلة التمر |
| 8 | I.1.3. التصنيف النباتي لنخيل التمر |
| 9 | I.1.4. الوصف المورفولوجي للنخلة |
| 9 | I.1.4.1. النظام الجذري |
| 10 | I.2.4.1. النظام الخضري |
| 10 | I.3.4.1. النظام الزهري |
| 12 | I.2. حبوب لقاح النخيل (النكار) |
| 12 | تمهيد |
| 12 | I.2.1. تعريف حبوب اللقاح |
| 12 | I.2.2. تركيب حبوب اللقاح |
| 13 | I.2.2.1. الجدار الخارجي (Exine) |
| 13 | I.2.2.2. الجدار الداخلي (Intine) |

| | |
|----|---|
| 13 | 3.2.I الخصائص الفيزيائية للقاح النخيل |
| 15 | 4.2.I التركيب الكيميائية لحبوب اللقاح |
| 16 | 5.2.I الخصائص العلاجية لحبوب لقاح النخيل |
| 17 | 6.2.I الدراسات السابقة حول حبوب لقاح النخيل |
| | المراجع |
| | الفصل الثاني: المركبات الفينولية |
| 25 | تمهيد |
| 25 | II 1. تعريف المنتجات الطبيعية |
| 25 | II 1.1. الأيض الأولي (Metabolites premieres) |
| 25 | II 2.1. الأيض الثانوي (Metabolites secondaires) |
| 26 | II 2. الفينولات |
| 26 | II 1.2. تعريف المركبات الفينولية |
| 26 | II 2.2. مصدر المركبات الفينولية |
| 27 | II 3.2. تصنيف المركبات الفينولية |
| 28 | II 1.3.2. الفينولات البسيطة (C ₆) Phénols simple |
| 28 | II 2.3.2. الأحماض الكربوكسيلية الفينولية Acides phenols carboxyliques |
| 28 | II 1.2.3.2. الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك (C ₆ -C ₁) |
| 29 | II 2.2.3.2. أحماض هيدروكسي سيناميك (C ₆ -C ₃) |
| 30 | II 3.3.2. الكومارينات |
| 30 | II 4.3.2. الستيلبينات (C ₆ -C ₂ -C ₆) Stilbènes |
| 31 | II 5.3.2. الفلافونيدات |
| 31 | II 1.5.3.2. تعريف الفلافونيدات |
| 32 | II 2.5.3.2. تصنيف الفلافونويدات |
| 34 | II 3.5.3.2. خواص الفلافونيدات |
| 34 | II 4.5.3.2. أهمية الفلافونيدات |
| 36 | II 6.3.2. الليغان (C ₆ -C ₃) ₂ Lignane |
| 36 | II 7.3.2. اللغنين |

| | |
|--|--|
| 37 | 8.3.2.II. التانينات Tannins |
| 38 | 4.2.II. أهمية الفينولات |
| | المراجع |
| الفصل الثالث: الفاعلية البيولوجية | |
| 46 | تمهيد |
| 46 | 1.III. البكتيريا |
| 46 | 1.1.III. تعريفها |
| 47 | 2.1.III. تسمية البكتيريا |
| 47 | 3.1.III. بنية البكتيريا |
| 47 | 1.3.1.III. المكونات الأساسية للخلية البكتيرية |
| 48 | 2.3.1.III. المكونات الثانوية للخلية البكتيرية |
| 49 | 4.1.III. تصنيف البكتيريا |
| 49 | 1.4.1.III. من حيث توزيع أسواطها |
| 49 | 2.4.1.III. من حيث الشكل |
| 49 | 3.4.1.III. من حيث الوسط التي تعيش فيه |
| 50 | 4.4.1.III. من حيث التغذية |
| 50 | 5.4.1.III. من حيث طريقة التلوين (GRAM) |
| 50 | 6.4.1.III. من حيث الأثر على الإنسان |
| 54 | 2.III. المضادات الحيوية |
| 54 | 1.2.III. تعريف المضادات الحيوية |
| 54 | 2.2.III. أنواع المضادات الحيوية |
| 54 | 1.2.2.III. مضادات حيوية كاجحة لنشاط الخلية البكتيرية |
| 54 | 2.2.2.III. مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية |
| 54 | 3.2.III. تأثير المضادات الحيوية |
| 54 | 1.3.2.III. العمل على جدار الخارجي للبكتيريا |
| 55 | 2.3.2.III. العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا |
| 55 | 3.3.2.III. العمل على تثبيط نمو AND |

| | |
|-------------------------------------|--|
| 55 | 4.3.2.III. مضادات تعمل على تخريب بنية الغشاء الستيوبلازمي |
| 55 | 4.2.III. المقاومة البكتيرية للمضاد الحيوي |
| 55 | 1.4.2.III. تعريف المقاومة |
| 55 | 2.4.2.III. أسباب مقاومة البكتيرية للمضاد الحيوي |
| 55 | 3.4.2.III. طرق التعرف على حساسية أو مقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي |
| 55 | 1.3.4.2.III. خواص الجذمة البكتيرية |
| 56 | 2.3.4.2.III. كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي |
| 57 | 3.III. الجذور الحرة ومضادات الأكسدة |
| 57 | 1.3.III. الجذور الحرة |
| 57 | 1.1.3.III. تعريف الجذور الحرة |
| 58 | 2.1.3.III. أنواع الجذور الحرة |
| 58 | 1.2.1.3.III. الجذور النشطة أو غير المستقرة |
| 58 | 2.2.1.3.III. الجذور الحرة المستقرة |
| 58 | 3.1.3.III. فعالية الجذور الحرة |
| 59 | 4.1.3.III. أضرار الجذور الحرة |
| 59 | 2.3.III. مضادات الأكسدة |
| 59 | 1.2.3.III. تعريف مضادات الأكسدة |
| 60 | 2.2.3.III. أقسام مضادات الأكسدة |
| 60 | 1.2.2.3.III. مضادات الأكسدة الطبيعية |
| 60 | 2.2.2.3.III. مضادات الأكسدة الاصطناعية |
| 62 | 3.2.3.III. آلية عمل مضادات الأكسدة |
| | المراجع |
| الجزء التطبيقي | |
| الفصل الرابع: الطرق والوسائل | |
| 70 | مدخل |
| 70 | 1.IV. جمع عينات النبتة المدروسة (حبوب لقاح النخيل) |
| 70 | 1.1.IV. مرحلة الجمع |

| | |
|--|---|
| 71 | 2.1.IV. مرحلة التجفيف |
| 71 | 3.1.IV. الحفظ |
| 71 | 2.IV. الأجهزة والمواد المستعملة |
| 71 | 1.2.IV. الأجهزة |
| 72 | 2.2.IV. المواد |
| 73 | 3.IV. استخلاص المركبات الفينولية |
| 73 | 1.3.IV. تعريف الاستخلاص |
| 73 | 1.1.3.IV. استخلاص صلب – سائل |
| 74 | 2.1.3.IV. استخلاص سائل – سائل |
| 74 | 2.3.IV. طريقة استخلاص المركبات الفينولية من حبوب لقاح النخيل بطريقة التنقيع |
| 77 | 3.3.IV. طريقة استخلاص المركبات الفينولية من حبوب لقاح النخيل بطريقة سوكللي |
| 83 | 4.IV. حساب مردود الإنتاجية للمستخلصات |
| 83 | 5.IV. التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية |
| 83 | 1.5.IV. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية |
| 83 | 1.1.5.IV. مبدأ العمل |
| 84 | 2.1.5.IV. مكونات الجهاز |
| 85 | 2.5.IV. التقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة UV-Visible |
| 85 | 1.2.5.IV. المنحنى القياسي لحمض الغاليك |
| 86 | 2.2.5.IV. التقدير الكمي للفينولات الكلية في المستخلصات |
| 87 | 3.5.IV. التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة UV-Visible |
| 87 | 1.3.5.IV. المنحنى القياسي لحمض الكرستين |
| 88 | 2.3.5.IV. التقدير الكمي للفلافونويدات الكلية في المستخلصات |
| | المراجع |
| الفصل الخامس: النتائج والمناقشة | |
| 93 | 1.V. مردود الاستخلاص |
| 94 | 2.V. التقدير الكمي بواسطة جهاز المطيافية الأشعة UV-Visible |
| 94 | 1.2.V. التقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز UV-Visible |

| | |
|-----|--|
| 96 | 2.2.V. التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة جهاز UV-Visible |
| 98 | 3.2.V. مقارنة التقدير الكمي للفينولات والفلافونويدات مع الدراسات السابقة |
| 99 | 3.V. نتائج دراسات سابقة للفعالية البيولوجية |
| 99 | 1.3.V. الفاعلية المضادة للأكسدة |
| 100 | 2.3.V. الفاعلية المضادة للبكتيريا |
| | المراجع |
| 106 | الخاتمة |
| | الملاحق |

قائمة الجداول

الجزء النظري

الفصل الأول: عموميات حول حبوب لقاح النخيل

| | | |
|----|--|--------------|
| 9 | التصنيف النباتي لنخلة التمر <i>Phoenix dactylifera</i> L | الجدول (1.I) |
| 15 | العناصر المعدنية المتواجدة في حبوب لقاح النخيل | الجدول (2.I) |

الفصل الثاني: المركبات الفينولية

| | | |
|----|---|----------------|
| 27 | تصنيف المركبات الفينولية حسب بنيتها | الجدول (1.II) |
| 29 | بعض أنواع الأحماض المشتقة من حمض بنزويك | الجدول (2.II) |
| 29 | بعض الأمثلة عن أحماض السيناميك | الجدول (3.II) |
| 30 | بعض أنواع الكومارينات | الجدول (4.II) |
| 30 | بعض أمثلة عن الستلبيينات | الجدول (5.II) |
| 32 | بعض أنواع الفلافونات | الجدول (6.II) |
| 32 | بعض أنواع الفلافونولات | الجدول (7.II) |
| 33 | بعض أنواع ايزوفلافونات | الجدول (8.II) |
| 33 | أنواع الفلافانونات | الجدول (9.II) |
| 34 | أنواع أنثوسيانات | الجدول (10.II) |

الفصل الثالث: الفعالية البيولوجية

| | | |
|----|----------------------------|----------------|
| 51 | يمثل التصنيف العلمي E-coli | الجدول (1.III) |
| 52 | يمثل التصنيف العلمي St.a | الجدول (2.III) |
| 53 | يمثل التصنيف العلمي Sa. t | الجدول (3.III) |

الجزء التطبيقي

الفصل الرابع: الطرق والوسائل

| | | |
|----|--|---------------|
| 85 | نتائج الامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الغاليك | الجدول (1.IV) |
| 87 | نتائج الامتصاصية للكروستين بدلالة التركيز | الجدول (2.IV) |

الفصل الخامس: النتائج والمناقشة

| | | |
|-----|-------------------------------------|---------------|
| 93 | مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية | الجدول (1.V) |
| 94 | قيم الامتصاصية للتركيز المحضرة | الجدول (2.V) |
| 95 | كمية الفينولات الكلية في المستخلصات | الجدول (3.V) |
| 96 | قيم الامتصاصية للتركيز المحضرة | الجدول (4.V) |
| 97 | كمية الفلافونويدات في المستخلصات | الجدول (5.V) |
| 98 | نتائج كمية الفينولات والفلافونويدات | الجدول (6.V) |
| 99 | قيم (IC_{50}) (mg/ml) | الجدول (7.V) |
| 100 | أقطار التثبيط للبكتيريا (mm) | الجدول (8.V) |
| 101 | أقطار التثبيط للبكتيريا (mm) | الجدول (9.V) |
| 101 | أقطار التثبيط للبكتيريا (mm) | الجدول (10.V) |

قائمة الأشكال

الجزء النظري

الفصل الأول: دراسة عامة حول حبوب لقاح النخيل

| | | |
|----|--|-------------|
| 8 | الانتشار الجغرافي لنخلة التمر في العالم | الشكل (1.I) |
| 11 | رسم تخطيطي لشجرة نخيل التمر | الشكل (2.I) |
| 12 | حبوب لقاح النخيل | الشكل (3.I) |
| 12 | غبار لقاح النخيل | الشكل (4.I) |
| 13 | بنية حبوب اللقاح | الشكل (5.I) |
| 14 | صورة بالمجهر الإلكتروني لحبوب لقاح النخيل | الشكل (6.I) |
| 14 | صورة بالمجهر الإلكتروني لسطح حبة لقاح النخيل | الشكل (7.I) |

الفصل الثاني: المركبات الفينولية

| | | |
|----|----------------------------------|--------------|
| 26 | نموذج لمركب فينولي | الشكل (1.II) |
| 26 | نموذج لمركب غير فينولي | الشكل (2.II) |
| 28 | بعض بنى الفينولات البسيطة | الشكل (3.II) |
| 31 | الهيكل الأساسي للفلافونويدات | الشكل (4.II) |
| 33 | بنية Catechin | الشكل (5.II) |
| 36 | أمثلة عن اللينغان | الشكل (6.II) |
| 36 | بنية اللغنين | الشكل (7.II) |
| 37 | أحد التانينات المتحللة (الذوابة) | الشكل (8.II) |
| 38 | أحد التانينات مكثفة | الشكل (9.II) |

الفصل الثالث: الفعالية البيولوجية

| | | |
|----|-----------------------------|---------------|
| 47 | تركيب الخلية البكتيرية | الشكل (1.III) |
| 51 | صورة بالفحص المجهر لـ E.Col | الشكل (2.III) |
| 52 | صورة بالفحص المجهر لـ St.a | الشكل (3.III) |
| 53 | صورة بالفحص المجهر لـ Sa. t | الشكل (4.III) |
| 56 | قطر منطقة التثبيط للبكتيريا | الشكل (5.III) |

| | | |
|--|---|----------------|
| 57 | صورة بالفحص المجهرى للجذور الحرة | الشكل (6.III) |
| 58 | البنيات الرنينية في جزئ DPPH | الشكل (7.III) |
| 61 | بنية BHA | الشكل (8.III) |
| 61 | بنية BHT | الشكل (9.III) |
| 61 | بنية حمض الغاليك (AG) | الشكل (10.III) |
| الجزء التطبيقي | | |
| الفصل الرابع: الطرق والوسائل | | |
| 70 | خريطة موقع ورماس | الشكل (1.IV) |
| 71 | عملية التجفيف والطحن | الشكل (2.IV) |
| 75 | مراحل استخلاص الفينولات بطريقة التنقيع | الشكل (3.IV) |
| 76 | مخطط استخلاص الفينولات بطريقة النقع | الشكل (4.IV) |
| 78 | مراحل استخلاص الفينولات بطريقة سوكسلي بمذيب الميثانول | الشكل (5.IV) |
| 78 | مخطط استخلاص الفينولات بطريقة سوكسلي بمذيب الميثانول | الشكل (6.IV) |
| 81 | مراحل استخلاص الفينولات بطريقة سوكسلي بمذيب ايثانول | الشكل (7.IV) |
| 81 | مخطط استخلاص الفينولات بطريقة سوكسلي بمذيب ايثانول | الشكل (8.IV) |
| 84 | مكونات جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية | الشكل (9.IV) |
| 86 | المنحنى قياسي لحمض الغاليك | الشكل (10.IV) |
| 86 | المحاليل بعد إضافة كاشف الفولين | الشكل (11.IV) |
| 88 | المنحنى القياسي لحمض الكرسيتين | الشكل (12.IV) |
| 88 | المحاليل بعد إضافة ثلاثي الكلوريد الالمنيوم | الشكل (13.IV) |
| الفصل الخامس: النتائج والمناقشة | | |
| 94 | مخطط نسبة مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية | الشكل (1.V) |
| 96 | مخطط كمية الفينولات الكلية في المستخلصة | الشكل (2.V) |
| 97 | مخطط كمية الفلافونويدات المستخلصة | الشكل (3.V) |

| بالأجنبية | بالعربية | |
|---|-----------------------------------|----------------|
| Pourcentage | النسبة المئوية | % |
| Degré celsius | درجة مئوية | C ⁰ |
| Absorbance | الامتصاصية | A |
| Acide Gallique | حمض الغاليك | AG |
| Acide Quercitine | حمض الكرسيتين | AQ |
| Spectrophotomètre ultra-violet et visible | طيف الأشعة فوق البنفسجية والمرئية | UV-vis |
| -Diphenyl-1-picrylhydrazyl _{2,2} | جذر فينيل بكريل هيدرازيل | DPPH |
| Acide Désoxyribonucléique | حمض نووي ريبوزي منقوص الأكسجين | ADN |
| Escherichia coli | اشيريشيا كولي | E- coli |
| Salmonella thyfi | السالمونيلا تيفي | Sa. t |
| Staphylococcus aureus | ستافيلوكوكيز أروز | St. a |

مقدمة عامة

تحتل النباتات الطبية في الوقت الحاضر مكانة عظيمة في الإنتاج الزراعي والصناعي للكثير من دول العالم، خاصة وأنها تعد المصدر الأساسي للخلاصات والمواد الفعالة التي تستعمل في صناعة الدواء ، كما تعد أحد المصادر الهامة بل والرئيسية للعقاقير الطبية ذات الأصل النباتي [1].

وقد عرف العالم Dragendroof النبات الطبي على انه كل شيء من أصل نباتي ويستعمل طبيا فهو نبات طبي [2].

وتعتبر النباتات الطبية هي المصدر الرئيسي للمركبات الفينولية كمنتجات ثانوية، إلا انه هناك تفاوت في طرق الاستخلاص لهذه المركبات [3].

ومن اجل معرفة مدى اهمية وتأثير طرق الاستخلاص على الفاعلية البيولوجية، تم انجاز هذا العمل والمتمثل في دراسة مقارنة لطريقتين في استخلاص المواد الفعالة لحبوب لقاح نبات النخيل (الذكار)، وكذا معرفة فاعليته البيولوجية من خلال الدراسات السابقة، ويعتبر حبوب لقاح نبات النخيل أهم كنوز النباتات الطبية في جنوب الجزائر، حيث يستخدم تقليديا في علاج عدة أمراض.

والهدف من هذه الدراسة هو اظهار الطريقة الأحسن في استخلاص المواد الفعالة من حبوب اللقاح لهذا الصدد طرحنا الإشكاليات التالية:

- ما مدى احتوى حبوب لقاح النخيل على الفينولات؟
 - أي من طرق استخلاص تعطي تقدير كمي أفضل؟
- وقصد الإجابة عن الإشكاليات المطروحة قسمنا بحثنا إلى:

الجزء النظري يتضمن ثلاثة فصول:

- ✓ الفصل الأول: دراسة عامة حول حبوب اللقاح لنبات النخيل.
- ✓ الفصل الثاني: دراسة كيميائية للمنتجات الطبيعية.
- ✓ الفصل الثالث: الدراسة البيولوجية.

الجزء العملي: يتضمن فصلين

✓ الفصل الرابع: الطرق والوسائل

✓ الفصل الخامس: النتائج والمناقشة.

وفي الأخير خاتمة تلخص النتائج المتحصل عليها.

الجزء النظري

الفصل الأول

عموميات حول حبوب لقاح النخيل

1.1. دراسة عامة حول نخلة التمر:

تمهيد:

تعد نخلة التمر *Phoenix dactylifera* L. من الأشجار المهمة التي ارتبط اسمها بكثير من الحضارات وكانت مصدرا أساسيا لغذاء الشعوب^[1]، وهي من أقدم أشجار الفاكهة التي عرفها الإنسان وعمل على زراعتها، تتمتع هذه الشجرة بصفات عديدة وفريدة أكسبتها ميزة نسبية وتوقفا على العديد من الأشجار المثمرة، لما تمتاز به من أهمية غذائية وطبية وما تقدمه من فوائد صناعية وبيئية، إضافة لتحملها للإجهادات البيئية كالحرارة العالية والملوحة^[2].

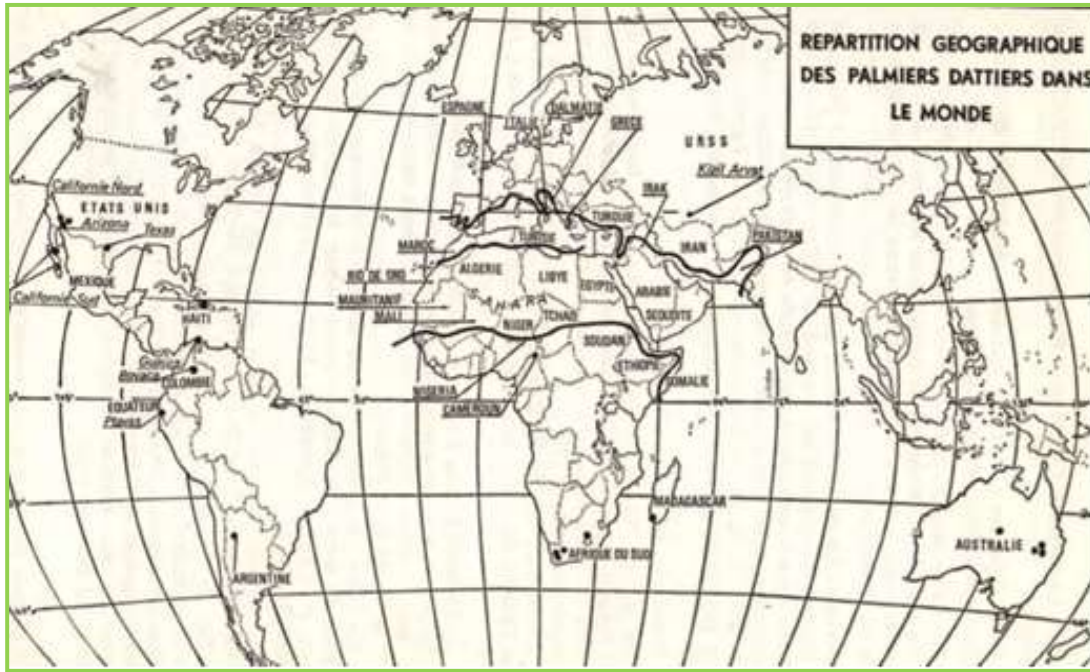
1.1.1. أصل نخلة التمر:

تحتل أشجار النخيل مكانا مهما في مناطق الواحات والصحاري، ويفضل مورفولوجيتها المتميزة تمكنت من التأقلم في هذه المناطق ذات المناخ الصعب^{[3]-[4]}.

ويعتقد بعض الباحثين أن النخيل المزروع في الجنوب الشرقي لآسيا أو الشمال الإفريقي يعتبر موطنها الأصلي، ومن ثم انتشرت إلى باقي الأماكن الأخرى. أما الفرضية الأخرى فإن أصل نخيل التمر كان برياً وبأنواع كثيرة وبعد توزعها في نطاقها الحالي أصبحت بشكل مغروس. وشجرة *Phoenix dactylifera* L. تمتاز بتاريخها الطويل بحيث تعود إلى ما قبل التاريخ أي قبل ظهور الكتابة^[5].

2.1.I. التوزيع الجغرافي لنخلة التمر:

تمتد الحدود الخارجية العالمية لزراعة نخيل التمر بين خطي عرض 10° و 39° شمالاً^[6]، تتركز هذه الزراعة بكثرة في المناطق الجافة جنوب البحر المتوسط وفي الجوانب الجنوبية للشرق الأوسط إذ نميزها ما بين جنوب إيران شرقاً وحدود شمال إفريقيا مع المحيط الأطلسي غرباً^[7]، كما هو موضح في الشكل (1-I).



الشكل (1-I): الانتشار الجغرافي لنخلة التمر في العالم.

3.1.I. التصنيف النباتي لنخيل التمر:

يدعى نخيل التمر علمياً *Phoenix dactylifera* L. من طرف العالم Linné عام 1753م، حيث جاء الاسم Phoenix من التسمية اليونانية للتمر وهي مأخوذة من فينيقيا *Phoenicia* وتشير إلى الاسم القديم لمدينة فينيقية، أما *dactylifera* مشتقة من الاسم اليوناني *dactylos* بمعنى الشكل الإصبعي لشكل التمرة^{[8]-[9]}. ويعتبر نخيل التمر من النباتات ذات الفلقة الواحدة، ثنائية المسكن أي أن النخلة تحمل أزهار ذكورية وتسمى النخلة الذكر (الذكار)، ونخلة أخرى تحمل أزهار أنثوية وهي المثمرة^[10].

ويمكن توضيح التصنيف النباتي لنخيل التمر في الجدول (1-I).

الجدول (1-I): التصنيف النباتي لنخلة التمر *Phoenix dactylifera* L.

| المملكة | النباتية | Plantae |
|----------|---------------------------|-------------------------------|
| شعبة | النباتات الوعائية المزهرة | Anthophyta |
| الصف | مغطاة البذور | Angiospermae |
| تحت الصف | ذوات الفلقة الواحدة | Monocotyledonae |
| الرتبة | النخيليات | Palmalea |
| العائلة | النخيلية | Arecaceae |
| الجنس | النخيل الريشي | <i>Phoenix</i> |
| النوع | نخيل التمر | <i>Phoenix dactylifera</i> L. |

4.1.I . الوصف المورفولوجي للنخلة:

يعرف نخيل التمر بأشجار معمرة ومستديمة الخضرة^[11]، من النباتات أحادية الفلقة ذات الساق الواحد ونقطة نمو واحدة داخل الجذع قريبة من قمته، وهو لا يملك كامبيوم إسطواني وبالتالي لايزداد الجذع في السماكة، أي المحيط ثابت تقريبا مهما تقدمت النخلة في العمر، ولتسهيل الوصف النباتي فإنه يمكن تقسيم النخلة إلى ثلاثة أجزاء^[12]:

1.4.1. I . النظام الجذري:

تعتمد نخلة التمر على المجموع الجذري في تثبيتها وامتصاص الماء والغذاء من التربة، وهي جذور عرضية ليفية، بحيث تخرج من القاعدة المنتقخة للجذع^[13]، وتمتد الجذور حسب المناطق لعمق من 8 إلى 10 متر وجانبيا إلى أكثر من 7 متر، وكثافتها في التربة تكون بشكل متناقص إلى الأسفل (العمق)، حيث عدد وكثافة الجذور يتغيران حسب طبيعة التربة والعوامل المناخية والأصناف^[14].

2.4.1.I. النظام الخضري:**▪ الجذع:**

هو ساق خشبي اسطواني مستقيم الشكل ذو سمك متساوي من الأعلى إلى الأسفل نسبياً يحمل الأوراق على الطرف العلوي، و قد يصل طول الساق إلى 30متراً أما القطر فيختلف حسب الأصناف والبيئة التي يزرع فيها [15]-[16].

▪ الأوراق(السعف):

تتميز الأوراق بأنها مركبة ريشية الشكل تحمل أشواكا عند القاعدة^[17]، تغطي الأوراق بطبقة شمعية لحمايتها من الظروف البيئية، يتراوح طولها ما بين 3 إلى 5 أمتار وفي بعض الأصناف يصل إلى 7 أمتار. وهي عبارة عن عضو نباتي محدود النمو، غني بالكلوروفيل ومهمتها الأساسية التركيب الضوئي وصنع الكربوهيدرات^[16].

