



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص : كيمياء العضوية

من إعداد: معامير حنين

علال يسرى

تحت عنوان :

دراسة نواتج الأيض الثانوي والفولافونيدي والفعالية البيولوجية لمستخلص
الخام لأوراق نبات الرمان باستعمال الكحول والماء بنسب مختلفة.

نوقشت يوم: 20/06/2019

أمام لجنة المناقشة:

رئيسا	جامعة حمه لخضر - الوادي	أستاذ محاضر - أ -	خلف عبد الحميد
مقررا	جامعة حمه لخضر - الوادي	أستاذ محاضر - ب -	زيدان محمد
مناقشا	جامعة حمه لخضر - الوادي	أستاذ محاضر - ب -	عطيه جمال
مناقشا	جامعة حمه لخضر - الوادي	استاذ مساعد - أ -	زماي جعفر

السنة الجامعية: 2018/2019



الاهداء

الى الحبيب المصطفى والنبى المجتبى والشفيع المرتجى الى معلمنا الأعظم وقودتنا

الاکرم سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم .

الى منبع العطاء والحنان . . الى التي مرعتني حق الرعاية . . الى القلب الناصح بياضا وصفاء

الى التي بدعائها توفيتني ونجّاحي . . امي الحبيبة .

الى الذي وهبني كل ما يملك حتى احقق له اماله . . الى من كان يدفعني قدما الى الامام لنيل المبتغى . . الى من حصد

الاشواك من دربي . . ابي الغالي .

الى من ترعرعت معهم ونمى غصني بينهم الى من كانوا متكئا استند اليه اخوتي

مطيع الله ، ضياء الحق ، محمد محتامر ، وأختي الغالية تهاني .

الروح التي سكنت فؤادي وزوجي العزيز عماد الدين .

الى فلذة كبدي وقرّة عيني ابني محمد اباد .

الى عائلتي الثانية . . الى القلوب الطاهرة الرقيقة والنفوس المعطرة البريئة حمائي وحماي .

الى إخوتي التي لم تلدهم امي : مرتيبة وحنان وأبنائهم والى خديجة وایمان وأخيرا زياد و نافع .

والى كل الأهل والأقارب من قريب ومن بعيد .

الى كل من جمعني معهم المشوامر الدراسي من بدايته الى نهايته . . الى من تحلوا بالإخاء وتميزوا بالوفاء الى من كانوا

معي على طريق النجاح والخير زميلاتي طلبة دفعة ماستر 2019 .

حين



الاهداء



اهدي ثمرة جهدي هذا

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

الى ملاكي في الحياة . . الى معنى الحب والحنان . . الى بسمه وسر الوجود الى من كان دعاؤها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي الى اغلى الاحباب . . امي الحبيبة .

الى من كلله الله بالهبة والوقار . . الى من احمل اسمه بكل اقتنار . . امرجو من الله ان يمد في عمره ليبرى ثمار جهده قد ابع وحان وقت قطافها بعد طول مرجاء وانتظار ، والذي ستبقى كلماته نجوما اهتدي بها اليوم وفي الغد والى الابد . . . ابي العزيز .

الى دفي البيت وسعاده اخوتي وأخواتي محمد نوفل ، صهيب ، صبرين وإخلاص .

الى اخوتي في الله . . الى من لم يخلوا عني بالنصح والإرشاد . . الى من سارو معي في الدرب الطويل . . الى من شاركوني الدمعة والابتسامة نرميلاتني وصديقاتي دفعة ماستر 2019 الى من يتصفح هذه المذكرة امرجوان يدعولنا بصالح الدعاء .

يسرى



الشكر والعرفان



الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على المبعوث رحمة للعالمين سيدنا محمد وعلى إله وصحبه أجمعين:

عملاً بقوله تعالى «وإذا تأذن ربك لئن شكرتم لأزيدنكم.....»

نشكر الله على نعمه التي لا تقدر ولا تحصى ومنها توفيقه تعالى على إتمام هذا العمل

كما نتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذ المؤطر زيدان محمد، الذي شرفنا قبوله الإشراف على هذه المذكرة وعلى دعمه وتوجيهاته

القيمة فجزاه الله خير الجزاء فله مني كل التقدير والاحترام .

كما نتقدم بالشكر إلى أعضاء اللجنة المناقشة لقبولهم مناقشة مذكرتنا .

كما تتسع دائرة شكرنا إلى أساتذتنا الكرام وعمال المخابر بكلية العلوم الدقيقة خاصة كنزة ومنى على ما قدموه لنا من مساعدات .

أما الشكر الذي من النوع الخاص ، إن قلت شكرا فشكرنا لن يوفيكم حق سعيكم مشكورا صديقتي بسمة واري ، نور الهدى

دقاشي على مد العون لنا ، والأستاذ طليبة علي مشكورا على عونه ونصائحه .

وقبل وبعد فالشكر لله ولله الحمد في الأولى والأخيرة.

الملخص

تطرقنا في هذا العمل الى الدراسة الكيميائية والفعالية البيولوجية للمستخلصات العضوية لنبات أوراق الرمان (*Punica Granatum.L*) المتحصل عليها باستخدام مزيج الايثانول والماء بنسب مختلفة. تم التقدير الكمي للمركبات الفينولية باستخدام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية حيث قدرت أعلى كمية (200.04mgEAG/g) في المستخلص (60%ماء+40%ايثانول)، والتقدير الكمي للفلافونيدات الكلية قدرت أعلى كمية في المستخلص (70%ماء+30%ايثانول) (11.13mgEQ/g) وتوصلنا من خلال هذا العمل أن أوراق الرمان غنية بمواد الايض الثانوي (الفينولات و الفلافونيدات). كما قمنا بحساب المردودية الإنتاجية للمستخلصات فكانت اعلى نسبة في المستخلص (20%ماء+80%ايثانول) قدرت ب11.11%.

وفيما يخص الفعالية البيولوجية قمنا بإتباع طريقة الانتشار بالأقراص فقد تم إنجازها تجاه أربع سلالات بكتيرية حيث وجدنا ان المستخلص (20%ماء+80%ايثانول) سجلت عنده أعلى أقطار التثبيط في جميع السلالات، وأكثرهم حساسية *Pseudomonas aerogenosa* إذ سجلنا قطر تثبيط 14mm، وأكثرهم مقاومة لبعض المستخلصات *Escherichia.coli* فكانت اغلبها منعدمة التثبيط.

الكلمات المفتاحية:

المركبات الفينولية، الفلافونيدات، الفعالية البيولوجية، اقطار التثبيط، *Escherichia.coli* و *Pseudomonas aerogenosa*.

Résumé

Dans ce travail, nous avons discuté l'étude chimique et l'activité biologique d'extraits organiques de feuilles de grenade (*Punica Granatum* L) obtenus dans différents pourcentages d'éthanol 'eau.

L'étude quantitative des composés phénoliques montre que l'extrait (60%eau+40% éthanol) a donné la plus grande valeur (200.04 mgEAG / g).

Alors que l'extrait (70%eau+30% éthanol) donné la plus grand valeur des flavonoïdes (11.13mgEQ /g). Grâce à ces travaux, nous avons constaté que les feuilles de grenade étaient riches en métabolites secondaires (phénols et flavonoïdes).

Nous avons également calculé le rendement des extraits nous avons trouvé que le pourcentage le plus élevé d'extrait (20%eau+80% éthanol) est estimé à 11.11%.

En ce qui concerne l'activité biologique, nous avons suivi la méthode de propagation des comprimés à quatre souches bactériennes, lorsque nous avons constaté que l'extrait (20% d'eau + 80% d'éthanol) a enregistré les diamètres les plus élevés de toutes les souches, nous avons remarqué que le plus sensible des bactéries est *Pseudomonas aerogenosa* qui a enregistré inhibiteurs du diamètre 14 mm, qui sont les plus résistants à certains extraits *Escherichia.coli* étaient pour la plupart non inhibiteurs.

les mots clés:

Composés phénoliques, flavonoïdes, l'activité biologique, diamètres d'inhibition, *Escherichia.coli* et *Pseudomonas aerogenosa*

الفهرس

I	الاهداء
III	الشكر والعرفان
IV	الملخص
VI	الفهرس
XI	قائمة الاشكال
XIII	قائمة الجداول
XVI	قائمة الرموز
1	مقدمة
3	مراجع
الباب الاول: الجزء النظري الفصل الاول: الدراسة النباتية	
5	تمهيد
5	1. نبذة تاريخية عن نبات الرمان <i>Punica Granatum.L</i>
5	2. الانتشار الجغرافي لنبات الرمان <i>Punica Granatum.L</i>
5	3. المكانة الاقتصادية لنبات الرمان <i>Punica Granatum.L</i>
6	4. الاسماء الشائعة لنبات الرمان <i>Punica granatum .L</i>
6	5. التصنيف النباتي لنبات الرمان <i>Punica granatum .L</i>
7	6. الوصف النباتي لنبات الرمان <i>Punica granatum .L</i>
10	7. التركيب الكيميائي لنبات الرمان <i>Punica granatum .L</i>
10	8. القيمة الغذائية لنبات الرمان <i>Punica granatum .L</i>
11	9. الاستعمالات الطبية لنبات الرمان <i>Punica granatum .L</i>
12	10. الفعالية العلاجية لنبات الرمان <i>Punica granatum .L</i>
12	11. الفعالية المضادة للالتهاب
12	12. الفعالية المضادة للسرطان
13	قائمة المراجع

الفصل الثاني: الدراسة الكيميائية

16	مدخل
16	1. تعريف المنتجات الطبيعية الفعالة
17	2. الفينولات (Phenoles)
17	2.1. تعريف الفينولات
17	2.2. تصنيف الفينولات
18	3.2. دور الفينولات البيولوجية
18	3. الفلافونيدات (Flavonoides)
18	3.1. تعريف الفلافونيدات
19	3.2. تصنيف الفلافونيدات
22	3.3. الأهمية البيولوجية للفلافونيدات
22	• 3.3.1. دور الفلافونيدات عند النبات
23	• 3.3.2. دور الفلافونيدات عند الإنسان
23	4. القلويدات (Alcaloides)
23	4.1. تعريف القلويدات
24	4.2. تصنيف القلويدات
25	4.3. دور وأهمية القلويدات البيولوجية
25	• 4.3.1. دور القلويدات عند النبات
26	• 4.3.2. دور القلويدات عند الإنسان
26	5. الصابونيات (Saponisides)
26	5.1. تعريف الصابونيات
27	5.2. تصنيف الصابونيات
27	5.3. دور الصابونيات البيولوجية
28	6. التربينات الثلاثية (Triterpènes)
28	6.1. تعريف التربينات الثلاثية
28	6.2. تصنيف التربينات الثلاثية
29	6.3. دور التربينات الثلاثية البيولوجية
29	• 6.3.1. دور التربينات الثلاثية عند الإنسان
29	• 6.3.2. دور التربينات الثلاثية عند النبات

29	7. الجليكوزيدات (Glycosides)
29	1.7. تعريف الجليكوزيدات
30	2.7. أهمية ودور الجليكوزيدات البيولوجية
30	• 1.2.7. دور الجليكوزيدات عند النبات خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
30	• 2.2.7. فائدة الجليكوزيدات عند الإنسان
30	8. التانينات (Tanins)
30	1.8. تعريف التانينات
31	2.8. خواص التانينات
31	3.8. تصنيف التانينات
32	4.8. دور وأهمية التانينات البيولوجية
32	• 1.4.8. دور التانينات عند النبات خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
32	• 2.4.8. دور التانينات عند الإنسان
33	9. الجذور الحرة ومضادات الأكسدة
33	تمهيد
33	1.9. الجذور الحرة
33	• 1.1.9. تعريف الجذور الحرة
33	• 2.1.9. أنواع الجذور الحرة
34	• 3.1.9. إضرار الجذور الحرة
35	2.9. مضادات الأكسدة
35	• 1.2.9. تعريف مضادات الأكسدة
35	• 2.2.9. تصنيف مضادات الأكسدة
37	قائمة المراجع
الفصل الثالث: الدراسة البيولوجية	
42	1. تعريف البكتيريا
42	2. تركيب الخلية البكتيرية
42	1.2. اربع اجزاء رئيسية
43	2.2. اربع اجزاء اضافية
44	3. تصنيف البكتيريا
46	4. البكتيريا المستعملة في الدراسة

46	1.4. بكتيريا Escherichia Coli
47	2.4. بكتيريا Pseudomonas aeruginosa
47	3.4. بكتيريا Staphylococcus aureus
48	4.4. بكتيريا Salmonella thyfi
48	5. المضادات الحيوية
48	1.5. تعريف المضادات الحيوية
49	2.5. أنواع المضادات الحيوية
49	3.5. طرق تأثير المضادات الحيوية
49	• 1.3.5. مضادات تعمل على نسخ ADN
49	• 2.3.5. مضادات تعمل على تخریب غشاء السيتوبلازمي
49	• 3.3.5. العمل على تخریب الغشاء الداخلي للبكتيريا
49	• 4.3.5. العمل على تخریب الغشاء الخارجي للبكتيريا
49	6. المقاومة البكتيرية
49	1.6. تعريف المقاومة البكتيرية
50	2.6. طرق التعرف على الحساسية ومقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي
50	• 1.2.6. طريقة التمديد
50	• 2.2.6. طريقة الانتشار
51	قائمة المراجع
الباب الثاني: الجزء التطبيقي	
الفصل الرابع الوسائل والطرق	
54	• مدخل
54	1. تحضير العينة
55	2. الادوات والاجهزة والوسائل
55	3. تعريف الاستخلاص
55	1.3. طريقة الاستخلاص
56	2.3. طريقة الترشيح
57	4. مخطط الاستخلاص
57	5. حساب مردود المستخلصات
58	6. تقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق بنفسجية- المرئية

58	1.6. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية UV-visible
58	2.6. تقدير المركبات الفينولية والفلافونيدية لمستخلصات أوراق الرمان
59	● المنحنى العياري لحمض الغاليك
60	● التقدير الكمي للفلافونيدات
62	7. دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا للمستخلصات بتقنية اختبار الحساسية بالأقراص
62	1.7. تحضير التراكيز المختلفة لكل مستخلص
62	2.7. تحضير أوساط الزرع
62	3.7. تحضير لأقراص
62	4.7. تحضير المعلق البكتيري
63	5.7. وضع الأقراص المشبعة
64	قائمة المراجع
الفصل الخامس: النتائج والمناقشة	
66	1. حساب مردود المستخلصات
67	2. التقدير الكمي للفينولات الكلية بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية UV- visible
69	3. التقدير الكمي للفلافونيدات الكلية بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية UV- visible
70	4. الفعالية المضادة للبكتيريا
70	1.4. المستخلص A
72	2.4. المستخلص B
73	3.4. المستخلص C
74	4.4. المستخلص D
76	5.4. المستخلص E
77	6.4. المستخلص F
79	5. المضادات الحيوية
80	قائمة المراجع

قائمة الاشكال		
الصفحة	العنوان	الشكل
الباب الاول: الدراسة النظرية		
الفصل الاول: الدراسة النباتية		
6	شجرة نبات الرمان <i>Punica granatum</i> .L	الشكل (1.I)
7	مختلف أجزاء نبات الرمان <i>Punica granatum</i> .L	الشكل (2.I)
8	أوراق نبات الرمان <i>Punica granatum</i> .L	الشكل (3.I)
8	زهرة نبات الرمان <i>Punica granatum</i> .L	الشكل (4.I)
9	ثمرة نبات الرمان <i>Punica granatum</i> .L	الشكل (5.I)
9	بذور نبات الرمان <i>Punica granatum</i> .L	الشكل (6.I)
الفصل الثاني:		
الدراسة الكيميائية		
17	بنية الفينول.	الشكل (1.II)
18	المركبات الفينولية البسيطة.	الشكل (2.II)
18	مشتقات احماض البنزويك	الشكل (3.II)
18	صورة توضح حمض السيناميك.	الشكل (4.II)
19	البنية الكيميائية (Flavone (phényle-1.2-chromone	الشكل (5.II)
28	الصيغة الكيميائية لـ Routine.	الشكل (5.II)
30	الصيغة الكيميائية لمركبي Catéchol و Pyrogallol.	الشكل (6.II)
31	بنية التانينات المكثفة والتانينات المحللة.	الشكل (7.II)
33	البنيات الرنينية في جزيئة DPPH.	الشكل (8.II)
34	يوضح بنية الـ BHA.	الشكل (9.II)
34	يوضح بنية الـ BHT.	الشكل (10.II)
35	يوضح بنية الـ GA.	الشكل (11.II)
الفصل الثالث		
الدراسة البيولوجية		
44	بنية البكتيريا.	الشكل (1.III)
45	تصنيف البكتيريا.	الشكل (2.III)

46	بكتيريا <i>E. Coli</i> .	الشكل (3.III)
47	بكتيريا PA.	الشكل (4.III)
47	بكتيريا <i>S. aureus</i> .	الشكل (3.III)
48	بكتيريا <i>Salmenilla thyfi</i> .	الشكل (5.III)
الباب الثاني: الدراسة العملية الفصل الرابع: الطرق الوسائل		
54	الاوراق قبل وبعد الطحن.	الشكل (1.VI)
56	نقع العينات النباتية بالايثانول و الماء بنسب مختلفة.	الشكل (2. VI)
56	ترشيح العينات بعد النقع.	الشكل (3.VI)
57	مخطط عام للتجارب المنجزة.	الشكل (4.VI)
59	منحنى العياري لحمض الغاليك.	الشكل (5.VI)
60	المستخلصات بعد الكشف عن الفينولات.	الشكل (6.VI)
61	منحنى العياري للكرستين.	الشكل (7.VI)
61	مستخلصات بعد الكشف عن الفلافونيدات.	الشكل (8.VI)
63	اهم مراحل العمل.	الشكل (9.VI)
الفصل الخامس: النتائج والمناقشة		
67	اعمدة بيانية تمثل مردود المستخلصات المستعملة في الدراسة.	الشكل (1.V)
68	يوضح كمية الفينولات للمستخلصات المدروسة.	الشكل (2.V)
69	يوضح كمية الفلافونيدات للمستخلصات المدروسة.	الشكل (3.V)
70	اعمدة بيانية تمثل اقطار التثبيط ب mm للمستخلص A.	الشكل (4.V)
72	اعمدة بيانية تمثل اقطار التثبيط للمستخلص B.	الشكل (5.V)
73	اعمدة بيانية تمثل اقطار التثبيط ب mm للمستخلص C.	الشكل (6.V)
74	اعمدة بيانية تمثل اقطار التثبيط للمستخلص D.	الشكل (7.V)
75	اعمدة بيانية تمثل اقطار التثبيط عند المستخلص E.	الشكل (8.V)
77	اعمدة بيانية تمثل اقطار التثبيط لدي المستخلص F.	الشكل (9.V)
78	اعمدة بيانية تمثل لاقطار التثبيط المضادات الحيوية.	الشكل (10.V)

قائمة الجداول		
الباب الاول: الدراسة النظرية		
الفصل الاول: الدراسة النباتية		
6	تصنيف نبات الرمان <i>Punica granatum</i> L. من طرف العالم .Linné	الجدول (1.I)
10	التركيب الكيميائي لأجزاء نبات الرمان <i>Punica granatum</i> L.	الجدول (2.I)
11	يمثل القيمة الغذائية لرمان لكل 100 غرام من الجزء الصالح للأكل.	الجدول (3.I)
الفصل الثاني:		
الدراسة الكيميائية		
20	يوضح مختلف أقسام المركبات الفلافونويدات.	الجدول (1.II)
21	يوضح الجدول دور الفلافونويد عند النبات.	الجدول (2.II)
23	يمثل بعض أقسام القلويدات.	الجدول (3.II)
26	يوضح أقسام الصابونيات.	الجدول (4.II)
الفصل الثالث		
الدراسة البيولوجية		
الباب الثاني: الدراسة العملية		
الفصل الرابع: الطرق الوسائل		
55	ادوات ومواد واجهزة المستعملة في الدراسة.	الجدول (1.VI)
الفصل الخامس:		
النتائج والمناقشة		
66	قيم المردود الاستخلاص.	الجدول (1.V)
68	نتائج كمية الفينولات المتحصل عليها.	الجدول (2.V)
69	نتائج كمية الفلافونويدات المتحصل عليها	الجدول (3.V)
70	اقطار التثبيط ب mm للمستخلص A.	الجدول (4.V)
71	اقطار التثبيط ب mm للمستخلص B.	الجدول (5.V)
73	اقطار التثبيط ب mm للمستخلص C.	الجدول (6.V)
74	اقطار التثبيط ب mm للمستخلص D.	الجدول (7.V)
75	اقطار تثبيط للمستخلص E.	الجدول (8.V)
76	اقطار التثبيط لدى المستخلص F.	الجدول (9.V)
78	اقطار تثبيط المضادات الحيوية.	الجدول (10.V)

- **DPPH:** 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl
- **DMSO:** dimethyl sulphoxide
- ***E. coli*** : *Escherichia coli*
- ***S. aureus*** : *Staphylococcus aureus*
- ***P. aerogenosa*** : *Pseudomonas aerogenosa*
- ***Sal***: *Salmonella typhi*
- **R** : rendement
- **UV** : Ultra-Violets
- **µm:** micrometer
- **BHA:** Butylated hydroxyanisole
- **G⁺:** Gram positive
- **G⁻:** Gram negative.
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- **g:** Gramme
- **mg** : Milligramme
- **ml:** Millilitre
- **λ:** طولالموجة
- **%:** النسبة المئوية
- **A:** الامتصاصية الضوئية

المقدمة العامة

المقدمة

تهدف هذه الدراسة الى اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا والى حساب كمية الفلافونيدات والفينولات في اوراق نبات الرمان.

تحتل النباتات الطبية في الوقت الحالي مكانة كبيرة في الإنتاج الزراعي والصناعي وتلقى عناية بالغة في كثير من الدول المنتجة لها، والنباتات الطبية هي المصدر الرئيسي للعقاقير النباتية أو مصدر المواد الفعالة التي تدخل في تحضير الدواء على شكل خلاصات أو مواد فعالة أو مواد خام لإنتاج بعض المركبات بتركيز منخفضة أو مرتفعة أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض.

وقد عرف العالم Dragendroff أن "كل شيء من أصل نباتي يستعمل طبيا فهو نبات طبي" (د.حليمي عبد القادر، 1997)

ومن النباتات الطبية التي جرى تداولها منذ عصور عابرة نبات الرمان *Punica granatum L* الذي ينتمي إلى العائلة Punicaceae، ويعتقد أن شجرة الرمان نشأت في إيران وشمال غرب الهند ومنها انتشرت من أزمان بعيدة إلى كل دول حوض البحر المتوسط. (الشاوش ف و اخرون، 2006)

تدعم الدراسات الحديثة الأهمية التاريخية والفوائد الصحية لثمرة الرمان كفاكهة طبية، إذ تشير البحوث إلى احتواء هذه الثمرة على مركبات مضادة للميكروبات والفيروسات ومقاومة لمرض السرطان (Shwartz, E et al., 2009). تبين الدراسات البيولوجية الحديثة أن عصير الرمان يؤدي دورا مهما في مكافحة تصلب الشرايين عن طريق خفض أكسدة البروتين الشحمي منخفض الكثافة (LDL) (Aviram, M et al., 2009) ويعود ذلك إلى ارتفاع النشاط المضاد للأكسدة لثمرة الرمان لاحتوائها على مركبات متعددة الفينول (Polyphenols) (Olaniyi, A., 2011).

وخلال السنوات السبع الأولى في هذا القرن تضاعف عدد البحوث المنشورة حول هذه الفاكهة مما يوحي بأهميتها ودورها في تغذية الإنسان وصحته. وهذا لاحتوائها على العديد من المركبات الفعالة وأهمها التانينات والقلويدات والبولي فينول مثل الأنثوسيانين، التربينات الفلافونيدات الصابونيان، السترويدات، الجليكوزيدات وكذلك تحتوي على أحماض أمينية. (طالب أ و اخرون، 2009)

ونظرا للأهمية النباتية الطبية اعطت منظمة الصحة العالمية أهمية كبيرة في توسيع استعمال الأدوية من المصادر النباتية بدلا من الأدوية الكيميائية المصنعة ، فكانت الدراسات التي قام بها العديد من الباحثين في مراكز البحث

في كشف النقاب عن الأهمية الكبيرة لبعض المستخلصات النباتية وأعطت للمهتمين فرصا تم من خلالها التعرف على الكثير من التركيبات الكيميائية ذات الفعالية الطبية، فقد تناولت الكثير من الدراسات تأثير المستخلصات النباتية على نمو الأحياء المجهرية، وبالتالي إمكانية استخدامها في علاج بعض الأمراض الناتجة عن الإصابات الميكروبية المختلفة.

ولو أمعنا النظر في استعمالات الرمان، لوجدنا أنه ذو فعالية عظمى حيث يستخدم في علاج آلام البطن والإسهال لاحتوائه على مواد دابغة للمعدة، وجسم الثمرة مقوي للقلب والمعدة والبذور مفيدة لاضطرابات الجهاز الهضمي أما عصير الثمرة مفيد لتخفيف آلام الأسنان وتخفيف حرارة الجسم. (قدامة أ.، 1985)، (خلف الله ع.، 1988).

