

رقم التسلسل :

رقم الترتيب :



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العالي

جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي



كلية العلوم الدقيقة

مذكرة تخرج لنيل شهادة

ماستر أكاديمي

شعبة : علوم المادة

قسم : الكيمياء

تخصص : كيمياء عضوية

من إعداد الطالبة :

براهمية فاطمة

الموضوع

تشخيص وتصنيف حبوب اللقاح بواسطة مطيافية الأشعة تحت الحمراء و  
الكروماتوغرافيا السائلة

نوقشت يوم: 09 / 06 / 2018 أمام اللجنة المكونة من:

رئيسا	جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي	أستاذ محاضر(أ)	خلف عبد الحميد
مناقشا	جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي	أستاذ محاضر(ب)	كراسع عائشة
مناقشا	جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي	أستاذ مساعد(أ)	مصباحي محمد عادل
مساعد مؤطرا	جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي	أستاذ محاضر(أ)	بن شيخة نعيمة
مؤطرا	جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي	أستاذ محاضر(أ)	ربيعة عبد الكريم

السنة الجامعية: 2018/2017

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

# الاهل والهوا:

اهدي هذا العمل إلى الوالدين الكريمين حفظهما الله  
ورعاهما إلى أخواتي وأبنائهم إلى رفيق دربي "نصر  
الدين محبوبي". إلى أستاذي "ربيعي عبد الكريم" و  
إلى كل الأساتذة وإلى كل من أفادنا طيلة مشوارنا  
الدراسي إلى صديقات العمر وأخص بالذكر: صباح، أسماء

عائدة

إلى كل من يعرفني

ALL IS LOVE

# الشكر و التقدير

قال رسول الله صل الله عليه وسلم:

"من سلك طريق يلمس فيه علما سهل الله له به طريقا إلى الجنة"

الحمد والشكر لله الذي من علينا من فضله و رحمته ويسر لنا أمورنا ونور دروبنا  
للانجاز هذا العمل المتواضع، سائلين الله أن يوفقنا ويسدد خطانا ويبسط لنا خيرات العلم ويوفقنا  
في ما تبقى منه راجين من الله مزيدا من النجاح و التوفيق والله سميع عليم مجيب الدعاء .

أتوجه بأسمى و أرقى عبارات الشكر والتقدير إلى أهل الفضل والعطاء و اخص بالذكر  
الأستاذ المشرف **ربيبي عبد الكريم** الذي اشرف على انجاز ومتابعة هذه المذكرة وتحمل عبء  
هذا العمل بكل ما لديه من نصائح و إرشادات، أسأل الله أن يوفقه ويسدد خطاه ويمن عليه  
برحمته ويعوضه بالخيرات و أجمل اللحظات على ما بذل من مجهودات و قضائه للأوقات.

كما أتوجه بأرقى عبارات الشكر والعرفان إلى كل من تقدم لنا بالدعم المادي والمعنوي  
وخاصة طاقم الأساتذة و اخص بالذكر: خلف عبد الحميد، عادل مصباحي، علي طليبة،  
سويبي بلقاسم، بن شيخة نعيمة، غمام الجبلاني..... و إلى مسؤولي المخابر بكل من كلية  
العلوم الدقيقة "حفيفة وكريمة" و كلية التكنولوجيا: " وحيدة، رجا، الويزة، جميلة" وكلية العلوم  
الطبيعية " لطيفة" .

وفي الأخير أوجه شكري بأجمل عباراته و ألعانه إلى الوالدين الكريمين والى أخواتي والى  
رفيق دربي " نصر الدين محبوبي " و كل الزملاء و الأصدقاء الأوفياء و إلى كل من ساهم في  
دعמי وتشجيعي ولو بجزء يسير .



براهمية فاطمة

قائمة الرموز

**#HEX**: نظام HAX للألوان.

**HPLC**: الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء.

**UV-VIS**: المطيافية فوق البنفسجية والمرئية UV spectrophotomètre.

**IR- ATR**: Attenuated Total Reflectance Infrared.

**FTIR**: Fourier Transform Infrared.

**TAC**: Total antioxidant activity الكلية المضادة للاكسدة الكلية.

**TFC**: كمية الفلافونويدات.

**TPC**: كمية الفينولات.

**GA**: حمض الغاليك.

**CLA**: حمض كلوروجينيك.

**CA**: حمض الكافيك.

**NAR**: النرنجين.

**P-CA**: ب- كوماريك.

**RUT**: الروتين.

**QR**: كريستين.

**VA**: حمض الفانيليك.

**VAN**: الفانيلين.

**PLS**: المربعات الصغرى الجزئية Partial Least Squares.

**O2PLS**: Orthogonal 2 PLS modeling.

**PCA**: تحليل المكونات الأساسية Principale Component Analysais.

- .Hierarchical cluster analysis **HAC** طريقة التحليل العنقودي الهرمي
- .Standard Normal Variate:**SNV**
- .Row Center :**RC**
- . Savitzky-Golay:**SG**
- . Exponentially Weighted Moving Average:**EWMA**
- .Orthogonal Signal Correction :**OSC**
- .Multiplicative Signal Correction :**MSC**
- .Derivatives :**Dr**
- . Coefficient of Determination **R<sup>2</sup>** معامل التحديد
- .Stone-Geissercx **Q<sup>2</sup>** معامل
- . Standard Deviation **SD** نسبة الخطأ
- . قيمة التباين. **F**
- . p-value:**P**
- . Degrees of Freedom **DF** درجات الحرية
- .Mean Squares **MS** مربع الخطأ
- . Austin Model 1:**AM1**
- . Parametric Model number 3:**PM3**
- . Parametric Model number 6:**PM6**
- .Hydrogen atom transfer :**HAT**
- .Single electron transfer followed by proton transfe :**SET-PT**
- .Sequential proton loss electron transfer :**SPLET**

.bond dissociation enthalpies :**BDE**

.ionization potential :**IP**

. proton dissociation enthalpy :**PDE**

. proton Affinity :**PA**

. Electron Transfer Enthalpy :**ETE**

## قائمة الجداول

قائمة الجداول		
الصفحة	الجدول	
<b>الفصل الأول</b>		
12	كمية الفيتامينات في kg من حبوب اللقاح.	الجدول (1.I)
12	كمية المعادن في kg من حبوب اللقاح.	الجدول (2.I)
16	مناطق العينات المدروسة وتاريخ جنيها.	الجدول (3.I)
21	النسبة المئوية لكمية حبوب اللقاح في كل لون من العينات.	الجدول (4.I)
23	اللون الرقمي لعينات حبوب اللقاح.	الجدول (5.I)
25	معدل وزن حبوب اللقاح للعينات المدروسة.	الجدول (6.I)
29	تصنيف حبوب اللقاح حسب المصدر النباتي.	الجدول (7.I)
30	تصنيف حبوب اللقاح باستخدام Orange data mining.	الجدول (8.I)
<b>الفصل الثاني</b>		
37	مناطق الأشعة تحت الحمراء.	الجدول (1.II)
42	تردد الامتصاصات للمجموعات الوظيفية الأساسية	الجدول (2.II)
57	الشروط التجريبية لجهاز (HPLC) لفصل المركبات الفينولية.	الجدول (3.II)
57	تغيرات نسبة الطور المتحرك بدلالة الزمن.	الجدول (2.II)
<b>الفصل الثالث</b>		
84	متوسط قيم المتغيرات المستقلة.	الجدول (1.III)
85	يمثل قيم متغيرات PCA.	الجدول (2.III)
88	قيم $(R^2)$ و $(Q^2)$ لطريقة PLS.	الجدول (3.III)
89	قيم $(R^2)$ و $(Q^2)$ لطريقة O2PLS.	الجدول (4.III)
95	قيم معاملات النموذج بطريقة PLS.	الجدول (5.III)
<b>الفصل الرابع</b>		
132	قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة AM1 في الغاز.	الجدول (1.IV)
132	قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة AM1 في الماء.	الجدول (2.IV)
133	قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة AM1 في الميثانول.	الجدول (3.IV)
133	قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة PM3 في الغاز.	الجدول (4.IV)
133	قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة PM3 في الماء.	الجدول (5.IV)
134	قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة PM6 في الغاز.	الجدول (6.IV)
134	قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة PM6 في الماء.	الجدول (7.IV)
134	قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة PM6 في الماء.	الجدول (8.IV)
134	قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة PM6 في الميثانول.	الجدول (9.IV)
136	قيم BDE للمركبات الفينولية بألية HAT.	الجدول (10.IV)
138	قيم IP و PDE للمركبات الفينولية بألية SET-PT.	الجدول (11.IV)
140	قيم PA و ETE للمركبات الفينولية بألية SPLET.	الجدول (12.IV)

## قائمة الأشكال

الصفحة	الشكل
<b>الفصل الأول</b>	
4	الشكل I.1 صورة حبوب اللقاح.
6	الشكل I.2 مصيدة حبوب اللقاح في خلية النحل.
9	الشكل I.3 تدرج ألوان حبوب اللقاح.
10	الشكل I.4 بنية حبوب اللقاح.
15	الشكل I.5 مخطط الدراسة الطلعية لعينات حبوب اللقاح.
17	الشكل I.6 طريقة الفرز اللوني لعينات حبوب اللقاح.
19	الشكل I.7 مخطط طرق فرز و تصنيف حبوب الطلع على برنامج Orange data mining.
20	الشكل I.8 مخطط طريقة العنقود الهرمي على برنامج Orange data mining.
28	الشكل I.9 يوضح الصور الملتقطة بالمجهر الضوئي لعينات حبوب اللقاح المدروسة.
31	الشكل I.1 طريقة التحليل العنقودي الهرمي لعينات حبوب اللقاح.
31	الشكل I.1 الصور المشاهدة بطريقة التحليل العنقودي.
<b>الفصل الثاني</b>	
43	الشكل II.1 جهاز التحليل بتقنية FT-IR.
44	الشكل II.2 مبدأ تقنية FT-IR.
44	الشكل II.2 خلية العينات الغازية في تقنية FT-IR.
45	الشكل II.4 خلية العينات السائلة في تقنية FT-IR.
45	الشكل II.5 خلايا أقراص KBr في تقنية FT-IR.
46	الشكل II.6 جهاز ATR.
47	الشكل II.7 مبدأ عمل جهاز ATR.
48	الشكل II.9 طريقة وضع العينات الصلبة في جهاز ATR.
48	الشكل II.10 طريقة ضغط الذراع على العينات الصلبة في جهاز ATR.
52	الشكل II.11 مخطط تقدير كمية المواد الفعالة لحبوب اللقاح.
53	الشكل II.12 طريقة وضع حبوب اللقاح في جهاز IR-ATR.
53	الشكل II.13 كيفية ضغط ذراع على العينات الصلبة في جهاز IR-ATR.
54	الشكل II.14 المنحنى القياسي لحمض الغاليك.
55	الشكل II.15 المنحنى القياسي للكريستين.
56	الشكل II.16 المنحنى القياسي لحمض الغاليك.
58	الشكل II.17 طيف FTIR-ATR لعينات حبوب اللقاح في المنطقة ( $500 \text{ Cm}^{-1}$ - $4000$ )، موضحة فيه أهم الروابط للسكريات "أ" و البروتينات و الدهون "ب".
59	الشكل II.18 طيف FTIR-ATR لعينات حبوب اللقاح في المنطقة البصمة ( $1500 - 700 \text{ Cm}^{-1}$ ).
59	الشكل II.19 طيف FTIR-ATR لعينات حبوب اللقاح في المنطقة ( $3700 - 2700 \text{ Cm}^{-1}$ ).
62	الشكل II.20 الكروماتوغرام الممثل للفينولات المرجعية المدروسة.
63	الشكل II.21 المنحنى الكروماتوغرافي للفينولات المرجعية للعينة B10.

## قائمة الأشكال

66	التمثيل البياني للتحليل الكمي للمركبات الفينولية في عينات حبوب اللقاح المدروسة.	الشكل II.22
<b>الفصل الثالث</b>		
83	الشكل العام للنموذج المقترح.	الشكل III.1
83	تصميم للنموذج العام.	الشكل III.2
86	مخطط التشتت للعينات المدروسة بطريقة PCA.	الشكل III.3
87	مخطط التحليل العنقودي للعينات المدروسة.	الشكل III.4
94	العلاقة بين القيم التجريبية والقيم المتوقعة للنماذج المدروسة ببرنامج SIMCA.	الشكل III.5
99	العلاقة بين النتائج التجريبية والمتوقعة للنماذج المدروسة ببرنامج Molegro.	الشكل III.6
103	منحنيات التحقق Validation.	الشكل III.7
<b>الفصل الرابع</b>		
119	مخطط سطح الطاقة الكامنة.	الشكل IV.1
129	مخطط آليات تفاعل المركبات الفينولية.	الشكل IV.2
130	مخطط العمل لتحديد انتالبية المركبات الفينولية.	الشكل IV.3
131	فتح ملف SDF في نافذة العمل لبرنامج GaussView.	الشكل IV.4

الصفحة	العنوان
	الإهداء
	الشكر والتقدير
	قائمة الرموز
	قائمة الجداول
	قائمة الأشكال
	الفهرس
	الملخص
1	المقدمة العامة
	الفصل الأول
	الجزء النظري
	<b>1.I. عموميات حول حبوب اللقاح.</b>
4	1.1.I. تعريف حبوب اللقاح.
4	2.1.I. مصدرها.
5	3.1.I. تاريخ استعمال حبوب اللقاح.
5	4.1.I. جمع حبوب اللقاح.
7	5.1.I. تصنيف حبوب اللقاح.
7	6.1.I. التجفيف و التخزين.
8	7.1.I. الخصائص الفيزيائية.
11	8.1.I. التركيب الكيميائي.
13	9.1.I. دور حبوب اللقاح في الخلية.
13	10.1.I. الفوائد الطبية لحبوب اللقاح.
	الجزء العملي
	<b>2.I. المواد والطرق.</b>
15	1.2.I. الأجهزة والوسائل المستعملة.
15	2.2.I. البرامج المستخدمة.
15	3.2.I. المواد الكيميائية المستعملة.
15	4.2.I. المواد والطرق.
15	1.4.2.I. جمع حبوب اللقاح.
16	2.4.2.I. عملية فرز العينات.
17	3.4.2.I. تحديد اللون الرقمي.
17	4.4.2.I. وزن حبوب اللقاح.
17	5.4.2.17I. الدراسة الطلعية.
18	6.4.2.I. تصنيف حبوب اللقاح.
	<b>3.I. النتائج والمناقشة.</b>
21	1.3.I. فرز العينات.
23	2.3.I. تحديد اللون الرقمي.
25	3.3.I. وزن حبوب اللقاح.
27	4.3.I. الدراسة الطلعية.

29	5.3.I. تصنيف حبوب اللقاح.
32	مراجع الفصل الأول.
<b>الفصل الثاني</b>	
<b>الجزء النظري</b>	
<b>1.II. التحليل بواسطة المطيافية تحت الحمراء و HPLC.</b>	
36	1.1.II. مطيافية الأشعة تحت الحمراء.
37	2.1.II. مناطق الأشعة تحت الحمراء.
38	3.1.II. شروط الامتصاص.
38	4.1.II. وحدات جهاز الامتصاص للأشعة تحت الحمراء.
39	5.1.II. الحركات المحتملة للجزيء.
41	6.1.II. التحليل بمطيافية الأشعة تحت الحمراء.
43	7.1.II. مميزات الأشعة تحت الحمراء.
43	8.1.II. تقنيات التحليل بالمطيافية تحت الحمراء IR.
43	1.8.1.II. Fourier Transform Infrared (FT-IR).
46	2.8.1.II. Attenuated total reflectance (ATR).
49	3.8.1.II. مقارنة بين الطريقتين FT-IR و ATR.
<b>الجزء العملي</b>	
<b>2.II. المواد والطرق.</b>	
51	1.2.II. الوسائل والأجهزة المستعملة.
51	2.2.II. المواد الكيميائية المستعملة.
52	3.2.II. المواد والطرق المستعملة.
52	1.3.2.II. التحليل الطيفي بواسطة (IR-ATR).
53	2.3.2.II. استخلاص حبوب اللقاح.
53	3.3.2.II. تقدير كمية الفينولات في عينات حبوب اللقاح المدروسة.
55	4.3.2.II. تقدير كمية الفلافونويدات في عينات حبوب اللقاح المدروسة.
56	5.3.2.II. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لعينات حبوب اللقاح المدروسة.
57	6.3.2.II. تقدير بعض الأحماض الفينولية و الفلافونويدات بالكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC).
<b>3. II. النتائج والمناقشة.</b>	
58	1.3.II. التحليل الطيفي بواسطة IR-ATR.
61	2.3.II. تقدير كمية الفينولات في عينات حبوب اللقاح المدروسة.
61	3.3.II. تقدير كمية الفلافونويدات في عينات حبوب اللقاح المدروسة.
61	4.3.II. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لعينات حبوب اللقاح المدروسة.
62	5.3.II. نتائج تقدير بعض الأحماض الفينولية و الفلافونويدات بالكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC).
67	مراجع الفصل الثاني.
<b>الفصل الثالث</b>	
<b>الجزء النظري</b>	
<b>1. III. نمذجة التحليل الكمي للمواد الفعالة.</b>	
71	1.1.III. الطرق الإحصائية.
72	2.1.III. طرق وأساليب دراسة نموذج إحصائي.

75	3.1.III. معاملات التحليل الإحصائي.
77	4.1.III. آلية تشغيل المعلومات.
78	5.1.III. التحقق المتقاطع (Cross-validation).
78	6.1.III. تقييم مجموعة من المتغيرات.
79	7.1.III. شروط صلاحية نموذج الانحدار.
80	8.1.III. كيف يمكن تحليل الارتباط بين المتغيرات Multicollinearity.
80	9.1.III. دقة التقدير.
80	10.1.III. التنبؤ Forecasting.
81	11.1.III. اختبار قدرة النموذج على التنبؤ.
<b>الجزء العملي</b>	
<b>2.III. المواد والطرق.</b>	
82	1.2.III. الأجهزة و الأدوات المستعملة.
82	2.2.III. التعريف بالنموذج المقترح لقياس القدرة المضادة للأكسدة و كمية الفينولات و الفلافونويدات.
82	3.2.III. مكونات عينة الدراسة.
83	4.2.III. كيفية تصميم النموذج.
83	5.2.III. صياغة النموذج.
84	6.2.III. متغيرات النموذج المقترح.
<b>3.III. النتائج والمناقشة.</b>	
85	1.3.III. استخدام برنامج SIMCA.
85	1.1.3.III. دراسة العينات بطريقة المكونات الأساسية (PCA).
86	2.1.3.III. دراسة العينات بطريقة التحليل العنقودي الهرمي (HAC).
88	3.1.3.III. مقارنة النماذج الإحصائية واختيار طريقة المعالجة.
89	4.1.3.III. مقارنة بين نماذج التحليل بطريقة المعالجة (Dr + OSC).
93	5.1.3.III. التنبؤ بالنماذج الإحصائية.
95	2.3.III. استخدام برنامج Molegro data Modeller.
95	1.2.3.III. دراسة النماذج الإحصائية.
96	2.2.3.III. التنبؤ بالنماذج المقترحة.
104	مراجع الفصل الثالث.
<b>الفصل الرابع</b>	
<b>الجزء النظري</b>	
<b>1.IV. الدراسة النظرية للفعالية المضادة للأكسدة لبعض المركبات الفعالة الموجودة في حبوب اللقاح.</b>	
108	1.1.IV. الطرق والنظريات المستعملة في الكيمياء الحاسوبية.
109	1.1.1.IV. طرق الميكانيكا الجزيئية Molecular Mechanics Methods.
110	2.1.1.IV. طريقة الحل الشامل Ab-initio Method.
112	3.1.1.IV. الطرق الشبه عملية Semi-Empirical Methods.
116	4.1.1.IV. نظرية الدالة الوظيفية للكثافة Density Functional Theory (DFT).
118	2.1.IV. تطبيقات الكيمياء الحاسوبية.
118	1.2.1.IV. البنية الجزيئية Molecular Structure.
121	2.2.1.IV. الفعالية الكيميائية Chemical Reactivity.
121	3.2.1.IV. المطيافية.

121	3.1.IV أمثلة حول تطبيقات الكيمياء الحسابة.
121	1.3.1.IV تحليل الخصائص المضادة للأكسدة.
123	2.3.1.IV تحديد انتالبية تشكل المركبات.
125	3.3.1.IV دراسة العلاقة بين البنية الفراغية و مضادات الأكسدة.
126	4.3.1.IV العلاقة بين البنية والفعالية البيولوجية.
126	5.3.1.IV دراسة التحليل الطيفي.
126	6.3.1.IV دراسة إمكانية الأكسدة و الإرجاع.
الجزء العملي	
2.IV. المواد والطرق.	
127	2.IV. 1. الأجهزة المستعملة.
127	2.IV. 2. البرامج المستعملة.
127	2.IV. 3. الطرق المستعملة.
3.IV. النتائج والمناقشة.	
132	3.IV. 1. تقدير الانتالبية بطريقة AM1.
132	3.IV. 1.1. الغاز GAZ.
132	3.IV. 1.2. الماء WATER.
133	3.IV. 3.1. الميثانول METHANOL.
133	3.IV. 2. تحديد الانتالبية بطريقة PM3.
133	3.IV. 1.2. الغاز GAZ.
133	3.IV. 2.2. الماء WATER.
134	3.IV. 3.2. الميثانول METHANOL.
134	3.IV. 3. تحديد الانتالبية بطريقة PM6.
134	3.IV. 1.3. الغاز GAZ.
134	3.IV. 2.3. الماء WATER.
135	3.IV. 3.3. الميثانول METHANOL.
135	3.IV. 4. طريقة حساب انتالبية آليات التفاعل.
142	مراجع الفصل الرابع.
147	الخاتمة

## ملخص:

تستهدف هذه الدراسة تشخيص وتصنيف حبوب اللقاح باستخدام المطيافية تحت الحمراء IR-ATR و الكروماتوغرافيا السائلة HPLC، حيث تم جمع عينات حبوب اللقاح من مناطق جزائرية مختلفة وذلك بمراعات التنوع المناخي والتضاريسي، وتم تحديد نسبة حبوب الطلع الغالبة باستخدام المجهر الضوئي، لتنسب كل عينة إلى مصدرها النباتي. حيث بينت نتائج الدراسة الطلعية أن هناك ارتباط بين شكل، حجم، سطح حبوب اللقاح ومصدرها النباتي. كما تم تقدير محتوى المواد الفعالة و الفعالية المضادة للأكسدة (TAC) بالطرق الطيفية و HPLC، حيث بينت النتائج أن كمية الفينولات تراوحت بين (379.8-915.6 mg/100g) حيث احتوت عينة (البويرة- بومرداس) أكبر كمية. أما كمية الفلافانويدات فكانت بين (207.1-550.0 mg/100g) أما الكمية الأكبر فكانت في العينة (الاغواط- البليدة- المدية)، كما أن الفعالية المضادة للأكسدة كانت بين (3311 -808.2mg/100g) لتأخذ عينة (الوادي) القيمة الأكبر للفعالية المضادة للأكسدة. و تم تصنيف العينات و دراستها باستخدام طريقتي تحليل المكون الرئيسي (PCA) و التحليل الهرمي العنقودي (AHC). كما تمت النمذجة بطريقة PLS ومقارنتها بطريقة O2PLS. و كانت O2PLS هي الطريقة الأحسن مقارنة بطريقة PLS. مع أن في كلى الطريقتين كانت قيم ( $R^2$ ) من قيم كبيرة إلى متوسطة تراوحت بين (0.888- 1) بالنسبة ل: O2PLS و بين (0.986-0.259) بالنسبة ل: PLS. وهي نماذج جيدة يمكن الاعتماد عليها في عملية التنبؤ بقيم الفعالية و كمية المواد الفعالة في حبوب اللقاح. تمت أيضا الدراسة النظرية للفعالية المضادة للأكسدة لبعض المركبات الفينولية الموجودة في حبوب اللقاح ومقارنتها في مذيبات مختلفة (الغاز، الماء، الميثانول) باستخدام الطرق النظرية الشبه تجريبية "PM3, PM6, AM1" Semi- Empirical، والتي بينت أن نتائج PM3 أفضل من AM1، PM6. كما بينت الدراسة أن فعالية حمض ب-كوماريك (p-Coumaric acid) كانت الأكبر من بين المركبات المدروسة حيث كانت فعاليته في الغاز أكبر من فعاليته في الماء و الميثانول.

الكلمات المفتاحية: حبوب اللقاح، المواد الفعالة، HPLC، IR-ATR، PLS، AHC، PCA.

**Abstract:**

This study aimed to characterize and classify the pollen using IR-ATR and HPLC. Pollen samples were collected from different regions of Algeria, taking into account the climatic and terrestrial diversity. The percentage of pollen was determined by using a light microscope to assign each sample to its plant source. The results of the palynological study showed that there is a correlation between the shape, size, surface of the pollen and its plant source. The content of active substances and antioxidant activity (TAC) was estimated by spectrophotometry methods and HPLC. The results showed that the total phenolic content ranged from (379.8-915.6 mg/100g). The sample of Bouira-Boumerdes contained the largest quantity. The total flavonoid content was between (207.1-550.0mg / 100g) and the largest quantity was in the sample (Laghouat-Blida-Media). The antioxidant activity was between (3311-808.2 mg /100g). The samples were studied and classified using the PCA and AHC methods. Modeling and comparing PLS and O2PLS methods. O2PLS was the best way to compare PLS. In both methods,  $R^2$  values from large to medium ranged from ( 0.888-1) to O2PLS and (0.289-0.986) for PLS. They are good, reliable models in the process of predicting the antioxidant activity and quantity of active pollen. A theoretical study of the antioxidant activity of some phenolic compounds found in pollen was also investigated. The antioxidant activity was compared with different solvents (gas, water, methanol) using semi-empirical methods PM3, PM6, AM1, which showed that the PM3 results were better than AM1 and PM6. The study also showed that antioxidant activity of p-coumaric acid was the largest of the studied compounds, with the antioxidant activity in the gas greater than the antioxidant activity in water and methanol.

Keywords: pollen, antioxidant, HPLC, IR-ATR, PLS, AHC, PCA.

الله أكبر

خلق الله تعالى الكون و أبدع في خلقه وجعل لكل شيء حكمة وهذا ما جعل الإنسان يتأمل ويمعن النظر فيه مما يجبره على التفكير والبحث عن أسرارهِ. هو ما دفع بالعلماء والباحثين للبحث في ما يتعلق بالكائنات الحية للوصول إلى المعارف والحقائق العلمية. ومن ابرز هذه البحوث تلك التي تجلت في علم النبات والحيوان، و الرابط بينهما و هو ذلك المخلوق العجيب المذكور في القرآن الكريم "النحل". يعتبر النحل من الكائنات الحية التي لها فوائد كبيرة تعود على الإنسان بمنافع عظيمة [1]. و قد زاد الاهتمام في الآونة الأخيرة بتربية النحل و خاصة في بلدان حوض المتوسط. كالجزائر التي تمتلك غطاء نباتي متنوع. و شهد هذا النشاط تطور ملحوظ في الآونة الأخيرة. فتزايد عدد مربّي النحل حيث وصل عدد خلايا النحل في سنة 2009م إلى مليون و أربعمئة ألف خلية. وصل إنتاجها إلى أربعة ملايين كيلوغرام بمعدل لم يتجاوز 4 كيلوغرام للخلية [2]. ونتيجة للكّم الهائل لإنتاج الخلية من منتجات مختلفة إضافة للعسل تمثلت في (البروبوليس، حبوب اللقاح، الغذاء الملكي)، توجب على مربّي النحل معرفة خصائصها الكيميائية والفيزيائية للتعرف على قيمتها الطبية والغذائية. وقد كان العسل في نظر البعض المنتج الوحيد الذي له قيمة غذائية و طبية هامة. إلا انه بالإضافة إلى المرتبة العظمى التي يبلغها العسل من بين منتجات النحل، هناك عنصر إضافي يمتلك أهمية غذائية وعلاجية كبيرة، لاحتوائه على كميات معتبرة من المواد الفعالة والبروتينات، السكريات، الفيتامينات، والمعادن.... حيث يستخدم في علاج الكثير من الأمراض التي قد تصيب الجهاز التنفسي والجهاز الهضمي. كما تستعمل كعلاج لمرض فقر الدم، معالجة أعراض الشيخوخة والتقدم في السن، ألا وهو "حبوب اللقاح" [3، 4].

حبوب اللقاح هي كتل صغيرة لحبات لقاح الأزهار تنتج من المتك وهو العضو الذكري للزهرة [5]. يتولى النحل جمعها في جيوب أرجلها الخلفية التي تسمى سلال اللقاح، حيث يتلخص دور حبوب اللقاح في الخلية على تغذية اليرقات فهو مصدر هام للبروتين بالنسبة للنحل [6، 7]. إن الجزء الأهم في هذه الدراسات هو البحث فيما يتعلق بالخصائص الفيزيائية و التركيب الكيميائي لحبوب اللقاح واختلافه حسب المصدر النباتي أو الخصائص الجغرافية للمنطقة، وذلك بالتعرف على مختلف المركبات ذات الفعالية العالية المشكّلة لحبوب اللقاح. وذلك باستخلاص هذه المواد ودراستها باستخدام عدة طرق و أساليب تجريبية ونظرية دقيقة و سهلة، لتقدير المواد الفعالة و الفعالية المضادات للأكسدة واختبار قدرتها على تثبيط الجذور الحرة. بطرق اقل تكلفة مثل الطرق النظرية والطيفية و الكروماتوغرافية [8، 9].

تستهدف هذه الدراسة مجموعة من الأهداف يمكن تلخيصها في النقاط التالية :

- ✓ دراسة عامة لحبوب اللقاح تشمل دراسة الخصائص الفيزيائية.
  - ✓ تصنيف حبوب اللقاح حسب مصدرها النباتي.
  - ✓ تقدير المواد الفعالة بالطرق الطيفية و الكروماتوغرافية.
  - ✓ دراسة الفعالية المضادة للأكسدة باستعمال موليبيدات الامنيوم بطريقة (TAC).
  - ✓ مقارنة النتائج التجريبية و إيجاد نماذج تنبؤية للخصائص المدروسة بعدة طرق.
  - ✓ دراسة نظرية للفعالية المضادة للأكسدة لبعض المركبات الموجودة في حبوب اللقاح.
- وقد تمت هذه العملية وفق مراحل قسمت إلى أربعة فصول تضمنت العناوين التالية:
- ❖ الفصل الأول: عموميات حول حبوب اللقاح.
  - ❖ الفصل الثاني: التحليل بواسطة المطيافية تحت الحمراء و HPLC.
  - ❖ الفصل الثالث: نمذجة التحليل الكمي للمواد الفعالة.
  - ❖ الفصل الرابع: الدراسة النظرية للفعالية المضادة للأكسدة لبعض المركبات الموجودة في حبوب اللقاح.
- حيث تضمن كل فصل جزء نظري و جزء عملي انقسم إلى جزئين قسم لسرد مختلف المواد والطرق و الثاني تم فيه عرض لأهم النتائج ومناقشتها.

[1] يوسف منصور، 1988 ،تصنيف النباتات البذرية ، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق ، ص 243.

[5] طه وهران مجاهد ،النحل أمة، الطبعة الأولى ،الدار العالمية للنشر والتوزيع ،الإسكندرية،2007، ص 282-283.

[6] د منى بنت سليمان الوهبي 322 نبت (تصنيف تجريبي ) المحاضرة 8 ،كلية العلوم ،وكلية قسم النبات والأحياء الدقيقة ، جامعة الملك سعود.

[2] Adjlane, N., Doumandji, S. E., & Haddad, N. (2012). Situation de l'apiculture en Algérie: facteurs menaçant la survie des colonies d'abeilles locales *Apis mellifera intermissa*. *Cahiers Agricultures*, 21(4), 235-241.

[3] Furusawa, E., Chou, S. C., Hirazumi, A., & Melera, A. (1995). Antitumour potential of pollen extract on Lewis lung carcinoma implanted intraperitoneally in syngeneic mice. *Phytotherapy Research*, 9(4), 255-259.

[4] Donadieu Y. (1983). Le pollen : thérapeutique naturelle. Edition Maloine S.A ; 6ème édition, Paris : p 84 :97.

[7] 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.

[8] Kilmartin, P. A. (2001). Electrochemical detection of natural antioxidants: Principles and protocols. *Antioxidants and Redox Signaling*, 3(6), 941-955.

[9] Le Bourvellec, C., Hauchard, D., Darchen, A., Burgot, J. L., & Abasq, M. L. (2008). Validation of a new method using the reactivity of electrogenerated superoxide radical in the antioxidant capacity determination of flavonoids. *Talanta*, 75(4), 1098-1103.

الفصل الاول:

عموميات حمول

حمول واللقاح

## 1.1. عموميات حول حبوب اللقاح:

تندرج دراسة حبوب اللقاح ضمن مجموعة العلوم الخاصة بالنبات و يعبر علم حبوب اللقاح palynology عن طبيعة الروابط الطبيعية بين الأجناس والفئات النباتية باختلاف أنواعها. وهو تلك الدراسة التي تتضمن كل ما يتعلق بحبوب اللقاح سواء في مظهرها الخارجي أو ما يتعلق بخصائصها و مكوناتها الداخلية، التي تساعد فئات مختلفة من علماء البيئة Ecologistes والطب Médical Scientistes والزراعة Agriculturalists حيث أبرزت الدراسات الحديثة لحبوب اللقاح دورها في تصنيف النباتات ودراسة الطبقات الجيولوجية والبيئية للنباتات القديمة التي وضعت فيما يسمى بعلم التصنيف Taxonomy الذي استنبط أفكاره من مختلف علوم النبات كعلم الشكل Morphology والتشريح Anatomy وعلم البيئة Ecology والكيمياء الحياتية Biochemistry، واهتم علم التصنيف بأبرز ثلاثة فروع وهي تشخيص النباتات وتسميتها وتصنيفها لذا أصبح علم حبوب اللقاح علما من العلوم البالغة الأهمية نظرا لمساهمته في تبسيط و حل العديد من المشاكل التي واجهت بعض العلوم الأخرى [1].

## 1.1.1. تعريف حبوب اللقاح:

حبوب اللقاح هي كتل صغيرة الحجم تنتج من المتك وهو العضو الذكري للزهرة [2]. يتولى النحل جمعها من مختلف أزهار النباتات حيث تمثل الخلايا الذكرية Gametes فيها ثم ينقلها إلى الأزهار الأنثوية Stigma ليتم إخصابها وهو ما يعرف بعملية التلقيح Pollination، التي يتم من خلالها الإزهار وخروج الشمار [3,4].



الشكل (1.1) : صورة حبوب اللقاح.

## 2.1.1. مصدرها:

حبوب اللقاح ذات مصدر طبيعي نباتي تتواجد في مختلف زهور النباتات الزهرية [5]. و تختلف حبوب اللقاح باختلاف مصدرها النباتي والعوامل المحيطة به إذ أن كل نبتة تنتج نوعا يميزها عن باقي

النباتات الأخرى وقد أثبتت الدراسات انه من الممكن معرفة المصدر النباتي والظروف المناخية السائدة حوله انطلاقا من دراسة مبسطة لنوعية ومميزات حبوب اللقاح [3].

### 3.1.1. تاريخ استعمال حبوب اللقاح:

حبوب اللقاح ولكونها أهم عنصر في منتوجات النحل، بل تعد الغذاء الأول من النحل حيث سميت "بخبز النحل" أو "بفتيك النحل" [6]. وقد استُخدمها الأطباء في الحضارات الفرعونية والصينية القديمة لعلاج بعض الأمراض كتحسين الذاكرة عند كبار السن قبل (2735) سنة ق.م [7]. كما أطلقت الدراسات حول هذا المنتج في نهاية القرن التاسع عشر من قبل باحثون في بلدان مختلفة (الولايات المتحدة الأمريكية، اليابان، فرنسا....) إلا أن الدراسة التحليلية لحبوب اللقاح أجريت في 1950 م [6].

### 4.1.1. جمع حبوب اللقاح:

#### 1.4.1.1. جمعها من قبل النحل:

يقوم النحل برحلة تجول بين أزهار مختلف النباتات لجمع حبوب اللقاح باعتبارها الغذاء الرئيسي للشغالات واليرقات بعد إعداده لهم [5]. يعتمد النحل على زوج الأرجل الخلفية للنحلة العاملة المجهزة ( فرش، أمشاط، دافعات، سلال) في هذه العملية، حيث تتجمع الحبوب في شكل أزواج ( كرتين) داخل سلتى حبوب اللقاح [6]. وبما أن النحل يتجه أثناء كل رحلة بحث إلى مكان معين، فإن عملية الجني تتعلق غالبا بنوع واحدة من حبوب اللقاح [8].

يستغرق زمن البحث كحد أقصى حوالي 10 ساعات، حيث يتنقل النحل ما بين 8 - 100 زهرة خلال الجولة الواحدة [9]. ونظرا لتنوع طوائف النحل تختلف حاجة الخلية لحبوب اللقاح وذلك حسب عدد اليرقات و كمية الحبوب المخزنة داخل الخلية، لذلك يتم تقدير متطلبات الخلية من حبوب اللقاح قبل كل رحلة، حيث تصل نسبة الجني خلال رحلة واحدة تقريبا إلى 4 مليون حبة لقاح أو أكثر [8]. ويستطيع النحل أن يقوم بعدة رحلات في اليوم الواحد حيث يتراوح عدد الرحلات من 1- 50 رحلة [9].

وبعد عملية الجمع تعود شغالة النحل إلى الخلية فتفرغ حمولتها من حبوب اللقاح في التجايف السداسية حين دخولها للخلية، ثم تقوم فرقة من النحل المختصة بإدخال رأسها في هذه التجايف في ضربات متتالية ليتم بذلك ملؤها، وهو ما يعرف بعملية الرص، كما يحافظ النحل على سلامة حبوب اللقاح بوضع القليل من العسل فوقها لحمايتها من التلف أو تعرضها للهواء [10].

## 2.4.1.I. جمعها من قبل الإنسان:

تولى الإنسان مهمة جمع حبوب اللقاح باعتبارها علاج مهم للأمراض مختلفة، وذلك بوضع مصيدة لحبوب اللقاح في مدخل الخلية<sup>[11]</sup>، وهي عبارة عن شبكة مجهزة بثقوب (قطرها يتراوح بين 4.5 إلى 5 mm)<sup>[12]</sup>، تسمح بدخول النحلة دون كتل حبوب اللقاح المعلقة في الأرجل الخلفية لها فتسقط في صندوق متواجد أسفل الخلية. وبما أن اليرقات بحاجة إلى حبوب اللقاح فان بعض مربى النحل لا يعتمد على جمع حبوب اللقاح لتوفير الكمية الكافية للخلية دون إلحاق الضرر بها<sup>[11]</sup>. ولهذا السبب استعملت أداة جديدة عرفت بفخ النحل حيث تسمح بجمع 10% كحد أقصى من حبوب اللقاح أما الباقي فيوفر كمية اكبر لحاجة الخلية لمنع الضرر الذي قد يلحق بها. ويمكن للعمال حصاد ما يقارب 30-40 كلغ من حبوب اللقاح سنويا<sup>[13]</sup>.



الشكل (2.I) : مصيدة حبوب اللقاح في خلية النحل.

كما أنه يمكن للإنسان أن يجمع حبوب اللقاح مباشرة من الأزهار، إلا أنها عملية مستبعد لحد كبير نتيجة الفروق الشائعة بين هذه الحبوب وتلك المجمعة بطريقة انتقائية بين مختلف أنواع الأزهار من طرف النحل، حيث وجد أن هناك نوعان من حبوب اللقاح:

- انيموفيل **Anémophile**: وهي التي يبتعد عنها النحل، حيث تعمل على تهيج الحساسية.
- انتيموفيل **Entomophile**: وهو النوع المفضل للنحل حيث يتولى جمعه نظرا لفوائده الغذائية المختلفة، كما أنها تعتبر علاج لأمراض الحساسية ومختلف أمراض الجهاز التنفسي [14].

### 5.1.1. تصنيف حبوب اللقاح:

1.5.1.1. حسب المحتوى المائي: تتوعد حبوب اللقاح حسب كمية الماء المحتوية فيها إلى:

- حبوب اللقاح الطازجة: حيث تحتوي على نسبة من الماء تتراوح بين 10% - 12% [4]، وهي حبوب الطلع الأصلية التي يمكن أن تجمع من المصدر الطبيعي النباتي، و يتم تخزينها في مكان بارد للمحافظة عليها من التلوث أو التعفن البكتيري.
- حبوب اللقاح المجففة: يتم الحصول عليها بعد عملية التجفيف، حيث لا تتجاوز نسبة الماء فيها 4-8 غ بالنسبة لكل 100 غ من حبوب اللقاح.

### 2.5.1.1. حسب مصدر الزهرة:

- أحادي الزهرة **Monofloral**: يتم تحديد نوع الحبوب انطلاقا من نسبة حبوب اللقاح الغالبة، إذ يجب أن لا تقل هذه النسبة عن 80%. وهذا يعني أن حبوب اللقاح ينسب إلى نوع أزهار محدد.
- متعدد الزهرة **Multifloral**: وتكون حبوب اللقاح متعددة الأصناف، حيث ينسب إلى مجموعة من المصادر النباتية [15].

### 6.1.1. التجفيف و التخزين:

يتم تجفيف حبوب اللقاح حفاظا عليها من الميكروبات والمواد السامة، حيث يتم إزالة حبوب اللقاح من الأدراج، ثم يتم تجفيفها بسرعة من خلال مرور تيار من الهواء الساخن والجاف عند درجة حرارة 40°C حيث يستمر عدة ساعات و يمر عبر الرفوف التي نشرت عليها حبوب اللقاح وبالتالي يتم خفض نسبة الرطوبة إلى حوالي 4%.

بعد عملية التجفيف يتم نزع الشوائب وذلك إما يدويا أو باستعمال أجهزة متقدمة.

أما عملية التخزين فتتم من خلال وضع العينة في حاويات مغلقة بإحكام، ويتم وضعها في غرفة جافة وباردة حيث يتم خفضها لعدة شهور أو أكثر في درجة حرارة ما بين 0 إلى 5 درجة مئوية وقد تصل المتجمدة إلى (-20°C) وذلك لتقادي ارتفاع الرطوبة [16].

## 7.1.I الخصائص الفيزيائية:

## 1.7.1.I الخصائص الفيزيائية لحبوب لقاح النحل:

## ➤ بنية حبوب لقاح النحل:

تبدو حبوب اللقاح التي يجمعها النحل بمظهر موحد وكأنها كتل صغيرة الحجم، إلا أنها تتكون من حبيبات صغيرة جدا من حبوب لقاح النباتات الزهرية، وذلك لأن النحل بعد عملية جني حبوب لقاح النباتات الزهرية تضيف لها كمية من المواد (إنزيمات، عسل) تجعلها تتماسك ببعضها البعض، فتتجمع في كتل صغيرة تحتوي على ملايين من العناصر الذكرية للنباتات الزهرية.

## ➤ وزن حبة لقاح النحل:

يختلف وزن حبوب اللقاح التي يجمعها النحل باختلاف حجمها، حيث يتراوح وزن حبوب اللقاح ذات حجم كبير ما بين 7 - 15 mg، والحجم الصغير ما بين 1.4 - 6.6 mg، أما حبوب اللقاح متوسطة الحجم فيتراوح وزنها بين 4.8 - 11.4 mg.

## ➤ الحجم:

حجم الحبوب يتراوح ما بين (2 - 5) ميليمتر. و قد تتأثر بالمعاملة الكيميائية أو بوسط الطمر. كما يختلف حجمها حسب مرحلة نضجها [17].

## ➤ اللون:

يختلف لون حبوب اللقاح حسب طبيعة المصدر النباتي حيث يتدرج بين اللونين الأسود والأبيض ويكون غالبا أصفر، برتقالي أو أصفر بني [4]، كما يتأثر اللون بمحتوى حبة اللقاح وخاصة المعادن ونسبة الرطوبة فكلما كانت كمية المعادن فيها أكثر كان اللون أذكى، أما إذا كانت نسبة الرطوبة عالية كانت أفتح [18].



الشكل (3.1): تدرج ألوان حبوب اللقاح.

➤ الرائحة:

تختلف رائحة حبوب اللقاح باختلاف المصدر النباتي، فكلما كانت حبوب اللقاح طازجة كانت رائحة قوية.

➤ الطعم:

يتعلق الطعم بالمصدر النباتي لحبوب اللقاح، ويكون من بين الأذواق التالية:

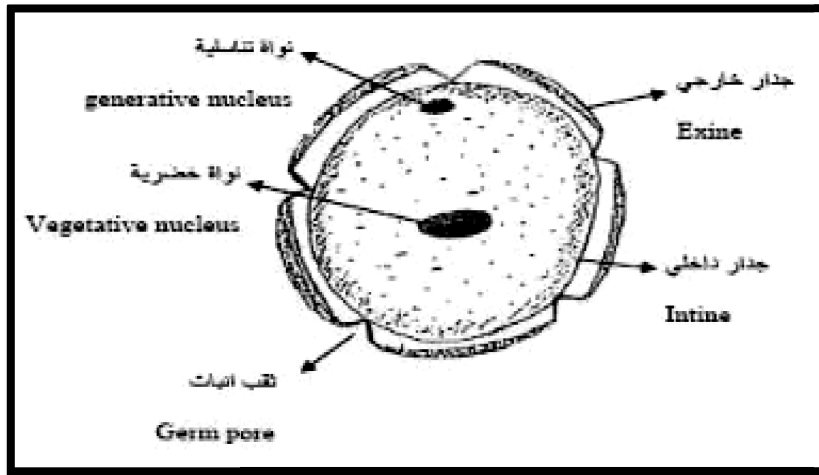
- ✓ الحلو: عادة ما يكون مصدر حبوب اللقاح من أشجار الفواكه والحمضيات.
- ✓ الحامض: يكون أصل الحبوب من نباتات دوار الشمس أو من الأشجار العملاقة التي تنمو في التربة الحمضية، مثل: أشجار الصنوبر، القيقب و الهدال .
- ✓ المر: يكون أصل الحبوب من نباتات الفصيلة الصليبية، مثل: الملفوف والخردل والفجل....
- ✓ بالإضافة إلى الطعم المالح والطعم الحار [4،18].

2.7.1.I الخصائص الفيزيائية لحبوب لقاح النباتات الزهرية:

➤ البنية:

حبوب اللقاح عبارة خلايا حية تتركب من طبقتين واقيتين إحداهما داخلية intine والأخرى خارجية exine [19، 20].

- الطبقة الداخلية: تتشكل من السليلوز والبكتين والبروتين الذي ينتج من الميكروسبور microspore، [21، 22] وهي طبقة واقية للبروتوبلازما خلال مرحلة النمو والتطور.
- الطبقة الخارجية: عبارة عن مادة عضوية صلبة مقاومة [23]، تتخللها فتحات الإنبات، سمكها يتراوح بين 1-3 ميكرومتر، أما الشكل والتركيب فيختلف من حبة إلى أخرى [24]. فيكون إما أملس أو يحتوي على أشواك تكون قصيرة، أو طويلة.



الشكل (4.1): بنية حبوب اللقاح .

➤ الشكل:

يختلف شكل حبوب اللقاح من حبة إلى أخرى حيث تكون في شكل كروي، شبه كروي، بيضوي، اهليلجي، متطاول، أو تكون مستطيلة، مضلعة [23]، أو في أشكال غير منتظمة، كما يمكن أن تكون في شكل قاربي وذلك في بداية مرحلة تطور حبوب اللقاح في النباتات الزهرية [25، 26].

➤ الحجم:

يختلف حجم حبوب اللقاح من صغيرة جدا يتراوح حجمها بين 10-25 ميكرومتر، إلى كبيرة الحجم حيث يتجاوز حجمها 200 ميكرومتر. [27]

➤ فتحات الإنبات:

وهي مناطق رقيقة في غطاء (الجدار الخارجي) حبوب اللقاح، والتي تسمح بخروج المواد الحية المتواجدة داخل الحبة بشكل كلي أو جزئي عندما تنبت حبة اللقاح [17]، و تختلف فتحات الإنبات من حيث الشكل فتكون في شكل ثقب صغيرة أو متسعة وفقا لحجم حبة اللقاح [23]، كما تغطي حبوب اللقاح بغشاء أملس، أو قد يكون حبيبي، قشريا وذلك في بعض الثقوب، كما تعد فتحات الإنبات بين

الخصائص المعتمدة في تصنيف حبوب اللقاح إذ يختلف عدد الفتحات من حبة إلى أخرى فتكون إما أحادية، ثنائية أو ثلاثية الثقب [27، 28].

### ➤ سطح حبوب اللقاح:

يكون أملس أو مثقب أو يحتوي على زوائد مختلفة [27]، يكون شبكي، أو مخطط [23].

## 8.1.I. التركيب الكيميائي:

يختلف التركيب الكيميائي لحبوب اللقاح حسب مصدرها النباتي، لذلك لم يتم تحديد المحتوى الكيميائي والبيولوجي لحبوب اللقاح حتى الآن، إلا أنه تم الكشف عن المكونات الأساسية بطريقة علمية لحبوب اللقاح التي يأتي بها النحل إلى الخلية [29]، والتي تتلخص في المكونات التالية:

❖ **الماء:** بنسبة تتراوح بين 10% - 12% وذلك بالنسبة للحبوب الطازجة، و 4% بالنسبة للمجففة ( وتمثل 5% كحد أقصى)، وتجفيف حبوب اللقاح يتطلب معدات متخصصة والتي يراعى أن تصل فيها درجة الحرارة إلى 40°C وهي الدرجة الموازية لحرارة الخلية، وذلك للمحافظة على بعض المكونات الحيوية التي تتأثر بالحرارة [4، 9]، حيث يتم تحديد كمية الماء في حبوب اللقاح بعد عملية التجفيف إلى وزن ثابت في مجفف أو فرن تجفيف الأشعة تحت الحمراء أو بواسطة طريقة كارل فيشر [30].

❖ **السكريات:** وتمثل 35% [4]، وهي عبارة عن سكريات بسيطة مثل الجلوكوز، السكروز والفراكتوز. التي تأتي من الرحيق أو العسل. أما السكريات المتعددة المكونة لحبوب اللقاح تتمثل في: الغالكتوز، البكتين، السيليلوز [30].

❖ **الدهون:** وتمثل 5% [31]، تكون الدهون بشكل أحادي، ثنائي وثلاثي غليسريد، بالإضافة إلي كميات صغيرة من الأحماض الدهنية، الستيرين و الهيدروكربونات.

❖ **البروتينات:** وتمثل 25% من مكونات حبوب اللقاح (مع وجود نسبة كبيرة من الأحماض الأمينية) حيث يوجد أكثر من 17 حمض أميني مختلف، كالبروبولين، غلوتاميك، أسبرتيك، ليزين ولوسين، حيث تشكل حوالي 55% من الأحماض الكلية. والتي لها خصائص علاجية كبيرة [4]، وتكون الأحماض الأمينية في مختلف حبوب اللقاح متشابهة [32].

❖ **الفيتامينات:** تحتوي حبوب اللقاح على الكثير من الفيتامينات.

الجدول (1.I): كمية الفيتامينات في Kg من حبوب اللقاح [33، 34].

الكمية (mg/kg)	الفيتامين
200 -10	β-Carotene
13 -6	B1- Thiamin
20 -6	B2- Riboflavin
110 -40	B3- Niacin
20 -5	B5- Pantothenic acid
7 -2	B6- Pyridoxin
560 -70	C- Ascorbic acid
0.7 -0.5	H- Biotin
10 -3	Folic acid
320 -420	E- Tocopherol

❖ **المعادن:** تعتبر المعادن من المكونات الأساسية والمهمة لحبوب اللقاح، حيث تلعب دور رئيسي دور في التفاعلات العديدة والتي تدخل في عمليات الأيض الغذائي للخلية، ومن أهم هذه المعادن:

الجدول (2.I): كمية المعادن في kg من حبوب اللقاح [35، 36].

الكمية (mg/kg)	المعدن
3000-200	المغنيسيوم
3000-200	الكالسيوم
170 -11	الحديد
250 -30	الزنك
16 -2	النحاس
110-20	المنغنيز
6000-800	الفسفور
20000-4000	البوتاسيوم

❖ **الإنزيمات والخمائر:** تحتوي حبوب اللقاح على الكثير من الإنزيمات والخمائر التي تستخدم كعوامل مساعدة في التفاعلات الكيماوية أهمها: الاميليز، الانفرتاز، الفوسفاتيز، ليبيز، كتاليز و بكتيز.

❖ **مساعداات الإنزيمات:** أهمها: سيتوكروم، أيزوميريز، لاكتيك ديهدروجيتيز.

❖ **الصبغيات:** كالكاروتين و زانثوفيل [37].