3.4.1.I. النظام الزهري:

النخيل من الأشجار ثنائية المسكن، لذا نجد أن الأزهار الذكورية ينفرد بحملها الذكر (الفحل) بينما الأزهار الأنثوية تحملها الأنثى (النخلة)^[18]. تبدأ الأزهار في الظهور على شكل أكياس أو أوعية جلدية تسمى الأغريض أو (المجف) وعند إنشقاقها تظهر على شكل نورة مؤنثة أو مذكرة حسب نوع النخلة^[17].

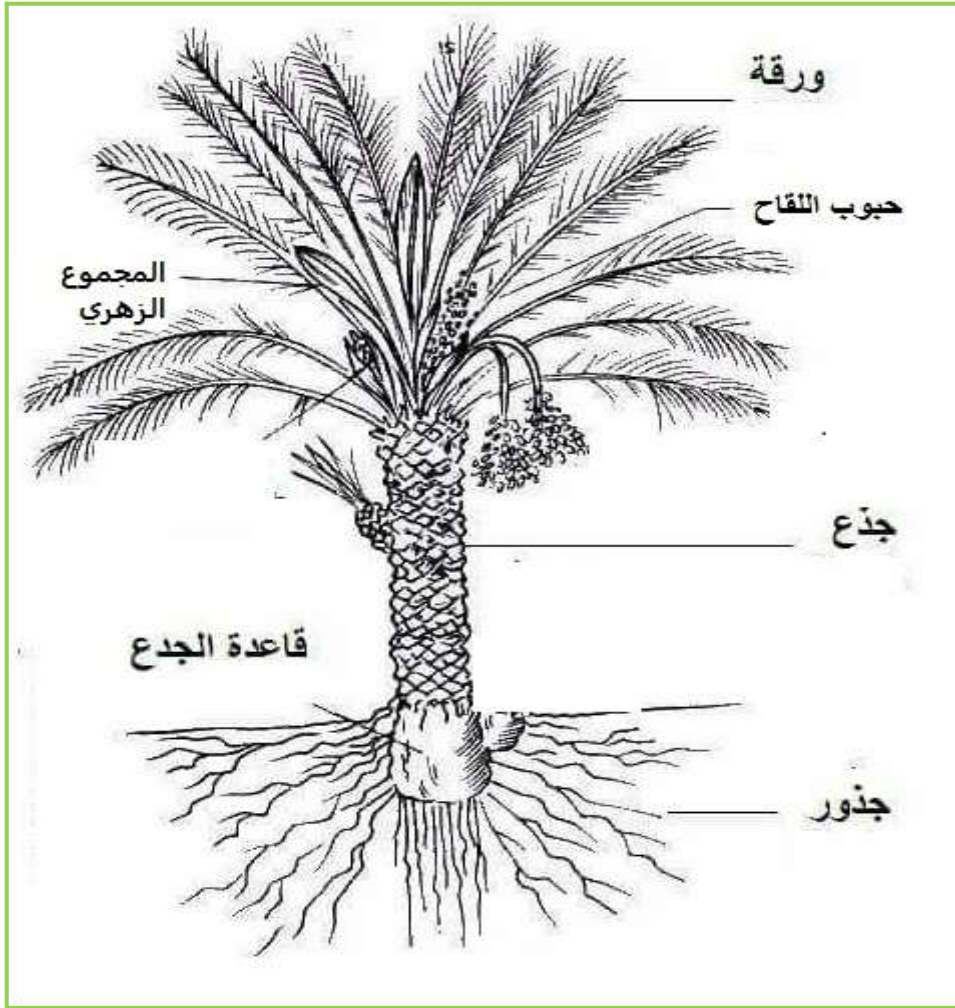
▪ النورة المؤنثة:

تتكون من ساق يسمى العرجون وتحمل عدد من الشماريخ والتي بدورها تحمل الأزهار المؤنثة ولونها أصفر مائل إلى الخضرة^[17].

▪ النورة المذكرة:

تتكون من ساق يسمى العرجون وتحمل عدد من الشماريخ والتي بدورها تحمل الأزهار المذكرة ولونها أصفر وعند تحريك الأزهار يتطاير الغبار الأصفر وهي حبوب اللقاح^[17].

الشكل (2-I) يوضح رسم تخطيطي لشجرة نخيل التمر.



الشكل (2-I): رسم تخطيطي لشجرة نخيل التمر.

2.I. حبوب لقاح النخيل (Date palm Pollen)

تمهيد:

كثيرا ما وصفت النخلة ومعظم أجزائها بأنها منجم للفوائد وللمواد ذات القيمة الغذائية العالية فقد وجد أن حبوب لقاح النخيل تحتوي على مجموعة من المواد الكيميائية الفعالة منها الفينولات والقلويدات والمعادن ، فحبوب لقاح النخيل تعتبر من أهم العلاجات الشعبية وأقدمها فاستعملت لعلاج الأمعاء والوقاية من الإمساك وفقر الدم [19].

I. 1.2. تعريف حبوب اللقاح (الذكور) :

تشكل حبوب اللقاح غبار ناعم جدا من الحبوب المجهرية التي تنتج في العضو الذكري أو الأمشاج الذكرية [20]، وهي خلايا جنسية لها وظيفة محددة في التلقيح والإخصاب [21].

تنمو حبوب عادة داخل كيس اللقاح الموجود في متك الزهرة المذكرة، تحوي متوك الأزهار عددا كبير من حبوب اللقاح، ويقدر عدد حبوب اللقاح في الغرام الواحد بنحو (2250 مليون حبة) [22].



الشكل (4-I): غبار حبوب لقاح



الشكل (3-I): حبوب لقاح النخيل

I. 2.2. تركيبة حبوب اللقاح :

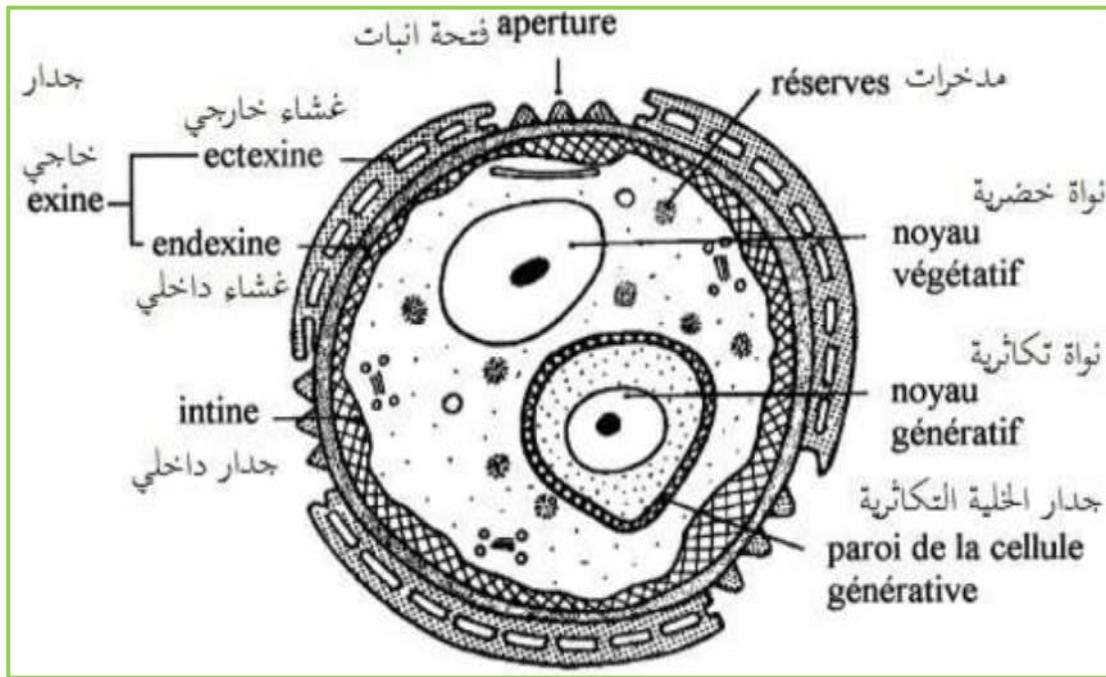
تتكون كل حبة لقاح من خليتين صغيرتين، خلية ذكرية وخلية إعاشية كبيرة محاطة بغلاف يسمى Spormoderme المتكون من جدارين منفصلين [23]:

1.2.2.I الجدار الخارجي (Exine) : عبارة عن مادة عضوية صلبة مقاومة [24]، للتحلل لاحتوائه

على Sporopollinine الصلبة، تركيبها الجزيئي يكون على أساس البوليميرات، وأسترات الكاروتينويد [23]، ينقسم الجدار الخارجي بدوره إلى جزئين:

- طبقة داخلية غير منتظمة وتسمى L' endexine.
- طبقة خارجية منتظمة L' ectexine: وهي التي تحدد الخارجية لحبوب اللقاح [25].

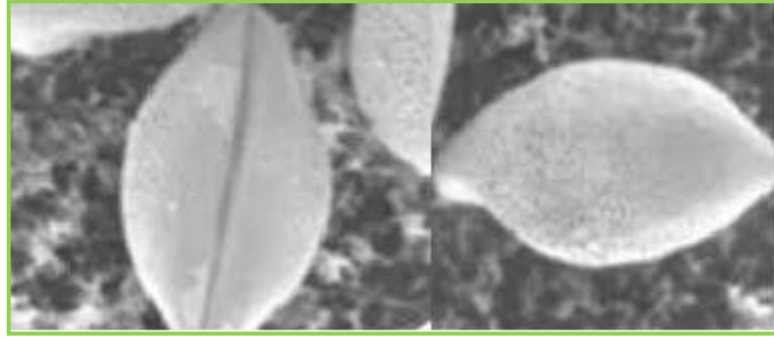
2.2.2.I الجدار الداخلي (Intine) : يحتوي على السكريات والذي يعطي الأنبوب الطلعي أثناء الانبات [18].



الشكل (5-I): بنية حبوب اللقاح

3.2.I الخصائص الفيزيائية للقاح النخيل:

- الشكل: إن تركيب حبوب لقاح النخلة لا يختلف كثيرا عن حبة لقاح النباتات الأخرى عدا كونها بيضوية أو مغزلية الشكل مع وجود شق وسطي واحد على السطح يمتد على طول حبة اللقاح [26].



الشكل (6-I): صورة بالمجهر الإلكتروني لحبوب لقاح النخيل

- الحجم: يقدر قطر حبوب لقاح النخيل بـ 5 ميكرون وقد تصل إلى 200-250 ميكرون باختلاف أصناف حبوب اللقاح [27]، ويتراوح طول حبة اللقاح بصفة عامة من 17 ميكرون 25 ميكرون، بينما يتراوح عرضها من 2 إلى 8.1 ميكرون [25].
- اللون: يختلف لون حبوب اللقاح من جنس إلى آخر، فهناك اللون الأصفر والبرتقالي والأبيض، الرمادي، الأرجواني، البني، الأسود [25].
- فتحات الإنبات: ينتشر على سطح حبة اللقاح مسام أو ثقوب (Pores)، يختلف عددها في وحدة المساحة باختلاف الأصناف، هذه الثقوب هي فتحات إنبات حيث يخرج منها أنابيب اللقاح في منطقة الإنبات، كما يمكن أن تكون بمثابة بوابة للمياه أو غيرها من المواد الصلبة. كما ان هذه الفتحات مقاومة لتغيرات الحجم في حالة الجفاف أو الإماهة [28].



توزع فتحات الإنبات في حبة لقاح النخيل



مظهر عام لحبوب لقاح النخيل

الشكل (7-I): صورة بالمجهر الإلكتروني لسطح حبة لقاح النخيل

4.2.I. التركيبة الكيميائية لحبوب اللقاح:

- أثبتت الدراسات أن حبوب لقاح النخيل يعد مصدرا جيدا لكثير من المكونات الهامة والمفيدة من بروتينات وفيتامينات، إنزيمات وغيرها من المكونات. وفيما يلي بعض مكونات حبوب لقاح النخيل [29]:
- **الماء:** يمثل الماء عنصر هام لجميع الكائنات الحية الحيوانية والنباتية، ويشكل نسبة 11% في حبوب الطلع الطازجة و 5% في حبوب الطلع الجافة [27].
 - **الفيتامينات:** تتواجد ثلاثة فيتامينات أساسية في حبوب طلع النخيل وهي فيتامين A حيث يتواجد بكمية 7728.33IU/100g، كما يوجد فيتامين B وفيتامين C وهي عبارة عن فيتامينات مضادة للأكسدة.
 - **المعادن:** حبوب طلع النخيل تشكل مصدرا غنيا من العناصر المعدنية، ويختلف المحتوى المعدني لحبوب لقاح النخيل من صنف إلى آخر. ويمثل الجدول التالي كمية المعادن المتواجدة في 100 غرام من حبوب اللقاح النخيل [30].

الجدول (2.I): العناصر المعدنية الموجودة في حبوب لقاح النخيل

| المعدن | الكمية بـ: mg/100g |
|------------|--------------------|
| النحاس | 319.6 |
| البورون | 309.4 |
| الكوبالت | 305.4 |
| سيلينيوم | 305 |
| نيكل | 302.4 |
| موليبدينوم | 302.2 |
| المنغنيز | 284 |
| الزنك | 281 |
| الحديد | 241 |

- **الإنزيمات والخمائر:** تحتوي حبوب اللقاح على الكثير من الإنزيمات والخمائر التي تستخدم كعوامل مساعدة في التفاعلات الكيميائية أهمها: الأميلاز، الفوسفاتاز وليبيز [31].

- مساعدات الإنزيمات: أهمها سيتوكوم وأيزوميريز [18].
- المركبات الفينولية: يحتوي على العديد من المركبات الفينولية من بينهم حمض الغاليك وروتين [32].
- الهرمونات: يتواجد هرمون الاستروجين بأشكاله الثلاثة: الاسترون، الاستراديوم والاستريول [33].
- الصبغات: تتمثل في الكاروتين (Carotène) والكزانثوفيل (Xanthophyll) [34].
- الرماد: يشكل 6% من كمية حبوب اللقاح [27].
- الألياف: تمثل نسبة 1.37%.
- البروتينات: وتمثل 31.11% من مكونات حبوب اللقاح مع وجود نسبة كبيرة من الأحماض الأمينية حيث يوجد حوالي 17 حمض أميني مختلف من بينهم لوسين، ليسين وهستيدين [35].

5.2.I الخصائص العلاجية لحبوب لقاح النخيل:

لقد أثبتت الأبحاث الطبية التي أجريت على حبوب لقاح النخيل أنه مقدمة لمقويات الجسم لكثرة المواد الدهنية فيها بالإضافة إلى إحتوائها على الهرمون الاسترون الذي ينشط المبيض وينظم دورة الطمث ويساعد على تكوين البويضة، وقد عزلت مادة الروتين منه التي يتكون منها عقار يقوي الشعيرات الدموية في الجسم الإنسان، ويحميها من الانفجار. لذا نجد أن حبوب اللقاح تستخدم لعلاج الكثير من الأمراض الموضحة في مايلي [18]:

- يعمل كقابض حيث يساعد على تجفيف المعدة، كما أن الألياف الموجودة فيه تساعد على تنشيط حركة الأمعاء والوقاية من الإمساك [36].
- مقوي للجسم بصفة عامة لاحتوائه على نسبة عالية من الفيتامينات واملاح الفسفور [18].
- يساعد على الحفاظ على النسيج الضام في الرئتين والعظام، كما يحمي الايلاستين (بروتين ليفي).
- مهدئ للأعصاب ويحارب التعب الفكري، والوهن العصبي.
- مفيد لحالات فقر الدم وضعف المناعة لإحتوائه على معادن مهمة لإنتاج كريات دم نقية ونشطة [36].
- يساعد على زيادة انتاج الحيوانات المنوية عند الرجال، ما يسهم في زيادة فرص تعزيز الإخصاب [37].
- يستعمل كمضادات الالتهابات، وله فاعلية ضد الحساسية لإحتوائه على الزنك [36]-[38].

6.2.I. الدراسات السابقة حول حبوب لقاح النخيل:

- توصل Bukhaev واخرين من خلال دراستهم لحبوب لقاح وأزهار خمسة أصناف من فحول نخيل التمر ، أن هناك إختلاف في التركيب الكيميائي لحبوب اللقاح كما يعتبر حبوب اللقاح مادة غذائية جيدة لإحتوائها على العديد من المركبات الكيميائية والعناصر المعدنية وبعض المكونات الأخرى^[39].
- وقد أكدت أيضا Amany M واخرين من خلال دراستها للتحليل الكيميائي لحبوب لقاح النخيل على إحتوائها على مركبات غذائية مثل الكربوهيدرات والبروتينات والأحماض الأمينية والدهون بإضافة إلى الفيتامينات والمعادن^[40].
- وفي دراسة أجراها Kroyer واخرين على مستخلصات حبوب اللقاح كمكمل غذائي وظيفي مع تقييم خصائصه النشطة بيولوجيا أثبت فيها إحتواء حبوب اللقاح على كميات كبيرة من متعددات الفينول وخاصة الفلافونيدات^[41].
- وفي دراسة لـ Mohamed HM واخرين قام خلالها بدراسة تحديد النشاطية الفينولية والبيولوجية للمستخلص الميثانولي لحبوب لقاح النخيل حيث أظهرت النتائج أن المستخلص الميثانولي له نشاط مضاد للبكتيريا والفطريات^[42].
- وأشارت Amal D واخرين عند تقييمها للبوليفينول ومضادات الأكسدة والخصائص المضادة للبكتيريا لمختلف مستخلصات لقاح نخيل التمر من صنف تونسي إلى أنه يمكن اعتبار حبوب اللقاح مصدرا لمضادات الأكسدة الطبيعية وأيضا مضاد للمكروبات^[43].

المراجع

المراجع باللغة العربية:

- [1] محمد عبد الرزاق حميد. (2005). مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر، حساسية أصناف مختلفة من نخيل التمر *Phoenix dactylifera L* للإصابة بالفطر *Mauginiells scaet Cav* المسبب لمرض خياس الطلع. المجلد 4. العدد (1). ص 38.
- [2] مصطفى الحمادي. (2017). مجلة جامعة البعث، تأثير المعاملة بمنظمة النمو على تجذير ونمو رواكيب صنف نخيل التمر برحي. المجلد 39. العدد (30). ص 177.
- [5] عيسى جروني. (2016). دراسة مقارنة لتأثير حبوب لقاح نخيل التمر (*Phoenix dactylifera L.*) الذكرية على صفات ثمار بعض الأصناف الأنثوية. أطروحة دكتوراه الطور الثالث، تخصص القواعد البيولوجية للإنتاج والتنوع الحيوي النباتي. جامعة الإخوة منتوري قسنطينة. ص 2.
- [8] بلال بن عمر. (2016). انتخاب أشجار النخيل المذكورة بمحطة الضاوية (واد سوف، الجزائر) دراسة ميدانية ومخبرية. رسالة لنيل شهادة الدكتوراه الطور الثالث، تخصص بيولوجيا النبات والمحيط. جامعة باجي مختار عنابة. ص 6.
- [9] د.حسن خالد حسين العكيدي. (2010). نخلة التمر سيدة شجر ودرة الثمرة. دار آمنة للنشر والتوزيع. عمان. ص 25.
- [10] مراد رشدي أمين. (1990). بحوث في النخيل الجزء الأول. المركز الوطني التربوي الفلاحي. الجزائر.
- [12] فتحي حسين أحمد ومحمد سعيد القحطاني ويوسف والي. (1979). زراعة النخيل ونتاج التمور في العالمين العربي والإسلامي. مطبعة عين شمس. مصر. ص 158-205.
- [13] كعكة وليد عبد الغني. (2004). نخيل التمر في الإمارات المتحدة العربية. جامعة الإمارات المتحدة العربية. أبو ظبي. ط 2. ص 228.
- [14] البكر عبد الجبار. (1972). نخيل التمر، ماضيها حاضرها والجديد في زراعتها، صناعتها وتجارتها. دار النشر الوطن. بغداد. ص 1085.
- [15] مصطفى بن علي. (2018). دراسة الجزء الليبيدي والفينولي لنوى بعض أصناف التمور المحلية. رسالة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه في العلوم، تخصص كيمياء. جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص 16.

- [16] د. عبد الباسط عودة إبراهيم. (2008). نخلة التمر شجرة الحياة، المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة (أكساد). جامعة الدول العربية. ص 91-100.
- [17] محمد منذر البابا. (2000). شجرة نخيل البلح إكثارها، رعايتها، أصنافها، آفاتها، وزارة الزراعة والاصلاح الزراعي مديرية الارشاد الزراعي، قسم الاعلام. رقم النشرة 439. سوريا. ص 30.
- [18] سعودي بن عبد الكريم ورمزي عبد الرحيم أبو عيانة. (2016). المنتجات الثانوية للنخيل...أنواعها وأهميتها الاقتصادية. ط2. ص 83-97.
- [19] جميل كريم والي وآخرون. (2011). تأثير معلق حبوب لقاح النخيل *Phoenix dactylifera* في نشأة النطفة وبعض المعايير الكيميوحيوية في الجردان البيض. مجلة بغداد للعلوم. 8(1). ص 254-262.
- [21] عماد عبد الكريم محمد رضا الذهب. (2019). دراسة تقييمية لأفضل متباينة من نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. أطروحة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه فلسفة في العلوم الزراعية، بستنة وهندسة حدائق، فسلجة. جامعة البصرة، العراق. ص 17.
- [27] سعودي بن عبد الكريم ورمزي عبد الرحيم أبو عيانة. (2012). المكونات الغذائية والأهمية الاقتصادية لحبوب اللقاح، الشجرة المباركة. ص 64-65.
- [29] عميش مريم وثابتي عبلة. (2012). دراسة تأثير حبوب طلع النخيل على بعض مؤشرات التكاثر عند ذكور الأرناب المعرضة للتسمم بالفتالات. مذكرة لنيل شهادة الماستر، تخصص بيولوجيا و فيزيولوجيا التكاثر عند الثدييات. جامعة العربي بن مهدي أم البواقي. ص 6.
- [32] زيبيدي فاطمة الزهراء. (2018). كشف واستخلاص الفينولات والتربينات الثلاثية والسترويدات لطلع النخيل ودراسة فعاليته البيولوجية. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية. جامعة حمه لخضر الوادي. ص 23.
- [37] د. عبد الباسط عودة إبراهيم. (2014). نخلة التمر تاريخ وتراث، الغذاء والدواء. مركز عيسى الثقافي. ص 160.

المراجع باللغة الأجنبية:

- [3] Chouaki, S., Bessedik, F., Chebouti, A., Maamri, F., Oumata, S., Kheldoun, S., ... & Kheldoun, A. (2006). Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques. INRAA/FAO/Juin. p10.
- [4] Kriaa, W., Sghaier-Hammami, B., Masmoudi-Allouche, F., Benjemaa-Masmoudi, R., & Drira, N. (2012). The date palm (*Phoenix dactylifera* L.) micropropagation using completely mature female flowers. *Comptes Rendus Biologies*, 335(3), 194-204.
- [6] Rhouma, A. (1994). Le palmier dattier en Tunisie, I. Le patrimoine génétique. Arabesques, INRA Tunisie, GRIDAO France, PNUD/FAO, vol. 1, Tunis, 254 p.
- [7] Munier, P. (1973). Le palmier-dattier (Vol. 24). Maisonneuve et Larose. Paris. 221p.
- [11] Balaket, R. T. M. A., & Al-Himidawi, A. M. S. (2015). Effect of the humus organic acids (humic and folvic) and irrigation water quality on the some of vegetative growth indicators of young date palm (*Phoenix dactylifera* L.) trees CV Barhee. *Kufa Journal for Agricultural Sciences*, 7(1), 22-40
- [20] Brooks, J., & Shaw, G. (1978). Sporopollenin: a review of its chemistry, palaeochemistry and geochemistry. *Grana*, 17(2), 91-97.
- [22] Sedra, M. H. (2003). Le palmier dattier base de la mise en valeur des oasis au Maroc: techniques phoénicoles et création d'oasis. INRA Editions. p 22
- [23] Laaidi, K., Laaidi, M., & Besancenot, J. P. (1997). Pollens, pollinoses et météorologie. La météorologie. Centre national de la recherche scientifique. Boulevard Jeanne. Série 8 n20.
- [24] Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- [25] Salima, M. B. (2016). Le contenu pollinique atmosphérique de la région de Annaba et sa relation avec la pollinose (Doctoral dissertation, Université Badji Mokhtar Annaba)

- [26] Soliman, S. S., & Al-Obeed, R. S. (2013). Investigations on the pollen morphology of some date palm males (*Phoenix dactylifera* L.) in Saudi Arabia. *Australian Journal of Crop Science*, 7(9), 1355-1360.
- [28] Penet, L. (2005). Evolution de la morphologie du pollen chez les angiospermes: sélection naturelle et/ou contraintes développementales ?. Thèse, université Paris XI, Université Paris XI, Université Paris XI. 15.
- [30] Hassan, H. M. (2011). Chemical composition and nutritional value of palm pollen grains. *Global J Biotechnol Biochem*, 6(1), 1-7.
- [31] Makridakis, S., Wheelwright, S. C., & Hyndman, R. J. (1998). *Forecasting: Methods and Applications* (3rd edition). New York: Prentice Hall. p 288.
- [33] Tahvilzadeh, M., Hajimahmoodi, M., & Rahimi, R. (2015). The role of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) pollen in fertility : a comprehensive review of current evidence. *Journal of evidence-based*. 21(4) : 320-324.
- [34] Tatar, T., & Akdevelioğlu, Y. (2017). Effect of pollen, pit powder, and gemmule extract of date palm on male infertility : a systematic review. *Journal of the American College of Nutrition*. Turkey.
- [35] Mehraban, F., Jafari, M., Toori, M. A., Sadeghi, H., Joodi, B., Mostafazade, M., & Sadeghi, H. (2014). Effects of date palm pollen (*Phoenix dactylifera* L.) and *Astragalus ovinus* on sperm parameters and sex hormones in adult male rats. *Iranian journal of reproductive medicine*, 12(10), 705.
- [36] Ihsan, I., Jameel, A., Ibrahim, S. (2011). Effect of *Phoenix dactylifera* pollen grains suspension on spermatogenesis and some biochemical parameters. *Aghdad science journal*. 8(1).
- [38] Abdi, F., Roozbeh, N., & Mortazavian, A. M. (2017). Effects of date palm pollen on fertility: research proposal for a systematic review. *BMC research notes*, 10(1), 1-4.
- [39] Bukhaev, V. T., Zaki, F. S., Toma, J. S., & Ali, L. M. (1983). Studies on the pollen and flowers of five male cultivars of Iraqi date palm (*Phoenix dactylifera* L.) date palm J2(2): 197-209.
- [40] Amany, M. B., Arafat, S. M., & Soliman, H. M. (2013). Chemical analysis of olive and palm pollen: Antioxidant and antimicrobial activation properties. *Wudpecker J Food Technol*, 1(2), 014-021.

