رقم الترتيب:.....

الرقم التسلسلي:.....

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي-

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في كيمياء

تخصص : كيمياء العضوية

من إعداد: يوسف سعيدة – علية فائزة

تحت عنوان:

دراسة الفعالية البيولوجية لمستخلصات أوراق نبات التبغ

نوقشت يوم :...../2019/06

أمام لجنة المناقشة :

التجاني سكينة	أستاذ محاضر ب	جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي	رئيسا
حداد العربي	أستاذ محاضر ب	جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي	مناقشا
سويعي بلقاسم	أستاذ مساعد أ	جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي	مناقشا
زمالي جعفر	أستاذ مساعد أ	جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي	مقررا

الموسم الجامعي: 2018-2019

الإهداء

إلى:

من لا يمكن للكلمات إن توفي حقهما ،إلى مصدر قوتي و إلهامي، إلى الوالدين:

سعيدي زينب ويوسف لخضر.

إلى:

روح أختي الطاهرة يوسف مريم رحمة الله عليها

إلى إخوتي:

جموعي ، يونس ، محمد، هشام ، عبد الحق، عبد اللطيف، نعيمة، سامية.

حفظهم الله ورعاهم

إلى بنات أختي: أشواق، فاطمة البتول ، قطر الندى

حفظهم الله ورعاهم

إلى من جمعتني بهم الذكريات صديقاتي في مشوار الدراسة:

سارة، لبنى، فائزة ، منال.

إلى كل الأهل والأقارب

أهدي هذا العمل المتواضع

سعيدة

الإهداء

إلى : كل من كانت و لاتزال دعوتها تملأ الكون نورا

ويضيء لي طريق الحياة صاحبة القلب الكبير

الذي يفيض حبا وحنانا مدرسة الحب والإخلاص

.....أمي الحنونة.....

أطال الله في عمرها.

إلى: من دفع بي إلى منعرج العلم والمعرفة وكافح من أجل تربيتي وتعليمي

.....أبي الغالي.....

أطال الله في عمره.

إلى: من كانو لي زادا وعونا وسندا

..... إخوتي .....

إلى: المؤنسات الغاليات

.....أخواتي .....

إلى : رفيقة دربي

.....زوجة أخي .....

حفظهم الله ورعاهم

إلى براعمي الصغار :

يحي، لميس، أسماء، أسينات، محمد الطاهر، توبه، صفية، حنين، عماد الدين.

فائزة

شكر وعرفان

" كن عالما، فإن لم تستطيع فكن متعلما، فإن لم تستطيع فأحب العلماء، فإن لم تستطيع فلا تبغضهم".

نتوجه بالشكر إلى الله تبارك وتعالى الذي يسر لنا إتمام هذا البحث المتواضع فالفضل والشكر كله لله أولا وأخيرا وظاهرا وباطنا.

كما نتقدم بالشكر الجزيل الى الأستاذ زمالي جعفر الذي تفضل بإشرافه على هذه المذكرة وجزاه الله عنا كل الخير فله منا كل التقدير والإحترام.

كما نتقدم بالشكر الجزيل إلى الأساتذة محمد زيدان و رغيوة عبدالله على ما قدمو لنا من نصائح وإرشادات .

كما نتقدم بجزيل الشكر وعظيم الإمتنان لكل أعضاء لجنة المناقشة على تفضلهم بقبول مناقشة هذا العمل .

الشكر موصول لكل من ساهم في إنجاز هذا العمل من عمال مخابر الكيمياء بكلية العلوم الدقيقة، وطاقم مخبر التحاليل بمستشفى بشير بن ناصر بالوادي .

والشكر إلى كل من ساعدنا من قريب أو بعيد في إنجاز هذا البحث من البداية إلى غاية الانتهاء. ونجدد شكرنا إلى الله ربي والحمد لله رب العالمين.

الملخص:

تطرقنا في هذا البحث إلى دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات (مستخلص الإيثانول، مستخلص الماء، مستخلص الإيثانول+الماء) لأوراق نبات التبغ *Nicotiana Tabacum* .

تم الكشف عن المنتجات الطبيعية حيث أظهرت النتائج غناها بمعظمها.

ثم التقدير الكمي للمركبات الفينولية الكلية بإستعمال جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية *UV-Visible*.

أما بالنسبة للفعالية المضادة للبكتيريا، وجدنا أن السلالات البكتيرية المدروسة كانت أكثر حساسية حيث كان المستخلص الأكثر فعالية ضد البكتيريا هو مستخلص الإيثانول الذي بلغ قطر تثبيطه (13 ملم) عند البكتيريا *Klebsiella pneumoniae* .

الكلمات المفتاحية:*Nicotiana Tabacum* ، المستخلصات ، الفعالية المضادة للبكتيريا، الاستخلاص.

الفهرس

المحتويات

الإهداء 2

الإهداء 3

شكر وعرفان 4

المقدمة 14

مراجع المقدمة 3

الفصل الأول: دراسة نظرية لنبات التبغ

(Nicotiana tabacum)

مدخل 5

I-1-العائلة الباذنجانية : 5

I-1-1- الوصف النباتي للعائلة : 5

I-2- نبات التبغ : 6

I-2-1- تعريف نبات التبغ : 6

I-2-2- تصنيف نبات التبغ : 7

I-2-3- وصف نبات التبغ : 7

I-2-4-الإنتشار: 7

I-2-5- أنواع التبغ : 7

I-2-6-نضج وجني محصول التبغ : 9

I-2-7- التركيب الكيمائي لنبات التبغ : 10

I-2-8- فوائد نبات التبغ : 13

I-2-9- مخاطر نبات التبغ : 14

I –3–الاستخلاص : 14
I–3–1– تعريف الاستخلاص :..... 14
المراجع..... 16

الفصل الثاني: المنتجات الطبيعية

مدخل 18
II–1– تعريف المنتجات الطبيعية: 18
II–1–1– الأيض الأولي : 18
II–1–1–1– الأحماض الكربوكسيلية :..... 18
II–1–2– الأيض الثانوي : 18
II–1–2–1– الكحولات والفينولات:..... 18
II–1–2–2– التربينات :..... 19
II–1–2–3– القلويدات : 20
II–1–2–3–1– النيكوتين :..... 26
المراجع..... 29

الفصل الثالث: عموميات ميكروبيولوجية

مدخل 32
III–1– البكتيريا: 32
III–1– 1–تعريفها : 32
III–1– 2– بنيتها:..... 32
III–1– 3– خصائصها:..... 33
III–1– 4– تصنيفها:..... 34
III–1–5– المقاومة البكتيرية:..... 35

III-1-6- السلالات البكتيرية المدروسة : 36
III-2- المضادات الحيوية : 39
III-2-1- تعريف المضادات الحيوية :..... 39
III-2-2- مصدر المضادات الحيوية :..... 39
III-2-3- كيفية عمل المضادات الحيوية : 39
III-2-4- انواع المضادات الحيوية : 40
III-2-5- تأثير المضادات الحيوية :..... 40
III-2-6- طرق تحديد درجة الحساسية للمضادات الحيوية :..... 41
المراجع..... 42

الفصل الرابع : الطرق والوسائل

مدخل 47
IV-1- جمع العينة :..... 47
IV-2- الأجهزة والمواد المستعملة : 48
IV-3-طريقة الاستخلاص المتبعّة : 49
IV-4- خصائص المذيب المستعمل :..... 49
IV-5- عملية الترشيح : 49
IV-6- عملية الاستخلاص المتبعة :..... 51
IV-7- الكشف عن المواد الفعالة : 52
IV-7- 1- الكشف عن التربينات :..... 52
IV-7- 2-الكشف عن الفينولات :..... 52
IV-7- 3-الكشف عن أملاح القلويدات :..... 53
IV-7- 4-الكشف عن الكحولات: 53

IV-7- 5-الكشف عن الاحماض الكربوكسيلية: 54
IV-8- التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية : 54
IV-8-1-مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية UV-Visible : 54
IV-8-2- التقدير الكمي للمركبات الفينولية : 55
IV-9- دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا : 56
IV-9-1- جمع السلالات البكتيرية المستهدفة: 56
IV-9-2- طريقة العمل: 56
المراجع 58

الفصل الخامس: النتائج والمناقشة

مدخل : 61
V-1-نتائج الاختبارات الكيميائية الاولية : 61
V-2- مردود المستخلصات : 61
V-3-التقدير الكمي للفينولات بإستخدام جهاز UV-visible : 63
V-4-نتائج الفعالية البيولوجية 64
خلاصة عامة 70
الملاحق 71
الملخص : 71

قائمة الوثائق

الوثيقة	العنوان	الصفحة
(1-I)	نبات التبغ	06
(2-I)	ورقة نبات التبغ	10
(3-I)	زهرة نبات التبغ	12
(1-II)	صيغة وحدة Isoprène	18
(2-II)	قلويد المورفين	19
(3-II)	قلويد الكوكايين	19
(4-II)	الصيغة التركيبية لقلويد النيكوتين	25
(5-II)	آلية الإصطناع الحيوي لنيكوتين	26
(1-III)	التركيب العام للبكتيريا	32
(2-III)	مخطط يوضح تصنيف البكتيريا	33
(3-III)	بكتيريا *Escherichia coli*	35
(4-III)	بكتيريا *Staphylococcus aureus*	35
(5- III)	بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*	36
(6-III)	بكتيريا *Salmonella typhi*.	36
(7-III)	بكتيريا *Shigella dysenteriae*	37
(8-III)	بكتيريا *Klebsiella pneumoniae*	37
(1-IV)	المنطقة التي تم فيها قطف النبتة ببلدية الرقيبة-ولاية الوادي	46
(2-IV)	مستخلصات أوراق نبات تبغ بعد عملية الترشيح	49
(3-IV)	عملية تحضير المستخلصات	50
(4-IV)	الكشف عن التربينات	51

(5–IV)	الكشف عن الفينولات	51
(6–IV)	الكشف عن القلويدات	52
(7–IV)	الكشف عن الكحولات	52
(8–IV)	الكشف عن الأحماض الكربوكسيلية	53
(9–IV)	مبدأ عمل جهاز مطيافية الأشعة UV–Visible	53
(10–IV)	المنحنى القياسي لحمض الغاليك	54
(1– V)	يمثل قيم مردود المستخلصات	60
(2–V)	كمية الفينولات بملغ مكافئ لحمض الغاليك / غ من وزن المستخلص.	62
(3– V)	درجة الكبت لمستخلص الايثانول لجميع السلالات البكتيرية	64
(4– V)	درجة الكبت لمستخلص (الايثانول+الماء) لجميع السلالات البكتيرية	66
(5– V)	درجة الكبت لمستخلص الماء لجميع السلالات البكتيرية	68

قائمة الجداول

الجدول	العنوان	الصفحة
(1– I)	التصنيف العلمي لنبات التبغ	07
(2– I)	أنواع التبغ وإسمها العلمي	08
(3– I)	أنواع الأحماض المتواجدة في أوراق التبغ	11
(1–II)	أماكن توضع القلويدات في أجزاء النبات	20
(2–II)	تصنيف القلويدات	21
(1–IV)	الأدوات والمواد والأجهزة المستعملة	47
(2–IV)	خصائص المذيب المستعمل	49
(1–V)	نتائج إختبارات المواد الفعاله	60

(V –2)	قيم مردود المستخلصات	61
(V –3)	قيم الامتصاصية وكمية الفينولات في كل مستخلص	62
(V –4)	أقطار التثبيط(ملم) لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة لمستخلص الإيثناول.	63
(V –5)	أقطار التثبيط(ملم) لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة لمستخلص (الايثانول+الماء)	65
(V –6)	أقطار التثبيط(ملم) لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة لمستخلص الماء	67

المقدمة

قد شهد العالم في السنوات الأخيرة اهتماما متعاظما بالنباتات الطبية والتي تعتبر مصدر طبيعيا للمعالجة على شكل مستحضرات تقليدية أو مواد فعالة نقية [1].

تكمن أهميته على احتوائه على مواد كيميائية ذات أهمية كبيرة وفوائد عظيمة لتأثيرها الفسيولوجي ونشاطها الدوائي على أعضاء الجسم البشري والحيواني .

فالنبات الواحد يمكنه أن يعالج عدة أمراض وذلك لاحتوائه على أكثر من مادة فعالة ، وكما أن فعل المؤازرة المتوفر طبيعيا في النبات وذلك بتداخل تأثير مادة فعالة مع أخرى له الأثر البالغ في إحداث الشفاء دون أعراض جانبية[2].

