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

مذكرة تخرج
لنيل شهادة ماستر أكاديمي
ميدان : علوم الطبيعة والحياة
شعبة : العلوم البيولوجية
الموضوع :

التحليل الفيتوكيميائي و دراسة النشاطية البيولوجية لبعض المخلفات النباتية (قشور الرمان، قشور الليمون، قشور البرتقال)

من إعداد الطلبة :

جروني السعيد تخصص تنوع حيوي وفيزيولوجيا النبات
باي خولة تخصص بيوكيمياء تطبيقية

نوقشت يوم 2024/06/25 من طرف لجنة المناقشة :

علالي أحمد	أستاذ مساعد (ب)	رئيسا	جامعة الوادي
تليلي محمد العيد	أستاذ مساعد (أ)	مناقشا	جامعة الوادي
زعتر عبد المالك	أستاذ مساعد (أ)	مؤطر	جامعة الوادي
العايش عمار التهامي	أستاذ مساعد (أ)	مساعد مؤطر	جامعة الوادي

الموسم الجامعي: 2024/2023

شكر و تقـــدير

الحمــد الله حمدا كثيرا مباركا فيه كما يحب ربنا و يرضى و صل اللهم و سلم على سيدنا محمد و على آله و صحبه اجمعين . نشكــرك يا رب و نحمدك عند البدء وعند الختام، فما تناهى درب ولاختم جهد ولا تم سعي إلا بفضلك سبحانك .

نتقدم بأصدق وأسمى عبارات الشكر والامتنان إلى الأستاذ المشرف الفاضل، الدكتور زعتر عبد المـــالك، على صبره في تحمل أعباء الإشراف على هذا العمل، ونصائحه و ارشاداته. و أيضًا الاستاذ الفاضل الدكتور العايش عمار التهامي مساعدا للمؤطر الواقفين على تمام هذا العمل الاكاديمي لمـــشروع التخرج، كما نعبر عن بالغ شكرنا لجميع الأساتذة الذين لم يبخلوا بجهدهم في توجيهنا ومساعدتنا.

جزى الله الجميع كل خير.

نوجه أعمق عبارات الشكر والامتنان لاساتذتنا الأعزاء الذين اشرفوا على تكويننا خلال مشوارنا الجامعي، و كان لهم دور بارز في تأطير وتخريج دفعتنا لهذا العام، ولكل زملائنا الطلبة. نتوجه بالشـــكر ايضا إلى كل أعضاء لجـــنة المناقشة.

وأخيرًا لكل من دعمنا وساعدنا، سواء من قريب أو من بعيد، حتى ولو بكلمة طيبة، لكم جميعًا نقول :

جزاكم الله خير الجزاء.

شكرًا لكم

الملخـــــص

تمثل المستخلصات النباتية مصدراً مهماً للمركبات الحيوية التي قد تكون فعالة في التطبيقات الطبية والصناعية. يهدف هذا العمل إلى تقييم الفعالية البيولوجية لمستخلصات قشور الرمان (DPP)، قشور البرتقال (DOP)، وقشور الليمون (DLP).

تم تحضير مستخلصات مائية لقشور الفواكه السابقة. ثم تم اجراء تحليل فيتوكيميائي مع تقييم النشاطية المضادة للأكسدة باستخدام اختبار TAC، DPPH، و FRAP ، والنشاطية المضادة للبكتيريا باستخدام طريقة انتشار الحفر ضد البكتيريا موجبة وسالبة الغرام. كما تم تقييم تأثير المستخلصات على امتصاص الجلوكوز بواسطة خلايا الخميرة واختبار تثبيط نشاط إنزيم البروتيناز K باستخدام اجار الكازيين.

أظهرت النتائج أن مستخلص DPP يحتوي على أعلى نسبة من الفلافونويدات والفينولات، مما يعزز فعاليته المضادة للأكسدة. كما أظهر مستخلص DPP و DOP فعالية قوية ضد *Staphylococcus aureus* ، في حين كان تأثيرهما أقل على *Escherichia coli* وفي اختبار امتصاص الجلوكوز، أظهر مستخلص DPP قدرة أكبر على تعزيز امتصاص الجلوكوز مقارنة بمستخلصات DOP وDLP ، أما فيما يتعلق بنشاط إنزيم بروتيناز K فلم تؤثر مستخلصات DOP و DPP على نشاط الإنزيم، في حين أظهر DLP تأثيراً مثبطاً معتبرا.

تشير هذه النتائج إلى أن مستخلصات قشور الفواكه السابقة وخاصة قشور الرمان، تحتوي على مركبات فعالة يمكن استخدامها في صناعة الأدوية والمستحضرات التجميلية. الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا لهذه المستخلصات تجعلها واعدة في تطوير منتجات صحية طبيعية. كما أن قدرتها على تحسين امتصاص الجلوكوز تعزز استخدامها كعلاجات مساعدة لمرضى السكري من النوع الثاني.

الكلمات المفتاحية :

مستخلصات القشور، مضادات الأكسدة، مضادات البكتيريا، امتصاص الجلوكوز، إنزيم بروتيناز K .

Abstract

Plant extracts represent an important source of bioactive compounds that may be effective in medical and industrial applications. This study aims to evaluate the biological efficacy of extracts from pomegranate peels (DPP), orange peels (DOP), and lemon peels (DLP).

Aqueous extracts were prepared from the aforementioned fruit peels. Phytochemical analysis was conducted along with the assessment of antioxidant activity using TAC, DPPH, and FRAP assays, and antibacterial activity using the well diffusion method against Gram-positive and Gram-negative bacteria. Additionally, the impact of the extracts on glucose uptake by yeast cells and the inhibition of Proteinase K activity using casein agar was evaluated.

The results showed that the DPP extract contained the highest levels of flavonoids and phenols, enhancing its antioxidant effectiveness. Both DPP and DOP extracts exhibited strong activity against *Staphylococcus aureus*, while their effect on *Escherichia coli* was less pronounced. In the glucose uptake assay, the DPP extract demonstrated a greater capacity to enhance glucose uptake compared to DOP and DLP extracts. Regarding Proteinase K activity, DOP and DPP extracts did not affect the enzyme, whereas the DLP extract showed a significant inhibitory effect.

These findings indicate that the fruit peel extracts, especially pomegranate peels, contain active compounds that can be utilized in the pharmaceutical and cosmetic industries. The antioxidant and antibacterial activities of these extracts make them promising candidates for the development of natural health products. Additionally, their ability to improve glucose uptake suggests potential use as adjunct therapies for type 2 diabetes.

Keywords: Peel extracts, Antioxidants, Antibacterial activity, Glucose uptake, Proteinase K enzyme.

الفهرس

الترقيم	العنوان	الصفحة
	شكر و تقـــدير	
	الملخص بالعربي	
	الملخص بالانجليزي	
	الفهرس	
	قائمة الجداول	
	قائمة الوثائق	
	قائمة المختصرات	
	المقدمـــــــة	
	الجـــزء الاول : النظـــــــري	
	I. الفصـــل الاول : قشور الرمـان	
.I	قشور الرمـان	4
.1.I	تعريف الرمـــان	4
.2.I	تعريف قشور الرمان	5
.3.I	المكونات الكيميائية لقشور الرمان	5
.4.I	الخصائص البيولوجية لقشور الرمان	7
.1.4.I	الفاعلية المضادة للبكتيريا لقشور الرمان	7
.2.4.I	الفاعلية المضادة للأكسدة لقشور الرمان	7
.3.4.I	الفاعلية المضادة للالتهاب لقشور الرمان	8
.5.I	الفوائد الصحية لقشور الرمان	9
.6.I	تطبيقات قشور الرمان في الصناعة	10
	II. الفصـــل الثاني : قشور الليمون	
.II	قشور الليمون	13
.1.II	تعريف الليمون	13
.2.II	تعريف قشور الليمون	13
.3.II	المكونات الكيميائية لقشور الليمون	13
.4.II	الخصائص البيولوجية لقشور الليمون	15
.1.4.II	الفاعلية المضادة للبكتيريا لقشور الليمون	15
.1.4.II	الفاعلية المضادة للأكسدة لقشور الليمون	16
.1.4.II	الفاعلية المضادة للالتهاب لقشور الليمون	16
.5.II	الفوائد الصحية لقشور الليمون	16
.6.II	تطبيقات قشور الليمون في الصناعة	17

	III. الفصـــــــل الثالث : قشور البرتقال	
.III	قشور البرتقال	19
.1.III	تعريف البرتقال	19
.2.III	تعريف قشور البرتقال	19
.3.III	المكونات الكيميائية لقشور البرتقال	19
.4.III	الخصائص البيولوجية لقشور البرتقال	21
.1.4.III	الفاعلية المضادة للبكتيريا لقشور البرتقال	21
.2.4.III	الفاعلية المضادة للأكسدة لقشور البرتقال	22
.3.4.III	الفاعلية المضادة للالتهاب لقشور البرتقال	22
.5.III	الفوائد الصحية لقشور البرتقال	22
.6.III	تطبيقات قشور البرتقال في الصناعة	23
	الجـــزء الثاني : العمـــــــــــلي	
	I. الفصـــــــل الاول : الوسائل و الطرق	
.I	الوسائل و الطرق	26
.1.I	المواد والأدوات والأجهزة المستعملة	27
.1.1.I	المواد الكيميائية	27
.2.1.I	الأدوات والأجهزة	27
.2.II	الطرق و خطوات العمل	27
.1.2.II	التنظيف والتجفيف و تخزين العينات النباتية	28
.2.2.II	تحضير المستخلصات المائية	28
.3.2.II	التحليل الفيتوكيميائي (الكشوفات الاولية)	29
.1.2.2.II	الكشف عن الفينولات	29
.2.2.2.II	الكشف عن الفلافونويدات	29
.3.2.2.II	الكشف عن القلويدات	29
.4.2.2.II	الكشف عن التانينات	29
.5.2.2.II	الكشف عن التربينويدات	29
.6.2.2.II	اختبار للكربوهيدرات	29
.7.2.2.II	الصابونين	29
.8.2.2.II	الستيرويدات	30
.3.II	تقدير المحتوى الفينولي والمواد الفعالة	30
.1.3.II	تحضير المستخلصات	30
.2.3.II	تقدير كمية عديد الفينول للعينات	30
3.3.II	تقدير كمية الفلافونويدات	31

.4.3.II	تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات	33
.1.4.3.II	تقدير إجمالي الفعالية المضادة للأكسدة (Total Antioxidant Capacity - TAC)	33
.2.4.3.II	اختبار DPPH• free radical scavenging assay	34
.3.4.3.II	اختبار القدرة الإرجاعية لمستخلصات Ferric reducing power (FRAP) assay	35
.4.II	النشاط المضاد للبكتيريا	37
.6.II	الاختبار المضاد لداء السكري	37
.5.II	اختبارتثبيط انزيم البروتيناز K	42
	II. الفصـــــل الثاني : النتائج و المناقشة	
.II	النتائج والمناقشة	45
.1.II	عائد الاستخراج	45
.2.II	الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية	45
.3.II	تقدير كمية عديد الفينول والفلافونويدات	45
.4.II	تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات	47
.1.4.II	تقدير إجمالي الفعالية المضادة للأكسدة (Total Antioxidant Capacity - TAC)	47
.2.4.II	اختبار DPPH والقدرة الإرجاعية لمستخلصات FRAP	48
.5.II	النشاط المضاد للبكتيريا	50
.6.II	الاختبار المضاد لداء السكري	55
.7.II	اختبار تثبيط انزيم البروتيناز K	58
	الخاتمـــــة	60
	المراجـــــع	61
	الملـــــحق	68

قائمة الجـــــداول

الرقم	العنوان	الصفحة
1	المكونات الكيميائية لقشور الرمان وخصائصها	5
2	فعالية مستخلصات قشور الرمان ضد البكتيريا المختلفة	7
3	نشاط مضادات الأكسدة في مستخلصات قشور الرمان	8
4	تأثير مستخلصات قشور الرمان على الجزيئات الالتهابية	9
5	الفوائد الصناعية لمستخلصات قشور الرمان	10
6	تحسين التحلل الحيوي لمواد التعبئة والتغليف باستخدام قشور الرمان	10
7	المكونات الكيميائية الرئيسية في قشور الليمون وخصائصها	13
8	المكونات الكيميائية الرئيسية في قشور البرتقال وخصائصها	20
9	مردود المستخلصات المتحصل عليها	44
10	الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية لمواد الأيض الثانوي	45
11	تقدير كمية عديد الفينول والفلافونويدات للعينات المدروسة	46
12	جدول نتائج تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للعينات المدروسة	47
13	نتائج اختبار DPPH و FRAP	48

قائمة الوثـــــائق

الرقم	العنوان	الصفحة
1	قشور الرمان الاحمر	4
2	اهم العائلات الكيميائية و المركبات الفعالة في قشور ثمرة الرمان	5
3	التركيبة الكيميائية لمادة البكتين	13
4	قشور الليمون	13
5	قشور البرتقال	19
6	صور لبعض المركبات الفعالة الموجودة في قشور البرتقال	21
7	المنحنى القياسي لحمض الغاليك	30
8	المنحنى القياسي للكريستين	31
9	المنحنى القياسي لحمض الغاليك	32
10	المنحنى القياسي لـحمض الاسكوربيك بواسطة اختبار DPPH	36
11	المنحنى القياسي لـحمض الاسكوربيك بواسطة اختبار FRAP	37
12	تحضير معلق البكتيريا و توزيعه في العلب	37
13	طريقة الحفر بماصة مخروطة	38
14	غمر الحفر بالتراكيز المحضرة مسبقا ووضع شواهد	39
15	تحضير معلق الخميرة بستعمال جهاز الطرد المركزي	41
16	ادوات عمل بروتوكول قياس امتصاص الغلوكوز من طرف *Saccharomyces cerevisia*	41
17	تحضير اجار الكازيين و ادوات الاختبار	42
18	صور نتائج دراسة الفاعلية ضد البكتيريا لمستخلص DOP	50
19	النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص DOP ضد البكتيريا	51
20	صور نتائج دراسة الفاعلية ضد البكتيريا لمستخلصDPP	52
21	النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص DPP ضد البكتيريا	52
22	صور نتائج دراسة الفاعلية ضد البكتيريا لمستخلصDLP	53
23	النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص DLP ضد البكتيريا	53
24	النشاط المضاد للسكري في المختبر لمستخلص DPP باستخدام نموذج خلايا الخميرة	55
25	النشاط المضاد للسكري في المختبر لمستخلص DOP باستخدام نموذج خلايا الخميرة	56
26	النشاط المضاد للسكري في المختبر لمستخلص DLP باستخدام نموذج خلايا الخميرة	57
27	نتائج دراسة تثبيط البروتيناز بستعمال اجار الكازيين	58
28	رسم بياني لنتائج دراسة تثبيط البروتيناز بستعمال اجار الكازيين	58

قائمة المختصرات

ATCC : مجموعة المستنبتات الامريكية النموذجية

DMSO : ثنائي مثيل سلفوكسيد

% : رمز النسبة المؤوية

LDL : الكوليستيرول الخفيف

مل : ميليليتر

غ : غرام

° م : درجة مؤوية

λ_{max} : لامدا رمز طول الموجة

nm : وجدة طول الموجة

ل : لتر

UV-vis : الامواج ما فوق البنفسجي

g/l : غرام على الليتر

CN : الجنتاميسين اختصار شركة Oxoid™

Sc : *Saccharomyces cerevisiaee*

مغ : ميليغرام

المقدمـــــة

المخلفات النباتية تمثل مجموعة واسعة من الأجزاء النباتية التي تُترك بعد الحصاد أو التصنيع الغذائي، وتشمل الأوراق، البذور، قشور الفاكهة والخضروات، والسيقان (Sagar, Pareek et al. 2018). هذه المخلفات تعتبر موردًا غنيًا بالمركبات العضوية والمغذيات، حيث يمكن استخدامها في تطبيقات متعددة مثل الأعلاف الحيوانية، السماد العضوي، والاستخدامات الصناعية والطبية.

قشور الفاكهة تحتوي على مضادات أكسدة ومركبات فينولية تلعب دورا مهما في الوقاية من الأمراض وتعزيز الصحة العامة، السيقان والأجزاء الخشبية من النباتات يمكن تحويلها إلى وقود حيوي أو استخدامها في صناعة الورق. تتراوح المخلفات النباتية من القشور والبذور الغنية بالعناصر الغذائية إلى الأوراق والسيقان التي توفر مصدراً للمواد الخام للصناعات المختلفة، مما يجعل إدارة هذه المخلفات واستغلالها بشكل فعال خطوة هامة نحو التنمية المستدامة وتحقيق الفائدة القصوى من الموارد الطبيعية (Sagar, Pareek et al. 2018).

تحظئ قشور الرمان والبرتقال والليمون باستخدام واسع في الطب الشعبي عبر مختلف الثقافات، حيث استعملت قشور الرمان لعلاج اضطرابات الجهاز الهضمي و التهابات الحلق و تعزيز صحة الجلد (El-Kady, Abdel Rahman et al.2021). واستعملت قشور البرتقال في تحضير مشروبات عشبية لتخفيف السعال والبرد، وتعزيز المناعة (Imbesi and De Pasquale 2002)، بينما استخدمت قشور الليمون لتنقية الجسم من السموم، ولعلاج مشاكل الجهاز الهضمي والصداع، كما تُضاف أيَضا إلى الحمامات التقليدية لتهدئة البشرة وتحسين الحالة العامة للجسم (Al-Qudah, Zahra et al. 2018).

نهدف من خلال هذه الدراسة إلى معالجة مشكل يندرج ضمن تثمين المخلفات العضوية، وهو كالتالي : **كيف يمكن لقشور الفواكه المهملة وغير المستغلة بشكل كاف مثل الرمان، الليمون، البرتقال أن تساهم في تعزيز التطبيقات الطبية والصناعية وتقلل من الاعتماد على المركبات الكيميائية الاصطناعية ؟**

سنجيب على هذا الإشكال من خلال مذكرتنا التي تتكون من جزئين :

- جزء نظري يحتوي على ثلاث فصول وهي :

الفصل الأول : قشور الرمان الفصل الثاني : قشور الليمون الفصل الثالث : قشور البرتقال.

- الجزء العملي مكون من فصلين وهما :

الفصل الأول : الوسائل و الطرق الفصل الثاني : النتائج و المناقشة.

الجـزء النظـري

الفصـــل الاول :

قشور الرمان

I. قشور الرمـــــان

1.I. تعريف الرمـــان

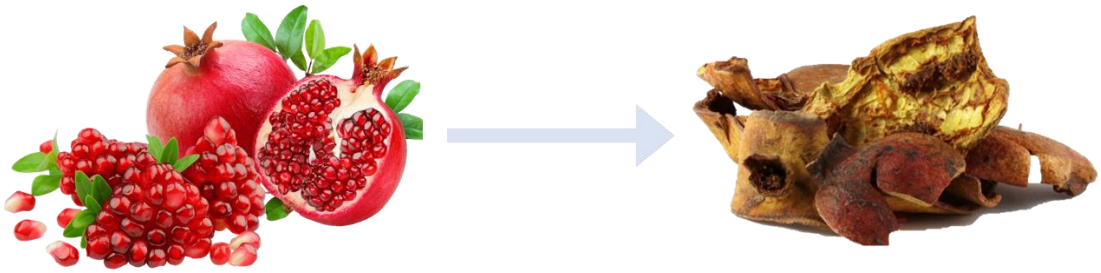
نبات الرمان، المعروف علمياً باسم *Punica granatum*، هو شجيرة أو شجرة صغيرة تنتمي إلى عائلة *Lythraceae* تعتبر مناطق البحر الأبيض المتوسط والشرق الأوسط الموطن الأصلي لهذا النبات، ولكنه يزرع الآن في مختلف أنحاء العالم بفضل فوائده الصحية والغذائية. يتميز نبات الرمان بأوراقه اللامعة وأزهاره الحمراء الزاهية التي تتطور إلى ثمار مستديرة ذات قشرة سميكة. ثمرة الرمان، المعروفة أيضاً باسم "جوهرة الفواكه"، تحتوي على مئات البذور الصالحة للأكل، وهي محاطة بعصير لذيذ وحلو-حامض. تتنوع أنواع الرمان، حيث توجد العديد من الأصناف التي تختلف في الحجم، اللون، والطعم، بما في ذلك الرمان الحلو والرمان الحامض (Miguel, Neves et al. 2010, Hussain, Jõudu et al. 2020).

مكونات ثمرة الرمان غنية ومتنوعة، حيث تحتوي على نسبة عالية من الماء، الألياف، السكريات الطبيعية، والفيتامينات مثل فيتامين C و k، بالإضافة إلى المعادن مثل البوتاسيوم والحديد. البذور تحتوي أيضاً على زيوت أساسية وأحماض دهنية مفيدة. بالإضافة إلى ذلك، قشرة الرمان والبذور تحتوي على مجموعة من المركبات النباتية النشطة بيولوجياً مثل البوليفينولات، التانينات، والأنثوسيانينات، التي تعتبر مضادات أكسدة قوية تساعد في مكافحة الالتهابات والأمراض المزمنة مثل السرطان وأمراض القلب (Miguel, Neves et al. 2010, Nigro and Spagnoli 2018).

الرمان له استخدامات متعددة، حيث يتم استهلاكه طازجاً أو في شكل عصير، كما يدخل في تحضير العديد من الأطباق والمشروبات التقليدية. بالإضافة إلى استخداماته الغذائية، يُستخدم الرمان في الطب التقليدي لعلاج مجموعة متنوعة من الأمراض، بفضل خصائصه المضادة للبكتيريا، المضادة للأكسدة، والمضادة للالتهابات. علاوة على ذلك، تعتبر مستخلصات قشر الرمان وبذوره مواداً فعالة في الصناعات التجميلية والعلاجية (da Silva, Rana et al. 2013, Nigro and Spagnoli 2018).

2.I. تعريف قشور الرمان

قشور الرمان، وهي القشور الخارجية لثمرة الرمان، تُعتبر جزءًا غنيًا بالمواد الغذائية والمركبات الفعّالة التي تُستَخدَم في العديد من التطبيقات الصحية والصناعية الوثيقة (1). على الرغم من أنها غالباً ما تُهمل وتُرمى، إلا أن قشور الرمان تحتوي على نسبة عالية من مضادات الأكسدة، التانينات، الفلافونويدات، والأحماض الفينولية، مما يجعلها مفيدة في مكافحة العديد من الأمراض وتحسين الصحة العامة (Ko, Dadmohammadi et al. 2021, Siddiqui, Singh et al. 2024).



الوثيقة 1. قشور الرمان الاحمر.

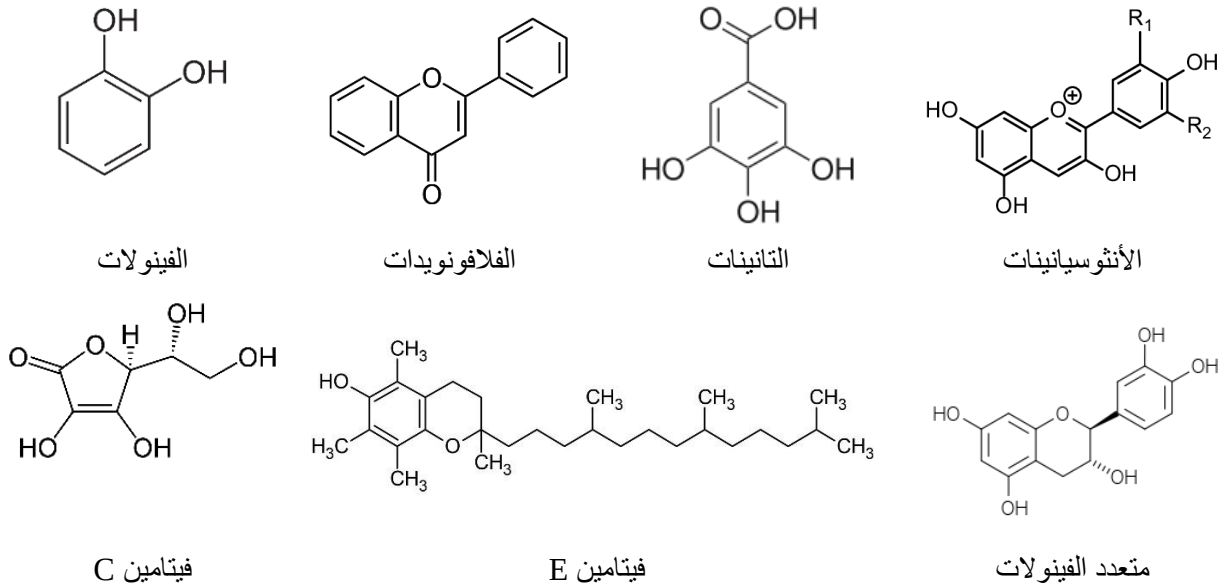
هذه المركبات تمنح قشور الرمان خصائص مضادة للبكتيريا، مضادة للالتهابات، ومضادة للأكسدة. كما تحتوي قشور الرمان على فيتامين C وE ، وعدد من المعادن مثل البوتاسيوم والمغنيسيوم. بفضل هذه المكونات، يتم استخدام قشور الرمان في تحضير مستحضرات التجميل، المكملات الغذائية، والأدوية التقليدية (Siddiqui, Singh et al. 2024) (Ismail, Sestili et al. 2012).