- [41] Kroyer, G., Hegedus, N. (2001). Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2(3), 171-174.
- [42] Mohamed HM, A. E. A., El-Mesalamy, A. M. D., Yassin, F. A., & Khalil, S. A. (2015). Identification phenolic and biological activities of methanolic extract of date palm pollen (*Phoenix dactylifera*). *J Microb Biochem Technol*, 7(1), 047-050.
- [43] Amal, D., Malika, D., Bakari, S., Hfaiedh, N., Mnafgui, K., Kadri, A., & Gharsallah, N. (2019). Assessment of polyphenol composition, antioxidant and antimicrobial properties of various extracts of Date Palm Pollen (DPP) from two Tunisian cultivars. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 3075-3086.

الفصل الثاني المركبات الفينولية

تمهيد:

يتقدم علم التداوي بمفهومه الحديث تقدما كبيرا في مختلف أرجاء العالم ويزداد الاهتمام بدراسة النباتات الطبية إذ تحتوي النباتات على عدد كبير جدا من المركبات الفعالة طبيا التي تعكس الإمكانيات العلاجية الكبيرة لها، فمن المعلوم أن لبعض العقاقير النباتية قدرة علاجية أكبر من تلك الأدوية المصنعة في معالجة بعض الأمراض بالإضافة لاحتوائها على مواد غذائية وفيتامينات فضلا عن المكونات الفعالة^[1].

II. 1. تعريف المنتجات الطبيعية:

يطلق دارسو الكيمياء العضوية لفظ "المنتجات الطبيعية" على المركبات التي تنتج بواسطة الكائن الحي^[2]، وأكثر هذه المكونات أهمية تلك التي تؤدي دورا في التفاعلات الأيضية، والتي يتم فصلها من النباتات والكائنات الحية الدقيقة. وهي جزيئات تنتج انطلاقا من عمليات الأيض، ونميز منها قسمين: أبيض أولي وأيض ثانوي^[3].

II. 1.1. الأيض الأولي (Metabolites premieres) :

تتميز المنتجات الأولية بخاصيتها الحيوية والضرورية لبقاء الخلية في الجسم، فهي مركبات تدخل في التفاعلات الأولية، وتشير في الغالب إلى العمليات الأيضية (Metabolites premieres) التي تنتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة والأحماض الأمينية، السكريات، والدهون والبروتين^[4].

II. 2.1. الأيض الثانوي (Metabolites secondaires):

هناك عديد من المركبات التي تنتج في النبات يطلق عليها اسم المشتقات الثانوية لعمليات الأيض الثانوي وتشمل كل من التربينات والفينولات والقلويدات وغيرها^[5].

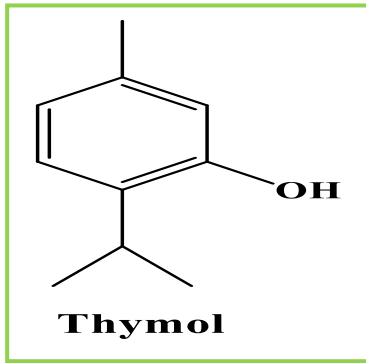
وهي جزيئات كبيرة العدد، لها شكل بنيوي ولها استعمالات دوائية عديدة، وتسمى بالمنتجات الطبيعية الفعالة، إذ تعتبر مركبات الأيض الأولي المواد البدائية لها، ولهذا فهي تمثل مركبات الأيض الثانوي، وهناك ثلاثة مواد أولية رئيسية وهي حمض الشيكيميك والأسيتات والأحماض الأمينية والتي تعتبر وحدات البناء للأبيض الثانوي^[4].

II. 2. الفينولات:

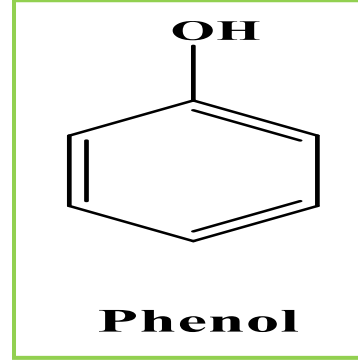
II. 1.2. تعريف المركبات الفينولية:

تعتبر المركبات الفينولية من بين أهم المركبات النباتية لنواتج الأيض الثانوي، حيث تشكل حيزا كبيرا في حقل المنتجات الطبيعية، نظرا لكثرة عددها ولتباين الهياكل البنائية لها [6]، حيث تتميز بنيتها الأساسية بوجود حلقة عطرية أو أكثر مرتبطة مباشرة بمجموعة أو أكثر من الهيدروكسيل (OH) أو المرتبطة بأستر، إيثر أو جزيئة سكرية [7]، غير أن تعريفا كيميائيا صرفا للفينولات بهذه الطريقة يعد غير كاف لتشخيص المركبات الفينولية النباتية، إذا أن هناك منتجات أيضية ثانوية أخرى تشمل هذا التعريف أيضا ولكنها تنتمي إلى مجموعات كيميائية نباتية مختلفة مثل بعض القلويدات كالمورفين (Morphin) وبعض التربينات كالثيمول (Thymol) التي تضم في بنائها حلقة بنزينية ومجموعة هيدروكسيل فينولية مما يستوجب إدخال شرط الإصطناع الحيوي لحصر حدود هذه المجموعة [8]، ويكون تعريف المركبات الفينولية أكثر ضبطا يستوجب أن يكون على النحو التالي:

مشتق غير آزوتي حاوي على حلقة بنزين أو أكثر تحمل مجموعة هيدروكسيل حرة أو مرتبطة بوظيفة أخرى اصطنعت حلقاتها العطرية إما من حمض شيكيمييك أو عديد الأسيئات [9].



الشكل (2. II): نموذج لمركب غير فينولي



الشكل (1. II): نموذج لمركب فينولي

II. 2.2. مصدر المركبات الفينولية:

إن للمركبات الفينولية انتشار واسع في المملكة النباتية كنواتج ثانوية لعملية التركيب الضوئي، وتعد الفاكهة واحدة من أغنى المصادر لهذه المركبات فضلا عن كون هذه المركبات مصدرا غذائيا فإن لها تأثيرات فيزيولوجية عديدة [10]، وبصورة أكبر تتواجد في الأجزاء الهوائية خاصة الأزهار والأوراق وذلك بشكل إيتروزيديت تذوب في الماء تتمركز في حوصلة الخلية، وتتواجد بصورة أقل في الخضر والحبوب [11].

II. 3.2. تصنيف المركبات الفينولية:

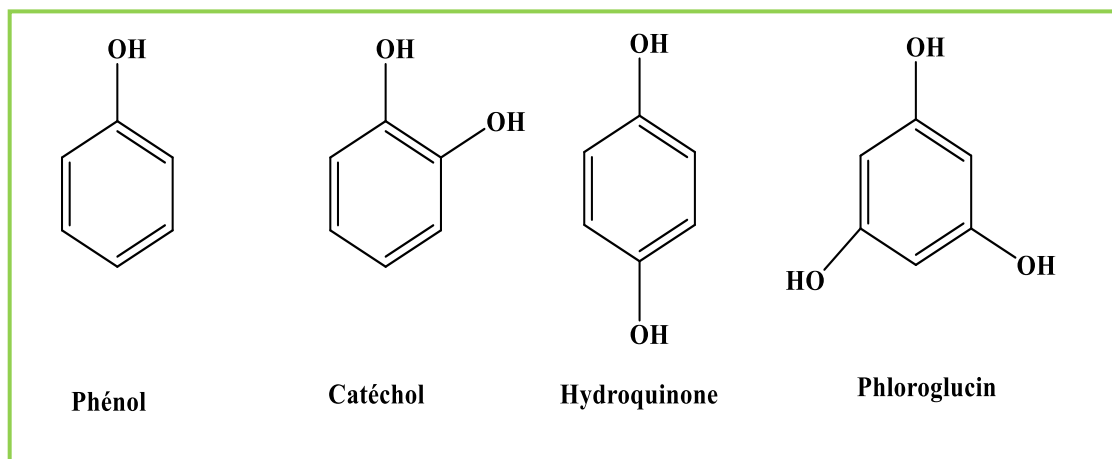
يمكن تصنيف المجموعات الكبيرة والمتنوعة من المركبات الفينولية على أساس عدد ذرات الكربون في الجزيء وحسب البنية وعدد الحلقات الأروماتية والعناصر المرتبطة بها ونلخص عملية التصنيف في جدول (1.II) [12]-[13].

الجدول (1.II): تصنيف المركبات الفينولية حسب بنيتها

| الهيكل الكربوني الأساسي | الصف |
|--|---|
| C ₆ | Phénols simple الفينولات البسيطة |
| C ₆ -C ₁ C ₆ -C ₃ | <p>Acidesphénols الأحماض الفينولية الكربوكسيلية</p> <ul style="list-style-type: none"> • Acideshydroxybenzoïque أحماض هيدروكسي بنزويك • Acideshydroxycinnamiques أحماض هيدروكسي سيناميك |
| C ₆ -C ₃ | Coumarines الكومارينات |
| C ₆ -C ₃ -C ₆ | Stilbènes الستلبيينات |
| C ₆ -C ₃ -C ₆ | <p>Flavonoïdes الفلافانويدات</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Flavones الفلافونات ▪ Flavonols الفلافونولات ▪ Flavanols الفلافانولات ▪ Flavanones الفلافانونات ▪ Isoflavones ايزوفلافونات ▪ Anthocyanes انثوسيانات |
| (C ₆ -C ₃) ₂ | Anthocyanes انثوسيانات |
| (C ₆ -C ₃) _n | Lignines اللغين |
| (C ₆ -C ₃ -C ₆) _n | <p>Tannins التانينات</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Tannins hydrolysables تانينات قابلة للتحلل ▪ Tannins condenses تانينات مكثفة |

II 1.3.2. الفينولات البسيطة (C₆) Phénols simple :

هي مركبات ذات الهيكل (C₆) والتي تحوي حلقة بنزين مرتبطة بواحدة أو أكثر من مجموعات الهيدروكسيل ومن ضمنها الفينول نفسه^[14]، فهي نادرة في الطبيعة باستثناء الهيدروكينون موجود في كثير من العائلات (ورديات، خلنجية)، والشكل (3.II) يبين بعض بنى الفينولات البسيطة^[15].



الشكل (3.II): بعض بنى الفينولات البسيطة

II 2.3.2. الأحماض الكربوكسيلية الفينولية Acides phenols carboxyliques

تطلق الأحماض الكربوكسيلية الفينولية على المركبات العضوية التي تحتوي على الأقل وظيفة كربوكسيلية ومجموعة هيدروكسيل فينولية^[16]، وتنقسم إلى مجموعتين:

II 1.2.3.2. الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك (C₆-C₁)

الأحماض الفينولية (C₆-C₁) هي مشتقات هيدروكسيلية لحمض البنزويك وتكون مجاميع الهيدروكسيل في حالة حرة أو مرتبطة بأستر أو سكر. ويوضح الجدول (2.II) بعض أحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك [9]-[17].

الجدول (2.II): بعض أنواع الأحماض المشتقة من حمض البنزويك

| الاسم | R4 | R3 | R2 | R1 | الهيكل الأساسية |
|---------------------|------------------|----|------------------|----|-----------------|
| Acide gallique | H | H | H | H | |
| Acide syringique | OCH ₃ | OH | OCH ₃ | H | |
| Acideprotocatechine | H | OH | OH | H | |
| Acidevanillique | H | OH | OCH ₃ | H | |

2.2.3.2. II : أحماض هيدروكسي سيناميك (C₃-C₆) :

تنتشر الأحماض المشتقة من حمض السيناميك بكثرة ويعتبر حمض (Ferulic) وحمض (Caffeic) الأنواع الرئيسية الأكثر إنتشارا لها^[18]. يتكون الهيكل الكربوني لهذه المجموعة من حلقة بنزنية بالإضافة إلى سلسلة جانبية من ثلاثة ذرات كربون، ويوضح الجدول(3.II) بعض الأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك^[17].

الجدول (3.II): بعض الأمثلة عن أحماض السيناميك

| الاسم | R4 | R3 | R2 | R1 | الهيكل الأساسية |
|-------------------|----|------------------|----|------------------|-----------------|
| Acide cinnamique | H | H | H | H | |
| Acide p-coumarine | H | H | OH | H | |
| Acideferulique | H | H | OH | OCH ₃ | |
| Acide sinapique | H | OCH ₃ | OH | OCH ₃ | |

عندما يتأكسد حمض السناميك في الوضع أورثو للسلسلة الجانبية له وتكوين حلقة اللاكتون مع نزع جزيء من الماء سوف يؤدي ذلك لتكوين الكومارين الذي يعتبر فسيولوجيا أنشط الفينولات فهو المسئول عن تثبيط نمو الكائنات الدقيقة التي قد تهاجم النبات^[18].

II 3.3.2. الكومارينات:

اشتق اسمها من Coumarou (Dipteryx odorata willd) وتعني فول التونكا^[19]، وهي أول شجرة استخلص منه، من قبل الباحث Vogel سنة 1820^[8]، تعتبر الكومارينات مركبات طبيعية تنتواجد على شكلا جليكونات أو مرتبطة بجزيئة سكر مشكلة جليكوزيدات. وهيكلها الأساسي يتكون من حلقتين سداسيتين إحداها عطرية والأخرى مغايرة^[20]. والجدول (4.II) يوضح بعض أمثلة عن الكومارينات.

الجدول (4.II): بعض أنواع الكومارينات

| الاسم | R3 | R2 | R1 | الهيكل الأساسية |
|---------------|----|------------------|----|-----------------|
| Coumarine | H | H | H | |
| Herniarine | H | OCH ₃ | H | |
| Scopolétol | H | OH | OH | |
| Umbelliferone | H | OH | H | |

II 4.3.2. الستلبنات (C₆-C₂-C₆):

هي مركبات فينولية تحمي من الأشعة فوق البنفسجية تحتوي على حلقتين عطريتين مرتبطتين ببعضهما بواسطة جسر إثيلينين وهيكلها هو (C₆-C₂-C₆)، تشكل نظام مترافق وهذه الميزة تعطي لها فعالية عالية نظرا للرنين الإلكتروني في الجزيء كله^{[21]-[22]}، والجدول (5.II) يوضح بعض أمثلة عن الستلبنات^[23].

الجدول (5.II): بعض أمثلة عن الستلبنات

| الاسم | R5 | R4 | R3 | R2 | R1 | الهيكل الأساسية |
|---------------|----|------------------|----|------------------|------------------|-----------------|
| Resvératrol | H | OH | H | H | OH | |
| Rhapontigenin | OH | OCH ₃ | H | OH | OH | |
| Pterostilbene | H | OH | H | OCH ₃ | OCH ₃ | |

5.3.2.II. الفلافونويدات:

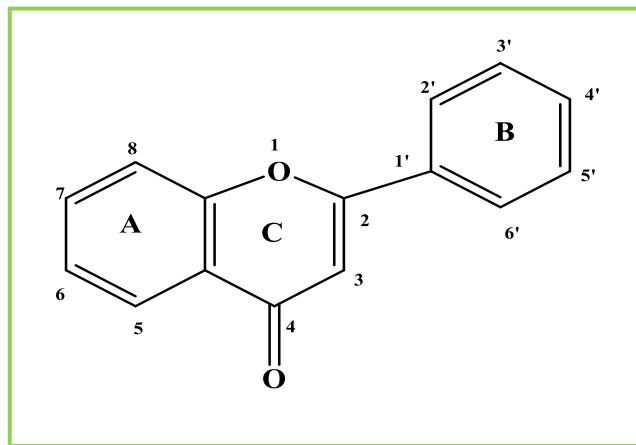
1.5.3.2.II. تعريف الفلافونويدات:

الفلافونويدات هي مركبات طبيعية تحتل قسما بالغا من نواتج الأيض الثانوي، وهي عبارة عن صبغات نباتية تتواجد في الجزء الهوائي للنبتة خاصة في الأوراق والأزهار إذا تعطيها خاصية التلوين مميزة [24].

وتشتق كلمة فلافونويدات من Flavus التي تعني أصفر في اللاتينية، وهو المصطلح العام لمجموعة كبيرة من المركبات الفينولية التي عرفت لأول مرة من قبل العالم "Albert szent-gyorgyi" والذي صنّفها على أساس أنها فيتامين P [25].

تمتاز الفلافونويدات بصفة التعدد والتنوع، بالإضافة إلى اختلاف فعاليتها البيولوجية وأثر استهلاكها لدى الإنسان، هذا ما جلب إليها اهتمام الباحثين والمخبريين في مجالات عدة خاصة في الطب والتغذية [26].

والفلافونويدات عموما ذات كتل جزئية منخفضة تتميز بهيكل أساسي يحتوي على 15 ذرة كربون موزعة على حلقتين عطرتين A و B مرتبطتين بحلقة C غير متجانسة تحتوي على ذرة أكسجين من الصيغة $C_6-C_3-C_6$ كما هو موضح في الشكل (II. 4) [27].



الشكل (II. 4): الهيكل الأساسي للفلافونويدات

2.5.3.2.II. تصنيف الفلافونويدات:

تصنف الفلافونويدات إلى عدة مجموعات، كل مجموعة حسب درجة تأكسد الحلقة C، وكذلك حسب نوع التعلق، في حين يحدد نوع الفلافونيد داخل المجموعة الواحدة من خلال المستبدلات على الحلقتين A و B [28].

• **الفلافونات Flavones**: يمكن للحلقة B أن تتواجد في الموضع 2، وإذا كانت الرابطة C₂-C₃ غير مشبعة، سمي المركب حينئذ فلافون، وتتضمن هذه المركبات مجموعات بديلة في الغالب هي مجموعة هيدروكسيل أو ميتوكسيل وقد يحوي بناؤها على وحدات سكرية على هيئة سكر أحادي أو ثنائي أو أكثر، وقد ترتبط هذه الوحدات بذرة أكسجين المكونة لمجموعة الهيدروكسيل أو ترتبط مباشرة بإحدى ذرات الكربون للهيكل الفلافونيدي، والجدول (6. II) يوضح بعض أنواع الفلافونات [29].

الجدول (6.II): بعض أنواع الفلافونات

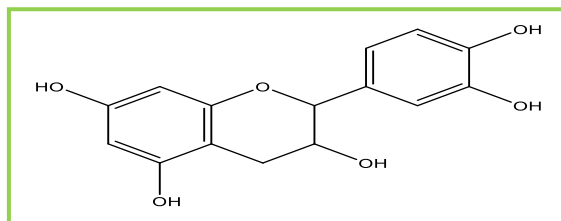
| الاسم | R3 | R2 | R1 | الهيكل الأساسية |
|------------|----|----|------------------|-----------------|
| Acacétin | H | H | OCH ₃ | |
| Apigènine | H | OH | H | |
| Diosmètine | H | OH | OCH ₃ | |

• **الفلافونولات Flavonols**: هيكلها الأساسي مثل الفلافونات بالإضافة إلى مجموعة هيدروكسيل (OH) حرة أو مستبدلة (OR) في الموضع 3، حيث يتم تثبيت مجموعة الهيدروكسيل في مرحلة الشالكون، ويوضح الجدول (7.II) بعض أنواع الفلافونولات [29]-[30].

الجدول (7.II): بعض أنواع الفلافونولات

| الاسم | R4 | R3 | R2 | R1 | الهيكل الأساسية |
|------------|----|----|----|----|-----------------|
| Kaempféroi | H | H | OH | H | |
| Quercétine | H | H | OH | OH | |
| Kyrecétine | H | OH | OH | OH | |

- الفلافانولات **Flavan 3-ols**: ارتباط الحلقة B يكون الموضع 2 بالإضافة إلى مجموعة هيدروكسيل في الموضع 3 وتكون الرابطة C₂-C₃ مشعبة^[31]، يتواجد بشكل أحادي مثل Catechin أو متعدد وحدات مثل Proanthocyanidin^[32].



الشكل (5. II): بنية Catechin

- ايزوفلافونات **Isoflavone**: وهي لا تختلف في بنائها عن الفلافونات إلا باختلاف إرتباط الحلقة B حيث ترتبط بالموضع (3)، إلا أن هذه الأخيرة لا تنتشر بكثرة في الطبيعة^[33]، والجدول (8.II) يوضح بعض أنواع ايزوفلافونات^[34].

الجدول (8.II): بعض أنواع ايزوفلافونات

| الاسم | R3 | R2 | R1 | الهيكل الأساسية |
|------------------|----|----|------------------|-----------------|
| Daidzein | OH | OH | H | |
| Formono | OH | H | OCH ₃ | |
| Genistein | OH | OH | OH | |

- الفلافانونات **Flavanones**: تتميز الفلافانونات بغياب الرابطة الثنائية بين C₂ و C₃ إلى جانب وجود مركز كيرالي في الفلافونيدات الطبيعية^[35].

الجدول (9.II): بعض أنواع الفلافانونات

| الاسم | R2 | R1 | الهيكل الأساسية |
|--------------------|------------------|----|-----------------|
| Eriodictyol | OH | OH | |
| Naringénine | OH | H | |
| Hésperitine | OCH ₃ | H | |

- **أنثوسيانان Anthocyanes**: هي مركبات فلافونيدية تعطي بعد تأينها ألوان مختلفة من أجل قيم متنوعة لـ pH: من أحمر - برتقالي في الوسط الحامضي إلى أزرق - نيلي في وسط قاعدي، حيث تتواجد بكثرة في الأزهار والفواكه، تختلف عن باقي الأقسام بكون الحلقة المركزية C على هيئة أيون البيريليوم (Ion pyrylium)، إذ يكون الأكسجين عبارة عن الأكسونيوم (Oxonium ionique) [35]-[71].

الجدول (10.II): بعض أنواع أنثوسيانان

| الاسم | R3 | R2 | R1 | الهيكل الأساسية |
|----------------------|----|----|----|-----------------|
| Cyanidine | H | OH | H | |
| Delphinidine | H | OH | H | |
| Pélargonidine | OH | OH | OH | |

3.5.3.2.II. خواص الفلافونيدات:

- الفلافونيدات مركبات هيدروكسيلية فهي حتما تتصف بخواص وصفات الفينولات بحيث:
- تعتبر مركبات ذات صفة حمضية ضعيفة، تذوب في القواعد القوية مثل هيدروكسيد الصوديوم.
 - المركبات التي تحمل عددا أكبر من مجموعات هيدروكسيل حرة أو التي تحتوي سكر تتميز بالصفة القطبية، وعليه فهي تذوب في المذيبات القطبية مثل الميثانول، الايثانول وماء.
 - الفلافونيدات الأقل قطبية مثل الايزوفلافونات وكذلك الفلافونات التي تحمل عددا أكبر من مجموعات الميثوكسيل فإنها تذوب في الكلوروفورم أو الإيثر [9].

4.5.3.2.II. أهمية الفلافونويدات:

فائدة الفلافونويدات عند النبات:

تلعب الفلافونويدات ادوارا عديدة في النباتات اهمها:

- **الحماية ضد الأشعة فوق البنفسجية**: تتراكم الفلافونويدات في الطبقات السطحية للنبات، لتلتقط إلى ما يصل 90% من الأشعة فوق البنفسجية التي تصل إلى النباتات لمنع الآثار الضارة لهذه الإشعاعات على الأنسجة الداخلية.

• **طرد وجلب آكلات الأعشاب:** بعض الفلافونويدات والتينينات تحمي النباتات من خلال الطعم المر، مما يؤدي بآكلات الأعشاب إلى اختيار نباتات أخرى [36].

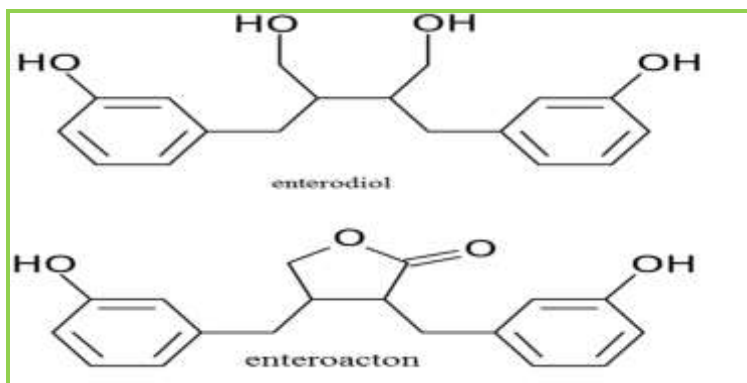
• **إعطاء اللون للنبات:** الفلافونويدات هي المركبات الملونة للأزهار على سبيل المثال الأزرق والبرتقالي في الخضروات، الفواكه والأنسجة المتراكمة في النباتات، وبذلك فإن لها دورا مهما في جذب الحشرات التي تساعد على عملية التلقيح، تدخل الفلافونويدات أيضا في عمليات التحسس للضوء ونقل الطاقة وكذلك في عمليات التمثيل الضوئي [37].

فائدة الفلافونويدات عند الإنسان:

- تلعب الفلافونويدات دورا مهما في صحة الإنسان، وتملك فعاليات مفيدة واقية من الأمراض، حيث تتعلق الفعاليات البيولوجية للفلافونويدات، بصيغتها الكيميائية، ومواقع المستبدلات على هيكلها [37].
- تحمي الفلافونويدات من أضرار الأوكسدة الناتجة عن الأشعة فوق البنفسجية والتلوث البيئي عن طريق الحد من تفاعلات الجذور الحرة التي تسبب أضرار للأوكسدة.
- تقلل من خطر الإصابة بالسرطان وتمنع نمو الخلايا السرطانية كما تخفف أعراض الحساسية والتهاب المفاصل [38].
- تقلل من حدوث مرض السكري.
- تحمي من الجلطات الدموية وتخفض نسبة الكوليسترول في الدم.
- تحمي الغشاء المخاطي للجهاز الهضمي.
- مضادة للجراثيم والفيروسات خاصة الايزوفلافونات [39].

6.3.2.II. الليغان (C₆ - C₃)₂ :

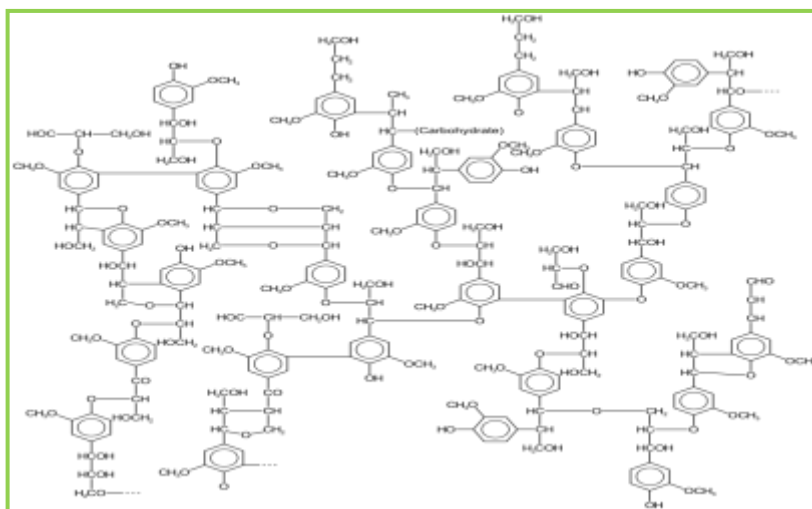
هي مركبات تتكون من ثنائي وحدات فينيل بروبان C₆-C₃ وتنتج عن طريق تفاعل ديمرة Dimérisation للفينولات المستبدلة والمشتقة من حمض السيناميك، ويوضح الشكل (6.II) بعض أمثلة عن الليغان [40].