في15 أكتوبر 1492 ، عرض على كريستوفر كولومبس أوراق تبغ مجففة كهدية من الهنود الأمريكيين الذين واجههم. بعد فترة وجيزة ، أعاد البحارة التبغ إلى أوروبا ، وتمت زراعته في جميع أنحائها ،حيث كان السبب الرئيسي وراء تزايد شعبيته في أوروبا هو خصائصه العلاجية المفترضة. انتشر التبغ في معظم دول العالم على أيدي الإسبان والبرتغاليين وأدخله الدبلوماسي جان نيكوت ***Jean Nicot*** إلى فرنسا عام 1556م، وإليه ترجع التسمية السابقة لجنس التبغ. وصلت زراعته إلى الصين واليابان وغرب إفريقيا في النصف الثاني من القرن السادس عشر، وانتشرت في جميع أنحاء العالم خلال القرن السابع عشر.

في عام 1571 كتب نيكولاس موناردیس ، وهو طبيب إسباني ، كتابًا عن تاريخ النباتات الطبية في العالم الجديد. في هذا ادعى أن التبغ يمكن أن يعالج 36 مشكلة صحية[3].

إن فعل هذه المنتجات الطبيعية يختلف حسب نوعها ومحتواها وتركيزها في النبات وعلى هذا الأساس أجريت بعض التسميات على أنها نباتات قلويدية، تربينية وهكذا [2].

نظرا لما تزخر به بلادنا من نباتات متنوعة (لاسيما الطبية منها) موزعة على بيئات مختلفة، مناخات متباينة وتضاريس عدة، لكل منها صفاتها وخصائصها [4].

تعتبر الجزائر من البلدان الغنية بالنباتات الطبية نظرا لمساحتها الواسعة ومنخاتها المختلفة وهذا ما يؤدي إلى التنوع الكبير في الغطاء النباتي [5].

وفي هذه الدراسة تم إستعمال نبات التبغ ***Nicotiana tabacum***، الذي ينتمي إلى العائلة الباذنجانية ينتشر في معظم دول العالم ويستخدم هذا النوع بصورة واسعة في مجال الزراعة

ومن هنا تبادر إلى أذهاننا العديد من الأسئلة من بينها ماهو التأثير البيولوجي لمستخلصات المائية والإيثانولية لأوراق نبات التبغ؟

للإجابة عن هذا التسائل نقترح خطة العمل التالية :

الجزء النظري: تضمن ثلاث فصول

- الفصل الأول: تناولنا فيه دراسة شاملة للعينة النباتية تخص: الإنتماء، التعريف بالنبات،الوصف والإنتشار.
- الفصل الثاني: تناولنا فيه دراسة حول المنتجات الطبيعية تعريفها وأقسامها والتعريف ببعض المواد الفعالة التي تحتويها أوراق نبات التبغ.
- الفصل الثالث: يتضمن تعريف البكتيريا، خصائصها وأشكالها ثم التطرق للأنواع البكتيرية المستعملة في الدراسة البيولوجية.

الجزء العملي: تمثل في

- الفصل الرابع: تضمن تحضير المستخلصات النباتية، ودراسة الفعالية البيولوجية لمستخلصات أوراق نبات التبغ ضد الأنواع البكتيرية(***Escherichia coli*** ، ***Salmonella typhi*** ، ***Pseudomonas aeruginosa*** ، ***Staphylococcus aureus*** ، ***Klebsiella pneumoniae*** ، ***Shigella***) وكذلك الكشف عن القلويدات، الفينولات، التربينات، الكحولات والأحماض الكربوكسيلية،
- الفصل الخامس: تضمن هذا الفصل نتائج مدعومة بالمناقشة.

وأخير أنهينا مذكرتنا بخلاصة عامة.

مراجع المقدمة

المراجع باللغة العربية

[1] العابد أ" , دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للاكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران , " مذكرة ماجستير , جامعة قاصدي مرباح ورقلة ص106(2009)

[4]زمالي ج.،2007–دراسة فيتوكيميائية وبيولوجية لنبتة *Solanum nigrum* .مذكرة ماجستير في الكيمياء.جامعة قاصدي مرباح بورقلة .

[5] حليس(2007).الموسوعة النباتية لمنطقة سوف ،النباتات الصحروايةالشائعة في منطقة العرق الشرقي االكبير.دار النشر لمنطقة سوف كوينين ولاية الوادي , مطبعة الوليد،ط1،ص252.

المراجع باللغة الأجنبية

[2] El-khatragy(l 995).Arabe of drungs and medi cinal Plantes,AlixendriaP : 1 -31 .

[3] www.academic.udayton.htm 2019/02/06

الفصل الأول: دراسة نظرية لنبات التبغ

(*Nicotiana tabacum*)

مدخل

في هذا الفصل سنقوم بدراسة ببليوغرافية لنبات التبغ تتضمن تعريفه، تصنيفه، إنتشاره، وكذلك فوائده ومخاطره ، وقبل البدء في هذه الدراسة يجدر بنا الإشارة أنه تم إختيار نبات التبغ كنموذج من العائلة الباذنجانية لدراسة فعاليته المضادة للبكتيريا، وما دفعنا لهذه دراسة هو أن نبات التبغ شائع الإستعمال في وقتنا الحالي من مختلف فئات العمر، ومن جهة أخرى إبراز أهميته الطبية.

I-1-العائلة الباذنجانية :

فصيلة الباذنجانيات *Solanaceae* هي نباتات ثنائية الفلقة، ملتحمة البتلات، رباعية حلقات البنية الزهرية. وهي فصيلة واسعة الانتشار، تضم قرابة 2500 نوع موزعة على 100 جنس، مهدها المناطق المدارية والمعتدلة من العالم عامة والأمريكية الجنوبية خاصة [1]. وتشمل هذه الفصيلة الكثير من النباتات ذات الأهمية الاقتصادية مثل: البطاطس(*solanum tuberosum*) ، الطماطم (*lycopersicum esculentum*)،الباذنجان(*solanum melongina*)، التبغ (*nicotiana tabacum*)

كثير من نباتات هذه الفصيلة لها أهمية طبية لاحتوائها على قلويدات هامة مثل البلادونا atropa *belladonna* والداتورة *datura stranonium*[2].

تضم أعشاباً و جنبات وأشجاراً، فواحة الرائحة المخدرة الناتجة من القلويدات alkakoids الموجودة في نسجها الورقية والساقيّة [1].

I-1-1- الوصف النباتي للعائلة :

نباتات هذه الفصيلة أعشاب حولية أو معمرة بعضها أشجار أو شجيرات والبعض الآخر متسلقات.

❖ **الأوراق:** متبادلة وعديمة الأذينات، بسيطة أو مركبة، جرداء أو وبراء، وللحزم الوعائية للساق لحاء داخلي وهي ميزة تشريحية تميزها عن فصيلة حنك السبع.

❖ **الزهرة:** منفردة أو مجتمعة في سنمات وحيدة الجانب، خماسية الأجزاء ذات تناظر جانبي غير واضح وتكون الازهار خنثى سفلية منتظمة.

❖ **الكأس:** 5سبلات ملتحمة وقد تستديم كما في الفيسالس Physalisحيث تكبر وتتفتح وتشبه في ذلك المثانة التي تحيط بالثمرة،مصراعية او متراكبة.

❖ **الطلع:** 5أسدية متبادلة مع البتلات وهي فوق بتلية ملتحمة بين فصوص التويج.

❖ **المتاع:** كربلتان ملتحمتان، والمبيض علوي يقع فوق قرص غدى، والكربلتان في وضع مائل على محور الزهرة، و تحوي كل كربلة عددا من البويضات على مشيمة محورية سميكة، والقلم بسيط ينتهي بميسم ذي فصين.

❖ **الثمرة:** علبية كما في التبغ والسكران أو لبية كما في الطماطم.

أما التلقيح فهو ذاتي أو خلطي جزئيا بالحشرات [3،1].

I-2- نبات التبغ :

أستخدم التبغ لأول مرة أفراد قبائل المايا *Mayas* الذين نقلوه إلى الهنود في شمال أمريكا فاستخدموه في طقوسهم الدينية، وأطلقوا عليه اسم YETL. اكتشف الرحالة كريستوف كولومبوس التبغ عام 1492 في أمريكا حيث كانت قبائل الارواك (*Arawaks*) الكاريبية الأصل تدخنه ضمن أنبوب أطلق عليه اسم تبوك (*Tobago*) ومن هنا جاء اسم النوع نيكوتيانا تابوكوم (*Nicotiana tabacum*) [1].

I-2-1- تعريف نبات التبغ :

التبغ Tobacco عبارة عن نبات عشبي حولي من الفصيلة الباذنجانية Solanaceae يزرع للحصول علي أوراقه [1]. والتي يتم تجفيفها وتخميرها قبل وضعها في منتجات التبغ [4].

ينتج نبات التبغ 4000 مركبًا كيميائيًا يشمل :

تربينات، كحولات، فنينولات متعددة وحوامض كربوكسيلية وقلويدات

بعض هذه المركبات الكيميائية تكون مفيدة في نمو النبات من خلال مساهمتها في عملية البناء الضوئي

يحتوي التبغ على النيكوتين بنسبة 75% من مجموع القلويدات [5].

الوثيقةI-1: نبات التبغ.

I-2-2- تصنيف نبات التبغ :

تم تصنيف نبات التبغ كما هو موضح في الجدول أدناه:

جدول I -1: التصنيف العلمي لنبات التبغ[6]

الإسم	العربية: التبغ الفرنسية: *Tobacco* العلمي: *Nicotiana*
المملكة	نباتي
الرتبة	باذنجانيات
العائلة	الباذنجانية
الجنس	تبغ

I-2-3- وصف نبات التبغ :

التبغ هو نبات يصل ارتفاعه إلى نحو متر ونصف المتر تقريبا يكون جذر نبات التبغ وترياً أو ليفياً أو بين الشكلين،ذو ساق منتصب، اسطواني قليل التفرع، يحمل أوراقا متبادلة كبيرة، بيضية الشكل ذات رائحة مميزة،وهي غير معنقة ذات لون أخضر باهت أو يميل إلى الفضي،مغطاة بشعيرات ناعمة غزيرة وحافة الورقة ملساء.

تحوي الأوراق على مادة لزجة من إفرازات راتنجية.

الأزهار ذات شكل عنقودي ناقوسية الشكل صغيرة او كبيرة ذات لون أصفر أو أرجوانية رائحتها عطرية. الثمرة تتكون من كبسولة صغيرة بداخلها عدد كبير من البذور الصغيرة جدا ذات لون بني غامق إلى فاتح [7].

I-2-4-الإنتشار:

انتشر التبغ في معظم دول العالم على أيدي الإسبان والبرتغاليين وأدخله الدبلوماسي جان نيكوت (Jean Nicot) إلى فرنسا عام 1556م، وإليه ترجع التسمية السابقة لجنس التبغ. وصلت زراعة التبغ إلى الصين واليابان وغرب إفريقيا في النصف الثاني من القرن السادس عشر، وانتشرت زراعته في جميع أنحاء العالم خلال القرن السابع عشر [1].

I-2-5- أنواع التبغ :

- **تبغ فيرجينيا:** وهو تبغ يتمّ تجفيفه بطريقة التهوية، ويُطلق عليه التبغ الفاتح، نظراً للونه الذهبي أو البرتقالي الذي يصل إليه خلال معالجته، يتميّز بمذاقه ونكهته الخفيفة والصافية، ومن أكثر الدول المنتجة له نذكر: الولايات المتحدة، البرازيل، الأرجنتين، الهند، الصين وتنزانيا.

❖ **تبغ بيرلي**: وهو من التبغ الذي تتمّ معالجته بالحظائر باستخدام الهواء لمدة شهرين تقريباً، وخلال هذه الفترة يفقد السكريات الطبيعيّة فيه، وهو باللون البني، مذاقه قويّ، ومن أكثر الدول إنتاجاً له نذكر: الولايات المتحدة، ومالاوي، والأرجنتين، وإيطاليا، والبرازيل.

❖ **التبغ الشرقي**: يشبه تبغ فيرجينيا، من حيث النكهة والرائحة، ولكن أوراقه صغيرة الحجم، وتتمّ معالجته بالشمس، أمّا الدول المنتجة لهذا النوع من التبغ فهي: تركيا، بلغاريا، مقدونيا واليونان.

إضافة الى ذلك انواع التبوغ التالية : [8]

جدولI –2: أنواع التبغ وإسمها العلمي.

