

رقم الترتيب:

رقم التسلسل:

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر

الوادي

كلية العلوم الدقيقة



مذكرة تخرج لنيل شهادة

ماستر أكاديمي

في الكيمياء

تخصص: كيمياء عضوية تحليلية

من إعداد: مود صليحة

الموضوع

استخلاص المركبات الفينولية من قشور البرتقال ودراسة

فعاليتها البيولوجية

نوقشت يوم: 2016/05/26 أمام اللجنة المكونة من:

رئيسا

مؤطرا

ممتحنا

ممتحنا

جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي

جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي

جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي

جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي

أستاذة محاضرة (أ)

أستاذ مساعد (أ)

أستاذ مساعد (أ)

أستاذ مساعد (أ)

السيدة بن شيخة نعيمة

السيد تامة نور الدين

السيد ربيعي عبد الكريم

السيد نجيمي محمد السعيد

السنة الجامعية: 2016/2015

التشكرات

الحمد لله الذي تتم بنعمته الصالحات له الشكر على ما أنعم وله الحمد على ما أسدى .

ثم الشكر الخالص إلى الحبيب المصطفى الذي أخرجنا من ظلمات الجهل إلى أنوار العلم والإيمان صلى الله عليه وسلم. ثم الشكر والعرفان إلى من كانا السبب في وجودي والدي الكريمين.

أولا أتقدم بخالص الشكر والتقدير إلى الأستاذ المشرف "تامة نور الدين" لقبوله الإشراف على هذا العمل كما أتقدم بجزيل الشكر إلى مسؤول مخبر تيمين وترقية الموارد الصحراوية (VTRS) بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي "طليبة علي" وكذا الأستاذ "ربيعي عبد الكريم" وكل مسؤولي و أساتذة شعبة الكيمياء وإلى طالبة الدكتوراه "همامي هادية" التي لم تبخل علينا بنصائحها وتوجيهاتها و المعلومات القيمة والتي أعطتنا من وقتها الكثير والكثير في المخبر لإتمام هذا العمل والتي تعلمنا منها الكثير من مبادئ العمل المخبري جزاها الله خيرا ووفقها في رسالتها إن شاء الله . كما لا يفوتني أن أشكر جميع المخبريات العاملات في مخابر الكيمياء.

خالص الشكر والتقدير إلى الأستاذة الفاضلة "هادف ليلي" على مساعدتها لنا و إشرافها على عملنا في إطار الفعالية البيولوجية .

وأتوجه بشكري الخالص للجنة المناقشة لقبولهم مناقشتي وتقييمي .

كما أتقدم بالشكر إلى كل من ساعدني من قريب أو من بعيد وإلى من كل من تذكرني بالدعاء.

جزاكم الله عني كل الخير.

قائمة الاشكال

الصفحة	العنوان	رقم الشكل
الجزء النظري		
الفصل الثاني: المركبات الفينولية		
22	نموذج لمركب فينولي وآخرين غير فينولين.	الشكل (1.II)
23	تصنيع الفينولات إنطلاقاً من عديد الأسيتات.	الشكل (2.II)
23	تصنيع الفينولات إنطلاقاً من حمض شيكيميكا.	الشكل (3.II)
25	نماذج المركبات الفينولية من الشكل C_6-C_2 , C_6-C_1 , C_6 .	الشكل (4.II)
25	نماذج للمركبات الفينولية من الشكل C_6-C_4 , C_6-C_3 .	الشكل (5.II)
26	نماذج للفينونولات من الشكل: $C_6-C_1-C_6$, $C_6-C_2-C_6$, ثنائي الفلافونيل.	الشكل (6.II)
27	الهيكل الأساسي للأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك.	الشكل (7.II)
28	الهيكل الأساسي للأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك.	الشكل (8.II)
29	تشكل الكومارينات	الشكل (9.II)
30	بعض أنواع الكومارينات.	الشكل (10.II)
31	الهيكل الأساسي للفلافونويدات.	الشكل (11.II)
32	هياكل بعض أصناف الفلافونيدات.	الشكل (12.II)
34	بنية دباغ متحلل.	الشكل (13.II)
34	بنية دباغ متراكم.	الشكل (14.II)
35	بنية اللقنين.	الشكل (15.II)
الفصل الثالث: عموميات حول البكتيريا و المضادات الحيوية		
47	بنية الخلية البكتيرية.	الشكل (1.III)
56	الأنثيبوغرام بعد الحضان و طريقة قياس قطر منطقة التثبيط.	الشكل (2.III)

الجزء العملي		
الفصل الرابع: الطرق والوسائل		
66	مخطط يوضح طريقة العمل.	الشكل (1.IV)
68	رسم تخطيطي يبين مبدأ عمل جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية - المرئية (UV-Visible).	الشكل (2.IV)
70	تشكيل المعقد.	الشكل (3.IV)
72	مكونات جهاز الـ HPLC .	الشكل (4.IV)
الفصل الخامس: النتائج والمناقشات		
81	مخطط يوضح نسبة مردود الإستخلاص.	الشكل (1.V)
82	كمية الفينولات الكلية في المستخلصين.	الشكل (2.V)
83	مخطط يوضح مقارنة بين كمية الفينولات لو الفلافونيدات.	الشكل (3.V)
84	كروماتوغرام العينة K.	الشكل (4.V)
84	كروماتوغرام العينة S.	الشكل (5.V)
87	مخطط يوضح أقطار تثبيط بكتيريا Escherichia coli الناتجة عن التراكيز المختلفة.	الشكل (6.V)
88	مخطط يوضح أقطار تثبيط بكتيريا Staphylococcus الناتجة عن التراكيز المختلفة.	الشكل (7.V)
89	مخطط يوضح أقطار تثبيط بكتيريا Enterobacte الناتجة عن التراكيز المختلفة.	الشكل (8.V)

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	رقم الجدول
الجزء النظري		
الفصل الأول: عموميات حول الحمضيات والبرتقال		
9	مراحل حياة شجرة الحمضيات.	الجدول (1.I)
14	جدول يوضح أهم العناصر ونسبها في البرتقال.	الجدول (2.I)
الفصل الثاني: المركبات الفينولية		
24	أصناف المركبات الفينولية وبعض مصادرها.	الجدول (1.II)
27	الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك.	الجدول (2.II)
28	الأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك.	الجدول (3.II)
39	بعض المركبات الفينولية المستعملة في الطب و الصيدلة.	الجدول (4.II)
الجزء العملي		
الفصل الرابع: الطرق والوسائل		
69	قيم الإمتصاصية لحمض الغاليك.	الجدول (1.IV)
70	قيم الإمتصاصية للروتين.	الجدول (2.IV)
73	زمن المكوث للفينولات المرجعية.	الجدول (3.IV)
74	الشروط التجريبية لجهاز الـ HPLC لفصل المركبات الفينولية.	الجدول (4.IV)
74	تغيرات نسبة الطور المتحرك A و B بلالة الزمن.	الجدول (5.IV)
الفصل الخامس: النتائج والمناقشات		
80	مردود الإستخلاص.	الجدول (1.V)
81	قيم الإمتصاصية للتراكيز المحضرة.	الجدول (2.V)
81	كمية الفينولات الكلية في المستخلصين.	الجدول (3.V)
82	قيم الإمتصاصية لتركيز المحضر.	الجدول (4.V)
83	كمية الفلافونيدات في المستخلصين.	الجدول (5.V)
85	المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلصين.	الجدول (6.V)

قائمة الجداول

86	التراكيز المحضرة لدراسة الفعالية البيولوجية.	الجدول (7.V)
86	أقطار تثبيط بكتيريا Escherichia coli الناتجة عن التراكيز المختلفة.	الجدول (8.V)
87	أقطار تثبيط بكتيريا Staphylococcus الناتجة عن التراكيز المختلفة.	الجدول (9.V)
88	أقطار تثبيط بكتيريا Pseudomonas الناتجة عن التراكيز المختلفة.	الجدول (10.V)
89	أقطار تثبيط بكتيريا Enterobacter الناتجة عن التراكيز المختلفة.	الجدول (11.V)

قائمة الصور

الصفحة	العنوان	رقم الصورة
الجزء النظري		
الفصل الأول: عموميات حول الحمضيات والبرتقال		
10	صورة فوتوغرافية لشجرة الحمضيات.	الصورة (1.I)
13	صورة فوتوغرافية لثمار البرتقال.	الصورة (2.I)
الجزء العملي		
الفصل الرابع: الطرق والوسائل		
62	العيتتان قبل وبعد الطحن.	الصورة (1.IV)
65	صور خطوات الإستخلاص.	الصورة (2.IV)
71	المحاليل بعد إضافة الكواشف	الصورة (3.IV)

قائمة المنحنيات

رقم المنحنى	العنوان	الصفحة
	الجزء العملي	
	الفصل الرابع: الطرق و الوسائل	
المنحنى(1.V)	المنحنى القياسي لحمض الغاليك.	69
المنحنى(2.V)	المنحنى القياسي للروتين.	71

قائمة الرموز

الرمز	المعنى
A.A	Acide acétique CH ₃ COOH
A.G	Acide gallique C ₇ H ₆ O ₅
ACN	Acétonitrile C ₂ H ₃ N
Al	Aluminium
AlCl ₃	Chlorure d'aluminium
EtOH	Ethanol C ₂ H ₆ O
Fe	Fer
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
-M	فعل ميزومييري ساحب
+M	فعل ميزومييري مانح
MeOH	Méthanol CH ₃ O
NaCO ₃	Carbonate de sodium
pH	Potentiel Hydrogénée
UV-Visible	UltraViolet - Visible



الفهرس

الصفحة

العنوان

- التشكرات.
قائمة الأشكال.
قائمة الجداول.
قائمة الصور.
قائمة المنحنيات.
قائمة الرموز.
الفهرس.
المقدمة.
المراجع.

الجزء النظري

الفصل الاول: عموميات حول الحمضيات والبرتقال

- 08 1.I الحمضيات
08 I.1.1 تعريف الحمضيات
08 I.2.1 الظروف الملائمة للنمو
09 I.3.1 دورة حياة أشجار الحمضيات
10 I.4.1 الوصف الظاهري العام لأشجار الحمضيات
11 I.5.1 إنتاج الحمضيات في الجزائر
11 I.6.1 تصنيف الحمضيات
12 2.I البرتقال
12 1.2.I تعريف البرتقال
13 2.2.I التصنيف العلمي للبرتقال
13 3.1.I دلائل الجودة
14 4.1.I العناصر الكيميائية
15 4.1.I الفوائد العلاجية
المراجع.

الفصل الثاني: المركبات الفينولية

- 21 1.II تعريف المركبات الفينولية
23 2.II الإصطناع الحيوي للمركبات الفينولية
23 1.2.II الإصطناع الحيوي من عديد الأسيتات
23 2.2.II الإصطناع الحيوي إنطلاقا من حمض شيكيمييك
24 3.II مصدر المركبات الفينولية
24 4.II أصناف المركبات الفينولية
25 4.1.II عائلة المركبات الفينولية قليلة الإنتشار

25 1.1.4.II المركبات الفينولية من الشكل C_6-C_2 , C_6-C_1 , C_6
25 2.1.4.II المركبات الفينولية من الشكل C_6-C_4 , C_6-C_3
26 3.1.4.II المركبات الفينولية من الشكل: $C_6-C_1-C_6$, $C_6-C_2-C_6$ ، ثنائي الفلافونيل
26 2.4.II عائلة المركبات الفينولية واسعة الإنتشار.
26 1.2.4.II الأحماض الفينولية
29 2.2.4.II الكومارينات
30 3.2.4.II الفلافونيدات
33 3.4.II المركبات الفينولية النباتية المتواجدة في الطبيعة في صورة عديدات الجزيئات (polymers)
35 1.3.4.II الدباغات
35 2.3.4.II اللقنين
35 5.II العلاقة بين البنى والخواص الكيميائية للفينولات
35 1.5.II البنية الإلكترونية والخاصية الحامضية للفينولات
36 2.5.II خواص مجموعة هيدروكسيل الفينولات
36 3.5.II تشكيل معقدات مع المعادن
37 6.II أهمية الفينولات والفلافونيدات
37 1.6.II أهمية الفينولات بالنسبة للنبات
37 2.6.II الفاعلية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية
38 3.6.II الفعالية البيولوجية للمركبات الفينولية

المراجع.

الفصل الثالث: عموميات حول البكتيريا والمضادات الحيوية

45 1.III البكتيريا
45 1.1.III تعريف البكتيريا
46 2.1.III تركيبية الخلية البكتيرية
48 3.1.III تصنيف البكتيريا
50 4.1.III بعض أنواع البكتيريا
52 2.III المضادات الحيوية
52 1.2.III تعريف المضادات الحيوية
52 2.2.III أنواع المضادات الحيوية
53 3.2.III طرق تأثير المضادات الحيوية
54 4.2.III المقاومة البكتيرية
55 5.2.III طرق التعرف على حساسية أو مقاومة البكتيريا للمضاد

المراجع.

الجزء العملي

الفصل الرابع: الطرق والوسائل

62 1.IV جمع العينات
63 2.IV الأجهزة والمواد المستعملة
64 3.IV إستخلاص المركبات الفينولية
64 1.3.IV تعريف الإستخلاص
64 1.1.3.IV إستخلاص سائل - سائل
64 2.1.3.IV إستخلاص صلب - سائل
65 2.3.IV طريقة إستخلاص المركبات الفينولية من مسحوق قشور البرتقال
67 4.IV التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية - المرئية
67 1.4.IV مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية (Spectrophotométre UV- Visible)
68 2.4.IV التقدير الكمي للمركبات الفينولية
70 3.4.IV التقدير الكمي للفلافونيدات
72 5.IV التحليل الكيفي بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية HPLC
72 1.5.IV الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية HPLC
73 2.5.IV التحليل الكيفي
75 6.IV دراسة الفعالية البيولوجية
75 1.6.IV تحضير التراكيز
75 2.6.IV تحضير وسط الزرع
75 3.6.IV تحضير الأقراص
75 4.6.IV تحضير المعلق البكتيري
76 5.6.IV وضع الأقراص المشبعة بالمستخلص

المراجع.

الفصل الخامس: النتائج والمناقشات

80 1.V مردود الإستخلاص
81 2.V التقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز مطيافية الأشعة UV-Visible
82 3.V التقدير الكمي للفلافونيدات بواسطة جهاز مطيافية الأشعة UV-Visible
84 4.V التقدير الكيفي للفينولات بواسطة جهاز الـ HPLC
86 5.V الفعالية البيولوجية ضد البكتريا

خلاصة عامة.

الملاحق.

الملخص.

مقدمة عامة

مقدمة عامة

بدأ الإنسان يستعمل النباتات والأعشاب البرية التي تغطي معظم سطح الأرض في مداواة المرضى، فالحضارات القديمة على إختلاف ثقافتها ومواطنها لها تقدم أدلة قاطعة على إستعمال النبات بمختلف أجزائه للعلاج، ويعرف النبات الطبي على أنه النبات الذي يحوي في أحد أجزائه المختلفة على مادة كيميائية واحدة أو أكثر بتركيز منخفض أو مرتفع ، ولها القدرة الفيزيولوجية على معالجة مرض معين أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض.

وقد عرفه العالم Dragendroff على أنه " كل شيء من أصل نباتي يستعمل طبيا فهو نبات طبي" [1].

إنصب التفكير العلمي الحالي في السنوات الأخيرة على العلاج بإستعمال التداوي بالنباتات الطبية بشعار العودة للطبيعة [2]. و من بين الفواكه التي إستعملها الإنسان منذ الحضارات القديمة في التداوي والعلاج الحمضيات، فالصينيون القدامى كانوا يتناولون البرتقال كغذاء ودواء، ومن قشوره وزهوره طيبا، ومما قيل عن البرتقال في الأمثال القديمة "لا وجود للصحة في مكان لا وجود للبرتقال فيه" [3].

الحمضيات من الفواكه التي كانت هدفا للعديد من الدراسات الفيتوكيميائية التي أدت إلى فصل عدد كبير من المركبات، حيث أختبرت الحمضيات على أسس كيميائية وبيولوجية ، فمن الناحية الكيميائية تم إختبار إحتواء الحمضيات على عدة مركبات كيميائية وفصلها بإستخدام مختلف طرق الفصل والكشف، ومن الناحية البيولوجية تم إختبار فعاليتها المضادة للأكسدة ونشاطيتها ضد البكتيريا.

إختلاف أنواع الحمضيات يؤدي إلى إختلاف نسب المركبات الكيميائية المتواجدة فيها، ولذلك فإن التقدير الكمي يأخذ حيزا كبيرا في الدراسات الفيتوكيميائية، كما أن تأثير هذه المنتجات الطبيعية يختلف حسب نوعها وتركيزها، و المركبات الفينولية من بين أهم المركبات المتواجدة على مستوى الحمضيات وخاصة البرتقال بأنواعه ، هذه المركبات الأخيرة مركبات يميزها وجود على الأقل نواة بنزينية واحدة مرتبطة بمجموعة هيدروكسيل حرة أو مستبدلة مع مجموعات أخرى (إيثر، أستر، سكر).

وعلى ضوء هذه المعطيات، نحاول في هذه الدراسة تحقيق ما يلي:

- ✓ إستخلاص المركبات الفينولية من قشور البرتقال بإستخدام مذيب عضوي مناسب.
- ✓ التقدير الكيفي و الكمي للمركبات الفينولية في المستخلص بواسطة الأجهزة الحديثة.
- ✓ دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلص ضد أنواع بكتيرية مختلفة.

وفي هذه الدراسة سنقوم بمقارنة بين نوعين من البرتقال وهما الكليمونتين والطومسون.

وذلك من خلال تقسيم الدراسة إلى:

❖ الجزء النظري ويضم:

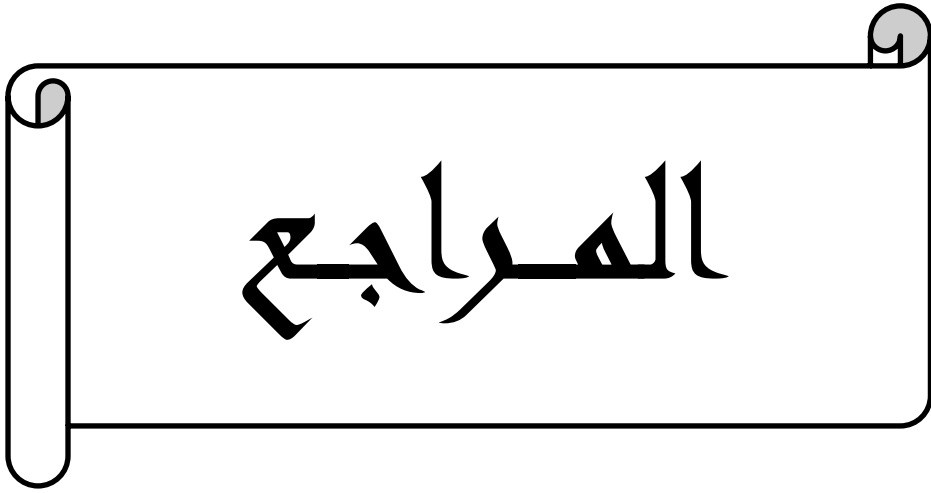
- الفصل الأول: عموميات حول الحمضيات والبرتقال.
- الفصل الثاني: المركبات الفينولية.
- الفصل الثالث: عموميات حول البكتيريا والمضادات الحيوية.

❖ الجزء العملي ويضم:

- الفصل الرابع: الطرق والوسائل.
- الفصل الخامس: النتائج و المناقشات.

ختاماً وفي خلاصة عامة نعرض مدى تحقيق الأهداف المرجوة من هذه الدراسة، وتقدير الفعالية

البيولوجية لمستخلصات قشور البرتقال من خلال النتائج المتحصل عليها.



المراجع

المراجع باللغة العربية:

- [1] العابد إبراهيم، دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام للنبات الضمران *Traganum nudatum*، مذكرة التخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء عضوية تطبيقية، جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2009).
- [2] زمالي جعفر، دراسة فيتوكيميائية وبيولوجية لنبه صراوية *Solanum Nigrum* ، مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير، تخصص تحضير عضوي و فيتوكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2007) .
- [3] محمد نور الدين الموسوي الواعظ، البرتقال وفوائده. <http://MF4.4shared.Com>. 2015-10-28

الجزء النظري

الفصل الأول

عموميات حول الحمضيات والبرتقال

مدخل:

الحمضيات فاكهة عالمية تنتشر زراعتها في مختلف بلدان العالم، و تستهلك من طرف معظم الشعوب لما لها من فوائد صحية وطبية، إذ أنها من الفواكه العصيرية الغنية بعناصرها الغذائية المفيدة. يعتبر المهد الأصلي للحمضيات المنطقة الاستوائية لجنوب آسيا، من جنوب الهند إلى الفلبين و أستراليا الحمضيات من الفواكه القديمة نسبيا، إذ وجدت بذورها في حفريات وادي الدجلة والفرات، مما يدل على وجود هذه الثمار منذ أربع آلاف سنة على الأقل. والبرتقال عرفه الصينيون القدماء قبل غيرهم من أقطار العالم. وقد استعمله الأوروبيون لأغراض طبية حوالي 3000 سنة قبل الميلاد، وتعرفوا على الليمون (النارنج) في حوالي 1400 سنة بعد الميلاد. ويرجع الفضل في انتشار الحمضيات في العالم إلى حروب الإمبراطوريات المختلفة، حيث ساهم الفرس والرومان والعرب في نقل هذه الزراعة إلى الكثير من بلدان العالم التي خضعت لحكمها، فقد ساهم العرب في نقل النارنج والليمون البلدي والليمون الهندي إلى بلاد العجم وفلسطين ثم إلى شمال إفريقيا وإسبانيا. أما البرتقال فسبب انتشاره يرجع إلى البحارة البرتغاليين استنادا لتقارب اسمه من اسم البرتغال؛ أما اليوسفي (الماندرين) فمن المؤكد أنه انتشر في العصر الحديث من الصين إلى الشرق الأوسط و أوروبا، ثم إلى أمريكا [1].

وأهم مناطق زراعة الحمضيات بالعالم هي: الولايات المتحدة الأمريكية، البرازيل، دول حوض البحر الأبيض المتوسط، ودول أوروبا، واليابان، الصين، الهند، إيران، الفلبين، جنوب إفريقيا وأستراليا [2].

1.1.I. الحمضيات:**1.1.I. تعريف الحمضيات:**

الحمضيات أو الموالح عبارة عن مجموعة من الأشجار، تواجد غدود زيتية في أوراقها تكسبها رائحة عطرية مميزة، وثمار الحمضيات ذات قيمة غذائية عالية لما تحتويه من فيتامين (C) ومن أملاح معدنية وبعض العناصر مثل الكالسيوم والبوتاسيوم والفسفور والحديد وغيرها [3]. وهي من أهم الفواكه الشتوية التي يجب تناولها لأنها تدعم مناعة الجسم، تستعمل بعض ثمار الحمضيات طازجة وبعضها تستعمل كعصير وأحيانا مع الماء والسكر وفي بعض الأحيان تستعمل قشورها، وهي ذات فوائد عديدة [4].

2.1.I. الظروف الملائمة للنمو:

إنّ مناطق زراعة الحمضيات الطبيعية هي تلك المناطق الممطرة في جنوب الصين وجنوب شرق آسيا ومناطق أخرى من إفريقيا وأمريكا الجنوبية وفلوردا وحوض البحر الأبيض المتوسط، هذه المناطق ذات البيئة الاستوائية أو شبه الاستوائية أو المدارية الممتدة بين خطي عرض 40° شمال، و 40° جنوب خط

الاستواء. ومن دراسة بيئة هذه المناطق ودراسة أماكن انتشار الحمضيات، ويمكن ملاحظة أن مناطق الانتشار هذه تتميز بـ:

- 1- تربة تحتوي على كمية كافية من الرطوبة، أو تربة رملية خفيفة وجيدة الصرف والتهوية، على أن يتم ربيها بشكل منتظم.
- 2- تحتوي على كمية كافية من الذبال أي من النباتات المتحللة (كمية كافية من السماد العضوي)، لأنه هناك علاقة كبيرة بين نمو الجذور وكمية الأكسجين الذي يتخلل جزيئات التربة.
- 3- حامضية التربة (pH) ما بين 5-7.
- 4- لا تتعرض الأشجار المزروعة إلى الأشعة الشمسية بشكل مباشر وذلك لأنه يمكن لهذه الأشجار أن تعيش حتى في ظروف التضليل الجزئي.
- 5- لا تتدنى درجات الحرارة تحت درجة الصفر و نادرا ما تقترب من درجة الصفر [5، 6].

3.1.I. دورة حياة أشجار الحمضيات:

وهي ملخصة في الجدول (2.I):

الجدول 1.I: مراحل حياة شجرة الحمضيات [6].

المرحلة	مميزتها
مرحلة النمو في المشتل (21-26 شهرا)	بذر البذور نتاج حامل الطعم. عملية التطعيم. الحصول على شتلة صغيرة.
مرحلة عدم الإنتاج (2-3 سنوات)	غرس الشتول في الحقل بعد إخراجها من المشتل.
مرحلة بداية الإنتاج (5-7 سنوات)	مرحلة الإزهار. ظهور الثمار الأولى.
مرحلة الإنتاج (لا تزيد عن 20 سنة)	الحد الأقصى للإزهار والثمار.
مرحلة الشيخوخة	بدء الانخفاض التدريجي لإنتاج الشجرة وخاصة بالنسبة للأشجار التي تم غرسها منذ 30 أو 40 سنة.
مرحلة الهرم	يجب إقتلاع الشجرة في هذه المرحلة الأخيرة من حياتها.

4.1.I. الوصف الظاهري العام لأشجار الحمضيات:

الأشجار: دائمة الخضرة، فروعها صغيرة ومضلعة مع مرور السنين تصبح أسطوانية الشكل، تحمل غالبا أشواك هي عبارة عن طرود قصيرة تحمل في بعض الأحيان أزهار (الليمون).

الأوراق: بيضوية الشكل غالبا ما تكون طويلة أو مسننة بحسب الأصناف، قد تكون سميكة جلدية فيها نقاط زيتية شفافة، ذات عروق جانبية قليلة. تتساقط الأوراق في بعض الأصناف دون أعناقها وهي مرفقة بأجنحة تختلف أحجامها باختلاف الأنواع، وقد تكون في بعض الأصناف مساوية للورقة بل وأكبر منها مثل الليمون الحلو. نجد ثغور تقع على الوجه السفلي للورقة فقط، ونجد القليل منها بالقرب من العرق الرئيسي على الوجه العلوي للورقة. تعيش الأوراق من عشرة أشهر إلى أربعة سنوات.