❖ **الفلافونويدات:** وتكون بكمية كبيرة حيث تعتبر من المركبات الفعالة والمميزة لحبوب اللقاح [20]، فهي مسؤولة عن لون حبوب اللقاح [38]، وطعمها المر. وتتواجد هذه المركبات غالبا على شكل مشتقات السكر. وتتراوح نسبة الفلافانويدات بين (1.3 - 8.24 ملغ/100 غ) ومن ناحية أخرى بين (0.53 -

3.26 ملغ\100 غ) [39، 40]، ويرجع هذا الاختلاف في نسبة الفلافونويدات إلى الاختلاف في نوعية حبوب اللقاح. ويعتبر الروتين فلافونويد أساسي في حبوب اللقاح [41]، وهو مادة تدخل في تركيب الشعيرات الدموية وتزيد من قوة التصاق خلاياها ببعضها البعض، وفي حالة نقص هذه المادة فإن الثغرات الموجودة بين الخلايا تصبح واسعة مما يزيد ارتشاح السوائل منها، وهو ما يعرف بالارتشاح المائي (Odema) [4].

- ❖ متعدد الفينول: بينت الدراسات السابقة أن نسبة البولي فينول عالية جدا في حبوب اللقاح [42].
- ❖ الألياف الخام: تعتمد نسبة الألياف باختلاف المصدر النباتي، وكذلك طريقة تحديد كميتها [43، 44]، وفي أغلب الأحيان تتراوح نسبتها بين 7-20 غ \ 100 غ [45].
- ❖ الرماد: يشكل 6 % من كمية حبوب اللقاح [37].
- ❖ الستيرويدات: بنسبة 0.1-0.4 % من بينها:  $\beta$ -استراديول، سيستوستيرول، ستيغماستيرول و فوكوستيرول.
- ❖ التربينات: تحتوي على 0.1-0.2 % من التربينات الأحادية [38].

### 9.1.1. دور حبوب اللقاح في الخلية:

حبوب اللقاح هي أحد أساسيات حياة مجتمع النحل، حيث تخزن في سداسيات الخلية بعد دمجها بالعسل، لتستخدم في عملية تغذية يرقات النحل [8]، باعتبارها المصدر الأساسي للبروتينات. كما يعد فصل الربيع من أكثر الفصول التي يتم فيها تعاطي نسبة كبيرة من حبوب اللقاح، نظرا لنشاط النحل في هذه الفترة [46].

### 10.1.1. الفوائد الطبية لحبوب اللقاح:

نظرا لكم الهائل والمتنوع لمكونات حبوب اللقاح، وخاصة مضادات الأكسدة، المتمثلة في الفينولات، الفلافونويدات والكاروتينات التي تتصدى لعملية الأكسدة التي يمكن أن تصيب الجسم [20]، كما أن لبقيّة المكونات تأثير واضح في قدرتها على حل الكثير من المشاكل والأمراض الجسمية والنفسية التي يتعرض لها الإنسان خلال مسيرته في الحياة، بالإضافة لكونها من الأغذية الكاملة التي تساعد على سلامة الصحة والمحافظة عليها. تبين أن حبوب اللقاح من المواد المهمة والتي تتميز بخصائص طبية، وقائية وعلاجية محددة وفقا لمصدرها النباتي، تكمن في:

- علاج فقر الدم.
- علاج اضطرابات الغدد الصماء والتهابات الدماغ.
- المساعدة في علاج فيروسات الكبد.
- الوقاية من التهاب القولون.
- يزيد عدد كريات الحمر في الدم ورفع نسبة الهيموجلوبين.
- تقوية جهاز المناعة.
- الوقاية من سرطان البروستاتا.
- الوقاية من تصلب الشرايين.
- منع التوتر العصبي.
- علاج نزيف ملتحمة العين.
- منع النزيف الداخلي الذي يتزامن مع ارتفاع الضغط والسكر.
- منع ترسب الدهون بالكبد وإزالة الكوليسترول والتخلص من الدهون الزائدة بالجسم لاحتوائها على الليسين [46، 47].

الفصل الأول:

المواد والطرق

## 2.I. المواد والطرق:

## 1.2.I. الأجهزة والوسائل المستعملة:

- ميزان حساس نوع (EXPLORER) بدقة (0.1 mg) صنع (OHRUS).
- مجهر ضوئي نوع (OPTIKA B-350) مجهز بكاميرا رقمية.
- ماسح ضوئي.

## 2.2.I. البرامج المستخدمة:

تم استخدام برنامج Orange data mining و هو برنامج لمعالجة البيانات الرقمية، تم الاستعانة به في تصنيف و التنبؤ بأنواع حبوب اللقاح للعينات المدروسة مع الاخذ بعين الاعتبار العينات المرجعية.

## 3.2.I. المواد الكيميائية المستعملة:

- إيثانول ( $C_2H_6O$ )، ( $M=46.07g/mol$ )، (99.8%) صنع (Honeywell).
- ماء مقطر

## 4.2.I. المواد والطرق:

تم تحضير عينات حبوب اللقاح وفق المخطط الموضح في الشكل (5.I).

## 1.4.2.IV. جمع حبوب اللقاح:

إن التركيب الكيميائي لحبوب الطلع يتأثر بالعديد من الظروف سواء كانت متعلقة بموقع الجني أو المناخ السائد، وهذا الأخير بدوره يؤثر على تنوع الغطاء النباتي وبالتالي فإنه يؤثر بشكل غير مباشر على التركيب الكيميائي لحبوب الطلع، لذلك ارتأينا جمع عينات من أماكن و ولايات جزائرية مختلفة، حيث تم جنيها من طرف مختصين في تربية النحل، في مدة تراوحت بين 2016 – 2018. والجدول (3.I) يوضح ترميز وتاريخ جني كل عينة.



الشكل (5.I): مخطط الدراسة الطلعية لعينات حبوب اللقاح

## الجدول (3.I): مناطق العينات المدروسة وتاريخ جنيها.

رقم العينة	المنطقة	تاريخ جنيها
1	Bouira	2017
2	Mtija	2017
3	Skikda	2017
4	Constantine	2017
5	Tipasa	2016
6	El Bayadh	2016
7	Tipasa	2016
8	Bouira et Boumerdès	2016
9	Iaghout, Blida, Medea	2016
10	Tizi Ouzou	2016
11	Boumerdès	2016
12	Tizi Ouzou	2016
13	EL-Oued	2018

## 2.4.2.IV. عملية فرز العينات:

تحتوي الحاوية الواحدة لعينات حبوب اللقاح على مجموعة من الألوان المختلفة، لذا تم فصل كل لون من ألوان حبوب اللقاح على حدا، حيث تمت عملية فرز حبوب اللقاح المدروسة وفق الخاصية اللونية بالاعتماد على اللون الظاهري للعين المجردة، ليتم تقدير النسبة المئوية لمجموعة الألوان في كل حاوية. ومن اجل ذلك أخذنا 5 g من كل عينة (حاوية)، وبعد عملية الفرز تم وزن الكميات المخصصة الناتجة من كل لون من العينات المدروسة. و تم تقدير النسبة المئوية لكل لون للتعرف على صنف حبوب اللقاح من حيث المصدر الزهري.



الشكل (6.I): طريقة الفرز اللوني عينات حبوب اللقاح.

#### 3.4.2.IV. تحديد اللون الرقمي:

استخدمنا موقع <http://www.rapidtables.com/web/color/color-tester.html> لتحليل

ألوان حبوب اللقاح بالتشفير الثلاثي (R, G, B) للألوان (Red, Green, Blue)، حيث وضعت صور حبوب اللقاح الملتقطة بواسطة الماسح الضوئي، ليتم تحديد اللون الحقيقي لصور العينات المدروسة. من خلال تسجيل النسبة الغالبة للون حبوب اللقاح والمحددة بثلاث متغيرات تتمثل في:

حيث:

• Name color: يحدد اسم اللون الحقيقي للصورة المدروسة.

• R,G,B: تحدد نسب الألوان الثلاثة (R: الأحمر, G: الأخضر, B: الأزرق) في العينة المدروسة.

• # HAX: تحدد لون العينة في نظام HAX [48].

#### 4.4.2.IV. وزن حبوب اللقاح:

استخدمنا ميزان حساس ذو دقة عالية لتقدير وزن حبة اللقاح حيث تم أخذ ثلاث حبات مختلفة من

كل لون ناتج عن كل عينة وقمنا بوزن كل حبة من الحبات الثلاثة لحساب متوسط وزن حبة اللقاح لكل لون من العينات المدروسة.

#### 5.4.2.IV. الدراسة الطلعية:

• حبوب اللقاح المرجعية: و هي حبوب اللقاح التي تم جمعها من الغطاء النباتي المحيط بخلايا النحل.

• حبوب لقاح العينات: و هي حبوب لقاح العينات المدروسة و هي مجهولة المصدر.

❖ تحضير العينات للمشاهدات المجهرية:

✓ حبوب اللقاح المرجعية

في موسم الإزهار تم جمع أزهار من مختلف النباتات المحيطة بخلايا النحل التي أخذت منها العينات، حيث أخذت هذه الأزهار إلى المخبر و تم دراسة حبوب اللقاح التي عزلت منها حيث وضعت في شريحة مجهرية غطت بساير و تمت المشاهدة تحت المجهر بتكبير 1000 مرة.

✓ حبوب لقاح العينات:

بعد عملية الفرز اللوني تم أخذ 3 حبات لقاح ( بمعدل 2mg ) من كل لون مستخرج من العينات المدروسة، وتم وضعها في أنابيب اختبار، أضفنا لها 1 ml من الايثانول (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) " تم اختيار الايثانول (الكحول) لتفادي انتشار البكتيريا في الوسط ".

تترك العينات لمدة ساعة حتى تتحلل تكتلات حبوب اللقاح، ثم نأخذ الراسب المتبقي من عملية التحلل ونضعه على شريحة زجاجية، نضيف له قطرات من الماء المقطر لتخفيف العينات، ثم تغطي الشريحة بساترة، ونضيف لها قطرات من الزيت " لتوضيح الصور بشكل أفضل "، و توضع في المجهر الضوئي المزود بحاسوب وكاميرا لالتقاط مختلف صور حبوب اللقاح بتكبير 1000 مرة.

#### IV.6.4.2. تصنيف حبوب اللقاح:

الطريقة الأولى:

تم تصنيف حبوب اللقاح حسب المصدر النباتي، بالاعتماد على التحليل الطلي لعينات حبوب اللقاح حيث تمت مقارنة شكل، حجم، السطح الخارجي، و فتحات الإنبات لحبوب لقاح العينات المدروسة ببعض المراجع و الدراسات السابقة المتخصصة في دراسة تصنيف حبوب اللقاح و مصدرها النباتي. حيث ارتكزت هذه العملية على النسبة الغالبة لصور حبوب اللقاح الملتقطة عن طريق المجهر الضوئي في كل عينة من العينات المدروسة (P1 - P12)<sup>[49]</sup>.

الطريقة الثانية:

تم استخدام برنامج Orange data mining لمقارنة الصور المرجعية بصور عينات حبوب الطلع لمنطقة الوادي الملتقطة عن طريق المجهر الضوئي.

✓ جمع الصور:

تعتبر الصور الرقمية هي البيانات التي سيتعامل معها برنامج Orange data mining لذا يجب أن تكون عند نفس الشروط لكل من العينات المرجعية و العينات المجهولة. تم أخذ أكثر من صورة للعينات المرجعية و كذا المجهولة، و خضعت لفرز أولي عن طريق الملاحظة المجردة، مع بعض التعديلات البسيطة.

✓ طريقة العمل:

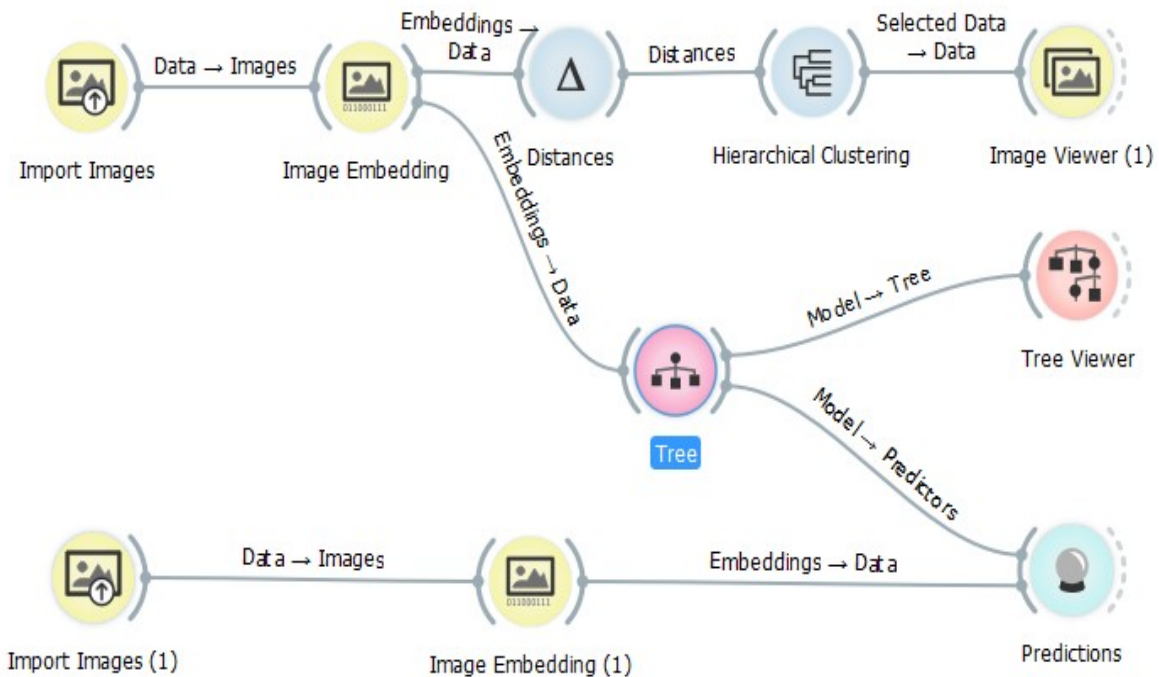
كمرحلة أولى يتم تحويل الصور إلى بيانات رقمية دقيقة بواسطة (Deep Embedding Network) حيث يمكن أن توصف الصورة ب : 2048 صفة ذات قيمة رقمية [50].

بعدها تم العمل وفق طريقتين:

#### • طريقة العنقود الهرمي (Hierarchical clustering):

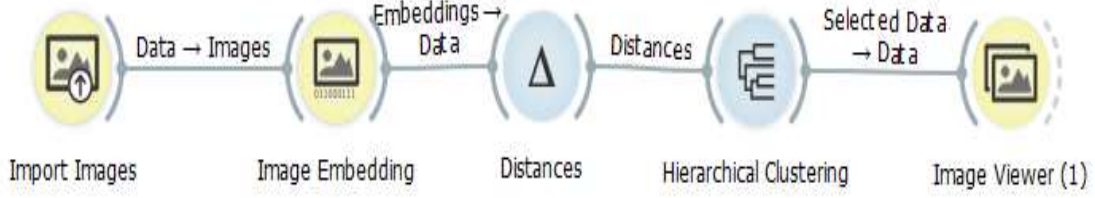
تعتمد هذه الطريقة على تصنف المتغيرات (الصور) حسب خصائص معينة في مجموعات مختلفة، ويتم ترتيبها داخل عناقيد محددة، حيث توضع المتغيرات ذات الخصائص المشتركة داخل عنقود واحد يتميز بمميزات مخالفة لبقية العناقيد الأخرى [51].

#### • طريقة التنبؤ الشجري (Tree prediction)



الشكل (7.1): مخطط طرق فرز و تصنيف حبوب اللقاح على برنامج Orange data mining

و يمكننا أيضا إيجاد مدى التشابه بين العينات من خلال مكوناتها الطلعية و ذلك عن طريق العنقود الهرمي.



الشكل (8.1): مخطط طريقة العنقود الهرمي على برنامج Orange data mining.

الفصل الأول:

النسائج والمنافسة

## 3.I. النتائج والمناقشة:

## 1.3.I. فرز العينات:

بعد عملية فرز عينات حبوب اللقاح تم تقدير النسبة المئوية لمختلف الألوان المستخرجة في

العينات المدروسة حيث دونت النتائج في الجدول (4.I) كالآتي:

الجدول (4.I): النسبة المئوية لكمية حبوب اللقاح في كل لون من العينات.

Samples	Symbol	Color	weight (g)	Pollen types identified in a pool of 5g of the sample (%)	Evaluation of a pool of 5g of the sample
Bouira	A1	Light beige	2.89	57.8	Heterofloral
	J1	Yellow	0.27	5.4	
	O1	Orange	1.55	30.6	
	N1	Black	0.31	6.2	
Mtija	J2	Yellow	1.65	33.0	Heterofloral
	O2	Orange	1.11	22.2	
	Js2	Dark Yellow	1.66	33.2	
	B2	Brown	0.58	11.6	
Skikda	J3	Yellow	2.7	54	Heterofloral
	O3	Orange	0.46	9.2	
	B3	Brown	1.13	22.6	
	V3	Green	0.64	12.8	
Constantine	J4	Yellow	0.45	9	Heterofloral
	O4	Orange	0.36	7.2	
	A4	Light beige	3.68	73.6	
	Js4	Dark Yellow	0.41	8.2	
Tipaza	J5	Yellow	1.48	29.6	Heterofloral
	Jo5	Yellow- Orange	0.33	6.6	
	Js5	Dark Yellow	1.63	32.6	
	O5	Orange	0.38	7.6	
	V5	Green	0.44	8.8	
	N5	Black	0.29	5.8	
	R5	Red	0.45	9	
El Bayadh	J6	Yellow	0.76	15.2	Monofloral
	O6	Orange	0.13	2.6	
	Jo6	Yellow -Orange	4.05	81	
	N6	Black	0.06	1.2	
Tipaza	J7	Yellow	2.57	51.4	Heterofloral
	O7	Orange	0.44	8.8	
	Js7	DarkYellow	1.35	27	
	N7	Black	0.25	5	
	R7	Red	0.33	6.6	
	Rs7	Dark Red	0.29	5.8	
Bouira et	J8	Yellow	1.16	23.2	Heterofloral

Boumerdès	O8	Orange	0.61	12.2	
	Js8	Dark Yellow	1.65	33	
	R8	Red	0.72	14.4	
	B8	Brown	0.81	16.2	
	N8	Black	0.09	1.8	
Laghouat, Blida, Medea	J9	Yellow	0.67	13.4	Heterofloral
	O9	Orange	0.32	6.4	
	B9	Brown	2.49	49.8	
	Bn9	Brown-Black	0.17	3.4	
	R9	Red	0.33	6.6	
Tizi Ouzou	N9	Black	1.16	23.2	Heterofloral
	J10	Yellow	1	20	
	O10	Orange	1.8	36	
	B10	Brown	1.16	23.2	
	R10	Red	0.9	18	
Boumerdès	V10	Green	0.16	3.2	Heterofloral
	J11	Yellow	1.56	31.2	
	O11	Orange	0.04	0.8	
	Js11	Dark Yellow	1.01	20.2	
	R11	Red	2.18	43.6	
Tizi Ouzou	V11	Green	0.34	6.8	Heterofloral
	J12	Yellow	1.47	29.4	
	O12	Orange	0.6	12	
	Js12	Dark Yellow	1.35	27	
	B12	Brown	1.19	23.8	
	R12	Red	0.33	6.6	
EL-Oued	N12	Black	0.15	3	Heterofloral
	A13	Light beige	0.06	1.2	
	W13	White	0.01	0.2	
	J13	Yellow	1.72	34.4	
	O13	Orange	0.39	7.8	
	Js13	Dark Yellow	1.56	31.2	
	B13	Brown	0.67	13.4	
	V13	Green	0.03	0.6	
	Vs13	Dark Green	0.32	6.4	
	VIO13	Violet	0.1	2	
	R13	Red	0.01	0.2	
N13	Black	0.01	0.2		

من خلال النتائج المدونة في الجدول (4.I) نلاحظ أن أغلبية العينات المدروسة تنسب إلى مصادر نباتية مختلفة، لأن النسب المئوية الموافقة لألوان العينة الواحدة لم تتجاوز نسبة 80% [15]. ما عدا عينة منطقة البيض التي تعد أحادية الزهرة (Monofloral) حيث بلغت النسبة المئوية للون Yellow –Orange إلى (81%).

وبمقارنة نسب الألوان نجد أن العينات المدروسة يغلب عليها اللون الأصفر Yellow، البرتقالي Orange، البني Brown، الباج Light beige، الأصفر الداكن Dark Yellow. أما بقية الألوان فتكون بنسب صغيرة. ويرجع هذا التفاوت في نسب الألوان إلى طبيعة المصدر النباتي و العوامل المناخية [4,18].

### 2.3.I. تحديد اللون الرقمي:

تم تحديد اللون الرقمي بالتشفير الثلاثي، حيث دونت النتائج في الجدول (5.I):

الجدول (5.I): اللون الرقمي لعينات حبوب اللقاح.

Samples	Symbol	Color name	R Red	G Green	B Blue	#HEX
Bouira	A1	Silver	228	181	124	#E4B57C
	J1	Orange	215	175	81	#D7AF51
	O1	Orange	227	108	27	#E36C1B
	N1	Olive	140	83	49	#8C5331
Mtija	J2	Orange	220	173	55	#DCAD37
	O2	Olive	169	75	11	#A94B0B
	Js2	Olive	180	121	45	#B4792D
	B2	Gray	204	180	93	#CCB45D
Skikda	J3	Orange	243	183	93	#F3B742
	O3	Orange	233	122	28	#E97A1C
	B3	Silver	238	185	148	#EEB994
	V3	Silver	238	207	158	#EECF9E
Constantine	J4	Orange	226	163	82	#E2A352
	O4	Orange	227	117	51	#E37533
	A4	Silver	228	187	160	#E4BBA0
	Js4	Orange	206	152	39	#CE9827
Tipaza	J5	Orange	222	172	69	#DEAC45
	Jo5	Orange	226	169	79	#E2A94F
	Js5	Olive	169	106	50	#A96A32
	O5	Orange	208	130	69	#D08245
	V5	Black	36	44	41	#242C29
	N5	Maroon	115	61	48	#733D30
	R5	Olive	125	73	51	#7D4933
El Bayadh	J6	Orange	220	168	54	#DCA836
	O6	Orange	215	140	53	#D78C35
	Jo6	Gray	203	144	76	#CB904C
	N6	Gray	112	110	74	#706E4A
Tipaza	J7	Orange	238	179	71	#EEB347
	O7	Olive	200	118	51	#C87633
	Js7	Olive	163	111	56	#A36F38
	N7	Olive	93	92	44	#5D5C2C
	R7	Olive	172	82	36	#AC5224

	Rs7	Olive	140	83	38	#8C5326
Bouira et Boumerdès	J8	Orange	206	157	68	#CE9D44
	O8	Olive	187	115	56	#BB7338
	Js8	Gray	180	135	69	#B48745
	R8	Maroon	187	63	41	#BB3F29
	B8	Silver	222	183	143	#DEB78F
	N8	Black	64	60	44	#403C2C
Laghouat, Blida, Medea	J9	Orange	223	155	46	#DF9B2E
	O9	Orange	216	128	36	#D88024
	B9	Olive	189	126	49	#BD7E31
	Bn9	Maroon	113	56	26	#71381A
	R9	Olive	131	68	35	#834423
	N9	Olive	67	67	36	#434324
Tizi Ouzou	J10	Orange	219	173	70	#DBAD46
	O10	Olive	183	82	49	#B75231
	B10	Olive	181	118	45	#B5762D
	R10	Maroon	153	63	31	#993F1F
	V10	Olive	128	106	52	#806A34
Boumerdès	J11	Silver	255	207	135	#FFCF87
	O11	Orange	213	110	33	#D56E21
	Js11	Gray	220	156	95	#DC9C5F
	R11	Gray	174	99	66	#AE6042
	V11	Olive	92	95	50	#5C5F32
Tizi Ouzou	J12	Orange	232	181	79	#E8B54F
	O12	Orange	201	117	39	#C97527
	Js12	Olive	185	136	62	#B9883
	B12	Olive	152	90	47	#985A2F
	R12	Olive	164	75	50	#A44B32
	N12	Black	52	45	28	#342D1C
EL-Oued	A13	Silver	217	162	103	#D9A267
	W13	Silver	234	203	166	#EACB6
	J13	Orange	236	187	72	#ECBB48
	O13	Orange	213	89	33	#D55921
	Js13	Orange	205	134	33	#CD8621
	B13	Olive	168	111	63	#A86F3F
	V13	Gray	195	158	114	#C39E72
	Vs13	Gray	94	91	75	#5E5B4B
	VIO13	Gray	153	92	102	#995C66
	R13	Olive	141	70	36	#8D4624
N13	Maroon	66	46	28	#422E1C	

دراسة تحديد اللون الرقمي لعينات حبوب اللقاح المدروسة بينت أن الألوان الحقيقية للعينات المدروسة كانت متقاربة مع الألوان الظاهرية (الملاحظة بالعين المجردة). وقد تبين أيضا أن النسبة الغالبة لألوان العينات المدروسة تتغير بين اللونين البرتقالي Orange و الزيتوني Olive و تختلف هذه

الألوان في تباين نسبة الألوان الموافقة لها، حيث يأخذ اللون الأحمر النسبة الغالبة في أغلب العينات المدروسة و يليه اللون الأخضر بنسب عالية نسبيا.

وهذا يعني أن حبوب اللقاح للعينات المدروسة تتفاوت ألوانها بين اللونين البرتقالي Orange و الزيتون Olive. إضافة إلى بعض الألوان الأخرى التي كانت بنسب أقل حيث تدرجت وفق الترتيب التالي: Black ، Maroon ، Silver، Gray .

### 3.3.I. وزن حبوب اللقاح:

من خلال عملية وزن حبوب اللقاح للعينات المدروسة وحساب متوسط الوزن لكل لون تحصلنا على النتائج المدونة في الجدول (6.I):

الجدول (6.I): معدل وزن حبوب اللقاح للعينات المدروسة .

Samples	Symbol	Big pollen	Moyen pollen	Small pollen	Mean pollen	STDEV	Moyen Weight (mg)
Bouira	A1	12.7	10.4	5.6	9.567	3.62	9.57±3.62
	J1	10.4	7.3	3.8	7.167	3.30	7.17±3.30
	O1	14.2	8.4	2.7	8.433	5.75	8.43±5.75
	N1	10.7	7.5	4.4	7.533	3.15	7.53±3.15
Mtija	J2	15	9.5	5.3	9.933	4.86	9.93±4.86
	O2	9.1	7.2	3.2	6.5	3.01	6.5±3.01
	Js2	12	6.6	2.5	7.033	4.76	7.03±4.76
	B2	10.6	6	5	7.2	2.99	7.2±2.99
Skikda	J3	10.8	5.8	3.7	6.767	3.65	6.77±3.65
	O3	10.6	10.2	6.2	9	2.43	9±2.43
	B3	9.1	9.2	3.4	7.233	3.32	7.23±3.32
	V3	11.2	7.8	5.1	8.033	3.06	8.03±3.06
Constantine	J4	9.9	7.5	3.9	7.1	3.02	7.1±3.02
	O4	9.7	6.7	3.2	6.533	3.25	6.53±3.25
	A4	11.3	9	4.2	8.167	3.62	8.17±3.62
	Js4	11.9	10.9	4.9	9.233	3.79	9.23±3.79
Tipaza	J5	14.5	8.7	2.3	8.5	6.10	8.5±6.10
	Jo5	10.7	7.9	5.6	8.067	2.55	8.07±2.55
	Js5	12.9	8	2.9	7.933	5.00	7.93±5.00

	O5	12	6.3	3	7.1	4.55	7.1±4.55
	V5	14.5	9.8	4.6	9.633	4.95	9.63±4.95
	N5	8.6	7.2	1.4	5.733	3.82	5.73±3.82
	R5	8.1	4.8	4.3	5.733	2.06	5.73±2.06
El Bayadh	J6	11.5	11.3	5.8	9.533	3.23	9.53±3.23
	O6	12.5	8.2	5.6	8.767	3.48	8.77±3.48
	Jo6	10.8	10	5.2	8.667	3.03	8.67±3.03
	N6	8.7	7.6	3.8	6.7	2.57	6.7±2.57
Tipaza	J7	9.2	7.6	4.7	7.167	2.28	7.17±2.28
	O7	10.5	7.1	3	6.867	3.76	6.87±3.76
	Js7	11	5.9	3.4	6.767	3.87	6.77±3.87
	N7	12.1	11.4	6.6	10.033	2.99	10.03±2.99
	R7	13.3	5.9	3.3	7.5	5.19	7.5±5.19
	Rs7	12.4	8.5	3	7.967	4.72	7.97±4.72
Bouira et Boumerdès	J8	10.3	6.3	4.4	7	3.01	7±3.01
	O8	14	9.1	3	8.7	5.51	8.7±5.51
	Js8	8.5	5.7	3.7	5.967	2.41	5.97±2.41
	R8	14.7	9.6	4.9	9.733	4.9	9.7±4.90
	B8	8.7	6.2	3	5.967	2.86	5.97±2.86
	N8	10.3	5.9	3.4	6.533	3.49	6.53±3.49
Laghouat ,Bida ,Medea	J9	10.7	7.4	2.6	6.9	4.07	6.9±4.07
	O9	9.9	8.4	4	7.433	3.07	7.43±3.07
	B9	12.1	6.8	2.6	7.167	4.77	7.17±4.76
	Bn9	11.5	8.1	4.2	7.933	3.65	7.93±3.65
	R9	7.9	5.2	2.7	5.267	2.60	5.27±2.6
	N9	9.3	6	4.1	6.467	2.63	6.47±2.63
Tizi Ouzou	J10	13.6	5.2	4.4	7.733	5.1	7.73±5.1
	O10	10.9	7.4	4.1	7.467	3.4	7.47±3.40
	B10	11.5	6	3.8	7.1	3.97	7.1±3.97
	R10	10.8	7.3	3.2	7.1	3.80	7.1±3.8
	V10	8.6	6.8	3.6	6.333	2.53	6.33±2.53
Boumerdès	J11	10.7	7.5	2.9	7.033	3.92	7.03±3.92

	O11	9.5	8.2	3.7	7.133	3.04	7.13±3.04
	Js11	7.9	7.8	3.9	6.533	2.28	6.53±2.28
	R11	12.3	6.5	3.8	7.533	4.34	7.53±4.34
	V11	9.8	7.5	4.4	7.233	2.71	7.23±2.71
Tizi Ouzou	J12	11.2	6	4.7	7.3	3.44	7.3±3.44
	O12	8.6	5.2	3.8	5.867	2.47	5.87±2.47
	Js12	11.2	6.6	3.1	6.967	4.06	6.97±4.06
	B12	9.1	7.6	5.1	7.267	2.02	7.27±2.02
	R12	7	6.2	4.7	5.967	1.17	5.97±1.17
	N12	13	6.3	6.1	8.467	3.93	8.47±3.93
El-Oued	A13	7.8	5.9	2.7	5.467	2.57	5.47±2.57
	W13	6.9	5.3	3.7	5.3	1.6	5.3±1.6
	J13	11.7	6.5	3.4	7.2	4.19	7.2±4.19
	O13	9.7	6.4	4.4	6.833	2.67	6.83±2.67
	Js13	10.4	4.9	2.1	5.8	4.22	5.8±4.22
	B13	11.1	6.7	3	6.933	4.06	6.93±4.06
	V13	9.4	6.5	3.8	6.567	2.80	6.57±2.8
	Vs13	8.3	5.1	2.4	5.267	2.95	5.27±2.95
	VIO13	11.3	6.1	2.9	6.767	4.24	6.77±4.24
	R13	8.4	5	2.4	5.267	3.01	5.27±3.01
	N13	4.8	2.7	1.5	3	1.67	3±1.67

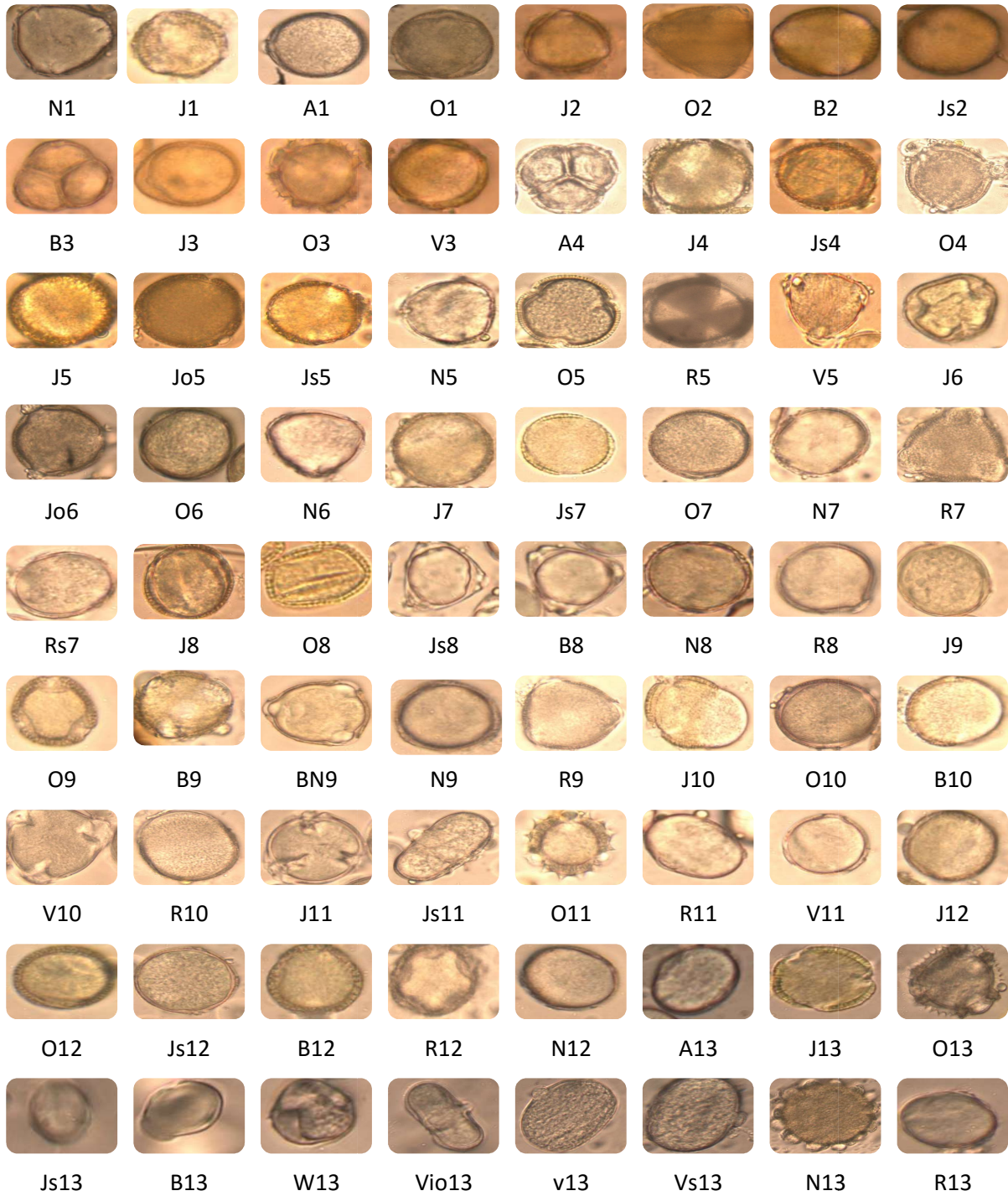
تشير نتائج الجدول (6.I) إلى الاختلاف في متوسط وزن حبوب اللقاح بين مختلف العينات

المدروسة، حيث تراوحت الأوزان بين (3-10 mg)، أما الوزن المتوسط الغالب فكان يتراوح بين: (7.03mg - 7.97 mg)، حيث يتراوح وزن حبوب اللقاح ذات حجم كبير ما بين 7-15 mg، والحجم الصغير ما بين 1.4-6.6 mg، أما حبوب اللقاح متوسطة الحجم فيتراوح وزنها بين 4.8-11.4 mg. ويعود هذا الاختلاف إلى حجم حبوب اللقاح وطبيعتها مصدرها النباتي، كما تختلف هذه القيم على حسب مجتمع النحل، وسط الطمر و مرحلة نضج حبوب اللقاح<sup>[17]</sup>.

#### 4.3.I. الدراسة الطلعية:

نتائج الدراسة الطلعية تمت بأخذ صور العينات المدروسة حيث وضحت نتائج الدراسة في الشكل

(9.I):



الشكل (9.I): الصور الملتقطة بالمجهر الضوئي لعينات حبوب اللقاح المدروسة.

من خلال مقارنة صور الدراسة الطلعية تبين أن هناك اختلاف كبير بين العينات المدروسة لحبوب اللقاح حيث شمل هذا الاختلاف الشكل، الحجم، السطح الخارجي، فتحات الإنبات، و بما أن عينات حبوب اللقاح المدروسة كانت من مناطق جزائرية مختلفة (الشمال، الجنوب، الوسط، الشرق، الغرب)، فهذا يعني أن هذا الاختلاف يتعلق بخصائص المناطق المدروسة (المناخية، التضاريسية، الغطاء النباتي) [17: 28].

## 5.3.I. تصنيف حبوب اللقاح:

بعد مقارنة عينات حبوب اللقاح بمراجع الدراسة الطلعية تم نسب كل عينة إلى مصدرها النباتي، و

دونت النتائج في الجدول (7.I):

الجدول (7.I): تصنيف حبوب اللقاح حسب المصدر النباتي.

Samples	Symbol	Source
Bouira	A1	Boxelder maple
	J1	Moose maple
	O1	Canada anemone
	N1	Creeping bugleweed
Mtija	J2	Creeping bugleweed
	O2	Soybean
	Js2	Spotted yellow loosestrife
	B2	Red sand-spurrey
Skikda	J3	Pink corydalis
	O3	Pearly everlasting
	B3	caliculé Leatherleaf
	V3	Canada fly honeysuckle
Constantine	J4	Trembeling aspen
	O4	Common storksbill
	A4	Leatherleaf
	Js4	Crocus
Tipaza	J5	Bitter Wintercress
	Jo5	Birch
	Js5	Common ragweed
	O5	Buckwheat
	V5	European columbine
	N5	Brunet's milk-vetch
	R5	Holly
El Bayadh	J6	Mexican dock
	O6	Plantain lily
	Jo6	Meadow geranium
	N6	Tatarian honeysuckle
Tipaza	J7	Common wormwood
	O7	Everlasting pea
	Js7	Garlic mustard
	N7	European columbine
	R7	Bitter wintercress
	Rs7	Round-leaved dogwood
Bouira et Boumerdès	J8	European bistort
	O8	Basswood
	Js8	Wild sarsaparilla
	R8	Brunet's milk-vetch
	B8	Wild sarsaparilla
	N8	Prostrate knotweed
Laghouat, Blida, Medea	J9	Creeping buttercup
	O9	Broad fruited burred
	B9	Northern marsh yellowcress

	Bn9	American beech
	R9	Staghorn sumac
	N9	Tall meadow-rue
Tizi Ouzou	J10	Bird's-eye speedwell
	O10	Dog grass
	B10	Large flowered barrenwort
	R10	Benoîte du Canada White avens
	V10	Amélanchier Serviceberry
Boumerdès	J11	Siberian pea shrub
	O11	Pearly everlasting
	Js11	Dill
	R11	Spotted jewelweed
	V11	Purslane speedwell
Tizi Ouzou	J12	Bitter wintercress
	O12	Birch
	Js12	Alder
	B12	Black knapweed
	R12	Creeping bugleweed
	N12	Garlic mustard

رغم أن هناك تشابه واضح بين صور حبوب اللقاح المرجعية الملتقطة بالمجهر الضوئي، إلا أن عملية المقارنة شملت العديد من الخصائص المكونة لعينات حبوب اللقاح. حيث بينت نتائج الجدول (7.I) أن الصورة الواحدة لعينات حبوب اللقاح قد تأخذ أشكال مختلفة تبدو أنها صور لعينات مختلفة، إلا أنها تبين التقاط هذه الصورة من أبعاد مختلفة [24:28، 50].

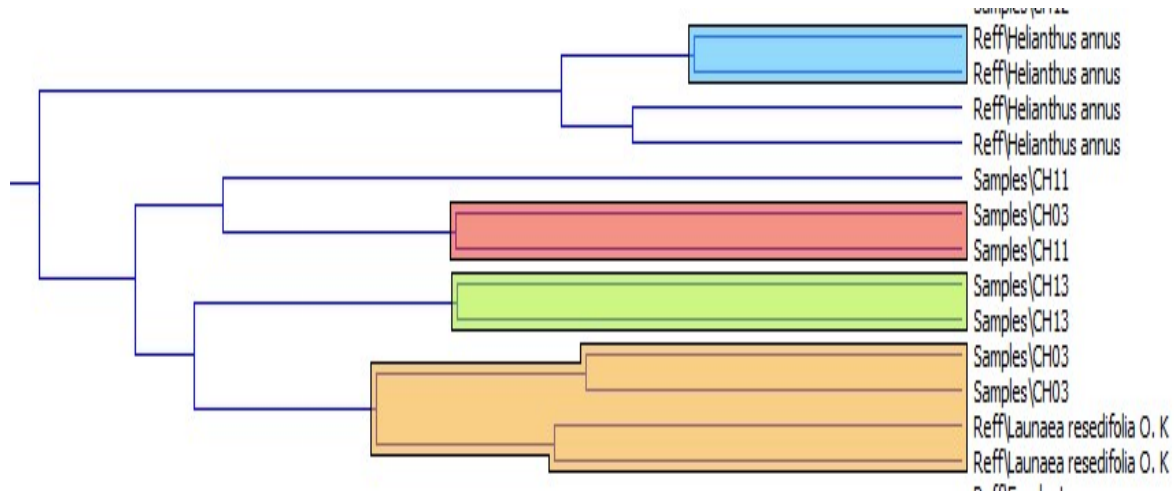
أما عن نتائج الطريقة الثانية لتصنيف حبوب لقاح منطقة الوادي باستخدام برنامج Orange data mining فقد وضحت في الجدول التالي:

الجدول (8.I): تصنيف حبوب اللقاح باستخدام Orange data mining.

Samples	Symbol	Source
EL-Oued	A13	Zygophyllum album (L) Genista saharae cos & DUR
	W13	Eucalyptus
	J13	Mathiola livida DC Phoenix dactylifera L
	O13	Anacyclus valentinus L
	Js13	Launaea resedifolia O.K
	B13	Anacyclus valentinus L Launaea resedifolia O.K
	V13	Brassica oleracea var.viridis L
	Vs13	Brassica oleracea var.viridis L Mathiola livida DC
	VIO13	Malcomia aegyptiaca spr
	R13	Retama raetam Eucalyptus Genista saharae cos & DUR
	N13	Retama raetam

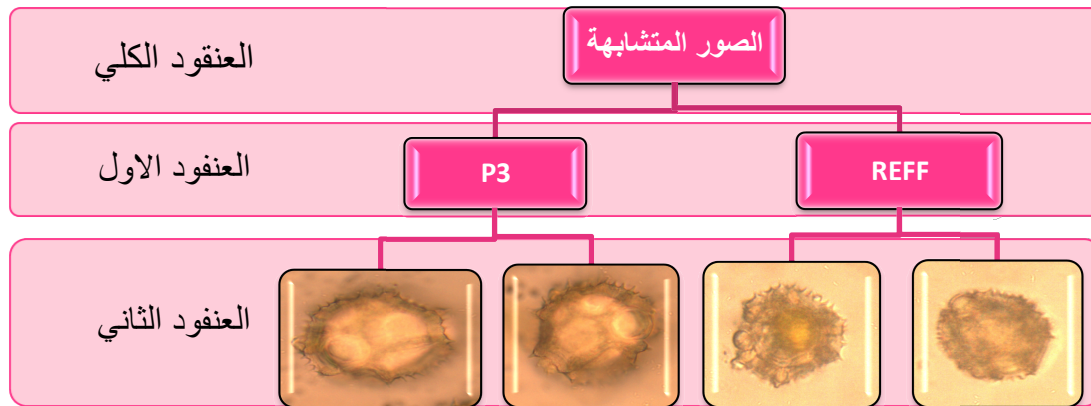
تبين من نتائج التحليل أن عينات حبوب اللقاح مجهولة المصدر قد جمعت من مصادر النباتات الزهرية المحيطة بمجتمع النحل. حيث كانت اغلب العينات ذات مصدر نباتي وحيد الزهرة. أما العينات الأخرى (R13, Vs13, B13, J13, A13) فقد شملت مصادر نباتية متعددة، وبما أن النحل يتجه أثناء كل رحلة بحث إلى مكان معين، فإن عملية الجني تتعلق غالباً بنوع واحدة من حبوب اللقاح [18].

كما تم مقارنة النتائج بطريقة العنقود الهرمي حيث صنفت هذه الصور حسب معايير رقمية مختلفة إلى صور أكثر تشابه.



الشكل (10.I): طريقة التحليل العنقودي الهرمي لعينات حبوب اللقاح.

يبين هذا المخطط تدرج الصور الأكثر ترابط حسب تفرع عدد العناقيد المشكلة. فمثلاً يشير العنقود الملون بالأحمر إلى أن هناك تشابه بين صورتين من العينة P3 وصورة من العينة P11، ونفس الطريقة بالنسبة لكل من العنقودين الأزرق والأخضر، أما العنقود البرتقالي فيشير إلى أن هناك تشابه كبير بين صورتين من العينة P3، و بين صورتين من عينة مرجعية ، ومن ناحية أخرى هناك تشابه نسبي بين الصور الأربعة المكونة للعنقود الأول.



الشكل (11.I): الصور المشاهدة بطريقة التحليل العنقودي.

مراجع اللغة العربية

- [1] يوسف منصور ، 1988 ، تصنيف النباتات البذرية ، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق ، ص243.
- [2] طه وهران مجاهد ،النحل أمة، الطبعة الأولى ،الدار العالمية للنشر والتوزيع ،الإسكندرية،2007،ص 282-283.
- [3] د منى بنت سليمان الوهيبي 322 نبت (تصنيف تجريبي ) المحاضرة 8، كلية العلوم، وكلية قسم النبات والأحياء الدقيقة، جامعة الملك سعود.(2018/2/22).
- [5] محمد السيد عطية ،عسل النحل غذاء ودواء ،الطبعة الأولى- دار الغد الجديد -القاهرة - المنصورة ، 2009، ص 94 - 95 .
- [9] باحثي شركة الندى لتربية النحل (كتاب حبوب اللقاح غذاء ودواء)الإصدار الأول ، 2001 .
- [10] عبد الباسط محمد السيد ،موسوعة النحل (تربية -إعجاز -شفاء)،الطبعة الأولى ،ألفا للنشر والتوزيع- جمهورية مصر العربية ،1432هـ/2011م ،ص:69-88-93-94-474-488-559.
- [23] سوزان رواس ،م.م.بسام البركات ،أ.د.موسى السمارة ،هوية العسل السوري ،الجمهورية العربية السورية وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي مشروع تطوير تربية النحل والحريير ،تصميم م.م.هدى شلش،دمشق،2005.
- [28] الدبيسي، اسراء عبد الرزاق مجيد. 2008. دراسة مورفولوجية لحبات اللقاح في انواع ذوات الفلقتين البرية النامية ضمن نطاق مجمع الجادرية / جامعة بغداد. رسالة ماجستير. كلية العلوم / جامعة بغداد -جمهورية العراق.
- [31] أيمن الشرييني ، عسل النحل السائل الذهبي واكسير الحياة، مكتبة ابن سينا للطباعة والنشر والتوزيع والتصدير ، 1998، ص:26-27.
- [37] فتحي محمد دسوقي، لقاح النحل مجلة العلوم والتقنية العدد 74- ربيع آخر 1426 هـ.

مراجع اللغات الأجنبية

- [4] Campos, M.R.G.; Bogdanov, S.; de Almeida-Muradian, L.M.B.; Szczesna, T.; Mancebo, Y.; Frigerio, C.; Ferreira, F.(2008). Pollen composition and standardisation of analytical methods. *J.Apicult. Res*, 47, 156–163.
- [6] [abeilles.apiculture.free.fr/pollen/htm](http://abeilles.apiculture.free.fr/pollen/htm).(12/02/2018).
- [7] Collins, K. The effects of Bee Pollen on Energy and Weight Loss. [http://www.vanderbilt.edu/AnS/psychology/health\\_psychology/beepollen.htm](http://www.vanderbilt.edu/AnS/psychology/health_psychology/beepollen.htm) (accessed 24/09/2015).
- [8] Thorp, R. W. (1979). Structural, behavioral, and physiological adaptations of bees (Apoidea) for collecting pollen. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 788-812.
- [11] JEAN.M,2007,leguide de l'apiculture, Aix-enprovence , France , 23, 206, 225, 249p.
- [12] FRIEDRICH. P, 2010, l'élevage des abeilles, Artémis, France, 21, 22p.
- [13] anatomie de l'abeille : [www.bourgnon.net/wakka.php?wik = Environnement La Vie Des Abeilles](http://www.bourgnon.net/wakka.php?wik=Environnement+La+Vie+Des+Abeilles).(12/02/2018) .  
Trappe à pollen : [vevebm .free/les%20pros/apithérapie /pollen /pollen.html](http://vevebm.free/les%20pros/apith%C3%A9rapie/pollen/pollen.html). (12/02/2018).
- [14] Lobreau-Callen, D., & Damblon, F. (1994). Spectre pollinique des miels de l'abeille *Apis mellifera* L.(Hymenoptera, Apidae) et Zones de Végétations en Afrique Occidentale Tropicale et Méditerranéenne. *Grana*, 33(4-5), 245-253.
- [15] SZCZESNA,T; RYBAK-CHMIELEWSKA, H; CHMIELEWSKI, W.(1999) Effect of infestation of pollen loads with acarid mites on amino acid content and organoleptic characteristics of the product.*Pszczelnicze Zeszyty Naukowe* 43: 235–245.
- [16][www.jardinage-entomologique.fr/article-24349057.html](http://www.jardinage-entomologique.fr/article-24349057.html). (13/02/2018).
- [17] Erdtman, G. (1969) . Handbook of Palynology (Morphology – Taxonomy – Ecology) . Hafner publishing Co. New York . 486 pp.
- [18] Odoux, J. F., Feuillet, D., Aupinel, P., Loublier, Y., Tasei, J. N., & Mateescu, C. ( 2012 ). Territorial biodiversity and consequences on physico-chemical characteristics of pollen collected by honey bee colonies. *Apidologie*, 43(5), 561-575.
- [19] Albert B., Gouyon P-H. and Ressayre A. (2009). Microsporogenesis variation in codiaeum producing inaperturatepollengrain .C.R. Biologies, Sous press.
- [20] Percie de sert P. (2009). Les pollens apicoles. *Phytothérapie* , 7:75-82.

- [21] Pons P. (1958). Les caractères des sports et pollens. In le pollen. Presses universitaire de France, Paris, pp : 16-36.
- [22] Durcreux G. (2002). Construction et organisation fonctionnelle de l'appareil reproductrice. In Introduction à la botanique. Belin-sup, Paris, pp: 178-244.
- [24] Bormann de Borges R.L., Ribeiro dos Santos F and Giulietti A.M. (2009). Comparative pollen morphology and taxonomic considerations in Eriocaulaceae. Review of Palaeobotany and Palynolog, 154:91-105.
- [25] Stearn, W.T. (1973) . Botanical latin , 2ed edt. David & Charles , Newton abbot London . 566 pp.
- [26] Faegri, K. and J. Iversen . (1975) . Text book of pollen analysis . Munksgaard . Copenhagen , Denmark . pp 295.
- [27] Erdtman, G. (1971). Pollen morphology and plant taxonomy . Angiosperms ( An Introducing palynology I ) 2ed . Hafner publishing Co. New York . pp 553.
- [29] Krell R. (1996) Value-added products from beekeeping. FAO Agricultural Services Bulletin N°. 124. Rome.
- [30] Stefan Bogdanov, (2012) The Pollen Book, Chapter (Pollen: Collection, Harvest, Composition, Quality), Bee Product Science , [www.bee-hexagon.net](http://www.bee-hexagon.net) 15 January,pp: 8-10. (24/02/2018).
- [32] ROULSTON, T H; CANE, J H (2000) Pollen nutritional content and digestibility for animals. Plant Systematics and Evolution 222 (1-4): 187-209.
- [33] STANLEY,R G;LINSKENS,H F (1974) Pollen: biology, biochemistry, management. Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg.
- [34]TALPAY,B M(1984) Der pollen.Versuch einer standortbestimmung.Institut Für Honigfroschung Bremen: 1–84.
- [35] SERRA-BONVEHI, J ;GONELL GALINDO, J ;GOMEZ PAJUELO, A (1986) Estudio de la composicion y caracteristicas fisico-quimicas del polen de abejas. Alimentaria 63–67.
- [36] HERBERT,E W;SHIMANUKI,H (1978) Chemical composition and nutritive value of bee collected and bee stored pollen.Apidologie 9(1):33–40.
- [38] STANLEY, R G; LINSKENS, H F (1974) Pollen. Biology - Biochemistry - Management. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg.
- [39] CAMPOS, M G; WEBBY, R F; MARKHAM, K R; MITCHELL, K A; DA CUNHA, A P (2003) Age-Induced Diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of Consistent flavonoids. Journal of agricultural and food chemistry 51 (3): 742-745.