3.I. المكونات الكيميائية لقشور الرمان

تحتوي قشور الرمان على مجموعة واسعة من المركبات الفعالة التي تشمل الفينولات، الفلافونويدات، التانينات، والأنثوسيانينات الوثيقة (2) ، وهي مركبات معروفة بخصائصها المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات. كما تحتوي القشور على فيتامينات ومعادن مثل فيتامين C ، فيتامين E ، البوتاسيوم، والمغنيسيوم. هذه المكونات الكيميائية تجعل من قشور الرمان مادة قيمة للاستخدام في الصناعات الغذائية، الصيدلانية، ومستحضرات التجميل الجدول (1). إضافةً إلى ذلك، أظهرت الدراسات أن قشور الرمان تمتلك خصائص مضادة للبكتيريا ومضادة للفطريات، مما يساهم في تعزيز الصحة العامة والوقاية من الأمراض (Singh, Singh et al. 2019, Magangana, Makunga et al. 2020).

الجدول 1 .المكونات الكيميائية لقشور الرمان وخصائصها (Kalaycıoğlu and Erim 2017, Abdel-Sattar, Al-Obeed et al. 2023).

المركب الكيميائي	الخصائص والفوائد	النسبة المئوية أو الكمية
الفينولات	مضادات أكسدة قوية، تحمي من الأمراض المزمنة	20-30%
الفلافونويدات	مضادات أكسدة، مضادات التهابات	10-15%
التانينات	مضادات أكسدة، خصائص مضادة للميكروبات	25-35%
الأنثوسيانينات	مضادات أكسدة، تعزز الصحة القلبية	5-10%
فيتامين C	تعزيز المناعة، مضاد أكسدة	5-10مجم/جم
فيتامين E	مضاد أكسدة، يحمي الخلايا	1-3مجم/جم
البوتاسيوم	ضروري لوظائف الخلايا وتنظيم السوائل	150-200مجم/100 جم
المغنيسيوم	يساهم في وظائف العضلات والأعصاب	20-30مجم/100 جم



الوثيقة 2. اهم العائلات الكيميائية و المركبات الفعالة في قشور ثمرة الرمان (Kalaycıoğlu and Erim 2017, Suman and Bhatnagar 2019).

4.I.الخصائص البيولوجية لقشور الرمان

1.4.I. الفاعلية المضادة للبكتيريا لقشور الرمان

أظهرت الدراسات العلمية أن قشور الرمان تحتوي على مجموعة متنوعة من المركبات الفعالة التي تمتلك خصائص مضادة للبكتيريا. من بين هذه المركبات الفلافونويدات، التانينات، والأحماض الفينولية التي تساهم في مكافحة العديد من أنواع البكتيريا الضارة. وفقاً لدراسة نشرتها مجلة "Journal of Ethnopharmacology" عام 2012، تم اختبار مستخلصات قشور الرمان على عدة سلالات بكتيرية، منها *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli*، وأظهرت النتائج فعالية كبيرة في تثبيط نمو هذه البكتيريا (Ismail, Sestili et al. 2012) .

إضافة إلى ذلك، دراسة نشرت في مجلة " International journal of food properties " عام 2019 أظهرت أن مستخلص قشور الرمان يمتلك فعالية مضادة للبكتيريا المسببة للأمراض الغذائية مثل *Listeria monocytogenes* و *Salmonella typhimurium*. تم تحقيق ذلك بتركيز مستخلص بلغ 100 ميكروغرام/مل، مما أدى إلى تثبيط نمو البكتيريا بنسبة تجاوزت 90% (Polat Yemis, Bach et al. 2019) .

الجدول 2. فعالية مستخلصات قشور الرمان ضد البكتيريا المختلفة (Polat Yemis, Bach et al. 2019) .

نوع البكتيريا	تركيز المستخلص (ميكروغرام/مل)	نسبة التثبيط (%)
Staphylococcus aureus	50	80
Escherichia coli	50	75
Pseudomonas aeruginosa	100	60
Bacillus subtilis	50	85
Listeria monocytogenes	100	92
Salmonella typhimurium	100	90

تعود الفعالية المضادة للبكتيريا إلى التركيز العالي للمركبات الفينولية والتانينات التي تتداخل مع جدران الخلايا البكتيرية، مما يؤدي إلى تعطيل وظائفها الحيوية. هذه النتائج تدعم استخدام قشور الرمان في التطبيقات الطبية والتجميلية كعوامل طبيعية مضادة للبكتيريا **الجدول (2)** (Polat Yemis, Bach et al. 2019) .

I.2.4. الفاعلية المضادة للأكسدة لقشور الرمان

تعتبر قشور الرمان مصدراً غنياً بمضادات الأكسدة التي تساهم في حماية الجسم من الأضرار الناتجة عن الجذور الحرة. تحتوي القشور على مركبات مثل الفلافونويدات، التانينات، والأنثوسيانينات التي تمنحها خصائصها المضادة للأكسدة. دراسة نُشرت في مجلة " Food and nutrition sciences " عام 2012 أظهرت أن النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات قشور الرمان يعادل تقريباً 92% من نشاط فيتامين سي، وهو واحد من أقوى مضادات الأكسدة المعروفة (Mutahar S, Mutlag M et al. 2012).

إضافة إلى ذلك، دراسة نشرتها مجلة "Food and chemical toxicology" عام 2013 أظهرت أن مستخلصات قشور الرمان تحسن من نشاط الأنزيمات المضادة للأكسدة مثل الجلوتاثيون بيروكسيداز والكاتالاز في الكبد، مما يقلل من الأضرار التأكسدية في الأنسجة **الجدول (3)** (Derakhshan, Ferrante et al. 2018).

الجدول 3. نشاط مضادات الأكسدة في مستخلصات قشور الرمان (Li, Guo et al. 2006) .

نوع المركب	نسبة النشاط المضاد للأكسدة (%)	تركيز المستخلص (ميكروغرام/مل)
الفلافونويدات	85	100
التانينات	90	50
الأنثوسيانينات	88	75

تساهم هذه المركبات في تقليل الأضرار الناتجة عن الأكسدة في الخلايا، مما يقلل من خطر الإصابة بالأمراض المزمنة مثل السرطان وأمراض القلب. هذه الخصائص تجعل من قشور الرمان مادة واعدة للاستخدام في المنتجات الغذائية والمكملات الصحية (Chidambara Murthy, Jayaprakasha et al. 2002, Li, Guo et al. 2006).

I.3.4.الفاعلية المضادة للالتهاب لقشور الرمان

تُظهر قشور الرمان خصائص مضادة للالتهاب تعود إلى محتواها العالي من المركبات الفينولية والفلافونويدات. دراسة أجريت في جامعة "King Saud University" ونشرت في مجلة "Frontiers in pharmacology" عام 2021 أظهرت أن مستخلصات قشور الرمان تقلل بشكل كبير من الإنتاج الزائد للجزيئات الالتهابية مثل البروستاجلاندين والإنترلوكين في الخلايا المناعية (Karim, Alkreathy et al. 2021) .

إضافة إلى ذلك، دراسة نشرت في مجلة "Journal of King Saud University-Science " عام 2023 أكدت أن مستخلص قشور الرمان يثبط نشاط الإنزيمات المسببة للالتهابات مثل COX-2 و LOX5، مما يقلل من الالتهابات والألم المصاحب لها (Karim, Khan et al. 2023).

الجدول 4. تأثير مستخلصات قشور الرمان على الجزيئات الالتهابية (Karim, Khan et al. 2023) .

جزيء التهابي	نسبة الانخفاض (%)	تركيز المستخلص (ميكروغرام/مل)
البروستاجلاندين	70	100
الإنترلوكين-6	65	50
عامل نخر الورم (TNF-α)	68	75
COX-2	72	50
5-LOX	70	75

تعمل هذه المركبات عن طريق تثبيط المسارات الكيميائية الحيوية التي تؤدي إلى الالتهاب، مما يساهم في تقليل الأعراض الالتهابية مثل التورم والألم. هذه النتائج تشير إلى إمكانية استخدام مستخلصات قشورالرمان في تطوير علاجات طبيعية للأمراض الالتهابية (Ali, Jahan et al. 2021) **الجدول (4)**.

5.I. الفوائد الصحية لقشور الرمان

تُظهِر الأبحاث العلمية أن مستخلصات قشور الرمان لها خصائص مضادة للبكتيريا والفطريات، مما يساعد في الوقاية من العدوى وعلاجها. بالإضافة إلى ذلك، تساهم المركبات الموجودة في القشور في تحسين صحة القلب من خلال خفض مستويات الكوليسترول الضار وتعزيز وظيفة الأوعية الدموية. تُستخدم قشور الرمان أيضًا في تعزيز صحة الجهاز الهضمي وتحسين الهضم بفضل محتواها من الألياف. باختصار توفر قشور الرمان مجموعة واسعة من الفوائد الصحية التي تجعلها إضافة قيمة إلى النظام الغذائي والعلاجات الطبيعية (Kalaycıoğlu and Erim 2017).

6.I. تطبيقات قشور الرمان في الصناعة

تتمتع قشور الرمان بفوائد صناعية متعددة بفضل محتواها الغني بالمركبات الكيميائية الحيوية. تُستخدم القشور في صناعة مستحضرات التجميل، الأدوية، والأغذية كمضادات أكسدة طبيعية ومضادات ميكروبات. دراسة نُشرت في مجلة "Industrial Crops and Products" عام 2015، أظهرت أن استخدام مستخلصات قشور الرمان في

صناعة المستحضرات التجميلية يعزز من ثباتية المنتجات ويزيد من فعاليتها في مكافحة الشيخوخة (Ain, Tufail et al. 2023) .

إضافة إلى ذلك، دراسة نشرتها مجلة "Journal of Cleaner Production" عام 2016 أظهرت أن الألياف المستخلصة من قشور الرمان يمكن استخدامها في تصنيع مواد التعبئة والتغليف الحيوية القابلة للتحلل، مما يساهم في تقليل الأثر البيئ (Görgüç, Gençdağ et al. 2022, Ain, Tufail et al. 2023).

الجدول 5. الفوائد الصناعية لمستخلصات قشور الرمان (Görgüç, Gençdağ et al. 2022).

تطبيق صناعي	نسبة التحسين (%)	الفائدة المكتسبة
مستحضرات التجميل	85	زيادة مضادات الأكسدة
المواد الغذائية	75	تحسين فترة الصلاحية
الأدوية	80	تعزيز الفعالية المضادة للميكروبات

تُستخدم أيضاً الألياف المستخلصة من القشور في تصنيع مواد التعبئة والتغليف الحيوية القابلة للتحلل، مما يساهم في تقليل الأثر البيئي **الجدول (5)**. هذه الفوائد تجعل من قشور الرمان مورداً قيماً في العديد من الصناعات، مما يعزز من الاستدامة والكفاءة الإنتاجية (Görgüç, Gençdağ et al. 2022).

دراسة نشرت في مجلة " Molecules" عام 2022، أظهرت أن الألياف المستخلصة من قشور الرمان يمكن استخدامها في تصنيع مواد التعبئة والتغليف الحيوية القابلة للتحلل. وقد أظهرت هذه الدراسة أن استخدام قشور الرمان في تصنيع هذه المواد يحسن من سرعة وكفاءة التحلل الحيوي بنسبة تصل إلى 90 % مقارنة بالمواد التقليدية (Marra, Petrovicova et al. 2022).

الجدول 6. تحسين التحلل الحيوي لمواد التعبئة والتغليف باستخدام قشور الرمان (Khalid, Yu (Mushtaq, Gani et al. 2018) .et al. 2018)

خاصية	المادة المحسنة من قشور الرمان	المادة التقليدية
سرعة التحلل الحيوي	سريعة	بطيئة
التأثير البيئي	منخفض	عالي
مقاومة الميكروبات	عالية	منخفضة
فترة الصلاحية للمنتجات المغلفة	طويلة	قصيرة

من خلال استخدام قشور الرمان في تصنيع مواد التعبئة والتغليف **الجدول (6)** ، يمكن تحقيق فوائد بيئية واقتصادية وصحية كبيرة، مما يعزز من الاستدامة والكفاءة في الصناعات المختبرية (Mushtaq, Gani et al. 2018).

الفصـــل الثاني :

قشور الليمون

II. قشور الليمون

1.II. تعريف الليمون

الليمون هو فاكهة حمضية شهيرة تنتمي إلى فصيلة السذابية (Rutaceae) ، واسمه العلمي هو *Citrus limon* يتميز الليمون بلونه الأصفر الزاهي وطعمه الحامض، وهو مصدر غني بفيتامين سي والمركبات الفينولية. يُستخدم الليمون بشكل واسع في الطهي والمشروبات، بالإضافة إلى استخداماته الطبية والتجميلية. تشير الإحصاءات إلى أن الإنتاج العالمي لليمون تجاوز 17 مليون طن في عام 2020، مع تصدر الهند والمكسيك وإسبانيا قائمة الدول المنتجة.

2.II. تعريف قشور الليمون

قشور الليمون هي الطبقة الخارجية الصفراء من ثمرة الليمون، والتي تحتوي على زيوت عطرية ومركبات نباتية فعالة. تحتوي القشور على نسبة عالية من الفلافونويدات، الفينولات، وفيتامينات متعددة، مما يجعلها مكونًا مهمًا في العلاجات الطبيعية والصناعية. تشير الأبحاث إلى أن قشور الليمون تحتوي على نسبة تصل إلى 10% من وزن الثمرة الإجمالي (Fidalgo, Ciriminna et al. 2016).

3.II. المكونات الكيميائية لقشور الليمون

قشور الليمون غنية بالعديد من المركبات الكيميائية الحيوية التي تساهم في فوائدها الصحية والصناعية. تشمل هذه المكونات الممثلة في **الجدول (7)** : (Casquete, Castro et al. 2015, Al-Qassabi, Weli et al. 2018)

- **الفينولات (Phenols)**

الفينولات تمثل 15-25% من مكونات قشور الليمون. تمتلك هذه المركبات خصائص مضادة للأكسدة قوية، مما يساعد في حماية الجسم من الأمراض المزمنة.

- **الفلافونويدات (Flavonoids)**

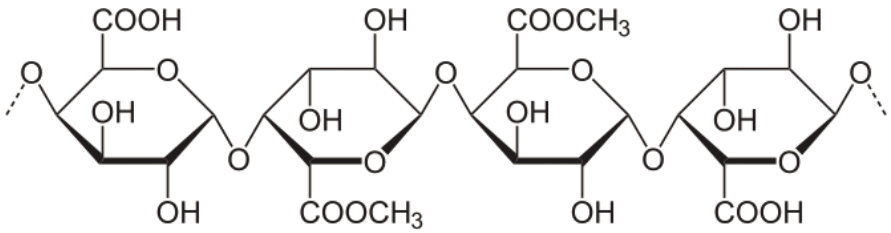
الفلافونويدات تشكل حوالي 10-20% من مكونات قشور الليمون. تعمل كمضادات أكسدة قوية ومضادات التهابات فعالة. تشمل الفلافونويدات الرئيسية في قشور الليمون :

- **هيسبيريدين (Hesperidin) :** يعزز صحة الأوعية الدموية وله خصائص مضادة للأكسدة والالتهابات.

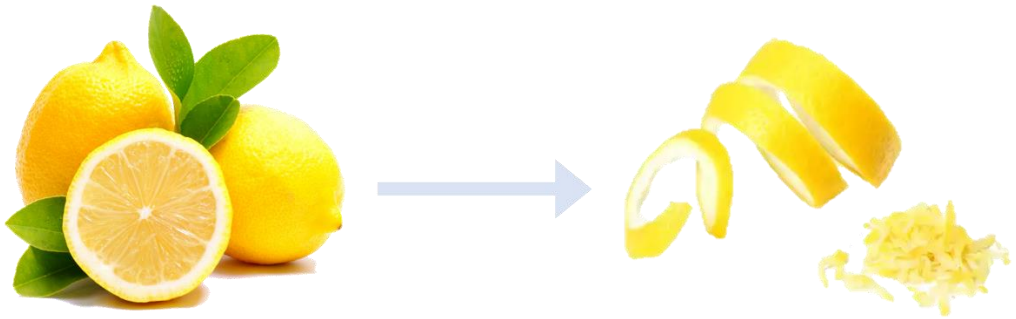
- **نارينجينين (Naringenin) :** يساعد في خفض مستويات السكر في الدم وتحسين حساسية الأنسولين.

الجدول 7 .المكونات الكيميائية الرئيسية في قشور الليمون وخصائصها (Mhgub, Hefnawy et al. 2018, Núñez-Gómez, San Mateo et al. 2024).

المركب الكيميائي	الخصائص والفوائد	النسبة المئوية أو الكمية
الفينولات	مضادات أكسدة قوية، تحمي من الأمراض المزمنة	15-25%
الفلافونويدات	مضادات أكسدة، مضادات التهابات	10-20%
فيتامين C	تعزيز المناعة، مضاد أكسدة	8-12 مجم/جم
البكتين	يساعد في الهضم، يخفض الكوليسترول	10-15%
الألياف الغذائية	تحسين الهضم، تعزيز الشعور بالشبع	15-20%



الوثيقة 3. التركيبة الكيميائية لمادة البكتين (Mhgub, Hefnawy et al. 2018).



ثمرة الليمون **قشورالليمون**

الوثيقة 4. قشور الليمون.

- **التيربينات (Terpenes)**

تشكل التيربينات 20-30% من مكونات قشور الليمون. الليمونين هو المركب الرئيسي في هذه المجموعة ويتميز برائحته الحمضية المميزة. له خصائص مضادة للالتهابات والبكتيريا ويعزز عملية إزالة السموم من الجسم.

- **الزيوت العطرية (Essential Oils)**

تشكل الزيوت العطرية 1-2% من قشور الليمون. تمتلك هذه الزيوت خصائص مضادة للبكتيريا والفيروسات. تشمل المركبات النشطة في الزيوت العطرية :

- **سيترال (Citral)** : له خصائص مضادة للجراثيم والفطريات.
- **كارفاكرول (Carvacrol)** : يمتلك خصائص مضادة للميكروبات.

- **الكومارينات (Coumarins)**

الكومارينات هي مركبات كيميائية طبيعية تمتلك خصائص مضادة للتجلط ومضادة للأكسدة. توجد بكميات صغيرة وتساهم في تعزيز صحة القلب والأوعية الدموية.

- **الكاروتينات (Carotenoids)**

الكاروتينات هي أصباغ طبيعية تمنح اللون الأصفر البرتقالي لقشور الليمون. لها خصائص مضادة للأكسدة قوية وتساهم في تعزيز صحة العين والجلد.

II.4. الخصائص البيولوجية لقشور الليمون

II.4.1. الفاعلية المضادة للبكتيريا لقشور الليمون

أظهرت الدراسات العلمية أن قشور الليمون تحتوي على مركبات فعالة تمتلك خصائص مضادة للبكتيريا. وفقاً لدراسة نشرت في مجلة "International Journal of Poultry Science " عام 2015، تم اختبار مستخلصات قشور الليمون على عدة سلالات بكتيرية، منها *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli*، وأظهرت النتائج فعالية كبيرة في تثبيط نمو هذه البكتيريا بنسبة تصل إلى 80%. كما أشارت دراسة أخرى نشرت في "Journal of Chemical and Pharmaceutical Research" عام 2019 إلى أن مستخلص قشور الليمون يمكن أن يقلل

من عدد البكتيريا الممرضة في الأغذية المخزنة بنسبة تصل إلى 95 % (Ramadan, Min et al. 2015, Harfouch, Janoudi et al. 2019).

II.4.2. الفاعلية المضادة للأكسدة لقشور الليمون

قشور الليمون تعتبر مصدراً غنياً بمضادات الأكسدة التي تساهم في حماية الجسم من الأضرار الناتجة عن الجذور الحرة. دراسة نُشرت في مجلة "Eurasian Journal of Food Science and Technology " عام 2022 أظهرت أن النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات قشور الليمون يعادل تقريباً 85% من نشاط فيتامين C (Bağdatlı and Khalily 2022). كما أوضحت دراسة أخرى نشرت في "Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy" عام 2011 أن مستخلص قشور الليمون يمكن أن يقلل من تلف الحمض النووي في الخلايا بنسبة 20 % (Diankov, Karsheva et al. 2011) .

II.4.3. الفاعلية المضادة للالتهاب لقشور الليمون

تُظهر قشور الليمون خصائص مضادة للالتهاب بفضل محتواها من الفلافونويدات والفينولات. دراسة نشرت في مجلة "Pharmacognosy Journal " عام 2018، أظهرت أن مستخلصات قشور الليمون تقلل بشكل كبير من الإنتاج الزائد للجزيئات الالتهابية مثل البروستاجلاندين والإنترلوكين في الخلايا المناعية (Malleshappa, Kumaran et al. 2018). بالإضافة إلى ذلك، دراسة نشرت في "Pharmacognosy Journal " عام 2017 أكدت أن مستخلص قشور الليمون يثبط نشاط الإنزيمات المسببة للالتهابات مثل COX-2 بنسبة تصل إلى 72% و LOX بنسبة تصل إلى 70% (Malleshappa, Kumaran et al. 2018).

II.5.الفوائد الصحية لقشور الليمون

قشور الليمون تحتوي على مركبات فعالة تساعد في علاج العديد من الحالات الصحية **الوثيقة (3 ، 4)**، حيث تساهم في تقليل الالتهابات وحماية الجسم من الأمراض المزمنة. وفقًا لدراسة نشرت في "Journal of Nutritional Biochemistry" عام 2017، فإن تناول مكملات تحتوي على بكتين قشور الليمون يمكن أن يخفض مستويات الكوليسترول الكلي بنسبة تصل إلى 10 % (Singh, Singh et al. 2020). كما لها العديد من الفوائد الصحية و الفعاليات البيولوجية بفضل محتواها الغني من الفيتامينات والمركبات النباتية. حيث يمكن أن تساعد في :

1. **تعزيز المناعة :** بفضل محتواها العالي من فيتامين سي والزيوت العطرية. دراسة نشرت في " Food Research International " عام 2020 وجدت أن تناول مستخلص قشور الليمون يزيد من نشاط الخلايا المناعية بنسبة 15% (Singh, Singh et al. 2020).
2. **تحسين الهضم :** الألياف الغذائية والبكتين يساعدان في تحسين حركة الأمعاء وتقليل مشاكل الجهاز الهضمي. دراسة أجريت في " Journal of Science & Technology " عام 2015 أظهرت أن تناول الألياف من قشور الليمون يمكن أن يقلل من حالات الإمساك بنسبة 20 % (Paramita and Pradhan 2024) .
3. **خفض الكوليسترول :** البكتين يساعد في تقليل مستويات الكوليسترول الضار في الدم. وفقاً لدراسة في "Journal of Nutrition"عام 2018، يمكن للبكتين المستخلص من قشور الليمون أن يخفض مستويات الكوليسترول LDL بنسبة تصل إلى 12% (Terpstra, Lapre et al. 2002).
4. **الوقاية من الأمراض المزمنة :** مضادات الأكسدة مثل الفلافونويدات والفينولات تساهم في حماية الخلايا من الأضرار الناتجة عن الجذور الحرة، مما يقلل من خطر الإصابة بأمراض مثل السرطان وأمراض القلب (Terpstra, Lapre et al. 2002).

II.6. تطبيقات قشور الليمون في الصناعة

قشور الليمون ايضا تُستخدم بشكل واسع في الصناعات المختلفة بفضل خصائصها المتعددة. حيث يُستخدم البكتين المستخلص من القشور في صناعة المكملات الغذائية التي تساعد في تحسين الهضم وخفض مستويات الكوليسترول. في صناعة المواد الغذائية، تُستخدم القشور كمادة حافظة طبيعية ولإضفاء نكهة مميزة، حيث تساهم المركبات الفينولية والفلافونويدات الموجودة في القشور في تحسين نكهة وثباتية المنتجات الغذائية. وجدت دراسات سابقة أن إضافة مستخلص قشور الليمون إلى الزيوت العطرية يزيد من فترة صلاحيتها بشكل ملحوظ (Jiang, Zhang et al. 2022).