الأزهار: كبيرة، خنثى(ثنائية الجنس)، حشرية التلقيح، بتلات التويج منفصلة، سميكة، جلدية، بيضاء اللون قد تكون ملونة من سطحها السفلي بلون أحمر، لها رائحة جذابة ومميزة، وخلافا لبقية أشجار الفاكهة الأخرى تبدأ الأزهار في التمايز منذ بدأ النمو الخضري أو عند تجدد النمو السنوي. تزهر معظم الأزهار في نهاية الربيع وخلال مدة لا تتجاوز أسبوعين.

الثمار: لبية متحورة تعرف بالبرتقالية وتميزها القشرة الملونة والبيضاء، واللبن المكون من الفصوص بأكياسها العصيرية المميزة لثمار الموالح والتي لا توجد بثمار أي نوع من أنواع الفاكهة الأخرى. وتنضج الثمار من أكتوبر حتى أوائل جوان حسب الأنواع والأصناف المختلفة.

البذرة: غالبا ما تحتوي على أكثر من جنين واحد (بذرة متعددة الأجنة) وفي بعض أنواع التهجين تكون بذورها وحيدة الأجنة، وقد تخلو الثمار من البذور تماما أو تشمل على عدد ضئيل من البذور أو قد تحتوي على بذور كثيرة [7,5].



الصورة 1.1: صورة فوتوغرافية لشجرة الحمضيات.

5.1.I. إنتاج الحمضيات في الجزائر:

تضم الجزائر 32 ولاية منتجة للحمضيات منها 7 ولايات تنتج 80% من نسبة الإنتاج الوطني (البلدية، الشلف، الجزائر، غرداية، غليزان...)، بإجمالي مساحة تقدر بـ 65 ألف هكتار. وقد وصل معدل الإنتاج سنة 2011 إلى 22 مليون قنطار، ويعود الاختلاف في نسب الإنتاج من موسم لآخر إلى عاملين أساسيين وهما درجة الحرارة المنخفضة خلال فصل الشتاء ونسبة تساقط الأمطار المرتفعة مما يساهم في إزهار وفير خلال الفترة الربيعية.

تنتج الجزائر حوالي 40 نوعا من الحمضيات منها 20 نوعا من البرتقال و15 نوعا من الكليمانتين واليوسفي (المندرين) و5 أنواع من الليمون والغالب هو ليمون الفصول الأربعة (الإنتاج يستمر في الفصول الأربعة)، و بذلك تشهد الحمضيات وفرة كبيرة في السوق الجزائرية. وبهدف تشجيع الفلاحين لتجديد بساتينهم تمنح الدولة دعما لإستبدال الأشجار غير المثمرة بأخرى حديثة، وتجدر الإشارة إلى أن إدخال تقنيات و أنواع جديدة ساهم في تحسين مردود البساتين، فضلا عن العلاج ضد ذبابة الحمضيات (سيرايتيت) مما أدى إلى تقليص تساقط الثمار [8].

6.1.I. تصنيف الحمضيات:

المملكة: *Plante*.

الصف: *Magoliophyta*

القسم: *Dicotyledons*

تحت القسم: *Sapindales*

الرتبة: *Rosidae*

العائلة: *Rutaceae*

تحت العائلة: *Aurantiodeae*

الجنس:

أولا: جنس *Poncirus*

نوع: *Poncirus trifoliata*.

سلالتين: *Poncirus trifoliata bemoroy*، *Poncirus trifoliata rubidux*.

ثانيا: جنس *Fortunella*

نوعين: 1- *Fortunella margarita*

2- *Fortunella japonica*

ثالثاً: جنس: Citrus

توجد أربعة مجموعات مميزة لهذا الجنس.

المجموعة أ: المجموعة الحامضية:

نميز فيها نوعين: الترنج أو الكباد (*Citrus medica*, *Ceobrat*)، والليمون الحامض

(*Citrus limonia*, *Citrus lemon*).

المجموعة ب: مجموعة اليوسفي أو الماندارين (*Citrus reticulatus*) ومن أهم أصنافه المنتشرة في

العالم:

1- يوسفي البحر الأبيض المتوسط ويضم اليوسفي البلدي المصري، اليوسفي الراققي، الماتانيا أو

السنترار، التنجارين أو الكليمونتين (*Citrus climentina*).

2- اليوسفي الساتوزوما أو الأونشيو.

3- اليوسفي الملوكي.

4- الكلامودين.

المجموعة ج: مجموعة الكريب فروت أو الليمون الهندي: وهي تضم صنفين رئيسيين وهما الكريب

فروت (*Citrus paradisi*)، والشادوك (*Citrus gromdis*).

المجموعة د: مجموعة أصناف البرتقال [1].**2.I. البرتقال:****1.2.I. تعريف البرتقال:**

يعد البرتقال (*Citrus sinensis*) الذي ينتمي إلى عائلة *Rutaceae* واحداً من أكثر أنواع الفاكهة انتشاراً في العالم خاصة في المناطق الحارة و شبه الاستوائية، وهناك أكثر من 200 نوع من البرتقال والثمار الحمضية المشابهة له، يحتوي على 23 عنصراً جوهرياً من العناصر الغذائية مثل: السكر، الحديد، الكلس، الفسفور و غيرها . يستهلك البرتقال بشكل طازج أو على شكل عصير طبيعي أو مركز، وعالمياً يحول 85% من البرتقال المنتج في العالم إلى عصائر [9-11].

والبرتقال مصدراً غنياً بفيتامين C و E والفينولات والكاروتينات التي تؤدي دوراً مهماً كمضادات للأكسدة وكوابح للجذور الحرة التي تسبب ضرراً لمكونات الخلايا الأمر الذي يؤدي إلى حدوث العديد من الأمراض وقد أكدت العديد من الدراسات الوبائية أن تناول الخضار والفاكهة يقلل من الإصابة بالتهابات وأمراض الشرايين والسرطان والشيخوخة، وهذا مرتبط باحتوائها على مركبات ذات نشاط بيولوجي مهم [12].



2.2.I. التصنيف العلمي للبرتقال:

المملكة: *Plante*.

الصف: *Magoliophyta*.

القسم: *Dicotyledons*.

تحت القسم: *Sapindales*.

الرتبة: *Rosidae*.

العائلة: *Rutaceae*.

تحت العائلة: *Aurantioideae*.

الجنس: *Citrus* [10].

الصورة 2.I: صورة فوتوغرافية لثمار البرتقال.

وهناك عدة أنواع من البرتقال، وهي مصنفة كما يلي:

- 1) البرتقال المر وفيه نوعين: النارنج والبرجموت.
- 2) مجموعة البرتقال السكري.
- 3) مجموعة البرتقال العادي وتضم عدة أصناف من أهمها البرتقال البلدي، والبرتقال الياقوتي (*Orang jaffa*)، البرتقال فالنسيا (*Orang valencia*)، البرتقال بارسون، البرتقال هاملن، برتقال كادينبرا.
- 4) مجموعة البرتقال الدموي ومن أهم أصنافه البرتقال أبو دمه، البرتقال الخليلي الأحمر، برتقال دموي موروبلود، وبرتقال تاروكو.
- 5) مجموعة البرتقال أبو سرّة وأصنافه الشائعة هي البرتقال أبو سرّة واشنطن نافل، تومسون (*Citrus sinensis L*)، روبرستون نافل. [1]

3.1.I. دلالات الجودة:

من دلالات جودة البرتقال: كثافة اللون وتجانسه، صلابة الثمار، كبر حجمها، شكلها الدائري و نعومة قشرتها، بالإضافة إلى خلوها من العفن و العيوب بما في ذلك الأضرار الميكانيكية كالكدمات والإحتكاكات وسوء تلوين قشرة الثمرة وأضرار التجميد والأضرار الناتجة عن الحشرات كما أن وجود النكهة يعتمد على نسبة المواد الصلبة الذائبة إلى الحموضة وعدم وجود أي مركبات تسبب النكهة غير المرغوبة بما في ذلك المركبات الناتجة عن عملية التخمر، كما أن مدة التخزين لا تتعدى الشهرين [13].

4.1.I.العناصر الكيميائية:

الجدول (2.I) يبين أهم المكونات المتواجدة في ثمار البرتقال ونسبتها:

الجدول 2.I: أهم المكونات ونسبها في البرتقال [10].

العنصر	النسبة (100غ)
الطاقة	192 كيلوجول
الكربوهيدرات	11.54 غ
السكر	9.14 غ
الدهون	210 ملغ
البروتين	700 ملغ
الألياف	2.4 غ
Thiamhne	100 ميكروغرام
Riboflavin	40 ميكروغرام
Niacin	400 ميكروغرام
Acide pantothenique	250 ميكروغرام
فيتامين C	45 ملغ
الكالسيوم	43 ملغ
الحديد	90 ميكروغرام
المغنزيوم	10 ملغ
الفسفور	12 ملغ
البوتاسيوم	16.9 ملغ
الزنك	80 ميكروغرام

4.1.I. الفوائد العلاجية:

■ **الفعالية المضادة للأكسدة:**

تعتبر ثمار البرتقال مصدر غني بالفيتامين C، والمركبات الفينولية وخاصة الفلافونويدات، كما أن القشور تحتوي قدرا معتبرا من hesperidine، كل هذه المركبات تعمل كوابح للجذور الحرة في الجسم، كما أن الفيتامين C يحمي من البرد، السعال و الحمى الموسمية.

■ **الخصائص المضادة للسرطان:**

الـ Limonone مكون أساسي لثمار البرتقال و الذي يخفف من آلام الأسنان، اللثة، البطن و سرطان الرئة، ومركبات polymethoxylated و flavones لها تأثير تثبيطي على تكاثر الخلايا السرطانية (سرطان الرئة).

■ **التخفيف من خطر الإصابة بحصى الكلى:**

بينت دراسات سابقة أن تناول نصف لتر من عصير البرتقال يقلل من قيمة الـ pH وحمض سيتريك acide citrique وبذلك إنخفاض خطر تشكل أملاح الكالسيوم.

■ **التخفيف من خطر الإصابة بداء السكري:**

تعمل الـ Bioflavonoids (hesperidin و naringin) المتواجد في القشور على تنظيم إنتاج الإنسولين وبذلك تنظيم نسبة السكر في الدم [10].

■ **تقليل مستوى الكوليسترول:**

يحتوي قشر البرتقال على hesperidin الذي يساعد على التقليل من نسبة الكوليسترول في الجسم.

■ **تقليل الوزن:**

يوصى العديد من خبراء الصحة بإستخدام قشر البرتقال للمساهمة في تقليل الوزن حيث يساهم في زيادة مستوى الأيض مما يساعد في التخلص من الدهون و حرقها بطريقة أسرع.

■ **هضم أفضل:**

بسبب التأثير المضاد للإلتهاب لدى قشر البرتقال يمكنه أن يساعد على حل مشاكل الهضم مثل الحرقة والإسهال والحالات الخفيفة من الحموضة. و ذلك لأنه يحتوي على البكتين pectine.

■ **علاج رائحة النفس الكريهة:**

قشر البرتقال هو علاج عظيم لرائحة الفم الكريهة. عن طريق مضغ قطع صغيرة، يمكنك التخلص من أي رائحة كريهة في الفم. إنها تحارب أيضا ضد التسوس وتحافظ على أنفاسك أعذب لفترة أطول [9].

فوائد أخرى:

- بعد غسل قشر البرتقال وتجفيفه بحيث يمكن طحنه وينفع للاستعمال مع الحليب أو صنع الحلويات كمعطر وبديل عن الفانيليا وهو ينفع لغازات المعدة وله نكهة طيبة وعطر ولون طبيعي.
- يطرد البلغم ومفيد لتنظيف البلعوم والحنجرة.
- البرتقال وعصيره مقوي ومشهي خصوصا للذين يشكون من فقر الدم.
- ينفع استعمال قشر البرتقال فوق الفحم المشتعل في المناقل حيث يعطي رائحة قشر البرتقال الزكية رائحة الفحم.
- تعتبر قشور البرتقال من الأجزاء الهامة طبيا وذلك لاحتوائها على زيوت عطرية غنية بالجزرين يمكن استخدامها لعلاج العديد من الأمراض ومنها :

➤ الروماتيزم.

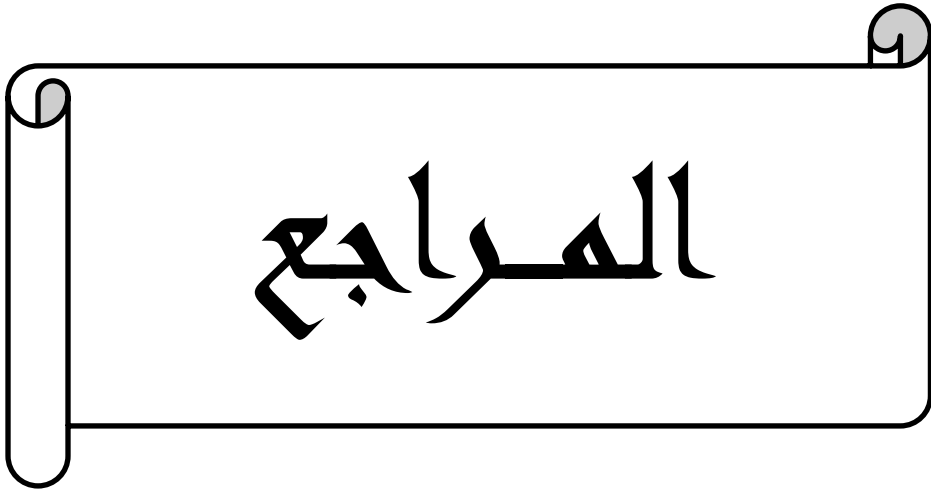
➤ الإمساك الحاد.

➤ آلام الصداع.

➤ المغص والنزف والحميات.

➤ آلام المعدة وحالات القيء [14].

البرتقال من الفواكه الشتوية المفيدة جدا لصحة الإنسان وذلك لإحتوائها على العديد من المركبات الكيميائية وبالأخص الأحماض الفينولية والفلافونويدات المنضوية تحت قسم المركبات الفينولية.



قائمة المراجع باللغة العربية:

- [1] طه الشيخ حسن- الحمضيات. منشورات دار علاء الدين دمشق- سوريا. (1996).
- [2] دانزال الديازي- بساتين الفاكهة، منشورات مديرية الكتب والمطبوعات الجامعي كلية الزراعة، حلب. (1978).
- [3] دانة حمزة امام خليفة، سماح حمزة "إنتاج نباتات مقاومة للملوحة باستخدام تقنيات زراعة الأنسجة" الدوحة قطر (2009).
- [4] إلياس شماس' "الحمضيات" الطبعة 6 دمشق - سوريا (1981) .
- [5] حنان مشنتل - سعاد لشهب - نسيمه دريشي، الحشرات الضارة في بستان بمنطقة البليدة، مذكرة تخرج لنيل شهادة أستاذ التعليم الثانوي، قسم العلوم الطبيعية، المدرسة العليا للأساتذة القبة القديمة- الجزائر(2006).
- [6] زينات موسى، جورج حداد، خريستو هيلان، علي بصل "الحمضيات" مصلحة الأبحاث العلمية الزراعية، الطبعة الأولى (2008) .
- [7] مديرية مكتب الحمضيات، البرامج الإرشادي للحمضيات (2005).
- [8] أحمد ز، الأيام الجزائرية يوم 07 - 07 - 2011. <http://www.djazairess.com/elayem/107575>
- [9] محمد نور الدين الموسوي الواعظ، البرتقال وفوائده. <http://MF4.4shared.Com> 2015-10-28.
- [12] هاله يحيى خالد - بسام أحمد العقلة - عقبة محمد، المركبات الفعالة بيولوجياً والنشاط المضاد للأكسدة في أصناف البرتقال الرئيسية المزروعة في سورية، مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية (2013).
- [14] محمد علي ماهر، مجلة رؤى. [https://fr.wikipedia.org/wiki/Orange_\(fruit\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Orange_(fruit)) -04-19; 2016.

- [10] Parle M., and Chturvedi D. ORANG: RANGE OF BENFITS. Gum Jambheshwar University of Sciences, Hisar (Haryana) India,(2012).
- [11] Oranges: Safe Methods to Store, Preserve, and Enjoy. University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. <http://anrcatalog.ucdavis.edu>
- [13] Jean B., ATLAS D'arboriculture fruitier (Volume 1). Technique et Documentation. Lavoisier (1992).

الفصل الثاني

المركبات الفينولية

مدخل:

المنتجات الطبيعية هي مركبات عضوية من أصل طبيعي، فهي مواد أنتجتها الكائنات الحية، وأكثر هذه المكونات أهمية هي تلك التي تؤدي دورا في التفاعلات داخل النبات، والتي يتم فصلها من النباتات، والكائنات الحية الدقيقة. وهي تصنف المنتجات الطبيعية إلى قسمين كبيرين :

القسم الأول : مركبات داخلية في التفاعلات الأولية وتشير في الغالب إلى العمليات الإيضائية الأساسية (Les Métabolites Primaire) التي ينتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة والأحماض الأمينية، السكريات، الدهون ، والبروتينات و الأحماض النووية، وتعتبر مركبات هذا القسم هي المواد البادئة لمركبات تؤلف في مجملها القسم الثاني.

القسم الثاني: متمثلة في مركبات الأيض الثانوي (Les Métabolite Secondaire). إذ يمكننا تصنيف هذه الأخيرة حسب تركيبها الكيميائي إلى ثلاث مجموعات كبيرة:

- ✓ التربينات ومشتقاتها.
- ✓ المركبات الفينولية.
- ✓ المضادات الحيوية والفيتامينات.
- ✓ الفلويدات وأشباهاها [1].

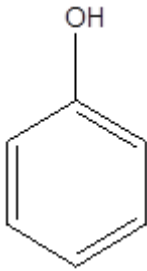
وسنعني المركبات الفينولية بالدراسة في هذا الفصل.

1.II. تعريف المركبات الفينولية:

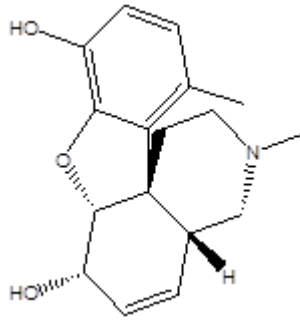
تشكل المركبات الفينولية أو متعدد الفينول (polyphénols) مجموعة كبيرة من المنتجات الأيضية الثانوية، وهي واسعة الانتشار في المملكة النباتية وذات تراكيب متعددة حيث أنها تشكل مجموعة من العائلات يصعب تفكيكها إلى مركبات بسيطة. كما أنها تندرج ضمن المركبات العطرية لرائحتها الخاصة [2،3].

تشارك المركبات الفينولية في الدفاع ضد الأخطار البيئية ، من أجل هذا فإن نسبة % 80 من هذه المركبات توجد على مستوى أنسجة البشرة (القشرة) للفواكه ، وعموما يرجع لون النبات والثمار إلى صبغات (الخضابات) ، هذه المركبات هي المسؤولة عن ظهور الألوان (أصفر، أخضر، برتقالي، أحمر) في النبات [4].

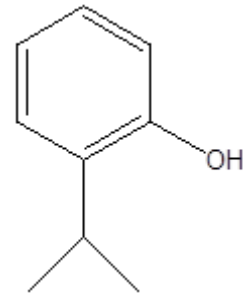
العنصر الأساسي في تشكيل المركبات الفينولية هو وجود على الأقل نواة بنزينية واحدة مرتبطة بمجموعة هيدروكسيل حرة أو مستبدلة مع مجموعات أخرى (إيثر، أستر، سكر) [5،6]. غير أن تعريفًا كيميائيًا صرفًا للفينولات بهذه الطريقة يعد غير كافي لتشخيص المركبات الفينولية النباتية إذ أن هناك منتجات أيضية ثانوية أخرى تشمل هذا التعريف أيضا ولكنها تنتمي إلى مجموعات فيتو كيميائية مختلفة مثل بعض القلويدات كالمورفين (Morphine) وبعض التربينات كالتيمول (Thymol) والتي تضم في بنائها حلقة بنزينية ومجموعة هيدروكسيل فينولية، مما يستوجب إدخال شرط الاصطناع الحيوي لحصر حدود هذه المجموعة وعليه يكون تعريف المركبات الفينولية الأكثر دقة على النحو التالي: منتج الأيض الثانوي حاوي على حلقة بنزين أو أكثر تحمل مجموعة هيدروكسيل حرة أو مرتبطة بوظيفة أخرى، تكونت حلقاتها من أيض حمض الشيكيميك *acide shikimique* أو متعددة الأسيئات *poly acétates* [2،7]



Phénole simple



Morphine



Thymol

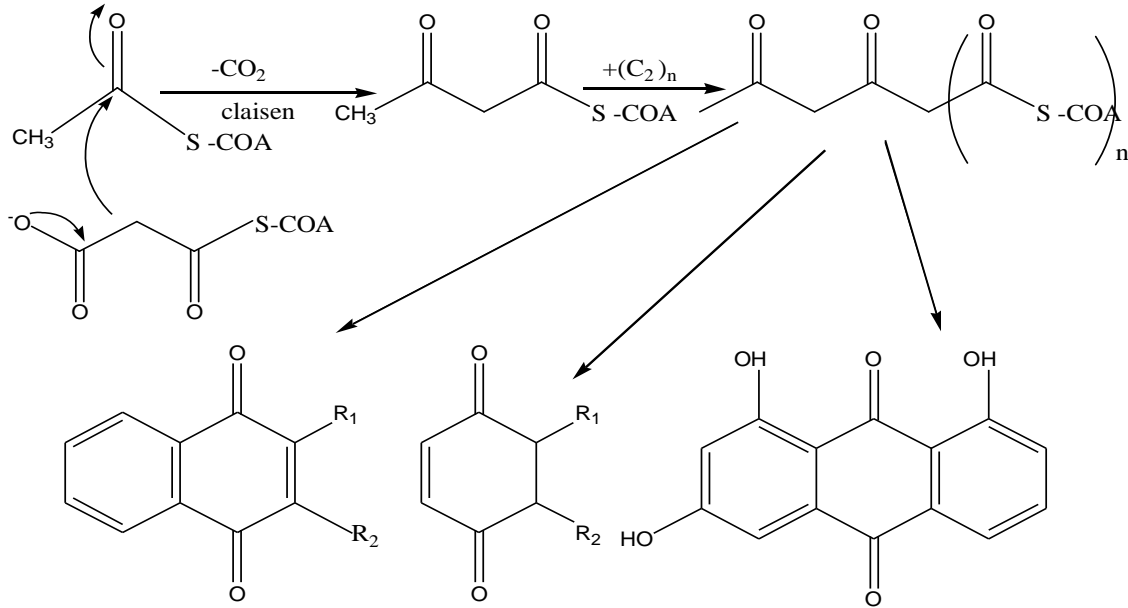
- ب- نموذج لمركب فينولي بسيط.

- أ- نموذجين لمركبين غير فينولين.

الشكل II.1: نموذج لمركب فينولي وآخرين غير فينولين.

2.II. الإصطناع الحيوي للمركبات الفينولية:

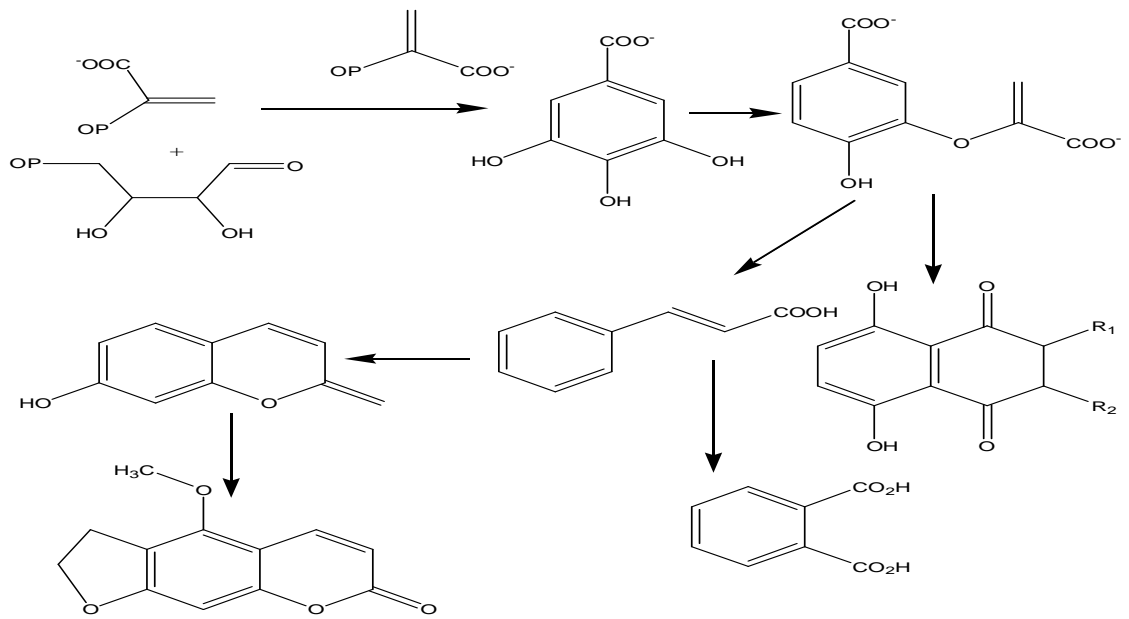
1.2.II. الإصطناع الحيوي من عديد الأسيتات: كما هو موضح في الشكل التالي [8،9]:



الشكل 2.II: تصنيع الفينولات انطلاقاً من عديد الأسيتات.

2.2.II. الإصطناع الحيوي انطلاقاً من حمض شيكيمييك: غالباً ما يكون تحضيره من المركبات

العطرية، حيث يلعب دوراً حاسماً في السيطرة على مسار عملية التمثيل الغذائي [8،9].



الشكل 3.II: تصنيع الفينولات انطلاقاً من حمض شيكيمييك.

3.II. مصدر المركبات الفينولية:

توجد الفينولات في العديد من الأطعمة ذات المصدر النباتي و تحديدا الفواكه تتراوح ما بين 100 و500 ملغ/غ في بعض الفواكه مثل التفاح، العنب، الكرز، المشروبات (الشاي، القهوة، النبيذ) و الشكولاتة بينما توجد بصورة أقل في الخضر و الحبوب ، حيث تحتوي الخضر ما بين 25 و 100ملغ/غ.

تعد الفواكه غير الناضجة غنية جدا بالمركبات الفينولية مثل (les flavonols) يمكن الحصول عليها من البصل و التفاح ، الفاصوليا الخضراء ، الكرنب غير الناضج ، نجد كذلك (isoflavones) في الشاي و(flavanones) في الحمضيات والتي يتراوح محتواها ما بين 250-6000 ملغ/كلغ[10].

4.II. أصناف المركبات الفينولية:

يضم قسم المركبات الفينولية حوالي 8000 مركب مقسمة إلى عدة أصناف ، بعض منها مدون في الجدول(1.II):

الجدول 1.II: أصناف المركبات الفينولية وبعض مصادره[4،5].