من هنا تبادر إلى أذهاننا العديد من الأسئلة من بينها ما هو التأثير المضاد للبكتيريا لأوراق شجر الرمان؟ وإلى ما يعزى هذا التأثير؟

وللإجابة عن هذه التساؤلات ارتأينا في هذا العمل أن نتعرف على مواد الأيض الأولي والثانوي في مستخلصات أوراق شجر الرمان والتأثير المضاد للبكتيريا لهذه المستخلصات و منه تم العمل في هذه الرسالة وفق ما يلي :

مقدمة وبابين ثم خاتمة ، يعالج الباب الأول دراسة نظرية. ففي الفصل الاول من هذا الباب تحدثنا عن دراسة مكتبية لهذه النبتة وفي الفصل الثاني دراسة كيميائية أما الفصل الثالث فخصص للدراسة البيولوجية. الباب الثاني يعالج دراسة تجريبية يحتوي على فصلين، الفصل الرابع تم التطرق فيه للمواد وطرق العمل في الكشف اما الفصل الخامس فخصص للنتائج والمناقشة.

المراجع باللغة العربية:

- خلف الله ع.، 1988-النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي ،جامعة الدول العربية.
- د.حليمي عبد القادر، النباتات الطبية، وزارة الفلاحة، الجزائر، 1997.
- الشاوش ف.، حامد ف.، العيسي ع.، 2006 تحديد الصفات النوعية والكيميائية لأهم انواع الرمان في اليمن مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية .المجلد *Punica granatum* طرز الرمان 22 العدد 2 ص: 227.
- طالب أ.، نواف فرحان ح.، محمد تركي أ.، 2009 -الفعاليه التثبيطية لمستخلصات تجاه البكتيريا المرضيه المعزولة من الامعاء والمعدة *Punica granatum* قشور الرمان في الإنسان.مجلة جامعة الأنبار للعلوم الصرفة،المجلد 3 ، العدد 2:ص5.
- قدامة أ.، 1985 -قاموس الغذاء والتداوي بالنبات.الطبعة الخامسة ، منشورات دار .النفائس،بيروت. ص: 345.

المراجع باللغة الفرنسية:

- Aviram, M., Volkova, N., Coleman, R., Dreher, M., Reddy, M. K., and Ferreira, D., 2009. Pomegranate phenolics from the peels, arils, and flowers are antiatherogenic: Studies in vivo in atherosclerotic apolipoprotein E deficient (E 0) mice and in vitro in cultured macrophages and lipoproteins. Journal Agriculture Food Chemistry, V.56, pp. 1
- Olaniyi, A., Umezuruike L., and Karen I., 2011. Chemical and Phytochemical Properties and Antioxidant Activities of Three Pomegranate Cultivars Grown in South Africa, Food Bioprocess Technol, V. 5, pp. 2934-2940.
- Shwartz, E. Glazer, I. Bar-Ya'akov, I. Matityahu, I. Bar-Ilan, D. and Amir, R., 2009. Changes in chemical constituents during the maturation and ripening of two commercially important pomegranate accessions, food Chemistry, V.115, pp.965-973.

الباب الاول

الفصل الاول: الدراسة النباتية

• تمهيد:

تكتسب شجرة الرمان أهمية كبيرة نظراً للخصائص العديدة المتميزة بها فمن الناحية الجمالية تعد الأشجار وأوراقها وأزهارها ذات مظهر جمالي جذاب فضلاً عن العديد من الفوائد الطبية التي يمكن الحصول عليها من جميع أجزاء هذا النبات. (الشاوش ف.، حامد ف.، العيسي 2006)

1. نبذة تاريخية عن نبات الرمان *Punica granatum L*:

يعد الرمان أحد أقدم الثمار التي عرفها الإنسان، وقد ذكر في كتب الأديان السماوية اليهودية، والمسيحية والدين الإسلامي، كما ذكر في كتب الأديان الأخرى كالבودية وعرف في ثقافات الشعوب والأمم السابقة (الشاوش ف.، حامد ف.، العيسي 2006). عرفه قدماء الفراعنة والإغريق قبل الرومان، فذكر في كتب كثيرة ونقش على جدران المعابد والقصور القديمة (حجازي، أحمد توفيق، 1999)، عرفوه باسم ارهامني ومنها اشتق الاسم القبطي ارمين او رمن الذي اشتق من الاسم العبري رمون والعربي رمان. تمت زراعة الرمان منذ العصور القديمة لثمارها الصالحة للأكل وأزهارها الكبيرة المستعملة في الزينة وكان يعرف عند الشعوب المصرية الفينيقية، الرومانية، واليونانية. (AHMAD et al., 2005)

2. الانتشار الجغرافي لنبات الرمان *Punica granatum L*:

يذكر أن منشأ الرمان يعود إلى بلاد فارس (إيران) والعراق ومنها انتقل إلى المنطقة العربية والجنوب الغربي للقارة الآسيوية وهو ما يعرف الآن بمنطقة الشرق الأوسط في الخارطة الجيوسياسية والتي تشمل بلاد الشام وجزيرة العرب وإيران وتركيا، ثم إلى منطقة البحر الأبيض المتوسط ومنها إلى الصين والهند وأخيراً إلى الجنوب الغربي من الولايات المتحدة الأمريكية. ("معز الإسلام" عزت فارس)

تنتشر زراعة الرمان وتزدهر في المناطق شبه المدارية من العالم بين خطي عرض $41^{\circ}C$ شمالاً و $41^{\circ}C$ جنوباً وتستطيع أشجار الرمان أن تنمو على ارتفاعات كبيرة من سطح البحر تصل إلى 2300م في المنطقة الوسطى من اليمن كما تنمو في بعض المناطق الساحلية والدافئة (الشاوش ف و اخرون، 2006).

3. المكانة الاقتصادية لنبات الرمان *Punica granatum L*:

تصدر إيران قائمة الدول المنتجة للرمان في العالم إذ تنتج ما يقارب 670 ألف طن تأتي بعدها تركيا، الهند، سورية، تونس وإسبانيا (الشاوش ف و اخرون، 2006). وتبعاً لإحصائيات مديرية الفلاحة لولاية الوادي مردود الرمان المنتج سنة 2014/2013 حوالي 225 قنطار/الهكتار، أما مردود الرمان المزروع 227 قنطار /الهكتار وجملة الإنتاج 11250 قنطار /هكتار. (إحصائيات مديرية الفلاحة لولاية الوادي، 2014)

4. الاسماء الشائعة لنبات الرمان *Punica granatum* .L:

- الاسم العلمي: *Punica granatum* .L.
- الاسم الفرنسي: Grenadier.
- الاسم الانجليزي: Pomegranate.
- الاسم العربي: الرمان.



الشكل (1.I): شجرة نبات الرمان *Punica granatum* .L (CHAKRABORTY et al.,2012)

5. التصنيف النباتي لنبات الرمان *Punica granatum* .L :

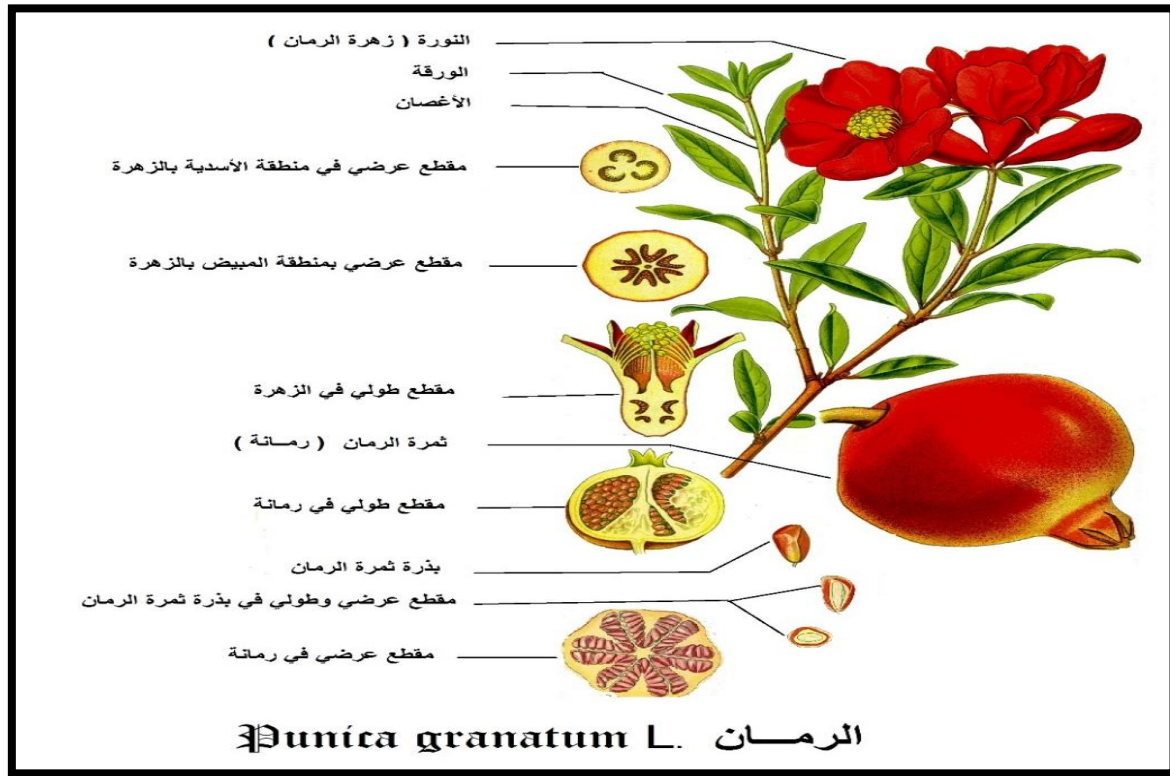
تم تصنيف نبات الرمان في القرن الثامن عشر من قبل العالم Linné كما هو موضح في الجدول التالي:

الجدول (1.I): تصنيف نبات الرمان *Punica granatum* .L من طرف العالم Linné.

المملكة	النباتية
الشعبة	النباتات البذورية Spermaphytes
تحت شعبة	كاسيات البذور Angiospermes
قسم	المنغوليات Magnoliopsida
رتبة	الآسية Myrtales
العائلة	الرومانية Punicaceae
الجنس	الرمان Punica
الصنف	الرمان المثمر <i>Punica granatum</i> .L

6. الوصف النباتي لنبات الرمان *Punica granatum* L. :

نبات الرمان شجرة صغيرة ذات أزهار حمراء برتقالية زاهية الألوان ("معز الإسلام" عزت فارس)، متساقطة الأوراق في المناطق الصحراوية الجافة، ونصف متساقطة في المناطق الساحلية، والرمان كثير السرطانات، والأفرع الاسطوانية ملساء ضاربة للسمر مرنة وتتحول بعض الفروع الجانبية إلى أشواك قصيرة. عادة يصل ارتفاع الشجرة إلى أمتار حيث يتراوح بين 4-5 متر ولو أنها يمكن أن يزيد ارتفاعها كثيرا عن ذلك، تميل الأغصان إلى الخارج من ثقل الثمار، حيث تتهدل وتتدل على الخارج (MIDDLETON, 1984).



الشكل (2.1): مختلف أجزاء نبات الرمان *Punica granatum* L. (WALD E., 2009).

• الورقة:

ورقة الرمان رمحية، ضيقة ومتطاولة، لامعة وملساء السطح العلوي لوغها اخضر داكن متقابلة الوضع على الأفرع، يتراوح طولها ما بين 3 إلى 7 سم وعرضها 2 سم. (PARRENO., 2013).



الشكل (3.I): أوراق نبات الرمان *Punica granatum* L. (WALD E., 2009)

• الزهرة:

الإزهار ذات حامل قصير شبه جالسة على الأفرع ذات لون احمر وكذلك التويج احمر أيضا ويتراوح عدد السبلات من 5 إلى 7 والاسدية كثيرة حمراء اللون والميسم يكون مطمورا بين خيوط الأسدية أو يكون في مستواها أو خارجا عنها والمبيض صغير. ويتركب المبيض من طبقتين يفصل بينهما غشاء شفاف وتتكون كل طبقة من عدة حجرات وتكون عادة ثلاث حجرات في إحداها وخمس في الأخرى وتنفصل كل حجرة بغلاف رقيق شفاف يوجد بكل حجرة بروز لحمي سميك يمثل جدار المبيض وتزهو الأشجار في شهر مارس وأفريل .

(د. فرجيني فارس نعمان وآخرون، 2014).



الشكل (4.I): زهرة نبات الرمان *Punica granatum* L. ("معز الإسلام" عزت فارس)

• الثمار:

الثمرة لبيه كروية الشكل، ومنها جاءت التسمية الأجنبية للرمون وهي Pomme وتعني بالفرنسية التفاح و Garante وتعني كثير البذور، ولونها اصفر بني أو محمر وقطرها حوالي من 7-10 سم، ويوجد في قمتها الكأس السميكة المستديرة. ("معز الإسلام" عزت فارس)



الشكل (5.1): ثمرة نبات الرمان *Punica granatum* L. (WALD E., 2009)

• البذور:

البذور مضلعة، قشرتها الخارجية عبارة عن طبقة جيلاتينية رقيقة، ممتلئة بسائل عصيري يختلف لونه من الأبيض إلى الوردي أو الأحمر القاني حسب الصنف، لاحتوائها على سكريات وأحماض وأصبغ ومواد أخرى.

(WALD E., 2009)



الشكل (6.1): بذور نبات الرمان *Punica granatum* L. (زيدان م.، 2018)

7. التركيب الكيميائي لنبات الرمان *Punica granatum* L.:

وفي العلم الحديث، أثبت العلماء احتواء الرمان ومكوناته من البذور وأغلفتها وعصيرها والقشور والأزهار والسيقان والجذور على العديد من المركبات الوظيفية النشطة ذات التأثيرات الصحية النافعة ("معز الإسلام" عزت فارس). والجدول اسفله يوضح ذلك:

الجدول (2.1): التركيب الكيميائي لأجزاء نبات الرمان *Punica granatum* L. (BEN ABDENNBI, 2012)

الجزء من الثمرة	التركيب الكيميائي
عصير الرمان	أنثوسيانيد، غلوكوز، حمض الأسكوربيك، حمض الألجيك، حمض الغاليك، روتين، كرسيتين، أحماض أمينية، حمض الكافيك، العديد من المعادن خاصة الحديد.
زيت بذور الرمان	95% زيت البينيك، حمض الإيلاجيك، وأحماض أخرى دهنية.
زهرة الرمان	حمض الغاليك، حمض الأورسوليك، ماسلينيك، ثلاثي التربان، ومكونات أخرى.
قشرة الثمرة	أحماض دهنية، فلافونول، فلافون، أنثوسيانيد، التربينات، الفلافونويد، الصابونيات السترويدات، التانينات
جذور الثمرة واللحاء	الإيلاجيتانين، بونيكالين، بونيكالاجين، بيبيريدين، القلويدات.

8. القيمة الغذائية لنبات الرمان *Punica granatum* L.

ويقصد بالقيمة الغذائية ذاك المقدار الكمي من العناصر الغذائي المختلفة الأساسية وغير الأساسية، الكبرى منها كالماء والكربوهيدرات والبروتينات والدهون والصغرى كالفيتامينات والمعادن ("معز الإسلام" عزت فارس). والجدول الآتي يوضح ذلك:

الجدول (3.1): يمثل القيمة الغذائية لرمون لكل 100 غرام من الجزء الصالح للاكل. ("معز الإسلام" عزت فارس)

العناصر الغذائية	القيمة الغذائية
الماء	80.97 g
البروتين	0.95 g
الدهون	0.30 g
كربوهيدرات	17.17 g
ألياف غذائية	0.6 g
كالسيوم	3 mg
الحديد	0.30 mg
مغنسيوم	3 mg
فسفور	8 mg
بوتاسيوم	259 mg
صوديوم	3 mg
زنك	0.12 mg
نحاس	0.070 mg
فيتامين ج	6.1 mg
فيتامين د	0
فيتامين ب	0.596 mg

9. الاستعمالات الطبية لنبات الرمان *Punica granatum* .L

وبالنسبة للاستعمالات الطبية الشعبية للرمون، فقد استخدمت أجزائه المختلفة، بما في ذلك الزهرة والثمرة والجدع، لعلاج حالات مختلفة من أهمها:

- اضطرابات الجهاز الهضمي مثل علاج التقرحات والقضاء على الديدان الشريطية.
- لتخفيف آلام الأسنان وحرارة الجسم. (MURTHY K et al.,2004)
- التقليل من آلام القدمين وتخفيف عمل المخ. (الحسني أ.، 1997)

- علاج أمراض البطن والإسهال، لاحتوائها على مواد دابغة للمعدة، وجسم الثمرة مقوي للقلب والمعدة، والبذور مفيدة للمعدة. (متولي أ.، الوكيل ح.، 2010)
- أما عصير الثمرة فهو مرطب ومبرد والمواد الفعالة فيه تشمل القلويدات مثل: Pelltierine granatine و مواد دباغية. (PARRENO M.,2013)

10. الفعالية العلاجية لنبات الرمان *Punica granatum .L*:

يتبين لنا أهمية هذه الثمرة المباركة في التقليل والوقاية من أشد الأمراض فتكاً في تاريخ البشرية الحديث، ألا وهما السرطان وأمراض القلب، واللذان يتصدران قائمة الأمراض المسببة للوفاة في العالم، ويظهر أهمية هذه الثمرة في التقليل من حدة الأمراض المزمنة الأخرى كارتفاع ضغط الدم ومعالجة الديدان المعوية، الأمر الذي يدفعنا إلى مزيد من الاهتمام في تناول هذه الثمرة النافعة ("معز الإسلام" عزت فارس).

11. الفعالية المضادة للالتهاب:

أظهرت الدراسات التي أجريت على الجسم الحي قدرة بعض المركبات الموجودة في الرمان على منع وتثبيط إنزيمات الأكسدة الحلقية (cox-2) cyclooxygenase2، الذي يؤثر بشكل مباشر في حصول الالتهابات من خلال قدرته على التحويل الأركيدونيك arachedonicacid إلى مركبات البروستاجلاندين Prostaglandines التي تتوسط بدورها في حدوث الالتهاب، ويستطيع زيت بذور الرمان على تثبيط 37% من هذه الإنزيمات (ISMAEIL et al.,2009)، (CHAKRABORTY et al.,2012).

12. الفعالية المضادة للسرطان:

أظهرت العديد من الدراسات المخبرية قدرة عصير ومستخلص الرمان على منع سرطان البروستات لدى الرجال، والحد من نمو سرطان الثدي، ذلك راجع لاحتواء الرمان على كميات وافرة من acide Ellagic إذ أن هذا الحمض يتميز بقدرة فائقة على منع النمو السرطاني مثل سرطان الجلد والرئة، وثبت في دراسات عديدة أجريت على الفئران مقدرة على منع النمو السرطاني في كل من الكبد والمريء.

ونظراً لقدرة هذا الحمض على تنشيط الإنزيمات المحطمة للسموم المسرطانات في الكبد والرئتين مثل: إنزيمات

GlutathaseReduclase و QuinoneReductase. (PRAGATI K et al.,2013) (CHAKRABORTY et al.,2012)

قائمة المراجع

المراجع باللغة العربية:

- حجازي، أحمد توفيق، الموسوعة الصحية. دار أسامة للنشر والتوزيع، عمان-الأردن(1999).
- د. فرجيني فارس نعمان، د. مادلين راشد سوسن، د. أحمد صلاح الدين. الإدارة المركزية للإصلاح الزراعي، معهد البحوث البساتين، مركز البحوث الزراعية، نشرت 10 مارس 2014.
- زيدان م ، دراسة الفعالية المضادة للأوكسدة والبكتيريا لمستخلصات الرمان *Punica granatum*، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، 2018 ص 35-37.
- السلسلة الإحصائية ب لمديرية الفلاحة بالوادي.
- الشاوش ف.، حامد ف.، العيسي. تحديد الصفات النوعية والكيميائية لأهم طرز الرمان *Punica granatum* في اليمن مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية. المجلد 22. العدد 2 ص: 227 (2006) .
- عزت الفارس.، الرمان غذاء ودواء، ماجستير قسم التغذية، كلية الصيدلة، الرمان وفوائده، جامعة البترا الأردنية.
- متولي أ.، الوكيل ح.، خدمة الحاصلات البستانية(الفاكهة). مصر العربية، ص:338(2010).
- محسن الحاج ، طب الأعشاب تراث وعلم، دار صبح للطباعة والنشر والتوزيع(2000) .

المراجع الأجنبية:

- AHMED S., WANG N., HAFEEZ B., CHERUVU K., and 2005- Haqqi TM: Punica granatum L extract inhibits IL-1 β - induced expression of matrix metalloproteinases by inhibiting the activation of MAP kinases and NF- κ B in human chondrocytes in vitro .135. P: 2096-2102.
- BEN ABDENNEBI M., 2012- Le grenadier tunisien (*Punica granatum*) stimule le transport de glucose dans les cellules musculaires C2C12 via la voie. Insulinodépendante de l'Akt et la voie insulino-indépendante de l'AMPK. Mémoire présenté à la Faculté de Médecine en vue de l'obtention du grade de Maîtrise en pharmacologie. Université de Montréal. P : 82.
- CHAKRABORTY M., GARACHH D., PATEL A., KAMATH V., 2012-
- DEBJIT B., HARISH G., PRAGATI K., DURAIVE L., ARAVIND K., SAMPATH K., 2013- Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry Medicinal Uses of *Punica granatum* and Its Health Benefits .Vol 1 ,No 5. P: 28.
- ISMAEIL C., ATILLA T., ISHAK I., 2009- Hepatoprotective role and antioxidant capacity of pomegranate. .Food and chemical toxicology 47.PP: 145-149.
- MURTHY K. N. C., VITTA K. R., et al. - Study on wound healing activity of *Punica granatum* peel. Journal of medicinal food. 2004. Vol. 7. N°2. Pages 256-259
- PARRENO M., 2013- Development and assessment of pomegranate (*Punica granatum* L.) Derived food products. Rich in bioactive phytochemicals. These doctored. Université Miguel Hernández de Elche: 199.
- Phytochemical and pharmacological profile of *Punica granatum* an overview, Vol.3. No. 2. P: 67.
- WALD E., 2009- le grenadier (*punica grantum*) : plante historique et évolutions thérapeutiques récentes. Le diplôme d'état de docteur en pharmacie, université henri poincare nancy 1. P : 158.

الفصل الثاني

الدراسة الكيميائية

• مدخل:

من إحدى الخصائص الرئيسية للنباتات هو قدرتها على إنتاج مجموعة واسعة من المواد الطبيعية وهي ضرورية لتفاعل النباتات مع البيئة، وإلى جانب تشكل نواتج الأيض الأولية التقليدية (الكربوهيدرات، البروتينات والدهون...). تشكل النباتات نواتج أيض أخرى تسمى "بالثانوية"، حيث تعد هذه الجزيئات مصدرا هاما يستخدمها البشر في مجالات متنوعة مثل: علم العقاقير أو في المواد الغذائية هذه المركبات الثانوية تنتمي إلى مجموعات كيميائية مختلفة جدا مثل: القلويدات، التربينات والمركبات الفينولية... (غميمة صفاء، 2018).

1. تعريف المنتجات الطبيعية الفعالة:

يطلق دارسو الكيمياء لفظ "المنتجات الطبيعية" على المركبات التي تنتج بواسطة الكائن الحي. ويشمل هذا التعريف العديد من المركبات التي تنتمي إلى طوائف مختلفة، منها ما يتم دراسته بصورة تفصيلية في معظم مراجع الكيمياء العضوية مثل: الأحماض الأمينية والبروتينات والسكريات وغيرها ومنها ما يبحث عنه عادة في مراجع تخصصية. وجميع المنتجات الطبيعية تلعب دورا مهما في التفاعلات الأيضية إلا أن أكثرها لفت للانتباه لدى دارس الكيمياء العضوية هي تلك المواد التي يتم فصلها من النباتات والكائنات الحية الدقيقة نظرا لأهميتها للإنسان في مجالات متعددة بغض النظر عن منفعتها للمصدر الطبيعي (شمسه احمد خليفة، 2004).

• الايض الأولي (Métabolites primaires):

تتميز المنتجات الأولية بخصيتها الحيوية والضرورية لبقاء الخلية في الجسم، فهي مركبات تدخل في التفاعلات الأولية، وتشير في الغالب إلى العمليات الأيضية (Métabolites primaires) التي تنتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة، والأحماض الأمينية، السكريات، والدهون والبروتين (محمد زيدان، 2018).

• الايض الثانوي (Métabolites Secondaires):

هناك العديد من المركبات التي تنتج في النبات يطلق عليها اسم المشتقات الثانوية لعمليات الايض الثانوي وتشمل كل من التربينات، الفينولات، القلويدات وغيرها (HHURABLEILLE M., 1980). وهي جزيئات كبيرة العدد لها شكل بنيوي غير عادي ولها استعمالات دوائية عديدة وتسمى بالمنتجات الطبيعية الفعالة، تعتبر مركبات الأيض الأولي المواد البدائية لها ولهذا فهي تمثل مركبات الأيض الثانوي، هناك ثلاثة مواد أولية رئيسية : حمض الشيكيميك، الاسيتات و الأحماض الأمينية و التي تعتبر وحدات البناء للايض الثانوي (SHUKLA M et al., 2008).