اسم التبغ	الاسم العلمي
التبغ الشائع	*tabacum Nicotiana*
التبغ الأزرق	*Nicotiana glauca*
التبغ الأعسم	*Nicotiana repanda*
التبغ الإفريقي	*.(Nicotiana africana*
التبغ البناري	*Nicotiana bonariensis*
التبغ الحرجي	*Nicotiana sylvestris*
التبغ الخطي	*Nicotiana linearis*
التبغ طويل الأزهار	*Nicotiana longiflora*
التبغ العالي	*Nicotiana alata*
التبغ العثكولي	*Nicotiana paniculata*
التبغ عديم الساق	*Nicotiana acaulis*
التبغ الغروي	*Nicotiana glutinosa*
التبغ اللبدي	*Nicotiana tomentosa*
التبغ المتبدل	*Nicotiana mutabilis*
التبغ المتموج	*Nicotiana undulata*
التبغ المستدق	*cotiana acuminataNi*
التبغ مفلطح الأوراق	*obtusifolia Nicotiana*
التبغ الصدئي	*Nicotiana rustica*

I-2-6-نضج وجني محصول التبغ :

تختلف التبوغ في مواعيد نضجها، وذلك بحسب الظروف البيئية السائدة وخصوبة التربة، والصنف المزروع. ولا تنضج أوراق النبات الواحد دفعة واحدة بل على مراحل بحسب حجمها وموقعها على الساق.

❖ يفضل جمع تبوغ كورسيكا بمرحلة متأخرة من النضج، وتبوغ صناعة السيكار بمرحلة مبكرة، بينما تجمع التبوغ الشرقية والأمريكية بمرحلة نضج متوسطة، تمر الورقة خلال نضجها بمرحلتين: النضج الفني والنضج الفيزيولوجي.

❖ تجمع الأوراق عادة بمرحلة النضج الفني لأن وصول الورقة الى مرحلة النضج الفيزيولوجي يعني بدء عمليات هدم المركبات وتحولها إلى مواد بسيطة وفي ذلك فقد لبعض المركبات وإساءة الى النوعية التصنيعية للأوراق.

❖ تجمع الأوراق السفلية وهي الأكثر باكورية في النضج أولاً ثم يُنتقل إلى الأوراق المتوسطة فالعلوية، توضع الأوراق المقطوفة والمتماثلة بعضها مع بعض في سلة خاصة رؤوسها نحو المركز لتنقل بعدها إلى أماكن التجفيف، تكرر عملية جمع الأوراق كل 3-4 أيام وبمعدل 3-5 أوراق نبات في كل مرة.

تتضمن عملية تجفيف الأوراق مرحلتين هما: التصفير والتجفيف.

يهدف التصفير الى تحويل النشاء إلى سكريات وإلى هدم البروتين واليخضور وإلى تحسين الطعم والنكهة، ويهدف التجفيف إلى خفض نسبة الرطوبة في الأوراق بنحو25٪ من محتواها الأصلي، وإلى أكسدة المركبات الفينولية والمحافظة على الخواص التصنيعية، وإلى وضع نهاية لعملية التصغير توضع الأوراق للتجفيف في غرفة مظلمة مهواة حرارتها بين25-30°م ورطوبتها بين 75-85٪ لمدّة 24-36 ساعة، وتجفف بالهواء الساخن أو بالهواء العادي مع التظليل أو دونه، تستمر عملية التجفيف بالهواء العادي 6-8 أسابيع، وتتطلب عملية التجفيف بالنار دخول الأبخرة والدخان إلى داخل الأوراق،كما يستحسن تنفيذ عملية التجفيف بالهواء الساخن بدقة وحرص للوصول إلى عملية التجفيف والتخمير المتكاملة.

❖ تعلق الأوراق بعد نهاية التجفيف في غرف مهواة نظيفة بهدف التخزين والتخمير، إذ يحدث فيها تغيرات فيزيائية وكيميائية تتحول فيها السكريات المعقدة إلى بسيطة، وتظهر أحماض دهنية و أسترات كحولية تعطي للتبغ ميزاته العطرية.

وتفرز الأوبار الموجودة على السطح السفلي للورقة أثناء تخزين مواد صمغية و راتنجية وعطرية ينتج عن تبخرها مركبات كيتونية ، ألدهيدات، أسترات وأحماض عضوية كما تفرز الشعيرات الغدية شموعاً وزيوتاً إيثيرية راتنجية تعطي للتبغ نكهته الخاصة.

❖ توضع الأوراق بعد التجفيف في حِزم (25-40كغ) وتحفظ مرفوعة عن الأرض حتى مواعيد البيع والتسليم[1].

I-2-7- التركيب الكيمائي لنبات التبغ :

1- ورقة التبغ :

الورقة هي العضو الأكثر غنى بالشبه قلوية. و المادة الشبه قلوية الأساسية هي النيكوتين وهو يحمل خاصية كونه سائلا إضافة إلى النيكوتين هناك بعض المواد الأخرى السامة مثل Methylpyrolidin pyrolidin . [10،9]

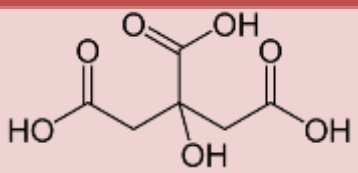
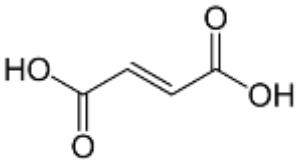
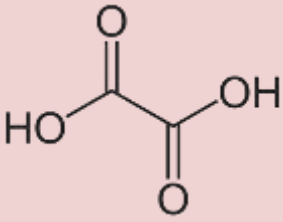
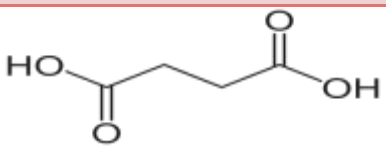
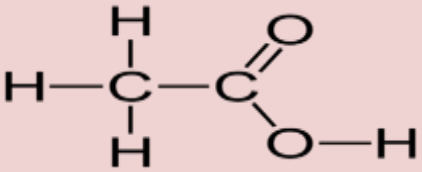
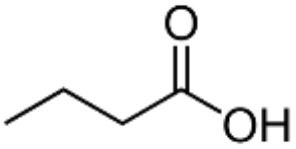
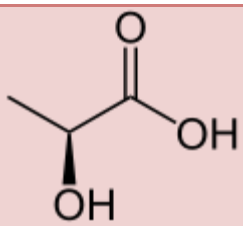
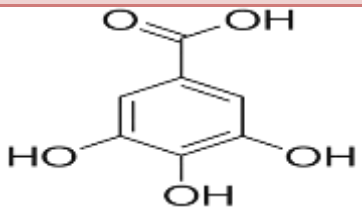
الوثيقةI-2: ورقة نبات التبغ.

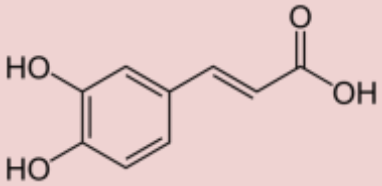
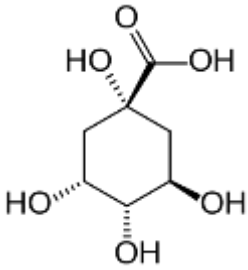
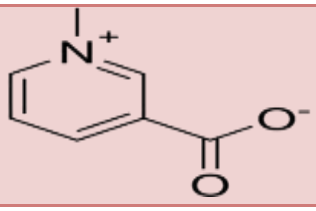
إن تجفيف و تخمير التبغ يتسبب في ظهور حوامض عضوية متكونة على حساب النشا، داخل أوراق التبغ. و هذه الحوامض القوية العديدة الموجودة سابقا في النبتة النضرة نشمل خاصة:

الحامض التفاحي أو الماليك acide malique (85 % من مجموع العنصر النضر)

إلى جانب الحوامض الآتية:

جدول I –3: أنواع الأحماض المتواجدة في أوراق التبغ [9].

اسم الحمض	الصيغة الكيميائية
الليمونيك citrique	
الفوماريك fumarique	
الأوكساليك oxalique	
الكهرماني succinique	
الأسيتيك acétique	
الزبدي butyrique	
اللبني lactique	
الغاليك gallique	

الكافييك**caféique**	
الكينيك **quinique**	
حامض النيكوتينيك **nicotinique**	

2- زهرة التبغ :

العناصر الأساسية الموجودة في زهرة التبغ كالتالي صباغ الأنتوسيانين pigment anthocynique.

أما العنصر العطري فهو سائل نظري يحمل عطر القهوة أو القرنفل حيث تم التعرف على الأوجينول oleL'eugén، الحامض الكابريليك eacide capryliqu الحر، و الحامض النملي acide formique.[9]

الوثيقةI-3: زهرة نبات التبغ [1].

3- البذرة :

أما تركيب البذرة الكيميائي فهو كالآتي:

- الماء: 3.6 إلى 4.2 %.
- البروتينات الصافية: 25%.
- السيليلوز cellulose(نوع من السكريات المركبة) 19%.
- المواد الاستخلاصية الغير آزوتية: 10%.
- الرماد: 4 %.
- غياب النشاء، و وجود الفيتامينات: أ، ب ، هـ.

4- الزيت :

(30 إلى 42%) المتكون أساسا من غليسيريدات glycérides الحوامض الآتية:

(32%) لحامض النخليك أو البلميتيك palmitique

(24.5%) الحامض الزيتي oléique

(15%) الحامض الكتاني أي اللينولييك linoléique

(3 %) من الغليسيريدات الغير قابلة للتصبن(التحول إلى صابون).

و حسب المؤلفين المختلفين، لايوجد النيكوتين في البذرة، و لكنه يظهر منذ الإنبات [9].

I-2-8- فوائد نبات التبغ :

إن التبغ المستخدم في تصنيع السجائر، و الذي يحظى بالمرتبة رقم واحد حول العالم في مجال الإضرار بالصحة، يعد مفيدا في مجالات أخرى، و يحصل على هذه الأهمية من خلال المواد التي نعتبرها سامة حين تدخل إلى أجسامنا.

1. يمكن إستخدامه بصورة واسعة في الزراعة:

✓ التخلص من الحشرات، ليحل مكان المبيدات و الأسمدة و غيرها من المركبات الكميائية و المواد الصناعية التي تترك ضررا كبيرا على أجسامنا و بيئتنا.

✓ يستخدم في تحضير الأدوية التي من الممكن استخدامها ضد أكثر من 11 نوع من الآفات والحشرات التي تهاجم الشجر.

✓ . يستخدم في الحفاظ على بعض أنواع الزراعات التي تهاجمها الحشرات سواء كانت جذرية تتعرض للهجوم تحت سطح التربة أو خارجها، فمفعول التبغ يتسرب مع المياة إلى داخل التربة.

✓ يستخلص من التبغ زيت يمكن خلطه مع مواد أخرى من أجل الحصول على مايسمى بالمبيدات الخضراء (الصديقة للبيئة)،كما يمكن استخدام رماده كذلك.

✓ إن وضع بعض التبغ في كمية من الماء الحار وتركه حتى يبرد، ثم يوزع على مداخل البيت، يمنع دخول العناكب إلى داخل المنزل.

✓ كما أن وضع القليل منه في كمية كبيرة من الماء و استخدامه في تنظيف حديقة المنزل يمنع الكثير من الحشرات من التواجد في المنطقة [1].

I-2-9- مخاطر نبات التبغ :

التبغ وباء قاتل نظرا لما يسببه من مخاطر ومضاعفات تعود بالسلب على الصحة في مايلي بعض مخاطره: يسبب أمراض القلب والسكتة الدماغية وعدة أنواع من السرطان ولاسيما سرطان الرئة والتهاب الشعب الهوائية المزمن وانتفاخ الرئة، ومشاكل في الأوعية الدموية القلبية و الطرفية والدماغية .

ومن الأمراض التي يسببها أيضا التدخين (تدخين التبغ) إلتهابات اللثة وإصابات العضلات والذبحة الصدرية وآلام الرقبة والظهر وتحرك العينين الغير عادي Nystagmus ونخر(هشاشة) العظام Osteoporosis والتهاب عظام المفاصل Osteoarthritis وضعف جهاز المناعة وفقدان الأسنان [1].

كل هذه المخاطر تنطبق على استخدام أي منتج مدخن ، بما في ذلك التبغ و النرجيلة [4].

I -3-الاستخلاص :

I-3-1- تعريف الاستخلاص :

هو عزل مركب أو عائلة مركبات من المادة الخام بإستعمال المذيبات العضوية، إن كانت المادة الخام سائلة فيطلق عليه إستخلاص (سائل- سائل) وأما إذا كانت صلبة فيطلق عليه إستخلاص (صلب- سائل)، ولهذا الأخير عدة أشكال ترتبط بعدة عوامل مختلفة منها درجة الحرارة، الضغط وكيفية إستعمال المذيب[11].

- **الاستخلاص صلب- سائل :**

للحصول على مستحضر طبي أو مستخلص نقي أو جزء نقي نبدأ دائما بالاستخلاص (صلب-سائل) حسب عدة متغيرات منها

- **الاستخلاص على البارد (النقع):**

تعتمد هذه الطريقة على وضع المادة داخل إناء يحتوي على كمية محددة من المذيب، حيث يكون حجم المذيب المستعمل يغطي المادة الجافة بنسبة تقريبية قدرها(المذاب1/المذيب3) في الظروف العادية(ضغط ودرجة حرارة الغرفة) مع التحريك من حين لآخر،تترك مدة زمنية معينة خلالها يتم انتقال المركبات المراد فصلها من المادة الجافة إلى المذيب تتبعها عملية الترشيح ونستعمل طريقة النقع للمواد التي تتأثر وتتفكك بالحرارة[12،11].