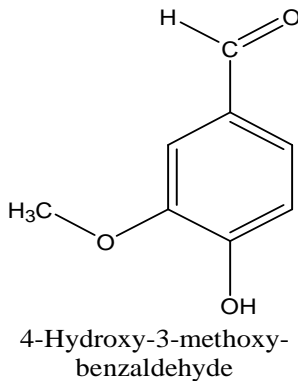
بعض المصادر	أمثلة	الصنف	الهيكل الأساسي
في عديد الأنواع	Catéchol	الفينولات البسيطة.	C ₆
الفاولة	p-hydrxobenzoique	أحماض البنزويك	C ₆ -C ₁
البطاطا ، التفاح	Acide caféique Acide férulique	أحماض السيناميك.	C ₆ -C ₃
الليمون	Scopolétine	الكومارينات.	
الجوز	Juglone	النافتوكينون	C ₆ -C ₄
الكروم	Resvératrol	الستالبيينات .	C ₆ -C ₂ -C ₆
الفواكه الحمراء، الخضر، التفاح، العنب، السوجا	Catéchine Naringénine Daidzéine	الفلافونويدات. الأيزوفلافونويدات.	C ₆ -C ₃ -C ₆
أنوية الفواكه		اللقتين	(C ₆ -C ₃) _n

توجد العديد من التصنيفات التي قسمت المركبات الفينولية إلى مجموعات، فقد صنفتها العالم Dacosta (2003) حسب البنية إلى عدة أقسام أهمها: الأحماض الفينولية، الفلافونويدات، التينينات، الستيلبينات، اللقنان، الصبونيات [11]. أما العالمان Harborne و *simmonds* (1964) فصنفاها حسب إنتشارها وتعقيدها إلى عائلة المركبات الفينولية قليلة الإنتشار (الفينولات البسيطة)، واسعة الإنتشار (الأحماض الفينولية، الفلافونويدات، الكومارينات) و المركبات الفينولية النباتية المتواجدة في الطبيعة على صورة بوليمرات (التينينات و اللقنين) [2]. (أنظر الملحق 01)

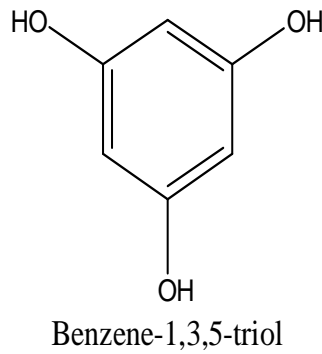
4.1.1.II عائلة المركبات الفينولية قليلة الإنتشار:

1.1.4.II المركبات الفينولية من الشكل C_6-C_2 , C_6-C_1 , C_6 :

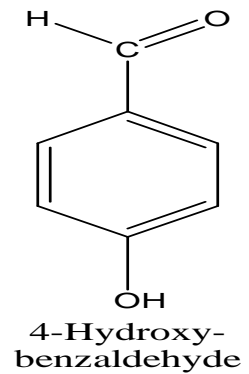
وهي مركبات ذات هيكل بسيطة قليلة الانتشار في الطبيعة، وتعد في معظم الأحيان مكونات للزيوت الطيارة وهي في الغالب عبارة عن كحولات، ألدهيدات، كيتونات [2].



Vanilline



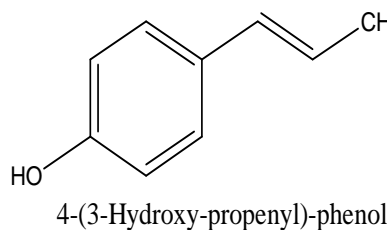
Résorcinol



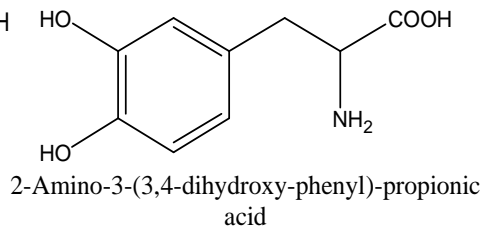
الشكل 4.II: نماذج المركبات الفينولية من الشكل C_6-C_2 , C_6-C_1 , C_6 .

2.1.4.II المركبات الفينولية من الشكل C_6-C_4 , C_6-C_3 :

تعد أكثر تواجد من سابقتها وهي أكثر أهمية وتعتبر كذلك من الزيوت الطيارة [2].



Tyosol

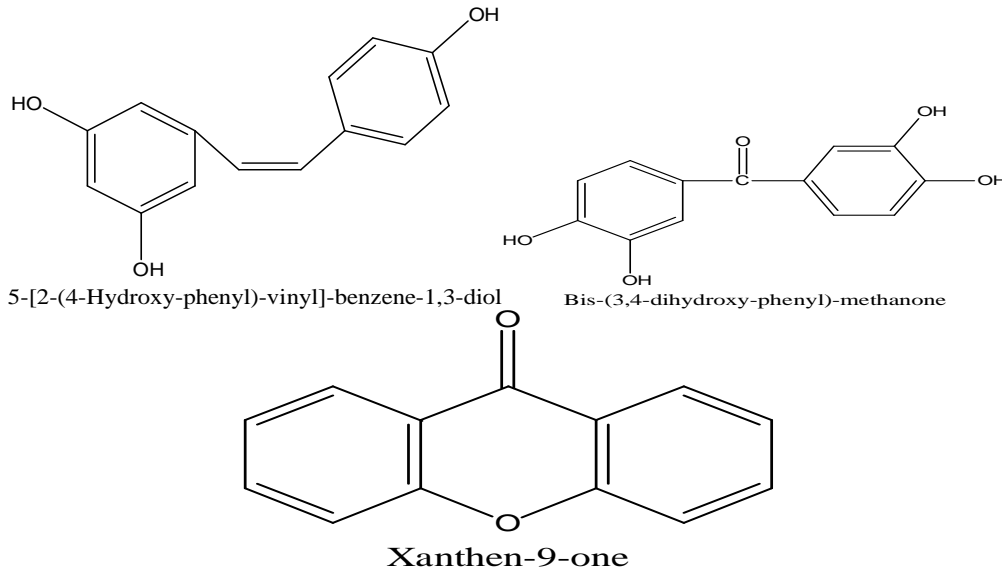


3,4-dihydroxyphénylalanin

الشكل 5.II: نماذج للمركبات الفينولية من الشكل C_6-C_4 , C_6-C_3 .

3.1.4.II. المركبات الفينولية من الشكل: $C_6-C_2-C_6$, $C_6-C_1-C_6$, ثنائي الفلافونيل :

و هي مركبات نادرة في الطبيعة و منها [2]:



الشكل 6.I: نماذج للفينونولات من الشكل: $C_6-C_2-C_6$, $C_6-C_1-C_6$, ثنائي الفلافونيل.

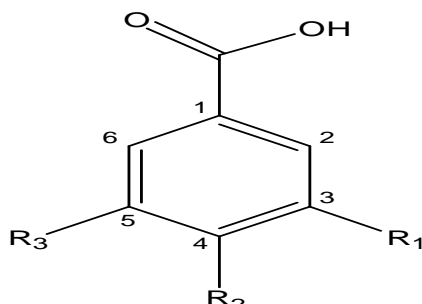
2.4.II. عائلة المركبات الفينولية واسعة الانتشار:

1.2.4.II. الأحماض الفينولية:

تعتبر من المركبات الفينولية كثيرة الانتشار، وهي المركبات التي تملك على الأقل وظيفة كربوكسيلية (COOH)، وتشق إما من حمض البنزويك acide benzoïque أو حمض السيناميك acide cinnamique [7].

بنية وتصنيف الأحماض الفينولية:

- الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك: تمتلك الهيكل الأساسي (C₆-C₁) ، وتكون حرة أم مرتبطة أو في حالة سكريات أو أسترات [7].



الشكل 7.II: الهيكل الأساسي للأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك.

بعض الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك مبينة في الجدول (2.II):

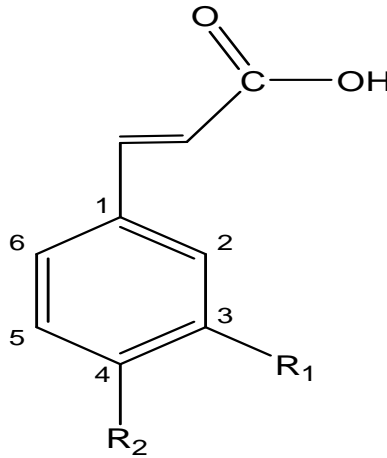
الجدول 2.II: الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك.

R ₃	R ₂	R ₁	الإسم
H	OH	H	حمض-4-هيدروكسي Acide hydroxy-4- benzoïque
H	OCH ₃	H	حمض-4-ميثوكسي بنزويك Acide méthoxy-4 benzoïque
H	OH	OH	حمض بروتوكاتشيك Acide protocatéchique
OH	OH	OH	حمض الغاليك Acide gallique
H	OH	OCH ₃	حمض الفانيليك Acide vanillique

- الأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك: تملك الهيكل الأساسي (C₆-C₃) ، و الأكثر إنتشارا هي أحماض الكوماريك ، الكافيك ، الفيريليك والسينابيك ، أما بقية الأحماض مثل -acide- 2-comarique فهي أقل تواجدا ونادرا ما تكون حرة [7].

أحماض السيناميك توجد على شكل متماكبات (diastéréoisomères E et Z) بسبب وجود رابطة مزدوجة في الجذر الجانبي ، حيث أن التشكيلة E أكثر تواجدا لأنها أكثر إستقرارا ترموديناميكيا. وتوجد في شكل أسترات أو سكريات [12].

وتشمل أحماض السيناميك أربعة مركبات لا يكاد عضو نباتي يخلو تقريبا من أحدها على الأقل وهي:
أحماض الفيريليك ، السينابيك (OCH₃ في الموقع 5) الكافيك ، الكوماريك [7].



الشكل 8.II: الهيكل الأساسي للأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك.

بعض الأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك مبينة في الجدول (3.II):

الجدول 3.II: الأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك.

R ₂	R ₁	الإسم
OH	H	حمض p-كوماريك Acide p-coumarique
OH	OH	حمض الكافيك Acide caféique
OH	OCH ₃	حمض الفيريليك Acide Féruilique
OCH ₃	OH	حمض إيزوفيريليك Acide Isoféruilique

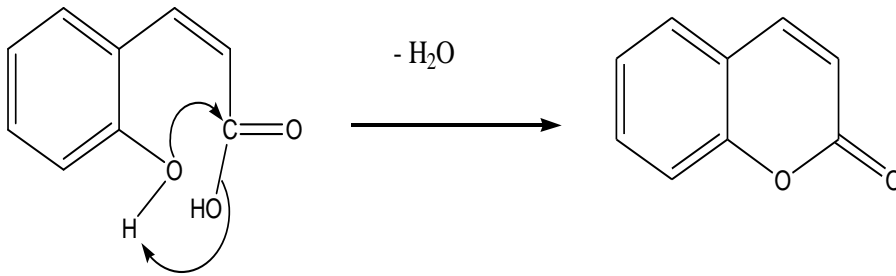
✚ الخصائص الفيزيائية والكيميائية للأحماض الفينولية:

- الفينولات تتحلل أساسا في المذيبات العضوية القطبية ، وتذوب كذلك في محاليل هيدروكسيد الصوديوم و كربونات الصوديوم.
- الأحماض الفينولية تذوب وتستخلص بمذيبات عضوية قطبية في وسط حمضي مخفف، كذلك كل الصيغ المستبدلة (hétérosidiques) للمركبات الفينولية تذوب في الماء.
- كل الفينولات قابلة للتأكسد بسهولة خاصة في الأوساط القلوية ، حيث أن أحماض السيناميك تعطي تراكيب تظهر تحت تأثير الأشعة فوق البنفسجية [13].

- عندما يتأكسد حمض السناميك في الوضع ortho للسلسلة الجانبية له وتكوين حلقة اللاكتون مع نزع جزيء من الماء سوف يؤدي ذلك لتكوين الكومارين الذي يعتبر فسيولوجيا أنشط من الفينولات فهو المسؤول عن تثبيط نمو الكائنات الدقيقة التي قد تهاجم النبات [7].

II.2.2.4. الكومارينات:

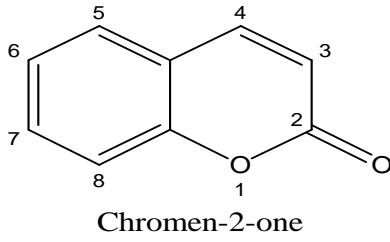
تم عزل الكومارينات في عام 1820 وتوصلوا سنة 1996 إلى اكتشاف حوالي 1300 كومارين [7]. واشتقت هذه التسمية من النبات الذي فصل منه أول مرة من قبل الباحث Vogel (1820) ، إذ تتشكل الكومارينات أساسا من الهيكل الأساسي (C₆-C₃) وهي عبارة عن حلقة بنزينية مرتبطة مع ذرة غير متجانسة تحوي ذرة أكسجين وبها وظيفة سيتون في الموقع 2 (benzo-b-oxine-2-one). ويمكن إلحاق الكومارينات بأحماض السيناميك إذ تتحلل هذه الأخيرة بسهولة عند احتوائها على هيدروكسيل في الموقع ortho لتعطي كومارينات [14].



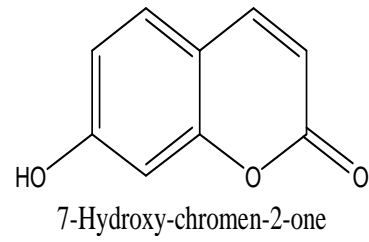
الشكل II.9: تشكل الكومارينات

بنية وتصنيف الكومارينات:

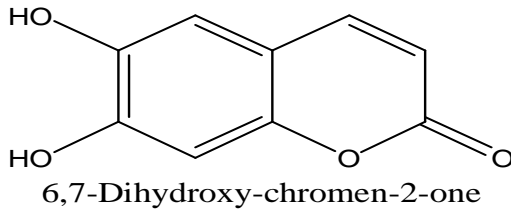
في العديد من الحالات كل الكومارينات يستبدل الموقع (7) بمجموعة هيدروكسيل ، فيصبح 7-هيدروكسي كومارين والذي نسميه بالامبيليفيرون (ombelliféron) حيث يعد هو المركب البادئ للكومارينات 6,7- دي هيدروكسي كومارين و 6,7,8- تري هيدروكسي كومارين [7].



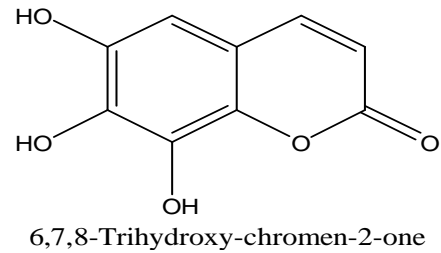
الكومارين (Coumarine)



الاومبيليفرون (Umbelliféron)



6,7- dihydroxycoumarine



6,7,8- trihydroxycoumarine

الشكل 10.11: بعض أنواع الكومارينات.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية للكومارينات

- الكومارينات الحرة تذوب في الكحولات والمذيبات العضوية، كما هو الحال في مجموعات (dioxyde d'ethyle) أو المذيبات المحتوية على الكلور.
- الصيغ المستبدلة (hétérosidiques) للكومارينات تتحل بسهولة في الماء.
- الفحص بالأشعة فوق البنفسجية أو كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) للكومارينات يمثل ببقعة ملونة تزداد وضوحا بوجود الأمونياك.
- يتأثر طيف الأشعة فوق البنفسجية (UV) بشدة بطبيعة موقع المستبدلات [7].

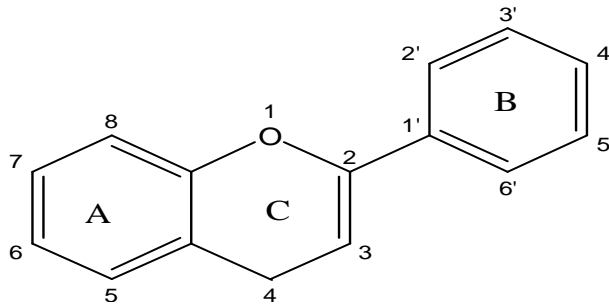
3.2.4.II الفلافونويدات:

عرفت منذ 1952 من طرف العالمان (geissman, hinreiner) وأصل التسمية يوناني وهي مشتقة من 'flavus' وتعني اللون الأصفر وهي أكثر المركبات الفينولية إنتشارا، والفلافونويدات تمثل القسم البالغ الأهمية من عمليات الايض الثانوية التي تحدث في جميع أنسجة وخلايا النباتات الراقية وغير الراقية وحتى الطحالب والفطريات وبعض الحشرات، وهي عبارة عن صبغات ملونة تتمركز بصفة خاصة في الجزء الهوائي من النبات على شكل مركبات ذات أساس سكري (وجود السكر في الجزيئة

يكسبها القدرة على الإذابة في الماء) أو على شكل مركبات حرة في الفجوات والسيتوبلازما والأغشية الليلية، وقد وجد لحد الآن أكثر من 4000 فلافونويد [7،15].

بنية وتصنيف الفلافونويدات

البنية الأساسية للفلافونويدات هي نواة فلافون (2-phenyl chromane -4-one)، وهي ذات هيكل أساسي (C₆-C₃-C₆) مكون من 15 ذرة كربون موزعة على حلقتين بنزينيتين (A و B) تربطها حلقة غير متجانسة (C) تحوي ذرة أكسجين ووظيفة سيتون في الموقع 4، كل الفلافونويدات لها أصل تصنيع حيوي يعتمد على بنية أساسية واحدة وهي (phenyl,2-chromane) [16].



الشكل 11.11: الهيكل الأساسي للفلافونويدات.

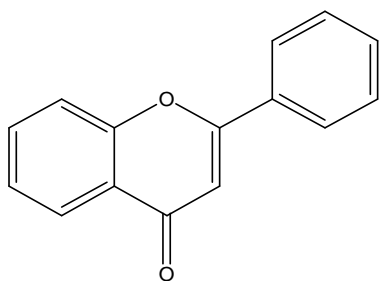
يمكن تقسيم الفلافونويدات حسب جهة ارتباط الحلقة C إلى:

- فلافونويدات: إذا كان ارتباط الحلقة B مع الحلقة C إنطلاقاً من الموقع C₂.
- إيزوفلافونويدات: إذا كان ارتباط الحلقة B مع الحلقة C إنطلاقاً من الموقع C₃ [17].

كما يمكن تقسيمها تبعاً لدرجة أكسدة الحلقة C إلى عدة أصناف، فأكثرها إنتشاراً الفلافونات Flavones والفلافونولات Flavonols وهي مركبات متماثلة في الهيكل الرئيسي، ويكون الإختلاف في الموقع C₃، إذا كان غير مستبدل فهنا يكون الفلافون، أما إذا كان مستبدل بـ: OH أو OR فهو فلافونول، وفيهما تكون الحلقة A مستبدلة بمجموعة هيدروكسي حرة في المواقع C₅ و C₇ بنسبة 90% أما الحلقة B فتكون مستبدلة في الموقع C₄ بنسبة 50%، تثبيت هذه المجموعات يكون قبل تشكل الحلقات A و B ولهذا فهي تعتبر مجموعات أصلية.

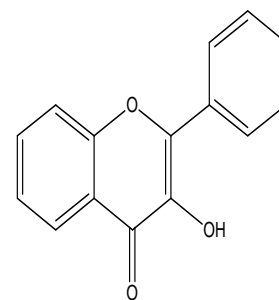
وتتميز الفلافانونات Flavanones وثنائي هيدرو فلافونانولات Dihydroflavonols بغياب الرابطة الثنائية بين C₂ و C₃ وهناك نوع خاص من الفلافونويدات يتواجد في الأزهار يتغير لونه على حسب الـ pH وهو عبارة عن الأنثوسيانان [7،17].

بعض أصناف الفلافونيدات موضحة في الشكل التالي [17]:



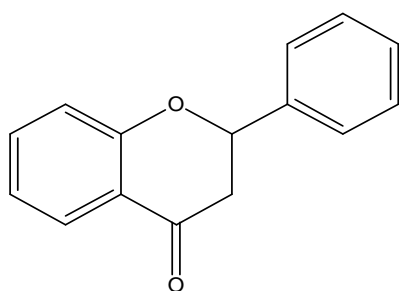
FLAVONE

وجود بروتون في الموضع 3

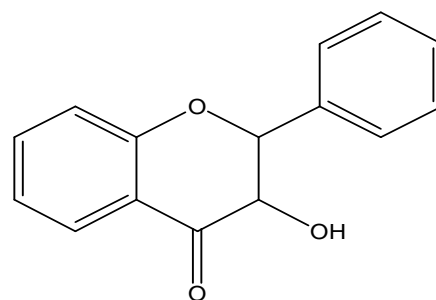


FLAVONOL

وجود هيدروكسيل في الموضع 3

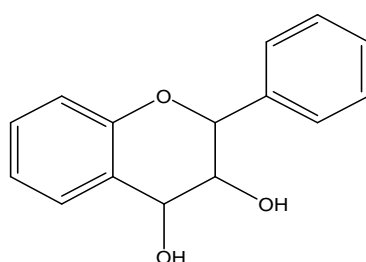


FLAVONONE



DIHIDROFLAVONOL

غياب الرابطة الثنائية C₂-C₃



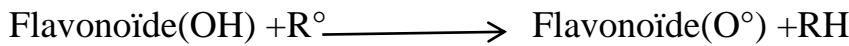
FLAVAN-3,4-DIOL

وجود هيدروكسيل في الموضع 4

الشكل 12.11: هياكل بعض أصناف الفلافونيدات.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية للفلافونويدات

- الفلافونويدات مركبات ملونة ، وهي تتواجد في جميع أجزاء النباتات الراقية حيث تتواجد بكثرة في الجزء الهوائي وخاصة الأوراق والأزهار إذ تسبب تلوين هذه الأخيرة.
- تعتبر الفلافونويدات مركبات ذات صفة حامضية ضعيفة تذوب في القواعد القوية ، وتتصف الفلافونيدات التي تحمل عددا كبيرا من مجموعات هيدروكسيل حرة أو سكر بالصفة القطبية ، وبالتالي فهي تذوب في المذيبات القطبية مثل (الميثانول , الإيثانول , الأستون , الماء).
- المركبات الأقل قطبية مثل الايزوفلافونات والفلافونات التي تحمل عدد أكبر من مجاميع الميثوكسيل فإنها تذوب في الكلوروفورم أو الايثر [14،18].
- كما لها دور في نمو و حماية النبات و هذا بتفاعلها بطريقة معقدة مع مختلف هرمونات النمو النباتية كما تتكامل فيما بينها لتساهم فيما يسمى: Phytoalexins و هو إنتاج النبتة لأيض يعالج الإصابات التي تسببها البكتيريا والفطريات [11،15].
- تحمي نسيج النبات لكونها تمتص الأشعة فوق البنفسجية وعليه فهي تحمي المواد الأساسية (البروتينات والأحماض النووية) من الأثار السامة لهذه الإشعاعات، كما تساعد على إنقاص من ظاهرة النتح في المناطق الجافة.
- الفلافونويدات عبارة عن مركبات قادرة على التقاط العديد من الأنواع المؤكسدة مثل: أيونات فوق الأكسيد، الجذر الهيدروكسيلي، الجذر البيروكسيلي و الأكسجين الأحادي، حيث تم تحديد علاقة بين بنية الفلافونويد و النشاطية المضادة لأكسدة [15].



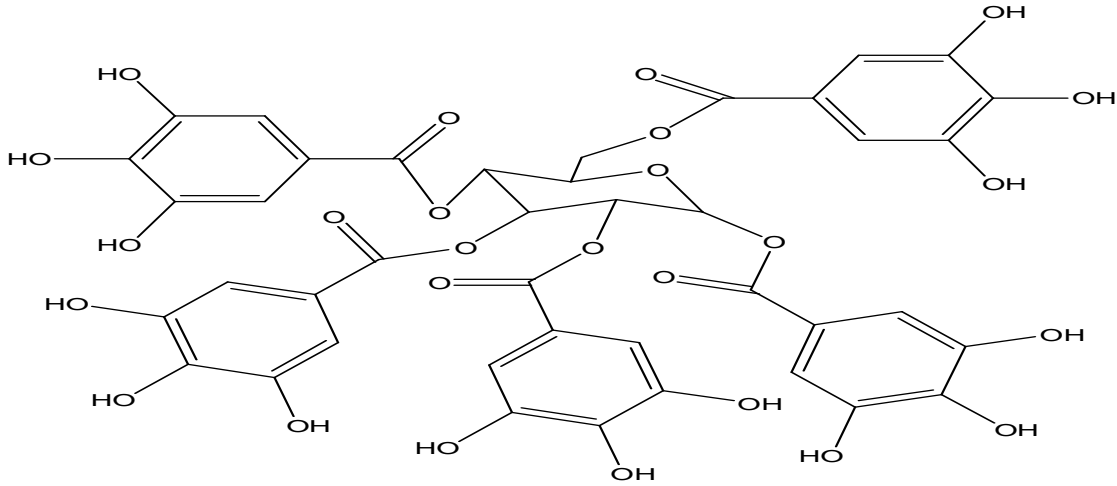
3.4.II. المركبات الفينولية النباتية المتواجدة في الطبيعة في صورة عديدات الجزيئات (polymers):

1.3.4.II. الدباغات:

هي مركبات ضخمة عديدة الجزيئات ذات أوزان جزيئية ضخمة و مذاق غير مستساغ و عادة ما تستخدم في الدباغة، ولها خاصية تحويل جلود الحيوانات الطرية إلى جلود غير قابلة للتعفن وقليلة النفاذية ويعزى ذلك إلى قدرتها على الإتحاد مع البروتينات، كما لها القدرة على ترسيب القلويدات [1].