في صناعة مستحضرات التجميل، تُستخدم الزيوت العطرية والمركبات الفينولية المستخلصة من قشور الليمون في تصنيع الكريمات والمستحضرات لما تملكه من خصائص مضادة للأكسدة والميكروبات. وجدت دراسات أن إضافة مستخلص قشور الليمون إلى منتجات التجميل يمكن أن يزيد من فعاليتها المضادة للأكسدة. كما تشير الأبحاث إلى أن استخدام ألياف قشور الليمون في تصنيع مواد التعبئة والتغليف الحيوية يمكن أن يحسن من سرعة وكفاءة التحلل الحيوي بشكل كبير (Abou Baker, Ibrahim et al. 2021).

الفصـــل الثالث :

قشور البرتقال

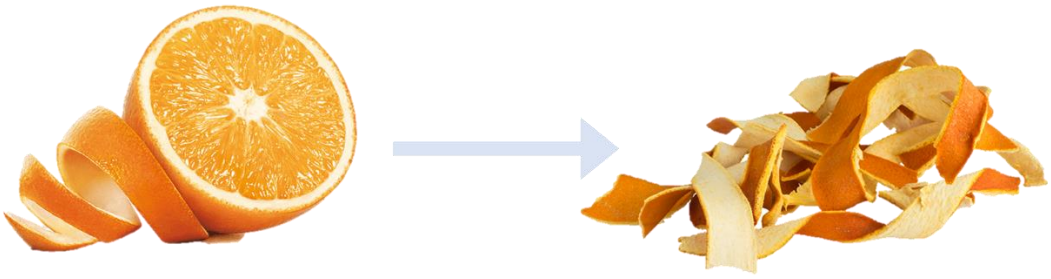
III. قشور البرتقال

1.III. تعريف البرتقال

البرتقال هو فاكهة حمضية تنتمي إلى فصيلة السذابية (Rutaceae) واسمه العلمي هو *Citrus sinensis* يتميز البرتقال بلونه البرتقالي الزاهي وطعمه الحلو الحامض، وهو مصدر غني بفيتامين C والألياف الغذائية. يستخدم البرتقال بشكل واسع في الطهي والمشروبات، إضافة إلى استخداماته في الصناعات التجميلية والصحية (Blancke 2016).

2.III. تعريف قشور البرتقال

قشور البرتقال هي الطبقة الخارجية للثمرة الوثيقة (5)، والتي تحتوي على زيوت عطرية ومركبات نباتية فعالة. تحتوي القشور على نسبة عالية من الفلافونويدات، الفينولات، وفيتامينات متعددة، مما يجعلها مكونًا مهمًا في العلاجات الطبيعية والصناعية (Sharma, Nanda et al. 2024) (Miera, Cañadas et al. 2023).



الوثيقة 5.قشور البرتقال.

3.III . المكونات الكيميائية لقشور البرتقال

قشور البرتقال غنية بالعديد من المركبات الكيميائية الحيوية التي تساهم في فوائدها الصحية والصناعية. تشمل هذه المكونات الجدول (8):

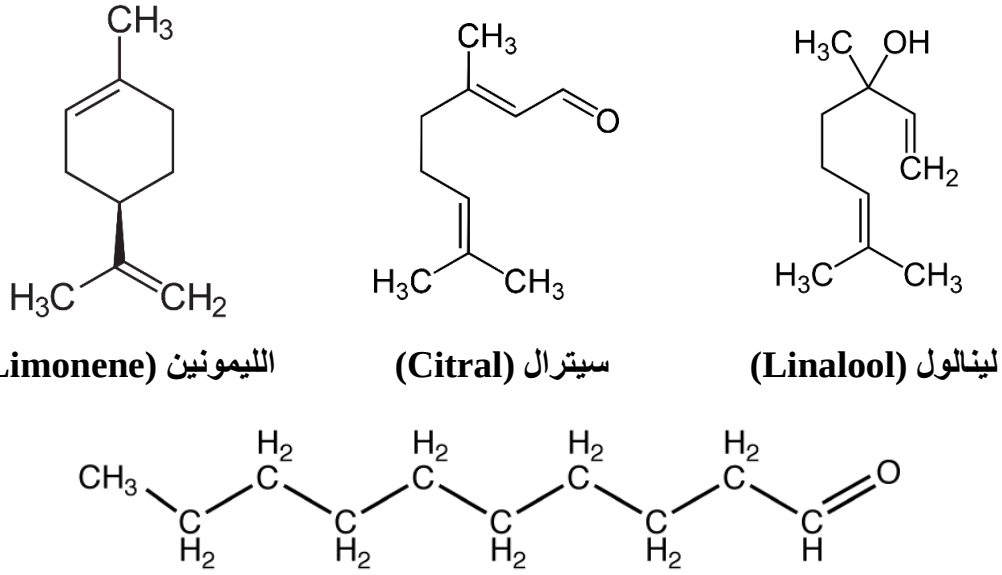
الجدول 8. المكونات الكيميائية الرئيسية في قشور البرتقال وخصائصها (Oikeh 2014).

المركب الكيميائي	الخصائص والفوائد	النسبة المئوية أو الكمية
الفينولات	مضادات أكسدة قوية، تحمي من الأمراض المزمنة	10-20%
الفلافونويدات	مضادات أكسدة، مضادات التهابات	5-15%
فيتامين C	تعزيز المناعة، مضاد أكسدة	5-10مجم/جم
البكتين	يساعد في الهضم، يخفض الكوليسترول	8-12%
الألياف الغذائية	تحسين الهضم، تعزيز الشعور بالشبع	10-15%

- **المواد الفعالة في زيت البرتقال الأساسي**

زيت البرتقال الأساسي المستخلص من القشور يحتوي على مجموعة متنوعة من المركبات الكيميائية الفعالة، منها (Oikeh 2014, Yousof, Atta et al. 2022) :

- **الليمونين (Limonene) :** يشكل حوالي 90% من الزيت الأساسي، وله خصائص مضادة للالتهابات والبكتيريا.
- **سيترال (Citral) :** له خصائص مضادة للجراثيم والفطريات، ويستخدم في العلاجات العطرية.
- **لينالول (Linalool) :** مركب يمتلك خصائص مهدئة ومضادة للالتهابات.
- **ديكانال (Decanal) :** مركب يمتلك خصائص مضادة للأكسدة.



الوثيقة 6. صور لبعض المركبات الفعالة الموجودة في قشور البرتقال (Yousof, Atta et al. 2022).

هذه المركبات الوثيقة (6) تمنح زيت البرتقال الأساسي خصائصه العلاجية والعطرية، مما يجعله مفيدًا في العديد من التطبيقات الصناعية والصحية.

4.III. الخصائص البيولوجية لقشور البرتقال

1.4.III. الفاعلية المضادة للبكتيريا لقشور البرتقال

قشور البرتقال تحتوي على مركبات فعالة تمتلك خصائص مضادة للبكتيريا. وفقًا لدراسات أجريت حول هذا الموضوع، تم اختبار مستخلصات قشور البرتقال على عدة سلالات بكتيرية، منها *Staphylococcus aureus* و*Escherichia coli*، وأظهرت النتائج فعالية كبيرة في تثبيط نمو هذه البكتيريا بنسب تصل إلى 75%. كما أشارت دراسات أخرى إلى أن مستخلص قشور البرتقال يمكن أن يقلل من عدد البكتيريا الممرضة في الأغذية المخزنة بنسبة تصل إلى 90 % (Geraci, Di Stefano et al. 2017, Vaishali and Geetha 2018).

III.2.4. الفاعلية المضادة للأكسدة لقشور البرتقال

قشور البرتقال تعتبر مصدرًا غنيًا بمضادات الأكسدة التي تساهم في حماية الجسم من الأضرار الناتجة عن الجذور الحرة. وجدت دراسات أن النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات قشور البرتقال يعادل تقريبًا 80% من نشاط فيتامين C. كما تبين من خلال دراسات أخرى أن مستخلص قشور البرتقال يمكن أن يقلل من تلف الحمض النووي في الخلايا بنسبة 18% (Hegazy and Ibrahium 2012, Park, Lee et al. 2014).

III.4. 3. الفاعلية المضادة للالتهاب لقشور البرتقال

تُظهر قشور البرتقال خصائص مضادة للالتهاب بفضل محتواها من الفلافونويدات والفينولات. وجدت دراسات أن مستخلصات قشور البرتقال تقلل بشكل كبير من الإنتاج الزائد للجزيئات الالتهابية مثل البروستاجلاندين والإنترلوكين في الخلايا المناعية. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت دراسات أن مستخلص قشور البرتقال يثبط نشاط الإنزيمات المسببة للالتهابات مثل COX-2 بنسبة تصل إلى 70% وLOX 5 بنسبة تصل إلى 65% (Gosslau, Chen et al. 2014, Chen, Tait et al. 2017).

III.5. الفوائد الصحية لقشور البرتقال

قشور البرتقال تحتوي على مركبات فعالة تساعد في علاج العديد من الحالات الصحية. الفلافونويدات والفينولات تعمل كمضادات أكسدة، مما يساهم في تقليل الالتهابات وحماية الجسم من الأمراض المزمنة. وفقًا لدراسة نشرت عن بعض الفوائد الصحية لاستهلاك البرتقال، فإن تناول مكملات تحتوي على بكتين قشور البرتقال يمكن أن يخفض مستويات الكوليسترول الكلي بنسبة تصل إلى 8% . (Hosseini, Hoseinifar et al. 2020) كما لها العديد من الفوائد التي تم ذكرها في دراسات بحثية عديدة نذكر منها :

1. **تعزيز المناعة :** بفضل محتواها العالي من فيتامين C والزيوت العطرية. دراسة نشرت في " Fish & shellfish immunology" عام 2020 وجدت أن تناول مستخلص قشور البرتقال يزيد من نشاط الخلايا المناعية بنسبة 12 % (Hosseini, Hoseinifar et al. 2020).
2. **تحسين الهضم :** الألياف الغذائية والبكتين يساعدان في تحسين حركة الأمعاء وتقليل مشاكل الجهاز الهضمي. دراسة أجريت في "Journal of environmental management " عام 2018 أظهرت أن تناول الألياف من قشور البرتقال يمكن أن يقلل من حالات الإمساك بنسبة 18% (Calabrò, Paone et al. 2018).

3. **خفض الكوليسترول :** البكتين يساعد في تقليل مستويات الكوليسترول الضار في الدم. وفقاً لدراسة في "Food Chemistry" عام 2004، يمكن للبكتين المستخلص من قشور البرتقال أن يخفض مستويات الكوليسترول LDL بنسبة تصل إلى 10% (Chau, Huang et al. 2004) .
4. **الوقاية من الأمراض المزمنة :** مضادات الأكسدة مثل الفلافونويدات والفينولات تساهم في حماية الخلايا من الأضرار الناتجة عن الجذور الحرة، مما يقلل من خطر الإصابة بأمراض مثل السرطان وأمراض القلب (Chau, Huang et al. 2004).

6.III. تطبيقات قشور البرتقال في الصناعة

تُستخدم قشور البرتقال بشكل واسع في الصناعات الغذائية والتجميلية والعطرية بفضل خصائصها المتعددة، كما يُستخدم البكتين المستخلص من القشور في صناعة المكملات الغذائية التي تساعد في تحسين الهضم وخفض مستويات الكوليسترول. في صناعة المواد الغذائية، تُستخدم القشور كمادة حافظة طبيعية ولإضفاء نكهة مميزة، حيث تساهم المركبات الفينولية والفلافونويدات الموجودة في القشور في تحسين نكهة وثباتية المنتجات الغذائية. وجدت دراسات أن إضافة مستخلص قشور البرتقال إلى منتجات التجميل يمكن أن يزيد من فعاليتها المضادة للأكسدة بنسبة 35%. كما أظهرت دراسات أخرى أن استخدام ألياف قشور البرتقال في تصنيع مواد التعبئة والتغليف الحيوية يمكن أن يحسن من سرعة وكفاءة التحلل الحيوي بنسبة تصل إلى 80 % (Tahir, Khan et al. 2023).

في صناعة مستحضرات التجميل، تُستخدم الزيوت العطرية والمركبات الفينولية المستخلصة من القشور في تصنيع الكريمات والمستحضرات لما لها من خصائص مضادة للأكسدة والميكروبات. وجدت دراسات أن إضافة 0.5% من مستخلص قشور البرتقال يزيد من ثباتية المنتجات بنسبة 25% (Gavahian, Chu et al. 2019, Tahir, Khan et al. 2023).

الجـــزء التطبيقي

الفصـــل الاول :

الوسائل و الطرق

I. الوسائل و الطرق

في هذا الفصل، نقوم بتفصيل جميع الخطوات العملية والوسائل المستخدمة لدراسة الخصائص الفيتوكيميائية والبيولوجية لقشور المخلفات النباتية المختارة (قشور الرمان، قشور البرتقال، وقشور الليمون). حيث تم اجراء الاختبارات التالية :

1. **الفحص الفيتوكيميائي :** تم تقييم مجموعات الأيض الثانوي.
2. **اختبار محتوى الفينولات والفلافونويدات :** لتحديد تركيز هذه المركبات في القشور.
3. **اختبار الفاعلية المضادة للاكسدة :** من خلال اجراء اختبار FRAP و DPPH و TAC .
4. **اختبار الحساسية ضد البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة الغرام :** لتقييم النشاط المضاد للبكتيريا.
5. **اختبار الفاعلية المضادة للسكري :** من خلال قياس فعالية امتصاص الغلوكوز.
6. **اختبار الفاعلية المثبطة للإنزيم البروتيناز K :** لتحديد قدرة القشور على تثبيط هذا الإنزيم الذي يهضم البروتينات.

تم اجراء هذه الاختبارات لتقديم فهم أعمق للإمكانيات التي تحملها هذه المخلفات النباتية واستغلالها بطرق تحقق فوائد بيولوجية واقتصادية.

1.I. المواد والأدوات والأجهزة المستعملة

1.1.I. المواد الكيميائية

- ماء مكرر التقطير
- الميثانول (CH_3-OH) ذو نقاوة (99%) إنتاج (BIOCHEM CHEMOPHARMA)
- (DPPH) ذو نقاوة (99%) إنتاج (MERCK)
- ($K_3Fe(CN)_6$) ذو نقاوة (99%) إنتاج (MERCK)
- حمض ثلاثي كلورو أسيتيك (TCA) أو ($C_2HCl_3O_2$) ذو نقاوة (99%) إنتاج (BIOCHEM CHEMOPHARMA)
- حمض الأسكوربيك ($C_6H_6O_6$) ذو نقاوة (99.7%) إنتاج (MERCK)
- حمض الغاليك ($_3C_6H_2COOH,H_2O$ (OH)) ذو نقاوة (99%) إنتاج (PROLABO)
- كلوريد الحديد الثلاثي ($FeCl_3$) ذو نقاوة (99%) إنتاج (MERCK)
- ثنائي ميثيل سلفوكسيد DMSO **(**C_2H_6OS)
- وسط ميلر-هينتون Mueller-Hinton culture media
- محلول ملحي فيزيولوجي معقم (كلوريد الصوديوم 0.9%)
- خميرة الخبز التجارية Saf-Instant® (*Saccharomyces cerevisiae*)
- محلول الجلوكوز ($C_6H_{12}O_6$).

2.1.I. الأدوات والأجهزة

- جهاز التبخير الدوار(Rotavapeur) نوع (RV 06-ML) صنع (IKA)
- جهاز (UV-Visible) نوع (PRIM Advanced Spectrophotometers)
- أطباق بتري
- حاضنة على درجة حرارة 37 درجة مئوية
- جهاز تعقيم بالبخار Autoclave
- موقد بنزن
- ميزان حساس
- عصا معقمة

- مسحة معقمة
- ماصة دقيقة Micropipette
- أنابيب
- قمع مخروطي الشكل
- قطارات باستير معقمة
- جهاز قياس كثافة عكارة VITEK® DENSICHEK® McFarland
- جهاز الطرد المركزي
- جهاز المزج (vortex)

II.2. الطرق و خطوات العمل

II.2.1. التنظيف والتجفيف و تخزين العينات النباتية

تم تنظيف قشور ثمار للعينات المدروسة قشور الرمان (DPP)، قشور البرتقال (DOP)، و قشور الليمون (DLP)، وتنقيها من الشوائب وغسلها جيدا بالماء المقطر البارد للتخلص من الأتربة والعوالق، لتجفف هذه الأخيرة في غرفة مهواة بعيدا عن الرطوبة و الشمس وفي درجة الغرفة، ثم طحنت جميع العينات على شكل مسحوق ناعم بواسطة مطحنة كهربائية، حفظت في علب زجاجية نظيفة، جافة وعاتمة اللون محكمة الإغلاق إلى حين إستخدامها (Romelle, Rani et al. 2016).

II.2.2. تحضير المستخلصات المائية

- **الاستخلاص :** تنقع 50 غ من مسحوق القشور المطحونة في وعاء مناسب و تضاف لها حجم 500 مل من الماء المقطر حيث تكون كافية لتغطية المسحوق بالكامل. تنقع لمدة 24 ساعة مع التقليب الخفيف للمحلول كل فترة لتحسين عملية الاستخلاص.
- **التصفية :** بعد انتهاء فترة الاستخلاص يرشح الخليط بواسطة Whatman paper 0.65 µm ثم يرشح مرة أخرى في ورق ترشيح أدق Whatman Paper 0.45 µm، ثم ينقل المنقوع للتجفيف في جهاز Rotavapeur لتركيز المستخلص و الحصول على شكل صلب جاف يمكن ان يتحلل في الماء بسهولة و يتم التحكم في تركيزه المستعمل.

- **التخزين :** ينقل المستخلص المائي إلى وعاء نظيف ومحكم الإغلاق ومظلم للحفاظ على استقراريته ونشاطه الحيوي. يفضل تخزينه في مكان بارد (4 ±° م) (Mphahlele, Fawole et al. 2016).

II.3.2. التحليل الفيتوكيميائي (الكشوفات الاولية)

تم إجراء التحليل الفيتوكيميائي على المستخلصات المحضرة على النحو التالي حسب (Evans 2009).

II.3.2.1. الكشف عن الفينولات

يتم هذا الكشف بإضافة 2 مل من كلوريد الحديديك إلى 5 مل من المستخلص، و ظهور اللون الأخضر الداكن دلالة على وجود الفينولات.

II.3.2.2. الكشف عن الفلافونويدات

يتم هذا الكشف بإضافة 5 مل من الأمونياك المخفف إلى 5 مل من المستخلص ثم إضافة بعض القطرات من حامض الكبرتيك المركز (H_2SO_4) ، و ظهور اللون الأصفر الداكن دلالة على وجود الفلافونويدات.

II.3.2.3. الكشف عن القلويدات

تم هذا الكشف بإضافة 1-3 قطرات من كاشف فيغنر Reactif de Figner إلى 1 مل من المستخلص المائي مع بضع قطرات من حمض الهيدروكلوريك، و ظهور الراسب برتقالي المحمر دلالة على وجود قلويدات.

II.3.2.4. الكشف عن التانينات

تم هذا الكشف بإضافة بعض القطرات من محلول 2% من كلوريد الحديديك ($FeC1_3$) إلى 5 مل من المستخلص، و ظهور اللون الازرق المخضر دلالة على وجود التانينات.

II.3.2.5. الكشف عن التربينويدات

تم هذا الكشف عن طريق إضافة 2 مل من الكلوروفورم مع 3 مل حمض الكبريتيك المركز إلى 5 مل من المستخلص، و ظهور اللون الأحمر إلى البني الغامق دلالة على وجود التربينويدات.

II.3.2.6. اختبار للكربوهيدرات

تم أخذ 2 مل من محلول فهلنج A (محلول كبريتات النحاس (II) المائي) و2 مل من محلول فهلنج B طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم (Rochelle salt) في أنبوب اختبار، ثم اضافة بضع قطرات من عينة الاختبار، ويُرَج الخليط جيدًا ثم يُحفظ في حمام مائي عند 100 درجة مئوية لمدة 10-15 دقيقة، يشير ظهور راسب أحمر قرميدي إلى وجود الكربوهيدرات (سكريات) المختزلة في العينة.

II.3.2.7. الصابونين

تمت إضافة 5 مل من المستخلص إلى 5 مل من الماء المقطر في أنابيب الاختبار، مع الرج بقوة لمدة دقيقتين يشير ظهور رغوة ثابتة ومستمرة على سطح السائل خلال 15 دقيقة إلى وجود الصابونين.

II.3.2.8. الستيرويدات

يتم تجفيف حجم 1 مل من مستخلص العينات المدروسة، حيث تذاب البقايا الناتجة في خليط من 100 ميكرولتر من أنهيدريد الخل و100 ميكرولتر من الكلوروفورم، يتم توزيع المحلول الناتج بين أنبوبي اختبار (أحدهما يكون بمثابة مرجع)، ليتم إضافة 100 ميكرولتر من H_2SO_4 إلى قاع الأنبوب دون تحريك (على سطح ثابت)، ويكشف تكوين حلقة حمراء بنية عند منطقة التلامس بين السائلين ولون أرجواني للطبقة الطافية دلالة على وجود الستيرويدات.

II.3. تقدير المحتوى الفينولي والمواد الفعالة

II.3.1. تقدير كمية عديد الفينول للعينات

قدرت الفينولات للعينات النباتية وفقا لطريقة Beretta (Beretta, Granata et al. 2005) بمساعدة كاشف Folin Ciocalteau، يتكون هذا الكاشف من حمض فوسفوتنغستينيك ($H_3P_{12}O_{40}$) وحمض فوسفومولبيبديك ($H_3PMO_{12}O_{40}$)، الذي يرجع بواسطة الفينولات إلى أكاسيد التنغستن (W_8O_{23}) والموليبيدين (Mo_8O_3) ذات اللون الأزرق.

تقدر المركبات الفينولية كميا بواسطة جهاز طيف الأشعة فوق البنفسجية والمرئية، وبإستعمال حمض الغاليك كمركب مرجعي عند الطول الموجي λ_{max}=760 nm.

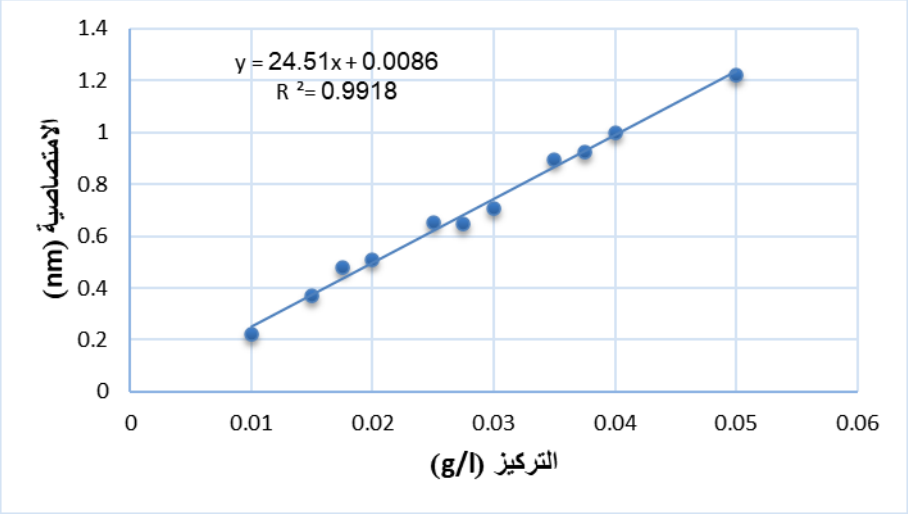
- **طريقة العمل**

يتم تحضير عدة تراكيز ممددة لكل مستخلص (10 – 1.0 غ/ل)، نأخذ 100 ميكرولتر من كل مستخلص يضاف لها 0.5 مل من كاشف الفولين المدد (10 %)، نضيف للمزيج 2 مل من كربونات الصوديوم (Na_2CO_3, 20%)، يرج المزيج جيدا ويترك في الظلام مدة 30 دقيقة. بعد انقضاء المدة الزمنية تقرأ الإمتصاصية بواسطة جهاز UV-vis عند الطول الموجي الاعظمي λ_{max}=760 nm.

- **تحضير المحلول القياسي لحمض الغاليك ورسم المنحنى**

يتم بنفس الطريقة تحضير محاليل ممددة لحمض الغاليك بتراكيز مختلفة محصورة بين (0.01-0.05 غ/ل)، ثم تتم قراءة الامتصاصية الضوئية عند الطول الموجي λ_{max}=760 nm.

نرسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك والذي يوضح العلاقة بين تغير الامتصاصية (nm) بدلالة التركيز (غ/ل) كما هو موضح في الوثيقة (7). ومن ثم حساب المكافئ الغرامي لعديد الفينول في المستخلصات لكل 1 غ من المستخلص.



الوثيقة 7. المنحنى القياسي لحمض الغاليك.

II.2.3. تقدير كمية الفلافونويدات للعينات

يعتمد في تقدير كمية الفلافونويدات على قدرة تكوين المعقد الأصفر بين ثلاثي كلور الألمنيوم ($AlCl_3$) مع مجموعة الهيدروكسيل ($OH^{\cdot}$) الموجودة على الحلقات البنزينية للفلافونويدات، حيث يشكل معقدا ثابتا بين مجموعة

الكربونيل وهيدروكسي الموقـــع 5 و3، كمـــا يشكل معقدات غير ثابتـــة مـــع مجموعتي اورثوهيدروكسي، ذو معامل امتصاص عال يمتص عند طول الموجة λ_{max}=420 nm.

يتم تقدير كمية الفلافونويدات وفقا لطريقة Lianda (Lianda, Sant'Ana et al. 2012)، وبالإستعانة بالكريستين كمركب مرجعي عند طول موجي λ_{max}=420 nm.

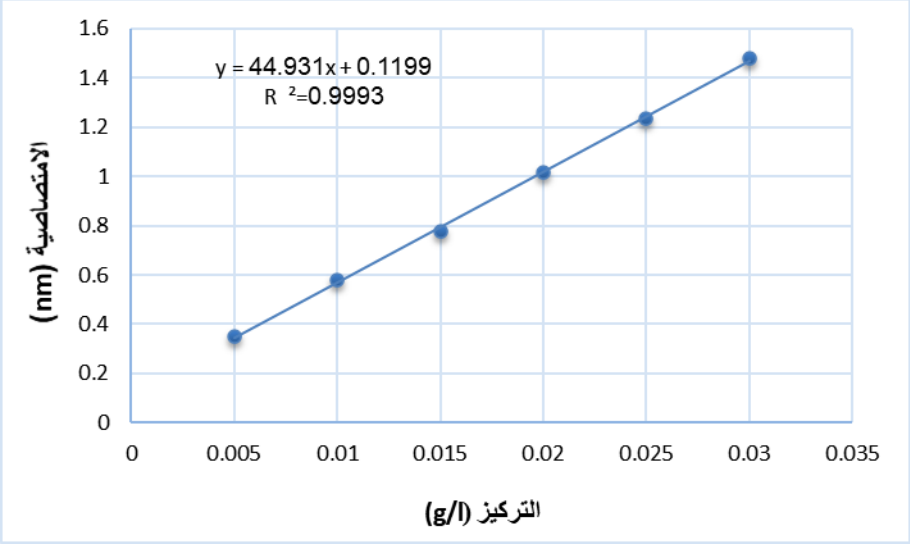
- **طريقة العمل**

يتم تحضير عدة تراكيز ممددة لكل مستخلص (10 – 1.0 غ/ل)، ثم يمزج 1 مل من كل مستخلص مخفف للعينات مع 1 مل من محلول ثلاثي كلوريد الألمونيوم (2%)، يرج المزيج قليلا ثم يترك في الظلام 30 دقيقة.

تتم قراءة الإمتصاصية بواسطة جهاز UV-vis عند طول موجي λ_{max}=420 nm.

- **تحضير المحلول القياسي للكريستين ورسم المنحنى**

بنفس طريقة العمل نقوم بتحضير المركب المرجعي بتراكيز مختلفة محصورة بين (0.03-0.005 غ/ل) للحصول على الوثيقة (8) والتي توضح منحنى الإمتصاصية الضوئية بدلالة تركيز المحلول القياسي، ومن ثم حساب المكافئ الغرامي للفلافونويدات في المستخلصات لكل 1 غ من المستخلص.



الوثيقة 8. المنحنى القياسي للكريستين.

II.4.3. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات

II.4.3.1. تقدير إجمالي الفعالية المضادة للأكسدة (Total Antioxidant Capacity - TAC)

- **طريقة العمل**

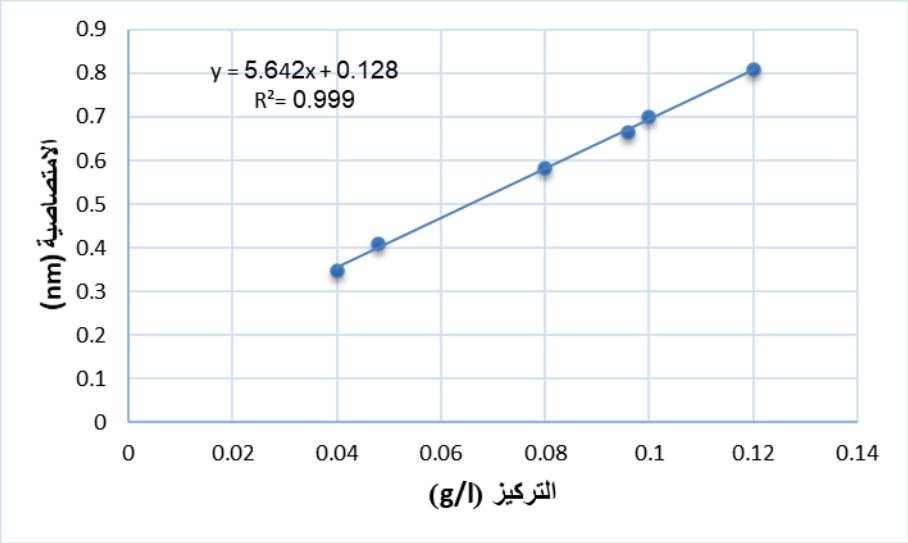
يتم تقدير إجمالي الفعالية المضادة للأكسدة وفقا لطريقة Prieto (Prieto, Pineda et al. 1999) مع بعض التعديلات، حيث نأخذ 0.2 مل من المستخلصات النباتية المختلفة الممددة (5 – 0.5 غ/ل) نضيف إليها 2 مل من الكاشف المحضر كما يلي :

- موليبيدات الأمونيوم بتركيز 4 ملي مولاري.
- فوسفات الصوديوم بتركيز 28 ملي مولاري.
- حمض الكبريت 0.6 مولاري.

يتم وضع المزيج في حمام مائي حرارته 95°م لمدة 90 دقيقة، بعد انقضاء المدة الزمنية يتغير لون المستخلصات الى اللون الأخضر يترك المحلول ليبرد في درجة حرارة الغرفة، لتتم بعدها قراءة الامتصاصية بجهاز UV-vis عند طول الموجة λ_{max}= 695 nm.

- **تحضير المحلول القياسي لحمض الغاليك ورسم المنحنى**

بنفس طريقة العمل تم إستعمال حمض الغاليك كمركب قياسي وبتراكيز مختلفة محصورة بين (0.04-0.12 غ/ل)، ثم رسم المنحنى القياسي الذي يبين تغير الإمتصاصية بدلالة التركيز الموضح في الوثيقة (9). ومن ثم حساب المكافئ الغرامي للقدرة الاجمالية المرجعة للمستخلصات لكل 1 غ من المستخلص.



الوثيقة 9. المنحنى القياسي لحمض الغاليك.

II.2.4.3. اختبار DPPH· free radical scavenging assay

من أجل تقدير الفاعلية المضاد للأكسدة لمختلف المستخلصات النباتية تم إستعمال اختبار DPPH·، والذي يعتبر من أكثر الطرق إستعمالا في تقدير التأثير الإزاحي للجزيئات المضادة للأكسدة نتبع الطريقة الموضحة لـ (Cheng, Moore et al. 2006).

يعتمد هذا الإختبار على تثبيط الجذر DPPH· (ثنائي فينيل بكريلهايدرازيل) المستقر نسبيا، ذو اللون البنفسجي حيث يتفاعل هذا الأخير مع الجزيئات المضادة للجذور الحرة في المستخلص ويتحول إلى DPPH-H ذو اللون الأصفر، حيث يتبع ذلك نقصان في الإمتصاصية عند طول الموجة الأعظمي λ_{max}= 517 nm.

- **طريقة العمل**

قمنا بتحضير تراكيز مختلفة (5 –0.5 غ/ل) من المستخلصات المختلفة.

نأخذ 1 مل من كل مستخلص ونضيف لها 1 مل من محلول DPPH نرج الخليط ونتركه في الظلام لمدة 30 دقيقة، لتقرأ الإمتصاصية الضوئية بواسطة جهاز UV-vis عند الطول الموجي الأعظمي 515 -517 nm بعد إنقضاء المدة يتم تقدير تغير اللون البنفسجي للمزيج مع تغير تراكيز المستخلصات مما يسمح بالحصول على منحنى الامتصاصية بدلالة التراكيز المختلفة (Rebiai and Lanez 2012).

تحسب النسبة المئوية للتثبيط (I%) بالعلاقة التالية :

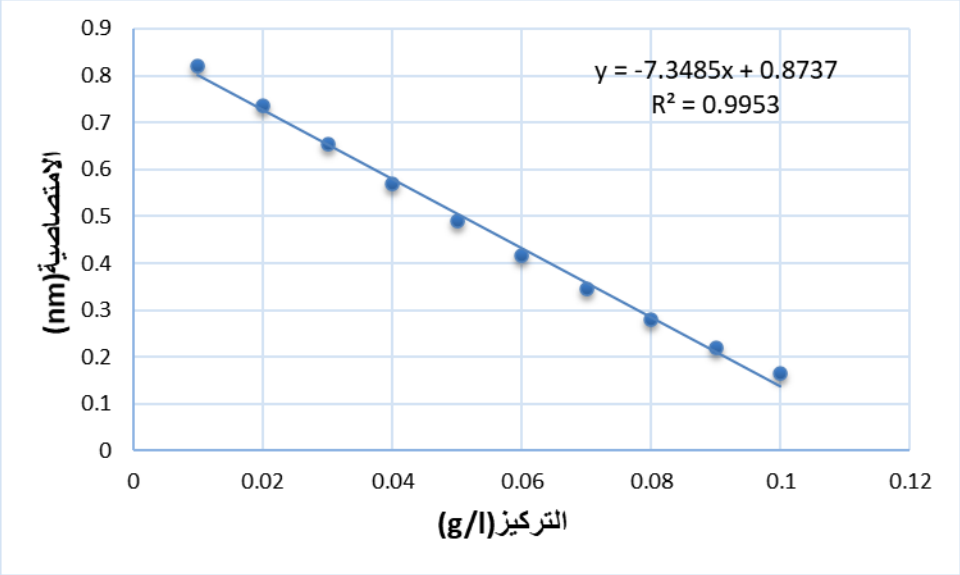
$$I\% = \left(\frac{(A_0 - A_I)}{A_0}\right) \times 100$$

حيث أن:

- A_0 : الإمتصاصية الضوئية للمحلول الجذري في غياب المستخلص.
- A_I : الإمتصاصية الضوئية للمحلول الجذري في وجود المستخلص.
- تم تقدير إمكانية التثبيط الجذري للـ DPPH لكل مستخلص باستخدام معادلة المستقيم في كل منحنى عن طريق اشتقاق قيم IC_{50} ثم مقارنتها مع IC_{50} المحلول القياسي.

تحضير المحلول القياسي لحمض الاسكوربيك ورسم المنحنى

ويتم ذلك عمليا بتحضير محاليل ذات تراكيز مختلفة لحمض الأسكوربيك محصورة ما بين (0.01 – 0.1 g/l) الوثيقة (10)، حيث يرسم المنحنى الكثافة الضوئية بدلالة التركيز A=f (C).



الوثيقة 10. المنحنى القياسي لـحمض الاسكوربيك بواسطة اختبار DPPH.

II.3.4.3. اختبار القدرة الإرجاعية للمستخلصات Ferric reducing power (FRAP) assay

يعتبر اختبار القدرة أو الكفاءة الإرجاعية اختبارا مباشرا وسريعا وهو يستعمل أساسا لقياس مدى قدرة مضادات الأكسدة، ويستعمل هذا الإختبار لتحديد الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات المدروسة في وسط متعادل يعتمد على إرجاع $[Fe(CN)_6]^{-3}$ إلى $[Fe(CN)_6]^{4-}$ والذي يعطي في وجود الحديد الثلاثي لون أزرق باهت، يمكن قياس الإمتصاصية بجهاز (UV-Vis) عند طول موجة λ_{max} =700 nm (Lim, Lim et al. 2007) .

وهذا وفق المعادلة :

$$[Fe(CN)_6]^{3-} + \text{é ناتج من الفينولات} \longrightarrow [Fe(CN)_6]^{4-}$$

لون أصفر **معقد أزرق**

حيث أنه تم تحديد اختبار القدرة الأرجاعية من طرف (Rebiai, Lanez et al. 2011).

ويتم قياس الفعالية المضادة للأكسدة وفق مقدار جديد يدعى AEAC : وهو يمثل الفعالية المضادة للأكسدة المكافئة لحمض الأسكوربيك من طرف المستخلصات المدروسة (Ascorbic acide Equivalent Antioxydant Capacity) .

يتم تحديد الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بالنسبة لحمض الأسكوربيك لذلك يستلزم رسم منحي قياسي لهذا الفينول المرجعي.

- **طريقة العمل**

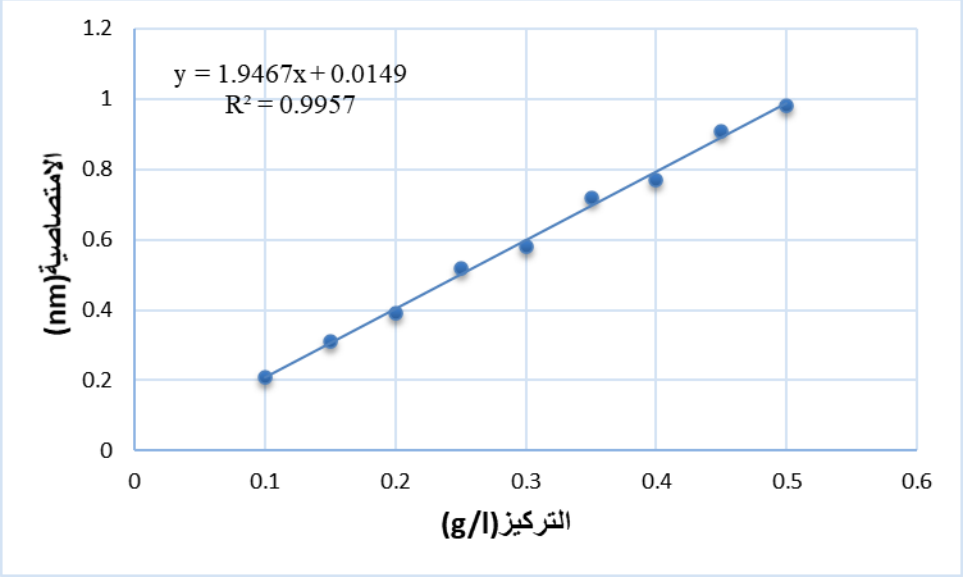
تم تحضير بتحضير تراكيز مختلفة (10 – 1.0 غ/ل) من المستخلصات المختلفة.

نأخذ في أنبوب اختبار 1 مل من كل مستخلص ممدد، نضيف 2.5ml من المحلول $K_3Fe(CN)_6$ (1%) ثم نضيف 2.5ml من محلول الفوسفات منظم (tampon phosphatée) (0.2M ، pH=6.6) نضع المحاليل في حمام مائي لمدة 20 دقيقة عند درجة حرارة 50°C بعدها نضيف 2.5ml من حمض ثلاثي كلورور أسيتيك (TCA 10%) ثم نأخذ 2.5ml من المحلول المحضر 2.5ml من الماء المقطر 0.5ml من $FeCl_3$ (0.1%) نحسب الامتصاصية عند طول موجة λ_{max}= 700nm نسجل القيم للتمكن من رسم منحنى الامتصاصية بدلالة التراكيز المختلفة (Rebiai, Lanez et al. 2011).

- تم تقدير امكانية الاختزال لـ FRAP لكل مستخلص باستخدام معادلة المستقيم في كل منحنى عن طريق اشتقاق قيم EC_{50} ثم مقارنتها مع EC_{50} المحلول القياسي.

تحضير المحلول القياسي لحمض الاسكوربيك ورسم المنحنى

ويتم ذلك عمليا بتحضير محاليل ذات تراكيز مختلفة لحمض الأسكوربيك محصورة ما بين (0.1 - 0.5 g/l) الوثيقة (11), حيث يرسم المنحنى الكثافة الضوئية بدلالة التركيز A=f (C).



الوثيقة 11. المنحنى القياسي لـحمض الاسكوربيك بواسطة اختبار FRAP.

4.II. النشاط المضاد للبكتيريا

تم تحديد الاختبار المضاد للبكتيريا للمركب باستخدام طريقة الانتشار حسب ما وصفته العديد من الدراسات (Mirtaghi, Nejad et al. 2016, Maqbool, Visnuvinayagam et al. 2020) ضد نوعين من البكتيريا، وهي المكورات الذهبية (*Staphylococcus aureus* ,ATCC 25923) ، والإشريكية القولونية (*Escherichia coli* ,ATCC 25922).

- **تحضير محاليل العينات**

تم تحضير تراكيز مختلفة (120، 60، 30، و15 ملغم / مل) للعينات في ثنائي ميثيل السلفوكسيد Dimethyl sulfoxide (DMSO).

- **تحضير وسط الزرع**

قمنا بإذابة الوسط المغذي Mueller Hinton في حمام مائي 100°م ثم وضع في علب بيتري معقمة حتى يتغطى سطح العلبة السفلي بالوسط المغذي.

- **زراعة البكتيريا**

نأخذ مستعمرة من كل سلالة بكتيرية بواسطة ماصة باستور معقمة، ونضعها في أنابيب اختبار معقمة تحتوي على ماء فيزيولوجي بحجم 3 مل ونقوم برجها جيدا حتى نحصل على معلق بكتيري، ثم يتم حساب تركيز المعلق البكتيري عن طريق جهاز قياس كثافة العكارة DENSICHEK® لضمان تساوي تركيز خلايا البكتيريا على جميع اسطح علب بتري بما يوافق (McFarland Standard No. 0.5 (1.5 x 10^8 CFU/ml، ومن ثم بواسطة ماسح قطني نقوم بغمسه داخل المعلق البكتيري ومسحه على سطح علب بيتري التي تحتوي على الوسط المغذي Mueller Hinton agar على شكل خطوط متلاصقة، مع تدوير الطبق 45° في كل مرة بستعمال تقنية الاوجه الاربعة كما هو مبين في الوثيقة (12) حتى العودة الى الربع الاول.

الوثيقة 12. تحضير معلق البكتيريا و توزيعه في العلب.

اضافة المستخلصات

تم حفره الاجار المطعم بالبكتيريا بإستخدام ماصة مخروطية الشكل كثاقب لكل حفرة كما هو مبين في الوثيقة (13). ثم تُعبأ التجاويف الناتجة بالمحلول المائي للمستخلص بتركيزات (120 ، 60 ، 30 ، و 15 ملغم / مل) (حوالي 50 ميكرولتر لكل تجويف).

الوثيقة 13. طريقة الحفر بماصة مخروطة.

اضافة الشاهد و الحضن

يتم وضع (الشاهد السلبي DMSO) وأقراص المضاد الحيوي Gentamicin 30 µg كشاهد إيجابي كما هو مبين في الوثيقة (14) وفي الأخير توضع في جميع الاطباق في الحاضنة لمدة 24 ساعة تحت 37 C° . يشير الفعل المثبط إلى تكوين منطقة تثبيط حول الآبار و يتم قراءة النتائج عن طريق قياس أقطار مناطق التثبيط. حيث يعتبر المستحضر فعالًا إذا كان قطر منطقة التثبيط أكبر من 6 مم (Kiehlbauch, Hannett et al. 2000, Bonev, Hooper et al. 2008).

الوثيقة 14. غمر الحفر بالتراكيز المحضرة مسبقا ووضع شواهد.

II.5. الاختبار المضاد لداء السكري

- **امتصاص الجلوكوز في خلايا الخميرة**

أولا : تم غسل 125 غ من خميرة الخبز التجارية Saf-Instant® (*Saccharomyces cerevisiae*) بجهاز الطرد المركزي المتكرر لمدة 5 دقائق عند 3000 دورة في دقيقة في ماء مقطر حتى تصبح السوائل الطافية صافية **الوثيقة (15)** ، ثم تم تحضير معلق 10% في ماء مقطر حسب الطريقة الموصوفة للمؤلف (Gan, Marquardt et al. 1999).

الوثيقة 15. تحضير معلق الخميرة بستعمال جهاز الطرد المركزي.

ثانيا : تمت إضافة تركيزات مختلفة من المستخلصات قشور الرمان (DPP)، قشور البرتقال (DOP)، و قشور الليمون (DLP)، (40 ملغ/مل – 5 ملغ/مل) إلى 2 مل من محلول الجلوكوز (25 ملي مولاري) وتم تحضينها لمدة 10 دقائق عند 37 درجة مئوية، بدأ التفاعل بإضافة 200 ميكرولتر من معلق الخميرة الوثيقة (16)، ثم خلطه بواسطة جهاز الخلط (vortex) وتحضينه عند 37 درجة مئوية لمدة 15، 30، 60، و120 دقيقة، بعد ذاك تم الطرد المركزي للأنابيب لمدة 5 دقائق عند 2500 دورة في دقيقة وتم تقدير كمية الجلوكوز في السائل الفوقي.

الوثيقة 16. ادوات عمل بروتوكول قياس امتصاص الغلوكوز من طرف *Saccharomyces cerevisiae*.

تم حساب النسبة المئوية للزيادة في امتصاص الجلوكوز بواسطة خلايا الخميرة باستخدام الصيغة التالية.

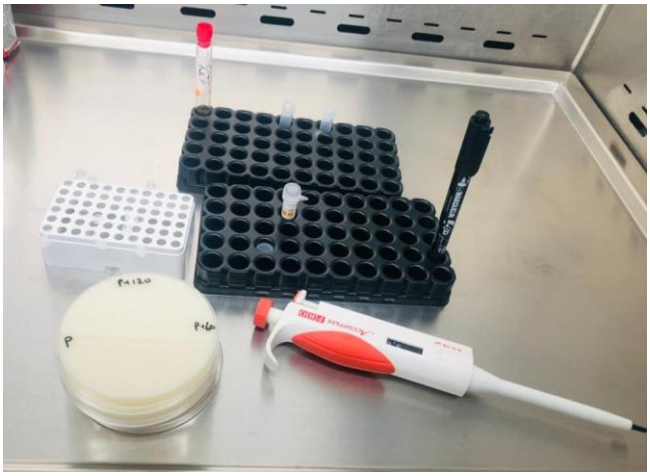
$$\% \text{ زيادة في امتصاص الجلوكوز} = \frac{(\text{الامتصاصية للعينة} - \text{الامتصاصية للتحكم})}{\text{الامتصاصية للتحكم}} X\ 100$$

حيث أن الامتصاصية للتحكم (Abs control) هي امتصاصية التفاعل التحكم أو الشاهد (الذي يحتوي على جميع المواد ما عدا العينة المختبرة)، والامتصاصية للعينة (Abs sample) هي امتصاصية العينة المختبرة، وتم قياس الامتصاصية عند طول موجي 540 نانومتر باستخدام جهاز التحليل البيوكيميائي (Mindray® BA-88) وفقًا لتعليمات الشركة المصنعة .

II.6. اختبار تثبيط انزيم البروتيناز K

إعداد وسط الكازيين

يحتوي وسط اجار الكازيين على : الكازيين $10\ g.L^{-1}$، جلوكوز $1g.L^{-1}$، مستخلص الخميرة $1\ g.L^{-1}$، $1g.L^{-1}\ K_2HPO_4$، $0.5\ g.L^{-1}\ KH_2PO_4$ ، كبريتات المغنيسيوم $0.1\ g.L^{-1}$، وأجار $20g.L^{-1}$، ثم يتم حقن 20 مل من الخليط في طبق قطره 9 ملم، و للتأكد من تجانس سماكة الطبق نستخدم علب بتري من نفس الحجم (90 ملم)، ونضيف نفس كمية اجار الكازين إلى العلب، ونضعها بشكل مسطح الوثيقة (17) .



الوثيقة 17. تحضير اجار الكازيين و ادوات الاختبار.