المراجع

المراجع باللغة الاجنبية

[1]www.marefa.org 06/02/2019

[3]www.kenanaonline.com 06/02/2019

[4]www.drugabuse.gov 06/02/2019

[8]www.mawdoo3.com 18/02/2019

[9]www.Sites.google.com 20/02/2019

[6]www.AgriculturalArts.com 25/02/2019

[11]Shohami E., Gati I., Biet-Yannai E., Trombovler V., Kohen R.,Neuratrauma J,(1999 [(

[12]Chevion S., Chevion M, Chock P.B., Beecher G.R, Jornale of Medicinal Food (1999

المراجع باللغة العربية

[2] الدكتور/شكري إبراهيم سعد ، النباتات الزهرية نشأتها تطورها تصنيفها ،القاهرة دار الفكر العربي 1994 .

[5] فراس حميد خضير تأثير المستخلصات المائية لنبات التبغ Nicotina tabacum L في نمو وتمايز كالس أوراق الخس Lactuca SativaL وعزل قلويد النيكوتين من الكالس ، مجلة علوم الرافدين؛18/3/ 2013 ، المجلد24 العدد6، ص31-54.

[7] الدكتور:جابر بن سالم القحطاني، موسوعة جابر لطب الاعشاب، الرياض1430هـ، الجزء الرابع ،ص62

[10] محمد محمد كذلك ،النبات والبيئة ،القاهرة دار الكتاب الحديث طبعة 2002.

الفصل الثاني: المنتجات الطبيعية

مدخل

يزداد الاهتمام بدراسة النباتات الطبية، والانتفاع بها في معالجة الأمراض المختلفة، إذ تحتوي النباتات على عدد كبير جدا من المكونات الفعالة طبيا التي تعكس الإمكانيات العلاجية الكبيرة لهذه النباتات، فمن المعلوم أن لبعض العقاقير النباتية قدرة علاجية أكبر من تلك التي تملكها الأدوية المصنعة في معالجة بعض الأمراض [1].

II-1- تعريف المنتجات الطبيعية :

المنتجات الطبيعية هي مركبات عضوية من أصل طبيعي، أنتجتها الكائنات الحية ،أكثر هذه المكونات أهمية تلك التي تؤدي دورا في التفاعلات الأيضية، والتي يتم فصلها من النباتات والكائنات الحية الدقيقة. وهي جزيئات تنتج انطلاقا من عمليات الأيض ،ونميز منها قسمين :أيض أولي وأيض ثانوي [2].

II-1-1- الأيض الأولي Métabolites Primaire :

تميز المنتجات الأولية بخاصيتها الحيوية والضرورية لبقاء الخلية والجسم ،فهي مركبات تدخل في التفاعلات الأولية، وتشير في الغالب الى العمليات الأيضية التي تنتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة ، الأحماض الأمينية و السكريات [3].

II-1-1-1- الأحماض الكربوكسيلية acids carboxylic :

هي مركبات عضوية متجانسة تتميز بإحتوائها على مجموعة الكربوكسيل والتي تتالف من مجموعتي الكربونيل (CO) و الهيدروكسيل (OH) مرتبطتين معا، وقد إشتق إسم كربوكسيل من المقطع الأول لكلمة كربونيل والمقطع الأخير من كلمة هيدروكسيل، وهي أكثر المواد العضوية حامضية [4].

II-1-2- الأيض الثانوي Métabolites Secondaires :

هناك العديد من المركبات التي تنتج في النبات يطلق عليها اسم المشتقات الثانوية لعمليات الأيض الثانوي،وتشمل كل من التربينات ،الفينولات،القلويدات وغيرها [2].

وهي جزيئات كبيرة العدد لها شكل بنيوي غير عادي تدخل في بنائها مركبات الأيض الأولي كمواد بدائية لها ولهذا فهي تمثل مركبات الأيض الثانوي ،هناك ثلاثة مواد أولية رئيسية تدخل في بنائها :حمض الشكميك،الأسيتات والأحماض الأمينية[3].

II-1-2-1- الكحولات والفينولات Alcohols and Phenols :

تتميز هذه المركبات بإحتوائها على ذرة الأوكسجين(O) بالإضافة إلى ذرات الكربون(C) والهيدروجين(H) في جزيئاتها وهي من أكثر المركبات العضوية إنتشارا[4].

✓ **الكحولاتAlcohols** :

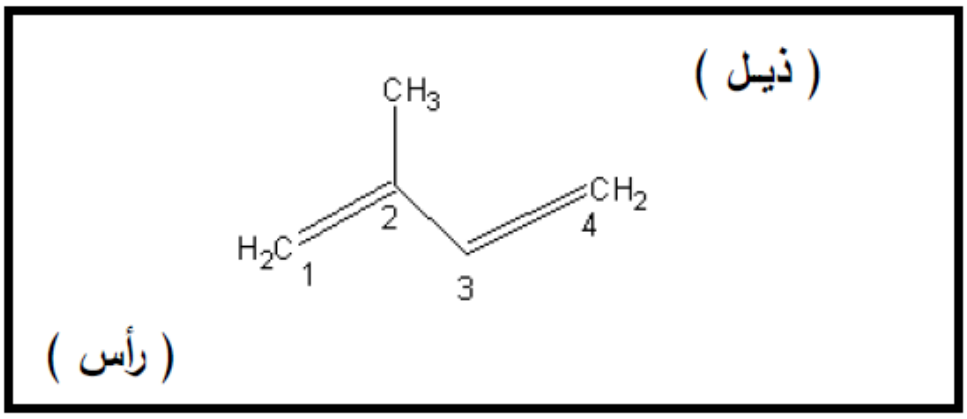
هي مركبات عضوية تتميز بوجود مجموعة الهيدروكسيل(OH) في جزيئاتها وتعتبر مشتقة من الهيدروكربونات بإستبدال ذرة هيدروجين بمجموعة هيدروكسيل [4].

✓ **الفينولات Phenols** :

وهي مركبات عضوية تتميز جزيئاتها بوجود مجموعة الهيدروكسيل المرتبطة إرتباط مباشر بحلقة بنزن وتعتبر مشتقات هيدروكسيلية للهيدروكربونات الأروماتية[4].

II-1-2-2- التربينات Les Terpenes :

تحتل التربينات المجموعة العظمى من منتجات المملكة النباتية. أطْلق عليها اسم الهيدْروكربونات الطبيعية، فهي مركبات مشتقة من مزيج من اثنين أو أكثر من وحدات الأيزوبرين (C5H8) ذات 5 ذرات كربون الذي يعرف كيميائيا باسم (2-methylbuta-1,3-diene) التربينات هي المسؤولة على الرائحة الزكيةٌ للنباتات وهي مواد تتخرب تحت أشعة الضوء المركزة ولا تذوب في الماء كما أنه قد عزل منها حوالي 2000 مركب[6،5].



Isopréne

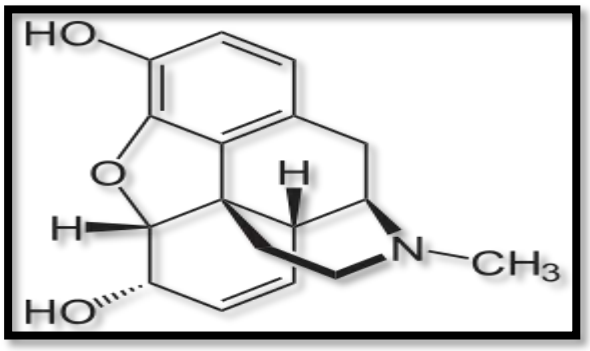
الوثيقةII-1: صيغة وحدة **Isoprène [7]**.

II-1-2-3- القلويدات :

1- نبذة تاريخية :

بدأ إكتشاف القلويدات في النباتات المحتوية عليها بفصل قلويد المورفين (Morphine)من نبات الخشخاش (poppy capsule) عام 1817 بواسطة العالم الألماني surterner، وأول من أطلق إسم القلويذات على هذه المجموعة من المركبات العالم Meissner عام 1819، وفي عام 1950 تم إكتشاف قلويدات Vinca والمعروف تأثيرها ضد خلايا السرطان [8].

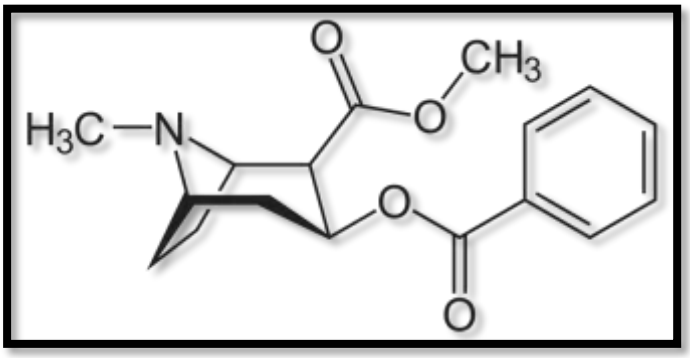
لفظ كلمة القلويد عبارة عن مركب عضوي قاعدي له صفات القلوية و من هنا اشتقت وتحولت إلى كلمة القلويد أي القاعدة النباتية[9].



الوثيقةII-2 قلويد المورفين. [10]

2- تعريف القلويدات :

وهي عبارة عن مركبات عضوية معقدة التركيب قاعدية تحتوي على عنصر النيتروجين (N) كعنصر أساسي بالإضافة إلى عناصر الكربون (C)والهيدروجين (H) وأحيانا عنصر الأكسجين (O) وتتصف بأن لها فعالية علاجية [8].



الوثيقة II-3 قلويد الكوكايين.[10]

3- تواجد وتمركز القلويدات :

تعتبر النباتات الزهرية المصدر الرئيسي للقلويدات في الماضي إلا أنه في الوقت الحاضر قد تم عزل الكثير من هذه المركبات من مصادر مختلفة مثل الحشرات والكائنات البحرية الدقيقة ، ولا يزال عدد القلويدات التي تم إستخلاصها من النباتات الزهرية يفوق عدد القلويدات التي تم إستخلاصها من المصادر الأخرى وعليه فهي الأكثر لفتا للإنتباه[7].

تتموقع القلويدات في أجزاء النبات المختلفة والجدول أدناه يوضح ذلك.

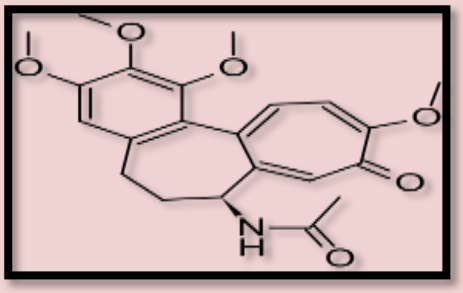
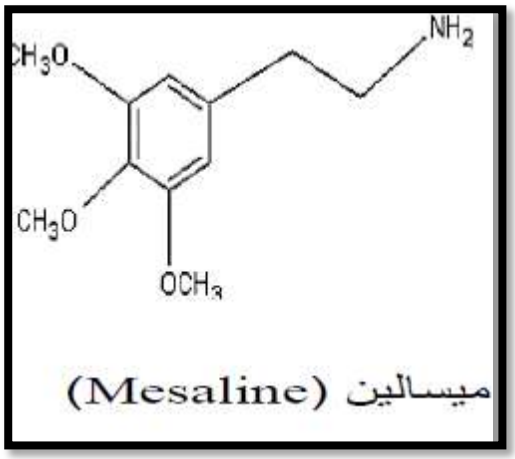
جدولII-1: أماكن توضع القلويدات في أجزاء النبات[8].