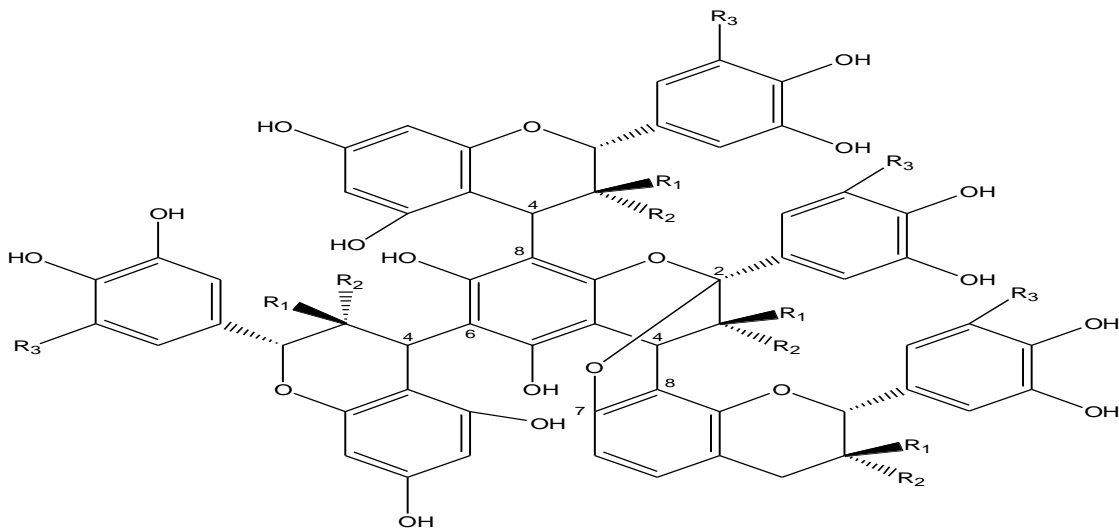
بنية وتصنيف الدباغات:

الدباغات المتحللة: وهي عبارة عن جزيئات معقدة تمثل أسترات لسكر متعدد الهيدروكسيل وعدد متغير من الأحماض الفينولية، تحللها ينتج شقا سكريا في أغلب الأحيان يكون الغلوكوز و آخرها فينوليا مشكلا أساسا من حمض الغاليك أو من حمض الإيلاجيك [7].



الشكل 13.II: بنية دباغ متحلل.

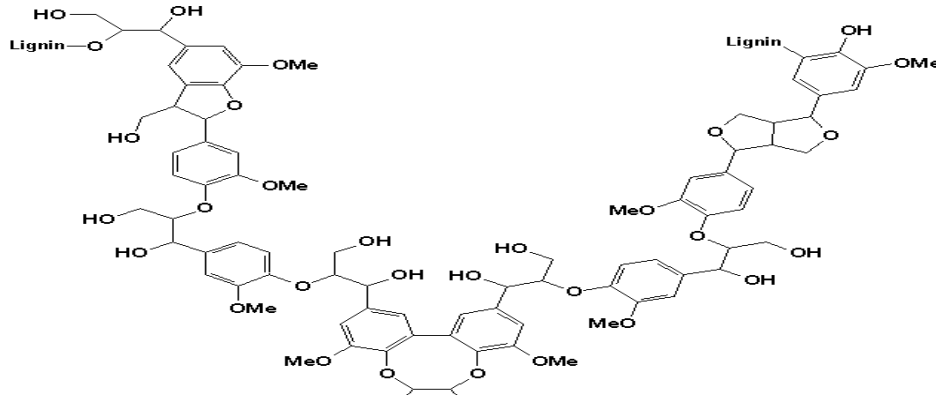
الدباغات المتراكمة : تعدالأكثر إنتشار، وهي ناتجة من البلمرة لجزيئات أولية تمتلك البنية العامة للفلافونيدات خاصة الـ (flavan-3-ols) catechines، وترتبط فيما بينها بروابط كربونية وفي أغلب الأحيان تكون بين المواقع (8 و 4) أو (6 و 4) [7].



الشكل 14.II: بنية دباغ متراكم.

II.2.3.4. اللقنين:

مكون أساسا من وحدات فنيل بروبان C_6-C_3 ، ويعرف بأنه الشق غير السكري للأغشية الخلوية، قليلة الإنتشار في الأنسجة النباتية المتناولة من قبل الإنسان، كما يرتبط تركيبها البنوي بالبنية التي تم إستخلاصها منها وشروط إستخلاصها، حيث يمكن إعتبار اللقنين كعديد الجزيئات ذات البنية المنتظمة غير أنها كارهة بشدة للماء [7].



الشكل II.15: بنية اللقنين.

II.5. العلاقة بين البنى والخواص الكيميائية للفينولات:

II.1.5. البنية الإلكترونية والخاصية الحامضية للفينولات:

الفينولات تحتوي على مجموعة هيدروكسيل مثبتة على حلقة بنزن، فهناك علاقة تداخل بين الإلكترونات المتحركة للحلقة والإلكترونات الأزواج الحرة لذرة الأكسجين حيث يلعب الأكسجين دورا ميزوميريا مانحا (+M) للإلكترونات، وعليه فنقصان الكثافة الإلكترونية تعمل على جذب الرابطة الهيدروكسيلية نحو الأكسجين، وكننتيجة لذلك فإن الحلقة البنزينية تعمل على تسهيل إنفصام الرابطة بين الهيدروجين والأكسجين بخلاف الرابطة بين الأكسجين والكربون التي تكون أكثر صعوبة.

ضعف الرابطة بين الأكسجين والهيدروجين تجعل هيدروجين الوظيفة الفينولية متحرك مما يمنحه الخاصية الحمضية شأنه شأن الحمض الضعيف فثابت تفكك الفينول العادي في حدود 10^{-10} (pH=11) أما الأحماض الكربوكسيلية ففي حدود 10^{-4} و 10^{-5} بينما الكحولات فيتراوح بين 10^{-16} و 10^{-17} .

وتشكل حركية هيدروجين مجموعة الهيدروكسيل الإختلاف الجوهري بين الكحولات والفينولات مما يترتب عنه خواص مميزة لكل من الوظيفتين.

الفينولات تتأين في الوسط القاعدي وتكون Phenolate و Phenate عالية كالأملح، حيث تكون أيونات من نمط $C_6H_5O^-$ ذات خواص طيفية مختلفة عن تلك التي للفينول الموافق، وهذه الخاصية تستعمل كثيرا في دراسة أطياف المركبات وكذا إستظهار الكروماتوغرامات [2،19].

حامضية الوظائف الفينولية يمكن أن تتغير كثيرا تبعا للبنية العامة للجزيئة فعلى سبيل المثال 2,4,6-trinitrophenol يعتبر حمضا قويا (pH=0,71) وهكذا نجد أن مجموعة الكربونيل (C=O) في المركبات الفينولية خاصة الفلافونول و الفلافون ذات تأثير ميزوميري صاحب (-M) لإلكترونات الحلقة البنزينية تزيد من إستقطاب الرابطة O-H وبالتالي حركية H أي الخاصية الحمضية [2،7].

II.2.5. خواص مجموعة هيدروكسيل الفينولات:

تشكيل الرابطة الهيدروجينية: الفينولات - شأنها شأن الكحولات - هي مواقع للإتحاد بين الجزيئات بفضل الروابط الهيدروجينية، كما يمكن أن تتشكل أيضا روابط هيدروجينية داخل الجزيئة في المركبات الفينولية المعقدة.

ومعروف عن الروابط الهيدروجينية أنها تغير الكثير من الخواص الفيزيائية (درجة الإنصهار، الغليان، الذوبانية، أطياف الأشعة فوق البنفسجية وتحت الحمراء). وتنشأ الرابطة الهيدروجينية عن إتصال الهيدروجين بأحد الذرات عالية الكهروسالبية كالأكسجين مثلا فينشأ عنه إستقطاب الرابطة O-H ويفقد الهيدروجين جزئيا إلكترونه فيتجه نحو ذرة أكسجين لجزيئة أخرى عالية الكثافة الإلكترونية. ويعمل وجود الرابطة الهيدروجينية على التقليل من فعالية المجموعات الفينولية كالذوبانية في الأوساط القلوية، وقابلية تشكيل الإستر والإثر، وبالرغم من ذلك فإن الروابط الهيدروجينية تكون أقوى في حالة تكوينها لحلقة سداسية من حالة تكوينها لحلقة خماسية.

هذه الروابط الهيدروجينية تجعل أيضا تنقية المركبات الفينولية صعبة، وعليه فإن هذه المركبات تميل إلى تشكيل بنى سداسية الأشكال، تتضمن ست مجموعات فينولية متحدة بروابط هيدروجينية، مشكلة تجاويف (cavités) تسمح للمركبات بالإتحاد مع عدد كبير من الجزيئات العضوية، وخاصة مع المذيب المستعمل أثناء عملية التنقية والفصل [2،7].

II.3.5. تشكيل معقدات مع المعادن:

تشكيل معقدات المركبات الفينولية مع المعادن (Fe, Al) واسعة الإستعمال، وخاصة عند إستظهار الكروماتوغرامات لتحديد هذه الجزيئات وبالأخص عند إجراء أطياف الإمتصاص.

كما تدخل هذه المعقدات في الطبيعة وتشارك في تلوين النباتات وقد لاحظ الباحثان Jurd و Geissman (1956) خلال أشغالهما على العديد من المركبات الفينولية الطبيعية الممتلئة لبعض المجموعات البنوية قدرتها على تشكيل معقدات مع المعادن.

كما بين هذان الباحثان أن البنية العامة للجزيئات بإمكانها أن تتدخل في تشكيل المعقدات فعلى سبيل المثال يتغير كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ بدرجة أقل في طيف إمتصاص Pyroctéchol عن طيف 3,4-dihydroxylcone الممتلك لمجموعة كربونيل $C=O$ مترافقة مع مجموعة $ceréchol$ [19,2].

يشكل كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ مع كمركببات الفلافونيدية نلخص مجملها في الحالتين الآتيتين:

معقدات مستقرة : تتشكل في حالة تواجد مجموعة هيدروكسل في الوضع C_3 و C_5 مع مجموعة كربونيل في الوضع C_4 .

معقدات غير مستقرة : تتشكل في حالة تواجد مجموعتين الهيدروكسيل في الموضعين (C_3 و C_4) (C_5 و C_6) (C_7 و C_8) [2].

II.6. أهمية الفينولات و الفلافونيدات:

II.6.1. أهمية الفينولات بالنسبة للنبات:

بالرغم مما تقدمه المركبات المستخلصة من النباتات من فوائد عظيمة للإنسان، فإن دورها للنبات نفسه لم يكن معروفاً، فكثفت الأبحاث على زراعة الأنسجة النباتية داخلية (التجارب التي تحدث على النبات وهو يقوم بجميع وظائفه *in vivo*) وخارجية (التجارب التي تتم داخل أنابيب الاختبار *in vitro*) أدت إلى معرفة الدور الفسيولوجي لمنتجات الأيض الثانوي، فهي تؤمن العيش للنبات في ظروف حياته القاسية. يكمن دور الفينولات في مراقبة نمو تطور النباتات بطريقة مباشرة أو غير مباشرة وذلك بتشكيلها معقدات مع هرمون النمو وقد لوحظ أيضاً أن الفينولات تلعب دوراً في وقاية النباتات من الأمراض التي تسببها البكتيريا والفطريات فهي مبيدات للحشرات أو مضادات حيوية، فبعض النباتات تفرز مركبات فينولية على مستوى الأوراق والجذور كمواد سامة ضد نمو النباتات الطفيلية [7,20].

II.6.2. الفاعلية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية:

تمتلك المركبات الفينولية خصائص مضادة للأكسدة قادرة على كسب الجذور الحرة الناجمة عن (التدخين، والتلوث)، حيث أن حماية القلب والأوعية الدموية بالمركبات الفينولية أصبحت الأكثر رسوخاً.

يتم إمتصاص المركبات الفينولية من خلال الحاجز المعوي ومن ثم الوصول إلى الأنسجة المستهدفة ، حيث يمكن أن تؤدي إلى واقية الجسم من تعرضه للأكسدة ، والأمراض المختلفة مثل أمراض القلب والسرطان وأمراض الأعصاب[7].

ولأن الفلافونويدات من أهم الفينولات المضادة للأكسدة فإنها تقوم على تثبط الأكسدة الفوقية للبيدات في المرحلة الابتدائية بإقتناصها لجذور الهيدروسكيل وذلك لقدرتها على التداخل مع الطبقة ثنائية اللبيد للغشاء الخلوي ، كما تنهي سلسلة تفاعلات الجذور الحرة وذلك بإعطائها ذرات الهيدروجين لجذور البيروكسي ROO^{\bullet} (proxy) أو RO^{\bullet} (alcoxy) مشكلة بذلك جذر الفلانويد[19].

وفي المجال الاقتصادي لها أهمية كبيرة في الصناعات الغذائية حيث تستعمل كمضادات للتأكسد ومثبطات للأنزيمات كما يتم استعمالها في صناعة مواد التجميل حيث تحمي البشرة الخارجية من الأشعة فوق البنفسجية[7].

II.3.6.3.6. الفعالية البيولوجية للمركبات الفينولية:

تملك خصائص علاجية متنوعة إذ تؤدي دورا كبيرا في ميدان الطب والصيدلة لما لها من تأثيرات على الكائنات الحية عامة ، وعلى الإنسان خاصة فهي تحمي الأوعية الدموية، مضادة للالتهابات منها مثبطة ومنها محفز للأنزيمات، مضادة للأورام .تحتوي الفينولات على المجموعات الهيدروكسيلية (OH) فكلما كثر وجودها في المركب زادت في نشاطه المضاد (المقاومة للأورام)، تعد مخالب (مفخخة) للجذور الحرة فهي تمنح الهيدروجين ليووقف عملية انتشار الجذور.

بالإضافة إلى خصائصها المضادة للأكسدة تعمل بعض الفلافونويدات كعوامل مخلبة للمعادن metal-chelating وبالتالي تثبط تفاعل fenton الذي يعتبر مصدر مهم لإنتاج الجذور الأوكسجينية النشطة. أيضا تعمل على التقليل من نفاذية و هشاشة الشعيرات الدموية، إذ أنها ضرورية للبنية الطبيعية و الوظيفية للشعيرات الدموية. وكذلك فإن لها دورا مضادا للإلتهاب نظرا لتداخلها مع ميتابولزم حمض الأراشيدونيك.

كما أن الفلافونويدات تلعب دورا في تثبيط تطور السرطان، حيث تعمل على تنظيم التكاثر الخلوي من خلال تثبيطها لطرق التنبيه الداخل خلوي، كما تعمل على تحريض الموت المبرمج للخلايا السرطانية[19].

عموما الفلافونويدات هي مركبات غير سامة و متقبلة لدى الإنسان، إن كمية 1 غ من المركبات الفلافونيدية المختلطة كافية من الناحية الصيدلانية لتفي احتياجات الأنسجة من هذه المواد وعدم الوقوع في الأمراض [7].

ونبين في الجدول (4.II) بعض المركبات الفينولية التي تستعمل لعلاج العديد من الأمراض:

جدول 4.II: بعض المركبات الفينولية المستعملة في الطب و الصيدلة [20،7،2].

المركب الفينولي	الفعالية البيولوجية
الكومارينات	حماية الأوعية الدموية مضاد للأمراض الجلدية (البهاق)
الفلافونيدات	مضاد للالتهاب مضاد للسرطان يخفض ارتفاع الدم مدر للبول مضاد للأكسدة تمنع تخثر الدم
التانينات المتراكمة و متحللة	● مضادات للأكسدة
الأحماض الفينولية	● مضاد البكتيريا ● مضاد للطحالب ● مضاد للأكسدة
Proanthocyanidines	● تمتن العظام ● مضاد للسرطان ● مضاد للالتهابات
Phytoestrogène	● مكمل غذائي

تمتلك المركبات الفينولية أهمية كبيرة من حيث أنها مضادات للأكسدة، وقد عنيت هذه الخاصية بكثير من الدراسات السابقة والحالية، كما أن للفينولات فعالية بيولوجية عالية جدا خاصة فعاليتها المضادة للبكتيريا، فهذه المركبات تساهم طبيعيا بشكل كبير في حماية النباتات من البكتيريا. إذ أن المركبات الفينولية وخاصة الفلافونويدات تتداخل مع الأحماض النووية وتثبط تركيب الـ ADN و الـ ARN للبكتيريا [12].

المراجع

قائمة المراجع باللغة العربية:

- [1] العابد إبراهيم، دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام للنبات الضمران *Traganum nudatum*، مذكرة التخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء عضوية تطبيقية، جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2009).
- [2] بن عشورة صبرينة البتول، الفعالية المضادة للأكسدة الزيوت الطيارة والمركبات الفينولية لـ«*Deverra scoparia*»، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الهندسة الكيميائية، تخصص التحضير العضوي والفيتوكيمياء جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2007).
- [13] سهيلة العقون، فصل وتحديد الأيض الثانوي والفلافونويدي لنبنة طبية تنتمي إلى العائلة الشفوية (Lamiaceae) ودراسة التأثير المضاد للبكتيريا، مذكرة ماجستير، جامعة منتوري قسنطينة (2003).
- [14] ميثاق الجبر ، بحث وتحديد نواتج الأيض الثانوي لنبات القات *cathaedulis* من العائلة (celastraceae) ونبات البوليكاريا *pulicaria jaubertu* من العائلة (Asteraceae) وتقييم الفعالية البيولوجية ، مذكرة دكتوراه علوم في الكيمياء العضوية، فرع كيمياء النباتات ، جامعة منتوري – قسنطينة (2010).
- [15] أمداح سعاد، التنقيب عن الجزيئات الفعالة من النبتتين الصحراويتين *Chrysanthemum fuscatum* و *Colocynthis vulgaris* ودراسة الأثر الوقائي للنظام الهيبياتولوجي و الهيماتولوجي لدى الجرذان المعاملة بمضادات السل، أطروحة دكتوراه الدولة، تخصص صيدلة وسموم، جامعة منتوري قسنطينة (2006).
- [17] باز مسعود إستخلاص، فصل و تحديد بنيات منتوج الأيض الثانوي عند نبات جنس *Centaurea* *C.Sphaerocephala* L. رسالة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية، تخصص كيمياء النبات، جامعة منتوري قسنطينة أكتوبر (2006).
- [19] عمراني أمال، دور فيتامين C, E والمستخلص البوتانولي لنباتي *suaveolens Rhantherium* و *Chrysanthemum fontanesii* في الوقاية من التسمم المحرض بدواء Sodium Valproate لدى الفئران الحوامل دراسة *In vivo* و *In vitro*، رسالة مقدمة لنيل شهادة دكتوراه العلوم في بيولوجيا و فسيولوجيا خلية الحيوان، جامعة قسنطينة I (2013).

- [3] Aïra. *Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien Oenocarpus bataua (patawa)*. Thèse pour le doctorat en Phytochimie. Université des Antilles et de la Guyane, (2012).
- [4] Harborne J.B. *biochemistry of phenolic compounds*, academic press, london and newyork.
- [5] Wilfred V; Ralph N; *Purdue University*. phenolic compound biochemistry, Published by Springer.
- [6] Tang Ho C, *Rutgers E*, Chang Y. Lee., Huang M. T, *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health I Analysis, Occurrence, and Chemistry*. American Chemical Society, Washington(1991).
- [7] Jean B., *pharmacognosie phytochimie plantes médicinales*, 3^{ème} édition Technique.et Documentation, paris (1999).
- [8] BRUNATON J., *Pharmacognosie*. 3^{ème} édition, TEC. et DOC. , Paris. (1999).
- [9] BELKHIRI A., *Cours de pharmacognosie- PG. de chimie organique et phytochimie*. Université Mentouri Constantine.(2006).
- [10] Abdelghafour M, *radiolise gamma des flavonoides . etude de leur reactivite avec les radicaux issus des alcools formation de depsides*, These de doctorat (2003).
- [11] Saliha D. A, *etude quantitative des composés phénoliques des extraits de trois variétés de dattes (Phoenix dactylifera L.) et évaluation in vitro de leur activité biologique*, Mémoire Pour l'obtention de diplôme de Magister en Biologie , Université El-Hadj Lakhdar – Batna (2010).
- [12] Salah Eddine L., *Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de Phoenix dactylifera L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf)*, Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en sciences Université Mohamed Khider Biskra (2014).
- [16] Aïcha M., *Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques*. Mémoire de magister. université mentouri constantine (2010).
- [18] El hazemi , H . *Natural Product* , (1995) .

- [20] Abdelrazag H, Etude phytochimique et activité biologique de la plante *Limoniastrum guyonianum*, mémoire présenté pour obtenir le diplôme de magister en chimie organique, (2013).

الفصل الثالث

عموميات حول البكتيريا والمضادات

الحيوية

مدخل:

إن كلمة ميكروب (microorganisme) تستعمل لوصف الكائنات الدقيقة التي لا يمكن ملاحظة بنيتها إلا بواسطة المجهر، والتي تشمل الفيروسات، البكتيريا، الفطريات وبعض الطحالب، ونسبها المجال الذي يدرس هذه الكائنات بالميكروبيولوجيا، والذي تطور بتطور وسائل البحث والدراسة انطلاقاً من القرن 17 م، عندما تعرف العالم Antoine van Leeuwenhoek عام 1668 م بواسطة مجهره البسيط على بعض الفطريات والبكتيريا، وفي سنة 1859 م تمكن الكيميائي الفرنسي Pasteur من التعرف على هذه الكائنات والتأكيد على ماهيتها، حيث إكتشف البكتيريا الهوائية واللاهوائية من خلال تجاربه على التخمر، واكتشف أيضاً طعومها، وارتبط اسمه بعملية البسترة لقتل الكائنات الحية المجهرية المتواجدة في السوائل، وقد أثبت أيضاً أن البكتيريا كائن حي والكائن الحي لا يتولد إلا من كائن حي آخر.

أما العالم الألماني روبرت كوخ Robert Koch (جائزة نوبل في الطب والفيزيولوجيا 1905) فقد أسهم في اكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض حيث إرتبط اسم البكتيريا كثيراً بالمرض الذي تسببه، لكن الإكتشافات الحديثة والتقدم السريع الذي حدث في العلوم التطبيقية أظهرت أن البكتيريا تلعب دوراً هاماً في كثير من الصناعات الغذائية والدوائية والتخلص من المواد العضوية وغير العضوية وكذلك معالجة المياه العتمة والمعالجة الحيوية لمخلفات المزارع ولها استخدامات في إنتاج الطاقة وغاز الميثان [1].

1.III. البكتيريا:**1.1.III. تعريف البكتيريا:**

البكتيريا كائنات دقيقة مجهرية أحادية الخلية بدائية النواة (procaryote) كروية، عصوية أو حلزونية يتراوح طولها بين الميكرومتر الواحد إلى بضعة أعشار الميكرومتر، نجدها في كل مكان الماء، الهواء و التربة.

وتستطيع البكتيريا العيش لأعوام طويلة متحملة جميع الأحوال غير الملائمة من إرتفاع درجة الحرارة أو إنخفاضها ، تغير درجة الملوحة وغير ذلك من الظروف البيئية القاسية [2-4].

III.2.1.2.1. تركيب الخلية البكتيرية:

تتركب الخلية البكتيرية من:

(أ) أربعة أجزاء أساسية:

(1) الجدار الخلوي: جدار سميك يتألف من طبقتين في البكتيريا موجبة (G^+) الغرام وثلاث طبقات في البكتيريا سالبة (G^-) هذا الأخير الذي يظهر أقل سمكا من جدار الخلية موجبة الغرام، ويتكون الجدار الخلوي من مواد سكرية ودهون، وظيفته الحماية والدعامة وإعطاء البكتيريا الشكل المميز لها وهو الذي يحدد نوعية صبغة البكتيريا وكذلك يوجد به السم الداخلي للبكتيريا Endo Toxin.

(2) الغشاء البلازمي: غشاء رقيق جدا مكون من الدهون والبروتينات، يتألف من بلايين الثنيات Mesosomes، وظيفته المشاركة في عملية انقسام البكتيريا وهو مركز إنزيمات التنفس و يحدد نوعية و كمية المواد التي تنفذ من أو إلى البكتيريا والتي تعرف بالإنفاذية الإختيارية.

(3) الاستيوبلازم: كتلة بروتينية هلامية تحتوي على غذاء مدخر وتدور فيها المواد الغذائية والفضلات لإخراجها ، وكذلك توجد بها حبيبات من مادة الـ ARN تعرف بالريبوزومات، وظيفتها تكوين البروتينات سواء كانت تركيبية أو وظيفية مثل الإنزيمات والهرمونات ، وكذلك يوجد بها حبيبات مكونة من الـ ADN تحمل صفات (جينية) معينة وتعرف بالبلازميدات.

(4) النواة: نواة البكتيريا بسيطة تتكون من كروموزوم واحد ملتف حول نفسه يوجد في مركز الخلية وليست محاطة بغشاء نووي و لا توجد بها نويات أو سائل نووي، وظيفتها السيطرة على جميع عمليات الخلية وصفاتها بما تحتويه من جينات وكذلك بدء عملية التكاثر.

ب) أربعة أجزاء إضافية: قد يوجد إحدها في بعض الخلايا أو لا توجد فهي ليست ضرورية لحياة البكتيريا.

(1) الهدبيات: زوائد دقيقة جدا تسمى Pili ، وظيفتها التثبيت على سطح الخلايا العائلة وبعضها يعرف بالهدبيات الجنسية التي تلتصق ببعضها لإندماج الأنوية من خلية لأخرى، وهي مسئولة عن ضراوة البكتيريا (بكتيريا السيلان مثلا).

(2) الأسواط Flagella: زوائد طويلة جدا حول البكتيريا في توزيع مميز لكل نوع فقد تخرج من طرف واحد من الخلية أو كلا الطرفين ، أو من جميع سطح البكتيريا وهي المسئولة عن حركة البكتيريا (العصيات المعوية E.Coli).

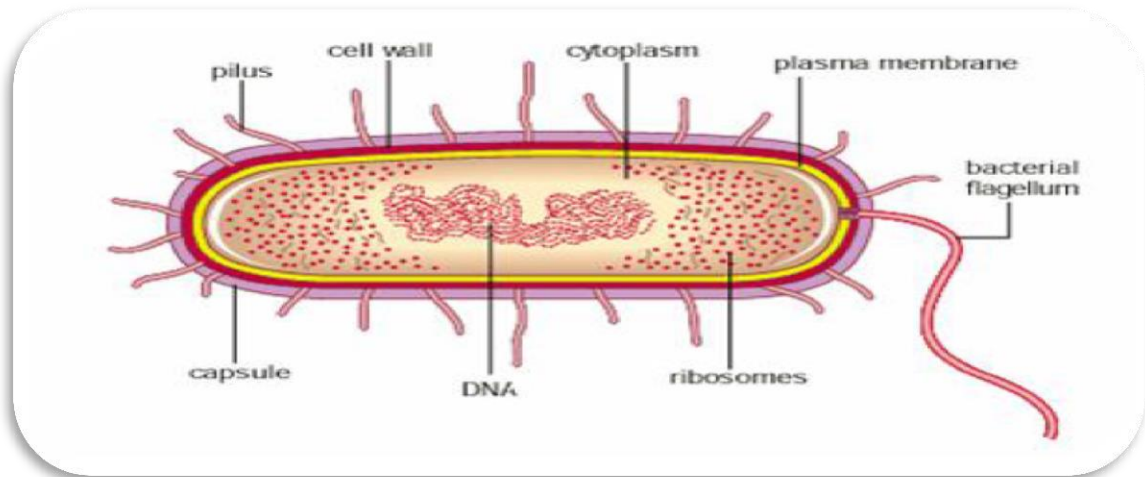
(3) **الحافظة Capsule**: طبقة هلامية سميكة تحيط بالبكتيريا وتمنع التصاقها بالخلايا البلعمية (Phagocyte) لذلك فهي من عوامل ضراوة بعض الأنواع وتوجد في الثنيات الرئوية والجمرة الخبيثة.