الشكل (6. II): أمثلة عن الليغان

7.3.2.II. اللغنين:

يعتبر اللغنين أهم ثاني مركب عضوي بعد السيلولوز حيث أنه يساعد على صلابة النباتات وتحملها للظروف الجوية على الأرض. وهو عبارة عن بوليمر معقد ثلاثي الأبعاد مكون من وحدات الفينيل بروبان Phenyl-propane غير متبلور، وقد وضع Nriش، Freudenberg سنة 1968 تصور لتركيب اللغنين كما في الشكل (7.II) التالي [22]-[41].



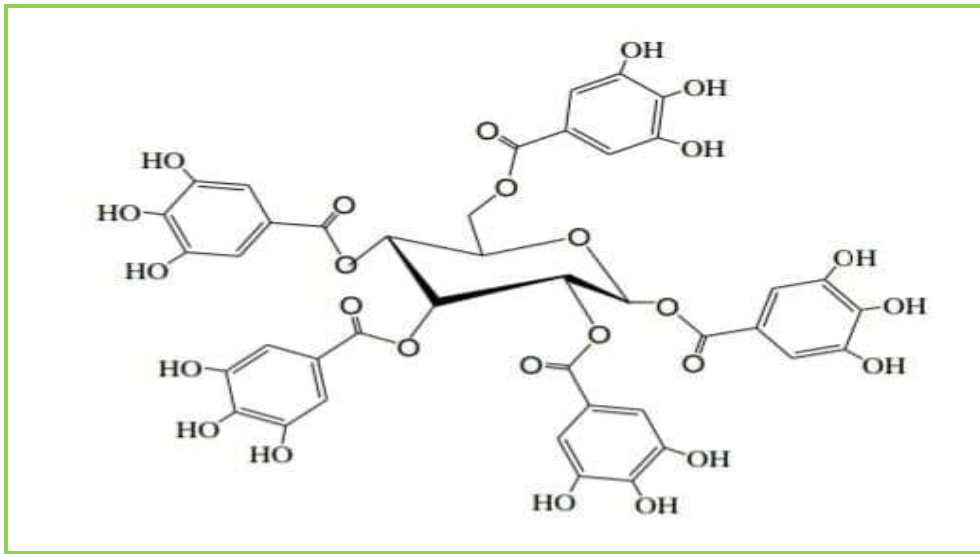
الشكل (7.II): بنية اللغنين

8.3.2.II. التانينات : Tannins

التانينات أو ما تسمى بالعفص هي محتويات فجوية ذات خواص فينولية، لها أوزان جزيئية تتراوح من 500 إلى 3000 وحدة ترتبط فيما بينها بروابط C_4-C_8 أو C_4-C_6 ، توجد ذائبة أو مترسبة في خلايا النسيج الضام أو الحشوي لعدد من الأنواع النباتية. ومن مميزاتها تقوم بترسيب البروتين ودباغة الجلود وتنقسم إلى نوعين تانينات قابلة للتحلل وتانينات مكثفة غير قابلة للتحلل [22]-[8].

■ التانينات قابلة للتحلل : Tannins hydrolysables

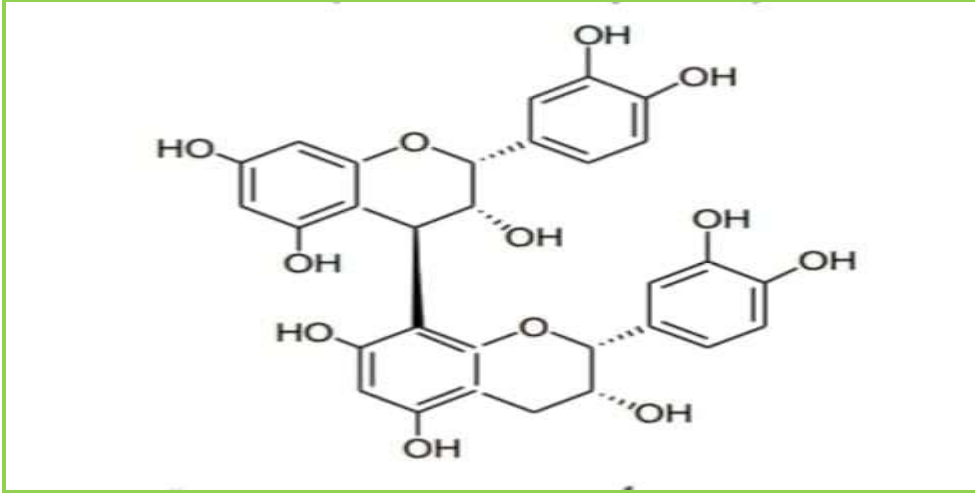
هي جزيئات معقدة لأسترات السكر (عديد الهيدروكسيل) وعدد متغير من جزيئات حمض الفينول وتحللها ينتج شقا سكريا في أغلب الحالات يكون جلوكوز، وشقا فينوليا مشكلا أساسا من حمض الغاليك. والشكل (8. II) يوضح بنية التانينات قابلة للتحلل [9].



الشكل (8. II): أحد التانينات المتحللة (الذوابة)

■ التانينات مكثفة : Tannins condensés

هي التانينات الأكثر أهمية ناتجة من عملية بلمرة لجزيئات أولية التي تملك البنية العامة للفلافونويدات ، تتكون من وحدات فلافانول (Chatechine) وترتبط بروابط $C-C$ وفي أغلب الأحيان تكون C_4-C_8 أو C_4-C_6 ، والشكل (9. II) يوضح أحد التانينات المتكثفة [15].



الشكل (9. II): أحد التانينات المكثفة

4.2.II. أهمية الفينولات:

- تلعب دور في وقاية النباتات من الأمراض التي تسببها البكتيريا والفطريات فهي مبيدات للحشرات أو مضادات حيوية [9].
- تمتلك المركبات الفينولية خصائص مضادة للأكسدة تعد كمخالب (مفخخة) لتوقف عملية انتشار الجذور الحرة الناجمة عن التلوث [42].
- تملك الفينولات خصائص علاجية متنوعة إذ تؤدي دورا كبيرا في ميدان الطب والصيدلة لما لها من تأثيرات على الكائنات الحية عامة وعلى الإنسان خاصة فهي تحمي الأوعية الدموية ومضادة للالتهابات [43].
- تعمل على التقليل من نفاذية و هشاشة الشعيرات الدموية، إذ أنها ضرورية للبنية الطبيعية والوظيفية للشعيرات الدموية، وكذلك فإن لها دورا مضادا للإلتهاب نظرا لتداخلها مع ميتابوليزم حمض الأراكيدونيك [42] (Acide arachidonique).

المراجع

المراجع باللغة العربية:

- [2] د.سمير عبد العظيم محمد عبد الجليل. (2014). المنتجات الطبيعية النباتي، الكيمياء والاستخلاص والتنقية. الإسكندرية. ص25.
- [3] حسين دندوقي. (1989). دراسة الميتابوليزم الفلافونيدي لنبات *Inulaviscosa*. مذكرة ماجستير في الكيمياء العضوية. جامعة قسنطينة. ص13.
- [8] بلفار آسيا. (2018). دراسة القدرة المضادة للأكسدة وللبيكتيريا وللتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات (*Limoniastrum*). رسالة محضرة لنيل شهادة الدكتوراه ل.م.د، تخصص التحاليل الفيزيوكيميائية وفعالية العينات الجزيئية. جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص14-15.
- [10] زمالي جعفر. (2007). دراسة فيتوكيميائية وبيولوجية لنبته الصحراوية *Solanum Nigrum*. رسالة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، تخصص تحضير عضوي وفيتوكيمياء. جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- [14] خضرة عزري. (2013). دراسة الليبيدات والفينولات في بعض أنواع التمر المحلي. مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، تخصص الكيمياء العضوية وفيزيوكيميائية الجزيئات. جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص46.
- [16] عثمان منال، واري بسمه. (2019). دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص الخام لثمار وبذور القناوية (*Abelmoschus esculentus L*). مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية. جامعة حمه لخضر الوادي. ص19.
- [18] ربيعي عبد الكريم. (2016). تقدير المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للأكسدة لمنتجات النحل في الجزائر بالطرق الكهروكيميائية. رسالة محضرة لنيل شهادة دكتوراه في العلوم، تخصص كيمياء. جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص84-85.
- [22] تامة نور الدين. (2018). الدراسة الفيتوكيميائية للمنتجات الفعالة (القلويدات، الفينولات والفلافونويدات، التربينات الثلاثية) والنشاط المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات لنبات الباقل والحمير التي تنمو في جنوب شرق الجزائر. مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتوراه علوم، تخصص كيمياء نباتية. جامعة العربي بن مهيدي أم البواقي. ص41-46.
- [25] آيت كاكي فريد. (2011). فصل وتحديد نواتج الايض الثانوي ودراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا لمستخلص خلات الاثيل لنبته *Origanumvulgare L. Sbsp. Glandulosum (Dest)* letsvaart، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء النبات، جامعة منتوري قسنطينة. ص11.

- [28] عباس بن مرعاش. (2012). دراسة نواتج الايض الثانوي الفلافونيدي والفعالية المضادة للأكسدة للنبتة *Convolvulus supinus* .Coss. Kral (convolvaceae). مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية فرع كيمياء النبات، جامعة منتوري قسنطينة. ص17.
- [32] حوه إبراهيم. (2013). دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة. مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص21.
- [35] عاشوري آمال. فصل وتحديد منتجات الأيض الثانوي *Pulicara crispa* (Forsk). مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في العلوم، تخصص كيمياء عضوية. جامعة منتوري قسنطينة. ص31.
- [39] زيدان محمد. (2018). دراسة الفعالية المضادة للأكسدة والبكتيريا لمستخلصات الرمان *Punica granatum* L. مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتوراه في العلوم. تخصص علوم الكيمياء. جامعة قاصدي مرباح ورقلة.

المراجع باللغة بالأجنبية:

- [1] Ali-Shtayeh, M. S., & Jamous, R. M. (2008). Traditional arabic Palestinian herbal medicine, TAPHM. Til, Nablus, Palestine, Biodiversity and Environmental Research Center, BERC.
- [4] Shukla, M., Gupta, K., Rasheed, Z., Khan, K. A., & Haqqi, T. M. (2008). Bioavailable constituents/metabolites of pomegranate (*Punica granatum L*) preferentially inhibit COX2 activity ex vivo and IL-1beta-induced PGE 2 production in human chondrocytes in vitro. *Journal of inflammation*, 5(1), 1-10
- [5] Hurabielle, M. (1980). *Abrégé de Matière médicale, Pharmacognosie. Tome 1 Généralité-monographie, 1ère partie.* Ed.Masson,P:10-18,261-266.
- [6] Richter, G. (1993). *Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie.* P: 328-339.
- [7] ELHAZIMI, H. (1995). *les produits Naturelles.* Université du Roi Saoud, Djada, P: 149190.
- [9] Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (3e éd.).* Revue et Augmentée, Tec & Doc, Paris. p. 201.
- [11] BENHAMMOU, N. (2012). *Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien (Doctoral dissertation).* P: 174.
- [12] Sarni-Manchado, P., Cheyner, V. (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire,* Lavoisier, Editions Tec & Doc , 398 p. (ISBN 2-7430-0805-9)
- [13] Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.).* Tec & Doc/Lavoisier, Paris, 279-281. p.1120, 1288.
- [15] Laraoui, H. (2007). *Etude Phytochimique L'Extrait Chloroformique de Bupleurum Atlanticum.* Docteur de l'université Louis pasteur (Chimie Organique, UV El Hadj Lakhdar Batna).
- [17] Harborne, J. B. (1964). *Biochemistry of phenolic compounds.* Biochemistry of phenolic compounds.

- [19] Lacy, A., & O'Kennedy, R. (2004). Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer. *Current pharmaceutical design*, 10(30), 3797-3811.
- [20] Hroboňová, K., Lehotay, J., Čižmárik, J., & Sádecká, J. (2013). comparison hplc and fluorescence spectrometry methods for determination of coumarin derivatives in propolis. *Journal of Liquid Chromatography&Related Technologies*, 36(4), 486-503.
- [21] Gabaston, J. (2018). *Stilbènes de la vigne et d'essences forestières (pin, épicéa): Etude phytochimique et recherche d'activités anti-oomycète et insecticide (Doctoral dissertation)*. p46.
- [23] Roupe, K. A., Remsberg, C. M., Yáñez, J. A., & Davies, N. M. (2006). Pharmacometrics of stilbenes: seguing towards the clinic. *Current clinical pharmacology*, 1(1), 81-101.
- [24] Harborne, J. B. (1988). *The flavonoids, advances in research since 1980*. Chapman & Hall. London.
- [26] Williams, C. A., & Grayer, R. J. (2004). Anthocyanins and other flavonoids. *Natural product reports*, 21(4), 539-573-678.
- [27] Huang, S., Zhang, C. P., Wang, K., Li, G. Q., & Hu, F. L. (2014). Recent Advances in the Chemical Composition of Propolis. *Molecules*, 19(12), 19610-19632
- [29] Eyton, W. B., Ollis, W. D., Sutherland, I. O., Gottlieb, O. R., Magalhaes, M. T., & Jackman, L. M. (1965). The neoflavanoid group of natural products—I: Dalbegiones—A new class of quinones. *Tetrahedron*, 21(9), 2683-2696.
- [30] Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomas-Barberan, F. A., Datta, N., Singanusong, R., & Chen, S. S. (2004). Flavonoids in food and their health benefits. *Plant foods for human nutrition*, 59(3), 113-122.
- [31] Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & therapeutics*, 96(2-3), 67-202.
- [33] Ribéreau-Gayon, P. (1968) *Les composés phénoliques des végétaux*, dundo, Paris.
- [34] McNaught, A. D. (1997). *Compendium of chemical terminology (Vol. 1669)*. Oxford: Blackwell Science.

- [36] MARFAK, A.G.(2003). Thèse de doctorat ,Université de Limoges .
- [37] Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63(7), 1035-1042.
- [38] Zhou, J., Wang, L., Wang, J., & Tang, N. (2001). Antioxidative and anti-tumour activities of solid quercetin metal (II) complexes. *Transition Metal Chemistry*, 26(1-2), 57-63.
- [40] Umezawa, T. (2003). Diversity in lignan biosynthesis. *Phytochemistry Reviews*, 2(3), 371-390.
- [41] Bishopp, A., & Bennett, M. J. (2015). Plant biology: Seeing the wood and the trees. *Nature*, 517(7536), 558-559.
- [42] Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition reviews*, 52(8), 253-265.
- [43] Mabry, T., Markham, K. R., & Thomas, M. B. (1970). The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag, Berlin . p. 13

الفصل الثالث

الفعالية البيولوجية

III. الفاعلية المضادة للبكتيريا:

تمهيد:

تشكل البكتيريا مجموعة الكائنات بدائية النوى، تعامل معها الإنسان دون أن يراها فقد عرف أنها تسبب المرض واستعمل بعضها في عمليات تخمر مختلفة.

ولقد كان لاكتشاف المجهر الأثر الكبير في التعرف عليها، أول من اكتشف وجود البكتيريا العالم الكيميائي الفرنسي "باستير" حيث اكتشف البكتيريا الهوائية واللاهوائية من خلال تجاربه على التخمر واكتشف أيضاً طعومها وارتبط اسمه بعملية البسترة لقتل الكائنات الحية المجهرية التي يمكن ان توجد بالسوائل وخاصة الحليب.

أما العالم الألماني روبرت كوخ فقد أسهم في اكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض وهو أول من عمل مزارع نقية للبكتيريا.

ولقد ارتبط اسم البكتيريا كثيراً بالأمراض التي تسببها للإنسان، ولكن الإكتشافات الحديثة والتقدم السريع الذي حدث في العلوم التطبيقية أظهرت أن البكتيريا تلعب دوراً هاماً في كثير من الصناعات الغذائية والدوائية والتخلص من المواد العضوية وغير العضوية وكذلك معالجة المياه والمعالجة الحيوية لمخلفات المزارع واستخدامها في إنتاج الطاقة وغاز الميثان^[1].

III.1. البكتيريا:

III.1.1. تعريفها:

البكتيريا كائنات دقيقة الحجم لا ترى إلا بالمجهر، أحادية الخلية بدائية النواة تكون إما كروية أو عصوية أو حلزونية، توجد في كل مكان حولنا في التربة في الهواء وفي الأغذية وداخل وخارج أجسامنا^[2].

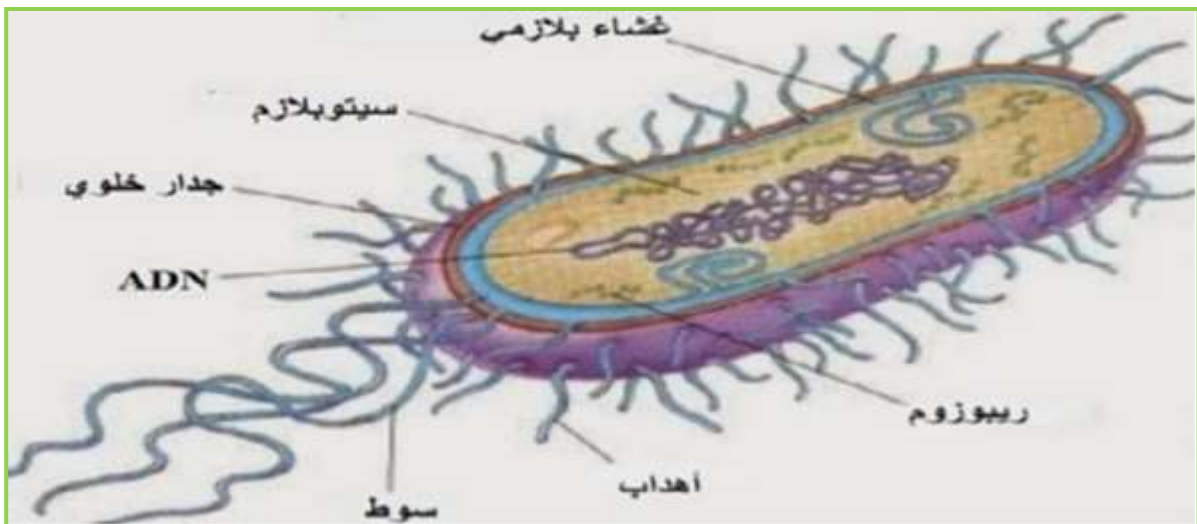
تستطيع جرثومة البكتيريا العيش لأعوام طويلة متحملة جميع الأحوال غير الملائمة من ارتفاع درجة الحرارة أو انخفاضها، أو غير ذلك من الظروف البيئية القاسية، وعند تحسن الظروف البيئية المحيطة تتخلص الجرثومة من الغشاء السميك، وترجع إلى سابق عهدها نشاطا وحيوية^[3].

2.1.III. تسمية البكتيريا:

تأخذ البكتيريا أسماء ثنائية Binominal بحيث يشير المقطع الأول من الاسم إلى الجنس Genre والمقطع الثاني إلى نوع espace وقد يحمل اسم الجنس شكل البكتيريا كما هو الحال في Streptocoque Staphylocoque أو اسم المكتشف مثل Escheriche.coli. أما بالنسبة للنوع فقد يشير إلى المرض كما هو الحال (Cholerae) و (VibrioCholerae) أو مكان عزلها كما هو الحال في E.coli تعزل في Une-cole أو قد يحمل صفات اللون مثل Staphylocoque aureus (أي الذهبية)^[4].

3.1.III. بنية البكتيريا:

تتكون الخلية البكتيرية النموذجية من مكونات خلوية بعضها أساسي موجود في جميع أنواع البكتيريا والبعض الآخر يقتصر وجوده على أنواع معينة.



الشكل (1.III): تركيب الخلية البكتيرية

1.3.1.III. المكونات الأساسية للخلية البكتيرية :**• الجدار الخلوي Paroi cellulaire:**

جدار خلوي سميك وصلب^[5] وهو الذي يعطي للخلية شكلها الثابت والمميز، كما انه يقوم بحماية محتويات الخلية الداخلية، يتركب الجدار من مادتين هما مادة الكربوهيدرات والبيبتيدات^[6].

- الغشاء البلازمي **Plasma membrane**:

غشاء رقيق له نفاذية اختيارية يحيط بسيتوبلازم الخلية ويقع تحت الجدار الخلوي ويبلغ سمكه 7.5 نانومتر. يتكون الغشاء البلازمي من الدهون المفسفرة والبروتينات [5].

- السيتوبلازم **Cytoplasm**:

يتكون من خليط معقد من مواد بروتينية، كربوهيدراتية، دهون، أحماض أمينية، أملاح وفيتامينات، وتوجد هذه المواد مذابة في الماء أو معلقة فيه ووظيفة السيتوبلازم أنها مركز للعمليات الحيوية بالخلية ويتكون حوالي 85% من وزنه ماء و 15% مواد صلبة كما يحتوي السيتوبلازم على مواد غذائية مدخرة. وتوجد أيضا بها حبيبات من مادة ARN تعرف بالريبوزومات، وظيفتها تكوين البروتينات سواء كانت تركيبية أو وظيفية مثل الإنزيمات والهرمونات. وكذلك يوجد بها حبيبات مكونة من ADN تحمل صفات (جينية) معينة وتعرف بالبلازميدات.

- نواة بدائية **Nucleoide**:

هي المادة التي تحمل الوراثة لتواجدها في المنطقة النووية في السيتوبلازم في بدائيات النواة غير محاطة بغشاء نووي، وهي عبارة عن جزيء طويل مفرد من الـ ADN في صورة حلقة يرتبط ارتباط غير محكم ببعض البروتينات مكونة ما يسمى بالكروموسوم حيث تحتوي الخلية البكتيرية على كروموسوم واحد [5].

III.2.3.3. المكونات الثانوية للخلية البكتيرية:

- الهدبيات **Ciliés** :

زوائد دقيقة جدا تسمى Pili، وظيفتها التثبيت على سطح الخلايا العائلة وبعضها يعرف بالهدبيات الجنسية التي تلتصق ببعضها لاندماج الأنوية من خلية لأخرى، وهي مسئولة عن ضروريات البكتيريا.

- الاسواط **Flagella**:

زوائد طويلة جدا حول البكتيريا في توزيع مميز لكل نوع فقد تخرج من طرف واحد من الخلية أو كلا الطرفين، أو من جميع سطح البكتيريا.

- الحافظة **Capsule** :

طبقة هلامية سمكية تحيط بالبكتيريا وتمنع إلتصاقها بالخلايا البلعمية (Phagocyte) لذلك فهي من العوامل الضرورية لبعض الأنواع وتوجد في الثنيات الرئوية والجمرة الخبيثة.

• البذور Spores:

عندما تسوء الظروف البيئية (الجفاف وندرة الغذاء، الـ pH) تكون بعض أنواع البكتيريا جدار سميك يحيط النواة وقليل من السيتوبلازم ويعرف هذا التركيب بالبذرة التي تظل حية لمدة طويلة إلى أن تتحسن الظروف فيتشقق جدار البذرة وتخرج منه النواة وتستعيد شكل البكتيريا، مثل الجمرة الخبيثة وكلوستريديا الغرغرينا الغازية وهذه البذور البكتيريا تقاوم حتى درجة 121°م على عكس البكتيريا الخضرية التي لا تقاوم حتى درجة 100°م^[6].

III.4.1. تصنيف البكتيريا:

تختلف البكتيريا في قدرتها على استعمال مصادر الطاقة وإنتاج الغازات وفي إفراز السموم والإنزيمات، وأيضاً تختلف من حيث البنية وشكل الخلايا والقدرة الإمرضية، وكذلك حساسيتها للمضادات الحيوية. هذه الاختلافات أظهرت طرقاً حيوية متعددة لتمييز البكتيريا، حيث تم تصنيفها كالتالي:

III.4.1.1. من حيث توزيع أسواطها: فيمكن تقسيمها إلى

- بكتيريا وحيدة السوط.
- بكتيريا ذات أسواط عديدة: متجمعة عند طرف واحد.
- بكتيريا ذات أسواط عديدة: موزعة على كل الخلية.

III.4.1.2. 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^[7].

III.4.1.3. من حيث الوسط التي تعيش فيه: فيمكن تقسيمها إلى ثلاثة أنواع

- بكتيريا هوائية (Aerobic): وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الهواء الجوي حيث تعتبر المصدر الرئيسي لتسمم المواد الغذائية.
- بكتيريا لا هوائية إجبارية (Anaerobic): وهي البكتيريا التي تعيش في غياب الهواء الجوي.
- بكتيريا لا هوائية اختيارية (Anaerobic Facultative): وهي البكتيريا التي تستطيع العيش في وجود الهواء الجوي أو عدمه^[8].

III.4.4.1. من حيث التغذية: فيمكن تقسيمها إلى نوعين

- بكتيريا ذاتية التغذية: هي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو.
- بكتيريا عضوية التغذية: هي البكتيريا التي تحصل على الكربون من تحليل المواد الذائبة كالسكر [7].

III.5.4.1. من حيث طريقة التلوين (GRAM):

يفسر الاختلاف بين البكتيريا في تركيب جدار الخلية بالتلوين، حسب تقنية غرام (Gram) نسبة للعالم البلجيكي J.Gram المكتشفة سنة 1884م، حيث قسمت إلى نوعين:

- بكتيريا (Gram positive): ويرمز لها بالرمز Gram+ عند تلوينها تمتص اللون وتظهر أرجوانية.
- بكتيريا (Gram négative): ويرمز لها بالرمز Gram- لا تمتص أو قليلة الامتصاص وتحرر صبغا وتظهر حمراء.

يظهر جدار خلية البكتيريا غرام موجب (Gram positive)، أسمك من جدار خلية البكتيريا غرام سالب (Gram négative) [9]-[10].

III.6.4.1. من حيث الأثر على الإنسان: يمكن تقسيمها إلى ثلاثة أنواع

- بكتيريا نافعة (Beneficial bacteria):

وهي التي تقدم خدمات جلية 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 دوراً هاماً 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 وتحولها 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 إنتاج عمل البكتيريا النافعة.