2. الفينولات (Phenoles):

1.2. تعريف الفينولات:

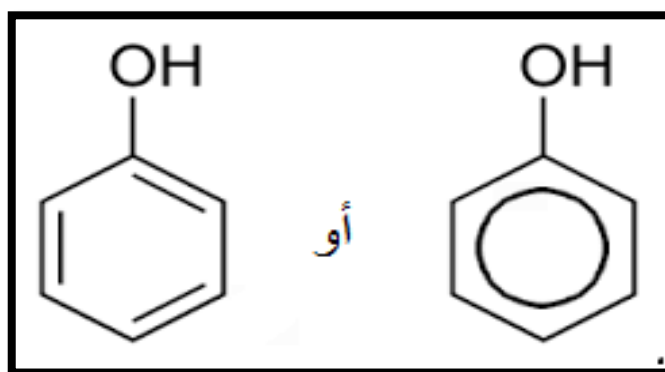
المركبات الفينولية هي واحدة من أكبر المجموعات والمواد الموزعة على نطاق واسع في المملكة النباتية ويوجد ما يقارب حوالي 8000 مركب موجود في جميع الأنسجة النباتية.

فهي لا توجد حرة داخل خلايا النبات بل توجد مرتبطة بشكل جليكوزيدات، إثيرات، أسترات وتوجد عدة

مسارات للاصطناع الحيوي وأهمها: مسار حمض الشيكيميك Shikimique ومسار خلات Acétate

(ريبي عبد الكريم، 2015). وتحتوي على مجموعة هيدروكسيل واحدة أو أكثر متصلة مباشرة بحلقة عطرية

(البنزين)، والفينول هو الهيكل التي تقوم عليه المجموعة بأكملها. (Phenolic Compound Biochemistry)



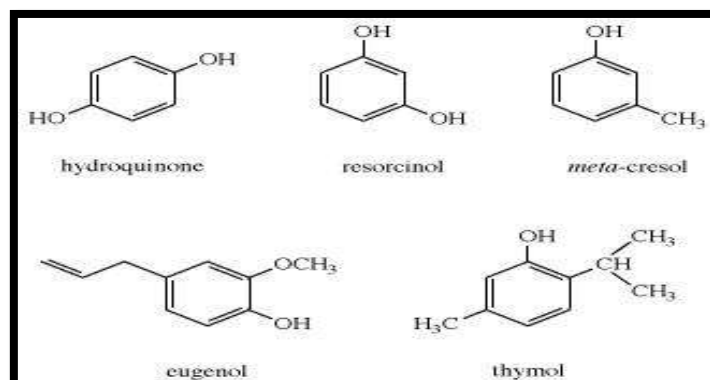
الشكل (1.II): بنية الفينول.

2.2. تصنيف الفينولات:

تنقسم الفينولات إلى:

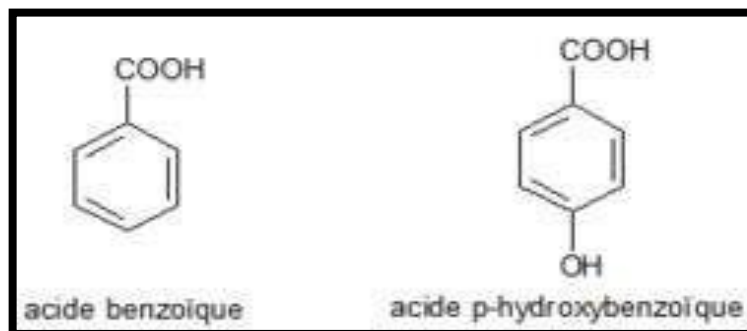
— **فينولات بسيطة:** وهي نادرة بطبيعتها باستثناء Hydroquinone الموجود في العديد من العائلات

مثل: Rosacées. (DJAHR AliBoutlelis., 2014)



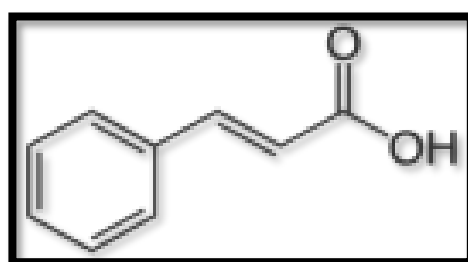
الشكل (2.II): المركبات الفينولية البسيطة.

– الأحمض الفينولية: مشتقات أحمض البنزويك: C_6-C_1 (DJAHER AliBoutlelis.,2014) مثل:



الشكل (II.3): مشتقات أحمض البنزويك.

مشتقات أحمض السيناميك C_6-C_3 (DJAHER AliBoutlelis.,2014) مثل:



الشكل (II.4): صورة توضح حمض السيناميك

3.2. دور الفينولات البيولوجية:

تستخدم عديدات الفينول بشكل متزايد في الاستعمالات العلاجية، فهي تحتوي على مكونات فعالة لعدد من الأمراض: مضادة للسرطان، مضادة للالتهابات، مضادة للفيروسات، مضادة للجراثيم، ومكافحة لتصلب الشرايين، وهي أيضا مضادة للأكسدة. (شريف جهينة، 2017)

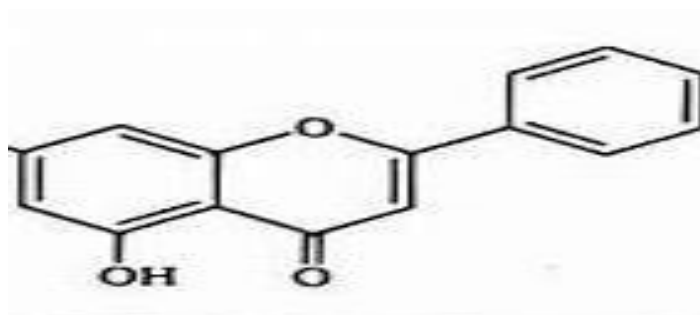
3. الفلافونيدات (Flavonoides):

1.3. تعريف الفلافونيدات:

اشتقت كلمة الفلافونويد من كلمة لاتينية (Flavus) والتي تعني اللون الأصفر.

والفلافونويدات تمثل غالبا المركبات المسؤولة عن اللون الأصفر المميز للأزهار والثمار وأحيانا الأوراق (شمسه احمد خليفة، 2004).

تحتوي جميع الفلافونويدات على 15 ذرة كربون في بنائها موزعة على ثلاث حلقات تتشكل أساساً من العنصر ذي البنية $C_6-C_3-C_6$ والذي يدعى بالفلافون (Flavons) وهو المركب الأم للفلافونويدات. (عابد إبراهيم، 2009). كما موضح بالشكل (5.II):

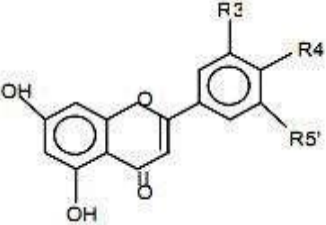
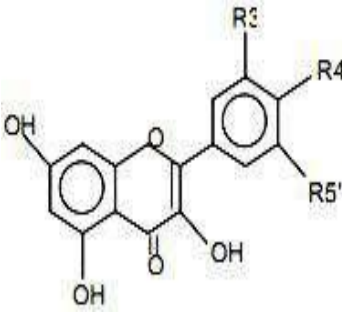
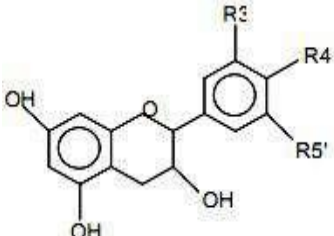
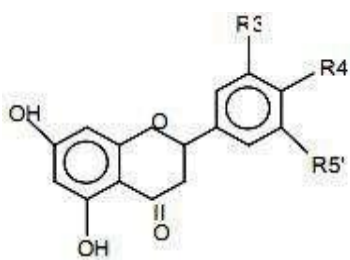


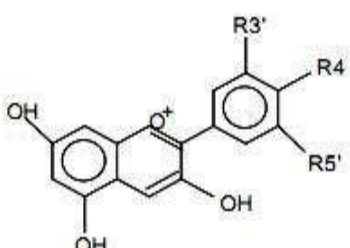
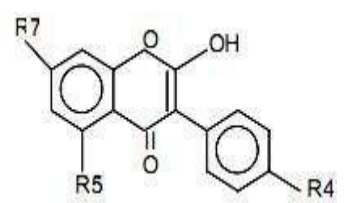
الشكل (5.II): البنية الكيميائية Flavone

2.3 تصنيف الفلافونيدات:

يمكن تقسيم الفلافونيدات حسب تأكسد الحلقة البيرونية (C). (بومعراف منال حرم جندلي، 2007). ويوضح الجدول التالي مختلف هذه الأقسام مع بعض الأمثلة:

الجدول (1.II): يوضح مختلف أقسام المركبات الفلافونويدات. (Djahra Ali Boutlelis.,2014)

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	O H	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol

Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	O H	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R 4'	
		OH	OH	O H	Genisteine
		H	O-Glu	O H	Daidzeine

3.3. الأهمية البيولوجية للفلافونيدات:

1.3.3. دور الفلافونيدات عند النبات:

الجدول (2.II): يوضح الجدول دور الفلافونويد عند النبات. (شمسه احمد خليفة..، 2004)،

(ZHOU J et al.,2001)، (BROWN D.,2001)

الفعل الجاذب	تعمل على جذب الكائنات بواسطة اللون، الذوق والرائحة.
إعطاء اللون للنبات	خاصة لجذب الحشرات فمثلا البرتقالي في الفواكه والأنسجة المتراكمة في النبات، بذلك فان لها دورا في إتمام عملية التلقيح، وتدخل الفلافونويدات في عملية التمثيل الضوئي.
الذوق	بعض الفلافونويدات والتانينات تحمي النباتات من خلال العم المر، الشيء الذي يؤدي بأكالات الأعشاب إلى اختيار نباتات أخرى.
الحماية من الأشعة UV	تتراكم الفلافونويدات في الطبقات السطحية للنبات، لتلتقط ما يصل لـ 90% من الأشعة UV، التي تصل إلى النبات، لمنع الآثار الضارة على الأنسجة الداخلية.
تنظيم نقل هرمون Auxine	يعرف أن عدم انتظام النمو في النبات يرجع إلى وجود ضعف في نقل هذا الهرمون ولهذا السبب عدم انتظام النمو هو عدم وجود الفلافونويد

2.3.3. دور الفلافونويدات عند الإنسان:

لجأ الناس إلى النبات من أجل محاولة علاج للأمراض التي تصيبهم، وتلعب النباتات الطبية دوراً مهماً في الأبحاث الصيدلانية والعلاجية، وبالقرب من هذا العالم الطبيعي وتحسين المعارف حول بنيتها اكتشف الباحثون الفلافونويدات التي كانت (سعيدة إيمان، 2016):

- تقوي وتحسن أداء عضلة القلب وتقلل من مخاطر أمراض القلب. (YOCHUM L.,1999)
- (HERTOG M.,1995)
- تحمي من الجلطات الدموية، وتخفض نسبة الكوليسترول في الدم. (ZHOU J et al.,2001)
- مسكنة ومضادة للتهاب مثل: التهاب المفاصل. (سعيدة إيمان، 2016)
- تقلل من خطر الإصابة بالسرطان وتمنع نمو الخلايا السرطانية كما تخفف أعراض الحساسية. (عباس بن مرعاش، 2012)

4. القلويدات (Alcaloides):

في سنة 1879م عرف W.Meisser القلويدات على أنها جزيئات قاعدية معقدة ذات أصل نباتي، وفي سنة 1982م عرفها Pelletier بأنها جزيئات لها حلقة تحتوي على ذرة أزوت وتشكل منتجات ثانوية. (عابد ابراهيم، 2009)

1.4. تعريف القلويدات:

القلويدات هي قواعد ازوتية معقدة التركيب من أصل نباتي، ولها تأثير فسيولوجي، تحتوي على وظيفة أمينية أو أكثر، وتنوع هذه الأمينات في الطبيعة بشكل كبير جداً. تم عزل الكثير من هذه المركبات من مصادر مختلفة مثل الحشرات، والكائنات البحرية الدقيقة، ولا يزال عدد القلويدات التي تم استخلاصها من النباتات الزهرية يفوق عدد القلويدات التي تم استخلاصها من المصادر أخرى، وعليه فهي أكثر لفتاً للانتباه. (زمالي، 2007)

قد يحتوي النبات على أكثر من 100 من القلويدات المختلفة، إلا أن تركيزها لا يتجاوز 10% من الوزن الجاف. (PINTO W.et al 1685)، (Bladt S.,Wagner H.,1996) تنتشر هذه المركبات في أكثر من الأجناس المختلفة في فصائل نباتية مختلفة، نادراً ما تتواجد القلويدات في النبات في الحالة الحرة بل في أغلب الحالات تكون مرتبطة بحمض عضوي أو في العفص (Tanins)، تختلف نسبة القلويدات في النبات، وعموماً تكون ما بين 1% و 3% (من الوزن الجاف للنبات). (Richter.E.,1993)

تتراوح الكتلة المولية للقلويدات من 100 إلى 900 غرام/مول، حيث توجد بشكل أملاح في الصورة بلورية صلبة، القلويدات مركبات قاعدية تعطي أملاح مع الأحماض، وذوبانيتها في مختلف المذيبات تتغير بدلالة pH وحسب الحالة القاعدية (تذوب في المذيبات العضوية اللاقطبية ولا تذوب في الماء والمذيبات العضوية القطبية).

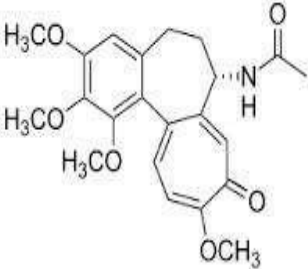
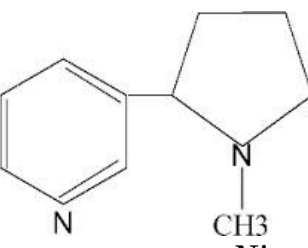
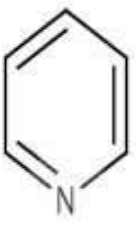
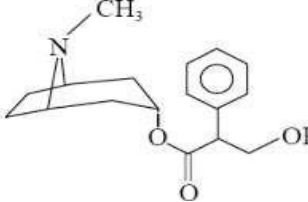
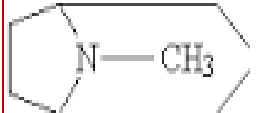
(Bladt S., Wagner H., 1996)

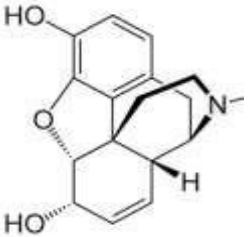
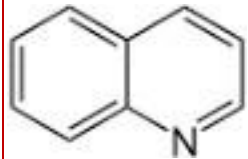
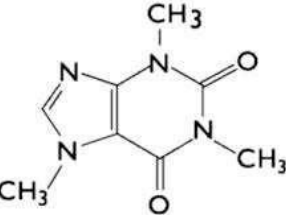
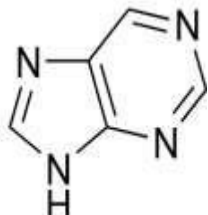
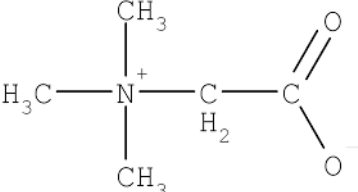
2.4. تصنيف القلويدات:

تنقسم القلويدات إلى مجموعات على أساس التركيب الكيميائي للحلقة الأساسية. (Bruneton J., 1999)

الجدول (3.II): يمثل بعض أقسام القلويدات.

(ATTOU A., 2011), (DJAHRA AliBoutlelis., 2014)

القسم	المميزات	النوع	المثال
مجموعة القلويدات متجانسة الحلقة <i>Alcaloïdes non hétérocycliques</i>	● نادرة ● أهم مشتقات امينو ايثيل البنزين	القلويدات الامينية <i>Amino alcaloïde</i>	 <i>Colchicine</i>
			 <i>Nicotine</i>
			 <i>Pyridine</i>
			 <i>Atropine</i>
			 <i>Tropane</i>

 Quinine	 Quinolique	● لاكثر عددا ● ويمكن تتواجد ● أحادية الحلقة أو ● عدة حلقات	مجموعة القلويدات غير متجانسة الحلقة <i>Alcaloïdes hétérocyclique</i>
 Caffeine	 purine		
 Bettaine		● غير حلقية ● واقل عددا	القلويدات الاليفاتية <i>Alcaloïdes aliphatiques</i>

3.4. دور وأهمية القلويدات البيولوجية:

القلويدات لها تأثير فيزيولوجي واضح فمنها ماهو سام جدا، ومنها ما يستخدم كعلاج، ولها تأثير على مناطق كثيرة في الجهاز العصبي وهي مهمة جدا في الصناعة الصيدلانية. (عابد إبراهيم، 2009)

1.3.4. دور القلويدات عند النبات:

- ❖ تمتاز القلويدات بأنها مواد سامة لذلك فان وجودها يحميه من الحشرات الضارة. (صفاء تريعة، 2017)
- ❖ تأثير بعض القلويدات في حياة النبات كمنظمات النمو. (Saïd Rahal, 2009)
- ❖ وقد تعتبر القلويدات مخزون للزوائد عند احتياج النبات. (John Mc Murry et al., 2005)

2.3.4. دور القلويدات عند الإنسان:

لها العديد من الأدوار أهمها: (Bladt S., Wagner H., 1996)، (GUIGNARD J., 1996)

❖ مضادة لآلام المفاصل مثل: Colchicine

❖ مدرة للبول مثل: Xanthines

❖ منبهة مثل: Caféine

❖ رافعة للضغط مثل: Ephedine

❖ معالجة لمرض الزهايمر

❖ مسكنات مثل: Morphine

❖ خافض للحرارة مثل: Hordenine

5. الصابونيات (Saponisides):

1.5. تعريف الصابونيات:

هي عبارة عن تربينات ثلاثية حقيقة في صورة غليكوزيدية ويتعدد السكر ليصل من اثنين إلى عشرة وعليه فالصابونيات ذات وزن جزيئي عالي وعند تحليلها تحرر سكر أو عدة سكريات مثل:

(D.galactose...، D.glucose)، مع الجنين (genine) يسمى sapogenine هذا الأخير عبارة على

نوات استيرودية وقليل منها يتكون من نوات ثلاثية التربين. (زمالي، 2007)

وقد اشتق اسمها من الكلمة اليونانية sapo لأنها تعطي رغوة كثيفة إذا رجت في الماء أو الكحول المخففة وتستمر

مدة طويلة. (صندالي، 2013)

تتواجد في النباتات أحادية الفلقة مثل العائلة النرجسية والزنبقية وقليل جدا في ثنائيات الفلقة مثل العائلة الغديية،

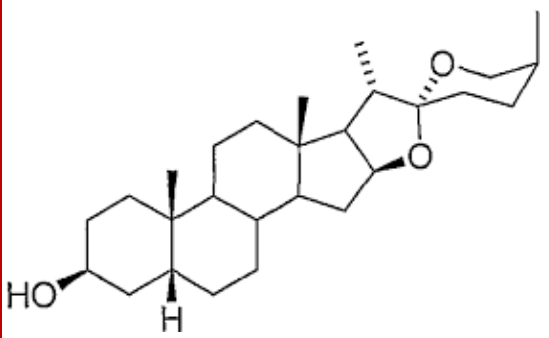
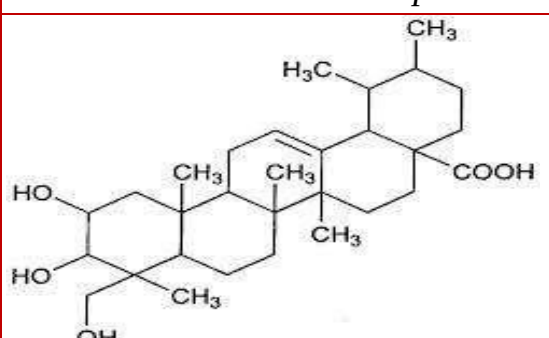
ذوابة في الماء الدافئ (قابلية للاماهة بسهولة) وذوابة في المزيج (ماء+كحول) بعد استخلاصها بإيثانول البترول.

(زمالي، 2007).

2.5. تصنيف الصابونيات:

الجدول (4.II): يوضح أقسام الصابونيات.

(Bruneton.J.,1999). (DJAHRA AliBoutlelis.,2014)

المثال	النوع	القسم
 <i>spirostane</i>	Mono bidesmosides	الصابونيات ذات النواة ثلاثية التربين Group des triterpènes
 <i>Acid Madécassique</i>	Bidesmosides	الصابونيات ذات النواة التربينية استرويدية Group des steroides

3.5. دور الصابونيات البيولوجية:

- لها اثار سامة لغذاء الإنسان والحيوان .
- تستخدم في المنظفات .
- مضاد للبكتيريا والفطريات .
- مضاد للالتهاب .

6. التربينات الثلاثية (Triterpènes):

1.6. تعريف التربينات الثلاثية:

لعل أكثر أنواع التربينات انتشارا في الطبيعة هي التربينات الثلاثية C_{30} . وهي عبارة عن ستة وحدات من الايزوبرين $(C_5H_8)_6$. (طارق بوديار، 2008)، (بن خناثة مباركة، 2014)

مركبات صلبة، بيضاء، اغلبها ينصهر عند درجة حرارة عالية، موجودة في الطبيعة في صورة حرة أو ايتيروزيدية *Hétéroside*، ويدخل في التركيب البنائي لهذه التربينات أربع أو خمس حلقات إلا أن التربينات المحتوية على خمس حلقات في بنائها هي الأكثر وفرة في الطبيعة. ويعرف حتى الوقت الحاضر حوالي 40 هيكلًا بنائيًا يتألف منها التركيب البنائي لجميع التربينات الثلاثية.

وتتميز بعض التربينات الثلاثية بخواصها القابضة البارزة بالأخص مرارتها الحادة فاللمونين *Limonine* هو الأساس المر لثمار الحمضيات ينتمي إلى سلاسل التربينات الثلاثية، خماسية الحلقة ذات الطعم المر.

يتم الاصطناع الحيوي للتربينات الثلاثية عن طريق ترابط ثلاث وحدات من

Isopentenyl- Pyrophosphate (IPP) إلى تكوين Farnesyl - pyrophosphate (FPP) ويحدث هذا الأخير إلى تكوين السكوالين (المركب الأم للتربينات الثلاثية والستيرويدات)، (Richter.E.,1993)

2.6. تصنيف التربينات الثلاثية:

يعتبر السكوالين المصدر الأساسي لتربينات الثلاثية، حيث إن غالبية التربينات الثلاثية حلقية و لكن يوجد القليل منها على شكل خطي، تتميز التربينات الثلاثية بهياكل بنائية مختلفة، مما يؤدي إلى تنوعها وهذه بعض أهم هياكل التربينات الثلاثية البنائية الأكثر انتشارا في المملكة النباتية ومقسمة على حسب عدد الحلقات:

تربينات ثلاثية حقيقية، ستيرويدات، قلويدات ستيرويدية. (Richter.E.,1993)

3.6. دور التربينات الثلاثية البيولوجية:

1.3.6. دور التربينات الثلاثية عند الإنسان:

تتمثل دور التربينات الثلاثية عن النبات (طويل نبيلة، فار سارة، 2014):

❖ مضادات الالتهاب.

❖ مبيدات حشرية، مبيدات رخوية.

❖ تؤثر على نمو النبات.

❖ مسكنات الألم.

❖ لها فعالية ضد أورام السرطان.

2.3.6. دور التربينات الثلاثية عند النبات:

تتمثل التربينات الثلاثية عند الإنسان (طويل نبيلة، فار سارة، 2014):

❖ مضادة للحشرات، وهو يتيح للنبات حماية ذاتية من الأضرار التي تسببها الحشرات .

❖ مسؤول على اللون الأصفر للأزهار .

❖ تساهم في منح الرائحة والطعم للنبات .

7. الجليكوزيدات (Glycosides):

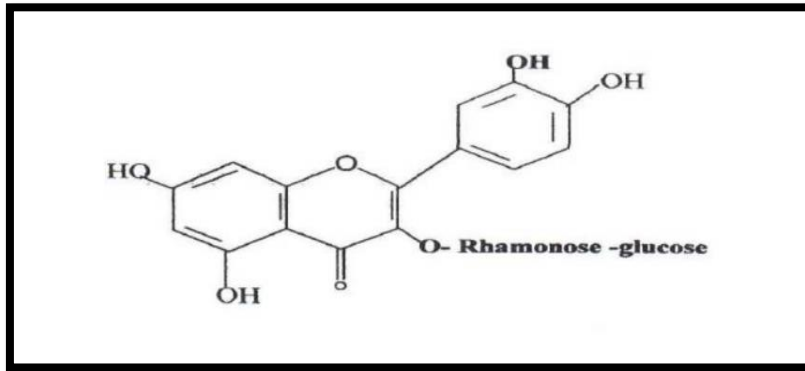
1.7. تعريف الجليكوزيدات:

هي عبارة عن مركبات العضوية ناتجة من الايض الثانوي، ولفظ الجليكوزيدات مشتق من ارتباط نوع خاص من المواد العضوية الناتجة من عمليات التمثيل والايض مع جزيء أو أكثر من السكريات البسيطة.

وهذه السكريات تتحلل سريعا بفضل الأحماض المعدنية والنشاط الإنزيمي المتخصص مكونة نوعين من المواد

العضوية إحداهما سكرية يعرف بالجليكون (glycon) والثاني غير سكري يدعى بالاغليكون

(genine،glycone). (Richter.E.,1993) ، (شمسه احمد خليفة، 2004)



الشكل (5.II): الصيغة الكيميائية لـ Routine (Richter.E. 1993)

2.7. أهمية ودور الجليكوزيدات البيولوجية:

1.2.7. دور الجليكوزيدات عند النبات:

تلعب الجليكوزيدات دورا هاما في النبات من حيث (كرکوي محمد، 2016):

❖ تقوم بدور وقائي لحفظ النبات من الحشرات و الحيوانات.

❖ تنظم نموه.