- [40] LEJA, M; MARECZEK, A; WYZGOLIK, G; KLEPACZ-BANIAK, J; CZEKONSKA, K (2007) Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. *Food Chemistry* 100 (1): 237-240.
- [41] SERRA, B J; SOLIVA, T M; CENTELLES, L E (2001) Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honeybee-collected pollen produced in Spain. *Journal of agricultural and food chemistry* 49 (4): 1848-1853.
- [42] Arráez-Román D., Zurek G., Bäßmann C., Almaraz-Albarca N., Quirantes R., Segura Carretero A. and Fernández-Gutiérrez A. (2007). Identification of phenolic compounds from pollen extracts using capillary electrophoresis–electrospray time–of–flight. *Anal Bio anal Chem*, 389:1909-1917.
- [43] PERCIE DU SERT, P (2009) Les pollens apicoles. *Phytotherapie* 7: 75-82.
- [44] BOGDANOV, S; BIERI, K; GREMAUD, G; IFF, D; KÄNZIG, A; SEILER, K; STÖCKLI, H; ZÜRCHER, K (2004) *Swiss Food Manual: Pollen Bienenprodukte*, BAG (Swiss Federal Office for Public Health); Berne.
- [45] BELL, R R; THORNBERRY, E J; SEET, J L L; GROVES, M T; HO, N P; BELL, D T (1983) Composition and protein quality of honey bee collected pollen of *Eucalyptus marginata* and *Eucalyptus calophylla*. *Journal of Nutrition* 113(12):2479–2484.
- [46] Furusawa, E., Chou, S. C., Hirazumi, A., & Melera, A. (1995). Antitumour potential of pollen extract on Lewis lung carcinoma implanted intraperitoneally in syngeneic mice. *Phytotherapy Research*, 9(4), 255-259.
- [47] Donadieu Y. (1983). *Le pollen : thérapeutique naturelle*. Edition Maloine S.A ; 6ème édition, Paris : p 84 :97.
- [48] ANNAF.H.MODRO ,IZABELC.SILVA, CYNTHIAF.P.LUZ and DEJAIRMESSAGE (2009). Analysis of pollen load based on color, physicochemical composition and botanical source *Anaisda Academia Brasileira de Ciências* 81(2):281-285.
- [49] Girard . M, agr., M. Sc. (2014) *Ouvrage de référence photographique de grains de pollen non acétolysés*. Canada . p 1: 368.
- [50] Demsar J, Curk T, Erjavec A, Gorup C, Hocevar T, Milutinovic M, Mozina M, Polajnar M, Toplak M, Staric A, Stajdohar M, Umek L, Zagar L, Zbontar J, Zitnik M, Zupan B (2013) Orange: Data Mining Toolbox in Python. *Journal of Machine Learning Research* 14(Aug):2349–2353.
- [51] John Burkardt ( 2009 ) “K-Means Clustering”,(ARC/ICAM).

الفصل الثاني:

التحليل بواسطة

المطيافية تحت الحمراء

و HPLC

## 1.II. التحليل بمطيافية الأشعة تحت الحمراء و HPLC:

اختلاف حبوب اللقاح حسب مصدرها النباتي، أدى إلى الاختلاف في الكثير من الخصائص الفيزيائية و التركيب الكيميائي لها، حيث وجدت إشكالية كبيرة في تحديد المحتوى الغذائي لحبوب اللقاح، وخاصة أنها تتكون من عناصر أساسية تتمثل في البروتينات، الفيتامينات، السكريات، الفلافونويدات ومتعددات الفينول<sup>[1,2]</sup>، مما استوجب البحث عن طريقة سريعة وغير مكلفة للتعرف على التركيب الكيميائي الدقيق، و وضع علامات أكثر موضوعية حول خصائصها مهما اختلف المصدر النباتي لحبوب اللقاح، و لا سيما أن الاختلاف في التركيب الكيميائي لحبوب اللقاح لا يتعلق فقط بالمصدر النباتي لها، إنما يتعلق بعوامل مناخية وبشرية متمثلة في: نوعية التربة، المناخ السائد، وكذلك طريقة حصاد حبوب اللقاح، وطريقة معالجتها. وهذا ما جعل الطرق التحليلية البسيطة تعجز عن وصف التركيبة الكيميائية المتغيرة لحبوب اللقاح<sup>[3]</sup>.

وقد ساهمت الطرق الفيزيائية الحديثة "الطرق الطيفية" في تطوير الكيمياء العضوية بشكل كبير وخاصة في السنوات الأخيرة<sup>[4]</sup>، وقد اعتمدت في حل مشاكل البنية الفراغية للمركبات الكيميائية<sup>[5]</sup>، ولذلك أصبحت الأجهزة الطيفية ضرورية في جميع المراكز العلمية والطبية والصناعية، حيث تستخدم في الكشف عن هوية بنى المركبات الكيميائية دون تخريبها، للحصول على نتائج ذات دقة عالية، بطريقة سريعة، وكميات صغيرة.

وستنتقل في هذا البحث إلى المطيافية تحت الحمراء التي تستعمل غالبا في التحليل الكيميائي "نوعي أو كمي"، والتي تمتاز بتقنيات سريعة تمكننا من الحصول على مجموعات طيفية تترجم مجموعات وظيفية مميزة لكل مركب كيميائي، عند امتصاصها للأشعة تحت الحمراء<sup>[4]</sup>.

### 1.1.II. مطيافية الأشعة تحت الحمراء:

تعتبر المطيافية تحت الحمراء من أهم الوسائل المعتمدة في توضيح ماهية المركبات العضوية<sup>[6]</sup>، نظرا لتطبيقاتها الواسعة في مجالي التحليل النوعي والكمي، وخاصة التحليل النوعي الذي اعتمد في الآونة الأخيرة في التعرف على التركيب الكيميائي للمركبات المجهولة و الكشف عن نقاوتها<sup>[7]</sup>.

يؤدي امتصاص الأشعة تحت الحمراء إلى حركة اهتزازية للذرات المكونة للجزيء، ينتج عنها تغيير في طول الروابط الكيميائية بين الذرات أو تغيير في الزوايا بين هذه الروابط في الجزيء، وبمعرفة

طاقة الامتصاص أثناء تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء يمكننا التعرف على نوعية الروابط و الذرات الموجودة في الجزيء<sup>[8]</sup>.

وتتعلق الحركات الاهتزازية بعدد الذرات المكونة للجزيء، فكلما كان عدد الذرات المكونة للجزيء أكثر كلما زادت صعوبة تحليل طيف الامتصاص للأشعة تحت الحمراء، نظرا لزيادة عدد الامتصاصات وتداخلها، لذلك يستوجب أن يرفق طيف الأشعة تحت الحمراء ببعض طرق التحليل الطيفي الأخرى لمعرفة التركيب الجزيئي للمركبات الكيميائية<sup>[9]</sup>.

## 2.1.II. مناطق الأشعة تحت الحمراء:

تقع الأشعة تحت الحمراء في المنطقة المحصورة بين طيف الأشعة المرئية والموجات القصيرة microwave، والتي توافق الطول الموجي الواقع بين 0.75 - 500 ميكرومتر<sup>[9]</sup>، وعادة ما يقاس طيف الأشعة تحت الحمراء بمعرفة الطول الموجي ( $\lambda$ ) أو العدد الموجي ( $\tilde{\nu}$ )<sup>[8]</sup>. فيكون مجال طيف الأشعة تحت الحمراء من  $20\text{ cm}^{-1}$  إلى  $14000\text{ cm}^{-1}$ <sup>[9]</sup>. وتقسم منطقة الأشعة تحت الحمراء إلى ثلاث مناطق، وهي:

- منطقة الأشعة تحت الحمراء القريبة:  $4000 - 14000\text{ cm}^{-1}$ .
- منطقة الأشعة تحت الحمراء الوسطى:  $650 - 4000\text{ cm}^{-1}$ .
- منطقة الأشعة تحت الحمراء البعيدة:  $20 - 650\text{ cm}^{-1}$ .

معظم أجهزة التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء تعتمد على منطقة الأشعة تحت الحمراء الوسطى  $4000 - 650\text{ cm}^{-1}$  في التحليل الطيفي<sup>[9]</sup>، لأن اغلب المركبات العضوية يتم التعرف عليها من خلال المعلومات الطيفية لهذه المنطقة<sup>[10]</sup>. وخاصة المنطقة ما بين  $1500 - 700\text{ cm}^{-1}$  وهي منطقة حساسة جدا، يطلق عليها منطقة البصمة حيث يتأثر عدد ومواضع الامتصاصات في طيف الأشعة تحت الحمراء بمجرد تغير بسيط في التركيبة الجزيئية للمركب الكيميائي. كما أنها تتميز بامتصاصات الروابط الفردية بين ذرات الكربون و الذرات الأخرى ما عدا الهيدروجين (-C-CL, C-O, C-)، أما بعض الأجهزة الحديثة فيمتد فيها التحليل إلى منطقة الأشعة تحت الحمراء البعيدة<sup>[9]</sup>.

## الجدول (1. II): مناطق الأشعة تحت الحمراء.

منطقة الأشعة تحت الحمراء البعيدة	منطقة الأشعة تحت الحمراء الوسطى	منطقة الأشعة تحت الحمراء القريبة
650 - 20 $cm^{-1}$	4000 - 650 $cm^{-1}$	14000 - 4000 $cm^{-1}$
2.5 - 0.75 $\mu m$	2.5 - 15 $\mu m$	15 - 500 $\mu m$

## 3.1.II. شروط الامتصاص:

- أن يكون للجزيء عزم ثنائي القطب.
- يجب أن تكون نوافذ الخلايا للعينة مصنوعة من مادة لا تمتص الأشعة تحت الحمراء في منطقة القياس.
- أن يسمح المذيب المستخدم بمرور الأشعة تحت الحمراء في منطقة القياس دون امتصاصها.
- أن لا يكون بين المذيب والمادة المراد تقديرها أي نوع من التأثير<sup>[9]</sup>.

## 4.1.II. وحدات جهاز الامتصاص للأشعة تحت الحمراء:

## • مصدر الأشعة Radiation Source:

تنتج الأشعة تحت الحمراء من التسخين الكهربائي لبعض المواد الصلبة إلى درجات حرارة عالية تتراوح بين 1500 - 2000 درجة مئوية ، و للأشعة تحت الحمراء ثلاث مصادر متمثلة في (لمبة نرنست المتوهجة، القضيب المتوهج ، والسلك المتوهج )، وينتج عن هذه المصادر أشعة مستمرة في منطقة الأشعة تحت الحمراء، لاحتوائها على بعض مواد ناقلة للتيار الكهربائي ، وبما أن مرور التيار الكهربائي يكون صغيرا جدا في درجة حرارة الغرفة يتم تسخينها بواسطة مصادر خارجية إلى درجات حرارة تسمح بمرور تيار كهربائي، والذي بدوره يؤدي إلى رفع درجات الحرارة إلى درجة مناسبة لإنتاج الأشعة تحت الحمراء

## • مكان وضع العينة Sample Compartment:

يكون المكان المخصص لوضع العينة مكان مناسب لقياس العينات الغازية، السائلة، والصلبة. حيث يمر جزء من الأشعة تحت الحمراء الناتجة من المصدر على العينة، أما الجزء الثاني فيمر على العينة المقارنة ( المذيب)، وتمنع الأشعة عن العينة أو العينة المقارنة لوجود حاجز ميكانيكي يقوم بحجز الأشعة الصادرة.

• وحدة فصل الأطوال الموجية **Monochromator**:

يستخدم المحزوز Grating في فصل الأطوال الموجية المختلفة بعد مرورها على العينة. كما يدعم المحزوز بمرشح أو منشور، لتفادي الزيادة في كمية الأشعة المبعثرة، وظهور أشعة ذات رتب طيفية أخرى<sup>[9]</sup>.

• وحدة قياس طاقة الأشعة **Detector**:

نظرا لانخفاض طاقة الفوتون وكثافة الأشعة المنتجة للأشعة تحت الحمراء. يجب استخدام أجهزة قياس خاصة لتقدير طاقة الأشعة تحت الحمراء والمتمثلة في أجهزة القياس الحراري بدلا من استخدام الخلايا الضوئية. وللكشف عن التغيرات الصغيرة في كثافة الأشعة يجب أن تكون المادة المكونة لوحدات القياس الحراري ذات سعة حرارية صغيرة جدا. ومن بين أجهزة القياس الحراري نذكر:

- ✓ المزدوجة الحرارية.
- ✓ بولومتر (مقياس الطاقة الحرارية الإشعاعية).
- ✓ خلية جولاي .

وتستخدم هذه الوحدات في قياس طاقة الأشعة تحت الحمراء في المنطقة الوسطى، وتعتبر المزدوجة الحرارية من أكثر الوحدات استخداما حيث تصل دقة الكشف عن التغير في درجة الحرارة إلى  $10^{-6}$  درجة مئوية.

• وحدة تسجيل الامتصاص **Recorder**:

تستخدم وحدات التسجيل لتقدير الامتصاص على الأطوال الموجية المختلفة، وبذلك يمكن تسجيل طيف الامتصاص للأشعة تحت الحمراء في المدى المراد تقديره<sup>[9]</sup>.

**II.5.1. الحركات المحتملة للجزيء:**

هناك ثلاث حركات محتملة للجزيء والمتمثلة في<sup>[9]</sup>:

❖ **الحركات الانتقالية Translational motion**:

يطلق مصطلح الحركة الانتقالية للجزيء عند انتقاله كوحدة واحدة في الوسط المتواجدة فيه، أي انتقال الجزيء من موضع إلى آخر في الفراغ. ويحدد موضع الجزيء في الفراغ بثلاث إحداثيات X,Y,Z تنسب إلى مركز كتلته.

أما مستويات الطاقة للحركات الانتقالية فهي عبارة عن مستويات طاقة مستمرة "غير كمية"، لذلك يمكن أن تأخذ أي قيمة من قيم الطاقة.

## ❖ الحركات الدورانية Rotational motion:

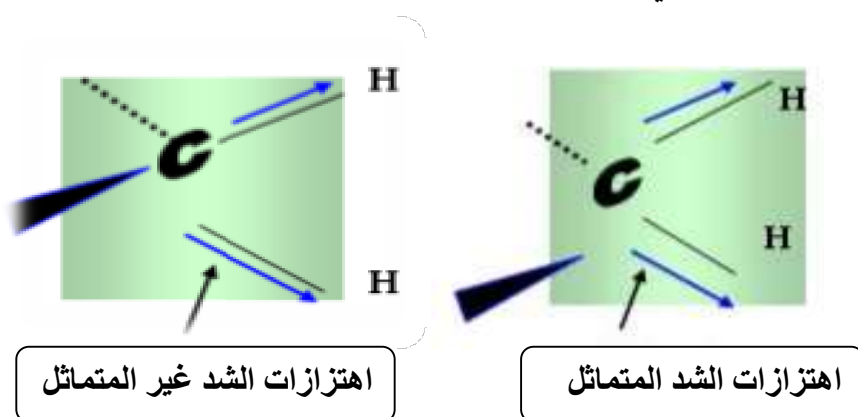
تكون الحركة الدورانية حول أحد المحاور "X,Y,Z" التي تمر بمركز كتلة الجزيء. ففي الجزيئات الخطية تكون الحركة الدورانية بالنسبة لمحورين فقط، أما المحور الآخر فيمثل محور الجزيء، أما الجزيئات غير الخطية فتتسب الحركة الدورانية للمحاور الثلاثة.

إن الاختلاف في مستويات الطاقة للحركات الدورانية يتعلق باتجاه ومعدل الدوران للجزيء. كما أن انتقال الجزيء من مستوى طاقة دوران إلى مستوى طاقة أعلى منه يؤدي إلى امتصاص كمية معينة من الطاقة، لذلك تعتبر مستويات الطاقة للحركات الدورانية مستويات كمية.

## ❖ الحركات الاهتزازية Vibrational motion:

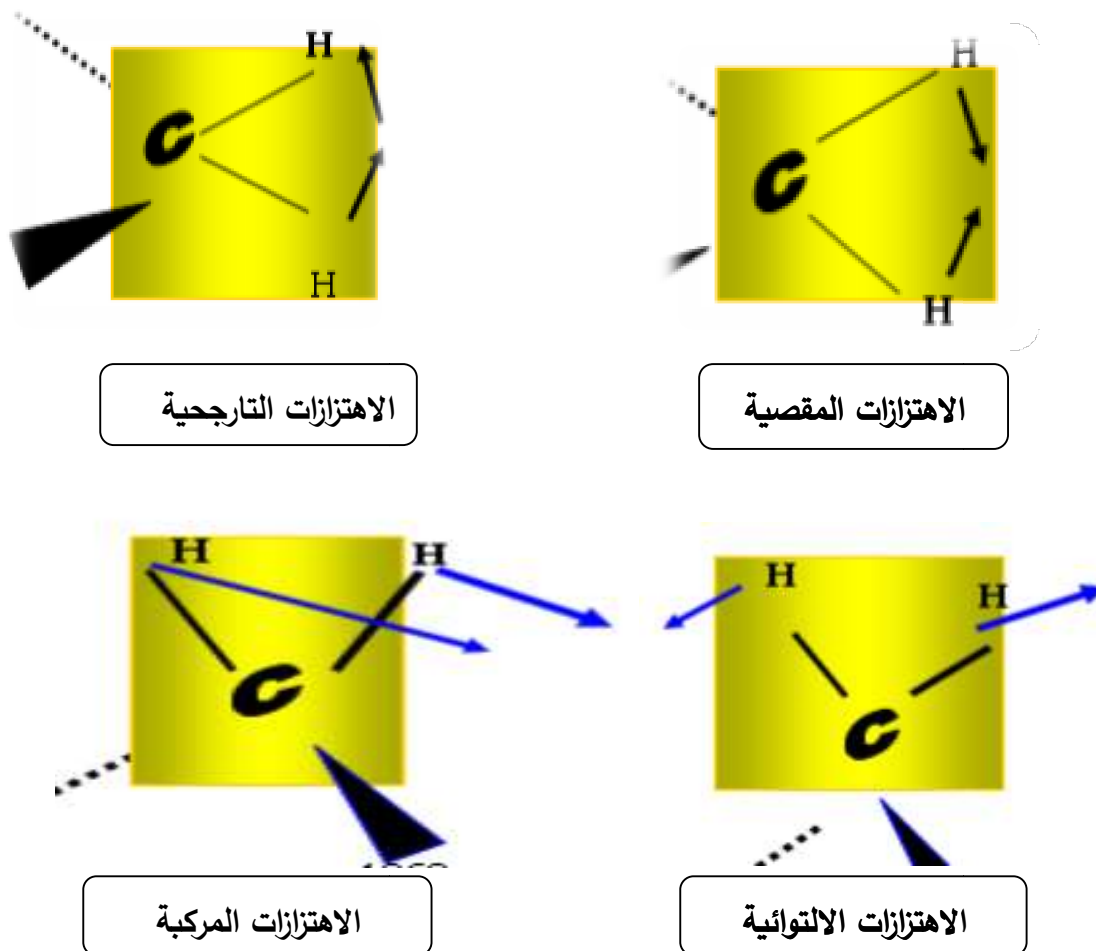
نتيجة لاختلاف قوة الروابط التساهمية و كذلك الزوايا المشكلة بينها في الجزيئات المتعددة الذرات تنتج حركة اهتزازية للذرات في مواقع مختلفة<sup>[11]</sup>، تتلخص في قسمين أساسيين هما:

- اهتزازات الشد: يعبر عن التغير في طول الروابط بين الذرات نتيجة حركة ذرتين مكونتين للرابطة أو أكثر<sup>[9]</sup>، ويحتاج هذا النوع من الاهتزازات إلى طاقة كبيرة<sup>[10]</sup>، ويكون في شكلين:
  - ✓ اهتزازات الشد المتماثل: ويكون تمدد للرابطين في نفس الوقت.
  - ✓ اهتزازات الشد غير المتماثل: تكون فيه الحركة متعاكسة، فيحدث تمدد لإحدى الرابطين يرافقه انكماش في الرابطة الأخرى. في نفس اللحظة وبطريقة متزامنة<sup>[9,11]</sup>.



- اهتزازات الشد: وهي اهتزاز ناتج عن تغير الزاوية بين رابطين ويشمل:

- ✓ الاهتزازات المقصية.
- ✓ الاهتزازات التارجحية.
- ✓ الاهتزازات المركبة.
- ✓ الاهتزازات الالتوائية<sup>[10]</sup>.



### 6.1.II. التحليل بمطيافية الأشعة تحت الحمراء:

يتم تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء لفهم هياكل ومحتويات المركبات العضوية و غير العضوية، وتوجيه القارئ إلى أهم النصوص المرجعية لإمكانية التحليل الطيفي<sup>[5]</sup>، ويعتمد تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء إلى نوعين من التحليل:

#### 1. التحليل النوعي:

وهو طريقة معتمدة إلى حد كبير في الكشف عن التركيبة الكيميائية للمركبات العضوية المجهولة و ذلك للتعرف على المجموعات الوظيفية المكونة لها<sup>[7]</sup>، بمقارنة العدد الموجي لطيف الامتصاص بأطياف مرجعية للمجموعات الوظيفية، عن طريق دراسة الروابط الأساسية.

الجدول (2.II): تردد الامتصاصات للمجموعات الوظيفية الأساسية [12].

Conditions	Fréquence $Cm^{-1}$	Compound Type	Bond
تمدد (s) stretch	2960- 2850	Alkanes	C-H
منحنى (s) bend	1000 -675	Alkenes	
تمدد (m) stretch	3080-3020	Alkynes	
تمدد (s) stretch	3333 -3267		
منحنى (b) bend	700-610		
تمدد (m) stretch	3100-3000	Aromatic Rings	
منحنى (s) bend	675-870	Phenyl Ring Substitution Bands	
(w) fingerprint region	1600-2000	Phenyl Ring Substitution Overtones	
(v) scissoring and bending	1380	CH <sub>3</sub> Umbrella Deformation	
تمدد (m.w) stretch	1680-1640	Alkenes	C=C
تمدد (w) stretch	1600-1500	Aromatic Rings	C≡C
تمدد (w.sh) stretch	2260-2100	Alkynes	
تمدد (s) stretch	1760-1670	Aldehydes, Ketones. Carboxylic acids, Esters	
تمدد (s) stretch	1260-1000	Alcohols, Ethers Carboxylic acids, Esters	C-O
تمدد (S.br) stretch	3640-3160	Monomeric - Alcohols. Phenols	O-H
تمدد (b) stretch	3600-3200	Hydrogen-bonded - Alcohols. Phenols	
تمدد (b) stretch	3000-2500	Carboxylic acids	
تمدد (m) stretch	3500-3300	Amines	N-H
منحنى (m) bend	1650-1580	Amines	C-N
تمدد (m) stretch	1340-1020		
تمدد (v) stretch	2260-2220	Nitriles	C≡N
(s) asymmetrical stretch التمدد غير متناظر	1660-1500	Nitro Compounds	NO <sub>2</sub>
(s) symmetrical stretch التمدد المتناظر	1390-1260		

## 2. التحليل الكمي:

يعتمد مبدأ التحليل الكمي للأشعة تحت الحمراء على قانون بير لامبرت الذي يربط بين الأشعة الحمراء الممتصة من قبل العينة وتركيز العينة بعلاقة رياضية ، تكتب على الشكل التالي:

$$A = \varepsilon \ell c$$

حيث:  $\varepsilon$  : معامل الامتصاص المولي ( $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ ).  $A$  : الامتصاصية.

$\ell$  : طول المسار (cm).  $c$  : تركيز العينة ( $mol \cdot L^{-1}$ )

## 7.1.II. مميزات الأشعة تحت الحمراء:

- الوصول إلى الهدف والنتائج المطلوبة بأقل زمن ممكن.
- التأكد من مصداقية النتائج لمعالجة الأمور بشكل أفضل.
- متابعة التقدم في التفاعلات الكيميائية<sup>[7]</sup>.

## 8.1.II. تقنيات التحليل بالمطيافية تحت الحمراء IR:

### 1.8.1.II. Fourier Transform Infrared (FT-IR)

❖ تعريف:

هي طريقة فيزيائية كيميائية تقيس قيمة اهتزاز الجزيئة المثارة بإشعاع IR في مجال أطوال موجية محددة<sup>[17]</sup>، و هي تقنية من أهم تقنيات التحليل<sup>[8]</sup> التي يمكن استخدامها لتحليل التركيب الكيميائي للمواد الكيميائية و البيولوجية<sup>[16, 18]</sup> والتي يمكن استخدامها في تقدير التركيب الكيميائي المجمل لحبوب اللقاح وذلك في تقدير قيمة البروتينات، الفيتامينات، السكريات والدهون.....<sup>[17]</sup>، وتستخدم هذه التقنية لتحليل جميع أنواع العينات السائلة، الصلبة أو الغازية.

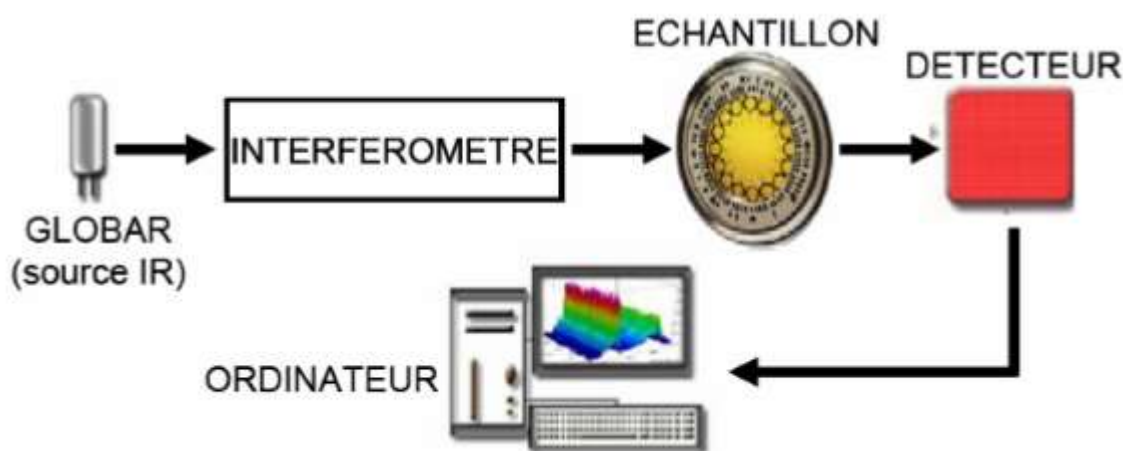


الشكل(1.II): جهاز التحليل بتقنية FT-IR.

❖ المبدأ:

عندما يمر الإشعاع الأشعة تحت الحمراء من خلال عينة، يتم امتصاص جزء من الإشعاع من قبل العينة وتميرير الجزء الثاني، و مبدأ تحويل FT-IR يقوم على حقيقة أن كل وظيفة يمكن أن تتحلل إلى

مجموع وظائف جيبيية، وكل وظيفة جيبيية يتم تعريفها من قبل قيمتين: ترددها (الطول الموجي) و السعة (الكثافة)، و تحويل فورييه هو إجراء رياضي يحل إنترفيروغرام *interférogramme* إلى مجموع وظائف جيبيية، كل منهما يمثل موجة معينة و يحسب التردد والانتساع لهذه الموجات من بيانات التداخل. يتم جمع إنترفيروغرام *interférogramme* من قبل المطياف في بضع ثوان، ويتم معالجتها من قبل حساب تحويل فورييه وتحويلها لإعطاء طيف يمثل "بصمة" جزيئية للعينة، وترجع فائدة التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء إلى حقيقة أن البنى الكيميائية المختلفة (الجزيئات) تنتج بصمات طيفية مختلفة. وبذلك يتم الكشف عن المجموعات الوظيفية المكونة للعينة<sup>[15]</sup>.



الشكل (2.II): مبدأ تقنية FT-IR

#### ❖ معالجة العينات :

يمكن الحصول على طيف الأشعة تحت الحمراء بتحليل المادة في صورتها الغازية، السائلة، محلولا من المادة أو للمادة الصلبة<sup>[19]</sup>.

#### • العينات الغازية:

تستعمل خلايا خاصة محكمة السد على هيئة أنبوب زجاجي مزود بنوافذ مصنوعة من كلوريد أو بروميد الصديوم.



الشكل (3.II): خلية العينات الغازية في تقنية FT-IR

• العينات السائلة:

يتم وضع قطرة من المادة السائل على قرص كلوريد الصديوم أو بروميد البوتاسيوم، ثم تغطي القطرة بقرص آخر فينتشر السائل على القرص مشكلا طبقة رقيقة، ثم يثبت هذان القرصان على حامل معدني ويوضع في مسار الأشعة تحت الحمراء.



الشكل(4.II): خلية العينات السائلة  
في تقنية FT-IR

• العينات الصلبة:

a. طريقة المحلول: يتم إذابة العينة الصلبة في مذيب مناسب كرابع كلوريد الكربون أو كبريتيد الكربون.  
b. طريقة المعلق: يتم سحق كمية معينة من المادة الصلبة مع قطرة من زيت معدني (زيت البرافين)، ثم تعالج بطريقة العينة السائلة.  
c. طريقة بروميد البوتاسيوم KBr : بعد سحق كمية من المادة الصلبة "1-2 ملغ" من المادة مع كمية "100-400" غ من KBr، يتم تحويل المسحوق إلى قرص بمكبس خاص، ثم يثبت في حامل خاص ويوضع في مكان مرور الأشعة تحت الحمراء<sup>[9]</sup>.



الشكل (5.II): خلايا أقراص KBr  
في تقنية FT-IR

وهذه الطريقة لها أفضلية عن بقية الطرق الأخرى إلا أن تحضير بروميد البوتاسيوم خالي من الأبخرة و الرطوبة يكون صعبا نوعا ما بسبب شدة التميؤ<sup>[7]</sup>.

❖ ايجابيات FT-IR:

- طريقة سريعة.
- تكلفة منخفضة<sup>[13]</sup>.

- تحليل جميع العينات صلبة، سائلة، غازية<sup>[19]</sup>.
- ❖ سلبياتها:
- تحضير العينات<sup>[9, 18]</sup>.
- طريقة صنع KBr بطريقة صحيحة تستغرق وقتا طويلا و تحتاج إلى خبرة المحلل الكيميائي للحصول على نتائج جيدة<sup>[18, 19]</sup>.
- إمكانية التفاعل بين أقراص KBr و العينة<sup>[19]</sup>.
- يجب أن تكون العينة عاكسة أو على سطح عاكس<sup>[17]</sup>.
- ملء العينات السائلة دون ترك فقاعات الهواء.
- صعوبة التعامل مع قرص KBr وتخزينها.
- معالجة وقياس كريات KBr يتطلب مهارة عالية<sup>[18, 19]</sup>.
- تأثير نوعية المذيب على طيف التحليل التي تؤدي إلى إزاحة ترددات الامتصاص للأشعة تحت الحمراء<sup>[19]</sup>.

### Attenuated total reflectance (ATR).2.8.1.II

❖ تعريف:

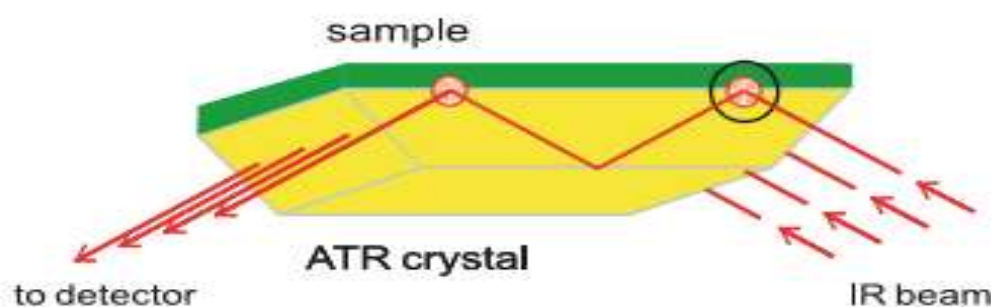
يطلق عليها توهن الانعكاس الكلي Attenuated total reflectance أو الانعكاس الداخلي<sup>[9]</sup>. هو تقنية أخذ العينات المرتبطة بطيف الأشعة تحت الحمراء حيث تمكن الكيميائي من فحص العينات مباشرة في الحالة الصلبة والسائلة دون مزيد من التحضير. تستخدم في التحليل النوعي و الكمي للمركبات و تحديد المجموعات الوظيفية المتواجدة في المركبات<sup>[20]</sup>.



الشكل(6.II): جهاز ATR

## ❖ المبدأ:

تعتمد هذه الطريقة على انه عند سقوط الأشعة على شريحة (أو موشر) فإنها سوف تنعكس داخليا إذا كانت زاوية السقوط عند سطح الاتصال بين الشريحة والعينة أكبر من الزاوية الحرجة Critical angle (التي هي دالة في معامل الانكسار) [9, 18]. والانعكاس الداخلي يعني أن كل الطاقة يحدث لها انعكاس ومع ذلك فإن حزمة الأشعة تنفذ بنسبة ضئيلة (تتراوح بين جزء من الطول الموجي إلى عدة أطوال موجية) خارج نطاق السطح الفاصل بين الشريحة والعينة وتعود مرة ثانية، [18] فعند وجود العينة ملامسة لسطح الانعكاس، فإن حزمة الأشعة سوف تفقد جزءا من طاقتها عند الطول الموجي الذي يمتص بواسطة العينة نتيجة لتفاعلها مع حزمة الأشعة النافذة إلى العينة. وهذه الأشعة المنعكسة والمنخفضة في التكلفة عند تقديرها ورسمها كدالة في الطول الموجي، سوف تعطي طيف امتصاص مماثل لذلك المتحصل عليه بالطريقة العادية [9, 18].



الشكل (7.II): مبدأ عمل جهاز ATR.

ويتم التقدير بطريقة التوهن للانعكاس الكلي ATR وذلك باستخدام وحدة إضافية accessory يمكن إدخالها و إزالتها في الفراغ المخصص للعينة في أجهزة الأشعة تحت الحمراء العادية. تتكون الوحدة الإضافية من نظام من المرايا العاكسة ترسل أشعة المصدر إلى العينة، ونظام آخر من المرايا يوجه الأشعة المنعكسة إلى وحدة فصل الأطوال الموجية. والعمق الظاهر لنفاذ الأشعة داخل العينة يكون فقط حوالي بضعة ميكرومتر، ولا يتوقف ذلك على سمك العينة [9].

## ❖ استعمالاتها:

استخدمت هذه التقنية في دراسة التركيبة الكيميائية المتغيرة لحبوب اللقاح و وضع علامات مرجعية حول تركيبته الكيميائية والتي تختلف باختلاف مصدرها النباتي، لتوجيه المستهلك إلى الغذاء الصحي

لاعتبارها كمكمل غذائي طبيعي بالإضافة إلى كونها عامل مضاد للأكسدة، الميكروبات، الفيروسات، الالتهابات<sup>[4]</sup>.

✓ تحليل العينات:

• السائلة:

يتم تحليل السوائل بمطيافية تحت الحمراء ATR بطريقة بسيطة حيث يتم تغطية الكريستال كليا بسكب السائل مباشرة على سطحه. ويتم قياس طيف الأشعة مباشرة<sup>[18]</sup>.



الشكل (8.II): طريقة وضع العينات السائلة في مكان وضع العينة لجهاز ATR

• الصلبة:

يتم وضع العينة الصلبة في منطقة الكريستال الصغيرة "التي تكون عادة من مادة الماس لمتانته و قوة تحمله للضغط" ثم يتم ضغط العينة الصلبة بوضع الذراع على الكريستال. أما بالنسبة لمساحيق المواد الصلبة يتم تحليلها بوضعها على سطح الكريستال بسمك صغير لا يتعد بعض المليمترات دون ضغط الذراع وقد حققت هذه التجارب نتائج مثالية عالية<sup>[18]</sup>.



الشكل (10.II): طريقة ضغط الذراع على العينات الصلبة في جهاز ATR



الشكل (9.II): طريقة وضع العينات الصلبة في جهاز ATR

## ❖ العوامل المؤثرة على طيف ATR:

- الطول الموجي للأشعة تحت الحمراء.
- مؤشرات الانكسار للعينه وبلورة ATR.
- زاوية حدوث الأشعة تحت الحمراء.
- عمق الاختراق (طول المسير).
- كفاءة الاتصال بين العينه و بلورة ATR<sup>[17]</sup>.

## ❖ شروط الحصول على طيف جيد في ATR:

- يجب أن يكون هناك اتصال مباشر بين العينه وبلورة ATR لضمان اختراق الأشعة للعينه ببضعة ميكرومتر (0.5- 5)

- يجب أن يكون معامل الانكسار للبلورة اكبر من معامل انكسار العينه.

## ❖ ايجابياتها:

- يمكن استخدامها في العينات التي لا يمكن دراستها بطرق الإمرار العادية والمتمثلة في<sup>[9]</sup>:
- ✓ تستخدم المادة الصلبة النقية دون أي معالجة وبأي سمك.
- ✓ تستخدم في العينات التي تكون في صورة معلقات.
- ✓ تقدير المحاليل دون امتصاص كبير من المذيبات.
- ✓ تستخدم في تحليل المواد التي لا يمكن تحضيرها في صورة طبقة رقيقة<sup>[21]</sup>.
- ✓ يمكن أن يتعامل ATR مع العينات السائلة، الصلبة، الغشائية، المسحوقه<sup>[22]</sup>.
- اخذ العينات بشكل أسرع دون إعداد العينه<sup>[15]</sup>.
- الحد الأدنى من التغيرات الناجمة عن المشغل.
- استنساخ العينه إلى العينه<sup>[19]</sup>.
- تحسين عينه إلى عينه بإعادة الإنتاج.
- اخذ عينات أسرع<sup>[18]</sup>.

## ❖ سلبياتها:

- لا تستعمل في تحليل العينات الغازية.
- في حالة العينات الصلبة غير اللينة يكون طيف الأشعة ضعيف جدا<sup>[18]</sup>.

## 3.8.1.II مقارنة بين الطريقتين ATR و FT-IR :

ATR هي الطريقة الأكثر استخداما، حيث تستخدم للتحليل النوعي و الكمي للعينات بطريقة سريعة وغير مكلفة، فتقوم بتحليل العينه في حالتها الفيزيائية دون أي معالجة على خلاف طريقة FT-IR

التي تعتمد على طريقة تحضير العينات و خاصة العينات الصلبة التي تعالج بطريقة تشكيل أقراص شفافة من بروميد البوتاسيوم KBr<sup>[20]</sup>. و التي يستوجب تحضيرها والتعامل معها بطريقة دقيقة، ولتغلب على مشاكل العينات المستعملة في طريقة FT-IR اقترحت طريقة ATR حيث يتم وضع العينة مباشرة في المكان المخصص لها سواء كانت صلبة، سائلة، ألياف أو مساحيق. ليتم تحليلها في غضون ثواني<sup>[19]</sup>.

استخدام هذه التقنية يؤدي إلى بناء قاعدة بيانات نوعية أفضل وتحديد هوية المواد بطريقة أكثر دقة كما تعد هذه التقنية قوية للغاية وموثوق بها للدراسات الكمية<sup>[18]</sup>.  
ونظرا لقوة ATR الكيميائية و الميكانيكية اعتمدت هذه التقنية في أغراض عديدة لقياس امتصاصية العينات السائلة والصلبة بشكل أسرع وبتكلفة منخفضة. والحصول على بيانات دقيقة وممتازة<sup>[18، 19]</sup>.

الفصل الثاني:

المواد والطرق

## 2.II. المواد والطرق:

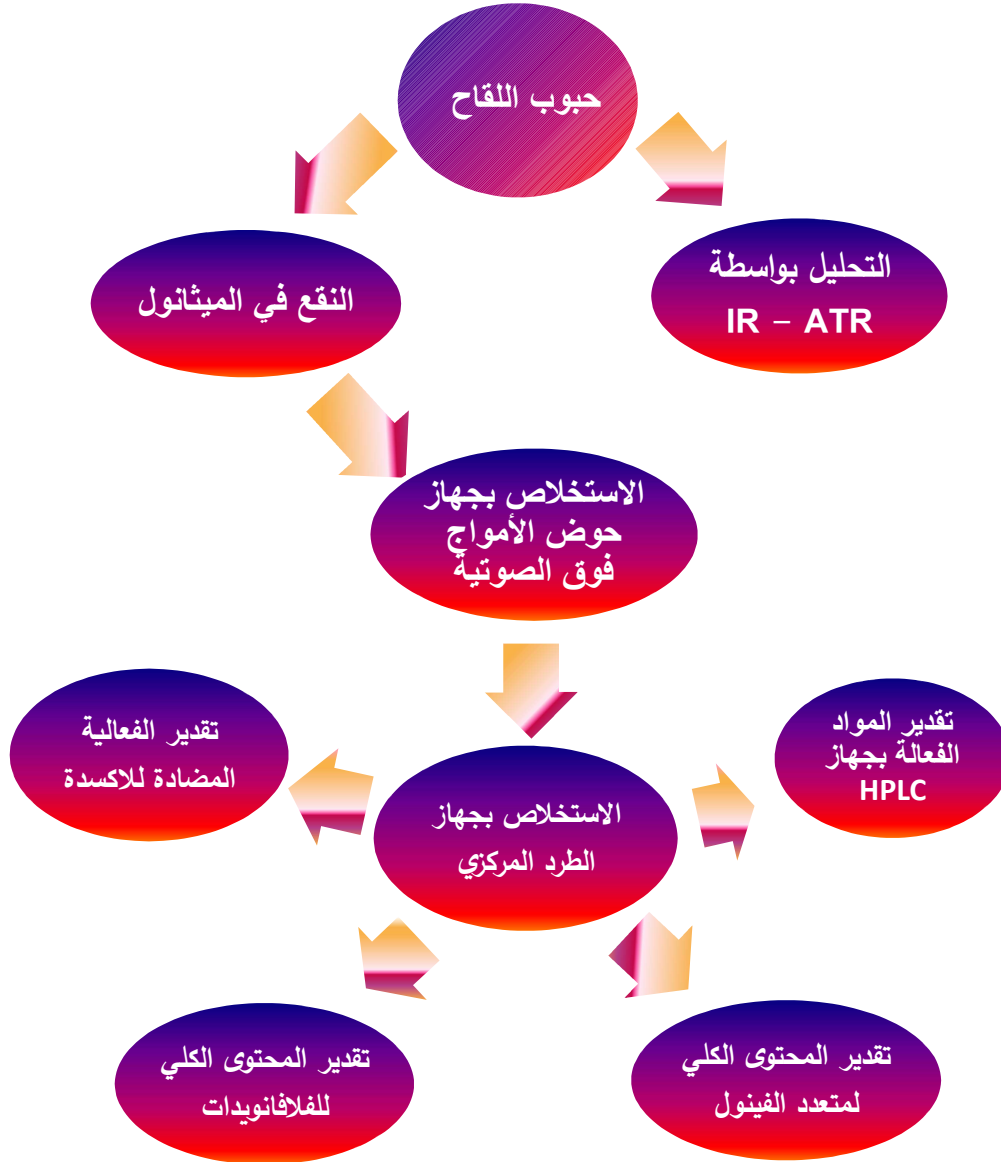
## 1.2.II. الوسائل والأجهزة المستعملة:

- جهاز المطيافية تحت الحمراء IR-ATR من نوع (ID5 ATR) صنع (Nicolet IS5).
- جهاز حوض الأمواج فوق الصوتية (Ultraschnalltechnik AG (Acrest Group Company) نوع (Martin Walter) صنع (POERSONIC).
- جهاز الطرد المركزي (MODEL 800) صنع (EZ Swing 3K).
- جهاز UV spectrophotomètre من نوع (PRIMAAdvane Spectrophotomètres) بدقة (±1 nm) صنع (SCHOTT Instruments GmbH).
- مسخن حراري Thermostatic BATH نوع (TRAD-Rayba).
- جهاز كروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC مزود بكاشف و عمود فصل (25cm×46nm)  $C_{18}$  (UV).5 $\mu$ M) مصنع من طرف شركة (SHIMADZU) و مرفق ببرنامج تشغيل (LC solution).
- ميزان حساس نوع (EXPLORER) بدقة (0.1 mg) صنع (OHRUS).

## 2.2.II. المواد الكيميائية المستعملة:

- ميثانول (CH<sub>4</sub>O)، (M=32.04 g/mol)، (99.5%) صنع (VWR PROLABO).
- محلول كربونات الصوديوم (Soduim Carbonate (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>))، (M=105.99 g/mol)، (99.8%) صنع (BIOCHEM CHEMOPHARMA).
- محلول ثلاثي كلور الألمنيوم (Aluminum chloride hexahydrat (AlCl<sub>3</sub>,6 H<sub>2</sub>O))، (M= 241.43g/mol)، (97%) صنع (BIOCHEM CHEMOPHARMA).
- موليبديتات ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> MoOH) Tetra-hydrate، (M= 1235.86 g/mol)، (81-83%) صنع (Sigma-ALDRICH).
- حمض الكبريت (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)، (M= 98.07 g/mol)، (96- 98 %) صنع (BIOCHEM CHEMOPHARMA).
- فوسفات الصوديوم (Soduim Phosphate dibasic anhydrous (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>))، (M=141.96 g/mol)، (99%) صنع (BIOCHEM CHEMOPHARMA).
- كاشف الفولين (Folin-ciocalteai) (H<sub>2</sub>O, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 13 WO<sub>3</sub> 5 MoO<sub>3</sub> 10H<sub>2</sub>O) إنتاج (VWR PROLABO).

- كريستين (97%) صنع (Alfa Aesar).
  - حمض الغاليك ( $C_7H_6O_5, H_2O$ ).
- 3.2.II. المواد والطرق المستعملة:



الشكل (11.II): مخطط تقدير كمية المواد الفعالة لحبوب اللقاح.

### 1.3.2.II. التحليل الطيفي بواسطة (IR-ATR):

طريقة العمل:

تم تحليل عينات حبوب اللقاح في جهاز IR-ATR بطريقة مباشرة سهلة. حيث تم وضع العينات (حبة لقاح) في مكان وضع العينة، ثم يتم ضغط الذراع على العينة الصلبة، لتتم قراءة البيانات و المعطيات الطيفية بصورة مباشرة كما في الشكل (12.II) و الشكل (13.II).



الشكل (13.II): كيفية ضغط ذراع على العينات الصلبة في جهاز IR-ATR



الشكل (12.II): طريقة وضع حبوب اللقاح في جهاز IR-ATR

### II.2.3.2. استخلاص حبوب اللقاح:

#### ❖ الاستخلاص بجهاز الأمواج فوق الصوتية:

تم وزن (0.2 g) من كل لون من عينات حبوب اللقاح، وتم وضعها في أنابيب اختبار، أضفنا لها (2 ml) من الميثانول. ثم تم وضع المزيج في جهاز الأمواج فوق الصوتية. حيث تنتشر الموجات الصوتية خلال الوسط المادي و تساعد في تحلل و ذوبانية المواد الفعالة و بالتالي تحسن في عملية الاستخلاص.

#### ❖ الاستخلاص بجهاز الطرد المركزي:

وهو عملية فصل و تنقية فيزيائية، حيث يتم فيها فصل الطور السائل عن الطور الصلب. حيث تم وضع العينات المستخلصة بجهاز الأمواج فوق الصوتية في جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق. بسرعة 3000 دورة/الدقيقة. بعد نهاية العمل بجهاز الطرد المركزي يتم فصل المواد السائل (مستخلص الايثانول) عن المواد الصلبة (الراسب) المتبقية أسفل أنابيب الاختبار.

### II.3.3.2. تقدير كمية الفينولات في عينات حبوب اللقاح المدروسة:

تم تقدير كمية الفينولات بواسطة جهاز طيف الأشعة فوق البنفسجية و المرئية (UV-Vis) باستعمال فينول مرجعي (حمض الغاليك) عند طول موجي  $\lambda_{max} = 76 \text{ nm}$ ، وقد تمت هذه العملية باستخدام طريقة (Singleton Rossi) مع كاشف الفولين Folin-ciocalteai، الذي يحتوي على حمض فوسفوتنغستينيك ( $\text{H}_3\text{P}_{12}\text{O}_{40}$ ) وحمض فوسفوموليبيديك ( $\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$ ) الذي يتم

إرجاعه بواسطة الفينولات إلى أكاسيد التنغستين ( $W_8O_{23}$ ) والموليبددين ( $Mo_8O_3$ ) ذات اللون الأزرق [23].

#### ❖ طريقة العمل:

يتم تمديد مستخلص الميثانول لعينات حبوب اللقاح بالماء المقطر ( لتقادي تشكل راسب بين الميثانول و كربونات الصديوم ) للحصول على تراكيز مخففة لعينات حبوب اللقاح. تأخذ (0.5ml) من كل عينة، ويضاف لها (0,25 ml) من كاشف الفولين المخفف بنسبة (10%)، يترك الخليط لمدة 5 min في الظلام. ثم نضيف للخليط الناتج (1ml) من محلول كربونات الصوديوم  $Na_2CO_3$  بتركيز (7.5%)، ثم يترك في الظلام لمدة 30 min.

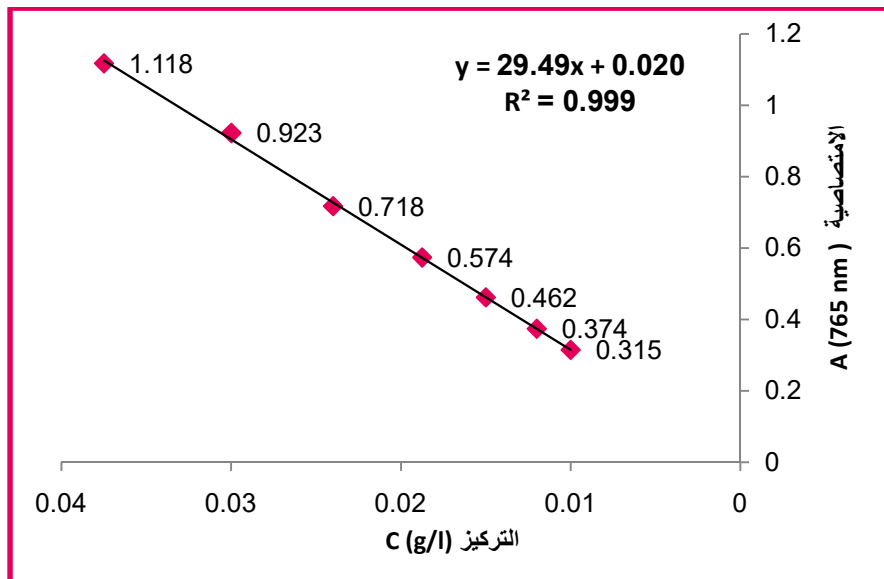
بعد انقضاء المدة الزمنية تتم قراءة الامتصاصية الضوئية بواسطة جهاز UV عند طول موجي

$$\lambda_{max} = 765nm$$

✓ تحضير المنحنى القياسي لحمض الغاليك:

يتم ذلك بتحضير محاليل ممددة لحمض الغاليك ذو تراكيز مختلفة محصورة ما بين g/l (0,01-0,0375)، وبنفس الطريقة تتم قراءة الامتصاصية الضوئية بواسطة جهاز UV عند طول موجي  $\lambda_{max} = 765nm$  [24].

نرسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك الذي يوضح العلاقة بين تغير الامتصاصية الضوئية بدلالة التركيز  $A=f(C)$ ، كما هو موضح في الشكل (II. 14).



الشكل (II. 14): المنحنى القياسي لحمض الغاليك.

## 4.3.2.II. تقدير كمية الفلافونويدات في عينات حبوب اللقاح المدروسة:

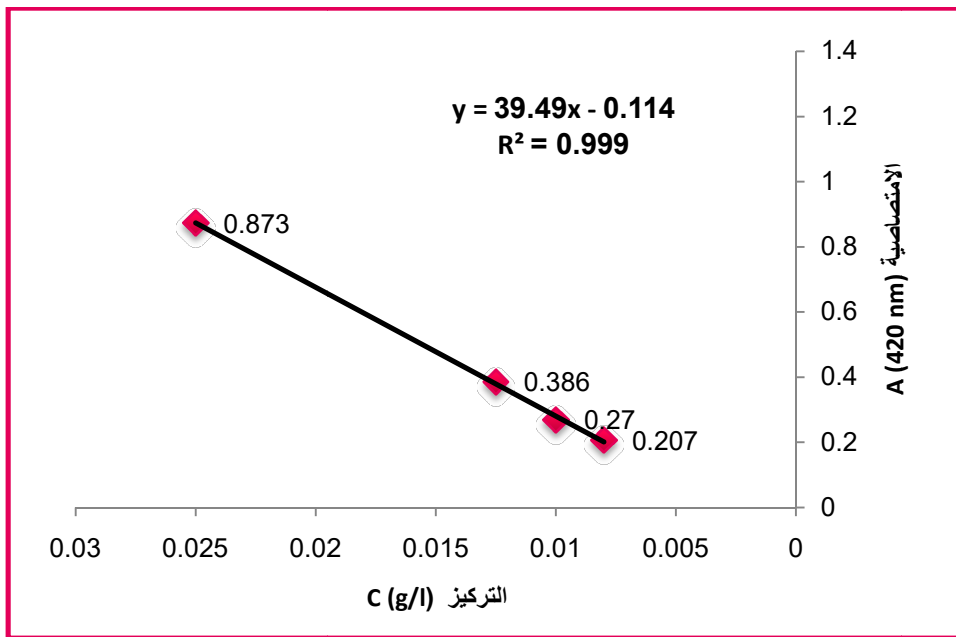
تم تقدير كمية الفلافونويدات بواسطة جهاز طيف الأشعة فوق البنفسجية و المرئية (UV-Vis) بالاستعانة بالكريستين كمحلول قياسي عند الطول الموجي  $\lambda_{\max} = 420\text{nm}$ . وذلك بالاعتماد على قدرة تكوين المعقد الأصفر بين ثلاثي كلور الألمنيوم ( $\text{AlCl}_3$ ) مع مجموعة الهيدروكسيل (OH) الموجودة على الحلقات 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 امتصاص عال. ويمتص عند طول موجة  $\lambda_{\max} = 42$ .