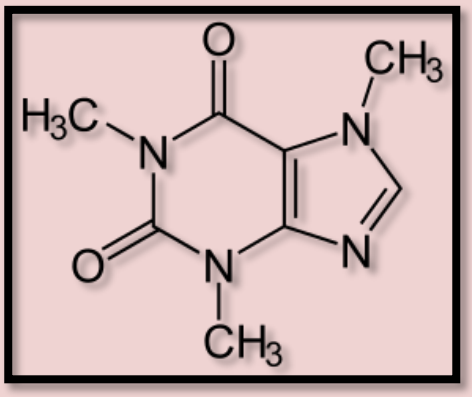
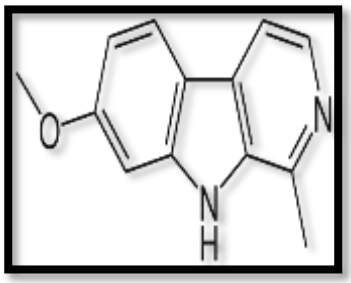
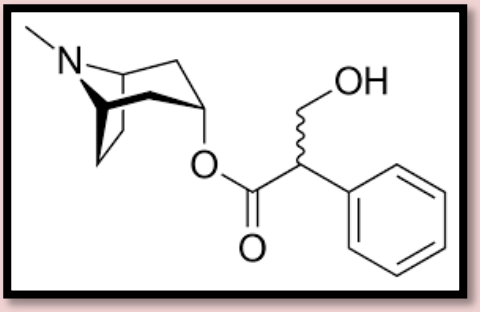
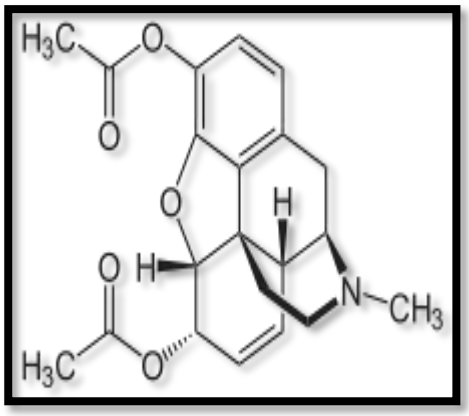
اجزاء النبات	إسم القلويد	إسم النبات
السيقان الأرضية والجذور	Emetine	*Cephae lisipecacuanha*
الأوراق	Hyoscyamine	*Atropa belladonna*
الجذور	Aconitine	*Aconitum napellus*
البذور	Strychnine	*Strychnus-nux vomica*
اللحاء	Quinine	*Cinchona sp*
كل أجزاء النبات	Hyoscine	*Datura stramonium*

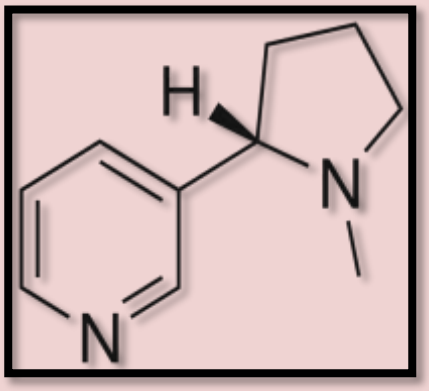
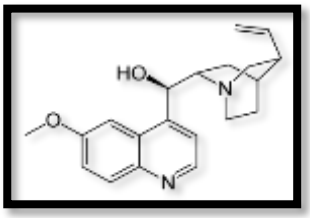
4- تصنيف القلويدات :

تصنف القلويدات وفقا للفصائل النباتية المستخلصة منها ولكن هناك تزايد اكتشاف المئات من هذه المركبات في الوقت الحاضر حال دون إستخدام مثل هذا التقسيم وهناك العديد من المحاولات لوضع نظام تقسيمي يضم أغلب القلويدات ، ولقد كانت أكثر المحاولات قبولا وإنتشارا هو نظام التقسيم الذي وضعه هيجانور . Heganauer [7].

جدول II–2: تصنيف القلويدات [7].

القسم	المميزات	مثال
القلويدات الحقيقية	• تحتوي على ذرة نتروجين واحدة أو أكثر في حلقات متغايرة وهي مشتقات من الأحماض الامنيةوتوجد في النباتات على هيئة أملاح للأحماض العضوية. • لها تأثيرات فيزيولوجية متباينة،مختلفة في القاعدية، ولكن هذه الخواص ليست دائما محققة فمثلا الكولشيسين Colchicine فهو غير قاعدي	 الكولشيسين (Colchicine)
القلويدات الاولية	• عبارة عن أمينات بسيطة تكون فيها ذرة الأزوت خارج الحلقة. • قلويدات قاعدية يتم تخليقها من الأحماض الأمنية وغالبا ما يطلق عليها بالأمينات الحيوية.	 ميسالين (Mesaline)

القلويدات غير الحقيقية	• قلويدات قاعدية لا تشتق من الأحماض يندرج تحت هذا القسم القلويدات الستيرويدية والقلويدات بيورينات (purines)	 **الكافيين (Cafeine)**
قلويدات الاندول	-تحتوي في بنائها على حلقة اندول اوحلقة مشتقة من مجموعة أندول مثل مجموعة الاندولين	 **حارمين (Harmine)**
قلويدات التروبان	-مجموعة التروبان عبارة عن حلقتين من البيريدين والبيروليدين مشتركتين عن طريق ذرتي الكربون.	 **الأتروبين (Atropine)**
قلويدات ايزوكينولين	• ينتمي إلى هذه الطائفة القلويدات التي تحوي في بنائها حلقة ايزوكينولين أو ايزوكينولين مختزلة في الحلقة غير المتجانسة رباعي هيدروايزوكنولين وقلوايدات ايزوكينولين	 **هيروبين (Heroine)**

	• تحوي في الغالب مجموعات هيدروكسيلية او ميثوكسيلية، أضف الى ذلك أن بعضها يحوي في بنائه مجموعة ميثلين.	
قلويدات بيريدين	• من بين أفرادهذه المجموعة النيكوتين (Nicotine) والأنابسين (Anabasine) حيث يوجد النيكوتين بصورة رئسية في نيكوتينا تاباكم(*Nicotine tabacum*) اما الأنابسين فيوجد فيها بشكل غير رئيسي إلا انه قد يكون أحد القلويدات الرئيسية في نباتات أخرى	 **النيكوتين (*Nicotine*)**
قلويدات الكينولين	• أهم قلويدات هذه المجموعة الكينين حيث يوجد في نبات السنكونا	 **الكينين (Quinine)**

5- الخواص العامة :

- الكتلة المولية للقلويدات تتراوح من 100 إلى 900 غ/مول[11].
- معظم القلويدات مواد صلبة متبلورة ما عدا القلويدات التي لا تحتوي على عنصر الأوكسجين فإنها سائلة مثل النيكوتين [10].
- القلويدات مركبات قاعدية تعطي أملاح من الأحماض وذوبانيتها في مختلف المذيبات تتغير بدلالة pH وحسب الحالة القاعدية تذوب في المذيبات العضوية اللاقطبية ولاتذوب في الماء والمذيبات العضوية القطبية[11].
- معظم القلويدات غير طيارة متبلورة،لونها أبيض مرة المذاق عديمة الرائحة بإستثناء قلويدات *Nicotine* ذات رائحة [8].

6- فوائد القلويدات :

❖ **فوائد القلويدات للنبات :**

✓ تمتاز القلويدات بأنها مواد سامة لذلك فإن وجودها في النبات يحميه من الحشرات الضارة.

✓ تؤثر بعض القلويدات في حياة النبات كمنظمات للنمو (*Plant growth regulators*).

✓ تعتبر القلويدات مصدرا للعناصر التي قد يحتاج اليها النبات في نموه وخاصة عنصر النيتروجين.

✓ تتحد القلويدات مع بعض المواد الموجودة في النبات والضارة له حيث تحميه منها بإلغاء مفعولها أو قد تكون نفسها مواد ضارة يتخلص منها النبات بخزنها في اجزائه المختلفة [8].

❖ **فوائد القلويدات للإنسان :**

✓ مسكنة للألم مثل: hyoscin و morbhine

✓ موسعة للقصبات الهوائية مثل: Theobhylline

✓ مرخية للعضلات مثل: Tubocurarine

✓ رافعة للضغط مثل: Ephedrine وخافضة للضغط مثل: Reserpine

✓ موسعة لحدقة العين مثل: Atropine و مضيقة لحدقة العين مثل : Pilocarpic [8].

✓ طاردة للديدان مثل: Pelletierine

✓ مضادة للسرطان مثل قلويداتVinca

✓ مدرة للبول مثل Xanthines [11].

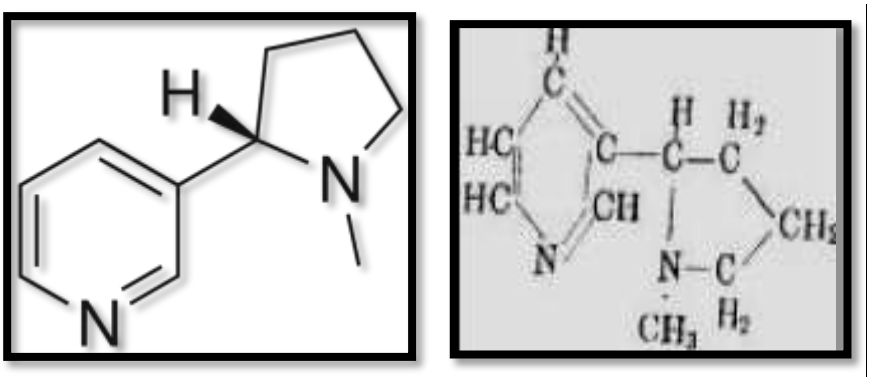
II-1-2-3-1- النيكوتين :

1- تاريخ النيكوتين :

للنيكوتين تاريخ طويل في إنتاجه واستخدامه من قبل البشر للأغراض الدوائية بسبب خصائصه البيولوجية العديدة، تم عزل النيكوتين لأول مرة في عام 1828 من قبل بوسيلت وريمان ، وتم اقتراح الصيغة التجريبية الكيميائية لأول مرة في عام 1843 من قبل Melsens. اقترح Pinner التركيب الصحيح للنيكوتين في عام 1883 [12].

2- تعريف النيكوتين :

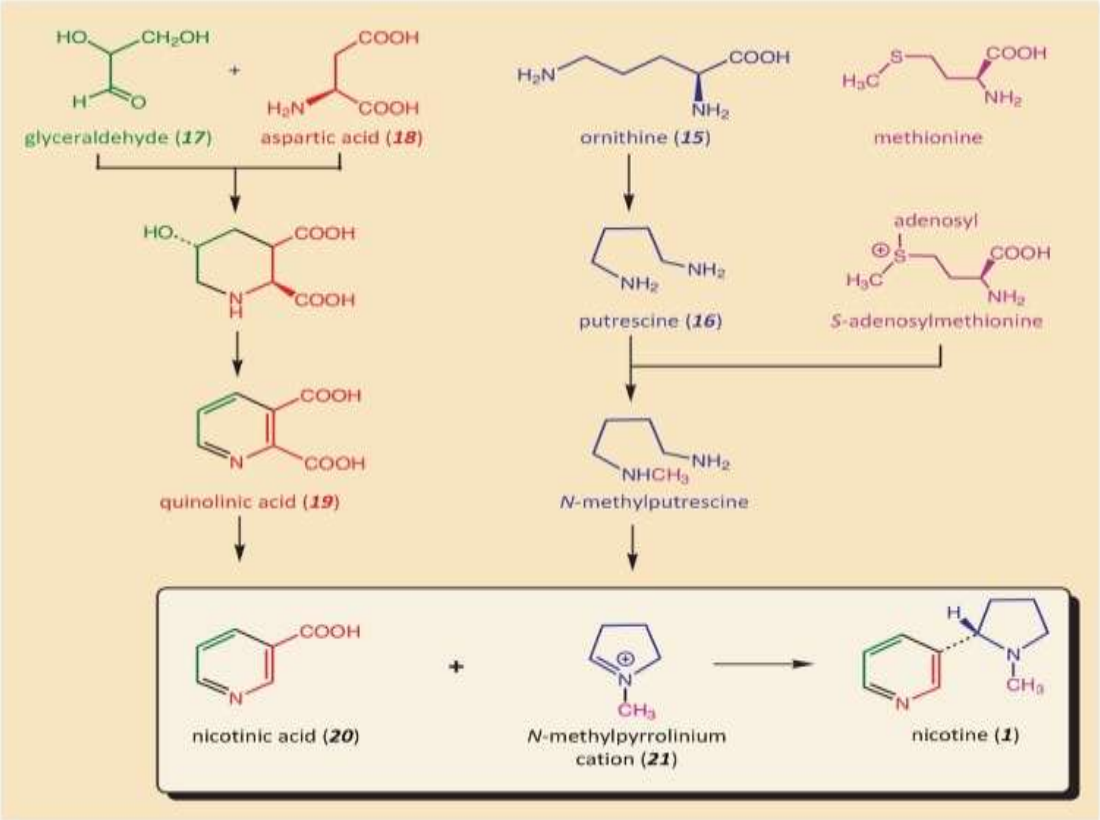
النيكوتين (*Nicotine*) هو مركب عضوي شبه قلوي ذات الصيغة التركبية $C_{10}H_{14}N_2$ ويتكون النيكوتين من حلقتين هي Pyridine و Pyrrolidine يوجد في الطبيعة في جميع أجزاء نبات التبغ، مع تركيز أكبر في الأوراق. يشكل من 0.3 إلى 5% من النبات بالوزن الجاف، والتركيب الحيوي يتم في الجذور، ويخزن في الأوراق. يوجد النيكوتين أيضا في الطماطم، البطاطس، الفلفل الأخضر، وغيرها. كما أنه يوجد أيضاً في أوراق نبات **الكوكا** [13].