لتقيّم تأثير المستخلصات على نشاط إنزيم بروتيناز Proteinase K باستخدام تجربة تحلل الكازيين، تم تحضير اجار الكازيين (HiMedia® M763-500G) بحفر فتحتين متوازيتين، حيث تم إضافة 3 ميكرولتر من محلول بروتيناز Servicebio® مخفف إلى 50% في ماء مقطر معقم إلى الفتحة الأولى والذي يعتبر شاهد سالب، و استقبلت الفتحة الثانية مزيجاً من البروتيناز والمستخلصات المدروسة أيضًا بنسبة 50% بتركيز نهائي 60 مغ/مل، بعد 10 دقائق من التفاعل الأولي تم تحضين طبق الكازيين لمدة 18 ساعة عند 37 درجة مئوية، بعد ذلك تم قياس قطر حلقة التحلل المائي حول كل فتحة على ثلاث علب مكررة، ثم تم حساب قيم مساحة سطح التحلل (πr^2) ومقارنتها بالشاهد (بروتيناز K فقط) لتحديد و اختبار ما إذا كان المستخلص النباتي له تأثير مثبط على إنزيم Proteinase K (Gan, Marquardt et al. 1999) .

الفصـــل الثانـي :

النتائـج و المنـاقشة

II. النتائج و المناقشة

1.II. عائد الاستخراج

لقد مكنتنا عملية استخلاص المركبات الأكثر وفرة في العينات باستخدام الماء المقطر من حساب مردود المستخلص المائي. يتم حساب المردود باستخدام المعادلة التالية :

المردود % = (الكتلة النهائية / الكتلة الاولية) X 100

حيث تمثل :

- **الكتلة الأولية** : الكتلة الجافة الأصلية للمادة النباتية (القشور) قبل الاستخلاص.
- **الكتلة النهائية** : الكتلة الجافة للمستخلص الناتج بعد التبخير والتركيز.

يتم التعبير عن المردود كنسبة مئوية بناءً على 10 غرام من العينة الأصلية. أي أن الكتلة الأولية في المعادلة هي 10 غرام، والنتائج التي تم الحصول عليها موضحة في الجدول (9) لكل من قشور الرمان (DPP)، قشور البرتقال (DOP)، و قشور الليمون (DLP).

الجدول 9 . مردود المستخلصات المتحصل عليها.

المستخلص	مستخلص مائي (%)
DLP (قشور الليمون)	18.5
DOP (قشور البرتقال)	20.2
DPP (قشور الرمان)	15.7

يوضح الجدول (9) مردود المستخلصات المائية المتحصل عليها من قشور الليمون (DLP) ، قشور البرتقال (DOP)، وقشور الرمان (DPP) ، حيث تُظهر النتائج أن قشور البرتقال (DOP) لديها أعلى مردود بنسبة 20.2%، تليها قشور الليمون (DLP) بنسبة 18.5%، بينما تمتلك قشور الرمان (DPP) اقل مردود بنسبة 15.7%. تشير هذه النتائج إلى أن قشور البرتقال تحتوي على نسبة أعلى من المركبات القابلة للاستخلاص بالماء مقارنةً بقشور الليمون والرمان. قد يعزى هذا الاختلاف إلى التباينات في التركيب الكيميائي لكل نوع من القشور، حيث تحتوي قشور البرتقال

على كمية أكبر من المركبات الفينولية والبوليفينولات القابلة للذوبان في الماء، مما يجعلها أكثر كفاءة في الاستخلاص المائي (Huyut, Beydemir et al. 2017)، (Babbar, Oberoi et al. 2014).

2.II. الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية

الجدول 10 .الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية لمواد الأيض الثانوي.

الاختبارات	DPP (قشور الرمان)	DLP (قشور الليمون)	DOP (قشور البرتقال)
Alkaloids	++	+	++
Flavonoids	+++	++	++
Terpenoids	++	+	+
Phenols	+++	++	++
Tannins	+++	+++	+
Saponins	++	+++	++
Reducing sugars	+++	++	+++
Steroids	++	--	++

يوضح **الجدول (10)** نتائج الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية لمواد الأيض الثانوي في قشور البرتقال (DOP) ، قشور الليمون (DLP)، وقشور الرمان (DPP)، حيث تُظهر قشور الرمان أعلى تركيز للمركبات الفينولية والفلافونويدات والتانينات، من ناحية أخرى تحتوي قشور الليمون على أعلى تركيز من التانينات والصابونين, أما قشور البرتقال فتتميز بتراكيز معتدلة من الألكالويدات والفلافونويدات والفينولات. هذه النتائج تتماشى مع الأبحاث السابقة مثل دراسة (Mashkor and Muhson 2014) التي أظهرت أن قشور الرمان تحتوي على نسبة عالية من الفينولات والفلافونويدات التي تساهم في العديد من الخصائص الصحية. من ناحية أخرى تبين أن قشور الليمون (DLP) تحتوي على تركيز عالي من التانينات والصابونين، وفقًا لدراسة (Ali, Das et al. 2017) تعتبر قشور الليمون غنية بالتانينات التي تُعرف بخصائصها المضادة للبكتيريا والفطريات، وكذلك بالصابونين الذي يعزز الامتصاص المعوي ويملك خصائص مضادة للالتهابات.

من ناحية اخرى النتائج المتحصل عليها لقشور البرتقال تتماشى مع ما وجدته دراسة حديثة (Abdelazem, Hefnawy et al. 2021) التي أشارت إلى أن قشور البرتقال تحتوي على مجموعة متوازنة من المركبات الفيتوكيميائية التي تساهم في تعزيز الصحة العامة.

3.II. تقدير كمية عديد الفينول والفلافونويدات

الجدول 11 . تقدير كمية عديد الفينول والفلافونويدات للعينات المدروسة.

العينة	تركيز عديد الفينول المكافئ (mg of GAEq/g of extract)	تركيز الفلافونويدات المكافئ (mg of QE/g of extract)
DOP	10.2	8.9
DLP	8.6	7.4
DPP	10.9	10.7

تشير نتائج **الجدول (11)** إلى أن قشور الرمان (DPP) تحتوي على أعلى تركيز من الفينولات والفلافونويدات، حيث بلغت 10.9 mg of GAEq/g و 10.7 mg of QE/g على التوالي، مقارنة بقشور البرتقال (DOP) التي سجلت 10.2 mg of GAEq/g و 8.9 mg of QE/g ، وقشور الليمون (DLP) التي سجلت 8.6 mg of GAEq/g و 7.4 mg of QE/g. هذا التباين يعكس الاختلافات الطبيعية في التركيب الكيميائي لهذه الفواكه. وفقًا لدراسة (SUN, Xin et al. 2017) تعتبر قشور الرمان غنية بشكل خاص بالمركبات الفينولية مثل البونيكالاجين وحمض الإيلاجيك، والتي تساهم في خصائصها المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات. في حين أن قشور البرتقال تحتوي على مركبات مثل الهيسبيريدين والنارينجينين، التي تساهم في فوائدها الصحية ولكن بتراكيز أقل مقارنة بالرمان وفقًا لدراسة (Feng, Otani et al. 2022)، أما قشور الليمون فقد أظهرت دراسة في كتاب علمي لـ (ur Rehman, Batool et al. 2021) أنها تحتوي على مركبات فينولية وفلافونويدية مثل الهيسبيريدين والنارينجينين الموجودة في قشور البرتقال ولكن بنسب أقل نظرًا لتركيبها الكيميائي المختلف وتوزيع هذه المركبات داخل القشور. هذه النسب المنخفضة قد تكون نتيجة لوجود مركبات أخرى غير الفينولات والفلافونويدات التي تساهم في الخصائص الصحية لليمون، مثل الفيتامينات والألياف.

4.II. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات

1.4.II. تقدير إجمالي الفعالية المضادة للأكسدة (Total Antioxidant Capacity - TAC)

تم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للعينات المدروسة قشور الرمان (DPP) ، قشور البرتقال (DOP) ، وقشور الليمون (DLP) بالاستعانة بالمنحنى القياسي لحمض الغاليك. النتائج موضحة في الجدول أدناه **الجدول (12)** :

الجدول 12 . جدول نتائج تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للعينات المدروسة.

العينة	تركيز الفعالية المضادة للأكسدة TAC المكافئ (mg of GAEq/g of extract)
DOP	62
DLP	55
DPP	71

تشير النتائج **الجدول (12)** إلى أن مستخلص قشور الرمان (DPP) يظهر أعلى قدرة إجمالية مرجعة (TAC) مقارنة بمستخلصات قشور البرتقال (DOP) وقشور الليمون (DLP) ، حيث بلغت القيم 71 mg of GAEq/g لمستخلص قشور الرمان، 62 mg of GAEq/g لمستخلص قشور البرتقال، و55 mg of GAEq/g لمستخلص قشور الليمون.

وفقًا لدراسة (SUN, Xin et al. 2017) قشور الرمان تحتوي على نسب عالية من البونيكالاجين وحمض الإيلاجيك، وهما من أقوى المركبات الفينولية المعروفة بقدرتها العالية على مكافحة الجذور الحرة. هذه المركبات تزيد من الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات الرمان مما يفسر النتائج العالية للـ TAC .

تشير دراسة (M'hiri, Ioannou et al. 2017) إلى أن قشور البرتقال تحتوي على مركبات فينولية مثل الهيسبيريدين والنارينجينين، بالإضافة إلى نسبة عالية من فيتامين C ، مما يعزز خصائصها المضادة للأكسدة ويجعل قدرتها المضادة للأكسدة أكبر نسبياً من قشور الليمون. في المقابل، أظهرت دراسة (Özcan, Ghafoor et al. 2021) أن قشور الليمون تحتوي على مركبات فينولية وفلافونويدية بنسب أقل من البرتقال، إلى جانب فيتامين C الذي يعد مضاد أكسدة قوي ولكنه أقل استقراراً مقارنة بالمركبات الفينولية في قشور البرتقال والرمان. وبالتالي، فإن قشور الرمان، التي تحتوي على مركبات فينولية معقدة بتركيزات عالية ، فتظهر فعالية مضادة للأكسدة أقوى بكثير مقارنة بقشور البرتقال والليمون.

II.2.4. اختبار DPPH والقدرة الإرجاعية لمستخلصات FRAP

تم اختبار القدرة التثبيطية للجذور الحرة باستخدام اختبار DPPH واختبار القدرة الإرجاعية لمستخلصات FRAP لمختلف العينات النباتية المدروسة قشور الرمان (DPP) ، قشور البرتقال (DOP) وقشور الليمون (DLP) ، وقورنت مع نتائج المركب القياسي حمض الأسكوربيك. فتحصلنا على النتائج موضحة في الجدول أدناه **الجدول (13)** :

الجدول 13. نتائج اختبار DPPH و FRAP.

العينة	FRAP EC_{50} مغ/مل	DPPH IC_{50} مغ/مل
DOP	1.83	2.04
DLP	2.10	2.55
DPP	1.62	1.55
حمض الأسكوربيك	0.248	0.0508

تشير نتائج **الجدول (13)** إلى أن مستخلصات قشور الرمان (DPP) أظهرت أعلى فعالية مضادة للأكسدة في كلا اختباري DPPH و FRAP مقارنة بمستخلصات قشور البرتقال (DOP) وقشور الليمون (DLP) ، بلغت قيمة IC_{50} لاختبار DPPH لمستخلص قشور الرمان 1.55 mg/mL ، بينما كانت 2.04 mg/mL و 2.55 mg/mL لقشور البرتقال والليمون على التوالي. في اختبار FRAP، و كانت قيمة EC_{50} لقشور الرمان 1.62 mg/mL، مقارنة بـ 1.83 mg/mL و 2.10 mg/mL لقشور البرتقال والليمون.

تعكس هذه النتائج الفروقات في التركيب الكيميائي والمحتوى الفينولي لكل نوع من القشور. قشور الرمان بمحتواها العالي من المركبات الفينولية المعقدة، أظهرت فعالية اكبر مضادة للأكسدة، مما يجعلها مصدرًا قويًا لمضادات الأكسدة. يدعم ذلك دراسة (Russo, Fanali et al. 2018) التي أشارت إلى أن المركبات الفينولية مثل الأنثوسيانين والفلافونولات تساهم بشكل كبير في الفعالية المضادة للأكسدة للرمان.

في المقابل تحتوي قشور البرتقال على مركبات الفلافونويدات بنسب مهمة التي تمنحها فعالية مضادة للأكسدة جيدة، ولكنها أقل قوة من الرمان. أشارت دراسة (Chen, Tait et al. 2017) إلى أن البرتقال يحتوي على مستويات جيدة من الفينولات والفلافونويدات التي تساهم في نشاطه المضاد للأكسدة، بالإضافة إلى ذلك يحتوي البرتقال على كميات كبيرة من فيتامين C وبيتا كاروتين، اللذين يعززان الفعالية المضادة للأكسدة ولكنهما لا يتفوقان على المركبات الفينولية الموجودة في الرمان (Aschoff, Kaufmann et al. 2015).

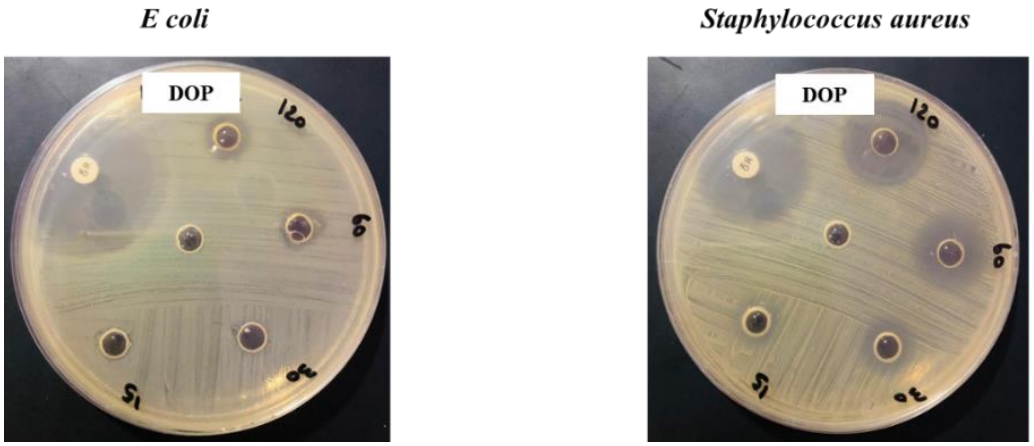
أما قشور الليمون فتحتوي على مركبات فينولية وفلافونويدية بتراكيز أقل، إلى جانب فيتامين C، مما يفسر فعاليتها المضادة للأكسدة المتوسطة. دراسة (Mamede, de Souza Coelho et al. 2020) أوضحت أن الليمون يحتوي على نسبة جيدة من فيتامين C ، الذي يعتبر مضاد أكسدة قوي، ولكنه أقل استقراراً مقارنة بالمركبات الفينولية المعقدة الموجودة في قشور الرمان. كما أشارت دراسة (M'hiri, Ioannou et al. 2017) إلى أن قشور الليمون

تحتوي على مركبات فينولية أقل، مما يفسر القدرة المضادة للأكسدة الأقل مقارنة بالرمان والبرتقال، تحتوي قشور الليمون على مركبات مثل الليمونين والكيرسيتين، التي تساهم في الفعالية المضادة للأكسدة لكن ليست بنفس الفعالية مثل المركبات الفينولية المعقدة في قشور الرمان (M'hiri, Ioannou et al. 2017).

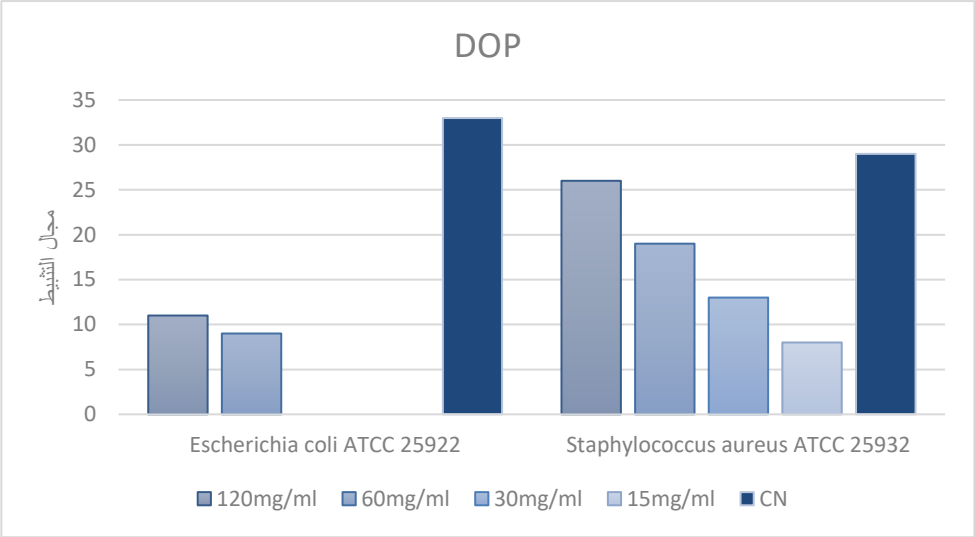
5.II. النشاطية المضادة للبكتيريا

تم اختبار النشاطية المضادة للبكتيريا لكل من قشور الرمان (DPP)، قشور البرتقال (DOP)، و قشور الليمون (DLP) ضد بكتريا *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* باستخدام طريقة انتشار الحفر.

- **مستخلص قشور البرتقال**



الوثيقة 18. صور نتائج دراسة الفاعلية ضد البكتيريا لمستخلص DOP.



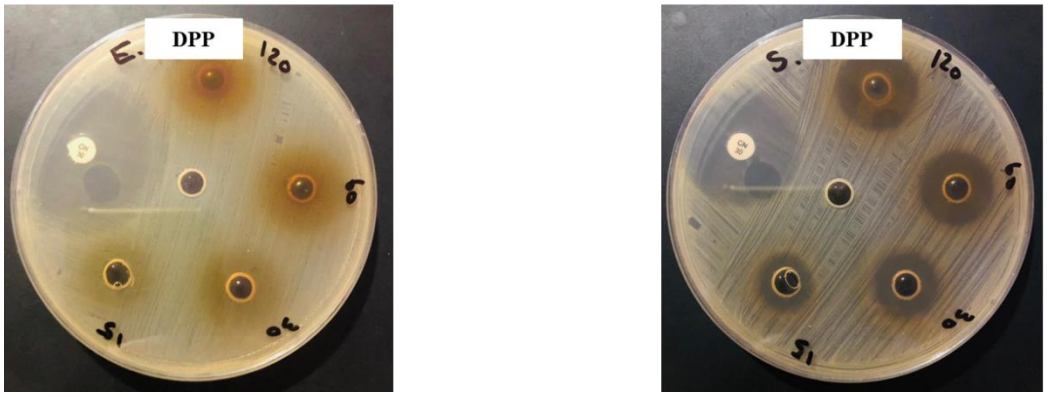
الوثيقة 19. النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص DOP ضد البكتيريا.

تظهر نتائج الوثيقة (19، 18) إلى أن مستخلص DOP يتمتع بفعالية أكبر ضد البكتيريا موجبة الغرام *Staphylococcus aureus* مقارنةً بالبكتيريا سالبة الغرام *Escherichia coli* ، حيث يظهر تأثيرًا مثبطًا قويًا ضد *S. aureus* حتى عند التراكيز المنخفضة، في المقابل كان تأثير المستخلص على *E. coli* محدودًا ويختفي عند التراكيز المنخفضة. بالمقارنة مع المضاد الحيوي الجنتاميسين (CN) الذي أظهر تأثيرًا أكبر نسبيا على كل من *E. coli* (33 ملم) و *S. aureus* (29 ملم).

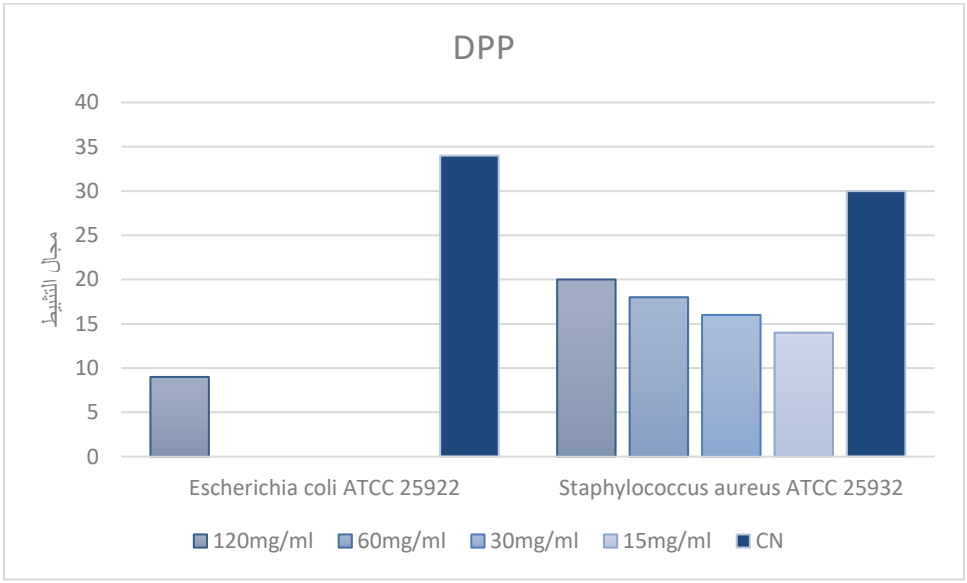
الفاعلية العالية لمستخلص DOP ضد البكتيريا موجبة الغرام *Staphylococcus aureus* مقارنةً بالبكتيريا سالبة الغرام *Escherichia coli* تعود الى محتوى هذا المستخلص من مركبات الايض الثانوي التي تتفاعل مع البروتينات والأنزيمات في الخلايا البكتيرية، مما يؤدي إلى تعطيل وظائفها الحيوية وزيادة نفاذية الجدار الخلوي وبالتالي قتل البكتيريا، بالمقابل تمتاز البكتيريا سالبة الغرام بوجود غشاء خارجي يعيق اختراق المركبات النشطة، مما يجعل تأثير المستخلص عليها محدودًا. تدعم هذه النتائج دراسات سابقة أظهرت أن المستخلصات الطبيعية وخاصة تلك الغنية بالمركبات الفينولية تمتلك فعالية قوية ضد البكتيريا موجبة الغرام بفضل قدرتها على استهداف الأغشية الخلوية والأنزيمات الضرورية لتشكيل الجدار الخلوي (Álvarez-Martínez, Barrajón-Catalán et al. 2020) (Cetin-Karaca and Newman 2015) .

- **مستخلص قشور الرمان**

E coli *Staphylococcus aureus*



الوثيقة 20. صور نتائج دراسة الفاعلية ضد البكتيريا لمستخلصDPP .



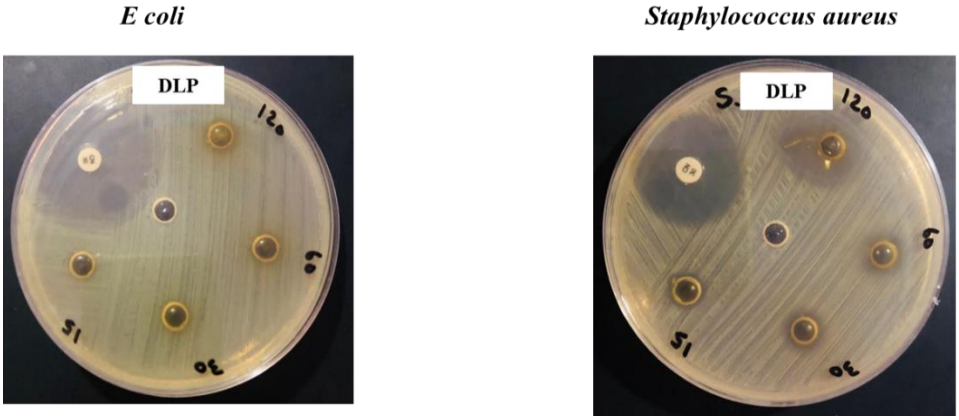
الوثيقة 21. النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص DPP ضد البكتيريا.