- ❖ تعتبر مواد مخزنة يستعملها النبات في عملية التمثيل أثناء الحاجة.
- ❖ تعمل على تنظيم درجة الحموضة داخل الخلايا النباتية (pH)، كما تعمل على تنظيم الضغط الاسموزي.
- ❖ بعض ألوان الأزهار تعود لوجود الجليكوزيدات وتعتبر طريقة لجذب الحشرات لإتمام التلقيح.

2.2.7. فائدة الجليكوزيدات عند الإنسان:

تتمثل ادوار الجليكوزيدات في (Satyajit D.,2007) (NES W., PINTO W.,1985):

- ❖ مطهر للكلى والمسالك البولية.
- ❖ الحمى، الروماتيزم، الصداع، تخفيف الضغط، سيولة الدم.
- ❖ تدخل في تركيب الأدوية.
- ❖ مقيئ طرد محتوى المعدة في حالات التسمم.
- ❖ يقوي القلب وينظم ضرباته.
- ❖ تقوية جدران الأوعية الدموية وإدرار البول.

8. التانينات (Tanins):

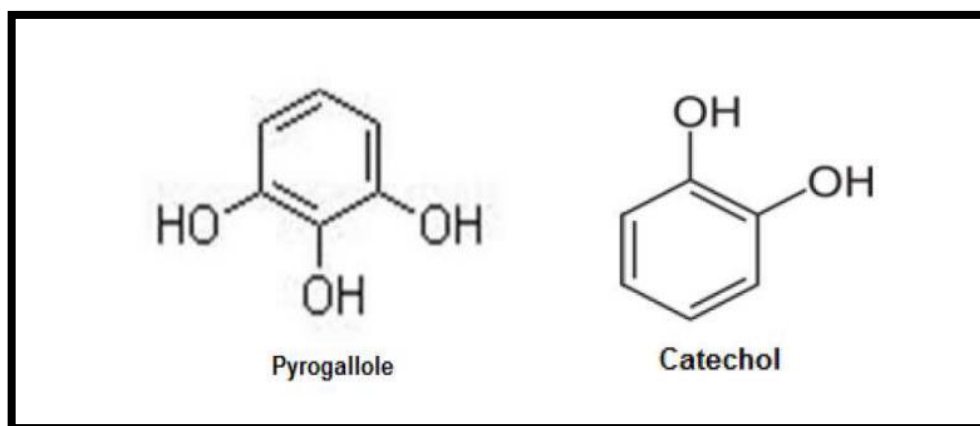
1.8. تعريف التانينات:

هي مركبات ذات بنى معقدة وزنها الجزيئي من 500 إلى 3000 وحدة (ربيعة عبد الكريم، 2014)، وهي عبارة عن بوليمرات فينولية ذائبة في الماء، ذات مجاميع هيدروكسيلية متعددة وان الوحدة الداخلة في بنائها التركيبي مشتقة من أنواع مختلفة من المجاميع الفينولية وتتواجد في أجزاء النبات خاصة الأوراق والسيقان والقلف كما توجد في الثمار غير الناضجة ولكنها تختفي بعد نضج الثمرة (Birben.E. 2012). وتصل نسبتها في النباتات بنسبة 70% مثل: قشور الرمان، وتنتشر بكثرة في الفصائل الوردية والآسية

(Afaq, F et al., 2005)

وعادة ما تستخدم في الدباغة، ولها الخاصية تحويل جلود الحيوانات الطرية إلى جلود غير قابلة للتعفن وقليلة النفاذية ويعزى ذلك إلى قدرتها على الاتحاد مع البروتينات، كما لها القدرة على ترسيب القلويدات (مود صليحة، 2015). وعند تحليلها تنتج بعض الفينولات البسيطة مثل مركب Catéchol أو مركب

Pyrogallol . (Richter.E.,1993)



الشكل (6.II): الصيغة الكيميائية لمركبي Catéchol و Pyrogallol (AHMED S et al.,2005)

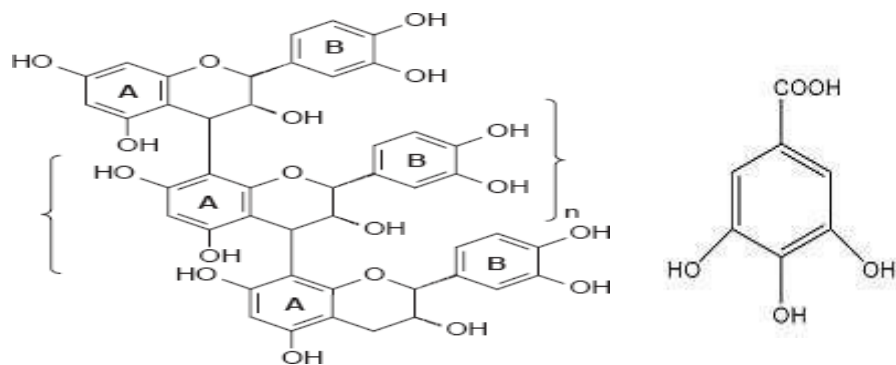
2.8. خواص التانينات:

- ❖ مواد غير متبلورة تذوب في الماء تكون مستحلبا حامضيا له طعم قابض. وتذوب في الكحول، والجليسيرين، ولا تذوب في الايثر ولا البنزين.
- ❖ لها القدرة على ترسيب البروتينات والقلويدات من محاليلها وهذه هي العملية التي تتم عند دباغة الجلود، والتي تتميز بها هذه المجموعة من المكونات النباتية إذ عندما تترسب البروتينات التي تكون الجلود فإنها تصبح غير قابلة لعمليات التحلل.
- ❖ ترسب التانينات نفسها من محاليلها بإضافة أملاح النحاس أو الرصاص أو القصدير كما تترسب بواسطة محلول قوي من بربونات البوتاسيوم في المحاليل القوية.
- ❖ تمتص التانينات الأكسجين من الجو، وتتحول إلى اللون الأسود. (Birben.E. 2012)

3.8. تصنيف التانينات:

تصنف التانينات إلى عدة أقسام:

- ❖ **تانينات متحللة:** هي عبارة عن أحماض فينولية مرتبطة بجلوكوز.
- ❖ **تانينات مكثفة:** هي عبارة عن فلافونويدات غير مرتبطة بجلوكوز. (صفاء تريعة، 2017)



الشكل (7.II): بنية التانينات المكثفة والتانينات المحللة. (DJAHR AliBoutlelis., 2014)

4.8. دور وأهمية التانينات البيولوجية:

تلعب التانينات دوراً حيوياً يتمثل (الخطيب ر.، 2014) :

1.4.8. دور التانينات عند النبات:

تتعد ادوار التانينات في النبات. (الخطيب ر.، 2014) أهمها:

❖ هي مصدر الطاقة التي يستهلكها النبات في عمليات لتحول الغذائي، ولذلك فإن كميتها تقل

باستنفادها في عمليات النضج، كما وان ما يتبقى منها يتحول إلى أحماض تعطي الثمار طعمها

الحامضي.

❖ تشارك في وقاية القشور ولب القشرة.

❖ التانينات مولد فينولية مطهرة تحمي النبات من الحشرات والفطريات الضارة فتحافظ على حياة النبات

أثناء نموه.

2.4.8. دور التانينات عند الإنسان:

التانينات لها العديد من الأدوار (الخطيب ر.، 2014) (Apel، K.، & Hirt، H.، 2004)

من بينها:

❖ موقف للنزيف بسبب تأثيرها القابض والمرسب للبروتينات.

❖ مضاد للأورام Antitumour: يثبط تكاثر الخلايا السرطانية ويوقى ADN من التخریب.

❖ مضاد للإسهال Antidiarrhoeals.

❖ مضاد للالتهابات الفم والحلق.

❖ لها القدرة على تثبيط البكتيريا مثل: Staphylococcus aureus.

9. الجذور الحرة ومضادات الأكسدة:

● مقدمة:

من المعروف أن الجذور الحرة يتم التغلب عليها بما يسمى بالمواد المضادة للأكسدة والتي تقوم بمعادلة الجذور الحرة في الخلايا الحيوانية و الأنسجة النباتية، ولكن هذه المواد يقل محتواها تدريجيا وذلك بزيادة ظروف الإجهاد أو التقدم في العمر. (بن خنائة مباركة، 2014)

1.9. الجذور الحرة:

1.1.9. تعريف الجذور الحرة:

الجذور الحرة هي أنواع كيميائية ذرات أو جزيئات تملك إلكترون أو أكثر غير مزدوج، يكون معظمها شديد الفعالية (تتفاعل بسرعة) مع مركبات أخرى محاولة اقتناص ما ينقصها من إلكترونات لتصل إلى الثبات الكيميائي، كثير من التفاعلات البيولوجية تقوم بأكسدة مواد التفاعل بكون الأكسجين الجزيئي هو المستقبل النهائي للإلكترونات، الذي يدخل في تشكيل الأنواع الأكسجينية النشطة (P.IONITA.,2005)

2.1.9. أنواع الجذور الحرة:

1.2.1.9. التقسيم على أساس الاستقرار:

❖ الجذور الحرة النشطة أو غير المستقرة:

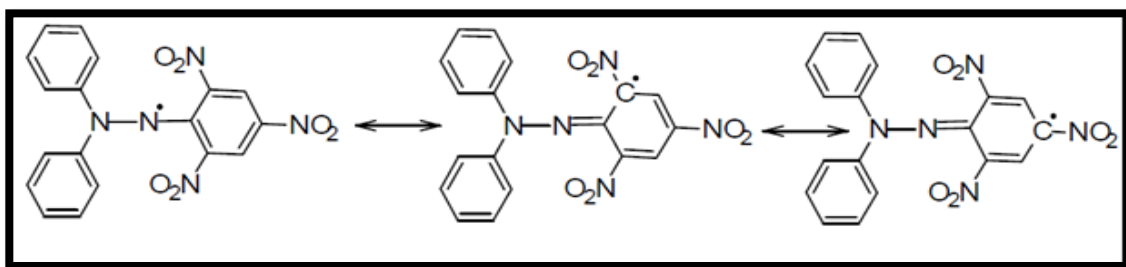
وهي التي تقدر أعمارها بالميكرو ثانية وتصل حتى بالبيكوثانية، يشمل هذا النوع الجذور ذات العناصر مثل: ذرات الهيدروجين (H) والنيتروجين (N) والفلور (F)، والكلور (Cl) والبروم (Br) واليود (I) والجذور التي لها وزن جزيئي صغير مثل: الميثيل (CH₃)، الإيثيل (C₂H₅)، الفينيل (C₆H₅) والهيدروكسيل (OH)، وطاقة تنشيطها تقترب من الصفر. (P.IONITA.,2005)

❖ الجذور الحرة المستقرة:

وهي التي لها أعمار طويلة تقدر بالثواني أو الساعات أو حتى أيام مثل جذور ثلاثي بركريل هايدرازيل (DPPH) فمحلول الجذر الأول يكون ذو لون أصفر ومستقرا بدرجة حرارة الغرفة لبعض ساعات، أما الجذر الثاني فيكون مادة صلبة ذات لون بنفسجي مسود ويكون مستقرا لعدة أيام.

ونستطيع القول بأن معظم الجذور الأروماتية التي تشتمل على تراكيب رنينية متعددة في تركيبها الجزيئي تكون مستقرة في أغلب الأحيان ويعزى استقرار هذا النوع من الجذور لعدم تركز الإلكترون المنفرد بموقع معين في

تركيب الجذر، وخير مثال على ذلك تركز الإلكترون المنفرد بجذر DPPH. (P.IONITA.,2005)



الشكل (8.II): البنيات الرنينية في جزيئة DPPH

إن إزالة الجذور الحرة بواسطة مضادات الأكسدة مهمة جدا لصحة وحياة الكائن الحي ومع ذلك فالجذور الحرة ليست بمجرد مواد ضارة فحسب، لكنها قد تكون في بعض الأحيان بمثابة السلاح الذي يستخدمه الجسم للدفاع عن نفسه. (بن خناثة مباركة، 2014)

2.2.1.9. التقسيم على أساس النوع:

يمكن تقسيمها إلى جذور حرة أو جذور أكسجينية، جذور حرة نيتروجينية (أكسيد النيتريك وثنائي أكسيد النتروجين) وجذور حرة دهنية. (د. ريدة أبو سمرة، 1999)

3.1.9. إضرار الجذور الحرة:

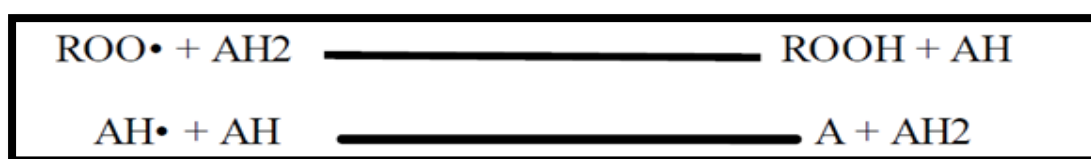
تخضع الخلية لظاهرة التوتر الأكسدي وهذا عندما لا تتمكن الأنظمة المضادة للأكسدة من مواجهة تدفق الأنواع الأكسجينية المتكونة، مما يسبب ضرر واقع على الحامض النووي يؤدي أي طفرات مما ينتج عنها موت الخلايا أو تسرطنها، وإما ضرر واقع على البروتينات والذي يؤدي إلى تغير طبيعة البروتينات ومن ثم وظيفتها أو تحولها إلى أشكال جديدة مما يؤدي إلى أمراض المناعة الذاتية. (د. ريدة أبو سمرة، 1999)

أما أخطر الأضرار هي التي تقع على مستوى الدهون، أو الأكسدة الفوقية للدهون، ويشتمل على زيادة سيولة الجدران الخلوية وتطفر الحامض النووي ومن أضرارها أيضا تثبيط السلسلة التنفسية للميتوكوندري، زيادة نشاط الإنزيمات المصاحبة لتوتر الأكسدة. (مسعي م.أ.، 2013)

2.9. مضادات الأكسدة:

1.2.9. تعريف مضادات الأكسدة:

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



والدور الأساسي لمضادات الأكسدة هو كسر سلسلة التفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة وتستطيع أن تعدل أو تصلح الإتلاف الذي تسببه الجذور الحرة. (بولوطه ح.، 2009)

2.2.9. تصنيف مضادات الأكسدة:

❖ مضادات أكسدة طبيعية:

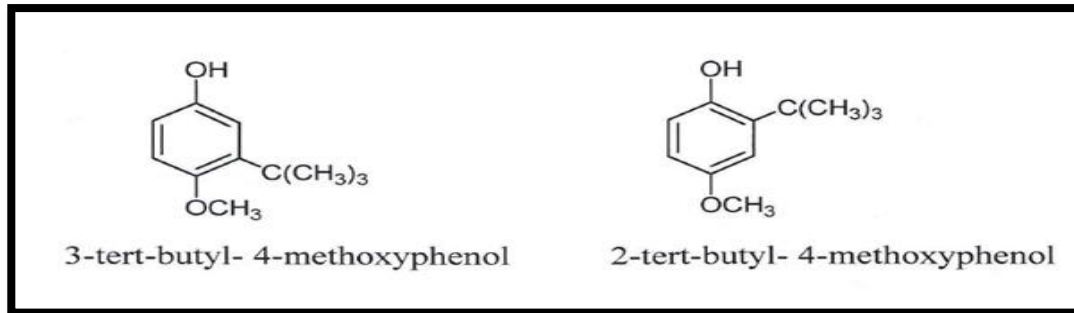
ونقصد بذلك ما تنتجه المادة الحية من مضادات كالألإنزيمات الجلوتاثيون والكتالاز والبيروكسيداز والفيتامينات مثل: فيتامين C والفيتامين E وتعداها إلى المعادن الطبيعية كالزنك والسيلينيوم وغيرها. (حوة إ.، 2013)

❖ مضادات أكسدة مصنعة:

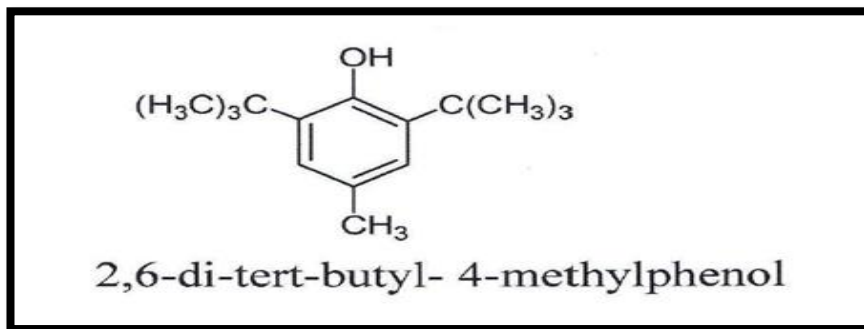
تعتبر عنصر أساسي يجب إضافته للأطعمة المعلبة للتقليل من إفسادها إلى أقصى حد وذلك لتأكسدها قبل غيرها، وكذا تستعمل في الصناعة كصناعة المطاط والمشتقات البترولية منها: (BHA)

Butylhydroxytoluene (BTH) و Butylhydroxyanisole

وحمض الغاليك . (P.IONITA.,2005)



الشكل (9.II): يوضح بنية ال BHA.



الشكل (10.II): يوضح بنية ال BHT.



الشكل (11.II): يوضح بنية GA.

قائمة المراجع

المراجع العربية:

- بن خنثة م.، المساهمة في دراسة نبات الكلخة *Ferula Vesceritensis* مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة قاصدي مرباح. ورقلة. ص: 83. (2014)
- بولوط ح.، النشاط المضاد للتأكسد وإمكانية وقاية المستخلص الميثانولي لنبتي *Matricaria pubescens* و *Centaurea Incana* على السمية الكبدية. مذكرة ماجستير، جامعة منتوري قسنطينة. ص: 125. (2009)
- بومعراف م، فصل وتحديد منتجات الايض الثانوي الفلافونيدي للنبته (Ghar)، مذكرة ماجستير في العلوم، جامعة منتوري قسنطينة. ص: 33-35 (2007)
- حوة إ.، دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نبات العائلة الشفوية والفعالية ضد الاكسدة. مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة. ص: 109. (2013)
- الخطيب ر، 2014- علم العقاقير (الثانينات والكومارينات)، كلية الصيدلة للسنة الثالثة. ص: 20
- د. ريده ابو سمرة، الجذور الحرة، جملة مضادات المؤكسدات وداء والتهاب المفاصل الرثياني، مجلة جامعة دمشق المجلد 15 العدد 2، 1999.
- ربيعي ع. ك، المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء تحليلية ومراقبة المحيط، جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2010).
- ريده ا.، الجذور الجرة جملة مضادات المؤكسدات وداء التهاب المفاصل الرثياني. مجلة جامعة دمشق، المجلد 15، العدد 2. ص: 1-6. (1999)
- زمالي ج، دراسة فيتو كيميائية وبيولوجية لنبته صحراوية، مذكرة ماستر كيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة. (2007)
- زيدان م، دراسة الفعالية المضادة للأكسدة والبكتيريا لمستخلصات الرمان *Punica granatum* L.، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص 35-37. (2018)
- سعيدة ا، فصل وتحديد نواتج الايض الثانوي الفلافونيدي لنبته *Euphorbia Guyoniana*، مذكرة ماستر كيمياء، جامعة حمه لخضر الوادي. ص: 44 (2016)

- بن مرعاش ع، دراسة نواتج الايض الثانوي الفلافونيدي والفعالية المضادة للاكسدة للنبة *Convolvulus supinus* Coss. & Kral (Convolvulaceae)، مذكرة الماجستير في الكيمياء، جامعة منتوري بقسنطينة. ص: 16-18 (2012)
- بوديار ط، فصل وتحديد نواتج الايض الثانوي و دراسة الفعالية المضادة للاكسدة لنبتة *Euphorbia guyoniana*، مذكرة ماستر كيمياء. جامعة حمه لخضر الوادي. ص: 27
- شمسة اخ، اسنخلاص المواد الحيوية الفعالة من بعض النباتات الطبية الجزائرية مثل *Cotula cinerea* و *Matricaria pubescens* ودراسة النشاطية المضادة لبعض الاحياء الدقيقة الممرضة، مذكرة ماجستير في منتجات طبيعية ذات اصل نباتي، جامعة العربي بن مهيدي ام البواقي. ص: 13-20 (2004)
- صندالي ع، المسح الكيميائي لنبتتين من عائلة *Chénopodiaceae* و *Brassicaceae*، مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص: 78 (2013)
- طويل ن وفارس، المساهمة في دراسة تاثير مستخلص قشور ثمار نبات الرمان *Punica granatum.L* على تثبيط نمو بعض السلالات البكتيرية الممرضة، ودراسة الفعالية المضادة للاكسدة لمستخلص الثانينات، مذكرة ماستر كيمياء. جامعة حمه لخضر الوادي. ص: 22 (2015)
- العابد إ.، دراسة العالقة المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة للمستخلص القلويدي الخام لنبات الضمران *Traganum nudatum*. مذكرة ماجستير في الكيمياء. جامعة قاصدي مرباح، ورقلة ص: 106. (2007)
- كركوبي م، دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص المائي والايتانولي لقشور الرمان الحامض والحلو، مذكرة ماستر كيمياء، جامعة حمه لخضر الوادي. ص: 18 (2016)
- مسعي م.أ، دراسة فيتوكيميائية للبيدات والفينولات لنوى خمسة أنواع من التمر المجني من منطقة ورقلة، مذكرة ماجستير ورقلة (2013).
- مود ص، استخلاص المركبات الفينولية من قشور البرتقال ودراسة فعاليتها البيولوجية، مذكرة ماستر كيمياء، جامعة حمه لخضر الوادي. ص: 35 (2015)

المراجع بالفرنسية:

- Afaq, F., Saleem, M., Krueger, C.G., Reed, J.D., Mukhtar, H., 2005. Anthocyanin- and hydrolyzable tannin-rich pomegranate fruit extract modulates MAPK & NF-kappaB pathways and inhibits skin tumorigenesis in CD-1 mice. Int. J. Cancer. 113(3), 423-433.
- AHMED S., WANG N., HAFEEZ B., CHERUVU K., 2005- Haqqi TM :Punica granatum L extract inhibits IL-1beta- induced expression of matrix metalloproteinases by inhibiting the activation of MAP kinases and NF-kappaB in human chondrocytes in vitro .135. P:2096-2102.

- Apel, K. & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 373-399.
- ATTOU A., 2011- contribution a l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *ruta chalepensis* (fidjel) de la région d'Aïn Temouchent. mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister en biologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. P:199.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *The World Allergy Organization journal*, 5(1), 9.
- BROWN D., RASHOTTE A., MURPHY A., NORMANLY B., TAGUE W., PEER L., TAIZ G., 2001. Flavonoids act as negative regulators of auxine pharmacie. *Botanique – Pharmacognosie – Phytothérapie – Homéopathie*. Ed. Pharmacol, 32.P :1995.
- Bruneton.J.(1 999) Pharmacognosie-phytochimie,Plantes médicinales, 2^e édition.Lavoisier-technique et documentation.paris,p. I095. PP7 84 -7 7 9 . PP. 783 - I 08 6.
- DJAHRA Ali Boutlelis., 2014. Cours phytochimie II 2^{ème} Année master. Université Echahid Hamma Lakhdar El Oued. P:5-26
- HERTOGE M., 1995- Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart. disease and cancer in the seven countries study. *Archives of Internal Medicine*, Vol. 155 No. 4.p:28.
- HHURABLEILLE M., 1980- Abrégé De Matière Médicale, Pharmacognosie, tom1 Généralisés. Monographies. Masson, P:10-18, 261-266.
- J.L. Guignard,L. Cosson, M.Henry , Alirégé de phytochimie. Masson, p 138-154(1985).
- John Mc Murry,Tadhg Begley, Chimie Organique des Processus Biologiques, 1^{re} édition, Paris, p54-55 (2005).
- P.IONITA, Is DPPH Stable Free Radical a Good Scavenger for Oxygen Active Species?, *Chem. Pap.* 59 (1) 11—16 (2005)
- Richter.E.(1 993)Métabolisme Des végétaux . Physiologie et Biochimie .pp:376
- Said Rahal,"Chimie des produits naturels et des êtres vivants",Alger,p 63-78(2009).
- Satyajit, D.(2007). Chemistry for Pharmacy Students, John Wiley & Sons Ltd, EnglandPINTO W., NES W., 1685- Stereochemical

- Specificity for Sterols in *Saccharomyces cerevisiae*. J. Biol. Chem. 28.P: 4472-4476.
- SHUKLA M., GUPTA K., et al. – Bioavailable constituents/metabolites of pomegranate (*Punica granatum L.*) preferentially inhibit COX2 activity ex vivo and IL-1 β -induced PGE2 production in human chondrocytes in vitro. Journal of inflammation. 2008. Vol. 5. N°9. Pages 1à 10.
 - Wagner H., Bladt S., 1996. Plant drug analysis: A thin layer chromatography atlas. Edit. Springer 2nd. Munich, p. 384.
 - Wilfred Vermeris., Ralph Nicholson. Phenolic compound biochemistry
 - YOCHUM L., 1999. Dietary Flavonoid Intake and Risk of Cardiovascular Disease in Postmenopausal Women. American Journal of Epidemiology.p: 149-10.
 - ZHOU J., WANG L., WANG J., TANG N., 2001. Antioxidative and antitumour activities of solid quercetin metal(II) complexes. Transition Met. Chem ,26(1-2), 57-63.