الوثيقةII-3: الصيغة التركيبية لقلويد النيكوتين [14،7].

3- الاصطناع الحيوي لنيكوتين :

إنّ معرفتنا في التصنيع الحيوي للنيكوتين تعتمد في المقام الاول على ادخال نظائر مشعة في النبات ومن ثم تتبع التمثيل الحيوي (الاصطناع الحيوي لها) فيها. واتضحت الصورة العامة لتكوين التبغ حيوياً من خلال العديد من الدراسات التجريبية. والتي أظهرت أنّ نباتات التبغ تبدأ من ثلاثة أحماض أمينية أساسية (حمض الأسبارتيك، الأورنيثين، والميثيونين) تعمل جنباً إلى جنب مع غليسير ألدهيد (منتج تحطم الغلوكوز) ليتشكل البيريدين والبيروليدين كمركبات ناتجة ومنفصلة، ثم يتم جمعهم في النهاية لتشكيل النيكوتين الوثيقة (II-4) ، ويتم إنتاج النيكوتين في جذور النبات ويتراكم في أوراقها لتصل في الأوراق الجافة إلى 9 % [15].



الوثيقةII–4:آلية الإصطناع الحيوي لنيكوتين **[15]**.

4– خواص النيكوتين :

✓ **الخواص الكيميائية :**

- . عديم اللون ، سائل زيتي ، قابل للاشتعال ، شديد السمية.
- . قليل الذوبان في الماء .
- شديد الذوبان في الكحولات ، الكلوروفورم ، الإيثير ، الإيثير البترولي ، الزيوت [16].

✓ **الخواص الفيزيائية :**

- نقطة الوميض: 203 درجة فهرنهايت .
- نقطة الانصهار: –110 درجة فهرنهايت.
- ضغط البخار: 1 مم زئبق عند 143.24 درجة فهرنهايت.
- نقطة الغليان: 476.1 درجة فهرنهايت عند 745 ملم زئبق.
- الوزن الجزيئي: 162.23.
- جهد التأين: 8.01 فولت [16].

5- لماذا تنتج نبتة التبغ مركب النيكوتين :

إنّ إنتاج النيكوتين (بإعتباره مادة سامة) من قبل النبات يعطيها صفة مميزة وهامة في معركة البقاء أمام الحيوانات المفترسة حيث يعمل إنتاج النيكوتين على سد العجز من عنصر النيتروجين الناتج عن هجوم الحيوانات المفترسة، يمكن شرح هذه الآلية كما يلي:

❖ في البداية تكون العناصر المكونة لألياف النباتات مستقرة ومتوازنة ولكن عندما تقف إحدى الحشرات على هذه النبتة فإنّ لعابها (الحاوي على العديد من المواد الكيميائية كالغلوتامين) يهاجم ويتفاعل مع الحموض الدسمة الناتجة عن تحطم خلايا النبتة مما يؤدي إلى تكوين آلية دفاعية من خلال انتشار هرمون النبات المعروف بحمض الجاسمونيك (Jasmonic acid) في كل أجزاء النبات وصولاً إلى الجذور (حيث يتم تصنيع النيكوتين) فيعمل على تحفيز تشكيل النيكوتين من خلال تنظيم آلية تكوينه. ثم ينتقل النيكوتين من الجذور إلى الأوراق حيث يتراكم ويزيد تركيزه فيها.

❖ بعد بضعة أيام، يكون إنتاج النيكوتين بشكل كبير جداً لدرجة أنه يتراكم في الأوراق بتراكيز مضاعفة عن تراكيزه المعتادة. هذه الآلية الدفاعية ضد الحشرات تكلف النبتة الكثير من الطاقة والنيتروجين مما يؤدي إلى نقص حاد في النيتروجين اللازم لتكوين البذور [13].

6- الإستخدامات :

❖ يشكل النيكوتين بعد خلطه مع بعض المركبات الأخرى دواء جيد لعلاج أمراض الدماغ كالزهايمر أو الخرف.

❖ يستخدم لعلاج تقرحات الغشاء المخاطي للقولون وتخفيف الألم لهذا التقرح.

❖ أكسدة النيكوتين مع حامض النتريك يمكننا من الحصول على فيتامين B3 [14].

المراجع

مراجع باللغة الأجنبية :

[1] MABRY T., THOMAS M., MARKHAM K., 1970- The systematic identification
of flavonoids, Springer-Verlag. Berlin.p: 13.

[2] HHURABLEILLE M., 1980- Abrégé De Matière Médicale, Pharmacognosie, tom1Généralisés. Mongraphies. Masson, P:10-18 ,261-266.

[3] SHUKLA M., GUPTA K., et al. - Bioavailable constituents/metabolites of pomegranate (Punica granatum L.) preferentially inhibit COX2 activity ex vivo and IL-1beta-induced PGE2 production in human chondrocytes in vitro.Journal of inflammation. 2008. Vol. 5. N°9. Pages 1 à 10.

[11]wagner H,Bladts.,1996.Plant drug analysis:Athin alyer chromatograbhy atlas. Edit.Springer 2and. Manich , p.384.

[12] DEPARTMENT OF CHEMISTRY Raleigh,NORTH.Carolina 2004.

[13] www.marefa.org 06/02/2019

[15] www.arabianchimistry.com 06/04/2019

[16] www.cameochemicals.com 06/04/2019

مراجع باللغة العربية:

[4] وائل غالب محمد، وليد محمد السعيطي ،اسس الكيمياء العضوية،بنغازي-ليبيا دار الكتب الوطنية ، الطبعة الاولى 2008

[5] طارق بوديار ،مذكرة لنيل شهادة الماجستير بعنوان فصل وتحديد نواتج الأيض الثانوي و دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبتة Euphorbia guyoniana ،جامعة منتوري قسنطينة2008 .

[6] حميدي نور الدين مذكرة لنيل شهادة الدكتوراه بعنوان الدراسة الفيتوكيميائية والتقييم البيولوجي للفاقونيا لونجيسبينا(FagoniaLongispina(Zygophyllaceae) نبات من الجنوب الغربي للجزائر، جامعة أبي بكر بلقايد تلمسان 2015/2014

[7]العابد أ" , دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران " ,مذكرة ماجستير , جامعة قاصدي مرباح ورقلة ص106(2009)

[8] الصيدلاني غسان حجاوي و الصيدلانية رولا محمد قاسم ،علم العقاقير والنباتات الطبية .

[9] بالقط خولة –سباع نجوى، شهادة ماستر اكاديمي –دراسة مقارنة للمردوديو ونشاطية المضادة للأكسدة في مستخلص الكحولي والمائي عند نبات (Plantago albicans L) ،جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي2015.

[10] مقبول احمد مقبول ،النباتات الطبية ص55

[14] ثائر عبد القادر صالح و اخرون ،عزل وتشخيص وتنقية مركب**Nicotine** ودراسة تأثيره والمستخلصات المائية لنبات التبغ على بعض الأجناس البكتيرية المرضية ،مجلة جامعة الأنبار للعلوم الصرفة 2009،المجلد الثالث، العدد االثالث.

الفصل الثالث: عموميات ميكروبيولوجية

مدخل

سنقوم في هذا الفصل بدراسة شاملة حول البكيتريا تعريفها، أنواعها ، تواجدها، تأثيرها على الإنسان وكذلك أنواع المضادات الحيوية التي تحد من إنتشارها وتقضي عليها وركزنا في هذا الفصل على أنواع البكتيريا التي تمت دراستها على المستخلصات النباتية .

صنف علم الأحياء الدقيقة من فروع علم الأحياء التي تتعلق بعلم النبات وعلم الحيوان وعلم الكائنات الحية، ويتخصص هذا العلم بدراسة الأحياء الدقيقة عديمة النواة مثل الفيروسات والكائنات متعددة الخلايا ووحيدة الخلية، إضافةً إلى الكائنات بدائية النوى مثل الطحالب والبكتيريا، والكائنات حقيقية النواة مثل الأوليات و الفطريات [1]،وفي سنة 1859م تمكن الكيميائي الفرنسي *Pasteur* من التعرف على هذه الكائنات والتأكيد على ماهيتها، حيث أكتشف البكتيريا الهوائية واللاهوائية من خلال تجاربه على التخمر، وأكتشف أيضا طعومها، وقد أثبت أيضا أن البكتيريا كائن حي والكائن الحي لايتولد إلا من كائن حي آخر.

أما العالم الألماني *Robert Koch* فقد ساهم في إكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض حيث ارتبط إسم البكتيريا كثيرا بإسم المرض الذي تسببه [2].

III–1– البكتيريا:

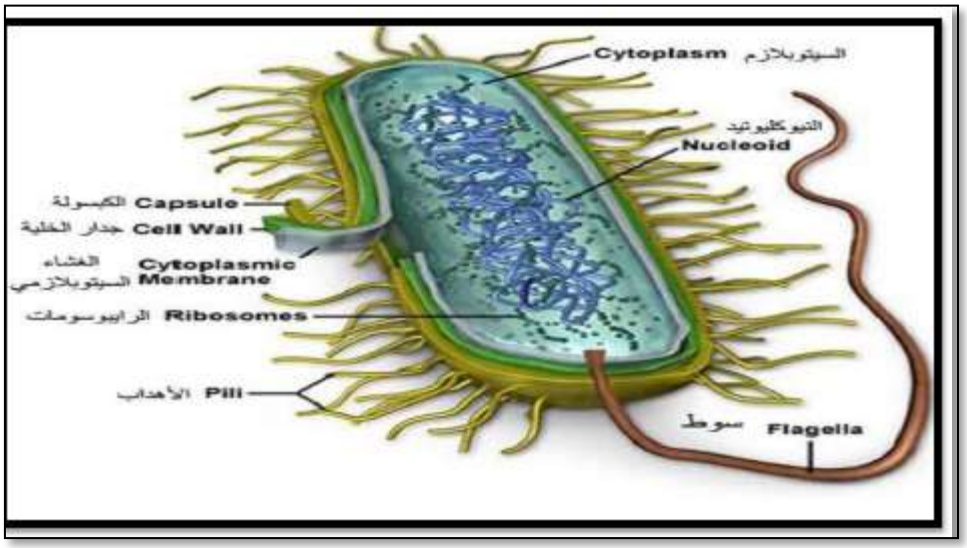
III–1– 1–تعريفها :

هي كائنات حية دقيقة بدائية النوى (*Procaryotes*) لا ترى بالعين المجردة بل ترى بالميكروسكوب، وهي تتصف بنفس صفات الكائنات الحية الأخرى مثل النمو والتنفس والتكاثر والتغدية،تتكاثر بالإنقسام الثنائي البسيط ولا تحتوي على نواة حقيقية لكن تحتوي على كروموسوم واحد منتشر في السيتوبلازم غير محاط بغشاء نووي [3].

III–1– 2– بنيتها:

تتميز بنية البكتيريا بالبساطة حيت تتركب من الكبسولة التي هي عبارة عن طبقة هلامية خارجية تكون غلافا حول الخلية من مادة تشبه الجلي وتغطي الجدار الخلوي، وتقوم المحفظة بحماية الخلية البكتيرية من الظروف البيئية غير المناسبة مثل الجفاف،تحاط الخلية البكتيرية بجدار يعطي لها شكلا ثابتا يقوم بحماية محتواها الداخلي،ويلعب جدارها دورا هاما في تقسيمها إلى نوعين،وجدار اخر هو غشاء رقيق جدا يقع تحت جدار الخلية ويغلف السيتوبلازم ويتراوح سمكه من1إلى2 مليميكرون ويمتاز بخاصية النفاذية الإختبارية حيث يسمح بمرور الماء وبعض المواد الغدائية اللازمة للنمو والنشاط والحيوية دون مواد أخرى،يقوم هذا الغشاء ببعض العمليات الحيوية

لتحطيم المواد السكرية لإنتاج الطاقة، و يوجد داخل الجدار السيتوبلازم ويتكون هذا الأخير من خليط معقد من مواد،ولا تحتوي الخلية البكتيرية على نواة و يوجد أيضا أعضاء الحركة في البكتيريا وتعرف بالسواط وهي زوائد خيطية رفيعة جدا وطويلة، وتتصف الخلية التي تحتوي على أسواط بأنها متحركة والتي لا تحتوي على أسواط توصف بأنها غير متحركة [5،4].