تظهر نتائج الوثيقة (20، 21) إلى أن مستخلص DPP يتمتع بفعالية أكبر ضد البكتيريا موجبة الغرام *Staphylococcus aureus* مقارنةً بالبكتيريا سالبة الغرام *Escherichia coli* ، حيث يظهر تأثيرًا مثبطًا قويًا ضد *S. aureus* حتى عند التراكيز المنخفضة، في المقابل كان تأثير المستخلص على *E. coli* محدودًا ويختفي عند

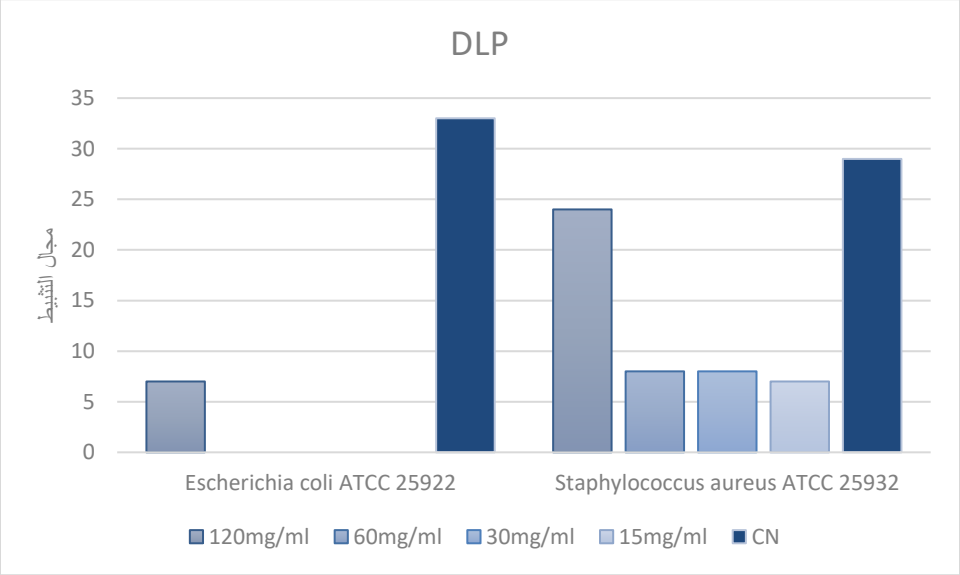
التراكيز المنخفضة. بالمقارنة مع المضاد الحيوي الجنتاميسين (CN) ، الذي أظهر تأثيرًا أكبر نسبيا على كل من *E. coli* و *S. aureus* .

يعود ذلك إلى التركيب الكيميائي الفريد لمستخلصDPP الذي يحتوي على مركبات ذات فاعلية بيولوجية عالية تتفاعل مع البروتينات الأساسية في جدار الخلية البكتيرية، مثل Penicillin-Binding Proteins (PBPs)، مما يؤدي إلى تعطيل نشاطها وإضعاف الجدار الخلوي (Álvarez-Martínez, Barrajón-Catalán et al. 2020) بالمقابل تمتاز البكتيريا سالبة الغرام بوجود غشاء خارجي مقاوم يحتوي على الليبوبوليسكريدات، مما يعيق اختراق المركبات النشطة في المستخلص. تدعم هذه النتائج دراسات سابقة مثل دراسة (Cetin-Karaca and Newman 2015) التي أظهرت فعالية المركبات عديدة الفينول في المستخلصات الطبيعية ضد البكتيريا موجبة الغرام من خلال استهداف البروتينات والأنزيمات الحيوية في الخلايا البكتيرية .

- **مستخلص قشور الليمون**



الوثيقة 22. صور نتائج دراسة الفاعلية ضد البكتيريا لمستخلص DLP.



الوثيقة 23. النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص DLP ضد البكتيريا.

تظهر نتائج الوثيقة (22، 23) أن مستخلص DLP يظهر نشاطًا مضادًا للبكتيريا متفاوتًا عند تراكيز مختلفة ضد الأنواع البكتيرية *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* ، حيث أظهر المستخلص تأثيرًا محدودًا على *E. coli*، بينما كان تأثيره أكبر بكثير على *S. aureus* مع خفض التركيز انخفض تأثير المستخلص على *E. coli* إلى الصفر، بينما ظل تأثيره ملحوظًا على *S. aureus* . بالمقارنة مع المضاد الحيوي الجنتاميسين (CN) ، الذي أظهر تأثيرًا أكبر نسبيا على كل من *E. coli* و*S. aureus* .

الفاعلية العالية لمستخلص DLP ضد البكتيريا موجبة الغرام *Staphylococcus aureus* مقارنةً بالبكتيريا سالبة الغرام *Escherichia coli* يعود ذلك إلى التركيب الكيميائي لمستخلص DLP الذي يحتوي على مركبات ايضية فعالة تستهدف (PBPs) وتعطل تخليق البيبتيدوجليكان، مما يؤدي إلى إضعاف الجدار الخلوي للبكتيريا موجبة الغرام ، في المقابل تحتوي البكتيريا سالبة الغرام على غشاء خارجي فوسفوليبيدي يعيق اختراق هذه المركبات مما يقلل من فعاليتها، بالإضافة إلى ذلك يمكن أن تلعب مواد الأيض الثانوي مثل التربينويدات والقلويدات الموجودة في قشور الليمون دورًا في تعزيز الفعالية المضادة للبكتيريا من خلال تعطيل عمليات الأيض الحيوية في الخلايا البكتيرية (Singh, Jaiswal et al. 2020).

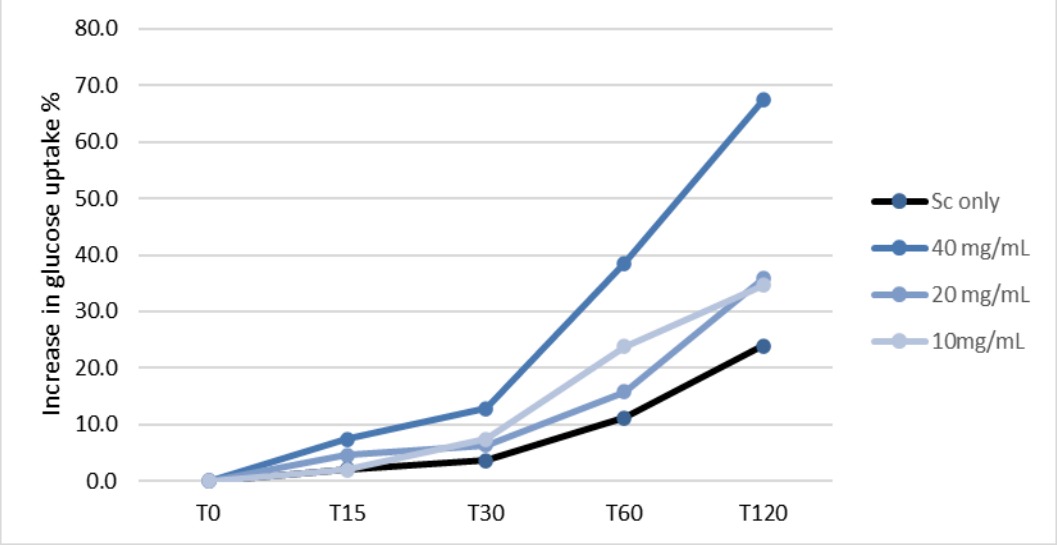
6.II. الاختبار المضاد لداء السكري

يعطي حساب الجلوكوز الخارجي في الوسط فكرة عن تركيز الجلوكوز الذي تم امتصاصه بواسطة خلايا الخميرة من خلال مقارنة الامتصاصية للشاهد (الذي لا يحتوي على مستخلص نباتي) مع العينة، يمكن تحديد كمية الجلوكوز التي تم امتصاصها بواسطة خلايا الخميرة في وجود المستخلص.

تحسين امتصاص الجلوكوز بواسطة الخمائر من خلال مستخلصات النباتات مرتبط مباشرة بإمكانيتها كعقار لخفض مستويات السكر في الدم لدى المرضى المصابين بالسكري من النوع الثاني. إذا زادت مستخلصات النباتات من قدرة الخمائر على امتصاص الجلوكوز فهذا يشير إلى أنها قد تحسن أيضاً امتصاص الجلوكوز بواسطة الخلايا البشرية، مما يمكن أن يساعد في الحفاظ على مستويات أقل من الجلوكوز في الدم لدى مرضى السكري.

يوفر هذا البروتوكول طريقة لتقييم تأثير مستخلصات النباتات على امتصاص الجلوكوز بواسطة خلايا الخميرة، مما يمكن أن يوفر معلومات حول إمكانياتها كأدوية لخفض مستوى الجلوكوز في الدم لدى مرضى السكري من النوع الثاني (Karim, et al., 2021).

- **مستخلص قشور الرمان**

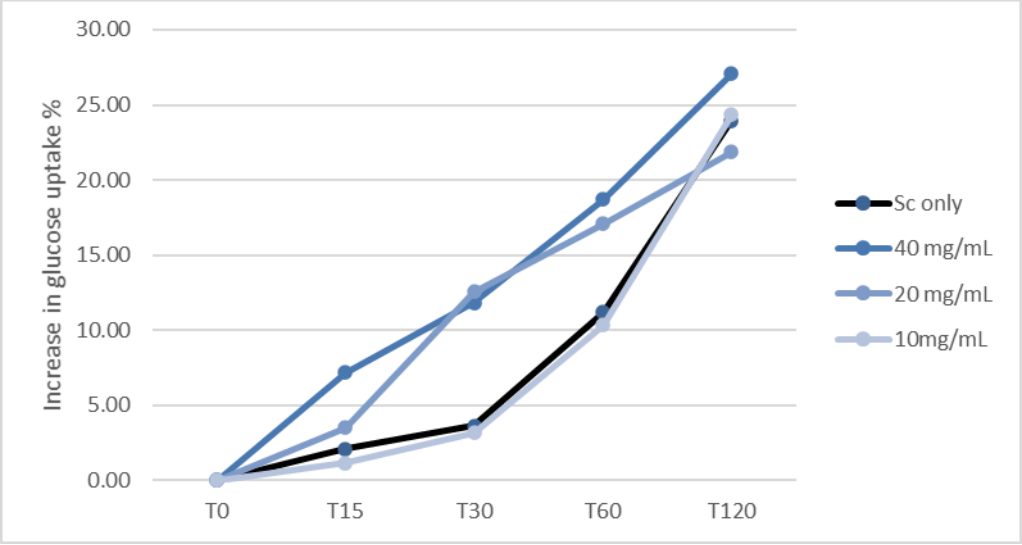


الوثيقة 24. النشاط المضاد للسكري في المختبر لمستخلص DPP باستخدام نموذج خلايا الخميرة، موضحًا نسبة امتصاص الجلوكوز بواسطة خلايا الخميرة التي تم معالجتها بتراكيز مختلفة من المستخلص، Sc = *Saccharomyces cerevisiaee* .

تشير نتائج الوثيقة (24) إلى أن مستخلص قشور الرمان (DPP) يعزز امتصاص الجلوكوز بواسطة خلايا الخميرة (*Saccharomyces cerevisiae*) بشكل متفاوت عند التراكيز مختلفة، حيث أظهر التركيز 40 mg/mL أعلى نسبة زيادة في امتصاص الجلوكوزتصل الى (67.43%) عند الزمن T120، مما يشير إلى فعالية واضحة في تعزيز الامتصاص خلال هذه الفترة الزمنية، و كانت الفعالية أقل عند التراكيز 20 mg/mL و10mg/mL حيث أظهرت زيادات طفيفة في امتصاص الجلوكوز.

تُعزى هذه الفعالية إلى وجود المركبات الفعالة الموجودة في القشور، مثل الأنثوسيانين، وحمض الغاليك، التي تُعرف بقدرتها على تحسين حساسية الأنسولين وتعزيز نشاط نواقل الجلوكوز في الخلايا، هذه المركبات تعمل على تنظيم مسارات الإشارات الخلوية المرتبطة بالأنسولين مثل مسار PI3K/Akt (He, Chen et al. 2019)، مما يزيد من نقل الجلوكوز إلى داخل الخلايا. تدعم هذه النتائج الدراسات السابقة التي أظهرت الفوائد المحتملة لمستخلصات قشور الرمان في تحسين إدارة مستويات السكر في الدم لدى مرضى السكري النوع الثاني (Xu, Tang et al. 2021).

- **مستخلص قشور البرتقال**



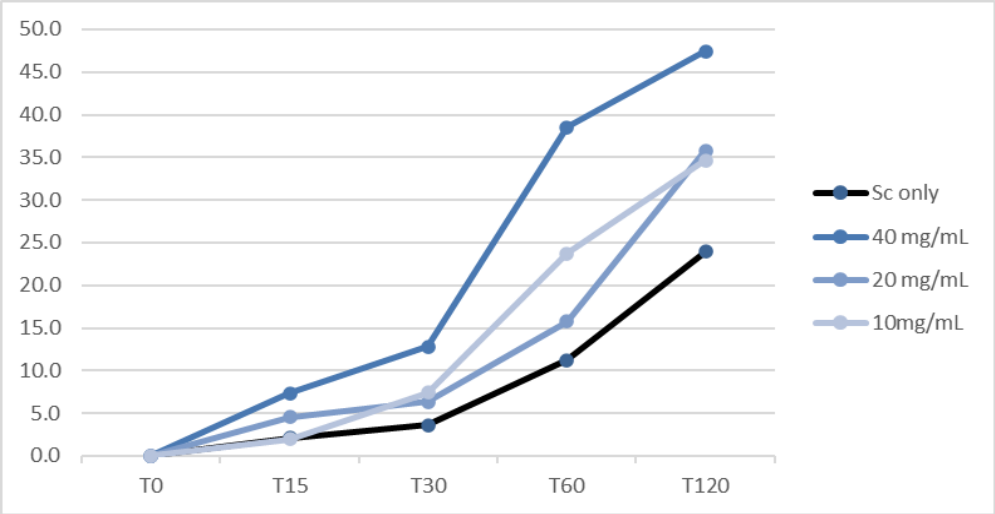
الوثيقة 25. النشاط المضاد للسكري في المختبر لمستخلص DOP باستخدام نموذج خلايا الخميرة، موضحًا نسبة امتصاص الجلوكوز بواسطة خلايا الخميرة التي تم معالجتها بتراكيز مختلفة من المستخلص، *Saccharomyces cerevisiae* = Sc .

تشير نتائج الوثيقة (25) إلى أن مستخلص قشور البرتقال (DOP) يعزز امتصاص الجلوكوز بواسطة خلايا الخميرة (*Saccharomyces cerevisiae*) بفعالية متفاوتة عند تراكيز مختلفة. أظهر التركيز 40 mg/mL أعلى

زيادة في امتصاص الجلوكوزتصل الى (27.09%) عند الزمن T120 ، مما يشير إلى فعالية ملحوظة بعد ساعتين من التجربة. التركيز 20 mg/mL أظهر زيادة كبيرة عند (12.58%) T30 و(17.10%) T60، بينما أظهر التركيز 10 mg/mL زيادة طفيفة مع أعلى نسبة تصل الى (24.36%) عند الزمن T120.

تعزى هذه الفعالية في قشور البرتقال الى وجود مركبات مثل الهيسبيريدين والنارينجينين التي تعمل على تعزيز نشاط نواقل الجلوكوز في الخلايا من خلال تنظيم مسارات الإشارات الخلوية مثل مسار AMPK و GLUT4 . تدعم هذه النتائج دراسات سابقة مثل (Peng, Jin et al. 2021) التي أظهرت أن الفلافونويدات تعزز نقل الجلوكوز إلى داخل الخلايا، ودراسة (Martín and Ramos 2021) التي أكدت أن مركبات مثل الكيرسيتين في مستخلص قشور الليمون يمكن أن يحسن التحكم في مستوى السكر في الدم عن طريق تقليل مقاومة الأنسولين.

- **مستخلص قشور الليمون**

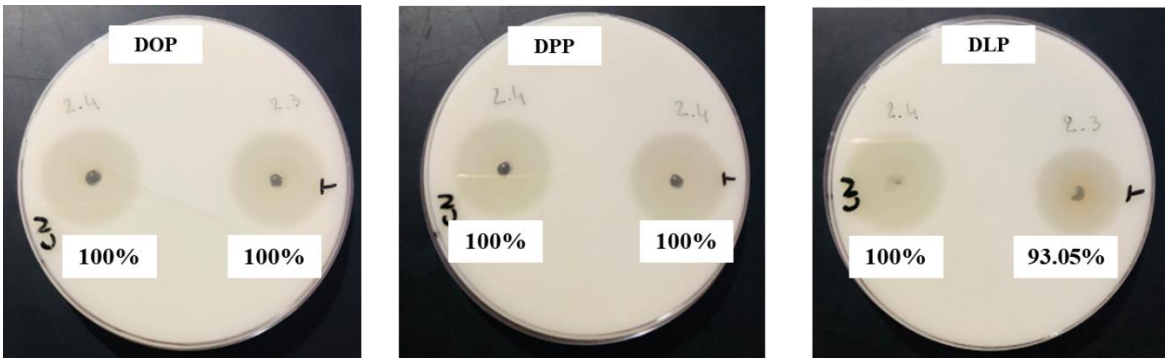


الوثيقة 26. النشاط المضاد للسكري في المختبر لمستخلص DLP باستخدام نموذج خلايا الخميرة، موضحًا نسبة امتصاص الجلوكوز بواسطة خلايا الخميرة التي تم معالجتها بتركيز مختلفة من المستخلص، Sc = *Saccharomyces cerevisiae* .

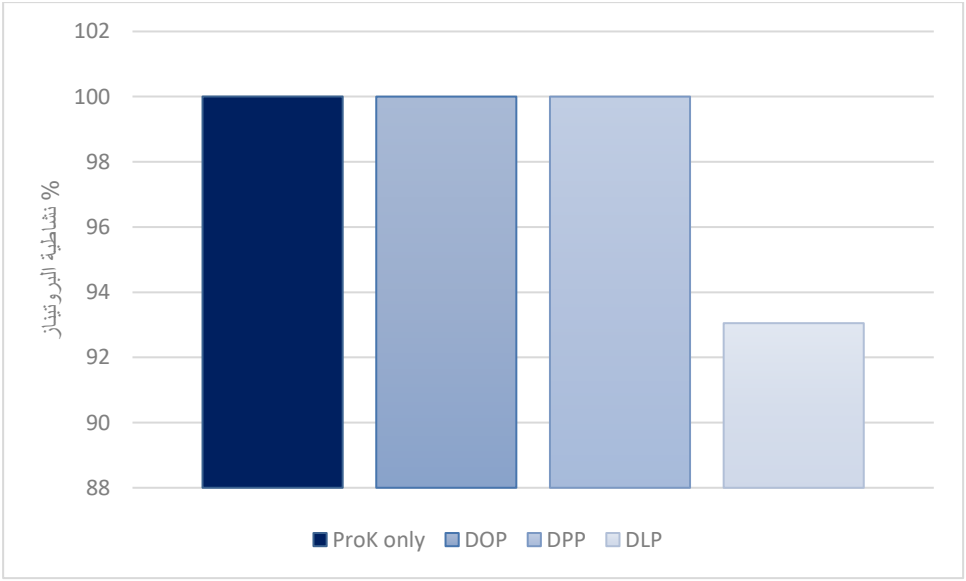
تشير نتائج الوثيقة (26) إلى أن مستخلص قشور الليمون (DLP) يعزز امتصاص الجلوكوز بواسطة خلايا الخميرة (*Saccharomyces cerevisiae*) بفعالية متفاوتة عند تراكيز مختلفة، حيث أظهر التركيز 40 mg/mL أعلى زيادة في امتصاص الجلوكوز تصل الى (47.4 %) عند الزمن T120، مما يشير إلى فعالية ملحوظة بعد ساعتين من التجربة. التركيز 20 mg/mL أظهر زيادة تدريجية ولكن أقل فعالية (35.8%)، بينما أظهر التركيز 10 mg/mL زيادات معتدلة مع أعلى نسبة وصلت فقط الى (34.7%) بعد ساعتين من التجربة.

تعزى هذه الفعالية إلى المركبات متعددة الفينول في قشور الليمون، مثل الهيسبيريدين والنارينجين، بالإضافة إلى فيتامين C والكيرسيتين هذه المركبات تعمل على تحسين حساسية الأنسولين وتقليل مستويات السكر في الدم من خلال تحسين نشاط الأنسولين وتقليل الإجهاد التأكسدي في الخلايا مما يعزز امتصاص الجلوكوز (MAZLOOM, ABDOLLAH et al. 2014, Ali, Gabbar et al. 2020).

II.7. اختبار تثبيط انزيم البروتيناز K



الوثيقة 27. نتائج دراسة تثبيط البروتيناز بستعمال اجار الكازيين.



الوثيقة 28. رسم بياني لنتائج دراسة تثبيط البروتيناز بستعمال اجار الكازيين.

تشير النتائج الوثيقة (27, 28) إلى أن مستخلصات DOP و DPP لم تؤثر على نشاط إنزيم البروتيناز K، حيث حافظت على نسبة نشاط تبلغ 100%، مما يعني أن هذه المستخلصات لم تسبب أي تثبيط لنشاط الإنزيم، بالمقابل مستخلص DLP أظهر تأثيرًا مثبطًا على نشاط إنزيم البروتيناز K، حيث انخفض نشاط الإنزيم إلى 93.05%.

تعكس هذه النتائج أن مستخلصات DOP و DPP لا تؤثر على نشاط إنزيم البروتيناز K، مما يشير إلى أن هذه المستخلصات لا تتداخل مع هذا الإنزيم ويمكن استخدامها دون التأثير على وظائفه، من ناحية أخرى مستخلص DLP يظهر تأثيرًا مثبطًا معتبرا على نشاط الإنزيم مما يشير إلى أن هناك مركبات في هذا المستخلص يمكن أن تتداخل مع نشاط بروتيناز K.

بروتيناز K هو إنزيم ينتمي إلى عائلة الإنزيمات السيريينية البروتينية (Betzel, Gourinath et al. 2001)، والتي تشمل أيضًا إنزيم الإيلاستاز (Fujii, Fukano et al. 2020). بناءً على الخصائص والبنية المشتركة للموقع الفعال في هذه الإنزيمات، فإن قدرة مستخلص قشور الليمون على تثبيط نشاط بروتيناز K تشير إلى إمكانيته في تثبيط إنزيمات مشابهة في البنية، مثل الإيلاستاز البشري الموجود في الأنسجة الضامة، الذي يلعب دورًا هامًا في تحلل الإيلاستين (Werb, Banda et al. 1982) وهو بروتين حيوي يمنح البشرة مرونتها وقدرتها على التمدد. مع تقدم العمر يزداد نشاط الإيلاستاز، مما يؤدي في تدهور مرونة الجلد وظهور التجاعيد، كما تتفاقم هذه العملية بفعل العوامل الخارجية مثل التعرض للأشعة فوق البنفسجية (Imokawa and Ishida 2015) .

النتائج تعزز فكرة استخدام مستخلصات DOP و DPP في التطبيقات التي تتطلب نشاط البروتيناز K دون تأثيرات جانبية ، في المقابل مستخلص DLP قد يحتوي على مركبات فعالة يمكن أن تثبط إنزيمات الإيلاستاز بشكل معتبر مما يساعد في الحفاظ على مرونة البشرة وشبابها، ويؤخر ظهور علامات الشيخوخة.

الخاتمـــــــة

تشير النتائج إلى أن مستخلصات قشور الرمان (DPP)، قشور البرتقال (DOP)، وقشور الليمون (DLP) تمتلك فوائد بيولوجية كبيرة نظراً لاحتوائها على مركبات فينولية وفلافونويدات فعالة. أظهرت التحاليل أن مستخلص DPP يتمتع بأعلى فعالية مضادة للأكسدة، متفوقاً على DOP وDLP، مما يعزز إمكانيته في التطبيقات الطبية و الصناعية.

من ناحية أخرى، أظهرت الاختبارات المضادة للبكتيريا أن جميع المستخلصات المدروسة يتمتعون بفعالية ضد البكتيريا موجبة الغرام *Staphylococcus aureus*، في حين كان تأثيرهم أقل على البكتيريا سالبة الغرام *Escherichia coli*. هذه الخصائص تجعل هذه المستخلصات مفيدة في تطوير منتجات مضادة للبكتيريا يمكن استخدامها في الرعاية الصحية والمستحضرات التجميلية.

أما في مجال تنظيم السكري، فقد أظهرت النتائج أن مستخلصات DPP وDOP وDLP يمكن أن تعزز من امتصاص الجلوكوز بواسطة خلايا الخميرة، مع تفوق واضح لمستخلص قشور الرمان بحيث اظهر نسبة تعزيز كبيرة لامتصاص الغلوكوز مما يشير إلى إمكانياته في خفض مستويات السكر في الدم لدى مرضى السكري من النوع الثاني. هذا يعزز استخدام هذه المستخلصات كدعائم طبيعية للمساعدة في تنظيم مستويات الجلوكوز في الدم مستقبلا.