- البكتيريا الانتهازية (Opportunistic bacteria):

هناك أنواع من البكتيريا تعيش في جسم الإنسان، من دون أن تسبب له أي أضرار صحية إلا أنها عند انخفاض مناعة جسم الإنسان لأي سبب من الأسباب تهاجم الجسم، متحولة إلى بكتيريا ضارة تسبب العديد من الأمراض، وذلك على نحو ما هو شائع في الإصابة بالتهاب الحلق أو التهاب اللوزتين.

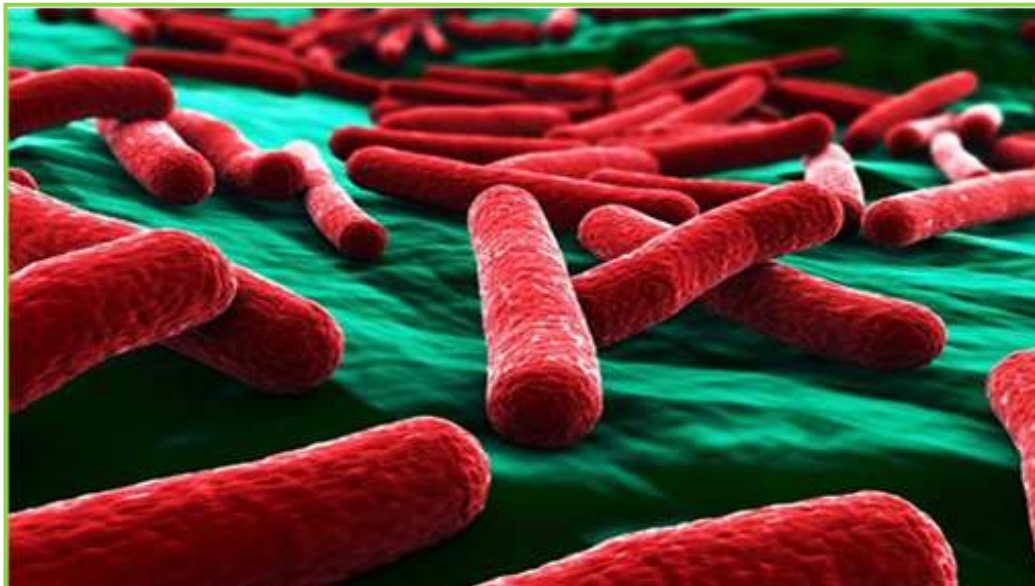
• البكتيريا الضارة (Pathogenic bacteria):

توجد بكتيريا ضارة تهاجم الإنسان، فتسبب له أمراضاً ومشاكل صحية عديدة، وذلك على نحو ما يحدث في أمراض السل والكوليرا والتيفويد والسعال الديكي والسيلان، ومن بين البكتيريات الضارة والمسببة للأمراض [11]:

✓ إشيريشيا كولي *Escherichiacoli*: هي بكتيريا ذات Gram-، والتي تنتمي إلى

الجدول (1.III): يمثل التصنيف العلمي E.Coli

| Bacteria | المملكة |
|------------------------|---------|
| Proteobacteria | التصنيف |
| Gammaproteobacteria | القسم |
| Enterobacteriales | الرتبة |
| Enterobacteriaceae | العائلة |
| <i>Escherichia</i> | النوع |
| <i>Escherichiacoli</i> | الصنف |



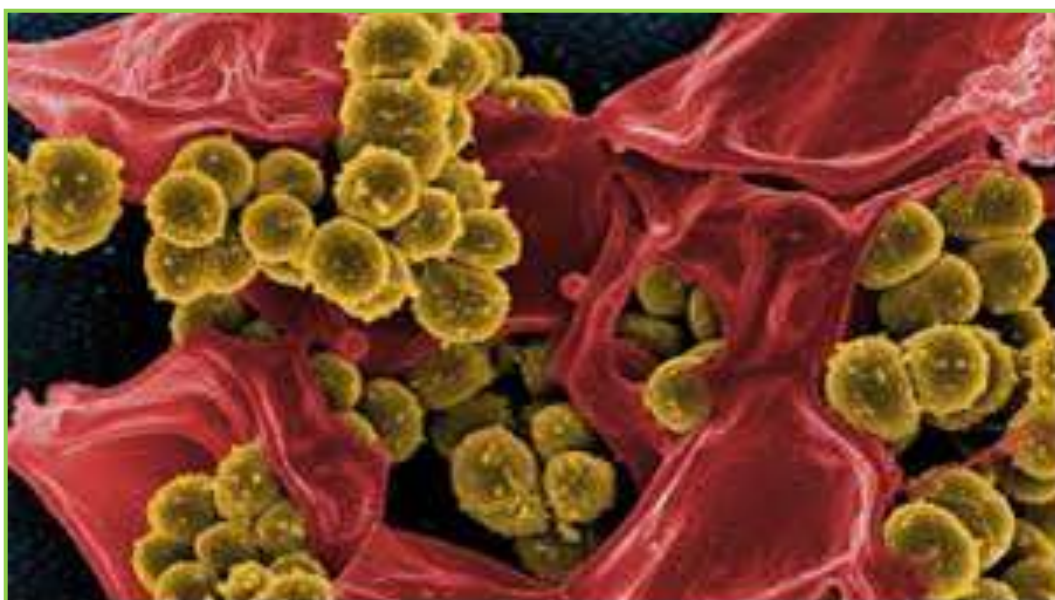
الشكل (2.III): صورة الفحص المجهرية لـ E.Coli

هي بكتيريا تعيش في جسم الإنسان والحيوان والنبات وفي التربة، وأبعادها من 1 إلى 3 ميكرومتر ، هوائية ولا هوائية وتتمو بسرعة في وسط عادي، تكون متحركة على شكل عصيات مسببة للمرض، ومن بين الأمراض التي تسببها: الإسهال الطفيلي، التهاب السحايا وتسمم الدم [12]-[13].

✓ ستافيلوكوكيز أروز **Staphylococcus aureus**: هي بكتيريا ذات Gram+ تنتمي إلى

الجدول (2.III): يمثل التصنيف العلمي لـ St. a

| Bacteria | المملكة |
|------------------------------|---------|
| Firmicutes | التصنيف |
| Bacilli | القسم |
| Bacillales | الرتبة |
| Staphylococcaceae | العائلة |
| <i>Staphylococcus</i> | النوع |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | الصنف |



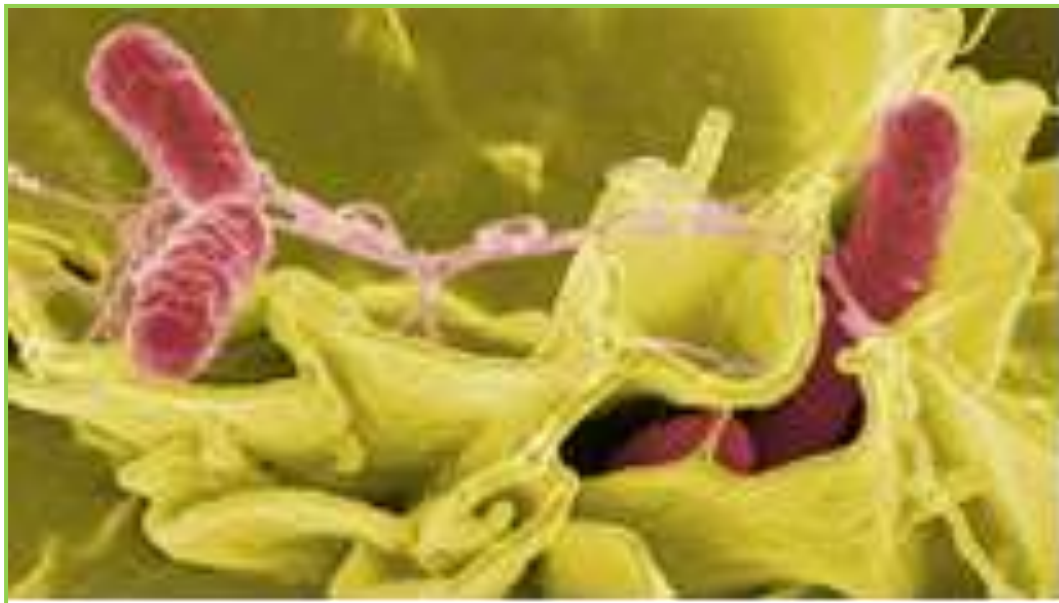
الشكل (3.III): صورة الفحص المجهر لـ St. a

هي بكتيريا كروية الشكل عديمة الحركة تكون على شكل عناقيد مكومة قطرها حوالي 1 ميكرومتر. تتواجد عند الانسان في الجلد والأمعاء والجهاز التناسلي وعلى الوجه، تنمو بالتنفس الهوائي أو التخمر وهي مسؤولة عن تشكل الصدئ، مسببة للعديد من الأمراض من بينهم التهابات جلدية خطيرة والتهابات الرئيتين وتسمم الدم وغيرها [14]-[15].

✓ بكتيريا السالمونيلا تيفي **Salmonella thyfi** : هي بكتيريا ذات Gram- تنتمي إلى

الجدول (4.III): يمثل التصنيف العلمي لـ Sa. t

| Bacteria | المملكة |
|---------------------------|---------|
| Proteobacteria | التصنيف |
| BaciGammaproteobacteria | القسم |
| Enterobacteriales | الرتبة |
| Enterobacteriaceae | العائلة |
| <i>Salmonella Entrica</i> | النوع |
| <i>Salmonella</i> | الصنف |



الشكل (4.III): صورة الفحص المجهر لـ Sa. t

هي بكتريا لا هوائية، عصوية الشكل ذات لون أحمر يصل قطرها حوالي من 1 إلى 1.5 ميكرومتر ، محبة للحرارة المعتدلة تتواجد في أمعاء الإنسان والحيوانات، تسبب هذه البكتيريا مرض يتميز بالتهاب حاد في الامعاء والقولون في بداية الأمر ، بعد وقت من الإصابة تنتشر البكتيريا مع الدم لتسبب الالتهاب في أي عضو تستقر فيه^[1].

III.2. المضادات الحيوية:

III.1.2. تعريف المضادات الحيوية:

استعملت الكلمة المضادات الحيوية لأول مرة من طرف العالم Vullemin سنة 1889 الذي عرفها بأنها الظروف التي يقتل تحتها كائن حي من طرف كائن حي آخر ليحتفظ هذا الأخير بحياته ووجوده، وفي سنة 1945 عرفها Waksman بأنها الظاهرة ترجع إلى إفراز مواد كيميائية تؤثر سلبا عن الميكروبات^[16].

III.2.2. أنواع المضادات الحيوية:

تنقسم المضادات الحيوية إلى قسمين:

III.1.2.2. مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية:

يمنع تكاثرها وهو يساعد على القضاء عليها مثل: سلفوناميد، كلورامفينكول.

III.2.2.2. مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية:

إما عن طريق التأثير على جدار خلية، أو بالتسبب في انتفاخ خلية وانفجارها، أو بمنع تكوين مادة البروتين داخل خلية مثل: أمبسلين وجنتاميسين، بنسيلين^[17].

III.3.2. تأثير المضادات الحيوية:

تعمل المضادات الحيوية على قتل الميكروب، أو كبح الميكروبات، وقد يكون مفعول المضاد على الغلاف الخارجي للميكروب (Cell wall)، أو الغلاف الداخلي (Membrane cell)، أو يعمل على مستوى الخلية لإيقاف تصنيع البروتين (Protein synthesis)^[18].

III.1.3.2. العمل على جدار الخارجي للبكتيريا:

المضاد الحيوي يوقف تركيب الجدار بتنشيط Transpeptidase هذا ما يمنع من تركيب Peptidoglycane، وهذا يوقف نموها وعملها.

III.2.3.2. العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا:

المضاد الحيوي له خواص سطحية التي تمكنه من تخريب عمل نفاذية الغشاء الداخلي (زيادة غير طبيعية)، ويسمح بطرح المواد السائلة خارج البكتيريا، هذا ما يسمح بتدميرها [19].

III.3.3.2. العمل على تثبيط نمو ADN :

يعمل المضاد الحيوي على المعقد ADN-ADN، حيث يعمل المضاد الحيوي على التثبيط الأيضي لنمو ADN للبكتيرية، مما يمنع الخلية من الانقسام وتكوين الإنزيمات الخاصة بذلك [18]-[19].

III.4.3.2. مضادات تعمل على تخريب بنية الغشاء الستيوبلازمي:

بعض المضادات الحيوية تؤثر على هندسة Apidoprotine لهذا الغشاء وتحللها مما يؤدي إلى فقد الستيوبلازم الكروموزومي [20].

III.4.2. المقاومة البكتيرية للمضاد الحيوي:**III.1.4.2. تعريف المقاومة:**

هي قدرة الميكروبات (البكتيريا والفطريات والفيروسات، الطفيليات) الممرضة على البقاء والتأقلم بثتى الطرق لملائمة البيئة المحيطة على الرغم من إعطاء أكثر من نوع من المضادات الحيوية [11].

III.2.4.2. أسباب مقاومة البكتيرية للمضاد الحيوي:

تكون المقاومة على شكل طفرة جينية تلقائية أو مكتسبة أو اكتساب جين مقاوم من بكتيريا أخرى حتى وإن كانت من سلالة أخرى وذلك عن طريق عملية نقل الجين الأفقي (Horizontal gene transfer) ويعود سبب زيادة مقاومة البكتيريا للمضادات بسبب التعرض الكثير للمضادات الحيوية وصرافها بدون وصفة طبية وبالتالي ظهور أجيال جديدة من البكتيريا المقاومة والذي يدعو إلى إستخدام خطط علاجية بديلة [11].

III.3.4.2. طرق التعرف على حساسية أو مقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي:**III.1.3.4.2. خواص الجذمة البكتيرية:**

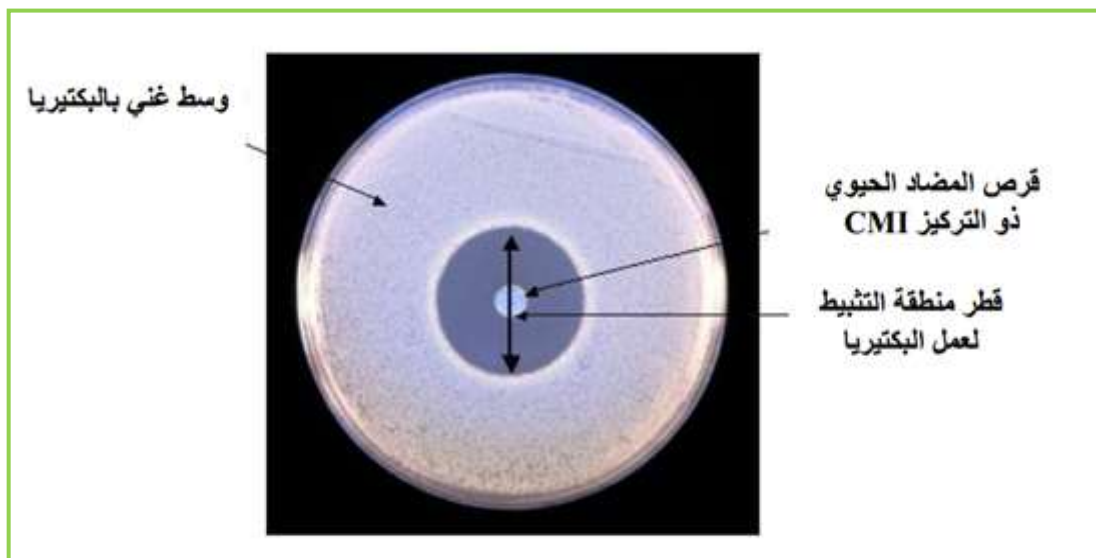
في علم الطب حتى تتم المعالجة يجب معرفة تركيز المضاد الحيوي للقضاء على البكتيريا وذلك من خلال مضاعفة التركيز حتى الوصول للمطلوب حيث بإرتفاع التركيز تقل مقاومة البكتيريا.

III.2.3.4.2. كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي:

● طريقة الانتشار (Méthode de diffusion):

من أجل تحديد مدى حساسية السلالات البكتيرية للعوامل المضادة للبكتيريا وهي تقدير جرعة (تركيز) المضاد الحيوي القادر على إحداث هذا التأثير، نلجأ إلى طريقة **Antibiogramme** عن طريق الانتشار على وسط صلب، حيث تحضر الأقراص بورق واتمان التي تشبع بالتركيز المحدد من المضادات الحيوية (أو المواد المراد معرفة تأثيرها على البكتيريا) وتوضع في أحواض بتيرية على الوسط الصلب تكون مشبعة مسبقاً بلقاح بكتيري بطريقة المسح، وتعتبر هذه الطريقة شائعة الاستعمال في مخابر الميكروبيولوجيا وهذا راجع لسهولة تحقيقها وتعتبر كذلك طريقة غير مكلفة بالمقارنة مع الطرق الأخرى، وبالمقابل تعطي نتائج جيدة حيث تمكننا من معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي ويمكن القول أن [21]:

- البكتيريا مقاومة (غير حساسة) للمضاد الحيوي إذا كان القطر أقل من 8 ملم.
- البكتيريا متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي إذا كان القطر ما بين 9 و 14 ملم.
- البكتيريا حساسة للمضاد إذا كان القطر ما بين 15 و 20 ملم.
- البكتيريا حساسة جداً للمضاد الحيوي إذا كان القطر أكبر من 20 ملم [22].



الشكل (5.III): قطر منطقة التثبيط للبكتيريا

● طريقة التمديد

تعتمد على إجراء تخفيف متدرج للمضادات الحيوية في أنابيب اختبار او تخفيف الآجار في الاطباق ثم يزرع الميكروب، ويتم تحديد أقل جرعة مثبّطة لنمو الميكروب CMI وبالطبع المضاد الحيوي ذو أقل CMI هو الذي يتم اختياره بعد النظر في ظروف المريض^[20].

III.3. الجذور الحرة و مضادات الأكسدة :

للجذور الحرة دورا كبير في الآليات الجزيئية للعديد من الأمراض، كونها تتولد بشكل طبيعي في جسم الإنسان ويزداد تشكلها بفعل عدة عوامل داخلية وخارجية. وعلى ذلك يتركز الاهتمام على دراسة مضادات الأكسدة (Les antioxydant) داخلية وخارجية المنشأ لأنها النظام الذي يحمي العضوية من أضرار الجذور الحرة^[23].

III.3.1. الجذور الحرة:

III.3.1.1. تعريف الجذور الحرة:

الجذور الحرة هي أصناف كيميائية ذرية أو جزيئية تملك إلكترونات حرة أو أكثر في مدار التكافؤ^[24] ، وتكون معظمها شديدة الفاعلية (تتفاعل بسرعة) مع مركبات أخرى محاولة اقتناص ما ينقصها من الإلكترونات لتصل إلى الثبات الكيميائي تتولد هذه الأصناف خلال التفاعلات الكيميائية كمركبات وسيطية شديدة الفاعلية وتنتهي بنهايتها، وتتكون هذه الأصناف خاصة بالتفاعلات التسلسلية والتفاعلات المتعاقبة وبعض التفاعلات الأخرى مثل البلمرة و التفاعلات الضوئية وتلك المحدثة بتسليط الأشعة الكهرومغناطيسية والدقائق الإشعاعية الأخرى^[25].



الشكل (III.6): صورة الفحص المجهرى للجذور الحرة

III.1.3.2. أنواع الجذور الحرة:

تقسم الجذور الحرة بصورة عامة من حيث استقرارها إلى نوعين:

III.1.2.1.3. الجذور النشطة أو غير مستقرة:

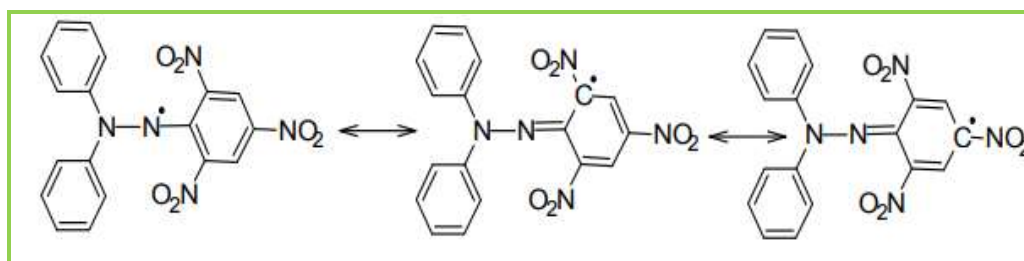
وهي التي تقدر أعمارها بالميكرو ثانية وأقل تصل حتى بالبيكوثانية، يشمل هذا النوع الجذور ذات العناصر مثل: ذرات الهيدروجين والنيروجين والفلور والكلور والبروم واليود والجذور التي لها وزن جزيئي صغير بصورة عامة مثلا المثيل (CH_3) والإيثيل (C_2H_5) والفينيل (C_6H_5) والهيدروكسيل (OH)، وطاقة تنشيطها تقترب من الصفر [26].

III.2.1.3.2. الجذور الحرة المستقرة:

حيث يقدر أعمار حياتها بالثواني أو الدقائق أو الساعات وحتى بالأيام مثل جذر الـ 2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) [27].

الجذر DPPH:

هو عبارة عن مادة صلبة ذات لون بنفسجي مسود يعطي لون البرتقالي مصفر عند استقراره يبقى مستقر لعدة أيام وذلك لوجود الحلقات الأروماتية تشمل تراكيب رنينية متعددة في تركيبها الجزيئي وهذا يعني عدم تمركز الإلكترون المنفرد بموقع معين في تركيب الجذر [27]-[28].



الشكل (III.7): البنات الرنينية في جزيء DPPH

III.3.1.3. فاعلية الجذور الحرة:

معظم الجذور الحرة على درجة عالية من الفاعلية وعادة لا يمكن فصلها، وفي بعض الأحيان لا بد من استخدام طرق غير مباشرة للكشف عن أحد الجذور، وطاقات التنشيط بين جذرين حرين ضئيلة للغاية

تقرب من الصفر غالبا ومع ذلك فالمعدل الحقيقي للتفاعل يعتمد على سرعة تقابل الوحدتين مع بعضهما البعض. ومثل هذه التفاعلات توصف بأنها محكومة بالانتشار وتتطوي خطوة الإيقاف في كثير من التفاعلات المتسلسلة على هذا الطراز من الاتحاد بين الجذور السريعة [25]-[29].

III.4.1.3. أضرار الجذور الحرة:

الجذور الحرة تتكون بشكل دائم داخل الجسم، ويكمن الضرر عندما يكون تركيزها في الجسم يفوق قدرته على التعامل معها وحذفها، فكلما زادت الجذور الحرة كانت قدرتها على اختراق غشاء الخلية ونفاذها إلى الداخل أكبر وذلك بتفاعلها مع الدهون الفسفورية للأغشية الخلوية وتصل إلى الميتوكوندريا والكروموزومات وينتهي الأمر بتدمير الخلايا، رغم إن الخلية لديها حماية ذاتية وخط دفاعي بإفرازها مضادات الأكسدة الذاتية والإنزيمات التي تفرزها الخلايا، مما ينجر عن ذلك أضرار أهمها:

- أمراض القلب والأوعية الدموية.
- أمراض الجهاز الهضمي والتمثيل الغذائي.
- ظهور الشيخوخة نتيجة ضعف وضائف الخلايا والأنسجة بسبب التعرض للجذور الحرة.
- أمراض العيون واضطرابات في الرؤية.
- أمراض جلدية وأمراض الكلى، اضطرابات عصبية [30].

III.2.3. مضادات الأكسدة:

III.1.2.3. تعريف مضادات الأكسدة:

هي مركبات إما ترتبط بالجذور الحرة فتعمل على تقويضها لتستقر وتمنع بذلك التأثير الضار الذي تلحقه بالجسم، إذ تعتبر نظاما دفاعيا ضد الضغط التي تسببه ذرات الأكسجين الشاردة لحماية خلايا الجسم، وإما لأنها تمنع تكوين الجذور الحرة أو أن تصلح الضرر الناتج عنها أي هي عبارة عن موردرات مانحة لذرات الهيدروجين إذ أنها تتحد مع الجذر الحر وتحوله إلى مركب مستقر كما هو موضح في المعادلة التالية:



والدور الأساسي لمضادات الأكسدة هو كسر سلسلة التفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة وتستطيع أن تعدل أو تصلح الإلتلاف الذي تسببه الجذور الحرة [31]-[32].

III.2.3.2. أقسام مضادات الأكسدة:

تقسم مضادات الأكسدة من حيث مصدرها إلى طبيعية ومصنعة كالتالي:

III.2.3.1.2. مضادات الأكسدة الطبيعية:

المقصود بها ما تنتجه المادة الحية من مضادات كالأينزيمات والفيتامينات وتنقسم إلى قسمين [28]:

• مضادات الأكسدة الإنزيمية:

تعتبر الأينزيمات المضادة للأكسدة خط دفاع أول للجسم ضد الجذور الحرة وتعد أحد الأنظمة الخلوية المضادة للأكسدة وتعمل على التخلص من بقايا الأكسجين الأحادي وتوجد بصورة مؤكسدة أو مختزلة حيث تلعب هذه الأينزيمات دورا فعالا في وقاية الجسم من التأثير المدمر للجذور الحرة وينتج الجسم بعض الأينزيمات المضادة للأكسدة أهمها:

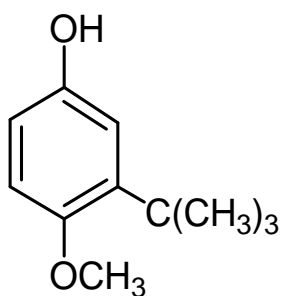
- إنزيم Superoxide dismutase(SOD)
- إنزيم Catalase(CAT)
- إنزيم Glutathion peroxidase(GP_x)
- إنزيم Glutathion reductase(GR) [33]

• مضادات الأكسدة غير الإنزيمية

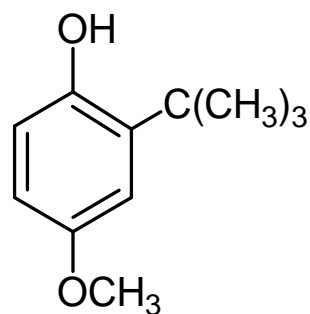
على عكس مضادات الأكسدة الإنزيمية، معظم هذه المركبات لا تنتج من طرف الجهاز العضوي للجسم وقد تأتي من الأغذية [34]، تشمل هذه المركبات كل من المواد الكبريتية وعديدات الفينول والفيتامين C والفيتامين E وغيرها [35].

III.2.3.2.2. مضادات الأكسدة الاصطناعية:

تعتبر عنصر أساسي يجب إضافته للأطعمة المعلبة لتقليل من إفسادها إلى أقصى حد وذلك لتأكسدها قبل غيرها، وكذا تستعمل في صناعة المطاط والمواد المشتملة البترولية منها: Buthylhydroxytoluène(BHT) و Buthylhydroxyanisole(BHA) وحمض الغاليك [36].