(4) **البذور Spores**: عندما تسوء الظروف البيئية (الجفاف، ندرة الغذاء، الـpH) تكون بعض أنواع البكتيريا جدار سميكا يحيط النواة وقليل من السيتوبلازم ويعرف هذا التركيب بالبذرة التي تظل حية لمدة طويلة إلى أن تتحسن الظروف فيتشقق جدار البذرة وتخرج منه النواة وتستعيد شكل البكتيريا. مثل الجمرة الخبيثة وكلوستريديا الغرغرينا الغازية وهذه البذور البكتيريا تقاوم حتى درجة 121° م على عكس البكتيريا الخضرية التي لا تقاوم حتى درجة 100° م [5].

دورة حياة الخلية تتركز على إستمرارية إنقسامها، حيث حوالي كل 20 دقيقة تنقسم الخلية البكتيرية لإعطاء خليتين جديدتين، فخلال ساعات تعطي خلية بكتيرية واحدة الملايين من الخلايا.

ولدرجة الحرارة تأثير على بقاء البكتيريا، حيث أن الدرجة المناسبة لتكاثرها و نموها تتراوح ما بين 37 — 45° م، ومنها من تعيش و تتكاثر في درجة حرارة منخفضة 0 — 18° م، و أخرى تعيش في درجات حرارة عالية 45 — 60° م، بالإضافة إلى أن الـpH المثالي لنمو البكتيريا هو في حدود pH=7. كما أن الأوساط الغنية بالرطوبة والماء تعتبر وسط جيد لتكاثر البكتيريا [3،4].

بنية الخلية البكتيرية موضحة في الرسم التخطيطي التالي:



الشكل 1.III: بنية الخلية البكتيرية.

III.1.3. تصنيف البكتيريا:

صنف العلماء البكتيريا على إعتبار عدة معايير:

(1) من حيث توزيع أسواطها:

بكتيريا وحيدة السوط.

بكتيريا ذات أسواط عديدة : متجمعة عند طرف واحد .

بكتيريا ذات أسواط عديدة : موزعة على كل الخلية.

(2) من حيث الشكل:

البكتيريا العصوية (Bacilli): التي تأخذ خلاياها شكل العصويات الصغيرة.

البكتيريا الكروية (Cocci): التي تأخذ خلاياها شكل الكريات الصغيرة.

البكتيريا الحلزونية (Spiral): التي تأخذ الشكل الحلزوني.

البكتيريا الواوية (Vibrio): التي تأخذ شكل الواو أو الضمة العربية.

(3) من حيث الوسط الذي تعيش فيه:

بكتيريا هوائية (Aerobic): وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الهواء الجوي وهي تعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية.

بكتيريا لا هوائية (Anaerobic): وهي البكتيريا التي تعيش فقط في غياب الهواء الجوي.

بكتيريا لا هوائية إختيارية (Facultative Anaerobic): وهي البكتيريا التي يمكنها العيش و النمو في ظل وجود الهواء الجوي أو عدمه.

(4) من حيث التغذية:

بكتيريا ذاتية التغذية: هي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو.

بكتيريا عضوية التغذية: هي البكتيريا التي تحصل على الكربون من تحليل المواد النيئة كالسكر [6].

(5) من حيث طريقة التلوين (صبغة الغرام) :

تصنف البكتيريا عن طريق إستخدام الفروق في بنية الجدار الخلوي وهذا بإستخدام التقنية المسماة صبغة الغرام (Gram Stan) نسبة إلى العالم البلجيكي H.C.J.GRAM المخترعة سنة 1884 وعن طريقها يمكن أن نقسم البكتيريا إلى:

بكتيرية موجبة الغرام **Gram positive (G⁺)**: عند تلوينها تمتص اللون.

سالبة الغرام **Gram négative (G⁻)**: لا تمتص أو قليلة الامتصاص للون وتحرر صبغا.

وتعود هذه الفروق إلى بنية الجدار الخلوي فالخلية سالبة الغرام تحتوي على غشاء خارجي مشكل من الفسفوليبيدات Phospholipides وهذا ما لا نجده في البكتيريا موجبة الغرام ، نتيجة لهذا الفرق تعطي البكتيريا ألوانا مختلفة مع صبغة الغرام، عند تلوين البكتيريا (G⁺) بكاشف خاص ذو لون أرجواني تمتص اللون و تظهر أرجوانية، أما البكتيريا (G⁻) عند تلوينها بنفس الكاشف فإنها لا تحافظ على اللون وتصبح ذات لون وردي [7،8].

(6) من حيث الأثر على الإنسان :

بكتيريا نافعة (Beneficial Bacteria): هي التي تقدم خدمات جلية للإنسان والحيوان والبيئة ،فهناك نوع من البكتيريا يعيش في أمعاء الإنسان يساعده على هضم الطعام ، ويفرز بعض المواد المفيدة للجسم مثل الفيتامينات ، ويعمل على تدمير البكتيريا الضارة. هناك نوع آخر يعيش في التربة، ويلعب دورا هاما في غذاء النبات، إذ يقوم بتثبيت النيتروجين الموجود في الهواء الجوي ، الذي هو العنصر الأساسي في تكوين البروتين عند النبات، ولا يقتصر الأمر على ذلك فقط، بل إن هناك صناعات كاملة تقوم على استخدام بعض أنواع البكتيريا النافعة كصناعة بعض منتجات الألبان، وبعض الأدوية وحديثا تكمن العلماء من استخدام البكتيريا في معالجة مياه الصرف الصحي.

بكتيريا انتهازية (Opportunistic Bacteria): هي بكتيريا تعيش في جسم الإنسان، دون أن تسبب له أي أذى .إلا أنها عند انخفاض مناعة الجسم لأي سبب من الأسباب تهاجمه، متحولة إلى بكتيريا ضارة تسبب العديد من الأمراض، مثل التهاب اللوزتين أو التهاب الحلق.

بكتيريا ضارة (Pathogenic Bacteria): وهي البكتيريا التي تهاجم جسم الإنسان، مسببة أمراض متفاوتة الخطورة مثل: السل، التيفويد والزهري وغيرها [9].

III.4.1. بعض أنواع البكتيريا:

(1) إشييريشيا كولي *Escherichia coli*:المملكة: *Bacteria*.التصنيف: *Proteobacteri*.القسم: *Gammaproteobacteria*.الرتبة: *Enterobacteriales*.العائلة: *Enterobacteriaceae*.النوع: *Escherichiai*.

وهي بكتيريا سالبة الغرام، تعيش في جسم الإنسان والحيوان والنبات وفي التربة ، تكون متحركة على شكل عصيات ، مسببة لأمراض: أمراض الجهاز البولي ، الإسهال الطفيلي ، التهاب السحايا وتسمم الدم [9،11].

(2) ستافيلوكوكيز *Staphylococcus*:المملكة: *Bacteria*.التصنيف: *Firmicutes*.القسم: *Bacilli*.الرتبة: *Bacillales*.العائلة: *Staphylococcaceae*.النوع: *Staphylococcus*.

بكتيريا موجبة الغرام، هي بكتيريا كروية الشكل تسمى كوكسي (cocci) ذات لون أصفر براق ، عديمة الحركة ، تكون عناقيد على شكل أكوام ، وتتواجد لدى الإنسان في الجلد والأمعاء والجهاز التناسلي وعلى الوجه. هذه البكتيريا مسؤولة عن تسمم الغذاء، وتتسبب في التهابات جلدية خطيرة .

ويتسبب هذا النوع من البكتيريا بالعديد من الالتهابات التي يسهل إنتشارها في الأماكن المزدحمة والمغلقة [9،11].

(3) أبسودومينوس *Pseudomonas*:

المملكة: *Bacteria*.

التصنيف: *Proteobacteri*.

القسم: *Gammaproteobacteria*.

الرتبة: *Pseudomonadales*.

العائلة: *Pseudomonadaceae*.

النوع: *pseudomonas*.

بكتيريا سالبة الغرام، متحركة هوائية مصدر هذه البكتيريا الجهاز الهضمي للإنسان والحيوان والماء والترية تعمل على الإتلاف السطحي للأغذية المبردة وتعد من بين المكروبات المحللة للدهون باللبن مما يؤدي إلى تغير لونه وطعمه وهي مقاومة للعديد من المضادات الحيوية والمطهرات مما يفسر نموها وتكاثرها في الأوساط الإستشفائية حيث تنمو في الأجهزة الطبية ، الأفرشة ، الألبسة، وتكون ممرضة بضعف الجهاز المناعي للجسم [9،11].

(4) إنتروبكتيريا *Enterobacter*:

المملكة: *Bacteria*.

التصنيف: *Proteobacteri*.

القسم: *Gammaproteobacteria*.

الرتبة: *Enterobacteriales*.

العائلة: *Enterobacteriaceae*.

النوع: *Enterobacter*.

بكتيريا سالبة الغرام، وهي بكتيريا متجانسة إنتهازية ، صعبة العزل ، غالبا ما تكون في وسط مختلط بالبكتيريا، تتسبب في تعفن الدم و إلتهاب المعدة والأمعاء و الإلتهاب الرئوي ، كما تتسبب أيضا في جرح المسالك البولية ، تكثر عند الأطفال خاصة ذي 09 أشهر [11،9].

III.2. المضادات الحيوية:

III.2.1. تعريف المضادات الحيوية:

تعريف Wacksman: إن التعريف الكلاسيكي للمضادات الحيوية الذي نشر سنة 1942 من طرف

Wacksman يعتبر أنها مواد كيميائية ناتجة عن دقائق عضوية قادرة بتركيز ضعيفة على تثبيط نمو دقائق عضوية أخرى أو حتى تحطيمها وقتلها [12].

تعريف Langlyk Benedict: نشر سنة 1976 ، يقضي بأنها عينات مستخرجة من عضويات حية قادرة على تثبيط وإيقاف نمو الدقائق العضوية الممرضة بتركيز قليل [12].

تعريف Fasquelle: المضاد الحيوي هو كل مادة تعترض تطور ونمو الجراثيم المرضية في العضوية الإنسانية بشرط أن تكون عديمة السمية بالمقدار العلاجي المستعمل لدى الإنسان [13،14].

ولكن نظرا لأن الكثير من العينات التي كانت تنتج طبيعيا أصبحت تحضر كلية أو تعدل كيميائيا وبالتالي توسع التعريف ليصبح:

المضادات الحيوية هي مركبات كيميائية ناتجة عن دقائق عضوية، أو من التصنيع العضوي والتي تكون ذات فعالية انتقائية على الدقائق العضوية الممرضة تحت تراكيز ضعيفة، فهي تستطيع إيقاف وتثبيط نموها وتكاثرها وتسمى البكتيريوساتاتيك bacteriostatiques، وتستطيع أيضا تفجيرها وقتلها مباشرة أثناء انقسامها وتسمى بكتيرييسيد bactericides [12،13،14،15].

لكن كل مضاد لديه خصوصيته في التعامل مع الخلية البكتيرية وفي تأثيره على مستويات مختلفة في هذه الخلية بدلالة طبيعته وصيغته الكيميائية [16].

III.2.2. أنواع المضادات الحيوية:

إن الوظيفة الأساسية للمضاد الحيوي في الجسم تنقسم إلى قسمين:

مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية: يمنع تكاثرها وهو ما يساعد في القضاء عليها.

مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية: إما عن طريق التأثير على جدار خليةها ، أو بالتسبب في انفجار خليةها وانفجارها ، أو بمنع تكوين مادة البروتين داخل خليةها [17].

III.2.3. طرق تأثير المضادات الحيوية:**(1) مضادات تعمل على مقاومة تكوين البروتينات:**

إن حمض الـ ADN يحمل مفتاحا خاصا بتحضير البروتينات، وذلك من خلال عمليات النسخ، النقل والترجمة فقبل عملية الترجمة تعترض المضادات الحيوية عملية تحرير الأحماض الأمينية، وبالتالي يفقد الريبوزوم المادة الأولية مما يؤدي إلى تكوين بروتينات دون أهمية، الأمر الذي يؤدي إلى تحطيم الغشاء الستيو بلازمي، وهذا يعني إيقاف تكوين الإنزيمات المسؤولة عن حياة الخلية البكتيرية في مرحلة تكوين البروتين.

(2) مضادات تعمل على تخريب بنية الغشاء الستيو بلازمي:

بعض المضادات الحيوية تؤثر على الهندسة apidoproteique لهذا الغشاء وتحللها مما يؤدي إلى فقد الستيو بلازم الكروموزومي.

(3) مضادات تعمل على إيقاف نسخ الـ ADN:

إن اضطراب عمل الـ ADN يمنع الخلية من الانقسام وتكوينها للإنزيمات الخاصة بذلك، ومن بين أسباب هذا الإضطراب المضادات الحيوية.

(4) مضادات تعمل على تخريب الجدار الخلوي:

إن الجدار الخلوي مكون من الميكوبيبتيدات mucopeptides أثناء الانقسام الخلوي acétylmuramidase تنتج أولا التحلل الجزئي للجدار في الخلية البكتيرية الأم، ثم محولة الـ ARN transpeptidase تتدخل لإنتاج جدار الخلايا الجديدة، فيقوم المضاد بإيقافها ، وبالتالي يؤدي إلى إنتاج جدار غير كامل مما يؤدي إلى انفجار الخلية وموتها [17].

III.4.2. المقاومة البكتيرية:

(1) خواص الجذمة البكتيرية (la souche bactérienne):

في علم الطب ، الجذمة البكتيرية هي مقاومة للمضاد الحيوي على حسب تركيز المضاد الحيوي ، أي بارتفاع التركيز تقل المقاومة لإعطاء أفق لكي تتم المعالجة [17،18].

(2) تعريف المقاومة:

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

***المقاومة الطبيعية:** هي مقاومة موجودة طبيعيا عند كل عنصر من نفس النوع أو نفس الجنس البكتيري، إذن فهي ميزة جينية عادية للنوع مثل *Pseudomonas*.

***المقاومة المكتسبة:** هي حصول البكتيريا على جين جديد قادر على جعلها مقاومة لمضاد أو عدة مضادات كانت حساسة لها، وهذا الجين الجديد يمكن أن يكتسب إما من تحول على مستوى الكروموزوم أو إعادة تموضع للـ ADN أو من التبادل الجيني و هو الميكانيزم غالب الحدوث.

(3) ميكانيزم المقاومة:

هناك ثلاثة ميكانيزمات أساسية هي المسؤولة عن المقاومة البكتيرية مقابل ثلاثة ميكانيزمات خاصة بعمل المضاد على الخلية البكتيرية، فلكي يكون المضاد الحيوي فعالا على المكروب يجب أن يستوفي مجموعة من الشروط:

- النفاذ أو إختراق الخلية.
- التثبيت على الهدف لأجل إحداث اضطراب أو تعديل عليه.
- يجب أن لا يخضع إلى أي تحولات تؤدي إلى فقد فعاليته في حالة تماسه بالخلية [19].

III.5.2. طرق التعرف على حساسية أو مقاومة البكتيريا للمضاد:

إن دراسة حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي لها عدة أهداف تتمثل في:

- اختيار المضاد الأكثر نشاطا.
- إضافة إلى أنه في حالة معالجة الأمراض المعدية، يجب معرفة المضاد الفعال وهذا باختباره على الميكروب المسؤول عن المرض.
- تحديد التركيز اللازم للتخلص من العامل المعدي والممرض للعضو المريض [20].
- ومن أهم طرق التعرف على حساسية أو مقاومة البكتيريا للمضاد طريقة الانتشار.

❖ طريقة الانتشار (Méthode de diffusion):

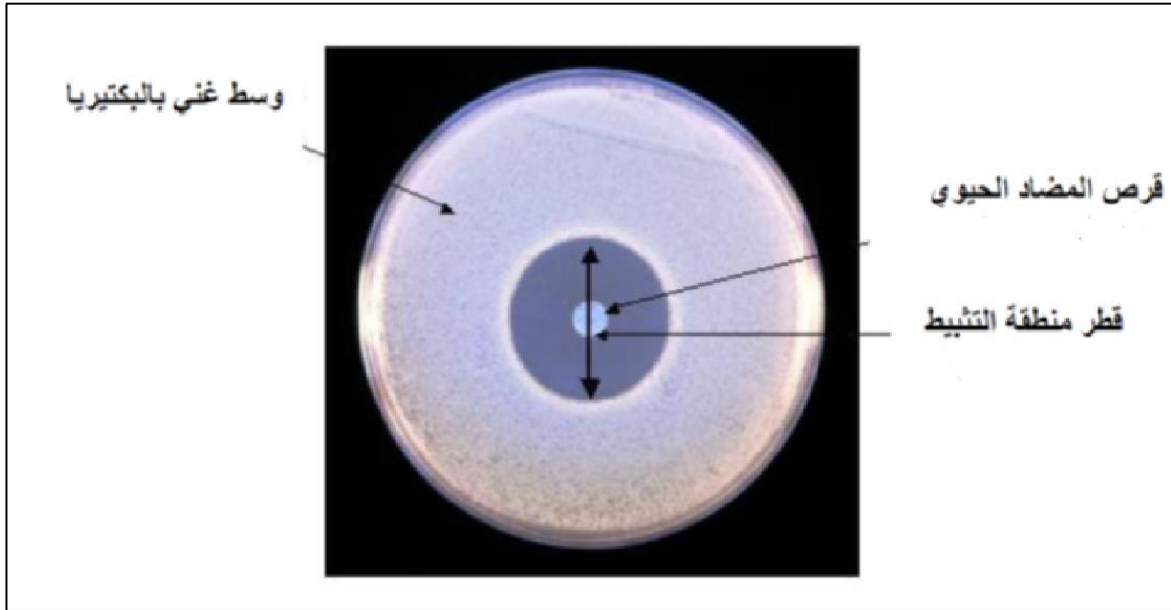
وهي الأكثر استعمالا في المستشفيات لتشخيص الأمراض المعدية ، ويكون الوسط المستعمل صلب من الجيلوز gélose وأهم وسط جيلوزي هو وسط Hilton Muller ، نسبة للباحث الذي حضره عام 1941، والهدف من هذه الطريقة التحليلية هو معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي، ويتم التحليل بإتباع الخطوات التالية:

بعد إذابة معقمة للوسط الجيلوزي ، يسكب بكميات محددة في علب بتري ، يحضر المعلق الميكروبي بوضع جذمة منه في الماء الفيزيولوجي ، ثم يشتل في علب بتري المحضرة مسبقا (بعد تصلب الوسط الجيلوزي)، تدخل العلب الحاضنة للتجفيف ، بعدها توضع أقراص الإختبار معقمة و مشبعة بتراكيز مختلفة للمضاد الحيوي المراد إختبار فعاليته ، ثم تعاد العلب للحاضنة تحت درجة 37°م لمدة 18 – 24 ساعة [19].

ولمعرفة مدى حساسية البكتيريا وتأثير المضاد الحيوي ، نقيس قطر طبقة التثبيط بعد مرور الفترة الزمنية المذكورة سابقا وكنتيجة لهذا الإختبار يمكن أن نحدد درجة حساسية البكتيريا إتجاه المضاد الحيوي، ويمكن القول أن:

- البكتيريا مقاومة (غير حساسة) للمضاد الحيوي إذا كان القطر أقل من 8 ملم.
- البكتيريا متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي إذا كان القطر ما بين 9 و 14 ملم.
- البكتيريا حساسة للمضاد الحيوي إذا كان القطر ما بين 15 و 20 ملم.
- البكتيريا حساسة جدا للمضاد الحيوي إذا كان القطر أكبر من 20 ملم [21].

ويعتمد نجاح هذه الطريقة على مدى الإنتشار الجيد للمضاد الحيوي في وسط الزرع ، فإن لم يكن كذلك فنتبع طريقة أخرى لقياس مدى حساسية الميكروب [19].



الشكل III.2: الأنتيبيوغرام بعد الحضانة وطريقة قياس قطر منطقة التثبيط.

بالرغم من نجاعة المضادات الحيوية إلا أنها لا تخلو من السلبيات والتأثيرات الجانبية بالنسبة لصحة الإنسان خاصة عند تجاوز الجرعات اللازمة، لذلك نحاول إيجاد بدائل طبيعية تتمثل في المركبات الفعالة المتواجدة على مستوى مختلف أجزاء النباتات، وإستخدامها في المجال الطبي كبديل عن المضادات الحيوية المصنعة.



المراجع

قائمة المراجع باللغة العربية:

- [1] بابا عربي الياس، دراسة بعض أملاح الفوسفونيوم ودراسة فعاليتها البيولوجية على بعض أنواع البكتيريا عند مزجها مع البنيسلين V، مذكرة التخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء عضوية تطبيقية، جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2009).
- [2] محمد عبد المحسن معارج ، وراثه الأحياء الدقيقة (1995).
- [5] مجلة العلوم، تحديات المقاومة البكتيرية، 15 العدد 10 أكتوبر/ تشرين الأول (1999).
- [17] د. عادل نوفل، جامعة دمشق، كتاب الكيمياء الصيدلانية (الجزء النظري)، (1981).

قائمة المراجع باللغة الأجنبية:

- [3] Bottger, R. C. Liebigs Ann. Chem.(1859).
- [4] Frankland, E; Dupper , B .F .J . Chem. Soc. (1864).
- [6] Courvalin.P. Interpretative reading of antimicrobial susceptibility testes. (1992).
- [7] Leclere, H. Izard D., Husson M.O., .Watter P.,jakbczak E.. Microbiologie générale . Nouvelle édition .Doin édition-paris(1983).
- [8] House, H.O; Respass. W. L; Whitseides, G. M. J. Org. Chem, 1996, 36, 3128-3148.
- [9] Robert D.S.. Antibiotique et antibiogrammes. Décarie Vigot, Montréal(1995).
- [10] Brazilian Journal of Microbiology ISSN 1517-8382. (2006) .
- [11] Brazilian Journal of Microbiology ISSN 1517-8382. (2003).
- [12] Pharmacologie Wikipedia article GNU Free Documentation License
<http://www.gnu.org/copyleft/fdl.html>.
- [13] Zhang J. *Synthesis of Phosphinic Acids and Aza-β and γ-lactams as Potential Inhibitors of D,D-Peptidases and β-lactamases*. Thèse of doctor at University Catholique de Louvain(2003).

- [14] Solensky R., Earl HS., Gruchalla RS.. *Lack of penicillin resensitization in patients with a history of penicillin allergy after receiving repeated penicillin courses*. Arch Intern Med (2002).
- [15] Corvaglia A.R.. *Rôle des résidus d'antibiotiques dans les environnements hydrique sur la sélection et la diffusion de bactéries résistantes des genres Aeromonas, Acinetobacter et Legionella*.Thèse de doctorat l'Université de Genève(2006).
- [16] Pochart Ph.. Les antibiotiques. Cours agent antimicrobiens (2007).
- [18] Guerin F. Carret C. L'antibiogramme: Principes, méthodologie, intérêt et limites. Journées nationales GTV- INSA(1999).
- [19] Yala D., Merad A.S., Mohamedi D., Ouar Korich M.N.. *Resistance bactérienne aux Antibiotiques. Médecine du Maghreb (2001)*.
- [20] Coudert C., Beau F.. *Resistance des principaux germes responsables d'infection, isolés au laboratoire d'analyse de biologie médicale de l'institut Louis Malardé (2004)*.
- [21] Poncea. G;Fritzr; Del Vallc.et Rouras I. Antimicrobial activity of essential oils of the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel-Wissenxchuft und Technologie , (2003).

الجزء العملي

الفصل الرابع

الطرق والوسائل

تمت هذه التجارب على مستوى مخابر كلية العلوم الدقيقة، أيضا مخبر تثمين وترقية الموارد الصحراوية (VTRS) بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي.

1.IV. جمع العينات:

تم الحصول على البرتقال بنوعيه الطمسون (*Citrus sinensis L*) والكليمونتين (*Citrus climentina*) من السوق المحلية بولاية الوادي، وهي حسب التجار منتجة في الولايات الشمالية الوسطى (سهول متيجة)، خلال شهري نوفمبر وديسمبر .

يتم إختيار الثمار السليمة وكاملة النضج ثم نقوم بجمع وتجفيف القشور تحت الظل وبعيدا عن الرطوبة للحفاظ عن المواد الفعالة المتواجدة على مستوى القشور، مع الحرص على الجفاف الكلي لكافة القشور، وتستغرق هذه العملية من أسبوعين إلى ثلاث أسابيع، تتم بعد ذلك عملية الطحن بإستخدام الهاون، حتى تصبح عبارة عن مسحوق يتم الإحتفاظ به داخل علب في مكان بارد وجاف.



الصورة 1.IV: العينتان قبل وبعد الطحن.

2.IV. الأجهزة والمواد المستعملة:

الأجهزة:

- جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية - المرئية (Spectrophotomètre UV-Visible).
- جهاز التبخير الدوار (Rotavapeur).
- جهاز الطرد المركزي (Centrifugeus).
- جهاز كروماتوغرافيا السائل ذو الكفاءة العالية (HPLC).
- مخلاط مغناطيسي.
- ميزان إلكتروني حساس. (أنظر الملحق 02)

المواد:

- أسيتونتريل (ACN).
- إيثانول 80% (eau:EtOH absolu/ 20:80).
- حمض الخل (0.2% A.A).
- حمض الغاليك (A.G).
- كاشف فولين (Folin ciocalteu).
- محلول الروتين (Rutine).
- محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم (AlCl₃;2%).
- محلول كربونات الصوديوم (NaCO₃;7.5%).
- ميثانول 70% (eau:MeOH/ 30:70).
- هكسان (hexane).

المستخلصات المدروسة:

- ✓ مستخلص الكحول الإيثانولي لقشور الطومسون (K).
- ✓ مستخلص الكحول الإيثانولي لقشور الكليمونتين (S).

3.IV. إستخلاص المركبات الفينولية:**1.3.IV. تعريف الإستخلاص:**

هو عزل مركب أو عائلة مركبات من المادة الخام بإستعمال المذيبات العضوية، إن كانت المادة المراد فصلها سائلة فنطبق عليها إستخلاص سائل - سائل و إن كانت المادة صلبة فنطبق إستخلاص صلب - سائل، ولهذا الأخير عدة أشكال ترتبط بعدة عوامل مختلفة منها درجة الحرارة، الضغط وكيفية إستعمال المذيب.

1.1.3.IV. إستخلاص سائل - سائل:

وهي الطريقة التي يتم بها عزل مادة ما من مزيج يحوي على مواد أخرى، و يعتمد مبدأ الاستخلاص على عامل توزع المواد بين سائلين غير قابلين للامتزاج كالطور المائي والطور العضوي، فإذا كانت المادة موجودة في طور مائي غير منحل فيه و أضيف إلى هذا المحلول مذيب عضوي فهو لا يمتزج معه و يستطيع أن يذيب المادة، فإن المادة ستنتقل إلى المذيب العضوي مشكلا طبقتين من سائلين غير ممزوجين .