بالإضافة إلى ذلك، أظهرت دراسة تأثير المستخلصات على إنزيم بروتيناز K أن DOP وDPP لم يؤثرا على نشاط الإنزيم، بينما أظهر DLP تأثيراً مثبطاً لهذا الانزيم مما يعزز استخدام DOP وDPP في التطبيقات التي تتطلب نشاط إنزيمي دون تأثيرات جانبية، بينما يستدعي DLP المزيد من البحث لفهم تركيبته وتأثيره المثبط نسبيا على نشاط هذا الانزيم الهاضم.

في المجمل، تعكس هذه النتائج الفوائد البيولوجية والصناعية و الاقتصادية لمستخلصات قشور الفواكه كالمستحضرات التجميلية والمكملات الغذائية و .... ، مما يفتح الباب أمام تطوير مستحضرات طبيعية آمنة وفعالة اعتمادا على مركبات هذه المخلفات النباتية.

المـراجع

المـــراجع

Abdel-Sattar, M., R. S. Al-Obeed, A. M. Aboukarima, K. Górnik and D. H. Eshra (2023). "Improvement of the Physico-Chemical Properties, Nutritional, and Antioxidant Compounds of Pomegranate Fruit cv.'Wonderful'Using Integrated Fertilization." Horticulturae **9**(2): 195.
Abdelazem, R. E., H. Hefnawy and G. A. El-Shorbagy (2021). "Chemical composition and phytochemical screening of Citrus sinensis (orange) peels." Zagazig Journal of Agricultural Research **48**(3): 793-804.
Abou Baker, D. H., E. A. Ibrahim and Z. Salama (2021). "Citrus peels as a source of bioactive compounds with industrial and therapeutic applications." Phenolic Compounds—Chemistry, Synthesis, Diversity, Non-Conventional Industrial, Pharmaceutical and Therapeutic Applications: 1-13.
Ain, H. B. U., T. Tufail, S. Bashir, N. Ijaz, M. Hussain, A. Ikram, M. A. Farooq and S. A. Saewan (2023). "Nutritional importance and industrial uses of pomegranate peel: A critical review." Food Science & Nutrition **11**(6): 2589-2598.
Al-Qassabi, J. S. A., A. M. Weli and M. A. Hossain (2018). "Comparison of total phenols content and antioxidant potential of peel extracts of local and imported lemons samples." Sustainable Chemistry and Pharmacy **8**: 71-75.
Al-Qudah, T. S., U. Zahra, R. Rehman, M. I. Majeed, S. Sadique, S. Nisar, R. Tahtamouni and R. W. Tahtamouni (2018). "Lemon as a source of functional and medicinal ingredient: A review." Int. J. Chem. Biochem. Sci **14**: 55-61.
Ali, A. M., M. A. Gabbar, S. M. Abdel-Twab, E. M. Fahmy, H. Ebaid, I. M. Alhazza and O. M. Ahmed (2020). "Antidiabetic potency, antioxidant effects, and mode of actions of Citrus reticulata fruit Peel hydroethanolic extract, hesperidin, and quercetin in nicotinamide/streptozotocin-induced Wistar diabetic rats." Oxidative medicine and cellular longevity **2020**(1): 1730492.
Ali, H., A. Jahan, S. Samrana, A. Ali, S. Ali, N. Kabir, A. Ali, R. Ullah, R. A. Mothana and B. N. Murtaza (2021). "Hepatoprotective potential of pomegranate in curbing the incidence of acute liver injury by alleviating oxidative stress and inflammatory response." Frontiers in Pharmacology **12**: 694607.
Ali, J., B. Das and T. Saikia (2017). "Antimicrobial activity of lemon peel (Citrus limon) extract." International Journal of Current Pharmaceutical Research **9**(4): 79-82.
Álvarez-Martínez, F. J., E. Barrajón-Catalán, J. A. Encinar, J. C. Rodríguez-Díaz and V. Micol (2020). "Antimicrobial capacity of plant polyphenols against gram-positive bacteria: A comprehensive review." Current medicinal chemistry **27**(15): 2576-2606.
Aschoff, J. K., S. Kaufmann, O. Kalkan, S. Neidhart, R. Carle and R. M. Schweiggert (2015). "In vitro bioaccessibility of carotenoids, flavonoids, and vitamin C from differently processed oranges and orange juices [Citrus sinensis (L.) Osbeck]." Journal of agricultural and food chemistry **63**(2): 578-587.
Babbar, N., H. S. Oberoi, S. K. Sandhu and V. K. Bhargav (2014). "Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants." Journal of food science and technology **51**: 2568-2575.
Bağdatlı, İ. and R. Khalily (2022). "Effects of different solvent extractions on the total phenolic content and antioxidant activity of lemon and orange peels." Eurasian Journal of Food Science and Technology **6**(1): 23-28.
Beretta, G., P. Granata, M. Ferrero, M. Orioli and R. M. Facino (2005). "Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics." Analytica Chimica Acta **533**(2): 185-191.
Betzel, C., S. Gourinath, P. Kumar, P. Kaur, M. Perbandt, S. Eschenburg and T. P. Singh (2001). "Structure of a serine protease proteinase K from Tritirachium album limber at 0.98 Å resolution." Biochemistry **40**(10): 3080-3088.
Blancke, R. (2016). Tropical fruits and other edible plants of the world: An illustrated guide, Cornell University Press.

Bonev, B., J. Hooper and J. Parisot (2008). "Principles of assessing bacterial susceptibility to antibiotics using the agar diffusion method." Journal of antimicrobial chemotherapy **61**(6): 1295-1301.
Calabrò, P., E. Paone and D. Komilis (2018). "Strategies for the sustainable management of orange peel waste through anaerobic digestion." Journal of environmental management **212**: 462-468.
Casquete, R., S. M. Castro, A. Martín, S. Ruiz-Moyano, J. A. Saraiva, M. G. Córdoba and P. Teixeira (2015). "Evaluation of the effect of high pressure on total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of citrus peels." Innovative Food Science & Emerging Technologies **31**: 37-44.
Cetin-Karaca, H. and M. C. Newman (2015). "Antimicrobial efficacy of natural phenolic compounds against gram positive foodborne pathogens." Journal of Food Research **4**(6): 14.
Chau, C.-F., Y.-L. Huang and C.-Y. Lin (2004). "Investigation of the cholesterol-lowering action of insoluble fibre derived from the peel of Citrus sinensis L. cv. Liucheng." Food Chemistry **87**(3): 361-366.
Chen, X.-M., A. R. Tait and D. D. Kitts (2017). "Flavonoid composition of orange peel and its association with antioxidant and anti-inflammatory activities." Food chemistry **218**: 15-21.
Cheng, Z., J. Moore and L. Yu (2006). "High-throughput relative DPPH radical scavenging capacity assay." Journal of agricultural and food chemistry **54**(20): 7429-7436.
Chidambara Murthy, K. N., G. K. Jayaprakasha and R. P. Singh (2002). "Studies on antioxidant activity of pomegranate (Punica granatum) peel extract using in vivo models." Journal of Agricultural and Food Chemistry **50**(17): 4791-4795.
da Silva, J. A. T., T. S. Rana, D. Narzary, N. Verma, D. T. Meshram and S. A. Ranade (2013). "Pomegranate biology and biotechnology: A review." Scientia Horticulturae **160**: 85-107.
Derakhshan, Z., M. Ferrante, M. Tadi, F. Ansari, A. Heydari, M. S. Hosseini, G. O. Conti and E. K. Sadrabad (2018). "Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds." Food and chemical toxicology **114**: 108-111.
Diankov, S., M. Karsheva and I. Hinkov (2011). "Extraction of natural antioxidants from lemon peels. Kinetics and antioxidant capacity." Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy **46**(3): 315-319.
El-Kady, A. M., I. A. Abdel-Rahman, S. S. Fouad, K. S. Allemailem, T. Istivan, S. F. Ahmed, A. S. Hasan, H. A. Osman and H. A. Elshabrawy (2021). "Pomegranate peel extract is a potential alternative therapeutic for giardiasis." Antibiotics **10**(6): 705.
Evans, W. C. (2009). Trease and Evans' pharmacognosy, Elsevier Health Sciences.
Feng, C.-H., C. Otani and Y. Ogawa (2022). "Innovatively identifying naringin and hesperidin by using terahertz spectroscopy and evaluating flavonoids extracts from waste orange peels by coupling with multivariate analysis." Food Control **137**: 108897.
Fidalgo, A., R. Ciriminna, D. Carnaroglio, A. Tamburino, G. Cravotto, G. Grillo, L. M. Ilharco and M. Pagliaro (2016). "Eco-friendly extraction of pectin and essential oils from orange and lemon peels." ACS Sustainable Chemistry & Engineering **4**(4): 2243-2251.
Fujii, T., K. Fukano, K. Hirano, A. Mimura, M. Terauchi, S.-i. Etoh and A. Iida (2020). "A new serine protease family with elastase activity is produced by Streptomyces bacteria." Microbiology **166**(3): 253-261.
Gan, Z., R. R. Marquardt and H. Xiao (1999). "Protease and protease inhibitor assays using biotinylated casein coated on a solid phase." Analytical biochemistry **268**(1): 151-156.
Gavahian, M., Y. H. Chu and A. Mousavi Khaneghah (2019). "Recent advances in orange oil extraction: An opportunity for the valorisation of orange peel waste a review." International Journal of Food Science & Technology **54**(4): 925-932.
Geraci, A., V. Di Stefano, E. Di Martino, D. Schillaci and R. Schicchi (2017). "Essential oil components of orange peels and antimicrobial activity." Natural product research **31**(6): 653-659.
Görgüç, A., E. Gençdağ and F. M. Yılmaz (2022). Industrial pomegranate wastes and their functional benefits in novel food formulations. Mediterranean fruits bio-wastes: Chemistry, functionality and technological applications, Springer**:** 721-738.

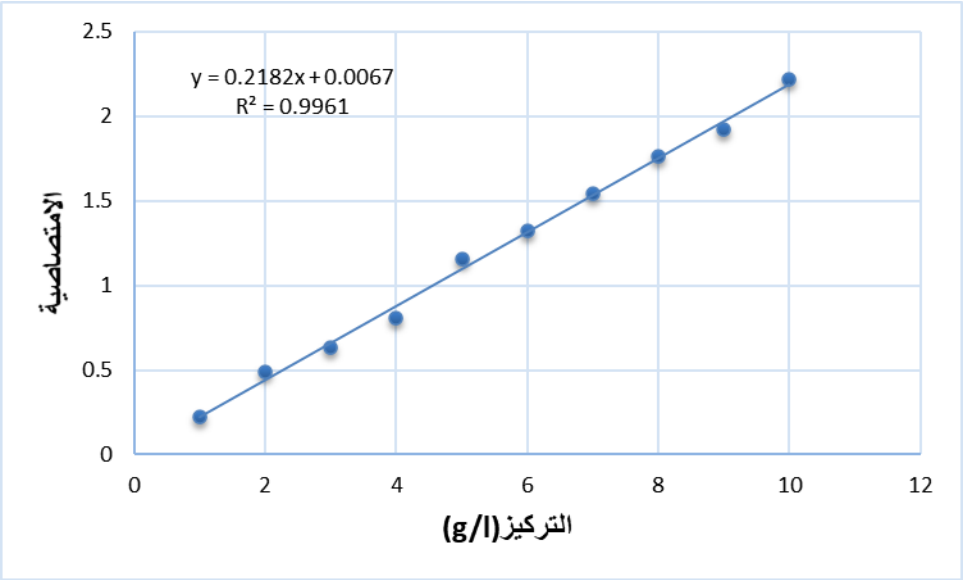
Gosslau, A., K. Y. Chen, C.-T. Ho and S. Li (2014). "Anti-inflammatory effects of characterized orange peel extracts enriched with bioactive polymethoxyflavones." Food Science and Human Wellness **3**(1): 26-35.
Harfouch, R. M., H. Janoudi, W. Muhammad, A. Hammami and F. Chouman (2019). "In Vitro Antibacterial Activity of Citrus limon Peel Extracts against Several Bacterial Strains." Journal of Chemical and Pharmaceutical Research **11**(7): 48-51.
He, J.-H., L.-X. Chen and H. Li (2019). "Progress in the discovery of naturally occurring anti-diabetic drugs and in the identification of their molecular targets." Fitoterapia **134**: 270-289.
Hegazy, A. and M. Ibrahium (2012). "Antioxidant activities of orange peel extracts." World applied sciences journal **18**(5): 684-688.
Hosseini, S. M., S. H. Hoseinifar, M. Mazandarani, H. Paknejad, H. Van Doan and E. R. El-Haroun (2020). "The potential benefits of orange peels derived pectin on serum and skin mucus immune parameters, antioxidant defence and growth performance in common carp (Cyprinus carpio)." Fish & shellfish immunology **103**: 17-22.
Hussain, S., I. Jõudu and R. Bhat (2020). "Dietary fiber from underutilized plant resources—A positive approach for valorization of fruit and vegetable wastes." Sustainability **12**(13): 5401.
Huyut, Z., Ş. Beydemir and İ. Gülçin (2017). "Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds." Biochemistry research international **2017**(1): 7616791.
Imbesi, A. and A. De Pasquale (2002). Citrus species and their essential oils in traditional medicine. Citrus, CRC Press**:** 591-615.
Imokawa, G. and K. Ishida (2015). "Biological mechanisms underlying the ultraviolet radiation-induced formation of skin wrinkling and sagging I: Reduced skin elasticity, highly associated with enhanced dermal elastase activity, triggers wrinkling and sagging." International journal of molecular sciences **16**(4): 7753-7775.
Ismail, T., P. Sestili and S. Akhtar (2012). "Pomegranate peel and fruit extracts: a review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects." Journal of ethnopharmacology **143 2**: 397-405.
Ismail, T., P. Sestili and S. Akhtar (2012). "Pomegranate peel and fruit extracts: a review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects." Journal of ethnopharmacology **143**(2): 397-405.
Jiang, H., W. Zhang, Y. Xu, L. Chen, J. Cao and W. Jiang (2022). "An advance on nutritional profile, phytochemical profile, nutraceutical properties, and potential industrial applications of lemon peels: A comprehensive review." Trends in Food Science & Technology **124**: 219-236.
Kalaycıoğlu, Z. and F. B. Erim (2017). "Total phenolic contents, antioxidant activities, and bioactive ingredients of juices from pomegranate cultivars worldwide." Food chemistry **221**: 496-507.
Karim, S., H. M. Alkreathy, A. Ahmad and M. I. Khan (2021). "Effects of methanolic extract based-gel from Saudi pomegranate peels with enhanced healing potential on excision wounds in diabetic rats." Frontiers in pharmacology **12**: 704503.
Karim, S., M. I. Khan and A. Ahmad (2023). "A mechanistic insight into cytokines and growth factors in saudi pomegranate peel extract (Punica granatum L.) mediated diabetic wound healing in alloxan induced diabetic rats." Journal of King Saud University-Science **35**(10): 102952.
Khalid, S., L. Yu, M. Feng, L. Meng, Y. Bai, A. Ali, H. Liu and L. Chen (2018). "Development and characterization of biodegradable antimicrobial packaging films based on polycaprolactone, starch and pomegranate rind hybrids." Food Packaging and Shelf Life **18**: 71-79.
Kiehlbauch, J. A., G. E. Hannett, M. Salfinger, W. Archinal, C. Monserrat and C. Carlyn (2000). "Use of the National Committee for Clinical Laboratory Standards guidelines for disk diffusion susceptibility testing in New York state laboratories." Journal of clinical microbiology **38**(9): 3341-3348.
Ko, K., Y. Dadmohammadi and A. Abbaspourrad (2021). "Nutritional and bioactive components of pomegranate waste used in food and cosmetic applications: A review." Foods **10**(3): 657.
Li, Y., C. Guo, J. Yang, J. Wei, J. Xu and S. Cheng (2006). "Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract." Food chemistry **96**(2): 254-260.
Lianda, R. L., L. D. O. Sant'Ana, A. Echevarria and R. N. Castro (2012). "Antioxidant activity and phenolic composition of Brazilian honeys and their extracts." Journal of the Brazilian Chemical Society **23**: 618-627.

Lim, Y. Y., T. T. Lim and J. J. Tee (2007). "Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study." Food chemistry **103**(3): 1003-1008.
M'hiri, N., I. Ioannou, M. Ghoul and N. Mihoubi Boudhrioua (2017). "Phytochemical characteristics of citrus peel and effect of conventional and nonconventional processing on phenolic compounds: A review." Food Reviews International **33**(6): 587-619.
Magangana, T. P., N. P. Makunga, O. A. Fawole and U. L. Opara (2020). "Processing factors affecting the phytochemical and nutritional properties of pomegranate (Punica granatum L.) peel waste: A review." Molecules **25**(20): 4690.
Malleshappa, P., R. C. Kumaran, K. Venkatarangaiah and S. Parveen (2018). "Peels of citrus fruits: A potential source of anti-inflammatory and anti-nociceptive agents." Pharmacognosy Journal **10**(6s).
Mamede, A. M. G. N., C. C. de Souza Coelho, O. Freitas-Silva, H. T. G. Barboza and A. G. Soares (2020). Lemon. Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables, Elsevier**:** 377-392.
Maqbool, H., S. Visnuvinayagam, A. Zynudheen, M. Safeena and K. Sathish Kumar (2020). "Antibacterial activity of beetroot peel and whole radish extract by modified well diffusion assay."
Marra, F., B. Petrovicova, F. Canino, A. Maffia, C. Mallamaci and A. Muscolo (2022). "Pomegranate wastes are rich in bioactive compounds with potential benefit on human health." Molecules **27**(17): 5555.
Martín, M. Á. and S. Ramos (2021). "Dietary flavonoids and insulin signaling in diabetes and obesity." Cells **10**(6): 1474.
Mashkor, I. and A. Muhson (2014). "Total phenol, total flavonoids and antioxidant activity of pomegranate peel." Int J ChemTech Res **6**(11): 4656-4661.
MAZLOOM, Z., Z. S. M. ABDOLLAH, M. H. Dabbaghmanesh and A. Rezaianzadeh (2014). "The effect of quercetin supplementation on oxidative stress, glycemic control, lipid profile and insulin resistance in type 2 diabetes: a randomized clinical trial."
Mhgub, I., H. Hefnawy, A. Gomaa and H. Badr (2018). "CHEMICAL COMPOSITION, ANTIOXIDANT ACTIVITY AND STRUCTURE OF PECTIN AND EXTRACTS FROM LEMON AND ORANGE PEELS." Zagazig Journal of Agricultural Research **45**: 1395-1404.
Miera, B. S. d., R. Cañadas, M. González-Miquel and E. J. González (2023). "Recovery of Phenolic Compounds from Orange Peel Waste by Conventional and Assisted Extraction Techniques Using Sustainable Solvents." FBE **15**(4).
Miguel, M. G., M. A. Neves and M. D. Antunes (2010). "Pomegranate (Punica granatum L.): A medicinal plant with myriad biological properties-A short review." Journal of Medicinal Plants Research **4**(25): 2836-2847.
Mirtaghi, S. M., P. T. Nejad, M. Masoumeh Mazandarani, F. Livani and H. Bagheri (2016). "Evaluation of Antibacterial Activity of Urtica dioica L. Leaf Ethanolic Extract Using Agar Well Diffusion and Disc Diffusion Methods." Medical Laboratory Journal **10**(5).
Mphahlele, R. R., O. A. Fawole, N. P. Makunga and U. L. Opara (2016). "Effect of drying on the bioactive compounds, antioxidant, antibacterial and antityrosinase activities of pomegranate peel." BMC complementary and alternative medicine **16**: 1-12.
Mushtaq, M., A. Gani, A. Gani, H. A. Punoo and F. Masoodi (2018). "Use of pomegranate peel extract incorporated zein film with improved properties for prolonged shelf life of fresh Himalayan cheese (Kalari/kradi)." Innovative Food Science & Emerging Technologies **48**: 25-32.
Mutahar S, S., A.-O. Mutlag M and A.-z. Najeeb S (2012). "Antioxidant activity of pomegranate (Punica granatum L.) fruit peels." Food and nutrition sciences **2012**.
Nigro, L. and F. Spagnoli (2018). "Pomegranate (Punica granatum L.) from Motya and its deepest oriental roots." Vicino Oriente(XXII).
Núñez-Gómez, V., M. San Mateo, R. González-Barrio and M. J. Periago (2024). "Chemical Composition, Functional and Antioxidant Properties of Dietary Fibre Extracted from Lemon Peel after Enzymatic Treatment." Molecules **29**(1): 269.

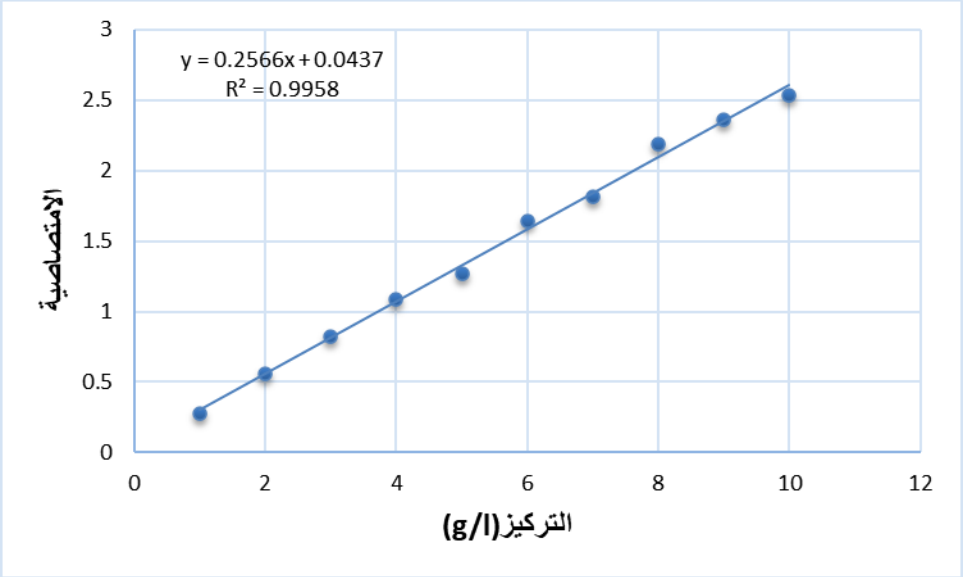
Oikeh, E. (2014). "Phenolic content and in vitro antioxidant activities of sweet orange (Citrus sinensis L.) fruit wastes." Archives of Basic and Applied Medicine **2**(2): 119-126.
Özcan, M. M., K. Ghafoor, F. Al Juhaimi, N. Uslu, E. E. Babiker, I. A. Mohamed Ahmed and I. A. Almusallam (2021). "Influence of drying techniques on bioactive properties, phenolic compounds and fatty acid compositions of dried lemon and orange peel powders." Journal of food science and technology **58**: 147-158.
Paramita, J. and A. S. Pradhan (2024). "Medicinal and Health Benefits of Lemon." Journal of Science & Technology (JST) **6**(1): 16-20.
Park, J.-H., M. Lee and E. Park (2014). "Antioxidant activity of orange flesh and peel extracted with various solvents." Preventive Nutrition and Food Science **19**(4): 291.
Peng, P., J. Jin, G. Zou, Y. Sui, Y. Han, D. Zhao and L. Liu (2021). "Hesperidin prevents hyperglycemia in diabetic rats by activating the insulin receptor pathway." Experimental and Therapeutic Medicine **21**(1): 1-1.
Polat Yemis, G., S. Bach and P. Delaquis (2019). "Antibacterial activity of polyphenol-rich pomegranate peel extract against Cronobacter sakazakii." International journal of food properties **22**(1): 985-993.
Prieto, P., M. Pineda and M. Aguilar (1999). "Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E." Analytical biochemistry **269**(2): 337-341.
Ramadan, H., B. Min, A. K. Tiwari, G. Reddy, A. Adesiyun, A. Hinton and W. Abdela (2015). "Antibacterial activity of Pomegranate, Orange and Lemon peel extracts against food-borne pathogens and spoilage bacteria In vitro and on poultry skin." Int. J. Poult. Sci **14**(4): 229-239.
Rebiai, A. and T. Lanez (2012). "Chemical composition and antioxidant activity of Apis mellifera bee pollen from northwest Algeria." Journal of Fundamental and Applied Sciences **4**(2): 155-163.
Rebiai, A., T. Lanez and M. Belfar (2011). "In vitro evaluation of antioxidant capacity of algerian propolis by spectrophotometrical and electrochemical assays." International Journal of pharmacology **7**(1): 113-118.
Romelle, F. D., A. Rani and R. S. Manohar (2016). "Chemical composition of some selected fruit peels." European Journal of Food Science and Technology **4**(4): 12-21.
Russo, M., C. Fanali, G. Tripodo, P. Dugo, R. Muleo, L. Dugo, L. De Gara and L. Mondello (2018). "Analysis of phenolic compounds in different parts of pomegranate (Punica granatum) fruit by HPLC-PDA-ESI/MS and evaluation of their antioxidant activity: Application to different Italian varieties." Analytical and bioanalytical chemistry **410**: 3507-3520.
Sharma, R., R. Nanda and N. Bhagat (2024). Citrus Flavours. Citrus Fruits and Juice: Processing and Quality Profiling, Springer**:** 275-299.
Siddiqui, S. A., S. Singh and G. A. Nayik (2024). "Bioactive compounds from pomegranate peels-Biological properties, structure–function relationships, health benefits and food applications–A comprehensive review." Journal of Functional Foods **116**: 106132.
Singh, B., J. P. Singh, A. Kaur and N. Singh (2019). "Antimicrobial potential of pomegranate peel: A review." International Journal of Food Science & Technology **54**(4): 959-965.
Singh, B., J. P. Singh, A. Kaur and N. Singh (2020). "Phenolic composition, antioxidant potential and health benefits of citrus peel." Food Research International **132**: 109114.
Singh, N., J. Jaiswal, P. Tiwari and B. Sharma (2020). "Phytochemicals from citrus limon juice as potential antibacterial agents." The Open Bioactive Compounds Journal **8**(1).
Suman, M. and P. Bhatnagar (2019). "A review on proactive pomegranate one of the healthiest foods." International Journal of Chemical Studies **7**(3): 189-194.
SUN, Y.-q., T. Xin, X.-m. MEN, Z.-w. XU and W. Tian (2017). "In vitro and in vivo antioxidant activities of three major polyphenolic compounds in pomegranate peel: Ellagic acid, punicalin, and punicalagin." Journal of integrative agriculture **16**(8): 1808-1818.
Tahir, Z., M. I. Khan, U. Ashraf, I. R. D. N. Adan and U. Mubarik (2023). "Industrial application of orange peel waste; a review."