❖ طريقة العمل:

تمت هذه العملية بأخذ (1ml) من مختلف التراكيز الممددة من مستخلصات الميثانول لعينات حبوب اللقاح تراوحت بين (1 g/l - 5 g/l). و أضفنا لها 1ml من محلول ثلاثي كلور الألمنيوم ( $\text{AlCl}_3$  2%) وتم تركها في الظلام لمدة 30 min، لتتم بعد ذلك قراءة الامتصاصية الضوئية لها بواسطة جهاز طيف الأشعة فوق بنفسجية و المرئية (UV-Vis) عند الطول الموجي  $\lambda_{\max} = 420\text{nm}$  [25].

✓ رسم المنحنى القياسي للفلافونويدات:

وبنفس طريقة العمل وبأخذ تراكيز مخففة للكريستين تكون محصورة بين (0.025-0.008 g/l)، نتحصل على المنحنى القياسي للكريستين برسم منحنى تغير الامتصاصية الضوئية بدلالة التركيز  $A=f(C)$ ، كما هو موضح في الشكل (15.II).



الشكل (15.II): المنحنى القياسي للكريستين.

## 5.3.2.II. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لعينات حبوب اللقاح المدروسة:

## ❖ طريقة (TAC) Total antioxidant activity:

تم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة حسب طريقة Prieto [26] حيث أخذنا 0.1 ml من تراكيز ممددة (2.5g/l) من مستخلصات العينات المدروسة لحبوب اللقاح و نضيف لها 1 ml من الكاشف المحضر الذي يحتوي على المواد التالية:

• 4 mM من موليبيدات الامونيوم  $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ .

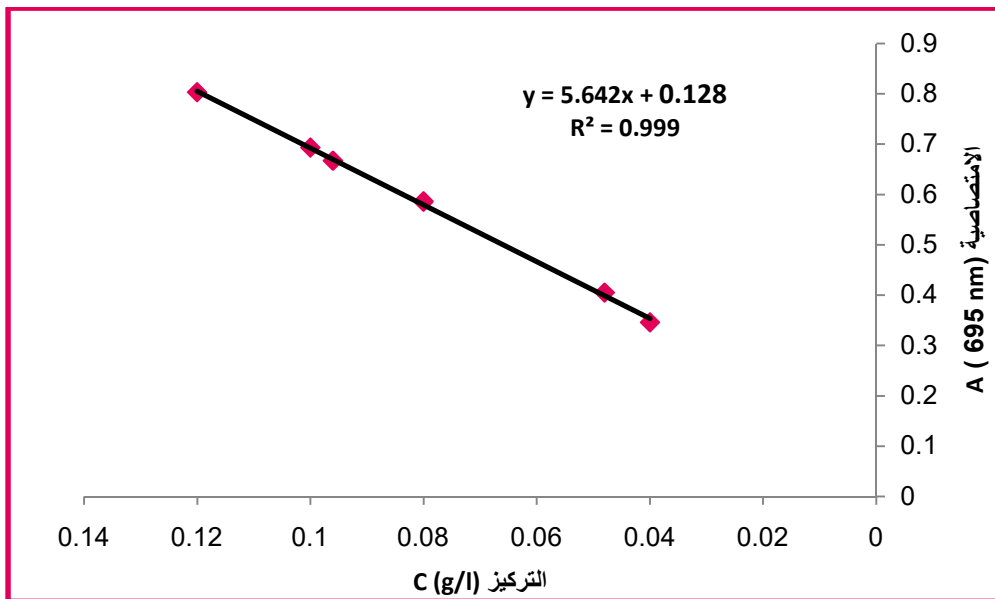
• 28 mM من فوسفات الصوديوم  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .

• 0.6 M من حمض الكبريت  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

يتم وضع الخليط في حمام مائي بدرجة حرارة  $95^\circ\text{C}$  و لمدة 90 min ، فيتم الحصول على اللون الأخضر. ثم نترك العينات تبرد في درجة حرارة الغرفة. وتتم قراءة الامتصاصية بجهاز (UV-Visible) عند طول الموجة  $\lambda_{MAX} = 695\text{nm}$ .

## ✓ تحضير المنحنى القياسي لحمض الغاليك:

تم استعمال حمض الغاليك كمركب قياسي بتراكيز محصورة بين (0.04 و 0.12 g/l)، حيث تمت معاملة التراكيز بنفس الكاشف و الطريقة. و انطلاقا من قيم الامتصاصية (A) لحمض الغاليك، تم رسم المنحنى القياسي الذي يبين تغير الامتصاصية (A) بدلالة التركيز (C) الموضح في الشكل (16.II).



الشكل (16.II): المنحنى القياسي لحمض الغاليك.

### 6.3.2.II. تقدير بعض الأحماض الفينولية و الفلافونويدات بالكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC):

تم تقدير بعض المركبات الفينولية بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) وفقا للشروط الموضحة في الجدول (3.II) ، حيث تم فصل المكونات و تقديرها بالاستعانة بالمنحنيات القياسية المتحصل عليها من خلال تحسين شروط الطريقة<sup>[27]</sup>.

#### الجدول (3.II): الشروط التجريبية لجهاز (HPLC) لفصل المركبات الفينولية.

العامل	الشروط
النظام	RP-HPLC الطور المعكوس
العمود	(25 cm x 46 nm) C18
حجم المحقن	μl20
معدل التدفق	ml/min 1
طول الموجة	nm 268λ =
الزمن	50 min
درجة الحرارة	°C 25
الطور المتحرك	(A) أسيتونتريل (acetonitrile).
	(B) حمض الخل (0.2% acid acetique) H <sub>2</sub> O

و الجدول (4.II) يوضح تغيرات نسبة الطور المتحرك A و B بدلالة الزمن:

#### الجدول (4.II): تغيرات نسبة الطور المتحرك بدلالة الزمن.

الزمن (min)	نسبة (A)	نسبة (B)
0.00	10	90
2.00	10	90
6.00	14	86
16.00	17	83
23.00	19	81
28.00	23	77
30.00	10	60
50.00	10	90

❖ تحضير العينات:

تم تحضير مستخلصات الميثانول بتخفيف تراكيز العينات المدروسة إلى تركيز (5 g/ L). وتم حقنها في جهاز HPLC.

الفصل الثاني:

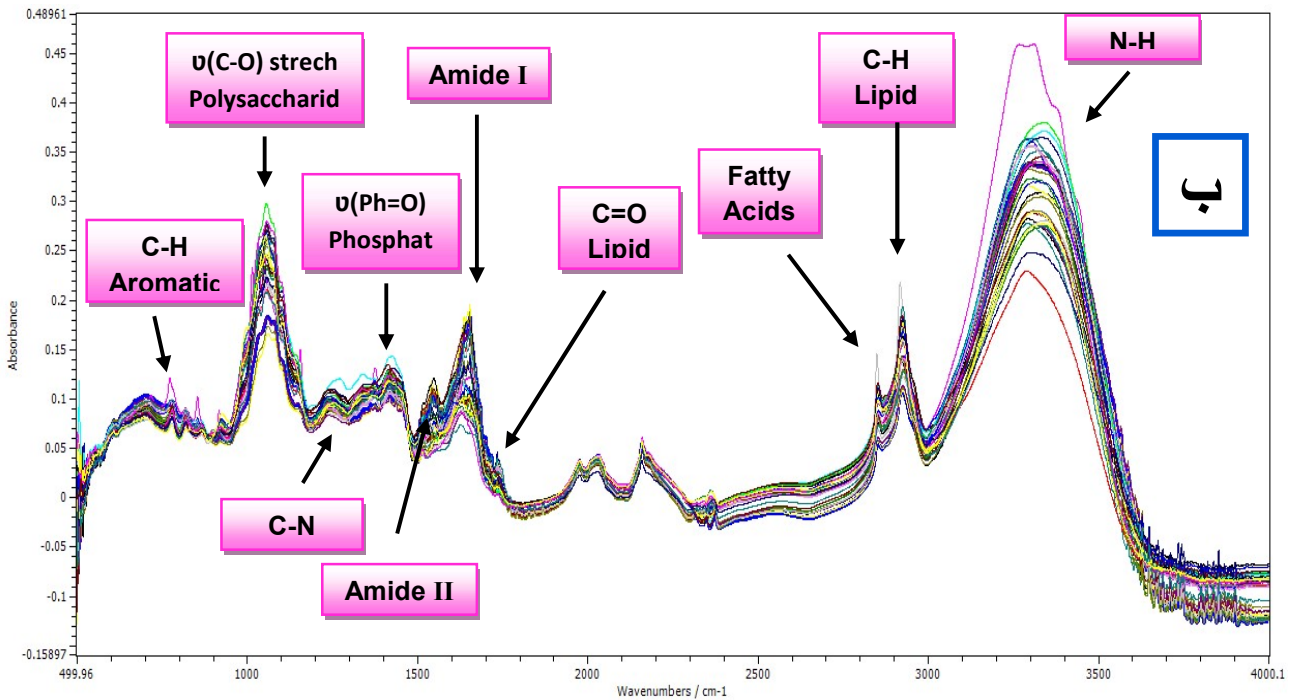
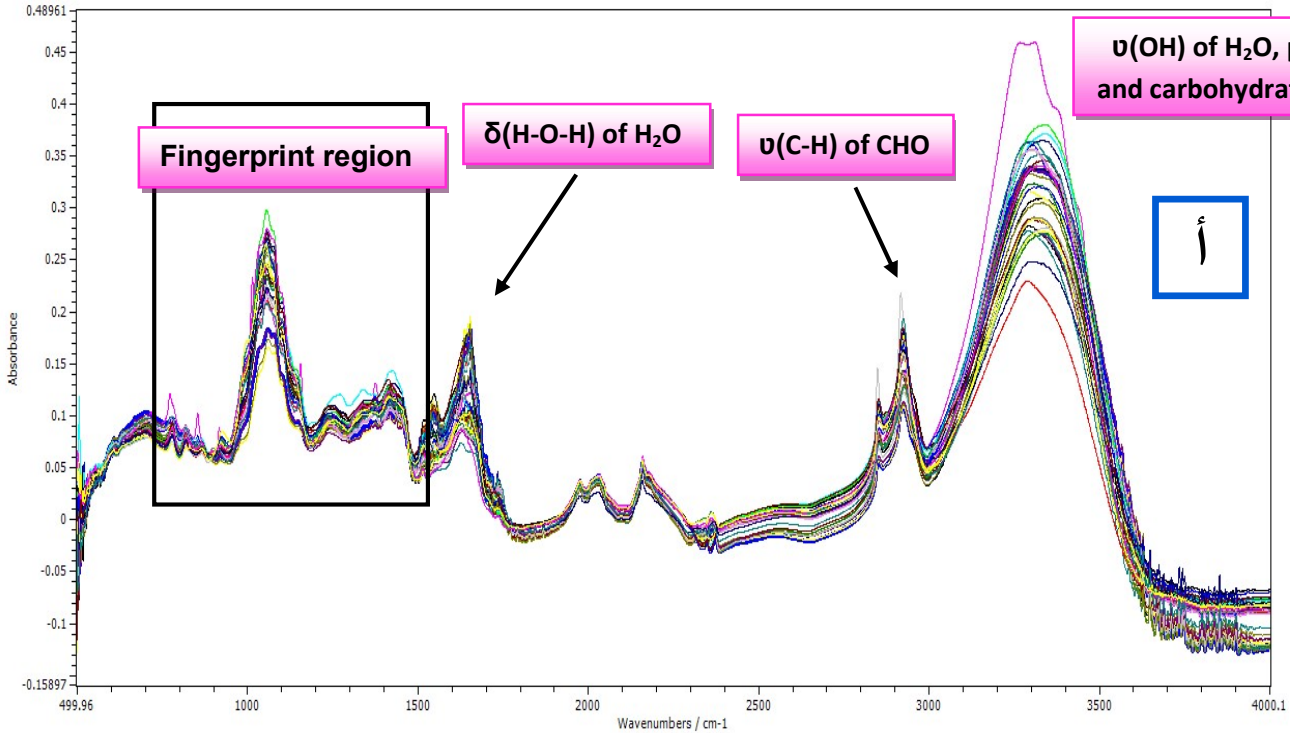
النسائج والمنافسة

## 3.II. النتائج والمناقشة:

## 1.3.II. التحليل الطيفي بواسطة IR-ATR:

بعد التحليل الطيفي لحبوب اللقاح بجهاز IR-ATR تم الحصول على المنحنيات الطيفية

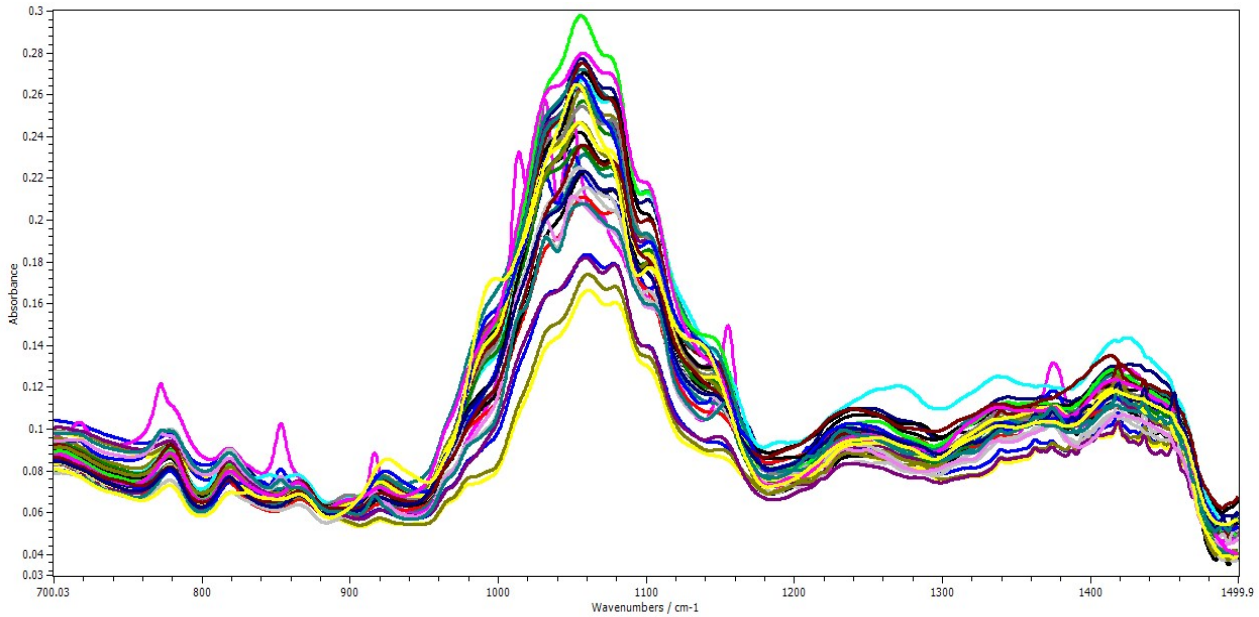
الموضحة في الشكل (17.II).



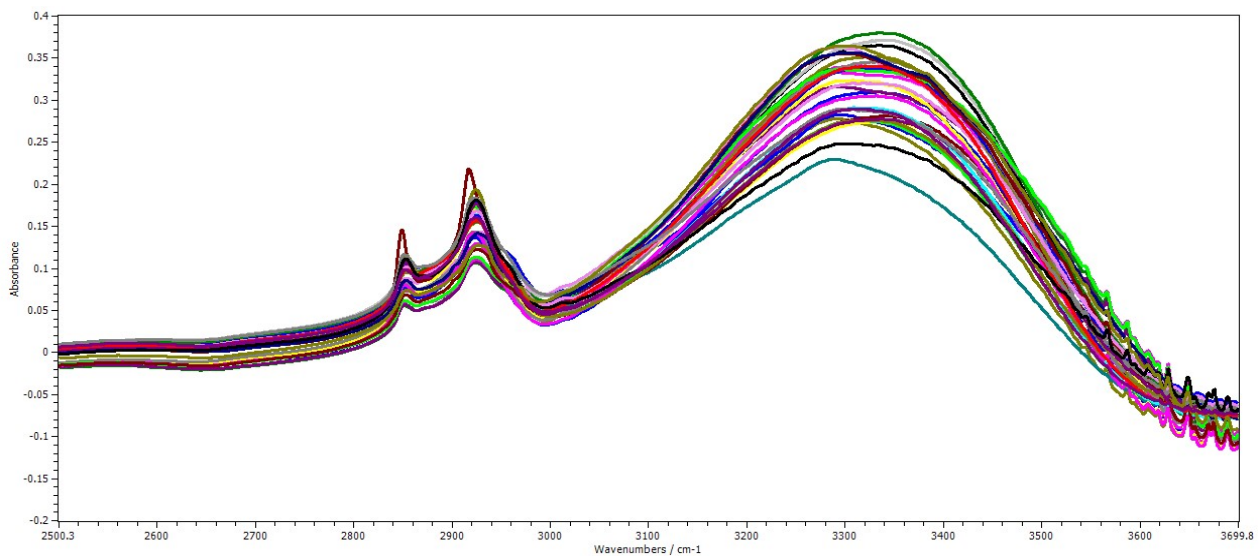
الشكل (17.II): طيف FTIR-ATR لعينات حبوب اللقاح في المنطقة ( $4000-500 \text{ Cm}^{-1}$ )، موضحة فيه أهم الروابط للسكريات "أ" و البروتينات و الدهون "ب".

يوضح الشكلين (17.ii) أعلاه أهم الروابط الممكن تحديدها في العينات المدروسة حيث من المعلوم حسب الدراسات السابقة أن حبوب اللقاح تحوي السكريات و البروتينات بصفة غالبية و إلي الدهون و الفينولات بصفة اقل، وهو واضح في الشكلين السابقين.

الشكلين التاليين (18.ii) و (19.ii) يوضحان على التوالي منطقة البصمة و هي أهم منطقة في دراسة مطيافية الأشعة تحت الحمراء. ومنطقة (Bond O-H).



الشكل (18.ii): طيف FTIR-ATR لعينات حبوب اللقاح في المنطقة البصمة (  $1500-700 \text{ Cm}^{-1}$  ).



الشكل (19.ii): طيف FTIR-ATR لعينات حبوب اللقاح في المنطقة (  $3700-2700 \text{ Cm}^{-1}$  ).

من خلال تحليل المنحنيات الطيفية لعينات حبوب اللقاح المدروسة تبين أن هناك تشابه كبير بين أطيف حبوب اللقاح، مع ظهور اختلافات طفيفة في قيمة الامتصاصية الموافقة لكل عدد موجي، والذي يعبر عن نوعية الروابط (المجموعات الوظيفية) المكونة للعينات المدروسة والموضحة في الجدول

(5.II).

الجدول (5.II): أنواع الروابط الموجودة في عينات حبوب اللقاح.

Compound	$\nu(\text{cm}^{-1})$
C-H Aromatic	772
C=C Aromatic	1632
C-H Lipid	2936
C-H Aliphatique	2902
(CH <sub>2</sub> ),(CH <sub>3</sub> ) Methyl	1432
C=O Amide I	1640
N-H Amide II	1548
C-N	1209
C=O	1650
C=O ester of lipids	1742
C-O-C Polysaccharid	1094
C-O Carbohydrat	1049
H-O-H of (H <sub>2</sub> O)	1600-1700
C-H of (CHO)	2936
OH of H <sub>2</sub> O, Phenol and Carbohydrates CHO	300-3600

حيث تبين أن عينات حبوب اللقاح تحتوي على مركبات تحتوي على مجموعة من الحلقات الأروماتية ( $\text{C}=\text{C}$  Aromatic ،  $\text{C}-\text{H}$  Aromatic =  $722 \text{ cm}^{-1}$ ) و مجموعة كبيرة من الهيدروكسيل  $\text{C}-\text{H}$  of :  $2936 \text{ Cm}^{-1}$  ،  $\text{OH}$  of  $\text{H}_2\text{O}$ ، Phenol and Carbohydrates CHO:  $300-3600$ ) وكذلك كل من المجموعتين الوظيفيتين ( $\text{C}=\text{O}$ :  $1650 \text{ cm}^{-1}$  ،  $\text{C}-\text{O}$  Carbohydrat:  $1049$ ) وهذا ما يدل على وجود عدة أنواع من السكريات اضافة لنسبة من الفينولات و الفلافانويدات. بالإضافة إلى مجموعة (( $\text{H}-\text{O}-\text{H}$  of ( $\text{H}_2\text{O}$ )) المعبرة عن تواجد كمية من الماء. أما عن المجموعات الوظيفية ( $\text{C}=\text{O}$  Amide I ،  $\text{N}-\text{H}$  Amide II ،  $\text{C}-\text{N}$  ،  $\text{C}=\text{O}$  ester of lipids ،  $\text{C}=\text{O}$  ester of lipids (of lipids) فهي تبين أن هناك نسبة من الأحماض الأمينية التي تدخل في تركيب البروتينات و الأحماض النووية ( $\text{ARN}$  ،  $\text{ADN}$ )، وكذلك المركبات الفسفورية التي تعبر عن المعادن. إضافة إلى نسبة من الأحماض الدهنية و الليبيدات ( $\text{C}-\text{H}$  Lipid ،  $\text{C}=\text{O}$  ester of lipids).

**2.3.II. تقدير كمية الفينولات في عينات حبوب اللقاح المدروسة:**

تم تقدير المحتوى الفينولي لعينات حبوب اللقاح بالاستعانة بالمنحنى القياسي لحمض الغاليك فكانت النتائج موضحة في الجدول (6.II) حيث تراوحت كمية الفينولات بين (915.6 mg/100g-379.8). فكانت الكمية الأكبر في عينة "P8" Bouira et Boumerdès، تليها كل من منطقتي Tizi Ouzou "P12" "P10" بنسبة 898.6، 861.3، أما مناطق Tipaza، El Bayadh، skikda، Boumerdès، EL-Oued، Blida، Medea، laghouat فكانت نسبة الفينولات فيها متوسطة تراوحت بين (501.9 mg/100g - 661.2)، وكانت الكمية الأصغر في بقية المناطق الأخرى وكانت اقل قيمة في منطقة Mtija.

**3.3.II. تقدير كمية الفلافونويدات في عينات حبوب اللقاح المدروسة:**

تم تقدير المحتوى الفينولي لعينات حبوب اللقاح بالاستعانة بالمنحنى القياسي للكريستين ولخصت النتائج في الجدول (6.II). حيث تراوحت كمية الفلافونويدات بين (207.1-550.0 mg/100g). فكانت الكمية الأكبر في عينة "P9" Laghouat, Blida, Medea، تليها كل من منطقتي Tizi Ouzo، Tipaza، El Bayadh، EL-Oued، فكانت نسبة الفلافونويدات فيها متوسطة تراوحت بين (319- 435 mg/100g)، وكانت الكمية الأصغر في بقية المناطق الأخرى Bouira et Boumerdès، Boumedès، skikda، Constantine، Bouira حيث كانت اقل قيمة في منطقة Mtija.

**4.3.II. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لعينات حبوب اللقاح المدروسة:**

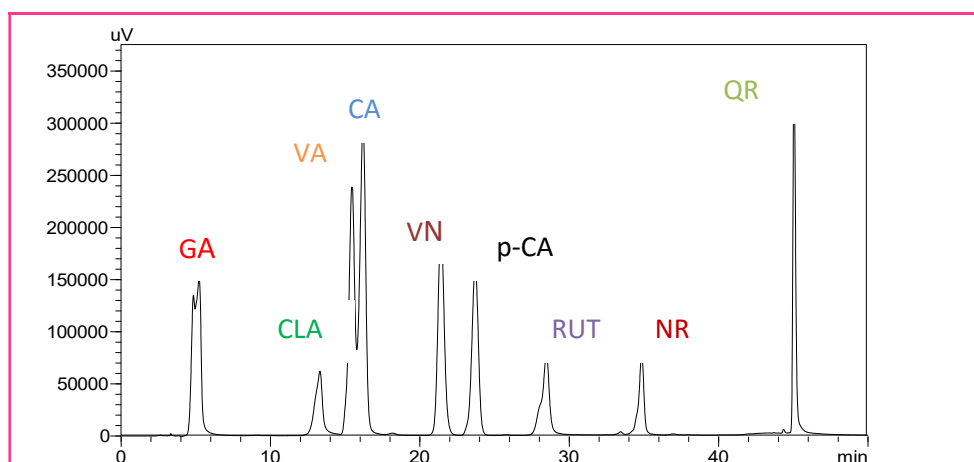
تم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لعينات حبوب اللقاح بالاستعانة بالمنحنى القياسي للغاليك و لخصت النتائج في الجدول (6.II). حيث تراوحت كمية الفعالية المضادة للأكسدة بين (808.2mg/100-3311). فكانت الكمية الأكبر في عينة "P13" EL-Oued، تليها كل من منطقة Tizi Ouzo "P12"، Boumedès، laghouat, Blida, Medea، EL-Oued، Tizi Ouzo "P10"، Oued بقيم متوسطة تراوحت بين (2283 - 2886 mg/100g)، أما كمية الفعالية المضادة للأكسدة بقية المناطق الأخرى "P7" Tipaza، Constantine، El Bayadh، skikda، "P5" Bouira et Boumerdès، Tipaza، Mtija حيث كانت اقل قيمة في منطقة Bouira.

الجدول(6.II): كمية المواد الفعالة والقدرة المضادة للأكسدة في عينات حبوب اللقاح.

رقم العينة	العينة	كمية الفينولات (mg/100g)	كمية الفلافونويدات (mg/100g)	الكمية المضادة للأكسدة (mg/100g)
P1	Bouira	403.5±330.9	219.8±100.3	808.2±982.6
P2	Mtija	379.8±364.5	207.1±82.37	1163±381
P3	Skikda	515.4±163	257.8±111	1290±501.3
P4	Constantine	390±244.6	229±85.95	1538±1253
P5	Tipaza	559.5±158.3	389.5±290.1	1255±1153
P6	El Bayadh	654.5±52.75	435±132.5	1432±802.1
P7	Tipaza	661.2±273.3	323.6±75.21	1928±1303
P8	Bouira et Boumerdès	915.6±671.4	283.1±139.7	1184±752
P9	laghouat,Blida,Medea	501.9±335.7	550±445.5	2389±1153
P10	Tizi Ouzou	861.3±546.7	361.6±200.5	2283±1604
P11	Boumerdès	590±220.6	270.4±100.3	2744±350.9
P12	Tizi Ouzou	898.6±666.6	412.3±250.7	2886±1654
P13	EL-Oued	501.9±326.1	316±272.2	3311±2858

### 5.3.II. نتائج تقدير بعض الأحماض الفينولية و الفلافونويدات بالكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC):

تم حقن مزيج من المحاليل القياسية في جهاز (HPLC)، فتحصلنا على أزمنة مكوث مختلفة للمركبات الفينولية و الشكل (20.II) التالي يوضح ذلك.



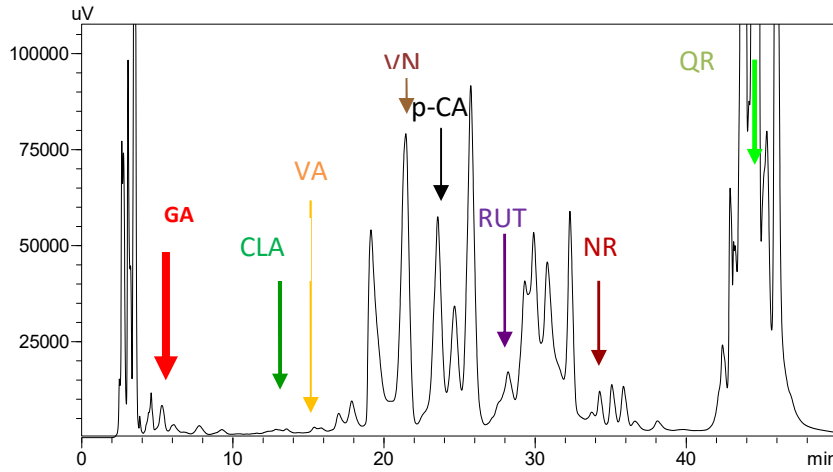
الشكل(20.II): الكروماتوغرام الممثل للفينولات المرجعية المدروسة

من خلال المنحنى القياسي تم تسجيل أزمنة المكوث للمركبات القياسية. والموضحة في الجدول (7.II):

الجدول (7.II): زمن المكوث لكل مركب فينولي .

المركبات الفينولية	زمن الخروج $T_R$ (min)
حمض الغاليك GA	5.29
حمض الكلورجينيك CLA	13.392
حمض الفانيليك VA	15.531
حمض الكافيك CA	16.277
الفانيلين VAN	21.46
كومارين P-CA	23.817
روتين RUT	28.37
النارجين NAR	34.788
الكريستين QR	45.047

من خلال الكروماتوغرام الناتج من عينات حبوب اللقاح المدروسة تبين أن مختلف العينات تحتوي على نسبة معتبرة من المركبات الفينولية و الفلافانويدات. والكروماتوغرام التالي يوضح ذلك.



الشكل (21.II): المنحنى الكروماتوغرافي للفينولات المرجعية للينة B10

### التحليل الكيفي:

من خلال المنحنيات الكروماتوغرافية المتحصل عليها لمستخلصات حبوب اللقاح تبين وجود كمية مهمة من المركبات الفينولية و الفلافانويدات في عينات حبوب اللقاح وذلك لظهور قمم موافقة لنفس زمن المكوث لكل مركب فينولي. إلا أن تواجد هذه المركبات اختلفت بين العينات المدروسة حيث أظهرت النتائج

أن جميع العينات تحوي على حمض الغاليك (GA) و الكريستين (QR) ماعدا العينة VIO13 التي لا تحتوي على (GA). و العينة R13 لعدم احتوائها على (QR). أما حمض الكوماريك (p-CA) فقد لوحظ غيابه في العينتين (O3 و O13)، كما أن (O8،N1،J7،B2 و VIO13) لا تحتوي على الفانيلين (VAN). أما (NAR) فقد استثنى كل من عينات (R13،R8،O3،JS11،J1 و V10). تبين أن الكلوروجينيك (CLA) لم يظهر في (R8،O8،O1،J10،J7،B13،A1) كما نلاحظ أن العينات (R11،R10،R8،O11،O10،O1،JS11،J7،B13) لا تحتوي على (CA) و (VA)، إضافة إلى (R13،R12،J13،J10،J3،B10،B2) بالنسبة لـ: (CA) و (O8،A1 و V13) بالنسبة لـ: (VA)، أما عن الروتين (RUT) فلم يظهر سوى في بعض العينات (JS2،J13،J3،J1،B10،B2)، ومن مقارنة هذه النتائج تبين أن العينة (JS2) فقط احتوت على مختلف المركبات الفينولية المدروسة.

### التحليل الكمي :

بعد التعرف على أنواع الفينولات الموجودة في كل عينة تم حساب كميتها باستعمال المنحنيات

القياسية، حيث دونت النتائج في الجدول (8.II).

### الجدول (8.II): تقدير كمي للمركبات الفينولية في مستخلصات حبوب اللقاح .

	GA (µg)	CLA (µg)	V A (µg)	CA (µg)	VAN (µg)	p-CA (µg)	RUT (µg)	NAR (µg)	QR (µg)	Total (mg/g)
A1	20.855	ND	ND	6.468	1004.065	315.571	ND	224.304	500.634	2.071
B2	30.09	28.94	4.726	ND	ND	814.518	745.487	75.019	490.797	2.189
B8	74.899	50.182	9.093	5.864	68.345	45.677	ND	69.198	4049.905	4.373
B10	648.558	334.834	145.882	ND	10488.72	9312.071	6751.996	3087.187	20749.05	51.518
B13	48.29	ND	ND	ND	29.217	1294.559	ND	321.017	231.248	1.924
J1	7.274	27.251	41.384	247.857	109.862	1205.766	2120.501	ND	1033.663	4.793
J2	10.574	25.201	3.841	44.943	1756.365	41.39	ND	373.724	2079.223	4.335
J3	13.002	76.187	12.044	ND	6249.18	12.599	46.013	198.802	266.922	6.874
J7	85.32	ND	ND	ND	ND	210.138	ND	939.656	534.395	1.769
J10	29.458	ND	4.566	ND	2110.602	20.07	ND	231.425	852.166	3.248
J13	130.418	28.977	4.778	ND	2035.299	28.33	41.614	37.638	845.876	3.152
JS2	23.701	47.366	8.073	2.757	1596.775	267.59	356.736	164.538	1695.654	4.163
JS11	243.225	324.689	ND	ND	163.906	1498.284	ND	ND	2019.295	4.249
N1	285.857	22.977	47.374	12.547	ND	49.774	ND	524.247	1012.142	1.954
O1	8.156	ND	ND	ND	970.751	176.728	ND	312.193	172.096	1.639

O2	34.988	53.016	ND	ND	777.559	32.948	1443.106	2114.876	802.644	5.259
O3	32.504	81.781	8.457	2.486	11304.69	ND	31.893	ND	200.969	11.662
O8	118.724	ND	ND	3.506	ND	43.515	ND	260.312	3799.911	4.225
O10	116.548	31.35	ND	ND	498.163	331.314	160.133	1343.299	186.31	2.667
O11	67.072	53.81	ND	ND	30.246	52.211	ND	4485.019	625.289	5.313
O13	100.627	15.213	5.602	7.339	29.336	ND	ND	38.165	472.815	0.669
R8	20.515	ND	ND	ND	680.261	4.65	ND	ND	1210.269	1.915
R10	69.135	45.898	ND	ND	540.067	328.303	481.758	660.023	524.104	2.649
R11	61.882	13.773	ND	ND	16.466	866.62	ND	58.558	289.942	1.307
R12	87.8	41.643	33.09	ND	102.389	235.842	ND	1564.084	613.187	2.678
R13	81.15	102.174	151.442	ND	167.239	591.97	ND	ND	ND	1.093
V10	50.847	30.048	3.783	3.977	339.232	8145.242	12.109	ND	1925.814	10.511
V13	83.846	39.639	ND	10.215	33.938	1007.887	ND	92.471	1166.543	2.434
VIO13	ND	61.823	8.54	8.852	ND	31.752	ND	281.232	211.93	0.604

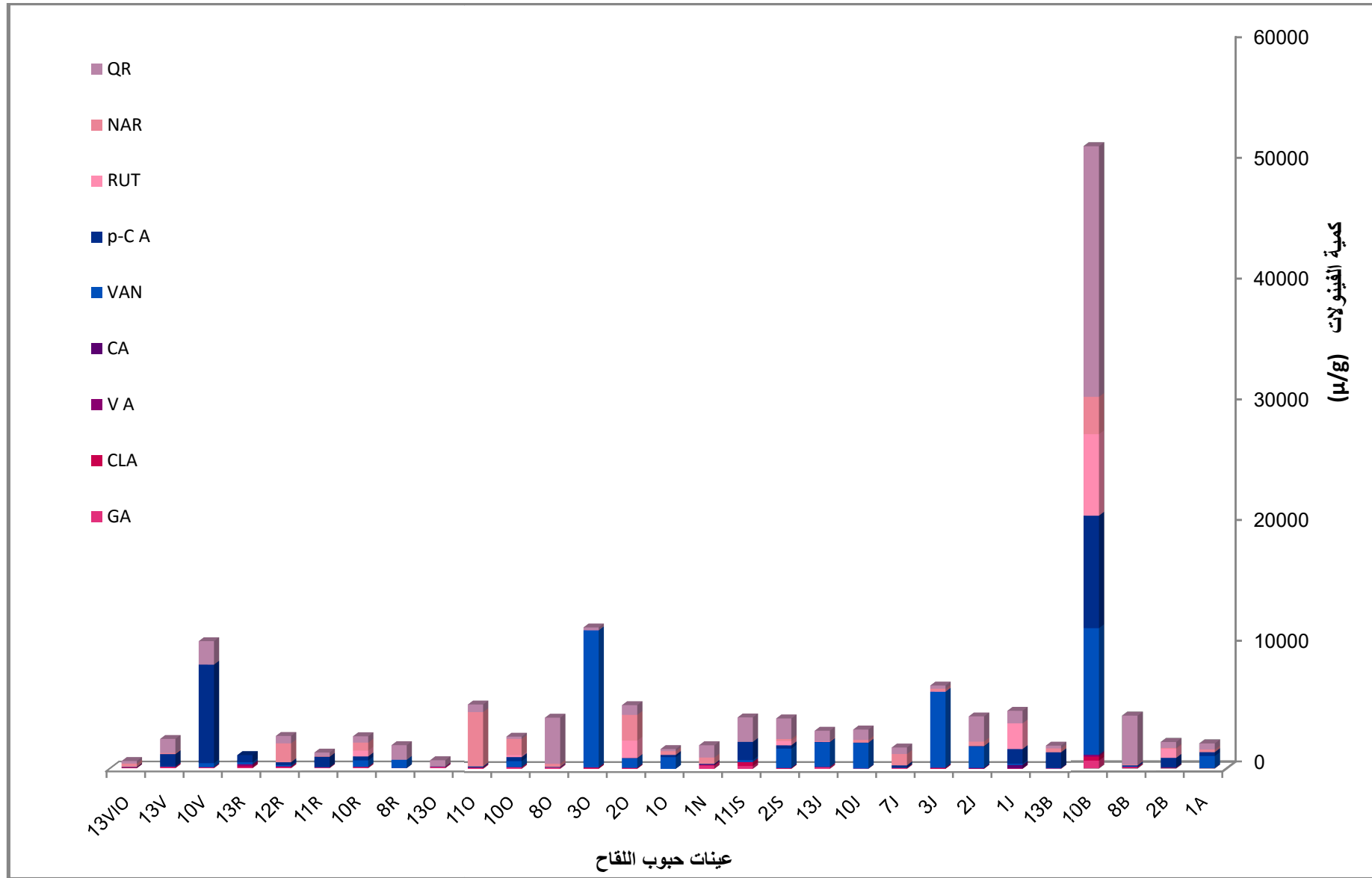
ND: not detected

المنحنى الموضح في الشكل (22.II) و الذي يمثل كمية المركبات الفينولية في عينات حبوب اللقاح المدروسة. من خلال الشكل (22.II) و الجدول السابق (8.II) تبين أن كمية الاحماض الفينولية في أغلب العينات كانت ضعيفة مقارنة بكمية الفلافانويدات. كما تفاوتت كمية المركبات الفينولية في عينات حبوب اللقاح حيث كانت النسبة الأكبر في العينة

<O10<R12<J13<J10<JS2<O8<JS11<J2<B8<J1<O2<O11<J3<V10<O3<B10

.VIO13 <O13<R13 <R11< O1 <J7<R8< B13<N1 <A1<B2<V13<R10

وبمقارنة كمية المركبات الفينولية في العينات يتبين ان نسبة الكريستين (QR) تزيد في اغلب العينات على نسبة كل من الفانيلين (VAN) و الكومارين (p-CA). كما ان هناك نسبة معتبرة من النرنجين (NAR) والروتين (RUT) مقارنة بالنسب الصغيرة لكل من (GA)، (CLA)، (VA) و (CA).



الشكل (22.II): التمثيل البياني للتحليل الكمي للمركبات الفينولية في عينات حبوب اللقاح المدروسة.



مراجع اللغة العربية

- [4] عوينات ح، عزيري ز و عثمانى و. (2011). المطيافية تحت الحمراء، مذكرة لنيل شهادة أستاذ تعليم متوسط. المدرسة العليا للأساتذة القبة-الجزائر.
- [7] الدكتور عبد العليم سليمان أبو المجد، (2011). التحليل الطيفي باستخدام الأشعة تحت الحمراء، الأكاديمية الحديثة للكتاب الجامعي.
- [8] المؤسسة العامة للتدريب التقني و المهني، (2010). طرق التحليل الطيفي تخصص مختبرات كيميائية، المملكة العربية السعودية. ص30-33.
- [9] د. عبد المنعم محمد السيد الاعسر، (2000). التحليل الطيفي للأنظمة الكيميائية و البيوكيميائية. الطبعة الثانية، الدار العربية للنشر والتوزيع ، دار السلام، القاهرة.
- [10] عبد العزيز ب و العبيدي م.(2016). محاضرات في الكيمياء التحليلية، كلية التربية للعلوم الصرفة. جامعة الانبار
- [11] روبرت بكسوك، توماس كانز، أيان موكليام، دونالد شيلدر، الطرائق الحديثة للتحليل الكيميائي ترجمة باسم محمد سعيدي و مقداد عبد الستار مهدي ، الطبعة الاولى: مكتبة المرشد سامراء720736 ، ص215-224.

مراجع اللغات الأجنبية

- [1] Campos, M.G., Olena, L., & Anjos, O. (2016). Chemical composition of bee pollen. In S.M. Cardoso & A.M.S. Silva (Eds.), *Chemistry, biology and potential applications of honeybee plant- derived products* (pp. 67–88). Sharjah: Bentham Science.
- [2] Estevinho, L.M., Rodrigues, S., Pereira, A.P., & Fea 's, X. (2012). Portuguese bee pollen: Palynological study, nutritional and microbiological evaluation. *International Journal of Food Science & Technology*, 47, 429–435.
- [3] Morais, M., Moreira, L., Fea 's, X., & Estevinho, L.M. (2011). Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 1096–1101.
- [5] J.P. Coates, 'The Interpretation of Infrared Spectra: Published Reference Sources', *Appl. Spectrosc. Rev.*, 31(1–2),179–192(1996).
- [6] Annette, N., Sudhakar, P., Ursula, K. & Andrea, P. *Fourier Transform Infrared Microscopy in Wood Analysis*. In: Ursula Kües(Ed.) *Wood production, wood technology, and biotechnological impacts*. Universitätsverlag Göttingen, 2007. 179- ISBN 978-3-940344-11-3.
- [12] Images and frequencies obtained from: <http://wwwchem.csustan.edu/tutoriais/infrared.htm>. (accessed 01/05/2011).
- [13] Davis, R., and L. J. Mauer. 2010. Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy: A rapid tool for detection and analysis of foodborne pathogenic bacteria. Mendez-Vilas, A. (Ed). *Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. Pp: 1582-1594.

- [14] Urban, M. W. (1993). Fourier Transform Infrared and Fourier Transform Raman Spectroscopy of Polymers, In: Urban, M. W. & Craver, C. D. (Ed.),3-40, ISBN 0841225257, the University of Virginia, American Chemical Society.
- [15] Koenig, J. L. (2001). FTIR images: a new technique produces images worth a thousand spectra. Analytical chemistry (Washington), Vol.73, No.13, pp. 360A, ISSN 0003-2700.
- [16] Himmelsbach, D.S.; Khalili, S. & Akin, D.E. (1998) FT-IR microspectroscopic imaging of flax (*Linum usitatissimum* L.) stems. Molecular and Cellular Biology, Vol. 44, No.1, pp.99-108, ISSN 0270-7306.
- [17] Vladimír Setnička. (2018). FT-IR Reflection Techniques. Retrieved from University of Chemistry and Technology Technická5 website: <https://old.vscht.cz/anl/vibspec/FTIR%20Reflection%20Techniques.pdf> (accessed 02/06/2018).
- [18] FT-IR Spectroscopy: Attenuated Total Reflectance (ATR) (TECHNICAL NOTE). Retrieved from PerkinElmer Life and Analytical Sciences website: [https://shop.perkinelmer.com/content/TechnicalInfo/TCH\\_FTIRATR.pdf](https://shop.perkinelmer.com/content/TechnicalInfo/TCH_FTIRATR.pdf) (accessed 02/06/2018).
- [19] Attenuated Total Reflection (ATR) – a versatile tool for FT-IR spectroscopy (Application Notes AN # 79). Retrieved from Bruker Optics Inc.website: [https://www.bruker.com/fileadmin/user\\_upload/8.../FT.../AN79\\_ATR-Basics\\_EN.pdf](https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8.../FT.../AN79_ATR-Basics_EN.pdf) (accessed 02/06/2018).
- [20] ATR – Theory and Applications (Application Notes). Retrieved from PIKE Technologies website: [http://www.piketech.com/files/pdfs/PIKE\\_ATR\\_Theory-Applications.pdf](http://www.piketech.com/files/pdfs/PIKE_ATR_Theory-Applications.pdf) (accessed 02/06/2018).
- [21] Campos, M.G.R., Bogdanov, S., de Almeida-Muradian, L.B., Szczesna, T., Mancebo, Y., Frigerio, C., & Ferreira, F. (2008). Pollen composition and standardisation of analytical methods. Journal of Apicultural Research, 47, 154–161. doi: 10.1080/00218839.2008.11101443.

- [22] Burgula, Y., D. Khali. S. Kim. S. S. Krishnan. M. A. Cousin. B. L. Reuhs and L. J. Mauer. (2006). Detection of E. coli O157:H7 and Salmonella typhimurium using filtration followed by FT-IR spectroscopy. *J. Food Prot.*, 69:1777-1784.
- [23] Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- [24] Rebiai, A., Lanez, T., & Belfar, M. L. (2011). In vitro evaluation of antioxidant capacity of Algerian propolis by spectrophotometrical and electrochemical assays. *Int J Pharmacol*, 7, 113-118.
- [25] Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
- [26] Trusheva, B., Trunkova, D., & Bankova, V. (2007). Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study. *Chemistry Central Journal*, 1(1), 1-4.
- [27] Rebiai, A., Lanez, T., & Belfar, M. L. (2013). Determination of caffeic acid and gallic acid in Algerian bee pollen by HPLC method. 4 Phytochem & BioSub Conference. *At Bechar, Algeria*.

الفصل الثالث:

نمذجة التحليل الكمي

للسوا والفعالة

## 1.III. نمذجة التحليل الكمي للمواد الفعالة:

## 1.1.III. الطرق الإحصائية:

تعتمد الطرق الإحصائية على تحليل مجموعة من البيانات تشمل العديد من مجالات الدراسة، وتتم المعالجة بطريقة رياضية لتفسير العلاقة بين مجموعة من المتغيرات تتم صياغتها في شكل نموذج إحصائي يبين مدى التقارب والتناسق بين النتائج لتعميمها على الفئات المدروسة وهو ما يعرف بعلم التنقيب في البيانات (Data mining).

وهي عملية بحث تتم بطريقة يدوية أو عن طريق الحاسب باستخدام برامج إحصائية مختلفة أهمها البرامج الشهيرة التي اعتمدت في تحليل البيانات في مجالات علمية مختلفة وهي برنامج (spss) Statistical Package for Social Science، برنامج Orange data mining، برنامج SIMCA و Molegro data Modeller، لمعرفة مجموعة من البيانات دون فرضيات مسبقة. كما يعرف علم التنقيب في البيانات على أنه عملية تحليل كمية البيانات (كمية كبيرة جدا) لإيجاد علاقة منطقية تلخص البيانات بطريقة جديدة تكون مفهومة ومفيدة لصاحب البيانات. وتعرف هذه البيانات و المعلومات الملخصة التي يتم الحصول عليها من عملية التنقيب في البيانات بـ: (Models).

يتعامل تنقيب البيانات عادة مع بيانات تم الحصول عليها بغرض غير غرض التنقيب وهذا يعني أن طريقة التنقيب في البيانات لا تؤثر على طريقة جمع البيانات. وهي من أهم الميزات التي يختلف فيها التنقيب في البيانات عن الإحصاء، ولهذا تعد عملية التنقيب في البيانات عملية إحصائية ثانوية، كما أنها تعتمد على تحليل كمية كبيرة من البيانات، أما عند استخدام كمية صغيرة من البيانات فمن الأحسن استخدام الطرق الإحصائية العادية في تحليلها. وعند استخدام حجم كبير من البيانات تظهر مسائل جديدة مثل:

- كيفية تحديد النقاط المميزة في البيانات.
- كيفية تحليل البيانات في فترة زمنية وجيزة.
- كيفية الحكم عن ما إذا كانت هناك علاقة ظاهرية تنعكس في طبيعة البيانات.

عادة يتم التنقيب في تحليل جزء من كامل البيانات حيث يكون الغرض عادة تعميم النتائج على كامل البيانات. وهو الهدف الأساسي في تنقيب البيانات حيث يتم تقليص الحجم الكبيرة للبيانات أو ضغطها بحيث تعبر بشكل بسيط عن كامل البيانات دون تعميمها [1 : 3].

**1.1.1.III: تحليل الانحدار Regression Analysis:**

وهو طريقة يمكن من خلالها تحديد العلاقة (معادلة رياضية) بين المتغيرات التابعة و المستقلة و طبيعة العوامل المؤثرة بينهما<sup>[4]</sup>. و يوجد نوعان من تحليل الانحدار هما:

**1. الانحدار الخطي Linear Regression:**

يعتبر الأكثر انتشارا، و يعتمد على دراسة العلاقة الخطية بين المتغيرات. وهو نوعان:

**❖ الانحدار الخطي البسيط Simple Linear Regression:**

يتمثل في دراسة علاقة رياضية خطية (معادلة خط مستقيم) بين متغيرين فقط، متغير تابع ( $y$ ) و  $x$  (متغير مستقل)  $x$  (Dependent variable) يتأثر باختلاف المتغير المستقل  $x$  (Dependent variable). و يعبر عنها بالمعادلة الرياضية التالية<sup>[5,6]</sup>:

$$y = ax + b$$

**❖ الانحدار الخطي المتعدد (MLR) Multiple Linear Regression:**

يختلف عن الانحدار الخطي البسيط في عدد المتغيرات المستقلة  $x$  المرتبطة بالمتغير التابع  $y$ ، و تعتمد هذه الطريقة في تحديد العلاقة الحقيقية بين التابع  $y$  و أحد المتغيرات المستقلة  $x_i$  واستبعاد البقية. و تمثل المعادلة على الشكل التالي<sup>[7,8]</sup>:

$$y = b + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_4x_4 + \dots + a_nx_n$$

**2. الانحدار غير الخطي Non-Linear Regression:**

يعبر عن العلاقة بين المتغيرات بنموذج غير خطي، حيث يتغير أحد المتغيرات بمقدار غير ثابت عند زيادة المتغير الثاني بمقدار معين.

**2.1.III. طرق وأساليب دراسة نموذج إحصائي:**

1. طريقة المربعات الصغرى Least Squares: و تنقسم هذه الطريقة لقسمين:

**❖ طريقة المربعات الصغرى الاعتيادية Ordinary Least Squares (OLS):**

وهي طريقة شائعة الاستخدام، تعتمد على وجود علاقة خطية بين متغيرين أو أكثر، تكون في شكل خط فاصل بين نقاط الشكل الانتشاري بحيث تكون مجموع أبعاد النقاط أقل ما يمكن<sup>[9]</sup>.

### ❖ طريقة المربعات الصغرى الجزئية ( PLS ) Partial Least Squares :

وهي تقنية من تقنيات الانحدار الخطي، طورت لاستخدامها في العديد من المجالات (الكيمياء، الطب...)، وهي طريقة يتم فيها التعامل مع متغير تابع واحد أو أكثر عن طريق مجموعة كبيرة من المتغيرات المستقلة<sup>[10, 11]</sup>. ويتم استخدامها وفق الخوارزميات التالية:

- خوارزمية ( SIMPLS ) Simple Partial Least Squares .
- خوارزمية (NIPALS).

### ❖ طريقة المربعات الصغرى الجزئية المتعامدة (O PLS) Orthogonal PLS modeling :

وهي طريقة مطورة لطريقة الانحدار الخطي (PLS). اشتقت من الخوارزمية الأصلية NIPALS، حيث تختلف عن طريقة PLS في تعديلات العلاقات الداخلية لمصفوفة البيانات فهي تعمل على تقسيم المتغيرات X إلى قسمين متغيرات مرتبطة خطيا ( predictive ) بالمتغير التابع ومتغيرات غير مرتبة به (orthogonal). وهذا ما يسهل عملية قراءة النموذج وتفسيره، وقد أعطت نتائج ايجابية في التنبؤ بنماذج التحليل في مختلف تطبيقات الكيمياء الحيوية والبيولوجية<sup>[10, 12]</sup>.

### ❖ طريقة المربعات الصغرى الجزئية المتعامدة ثنائية الاتجاه (O2PLS) Orthogonal 2 PLS : modeling

وهو تعميم لطريقة (OPLS) إلا أنها ثنائية الاتجاه ( $X \leftrightarrow Y$ )، حيث تقسم البيانات النظامية إلى ثلاث أجزاء: الاختلاف التنبؤي المشترك ( $X/Y$ )، الاختلاف في X الغير مرتبط ب:Y و الاختلاف في X المرتبط ب: Y. كما يمكن تقسيم الجزء الأخير إلى قسمين احدهما مرتبط ب: ( OPLS ) وهو تأثير النمذجة على المصفوفة لتحقيق أفضل توقع و تفسير، أما الثاني فيكون مرتبط بالمتغير المستقل في (PCA)، يتكون من تنوع منظم لا يؤثر على عملية التنبؤ، ولكن يمكن أن يكون مهم لتفسير البيانات المعقدة متعددة المتغيرات<sup>[13, 14]</sup>.