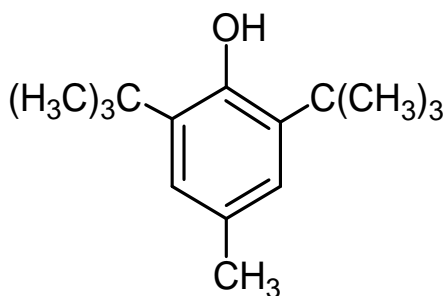


3-tert-butyl-4-methoxyphenol



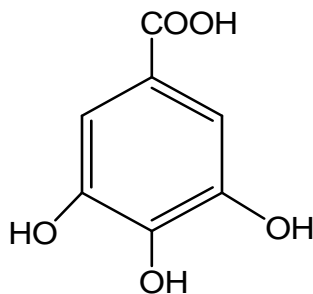
2-tert-butyl-4-methoxyphenol

الشكل (8.III): بنية BHA



2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol (Butyl hydroxy toluene)

الشكل (9. III): بنية BHT



3,4,5-trihydroxybenzoicacid (Ac.gallique)

الشكل (10. III): بنية حمض الغاليك (AG)

III.3.2.3. آلية عمل مضادات الأكسدة:

تعمل مضادات الأكسدة على منع تكوين أو منع تأثير أصناف الأكسجين والنتروجين الفعال الناشئين داخل الجسم والذين يؤديان إلى أضرار في الأحماض النووية والدهون والبروتينات والجزئيات الحيوية الأخرى. وإن إزالة الجذور الحرة بواسطة مضادات الأكسدة تبدو هامة لصحة الإنسان، يجب تجنب العوامل التي تزيد من تعرضنا للجذور الحرة أو تزيد من إنتاج أجسامنا لها بتناول الأغذية الغنية بمضادات الأكسدة كالخضروات والفواكه^[37].

المراجع

المراجع باللغة العربية:

- [1] العابد إبراهيم. (2009). دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران. مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص 36-106.
- [3] د.محمد عبد المحسن معارج. (1995). وراثة الأحياء الدقيقة. شركة الشهاب للنشر والتوزيع. ص 18-20.
- [5] د.رافت حسن عبد الوهاب، د.فضاء ادعيج العون. (2018). تصنيف عالم نبات والأحياء الدقيقة. شركة دار العلم للنشر والتوزيع. الكويت.
- [6] مجلة العلوم. تحديات المقاومة البكتيرية. 15 العدد 10 أكتوبر/تشرين الأول(1999).
- [9] أبو الذهب، الكثير ح. القزاز س. عاية ش. (1997). البكتيريا. دار المعارف. الجزء الأول. ص 20.
- [11] تامة نور الدين. (2018). الدراسة الفيتوكيميائية للمنتجات الفعالة (القلويدات، الفينولات والفلافونويدات، التربينات الثلاثية) والنشاط المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات لنبات الباقل والحمير التي تنمو في جنوب شرق الجزائر. مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتوراه علوم، تخصص كيمياء نباتية. جامعة العربي بن مهيدي أم البواقي.
- [17] د. عادل نوفل. (1981). جامعة دمشق، كتاب الكيمياء الصيدلانية (الجزء النظري).
- [20] زيدان محمد. (2018). دراسة الفعالية المضادة للأكسدة والبكتيريا لمستخلصات الرمان Punica granatum L. مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتوراه في العلوم. تخصص علوم الكيمياء. جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- [23] بن مرعاش عباس. (2012). دراسة نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي والفعالية المضادة للأكسدة لنبته Convolvulus supinus. Coss. Kral (convolvaceae). مذكرة ماجستير. جامعة الإخوة منتوري قسنطينة.
- [24] بلفار آسيا. (2018). دراسة القدرة المضادة للأكسدة والبكتيريا وللتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات (Limoniastrum). رسالة محضرة لنيل شهادة الدكتوراه ل.م.د، تخصص التحاليل الفيزيوكيميائية وفعالية العينات الجزيئية. جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص 17.

- [25] م. بوقوادة. (2008). دراسة فيتوكيميائية للبيدات والفينولات في بعض أنواع نوى التمر المحلي. مذكرة ماجستير. جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- [26] الخطير. (2014). علم العقاقير (التانيينات والكومارينات). كلية الصيدلة للسنة الثالثة. ص 20.
- [27] علي عبد الحسين سعيد. (2001). كيمياء الجذور الحرة. دار المسيرة للنشر والتوزيع والطباعة. عمان (الأردن). ط 1. ص 15-18.
- [28] حوة ابراهيم. (2013). دراسة الفاعلية البيولوجية لبعض نبات العائلة الشفوية الفعالية ضد الاكسدة. مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- [29] موريسون وبويد، ترجمة فاروق قنديل وصلاح القادري. (2000). الكيمياء العضوية، منشورات المركز العربي للتعريب والترجمة والتأليف والنشر، دمشق.
- [30] بلقاسم عبد الوهاب. (2017). دراسة الزيوت الأساسية، المركبات الفينولية وفعاليتها البيولوجية في بعض الأنواع التابعة للفصيلتين: السذبية Rutaceae والمركبة Compositae. مذكرة تخرج لنيل شهادة الدكتوراه في العلوم، تخصص كيمياء نباتية. جامعة العربي بن مهيدي أم البواقي. ص 86.
- [31] أل دبليو. أوراند، إي إي وودز، ترجمة د. عادل جورج ساجدي ود. علاء يحي محمد علي. (1983). كيمياء الأغذية، جامعة البصرة. ط 1.
- [32] د. باسل كامل دلالي، د. كامل الركابي. (1981). كيمياء الأغذية. دار الكتب للطباعة والنشر جامعة الموصل.
- [37] بديار خلود. (2018). دراسة تأثير المذيبات على التركيب الكيميائي لمستخلصات نباتي الكرفس *Apium graveolens L* والبقدونس *petroselinum crispum*. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء. تخصص كيمياء عضوية. جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي. ص 39.

المراجع باللغة الأجنبية:

- [2] Parreno, K. (2013). Development and assessment of pomegranate (*Punicagranatum.L*) derived food products. Rich in bioactive phytochemicals. Thésedoctora.
- [4] J.P.Euzeby: Abrégé de Bacteriologie Générale Médicale, à l'usage des étudiants de l'école Nationale Vétérinaire de Toulouse Courriel CV SBSV *Pseudomonas*
- [7] Courvalin, P. (1992). Interpretive reading of antimicrobial susceptibility tests. Molecular analysis and therapeutic interpretation of in vitro tests to improve antibiotic therapy. *ASM American Society for Microbiology News*, 58(7), 368-375.
- [8] bactériologie. DCEM1 2002-2003. Université Paris-VI. Faculté de médecine Pierre et Marie Curie.
- [10] Leclere, H. Izard D., Husson M.O., Watter P., Jakbezak E. (1983). *Microbiologie générale* Nouvelle édition. Doin édition-paris.
- [12] Robert-Dernmet . S. (1995) . Antibiotique et antibiogrammes .Décarie Vigot, Montréal . p 322.
- [13] *Brazilian Journal of Microbiology*(2006) ISSN 1517-8382.
- [14] *Staphylococcus*·Un article de Wikipédia·l'encyclopédielibre. (Juillet 2007).
- [15] Ayodeji, A., & Omoniyi, A. (2009). Multi-drug resistant *Staphylococcus aureus* in clinical cases in Ile-Ife, Southwest Nigeria. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, 1(3), 068-072.
- [16] Ericsson, H. M., & Sherris, J. C. (1971). Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. *Acta pathologica et microbiologica scandinavica*, (Suppl. 217). pp. 90,217.
- [18] Guérin-Faubleé, V., & Carret, G. (1999). L'antibiogramme: principe, méthodologie intérêt et limites. *Journées nationales GTV-INRA*, 5-12.
- [19] Sharan, R., Chhibber, S., & Reed, R. H. (2011). Inactivation and sub-lethal injury of *salmonella typhi*, *salmonella typhimurium* and *vibrio cholerae* in copper water storage vessels. *BMC infectious diseases*, 11(1), 204.

- [21] Baurer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J .C., & Turch, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am J clin pathol*, 45, 493-496
- [22] Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684.
- [33] Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
- [34] Karthikeyan, J., & Rani, P. (2003). Enzymatic and non-enzymatic antioxidants in selected Piper species.
- [35] Tessier, F., & Marconnet, P. (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & sports*, 10(1), 1-13.
- [36] Ionita, P. (2005). Is DPPH stable free radical a good scavenger for oxygen active species. *Chem Pap*, 59(1), 11-16.

الجزء التطبيقي

الفصل الرابع الطرق والوسائل

مدخل:

أظهرت الكثير من الدراسات والأبحاث أن حبوب اللقاح غنية بالمواد الفعالة ومن أهمها نذكر: السكريات، البروتينات، الأحماض الأمينية، المعادن والفيتامينات^[1]. كما تحتوي على مركبات فينولية بكميات معتبرة ولهذا قمنا في هذه الدراسة بالتقدير الكمي للمركبات الفينولية الطبيعية بمختلف طرق الاستخلاص مع تغيير نوع المذيب في كل مرة.

1.IV. جمع عينات النبتة المدروسة (حبوب لقاح النخيل):

يعتبر وقت عملية القطف أهم خطوة في استخلاص المادة الكيميائية الفعالة وهذا يعود لكونها تتأثر بمجموعة من العوامل ومن أبرزها مايلي:

1.1.IV. مرحلة الجمع:

يتأثر موعد ظهور حبوب اللقاح على النخيل بعدة عوامل أهمها الظروف الجوية وخاصة درجة الحرارة، بحيث مع بداية فصل الربيع واعتدال درجة الحرارة أي خلال شهر فبراير حتى نهاية شهر مارس تلك هي الفترة التي ينتج فيها حبوب لقاح النخيل فله موسم واحد من السنة، بحيث تباشر الطلعات بالظهور على النخيل وتبدأ الأغلفة بالإنشقاق لتظهر النورات الزهرية^[2]. لذلك ارتأينا جمع عينة من حبوب لقاح النخيل من منطقة ورماس التي تقع في شمال غرب ولاية وادي سوف.



الشكل (1.IV): خريطة موقع ورماس

2.1.IV. مرحلة التجفيف:

توضع الشماريخ الزهرية على قطعة من القماش أو الورق أو تعلق على حبال في أماكن مظللة بعيدا عن التيارات الهوائية وأشعة الشمس، وتركها لفترة أسبوعين لتجف تماما مع تقليبها لضمان جفاف جميع الشماريخ وضمان عدم تعرضها للتعفن بسبب الرطوبة، بعدها تكون الشماريخ جاهزة ويمكن رفعها وجمع حبوب اللقاح المتساقطة على شكل مسحوق [3]-[4].



بعد



قبل

الشكل (2.IV): عملية التجفيف والطحن

3.1.IV. الحفظ:

بعد سحق العينات في الهاون يتم حفظها في أوعية زجاجية محكمة الغلق، ويجب التأكد من عدم تعفن النباتات.

2.IV. الأجهزة والمواد المستعملة

1.2.IV. الأجهزة:

- جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية - المرئية (Spectrophotomètre UV-Visible).
- جهاز التبخير الدوار (Rotavapeur).
- جهاز سوكلتي (Soxlet).

- مخلاط مغناطيسي.
- ميزان الكتروني حساس.
- حاضنة.
- معقمة (Autoclave).
- مضخة.

2.2.IV. المواد:

- حمض الغاليك (A.G)
- محلول الكرسيتين
- محلول ثلاثي كلوريد الالمنيوم ($AlCl_3$; 2%)
- محلول كربونات الصوديوم (Na_2CO_3 ; 7.5%)
- كاشف فولين (Folin)
- هكسان (Hexane)
- ميثانول (MeOH)
- بوتانول (C_4H_9OH)
- إيثانول 80% (eau:EtOH/20:80).
- ماء مقطر

المستخلصات المدروسة:

- مستخلص الفينولات بمذيب الميثانول بواسطة جهاز سوكسلي Ph_{MS}
- مستخلص الفينولات بمذيب الميثانول بواسطة التنقيح Ph_{MM}
- مستخلص الفينولات بمذيب البوتانول بواسطة جهاز سوكسلي Ph_{BS}
- مستخلص الفينولات بمذيب البوتانول بواسطة التنقيح Ph_{BM}
- مستخلص الفينولات بمذيب الإيثانول بواسطة جهاز سوكسلي Ph_{ES}
- مستخلص الفينولات بمذيب الإيثانول بواسطة التنقيح Ph_{EM}

3.IV. استخلاص المركبات الفينولية:**1.3.IV. تعريف الاستخلاص:**

هو فصل مركب أو عائلة مركبات من المادة الخام باستعمال المذيبات العضوية، إن كانت المادة المراد فصلها سائلة فنطبق عليها استخلاص (سائل - سائل) وإن كانت المادة صلبة فنطبق استخلاص (صلب - سائل)، ولهذا الأخير عدة أشكال ترتبط بعدة عوامل مختلفة منها درجة الحرارة والضغط وكيفية استعمال المذيب^[5].

1.1.3.IV. استخلاص صلب - سائل:**▪ الاستخلاص على البارد (التنقيع):**

وتعتمد هذه الطريقة على وضع المادة الخام داخل إناء يحتوي على كمية محددة من المذيب، بحيث يكون حجم المذيب المستعمل يغطي المادة الجافة بنسبة تقريبية قدرها (حجم المذاب 1/حجم المذيب 3) في الظروف العادية (ضغط ودرجة حرارة الغرفة) مع التحريك من حين لآخر وتترك لمدة زمنية معينة ، خلالها يتم انتقال المركبات المراد فصلها من المادة الجافة إلى المذيب، تتبعها عملية الترشيح.

ونستعمل طريقة التنقيع للمواد التي تتأثر وتتفكك بالحرارة وتتأثر أيضا بقطبية المذيب (التشابه في القطبية بين المذيب والمستخلص المراد الحصول عليه من المادة الجافة أي مبدأ الشبيه يذيب الشبيه)^[6].

▪ الاستخلاص على الساخن:

هي تقنية سريعة نسبيا لسابقتها حيث يتم غمس النبات في المذيب مع التسخين، وتطبق على المواد الصلبة التي تطلق موادها الفعالة إلا تحت تأثير درجة حرارة عالية، وتطبق لفصل المواد المتبخرة (الطيارة) وغير قابلة للتبخر^[7].

- المواد غير القابلة للتبخر تستعمل في جهاز سوكسلي وفي درجة حرارة مضبوطة (درجة غليان المذيب).

2.1.3.IV. استخلاص سائل - سائل

هي إحدى طرق الفصل الشائعة الاستخدام تتم بقمع الفصل، ويحدث في هذه التقنية انتقال المادة المراد فصلها من مذيبين مختلفين في القطبية^[8].

2.3.IV. طريقة استخلاص المركبات الفينولية من حبوب لقاح النخيل بطريقة التنقيع:

تأخذ وزن قدره 30 غ من مسحوق حبوب لقاح النخيل ونقوم بنقعها في حجم قدره 150 مل من الهكسان، مع التحريك لمدة ساعة واحدة ونتركه مدة 24 ساعة في درجة حرارة الغرفة، نضيف إلى المسحوق بعد الترشيح والتجفيف 150 مل من الميثانول 80% بعد التحريك تترك 24 ساعة، ثم نقوم بعملية الترشيح، نكرر عملية الاستخلاص بالميثانول على الأقل مرتين من أجل الحصول على فصل أفضل. ثم نجمع الأطوار المفصولة ويعاد تركيزها (تبخير المذيب) بواسطة جهاز التبخير الدوار (Rotavapeur).

ونقوم بتنقية المستخلص الخام بإضافة كمية من الميثانول ونعيد تركيزه لنتحصل في الأخير على المستخلص الخام^[9].

ثم يتم وزن هذه المستخلصات لنتحصل على مردود الاستخلاص.

نعيد نفس بروتوكول الاستخلاص مع المذيبين البوتانول والإيثانول.

ويخلص الشكل (3.IV): أهم مراحل استخلاص الفينولات بطريقة التنقيع.



2- عملية الترشيح



1- عملية الإستخلاص



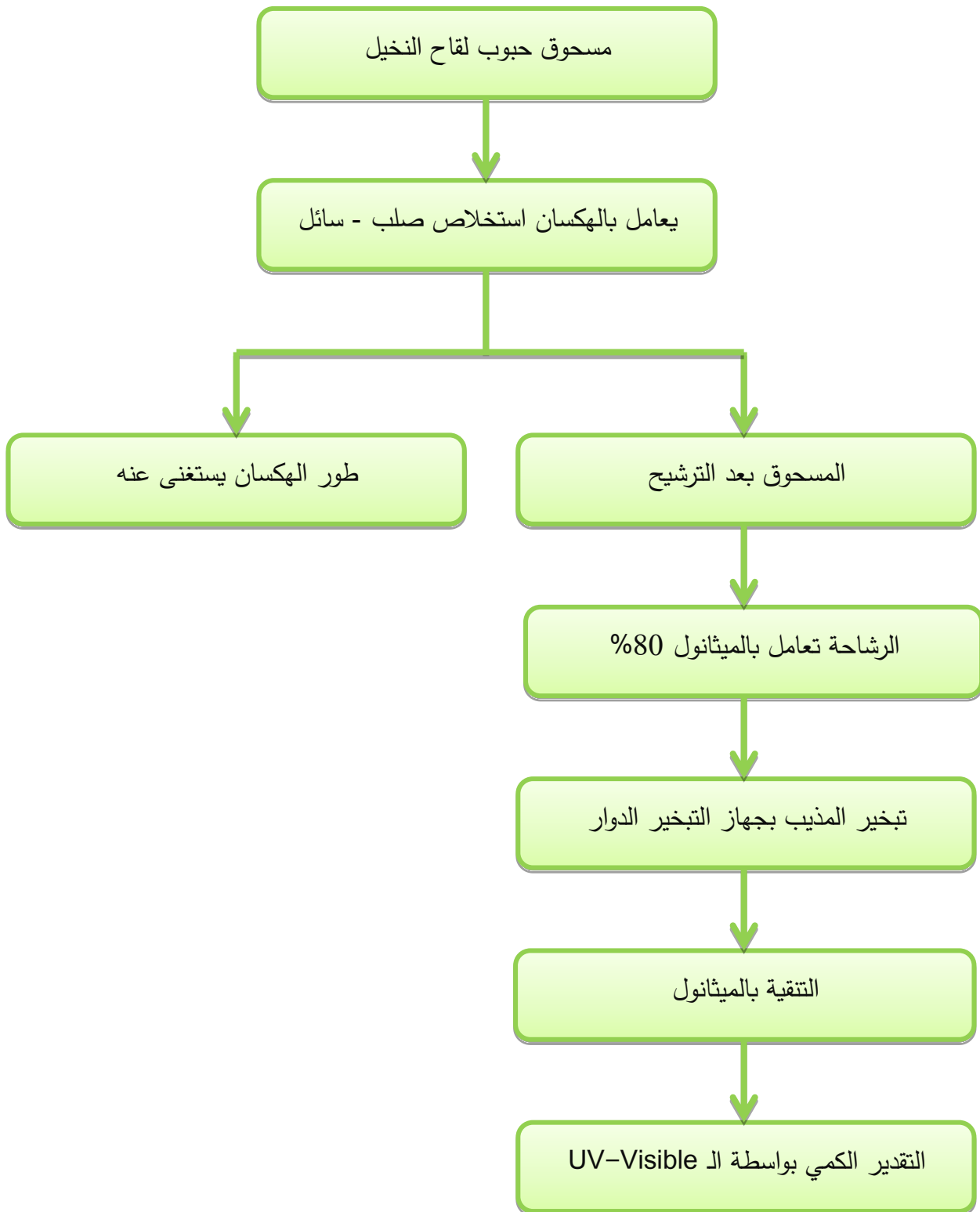
4- عملية التجفيف



3- عملية التبخير

الشكل (3.IV): مراحل استخلاص الفينولات بطريقة التنقيع

والشكل (4.IV) يوضح مراحل استخلاص الفينولات بطريقة التنقيع.



الشكل (4.IV): مخطط استخلاص الفينولات بطريقة التنقيع

IV.3.3. طريقة استخلاص المركبات الفينولية من حبوب لقاح النخيل بطريقة سوكسلي:

- بنسبة لمذيب الميثانول:

في البداية يتم طحن العينة لضمان الاستخلاص الجيد، نزن بواسطة الميزان الإلكتروني كتلة من العينة قدرها 30غ، نفرغها داخل عبوة جهاز سوكسلي (ورق ترشيح سميك) والتي تتميز بوجود مسامات تسمح بمرور المذيب للاستخلاص وحجز مسحوق النبات، ثم ندخل العبوة للجهاز، ونوصله بحوالة كروية بها حجم 300مل من مذيب الميثانول، وفي الأخير نضع تجهيز سوكسلي فوق السخان الكهربائي، يجب الإنتباه إلى درجة حرارة السخان والذي يضبط على درجة غليان المذيب، يتلخص مبدأ عمل جهاز سوكسلي في تسخين المذيب الموجود في الحوالة حتى الغليان ليصعد البخار ويتم تكثيف البخار بمكثف ارتدادي إلى الغرفة الرئيسية أين يتم نقع العينة على الدافئ لمدة زمنية معينة ويحدد مستوى المذيب بالقناة الزجاجية الحلزونية الدقيقة، حيث عند وصوله لمستوى أعلى يعيد المذيب النزول إلى الحوالة ساحبا معه المواد الكيميائية المذابة فيه، هكذا نقول عن المذيب أنه أنجز دورة كاملة، وهكذا حتى يكمل ستة دورات^[10]. بعد نهاية العملية يتم فصل المستخلص ثم يبخر المذيب عند درجة حرارة 40C⁰ بواسطة جهاز التبخير الدوار (Rotavapeur)، ونضيف إلى المستخلص المركز في قمع الفصل الهكسان حيث يكون حجمه مساويا لثلث حجم المستخلص المركز، وبعد الرج الجيد نتركه مدة 24 سا فنتحصل على طورين عضويين نفصل الطور الميثانولي عن طور الهكسان ونتركه يجف.

ثم نقوم بتنقية المستخلص الخام بإضافة كمية من الميثانول ونعيد تركيزه لنتحصل في الأخير على المستخلص الخام. ثم يتم وزن المستخلص لنتحصل على مردود الاستخلاص^[11].

ويلخص الشكل (5.IV): أهم مراحل استخلاص الفينولات بطريقة سوكسلي بمذيب الميثانول.



2- عملية تبخير المذيب



1- عملية استخلاص بسوكسلي



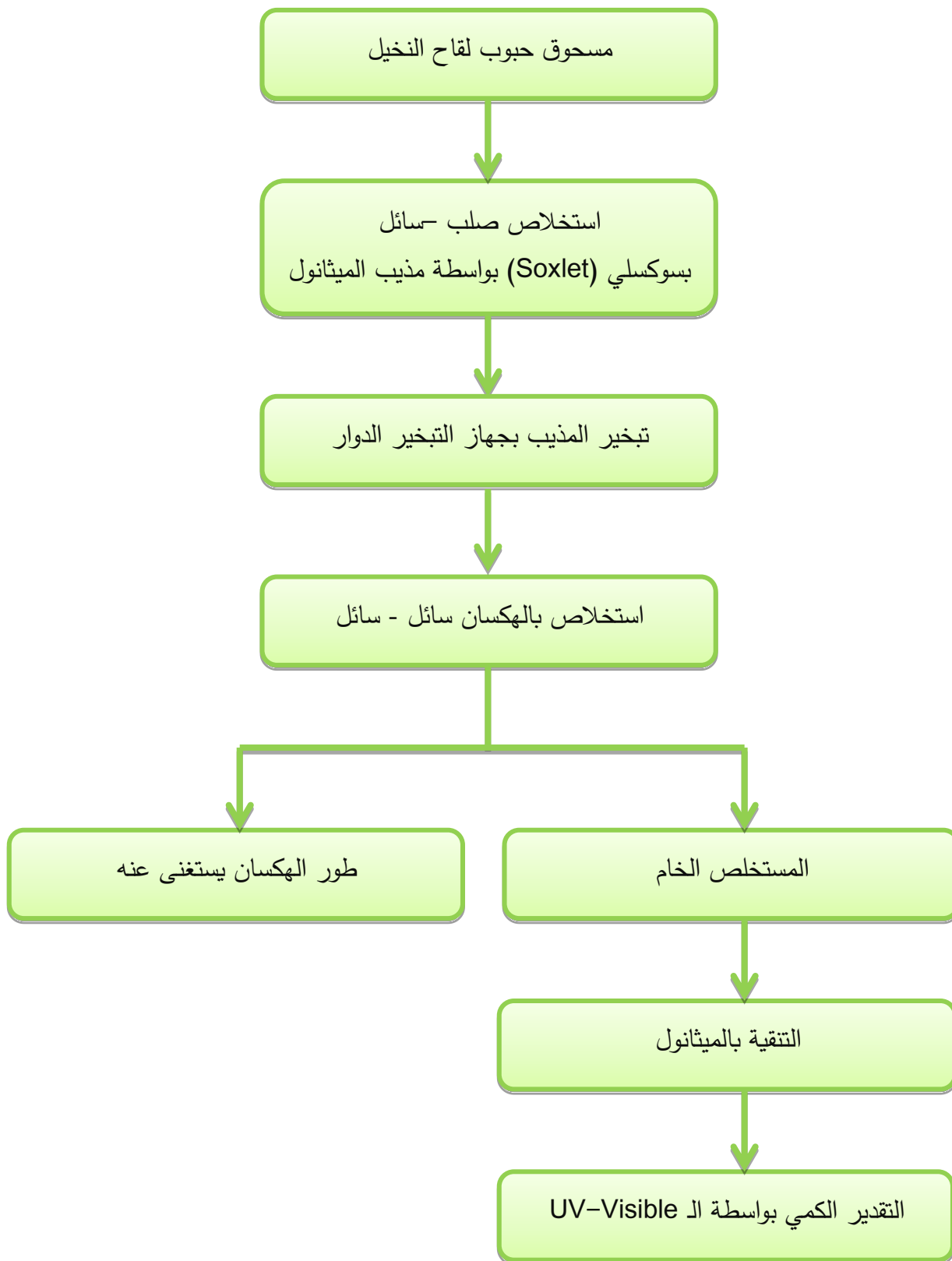
4- عملية التجفيف



3- إضافة الهكسان

الشكل (5.IV): مراحل استخلاص الفينولات بطريقة سوكسلي بمذيب الميثانول

والشكل (6.IV) يوضح مخطط استخلاص الفينولات بطريقة سوكلتي لمذيب الميثانول.