Terpstra, A., J. Lapre, H. De Vries and A. Beynen (2002). "The hypocholesterolemic effect of lemon peels, lemon pectin, and the waste stream material of lemon peels in hybrid F 1 B hamsters." European journal of nutrition **41**: 19-26.
ur Rehman, M. F., A. I. Batool, R. Qadir and M. Aslam (2021). Hesperidin and naringenin. A centum of valuable plant bioactives, Elsevier**:** 403-444.
Vaishali, M. and R. Geetha (2018). "Antibacterial activity of Orange peel oil on Streptococcus mutans and Enterococcus-An In-vitro study." Research Journal of Pharmacy and Technology **11**(2): 513-514.
Werb, Z., M. J. Banda, J. H. Mckerrow and R. A. Sandhaus (1982). "Elastases and elastin degradation." Journal of Investigative Dermatology **79**(1): 154-159.
Xu, Y., G. Tang, C. Zhang, N. Wang and Y. Feng (2021). "Gallic acid and diabetes mellitus: its association with oxidative stress." Molecules **26**(23): 7115.
Yousof, S. M., R. Atta, I. A. Khalil, M. A. Zayed and A. Seddek (2022). Citrus sinensis (Sweet oranges) wastes: The orange wealth. Mediterranean Fruits Bio-wastes: Chemistry, Functionality and Technological Applications, Springer**:** 261-285.

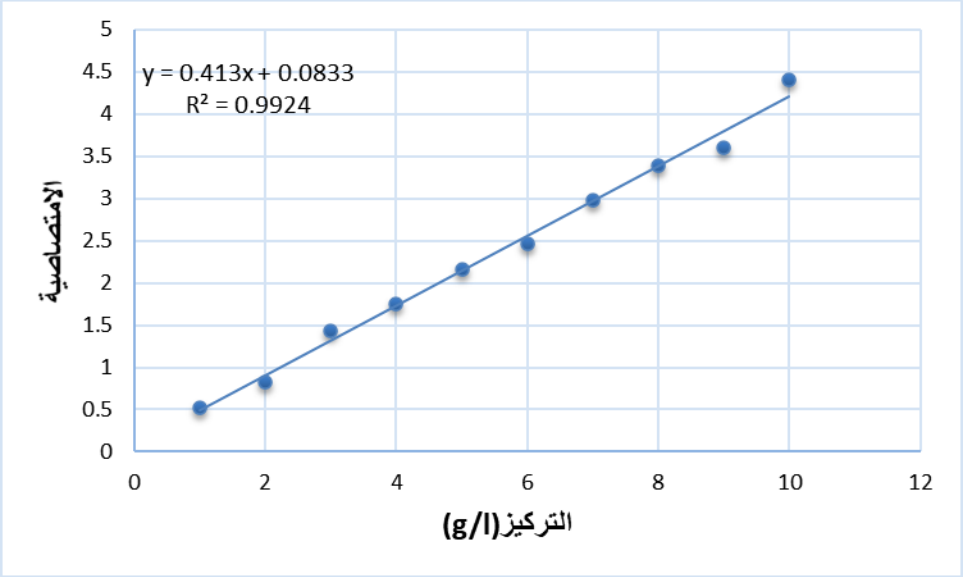
الملـــــحق



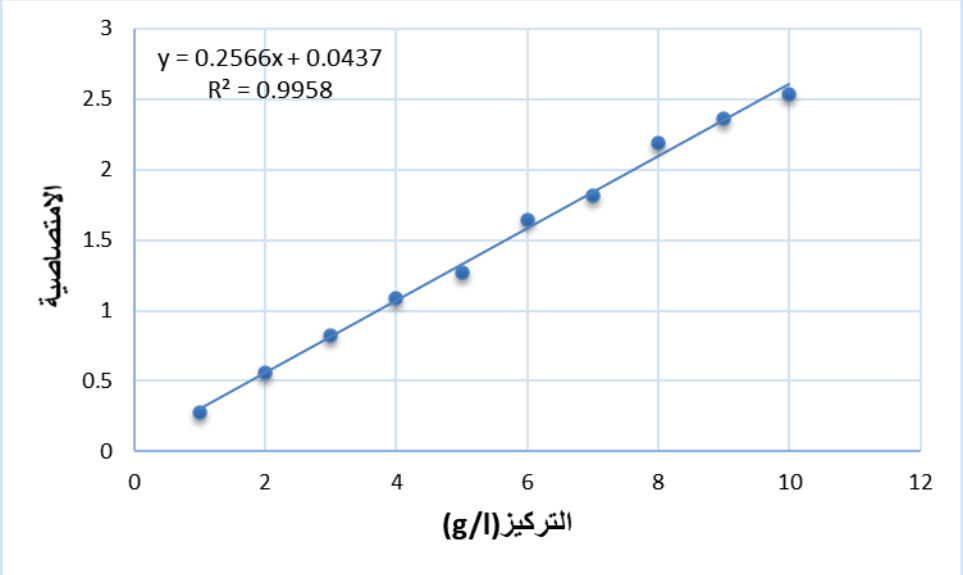
الوثيقة أ . منحنى الامتصاصية بدلالة التركيز لحساب المكافئ الغرامي لعديد الفينول لمستخلص DOP.



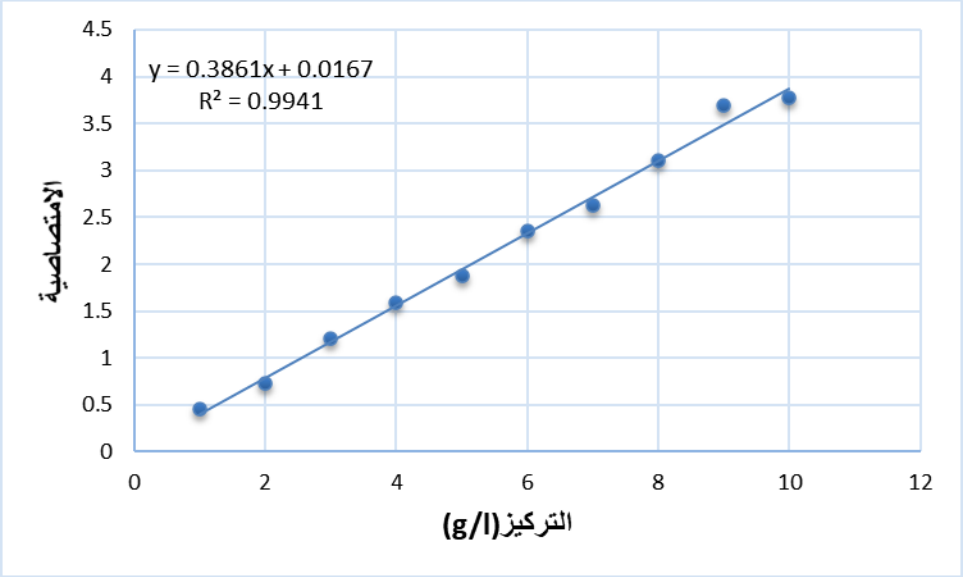
الوثيقة ب . منحنى الامتصاصية بدلالة التركيز لحساب المكافئ الغرامي لعديد الفينول لمستخلص DLP.



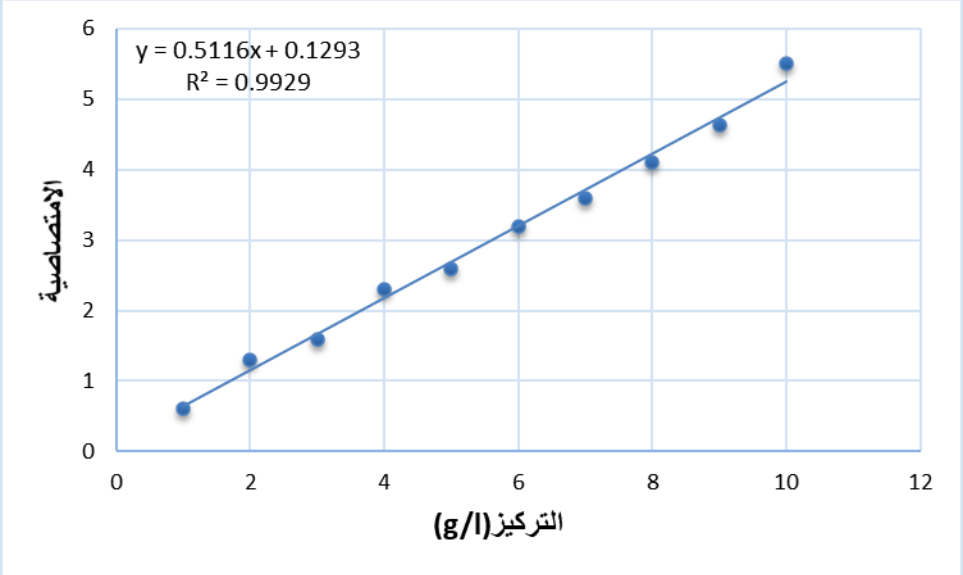
الوثيقة جـ . منحنى الامتصاصية بدلالة التركيز لحساب المكافئ الغرامي لعديد الفينول لمستخلص DPP.



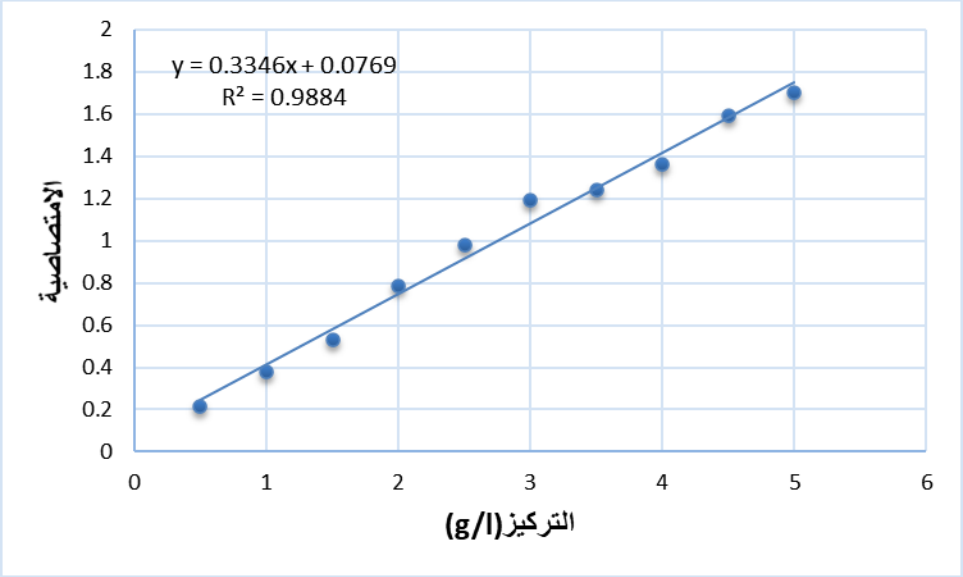
الوثيقة د . منحنى الامتصاصية بدلالة التركيز لحساب المكافئ الغرامي للفلافونويدات لمستخلص DOP.



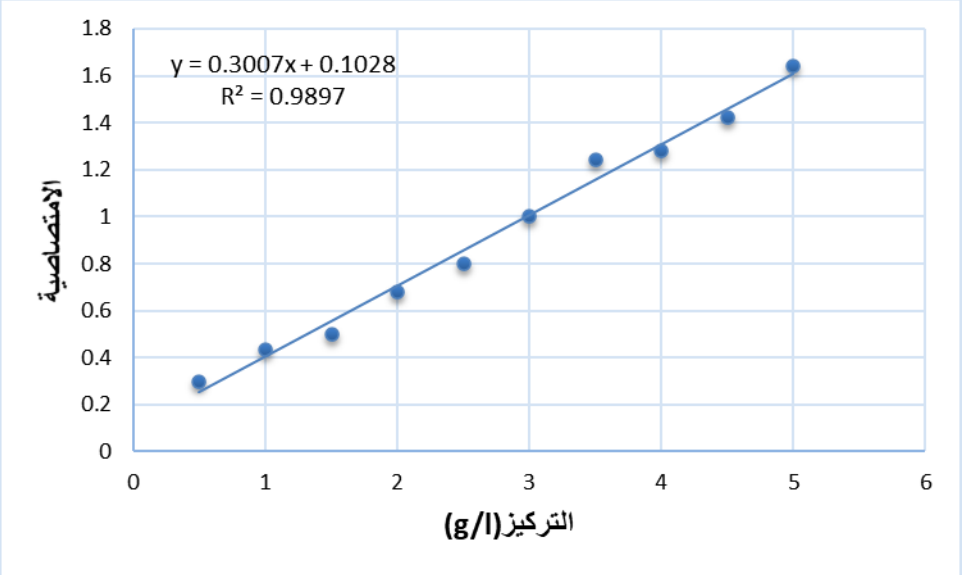
الوثيقة هـ . منحنى الامتصاصية بدلالة التركيز لحساب المكافئ الغرامي للفلافونويدات لمستخلص DLP.



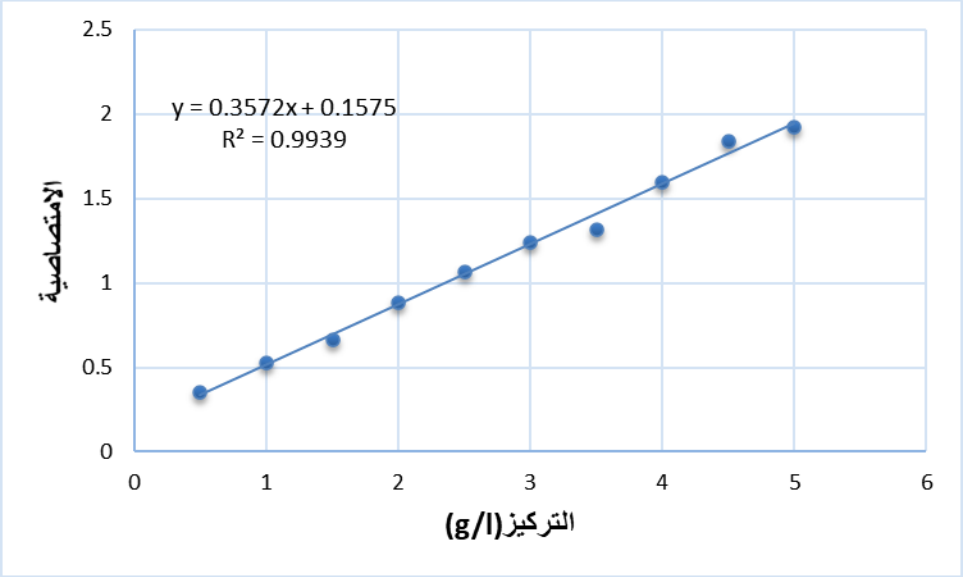
الوثيقة و . منحنى الامتصاصية بدلالة التركيز لحساب المكافئ الغرامي للفلافونويدات لمستخلص DPP.



الوثيقة ز . منحنى الامتصاصية بدلالة التركيز لحساب المكافئ الغرامي للقدرة الاجمالية المرجعة لمستخلص DOP.



الوثيقة حـ . منحنى الامتصاصية بدلالة التركيز لحساب المكافئ الغرامي للقدرة الاجمالية المرجعة لمستخلص DLP.



الوثيقة ط. منحنى الامتصاصية بدلالة التركيز لحساب المكافئ الغرامي للقدرة الاجمالية المرجعة لمستخلص DPP.

الجدول أ. جدول قيم الامتصاص لمستخلص DOP و نسبة تثبيط DPPH عند كل تركيز.

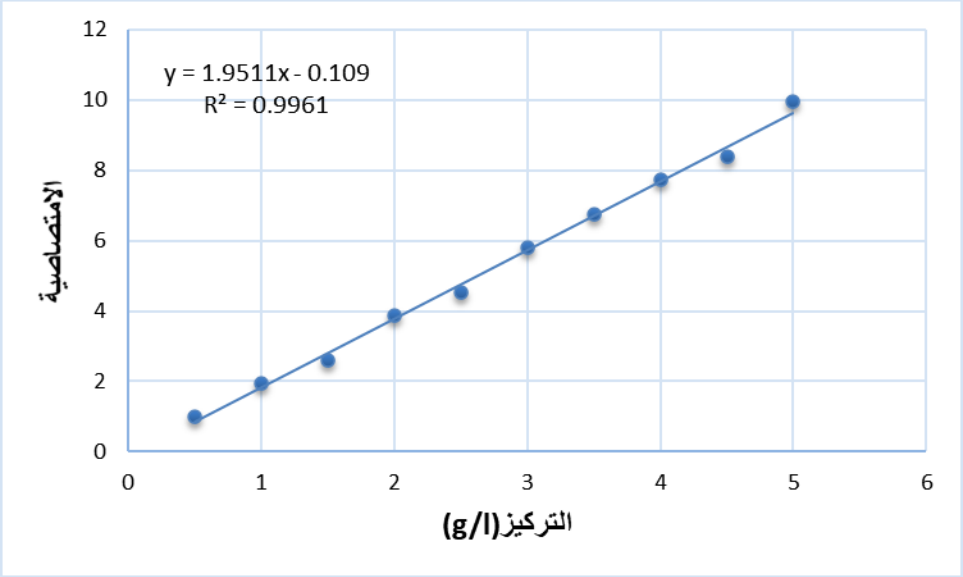
تركيز المستخلص (g/L)	الامتصاصية (A_I)	النسبة المئوية للتثبيط (I%)
0.5	0.72	10.0
1.0	0.63	21.25
1.5	0.54	32.5
2.0	0.45	43.75
2.5	0.38	52.5
3.0	0.30	62.5
3.5	0.25	68.75
4.0	0.20	75.0
4.5	0.14	82.5
5.0	0.08	90.0

الجدول ب . جدول قيم الامتصاص لمستخلص DLP و نسبة تثبيط DPPH عند كل تركيز.

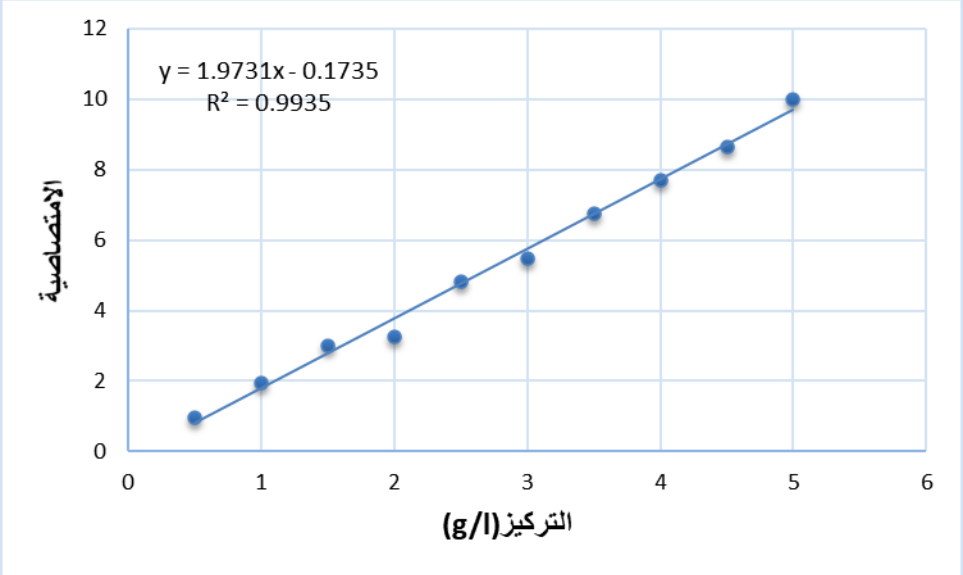
تركيز المستخلص (g/L)	الامتصاصية (A_I)	النسبة المئوية للتثبيط (I%)
0.5	0.73	8.75
1.0	0.65	18.75
1.5	0.58	27.5
2.0	0.50	37.5
2.5	0.42	47.5
3.0	0.35	56.25
3.5	0.28	65.0
4.0	0.22	72.5
4.5	0.16	80.0
5.0	0.10	87.5

الجدول جـ . جدول قيم الامتصاص لمستخلص DPP و نسبة تثبيط DPPH عند كل تركيز.

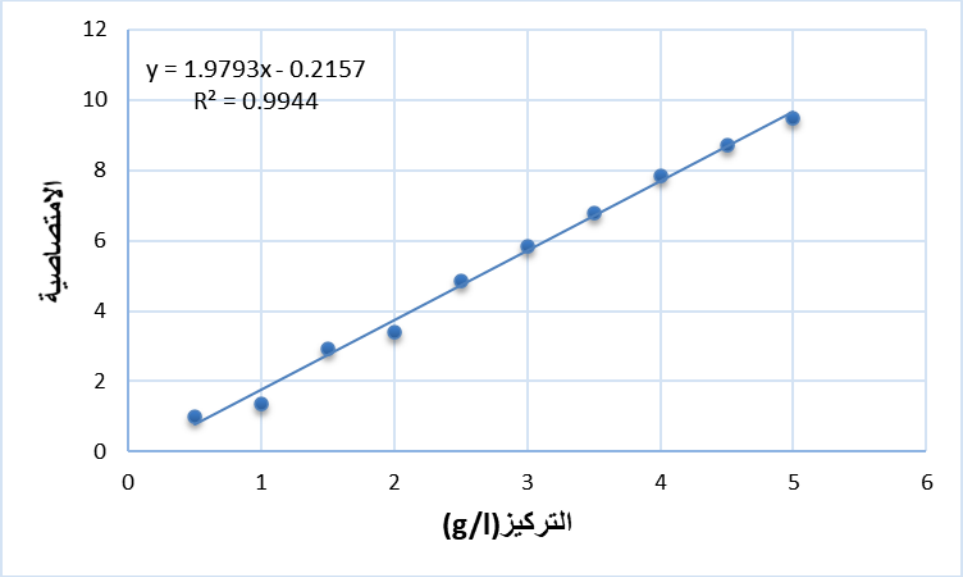
تركيز المستخلص (g/L)	الامتصاصية (A_I)	النسبة المئوية للتثبيط (I%)
0.5	0.68	15.0
1.0	0.55	31.25
1.5	0.45	43.75
2.0	0.35	56.25
2.5	0.28	65.0
3.0	0.22	72.5
3.5	0.16	80.0
4.0	0.12	85.0
4.5	0.08	90.0
5.0	0.04	95.0



الوثيقة ي . منحنى الامتصاصية بدلالة تركيز مستخلص DOP لختبار FRAP.



الوثيقة ك . منحنى الامتصاصية بدلالة تركيز مستخلص DLP لختبار FRAP.



الوثيقة ل . منحنى الامتصاصية بدلالة تركيز مستخلص DPP لختبار FRAP.