### 2. طريقة تحليل المكونات الرئيسية (PCA) Principe Component Analysais :

تستخدم هذه التقنية لتلخيص البيانات واختصارها لتسهيل عملية استيعابها، حيث يتم تحويلها إلى مجموعة صغيرة جدا من خلال تحويل المتغيرات المترابطة إلى مجموعة صغيرة من المتغيرات المستقلة والتي تستحوذ على نسبة كبيرة من المعلومات الخاصة بالبيانات الأصلية<sup>[15, 16]</sup>.

### 3. طريقة التحليل العنقودي Cluster Analysis:

تعد هذه الطريقة أحد تقنيات التحليل الإحصائي متعدد المتغيرات. حيث تصنف هذه المتغيرات حسب خصائص معينة في مجموعات مختلفة، ويتم ترتيبها داخل عناقيد محددة، حيث توضع المتغيرات ذات الخصائص المشتركة داخل عنقود واحد، حيث يتميز كل عنقود بميزات مخالفة لبقية العناقيد الأخرى<sup>[17]</sup>. فيتم تصغير مستوى التباين داخل العنقود الواحد بينما يكون كبيراً ما بين العناقيد المتعددة<sup>[18]</sup>،<sup>[19]</sup> ويكون نوع التحليل العنقودي هرمي أو غير هرمي.

#### • التحليل العنقودي الهرمي (AHC) Hierarchical cluster analysis :

وهي الطريقة الأكثر استخداماً، لبساطتها وخلوها من التعقيد، إذ يمكن استخدامها مع العينات الصغيرة، كما أنها لا تستدعي إلى معرفة عدد العناقيد التي يتم تصنيف المتغيرات من خلالها. وتقسم هذه الطريقة إلى نوعين من طرق التصنيف وهي:

- **طريقة التجميع Agglomerative**: يتم التحليل بعنقود واحد لكل حالة ثم تجمع العناقيد المتقاربة ليتم الحصول على عدد من العناقيد التي تضم مجموعة من العناصر. ليتم فيها تجميع المجموعات الجزئية من العناقيد مع بعضها البعض للحصول على مجموعات أكثر شمولية.
- **طريقة التجزئة (التقسيم) Divisive** : تبدأ هذه الطريقة بعنقود واحد يضم مجموعة العناقيد الجزئية، ويتم تجزئته إلى عناقيد صغيرة تتفرع إلى عناقيد أصغر<sup>[20]</sup>.

• **التحليل العنقودي غير الهرمي Nonhierarchical Clustering Method**: و تشمل عدة طرق أهمها:

#### ▪ طريقة المتوسطات (K - means):

تقسم البيانات في هذه الطريقة إلى مجموعات متشابهة، وذلك بالبحث عن المتوسط  $K$ ، وقياس نسبة التقارب بين المتغيرات، فإذا كانت مجموعة المتغيرات قريبة من متوسطها (قيمة التباين صغيرة) فإن البيانات تقسم إلى مجموعة من العناقيد كل عنقود له متوسط معين يعتمد عليه في عملية التباين<sup>[21]</sup>.

### 4. طريقة الإمكانية الأعظم Maximum Likelihood Method (ML):

تمتاز هذه الطريقة بخصائص كثيرة وجيدة. وهي قيم المتغيرات التي تجعل دالة الإمكان في نهايتها العظمى، وهي طريقة مهمة لتقدير قيم المتغيرات لنموذج الانحدار عندما يمتلك متغير الخطأ العشوائي توزيعاً احتمالياً معروفاً، أما إذا كانت موزعة توزيعاً طبيعياً فتقدير كمية المتغيرات تكون مشابهة لطريقة المربعات الصغرى الاعتيادية<sup>[22]</sup>.

## 3.1.III. معاملات التحليل الإحصائي:

معاملات التحليل الإحصائي هي مجموعة من العوامل والمؤشرات التي تستخدم لاختبار جودة النموذج الإحصائي و تقييم العلاقة بين العناصر المدروسة. فهي عبارة عن مؤشرات حقيقية للحكم عن دقة التحليل الإحصائي وطبيعة الارتباط بين عناصر النموذج. ومن أهم هذه المعاملات نذكر:

## 1. معامل الارتباط (Coefficient of correlation (R):

وهو عامل محدد لقوة العلاقة بين المتغير التابع و المتغيرات المستقلة المستخدمة، يأخذ قيم محصورة بين (0) و(1). حيث يعبر عن جودة النموذج كلما اقتربت قيمته من الواحد، وبالعكس كلما اقتربت قيمته من الصفر يكون النموذج سيء. كما تفوق قيمة معامل الارتباط المتعدد قيمة معامل الارتباطات الفردية.

2. معامل التحديد ( $R^2$ ) (Coefficient of Determination):

وهو عامل إحصائي يفسر التباين الواقع بين المتغيرات التابعة والمتغيرات المستقلة داخل النموذج الإحصائي المدروس. تنحصر قيم  $R^2$  R Square بين (0 و 1) <sup>[23]</sup>، فكلما كانت قيمته قريبة من الواحد كانت نقاط العينات قريبة من خط المربعات الصغرى للنموذج. أما إذا ابتعدت قيم  $R^2$  عن الواحد تكون نقاط السحابة أكثر تشتت وهو ما يدل عن سوء النموذج. ويمكن تقسيم قيم  $R^2$  إلى قيم كبيرة (0.75)، متوسطة (0.5) وصغيرة (0.25) <sup>[24]</sup>.

يتغير معامل التحديد المتعدد  $R^2$  بمجرد تغير أو زيادة عدد المتغيرات المستقلة في النموذج دون الأخذ بالاعتبار ما إذا كانت المتغيرات المستقلة (X) المضافة مؤثرة أو غير مؤثرة على المتغيرات التابعة (Y) <sup>[25]</sup>.

3. معامل التحديد المعدل ( $R_{adj}^2$ ):

يستخدم معامل التحديد المعدل ( $R_{adj}^2$ ) R Square Adjusted لتحديد العلاقة بين المتغيرات، كونه يعتمد على قيمة متوسط المربعات بدلا من مجاميعها، إذ انه يتغير بتغير عدد المتغيرات المستقلة المدروسة وتأثيرها على النموذج الرياضي. بخلاف قيمة معامل التحديد R Square، التي تزداد بمجرد إضافة متغير آخر. فلا يمكن استخدامه لدراسة تأثير المتغير الإضافي في عملية الانحدار الخطي المتعدد. حيث تتراوح قيمته بين الصفر و الواحد. وهو عامل يفيد في عملية المقارنة بين مجموعة نماذج إحصائية و اختيار النموذج الأحسن. كما تقول قيمة  $R_{adj}^2$  إلى قيمة  $R^2$  في العينات الكبيرة.

**4. معامل (Q<sup>2</sup>) Stone-Geissercx:**

إذا كانت هذه القيمة أكبر من الصفر فإن النموذج له قدرة تنبؤية عالية، أما إذا كانت أقل من الصفر فإن النموذج له قدرة تنبؤية ضعيفة [26، 27].

**5. Significance F Test :**

وهو من المعاملات الأكثر دقة، و عندما تكون قيمة Significance F test أكبر من (0.05) يكون النموذج غير مقبول. أما إذا انخفضت أو تساوت مع تلك القيمة (5%) يكون النموذج مقبولا. أي تكون هناك علاقة يستند إليها النموذج.

**6. اختبار F-Test:**

وهو عامل اختبار يعتمد في تحليل التباين المفسر عند إضافة عدد من المتغيرات في معادلة الانحدار. حيث يأخذ قيم مختلفة تزداد كلما كان النموذج أحسن وتقل كلما ساء النموذج. ويمثل نسبة MS Regression / MS Residual.

حيث تأخذ قيمة التباين F أي قيمة فإذا كانت تساوي الصفر فهذا يعني إن النموذج المقترح غير ملائم أي لا يمكن تفسير التفاوت أو التشتت باستخدام هذا النموذج، أما إذا أخذت بقية القيم فتكون النموذج ملائم أي أن الارتباط تام بين المتغيرات المدروسة.

**7. P- value:**

يفيد P value في معرفة تأثير كل متغير بطريقة الانحدار المتعدد يأخذ قيم مختلفة حيث يشترط أن تكون P value اقل من 0.05 من اجل الموافقة على النموذج المدروس وتطبيقه في عملية التنقيب عن البيانات [28، 29].

**8. معامل الاختبار T:**

يستخدم لاختبار الدلالة الإحصائية [30]، وهو معامل T يدرس الفرق بين التغير الفعلي في قيمة المتغير التابع و التغير في القيمة المتوقعة للمتغير التابع. حيث يأخذ قيم تتراوح بين الصفر و الواحد، فكلما اقتربت قيمته من الصفر كانت القدرة التنبؤية للنموذج أحسن. وكلما زادت قيمة T عن الواحد كلما كانت القدرة التنبؤية للنموذج أضعف. أما إذا كانت (T=1) فهذا يعني أن من المتوقع أن المتغير التابع سيبقى ثابت [31].

**9. التفاوت الكلي ( TOSS ) Total Variation:**

وهو متغير يعبر عن مجموع التغيرات أو التذبذبات الواقعة في المتغير التابع (Y). و التي شمل كل من:

• **التفاوت المفسر ( RSS ) Explained Variation :** يفسر بالمتغير المستقل والنموذج المتحصل عليه من خلال ربط العلاقة بين المتغير التابع (Y) و المستقل (X). ويرمز له بالرمز ( RSS ) حيث R هي نوع النموذج المفسر (Regression).

• **التفاوت غير المفسر ( ESS ) Unexplained Variation :** يعود هذا النوع من التفاوت إلى عوامل لا يمكن تحديد قيمها أو قياسها، ويرمز لها بالرمز ( ESS ) حيث E تدل على الخطأ Error أو الباقي Résiduel الناتج عن هذا التفاوت [4].

**10.التباين (ANOVA) Analysis of Variance**

وهو مقياس إحصائي يستخدم لتقييم العينات المدروسة من خلال قياس درجة الاختلاف بين العوامل المدروسة و العوامل المتوقعة فهو مقياس التشتت. ويكون التشتت اقل كلما كانت قيمة التباين اصغر. وهو عبارة عن تحليل التفاوت الكلي (TOSS) وعناصره (ESS، RSS) في جدول معطيات (ANOVA) [4، 32].

**11. متوسط المربعات ( MS ) Mean squares:**

وهي قيمة المربعات المتوسطة المقابلة أو الفروق، يتم حسابه بقسمة كل من مجموعة التصحيح SS على درجات الحرية DF، وتمثل قيمة مربع الانحراف المعياري SD [29].

**12. معامل تضخم التباين (VIF) Variance Inflation Factor:**

يستخدم هذا العامل للكشف عن الارتباط الخطي (multicollinearity) ، أي عدم وجود ارتباط تام أو شبه التام بين المتغيرات ، واختبار معامل التباين المسموح (VIF) فإذا تجاوزت قيمته 10 يدل عن الارتباط الخطي بين المتغيرات المستقلة [33].

**III.4.1. آلية تشغيل المعلومات:**

لإتمام عملية إدخال المعلومات يجب فهم مجموعة من المصطلحات وهي:

❖ **المدخلات (Inputs):** وهي تمثل مجموعة البيانات التي قد تكون في صورة بيانات كمية أو وصفية. نصوص ، صور، أشكال أو ظواهر مختلفة.

❖ **المخرجات (Outputs):** وتمثل الجزء الناتج من الدراسة التحليلية أو حل المشكلة المطروحة.

❖ الأوزان (Weights): يتم دراسة الوزن الترجيحي للعنصر المدروس للعنصر للتعبير عن أهميته النسبية، حيث يتم تحويل البيانات من طبقة (Layer) إلى طبقة داخل الشبكة تؤثر على قيم المخرجات. ويتم تعديل الأوزان من خلال دالة التجميع (Weighted Sum) لإيجاد المجموع المرجح لكل عناصر المدخلات التي تم إدخالها، وبذلك يتم الوصول الوصول أفضل مجموع مرجح [34، 3].

### 5.1.III. التحقق المتقاطع (Cross-validation)

التحقق المتقاطع هي تقنية لتقدير مدى أداء نموذج معين لمجموعة من البيانات بالنسبة للبيانات المتوقعة، وهي نوعان:

#### 1. طريقة التدريب المراقب Training Ssupervised:

حيث يتم تقسيم البيانات إلى قسمين بيانات داخلية و بيانات خارجية:

❖ بيانات داخلية (مجموعة التدريب): وهي التي يتم عليها التطبيق بهدف توقع النتائج المستقبلية.

❖ بيانات خارجية (مجموعة الاختبار (التحقق)): وهي التي يتم حساب نسبة الخطأ الناتج عليها.

تستخدم هذه التقنية لعمل ارتداد لمجموعه من البيانات في الإحصاء، وأيضًا في عملية اختيار النموذج الأحسن لحل المشاكل المدروسة، كما تستخدم في التصنيف، وفي اختيار السمات. وذلك بمقارنة النتائج الداخلية بالبيانات الخارجية.

#### 2. طريقة التدريب غير المراقب Training Unsupervised:

وهي طريقة مشابهة للطريقة السابقة إلا أنها تختلف عنها في عدم وجود قيم التحقق (المتغيرات الخارجية)، وبدلاً من ذلك يتم تقسيم البيانات الداخلة إلى مجموعات تقوم الشبكة باكتشاف المميزات المخفية (غير ظاهرة) فيها، ثم تتم مقارنة المجموعات الناتجة عن تقسيم البيانات الداخلية فيما بينها [34:1:3].

### 6.1.III. تقييم مجموعة من المتغيرات:

لتقييم مجموعة من المتغيرات يتم تطبيق احد الطرق التالية:

#### • الطريقة التدريجية Hierarchical:

يتم حساب قيمة ( $R_{adj}^2$ ) لمتغير واحد، ثم عند إضافة المتغير الثاني، فإذا زادت قيمة ( $R_{adj}^2$ ) عن قيمته الأولى نبقى على المتغير الثاني كونه مرتبط بالمتغير التابع. أما إذا نقصت فهذا يدل على أن المتغير الثاني لا يؤثر على العامل التابع. وتتم دراسة بقية المتغيرات بنفس الطريقة.

ويتم تتبع قيمة F Test فكلما زادت قيمتها يكون النموذج أحسن. وكلما كانت F Test Significance اقل من 0.05 يكون النموذج مقبولاً.

• طريقة استبعاد المتغيرات **Simultaneous or Enter**:

وهي طريقة معاكسة للطريقة الأولى حيث يتم تحديد قيمة بأخذ جميع المتغيرات، ثم يتم حساب R Square Adjusted عند استبعاد أحد المتغيرات، وتتواصل عملية استبعاد المتغيرات حيث يتم مقارنة نتائج R Square Adjusted بنفس الطريقة السابقة. حيث تستبعد المتغيرات المستقلة بحسب درجة ارتباطها بالمتغير التابع. و تأخذ المتغيرات ذات القيمة الأدنى لقيمة الاحتمال: P value (خاصة التي لم تتجاوز 0.05).

**7.1.III. شروط صلاحية نموذج الانحدار:**

من أجل الوصول إلى علاقة وثيقة بين المتغير التابع والمتغيرات المستقلة من خلال نموذج الانحدار، يجب أن يتوفر فيه الشروط التالية:

**أولاً: الشروط النظرية:**

1. منطقية قيم معاملات الانحدار مع الأساس النظري الذي يحكم الظاهرة المدروسة: أي تكون شروط قيم معالم الانحدار متوفرة في النموذج (كأن تكون قيمة معامل الانحدار موجبة وقيمه أقل من الواحد).
2. كفاية القدرة التفسيرية للنموذج **Best unbiased efficient** : وتعني قدرة المتغيرات المستقلة على تفسير التغيرات التي تحدث في المتغير التابع.

**ثانياً: الشروط الرياضية:**

1. المعنوية الكلية لنموذج الانحدار: يتم استخدام المعامل (F test)، لاختبار مدى توافق شكل الدالة (النموذج الخطي) في تفسير العلاقة بين المتغير التابع والمتغيرات المستقلة.
2. المعنوية الجزئية للنموذج: ويقصد بها دراسة معاملات الانحدار لكل متغير مستقل عن طريق اختبار T test.
3. مدى توافر شروط الطريقة المستخدمة في تقدير معالم نموذج الانحدار: تختلف هذه الشروط حسب الطريقة المعتمدة في دراسة نموذج الانحدار. فعند استخدام طريقة المربعات الصغرى العادية يجب أن تتوفر فيها الشروط التالية:

❖ **اعتدالية التوزيع الاحتمالي للبواقي Normality Test:**

وهو شرط أساسي لإمكانية اختبار كل من المعنوية الكلية أو الجزئية لنموذج الانحدار. ويرتبط هذا الشرط بحجم العينات، ويكون ضرورياً في حالة العينات الصغيرة، أما في حالة العينات الكبيرة فتتولى التوزيعات الاحتمالية إلى الحالة الطبيعية لذا يمكن التخلي عنه [35].

## ❖ الاستقلال الذاتي للبواقي:

أن وجود الارتباط الذاتي للبواقي في تحليل الانحدار، يقلل من القيمة الحقيقية للتباين المقدر للخطأ، وهذا يؤثر على قيم معاملات  $(F, R^2, T)$  فتكون أكبر من قيمتها الحقيقية، فتكون صحة جودة النموذج المدروس غير مؤكدة.

## ❖ اختبار تجانس البواقي (اختبار ثبات التباين) Homoscedasticity :

إن عملية ثبات التباين شرط أساسي لسلامة النموذج الإحصائي، وأما في الحالة العكسية فيترتب عنه آثار مشابهة لوجود ارتباط ذاتي بين البواقي. وتكون المعاملات المعيارية اقل من قيمتها الحقيقية. فتكون عملية التحليل الإحصائي غير مجدية<sup>[36]</sup>. وفي طريقة الانحدار الخطي المتعدد تطبق نفس الشروط السابقة ويضاف إليها شرط رابع لطريقة المربعات الصغرى العادية وهو:

## ❖ عدم وجود ارتباط خطي بين المتغيرات المستقلة:

وجود علاقة الارتباط بين متغيرين أو أكثر يؤدي إلى عدم استقرار معاملات الانحدار.

## 8.1.III كيف يمكن تحليل الارتباط بين المتغيرات Multicollinearity:

يتم قياس معامل الارتباط (الجزر التربيعي لمعامل التحديد  $R^2$ ) بين عدة متغيرات قبل عملية تحليل الانحدار الخطي المتعدد، لتفادي مشاكل التداخل بين المتغيرات المرتبة التي تتسبب تشويه نموذج التحليل. ويستبعد احد المتغيرات في حالة الارتباط القوي بينهما والذي يفسر بارتفاع قيمة معامل الارتباط المتعدد (R) Coefficient de correlation multiple بقيمة يتجاوز 0.9<sup>[37]</sup>.

## 9.1.III دقة التقدير:

1. الخطأ المعياري للمقدر  $(\hat{\sigma}_\epsilon)$  standard error of the estimate:

يستخدم هذا المؤشر في المقارنة بين نموذجين أو أكثر. فكلما كانت قيمة الخطأ المعياري اقل كلما كان التقدير أفضل أي مجال التقدير اصغر.

2. الخطأ المعياري لمعاملات الانحدار الجزئي  $(\Omega_\alpha)$ :

يستعمل من اجل اختبار دقة تقدير المعاملات. ويتم تحديدها في البرمجيات حيث تعبر عن كل معامل مرفق بخطاه المعياري<sup>[38]</sup>.

## 10.1.III التنبؤ Forecasting:

التنبؤ هو الخطوة الأخيرة من خطوات الدراسة وتحليل النماذج، وهو الهدف الأساسي لمعرفة القيم المتوقعة لموضوع الدراسة بعد اختيار النموذج الملائم للبيانات المدروسة.

### 11.1.III. اختبار قدرة النموذج على التنبؤ:

يعود اختبار قدرة النموذج إلى تغير قيمة معامل التحديد ( $R^2$ )، إضافة إلى بعض العوامل الإحصائية التي تكون لها قيمة معنوية كبيرة. إلا أن في بعض الحالات تكون قدرة النموذج على التنبؤ ضعيفة رغم أن قيمة  $R^2$  تكون كبيرة. وعلى العكس من ذلك تكون قدرة النموذج على التنبؤ كبيرة رغم انخفاض قيمة معامل التحديد والعوامل الأخرى. وهذا ما يفسر إمكانية حدوث تغيرات مفاجئة لم تكن في الحسبان. ولقياس قدرة النموذج على التنبؤ يمكن استخدام مجموعة من العوامل التالية:

#### ❖ اختبار معنوية الفرق Test of Difference Significance:

يقصد بها اختبار الفرق بين القيم التجريبية (المدرسة) و القيم المتوقعة، فإذا كان الفرق بينهما معدوم أو صغير جداً فإن النموذج ذو قدرة تفسيرية عالية. أما إذا كان الفرق عالي فيكون القدرة التنبؤية للنموذج ضعيفة.

#### ❖ معامل عدم التساوي لثيل Theil's Inequality Coefficient (T.C):

يعتمد على دراسة الفرق بين التغير الفعلي في قيمة المتغير التابع و التغير في القيمة المتوقعة للمتغير التابع. حيث يأخذ قيم تتراوح بين الصفر و الواحد. ويكون النموذج ذو قدرة تنبؤية أكبر كلما اقتربت من الصفر<sup>[31]</sup>.

الفصل الثالث:

المواد والطرق

**2.III. المواد و الطرق:****1.2.III. الأجهزة و الأدوات المستعملة:**

- جهاز كمبيوتر من نوع (acer)، ذو الخصائص التالية: المعالج (Aspetre ES 15) ، سعة القرص الصلب 500GB HDD ، الذاكرة (2GB DDR3L Memory).
- برنامج Excel: تم استخدام برنامج Excel في جمع و تنظيم العينات المدروسة من خلال تصنيفها إلى متغيرات تابعة و متغيرات مستقلة.
- برنامج SIMCA: تم استخدامه لنمذجة البيانات وتفسير النتائج المتوقعة من خلال التنبؤ بالنموذج الإحصائي بعدة أساليب إحصائية وطرق معالجة مختلفة.
- برنامج Molegro data Modeller: تم استخدام برنامج Molegro لنمذجة البيانات بطرق مختلفة.

**2.2.III. التعريف بالنموذج المقترح لقياس القدرة المضادة للأكسدة و كمية الفينولات و****الفلافونويدات:**

في هذا الفصل تم تقدير معاملات تحليل الانحدار الخطي بالاعتماد على:

- طريقة المربعات الصغرى الجزئية (PLS) Partial Least Squares
- طريقة المربعات الصغرى الجزئية المتعامدة ثنائية الاتجاه Orthogonal 2 PLS modeling (O2PLS)
- طريقة تحليل المكونات الرئيسية (PCA) Principle Component Analysais :
- التحليل العنقودي الهرمي (AHC) Hierarchical cluster analysis :

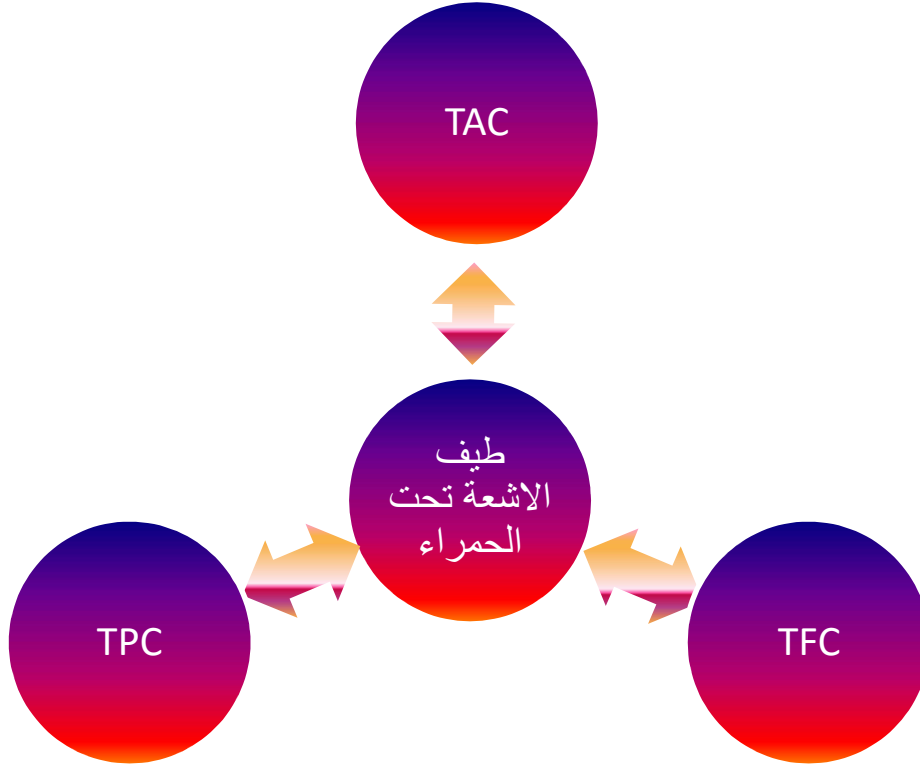
**3.2.III. مكونات عينة الدراسة:**

تم جمع 72 عينة شملت ألوان مختلفة لحبوب اللقاح، توزعت إلى 13 منطقة، وبعد ذلك تم تحليلها بواسطة جهاز المطيافية تحت الحمراء IR-ATR بالطريقة المتبعة في الفصل الثاني. اشتملت الدراسة على جمع مختلف كمية البيانات والمتمثلة في القيم الكمية للفينولات و الفلافونويدات و الفعالية المضادة للأكسدة المكونة لـ: "72" عينة. والتي تم الحصول عليها في الفصل الثاني.

وقد تم استبعاد 11 عينة ( التابعة لمنطقة "CH 13" EL-Oued )، لعدم ملائمة أطيافها للتنسيق العام للأطياف المدروسة.

## 4.2.III. كيفية تصميم النموذج:

صمم النموذج بافتراض وجود علاقة بين أطراف المطيافية تحت الحمراء IR والخصائص الكمية للمواد الفعالة (TAC, TFC, TPC) هذه العلاقة تكون مبنية على بنية مكونات العينات والشكل (1.III) يبين الشكل العام للنموذج المقترح.



الشكل (1.III): الشكل العام للنموذج المقترح.

## 5.2.III. صياغة النموذج:

يمكن صياغة النموذج كما هو موضح في الشكل (2.III).



الشكل (2.III): تصميم للنموذج العام.

## 6.2.III. متغيرات النموذج المقترح:

## 1. المتغيرات التابعة:

وهي المتغيرات المتمثلة في كمية الفينولات (TPC)، الفلافانويدات (TFC) والفعالية المضادة للأكسدة (TAC). التي تم تقديرها في الفصل السابق. الجدول (1.III) يوضح متوسط قيم المواد الفعالة.

الجدول (1.III): متوسط قيم المتغيرات المستقلة.

	TAC	TPC	TFC
Mean (mg/100g)	1708.032902	591.920577	316.5939492

## 2. المتغيرات المستقلة:

تم اتخاذ المعطيات الناتجة من المنحنيات الطيفية التي تم الحصول عليها في نتائج الفصل الثاني و التي تمثلت في إحدائيات طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) للعينات المدروسة. حيث تم اتخاذ 7261 متغير مستقل لكل عينة. وبذلك يصل مجموع المتغيرات المستقلة لمجموع العينات المدروسة إلى 61\*7261 متغير ( 442921 متغير مستقل).

الفصل الثالث:

النسب والتمناؤنة

## 3.III. النتائج والمناقشة:

إن عملية اختيار النموذج المقترح للدراسة يتعلق باختبار مجموعة من المتغيرات الدالة على جودة النموذج وقدرته على التنبؤ، حيث يتم اختبار معاملات التحليل الإحصائي المرتبطة بالقدرة التنبؤية للنموذج المقترح قبل الشروع في عملية التنبؤ، و لدراسة العلاقة بين المتغيرات المدروسة يتم مقارنة قيم معاملات الارتباط، معامل التحديد ( $R^2$ ) و ( $Q^2$ )، اختبار كل من معامل: F,P.....

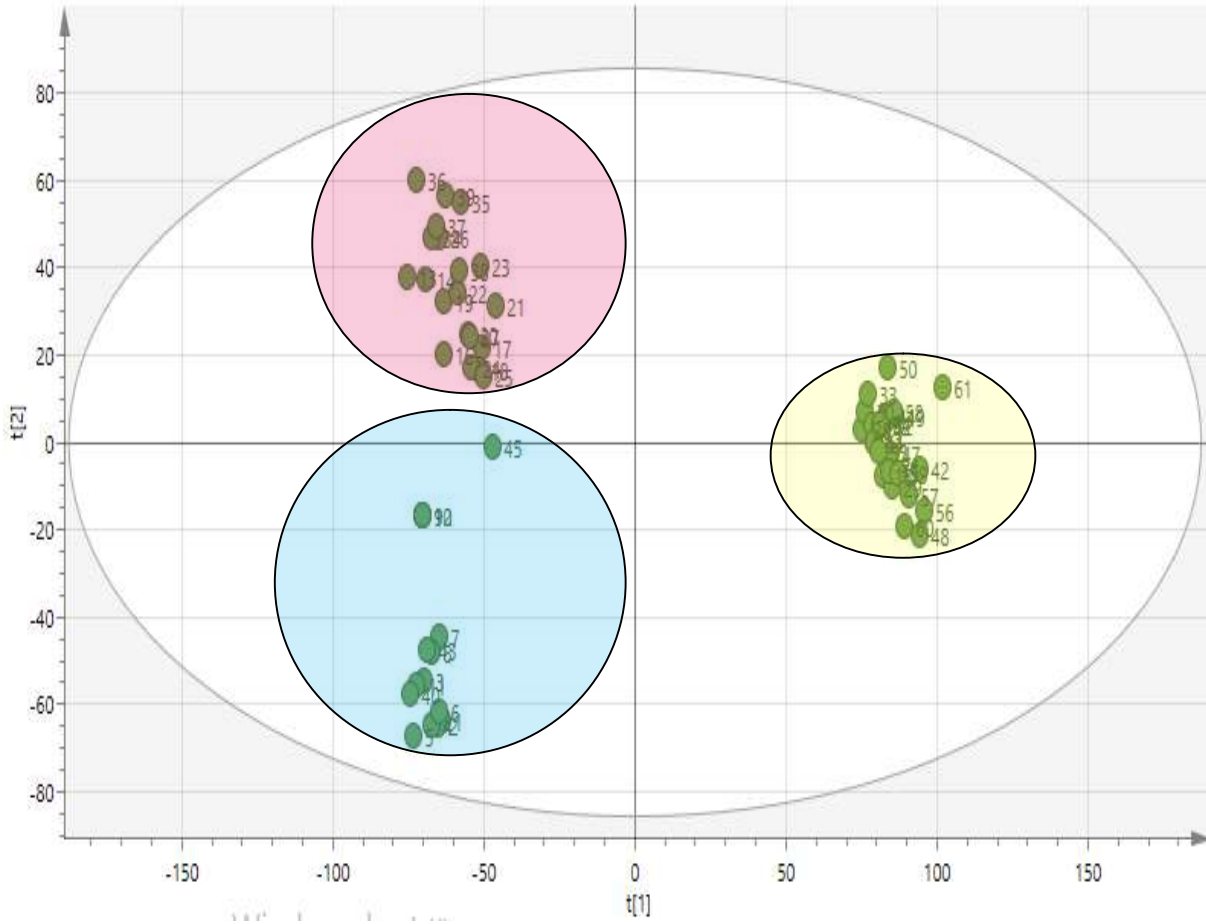
## 1.3.III. استخدام برنامج SIMCA:

## 1.1.3.III. دراسة العينات بطريقة المكونات الأساسية (PCA):

تمت دراسة العينات بطريقة المكونات الأساسية (PCA) بالاعتماد على المتغيرات المستقلة حيث انقسمت العينات المدروسة إلى ثلاث مجموعات. كانت داخل حدود التشتت ( غياب العينات المستبعدة)، والموضحة في الشكل (3.III)، وبما أن المتغيرات المستقلة عبارة عن الإحداثيات المستخرجة من طيف الأشعة تحت الحمراء، فإن المجموعات الثلاثة تعبر عن التشابه بين الروابط (المجموعات الوظيفية) المعبرة عن المركبات المكونة لعينات حبوب اللقاح. وقد تم تسجيل قيم المتغيرات الموافقة ل: 16 مركبة في الجدول (2.III).

الجدول (2.III): قيم متغيرات PCA.

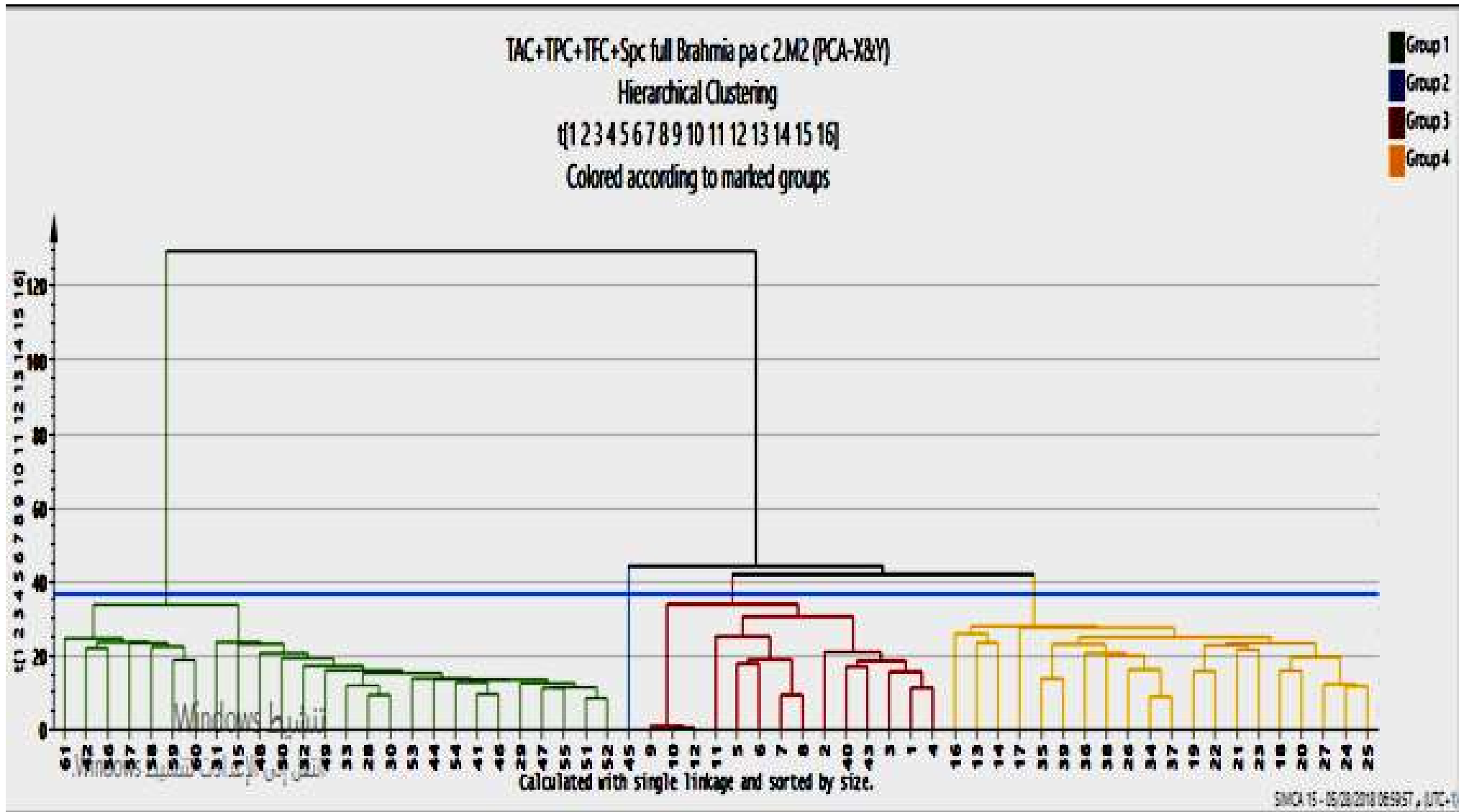
component	$R^2$	$Q^2$
1	0.754	0.749
2	0.157	0.907
3	0.045	0.953
4	0.0134	0.966
5	0.00982	0.976
6	0.00502	0.979
7	0.00462	0.985
8	0.00294	0.988
9	0.00155	0.99
10	0.000902	0.991
11	0.000709	0.991
12	0.000617	0.992
13	0.000494	0.993
14	0.000399	0.993
15	0.000312	0.993
16	0.000276	0.993



الشكل (3.III): مخطط التشتت للعينات المدروسة بطريقة PCA.

### 2.1.3.III دراسة العينات بطريقة التحليل العنقودي الهرمي (HAC):

تم تحليل العينات بطريقة التحليل العنقودي لمعرفة مدى التشابه و التقارب بين مكونات العينات المدروسة وقد بين نموذج (HAC) الموضح في الشكل (4.III) أن تقسيم العينات كانت بنفس طريقة المكونات الأساسية حيث قسمت إلى ثلاث فئات لعينات حبوب اللقاح المدروسة، مع وجود عينة شاذة (عينة 45).



الشكل (4.III): مخطط التحليل العنقودي للعينات المدروسة.

## 3.1.3.III. مقارنة النماذج الإحصائية واختيار طريقة المعالجة:

تم استخدام برنامج SIMCA لدراسة العلاقة بين المتغيرات التابعة والمستقلة، وقد تم اقتراح عدة نماذج مختلفة في المجال الطيفي وطرق المعالجة المبدئية (Preproce)، وتم تسجيل قيمة  $R^2$  و  $Q^2$  في الجدول (3.III).

الجدول (3.III): قيم  $R^2$  و  $Q^2$  لطريقة PLS.

Methods	Model	Fingerprint region (700-1500nm)		region (2700-3700nm)		Spectra (500 -4000nm)	
		$R^2$	$Q^2$	$R^2$	$Q^2$	$R^2$	$Q^2$
AVENT	PLS	0.986	0.176	0.779	0.141	0.754	0.143
Dr	PLS	0.56	0.181	0.742	0.143	0.548	0.148
MSC	PLS	0.379	0.0902	0.557	0.173	0.914	0.23
SNV	PLS	0.431	0.104	0.642	-9.6E-05	0.473	0.084
RC	PLS	0.719	0.152	0.807	0.14	0.756	0.143
SG	PLS	0.986	0.176	0.781	0.141	0.754	0.143
EWMA	PLS	0.986	0.176	0.78	0.141	0.754	0.143
OSC	PLS	0.95	0.208	0.765	0.166	0.688	0.286
Dr+ MSC	PLS	0.334	0.0598	0.97	0.0488	0.259	-0.026
Dr+ SNV	PLS	0.295	0.125	0.412	0.109	0.439	0.135
Dr+ RC	PLS	0.555	0.178	0.714	0.142	0.549	0.186
Dr+ SG	PLS	0.563	0.182	0.715	0.143	0.551	0.148
Dr+ EWMA	PLS	0.56	0.181	0.713	0.143	0.649	0.145
Dr+ OSC	PLS	0.475	0.311	0.74	0.402	0.632	0.406
MSC+SNV	PLS	0.431	0.104	0.349	0.127	0.45	0.126
MSC+RC	PLS	0.379	0.0902	0.557	0.0838	0.914	0.23
MSC+ SG	PLS	0.382	0.0902	0.558	0.0842	0.914	0.23
MSC+EWMA	PLS	0.38	0.0902	0.557	0.0838	0.914	0.23
MSC+OSC	PLS	0.456	0.141	0.517	0.196	0.725	0.34
SNV+RC	PLS	0.431	0.104	0.642	-9.6E-05	0.473	0.084
SNV+SG	PLS	0.436	0.103	0.641	-0.00063	0.474	0.0839
SNV+EWMA	PLS	0.432	0.104	0.642	-7.3E-05	0.473	0.0841
SNV+OSC	PLS	0.331	0.222	0.391	0.294	0.661	0.369
RC+SG	PLS	0.72	0.152	0.806	0.14	0.756	0.143
RC+EWMA	PLS	0.719	0.152	0.806	0.14	0.756	0.143
RC+OSC	PLS	0.658	0.236	0.79	0.177	0.681	0.295
SG+EWMA	PLS	0.986	0.176	0.782	0.141	0.754	0.143
SG+OSC	PLS	0.952	0.206	0.768	0.166	0.69	0.284
EWMA+OSC	PLS	0.95	0.209	0.766	0.166	0.688	0.295

الجدول (4.III): قيم ( $R^2$ ) و ( $Q^2$ ) لطريقة O2PLS.

Methods	Model	Fingerprint region (700-1500nm)		region (2700-3700nm)		Spectra (500 -4000nm)	
		$R^2$	$Q^2$	$R^2$	$Q^2$	$R^2$	$Q^2$
AVENT	O2PLS	0.994	0.178	0.998	0.163	0.997	0.174
Dr+ OSC	O2PLS	0.888	0.332	0.989	0.468	0.914	0.433
MSC+OSC	O2PLS	0.994	0.227	0.997	0.221	0.997	0.338
Dr +MSC+OSC	O2PLS	0.994	0.206	0.999	0.0873	0.902	0.138
Dr+ RC	O2PLS	0.98	0.182	0.991	0.185	0.928	0.192
Dr+ SG	O2PLS	0.98	0.182	0.992	0.185	0.935	0.196
Dr+ EWMA	O2PLS	0.919	0.185	0.992	0.185	0.933	0.195
MSC +Dr	O2PLS	0.964	0.104	0.975	0.0593	0.948	0.24
OSC +Dr	O2PLS	0.893	0.285	0.992	0.221	0.902	0.347
Dr +MSC	O2PLS	0.996	0.111	0.999	-0.339	0.909	-0.059
OSC+MSC	O2PLS	0.996	-0.00616	0.998	0.00071	1	-0.015
OSC	O2PLS	0.995	0.239	0.998	0.193	0.996	0.336

من خلال مقارنة نتائج الجدول (4.III) تبين أن قيم ( $R^2$ ) بنموذج PLS كانت بين (-0.259-0.986) وهي قيم مقبولة إلا أن هذه القيم تدل على تدرج قوة العلاقة بين المتغيرات بزيادة قيمة معامل التحديد ( $R^2$ ). أما قيم ( $R^2$ ) بنموذج O2PLS في مختلف طرق المعالجة كانت بين (0.888-1) وهي قيم قريبة من الواحد وهذا ما يفسر وجود علاقة قوية بين المتغيرات المدروسة بمختلف طرق المعالجة المدروسة. وبما أن مؤشر ( $R^2$ ) غير كافي لتفسير قوة النموذج في قدرته على التنبؤ. يتم اختيار قيم ( $Q^2$ ) حيث كانت هناك قيم سالبة تدل على انعدام العلاقة بين المتغيرات المدروسة وهي طرق مستبعدة، أما القيم الموجبة فهي قيم مقبولة حيث تتفاوت قدرة النموذج على التنبؤ كلما كانت قيم ( $Q^2$ ) أقرب من الواحد، وهو ما تبين في طرق المعالجة المدمجة بين:

- (Dr + OSC) لمختلف المناطق الطيفية و بكلا النموذجين.

- (SNV+OSC) بنموذج PLS الخاصة ب دراسة متغيرات منطقة Spectra (500 -4000nm).

- (MSC+OSC) و (OSC+ Dr) بنموذج O2PLS بمنطقة Spectra (500 -4000nm).

#### 4.1.3.III مقارنة بين نماذج التحليل بطريقة المعالجة (Dr + OSC):

من خلال مقارنة النتائج السابقة تم اختيار طريقة المعالجة (Dr + OSC) حيث تم التنبؤ بالنموذج الدراسي عن طريق تحديد قيم (CV - ANOVA) للنماذج PLS و O2PLS لمختلف المناطق الطيفية وكانت النتائج كالتالي:

Model (1)	PLS			500-4000nm		CV-ANOVA	DR+OSC
	SS	DF	MS	F	P	SD	
<b>TAC</b>							
Total corr.	60	60	1			1	
Regression	52.047	4	13.0118	91.621	6.754E-24	3.60718	
Residual	7.95298	56	0.14202			0.37685	
<b>TPC</b>							
Total corr.	60	60	1			1	
Regression	11.9601	4	2.99002	3.4855	0.0130299	1.72917	
Residual	48.0399	56	0.85786			0.92621	
<b>TFC</b>							
Total corr.	60	60	1			1	
Regression	8.94259	4	2.23565	2.4521	0.0563859	1.49521	
Residual	51.0574	56	0.91174			0.95485	

Model (2)	O2PLS			500-4000nm		CV-ANOVA	DR+OSC
	SS	DF	MS	F	P	SD	
<b>TAC</b>							
Total corr.	60	60	1			1	
Regression	51.7834	22	2.35379	10.8858	1.96E-10	1.53421	
Residual	8.21657	38	0.216226			0.465001	
<b>TPC</b>							
Total corr.	60	60	1			1	
Regression	10.2755	22	0.467069	0.35694	0.993797	0.683425	
Residual	49.7245	38	1.30854			1.14391	
<b>TFC</b>							
Total corr.	60	60	1			1	
Regression	15.9533	22	0.725149	0.625601	0.877757	0.851557	
Residual	44.0467	38	1.15912			1.07663	

Model (3)	PLS			2700-3700nm		CV-ANOVA	DR+OSC
	SS	DF	MS	F	P	SD	
<b>TAC</b>							
Total corr.	60	60	1			1	
Regression	53.0682	4	13.267	107.18	1.46739E-25	3.6424	
Residual	6.93183	56	0.123783			0.351828	
<b>TPC</b>							
Total corr.	60	60	1			1	
Regression	9.13013	4	2.28253	2.51272	0.051726	1.51081	
Residual	50.8699	56	0.908391			0.953095	
<b>TFC</b>							
Total corr.	60	60	1			1	
Regression	9.90839	4	2.4771	2.76927	0.0359107	1.57388	
Residual	50.0916	56	0.894493			0.945776	

Model (4)	O2 PLS		2700-3700nm	C - ANOVA		DR+OSC
	SS	DF	MS	F	P	SD
<b>TAC</b>						
Total corr.	60	60	1			1
Regression	58.0854	25	2.32341	42.4727	1.9974E-19	1.5228
Residual	1.91463	35	0.054704			0.233888
<b>TPC</b>						
Total corr.	60	60	1			1
Regression	12.9341	25	0.517362	0.38473	0.992464	0.719279
Residual	47.0659	35	1.34474			1.15963
<b>TFC</b>						
Total corr.	60	60	1			1
Regression	13.144	25	0.525758	0.392725	0.991362	0.725092
Residual	46.856	35	1.33874			1.15704

Model (5)	PLS		700+1500nm	C - ANOVA		DR+OSC
	SS	DF	MS	F	P	SD
<b>TAC</b>						
Total corr.	60	60	1			1
Regression	41.4461	4	10.3615	31.2734	1.0873E-13	3.21893
Residual	18.5539	56	0.33132			0.575604
<b>TPC</b>						
Total corr.	60	60	1			1
Regression	4.35277	4	1.08819	1.09509	0.36797	1.04316
Residual	55.6472	56	0.993701			0.996845
<b>TFC</b>						
Total corr.	60	60	1			1
Regression	9.90026	4	2.47507	2.76655	0.0360499	1.57323
Residual	50.0997	56	0.894638			0.945853

Model (6)	O2 PLS		700-1500nm	C - ANOVA		DR+OSC
	SS	DF	MS	F	P	SD
<b>TAC</b>						
Total corr.	60	60	1			1
Regression	42.496	16	2.656	60.67642	2.6983E-07	1.62972
Residual	17.504	44	0.397818			0.630728
<b>TPC</b>						
Total corr.	60	60	1			1
Regression	50.27854	16	0.329909	0.26527	0.997156	0.574377
Residual	54.7215	44	1.24367			1.1152
<b>TFC</b>						
Total corr.	60	60	1			1
Regression	12.018	16	0.751127	0.688792	0.789052	0.866676
Residual	47.982	44	1.0905			1.04427

من خلال مقارنة النتائج المدونة في الجداول الست السابقة تبين أن:

**TAC** ✓

تبين أن ( $P < 0.05$ ) لمختلف النماذج المدروسة حيث كانت القيم بين ( $2.6983E-07$  -  $1.46739E-25$ ) وهي قيم صغيرة جدا، وهذا ما يفسر إمكانية استخدام النموذج في التنبؤ. بالإضافة إلى قيمة F التي أخذت قيم مختلفة عن الصفر ( $107.18 - 10.8858$ ) لذا يمكن القول بأنه هناك ارتباط تام بين المتغيرات أي ملائمة النموذج المدروس.

وبمقارنة النماذج من خلال الاختلاف في قيم المعاملات نلاحظ أن قيمة الاختبار P أخذت اقل قيمة في ( $Model > Model (2) > Model (5) > Model (4) > Model (1) > Model (3)$ ) (6). وهو قيم متوافقة مع قيم F التي كانت كبيرة في نماذج التي أخذت اقل قيمة ل: P. باستثناء Model (6).

**TPC** ✓

نلاحظ أن قيمة ( $P = 0.0130299$ ) في Model (1) وهي قيمة اقل من 5%. وهذا ما يدل على إمكانية استخدام هذا النموذج في التنبؤ بمتغيرات TPC. أما بقية النماذج فلا يمكن استخدامها لان قيم P كانت اكبر من القيمة الحدية ( $P > 0.05$ )، بالإضافة إلى قيمة F التي أخذت قيم مختلفة عن الصفر في مختلف النماذج إلا أنها كانت قيم صغيرة ( $3.48 - 0.2$ ) وهذا ما يقلل من القدرة التنبؤية للنموذج.

وبما أن قيمة P في Model (1) لمتغيرات TPC كانت (قريبة من 0.05) مقارنة بقيم ال: P لنماذج TAC، فإن القدرة التفسيرية ل: Model (1) لمتغيرات TPC تكون اقل منها في نماذج TAC.