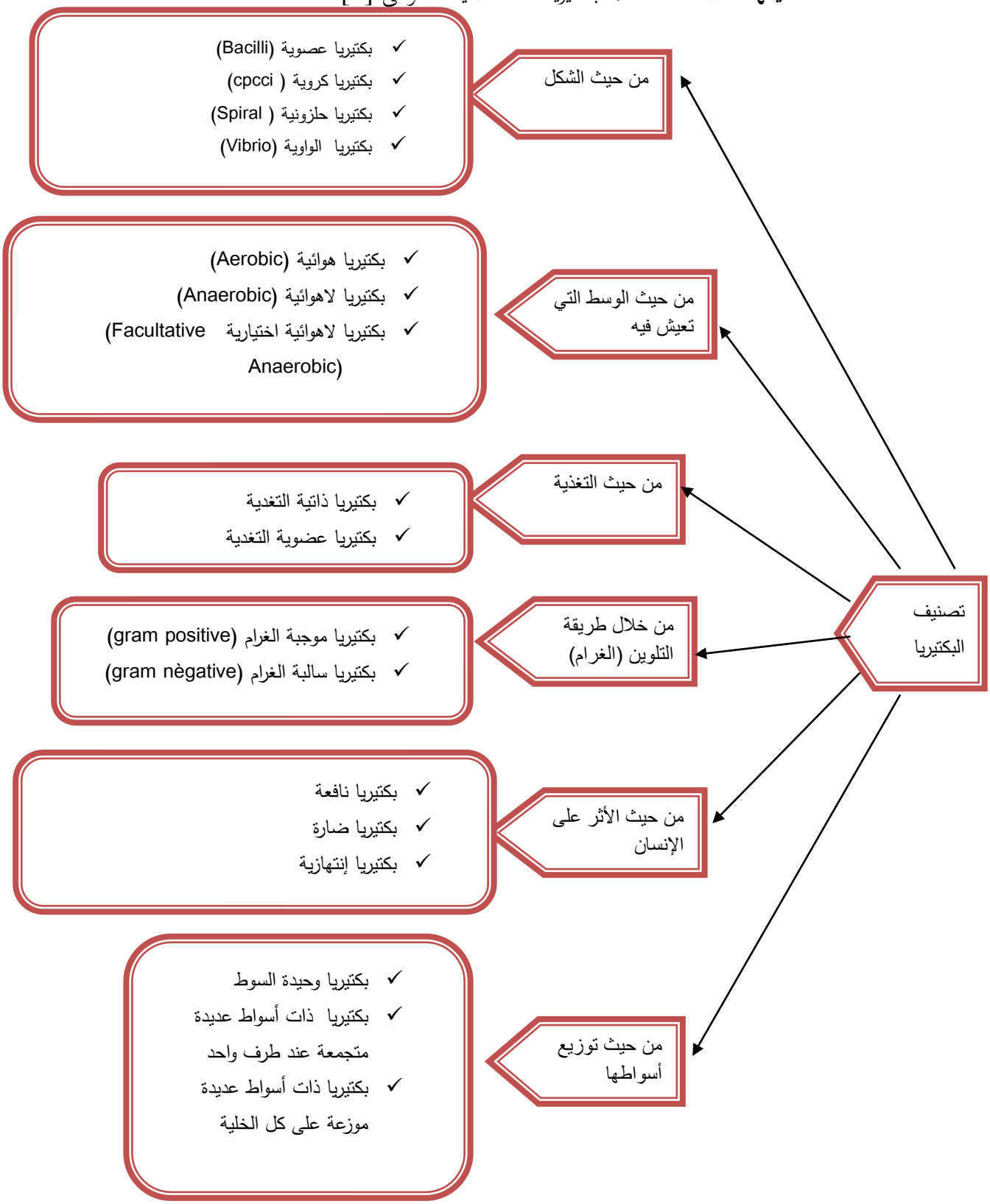


الوثيقة III–1: التركيب العام للبكتيريا [6].

III–1– 3– خصائصها:

- كائنات دقيقة مجهرية بدائية النوى.
- البكتيريا كائنات دقيقة الحجم يتراوح حجمها بين 2–3 ميكرون.
- تحتوي الخلية البكتيرية على غلاف قاس , متماسك , متمم للبكتيريا ,و هو المسؤول عن حماية شكل الخلية من الاضطرابات الناتجة عن تأثير الضغط الخارجي كالأجسام الغريبة , و هناك أنواع أخرى تحتوي على حافظة خارجية حول غلاف يدعى(*Capsule*)
- درجة الحرارة المناسبة لنمو البكتيريا تتراوح بين 37 – 45 م° بحيث يمكنها التكاثر خلال مدة وجيزة إلى أعداد كبيرة [7].

III–1– 4– تصنيفها : صنف العلماء البكتيريا لعدة تصنيفات وهي [7].



الوثيقةIII–2 : تصنيف البكتيريا.

III-1-5- المقاومة البكتيرية:

1- خواص الجذمة البكتيرية:

في علم الطب،الجذمة البكتيرية هي مقاومة للمضاد الحيوي على حسب تركيز المضاد الحيوي، أي بإرتفاع التركيز تقل مقاومة لإعطاء أفق لكي تتم المعالجة [8].

2- تعريف المقاومة البكتيرية :

ظهرت المقاومة البكتيرية مباشرة بعد بداية إستعمال المضادات الحيوية ضد الأمراض المعدية،وقد أصبحت أمرا مستعصيا على الأطباء لأنها في تطور مستمر،ونقول عن البكتيريا أنها مقاومة إذا كانت تستطيع النمو والتكاثر في وجود نسبة من المضاد الحيوي،تفوق النسبة المعتادة إن أكثر الأشياء التي تجلب الإنتباه إلى عمل البكتيريا هي مقاومتها نظرا لكونها المسؤولة عن نسبة الوفيات الناتجة عن الأمراض الوبائية إضافة إلى الخسائر المادية للنظام الصحي للبلدان ذلك لأن الأمراض الوبائية تشكل أكبر مشكل صحي على وجه الأرض حتى الآن [9]. ويمكن تقسيم المقاومة إلى نوعين:

❖ **المقاومة الطبيعية :**

هي مقاومة موجودة طبيعيا عند كل عنصر من نفس النوع أو نفس الجنس البكتيري، إذن فهي ميزة جينية عادية للنوع [10] ، أو هي المقاومة التي تبديها الميكروبات بشكل طبيعي لأي مضاد حيوي مثل إحتواء جدار الخلوي للكولي باسيل (Collibacille)على غشاء غير نفوذ للبنسيلين G وV يعني أنها مقاومة لهذين المضادين الحيويين [11،12].

❖ **المقاومة المكتسبة :**

من وجهة نظر علم الأحياء الدقيقة فإن الميكروب يكون مقاوما عندما يمكنه أن ينمو في وجود تركيز من المضاد الحيوي أعلى من التركيز المعتاد أن يثبط، إن إكتساب الميكروب للمقاومة يتم بطريقتين:

- طفرة من الصبغيات وهي نادرة وغير متعلقة بالمضاد الحيوي.

إكتساب مورثة قادرة على تركيب إنزيمات موافق لعمل المضاد الحيوي، المقاومة بهذه الطريقة تكون متعددة إلى عدة أنواع من المضادات كما أنها تنتقل إلى الأجيال التالية وهذا مع ظهور عدد كبير من البكتيريا المقاومة [9].

❖ **ميكانيزم المقاومة :**

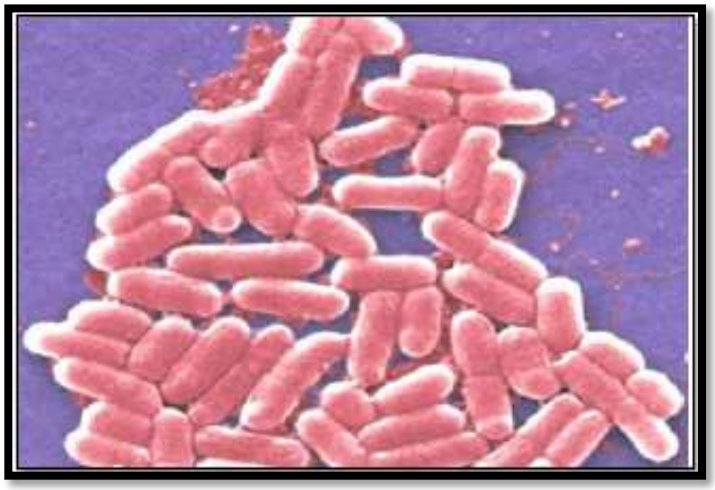
هناك ثلاثة ميكانيزمات أساسية هي المسؤولة عن المقاومة البكتيرية مقابل ثلاثة ميكانيزمات خاصة بعمل المضاد الحيوي على الخلية البكتيرية، فلكي يكون المضاد الحيوي فعالا على الميكروب يجب أن يستوفي مجموعة من الشروط:

- النفاذ أو إختراق الخلية.
- التثبت على الهدف لأجل إحداث اضطراب أو تعديل عليه.
- يجب أن لا يخضع إلى أي تحولات تؤدي إلى فعاليته في حالة تماسه بالخلية [13].

III–1–6– السلالات البكتيرية المدروسة :

1– Escherichia coli :

هي بكتيريا هوائية سالبة الغرام، تعيش في جسم الإنسان والحيوان والنبات وفي التربة،تكون متحركة على شكل عصيات، مسببة للأمراض منها: أمراض الجهاز البولي،الإسهال الطفيلي، التهاب السحايا وتسمم الدم [14].



المملكة	*Bacteria*.
التصنيف	*Proteobacteri*.
القسم	*Gammaproteobacteria*.
الرتبة	*Enterobacteriales*
العائلة	*Enterobacteriaceae*
النوع	*Escherichiai*
الصنف	Escherichia coli

الوثيقةIII–3 :بكتيريا **Escherichia coli** [15،16].

2– Staphylococcus aureus:

هي بكتيريا لاهوائية إختيارية ،موجبة الغرام تتواجد لدى الإنسان، تكون كروية الشكل،كما أنها عديمة الحركة وتكون على شكل عناقيد، وتسبب تسمم الغذاء، إلتهابات جلدية خطيرة، إلتهابات الرئيتين أمراض السحايا وتسمم الدم [17] .

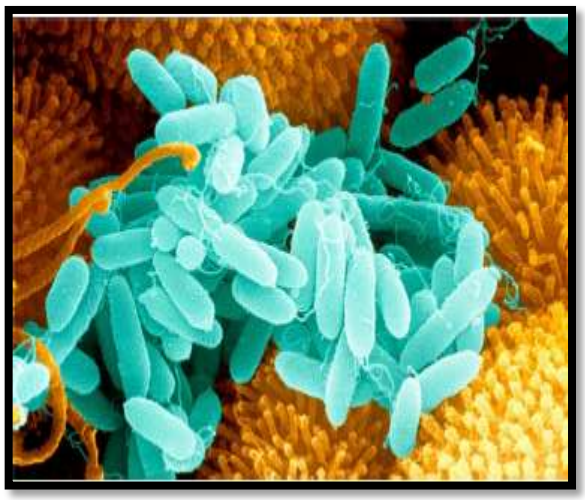
المملكة	*Bacteria*.
التصنيف	*Firmicutes*
القسم	*Cocci*.
الرتبة	*acillales* .
العائلة	*Staphylococcacea*
النوع	*Staphylococcus*.
الصنف	*Staphylococcus aureus*

الوثيقة III–4 : بكتيريا **Staphylococcus aureus** [17].

3- *Pseudomonas aeruginosa*:

هي بكتيريا متحركة هوائية عصوية الشكل، مصدرها الجهاز الهضمي للإنسان ،الحيوان، تعمل على الإتلاف السطحي للأغذية المبردة وتعد من الميكروبات المحللة للدهون الموجودة باللبن مما يؤدي إلى تغير لونه وطعمه كما أن لها القدرة على مقاومة العديد من المضادات الحيوية [18].

المملكة	*Bacteria*.
التصنيف	*Pseuomonabactèries*
القسم	*Gammaproteobacteria*
الرتبة	*Enterobacteriales*
العائلة	*Enterobacteriaceae*
النوع	*Pseudomonas*
الصنف	*Pseudomonas aeruginosa*

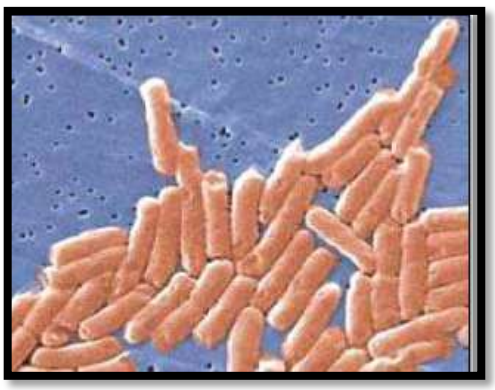


الوثيقة III –5: بكتيريا **Pseudomonas aeruginosa** [18].

4- *Salmonella typhi* :

بكتيريا لا هوائية اختيارية سالبة الغرام عصوية حركية ضارة بالإنسان حيث تسبب هذه البكتيريا مرض يتميز بإلتهاب حاد في الأمعاء والقلون في بداية الأمر.بعد وقت من الإصابة من الإصابة تنتشر البكتيريا مع الدم لتسبب الإلتهابات في أي عضو تستقر فيه ،مسببتا مرض يعرف بحمى التيفويد [19].