الشكل (6.IV): مخطط استخلاص الفينولات بطريقة سوكلتي بمذيب الميثانول

- بالنسبة لمذيب الايثانول والبوتانول:

نأخذ حجم قدره 30 غ من العينة بعد طحنها، نضعها داخل عبوة جهاز سوكسلي (ورق ترشيح سميك) ثم ندخل العبوة في الجهاز، ونوصله بحوالة كروية بها حجم 300 مل من مذيب ايثانول، وفي الأخير نضع تجهيز سوكسلي فوق السخان الكهربائي ثم نجري عملية الاستخلاص لمدة من الزمن بعد ستة دورات، نفصل المستخلص ثم يبخر المذيب عند درجة حرارة 40°C بواسطة جهاز التبخير الدوار (Rotavapeur)، نذيب المستخلص المركز في 60 مل من الماء المقطر الدافئ ونتركه لمدة 24 ساعة مع الرج الميكانيكي، ثم نضيف إلى المستخلص المائي 120 مل من الهكسان في قمع الفصل نرج جيدا ثم يترك للراحة لمدة 24 ساعة ثم نفصل الطبقة العضوية ونضيف إلى الطبقة المائية حجم من مذيب الايثانول ونتركه لمدة 24 ساعة مع الرج ثم نفصل الطبقة العضوية ونبخر المذيب بواسطة جهاز التبخير الدوار (Rotavapeur) فنحصل على المستخلص الخام.

ونقوم بتتقية المستخلص الخام بإضافة كمية من الميثانول ونعيد تركيزه لنتحصل في الأخير على المستخلص الخام. ثم يتم وزن هذا المستخلص لنتحصل على مردود الاستخلاص.

نعيد نفس الخطوات السابقة مع المذيب البوتانول.

ويلخص الشكل (7.IV): أهم مراحل استخلاص الفينولات بطريقة سوكسلي لمذيب ايثانول.



3- إضافة الماء الساخن



2- عملية ترشيح



1- الاستخلاص بسوكسلي



6- عملية تجفيف



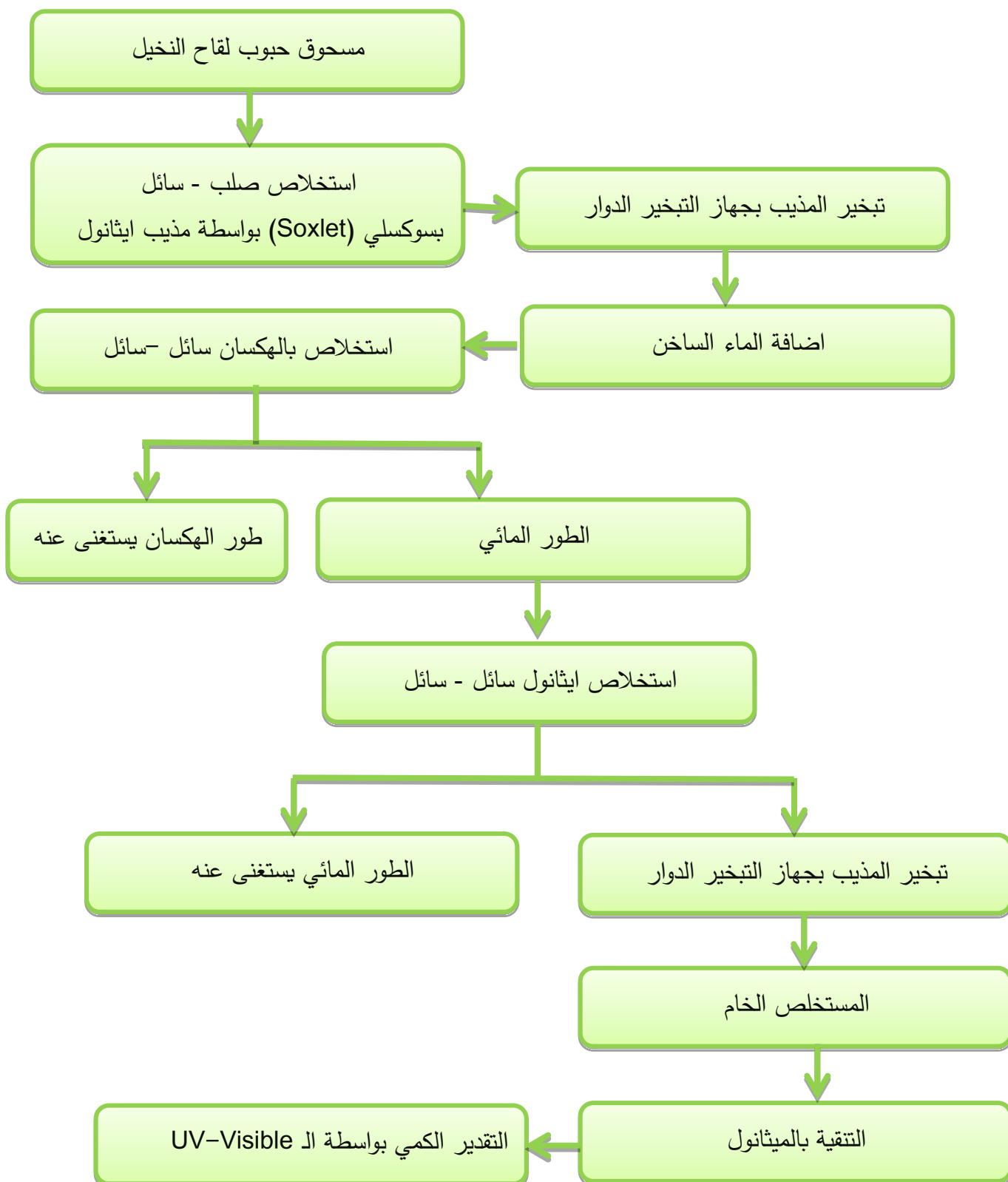
5- إضافة إيثانول



4- إضافة الهكسان

الشكل (7.IV): بعض مراحل استخلاص الفينولات بطريقة سوكسلي بمذيب إيثانول

والشكل (8.IV) يوضح مخطط مراحل استخلاص الفينولات بطريقة سوكسلي لمذيب إيثانول.



الشكل (8.IV): مخطط يوضح استخلاص الفينولات بطريقة سوكسلي بمذيب ايثانول

4.IV. حساب مردود الإنتاجية للمستخلصات:

المردود الإنتاجية للمستخلصات هي النسبة بين وزن المادة المستخلصة والتي نرسم لها بـ m_f على وزن المادة الابتدائية للنبته ونرسم لها بـ m_i حسب العلاقة التالية:

$$R\% = m_f/m_i \times 100$$

- m_f : الكتلة النهائية .
- m_i : الكتلة الابتدائية .
- $R\%$: المردودية الإنتاجية للمستخلصات بـ % [12].

5.IV. التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية - المرئية:**1.5.IV. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية - المرئية:**

هذه التقنية من أقدم الطرق استعمالاً في التحليل الكمي والكيفي، ومن أهم الوسائل التي تساعد في تحديد البنى الكيميائية للمركبات، تشمل على منطقة الضوئي المرئي ومنطقة الأشعة فوق البنفسجية، ومن أهم طرق التقدير الكمي طريقة قياس الإمتصاصية (الكثافة الضوئية للمحاليل حيث مجالها الكهرومغناطيسي (الطول الموجي) ما بين 400-700 نانومتر [13].

1.1.5.IV. مبدأ العمل:

يتكون جهاز الطيف الذري من قسمين رئيسيين هما المصدر الضوئي لكل لأي طول موجي محدد، ومقياس كثافة الضوء، حيث وضع السائل المراد قياس تركيز العناصر الموجودة بداخله في حامل العينة (Cuvette)، ثم وضع العينة بين المصدر الضوئي والكاشف، وعند تعرض الكاشف الضوئي للضوء فإنه يتولد على أقطابه إشارة كهربائية تتغير بتغير كمية الضوء الممتصة من قبل السائل، حيث تعتمد تغير امتصاص العينة للضوء على تغير تركيز المادة في المحلول وبالتالي يمكن حساب التركيز بالإعتماد على امتصاص الضوء عند طول موجي محدد [5].

قانون لامبرت بير:

$$A = \log I_0 / I$$

حيث:

I_0 : شدة الضوء الوارد

I : شدة الضوء الصادر

IV.2.1.5. مكونات الجهاز:

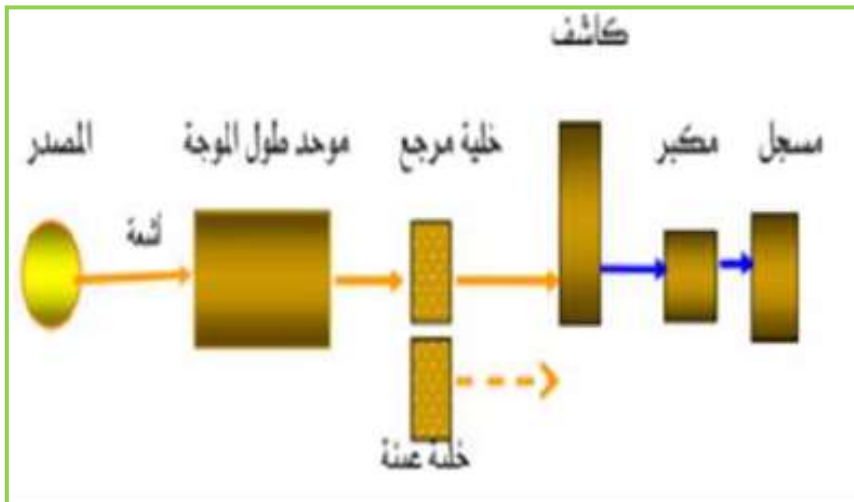
توجد مجموعة مختلفة من الأجهزة والتي تختلف عن بعضها في التصميم منها الفوتوميتر والاسبكتروفوتوميتر وهذه الأجهزة تتكون أساسا من أربعة أجزاء رئيسية وهي:

- المصدر (Source)

- وحدة التحكم في الأطوال الموحية (Monochromator)

- وحدة العينات (Cells)

- الكاشف أو المقدر (Detector)



الشكل (9.IV): مكونات جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية

2.5.IV. التقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة UV-Visible:

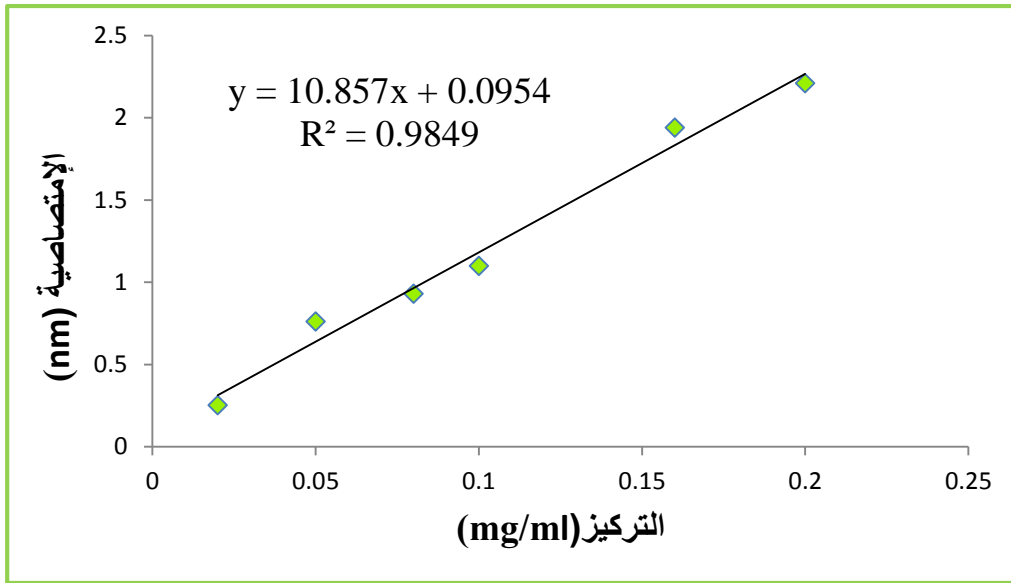
يتم تقدير كمية المركبات الفينولية الكلية باستخدام الطريقة اللونية (Singleton Rossi (1965) باستعمال كاشف الفولين (Folin ciocalteu)، حيث أن هذا الكاشف يتكون من حمض فوسفوتنغستينيك ($H_3P_{13}W_{12}O_{40}$) وحمض فوسفوموليبيديك ($H_3PMo_{12}O_{40}$) الذي يرجع بواسطة الفينولات إلى أكسيد التنغستين (WO_3) والموليبيدين (MoO_3) ذات اللون الأزرق، يتم تقدير المركبات الفينولية كميًا بواسطة جهاز المطيافية الضوئية وباستعمال حمض الغاليك كفينول مرجعي تقاس امتصاصيته الضوئية عند طول موجي 765nm [14].

1.2.5.IV. المنحنى القياسي لحمض الغاليك:

نقوم بتحضير محاليل ممددة لحمض الغاليك تراكيزه تتراوح ما بين (0.02 - 0.2) ملغ/مل في أنابيب اختبار، ثم نأخذ 0.2 مل من المحاليل الممددة ونضيف لها 1 مل كاشف (Folin ciocalteu) الممدد 10 مرات ، ثم نضيف 0.8 مل من محلول كربونات الصوديوم (7.5%) Na_2CO_3 ، ونضع المحاليل في الظلام لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة، بعدها تقاس الامتصاصية عند طول موجي $\lambda = 765 \text{ nm}$. انطلاقاً من قيم الامتصاصية لمحاليل حمض الغاليك جدول (1.V) نرسم منحنى القياسي الكثافة الضوئية (الامتصاصية) بدلالة التركيز (C) $A=f(C)$ [15].

الجدول (1.V): نتائج الامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الغاليك

| التركيز | 0.2 | 0.16 | 0.1 | 0.08 | 0.05 | 0.02 |
|------------|------|------|-------|-------|-------|-------|
| الامتصاصية | 2.21 | 1.94 | 1.099 | 0.931 | 0.762 | 0.253 |



الشكل (10.IV): المنحنى القياسي لحمض الغاليك

2.2.5.IV. التقدير الكمي للفينولات الكلية في المستخلصات:

نحضر من كل مستخلص عضوي تركيز قدره 0.5 ملغ/مل، نأخذ من كل تركيز 0.2 مل ونضيف له 0.5 مل من كاشف الفولين (Reactif de folin -cicalteai) ونتركه مدة 5 دقائق في الظلام ثم نضيف له 0.8 مل من محلول كربونات الصوديوم (7.5% Na_2CO_3)، ونتركه في الظلام لمدة نصف ساعة فننتحصل على اللون الأزرق، ثم نقرأ الامتصاصية عند طول موجي $\lambda = 765 \text{ nm}$.



الشكل (11.IV): المحاليل بعد إضافة كاشف الفولين

3.5.IV. التقدير الكمي للفلافونيدات بواسطة UV-Visible:

يتم تحديد كمية الفلافونويدات الكلية وفق الطريقة اللونية لكلوريد الألمنيوم التي وصفها Chang et al واعتمدنا على طريقة Woisky and salation مع بعض التعديلات الطفيفة، ويمكن تقديرها كميًا عن طريق التفاعل مع كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$) مع مجموعة الهيدروكسيل (OH) الموجودة في الحلقات البنزينية للفلافونويدات، وتكوين معقد ذو اللون الأصفر مع الفلافونويدات.

ونستعمل في هذه التجربة فلافونويد الكرسيتين كأساس مرجعي لرسم المنحنى القياسي ويتم تقدير كمية الفلافونيدات بواسطة جهاز المطيافية الضوئية باستعمال الكرسيتين كمحلول قياسي عند طول موجي $\lambda = 420 \text{ nm}$ [16].

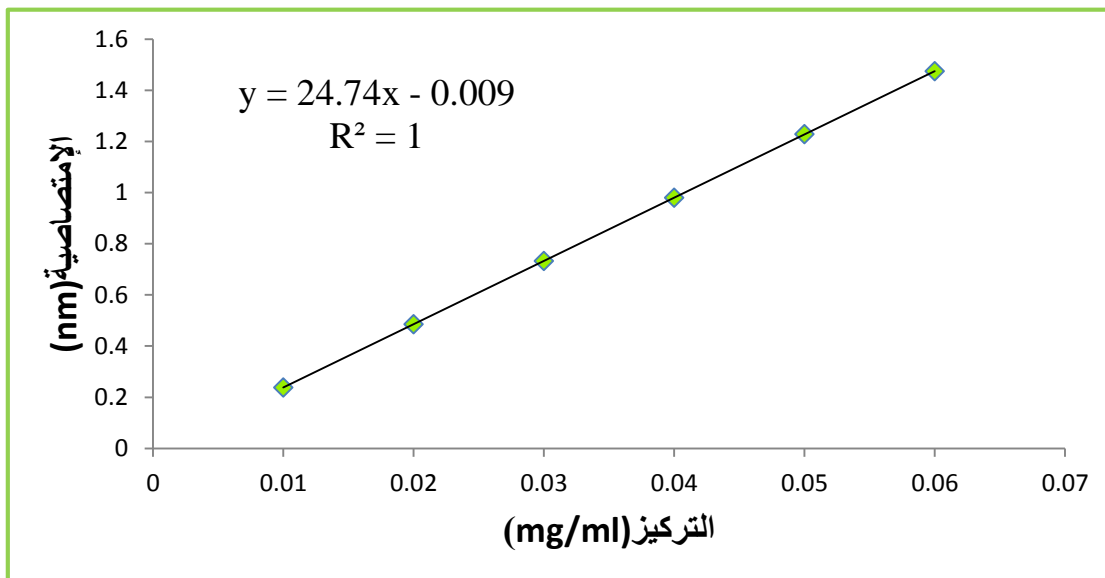
1.3.5.IV. المنحنى القياسي لحمض الكرسيتين:

نقوم بتحضير عدة تراكيز من محلول الكرسيتين محصورة بين (0.01-0.06) ملغ /مل، نأخذ من كل تركيز 1 مل و نضيف له 1 مل من محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$) ذو التركيز 2% ثم نتركها لمدة 30 دقيقة في الظلام عند درجة حرارة المخبر، ثم تحسب الإمتصاصية بواسطة جهاز UV عند طول موجي $\lambda = 420 \text{ nm}$

انطلاقاً من قيم الامتصاصية لمحاليل حمض الكرسيتين جدول (2.IV) نرسم منحنى القياسي الكثافة الضوئية (الامتصاصية) بدلالة التركيز $A=f(C)$ [17]

جدول (2.IV): نتائج الامتصاصية للكرستين بدلالة التركيز

| التركيز ملغ/مل | 0.06 | 0.05 | 0.04 | 0.03 | 0.02 | 0.01 |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| الامتصاصية A | 1.475 | 1.228 | 0.980 | 0.733 | 0.485 | 0.238 |



الشكل (12.IV): المنحنى القياسي لحمض الكرسيتين

2.3.5.IV. التقدير الكمي للفلافونويدات الكلية في المستخلصات:

نحضر من كل مستخلص تركيز قدره 0.5 ملغ/مل، و نأخذ من كل تركيز 1 مل في أنبوب اختبار و نضيف له 1 مل من محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$) ذو التركيز 2%، ثم نتركها لمدة ساعة في الظلام نتحصل على اللون الأصفر، بعدها نقوم بقراءة الامتصاصية عند طول موجي $\lambda = 420 \text{ nm}$.



الشكل (13.IV): المحاليل بعد إضافة ثلاثي الكلوريد الألمنيوم

المراجع

المراجع باللغة العربية:

- [2] د.حسن عبد الرحمان شبانة وآخرون. (2006). ثمار النخيل فسلجتها، جنيها، تداولها والعناية بها بعد الجني. ص15.
- [3] سعودي بن عبد الكريم ورمزي عبد الرحيم أبو عيانة. (2016). المنتجات الثانوية للنخيل...أنواعها وأهميتها الاقتصادية. ط 2. ص92.
- [4] د.عبد الباسط عودة إبراهيم. (2008). نخلة التمر شجرة الحياة، المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة (أكساد). جامعة الدول العربية. ص117-118.
- [5] ربيعي عبد الكريم. (2010). المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بربوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية. مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- [7] زيدي محمد فاتح. (2012). المساهمة في الدراسة الفيتوكيميائية لنبات *Deverra scoparia* (البسباس البري)- الزيوت الطيارة والليبيدات. مذكرة ماستر أكاديمي، جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- [8] د. حمادة جميلة. (2018). تقنيات الفصل الفيزيوكيميائي. جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص20
- [9] سوسن علي حميد الحلفي، أم البشر حميد جابر الموسوي. (2011). الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات المائية والكحولية لبعض الفواكه، مجلة أبحاث البصرة (العلميات). العدد (37). ص82-91.
- [10] حوى ابراهيم. (2013). دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة. مذكرة ماجستير جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- [11] تامة نور الدين. (2018). الدراسة الفيتوكيميائية للمنتجات الفعالة (القلويدات، الفينولات والفلافونويدات، التربينات الثلاثية) والنشاط المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات لنبات الباقل والحمير التي تنمو في جنوب شرق الجزائر. مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتوراه علوم، تخصص كيمياء نباتية. جامعة العربي بن مهيدي أم البواقي.
- [15] عفاف سبوعي، دركي مروة. (2019). دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات الفينولية والقلويدية لعشبة العلندة. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية. جامعة حمه لخضر الوادي.
- [17] معامير حنين، علال يسرى. (2019). دراسة نواتج الأيض الثانوي والفولافونيدي والفعالية البيولوجية لمستخلص الخام لأوراق نبات الرمان باستعمال الكحول والماء بنسب مختلفة. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية. جامعة حمه لخضر الوادي.

المراجع باللغة الأجنبية

- [1] Amany, M. B., Arafat, S. M., & Soliman, H. M. (2013). Chemical analysis of olive and palm pollen: Antioxidant and antimicrobial activation properties. *Wudpecker J Food Technol*, 1(2), 014-021.
- [6] Chevion, S., Chevion, M., Chock, P. B., & BEECHER, G. R. (1999). Antioxidant capacity of edible plants: Extraction protocol and direct evaluation by cyclic voltammetry. *Journal of Medicinal Food*, 2(1), 1-10.
- [12] Boukri, N. H. (2014). Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Thème Master Academique. Université Kasdi Merbah Ouargla, P99.
- [13] Asadi, S., Ahmadiani, A., Esmaeili, M. A., Sonboli, A., Ansari, N., & Khodagholi, F. (2010). In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran: a comparative study. *Food and chemical toxicology*, 48(5), 1341-1349.
- [14] Gekker, G., Hu, S., Spivak, M., Lokensgard, J. R., & Peterson, P. K. (2005). Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4+ lymphocyte and microglial cell cultures. *Journal of ethnopharmacology*, 102(2), 158-163.
- [16] Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), 555-559.

الفصل الخامس
النتائج والمناقشة

1.V. مردود الاستخلاص:

- ✓ مستخلص الفينولات بمذيب الميثانول بواسطة جهاز سوكللي Ph_{MS}
- ✓ مستخلص الفينولات بمذيب الميثانول بواسطة التنقيح Ph_{MM}
- ✓ مستخلص الفينولات بمذيب البوتانول بواسطة جهاز سوكللي Ph_{BS}
- ✓ مستخلص الفينولات بمذيب البوتانول بواسطة التنقيح Ph_{BM}
- ✓ مستخلص الفينولات بمذيب الإيثانول بواسطة جهاز سوكللي Ph_{ES}
- ✓ مستخلص الفينولات بمذيب الإيثانول بواسطة التنقيح Ph_{EM}

$$R\% = m_f / m_i \times 100$$

بعد عملية الاستخلاص تحصلنا على النتائج المدونة في الجدول (1.V)

❖ مردود الاستخلاص للمركبات الفينول

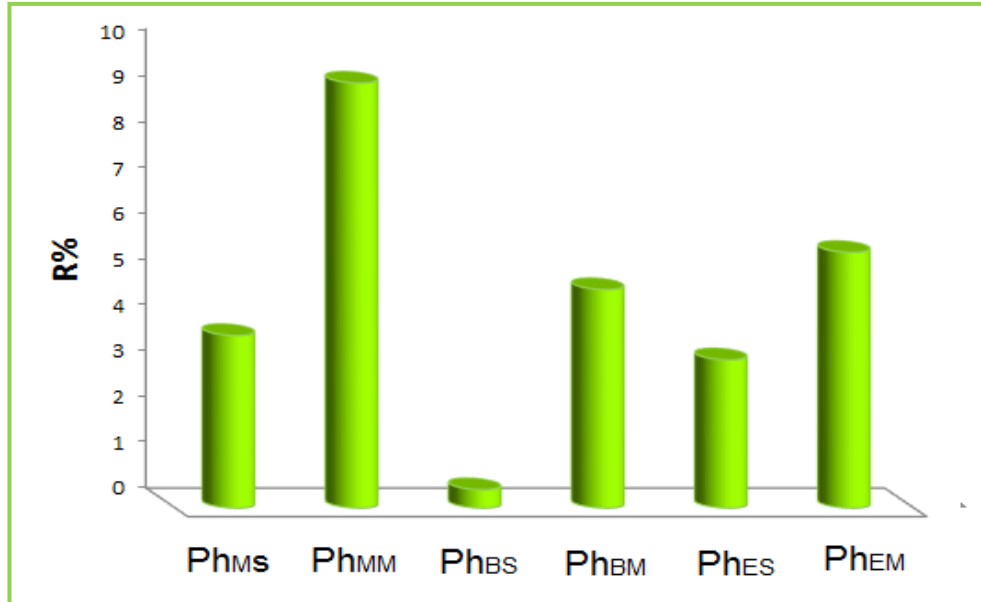
الجدول (1.V): مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية

| العينة | Ph _{MS} | Ph _{MM} | Ph _{BS} | Ph _{BM} | Ph _{ES} | Ph _{EM} |
|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| الكتلة الأولية | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| الكتلة النهائية | 1.130 | 2.778 | 0.120 | 1.430 | 0.970 | 1.672 |
| المردود% | 3.76 | 9.26 | 0.4 | 4.76 | 3.23 | 5.57 |

• النتائج والمناقشة:

من خلال النتائج المبينة في الجدول (1.V) نجد أن مردود المستخلصات بطريقة التنقيح كان معتبر حيث بلغ 9.26% للمستخلص Ph_{MM}، بينما 5.57% للمستخلص Ph_{EM} و 4.76% بالنسبة للمستخلص Ph_{BM}، في حين أن نسبة مردود المستخلصات بطريقة سوكللي كان أقل مقارنة بمستخلصات طريقة التنقيح، حيث بلغ 3.76% للمستخلص Ph_{MS} بينما 3.23% بالنسبة Ph_{ES}، أما بالنسبة للمستخلص Ph_{BS} فقد كانت أقل قيمة قدر بـ 0.4%. وهذا ما يدل على أن اختلاف قيم مردود المستخلصات راجع إلى اختلاف طرق الاستخلاص وقطبية المذيبات.