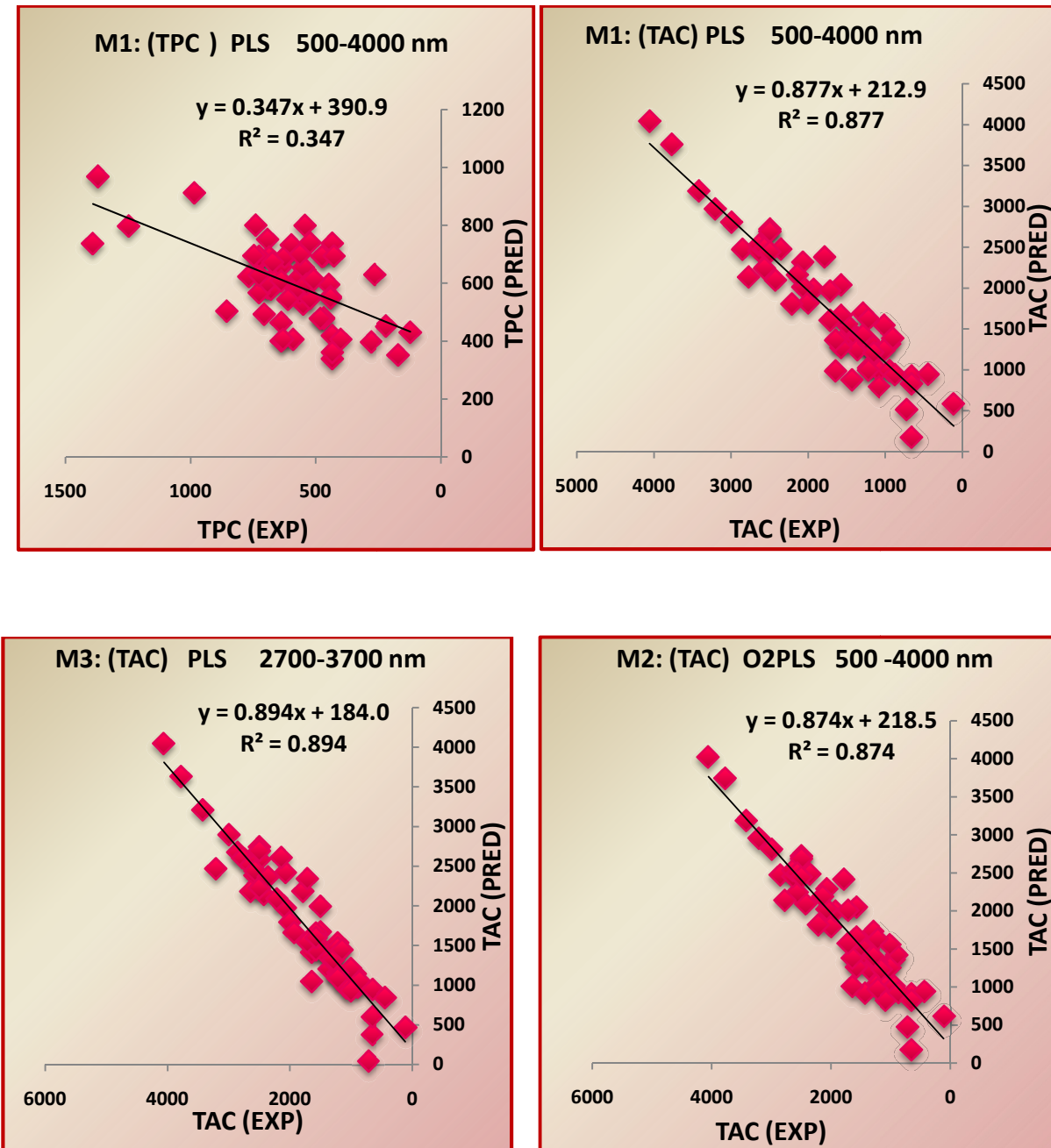
**TFC** ✓

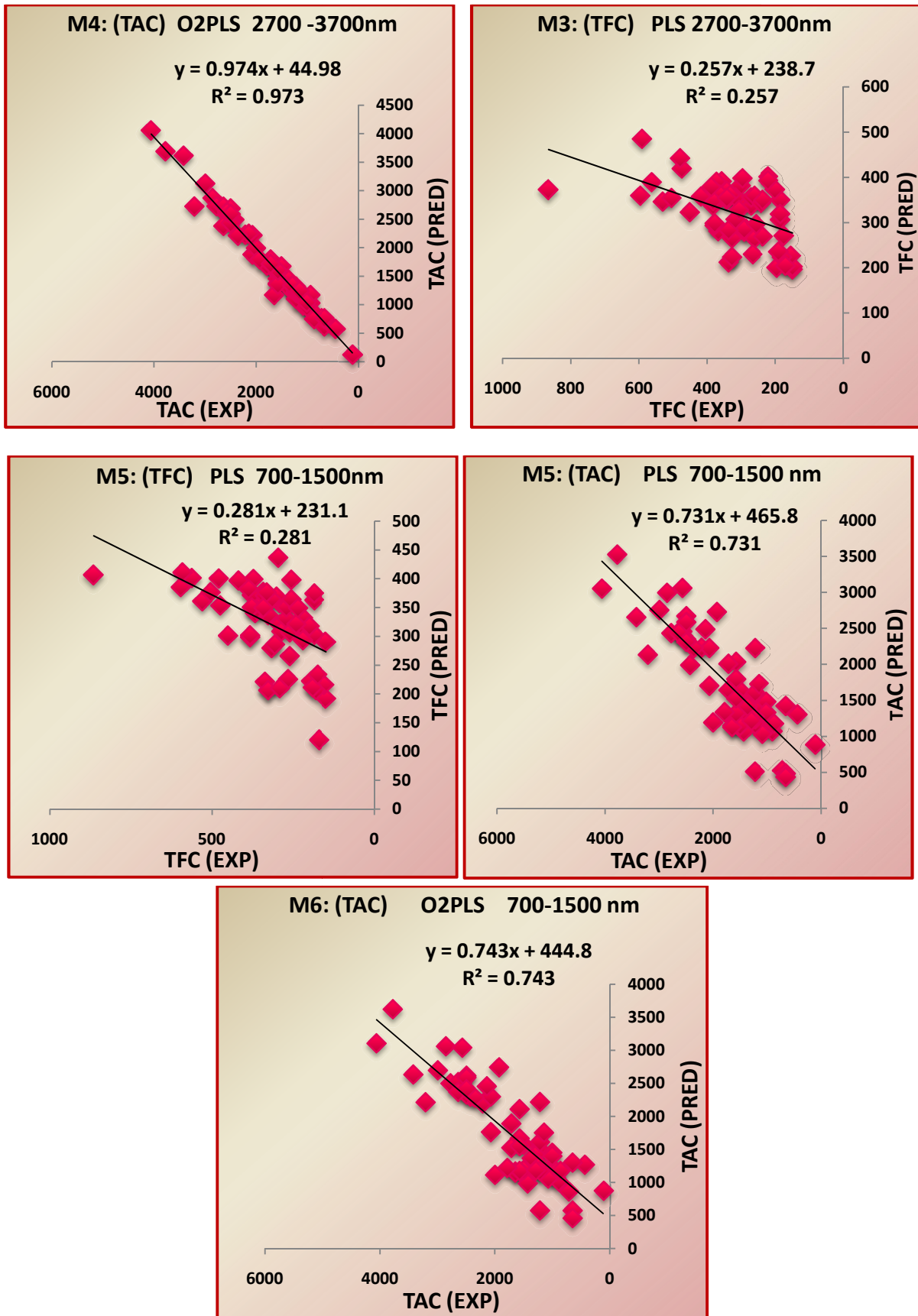
من خلال ملاحظة قيم P لنماذج TFC تبين أن ( $P < 0.05$ ) كانت في النموذجيين Model (3) و Model (5)، وهذا ما يفسر قدرة النموذجيين على التنبؤ. أما في بقية النماذج فكانت ( $P > 0.05$ )، وهذا ما يدل ليس لها قدرة على التنبؤ لعدم وجود علاقة بين المتغيرات. استخدامها لان قيم P كانت اكبر من القيمة الحدية ( $P > 0.05$ )، أما قيمة F فقد أخذت قيم مختلفة عن الصفر لذا يمكن القول بأنه هناك ارتباط تام بين المتغيرات أي ملائمة النموذج المدروس. إلا أنها قيم صغيرة (قريبة من 5%). لذا تكون نسبة التنبؤ باستخدام هذه النماذج ضعيفة.

وبمقارنة النماذج الملائمة لقيم TFC نلاحظ أن  $(0.0360499 > 0.0359107)$  Model (3) وهذا ما يفسر أن قدرة Model (3) على التنبؤ تكون أكبر من القدرة التنبؤية لـ: Model (5).

### 5.1.3.III التنبؤ بالنماذج الإحصائية:

تم التنبؤ بنماذج التحليل الإحصائي التي تمت مناقشتها في العناوين السابقة حيث تم تحديد قيمة معامل التحديد ( $R^2$ ) من خلال التنبؤ بالنموذج الذي يمثل العلاقة بين القيم المتوقعة والقيم التجريبية للمتغيرات التابعة وقد وضحت هذه النماذج في الشكل (5.III).





الشكل (5.III): العلاقة بين القيم التجريبية والقيم المتوقعة للنماذج المدروسة ببرنامج SIMCA.

بالنظر للنماذج التسعة السابقة يمكننا تفسير و مقارنة نتائج التحليل من خلال قيمة معامل التحديد ( $R^2$ ) الموافقة لكل نموذج، والتي أخذت قيم مختلفة تغيرت بين القيم عالية ، وقيم مقبولة . حيث تراوحت القيم الأفضل بين (0.973-0.731) لأغلب النماذج، حيث ترتبت حسب أفضلية قيم ( $R^2$ ) حسب الترتيب التالي (M4:TAC) < (M3:TAC) < (M1:TAC) < (M2:TAC) < (M5:TAC) < (M6:TAC).

أما عن بقية النماذج فقد أخذت قيم ( $R^2$ ) اقل (0.347 -0.257) كانت على النحو التالي (M1: TPC) < (M5: TFC) < (M3: TFC)، وهي قيم موافقة لتفسير نتائج تحليل معاملات CV-ANOVA ، أي أن قيمة الـ: ( $R^2$ ) كلما كانت اكبر كلما كان النموذج أحسن وهذا ما يفسر وجود علاقة قوية بين المتغيرات المدروسة.

### 2.3.III استخدام برنامج Molegro data Modeller:

#### 1.2.3.III دراسة النماذج الإحصائية:

تمت دراسة النماذج الإحصائية باستخدام برنامج Molegro data Modeller بطريقة المربعات الصغرى الجزئية (PLS) Partial Least Squares، حيث تم تسجيل قيم معاملات نماذج العينات المدروسة والتي لخصت في الجدول (5.III):

الجدول (5.III): قيم معاملات النموذج بطريقة PLS.

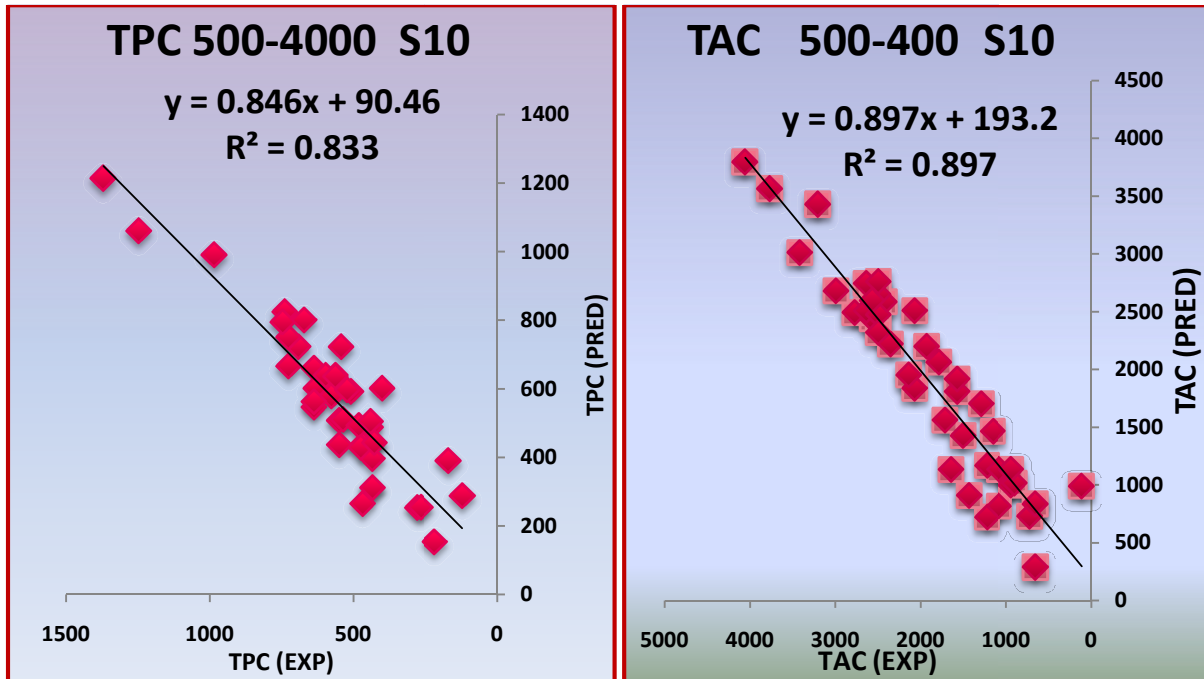
Dependant Variable	Samples			
	Number of latent components	R <sup>2</sup>	Q <sup>2</sup>	Equation
TAC 500-4000	10	0.89762	0.988581	y= 193.286+0.89762 *x
	15	0.973035	0.999977	y= 50.9075+0.973035 *x
TPC 500-4000	10	0.848994	0.996873	y=85.1266 +0.848994 *x
	15	0.963805	0.999993	y= 20.4045+0.963805 *x
TFC 500-4000	10	0.843721	0.974075	y= 48.6011+0.843721 *x
	15	0.938828	0.999923	y=19.0238 +0.935285 *x
TAC 2700- 3700	10	0.723311	0.90944	y=522.37 +0.723311 *x
	15	0.935285	0.999848	y=122.178 +0.935285 *x
TPC 2700- 3700	10	0.529352	0.979092	y=263.216 +0.529352 *x
	15	0.839462	0.999206	y= 89.7832+0.839462 *x
TFC 2700-3700	10	0.534065	0.964638	y=144.901 +0.534065 *x
	15	0.859801	0.999941	y= 43.6005+0.859801 *x
TAC 700-1500	10	0.744029	0.96594	y=483.255 +0.744029 *x
	15	0.909641	0.999404	y=170.592 +0.909641*x
TPC 700-1500	10	0.629704	0.986989	y=207.093 +0.629704 *x
	15	0.865395	0.99938	y= 75.2797+0.865395 *x
TFC 700-1500	10	0.643848	0.980565	y= 110.759+0.643848 *x
	15	0.821015	0.999562	y=55.6626+0.821015 *x

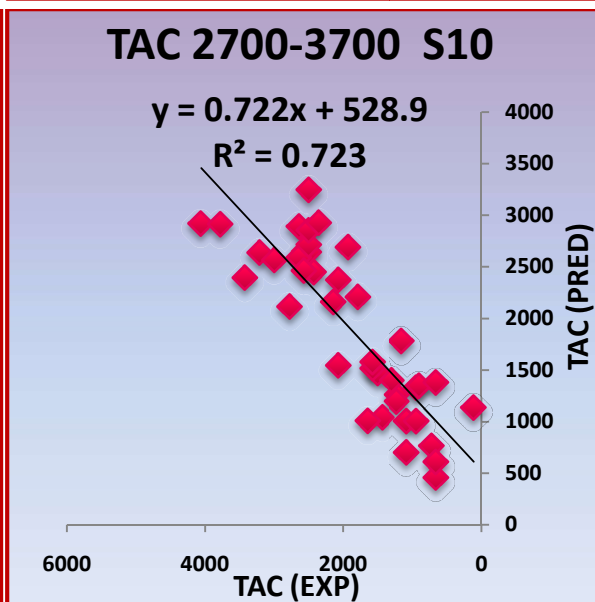
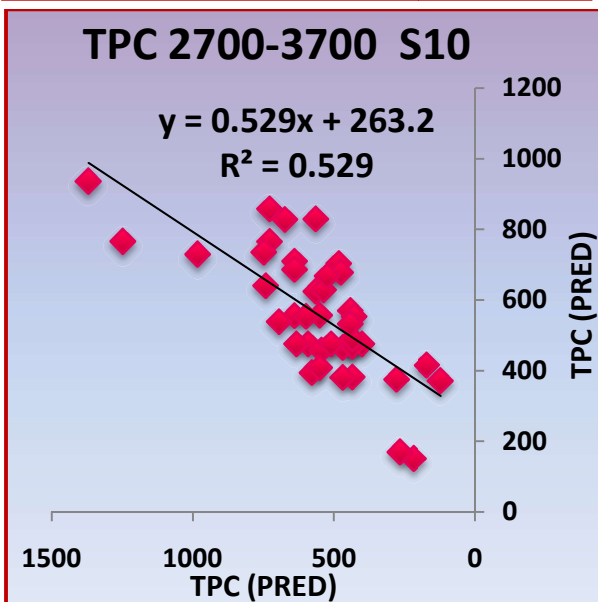
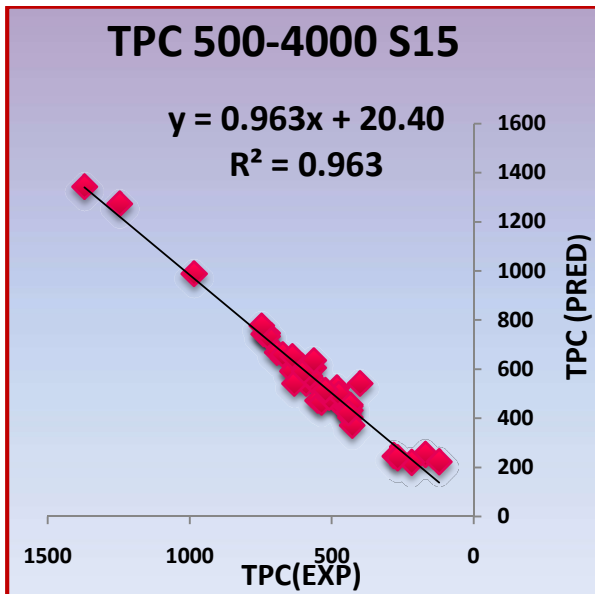
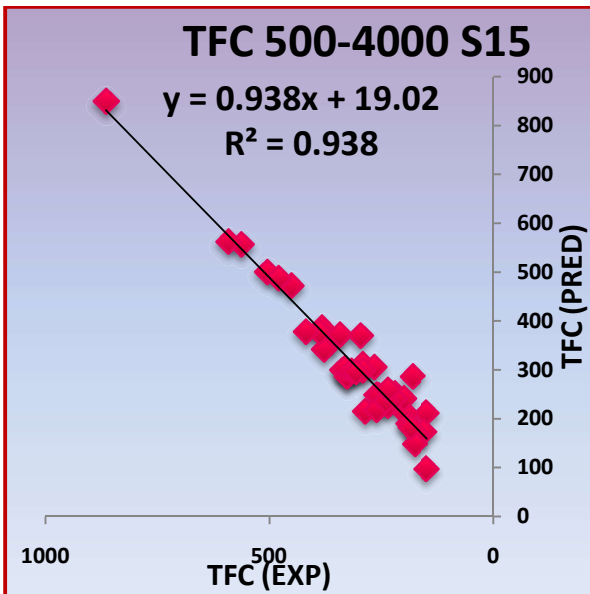
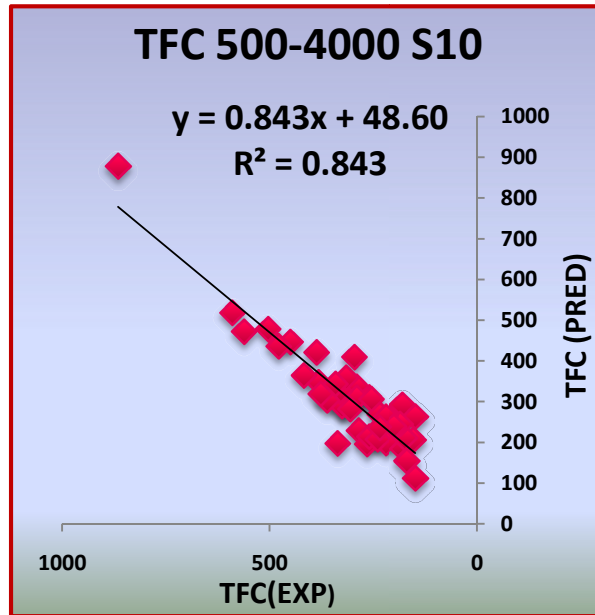
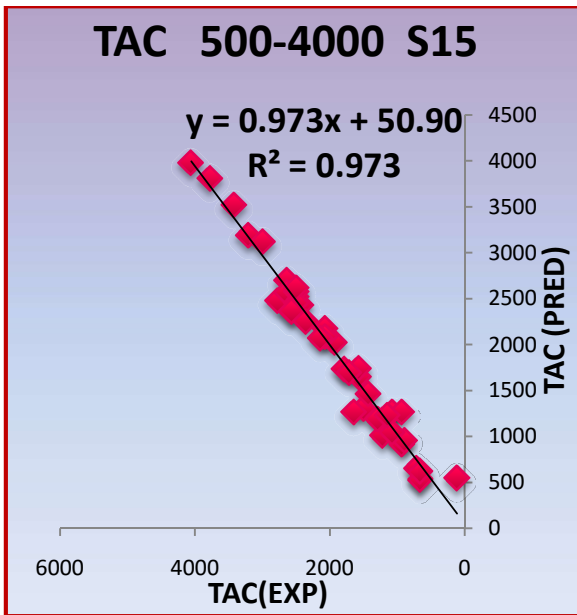
من خلال الجدول السابق نلاحظ أن  $Q^2$  أخذت قيم موجبة قريبة من الواحد في كل النماذج، كما أن قيم  $R^2$  توافقت مع قيم  $Q^2$  فأخذت قيم عالية في جميع النماذج المدروسة. وهو ما يفسر قوة العلاقة بين المتغيرات المدروسة ومدى ملائمة النماذج و قدرتها على التنبؤ وبمقارنة كل من نسبة المتغيرات المخفية تبين أن قيم  $Q^2$  و  $R^2$  تأخذ قيم أكبر كلما زادت نسبة البيانات المخفية، حيث كانت قيمهما أكبر عندما أخفينا 15 متغير.

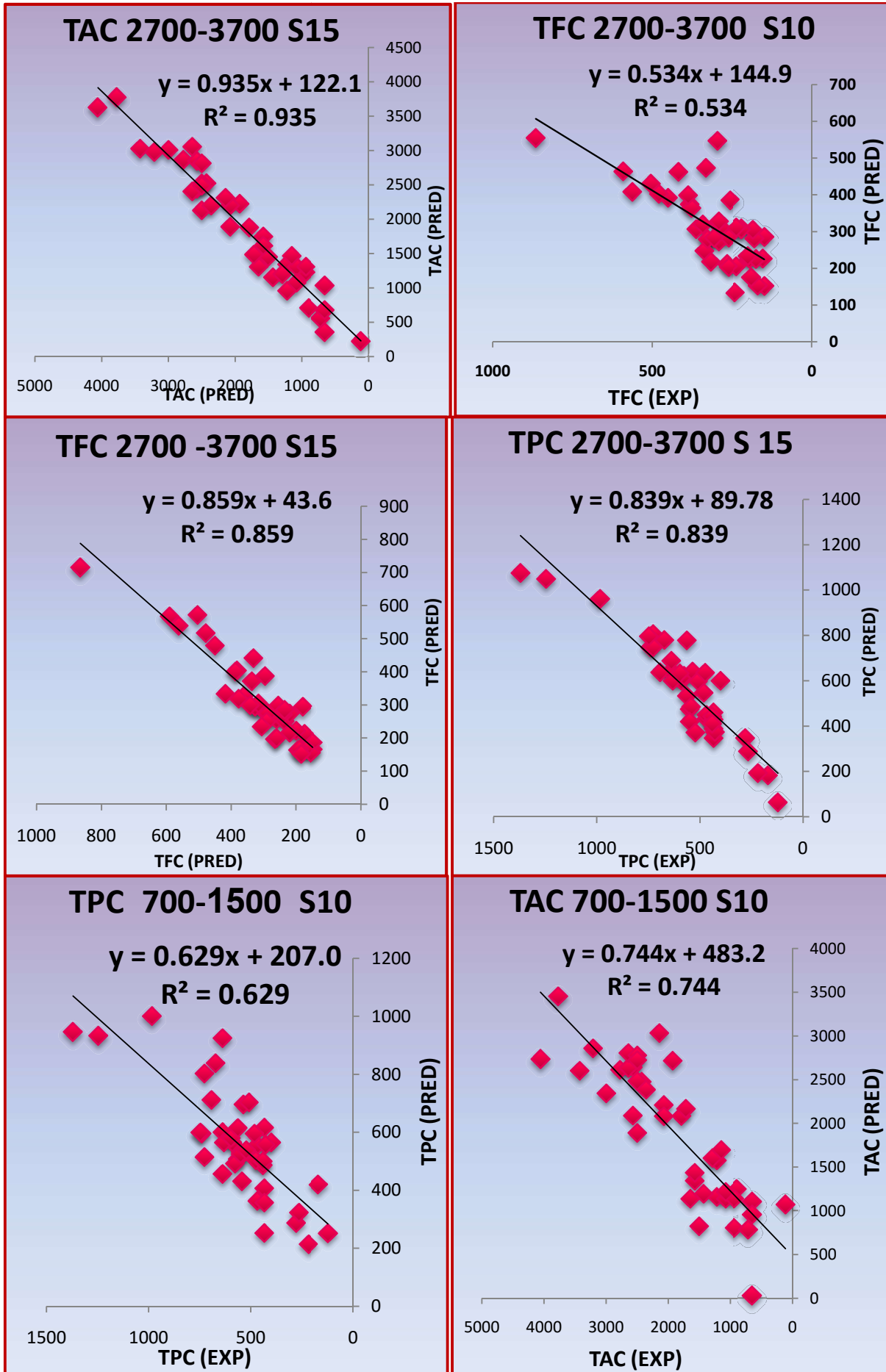
وللتحقق من نماذج الدراسة تم اخذ 20 عينة ( 32.79 % من إجمالي عدد العينات ) و تم اختبار النماذج بعينات التحقق (عينات خارجية).

### 2.2.3.III التنبؤ بالنماذج المقترحة:

بعد تسجيل النتائج التجريبية والنتائج المتوقعة المسجلة في برنامج Molegro data Modeller للمواد الفعالة، تم التنبؤ بالنماذج المدروسة من خلال رسم المنحنيات الدالة على العلاقة بين النتائج التجريبية و المتوقعة. حيث كانت النتائج موضحة في الشكل (6.III):





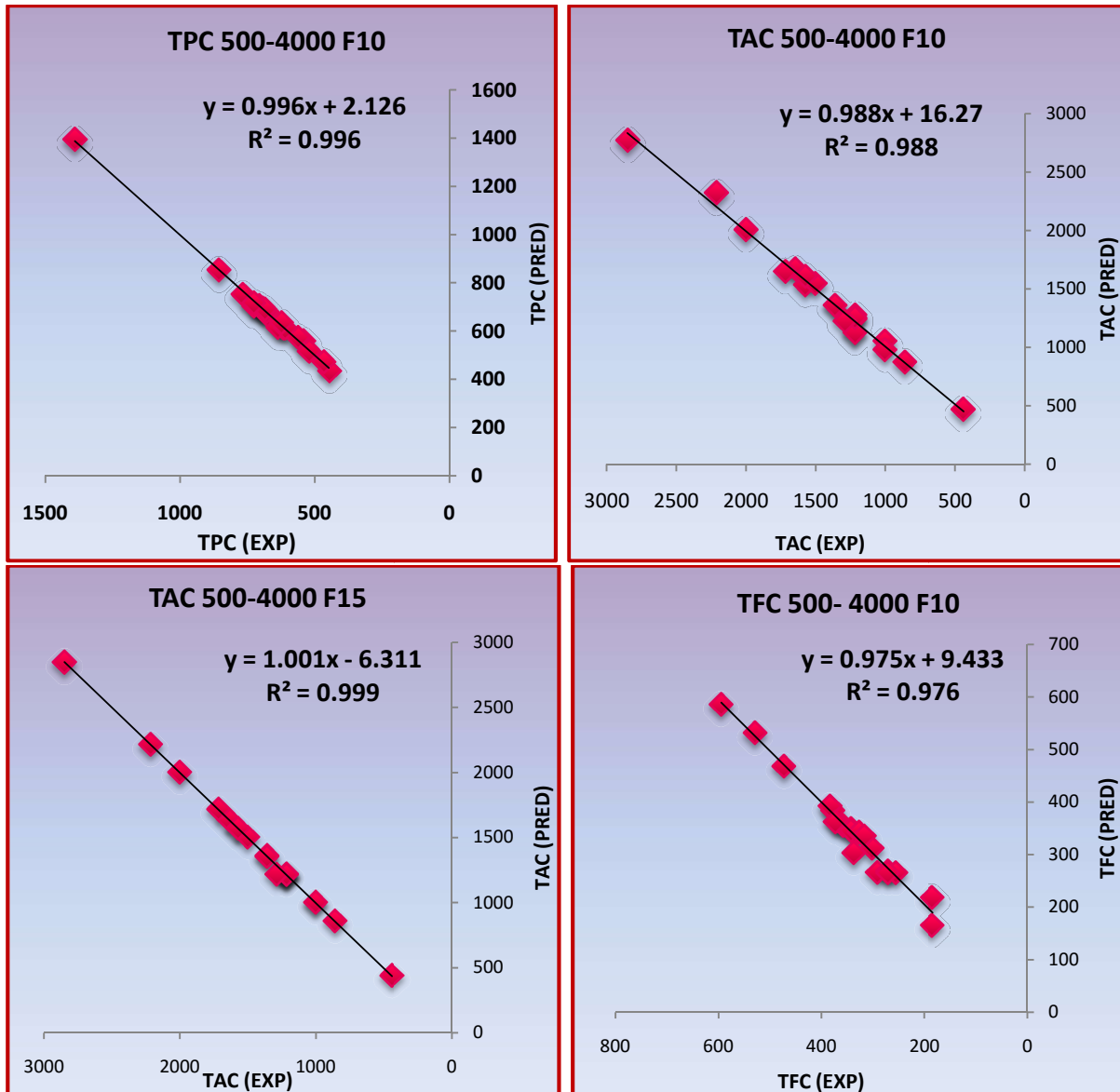


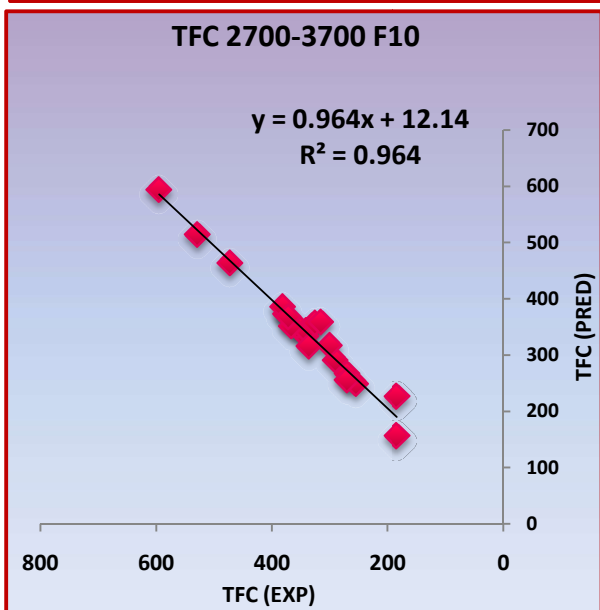
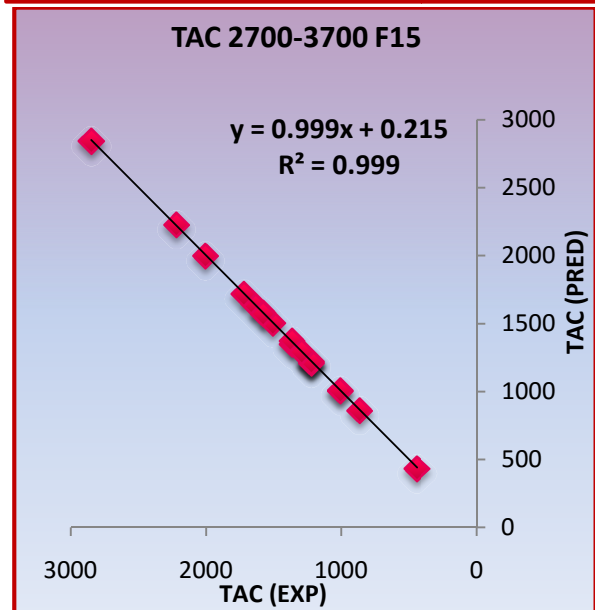
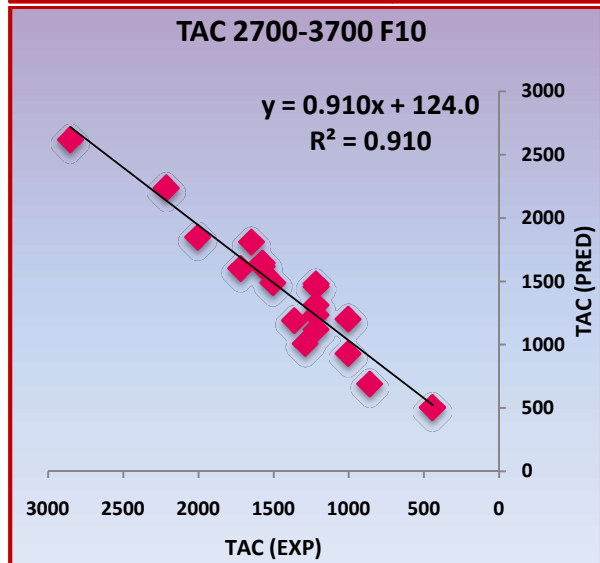
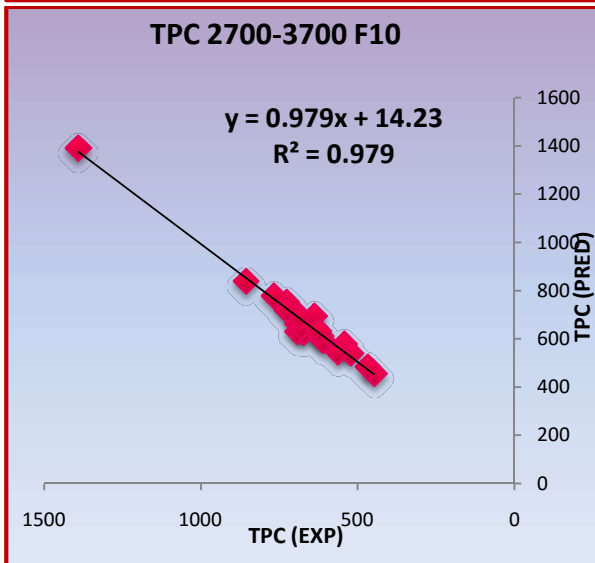
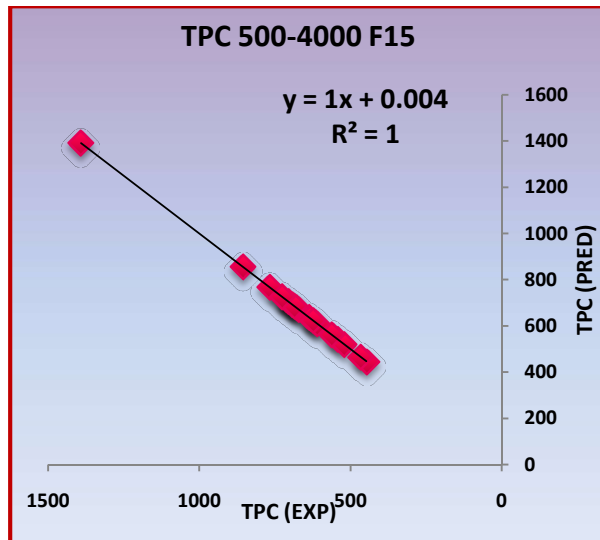
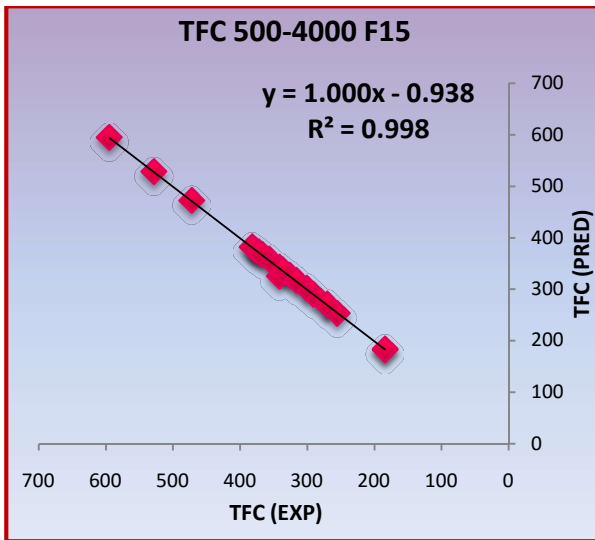


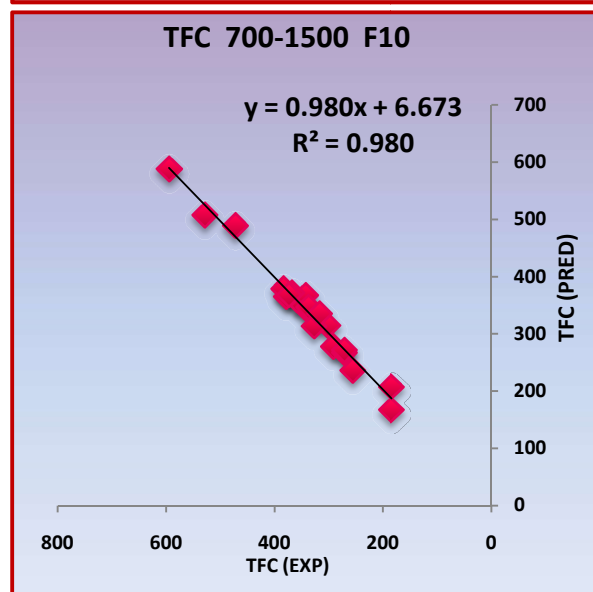
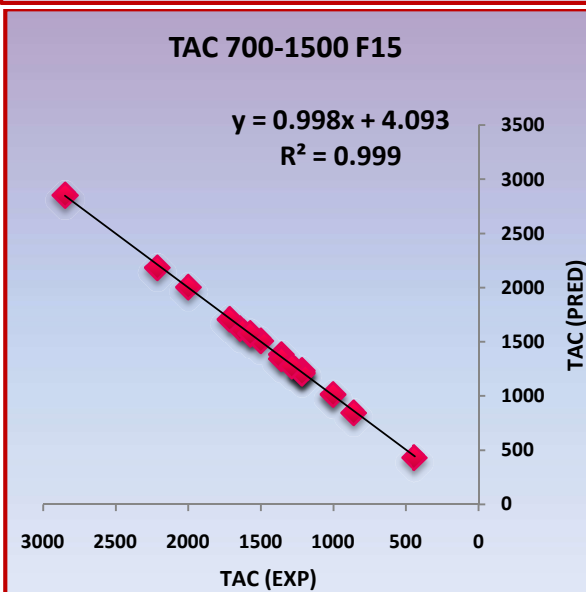
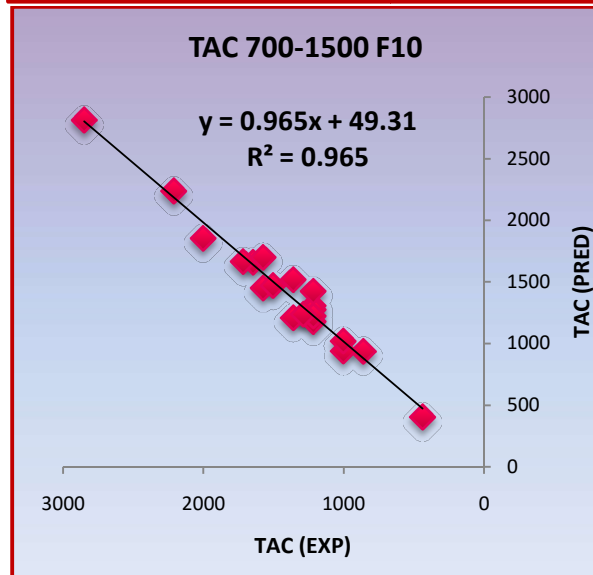
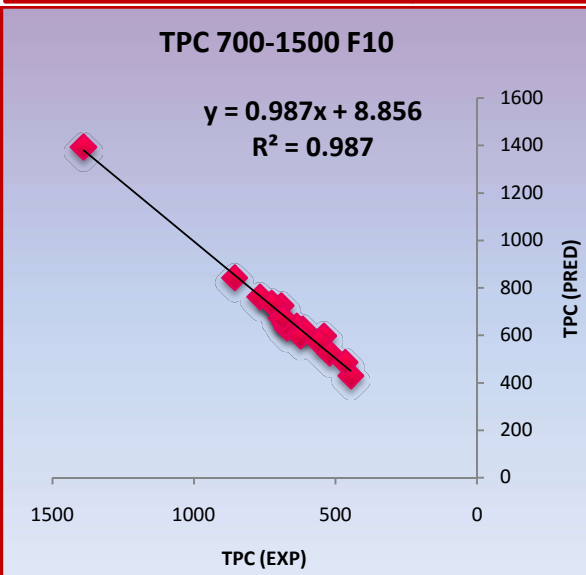
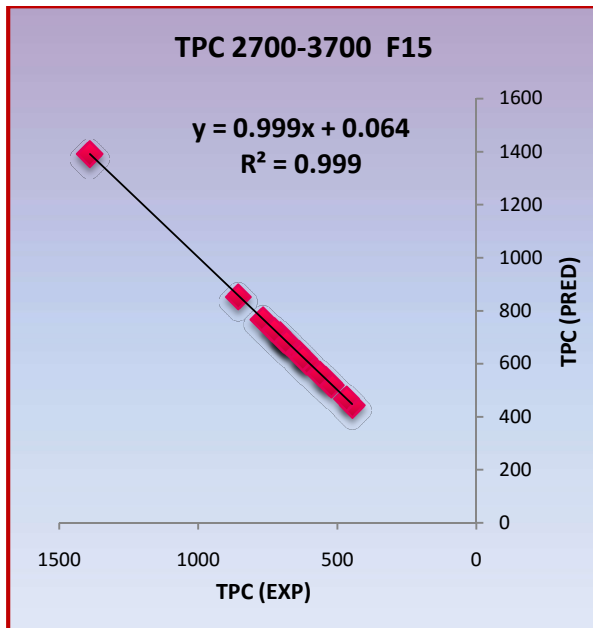
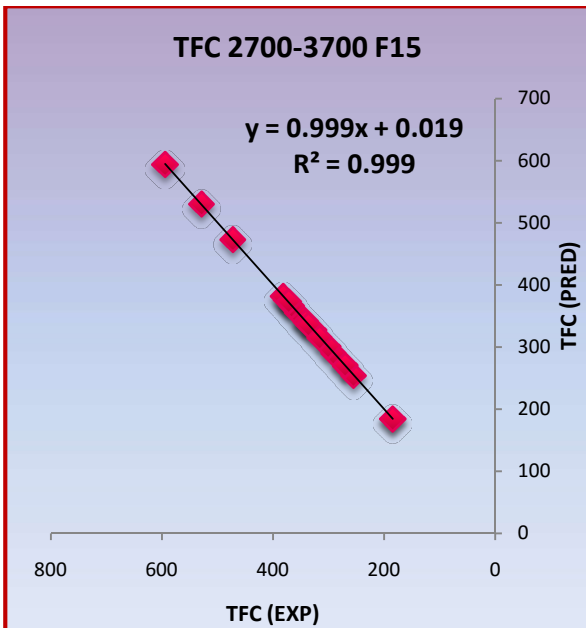
TAC 2700-3700 > TFC 2700 -3700 S15 > TFC 700-1500 S10 > 700-1500 S10  
 S10 > S10 TAC 700-1500 ، أما القيم المتوسطة وهي قيم تدل على ضعف العلاقة بين  
 المتغيرات و ضعف القدرة التنبؤية للنموذج المدروس حيث أخذت القيمتين ( 0.529 و 0.534 ) و  
 تدرجت حسب الزيادة في قيم  $R^2$  حسب الترتيب التالي: TFC 2700-> TPC 2700-3700 S10  
 S10 .3700

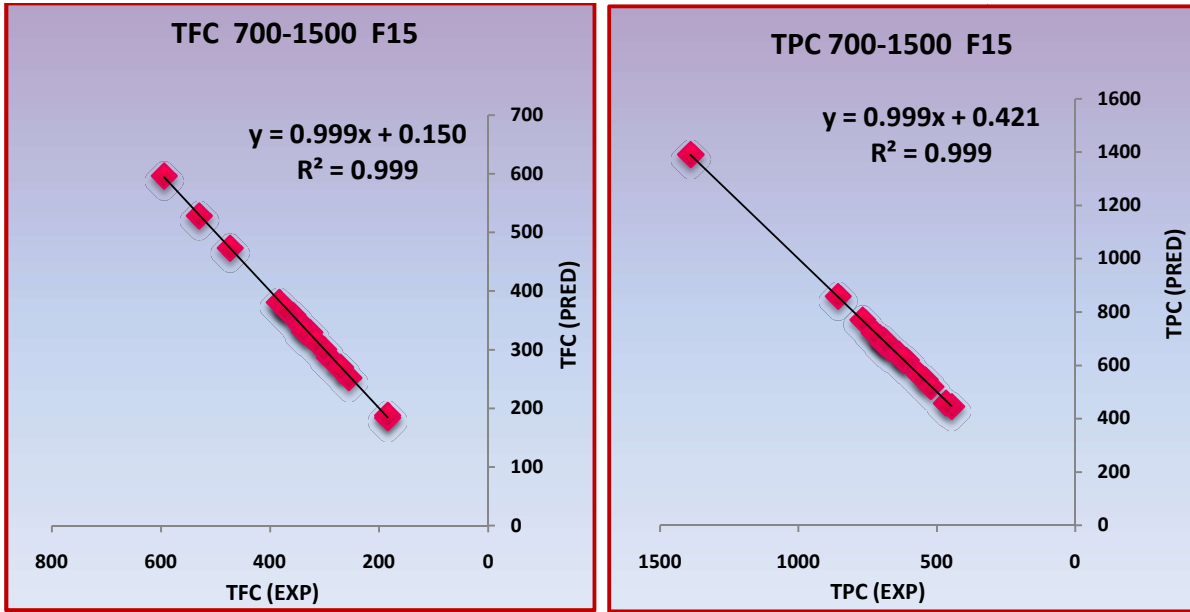
وعموما فان نماذج العينات (S) كانت نماذج ملائمة تعبر عن وجود علاقة قوية بين المتغيرات  
 المدروسة. وهذا ما يفسر إمكانية التنبؤ باستخدام هذه النماذج. حيث تزداد القدرة التنبؤية للنموذج كلما  
 كانت قيمة الـ  $R^2$  اكبر.

أما منحنيات عينات التحقق فقد أبدت نتائج ايجابية تلخصت في علاقة التنبؤات التالية:









الشكل (7.III): منحنيات التحقق Validation.

من خلال المنحنيات السابقة تبين أن قيم  $R^2$  كانت قيم كبيرة جدا في كل منحنيات التحقق Validation (F) حيث تراوحت قيمها بين (0.910 - 1)، وهو ما يدل على جودة نماذج العينات المدروسة و قدرتها على التنبؤ.

وعموما من خلال مقارنة النتائج السابقة لنماذج العينات المدروسة يمكن القول بأنه يمكننا التنبؤ بنماذج PLS للعينات المدروسة لوجود علاقة قوية بين المتغيرات. وهو ما يفسر وجود تقارب كبير بين النتائج التجريبية والنتائج المتوقعة. و تكون القدرة التنبؤية للنموذج أحسن كلما كانت قيمة الـ  $R^2$  اكبر.

وبمقارنة عدد المتغيرات المخفية على جودة نماذج الدراسة يتبين أن قوة النموذج تزداد كلما كان عدد المتغيرات المخفية أكثر.

كما أن نماذج TPC كانت هي الأحسن في المجال الطيفي (4000-500 nm) تليها نماذج TAC و TFC. أما منطقتي مجال OH (3700-2700 nm) و منطقة البصمة (1500-700nm) فكانت النماذج الأحسن هي نماذج TAC ، TPC ، ثم TFC.

مراجع اللغة العربية

- [4] شفيق أحمد العتوم، طرق الإحصاء باستخدام SPSS، دار المناهج للنشر والتوزيع، عمان، الأردن، ص متعددة.
- [6] جمال الدين فروخي، نظرية الاقتصاد القياسي، ديوان المطبوعات الجامعية، الجزائر، 1992 ص01.
- [7] صالح تومي، مدخل لنظرية القياس الاقتصادي (الجزء الأول)، ديوان المطبوعات الجامعية، الجزائر، 1999 ص 94.
- [9] أموري هادي كاظم، باسم شيلبه مسلم، "القياس الاقتصادي المتقدم النظرية والتطبيق"، مكتبة دنيا الامل، بغداد، 2002.
- [10] الهام عبد الكريم حسين، مقارنة بين استخدام نموذج المربعات الصغرى الجزئية وانحدار المكونات الرئيسية في العوامل المؤثرة على تمدد الاسمنت، مجلة التربية والعلم، المجلد (25) العدد (2)، 2012.
- [18] مثني صبحي و رياض محمود، "توظيف التحليل العنقودي وطريقة الجار الأقرب في التعرف على الأنماط مع تطبيق على نوعية المياه الجوفية في محافظة نينوى"، المجلة العراقية للعلوم الإحصائية، العدد الحادي والعشرون، 2012.
- [19] بهنام، بيداء سليمان، "استخدام خوارزميات العنقدة المحسنة في تنقيب البيانات"، رسالة ماجستير غير منشورة، كلية علوم الحاسوب و الرياضيات جامعة الموصل، 2006 .
- [20] يوسف صوار و ادريسي مختار، "دراسة مؤشرات التنمية المكانية باستخدام أسلوب التحليل التصنيفي (العنقودي)"، مجلة الإستراتيجية و التنمية، العدد 2013 الخامس.
- [31] عبد القادر محمد محمد عبد القادر عطية، 2005 م، الحديث في الاقتصاد القياسي بين النظرية و التطبيق، الدار الجامعية، مصر، الاسكندرية. ص متعددة.
- [32] بن مسعود نصر الدين ، "دراسة وتقييم المشاريع الاستثمارية مع دراسة حالة شركة الإسمنت ببني صاف" مذكرة لنيل شهادة الماجستير في العلوم الاقتصادية تخصص بحوث عمليات وتسيير المؤسسة، جامعة تلمسان، لسنة 2010 .

مراجع اللغات الأجنبية

- [1] Cornelius T. Leondes (2002). Expert systems: the technology of knowledge management and decision making for the 21st century, Academic Press, pp. 1-22.
- [2] Two Crows. Introduction to Data Mining and Knowledge Discovery, 3rd ed. <http://www.twocrows.com/intro-dm.pdf>.(03/3/2018).
- [3] Hastie; T., Tibshirani; R., Friedman; J. (2009). The Elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference, and Prediction, 2nd Edition, Springer Series in Statistics.
- [5] Guy Mélard- (1990)-Méthodes de prévision à court terme- Edition Ellipses-bruxelles, Belgique- p :38.
- [8] Maddala.G.S- (1988)-Introduction to econometrics- Mac Millan publishing company- Newyork,USA-P :128.
- [11] Dante M. Pirouz ,(2006), "An Overview of Partial Least Squares " ,The Paul Merage School of Business University of California , Irvine, pp(1-15).
- [12] Eriksson, L, Johansson, E, Kettaneh-Wold, N. Trygg , J., Wikström, M, and Wold, S. (2005).Multi- and Megavariate Data Analysis, Part II, Method Extensions and Advanced Applications, Chapter 23, Umetrics Academy .
- [13] Trygg, J., (2002), *O2-PLS for Qualitative and Quantitative Analysis in Multivariate Calibration*, Journal of Chemometrics, 16, 283-293.
- [14] Trygg, J., and Wold, S., (2003), *O2-PLS, a Two-Block (X-Y) Latent Variable Regression (LVR) Method With an Integral OSC Filter*, Journal of Chemometrics, 17, 53-64.
- [15] Marrison, D.F., (1976): Multivariate Statistical Method , McGraw Hill New York.

- [16] Norusis, M.,(1986): User Guide SPSS/PC+ for IBM, Chicago (Manual).
- [17] John Burkardt ( 2009 ) “K-Means Clustering”,(ARC/ICAM).(21/03/2018).
- [21] Johnson R.A., & Wichern D.W. ( 2002 ) “Applied Multivariate Statistical Analysis”. Upper Saddle River ( NJ ) : Prentice-Hall.
- [22] Anderon and Bancroft, (1952) .”Statistical Theory in Research“ Mcgraw-Hill Book Company Newyork.
- [23] Dominick Salvatore and Derrick Reagle,(2002), Statistics and Econometrics, 2nd ed. Mc.Crow-Hill, NY, p. 160.
- [24] Hair, J. F., Ringle, C. M., and Sarstedt, M. (2011).
- [25] Dominick Salvatore and Derrick Reagle, (2002), Statistics and Econometrics, 2nd ed. Mc.Crow-Hill, NY, p. 160.
- [26] Henseler, J., Ringle, C. M., and Sinkovics, R. R. (2009).
- [27] Chin, W. W. (2010). How to write up and report PLS analyses. In Handbook of partial least squares. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. P. 680.
- [28] Eriksson, L., Trygg, J., and Wold, S. (2008), *CV-ANOVA for significance testing of PLS and OPLS models*, submitted for publication .
- [29] Ståhle, L., and Wold, S. (1989), *Analysis of variance (ANOVA)*, Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 6, 259-272.
- [30] Wong, K.K.K. (2013). Partial least square structural equation modeling (PLS-SEM) techniques using SmartPLS. Marketing Bulletin, 24(1), pp.2-3.
- [33] Marquardt, D.w.(1970), "Generalized Inver, Ridge Regression, Biqsed Linear Estimation and Nonlinear Estimation", Techonometrics, Vol.12, pp (591-612).

[34] Rojas; R. (1996). Neural Networks, The backpropagation algorithm, Springer-Verlag, Berlin.

<http://page.mi.fu-berlin.de/rojas/neural/chapter/K7.pdf> (15/3/2018).

[35] Palta, Mari, (2003), " Quantitative Methods in population health: Extensions of ordinary regression", Wiley – IEEE, p 6.

[36] Berk, Richard A., (2003), " Regression analysis: a constructive critique", Sage publications Inc., p 144.

[37] Makridakis, Spyros, (1998), " Forecasting: methods & applications", 3 rd Edition, John Wiley & sons Inc., p 288.

[38] Rakotomalala, (2011), Econométrie, La régression linéaire simple et multiple, (cours), Version 1.0, p.95.

الفصل الرابع:

الدراسة النظرية

للفعالية المضادة للاكسدة

لبعض المركبات الموجودة

في حمض اللقاح

#### 1.IV. الدراسة النظرية للفعالية المضادة للأكسدة لبعض المركبات الموجودة في حبوب اللقاح:

تعتبر الكيمياء الحاسوبية إحدى فروع الكيمياء التي نالت مكانة علمية هامة، نظرا لدقة نتائجها، و هي مجموعة من التقنيات الحسابية النظرية التي تسلط الضوء على مختلف المسائل والتعقيدات الكيميائية و طرق معالجتها، و ذلك عن طريق استخدام الحاسوب<sup>[1]</sup>.

وتكمن أهمية الكيمياء الحاسوبية في تداخلاتها مع مختلف العلوم الأخرى حيث شملت الكيمياء النظرية و ميكانيك الكم و الترموديناميك ..... وغيرها. و لسهولة طرق الكيمياء الحاسوبية تم استخدامها للوصول إلى مكتسبات إضافية حول المركبات التي تتم معالجتها في المختبر، فهي تساعد على فهم المشكلة بشكل كامل ومعالجتها بطرق حسابية بسيطة بدلا من الوسائل التجريبية<sup>[1]</sup>، حيث يمكن من خلالها تحديد التغيرات التي تطرأ على مختلف المركبات الكيميائية والوصول إلى نتائج جديدة أكثر دقة ومن بين هذه التغيرات التي شملتها الدراسة في علم الكيمياء الحاسوبية:

- طاقة الرابطة، طاقة التفاعل، الطاقة الجزيئية.
- البنية الفراغية.
- الشحنات الذرية.
- آليات التفاعلات والفعالية الكيميائية.
- عزم ثنائي القطب.
- المطيافية IR، RMN، UV-VIS.
- الخصائص الحرارية (الانتالبي، الأنتالبي الحرة...)<sup>[2,3]</sup>.