وتعتمد نسبة الانحلال للمادة في المذيب العضوي على:

- قابلية انحلال المادة في المذيب العضوي.
- حجم المذيب المستخدم.

2.1.3.IV. إستخلاص صلب - سائل:

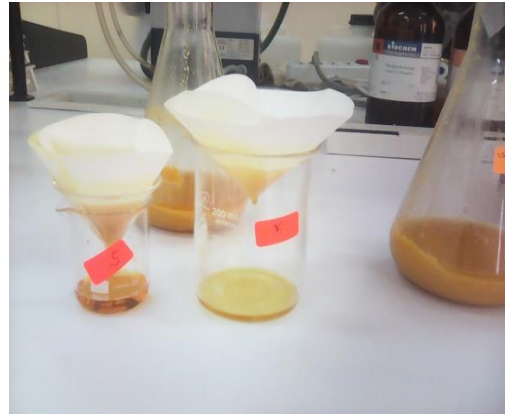
الإستخلاص على البارد (النقع): تعتمد هذه الطريقة على وضع المادة الخام داخل إناء يحتوي على كمية محددة من المذيب ، بحيث يكون حجم المذيب المستعمل يغطي المادة الخام بنسبة تقريبية قدرها (المذاب/IV / المذيب3V) في الظروف العادية (ضغط ودرجة حرارة الغرفة) مع التحريك من حين لآخر، تترك مدة زمنية معينة، خلالها يتم إنتقال المركبات المراد فصلها من المادة الخام إلى المذيب، تتبعها عملية الترشيح. نستعمل طريقة النقع للمواد التي تتأثر وتتفكك بالحرارة.

الإستخلاص على الساخن: هذه الطريقة سريعة نسبيا عن سابقتها، حيث يتم غمس المادة الخام في المذيب مع التسخين، ونستعمل هذه الطريقة للمواد التي لا يمكن إستخلاصها إلا تحت درجة حرارة عالية ولا تتأثر بارتفاعها [1-3].

2.3.IV. طريقة إستخلاص المركبات الفينولية من مسحوق قشور البرتقال:

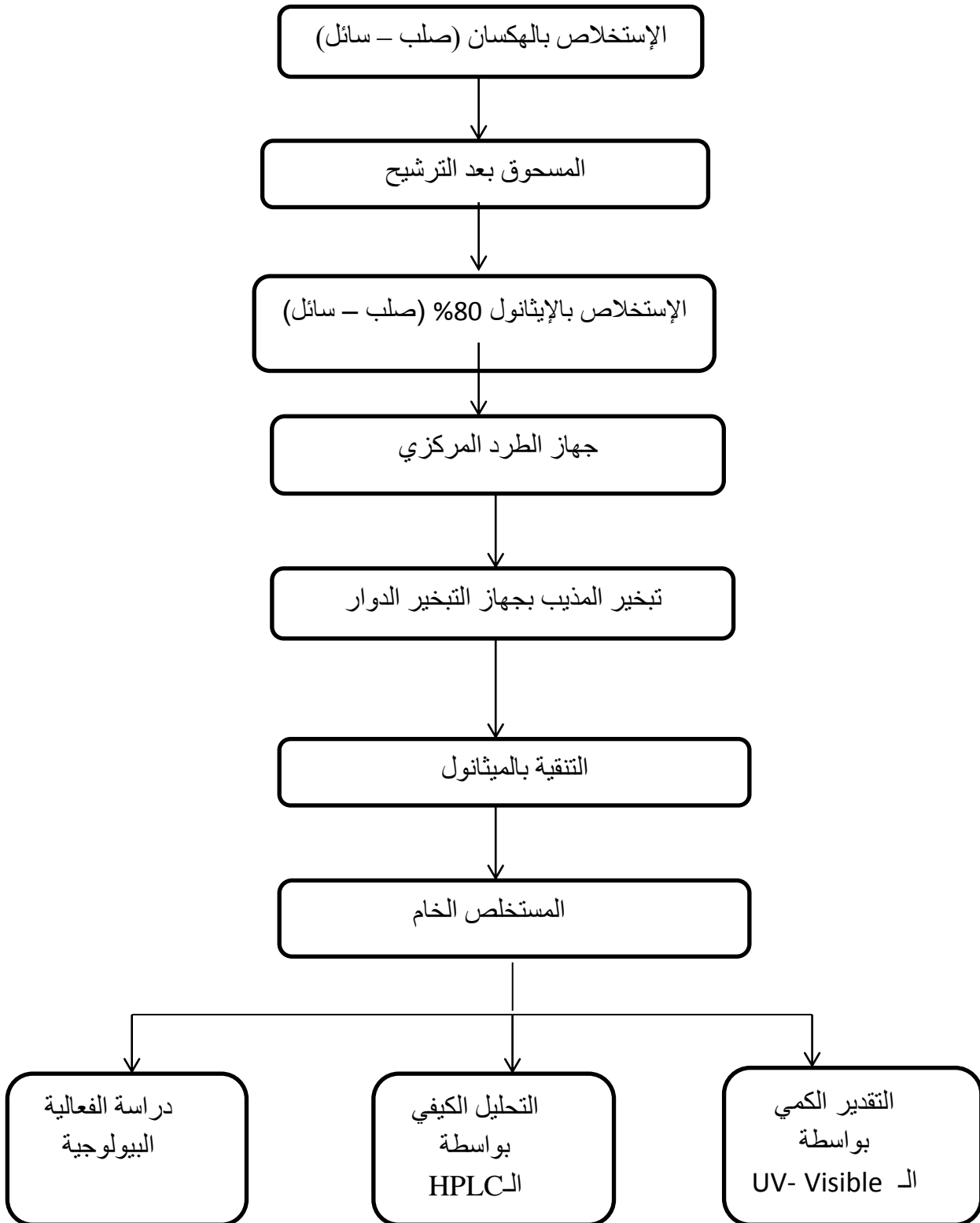
نأخذ وزنا قدره 30 غ من مسحوق كل عينة ونقوم بعملية النقع في حجم قدره 150 مل من الهكسان، ثم نقوم بالتحريك لمدة 1 ساعة، نتركه مدة 24 ساعة في درجة حرارة الغرفة، نضيف إلى المسحوق بعد الترشيح 150 مل من الإيثانول 80% ، بعد التحريك تترك 24 ساعة أخرى ، ثم نقوم بعملية الترشيح، ولفصل أفضل نعيد عملية الإستخلاص بالإيثانول مرتين على الأقل، ثم نجمع الأطوار المفصولة وندخلها في جهاز الطرد المركزي (Centrifugeus) بسرعة 3000 دورة / 10 دقائق ، بعد ذلك يعاد تركيزها (تبخير المذيب) بواسطة جهاز التبخير الدوار (Rotavapeur)[4].

نقوم بتنقية المستخلص الخام بإضافة كمية من الميثانول ونعيد تركيزه لنتحصل في الأخير على المستخلص الخام المطلوب (على شكل عجينة). ثم يتم وزن المستخلصات الناتجة لنتحصل على مردود الإستخلاص.



الصورة 2.IV: صور خطوات الإستخلاص.

والمخطط التالي يلخص خطوات العمل:



الشكل 1.IV: مخطط يوضح طريقة العمل.

4.IV. التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية:

1.IV. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية (Spectrophotométer UV- Visible):

تعد هذه التقنية من أقدم طرق التحليل الكيفي و الكمي وأكثرها إستخداما، تساعد في تحديد البنى الكيميائية للمركبات، ومن أهم طرق التقدير الكمي طريقة قياس الإمتصاصية (الكثافة الضوئية) للمحاليل، حيث مجالها الكهرومغناطيسي (طولها الموجي λ) ما بين 400 - 800 نانومتر.

يتكون الجهاز من قسمين رئيسيين هما المصدر الضوئي لأي طول موجي محدد و مقياس الكثافة الضوئية (Photometre)، حيث يتم وضع المحاليل المراد قياس إمتصاصيتها داخل أنبوب خاص (Cuve) يسمح بمرور الضوء بين المصدر الضوئي والـ Photometre، وبالتالي فإن كمية الضوء المار خلال العينة يعبر عنها بالإمتصاصية.

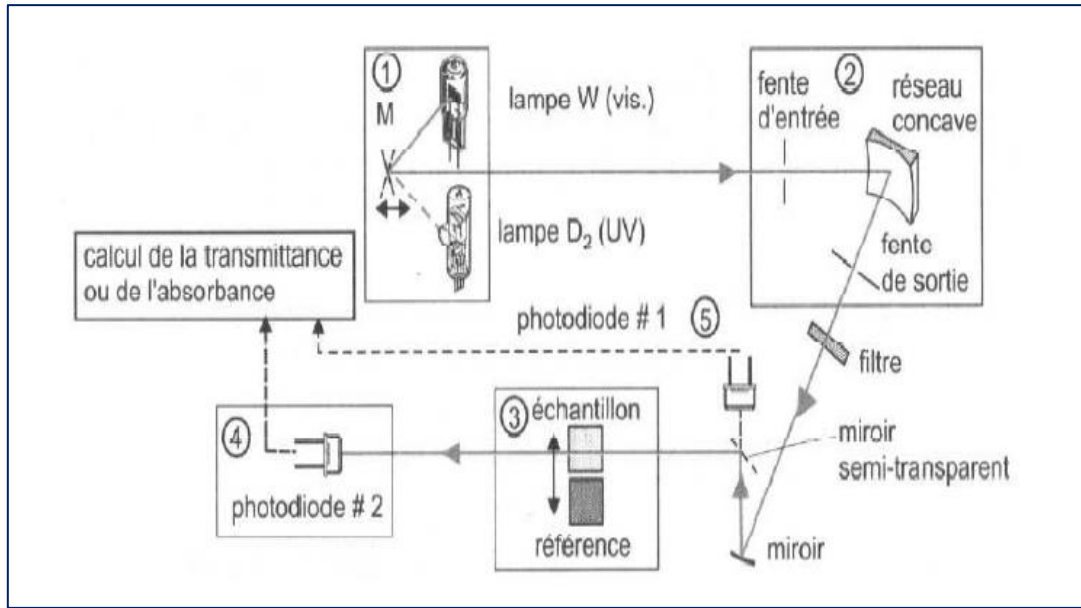
عند تعرض الـ Photometre للضوء فإنه يتولد على أقطابه إشارة كهربائية تتغير بتغير كمية الضوء الممتص من قبل المحلول، حيث يعتمد تغير إمتصاص العينة للضوء على تغير تركيز المادة الممتصة في المحلول وبالتالي يمكن حساب التركيز بالإعتماد على إمتصاص الضوء عند طول موجي محدد، فعندما نمرر ضوء ذو طول موجي محدد خلال المحلول فإنه هناك علاقة بين تركيز المذاب وكمية الضوء المنقولة حسب قانون Beer Lambert .

$$A = \log \frac{I_0}{I}$$

I_0 : شدة الضوء الوارد.

I : شدة الضوء الصادر.

والشكل الموالي يبين مبدأ عمل الجهاز:



الشكل 2.IV: رسم تخطيطي يوضح مبدأ عمل جهاز مطيافية الأشعة UV-Visible.

يمكننا من خلال مطيافية الأشعة UV-Visible قياس الإمتصاصية لمادة مذابة عند طول موجي (λ) معين، أو إنتاج طيف إمتصاصية في مجال طول موجي محدد فيعطي طيف شدة الإمتصاص بدلالة طول الموجة (λ) [5].

2.4.IV. التقدير الكمي للمركبات الفينولية:

يتم تقدير المركبات الفينولية بطريقة العالم Singleton-Rossi بمساعدة كاشف *Folin ciocalteu*، حيث أن هذا الكاشف يتكون من حمض فوسفوتنغستينيك ($H_3PW_{12}O_{40}$) *Phosphotungstique* وحمض فوسفوموليبيديك ($H_3PMo_{12}O_{40}$) *Phosphomolybdique* والذي يرجع بواسطة الفينولات إلى أكاسيد (W_8O_{23}) والموليبيدين (Mo_8O_{23}) ذات اللون الأزرق.

المركبات الفينولية تقدر كميًا بواسطة جهاز مطيافية الأشعة *UV-Visible* حيث يستعمل حمض الغاليك (*acide gallique*) كفينول مرجعي عند طول موجة $\lambda = 765 \text{ nm}$ [6].

❖ المنحنى القياسي لحمض الغاليك:

نقوم بتحضير محاليل ممددة لحمض الغاليك تراكيزها تتراوح ما بين 0.03 و 0.3 ملغ/مل في أنابيب إختبار، نأخذ 0.2 مل من المحاليل الممددة ونظيف لها 1 مل من كاشف *Folin ciocalteu* (الممدد 10 مرات)، ثم نضيف 0.8 مل من محلول كربونات الصوديوم (7.5% Na_2CO_3)، نضع المحاليل في

مكان مظلم لمدة 30 دقيقة، تتم بعد ذلك قراءة الإمتصاصية الضوئية لكل تركيز بواسطة جهاز مطيافية الأشعة $UV-Visible$ عند الطول الموجي $\lambda = 765 \text{ nm}$.

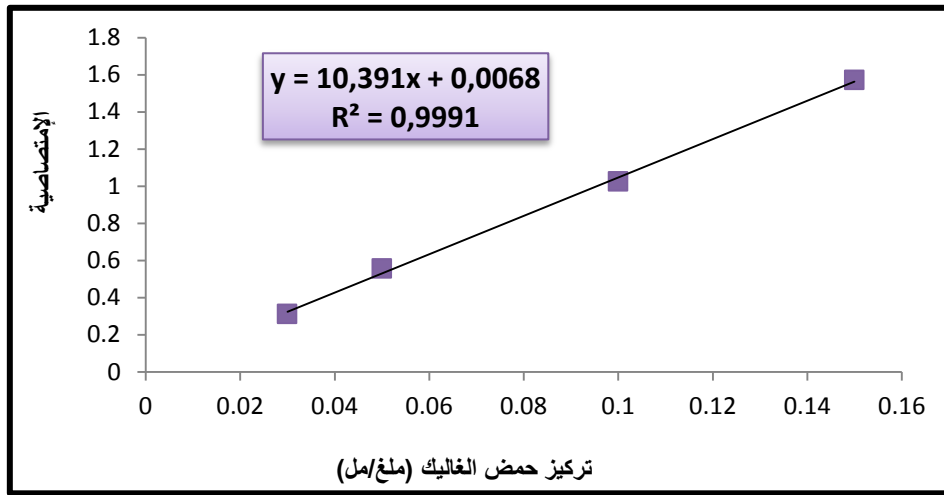
إنطلاقاً من قيم الإمتصاصية (A) لمحاليل حمض الغاليك نرسم المنحنى القياسي الذي يبين التغير في الإمتصاصية بدلالة التركيز.

قيم الإمتصاصية مدونة في الجدول (1.IV):

الجدول 1.IV: قيم الإمتصاصية لحمض الغاليك.

التركيز (ملغ/مل)	0.03	0.05	0.1	0.15
الإمتصاصية	0.331	0.552	1.025	1.571

من خلال نتائج قيم الإمتصاصية بدلالة التركيز نرسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك:



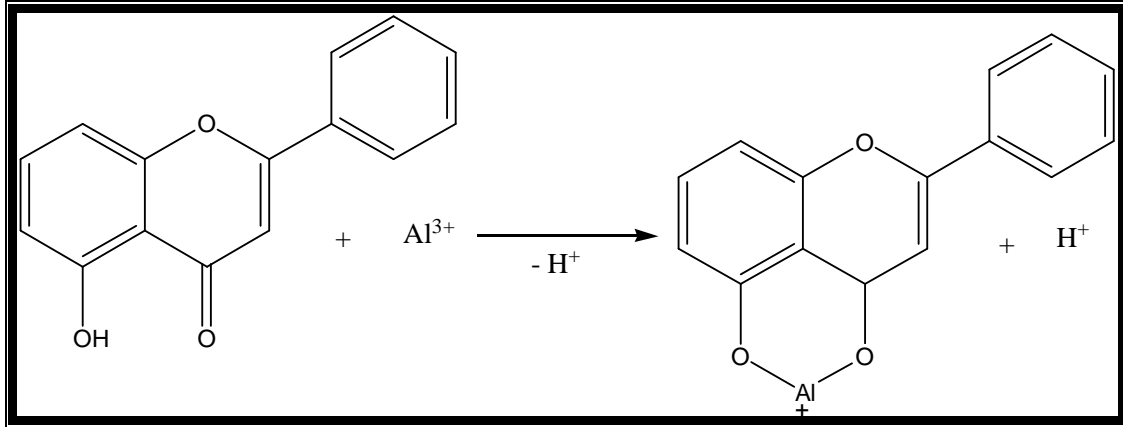
المنحنى 1.IV: المنحنى القياسي لحمض الغاليك.

❖ حساب كمية الفينولات في العينة:

تعامل المحاليل المحضرة للعينات بتراكيز مختلفة بنفس معاملة حمض الغاليك، وبعد الحصول على قيم الإمتصاصية الضوئية لهذه المحاليل نستخدم المنحنى القياسي لحمض الغاليك لحساب تركيز الفينولات في العينات المدروسة.

3.4.IV. التقدير الكمي للفلافونيدات:

نعتد في تقدير الفينولات على قدرة تكوين المعقد الأصفر بين ثلاثي كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ مع مجموعة الهيدروكسيل OH الموجودة على الحلقات البنزيلية للفلافونيدات، المعقد الأصفر ثابت ويمتص عند طول موجة $\lambda=430nm$.



الشكل 3.IV: تشكيل المعقد.

نستعمل في هذه التجربة فلافونيد الروتين (Rutine) كفينول مرجعي لرسم المنحنى القياسي [6].

❖ رسم المنحنى القياسي للروتين:

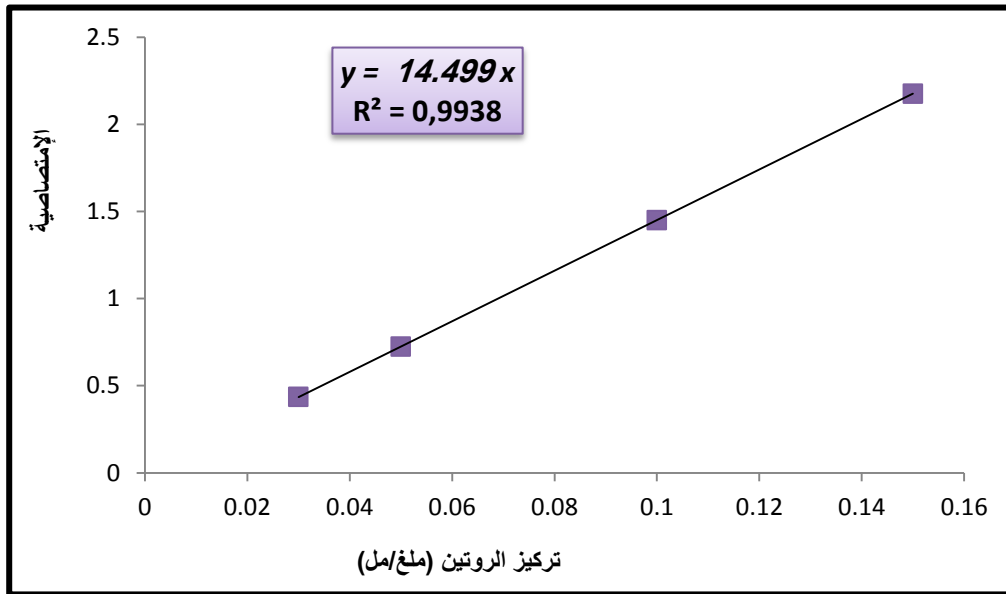
نقوم بتحضير محاليل ممددة للروتين تراكيزها تتراوح ما بين 0.03 و 0.3 ملغ/مل في أنابيب إختبار، نأخذ 1 مل من المحاليل الممددة ونظيف لها 1 مل من ثلاثي كلوريد الألمنيوم 2% $AlCl_3$ ، يترك المزيج نصف ساعة في الظلام حتى إتمام التفاعل ثم نقرأ شدة الامتصاص الضوئي لكل محلول عند طول الموجة $\lambda=430nm$ ، نرسم المنحنى البياني لتغير الامتصاصية الضوئية (A) بدلالة التركيز.

قيم الإمتصاصية مدونة في الجدول (2.IV):

الجدول 2.IV: قيم الإمتصاصية للروتين.

التركيز (ملغ/مل)	0.03	0.05	0.1	0.15
الإمتصاصية	0.435	0.724	1.450	2.175

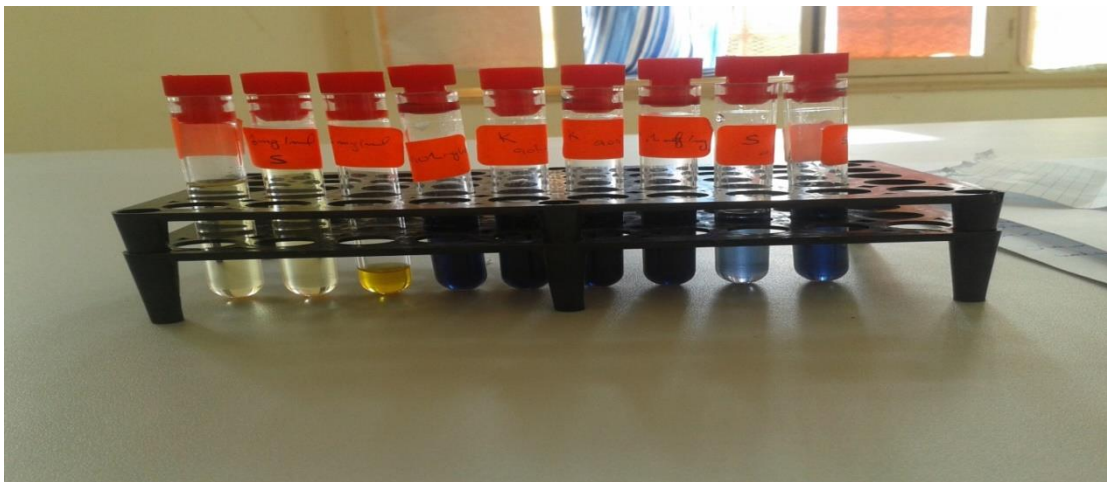
المنحنى القياسي للروتين:



المنحنى 2.IV: المنحنى القياسي للروتين.

❖ حساب كمية الفلافونيدات في المستخلصات:

تعامل المحاليل المحضرة للعينات بتراكيز مختلفة بنفس معاملة حمض الروتين، وبعد الحصول على قيم الإمتصاصية الضوئية لهذه المحاليل نستخدم المنحنى القياسي للروتين لحساب تركيز الفلافونيدات في العينات المدروسة.



الصورة 3.IV: المحاليل بعد إضافة الكواشف.

5.IV. التحليل الكيفي بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية (HPLC):

(Chromatographie liquide de haute performance)

1.5.IV. الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية (HPLC):

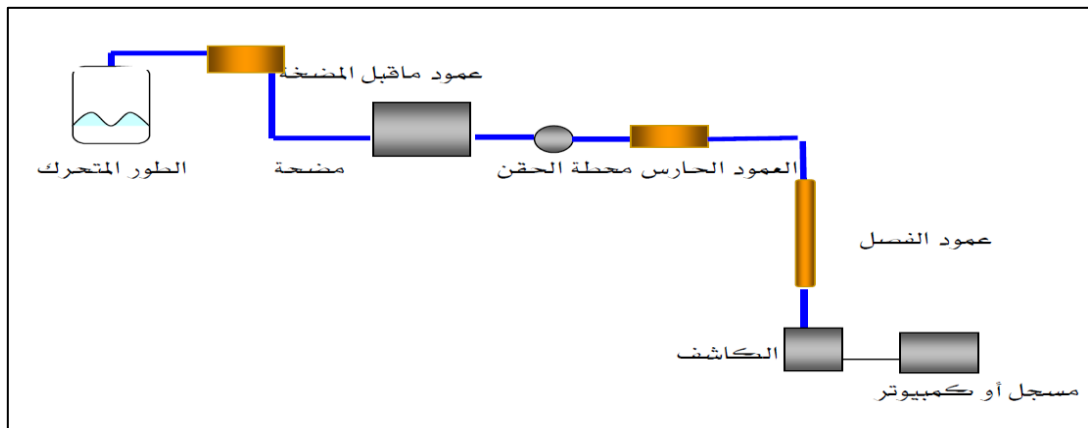
وهي تطوير لكروماتوغرافيا العمود الكلاسيكي، الطور المتحرك فيها سائل غالبا ما يكون مذيب عضوي أو الماء، أما الطور الثابت صلب (عمود مملوء بمادة صلبة)؛ طور صلب عادي غير قطبي أو قليل القطبية وغالبا ما يكون من *gel de selise*، أو طور معكوس (*la phase inverse*) قطبي باستخدام الماء أو الكحول. تستعمل هذه التقنية لفصل المواد الثقيلة، كما أننا لا نحتاج لتحويل المركبات إلى مواد طيارة.

في معظم التحاليل طور متحرك واحد يكفي لفصل كل مكونات الخليط، ويسمى هذا النظام بـ *elution isocratique*، ولكن عندما يكون هناك إختلافا كبيرا في زمن المكوث t_r (*temps de rétention*) يفضل استخدام طورين متحركين يغير أحدهما قطبية الآخر، ويسمى هذا النظام بالتصفية التتابعية التدريجية.

التصفية التتابعية التدريجية (*elution gradient*): في هذا النظام نسب الطورين المتحركين تتغير باستمرار أثناء التحليل [7].

مكونات الجهاز:

الحاقن — المضخة — العمود — الكاشف — المسجلة.



الشكل 4.IV: مكونات جهاز الـ HPLC.

2.5.IV. التحليل الكيفي:

وللتأكد من وجود المركبات الفينولية وعددها نستعمل جهاز الـ HPLC بغرض التحليل الكيفي، وذلك بحقن عينة المركب المرجعي لمعرفة زمن المكوث المميز له، ثم نحقن بعد ذلك العينة (المستخلصات) المراد تحليلها في نفس شروط حقن المركب المرجعي وبنفس الحجم (20 µl) بتركيز 10ملغ/1 مل من الميثانول 70%، ثم نقرأ على الكروماتغرام زمن المكوث للمركبات المكونة للعينة ونقارها مع القيم المرجعية، وبذلك نحدد المركبات الفينولية الموجودة في العينة.

المركبات الفينولية التي تم تحديد زمن مكوثها مدونة في الجدول (3.IV):

الجدول 3.IV: زمن المكوث للفينولات المرجعية. (أنظر الملحق 03)

زمن المكوث t_r (min)	المركبات الفينولية المرجعية
4.21	حمض الأسكوربيك
5.23	حمض الغاليك
13.62	حمض الكلوروجينيك
16.3	حمض الكافيينك
20.37	كرستين
21.46	الفانيلين
23.95	حمض بيوكومارين
28.22	الروتين

❖ شروط التجربة:

الجدول (4.IV) يوضح الشروط التجريبية لجهاز الـ HPLC لفصل المركبات الفينولية في العينات

المدرسة:

الجدول 4.IV: الشروط التجريبية لجهاز الـ HPLC لفصل المركبات الفينولية.