مردود الاستخلاص للعينات Ph_{MS} و Ph_{MM} و Ph_{BS} و Ph_{BM} و Ph_{ES} و Ph_{EM} موضحة في الشكل (1.V):



الشكل (1.V): مخطط نسبة مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية

2.V. التقدير الكمي بواسطة جهاز المطيافية الأشعة UV-Visible:

1.2.V. التقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز UV-Visible :

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في الجدول (2.V):

الجدول (2.V): قيم الامتصاصية للتركيز المحضرة

| العينة | Ph_{MS} | Ph_{MM} | Ph_{BS} | Ph_{BM} | Ph_{ES} | Ph_{EM} |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| التركيز (mg/ml) | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| الامتصاصية | 0.63 | 0.90 | 0.41 | 0.68 | 0.44 | 0.87 |

نستخدم علاقة المنحنى القياسي لحمض الغاليك لنجد تركيز الفينولات الكلية في المستخلصات، حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة لـ 1 غ من المستخلص لكل عينة.

$$Y = 10.85X + 0.095$$

النتائج مدونة في الجدول (3.V):

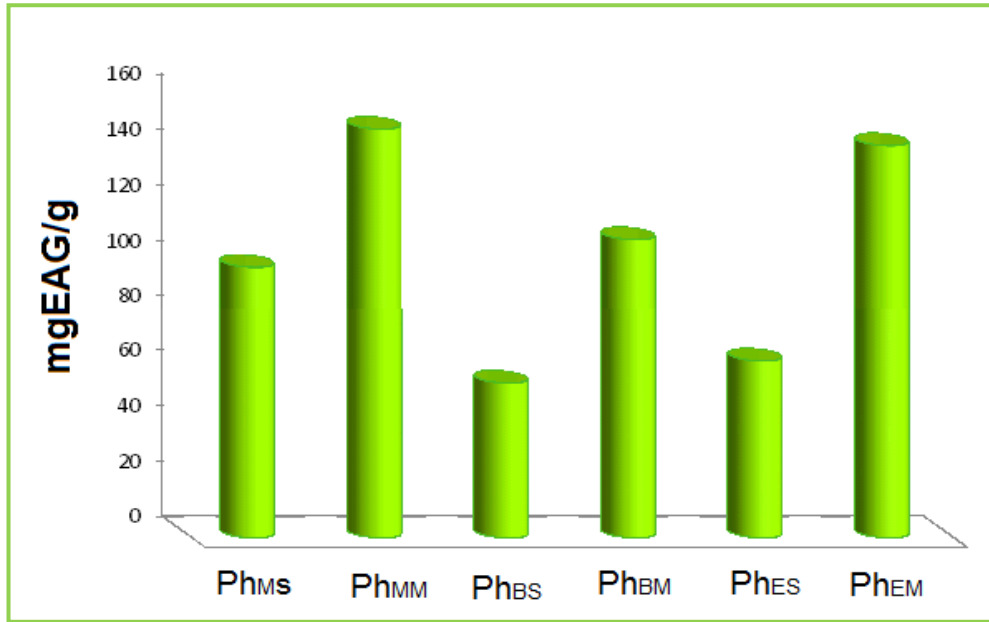
الجدول (3.V): كمية الفينولات الكلية في المستخلصات

| Ph _{EM} | Ph _{ES} | Ph _{BM} | Ph _{BS} | Ph _{MM} | Ph _{MS} | العينة |
|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|----------------|
| 142.85 | 63.59 | 107.83 | 58.06 | 148.38 | 98.61 | الكمية mgEAG/g |

• النتائج والمناقشة:

من خلال النتائج المدرجة في الجدول (3.V) والتي تمثل التقدير الكمي للفينولات الكلية في المستخلصات، لوحظ ان كمية المركبات الفينولية للمستخلصات كانت متفاوتة حيث قدرت أعلى الكميات في مستخلصات طريقة التنقيع، فسجلنا 148.38 mgEAG/g عند مستخلص Ph_{MM}، بينما 142.85 mgEAG/g لمستخلص Ph_{EM} ويليها المستخلص Ph_{BM} حيث بلغت كميته 107.83 mgEAG/g، في حين أن كمية المستخلصات بطريقة سوكسلي كانت أقل حيث بلغت قيمتها 63.59 mgEAG/g لمستخلص Ph_{ES} أما 98.61 mgEAG/g بالنسبة لمستخلص Ph_{MS} بينما 58.06 mg EAG/g فقد قدرت بـ 58.06 mg EAG/g، وهذه القيم تتناسب طردياً مع قيم مردود الاستخلاص (كل ما زاد المردود زادت كمية المركبات الفينولية الموجودة في العينة). فمن خلال هذه النتائج تبين لنا أن الاختلاف في طريقة الاستخلاص ونوع المذيب تؤثر على كمية الفينولات، فالمستخلصات بطريقة التنقيع أعطت كمية أكبر من الفينولات مقارنة بمستخلصات طريقة سوكسلي بالإضافة إلى ذلك فقد كان لمذيب الميثانول القدرة الأكبر على استخلاص المركبات الفينولية المتواجدة في حبوب لقاح النخيل مقارنة بمذيبي الايثانول واليوتانول على التوالي.

والشكل (3.V) يوضح كمية الفينولات المستخلصة:



الشكل (2.V): مخطط يوضح كمية الفينولات المستخلصة.

2.2.V. التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة جهاز UV-Visible :

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في الجدول (5.V):

الجدول (4.V): قيم الامتصاصية للتركيز المحضرة

| العينة | Ph _{EM} | Ph _{ES} | Ph _{BM} | Ph _{BS} | Ph _{MM} | Ph _{MS} |
|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| التركيز (mg/ml) | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| الامتصاصية | 0.33 | 0.23 | 0.29 | 0.21 | 0.38 | 0.27 |

بنفس الطريقة السابقة باستخدام علاقة المنحنى القياسي للكروستين نجد تركيز الفلافونويدات في

المستخلصات، حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة لـ 1 غ من المستخلص لكل عينة.

ونتائج الحساب مدونة في الجدول (5.V).

$$Y=24.74X-0.009$$

الجدول (5.V): كمية الفلافونويدات في المستخلصات

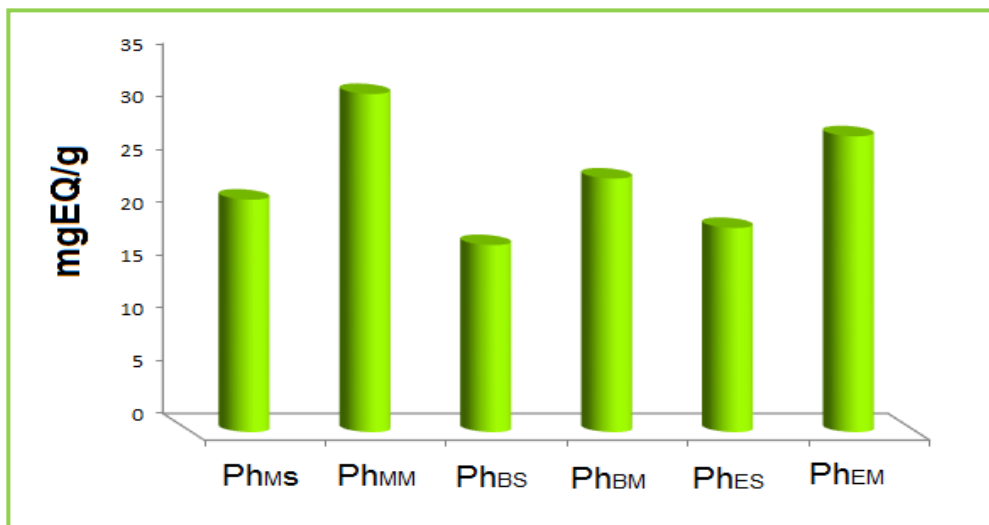
| العينة | Ph _{MS} | Ph _{MM} | Ph _{BS} | Ph _{BM} | Ph _{ES} | Ph _{EM} |
|---------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| الكمية mgEQ/g | 22.55 | 31.44 | 17.70 | 24.17 | 19.32 | 27.40 |

• النتائج والمناقشة:

يظهر من خلال الجدول (5.V) والذي يعبر عن كمية الفلافونويدات المستخلصة، حيث بلغت كمية الفلافونويدات المستخلصة بطريقة التنقيح 31.44 mgEQ/g بالنسبة لمستخلص Ph_{MM}، بينما بلغت 27.40 mgEQ/g لمستخلص Ph_{EM} ويليها المستخلص Ph_{BM} حيث قدر بـ 24.17 mgEQ/g في حين أن كميتها في مستخلصات طريقة سوكلبي كانت أقل مقارنة بمستخلصات طريقة التنقيح حيث بلغت 22.55 mgEQ/g بالنسبة لمستخلص Ph_{MS} و 19.32 mg EAG/g بالنسبة لمستخلص Ph_{ES} أما بالنسبة لمستخلص Ph_{BS} فقد بلغت 17.70 mgEQ/g.

من خلال النتائج المتحصل عليها نلاحظ ان هناك علاقة طردية بين كمية الفينولات والفلافونويدات (كلما زادت كمية الفينولات تزداد كمية الفلافونويدات في العينة). وبما أن الفلافونويدات أكثر الفينولات انتشارا فهي تمثل نسبة معتبرة من كمية الفينولات المستخلصة من هذه العينات.

والشكل (4.V) يوضح كمية الفلافونويدات المستخلصة:



الشكل (3.V): مخطط يوضح كمية الفلافونويدات المستخلصة.

3.2.V. مقارنة التقدير الكمي للفينولات والفلافونويدات مع الدراسات السابقة:

- بالمقارنة مع دراسة قامت بها Amany M واخرين على حبوب لقاح النخيل باستعمال طريقة Folin-Ciocalteu لتحديد كمية الفينولات الكلية وطريقة كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$) لتحديد كمية الفلافونيدات وجدوا أن محتوى الفينولات الكلية والفلافونيدات للمستخلص الايثانولي لحبوب لقاح النخيل بطريقة التنقيع تقدر بـ (0.22 mg EAG/g) و (0.0613mgQE/ g) على التوالي^[1]. حيث تعتبر هذه القيم منخفضة جدا مقارنة بالنتيجة التي حصلنا عليها.
- وفي دراسة أخرى أجرتها Amal D واخرين على حبوب لقاح النخيل تم جمعها من تونس (توزر) باستخدام عدة مذيبات مختلفة القطبية (هكسان، كلورفورم، اسيتون، ايثانول والماء) باستعمال نفس الطريقة السابقة لتحليل الكمي للفينولات والفلافونيدات حيث دونت النتائج في الجدول (6.V)^[2]

الجدول (6.V): يوضح نتائج كمية الفينولات والفلافونويدات

| المستخلصات | الفينولات الكلية mg EAG/g | الفلافونيدات الكلية mg QE/ g |
|------------|------------------------------|---------------------------------|
| هكسان | 5.40 | 4.67 |
| كلورفورم | 133.14 | 7.69 |
| اسيتون | 213.36 | 75.10 |
| ايثانول | 211.11 | 22.25 |
| الماء | 237.74 | 37.59 |

نلاحظ أن كمية الفينولات والفلافونيدات بالنسبة لدراستنا كانت أفضل من هذه الدراسة عند استعمال المذيبات التالية هكسان والكلورفورم، بينما كانت كميات الفينولات والفلافونيدات أفضل من دراستنا وعند استعمال المذيبات التالية اسيتون وايثانول والماء، وهذا راجع لخصوبة التربة وعوامل مناخية ونوعية المذيب.

- في دراسة أجرتها فاطمة زيبيدي على حبوب لقاح النخيل لمنطقتين في وادي سوف (حمراية والعلندة) حيث قدرت محتوى الفينولات الكلية والفلافونيدات للمستخلص الميثانولي بطريقة التنقيع لحبوب لقاح النخيل لمنطقة الحمراية (229.59 mg EAG/g) و (46.90 mgQE/g) على التوالي. أما بالنسبة لمنطقة

العنقدة فقد قدرت (494.496 mg EAG/g) و (33.11 mgQE/g) على التوالي^[3]، وهذه القيم مرتفعة مقارنة بالنتائج التي حصلنا عليها، وهذا راجع لنوعية حبوب لقاح النخيل التي قد تكون مختلفة من منطقة لأخرى.

3.V. نتائج دراسات سابقة للفاعلية البيولوجية :

1.3.V. الفاعلية المضادة للاكسدة :

• أظهرت النتائج التي أجرتها Amany M وآخرين لمستخلص الإيثانولي بطريقة التنقيع على حبوب لقاح النخيل نشاطية عالية ضد الجذور الحرة في اختبار DPPH حيث سجلت قيمة IC_{50} 0.062 ± 0.001 mg/ml^[1].

• وفي دراسة أجرتها Amal D وآخرين على حبوب لقاح النخيل في تونس (توزر) باستعمالها لعدة مذيبات متدرجة في القطبية (هكسان، كلوروفورم، الأسيتون، الإيثانول، ماء) باختبار DPPH بحيث سجلت النتائج في الجدول (7.V)^[2]:

الجدول (7.V): يوضح قيم IC_{50} (mg/ml)

| المستخلصات | IC_{50} (mg/ml) |
|------------|-------------------|
| هكسان | / |
| كلوروفورم | / |
| اسيتون | 0.046 ± 0.28 |
| إيثانول | 0.144 ± 0.54 |
| ماء | 0.534 ± 0.05 |

سجلت أكبر فعالية لمستخلص الاسيتون بقيمة تقدر ($IC_{50} = 0.046 \pm 0.28$ mg/ml) ويليه مستخلص إيثانولي ($IC_{50} = 0.144 \pm 0.54$ mg/ml) بينما سجلت أقل قيم لـ IC_{50} مع باقي المستخلصات.

• في دراسة أجرتها فاطمة زيدي على حبوب لقاح النخيل لمنطقتين في وادي سوف (العنقدة والحمراية) لدراستها لمضادات الأكسدة بطريقة الفولطمترية الحلقي باستعمال منحني قياسي لحمض الغاليك حيث بلغت كميته (5.77 mgEAG/g) عند المستخلص الميثانولي لمنطقة الحمراية وهي تعتبر كمية معتبرة

نوعا ما، وبلغت كميتها عند المستخلص الميثانولي لمنطقة العنيدة (6.92 mgEAG/g) وهي قيمة مقبولة من مضادات الأكسدة [3].

2.3.V. الفاعلية المضادة للبكتيريا:

• قامت Amany وآخرين بتحديد النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص ايثانولي بتركيز مختلفة لحبوب لقاح النخيل باستخدام طريقة الانتشار لخمسة أنواع من البكتيريا المسببة للأمراض عن طريق قياس قطر منطقة التثبيط حيث دونه النتائج في الجدول (8.V) [4]:

الجدول (8.V): يوضح أقطار التثبيط للبكتيريا (mm).

| العينة | <i>Bacillus Cereus</i> | <i>Bacillus subtilis</i> | <i>Pseudomona saeruginosas</i> | <i>Staphlocococ usaurueus</i> | <i>Klebsiella Pneumoniae</i> |
|------------|------------------------|--------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| Gentamicin | 8.00±1.00 | 11.00±1.30 | 8.50±0.00 | 9.00±2.10 | 8.00±2.10 |
| %40 | 0.00±0.00 | 0.50±0.10 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| %50 | 0.00±0.00 | 4.00±0.90 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| %60 | 0.00±0.00 | 2.00±0.75 | 2.50±0.90 | 0.00±0.00 | 2.50±0.40 |
| %70 | 0.00±0.00 | 3.00±0.81 | 1.50±1.00 | 0.00±0.00 | 3.50±0.65 |
| %80 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 3.00±0.71 |
| %90 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 7.00±1.30 |

توضح هذه الدراسة المشاركة في الجدول (8.V) إلى وجود أقطار تثبيط متوسطة تتراوح بين 8mm إلى 11mm بالنسبة للمضاد الحيوي (Gentamicin)، حيث سجل أقل قطر تثبيط عند *Bacillus Cereus* و *Klebsiella Pneumoniae* وأعلى قطر تثبيط عند *Bacillus subtilis*. ونلاحظ أن السلالتين البكتيرية *Bacillus Cereus* و *Staphlocococus aurueus* لم تظهر أي منها حساسية اتجاه المستخلص الايثانولي لحبوب لقاح النخيل في كافة التراكيز، بينما سجلت أقطار تثبيط ضعيفة مع باقي السلالات البكتيرية، حيث بلغ أعلى قطر تثبيط *Klebsiella Pneumoniae* 7mm عند التركيز 90%.

- في دراسة اجرتها Amal D واخرين لتحديد النشاط المضاد للبكتيريا لعدة مستخلصات باستخدام طريقة الانتشار لعدة أنواع من البكتيريا المسببة للأمراض عن طريق قياس قطر منطقة التثبيط حيث تراوحت اقطار تثبيط من 8mm إلى 20mm النتائج مدونة في الجدول (9.V):

الجدول (9.V): يوضح أقطار التثبيط للبكتيريا (mm).

| العينة | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Bacillus subtilis</i> | <i>Bacillus Cereus Szw</i> | <i>Echerichia coli</i> |
|------------|------------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------------|
| هكسان | 9.5±0.5 | 9.5±0.5 | 9.5±0.5 | 10±1.0 |
| كلورو فورم | 9±0.0 | 9±1.0 | 9±1.0 | - |
| اسيتون | 14.5±0.5 | 14.5±0.5 | 14±0.0 | 12±1.0 |
| ايتانول | 12±0.0 | 11±1.0 | 10±0.0 | 10±1.0 |
| الماء | 8±0.0 | 9.5±0.5 | 8.5±0.5 | 8±0.0 |

يوضح الجدول (9.V) وجود فروقات في تأثير المستخلصات على تثبيط سلالات بكتيرية مختلفة، حيث سجل أعلى قطر تثبيط عند مستخلص الأستون بقطر 14.5mm لنوعين من البكتيريا (*Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus*) وأقل قيمة كانت للمستخلص المائي بقطر 8mm كذلك لنوعين من البكتيريا (*Echerichia coli* و *Staphylococcus aureus*)، أما عند باقي المستخلصات فقد كانت متوسطة ومتقاربة.

- ففي دراسة قام بها Mohamed HM واخرين حول تأثير المستخلص الميثانولي بطريقة سوكسلي لحبوب لقاح النخيل ضد سلالات بكتيريا موجبة وسالبة لصبغة (Gram) دونت النتائج في الجدول (10.V)^[4]:

الجدول (10.V): يوضح أقطار التثبيط للبكتيريا (mm).

| <i>Bacillus Cereus</i> | <i>Staphylococcus Epidermidis</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Echerichia coli</i> | <i>Klebsiella</i> |
|------------------------|-----------------------------------|------------------------------|------------------------|-------------------|
| 20 | 22 | 20 | 15 | 20 |

حيث سجل أعلى نشاط بكتيري ضد *Staphylococcus Epidermidis* بقطر يساوي 22mm، كما سجل أقل نشاط بكتيري ضد *Echerichia coli* بقطر يساوي 15mm، أما مع باقي السلالات البكتيريا *Staphylococcus aureus* و *Bacillus Cereus* و *Klebsiella* فقد كان قطر منطقة التثبيط متساوي قدر بـ 20mm، مؤكداً بأن المستخلص الميثانولي له تأثير قاتل ضد عدة أنواع البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة (Gram).

المراجع

المراجع باللغة العربية:

[3] زيبيدي فاطمة الزهراء. (2018). كشف واستخلاص الفينولات والتربينات الثلاثية والسترويدات لطلع النخيل ودراسة فعاليته البيولوجية. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية. جامعة حمه لخضر الوادي.

المراجع باللغة الأجنبية

[1] Amany, M. B., Arafat, S. M., & Soliman, H. M. (2013). Chemical analysis of olive and palm pollen: Antioxidant and antimicrobial activation properties. Wudpecker J Food Technol, 1(2), 014-021.

[2] Amal, D., Malika, D., Bakari, S., Hfaiedh, N., Mnafgui, K., Kadri, A., & Gharsallah, N. (2019). Assessment of polyphenol composition, antioxidant and antimicrobial properties of various extracts of Date Palm Pollen (DPP) from two Tunisian cultivars. Arabian Journal of Chemistry, 12(8), 3075-3086.

[4] Mohamed HM, A. E. A., El-Mesalamy, A. M. D., Yassin, F. A., & Khalil, S. A. (2015). Identification phenolic and biological activities of methanolic extract of date palm pollen (*Phoenix dactylifera*). J Microb Biochem Technol, 7(1), 047-050.

الخاتمة

مواصلة للأبحاث السابقة واكتشاف القيمة العلاجية للمواد الفعالة التي تحويها حبوب لقاح النخيل ، كونها تلعب دورا مهما في مجال الطب التقليدي، لذا قمنا بدراسة طرق الفصل ومن ثم الدراسة الكمية لها.

وكخطوة أولى في هذا العمل قمنا بعملية الاستخلاص واعتمدنا على طريقتين للاستخلاص وهما طريقة سوكلسي وطريقة التتقيع مع التغيير في نوعية المذيب في كل مرة، وبعد الاستخلاص تمكنا من حساب مردود كل مستخلص فكان أعلى مردود في المستخلص الميثانولي لطريقة التتقيع حيث قدر بـ 9.26%.

ومن ثم قمنا بالدراسة الكمية لمحتوى الفينولات والفلافونيدات للمستخلصات حيث سجلنا مايلي:

- التقدير الكمي للفينولات بإستعمال كاشف Folin-Ciocalteu حيث كانت كميات الفينولات أكبر في مستخلصات طريقة التتقيع وأفضل مذيب في هذه الطريقة كانت عند الميثانول حيث قدر بـ: 148.38 mgEAG/g.

- التقدير الكمي للفلافونويدات باستخدام كاشف كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ قد أعطت نتائج مماثلة حيث أن كمية الفلافونويدات الأفضل كانت في المستخلص الميثانولي بطريقة التتقيع حيث قدر بـ: 31.44mgEQ/g.

- بعد مراجعة الى بعض الدراسة السابقة في تحديد الفعالية المضادة للأكسدة لوحظ أن حبوب لقاح النخيل تمتلك نشاطية العالية في تثبيط الجذري لمعظم المستخلصات. وكخطوة أخيرة تم تقييم الفعالية المضادة للبكتيريا بطريقة الإنتشار تبين ان لحبوب لقاح النخيل قدرة على تثبيط عدة انواع بكتيريا مسببة للأمراض.

وكخلاصة لما قدمناه في هذا البحث يمكن القول أن الاستخلاص بطريقة التتقيع افضل من الاستخلاص بطريقة سوكلسي. اما بالنسبة للمذيبات فقد كان لمذيب الميثانول الأفضلية في استخلاص المواد الفعالة ، يليه الايثانول ثم البيتانول وهذا راجع للقطبية (بحيث كلما زادت القطبية زادت ذوبانية هذه المركبات في المذيب).

وفي الأخير ونظرا للنتائج المتوصل إليها من مستخلصات حبوب لقاح النخيل التي أظهرت بأنه مصدر طبيعي غني بالمواد الفعالة جدير بالاهتمام ما فسر شيوعه في الطب التقليدي، لذا يتطلب دراسات إضافية لمعرفة هذه المركبات بالتحديد وذلك عن طريق فصلها بطرق مختلفة دقيقة وحساسة، ومن ثمّ دراستها بيولوجيا.

الملاحق

الملحق 01: الأجهزة المستعملة



جهاز التبخير



حاضنة



جهاز UV-visible



جهاز سوكسلي

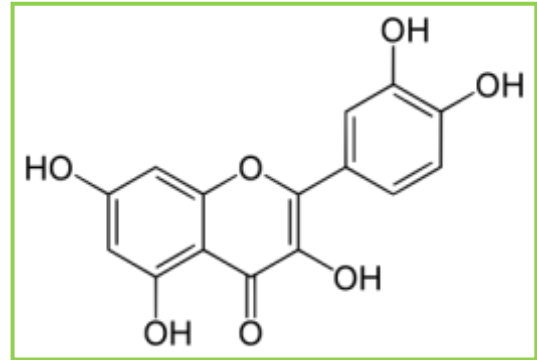


حمام مائي



ميزان حساس

الملحق 02: الصيغ الكيميائية



بنية حمض الكريستين

الملخص:

تهدف هذه الدراسة الى مقارنة كمية للمستخلصات الخام الفينولية للقاح النخيل المتحصل عليها بطرق الاستخلاص المختلفة مع الاستناد الى بعض الدراسات السابقة في تحديد الفعالية المضادة للاكسدة والمضادة للبكتيريا.

ولتحقيق هذا الهدف قمنا بعملية الاستخلاص للمواد الفعالة (فينولات والفلافونيدات) لحبوب لقاح النخيل بطريقتين كيميائيتين سوكلية والتنقيع وباستعمال مذيبات متدرجة القطبية ميثانول وايثانول والبيتانول، ومن ثم تم التقدير الكمي لهذه المواد بواسطة مطيافية الاشعة فوق البنفسجية والمرئية.

توصلنا من خلال الدراسة الى غنى حبوب اللقاح بنواتج الايض الثانوي والمتمثلة في الفينولات والفلافونيدات. ويتضح ايضا من خلال هذه الدراسة أفضلية واضحة لطريقة التنقيع في قدرتها على استخلاص المواد الفعالة، بالإضافة الى قطبية مذيب الذي له دور هام في زيادة المقدار الكمي لهذه المواد، فكل مازادت القطبية زاد المقدار الكمي. حيث كانت أعلى كمية للفينولات والفلافونيدات للمستخلص الميثانولي المقدر بـ (148.38 mgEAG/g) و (31.44 mgEQ/g) على التوالي.

ثم بعد مراجعة بعض الدراسات السابقة تبين أن لحبوب اللقاح فعالية مضادة للأكسدة ومضادة للبكتيريا. الكلمات المفتاحية: حبوب لقاح النخيل، المواد الفعالة (الفينولات والفلافونيدات)، الفعالية المضادة للأكسدة، الفعالية المضادة للبكتيريا.

Abstract:

This study aims to compare quantitatively the phenolic contents of date palm pollen extracts obtained by different extraction methods, based on some previous studies in determining the antioxidant and antibacterial activities.

To realize this objective, we performed the extraction of bioactive substances (phenols and flavonoids) from palm pollen by two different methods, using a soxhlet apparatus and maceration and using polar gradient solvents (methanol, ethanol and butanol). Then, quantification of these substances was done using UV and visible spectroscopy.

Through the study, we found that pollen grains are rich in secondary metabolites represented in phenols and flavonoids. it also shows a clear preference for the maceration method in its ability to extract bioactive substances, in addition to the polarity of the solvent that has an important role in increasing the quantitative amounts of these substances, Whenever the polarity increased, the contents of bioactive substances increased. Where the highest contents of phenols and flavonoids for the methanolic extracts were (mg EAG / g 148.38) and (mg EQ / g 31.44), respectively.

Through the current study, it was found that palm pollen grains have a significant contents of bioactive substances, and the effect of this quantity is evident through some previous studies where it was found that it has an antioxidant and antibacterial activities. Hence, it is a source of interest for researchers for its importance in the medical field.

Key words: pollen grains palm, bioactive substances (phenols and flavonoids), the antioxidant activities, the antibacterial activities.