الفصل الثالث

الدراسة البيولوجية

• تمهيد:

تتواجد البكتيريا في كل مكان من حولنا في الماء والهواء وكما تعيش في الاغذية وداخل وخارج اجسامنا وفي أي نظام بيئي، وهناك الاف الانواع منها ويعيش عدد كبير منها داخل جسم الانسان وهي في معظمها غير ضارة له ومنها ما يسبب بعض الامراض، غير ان الكثير منها نافعة، و قد كان للكشف المجهرى الاثر الكبير في التعرف عليها.ارتبط اسم البكتيريا كثيرا بالامراض التي تسببها الانسان و لكن الاكتشافات الحديثة والتقدم السريع الذي حدث في العلوم التطبيقية اظهرت ان البكتيريا تلعب دورا هاما في الكثير من المجالات كالصناعات الدوائية والغذائية والمعالجة الحيوية لمخلفات المزارع و استخدامها في انتاج الطاقة وغاز الميثان وكذلك التخلص من المواد العضوية وغير العضوية ومعالجة المياه.

1. تعريف البكتيريا:

البكتيريا كائنات دقيقة لا ترى الا بالعين المجردة ($10^6 \times$) او المجهر الضوئي ($10^3 \times$). وتستطيع جرثومة البكتيريا العيش لمدة طويلة متحملة جميع الاحوال غير الملائمة من ارتفاع درجة الحرارة، او انخفاضها، او غير ذلك من الظروف البيئية القاسية، وعند تحسن الظروف البيئية المحيطة تتخلص الجرثومة من الغشاء السميك، وترجع الى سابق عهدها نشاطا وحيويا. (PARRENO K., 2013)

2. تركيب الخلية البكتيريا:

تتركب الخلية البكتيرية من:

1.3. اربع اجزاء رئيسية:

- **الجدار الخلوي:** جدار سميك يتالف من طبقتين في البكتيريا الموجبة الغرام (G^+) وثلاث طبقات في بكتيريا السالبة (G^-) هذا الاخير الذي يظهر اقل سمكا من جدار الخلية موجبة الغرام، ويتكون الجدار الخلوي من مواد سكرية ودهون، وظيفته الحماية والدعامة واعطاء البكتيريا الشكل المميز لها وهو الذي يحدد نوعية صبغة البكتيريا وكذلك يوجد به السم الداخلي للبكتيريا Endo Toxi.
- **الغشاء البلازمي:** غشاء رقيق جدا مكون من الدهون والبروتينات، يتالف من البلايين الثنيات Mesosomes، وظيفته المشاركة في عملية الانقسام البكتيريا وهو مركز انزيمات التنفس ويحدد نوعية وكمية المواد التي تنفذ من او الى البكتيريا والتي تعرف بالنفاذية الاختيارية.

- **السيتوبلازم:** كتلة بروتينية هلامية تحتوي على غذاء مدخر وتدور فيها المواد الغذائية والفضلات لخراجها، وكذلك توجد بها حبيبات من مادة الـ ARN تعرف بالريبوزومات، وظيفتها تكوين البروتينات مثل الانزيمات والهرمونات، وكذلك يوجد بها حبيبات مكونة من الـ ADN تحمل صفات جينية معينة وتعرف بالبلازميدات.
- **النواة:** نواة البكتيريا بسيطة تتكون من كروموزوم واحد ملتف حول نفسه يوجد في مركز الخلية وليست محاطة بغشاء نووي ولا توجد بها نويات أو سائل نووي، وظيفتها السيطرة على جميع عمليات الخلية وص
- فاتما بما تحتويه من جينات وكذلك بدء عملية التكاثر. (مجلة العلوم، 1999)

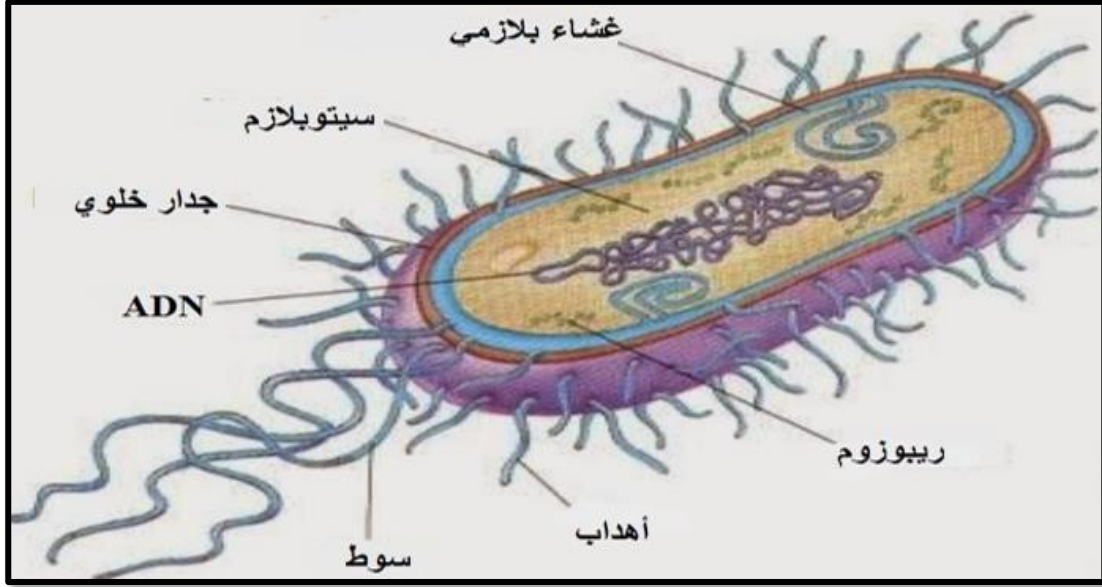
2.3. اربع اجزاء اضافية:

- قد يوجد احداها في بعض الخلايا او لا توجد فهي ليست ضرورية لحياة البكتيريا.
- **الهديبات:** زوائد دقيقة تسمى Pilli، وظيفتها التثبيت على سطح الخلايا وبعضها يعرف بالهديبات الجنسية التي تلتصق ببعضها لاندماج الانوية من خلية لآخرى، وهي مسؤولة عن ضروريات البكتيريا (بكتيريا السيلان مثلا).
- **الاسواط Flagella:** زوائد طويلة جدا حول البكتيريا في توزيع مميز لكل نوع فقد تخرج من طرف واحد من الخلية او كلا الطرفين، او من جميع سطح البكتيريا وهي المسؤولة عن حركة البكتيريا (العصيات المعوية E.Coli).
- **الحافظة Capsule:** طبقة هلامية سميكة تحيط بالبكتيريا وتمنع التصاقها بالخلايا البلعمية (Phagocyte) لذلك فهي من عوامل ضرورية لبعض الانواع وتوجد في الثنيات الرئوية.
- **البذور Spores:** عندما تسوء الظروف البيئية (الجفاف، ندرة الغذاء، الـ PH) تكون بعض انواع البكتيريا جدار سميك يحيط النواة وقليل من السيتوبلازم و يعرف هذا التركيب بالبذرة التي تظل حية لمدة طويلة الى ان تتحسن الظروف في تشقق جدار البذرة وتخرج منه النواة وتستعيد شكل البكتيريا مثل الجمرة الخبيثة، الغرغرينا الغازية وهذه البذور بكتيرية تقاوم حتى درجة 121° م على عكس البكتيريا الخضرية التي لا تقاوم حتى درجة 100°C. (مجلة العلوم، 1999)

دورة حياة الخلية تتركز في استمرارية انقسامها، حيث حوالي كل 20 دقيقة تنقسم الخلية البكتيرية لإعطاء خليتين جديدتين فخلال ساعات تعطي خلية بكتيرية واحدة الملايين من الخلايا، واغلب البكتيريا تتكاثر بطريقة الانشطار الثنائي. وأيضا لدرجة الحرارة تأثير على بقاء وتكاثر البكتيريا، فمنها من تعيش في درجات الحرارة

المنخفضة ومنها من تعيش في درجات الحرارة العالية بالإضافة إلى ان PH المثالي لنمو البكتيريا هو في حدود PH=7 وإن الأوساط التي تكون غنية بالماء والرطوبة تعتبر وسط جيد لتكاثر البكتيريا.

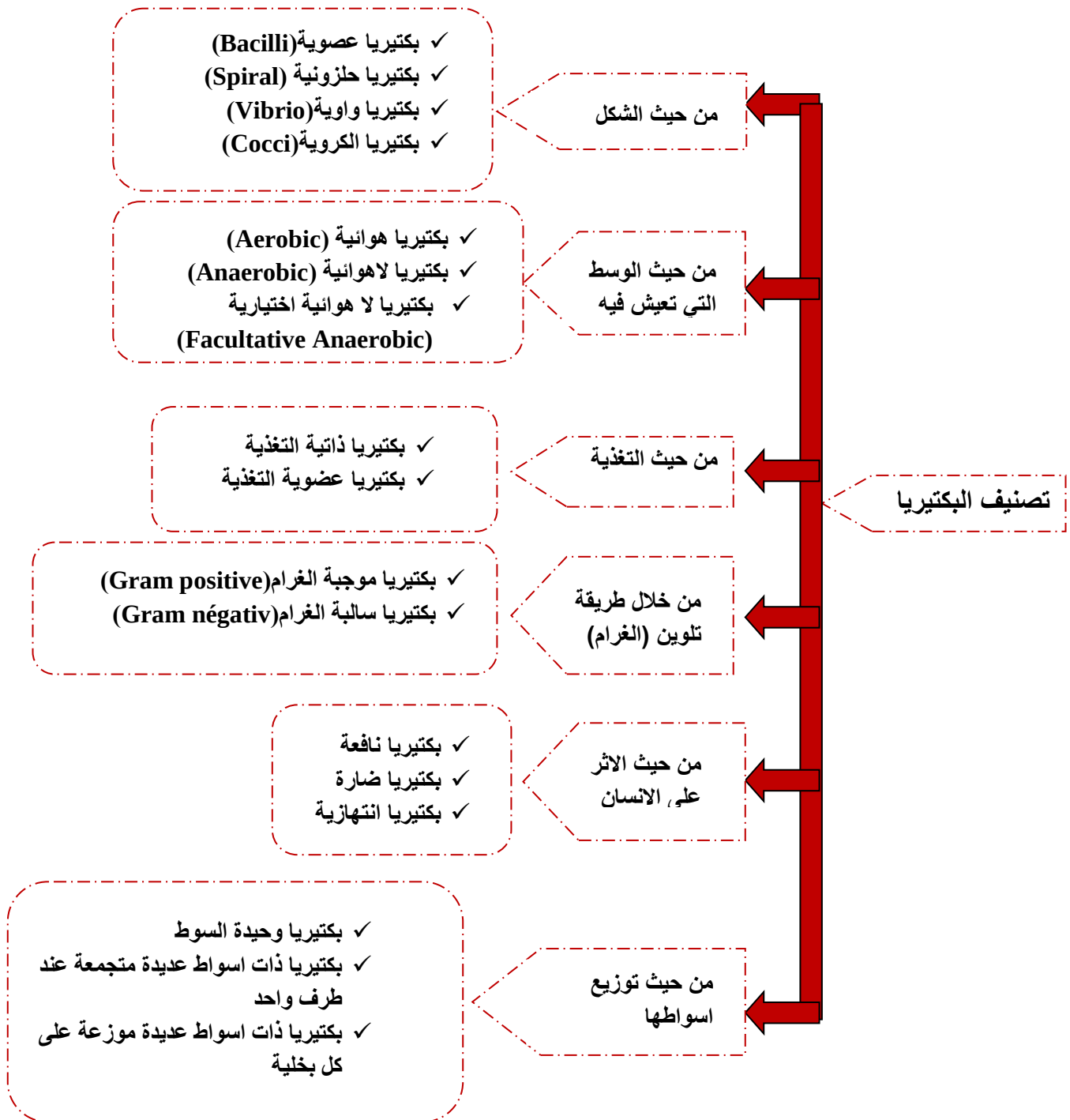
(Silvia Michanie..2003)



الشكل (1.III): بنية البكتيريا.

4. تصنيف البكتيريا:

تختلف البكتيريا في قدرتها على استعمال مصادر الطاقة وإنتاج الغازات (CO_2 الناتج من الغلوكوز)، وفي إفراز السموم والإنزيمات، وايضا تختلف من حيث البنية وشكل الخلايا والقدرة المرضية، وكذلك حساسيتها للمضادات الحيوية. هذه الاختلافات اظهرت طرقا حيوية متعددة لتمييز البكتيريا. إن الهدف الأساسي من تصنيف البكتيريا هو التعرف على أنواع مختلفة من البكتيريا وتشخيصها ووضع أسمائها في مجموعات لدراسة كل من العلاقة فيما بينها وطبيعتها الوراثية، حيث تم تصنيفها كالتالي:



الشكل (2.III): تصنيف البكتيريا. (ابو الذهب وآخرون., 1997), (جون بوستجيت., 1985),

(P. Munro et al., 2007)

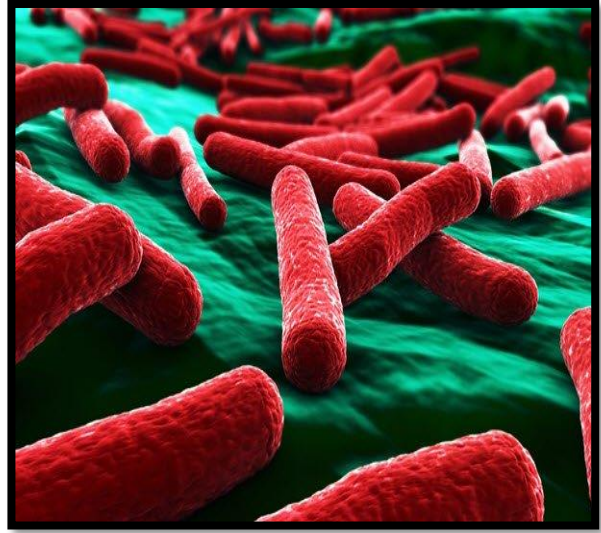
5. البكتيريا المستعملة في الدراسة:

- ❖ *Escherichia coli*
- ❖ *Pseudomonas aeruginosa*
- ❖ *Staphylococcus aureus*
- ❖ *Salmonella thyfi*

1.5. بكتيريا *Escherichia Coli*:

هي بكتيريا موجودة في الجهاز الهضمي للإنسان أو الفضلات الحيوانية، (G^-) عصوية الشكل ذات أبعاد من $1\mu m$ إلى $3\mu m$ ، سالبة غرام (G^-)، تتكاثر بسرعة عند درجة حرارة $37^\circ C$ تمتاز بأنها تنتج كمية CO_2 مساوية لكمية O_2 تؤدي إلى تخميص اللبن وبالتالي تخثره. إضافة إلى تسببها لعدة أمراض: كأعراض الجهاز التنفسي، التهاب الزائدة الدودية، التهاب القلب، الإسهال الطفيلي، وتسبب في ارتفاع شديد في درجة الحرارة عند انتشارها في الدم. (D. Anthony et al., 2007)، (MELLIES J et al., 2007)

المملكة	Bactérie
الصف	Proteobactérie
القسم	Gammaproteobacteria
الرتبة	Enterobacteriales
العائلة	Enterobacteriaceae
الجنس	Escherichia
النوع	Escherichia coli



الشكل (3.III): بكتيريا *E. Coli*

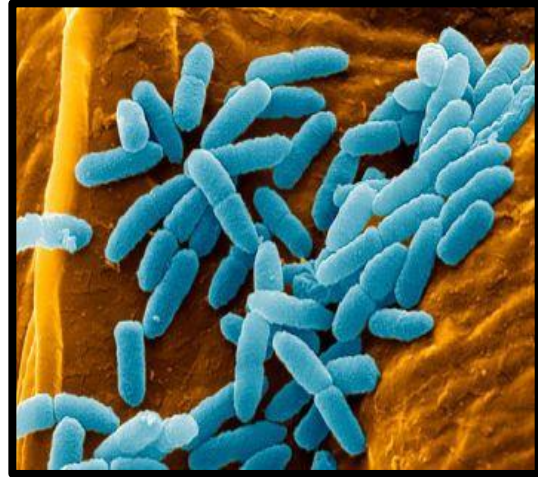
2.5. بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*:

هذه البكتيريا من نوع G^+ متحركة هوائية، وعبرة عن عصيات مستقيمة بأسواط طرفية، وهي من أقوى أنواع البكتيريا المقاومة طبيعياً لمعظم المضادات الحيوية، وذلك لامتلاكها القدرة على التصدي لهذه المضادات بعدة طرق، مصدرها الجهاز الهضمي للإنسان، الماء أو التربة، تعمل هذه البكتيريا على الإلتلاف السطحي للأغذية المبردة ومحللة للدهون الموجودة في اللبن مما يؤدي إلى تغير لونه وطعمه، كما ترتبط هذه البكتيريا بحالات العدوى المكتسبة في المستشفيات خصوصاً في غرف العمليات الجراحية، وهي أيضاً تنمو في نطاق حراري واسع

ما بين 34 الى 43 ويبلغ عرضها 0.5µm إلى 1µm أما طولها ما بين 1.5µm إلى 4µm، تعتبر ممرضة للإنسان والحيوان حيث تسبب تعفن كل من العين والحروق والجروح كما تسبب أمراض الرئتين والسحايا.

(J.N. Joffin et al.,2003)، (POOL K.,2001)

المملكة	Bactérie
الصف	Pseudomonabactéries
القسم	Gammaproteobacteria
الرتبة	Enterobacteriales
العائلة	Enterobacteriaceae
الجنس	Pseudomonas
النوع	Pseudomonas aeruginosa



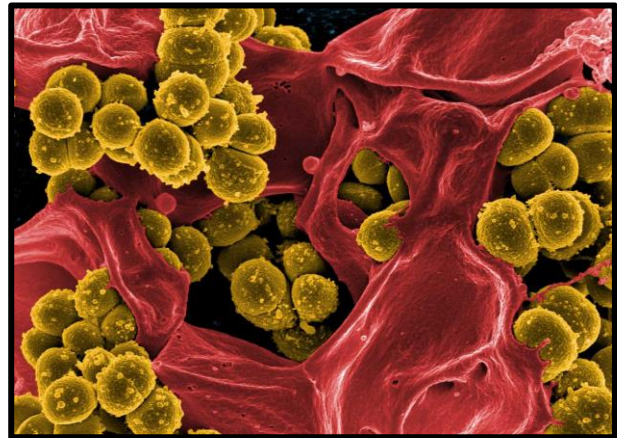
الشكل (4.III): بكتيريا PA

3.5. بكتيريا Staphylococcus aureus:

هي بكتيريا كروية الشكل ذات لون أصفر براق عديمة الحركة تكون على شكل عناقيد مكونة من النوع G^+ قطرها حوالي 1µm تتواجد عند الإنسان في الجلد والأمعاء والجهاز التناسلي وعلى الوجه، تنمو بالتنفس الهوائي أو التخمر وهي مسؤولة عن تشكل الصديد، مسببة للعديد من الأمراض من بينهم التهابات جلدية خطيرة و التهاب الرئتين وتسبب الدم وغيرها.

(KOMOLAFE A.,ADEGOKE A.,2009)، (Un article de Wikipédia.,2007)

المملكة	Bactérie
الصف	Firmicutes
القسم	Bacilli
الرتبة	Bacillales
العائلة	Staphylococcaceae
الجنس	Staphylococcus
النوع	Staphylococcus aureus



الشكل (5.III): بكتيريا S. aureus

4.5. بكتيريا *Salmonella thyfi*:

هي بكتيريا لاهوائية، عصوية الشكل ذات لون احمر يصل قطرها حوالي من $1\ \mu\text{m}$ الى $1,5\ \mu\text{m}$ ، G^- . محبة للحرارة المعتدلة ، تتواجد في امعاء الانسان والحيوان والطيور والحشرات، تسبب هذه البكتيريا مرض يتميز بالتهاب حاد في الامعاء والقولون في بداية الامر. بعد وقت من الاصابة تنتشر البكتيريا مع الدم لتسبب الالتهاب في اي عضو تستقر فيه.(عابد ابراهيم، 2009)

المملكة	<i>Bactérie</i>
الصف	<i>Proteobacteria</i>
القسم	<i>Gammaproteobacteria</i>
الرتبة	<i>Enterobacteriales</i>
العائلة	<i>Enterobacteriaceae</i>
الجنس	<i>Salmonella</i>
النوع	<i>Salmonella Entrica</i>



الشكل (6.III): بكتيريا *Salminella thyfi*.

6. المضادات الحيوية:

1.6. تعريف المضادات الحيوية:

وهي عبارة عن مركبات كيميائية عضوية تتكون نتيجة للتفاعلات الأيضية لبعض الأحياء الدقيقة، والتي تكون ذات فعالية انتقائية على الدقائق العضوية الممرضة تحت تراكيز ضعيفة، فهي تستطيع إيقاف وتنشيط نموها وتكاثرها وتسمى البكتيريوستاتيك.

وتستعمل المضادات الحيوية حاليا كنوع من المواد الكيميائية الطبيعية العلاجية لعلاج الكثير من الأمراض الميكروبية. (Zhang J.,2003)، (Solensky R et al.,2002)، (Corvaglia A.R.,2006)

2.6. انواع المضادات الحيوية:

تنقسم المضادات الحيوية الى قسمين:

❖ **مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية:** يمنع تكاثرها وهو ما يساعد على القضاء عليها.

❖ **مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية:** إما عن طريق التأثير على جدار خلية، أو التسبب في انتفاخ

خليتها وانفجارها، أو حتى يمنع تكوين البروتين داخل الخلية. (Corvaglia A.R.,2006)

3.6. طرق تأثير المضادات الحيوية:

1.3.6. مضادات تعمل على نسخ ADN:

من بين الأسباب التي تسببها المضادات الحيوية اضطراب عمل ADN مما يمنع الخلية من الانقسام وتكوين الإنزيمات الخاصة بذلك. (د. عادل نوفل، 1981)

2.3.6. مضادات تعمل على تخريب غشاء السيتوبلازمي:

بعض المضادات الحيوية تؤثر على هندسة Apidoprotine لهذا الغشاء وتحللها مما يؤدي إلى فقد السيتوبلازم الكروموزومي. (د. عادل نوفل، 1981)

3.3.6. العمل على تخريب الغشاء الداخلي للبكتيريا:

المضاد الحيوي له خواص سطحية التي تمكنه من تخريب عمل نفاذية الغشاء الداخلي، ويسمح بطرد المواد السائلة خارج البكتيريا وهذا ما يدمرها. (تامة ن د، 2007)

4.3.6. العمل على تخريب الغشاء الخارجي للبكتيريا:

المضاد الحيوي يوقف تركيب الجدار بتثبيط transpeptidase هذا ما يمنع تركيب peptidoglycane وهذا ما يوقف نموها وعملها. (تامة ن د، 2007)

7. المقاومة البكتيرية:

1.7. تعريف المقاومة البكتيرية:

ظهرت المقاومة البكتيرية مباشرة بعد بداية استعمال المضادات الحيوية ضد الأمراض المعدية، وقد أصبحت أمرا مستعصيا على الأطباء لأنها في تطور مستمر ونقول عن البكتيريا أنها مقاومة إذا كانت تستطيع النمو والتكاثر في وجود نسبة المضاد الحيوي تفوق النسبة المعتادة وهي نوعان:

❖ مقاومة طبيعية.

❖ مقاومة مكتسبة. (Seignalet.J.,2005)

2.7. طرق التعرف على الحساسية ومقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي:

1.2.7. طريقة التمديد:

تعتمد على إجراء تخفيف متدرج للمضادات الحيوية في أنابيب اختبار أو تخفيف الآجار في الاطباق ثم يزرع الميكروب، ويتم تحديد اقل جرعة مثبطة لنمو الميكروب CMI وبالطبع المضاد الحيوي ذو أقل CMI هو الذي يتم اختياره بعد النظر في ظروف المريض. (Gurin-Faubleé .V.,1999)

2.2.7. طريقة الانتشار:

هي اسهل لكنها اقل دقة، تتم بفرد كمية ثابتة من البكتيريا على سطح الآجار ومن ثم وضع اقراص المضادات ذات تركيز معلوم وتحضن مقلوبة لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37°C ، هي الاكثر استعمالا في المستشفيات لتشخيص الامراض المعدية، ويكون الوسط المستعمل صلبا من اهم الاوساط واكثرها تداولاً الوسط الجيلوزي مثل وسط Muller Hinton.

يحضر الوسط الجيلوزي بصبه في علب البيتري، من ثم تزرع البكتيريا على الوسط بطبقة مجانسة وتترك لتجف وبعد ذلك توضع اقراص الاختبار المشبعة بالتراكيز المختلفة للمضاد الحيوي المراد اختبار فعاليته، تؤخذ العينة بعد ذلك للحاضنة وتحضن العينة مقلوبة لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37°C . (Gurin-Faubleé .V.,1999)

قائمة المراجع

- المراجع باللغة العربية:
- تامة ن د.، تحضير ودراسة التفاعلية الكيميائية لمشتقات الالكليدين بيتونوليد وفعاليته البيولوجية. مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير. جامعة قاصدي مرباح ورقلة ص: 39-40 (2007).
- د. عادل نوفل، جامعة دمشق، كتاب الكيمياء الصيدلانية (الجزء النظري)، (1981).
- د. جون بوسنجيت، ترجمة دكتور عزت شعلان، الميكروبات والانسان، عالم المعرف والكويت، 1985.
- العابد إ.، دراسة العالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة للمستخلص القلويدي الخام لنبات الضمران *Traganum nudatum*. مذكرة ماجستير في الكيمياء. جامعة قاصدي مرباح، ورقلة ص: 106. (2007)
- مجلة العلوم، تحديات المقاومة البكتيرية، 15 العدد 10 أكتوبر/تشرين الأول (1999).