العامل	الشروط
النظام	الطور المعكوس RP-HPLC
العمود	(25cm x 46mm) C18
حجم الحقن	20µl
معدل الحقن	1ml/min
طول الموجة	λ=300nm
الزمن	50min
درجة الحرارة	25°C
الطور المتحرك	acetonitrile :(A) (0.2% acide acetique):(B)

تغيرات نسب الطور المتحرك A و B بلالة الزمن موضحة في الجدول (5.IV):

الجدول 5.IV: تغيرات نسبة الطور المتحرك A و B بلالة الزمن.

الزمن (min)	نسبة % (A)	نسبة % (B)
0.01	10	90
0.02	10	90
6.00	14	86
16.00	17	83
23.00	19	81
28.00	23	77
30.00	10	90
50.00	10	90

6.IV. دراسة الفعالية البيولوجية:

لإختبار الفعالية البيولوجية للمستخلصات قمنا بدراسة تأثيرها على أنواع بكتيرية مختلفة وذلك بالإستعانة بمخابر كلية علوم الطبيعة والحياة، وتم الحصول على أنواع البكتيريا من معهد باستور بالجزائر العاصمة.

1.6.IV. تحضير التراكيز:

قمنا بتحضير ثلاث تراكيز لكل مستخلص، وذلك بإذابة المستخلصات في كحول الإيثانول 80%. قبل الشروع في العمل يجب تعقيم كل الأدوات في المعقمة والتنظيف الجيد لمكان العمل وبالقرب من موقد بنزن، وسنتبع في هذه التجارب طريقة الإنتشار.

2.6.IV. تحضير وسط الزرع:

بعد إذابة الوسط المغذي Mueller Hinton في الحمام المائي، نسكب كمية محددة منه في علبه بتري تقدر بـ 20 مل، كما نحرض على تساوي سمك الوسط المغذي داخل العلبه، ثم تجفف في الفرن لمدة كافية (من 5 إلى 15 دقيقة) لتخلص من الرطوبة .

3.6.IV. تحضير الأقراص:

بواسطة آلة قص خاصة نقوم بقص ورق الترشيح Whatman إلى أقراص بقطر 6 ملم، ثم نضعها في أنبوب إختبار للتعقيم في درجة حرارة تفوق 120° م ولمدة زمنية قدرها 30 دقيقة، ثم نشبع الأقراص بالتراكيز المحضرة .

4.6.IV. تحضير المعلق البكتيري:

بإستخدام العود القطني (swab stick) نأخذ جزمة بكتيرية ونغمسها في أنبوب إختبار يحوي 3 مل من الماء الفيزيولوجي المعقم (9 غ كلوريد الصوديوم / 1000 مل ماء معقم) ، ثم نزرع نوع بكتيري في كل علبه بتري عن طريق تمريرها على الوسط المغذي وتوزيعها بشكل منتظم، نترك في الحاضنة لمدة 15 دقيقة في درجة حرارة 37° م.

5.6.IV. وضع الأقراص المشبعة بالمستخلص:

توضع الأقراص المشبعة بالتراكيز الثلاث المحضرة سابقا للمستخلصين S و K داخل علب بتري بواسطة ملقط معقم، بالإضافة إلى قرص مشبع بشاهد إيثانول 80% ، أي أربعة أقراص في كل علبة توضع على بعد مسافات متساوية ، ثم نتركها بشكل مقلوب (كي لا يتلف الوسط نتيجة لبقايا الماء) في الحاضنة تحت درجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة. (أنظر الملحق 04 و 05)

أنواع البكتيريا المدروسة:

✓ بكتيريا *Escherichia coli*

✓ بكتيريا *Staphylococcus*.

✓ بكتيريا *Pseudomonas*.

✓ بكتيريا *Enterobacter*.

المراجع

قائمة المراجع باللغة العربية:

- [4] سوسن علي حميد الحلفي- أم البشر حميد جابر الموسوي، الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات المائية والكحولية لبض الفواكه، مجلة أبحاث البصرة- العلميات، ISSN 1817-2650 (2011).
- [7] الأستاذ أحمد خميس محمد سلامة، أجهزة التحليل الطيفي والكروماتوغرافي (2006) .

قائمة المراجع باللغة الأجنبية:

- [1] Shohami E., Gati I., Biet-Yannai E., Trombovler V., Kohen R., Neuratrauma J., (1999)
- [2] Chevion S., Roberts M.A, Chevion M., Frre Radical Biology and Medicine, (2000).
- [3] Chevion S., Chevion M, Chock P.B., Beecher G.R, Jornale of Medicinal Food (1999).
- [5] Asadi S, Ahmadiani A, Ali Esmaeili A, Sonboli A, Ansari N, Khodagholi F. In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six Salvia species from Iran: A comparative study. *Food Chemical and Toxicology* (2010).
- [6] Berst C.,Cuvelier M.E.,Sci Aliments, 16(1996).

الفصل الخامس

النتائج والمناقشات

1.V. مردود الإستخلاص:

✓ مستخلص الكحول الإيثانولي لقشور الطومسون (K).

✓ مستخلص الكحول الإيثانولي لقشور الكليمنتين (S).

$$R\% = \frac{m_f}{m_i} * 100 \dots\dots\dots(1.V)$$

R% : المردود %.

m_f : الكتلة النهائية.

m_i : الكتلة الإبتدائية.

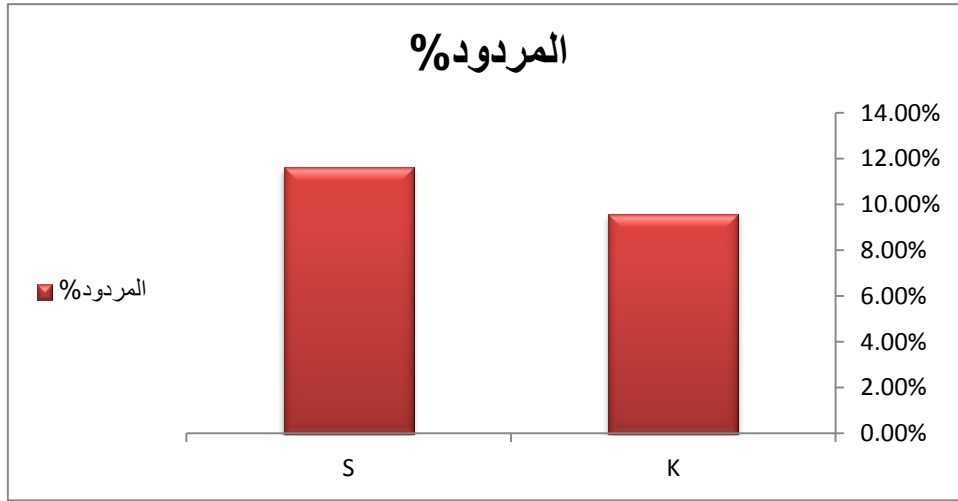
بعد عملية الإستخلاص تحصلنا على النتائج المدونة في الجدول (1.V):

الجدول 1.V: مردود الإستخلاص.

المردود %	الكتلة النهائية (غ)	الكتلة الأولية (غ)	العينة
9.60 %	2.8801	30	K
11.63 %	3.4896	30	S

من خلال النتائج المبينة في الجدول نجد أن مردود الإستخلاص بالنسبة للعينة S أكثر من مردود العينة K، هذا ما يدل على أن محتوى المركبات الفينولية في قشور نوع الكليمنتين أكثر منها في نوع الطومسون. وعلى العموم فإن مردود الإستخلاص متوسط.

مردود الاستخلاص للعينات K و S موضح في الشكل الموالي:



الشكل 1.V: مخطط يوضح نسبة مردود الإستخلاص.

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

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

الجدول 2.V: قيم الإمتصاصية للتركيز المحضرة.

K		S		العينة
0.1	0.05	0.1	0.05	التركيز (ملغ/مل)
0.512	0.246	0.520	0.32	الإمتصاصية

بحساب رياضي وبإستخدام علاقة المنحنى القياسي لحمض الغاليك نجد تركيز الفينولات الكلية في

المستخلصات، حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة لـ 1 غ من المستخلص وكذا المردود:

$$y = 10,391x + 0,0068 \quad \dots\dots\dots(2.V)$$

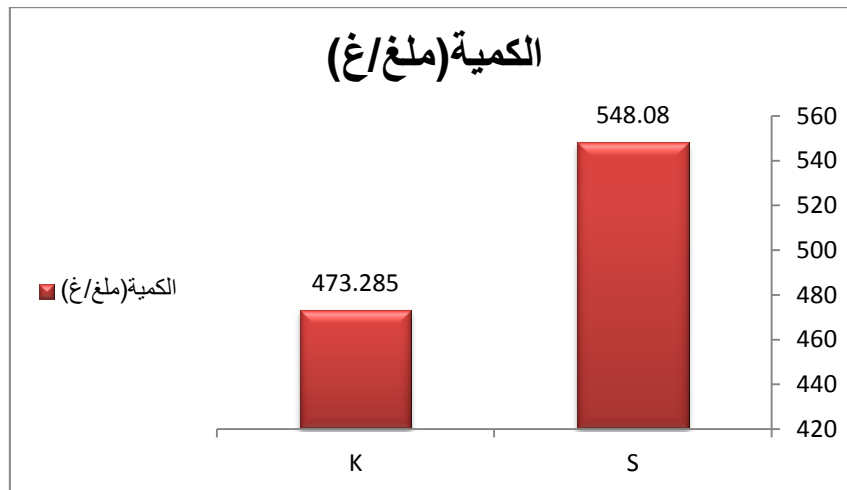
النتائج مدونة في الجدول (3.V):

الجدول 3.V: كمية الفينولات الكلية في المستخلصين.

K	S	العينة
473.285	548.08	الكمية (ملغ/غ)
%47.30	%54.69	المردود % (نسبة الفينولات في المستخلصات)

تتواجد المركبات الفينولية بكميات معتبرة على مستوى قشور البرتقال، حيث تصل إلى 54.69% من مستخلص عينة الكليمونتين، و47.30% من مستخلص عينة الطومسون، وهذا راجع إلى الاختلاف في التركيبة الكيميائية للقشور لكل من النوعين.

والشكل التالي يوضح الفرق بين الكميتين:



الشكل 2.V: كمية الفينولات الكلية في المستخلصين.

3.V. التقدير الكمي للفلافونيدات بواسطة جهاز مطيافية الأشعة UV-Visible:

نتائج الإمتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في الجدول (4.V):

الجدول 4.V: قيم الإمتصاصية لتركيز المحضر.

العينة	S	K
التركيز (ملغ/مل)	1	1
الإمتصاصية	1.557	1.369

بحساب رياضي وباستخدام علاقة المنحنى القياسي للروتين نجد تركيز الفلافونيدات في المستخلصات، حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة لـ 1 غ من المستخلص وكذا المردود بالنسبة للمستخلصات والفينولات الكلية:

$$y = 14.499x$$

.....(3.V)

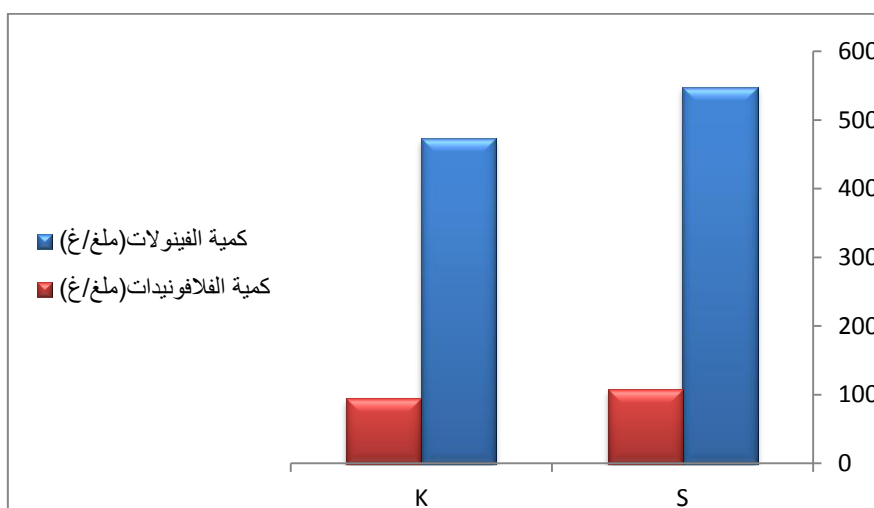
النتائج مدونة في الجدول (5.V):

الجدول 5.V: كمية الفلافونيدات في المستخلصين.

العينة	S	K
الكمية (ملغ/غ)	107.386	94.420
نسبة الفلافونيدات في المستخلصات %	% 10.73	% 9.44
نسبة الفلافونيدات من الفينولات %	% 19.59	% 19.94

الفلافونيدات أكثر الفينولات إنتشارا لذلك فإنها تمثل نسبة معتبرة مقدره من النتائج المتحصل عليها تقريبا بـ 20% من كمية الفينولات .

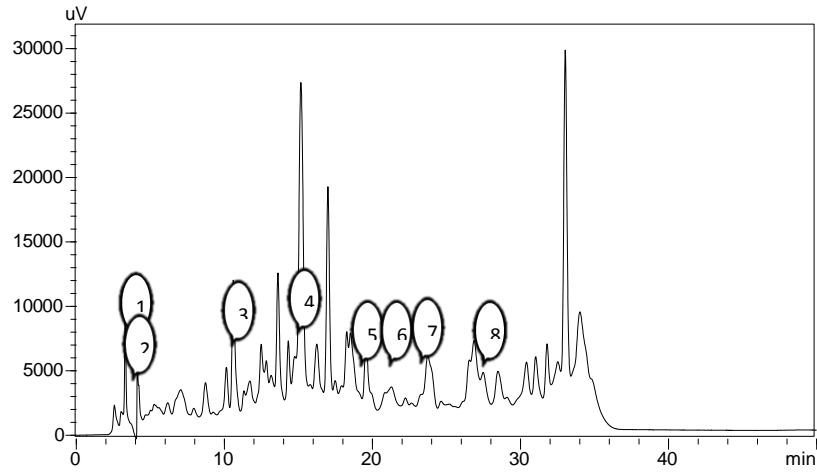
المقارنة بين الفينولات الكلية والفلافونيدات في المستخلصات موضحة في المخطط التالي:



الشكل 3.V: مخطط يوضح مقارنة بين كمية الفينولات و الفلافونيدات.

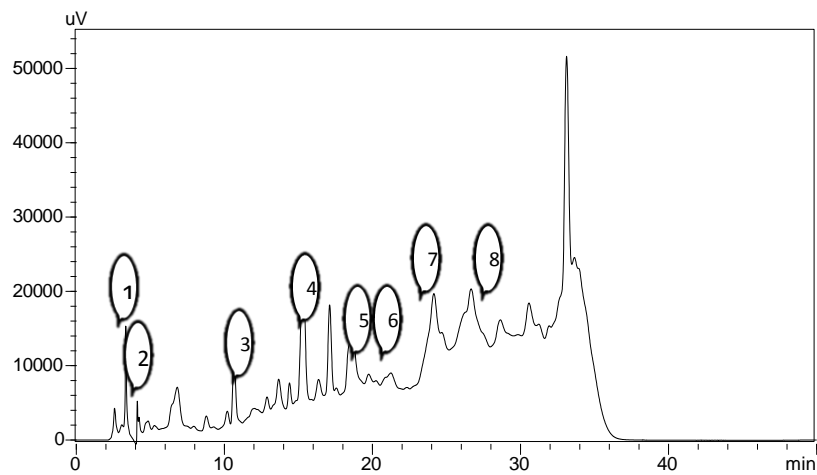
4.V. التقدير الكيفي للفينولات بواسطة جهاز الـ HPLC:

الكروماتوغرام الناتج عن الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمستخلص العينة K موضح في مايلي:



الشكل 4.V: كروماتوغرام العينة K.

الكروماتوغرام الناتج عن الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمستخلص العينة S موضح في مايلي:



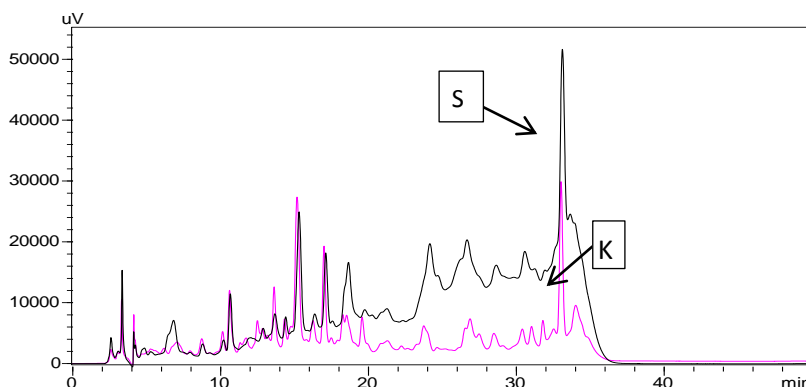
الشكل 5.V: كروماتوغرام العينة S.

من خلال نتائج الكروماتوغرام تبين أن المستخلصات S و K تحتوي العديد من المركبات، حيث حددنا ثماني (8) مركبات من خلال مقارنة زمن مكوئها مع المركبات الفينولية المرجعية وهي مدونة في الجدول (6.V): (أنظر الملحق 06 و 07)

الجدول 6.V: المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلصين.

رقم المركب	المركبات الفينولية	زمن المكوث (min) للفينول المرجعي	زمن المكوث (min) في العينة K	زمن المكوث (min) في العينة S
1	حمض الأسكوربيك	4.21	4.12	4.23
2	حمض الغاليك	5.23	5.25	5.27
3	حمض الكلوروجينيك	13.62	13.42	13.66
4	حمض الكافيك	16.3	16.23	16.35
5	كرستين	20.37	20.84	20.23
6	الفانيلين	21.46	21.27	21.24
7	حمض بيوكومارين	23.95	23.73	24.14
8	الروتين	28.22	28.47	28.63

يمكن القول أن العينتين يحتويان نفس المركبات الفينولية المرجعية، لكن كمياتها تختلف بدليل إختلاف مساحة القمم، فقد كانت كمية حمض الأسكوربيك (الفيتامين C) ، حمض الغاليك، حمض الكلوروجينيك و حمض الكافيك أكبر في مستخلص عينة الطومسون من مستخلص عينة الكليمونتين، والعكس بالنسبة لـ الكرستين، الفانيلين، حمض بيوكومارين والروتين. كما هو موضح في الشكل الموالي:



الشكل 6.V: مقارنة بين كميات المركبات الفينولية في المسخلصين.

5.V. الفعالية البيولوجية ضد البكتريا:

بعد الزرع والحضن لمدة 24 ساعة، نقوم بقياس قطر التثبيط حول الأقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة للمستخلصات، نكرر العملية أكثر من مرة للتأكد من النتائج المتحصل عليها، مع الأخذ بعين الإعتبار قطر تثبيط الشاهد.

الجدول (7.V) يبين التراكيز المحضرة:

الجدول 7.V: التراكيز المحضرة لدراسة الفعالية البيولوجية.

التركيز	50مغ/مل	100مغ/مل	200مغ/مل	العينة
S	S ₁	S ₂	S ₃	
K	K ₁	K ₂	K ₃	

▪ بكتيريا *Escherichia coli*:

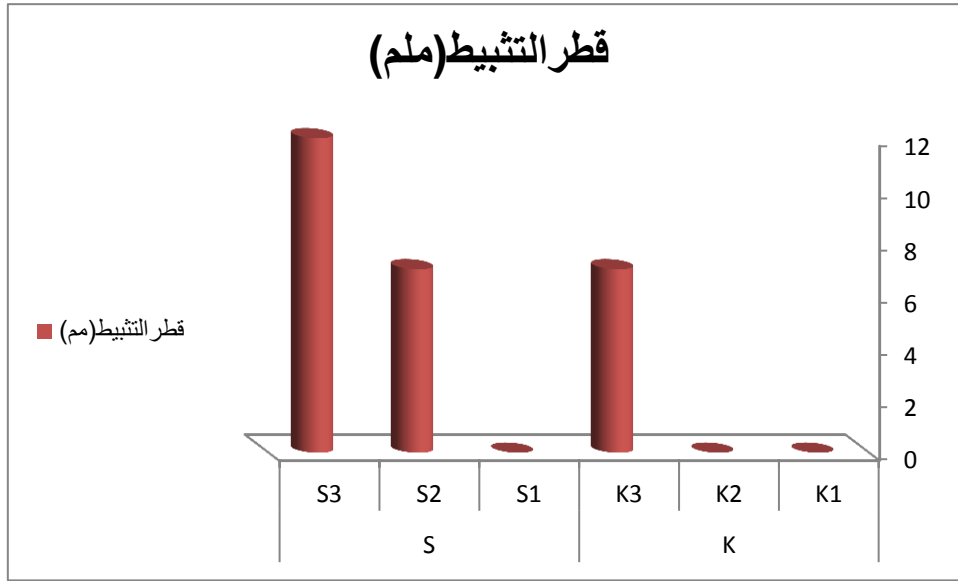
قيم قطر التثبيط بالنسبة لبكتيريا *Escherichia coli* مدونة في الجدول (8.V):

الجدول 8.V: أقطار تثبيط بكتيريا *Escherichia coli* الناتجة عن التراكيز المختلفة.

العينة	K			S		
التركيز	K ₁	K ₂	K ₃	S ₁	S ₂	S ₃
قطر التثبيط (مم)	---	---	7	---	7	12

مستخلص العينة K أظهر أقطار تثبيط عند التركيز K₃ لم يتجاوز 7 ملم، أما مستخلص العينة S أظهر أقطار تثبيط عند التركيزين S₂ و S₃ بـ 7 ملم و 12 ملم على التوالي، ومنه يمكن القول أن بكتيريا *Escherichia coli* متوسطة الحساسية للتركيز S₃ لمستخلص عينة الكيمونتين.

ولتوضيح النتائج نمثلها بمخطط أعمدة كالتالي:



الشكل 6.V: مخطط يوضح أقطار تثبيط بكتيريا *Escherichia coli* الناتجة عن التراكيز المختلفة.

■ بكتيريا *Staphylococcus*:

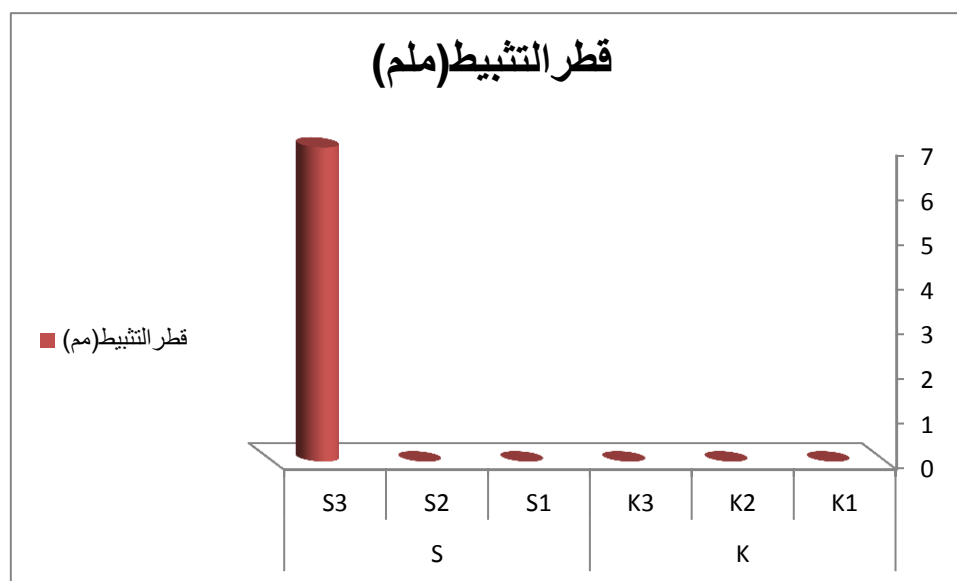
قيم قطر التثبيط بالنسبة لبكتيريا *Staphylococcus* مدونة في الجدول (9.V):

الجدول 9.V: أقطار تثبيط بكتيريا *Staphylococcus* الناتجة عن التراكيز المختلفة.

S			K			العينة
S ₃	S ₂	S ₁	K ₃	K ₂	K ₁	التركيز
7	---	---	---	---	---	قطر التثبيط (مم)

مستخلص العينة K لم يظهر أقطار تثبيط عند كل التراكيز، أما مستخلص العينة S أظهر قطر تثبيط عند التركيز S₃ بـ 7 ملم، ومنه يمكن القول أن بكتيريا *Staphylococcus* لكل التراكيز.

ولتوضيح النتائج نمثلها بمخطط أعمدة كالتالي:



الشكل 7.V: مخطط يوضح أقطار تثبيط بكتيريا *Staphylococcus* الناتجة عن التراكيز المختلفة.

■ بكتيريا *Pseudomonas* :

قيم قطر التثبيط بالنسبة لبكتيريا *Pseudomonas* مدونة في الجدول (10.V):

الجدول 10.V: أقطار تثبيط بكتيريا *Pseudomonas* الناتجة عن التراكيز المختلفة.

S			K			العينة
S ₃	S ₂	S ₁	K ₃	K ₂	K ₁	التركيز
---	---	---	---	---	---	قطر التثبيط (مم)

لم تظهر أي أقطار تثبيط عند كل التراكيز و في كلا العينتين ، هذا راجع إلى أن بكتيريا *Pseudomonas* تملك مقاومة طبيعية.

■ بكتيريا *Enterobacter* :

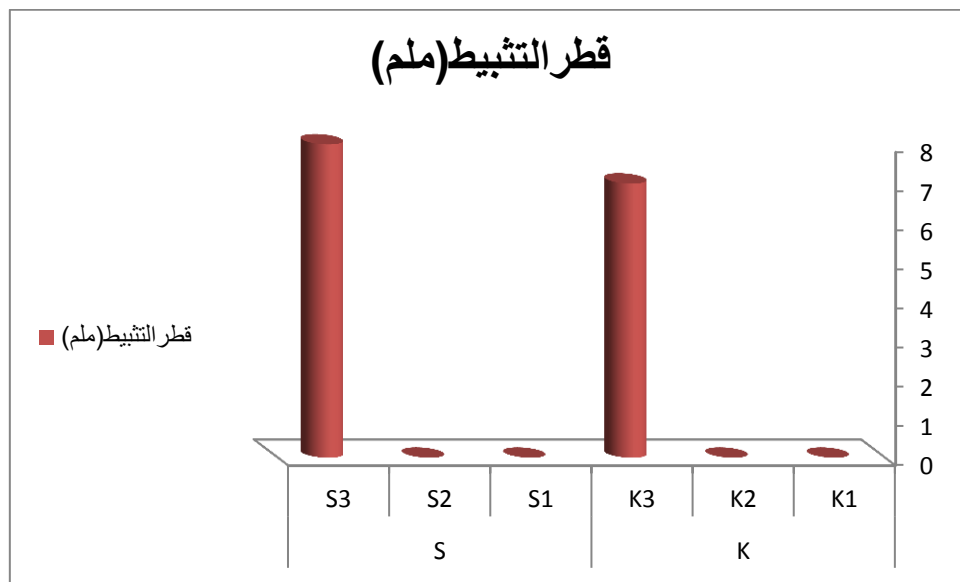
قيم قطر التثبيط بالنسبة لبكتيريا *Enterobacter* مدونة في الجدول (11.V):

الجدول 11.V: أقطار تثبيط بكتيريا *Enterobacter* الناتجة عن التراكيز المختلفة.