وسيتيم في هذا الفصل التعرف على مختلف الطرق النظرية التي يمكن من خلالها الوصول إلى نتائج نظرية يمكن مقارنتها بالنتائج التجريبية و التأكد من صحتها، عن طريق حساب الانتالبية للمركبات المدروسة باستخدام برنامج GAUSSIAN-09<sup>[4]</sup>، وهو برنامج يستخدم مجموعة من العلاقات المشتقة من الترموديناميك الإحصائي و الذي يعتمد على مفهوم بولتزمان و التوابع الجزيئية<sup>[5]</sup>. من أجل تحديد أنتالبي تشكل الجزيء وذلك بالاستعانة بمقادير مختلفة (S<sup>0</sup>, H<sup>0</sup>, G<sup>0</sup>)<sup>[6]</sup>.

#### 1.1.IV. الطرق والنظريات المستعملة في الكيمياء الحاسوبية:

اعتمدت الدراسة النظرية في تطبيق الكيمياء الحاسوبية على مجموعة من الطرق والنظريات لتحليل وتفسير المسائل والمشاكل الكيميائية. حيث يمكن توزيع هذه الطرق على حسب نوعية وخصائص

الدراسة المعتمدة فيها التي تخص أنواع مركبات كيميائية مختلفة ومن أبرز الطرق التي اعتمدت عليها الكيمياء الحاسوبية نذكر:

1. طرق الميكانيكا الجزيئية Molecular Mechanics Methods.
2. طريقة الحل الشامل Ab-initio Method.
3. الطرق الشبه عملية Semi-Empirical Methods.
4. نظرية الدالة الوظيفية للكثافة Density Functional Theory (DFT) [2].

#### 1.1.1.IV طرق الميكانيكا الجزيئية Molecular Mechanics Methods:

تعد طرق الميكانيكا الجزيئية من بين أسرع الطرق و أبسطها، حيث تستخدم في معالجة المركبات ذات الأحجام الكبيرة كالبروتينات و الستيرويدات و غيرها<sup>[1]</sup>. إلا أنها لا تعطى نتائج دقيقة مقارنة بالطرق الأخرى، كونها عاجزة عن الكشف عن الخصائص الكيميائية المتعلقة بالالكترونات، كعزم ثنائي القطب وشحنة الذرات و الأماكن الفعالة . و تعتمد هذه الطرق في حساب الطاقة على تحسين أو تغيير البنية الفراغية للمركبات المدروسة للوصول إلى اقل طاقة ممكنة. فتعالج الجزيئات وكأنها كرات متصلة مع بعضها البعض عن طريق نوابض لا تأخذ الالكترونات بعين الاعتبار، ولحساب قيمة الطاقة يجب التعرف على طول الرابطة الحقيقية بين كل ذرتين و الزاوية بينهما، وكذلك طاقة الشد والانحناء للرابطة الجديدة (النابض)<sup>[2]</sup>.

طاقة الجزيء في طرق الميكانيكا الجزيئية تعبر عن مجموع طاقات الترابط و اللاترابط. حيث تعبر طاقة الترابط عن التأثير المباشر عن طريق الترابط كمختلف أنواع طاقة الشد و الانحناء. أما طاقة اللاترابط فتطلق على التأثير غير المباشر بين الذرات كقوى فاندر فالس والقوى الناتجة عن الكهرباء الساكنة<sup>[1,2]</sup>. وتكتب طاقة الجزيء على الشكل التالي:

$$E = E_{Bond} + E_{Nonbond}$$

$$E = \sum_{Angles} E_{Bend} + \sum_{Bond} E_{Stretch} + \sum_{Dihedrals} E_{Torision} + \sum_{pairs} E_{Nonbond}$$

### ✓ أنواع طرق الميكانيكا الجزيئية:

طرق الميكانيكا الجزيئية تختلف باختلاف التأثير المتبادل بين الذرات الذي يعبر عنه بحقل القوة الذي يكشف عن مجموعة المعاملات و المعادلات التي تصف الذرات و التأثير المتبادل بينهما. و التي تعبر عن شكل دالة الطاقة المستخدمة في كل طريقة، حيث تم تطوير هذه الطرق لاستخدامها في معالجة المركبات بطريقة أكثر من الطرق الأخرى، ومن بين هذه الطرائق نذكر<sup>[2]</sup>:

#### ■ AMBER: Assisted Model Building with Energy Refinement.

بناء النموذج المدعوم باستخدام تقنية إعادة الطاقة (AMBER) يعتمد على شروط الترابط ويتم تضمينها عبر النتائج الجيدة للبروتينات و الأحماض النووية، وتكون غير منتظمة بالنسبة للأنظمة الأخرى.

#### ■ CHARMM: Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics.

CHARMM هي طريقة حسابية تستخدم مصطلحات التكافؤ، يتم تطبيقها على الجزيئات الحيوية الضخمة كالبروتينات والأحماض النووية.

#### ■ OPLS: optimized potential for liquid simulations.

وهي إمكانية محسنة لمحاكاة السوائل تعتمد على مصطلحات التكافؤ، استخدمت على نطاق واسع في نمذجة السوائل و الديناميكا الجزيئية للجزيئات الحيوية.

#### ■ MMFF: Merck Molecular Force Field.

تعتبر قوة Merck الجزيئية من أكثر القوى التي استخدمت للأغراض العامة، و خاصة الجزيئات العضوية، كما تستخدم لمحاكاة الديناميكا الجزيئية و تحسين الهندسة الجزيئية.

#### ■ UFF: Universal Force Field.

UFF: تعني القوة العالمية تستخدم في معالجة المركبات الغير عضوية، تستخدم أربعة شروط للتكافؤ. باستثناء الكهرياء.

#### ■ Dreiding: The Dreiding force field.

تعبر طريقة Dreiding عن قوة الجزيء العضوي أو الحيوي، واستخدمت كذلك لمعالجة الجزيئات الحيوية الضخمة، يعتمد على مصطلحات التكافؤ مثل الكهرياء<sup>[1,2]</sup>.

### 2.1.1.IV. طريقة الحل الشامل Ab-initio Method:

تعتمد طرق Ab Initio أساسا على نظريات ميكانيكا الكم و حلولها من البداية (الاعتماد على ثوابت فيزيائية كشحنة وكتلة الإلكترون، سرعة الضوء....)<sup>[7,8]</sup>، أي أنها تعتمد على حل معادلة

شروندغر التي تصف حركة الإلكترون داخل الجزيء، وعند حلها يتم الحصول على طاقة و دالة موجية في شكل معادلة رياضية تعبر عن التوزيع الإلكتروني داخل الجزيء<sup>[2]</sup>، الذي يمكننا من التعرف على العديد من خصائص الجزيء كحساب قطبية الجزيء (المواضع المحبة للنوى و المواضع الفقيرة المحبة للإلكترونات)، طاقة التآين، حساب البنية الفراغية الجزيئية .....<sup>[7,8]</sup>.

معادلة شروندغر هي ركيزة من ركائز الكيمياء النظرية و الحاسوبية، إلا أنها غير قابلة للحل إلا للأنظمة وحيدة الإلكترون، لذلك يستوجب إدخال عدة تقريبات رياضية يتم من خلالها إهمال التأثير المتبادل بين الإلكترونات من أجل حل معادلة شروندغر. والتي تكتب على النحو التالي<sup>[9, 10]</sup>:

$$H \Psi(r) = E \Psi(r)$$

حيث أن:

H: المعامل الهاميلتوني (The Hamiltonian operator).

$\Psi$ : الدالة الموجية (The wave function).

E: الطاقة قيمة خاصة للمعامل الهاملتوني (The energy, eigenvalue of the Hamiltonian operator).

يتم في هذه الطريقة تقسيم معادلة شروندغر متعددة الإلكترونات إلى عدة معادلات بسيطة وحيدة الإلكترون ينتج عن حلها دالة موجية تدعى (المدار) و طاقة تسمى (طاقة المدار). وبمقارنة طرق Ab Initio مع طرق الميكانيكا الجزيئية من حيث السرعة نجد أن طرق Ab Initio أبسط بكثير من طرق الميكانيكا الجزيئية، أما من حيث الدقة فتكون أدق.

✓ أنواع طرق Ab Initio:

نظرا لعدم مراعاة التأثير المتبادل بين الإلكترونات تم تطوير عدد من النظريات و الطرق التي تنطلق من طريقة هارترى و فوك تقوم بإضافة الترابط الإلكتروني، لتحسين وتدقيق طرق الحساب والوصول إلى نتائج أكثر دقة في إيجاد قيمة الطاقة أو الشكل الفراغي للجزيء، و من هذه الطرق نذكر<sup>[9,10]</sup>:

- GVB: The Generalized Valence Bond method.

طريقة رابطة التكافؤ المعممة (GVB) هي طريقة مصغرة من MCSCF حيث تعتمد على زوج من المدارات لكل رابطة جزيئية.

- CI: Configuration Interaction.

من الممكن أن تنشأ دالة موجات CI وتبدأ بحسابات MCSCF بدلا من وظيفة الموجات الديكامترية. تكون هذه الطريقة مكلفة للغاية من حيث الموارد الحسابية.

- MCSCF: Multi-Configurational Self-Consistent Field.

في هذه الطريقة تتم عملية تحسين المدارات للاستخدام مع الدالة موجية متعددة، تكون أكثر دقة مقارنة بحسابات CI، كما تستخدم للتنبؤ بطاقة الترابط.

- بالإضافة إلى بعض الطرق الأخرى التي يعبر عنها بأساليب الحسابات المترابطة التي تسبب تحسين الطاقات الحسابية و الهندسة الجزيئية بالنسبة للجزيئات العضوية كنظرية الكتلة المتقاربة ( CC: Coupled Cluster Theory) وطريقة (MPn: Müller-Plesset Perturbation Theory) حيث n: تمثل ترتيب التصحيح<sup>[1]</sup>.

#### 3.1.1.IV الطرق الشبه عملية Semi-Empirical Methods:

تعتمد طريقة الحساب في الطرق الشبه عملية على معادلة شرودنغر، لذلك تعد من الطرق الشبيهة إلى حد كبير لطرق Ab Initio إلا أن في هذا النوع من الحسابات يتم حل معادلة شرودنغر بمعاملات تجريبية، حيث يتم استبدال التكاملات المعقدة في طرق Ab Initio بمعاملات وتكاملات تجريبية تسحب من قاعدة بيانات التكاملات ذات نتائج عالية الدقة كحسابات الطرق ذات المستوى العالي مثل "DFT". وتعد الطرق الشبه عملية بطيئة مقارنة بطرق الميكانيكا الجزيئية ، إلا أنها أسرع نوعا ما من طرق Ab Initio<sup>[9,10]</sup>.

#### ✓ أنواع طرق الشبه عملية Semi-Empirical Methods:

تختلف طرق الحساب في هذه المجموعة باختلاف قاعدة البيانات المتعلقة بالمعاملات و التكاملات التجريبية، ومن أهم هذه الطرق:

### ■ CNDO: Complete Neglect of Differential Overlap:

الإهمال الكامل للتداخل التفاضلي (CNDO): هو أبسط إهمال لطرق التداخل (NDO) حيث تميز مدارات التكافؤ باستخدام مجموعة بسيطة من مدارات نوع Slater ، تستخدم طريقة (CNDO) للتوقع الأولي لحسابات طرق Ab initio للهيدروكربونات [1] ، كما تستخدم لدراسة البنية الإلكترونية والفراغية للجزيء [11] ، ورغم بساطة طريقة الحساب في (CNDO) إلا أنه لم يتم استخدام هذه الطريقة على نطاق واسع بسبب محدودية دقة نتائجها [11]. لعدم قدرتها على تقدير التفاعلات ثنائية الإلكترون و التنبؤ بدقة الهياكل الجزيئية، وقد تبدو طريقة CNDO معقدة بعض الشيء إلا أنها تمثل تبسيطا شاملا لنظرية HF، وقد أدخلت بعض التعديلات الطفيفة على هذه الطريقة فتفرعت إلى مثل: CNDO/2, CNDO/1, CNDO/S, CNDO/BW [12].

### ■ INDO: Intermediate Neglect of Differential Overlap.

الإهمال الوسيط للتداخل المفرط (INDO): هي طريقة كانت تستخدم للأنظمة العضوية، أما الآن فتم استبداله بأساليب أكثر دقة [1]، طريقة INDO لديها إمكانية كبيرة لنمذجة التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية والمرئية للمركب نتيجة لمعالجتها للتفاعلات الإلكترونية ذات المركز الواحد بطريقة أفضل، كما تستخدم للتنبؤ بزوايا رابطة التكافؤ بدقة كبيرة و تكون ضعيفة نوعا ما في التنبؤ بالهندسة الجزيئية الكلية [13].

### ■ MNDO: Modified Neglect of Diatomic Overlap.

إهمال تعديل التداخل ثنائي الذرة (MNDO): تم الإبلاغ عن الإهمال الموحد للتداخل التفاضلي بطريقة تستند إلى طريقة NDDO للعناصر H,N,O,C مع الاتفاقيات المحددة من قبل NDDO للتكامل. تعطي طريقة MNDO نتائج نوعية مقبولة لمختلف الأنظمة العضوية، إلا أن دقة نتائج الطريقتين AM1 و PM3 تغلبت على هذه الطريقة مما جعلتها تتراجع. كونها تعطي نتائج نوعية وكمية غير صحيحة، فيتم التقليل من طاقات التحفيز الإلكتروني المحسوبة [1].

### ■ AM1: Austin Model 1.

وهي طريق سريعة جدا شائعة لنمذجة المركبات العضوية حيث تعطي نتائج أكثر دقة على خلاف بقية الطرائق الشبه تجريبية. تستخدم لتحسين طاقات التنشيط و توقع الهندسة الجزيئية. و تكون أكثر دقة لطاقات رابطة الهيدروجين [1].

■ PM3: Parametric Model number 3.

وهو نموذج قوي من نماذج NDDO يستمر استخدامه على نطاق واسع<sup>[14]</sup>، تستخدم هذه الطريقة تقريبا نفس المعادلات المستعملة في AM1، وهي أكثر دقة منها وخاصة في حساب الزوايا رابطة الهيدروجين<sup>[1]</sup>. كما تستخدم لحساب الخصائص البنوية، الطاقة الكلية، حرارة التشكل<sup>[15]</sup>، و قد تؤدي بعض خصائص مجموعة PM3 إلى سلوكيات غير طبيعية لا تزال قيد المعالجة<sup>[14]</sup>.

■ PM6: Parametric Model number 6.

تم تحسين هذه الطريقة حيث امتدت إلى إمكانية استخدام المدارات d، مما جعلها تطبق على الفلزات الانتقالية، و توسيع نطاق الدراسة للعديد من المركبات المختلفة<sup>[16]</sup>.

■ Huckel

تعتبر طريقة هيكل من أبسط و أقدم الطرق الشبه تجريبية، تختص في حساب الكثرونات التكافؤ p للجزئيات المستوية المترافقة، تقوم بإعادة تمثيل التناظر المداري يمكن أن تعطي معلومات كمية أو نوعية للمركبات المترافقة<sup>[1]</sup>. وهي نموذج من طرق هاملتون للإلكترون، ترتبط بالطرق التجريبية<sup>[17]</sup>، لكنها نادرا ما تستخدم لاعتبارها عملية حسابية يمكن تطبيقها يدويا<sup>[1]</sup>.

■ Extended Huckel:

نظرية هيكل الموسعة (EHT) وهي من ابرز الطرق التي تشهد استخداما واسعا، تعتمد هذه الطريقة على إهمال الالكترونات الأساسية التي تكون متغيرة في مداراتها<sup>[17]</sup> وتأخذ بعين الاعتبار جميع الكثرونات التكافؤ<sup>[11]</sup>. وتعتبر الذرة عند احتلالها لمدارات d أعلى مستوى للمساهمة في مدارات التكافؤ التي يتم تمثيلها في مدارات Slater (STO) في إحداثيات قطبية محورها الذرة. ومن سلبيات هذه الطريقة أنها لا تدرس الحركة الدورانية للإلكترون<sup>[18]</sup>.

■ PPP: Pariser–Parr–Pople.

و هو نموذج من نماذج CNDO للأنظمة المترافقة<sup>[12]</sup>. كما أنها تعتبر امتداد لطريقة هيكل Huckel التي تسمح بتجانس الذرات غير الهيدروجين، وهي تستخدم لتطوير العبارات التحليلية البسيطة المتعلقة بالخصائص الجزيئية. وقد تم دمج هذه الطريقة في حسابات الميكانيكا الجزيئية لوصف الطبقات العظمية<sup>[1]</sup>.

- MINDO: Modified Intermediate Neglect of Differential Overlap.  
هناك ثلاثة نماذج لهذه الطريقة وهي: MINDO/1, MINDO/2, MINDO/3 ، و تعتبر طريقة MINDO/3 الطريقة الأفضل لصحة نتائجها، اعتمدت هذه الطريقة في الكشف عن نتائج نوعية للجزيئات العضوية، إلا أنه لم يتم استخدامها حالياً، لوجود طرق أكثر دقة مثل طريقة AM1 و PM3<sup>[1]</sup>.
- ZINDO: Zerner's Intermediate Neglect of Differential Overlap.  
تسمى هذه الطريقة بطريقة المنظار الطيفي، وتعتبر إعادة تجزئة لطريقة INDO لإعادة إنتاج نتائج الأطياف الالكترونية حيث تتوقع تحولات الأشعة فوق البنفسجية بشكل جيد، يتم استخدامها لنمذجة الأنظمة المعدنية الانتقالية. أما في حالة استخدامها لتحسين الهندسة الجزيئية فإنها لا تعطي نتائج ايجابية<sup>[1]</sup>.
- SINDO1: Symmetrically Orthogonalized Intermediate Neglect of Differential Overlap.  
الإهمال الوسيط المتعامد المتناظر لطريقة التراكب الثنائية (SINDO1) عبارة عن طريقة شبة تجريبية وبرنامج حاسوب يحتوي على هذه الطريقة، كما أنها من بين طرق INDO المستخدمة للتنبؤ بالطاقات اللازمة وهندسة عناصر الصف الأول و الثاني و لعناصر الانتقالية للصف الثالث، وكذلك لنمذجة الحالات الأرضية للجزيئات العضوية. والتنبؤ بالكيمياء الضوئية والنتائج المعدنية الانتقالية<sup>[1]</sup>.
- PRDDO: Partial Retention of Diatomic Differential Overlap.  
تم استخدام هذه الطريقة كوسيلة أولى للمركبات غير العضوية، الأطوار الصلبة و نمذجة البوليميرات. إلا أنها غير دقيقة نسبة للطرق الأخرى. وهناك اختلافات متعددة لهذه الطريقة تشمل: (PRDDO / M) أسلوب لإنتاج إمكانيات كهروستاتيكية. يستخدم أسلوب (PRDDO / M / FCP) القدرات الأساسية المجمدة. يستخدم (PRDDO / M / NQ) تقريباً يسمى " ليست مدارات متعامدة تماماً " من أجل إعطاء الحسابات القديمة على جزيئات كبيرة جداً<sup>[1]</sup>.
- PM3/TM: Parametric Model number 3/ Transition Metals.  
هو امتداد لطريقة PM3 ليشمل مدارات d للاستخدام مع الفلزات الانتقالية، خلافاً عن باقي الطرق التجريبية الأخرى. تعتمد هذه الطريقة على نتائج الفحص بالأشعة السينية لاستنتاج الهندسة الجزيئية. تعد هذه الطريقة ذات نتائج مقبولة<sup>[1]</sup>.

▪ TNDO: Typed Neglect of Differential Overlap.

تستخدم هذه الطريقة لإعادة إنتاج التغيرات الكيميائية RMN، هناك نوعين من هذه الطريقة: TNDO/1، TNDO/2<sup>[1]</sup>.

▪ SAM1: Semi-Ab initio Method 1.

يتم في هذه الطريقة إهمال بعض التكاملات المتضمنة في حسابات HF، تكون شاملة بما في ذلك المدارات d. تستخدم لتقدير معاملات الارتباط بالنسبة للجزيئات العضوية الكبيرة جدا. و تعد هذه الطريقة أدق بقليل من AM1 و PM3، ورغم أن الوقت المحدد للمعالجة يكون أطول إلا أنه يزيد من دقة طريقة SAM1 مقارنة بالطرق الشبه تجريبية<sup>[8]</sup>.

▪ Fenske-Hall Method.

تعد هذه الطريقة من الطرق المهمة في استبدال التفاعلات المدارية بتفاعلات الشحنة النقطية. و وصف الأنظمة للفائف المعدنية غير العضوية<sup>[1]</sup>.

▪ Gaussian Theory:

تعتبر نظرية غاوسيان (G1, G2, G3) من أنواع الطرق الحسابية الجيدة من أجل تصحيح منهجية التنبؤ بطاقات الحالات الأرضية للجزيئات العضوية لطرق Ab initio والحصول على نتائج عالية الدقة، تظهر هذه الطرق نقاط الضعف والقوة كبقية الطرق الشبه تجريبية الأخرى لاختبار الجزيئات بأكثر دقة، أما بالنسبة للأنظمة الانتقالية فتكون هذه الطريقة أقل دقة مقارنة بطرق Ab initio. نادرا ما تستخدم طريقة G1 لأن G2 لها دقة محسنة، وتعتبر طريقة جيدة لنمذجة الجزيئات الصغيرة، لكنها تكون ذات دقة ضعيفة عند استخدامها في المركبات المحتوية على ذرات الكلور<sup>[1]</sup>.

4.1.1.IV. نظرية الدالة الوظيفية للكثافة (DFT): Density Functional Theory

وهي طريقة عرفت اهتماما كبيرا في أواخر الثمانينات وحتى وقتنا الحاضر<sup>[19]</sup>، و تعرف الدالة الوظيفية بأنها دالة ينتج عن حلها دالة أخرى أي دالة الدالة، فتعتبر الطاقة تابع لدالة الكثافة<sup>[20,1]</sup>، و تعتمد هذه الطريقة على معادلة شرودنغر كمثباتها من طرق Ab initio و الطرق الشبه تجريبية، إلا أنها تستخدم التوزيع الإلكتروني المباشر ( دالة الكثافة الإلكترونية ) بدلا من الدالة الموجية<sup>[21, 22]</sup>. ويمكن التعبير عن الطاقة الأرضية  $E[\rho(\vec{r})]$  لنظام ما بالمعادلة التالية:

$$E[\rho(\vec{r})] = T_s[\rho(\vec{r})] + J[\rho(\vec{r})] + E_{xc}[\rho(\vec{r})] + E_{Ne}[\rho]$$

حيث:

$T_s[\rho(\vec{r})]$ : Kinetic energy of non-interacting system.

$J[\rho(\vec{r})]$ : Electron-Electron repulsion energy.

$E_{Ne}[\rho]$ : External potential.

$E_{xc}[\rho(\vec{r})]$ : Exchange – Correlation energy functional.

يتم حساب الدالة الوظيفية للترابط والتبادل  $E_{xc}[\rho(\vec{r})]$  التي تحتوي على مجموعة من المعلومات التي لا يمكن الحصول عليها، بجمع كل من الدالة الوظيفية للترابط  $E_c[\rho(\vec{r})]$  و الدالة الوظيفية للتبادل  $E_x[\rho(\vec{r})]$  علي النحو التالي:

$$E_{xc}[\rho(\vec{r})] = E_x[\rho(\vec{r})] + E_c[\rho(\vec{r})]$$

✓ طرائق نظرية الدالة الوظيفية للكثافة (DFT) **Density Functional Theory (DFT)**

على الرغم من الاختلاف في شكل الدالة الوظيفية التي تناسب جميع الأنظمة لحساب طاقة التبادل و الترابط  $E_{xc}[\rho(\vec{r})]$  بين طرائق نظرية الدالة الوظيفية للكثافة. إلا أن الشكل المثالي و الصحيح لهذه الدالة لا يزال مبهم. ومن بين تقريبات الدالة الوظيفية نذكر:

▪ LDA: Local Density Approximation.

تقريب الكثافة المحلية (LDA) هو أبسط تقدير للمشكلة الكاملة يعتمد على كثافة الإلكترونات فقط في الأنظمة ذات دوران عالي. استخدمت في حساب طاقة النطاق، أما نتائج الهندسة والحسابات الجزيئية تكون أقل دقة<sup>[1]</sup>.

▪ GGA: Gradient Corrected Approximation.

▪ الدوال الوظيفية الهجينة: يتم دمج نظرية الدالة الوظيفية للكثافة DFT مع نظرية هارترزي فوك HF لوصف الدالة الوظيفية لطاقة التبادل:

▪ B3LYP: (Becke's 3 parameter exchange correlation functional which uses 3 parameters) and LYP (The Lee, Yang and Parr correlation functional).<sup>[20,1]</sup>

هي الطريقة الأكثر استخدام للحسابات الجزيئية نتيجة للدقة العالية في نتائجها في مجموعة كبيرة من المركبات المختلفة و خاصة المركبات العضوية<sup>[1]</sup>.

#### 2.1.IV. تطبيقات الكيمياء الحاسوبية:

نظرا لأهمية الدراسات النظرية و ما توصلت إليه من نتائج ايجابية، وخاصة في مجالي الكيمياء والصيدلة، تزايدت نسبة الاهتمام بطرق الكيمياء الحاسوبية في أواخر القرن الماضي وبداية القرن الحالي، فكانت الطرق الحسابية وسيلة هامة لتوقع المركبات الناتجة الجديدة أو المجهولة، و فهم المشكلة بشكل كامل، رغم أن هذه الحسابات قد تكون غير كافية، إلا أنها تستبعد نسبة كبيرة من احتمالية استخدام مركبات غير مناسبة حيث تمكننا من تصميم بنية الجزيء من خلال التعرف على بعض خصائصه قبل تركيبته في المختبر بطرق حسابية سهلة وبسيطة بدلا من الطرق التجريبية التي قد تتطلب عدة شهور لتكوين مركب واحد<sup>[1, 11]</sup>.

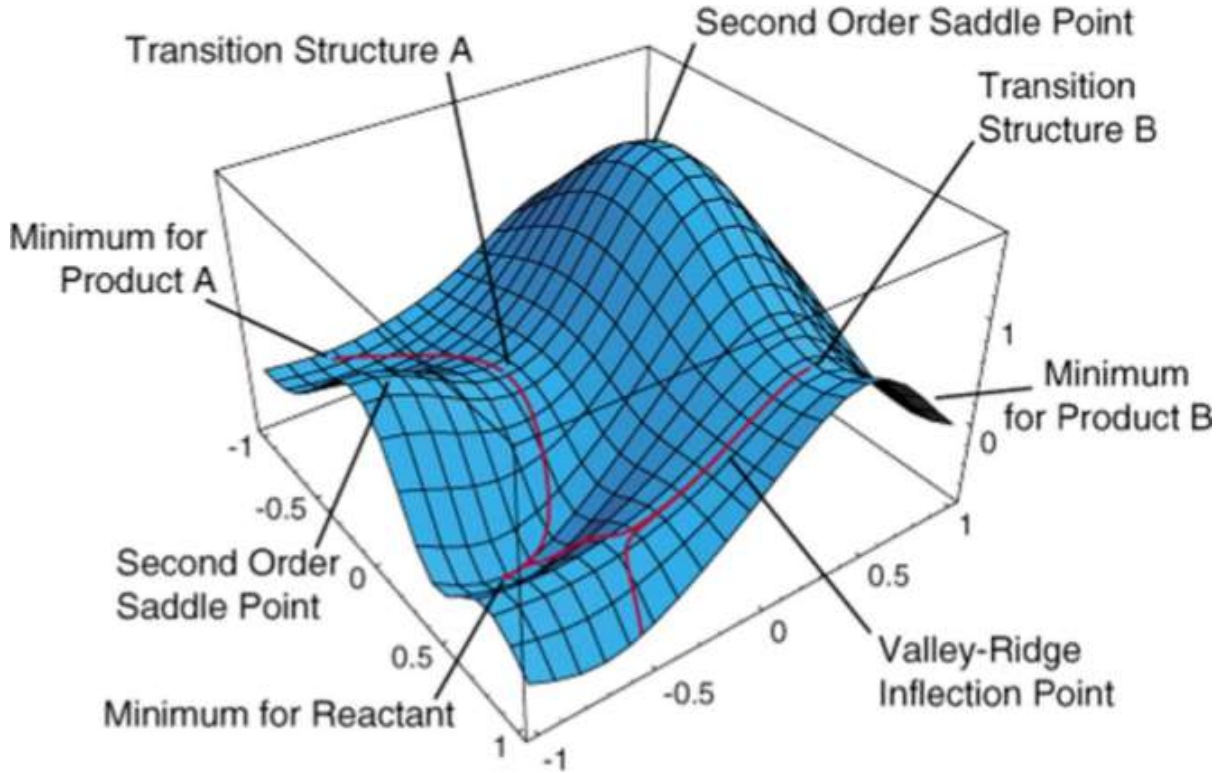
و لسهولة استخدام الطرق الحسابية في الوصول إلى نتائج نظرية لا يمكن الوصول إليها بأي طريقة من الطرق التجريبية كنتائج الترابط الجزيئي. تم استخدام النمذجة الحسابية من قبل مجموعة من الكيميائيين المختصين في الدراسات التجريبية للحصول على معلومات إضافية حول المركبات التي يتم فحصها في المختبر<sup>[1]</sup>.

و قد استخدمت في الكيمياء الحاسوبية العديد من البرامج (أكثر من 50 برنامج) المختلفة شملت: Gaussian 09 W، ويعد برنامج (GAUSSIAN, GAMESS, ORCA, Spartan)، من أهم هذه البرامج حيث يمكنه العمل في كل من نظام ويندوز و لينكس، و يكون مرفق ببرنامج إضافي يساعد في عملية تبادل الأوامر و الملفات من النوع (Gaussian Input File: .gjf ، Batch Control File: ، Avogadro Input File: .com ، Text File: .txt) كبرنامج Gauss View. وكذلك إخراج نتائج الحسابات الناتجة حسب طريقة التحكم في الأوامر والتعليمات المرفقة بمختلف الطرق الحسابات النظرية<sup>[23]</sup>، ومن أهم تطبيقات الكيمياء الحسابية التي عرفت اهتماما كبيرا نذكر:

#### 1.2.1.IV. البنية الجزيئية: Molecular Structure

✓ البنية الجزيئية الفراغية:

بمعرفة نقاط الاتزان يمكن الوصول إلى البنية الجزيئية الفراغية لمركب ما<sup>[1,2]</sup>، من خلال إيجاد العلاقة بين طاقة الجزيء و بنيته الجزيئية الفراغية التي تعرف بسطح الطاقة الكامنة (PES) Potential Energy Surface وهي من أساسيات الكيمياء الحسابية<sup>[2]</sup>.



الشكل (1.IV): مخطط سطح الطاقة الكامنة.

#### ❖ النقاط الحدية Stationary Points:

تكون هذه النقاط موازية للمستوي الأفقي المسؤول عن البنية الفراغية (يكون السطح مستويا)، ويعبر عنها رياضيا بالمعادلة التالية:

$$\frac{\partial E}{\partial q_1} = \frac{\partial E}{\partial q_2} = \frac{\partial E}{\partial q_3} \dots \dots \dots = 0$$

وهناك ثلاثة نقاط مهمة و مميزة على سطح الطاقة الكامنة:

#### 1. الحد الأدنى Minima:

يطلق الحد الأدنى عن النقاط الصغيرة التي تعبر عن أدنى قيمة لطاقة المتفاعلات والناتج والمركبات الوسيطة (حالة الاستقرار) ، ويمكن معرفة آلية التفاعل عن طريق معرفة المسار المتبع للانتقال من نقطة حدية إلى نقطة حدية أخرى. ويعرف بنسق التفاعل الفعلي: Intrinsic Reaction Coordinate (IRC).

## 2. الحالة الإنتقالية Transition State:

وهي عبارة عن نقطة حدية تمثل أعلى نقطة (الحد الأعلى) على خط مسار التفاعل الرابط بين نقطة الحد الأدنى الشاملة Global Minimum (للمتفاعلات) ونقطة الحد الأدنى النسبية Relative Minimum (للنواتج). تدعى بنقطة السرج Saddle Point التي تعبر عن الحالة الانتقالية.

## 3. نقاط سرج متعددة الرتب Hilltops أو Higher-Order Saddle Points:

وهي عبارة عن نقاط ذات الحد الأعلى تصل بين مسارين يربطان حالات الانتقالية.

### ❖ تهيئة البنية الفراغية Geometry Optimization:

بتغيير معاملات البنية الفراغية المدخلة (أطوال الروابط، قيم الزوايا،...) يمكننا تهيئة البنية الفراغية، وذلك بحساب الطاقة المقابلة لكل مجموعة من المعاملات إلى أن يتم الحصول على النقاط الحدية الأقرب أي الأقل طاقة.

### ❖ النقاط الحدية والاهتزازات:

من خلال حساب تردد الاهتزازات يمكن تحديد نوع النقاط الحدية، والحصول على بعض الخصائص الحرارية. حيث أن:

- إذا كانت جميع الترددات الاهتزازية ذات قيمة موجبة فهي تعبر عن نقاط الحد الأدنى Minima .
- إذا كانت هناك قيمة سالبة واحدة للترددات الاهتزازية فهي تمثل نقطة الحالة الانتقالية Saddle Point .
- إذا كانت هناك أكثر من قيمة سالبة واحدة للترددات الاهتزازية فهي تمثل نقطة سرج ذي رتبة عالية Hilltops.

التردد السالب هو تردد وهمي، لأن عملية الحساب تتطلب جذر تربيعي لثابت القوة و الجذر التربيعي لعدد سالب يكون وهمي.

### ❖ طاقة الصفر المطلق Zero Point Energy:

ZPE و هي طاقة الجزيء عند الصفر المطلق و التي تعبر عن حالة اهتزاز دائمة للجزيء حتى الوصول إلى درجة الصفر المطلق<sup>[2]</sup>.

✓ سرعة التفاعل:

من خلال التعرف على الحالة الانتقالية و قيمة الطاقة للمتفاعلات و النواتج يمكن توقع سرعة التفاعل<sup>[1,2]</sup>.

#### 2.2.1.IV. الفعالية الكيميائية: Chemical Reactivity

من خلال الدراسة النظرية بطرق الكيمياء الحاسوبية للجزيئات يمكن معرفة أماكن تموضع الإلكترونات في الجزيء و التعرف على المواقع الفقيرة و الغنية بالالكترونات. كما يمكن حساب شحنات الذرات المنفردة و حساب عزم ثنائي القطب بالإضافة إلى الخصائص الحرارية مثل طاقة جيبس و الأنتالبية<sup>[1,2]</sup>.

#### 3.2.1.IV. المطيافية:

تساعد الطرق النظرية في وضع تكهنات حول أنواع مختلفة من المطيافية IR, RMN, RAMAN, UV و حساب المطيافية لمختلف المركبات الجديدة المجهولة<sup>[1,2]</sup>.

#### 3.1.IV. أمثلة حول تطبيقات الكيمياء الحاسوبية:

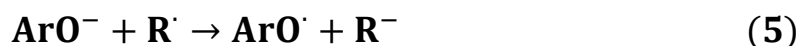
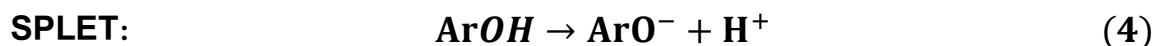
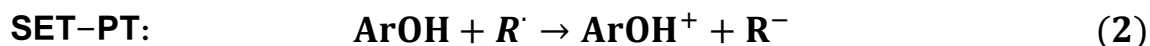
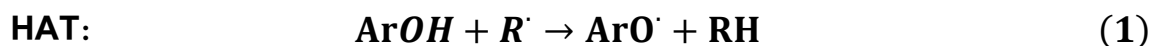
##### 1. 3.1.IV. تحليل الخصائص المضادة للأكسدة:

اهتم العلماء خلال السنوات الأخيرة بالبحث عن عوامل تساعد في التخفيف والقضاء على المشاكل الناتجة عن عملية الأكسدة<sup>[24]</sup>، و تثبيط الجذور الحرة المسببة لها و التي تعرض خلايا الإنسان إلى أمراض خطيرة قد تؤدي إلى تشويه الخلايا أو تدميرها<sup>[25]</sup>. و قد لجأت في الخطوة الأولى إلى عملية البحث عن المواد الغذائية وما تحتويه من مواد فعالة مضادة للأكسدة.

وقد أثبتت هذه الدراسات إلى وجود ارتباط كبير بين المواد الفعالة (التمثلة أساسا في الفلافونويدات والبولي فينول) و الفعالية المضادة للأكسدة<sup>[26]</sup>. حيث استخدمت طريقة DFT المستخدمة على نطاق واسع في الكشف عن الخصائص المضادة للأكسدة للفلافونويدات و بعض المركبات الأخرى<sup>[27, 28]</sup>، وقد استخدمت عدة مذيبات مناسبة (الماء<sup>[29]</sup>، الإيثانول<sup>[30]</sup>) لاستخراج الفلافونويدات من مختلف المركبات الطبيعية، بالإضافة إلى الطور الغاز gas.

وهناك ثلاث أنواع أساسية لآليات التفاعل المتعلقة بمضادات الأكسدة (SET-PT, HAT)، وهناك ثلاث أنواع أساسية لآليات التفاعل المتعلقة بمضادات الأكسدة (SET-PT, HAT)، والتي يمكن أن تحدث بالتوازي إلا أنها تختلف في نسبة التفاعل، كما يمكن أن تحدث (SPLET)<sup>[31, 32]</sup>، والتي يمكن أن تحدث بالتوازي إلا أنها تختلف في نسبة التفاعل، كما يمكن أن تحدث

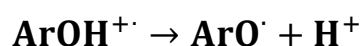
مع معادلات مختلفة في الكيمياء الحرارية<sup>[27, 28]</sup>، حيث تمثل الفلافونويدات (ArOH) و (R) هي الجذور الحرة، تلخصت في المعادلات التالية:



• الآلية الأولى (HAT) **Hydrogen atom transfer**: هي عملية نقل ذرة هيدروجين لتنشيط الجذور الحرة بشكل مباشر ( $\text{ArOH} \rightarrow \text{ArO}^{\cdot} + \text{H}^{\cdot}$ )، يصاحبها تغير في أنتالبية تفكك الجزيئات (BDE) bond dissociation enthalpies لكل من ArOH و RH، وهي خاصية جزيئية تتحكم في عملية تنشيط الجذور الحرة المحتملة للمركب

• الآلية الثانية (SET-PT) **Single electron transfer followed by proton transfe**:

تمثل عملية نقل إلكترون يرافقها نقل بروتون:



وهو جهد التأين (IP) ionization potential لكل من ArOH و  $\text{R}^{-}$ ، والشرط الأساسي لحدوث التفاعل هو أن يكون (IP) للمركب الأساسي اقل من (IP) لـ:  $\text{R}^{-}$ <sup>[33]</sup>.

• الآلية الثالثة (SPLET) **Sequential proton loss electron transfer**: وهي عملية نقل

بروتون يرافقها حذف إلكترون. تتحكم فيها انحلالية (OH) و أنتالبية تفكك المركب (PDE)proton dissociation enthalpy<sup>[34, 35]</sup>.



### IV.3.1.2. تحديد انتالبية تشكل المركبات:

بعد الاهتمام الكبير الذي حظي به الجانب النظري للكيمياء الحاسوبية خلال السنوات الأخيرة، و الذي شمل تطوير الطرق النظرية الكمية، تم استخدامها في تحديد أنتالبية المركبات العضوية و اللاعضوية<sup>[36]</sup>، وهي من خصائص الترموديناميك الحرارية للجزيئات متعددة الذرات، وقد استخدمت طريقة Ab Initio في تحديد حرارة التشكل<sup>[37, 38]</sup>، كما استخدم معظم العلماء طرق DFT: B3LYP<sup>[39]</sup> و B3PW91<sup>[40]</sup> بمجموعات أساسية مختلفة في حساب أنتالبية العديد من المركبات، إضافة إلى بعض الطرق الأخرى كطرق<sup>[41,42]</sup> PM2, PM4 . وتعتبر طرق الكيمائية المركبة (G2, G3, CBS, Gn) من أحسن الطرق المعتمدة في تقدير الخصائص الترموديناميكية لمختلف المركبات و التفاعلات الكيميائية<sup>[43,44]</sup>.

كما تستخدم عدة طرق إضافية لتحديد قيمة أنتالبية للجزيئات كطريقة التذري و فصل الروابط ، إذ لا يمكن استنتاج قيمة الأنتالبية مباشرة بالطرق النظرية<sup>[45]</sup>.

#### • طريقة التذري:

وهي الطرق الشائعة المعتمدة في حساب أنتالبية تشكل الجزيئات ، حيث يتم حساب أنتالبية التشكل عند درجة الحرارة (0K) بطرح طاقات التذري  $\sum D_0$  من الانتالبية المعلومة لتشكيل الذرات المعزولة، وفق المعادلة التالية:

$$\Delta_f H^0(M, 0K) = \sum x \Delta_f H^0(X, 0K) - \sum D_0(M)$$

$$(1) \cdot \Delta_f H^0(M, 0K) = \sum x \Delta_f H^0(X, 0K) - [ \sum x \epsilon_0(X) - \epsilon_0(M) - \epsilon_{ZPE}(M) ]$$

$\epsilon_0$ : the total electronic energy.  $\epsilon_{ZPE}$ : zero-point energy of the molecule.

وبعد حساب  $\Delta_f H^0(M, 0K)$  يتم تصحيح هذه القيمة من اجل تحديد انتالبية التشكل عند 298 K وفق

العلاقة التالية:

$$(2) \dots \Delta_f H^0(M, 298K) = \Delta_f H^0(M, 0K) + [H^0(M, 298K) - H^0(M, 0K)] - \sum x [H^0(X, 298K) - H^0(X, 0K)]$$

حيث:

$\Delta_f H^0$  ✓: انتالبية التشكل في الحالة القياسية للغاز المثالي.

$M$  ✓: رمز الجزيء المدروس.

$X$  ✓: رمز للعنصر المكون للجزيء.

$x$  ✓: المعاملات الاستكيومترية (الممثلة في الجزيء على الشكل التالي:  $C_x H_y O_z$ )

ومن خلال معرفة انتالبية تشكل الجزيء يمكن حساب طاقة جيبس الحرة من خلال تطبيق العلاقة

التالية [5-46]:

$$(3) \dots \Delta_f G^0(298K) = \Delta_f H^0(298K) - T [S^0(M, 298K) - \sum S^0(X, 298K)]$$

حيث:  $S^0$ : الانتروبي المطلقة في الحالة القياسية بوحدة  $J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$ .

• طريقة فصل الروابط:

تعتمد هذه الطريقة على التفاعلات الايزوديسمية في التعرف على أنتالبية تشكل احد المركبات

بمعرفة أنتالبية تشكل بقية المركبات والأنتالبية التفاعلات التي تحدد بالطرق النظرية، والملخصة في

المعادلة التالية:

$$(4) \dots \Delta_r H(298K) = \sum \Delta_f H(298K)_{\text{products}} - \sum \Delta_f H(298K)_{\text{reactants}}$$

وبما أن أنتالبيات تشكل النواتج والمتفاعلات هي نفسها يمكن أن تطبيق المعادلة كالاتي:

$$(5) \dots \Delta_r H(298K) = \sum (E_0 + H^0)_{\text{products}} - \sum (E_0 + H^0)_{\text{reactants}}$$

كما يمكن تحديد طاقة جيبس بنفس الطريقة وفق المعادلة التالية [47]:

$$(6) \dots \Delta_r G(298K) = \sum (E_0 + G^0)_{\text{products}} - \sum (E_0 + G^0)_{\text{reactants}}$$

### IV.3.1.3. دراسة العلاقة بين البنية الفراغية و مضادات الأكسدة:

ارتكز اهتمام الباحثون في معالجة الأمراض السرطانية التي انتشرت في الآونة الأخيرة انتشارا كبيرا، والبحث عن نتائج تجريبية ونظرية لتقادي العوامل المؤكسدة المسببة لانقسام الخلايا وتشويه التركيبة الخلوية للكائن الحي. وقد اعتمدت على دراسة العديد من مضادات الأكسدة باختلاف تركيبها الكيميائي، والتي تواجدها في عدد هائل من نباتات مختلفة وخاصة حمض الغاليك المنتشر في كم هائل من أنواع النباتات<sup>[48, 49]</sup>.

حيث اعتمدت على الحسابات النظرية لتحديد قيمة HOMO و LUMO ، أنتالبية تفكك الرابطة O-H، طاقة التأين،..... وغيرها من الخصائص الالكترونية من أجل تحديد العلاقة بين بنية الجزيء وخصائصه المضادة للأكسدة. حيث تعتبر آليات التفاعل (HAT، SET-PT، SPLET) أفضل طريقة للمقارنة بين مواضع تثبيط الجذور الحرة للمركبات الفينولية لقدرتها على التبرع بالبروتونات والالكترونات لتقادي تأثير المؤكسدة النشطة الناتجة عن تفكك مجموعات الهيدروكسيل O-H (BDE)، و كلما كانت قيمة (BDE) اقل كانت الرابطة O-H سهلة التفكك، فيعتبر الجزيء في هذه الحالة مضاد أكسدة قوي<sup>[50]</sup>. وبذلك يمكن تحسين بنية الجزيئات المدروسة للحصول على هياكل جزيئية اقل طاقة ( الأكثر استقرار)، من خلال دراسة تأثير المجموعات الوظيفية (المانحة والجاذبة للالكترونات) المجاورة لمجموعات الهيدروكسيل O-H<sup>[51]</sup>.

### IV.3.1.4. العلاقة بين البنية والفعالية البيولوجية:

أثبتت دراسات الكيمياء الحاسوبية وجود علاقة بين خصائص البنيوية والفعالية البيولوجية للجزيء. حيث تم تحديد قيم ثوابت الفعالية البيولوجية الأعلى التي تتحكم فيها مجموعة من التغيرات تتمثل في:

- **المساحة والحجم الجزيئي:** يشمل كل من شكل وحجم الجزيء والمساحة الموافقة لكل مستبدل والتي ترتبط ارتباط وثيق مع الخاصية الليوفيلية (المحبة للدهون) للمجموعات غير القطبية<sup>[52]</sup>.
- **طاقة الإماهة:** تتشكل روابط هيدروجينية بين الماء و الجزيئات القطبية حيث ترتبط المجموعات المانحة للبروتونات بذرات الأوكسجين أما المجموعات الجاذبة فترتبط بذرات الهيدروجين. حيث يؤثر في الفعالية البيولوجية من خلال مقارنته بالخصائص الليوفيلية (المحبة والكارهة للماء).
- **الإستقطابية:** تتعلق الإستقطابية بحجم الجزيء، و لا تتعلق بالحرارة لان التأثير الحراري لا يؤدي إلى ظهور عزم ثنائي قطب للجزيئات غير القطبية. بخلاف الجزيئات القطبية التي تتعلق بالحجم و الحرارة لوجود عزم ثنائي قطب دائم<sup>[52, 53]</sup>.

وعلى هذا الأساس يتم تحديد المواضع التي يكون لها انتقائية فراغية عالية والتي يمكن أن نتعرف من خلالها على الطاقة و الهندسة الجزيئية و بمساعدة الحسابات الإحصائية لبولتزمان يمكن تحديد العلاقة بين الثوابت البنيوية و الفعالية البيولوجية<sup>[54]</sup>.

### IV.3.1.5. دراسة التحليل الطيفي:

من بين أهم تطبيقات الكيمياء الحاسوبية دراسة التغيرات التي تطرأ على مختلف أطيف الأشعة الكهرومغناطيسية (( $^{13}C, H^1$ ) RMN, IR, RAMAN, (uv-vis)، حيث يمكن التعرف على هذه التغيرات في أطيف الجزيئات التي تم فحصها من خلال دراسة نظرية سريعة للبنية الالكترونية بناء على موقع العنصر في الجدول الدوري.

وقد تم اختبار الأطيف التجريبية و النظرية لطيف أشعة المطيافية تحت الحمراء FT-RAMAN, FT-IR, و ( $^{13}C, H^1$ ) RMN و تحليل الاهتزازات الطيفية بنظرية الدالة الوظيفية للكثافة DFT، حيث يمكن مقارنة التحولات المميزة في شدة نطاق هذه الأطيف. والتي من خلالها يمكن التعرف على التركيب الهندسي للمركبات المدروسة<sup>[55]</sup>. والتعرف على المسافة بين الذرات و الزوايا بين الروابط و توزيع الشحنة الالكترونية حول ذرات الكربون والهيدروجين للجزيء<sup>[56]</sup>. وتؤدي هذه التغيرات إلى وجود روابط بين الأطيف التجريبية و النظرية والتي يمكن من خلالها التعرف عن المجموعات الوظيفية المكونة للجزيء و الخصائص الجزيئية للتعرف على الجزيء بصورة كاملة .

### IV.3.1.6. دراسة إمكانية الأكسدة و الإرجاع:

تمت دراسة إمكانية الأكسدة و الإرجاع لمركبات كيميائية مختلفة بطريقة Ab Initio و DFT من خلال دراسة التصحيحات الأنتروبية و الترموديناميكية للحصول على الطاقة الحرة من تفاعلات الأكسدة والإرجاع. والتي يمكن الحصول عليها بالطرق التجريبية باستخدام الطرق الكهروكيميائية (Volta-Metry)، إلا أن الطرق النظرية أدق نظرا للأخطاء التجريبية الناجمة عن مقارنة الجزيئات بمركبات المرجع، وصعوبة التوازن الكيميائي المعقد.

وقد أثبتت الدراسات النظرية عن أهمية فهم طبيعة تفاعلات نقل الإلكترون المحددة لسلوك وخصائص الأكسدة للجزيئات المدروسة<sup>[57]</sup>. التي تكون فعالة في دراسة آليات التفاعل الكهروكيميائي لمختلف المركبات العضوية من خلال التعرف على العلاقة بين إمكانية التآين، طاقة جيبس الحرة، الجهد الكهربائي، و مستويات الطاقة HOMO أعلى مستوى طاقة ( له قدرة على التبرع بالالكترونات)، و LUMO اقل مستوى طاقة (له القدرة على اكتساب الكترونات)<sup>[58]</sup>.

الفصل الرابع:

المواد والطرق

## 2.IV. المواد والطرق:

### 2.IV.1. الأجهزة المستعملة:

- جهاز كمبيوتر من نوع (acer)، ذو الخصائص التالية: المعالج (Aspetre ES 15) ، سعة القرص الصلب 500GB HDD ، الذاكرة (2GB DDR3L Memory). بنظام تشغيل وينداوز Windows10.

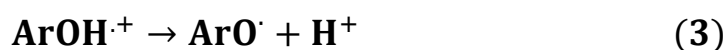
### 2.IV.2. البرامج المستعملة:

- برنامج GAUSSIAN 09 W: وهو برنامج يستخدم لغرض الحسابات النظرية لطاقة و بنية و خصائص الجزيئات، و هو برنامج لتحسين هندسة و بنية الجزيئات و نمذجة التفاعلات و تحليل الاهتزازات و ساب الترددات، و قد تم العمل بالإصدار التاسع.
- برنامج Gauss View 6.0.16: من خلال هذا البرنامج نستطيع إدخال بيانات الحسابات من معلومات عن الشكل الفراغي و الشحنة و طريقة العمل المتبعة و نوع العمل المراد تنفيذه، و قد تم العمل بالإصدار السادس.

### 2.IV.3. الطرق المستعملة:

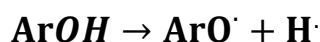
تمت دراسة الفعالية المضادة للأكسدة في بعض المركبات الموجودة في حبوب اللقاح بالطرق النظرية و ذلك بالاعتماد على الطرق الشبه تجريبية Semi- Empirical Method. المستخدمة في برنامج GAUSSIAN-09، عن طريق تحديد قيمة الطاقة الحرارية (الانتالبية H) لمختلف التفاعلات الحرارية الممكنة للمركبات المدروسة، والتي تظهر اختلافات عديدة بين طبيعة المركبات المدروسة و خصائصها الجزيئية، حيث تم تحديد انتالبية ( $\Delta H$ ) بعض المركبات بالطرق الشبه تجريبية التالية: AM1, PM3, PM6 في مذيبات مختلفة (الماء، الميثانول، الغاز).

حيث تم دراسة ثلاث آليات أساسية لآليات التفاعل المتعلقة بمضادات الأكسدة (HAT، SET- (PT، SPLET)<sup>[32,31]</sup>، حيث تمثل المركبات الفينولية ب: (ArOH) و الجذور الحرة ب: (R)، وفقا للمعادلات التالية:





• الآلية الأولى (HAT) **Hydrogen atom transfer (HAT)**: هي عملية نقل ذرة هيدروجين لتثبيط الجذور الحرة بشكل مباشر.