المراجع بالفرنسية:

- ADEGOKE A., KOMOLAFE A., 2009- Multidrug resistant Staphylococcus aureus in clinical cases in Ile-Ife, Southwest Nigeria. International Journal of Medicine and Medical Sciences. Vol. 1 (3), p: 68-72.
- Corvaglia A.R., Role résidus d'antibiotique dans environnements hydrique sur la sélection et la diffusion de bactéries résistantes des genres Aeromonas, Acinetobacter et Legionella. Thèse de doctorat l'Université deGenève(2006).
- D. Anthony, M.D.Harris, J.A.Johnson,P.J Glenn, J.K. Johnson, P.Bali more. Haw important is pqtient-transmission is extended – spectrum β -lactamase Escherichia-coli acquisition. (March 2007).
- J. Seignalet. Alimentation et Spondylarthrite. Polyarthrite rumatoide et bactéries intestinales (2005).
- J.N. Joffin, C. Schuter. Pseudomonas et apparentésou bactéries gram négatif aérobies strictes (2003).
- MELLIES J., BARRON A., CARMONA A., 2007- Enterpathogenic and enterohemorrhagic Escherichia coli virulence gene regulation. Infection and Immunity.p:4199-4210.
- P. Munro, G. Flatau, E. Lemichez. Bacteria and the ubiquity pathway.(2007).
- POOL K., 2001- Multidrug efflux pumps and antimicrobial resistance in Pseudomonas aeruginosa and releted organisms. J . MOL. Microbiol. Biotechnol. (2001)3(2):255-264.
- Silvia Michanie, Escherichia coli O157:H7 La bacteria que disparó el HACCP en la ind ustria de la carne, Énfasis Alimentos Año IX, N°3 Julio-Agosto, 2003.
- Solensky R., Earl HS., Gruchalla RS... Lack of penicillin resensitization in patients with a history of penicillin allergy after receiving repeated penicillin courses. Arch Intern Med (2002).
- Staphylococcus, Un article de Wikipédia, l'encylopédie libre. (Juillet 2007).
- Université Pierre et Marie Curie, Bactériologie, DCEM1, 2002 – 2003
- V. Gurin-Faubleé, C. Carrt. L'antibiogramme : principes, méthodologie, intérêt et limites. Journées nationales GVT – INRA. (1999)P:5-12

- Zhang J. Synthésés of Phosphinic Acide and Aza β and γ -lactams as Potential Inhibitors of D, D-Peptidases and β -lactamases. These of doctor at University Catholique de Louvain (2003).
- PARRENO K., 2013- Development and assessment of pomegranate (*Punica granatum*.L) derived food products. Rich in bioactive phytochemicals. Thèse doctora.

الباب الثاني: الجزء التطبيقي

الفصل الرابع: الوسائل والطرق

● مدخل:

هذا الفصل يتضمن الدراسة التجريبية، ففيه سيتم تحضير المستخلصات النباتية لاوراق نبات الرمان *Punica Granatum.L* وكذلك الكشف عن بعض المواد الفعالة في الاوراق والفعالية البيولوجية.

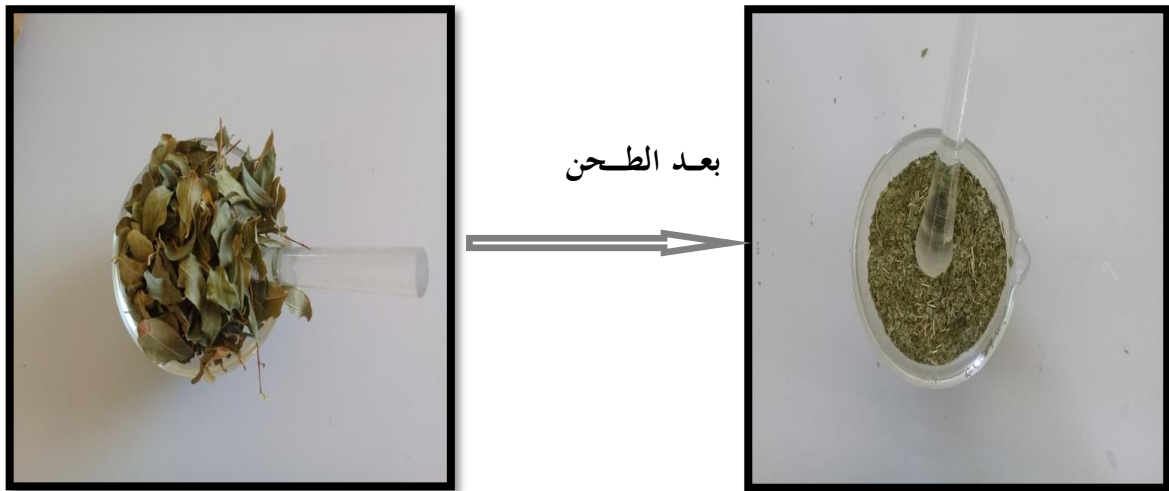
1. تحضير العينة:

● تحضير عينة الدراسة:

تم انجاز الدراسة العملية بتحضير المستخلصات النباتية في المخابر التابعة لكلية العلوم الدقيقة في جامعة الشهيد حمة لخضر، واختبار الفعالية البيولوجية في مخبر التحاليل بمستشفى البشير بن ناصر لولاية الوادي .

● جني النبتة وتجفيفها :

تم الحصول على أوراق نبات الرمان الحامض من منطقة ورماس بولاية الوادي في تاريخ 10 أكتوبر 2018. قمنا بتجفيف النبتة في الظل تحت درجة حرارة عادية مع القيام بتقليبها من حين إلى آخر لضمان التجفيف الجيد ومنع تعفن النبات في حالة ما كانت الرطوبة العالية وهذا بعد غسلها ونزع كل الغبار والشوائب العالقة بها، بعد ذلك نطحن العينة النباتية باستخدام الهاون.



الشكل (1.VI): الاوراق قبل وبعد الطحن

2. الادوات والاجهزة والوسائل:

الجدول (1.VI): ادوات ومواد واجهزة المستعملة في الدراسة.

الادوات	الاجهزة	المواد
• ارلن ماير . • ماصة معيارية . • انابيب اختبار . • بيشر . • ملعقة . • هاون، ورق، ماصة . • ورق ترشيح . • قمع . • علب بيترى • الاقراص الخاصة بالبكتيريا	• جهازالمبخرالدوراني . • جهازمطيافية الاشعة فوق البنفسجية المرئية (UV-Visible) . • حاضنة . • مخلاط مغناطيسي . • معقمة . • ميزان الكتروني حساس .	• DMSO . • gélose nutritive . • ايثانول ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$) . • حمض الغاليك ($\text{H}_2\text{O}$, $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$) (99%) • كاشف فولين (Réactif de Folin-Ciocalteu) • كرسيتين، ماء فيزيولوجي، ماء مقطر • محلول ثلاثي كلوريد الالمونيوم (H_2O, AlCl_3) (97%) ($\text{M}=241.43\text{g/mol}$) • محلول كربونات الصوديوم (Na_2CO_3) (99.8%) ($\text{M}=105.99\text{g/mol}$)

3. تعريف الاستخلاص:

هو عبارة عن فصل المواد الطبيعية او المواد المركبة من المادة الخام باستعمال المذيبات العضوية، اذا كانت المادة المراد فصلها سائلة فنطبق عليها استخلاص (سائل-سائل) و اذا كانت صلبة فنطبق عليها استخلاص (صلب-سائل) (S.MITRA.,2003).

3.1. طريقة الاستخلاص :

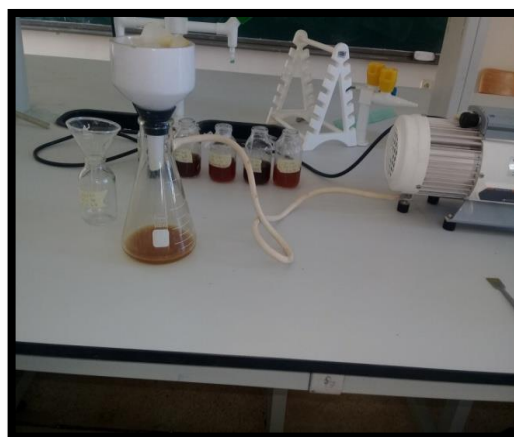
قمنا أولاً باختبار المذيب كمذيب قطبي (الايثانول)، بعد تخفيف العينة نقوم بوزن كتلة قدرها 15 g بواسطة ميزان الكتروني حساس، ثم نضعها داخل بيشر ونضيف لها حجم من الايثانول والماء (بنسب مختلفة بين الايثانول والماء)، نغطي النقيع لمنع تبخر ونضعه فوق مخلاط مغناطيسي لمدة 48 ساعة.



الشكل (2. VI): نقع العينات النباتية بالايثانول و الماء بنسب مختلفة.

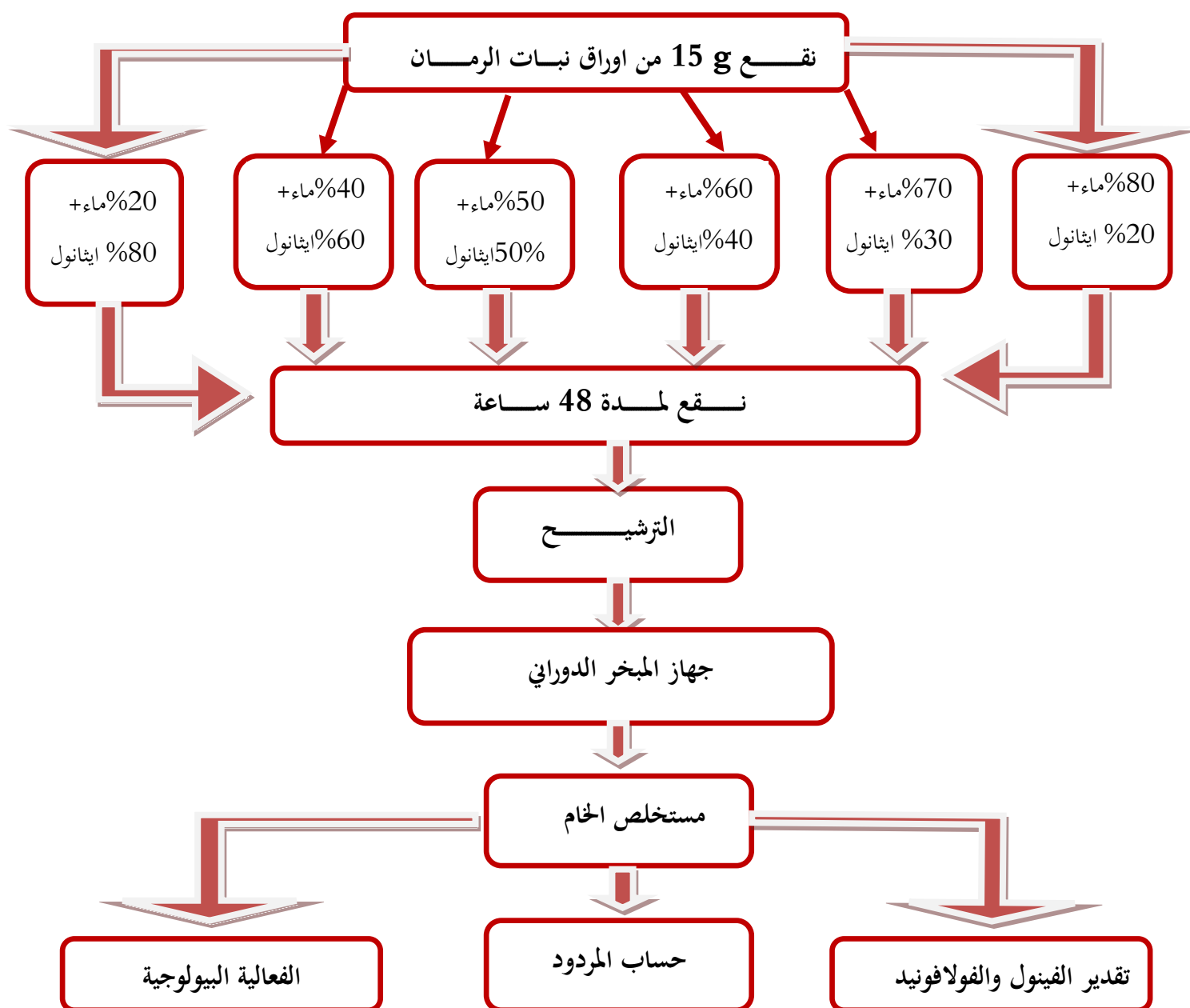
2.3. طريقة الترشيح:

بعد عملية النقع للعينات الستة للمدة المذكورة سلفا نقوم بترشيح النقيع باستعمال ورق الترشيح (Whatman) ونكرر العملية ثلاث مرات للحصول على ترشيح افضل ثم و نوضع في جهاز المبخر الدوراني (Rotavapour) ونتركه تحت التهوية للحصور على مستخلص ذو قوام سميك.



الشكل (3. VI): ترشيح العينات بعد النقع

4. مخطط الاستخلاص:



الشكل (4.VI): مخطط عام للاستخلاص

5. حساب مردود المستخلصات:

المردودية الإنتاجية للمستخلصات هي النسبة بين كتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة التي تم الحصول عليها والتي نرمز لها بـ (M_F) على كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة ويرمز لها بالرمز (M_I) ويحسب بالعلاقة التالية:

$$R\% = (M_F/M_I) \times 100$$

❖ M_F : الكتلة النهائية .

❖ M_I : الكتلة الابتدائية .

❖ $R\%$: المردودية الإنتاجية للمستخلصات بـ % (BOUKRIN H.,2014)

6. تقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق بنفسجية-المرئية:

1.6. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية UV-visible:

تعد هذه التقنية من أقدم طرق التحليل الكيفي والكمي وأكثرها إستخداما ، تساعد في تحديد البنى الكيميائية للمركبات، ومن أهم طرق التقدير الكمي طريقة قياس الإمتصاصية (الكثافة الضوئية) للمحاليل، حيث مجالها الكهرومغناطيسي (طولها الموجي) ما بين 400-800 nm (Asadi S et al.,2010)

2.6. تقدير المركبات الفينولية والفلافونيدية لمستخلصات اوراق الرمان:

• التقدير الكمي للمركبات الفينولية:

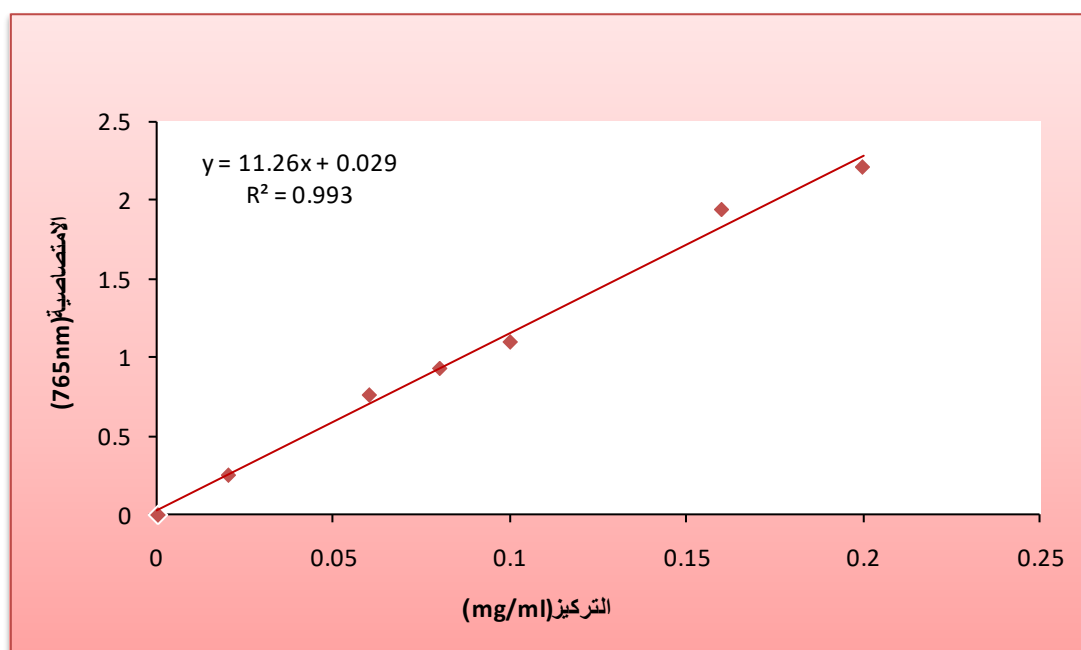
تقدر الفينولات بطريقة (Singleton Rossi) بمساعدة كاشف الفولين Folin-ciocalteai، حيث أن هذا الكاشف يتكون من حمض فوسفوتنغنستينيك ($H_3PW_{12}O_{40}$) وحمض فوسفوموليبيديك ($H_3PMo_{12}O_{40}$) الذي يرجع بواسطة الفينولات إلى أكاسيد التنغنستين (WO_3) والموليبيدين (MoO_3) ذات اللون الأزرق.

يتم تقدير المركبات الفينولية كميًا بواسطة جهاز طيف الأشعة فوق بنفسجية و المرئية بإستعمال حمض الغاليك كفينول مرجعي عند الطول الموجي $\lambda_{max} = 760nm$ (Gekker, G et al.,2005)

• المنحنى العياري لحمض الغاليك

قمنا بتحضير تراكيز مختلفة تتراوح ما بين $[0.3-0.03\text{mg/ml}]$ ، نأخذ من كل محلول 0.2 ml في أنبوب اختبار ثم نضيف لها 0.5 ml من كاشف (Folin) الممدد 10 مرات ثم نضعها في الضلام لمدة 5 دقائق ، بعدها نضيف 0.8ml من كربونات الصوديوم (Na_2CO_3) ونرج الأنابيب جيدا ونضعها في الضلام لمدة 30 دقيقة. بعدها نقوم بقراءة النتيجة في جهاز مطيافية الأشعة فوق بنفسجية في طول موجة

$$(Y.I. Tur'yan.P.,2004).\lambda_{\max}=760\text{nm}$$



الشكل (5.VI): منحنى العياري لحمض الغاليك.

✓ طريقة العمل :

نقوم بتحضير المستخلص الأم وهذا بإذابة 50 mg من كل عينة موجودة ، ومن هذا الأخير نقوم بتحضير تراكيز مقدرة 0.4mg/ml ، نقوم بمزج 0.2 ml من المستخلصات المحضرة مع 0.5 ml من كاشف الفولين (Folin-Ciocalteu) الممدد 10 مرات ثم نحضن الأنابيب في الضلام لمدة 5 دقائق، بعدها نضيف 0.8ml من كربونات الصوديوم (AlCl_3) (7.5%) ونحضن في الضلام لمدة 30 دقيقة، حتى نتحصل على اللون الأزرق الفاتح ويتم القراءة في طول الموجة المذكورة سابقا.



الشكل (6.VI): المستخلصات بعد الكشف عن الفينولات.

● التقدير الكمي للفلافونيدات:

يعتمد في تقدير الفلافونويدات على قدرة تكوين المعقد الأصفر بين ثلاثي كلور الألمنيوم ($AlCl_3$) مع مجموعة الهيدروكسيل (OH) الموجودة على الحلقات البنزينية للفلافونويدات، حيث يشكل معقدا ثابتا بين مجموعة الكربونيل و هيدركسي الموقع 5 و 3، كما يشكل معقدات غير ثابتة مع مجموعتي اورثو هيدركسي، ذو معامل إمتصاص عال. ويمتص عند طول موجة $\lambda_{max}=420nm$.

تقدر كمية الفلافونويدات بواسطة جهاز طيف الاشعة فوق بنفسجية و المرئية (UV-Vis) بإستعمال

الكركستين كمحلول قياسي عند الطول الموجي $\lambda_{max}=420nm$ (Campos, M.R.G et al., 2008).

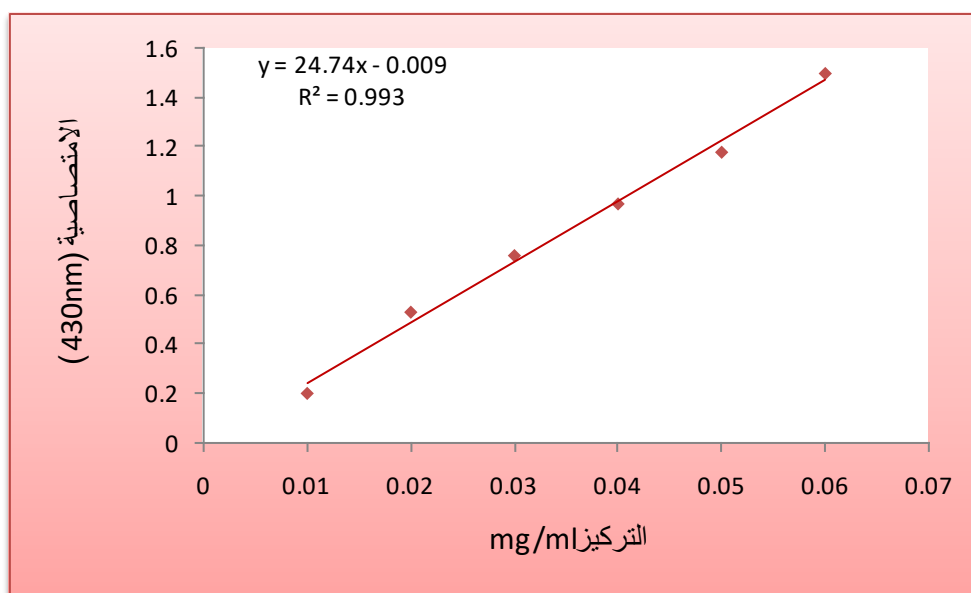
المنحني العياري للكركستين:

قمنا بتحضير تراكيز مختلفة من محلول الكركستين محصورة ما بين $[0.1-0.02mg/ml]$ ، نأخذ من كل

تركيز 1.5ml ثم نضيف له 1.5 ml محلول ثلاثي كلور الألمنيوم ($AlCl_3$) ونتركها في الظلام لمدة 1 ساعة، بعدها

نقوم بقراءة الامتصاصية في جهاز مطيافية الأشعة فوق بنفسجية UV-visible عند طول موجة

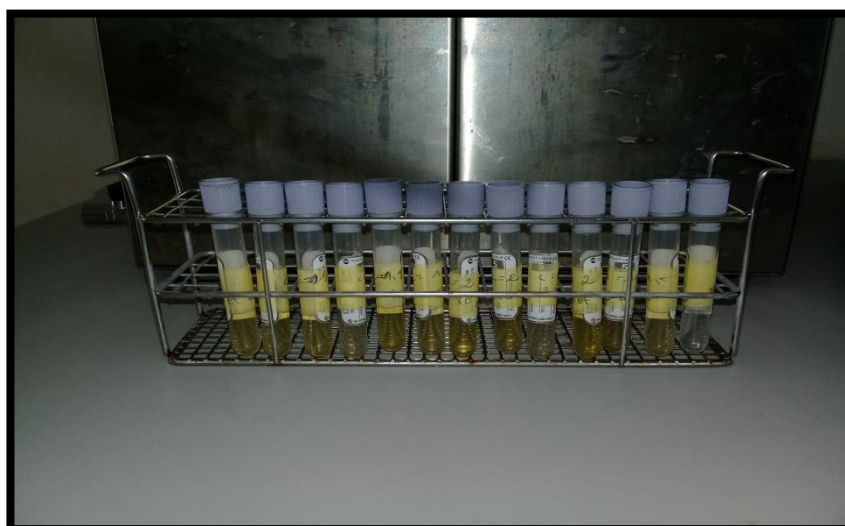
$\lambda_{max}=420nm$.



الشكل (7.VI): منحنى العياري للكركستين.

✓ طريقة العمل

نقوم بتحضير المستخلص الأم وهذا بإذابة 50 mg من كل عينة موجودة لدراسة، ومن هذا لأخير نقوم بتحضير تراكيز مقدرة 2mg/ml، نقوم بمزج 1.5ml من المستخلصات المحضرة مع 1.5ml من محلول محلول ثلاثي كلور الألمنيوم $AlCl_3$ ثم نحضن الانابيب في الظلام لمدة 1 ساعة ، حتى نتحصل على اللون الاصفر وتتم القراءة في طول الموجة المذكورة سابقا.



الشكل (8.VI): مستخلصات بعد الكشف عن الفلافونيدات.

7. دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا للمستخلصات بتقنية اختبار الحساسية بالأقراص:

في هذه الدراسة قمنا باختبار الفعالية البيولوجية للمستخلصات الستة السابقة تجاه أربع سلالات بكتيرية ممرضة بتطبيق أشهر الطرق المستخدمة وهي طريقة الانتشار حول الأقراص (Methodes des disques)، والبكتيريا المستعملة في الدراسة هي:

- ❖ *Escherichia coli*
- ❖ *Pseudomonas aerogenosa*
- ❖ *Salmonella typhi*
- ❖ *Staphylococcus aureus*

✓ طريقة العمل :

قبل البدء في هذا العمل يجب تعقيم كل الادوات في المعقمة وتنظيف الجيد لمكان العمل بالقرب من موقد البنزن .

1.7. تحضير التراكيز المختلفة لكل مستخلص:

قمنا بتحضير أربعة تراكيز مختلفة (5mg/ml، 10mg/ml، 15mg/ml، 20mg/ml)، واستعملنا DMSO كمذيب.