S			K			العينة
S ₃	S ₂	S ₁	K ₃	K ₂	K ₁	التركيز
8	---	---	7	---	---	قطر التثبيط (ملم)

مستخلص العينة K أظهر قطر تثبيط عند التركيز K₃ بقطر 7 ملم ، أما مستخلص العينة S أظهر قطر تثبيط عند التركيز S₃ بـ 8 ملم، ومنه يمكن القول أن بكتيريا *Pseudomonas* مقاومة لأغلب التراكيز، و متوسطة الحساسية للتركيز K₃.

ولتوضيح النتائج نمثلها بمخطط أعمدة كالتالي:



الشكل 8.V: مخطط يوضح أقطار تثبيط بكتيريا *Enterobacter* الناتجة عن التراكيز المختلفة.

نتيجة عامة:

أظهرت نتائج الفعالية البيولوجية أنه كلما زاد التركيز زاد قطر التثبيط، وكذلك فإن المستخلص الذي يحوي كمية أكبر من المركبات الفينولية كانت له فعالية أكبر، أي أن الفعالية البيولوجية لمستخلص عينة الكليمونتين أكبر من أن الفعالية البيولوجية لمستخلص عينة الطومسون ضد بعض أنواع البكتيريا المدروسة.

خلاصة عامة

خلاصة عامة

البرتقال من الحمضيات الأكثر إنتشارا في بلادنا، كما أن له فوائد علاجية كثيرة منها ما أثبتها العلم وأخرى لم تثبت بعد و لهذا السبب قمنا بهذه الدراسة لإختبار فعالية المركبات الفينولية المتواجدة على مستوى قشور البرتقال ضد البكتيريا.

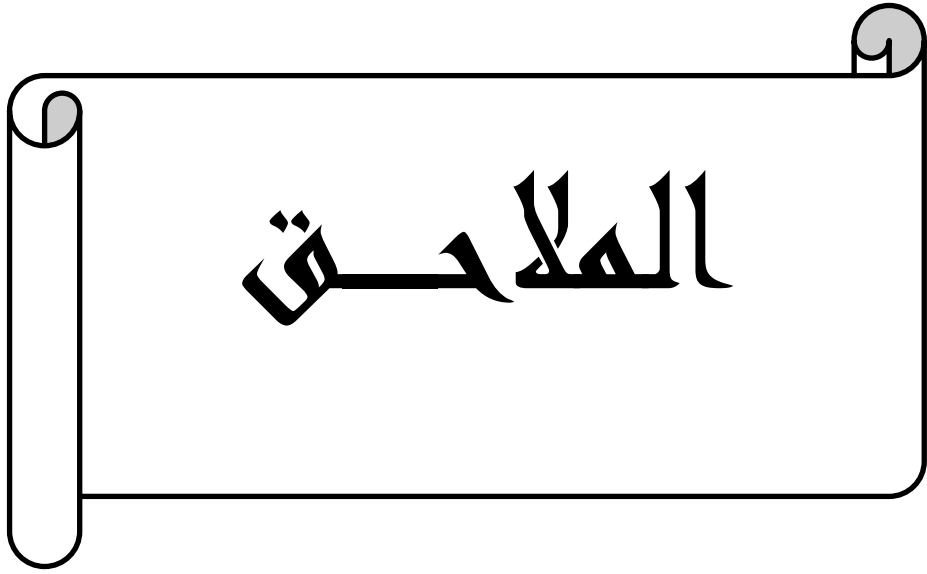
إرتكزت الدراسة على إستخلاص المركبات الفينولية من قشور البرتقال لنوعين تناولها شائع في منطقتنا وهما الكليمونتين والطومسون، حيث قمنا بالإستخلاص عن طريق النقع في مذيب عضوي غير قطبي كخطوة أولى للتخلص من المركبات غير القطبية ثم بمذيب قطبي يتمثل في الإيثانول 80% ، إذ كان مردود الإستخلاص يقارب 10% بالنسبة لعينة الطمسون و يفوقها بقليل بالنسبة لعينة الكليمونتين .

المستخلصات المتحصل عليها تحوي نسبة من المركبات الفينولية ولتقديرها إستعنا بجهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية - المرئية (spectrophotomètre UV-Visible) وبإستعمال كاشف *Folin ciocalteu* بطريقة *Singleton-Rossi* تم تقدير كمية الفينولات الكلية، وكاشف كوريد الأمونيوم $AlCl_3$ لتقدير كمية الفلافونيدات، حيث كانت 548.08 ملغ/غ أي بنسبة 54.69% من مستخلص عينة الكليمونتين و 473.285 ملغ/غ أي بنسبة 47.30% من مستخلص عينة الطومسون، أما بالنسبة للفلافونيدات تم تقدير أنها تمثل حوالي 10% من المستخلص و 20% من الفينولات الكلية في كلا العينتين.

ولتحديد المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلصات تم إستعمال جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) حيث تم تحديد عدة مركبات فينولية متواجدة في العينتين لكن بكميات متفاوتة.

أما دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات تمت بإختبارها على أنواع بكتيرية مختلفة حيث أظهرت فعالية أكبر عند التراكيز الكبيرة خاصة ضد بكتيريا *Escherichia coli* ، وعلى العكس لم تظهر أي فعالية ضد بكتيريا *Pseudomonas* ، وقد كان لمستخلص نوع الكليمونتين فعالية أكبر من مستخلص نوع الطومسون ضد بعض أنواع البكتيريا المدروسة.

إنطلاقا من هذه النتائج إستنتجنا أن المستخلص الذي يحوي نسبة أكبر من المركبات الفينولية كانت له فعالية أكبر ضد البكتيريا، لكن لا يمكن الجزم أي المركبات تعود لها هذه الفعالية ، لذلك نتمنى أن تستكمل هذه الدراسة بأبحاث مستقبلية لتحديد المركبات الفعالة بدقة.



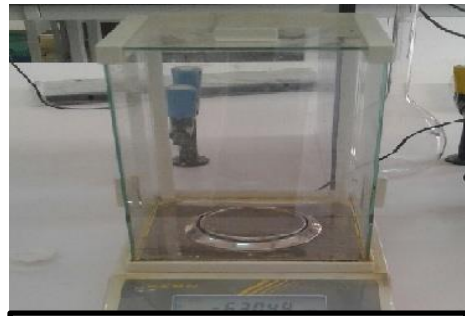


الملحق 02: الاجهزة المستعملة في مخابر الكيمياء.



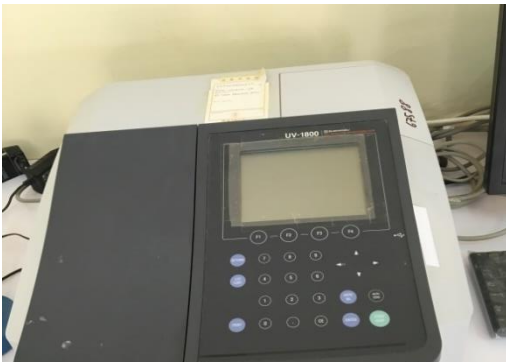
modèle Hittech EBA 21

جهاز الطرد المركزي



modèle KERN ALS220-4N

ميزان حساس



modèle UV-1800, made in Japan.

جهاز الـ UV-Visible



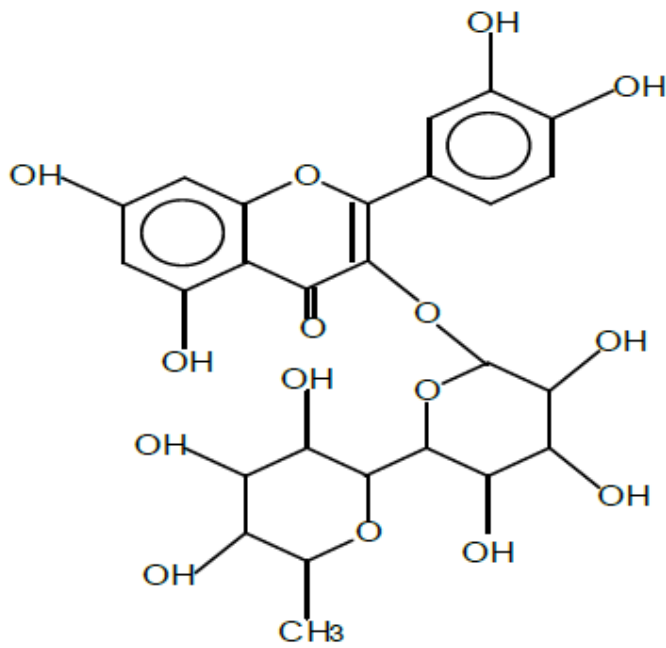
modèle Haering Bath B-491,
made in Japan.

جهاز التبخير الدوار

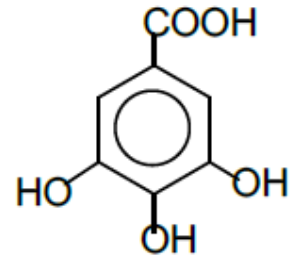


Modèle SHIMADZU LC solution

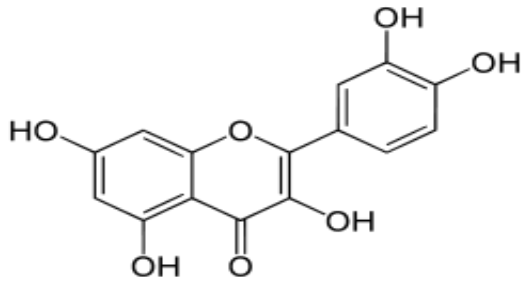
جهاز الـ HPLC



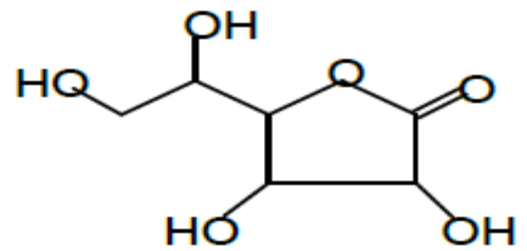
Rutine



Acide gallique



Quercetin



Vitamine C
Acide ascorbique



modèle WNB 14, made in Germany

حمام مائي



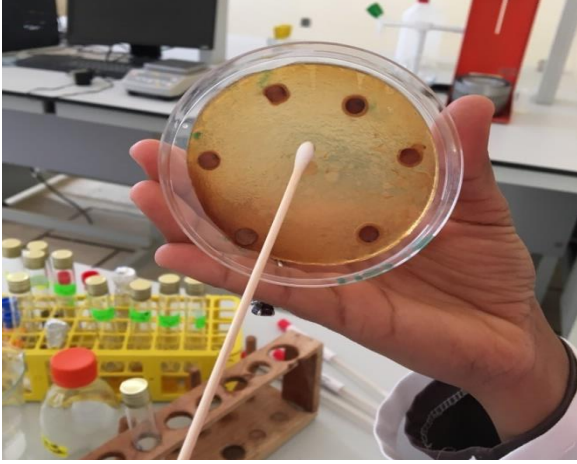
modèle TIMO

معقمة



modèle LIB-060M, made in Korea

حاضنة



أخذ جزمة بكتيرية



تحضير وسط الزرع



زرع البكتيريا



تحضير المعلق البكتيري



وضع الأقراص المشبعة بالمستخلص

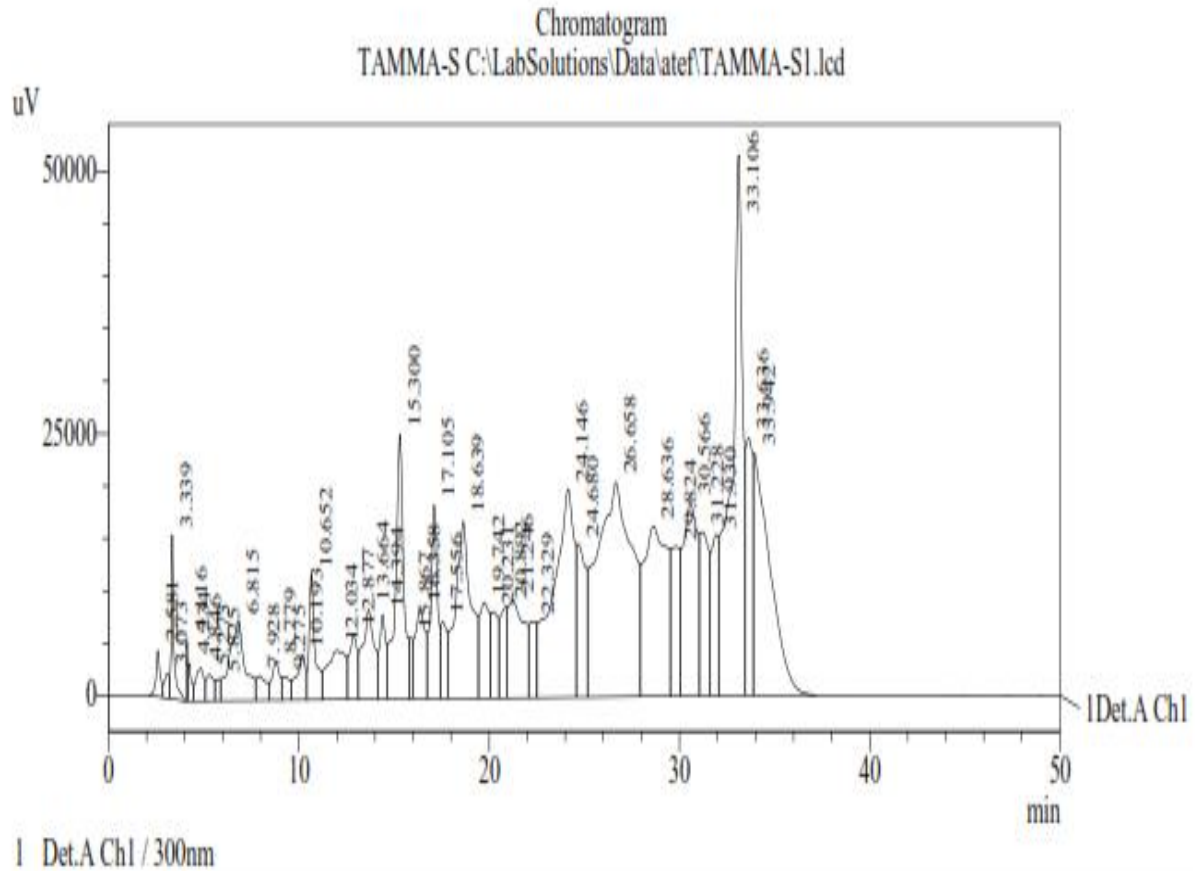
الملحق 06: نتائج الـ HPLC للعينة S:



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
 République Algérienne Démocratique et Populaire
 وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
 Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
 جامعة الشهيد حمه لخضر السوادي
 Université Echahid Hamma Lakhdar d'EL Oued
 مخبر الموارد الصحراوية ترقيتها وتكنولوجياها
 Laboratoire de Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes



Sample Information
 Acquired by : Admin
 Sample Name : TAMMA-S
 Sample ID : TAMMA-S
 Vail# :
 Injection Volume : 20 uL
 Data Filename : TAMMA-S1.
 Method Filename : Noumia21.lcr
 Batch Filename :
 Report Filename : dis0.lcr
 Date Acquired : 12-04-2016 1
 Data Processed : 12-04-2016 1



PeakTable

Detector A Ch1 300nm

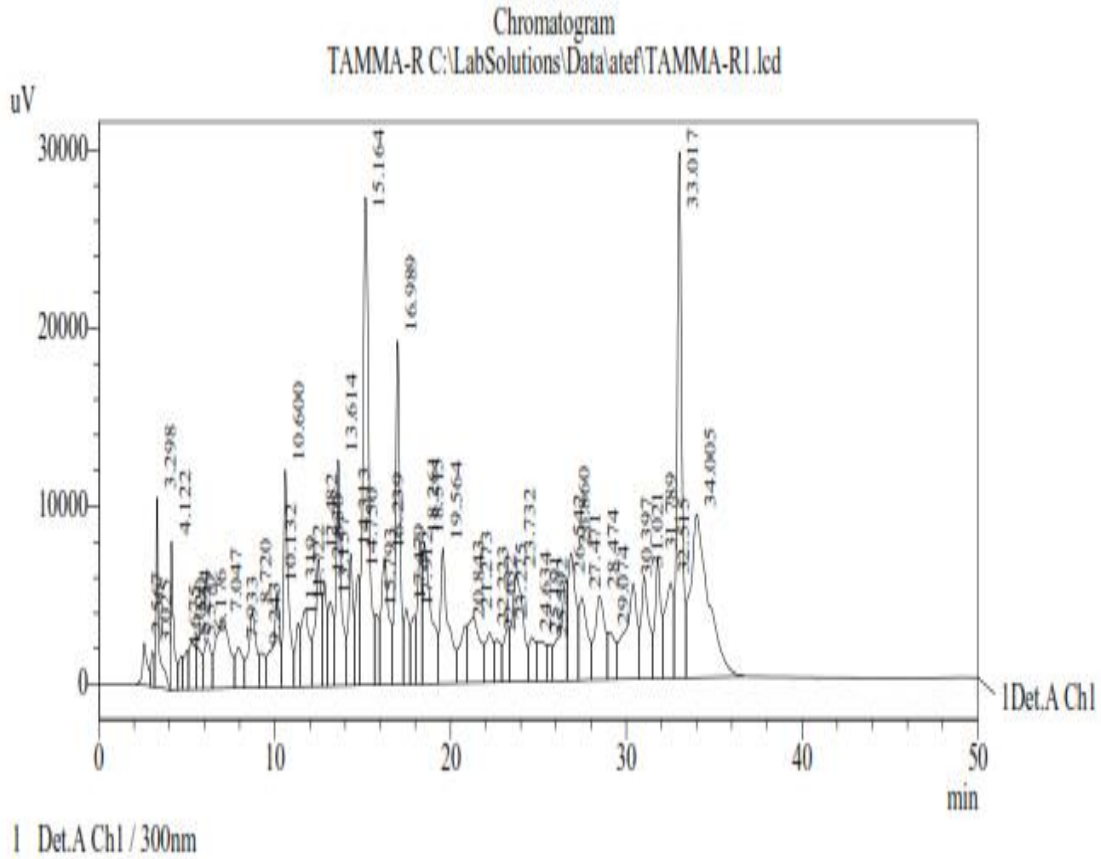
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.581	66761	4422	0.345	0.964
2	3.073	39239	2326	0.203	0.507
3	3.339	144582	15690	0.746	3.422
4	4.116	27579	5769	0.142	1.258
5	4.234	39630	3616	0.205	0.789
6	4.846	90399	3092	0.467	0.674
7	5.273	67534	2476	0.349	0.540
8	5.825	35410	2072	0.183	0.452
9	6.815	431849	7603	2.229	1.658
10	7.928	85030	2322	0.439	0.506
11	8.779	104598	3693	0.540	0.805
12	9.275	61590	2227	0.318	0.486
13	10.193	142279	4317	0.734	0.941
14	10.652	262152	11891	1.353	2.593
15	12.034	316156	4657	1.632	1.016
16	12.877	176621	6191	0.912	1.350
17	13.664	363044	8557	1.874	1.866
18	14.394	182643	8054	0.943	1.756
19	15.300	773252	25280	3.992	5.513
20	15.867	77768	5806	0.401	1.266
21	16.358	308025	8486	1.590	1.851
22	17.105	454321	18505	2.345	4.036
23	17.556	166112	7316	0.858	1.596
24	18.639	994321	16920	5.133	3.690
25	19.742	328167	9133	1.694	1.992
26	20.231	208520	8245	1.076	1.798
27	20.892	210510	8694	1.087	1.896
28	21.246	551275	9275	2.846	2.023
29	22.329	194193	7302	1.002	1.593
30	24.146	1528287	19907	7.889	4.342
31	24.680	474039	14652	2.447	3.195
32	26.658	2599828	20482	13.421	4.467
33	28.636	1369845	16287	7.072	3.552
34	29.824	454300	14276	2.345	3.114
35	30.566	977400	18515	5.046	4.038
36	31.228	508716	15665	2.626	3.416
37	31.930	384669	15420	1.986	3.363
38	33.106	2177355	51678	11.240	11.270
39	33.636	598701	24596	3.091	5.364
40	33.942	1394651	23112	7.200	5.041
Total		19371353	458526	100.000	100.000



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
 République Algérienne Démocratique et Populaire
 وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
 Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
 جامعة الشهيد حمه لخضر السوادي
 Université Echahid Hamma Lakhdar d'EL Oued
 مخبر الموارد الصحراوية ترقيتها وتكنولوجياها
 Laboratoire de Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes



Sample Information
 Acquired by : Admin
 Sample Name : TAMMA-R
 Sample ID : TAMMA-R
 Vail# :
 Injection Volume : 20 uL
 Data Filename : TAMMA-R1.
 Method Filename : Noumia21.lcr
 Batch Filename :
 Report Filename : dis0.lcr
 Date Acquired : 13-04-2016 1
 Data Processed : 13-04-2016 1



PeakTable

Detector A Ch1 300nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.567	42505	2363	0.521	0.737
2	3.025	25778	1950	0.316	0.609
3	3.298	113995	10653	1.397	3.325
4	4.122	80592	8312	0.988	2.594
5	4.675	25749	1859	0.316	0.580
6	5.020	41058	2204	0.503	0.688
7	5.254	63068	2658	0.773	0.830
8	5.570	50068	2391	0.614	0.746
9	6.176	77478	2754	0.950	0.859
10	7.047	209485	3751	2.567	1.171
11	7.933	66349	2286	0.813	0.713
12	8.720	131152	4259	1.607	1.329
13	9.243	43671	1956	0.535	0.610
14	10.132	152313	5412	1.867	1.689
15	10.600	236451	12171	2.898	3.798
16	11.319	61342	3568	0.752	1.114
17	11.722	136343	4317	1.671	1.347
18	12.482	168623	7149	2.067	2.231
19	12.830	97651	5868	1.197	1.832
20	13.157	99921	4724	1.225	1.474
21	13.614	249651	12666	3.060	3.953
22	14.313	134551	7379	1.649	2.303
23	14.750	106044	6163	1.300	1.923
24	15.164	649741	27396	7.963	8.550
25	15.793	65263	3951	0.800	1.233
26	16.239	217814	7084	2.669	2.211
27	16.989	341614	19281	4.187	6.017
28	17.479	86273	4216	1.057	1.316
29	17.912	68397	3819	0.838	1.192
30	18.261	135403	8001	1.659	2.497
31	18.515	270943	7905	3.321	2.467
32	19.564	235583	7571	2.887	2.363
33	20.843	91355	3215	1.120	1.004
34	21.273	170543	3649	2.090	1.139
35	22.223	86208	2765	1.057	0.863
36	22.632	60722	2361	0.744	0.737
37	23.275	70178	3021	0.860	0.943
38	23.732	256955	6039	3.149	1.885
39	24.634	70728	2457	0.867	0.767
40	25.191	75099	2219	0.920	0.693
41	25.592	34760	2016	0.426	0.629
42	26.542	161780	5611	1.983	1.751
43	26.860	221969	7129	2.720	2.225
44	27.471	156195	4628	1.914	1.445
45	28.474	182608	4692	2.238	1.464
46	29.074	78421	2659	0.961	0.830
47	30.397	251542	5366	3.083	1.675
48	31.021	177860	5772	2.180	1.802
49	31.789	151820	6744	1.861	2.105
50	32.515	176815	5341	2.167	1.667
51	33.017	549085	29519	6.729	9.213
52	34.005	650101	9176	7.967	2.864
Total		8159613	320416	100.000	100.000

الملخص :

يهدف إيجاد بدائل طبيعية عن الأدوية والمضادات الحيوية لمكافحة الأمراض التي تسببها البكتيريا، قمنا بإجراء هذه الدراسة لإختبار الفعالية البيولوجية للمركبات الفينولية المتواجدة في قشور البرتقال. حيث تم إستخلاص المركبات الفينولية من قشور نوعي الطومسون و الكليمنتين عن طريق النقع في الإيثانول 80% ، وذلك بعد التخلص من الليبيدات عن طريق الإستخلاص بالهكسان، ثم التقدير الكمي لهذه المركبات في المستخلصات بطريقة *Singleton-Rossi* و التي تعتمد على مطيافية الأشعة فوق البنفسجية - المرئية ، فكانت كميتها أكثر في مستخلص عينة الكليمنتين، وبالتقدير النوعي فقد تم تحديد المركبات الفينولية للمستخلصين بإستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء.

أما إختبار الفعالية البيولوجية ضد أنواع بكتيرية مختلفة كانت نتيجته إيجابية، فقد أظهر مستخلص عينة الكليمنتين فعالية أكبر من مستخلص عينة الطومسون.

الكلمات المفتاحية: قشور البرتقال، المركبات الفينولية، الفعالية البيولوجية.

Résumé:

Afin de trouver des alternatives naturelles aux médicaments et des antibiotiques pour attaquer les maladies provoquées par des bactéries, nous avons mené cette étude pour tester l'efficacité biologique des composés phénoliques présents dans les pelures d'oranges. On a réalisé l'extraction des composés phénoliques de pelures de type de Thomson (*Citrus sinensis L.*) et Clémentine (*Citrus climentina*) par macération dans d'éthanol 80%, avant cette étape on a fait l'extraction par le hexane pour éliminer les lipides. Et ensuite déterminer ces composés dans les extraits de manière Singleton-Rossi, qui basé sur le spectrophotomètre ultraviolets - Visible, les résultats montre que la quantité des composés phénoliques présente dans l'extrait d'échantillon Clémentine est plus grande que l'extrait Thomson.

Et l'évaluation qualitative, on a identifié des composés phénoliques des extraits en utilisant la chromatographie liquide à haute performance (HPLC).

Le test de l'activité biologique contre les différentes espèces bactériennes présent un résultat positif, mais l'extrait d'échantillon Clémentine présent une activité plus grande que l'échantillon d'extrait Thomson.

Les mots-clés: Pelures d'oranges, composés phénoliques, activité biologique.