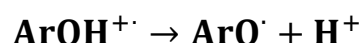
يُصاحبها تغير في أنتالبية تفكك الجزيئات (bond dissociation enthalpies (BDE) لكل من

ArOH و RH، حيث يتم حساب قيمة (BDE) بالمعادلة التالية:

$$(6) \quad \text{BDE} = \text{H}(\text{ArO}^{\bullet}) + \text{H}(\text{H}^{\bullet}) - \text{H}(\text{ArOH})$$

• الآلية الثانية (SET-PT) **Single electron transfer followed by proton transfe (SET-PT)**:

تمثل عملية نقل إلكترون يرافقها نقل بروتون:



وهو جهد التأين (IP) ionization potential لكل من ArOH و R<sup>-</sup>، والشرط الأساسي لحدوث التفاعل هو أن يكون (IP) للمركب الأساسي اقل من (IP) لـ: R<sup>-</sup> [33]. والذي يتم حسابه وفق المعادلة التالية:

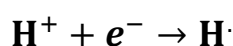
$$(7) \quad \text{IP} = \text{H}(\text{ArOH}^{\bullet+}) + \text{H}(e^-) - \text{H}(\text{ArOH})$$

و أنتالبية تفكك المركب (PDE) proton dissociation enthalpy.

$$(8) \quad \text{PDE} = \text{H}(\text{ArO}^{\bullet}) + \text{H}(\text{H}^+) - \text{H}(\text{ArOH}^{\bullet+})$$

• الآلية الثالثة (SPLET) **Sequential proton loss electron transfer (SPLET)**: وهي عملية نقل

بروتون يرافقها حذف إلكترون. تتحكم فيها انحلالية (OH) [35,34].



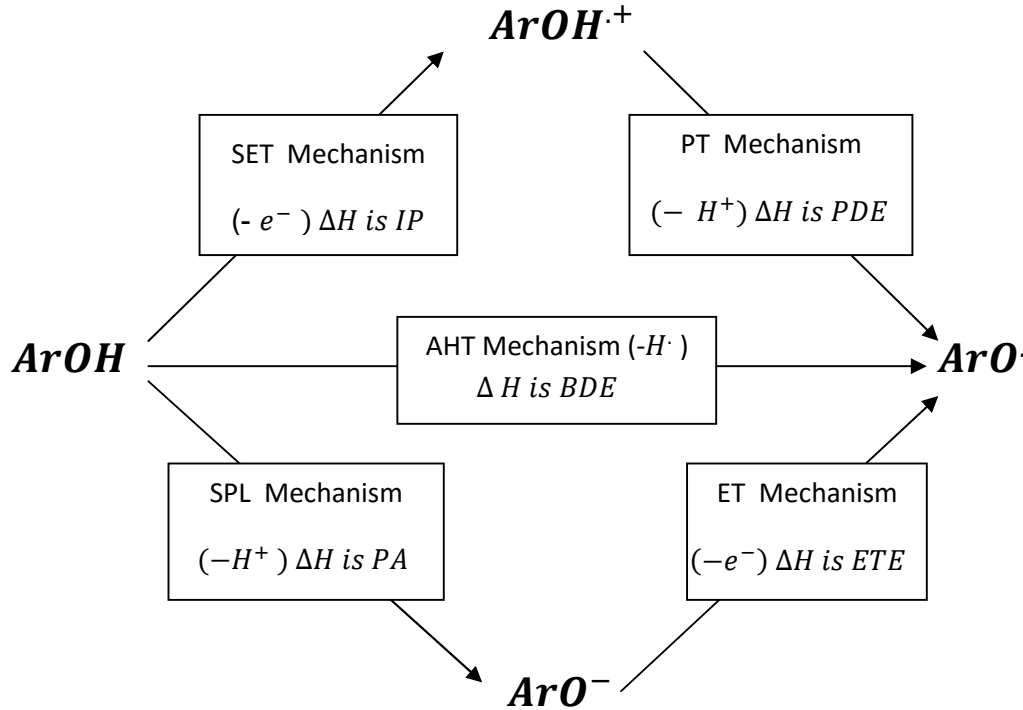
حيث يتم حسابه كل من (PA) proton Affinity و (ETE) Electron Transfer Enthalpy

وفق المعادلتين التاليتين:

$$(9) \quad \text{PA} = \text{H}(\text{ArO}^-) + \text{H}(\text{H}^+) - \text{H}(\text{ArOH})$$

$$(10) \quad ETE = H(\text{ArO}\cdot) + H(e^-) - H(\text{ArO}^-)$$

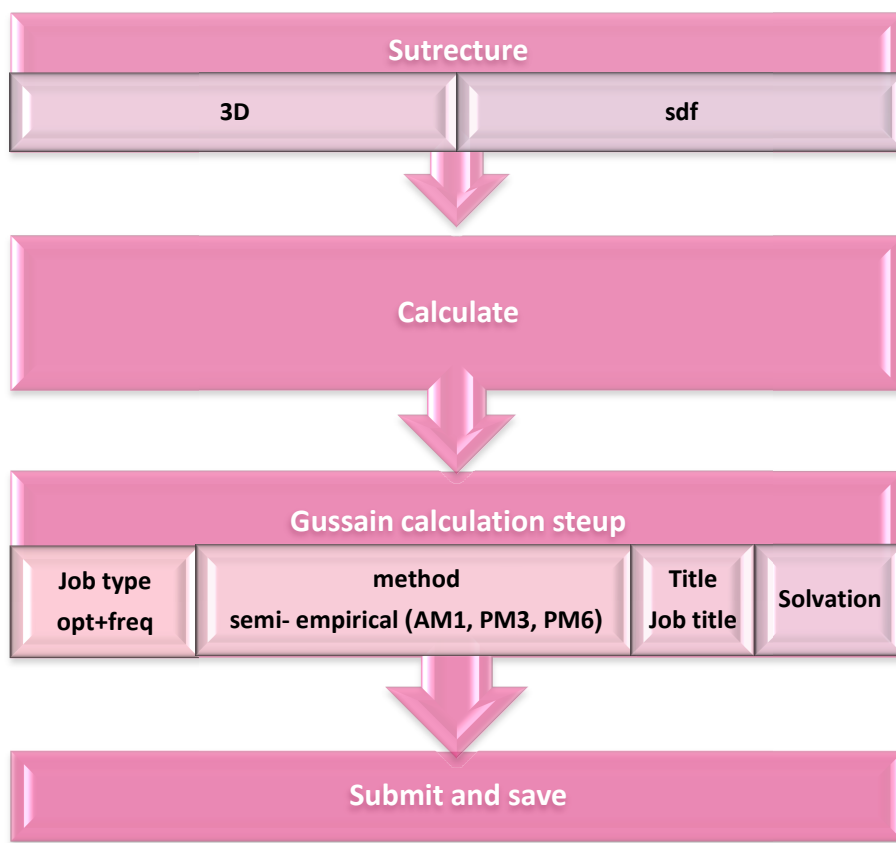
ويمكن تلخيص آليات التفاعل في المخطط الموضح في الشكل (2.IV).



الشكل (2.IV): مخطط آليات تفاعل المركبات الفينولية.

#### ❖ مخطط العمل:

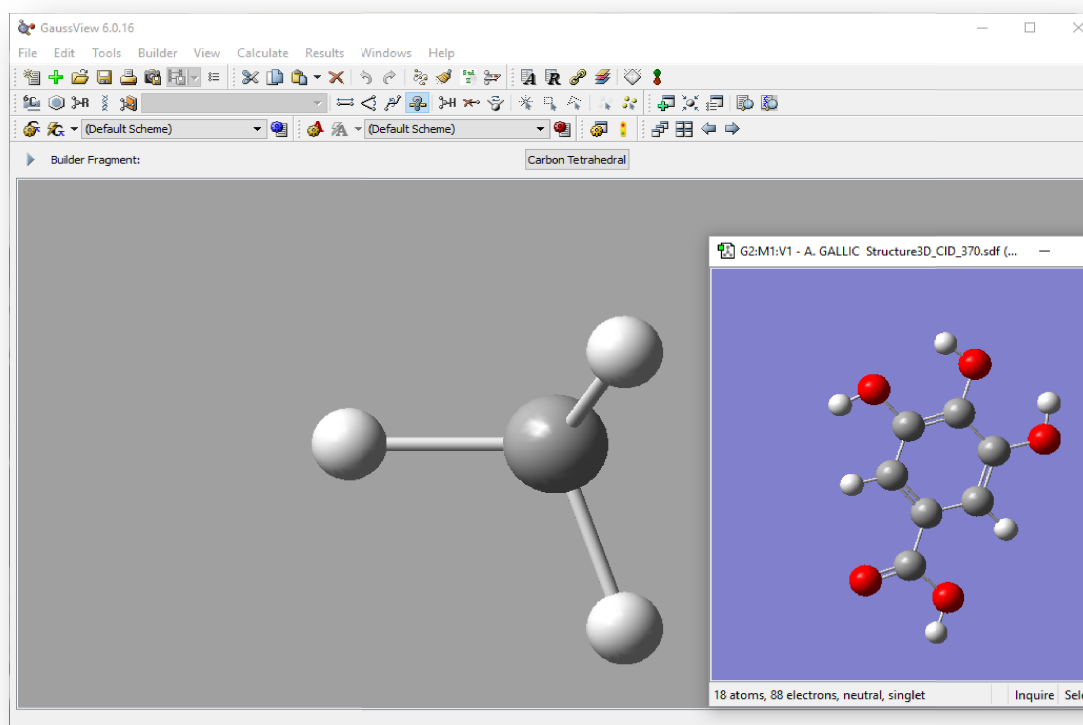
تمت هذه العملية بتحديد قيم الطاقة الحرارية للمركبات الداخلة في التفاعل (المتفاعلات و النواتج)، و المتمثلة في بعض المركبات الفينولية في أوساط تفاعل مختلفة (الماء، الميثانول، الغاز). وفقا لمخطط العمل الموضح في الشكل (3.IV):



الشكل (3.IV): مخطط العمل لتحديد انتالبية المركبات الفيئولية.

#### الهيكلية الجزيئية Sutrecture:

تم الحصول على الصيغة الجزيئية لبعض المركبات الفيئولية باستخدام قاعدة البيانات في الرابط التالي: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/search.cgi> ، حيث تم تنزيل صياغة جزيئية ثلاثية الأبعاد (3D) للمركبات الفيئولية في ملف من نوع (sdf). ويتم العمل به و استيراده في نافذة GaussView. كما هو موضح في الشكل (4.IV)



الشكل (4.IV): فتح ملف SDF في نافذة العمل لبرنامج GaussView .

الفصل الرابع:

النسائج والمنائج

### 3.IV. النتائج و المناقشة:

تمت دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لبعض المواد الفعالة الموجودة في حبوب اللقاح بالطرق النظرية و بالاعتماد على الطرق الشبه تجريبية Semi- Empirical Method. المستخدمة في برنامج GAUSSIAN-09، عن طريق تحديد قيمة الفرق في الطاقة الحرارية (الانتالبية  $\Delta H$ ) لمختلف التفاعلات الحرارية الممكنة للمركبات المدروسة، والتي تظهر اختلافات عديدة بين طبيعة المركبات المدروسة و خصائصها الجزيئية، حيث تم تحديد انتالبية ((Thermal correction to Enthalpy (H)) المركبات عند درجة حرارة ( 298.15 K)، بثلاث طرق شبه تجريبية: AM1, PM3, PM6 في ثلاث مذيبات مختلفة (الماء، الميثانول، الغاز).

#### 3.IV.1. تقدير الانتالبية بطريقة AM1:

##### 1.1.3.IV. الغاز GAZ:

الجدول (1.IV): قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة AM1 في الغاز.

method	Compaund		GAS			
			ARO(.)	ARO (-1)	AROH (·+1)	AROH
AM1	gallic acid	H (KJ/mol)	342.3599	343.7016	371.3271	371.8417
	caffiec acid		421.3166	427.35	451.4757	457.9345
	chlorogenic acid		930.1936	936.2454	960.5838	966.8929
	p-coumaric acid		404.9938	412.2718	437.2665	443.2185
	vanillin		388.9678	391.5907	419.8306	424.6983
	naringenin		674.3938	676.3183	702.2635	707.5171

##### 1.1.3.IV.2. الماء WATER:

الجدول (2.IV): قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة AM1 في الماء.

method	Compaund		WATER			
			ARO(.)	ARO (-1)	AROH (·+1)	AROH
AM1	gallic acid	H (KJ/mol)	340.8529	341.0603	370.9385	372.0911
	caffiec acid		340.8529	341.0603	370.9385	455.9522
	chlorogenic acid		927.694	932.6669	958.5385	964.0310
	p-coumaric acid		404.0329	410.1976	435.5494	441.6038
	vanillin		388.4427	390.1834	416.3780	423.3750
	naringenin		669.2977	674.4253	700.4597	705.2933

### 3.1.3.IV. الميثانول METHANOL:

الجدول (3.IV): قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة AM1 في الميثانول.

method	Compaund		METHANOL			
			ARO(.)	ARO (-1)	AROH (·+1)	AROH
AM1	gallic acid	H (KJ/mol)	372.1567	341.0839	370.7547	372.1567
	caffiec acid		340.8922	341.0839	370.7547	372.1567
	chlorogenic acid		927.7519	932.8060	958.6724	964.1466
	p-coumaric acid		404.0723	410.2028	435.6912	441.6642
	vanillin		388.4427	390.2201	416.4463	420.9044
	naringenin		669.3082	674.4856	700.4545	705.38

### 3.IV.2. تحديد الانتالبية بطريقة PM3:

### 2.3.IV.1. الغاز GAZ:

الجدول (4.IV): قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة PM3 في الغاز.

method	Compaund		GAS			
			ARO(.)	ARO (-1)	AROH (·+1)	AROH
PM3	gallic acid	H (KJ/mol)	335.5178	340.7846	368.5966	371.8417
	caffiec acid		412.0039	417.0843	445.9018	450.7668
	chlorogenic acid		906.9395	910.6415	939.4433	945.0487
	p-coumaric acid		393.2578	399.9792	429.2876	433.898
	vanillin		374.4803	377.0979	406.3066	412.6656
	naringenin		652.4078	658.2969	687.7629	691.8403

### 2.3.IV.2. الماء WATER:

الجدول (5.IV): قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة PM3 في الماء.

method	C0ompaund		WATER			
			ARO(.)	ARO (-1)	AROH (·+1)	AROH
PM3	gallic acid	H (KJ/mol)	334.4125	336.1533	368.1502	367.8561
	caffiec acid		410.8566	415.2044	442.4125	446.6395
	chlorogenic acid		903.0722	907.7246	938.7448	943.0270
	p-coumaric acid		392.7091	398.4433	425.3204	432.7716
	vanillin		371.6579	375.7931	405.8419	409.2235
	naringenin		651.7226	656.7925	686.6233	689.9183

### 3.2.3.IV الميثانول METHANOL:

الجدول (6.IV): قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة PM3 في الميثانول.

method	Compaund		METHANOL			
			ARO(.)	ARO (-1)	AROH (·+1)	AROH
PM3	gallic acid	H (KJ/mol)	334.4466	336.1165	368.1239	367.9087
	caffiec acid		410.8881	415.2700	442.3914	446.6868
	chlorogenic acid		904.9757	907.8558	938.2250	941.7511
	p-coumaric acid		392.7222	398.4327	425.4307	432.8032
	vanillin		371.6710	375.8324	405.8681	409.2288
	naringenin		651.7698	656.8580	686.6732	689.9604

### 3.3.IV تحديد الانتالبية بطريقة PM6:

#### 1.3.3.IV الغاز GAZ:

الجدول (7.IV): قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة PM6 في الغاز.

method	Compaund		GAS			
			ARO(.)	ARO (-1)	AROH (·+1)	AROH
PM6	gallic acid	H (KJ/mol)	301.6174	304.2771	326.712	328.2453
	caffiec acid		379.7575	384.7697	405.0543	407.6404
	chlorogenic acid		830.0780	835.5207	851.7857	858.0318
	p-coumaric acid		368.4154	375.885	393.2946	398.7321
	vanillin		353.8937	359.129	377.8961	381.6584
	naringenin		609.8773	612.7129	632.6195	637.2876

#### 2.3.3.IV الماء WATER:

الجدول (8.IV): قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة PM6 في الماء.

method	Compaund		WATER			
			ARO(.)	ARO (-1)	AROH (·+1)	AROH
PM6	gallic acid	H (KJ/mol)	296.6211	300.2758	321.9624	322.5584
	caffiec acid		377.1110	380.5137	403.3161	404.5554
	chlorogenic acid		825.3232	829.0515	851.2868	853.0354
	p-coumaric acid		366.5408	372.3038	390.9579	396.0619
	vanillin		352.6256	356.2698	374.8268	379.6709
	naringenin		605.2328	609.1029	628.8991	633.0238

### 3.3.IV. الميثانول METHANOL: 3

الجدول (9.IV): قيم انتالبية المركبات الفينولية بطريقة PM6 في الميثانول.

method	Compaund		METHANOL			
			ARO(.)	ARO (-1)	AROH (-.+1)	AROH
PM6	gallic acid	H (KJ/mol)	296.6762	300.3545	321.8442	322.6503
	caffiec acid		377.1950	380.6922	403.4448	404.6578
	chlorogenic acid		825.3968	829.3219	851.4837	849.3414
	p-coumaric acid		366.6090	372.3300	391.0997	396.1538
	vanillin		352.6046	356.3486	374.8662	379.7418
	naringenin		603.7100	609.2551	628.9726	633.163

### 3.IV. 4. طريقة حساب انتالبية آليات التفاعل:

اعتمدنا في طريقة حساب انتالبية الآليات الأساسية للتفاعل على قيم الانتالبية المسجلة في الجداول السابقة، بعد تحويل الوحدات إلى وحدة ( $\text{KJ.mol}^{-1}$ )، مع استخدام ثوابت الانتالبية التالية:

الانتالبية	H(H <sup>+</sup> )	H(e <sup>-</sup> )	H(H <sup>·</sup> )
القيمة ب: $\text{KJ.mol}^{-1}$	6.197	3.145	6.197



وهي عملية نقل ذرة هيدروجين بطريقة مباشر، تتعلق بقيمة أنتالبية تفكك الجزيئات bond dissociation enthalpies (BDE) حيث تم حسابها بالطريقة التالية:

$$\text{BDE} = \text{H}(\text{ArO}^{\cdot}) + \text{H}(\text{H}^{\cdot}) - \text{H}(\text{ArOH})$$

الجدول (10.IV): قيم BDE للمركبات الفينولية بآلية HAT.

Method	Compound	HAT $\Delta H$ (KJ/mol) = (BDE)		
		GAZ	WATER	METHANOL
AM1	Gallic acid	-23.285	-25.041	6.197
	Caffiec acid	-30.421	-108.902	-25.068
	Chlorogenic acid	-30.502	-30.139	-30.198
	p-Coumaric acid	-32.028	-31.374	-31.395
	Vanillin	-29.533	-28.735	-26.265
	Naringenin	-26.926	-29.799	-29.875
PM3	Gallic acid	-30.127	-27.247	-27.265
	Caffiec acid	-32.566	-29.586	-29.602
	Chlorogenic acid	-31.912	-33.758	-30.578
	p-Coumaric acid	-34.443	-33.865	-33.884
	Vanillin	-31.988	-31.368	-31.361
	Naringenin	-33.235	-31.998	-31.994
PM6	Gallic acid	-20.430	-19.740	-19.777
	Caffiec acid	-21.686	-21.247	-21.266
	Chlorogenic acid	-21.757	-21.515	-17.748
	p-Coumaric acid	-24.120	-23.324	-23.348
	Vanillin	-21.568	-20.848	-20.941
	Naringenin	-21.213	-21.594	-23.256

بينت نتائج الجدول (10.IV) قيم  $\Delta H$  للمركبات الفينولية المدروسة التي اختلفت حسب المذيبات المستعملة حيث كانت قيم BDE في الغاز اصغر من قيم BDE في الماء و الميثانول في اغلب المركبات و بالطرق الثلاثة المدروسة AM1, PM3, PM6 كما تبين أن قيم  $\Delta H$  قد أخذت قيم سالبة ( $\Delta H < 0$ ) وهذا ما يفسر تلقائية التفاعل بآلية HAT.

وبمقارنة الطرق المدروسة نجد أن نتائج طريقة PM3 كانت الأحسن، حيث أعطت قيم أقل لـ  
BDE: مقارنة بطريقتي الـ: AM1، PM6، كما أن طريقة AM1 أعطت نتائج أفضل  
(قيم  $\Delta H$  صغيرة) من طريقة PM6.

كما بينت النتائج أن قوة وفعالية المركبات الفينولية المدروسة اختلفت من مركب إلى آخر حيث  
كانت فعالية Chlorogenic acid < Vanillin < Caffeic acid < Naringenin < p-Coumaric  
Gallic acid < بالنسبة للغاز أما بالنسبة للماء فكانت p-Coumaric < Caffeic acid <  
Gallic acid < Vanillin < Naringenin < Chlorogenic acid . كما تدرجت فعالية المركبات  
الفينولية في الوسط الميثانولي حسب الترتيب التالي: Naringenin < p-Coumaric acid <  
Gallic acid < Caffeic acid < Chlorogenic acid < Vanillin .

الآلية الثانية (SET-PT): وهي عملية مركبة بين نقل إلكترون ونقل بروتون حيث تتحكم فيها قيم كل  
من IP و PDE حيث يتم حسابها بتطبيق العلاقة التالية:

$$IP = H(\text{ArOH}^+) + H(e^-) - H(\text{ArOH})$$

$$PDE = H(\text{ArO}^\cdot) + H(H^+) - H(\text{ArOH}^+)$$

الجدول (11.IV): قيم IP و PDE للمركبات الفينولية بآلية SET-PT.

Method	Compaund	GAZ		WATER		METANOL	
		SET-PT		$\Delta H (KJ/mol)$		IP	PDE
		IP	PDE	IP	PDE		
AM1	Gallic acid	2.630	-22.770	1.992	-23.889	1.7429	7.599
	Caffiec acid	-3.314	-23.962	-81.868	-23.888	1.7429	-23.665
	Chlorogenic acid	-3.164	-24.193	-2.347	-24.647	-2.329	-24.723
	p-coumaric acid	-2.807	-26.076	-2.909	-25.319	-2.828	-25.422
	Vanillin	-1.723	-24.666	-3.852	-21.73	-1.313	-21.807
	Naringenin	-2.109	-21.673	-1.688	-24.965	-1.780	-24.949
PM3	Gallic acid	-0.100	-26.889	3.439	-27.540	3.3603	-27.480
	caffiec acid	-1.720	-27.700	-1.082	-25.358	-1.150	-25.306
	chlorogenic acid	-2.460	-26.307	-1.137	-29.475	-0.381	-27.052
	p-coumaric acid	-1.465	-29.833	-4.306	-26.414	-4.227	-26.511
	Vanillin	-3.214	-25.629	-0.237	-27.987	-0.215	-28.000
	Naringenin	-0.932	-29.158	-0.15	-28.703	-0.142	-28.706
PM6	Gallic acid	1.612	-18.898	2.549	-19.144	2.338	-18.971
	caffiec acid	0.559	-19.099	1.906	-20.008	1.932	-20.053
	chlorogenic acid	-3.101	-15.511	1.396	-19.766	5.287	-19.89
	p-coumaric acid	-2.292	-18.682	-1.959	-18.220	-1.909	-18.294
	Vanillin	-0.617	-17.805	-1.699	-16.004	-1.730	-16.065
	Naringenin	-1.523	-16.545	-0.979	-17.469	-1.045	-19.065

نلاحظ من خلال الجدول (11.IV) هناك تقارب بين القيم لمختلف المركبات المدروسة إلا انه هناك اختلافا كبيرا بين قيم  $\Delta H$  لكل من IP، PDE، حيث أن قيم IP أخذت كبيرة جدا مقارنة بقيم PDE، كما أخذت معظم المركبات قيم سالبة ( $\Delta H < 0$ ) وهذا ما يدل على أن التفاعل بآلية SET-PT تفاعل تلقائي في أوساط المذيبات الثلاثة. باستثناء حمض الغاليك في مختلف المذيبات بطريقتي AM1 و PM6 وفي الماء و الميثانول بالنسبة ل: PM3، أما حمض الكافيك أعطى قيم موجبة في الميثانول

(AM1) و في مختلف المذيبات بالنسبة (PM6). بالإضافة إلى الكلوروجينيك فقد اخذ قيم موجبة في كل من الماء و الميثانول (PM6).

وبمقارنة الطرق الشبه تجريبية المدروسة نجد أن طريقة PM3 قد أعطت نتائج اصغر من النتائج المسجلة بكل من طريقي الـ AM1، PM6. ومن خلال النظر للمذيبات الثلاثة نجد أن طريقة AM1 قد بينت القيم الأصغر لـ: IP كانت في الماء، الغاز، الميثانول. أما قيم PDE فكانت أقل في الغاز، الميثانول و الماء. كما أن طريقة PM3 بينت أن المركبات في الغاز قد أخذت قيم  $\Delta H$  صغيرة بخلاف الماء و الميثانول، وقد ترتبت قيم الـ: IP من الأقل إلى الأكبر في المذيبات الثلاثة الغاز، الماء، الميثانول بخلاف قيم PDE حيث أخذت قيم أقل في الميثانول و الماء بطريقة PM6.

كما بينت النتائج أن فعالية المركبات المدروسة في الغاز حيث كانت فعالية  $\text{Caffiec acid} < \text{Vanillin} < \text{Chlorogenic acid} < \text{p-Coumaric} < \text{Naringenin} < \text{Gallic acid}$  بالنسبة للغاز في IP. أما بالنسبة لـ: PDE فان فعالية  $\text{p-Coumaric}$  و  $\text{Naringenin}$  كانت اكبر، أما بالنسبة للماء فان  $\text{Caffiec acid}$  كانت له فعالية كبيرة مقارنة بالمركبات الأخرى و كذلك فعاليته في الغاز و الميثانول، كما أن  $\text{Gallic acid}$  كانت فعاليته ضعيفة في كل المذيبات. أما في الميثانول فتبين أن قوة الـ: Naringenin فاقت قوة  $\text{p-Coumaric}$  و  $\text{Chlorogenic acid}$ .

الآلية الثالثة (SPLET): وهي عملية نقل بروتون ثم نقل إلكترون. تتحكم فيها كل من قيم PA و ETE والتي يتم حسابها وفق المعادلتين التاليتين:

$$PA = H(\text{ArO}^-) + H(\text{H}^+) - H(\text{ArOH})$$

$$ETE = H(\text{ArO}^\bullet) + H(\text{e}^-) - H(\text{ArO}^-)$$

الجدول (12.IV): قيم PA و ETE للمركبات الفينولية بآلية SPLET.

Method	Compaund	GAZ		WATER		METHANOL			
		SPLET				$\Delta H$ (KJ/mol)			
		PA	ÉTÉ	PA	ÉTÉ	PA	ÉTÉ		
AM1	Gallic acid	-21.943	1.8033	-24.833	2.937	-24.875	34.217		
	Caffiec acid	-24.387	-2.888	108.695	2.937	-24.875	2.9533		
	Chlorogenic acid	-24.450	-2.906	-25.167	-1.827	-25.143	-1.909		
	p-Comaric acid	-24.749	-4.1329	-25.209	-3.0196	-25.264	-2.985		
	Vanillin	-26.910	0.522	-26.994	1.404	-24.487	1.367		
	Naringenin	-25.002	1.221	-24.671	-1.983	-24.697	-2.032		
PM3	Gallic acid	-24.86	-2.122	-25.505	1.404	-25.595	1.475		
	Caffiec acid	-27.485	-1.935	-25.238	-1.203	-25.219	-1.237		
	Chlorogenic acid	-28.210	-0.557	-29.105	-1.507	-27.698	0.264		
	p-Comaric acid	-27.721	-3.576	-28.131	-2.589	-28.173	-2.565		
	Vanillin	-29.370	0.527	-27.233	-0.990	-27.199	-1.016		
	Naringenin	-27.346	-2.744	-26.928	-1.925	-26.905	-1.943		
PM6	Gallic acid	-17.771	0.485	-16.085	-0.509	-16.098	-0.533		
	Caffiec acid	-16.673	-1.867	-17.845	-0.257	-17.768	-0.352		
	Chlorogenic acid	-16.314	-2.297	-17.786	-0.583	-13.822	-0.780		
	p-Comaric acid	-16.650	-4.324	-17.561	-2.618	-17.626	-2.576		
	Vanillin	-16.332	-2.090	-17.204	-0.499	-17.196	-0.599		
	Naringenin	-18.377	0.309	-17.723	-0.725	-17.711	-2.400		

بينت نتائج الجدول (12.IV) قيم  $\Delta H$  للمركبات الفينولية المدروسة التي اختلفت حسب المذيبات المستعملة، حيث كانت قيم PA في الماء اصغر من قيم PA في الميثانول و الغاز. في اغلب المركبات بطرق AM1, PM6, أما طريقة PM3 فقد تزايدت فيها قيم PA من الماء، الغاز، الميثانول.

كما تغيرت قيم ETE بتغير المركبات في المذيبات و الطريقة المستخدمة حيث ترتبت من الأصغر حسب وسط التفاعل في الغاز، الماء و الميثانول بطريقة AM1 و الغاز، الميثانول ثم الماء باستخدام كل من الطريقتين PM6 و PM3. كما تبين أن قيم  $\Delta H$  قد أخذت قيم سالبة ( $\Delta H < 0$ ) في اغلب المركبات والطرق المدروسة وهذا ما يفسر تلقائية التفاعل بآلية SPLET.

وبمقارنة الطرق المدروسة نجد أن نتائج طريقة PM3 كانت الأحسن، حيث أعطت قيم أقل لكل لقيم ETE و PA مقارنة بطريقتي الـ: AM1، PM6، كما أن طريقة AM1 أعطت نتائج أفضل (قيم  $\Delta H$  صغيرة) من طريقة PM6.

كما بينت النتائج أن الفعالية الأقوى كانت لـ: Vanillin، Naringenin، p-Coumaric في الغاز. أما Caffiec acid، p-Coumaric و Chlorogenic acid فكانت مركبات ذات نشاطية عالية في الوسط المائي. أما في الميثانول فإن p-Coumaric و Chlorogenic acid أكبر فعالية من المركبات الأخرى.

## مراجع اللغات الأجنبية:

- [1] Young, D. (2004). Computational chemistry: a practical guide for applying techniques to real world problems. John Wiley & Sons.
- [2] Lewars, E. G. (2016). Computational chemistry: introduction to the theory and applications of molecular and quantum mechanics. Springer.
- [3] Kollman, P. A. (1996). Advances and continuing challenges in achieving realistic and predictive simulations of the properties of organic and biological molecules. *Accounts of Chemical Research*, 29(10), 461-469.
- [4] MC QUARRIE D. A.; SIMON J. D. 1999. *Molecular Thermodynamics*, Sausalito, Calif., University Science Books, P. 656.
- [5] FRISCH M.J.; TRUCKS G.W.; SCHLEGEL H.B.; SCUSERIA G.E.; ROBB M.A.; CHEESEMAN J. R.; SCALMANI G.; BARONE V.; MENNUCCI B.; ETTERSON G.A.; NAKATSUJI H.; CARICATO M.; LI X.; HRATCHIAN H.P.; IZMAYLOV A.F.; BLOINO J.; ZHENG G.; SONNENBERG J.L.; HADA M.; EHARA M.; TOYOTA K.; FUKUDA R.; HASEGAWA J.; ISHIDA M.; NAKAJIMA T.; HONDA Y.; KITAO O.; NAKAI H.; VREVEN T.; MONTGOMERY J. A.; JR., PERALTA J. E.; OGLIARO F.; BEARPARK M.; HEYD J.J.; BROTHERS E.; KUDIN K.N.; STAROVEROV V.N.; KOBAYASHI R.; NORMAND J. RAGHAVACHARI; K., RENDELL A.; BURANT J.C.; IYENGAR S.S.; TOMASI J.; COSSI M.; REGA N.; MILLAM J.M.; KLENE M.; KNOX J.E.; CROSS J.B.; BAKKEN V.; ADAMO C.; JARAMILLO J.; GOMPERS R.; STRATMANN R.E.; YAZYEV O.; AUSTIN A.J.; CAMMI R.; POMELLI C.; OCHTERSKI J.W.; MARTIN R.L.; MOROKUMA K.; ZAKRZEWSKI V.G.; VOTH G.A.; SALVADOR P.; DANNENBERG J.J.; DAPPRICH S.; DANIELS A.D.; FARKAS Ö.; FORESMAN J.B.; ORTIZ J.V.; J CIOSLOWSKI.; FOX D. J. Gaussian 09, Revision A.02. Gaussian, nc., Wallingford, CT, 2009.
- [6] Li, X. W., Shibata, E., & Nakamura, T. (2003). Thermodynamic properties of polybrominated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans calculated by density functional theory. *Materials transactions*, 44(5), 1004-1013.
- [7] Hehre, W. J. (1976). *Ab initio molecular orbital theory*. *Accounts of Chemical Research*, 9(11), 399-406.
- [8] Schaefer III, H. F. (2012). *Quantum chemistry: the development of ab initio methods in molecular electronic structure theory*. Courier Corporation.

- [9] Jensen, F. (2017). Introduction to computational chemistry. John Wiley & Sons.
- [10] W. Koch and M. Holthausen.(2001). A Chemist's Guide to Density Functional Theory, 2 ed., Weinheim: WileyVCH Verlag GmbH,.
- [11] S. Belaidi, (2002). Thèse de doctorat, Université de Batna.
- [12] Pariser, R., & Parr, R. G. (1953). A semi-empirical theory of the electronic spectra and electronic structure of complex unsaturated molecules. II. The Journal of Chemical Physics, 21(5), 767-776.
- [13] Da Motta Neto, J. D., & Zerner, M. C. (2001). New parametrization scheme for the resonance integrals ( $H_{\mu\nu}$ ) within the INDO/1 approximation. Main group elements. International Journal of Quantum Chemistry, 81(3), 187-201.
- [14] Stewart, J. J. (1989). Optimization of parameters for semiempirical methods II. Applications. Journal of computational chemistry, 10(2), 221-264.
- [15] HyperChem (Molecular Modelling System) Hypercube, Inc. , 1115 NW 4th Street, Gainesville, FL 32601 ; USA, 2000.
- [16] Stewart JJP (2007) J Mol Model 13:1173-1213.
- [17] Slater, J. C. (1930). Atomic shielding constants. Physical Review, 36(1), 57.
- [18] Mataga, N., & Nishimoto, K. (1957). Electronic structure and spectra of nitrogen heterocycles. Z. phys. Chem, 13, 140-157.
- [19] E. Wimmer, (1997). "Electronic Structure Methods", Dordrecht, Kluwer.
- [20] Sholl, D., & Steckel, J. A. (2011). Density functional theory: a practical introduction. John Wiley & Sons.
- [21] Bauschlicher Jr, C. W., & Partridge, H. (1995). A modification of the Gaussian-2 approach using density functional theory. The Journal of chemical physics, 103(5), 1788-1791.
- [22] Labanowski, J. K., & Andzelm, J. W. (Eds.). (2012). Density functional methods in chemistry. Springer Science & Business Media.
- [23] Tomberg, A. (2013). Gaussian 09W Tutorial. An introduction to computational chemistry using G09W and Avogadro software, 1-36.

- [24] Nagai, T., Sakai, M., Inoue, R., Inoue, H. & Suzuki, N. (2001). Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. *Food Chem.* 75, 237–240.
- [25] Diplock, A. T., Rice-Evans, C. A. & Burdon, R. H. (1994). Is there a significant role for lipid peroxidation in the causation of malignancy and for antioxidants in cancer prevention. *Cancer Res.* 54, 1952–1956.
- [26] Küçük, M. et al. (2007). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem.* 100, 526–534.
- [27] Nenadis, N. & Sigalas, M. P. (2011). A DFT study on the radical scavenging potential of selected natural 3',4'-dihydroxy aurones. *Food Res Int.* 44, 114–120.
- [28] Wang, G. et al. (2015). Theoretical study on the structural and antioxidant properties of some recently synthesised 2,4,5-trimethoxy chalcones. *Food Chem.* 171, 89–97.
- [29] Nagai, T., Inoue, R., Inoue, H. & Suzuki, N. (2003). Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *Food Chem.* 80, 29–33.
- [30] Barbarić, M. et al. (2011) Chemical composition of the ethanolic propolis extracts and its effect on HeLa cells. *J. Ethnopharmacol.* 135, 772–778.
- [31] Leopoldini, M., Russo, N. & Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanisms of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chem.* 125, 288–306.
- [32] Wright, J. S., Johnson, E. R. & DiLabio, G. A. (2001). Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. *J. Am. Chem. Soc.* 123, 1173–1183.
- [33] Musialik, M., & Litwinienko, G. (2005). Scavenging of dpph• radicals by vitamin E is accelerated by its partial ionization: the role of sequential proton loss electron transfer. *Organic Letters*, 7(22), 4951-4954.
- [34] Pinto MMM, Sousa ME, Nascimento MSJ (2005) *Curr Med Chem* 12:2517.
- [35] Litwinienko G, Ingold KU (2007) *Acc. Chem. Res.* 40, 222-230.

- [36] ADAMO C.; BARONE V. (1998). Exchange functionals with improved long-range behavior and adiabatic connection methods without adjustable parameters: The mPW and mPW1PW models. *J. Chem. Phys.* V. 108, P. 664–675.
- [37] COBOS C.J. Heats of formation for AlH, AlOH, OAlH and OAlOH and their monocations. *THEOCHEM*, V. 581, 2002, P. 17–29
- [38] SUDLOW K.P.; WOOLF; A.A., (1999). Heats of formation of carbonyl, formyl and trifluoroacetyl fluorides. *J FLUORINE*, 96(2), P.141–145.
- [39] BECKE A.D. (1993). Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J. Chem. Phys.* V. 98, P. 5648–5652.
- [40] PERDEW J. P.; WANG Y. (1992). Accurate and simple analytic representation of the electron-gas correlation energy. *Phys. Rev. B*, 45, P. 13244-13249.
- [41] LI S.; ZHANG J.; GAO H.; ZHOU W.; ZHOU Z. (2010). Computational calculation of heat of formation for a series of substituted furan derivatives by DFT methods. *THEOCHEM*, V. 948, P. 108–110.
- [42] RAGHAVACHARI K.; FRISCH; M. J.; POPLE J. A. (1980). Contribution of triple substitutions to the electron correlation energy in fourth-order perturbation theory. *Chem. Phys. Lett.*, V.72, P. 4244-4245.
- [43] POPLE J.A.; HEAD-GORDON M.; FOX D. J.; RAGHAVACHARI K.; CURTISS L.A., (1989). “Gaussian-1 theory: A general procedure for prediction of molecular energies,” *J. Chem. Phys.*, 90, P. 5622-5629.
- [44] MONTGOMERY JR. J. A.; FRISCH M.J.; OCHTERSKI J.W.; PETERSSON G. A. A. (1999). complete basis set model chemistry. VI. Use of density functional geometries and frequencies. *J. Chem. Phys.*, 110, P. 2822-2827.
- [45] ROGERS D. W. (2003). “Computational Chemistry Using the PC”. 3rd Ed., John Wiley & Sons, , P. 349.
- [46] Ochterski, J. W. (2000). Thermochemistry in gaussian. Gaussian Inc, 1-19.
- [47] Barin, I., & Platzki, G. (1989). Thermochemical data of pure substances (Vol. 304, No. 334, p. 1117). Weinheim: VCH.

- [48] Ow, Y. Y., & Stupans, I. (2003). Gallic acid and gallic acid derivatives: effects on drug metabolizing enzymes. *Current Drug Metabolism*, 4(3), 241-248.
- [49] Mendoza-Wilson, A. M., & Glossman-Mitnik, D. (2005). CHIH-DFT study of the electronic properties and chemical reactivity of quercetin. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 716(1-3), 67-72.
- [50] Saqib, M., Iqbal, S., Naeem, S., & Mahmood, A. (2013). DFT for exploring the antioxidant potential of homogentisic and orsellinic acids. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 26(6), 1209-1214.
- [51] Zhao, J., Khan, I. A., & Fronczek, F. R. (2011). Gallic acid. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 67(2), o316-o317.
- [52] Belaidi, S., Lanez, T., Omari, M., & Botrel, A. (2005). Quantitative conformational analysis of dissymmetric macrolides by molecular modelling. *Asian Journal of Chemistry*, 17(2), 859-870.
- [53] van Gunsteren, W. F., & Berendsen, H. J. (1990). Computer simulation of molecular dynamics: methodology, applications, and perspectives in chemistry. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 29(9), 992-1023.
- [54] Koča, J. (1993). Potential energy hypersurface and molecular flexibility. *Journal of molecular structure*, 291(2-3), 255-269.
- [55] Krygowski, T. M., & Cyrański, M. (1996). Separation of the energetic and geometric contributions to the aromaticity of  $\pi$ -electron carbocyclics. *Tetrahedron*, 52(5), 1713-1722.
- [56] Samsonowicz, M., Świsłocka, R., Regulska, E., & Lewandowski, W. (2008). Experimental (FT-IR, FT-Raman, <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR) and theoretical study of alkali metal 2-aminobenzoates. *Journal of Molecular Structure*, 887(1-3).
- [57] Reynolds, C. A. (1990). Theoretical electrode potentials and conformational energies of benzoquinones and naphthoquinones in aqueous solution. *Journal of the American Chemical Society*, 112(21), 7545-7551.
- [58] Silva, C. O., da Silva, E. C., & Nascimento, M. A. C. (2000). Ab initio calculations of absolute p K a values in aqueous solution II. Aliphatic alcohols, thiols, and halogenated carboxylic acids. *The Journal of Physical Chemistry A*, 104(11), 2402-2409.



تعتبر الجزائر من بين الدول ذات التنوع المناخي و النباتي و تنتشر تربية نحل العسل في اغلب مناطقها حتى الصحراوية منها. استهدفت دراستنا هذه حبوب اللقاح التي يجمعها النحل في الجزائر، حيث بدأت هذه الدراسة بجمع عينات حبوب اللقاح من مناطق مختلفة شملت كل من: البويرة، متيجة، تيزي وزو، بومرداس، تيبازة، الأغواط، قسنطينة، البيض، سكيكدة، البليدة، المدية، الوادي. حيث تم فرز عينات حبوب اللقاح حسب الألوان ليتم بعدها دراسة الخصائص الظاهرية لكل نوع على حدة. وحساب نسبة النوع الغالب في كل عينة لتصنف حبوب اللقاح حسب المصدر الزهري وقد بينت النتائج أن العينات المدروسة كانت من متعددة الأزهار (Heterofloral) إذ لم تتجاوز نسبة اللون فيها %80. ماعدا عينة منطقة البيض التي تعد أحادية الزهرة (Monofloral) لبلوغ نسبة نوع حبوب اللقاح الغالب %81. وبمقارنة نسب ألوان حبوب اللقاح نجد أن العينات المدروسة يغلب عليها اللون الأصفر، البرتقالي، البني، الباج الفاتح، الأصفر الداكن. أما بقية الألوان فتكون بنسب صغيرة. ويرجع هذا التفاوت في نسب الألوان إلى طبيعة المصدر النباتي و العوامل المناخية و تضاريس المنطقة.

أما عن اللون الرقمي لعينات حبوب اللقاح المدروسة بينت أن اللون الرقمي للعينات المدروسة كانت متقاربة مع الألوان الظاهرية (الملاحظة بالعين المجردة). وهذا يعني أن حبوب اللقاح للعينات المدروسة تتفاوت ألوانها بين اللونين البرتقالي Orange و الزيتوني Olive. إضافة إلى بعض الألوان الأخرى التي كانت بنسب أقل حيث تدرجت وفق الترتيب التالي: الرمادي ، البني و الأسود.

تم أيضا تحديد متوسط وزن حبوب اللقاح. حيث تراوح وزن حبوب اللقاح ذات حجم كبير ما بين 7 - 15 mg، والحجم الصغير ما بين 1.4 - 6.6 mg، أما حبوب اللقاح متوسطة الحجم فيتراوح وزنها بين 4.8 - 11.4 mg، أما متوسط وزن حبوب اللقاح بين مختلف العينات المدروسة بين 3 - 10 mg ، أما الوزن الغالب فكان يتراوح بين 7.03 - 7.97 mg.

أما الدراسة الطلعية فقد أبدت اختلاف كبير بين العينات المدروسة لحبوب اللقاح حيث شمل هذا الاختلاف الشكل، الحجم، السطح الخارجي، فتحات الإنبات، على هذا الأساس تم تحديد المصدر النباتي لكل عينة. وبما أن النحل يتجه أثناء كل رحلة بحث إلى مكان معين، فإن عملية الجني تتعلق غالبا بنوع واحد من حبوب اللقاح.

المرحلة الثانية من الدراسة فقد شملت تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء لعينات الدراسة حيث تبين أن حبوب اللقاح تحتوي على البروتينات، السكريات، الدهون، الفينولات و الفلافونويدات. كما تم تقدير كمية

الفينولات والفلافانويدات، حيث تراوحت قيم الفينولات بين (915.6-379.8 mg/100g). فكانت الكمية الأكبر في عينة البويرة- بومرداس، تليها كل من عينتي منطقة تيزي وزو بـ 898.6 و mg/100g و 861.3 ، أما بقية المناطق تبسة، البيض، سكيكدة، بومرداس، الوادي، المدية، البليدة و الاغواط فكانت نسبة الفينولات فيها متوسطة تراوحت بين (661.2-501.9 mg/100g)، وكانت الكمية الأصغر في بقية المناطق الأخرى وكانت اقل قيمة في منطقة متيجة. أما عن كمية الفلافانويدات فقد تراوحت بين (207.1-550.0 mg/100g). فكانت الكمية الأكبر في عينة الاغواط-البليدة-المدية، تليها كل من منطقتي تيزي وزو، تبسة، البيض و الوادي فكانت نسبة الفلافانويدات فيها متوسطة تراوحت بين (319- 435 mg/100g)، وكانت الكمية الأصغر في بقية المناطق الأخرى حيث كانت اقل قيمة في منطقة متيجة. التحليل النوعي والكمي بجهاز HPLC، بين أن العينات المدروسة تحتوي على كميات معتبرة من المركبات الفينولية و الفلافانويدات.

كما أن قيمة الفعالية المضادة للأكسدة (TAC) تراوحت بين (3311 -808.2mg/100). فكانت الكمية الأكبر في عينة الوادي، تليها كل من منطقة تيزي وزو-بومرداس، الاغواط-البليدة-المدية، الوادي بقيم متوسطة تراوحت بين (2886 - 2283 mg/100g)، أما قيمة الفعالية المضادة للأكسدة بقية المناطق الأخرى صغيرة نسبيا و كانت اقل قيمة لمنطقة البويرة.

في المرحلة الثالثة تم تحليل النتائج الكمية للمواد الفعالة بطريقتي المكونات الاساسية (PCA) و التحليل العنقودي الهرمي (AHC) حيث بينت النتائج ان هناك تشابه بين العينات المدروسة حيث قسمت الى 3 فئات في كلا الطريقتين. النمذجة ايضا كانت بطريقتين و ذلك بعد المعالجة الاولية للمتغيرات حيث بينت النتائج ان طريقة المعالجة المركبة بين (Dr+OSC) هي الطريقة الاحسن في كل من نماذج PLS و O2PLS، كما كانت نتائج الطريقة الثانية افضل من نتائج PLS. حيث كانت قيم ( $R^2$ ) قيم كبيرة إلى قيم متوسطة تراوحت بين (1- 0.888) بالنسبة لـ: O2PLS و بين (0.986 -0.259) في PLS. وهي نماذج جيدة يمكن الاعتماد عليها في عملية التنبؤ. كما تم اختبار نماذج PLS بعينات خارجية و كانت قيم ( $R^2$ ) لنماذج الدراسة عالية حيث تراوحت بين (1- 0.910)، وهي نماذج تبين العلاقة القوية بين المتغيرات كما أنها ذات قدرة تنبؤية عالية.

المرحلة الرابعة تمت دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لبعض المركبات الموجودة في حبوب اللقاح، و تبين من خلال الدراسة أن طريقة PM3 كانت الأحسن مقارنة بطريقتي الـ: AM1، PM6، كما أن

طريقة AM1 أفضل PM6، أما عن المذيبات فكانت فعالية المركبات في الغاز اكبر منها في الماء و الميثانول، و أن حمض الكوماريك له فعالية اكبر في اغلب المذيبات مقارنة ببقية المركبات الأخرى.

تعتبر هذه الدراسة تمهيد لدراسات مستقبلية أوسع تغطي اكبر مساحة ممكنة من الغطاء النباتي في الجزائر، حيث يمكن استخدام حبوب اللقاح في دراسة التنوع النباتي، دراسة المحيط البيئي و غيرها من الدراسات إضافة إلى توصيف و تصنيف اكبر قدر من حبوب اللقاح الجزائري باعتباره غذاء و دواء.

التوصيات يمكن حصرها فيما يلي:

- زيادة عدد العينات المدروسة في الدراسات المستقبلية.
- زيادة الخصائص الفيزيوكيميائية المدروسة ككمية المعادن و كمية الأحماض.
- وضع قاعدة بيانات لحبوب اللقاح الجزائرية، جغرافيتها و خصائصها.

## ملخص:

تستهدف هذه الدراسة تشخيص وتصنيف حبوب اللقاح باستخدام المطيافية تحت الحمراء IR-ATR و الكروماتوغرافيا السائلة HPLC، حيث تم جمع عينات حبوب اللقاح من مناطق جزائرية مختلفة وذلك بمراعات التنوع المناخي والتضاريسي، وتم تحديد نسبة حبوب الطلع الغالبة باستخدام المجهر الضوئي، لتنسب كل عينة إلى مصدرها النباتي. حيث بينت نتائج الدراسة الطلعية أن هناك ارتباط بين شكل، حجم، سطح حبوب اللقاح ومصدرها النباتي. كما تم تقدير محتوى المواد الفعالة و الفعالية المضادة للأكسدة (TAC) بالطرق الطيفية و HPLC، حيث بينت النتائج أن كمية الفينولات تراوحت بين (207.1-550.0 mg/100g) حيث احتوت عينة (البويرة- بومرداس) اكبر كمية. أما كمية الفلافانويدات فكانت بين (379.8-915.6 mg/100g) أما الكمية الأكبر فكانت في العينة (الاغواط- البليدة- المدية)، كما أن الفعالية المضادة للأكسدة كانت بين (3311 -808.2mg/100g) لتأخذ عينة (الوادي) القيمة الأكبر للفعالية المضادة للأكسدة. و تم تصنيف العينات و دراستها باستخدام طريقتي تحليل المكون الرئيسي (PCA) و التحليل الهرمي العنقودي (AHC). كما تمت النمذجة بطريقة PLS ومقارنتها بطريقة O2PLS. و كانت O2PLS هي الطريقة الأحسن مقارنة بطريقة PLS. مع أن في كلى الطريقتين كانت قيم ( $R^2$ ) من قيم كبيرة إلى متوسطة تراوحت بين (0.888 - 1) بالنسبة لـ O2PLS و بين (0.259-0.986) بالنسبة لـ PLS. وهي نماذج جيدة يمكن الاعتماد عليها في عملية التنبؤ بقيم الفعالية و كمية المواد الفعالة في حبوب اللقاح. تمت أيضا الدراسة النظرية للفعالية المضادة للأكسدة لبعض المركبات الفينولية الموجودة في حبوب اللقاح ومقارنتها في مذيبات مختلفة (الغاز، الماء، الميثانول) باستخدام الطرق النظرية الشبه تجريبية "PM3, PM6, AM1" Semi- Empirical، والتي بينت أن نتائج PM3 أفضل من AM1، PM6. كما بينت الدراسة أن فعالية حمض ب-كوماريك (p-Coumaric acid) كانت الأكبر من بين المركبات المدروسة حيث كانت فعاليته في الغاز أكبر من فعاليته في الماء و الميثانول.

الكلمات المفتاحية: حبوب اللقاح، المواد الفعالة، HPLC، IR-ATR، PLS، AHC، PCA.

## Abstract:

This study aimed to characterize and classify the pollen using IR-ATR and HPLC. Pollen samples were collected from different regions of Algeria, taking into account the climatic and terrestrial diversity. The percentage of pollen was determined by using a light microscope to assign each sample to its plant source. The results of the palynological study showed that there is a correlation between the shape, size, surface of the pollen and its plant source. The content of active substances and antioxidant activity (TAC) was estimated by spectrophotometry methods and HPLC. The results showed that the total phenolic content ranged from (379.8-915.6 mg/100g). The sample of Bouira-Boumerdes contained the largest quantity. The total flavonoid content was between (207.1-550.0mg / 100g) and the largest quantity was in the sample (Laghouat-Blida-Media). The antioxidant activity was between (3311-808.2 mg /100g). The samples were studied and classified using the PCA and AHC methods. Modeling and comparing PLS and O2PLS methods. O2PLS was the best way to compare PLS. In both methods,  $R^2$  values from large to medium ranged from (0.888-1) to O2PLS and (0.289-0.986) for PLS. They are good, reliable models in the process of predicting the antioxidant activity and quantity of active pollen. A theoretical study of the antioxidant activity of some phenolic compounds found in pollen was also investigated. The antioxidant activity was compared with different solvents (gas, water, methanol) using semi-empirical methods PM3, PM6, AM1, which showed that the PM3 results were better than AM1 and PM6. The study also showed that antioxidant activity of p-coumaric acid was the largest of the studied compounds, with the antioxidant activity in the gas greater than the antioxidant activity in water and methanol.

**Keywords:** pollen, antioxidant, HPLC, IR-ATR, PLS, AHC, PCA.