2.7. تحضير أوساط الزرع :

تم تحضير أوساط الزرع بتسخين محلول الجيلوزي (Muller Hinton) في حمام مائي درجة حرارته 85°C، بعدها تسكب بكميات محددة في علب بيتري معقمة بسمك موحد حتى النصف تقريبا، وتترك تبرد على طاولة العمل حتى تتجانس وتتماسك أمام موقد بنزن لخلق وسط معقم.

3.7. تحضير لأقراص :

بواسطة آلة خاصة بقص ورق الترشيح نقصه الى اقراص بقطر 6 ملم ثم نضعها في أنبوب اختبار لتعقيم في درجة حرارة عالية، ثم تشبع هذه الأخيرة بالمستخلص المحضر

4.7. تحضير المعلق البكتيري:

باستخدام العود القطني نأخذ جدمة بكتيرية، ونضعها في 3ml من الماء الفيزيولوجي المعقم، نقوم بالرج جيدا حتى يتجانس المحلول بوجود موقد البنزن لتجنب اتلاف الوسط من البكتيريا، بعدها نغمس العود القطني المعقم في المعلق البكتيري ثم يمسح به كامل الوسط الجاف لأوساط الزرع المحضرة سابقا وتوزع على مستوى السطح بشكل

خطوط متلاصقة ومنتظمة مع تكرار العملية ثلاث مرات وذلك بتدوير علب البيتري بزاوية 60° في كل مرة نقوم بنفس العملية للأنواع البكتيريا المستعملة في الدراسة.

5.7. وضع الأقراص المشبعة:

توضع الأقراص المشبعة بالمستخلصات داخل علب بيتري بواسطة ملقط معقم، أي كل علبة تحتوي على أربعة أقراص مختلفة التركيز مع ترك مسافات مناسبة، نتركها تجف لمدة قصيرة، بعدها نضعها في الحاضنة لمدة 24 ساعة تحت درجة حرارة 37° ويتم قلب علب البيتري لكي لا يتلف الوسط نتيجة الماء وتقرأ الأقطار بالمسطرة بوحدة mm.

قائمة المراجع

• المراجع باللغة العربية:

- تامة ا، بن عمارة ن، دراسة كيميائية وفيتوكيميائية لنبات الحسك Terrestri Tribulus، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، علوم الطبيعة والحياة، جامعة الوادي (2017).

• المراجع باللغة الفرنسية:

- Asadi S, Ahmadiani A, Ali Esmaeili A, Sonboli A, Ansari N, Khodaghohi F. In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six Sabiria species from Iran: A comparative study. Food Chemical and Toxicology (2010).
- BOUKRIN H. 2014 – Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el hanout. Thème Master Academique. Université Kasdi Merbah Ouragla. P : 99.
- S. MITRA. Sample Preparation Technique in Analytical chemistry , 2003, 162 (37-223), 1ST ed , Hoboken , New John wiley & Sons , Inc
- Y.I. Tur'yan, P. Gorenbein, R. Kohen. Journal of Electroanalytical Chemistry 571 (2004) 183-188.
- Gekker, G., Hu, S., Spivak, M., Lokensgard, J. R., & Peterson, P. K. (2005). Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4+ lymphocyte and microglial cell cultures. Journal of Ethnopharmacology, 102(2), 158-163.
- Campos, M.R.G.; Bogdanov, S.; de Almeida-Muradian, L.M.B.; Szczesna, T.; Mancebo, Y.; Frigerio, C.; Ferreira, F. Pollen composition and standardisation of analytical methods. J.Apicult. Res.2008, 47, 156–163.

الفصل الخامس

النتائج والمناقشة

1. حساب مردود المستخلصات:

- ✓ مستخلص المزيج (80% ماء + 20% إيثانول) ← A
- ✓ مستخلص المزيج (70% ماء + 30% إيثانول) ← B
- ✓ مستخلص المزيج (60% ماء + 40% إيثانول) ← C
- ✓ مستخلص المزيج (50% ماء + 50% إيثانول) ← D
- ✓ مستخلص المزيج (40% ماء + 60% إيثانول) ← E
- ✓ مستخلص المزيج (20% ماء + 80% إيثانول) ← F

$$R\% = (M_F/M_I) \times 100$$

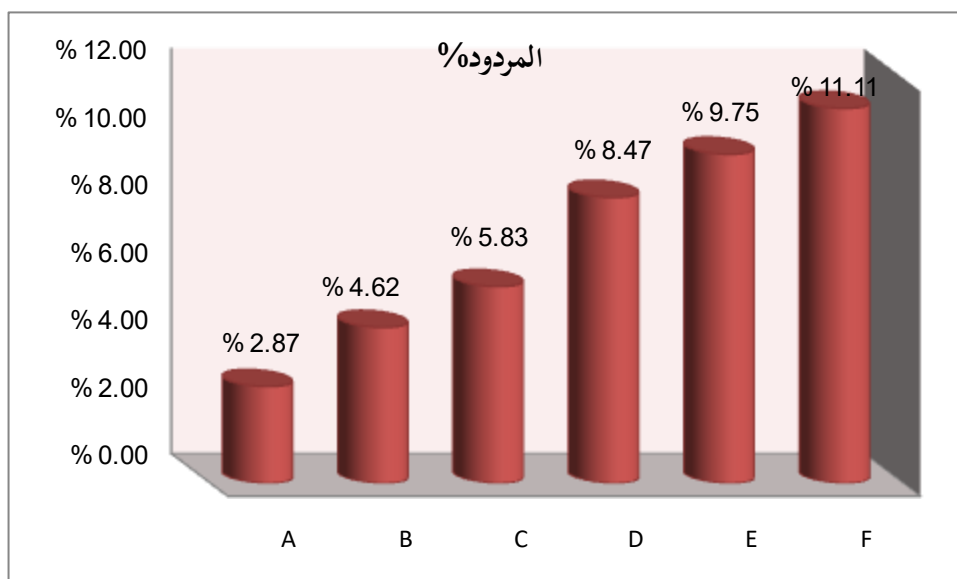
❖ M_F : الكتلة النهائية .

❖ M_I : الكتلة الابتدائية .

❖ $R\%$: المردودية الإنتاجية للمستخلصات بـ %.

الجدول (1.V): قيم مردود الاستخلاص.

المردود %	الكتلة المتحصل عليها	المستخلص	كتلة العينة
2.87	0.4305g	A	15g
4.62	0.6930g	B	
5.83	0.8745g	C	
8.47	1.2705g	D	
9.75	1.4625g	E	
11.11	1.6665g	F	



الشكل (1.V): اعمدة بيانية تمثل مردود المستخلصات المستعملة في الدراسة.

من خلال النتائج الموضحة في الجدول (1.V) نجد ان اكبر مردود في المستخلص (F) الذي يقدر ب 11.11 % واقل مردود كان في المستخلص (A) والذي يقدر ب 2.87%، اما باقي المستخلصات فكانت النسب متوسطة، وهذا راجع لوجود نسب الايثانول المختلفة في المزيج، حيث توجد علاقة طردية بين المردود ونسبة الايثانول.

2. التقدير الكمي للفينولات الكلية بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية UV-visible:

من نتائج الامتصاصية للمحاليل المحضرة وبحسابات رياضية ومن علاقة المنحنى العياري لحمض الغاليك تم تسجيل النتائج المتعلقة بتقدير الفينولات الكلية للمستخلصات ويمكن حساب الكمية المكافئة ل 1g من المستخلص، من خلال المعادلة التالية:

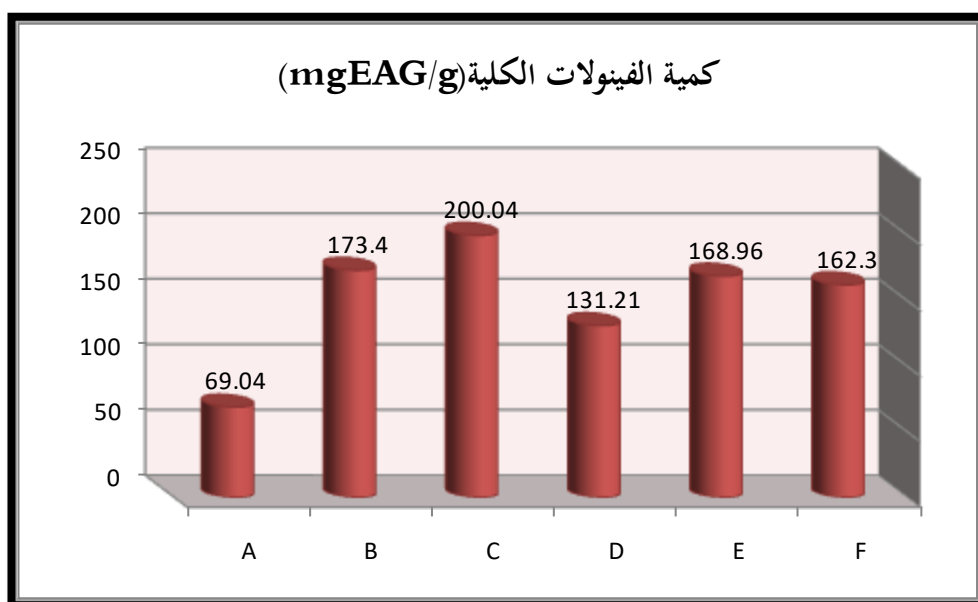
$$Y=11.26x+0.029$$

$$Q= (x/0.4)*1000$$

والجدول الاتي يوضح كمية الفينولات لمكافئ الغرامي:

الجدول (2.V): يوضح نتائج كمية الفينولات المتحصل عليها

المستخلصات	A	B	C	D	E	F
التركيز (mg/ml)	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
الامتصاصية (A)	0.34	0.81	0.93	0.62	0.79	0.76
تركيز الفينولات (mg/ml)	0.027	0.069	0.080	0.052	0.067	0.064
كمية الفينولات (mg/g)	69.04	173.40	200.04	131.21	168.96	162.30



الشكل (2.V): اعمدة بيانية تمثل كمية الفينولات للمستخلصات المدروسة.

• النتائج والتفسير:

من خلال الجدول والشكل (2.V) والتي تمثل التقدير الكمي لعديدات الفينول بالملغ المكافئ لحمض الغاليك لكل غرام لوزن المستخلص لوحظ ان كمية المركبات الفينولية للمستخلصات كانت متفاوتة حيث بلغت اعلى قيمة 200.04mg/g كانت في المستخلص C ويليهما B، E، F، D كانت على التوالي 173.40mg/g، 168.96mg/g، 162.30mg/g، 131.21mg/g، وكانت اقل قيمة عند المستخلص A بلغت قيمتها 69.04، من خلال النتائج تبين ان جميع المستخلصات تضم اكبر كمية من عديدات الفينول حيث توافقت

دراستنا مع دراسات (كرکوي محمد، 2015). وهذا يعني ايضا ان المزيج لديه القدرة على اذابة الفينولات في الاوراق الرمان وهذا ما اكدته الدراسة التي قام بها (orak et al).

3. التقدير الكمي للفلافونيدات الكلية بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية UV-visible:

من نتائج الامتصاصية للمحاليل المحضرة وبحسابات رياضية ومن علاقة المنحنى العياري للكرستين تم تسجيل النتائج المتعلقة بتقدير الفلافونيدات الكلية للمستخلصات ويمكن حساب الكمية المكافئة ل 1g من المستخلص من خلال المعادلة التالية:

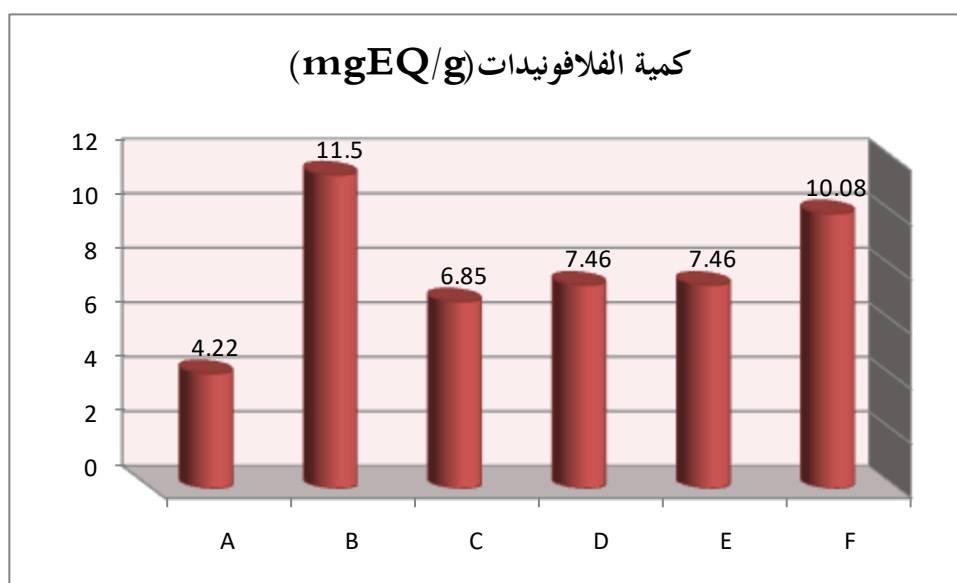
$$Y=24.74x-0.009$$

$$Q= (x/0.4)*1000$$

الجدول الاتي يوضح كمية الفلافونيدات المتحصل عليها:

الجدول (3.V): يوضح نتائج كمية الفلافونيدات المتحصل عليها

المستخلصات	A	B	C	D	E	F
تركيز (mg/ml)	2	2	2	2	2	2
الامتصاصية (A)	0.20	0.56	0.33	0.36	0.36	0.49
تركيز الفلافونيدات (mg/ml)	0.008	0.023	0.013	0.014	0.014	0.020
كمية الفلافونيدات (mg/g)	4.22	11.50	6.85	7.46	7.46	10.08



الشكل (3.V): اعمدة بيانية تمثل كمية الفلافونيدات للمستخلصات المدروسة.

• النتائج والتفسير:

من خلال الجدول والشكل (3.V) والتي تمثل التقدير الكمي للفلافونيد بالملغ المكافئ للكرستين لكل غرام لوزن المستخلص، لوحظ ان كمية الفلافونيدات للمستخلصات كانت متفاوتة حيث بلغت اعلى قيمة 11.5mg/g كانت في المستخلص B ويليهها F،E،D،C كانت على التوالي 10.08mg/g، 7.46 mg/g، 7.46 mg/g، 3.86 mg/g. ويعود هذا التباين الى نوع المذيب المستعمل في عملية الاستخلاص ونسبة الماء والايتانول حيث اشارت الدراسات ان اضافة نسبة من الماء الى مذيب كحولي مثل الايتانول من شأنه زيادة كمية الفلافونيد في المستخلص.

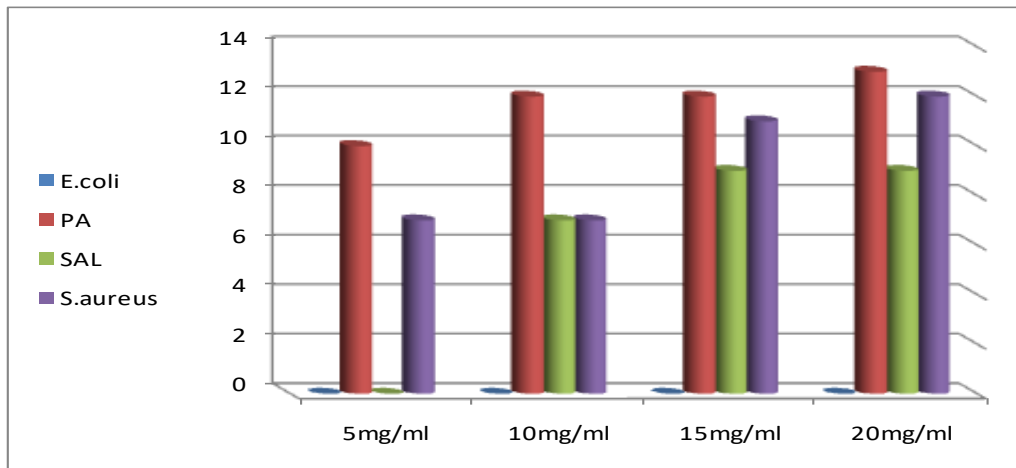
(جيدل، 2015) و (Sahreen et al ., 2010).

4. الفعالية المضادة للبكتيريا:

1.4. المستخلص A:

الجدول (4.V): يمثل اقطار التثبيط ب mm للمستخلص A.

قطر التثبيط (mm)				التركيز
20(mg/ml)	15(mg/ml)	10(mg/ml)	5(mg/ml)	انواع البكتيريا
-	-	-	-	<i>E. coli</i>
13	12	12	10	<i>Pa</i>
9	9	7	-	<i>Sal</i>
12	11	7	7	<i>S. aureus</i>



الشكل (4.V): اعمدة بيانية تمثل اقطار التثبيط ب mm للمستخلص A.

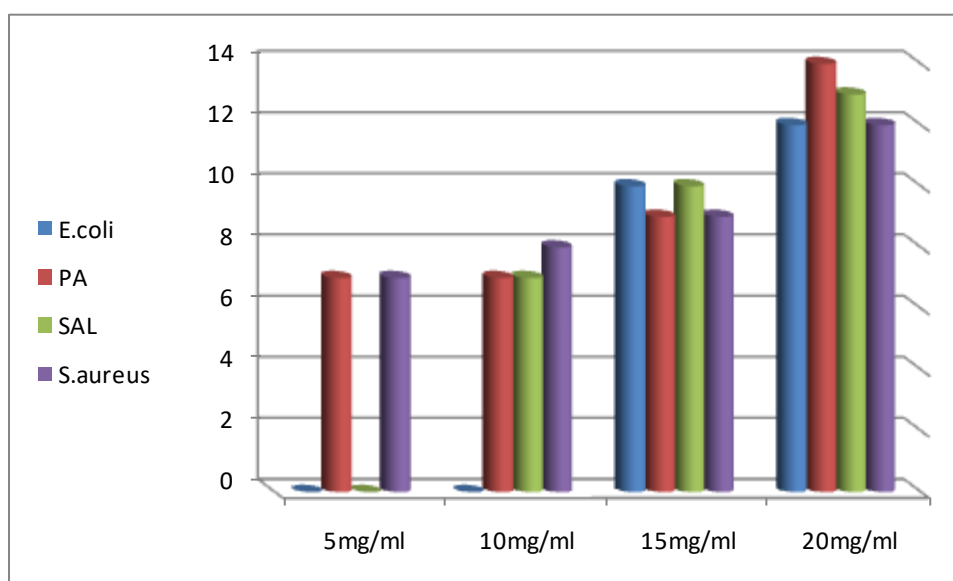
• النتائج:

من خلال الجدول والشكل (4.V) نلاحظ ان *E. coli* لم يظهر أي قطر تثبيطي عند جميع التراكيز. عند *Pa* نلاحظ ان اعلى قطر تثبيطي سجل عند التركيز 20mg/ml المقدر ب 13mm ، مقارنة بالتراكيز 10mg/ml و 15mg/ml اذ بلغ قطر التثبيطي 12mm ، اما بالنسبة للتركيز 5mg/ml سجل اقل قطر تثبيطي المقدر ب 10mm. اما عند *Sal* نلاحظ عند التراكيز 15mg/ml و 20mg/ml بلغ اعلى قطر تثبيطي مقدر ب 9mm ، واما تركيز 10mg/ml سجل القطر التثبيطي ب 7mm و بينما التركيز 5mm لم يسجل أي قطر تثبيطي. اما عند *S. aureux* نلاحظ اعلى قطر تثبيطي سجل عند التركيز 20mg/ml اذ بلغ القطر التثبيطي 12mm ، اما التركيز 15mg/ml بلغ القطر التثبيطي 11mm ، بينما سجل اقل قطر تثبيطي عند التراكيز 5mg/ml و 10mg/ml حيث بلغ 7mm. ومنه يمكن القول ان المستخلص A لاوراق الرمان كانت *Pa* اكثر حساسية لتراكيز العالية تليها *S. aureux* ثم *Sal*.

2.4.المستخلص B:

الجدول (5.V): يمثل اقطار التثبيط ب mm للمستخلص B.

قطر التثبيط (mm)				التركيز
20(mg/ml)	15(mg/ml)	10(mg/ml)	5(mg/ml)	انواع البكتيريا
12	10	-	-	<i>E.coli</i>
14	9	7	7	<i>Pa</i>
13	10	7	-	<i>Sal</i>
12	9	8	7	<i>S. aureus</i>



الشكل (5.V): اعمدة بيانية تمثل اقطار تثبيط للمستخلص B.

• النتائج:

نلاحظ من خلال الجدول والشكل (5.V) ان المستخلص B لاوراق الرمان حقق اقطار تثبيطية معتبرة عند كل السلالات البكتيرية.

عند E.coli نلاحظ ان اعلى قطر تثبيطي سجل عند التركيز 20mg/ml اذ بلغ 12mm، مقارنة بالتركيز 15mg/ml الذي بلغ القطر التثبيطي 10mm بينما عند التراكيز 5mg/ml و 10mg/ml لم يسجل اي قطر تثبيطي.

اما عند Pa نلاحظ اعلى قطر تثبيطي عند التركيز 20mg/ml اذ بلغ 14mm مقارنة بالتركيز 15mg/ml حيث بلغ قطر التثبيط 9mm بينما سجل عند التراكيز 10mg/ml و 15 mg/ml قطر التثبيط 7mm.

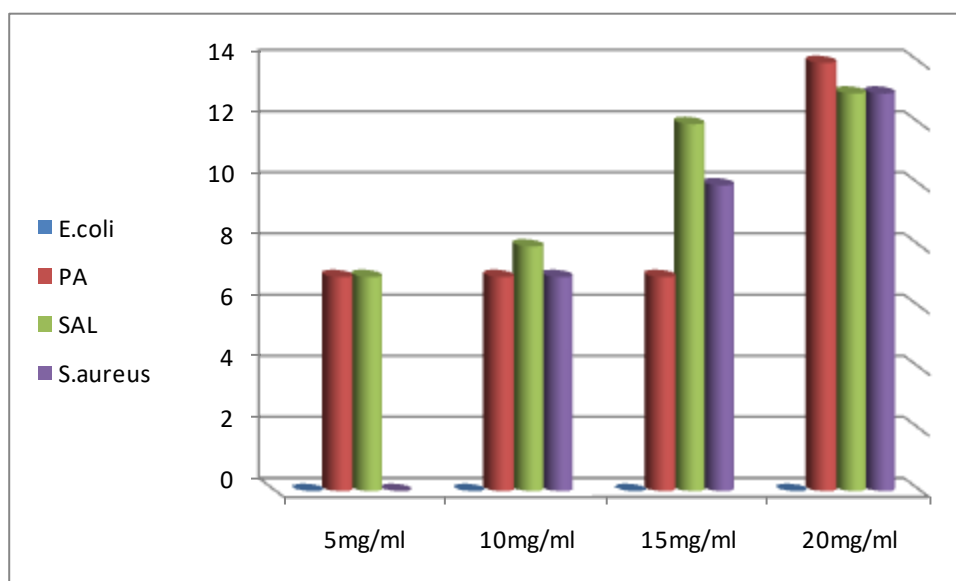
اما عند Sal نلاحظ اعلى قطر تثبيطي عند التركيز 20mg/ml اذ بلغ 13mm، مقارنة بالتركيز 15mg/ml و 10 mg/ml حيث بلغ قطر التثبيط 10mm و 7mm على التوالي، بينما لم نسجل اي قطر تثبيط عند التركيز 5mm.

عند S.aureux نلاحظ ان اعلى قطر تثبيط سجل في التركيز 20mg/ml حيث بلغ 12mm مقارنة بالتركيز 15mg/ml و 10 mg/ml حيث بلغ قطر التثبيط 9mm و 8mm على التوالي ، وسجل اقل قطر تثبيطي في التركيز 5mg/ml اذ بلغ 7mm. ومنه يمكن القول ان المستخلص B لاوراق الرمان كانت Pa اكثر حساسية لتركيز العالية تليها Sal ثم E.coli و S.aureux.

3.4. المستخلص C:

الجدول (6.V): يمثل اقطار التثبيط ب mm للمستخلص C.

قطر التثبيط (mm)				التركيز
20(mg/ml)	15(mg/ml)	10(mg/ml)	5(mg/ml)	انواع البكتيريا
-	-	-	-	<i>E. coli</i>
14	7	7	7	<i>Pa</i>
13	12	8	7	<i>Sal</i>
13	10	7	-	<i>S. aureus</i>



الشكل (6.V): اعمدة بيانية يمثل اقطار التثبيط ب mm للمستخلص C.

• النتائج:

من خلال الجدول والشكل (6.V) نلاحظ ان *E. coli* لم يظهر أي قطر تثبيطي عند جميع التراكيز. عند *Pa* نلاحظ ان اعلى قطر تثبيطي سجل عند التركيز 20mg/ml المقدر ب 14mm، يليها التراكيز 15mg/ml و 10mg/ml و 5mg/ml بلغ قطر التثبيطي 7mm. اما عند *Sal* نلاحظ عند التركيز 20mm بلغ اعلى قطر تثبيطي مقدر ب 13mm، مقارنة بالتركيز 15mg/ml و 10mm سجل القطر التثبيطي 12mm و 8mm على التوالي، و بينما سجل اقل قطر تثبيطي في التركيز 5mg/ml حيث بلغ 7mm.

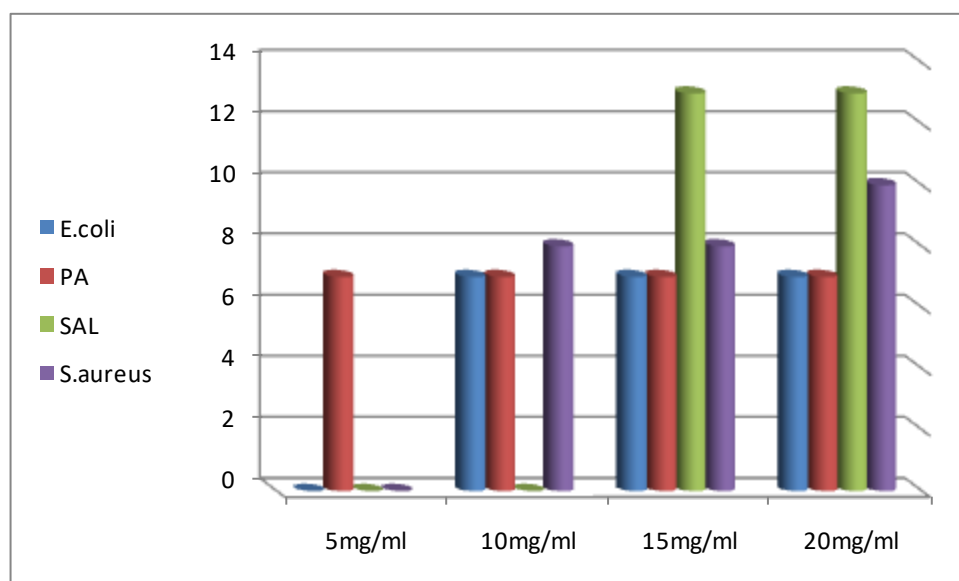
اما عند S.aureux نلاحظ اعلى قطر تثبيطي سجل عند التركيز 20mg/ml اذ بلغ القطر التثبيطي 13mm، مقارنة بالتركيز 10mg/ml و 15mg/ml حيث بلغ 10mm و 7mm على التوالي، بينما لم يسجل اي قطر تثبيط في التركيز 5mg/ml.

ومنه يمكن القول ان المستخلص C لاوراق الرمان كانت Pa اكثر حساسية لتراكيز العالية تليها Sal ثم S.aureux و E.coli.

4.4. المستخلص D:

الجدول (7.V): يمثل اقطار التثبيط ب mm للمستخلص D.

قطر التثبيط (mm)				التركيز انواع البكتيريا
20(mg/ml)	15(mg/ml)	10(mg/ml)	5(mg/ml)	
7	7	7	-	<i>E. coli</i>
7	7	7	7	<i>Pa</i>
13	13	-	-	<i>Sal</i>
10	8	8	-	<i>S.aureus</i>



الشكل (7.V): اعمدة بيانية تمثل اقطار التثبيط للمستخلص D.

• النتائج:

نلاحظ من خلال الجدول والشكل (7.V) ان المستخلص D لاوراق الرمان حقق اقطار تثبيطية معتبرة عند كل السلالات البكتيرية.

عند E.coli نلاحظ ان اعلى قطر تثبيط سجل عند التركيز 20mg/ml و 15mg/ml و 10mg/ml اذ بلغ قطر التثبيط 7mm، مقارنة بالتركيز 5mg/ml الذي لم يبدى اي فعالية حيث لم نسجل اي قطر تثبيط.

اما عند Pa سجلت اقطار التثبيط عند جميع التراكيز القيمة 7mm.

اما عند Sal نلاحظ اعلى قطر تثبيط عند التراكيز 20mg/ml و 15mg/ml اذ بلغ 13mm، مقارنة بالتراكيز 10mg/ml و 5mg/ml حيث لم نسجل اي قطر تثبيط.

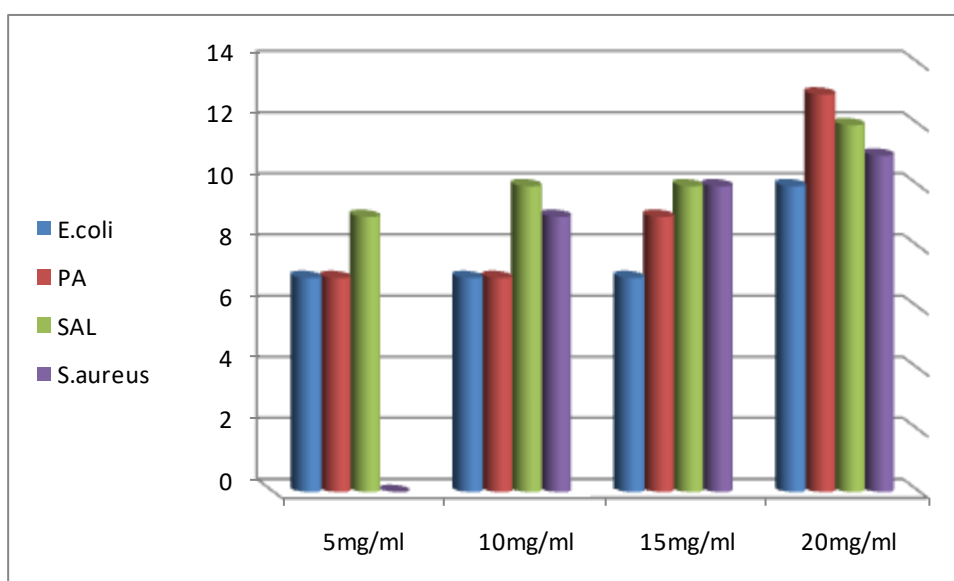
عند S.aureux نلاحظ ان اعلى قطر تثبيط سجل في التركيز 20mg/ml حيث بلغ 10mm مقارنة بالتراكيز 15mg/ml و 10mg/ml اذ بلغ قطر التثبيط 9mm، اما عند التركيز 5mg/ml لم نسجل اي قطر تثبيط.

ومنه يمكن القول ان المستخلص D لاوراق الرمان كانت Sal اكثر حساسية لتراكيز العالية تليها S.aureux ثم PA واخيرا E.coli.

5.4. المستخلص E:

الجدول (8.V): يمثل اقطار تثبيط للمستخلص E.

قطر التثبيط (mm)				التركيز
20(mg/ml)	15(mg/ml)	10(mg/ml)	5(mg/ml)	انواع البكتيريا
10	7	7	7	<i>E. coli</i>
13	9	7	7	<i>P a</i>
12	10	10	9	<i>Sal</i>
11	10	9	-	<i>S. aureus</i>



الشكل (8.V): اعمدة بيانية تمثل اقطار تثبيط عند المستخلص E.

• النتائج:

نلاحظ من خلال الجدول والشكل (8.V) ان المستخلص E لاوراق الرمان حقق اقطار تثبيطية معتبرة عند كل السلالات البكتيرية.

عند E.coli نلاحظ ان اعلى قطر تثبيطي سجل عند التركيز 20mg/ml اذ بلغ قطر التثبيط 10mm، مقارنة بالتراكيز 5mg/ml و 10mg/ml و 15mg/ml حيث بلغ قطر التثبيط 7mm.

اما عند Pa سجل اعلى قطر تثبيطي في التركيز 20mg/ml حيث بلغ 13mm، يليها بالتراكيز 15mg/ml اذ بلغ قطر التثبيط 9mm، واقل قطر تثبيط سجل عند التراكيز 5mg/ml و 10mg/ml الذي بلغ 7mm.

اما عند Sal نلاحظ اعلى قطر تثبيطي عند التراكيز 20mg/ml اذ بلغ 12mm مقارنة بالتراكيز 10mg/ml و 15mg/ml حيث سجل قطر تثبيط 10mm اما عند التركيز 5mg/ml حيث سجل اقل قطر التثبيطي 9mm.

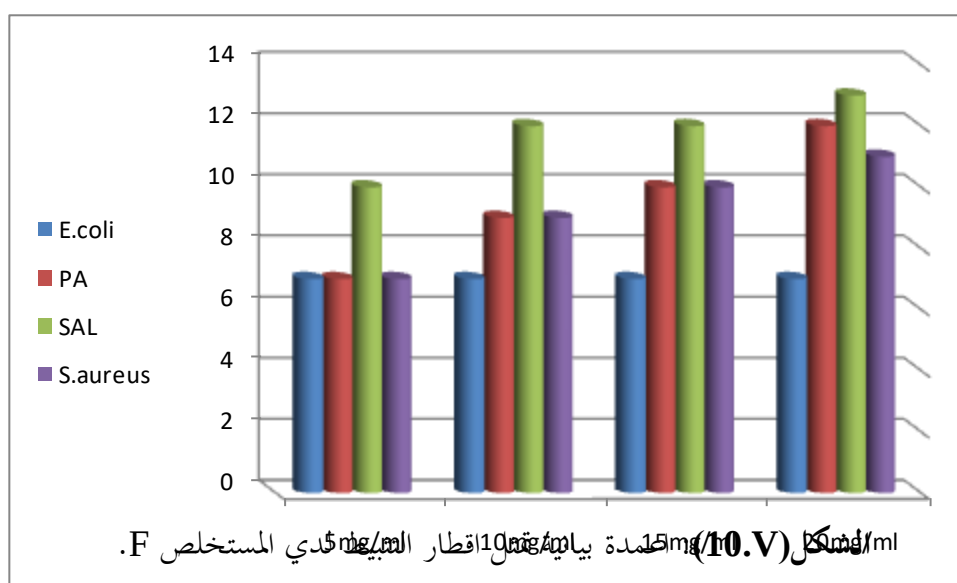
عند S.aureus نلاحظ ان اعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 20mg/ml حيث بلغ 11mm مقارنة بالتراكيز 10mg/ml و 15mg/ml اذ بلغ قطر التثبيط 10mm و 9mm على التوالي، اما عند التركيز 5mg/ml لم نسجل اي قطر تثبيطي.

ومنه يمكن القول ان المستخلص E لاوراق الرمان كانت Pa اكثر حساسية لتراكيز العالية تليها Sal ثم E.coli و S.aureus.

6.4. المستخلص F:

الجدول (9.V): يمثل اقطار التثبيط لدى المستخلص F.

قطر التثبيط (mm)				التركيز
20(mg/ml)	15(mg/ml)	10(mg/ml)	5(mg/ml)	انواع البكتيريا
7	7	7	7	<i>E. coli</i>
12	10	9	7	<i>Pa</i>
13	12	12	10	<i>Sal</i>
11	10	9	7	<i>S. aureus</i>



الشكل (9.V): أعمدة بيانية يمثل اقطار التثبيط لدى المستخلص F.

• النتائج:

نلاحظ من خلال الجدول والشكل (9.V) ان المستخلص F لاوراق الرمان حقق اقطار تثبيطية معتبرة عند كل السلالات البكتيرية.

عند *E. coli* نلاحظ ان اقطار التثبيط عند جميع التراكيز بلغت 7mm.

اما عند *Pa* كان اعلى قطر تثبيط عند التركيز 20mg/ml حيث بلغ 12mm مقارنة بالتراكيز 15mg/ml و 10mg/ml حيث بلغ قطر التثبيط 10mm و 9mm، بينما سجل اقل قطر تثبيط في التركيز 5mg/ml اذ بلغ 7mm.

اما عند Sal نلاحظ اعلى قطر تثبيطي عند التركيز 20mg/ml اذ بلغ 13mm، مقارنة بالتركيز 10mg/ml و 15mg/ml حيث بلغت 12mm بينما سجل اقل قطر تثبيط في التركيز 5mg/ml حيث بلغ 10mm.

عند S.aureux نلاحظ ان اعلى قطر تثبيط سجل في التركيز 20mg/ml حيث بلغ 11mm مقارنة بالتركيز 10mg/ml و 15mg/ml حيث بلغ قطر التثبيط 10mm و 9mm، اما عند التركيز 5mg/ml بينما سجل اقل قطر تثبيطي حيث بلغ 7mm.

ومنه يمكن القول ان المستخلص F لاوراق الرمان كانت Sal اكثر حساسية لتركيز العالية تليها Pa ثم E.coli و S.aureux.

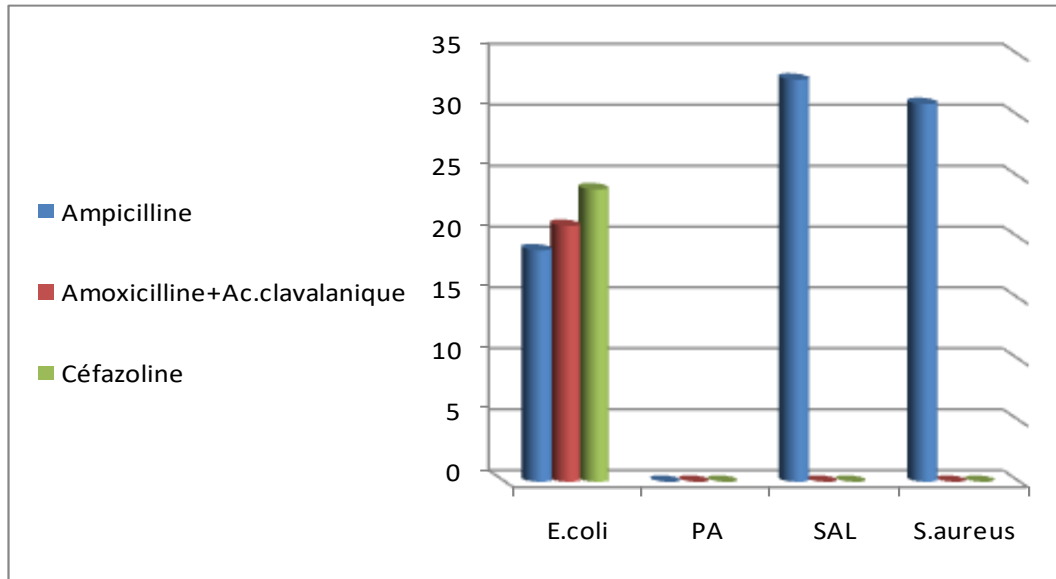
• تفسير نتائج السابقة:

ومنه يمكن القول في النتائج السابقة انه عند زيادة تركيز المستخلص يزداد قطر التثبيط، حيث اعطت المستخلصات العضوية المدروسة فعالية مضادة للبكتيريا متفاوتة فيما بينها اذ سجلت المستخلصات A.B.C اكبر حساسية اذ بلغ القطر التثبيطي 14mm في Pa في حين لم تتأثر E.coli بجل المستخلصات حيث تعارضت دراستنا مع الدراسة التركيبية حيث وجدوا ان E.coli كانت الاكثر تثبيطا.

1. المضادات الحيوية:

الجدول (10.V): يمثل اقطار تثبيط المضادات الحيوية.

مضاد الحيوي			انواع البكتيريا
قطر التثبيط (mm)			
Céfazoline	Amoxicilline+Ac.clavalanique	Ampicilline	
24	21	19	<i>E. coli</i>
-	-	-	<i>P a</i>
-	-	33	<i>Sal</i>
-	-	31	<i>S. aureus</i>



الشكل (10.V): اعمدة بيانية تمثل اقطار تثبيط المضادات الحيوية.

• النتائج والتفسير:

من خلال الجدول والشكل (10.V) نلاحظ هناك فروقات متفاوتة بين تأثير المضادات الحيوية على السلالات البكتيرية.

بالنسبة ل E.coli نجد انها كانت حساسة لمختلف المضادات الحيوية حيث سجلنا اكبر قطر تثبيطي عند Céfazoline قدر بـ 24mm مقارنة بـ Amoxicilline+Ac.clavulanique حيث بلغ قطر التثبيط 19mm بينما سجل اقل قطر تثبيطي عند Ampicilline قدر بـ 21mm.

بالنسبة Pa نجد انها ابدت مقاومة لكل المضادات الحيوية.

بالنسبة ل Sal سجلنا عندها اكبر قطر تثبيطي عند Ampicilline قدر بـ 33mm كما انها ابدت مقاومة للمضادات الحيوية Amoxicilline+Ac.clavulanique و Céfazoline.

بالنسبة ل S.aureus سجلنا عندها اكبر قطر تثبيطي عند Ampicilline قدر بـ 31mm كما انها ابدت مقاومة للمضادات الحيوية Amoxicilline+Ac.clavulanique و Céfazoline.

وهذا يعود الى خصائص كل مضاد حيوي وطريقة تأثير السلالات البكتيرية على المستخلصات وقدرتها على المقاومة.

المراجع

المراجع بالعربية:

- جیدل ص.، 2015- تقدير المحتوى الفينولي والتأثير المضاد للاكسدة لمستخلصات نباتات *Pistacia lentiscus* L و *Artemisia campestris* L و *Argania spinosa* L. اطروحة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه. جامعة فرحات عباس. سطيف 1. ص 76-85.
- كركوبي محمد، 2015- دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص المائي والايتانولي لقشور الرمان الحامض والحلو، مذكرة ماستر كيمياء، جامعة حمّة لخضر الوادي. ص: 18.

المراجع بالفرنسية:

- MUSTAFA OZGEN a، COS KUN DURGAC b، SEDAT SERC eb، CEMAL KAYA c، Chemical and antioxidant properties of pomegranate cultivars grown in the Mediterranean region of Turkey، Food Chemistry 111(2008) 703-706.
- ORAK HH، DEMIRCI.A.S، GUNUST. Antibacterial and antifungal activity of pomegranate (*punica granatum* L. cv.) peel. Ejeafche، 10 (3)، 2011.p1958-1969.
- Sahreen A. Khan M. R. et Khan R. A.، 2010- Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. Food Chemistry، 122: 1205

الخاتمة

● الخاتمة

بتعاقب الأجيال تتعاقب الأبحاث في شتى المجالات وكمواصلة للأبحاث السابقة واكتشاف مدى القيمة

العلاجية للمواد الفعالة التي تحويها أوراق الرمان.

قمنا بدراسة كيميائية وفعالية بيولوجية لهاغية تحقيق هذا الهدف قمنا أولا بالكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي والفلافونيدي على ستة مستخلصات (ايتانول وماء بنسب مختلفة) فكانت معظمها إيجابية أي تحتوي على الفينولات والفلافونيدات.

كما اظهرت هذه الدراسة غنى أوراق الرمان بالمواد الفعالة حيث سجل المستخلص F (20% ماء + 80% ايتانول) مردود عال بقيمة 11.11% مقارنة بباقي المستخلصات.

نتائج التقدير الكمي للمركبات الفينولية الكلية، الفلافونيدات الكلية باستخدام مطيافية الاشعة فوق البنفسجية والمرئية، حيث قدرت اعلى قيمة للفينولات الكلية ب 200.04 mgEAG/g في المستخلص C

(40% ماء + 60% ايتانول)، اما التقدير الكمي للفلافونيدات فكانت اعلى قيمة 11.13 mgEQ/g عند المستخلص B (30% ماء + 70% ايتانول).

ومن اجل تدعيم الدراسة الكيميائية ارتأينا ان ندعم هذا العمل بدراسة بيولوجية حيث تم اختبار اربع سلالات بكتيرية مزروعة في وسط جيلوزي، وهذا بالاعتماد على طريقة الانتشار بالأقراص ومنه تم تحديد اقطار التثبيط لمختلف التراكيز عند جميع المستخلصات حيث أظهرت هذه الأخيرة نشاطية متفاوتة بين الضعيفة والواضحة وحتى المنعدمة ضد السلالات البكتيرية المختبرة فوجدنا عندها انه كلما زاد التركيز زاد التثبيط ويرجع سبب انخفاض فعالية التثبيط لنقص تركيز المادة الفعالة في المستخلصات، واتضح في هذه الدراسة ان المستخلص F

(20% ماء + 80% ايتانول) كان الأكثر فعالية في التثبيط، حيث رسمت مناطق تثبيط حتى مع اقل تركيز وهذا عند السلالة البكتيرية E. coli وقدر قطر التثبيط 7mm، واعلى مناطق التثبيط كانت على مستوى السلالة البكتيرية Pa في جميع المستخلصات قدرت ب 14mm اذ انها الأكثر حساسية لتراكيز العالية والمنخفضة.

اما بخصوص المضادات الحيوية فكانت لها نشاطية معتبرة ومنها المنعدمة ضد السلالات البكتيرية، حيث وجدنا بكتيريا E.coli كانت حساسة لجميع المضادات الحيوية على عكس Pa/Sal /S.aureux التي أبدت مقاومة لبعض المضادات الحيوية مثل céfazoline، لكن اذا قارناها بالمستخلصات المختبرة نجد ان مستخلص أوراق الرمان لديه فعالية أكبر من المضادات الحيوية وهذا باختلاف السلالات البكتيرية المختبرة.

وفي الأخير نرجوا ان نكون قد وفقنا في الوصول الى الأهداف المرجوة وهي الدراسة الكيميائية والفعالية البيولوجية لأوراق نبات الرمان وفتح المجال للباحثين لمواصلة الدراسة الشاملة لهذا النبات كدراسة الساق والجذور لاستخلاص المواد الفعالة وفصلها باستعمال الوسائل الحديثة بغية اختبارها على الانسان والحيوان وبالتالي تثمينها والحفاظ عليها وتنميتها.

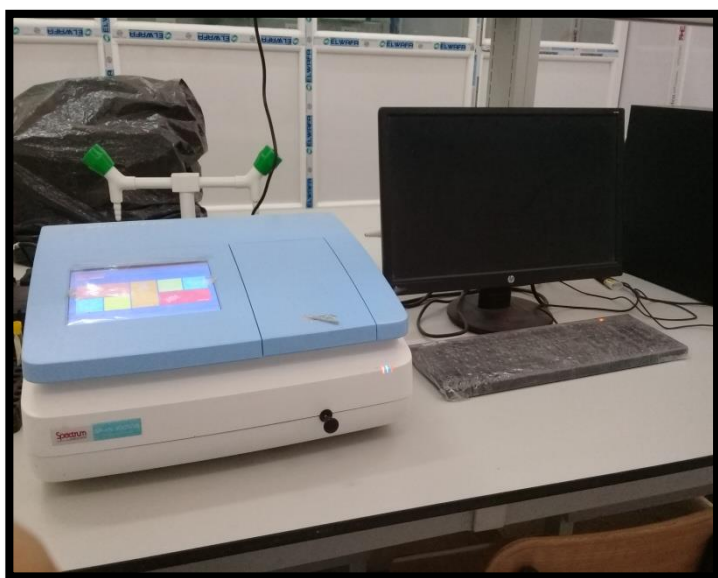
الملاحق



جهاز المبخر الدوراني



ميزان الكتروني حساس



جهاز الاشعة فوق البنفسجية



الحاضنة



موقد بنزن



اهم مراحل العمل المنجزة في البكتيريا.

الملخص

تطرقنا في هذا العمل الى الدراسة الكيميائية والفعالية البيولوجية للمستخلصات العضوية لنبات أوراق الرمان (Punica Granatum.L) المتحصل عليها باستخدام مزيج الايثانول والماء بنسب مختلفة.

تم التقدير الكمي للمركبات الفينولية باستخدام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية حيث قدرت أعلى كمية (200.04mgEAG/g) في المستخلص (60%ماء+40%إيثانول)، والتقدير الكمي للفلافونيدات الكلية قدرت أعلى كمية في المستخلص (70%ماء+30%إيثانول) (11.13mgEQ/g) وتوصلنا من خلال هذا العمل أن أوراق الرمان غنية بمواد الايض الثانوي (الفينولات و الفلافونيدات).

كما قمنا بحساب المردودية الإنتاجية للمستخلصات فكانت اعلى نسبة في المستخلص (20%ماء+80%إيثانول) قدرت ب11.11%.

وفيما يخص الفعالية البيولوجية قمنا بإتباع طريقة الانتشار بالأقراص فقد تم إنجازها تجاه أربع سلالات بكتيرية حيث وجدنا ان المستخلص (20%ماء+80%إيثانول) سجلت عنده أعلى أقطار التثبيط في جميع السلالات، وأكثرهم حساسية Pseudomonas aerogenosa إذ سجلنا قطر تثبيط 14mm، وأكثرهم مقاومة لبعض المستخلصات Escherichia.coli فكانت اغلبها منعدمة التثبيط.

الكلمات المفتاحية:

المركبات الفينولية، الفلافونيدات، الفعالية البيولوجية، اقطار التثبيط، Escherichia.coli و Pseudomonas aerogenosa.

Résumé

Dans ce travail, nous avons discuté l'étude chimique et l'activité biologique d'extraits organiques de feuilles de grenade (Punica Granatum L) obtenus dans différents pourcentages d'éthanol 'eau. L'étude quantitative des composés phénoliques montre que l'extrait (60%eau+40% éthanol) a donné la plus grande valeur (200.04 mgEAG / g).

Alors que l'extrait (70%eau+30% éthanol) donné la plus grand valeur des flavonoïdes (11.13mgEQ /g). Grâce à ces travaux, nous avons constaté que les feuilles de grenade étaient riches en métabolites secondaires (phénols et flavonoïdes).

Nous avons également calculé le rendement des extraits nous avons trouvé que le pourcentage le plus élevé d'extrait (20%eau+80% éthanol) est estimé à 11.11%.

En ce qui concerne l'activité biologique, nous avons suivi la méthode de propagation des comprimés à quatre souches bactériennes, lorsque nous avons constaté que l'extrait (20% d'eau + 80% d'éthanol) a enregistré les diamètres les plus élevés de toutes les souches, nous avons remarqué que le plus sensible des bactéries est Pseudomonas aerogenosa qui a enregistré inhibiteurs du diamètre 14 mm, qui sont les plus résistants à certains extraits Escherichia.coli étaient pour la plupart non inhibiteurs.

les mots clés:

Composés phénoliques, flavonoïdes, l'activité biologique, diamètres d'inhibition, Escherichia.coli et Pseudomonas aerogenosa.