المملكة	*Bacteria*.
القسم	*Gammaproteobacteria*
الرتبة	*Enterobacteriales*
العائلة	*Enterobacteriaceae*
النوع	*Salmonella*
الصنف	*Salmonella typhi*

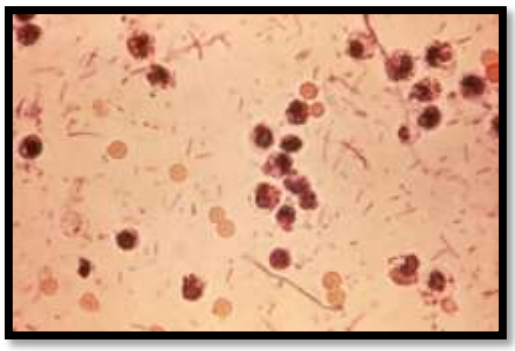


الوثيقة III–6 : بكتيريا ***Salmonella typhi*** [19].

5– *Shigella dysenteriae* :

هي عبارة عن عصيات سالبة الغرام غير متحركة غير مخمرة للاكتوز،تسبب مرض يدعى shigellosis وهو مرض معدي ينتقل إل الشخص السليم عن طريق التلامس او الطعام والشرب ،وابرز اعراض الإصابة بهذه البكتيريا هو الإسهال الذي قد يكون مصحوب بدم [20].

المملكة	*Bacteria*.
التصنيف	*Proteobacteria*
القسم	*Gammaproteobacteria*
الرتبة	*Enterobacteriales*
العائلة	*Enterobacteriaceae*
النوع	*Shigella*
الصنف	*Shigella dysenteriae*



الوثيقةIII–7: بكتيريا **Shigella dysenteriae** [20].

6– *Klebsiella pneumoniae* :

هي بكتيريا عصوية سالبة الغرام غير متحركة تسبب العديد من الأمراض مثل ذات الرئة والتهاب الجهاز البولي وإنتان البول وغيرها [16].

المملكة	*Bacteria*.
القسم	*Gammaproteobacteria*
الرتبة	*Enterobacteriales*
العائلة	*Enterobacteriaceae*
النوع	*Klebsiella*
الصنف	*Klebsiella pneumonia*

الوثيقة III–8: بكتيريا ***Klebsiella pneumoniae*** [16].

III-2- المضادات الحيوية :

تمهيد

رغم أن مفهوم المضاد الحيوي لم ينشأ إلا في القرن العشرين إلا أن إستخدامها قد بدأ في الصين منذ أكثر من 2500سنة، وكثيرا من الحضارات القديمة كالحضارة الفرعونية والحضارة الإغريقية قد استعملوا النباتات في علاج الكثير من الأمراض والعدوى دون التنبه للمادة الفعالة داخل النباتات .في ألمانيا عام 1909 طور بور أزليك (Paul Ehrlich) مضادحيوي ضعيف المدى اسماه سال فرسان (Salvarsan) واستخدم في علاج السيلان الذي كان منتشرا بكثرة في تلك الفترة وكان الإكتشاف الحقيقي للمضادات الحيوية في إنجلترا عام 1928 بواسطة الكساندر فليمينج (Alexander Fleming)حيث أكتشف البنيسلين وأثبت أن عفن (Penicilliumnotatum) ينتج عن مادة البنسلين القادرة على القضاء على بعض أنواع الجراثيم مثل(Stphlocoaue) [21].

III-2-1- تعريف المضادات الحيوية :

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

وتستعمل المضادات الحيوية حاليا كنوع من المواد الكيميائية الطبيعية العلاجية لعلاج الكثير من الأمراض الميكروبية [22].

III-2-2- مصدر المضادات الحيوية :

تلعب الكائنات المجهرية دورا مميزا في إنتاج المضادات الحيوية فأكثر من 85% من المضادات الحيوية التي تم التعرف عليها تكونها الميكروبات فحوالي60% تنتج من الأكتينوميستات Actinomycétes (وهي جنس بكتيري له شكل خيطي مثل الفطريات) و10% من البكتيريا و10% من الفطريات، والباقي من كائنات أخرى [21].

III-2-3- كيفية عمل المضادات الحيوية :

المضادات تمنع تكاثر أو توقف نمو البكتيريا وهذا ما يساعد في القضاء عليها أو يكون التأثير إما عن طريق جدار خليتها أو بالتسبب في إنتفاخ خليتها و إنفجارها، وكذلك يمنع تكوين البروتين داخلها.

ولقد عرف العلماء عمل المضاد الحيوي بأنه ذلك التأثير أو الفعالية البيولوجية التي يظهرها المضاد الحيوي إتجاه البكتيريا [23].

III-2-4- انواع المضادات الحيوية :

إن الوظيفة الأساسية للمضاد الحيوي في الجسم تنقسم إلى قسمين:

1- مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية :

يمنع تكاثرها وهو ما يساعد في القضاء عليها مثل سلفوناميد(Sulphonamide)، كلورام فنيكول (Chloram phenicol) [23].

2- مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية :

إما عن طريق التأثير على جدار الخلية أو التسبب في إنتفاخ خليتها و إنفجارها ويمنع تكوين مادة البروتين داخل خليتها مثل: امبسلين(Ampicillin)،جنتاميسين(Gentamicin)، بنيسلين(Penicillin) [23].

III-2-5- تأثير المضادات الحيوية :

تعمل المضادات الحيوية على قتل الميكروبات،أو كبح الميكروبات، وقد يكون مفعول المضاد على الغلاف الخارجي للميكروب (Cell Wall)، أو الغلاف الداخلي (Membrane Cell)، أو يعمل على مستوى الخلية لإيقاف تصنيع البروتين (Protein Synthesis) [24].

1- العمل على الجدار الخارجي للبكتيريا:

المضاد الحيوي يوقف تركيب الجدار بتثبيط transpeptidase وهذا ما يمنع من تركيب peptidoglycane الذي يوقف نموها وعملها ويمكن أن يشمل تدمير تلك الأخيرة بالفعل وتعمل وفق هذا الأسلوب من العمل:

- بنيسلينpénicilline.
- سيفلوسبوري céphalosporine.
- فانكوميسين vacomycin [25،23].

2 - العمل على الجدار الداخلي للبكتيريا:

المضاد الحيوي له خواص سطحية التي تمكنه من تخريب عمل نفاذية الغشاء الداخلي،ويسمح بطرد المواد السائلة خارج البكتيريا وهذا ما يدمرها [26].

3 -العمل على تثبيط نمو ADN :

يعمل المضاد الحيوي على المعقد ADN-ADN ، حيث يعمل المضاد الحيوي على التثبيط الأيضي لنمو ADN البكتيريا وتعمل وفق هذا الأسلوب من العمل:

- ستربتوميسين Streptomycin.
- كاناميسين Kanamycin.
- أرثروميسين Erythromycin.
- ريفامبيسين Rifampicin.
- سبترين Septrin [8].

III-2-6- طرق تحديد درجة الحساسية للمضادات الحيوية :

1- طريقة التمديد :

تعتمد على إجراء تخفيف متدرج للمضادات الحيوية في أنابيب إختبار أو تخفيف الأجار في الأطباق ثم يزرع الميكروب،ويتم تحديد أقل جرعة مثبطة لنمو الميكروب CMI وبالطبع المضاد ذو أقل CMI هو الذي يتم اختياره بعد النظر في ظروف المريض [22].

2- طريقة الإنتشار:

وهي أسهل ولكنها أقل دقة،تتم بفرد كمية ثابتة من البكتيريا على سطح الأجار ومن ثم وضع أقراص المضادات ذات تركيز معلوم وتحضن مقلوبة لمدة 24سا وبدرجة حرارة 37م°، هي الأكثر استعمالا في المستشفيات لتشخيص الأمراض المعدية، ويكون الوسط المستعمل صلبا من أهم الأوساط وأكثرها تداولا الوسط الجيلوزي مثل وسط Muller Hinton [8].

المراجع

المراجع باللغة العربية :

[2]بابا عربي إلياس،دراسة بعض الأملاح الفوسفونيوم ودراسة فعاليتها البيولوجية على بعض أنواع البكتيريا عند مزجها مع البنسيايناV مذكرة لنيل شهادة الماجستير،تخصص كيمياء عضوية وتطبيقية،جامعة قاصدي مرباح ورقلة 2009.

[3] الدكتور وجدي عبد المنعم مشهور و الدكتور مجدي إسماعيل مصطفى الميكروبيولوجيا الزراعية كلية الزراعة جامعة عين شمس 2007

[5] عبد الوهاب بن صادق،مدخل إلى الدراسة العلمية في الأحياء الدقيقة وعلم الميكروبيولوجي والتجارب العلمية ص 8-13

[6]ابوالذهب م.، الكشير ح.، القزاز س.، عاية ش.، – البكتيريا .دار المعارف .1997الجزء الأول، ص20.

[7]العابد إ" دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للاكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران , " مذكرة ماجستير , جامعة قاصدي مرباح ورقلة ص106(2009)

[16]حوة إ،دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة ، مذكرة ماجستير , جامعة قاصدي مرباح ورقلة ص61 (2013).

[17] عباس عبود الديملي ،"تأثير مستخلصنبات المسواك في بكتريا المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من مرض التهاب اللثة" ،كلية علوم التربية جامعة ديالي الرازي،(2011) ص215 -216.

[19] الأسود سارة وعدايكة صبرينة ،مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي ،دراسة النشاطية المضادة للاكسدة والمضادة للأحياء الدقيقة لزيت الأساسي لأزهار نبات اللبين *Euphorbian guyoniana* بمنطقة وادي سوف 2015.

[21] عبد الوهاب، محمد. ع.ح،د-محمد.ص.م.مبارك ،د.سعد. ع.ز.م،المايكروبيولوجية التطبيقية،الطبعة الأولى ،1996،المكتبة الأكاديمية ص42-430

[22] زيدان محمد دراسة الفعالية المضادة للأكسدة والبكتيريا لمستخلصات الرمان *punica granatum L* *مذكرة* دكتوراه جامعة قاصدي مرباح ورقلة ص62 (2018)

[24] تامة نور الدين تحضير ودراسة التفاعلية الكيميائية لمشتقات الألكيليدين بيتونوليد وفعاليتها البيولوجية ،مذكرة تخرج لنيل شهادة المجاستير، تخصص تحضير عضوي وفيتوكيمياء ، جامعة قاصدي مرباح ورقلة(2007)

مراجع باللغة الأجنبية :

[1] https weziwezi.com 21/04/2019

[4] Tony Hart ، " Atlas de Poche de Microbiologie ".Paris. edition.(1997)

[8] Guerin F . Carret C. L'antibiogramme: Principes, méthodologie , intérêt et limites. Journées nationales GTV-INSZ (1999).

[9]J. Seignalet. Alimentation et Spondylarthrite. Polyarthrite rhumatoïde et bactéries intestinales (2005).

[10]D. Yala, A.S. Merad, D. Mohamedi, M.N. Ouar Korich. Resistance bactérienne aux Antibiotiques. Médecine du Maghreb (2001)n°91.

[11]Berthelot,M.C.R.Hebd.SeancesAcad.Sci.1860,50,805

[12]Böttger, R.C.LiebigsAnn.Chem.1859,109,351

[13]Yala D., Merad A.S., Mohamedi D., Ouar Korich M.N.. Resistance bactérienne aux Antibiotiques. Médecine du Maghreb (2001).

[14]Ana Carolina De MeloSantos, AnaCarolina. Matos Zidko, A Virulence De Escherichia Coli Pathogenic Extra-Intestinal(Expect) AmResaca A Saxon Do Hospedeiro,Mundodasaude, Sao Paule:2009:33(4)392-400.

[15]S.Robert-Dernmet , Antibiotique et antibiogrammes ,Décarie Vigot, Montréal , p322,(1995).

[18]POOL K., 2001- Multidrug effux pumps and antimicrobial resistance in Pseudomonas aeruginosa and releted organisms. J. MOL. Microbiol.Biotechnol. (2001)3(2):255-264.

[20] www. syrianclinic.com 15/05/2019

[23] Guerin-Faublee.V.,Carret.C.(1999).L'antibiogramme Principes,methodologie,interet et limites .Journees nationales GTV-INRA.pp.5-12

[25]A.R.Cor agha. Rôle des résidus d'antipuces dans les environnements hydrique
sur la sélection et la diffusion de bactéries résistantes des genres Aeromonas, Acinetobacter et Legionella (2006)P:19-26 Thésée de doctorat I
'Université de Genève

[26] Riti Sha ran Sanjay Chhibber, Inactivation and sub-lethal injury of salmonella typhi, salmonella typhimurium and vibrio cholera in copper water storage vessels, Sharan et al . BMC Infectious Diseases 2011, 11:204.

الجزء العملي

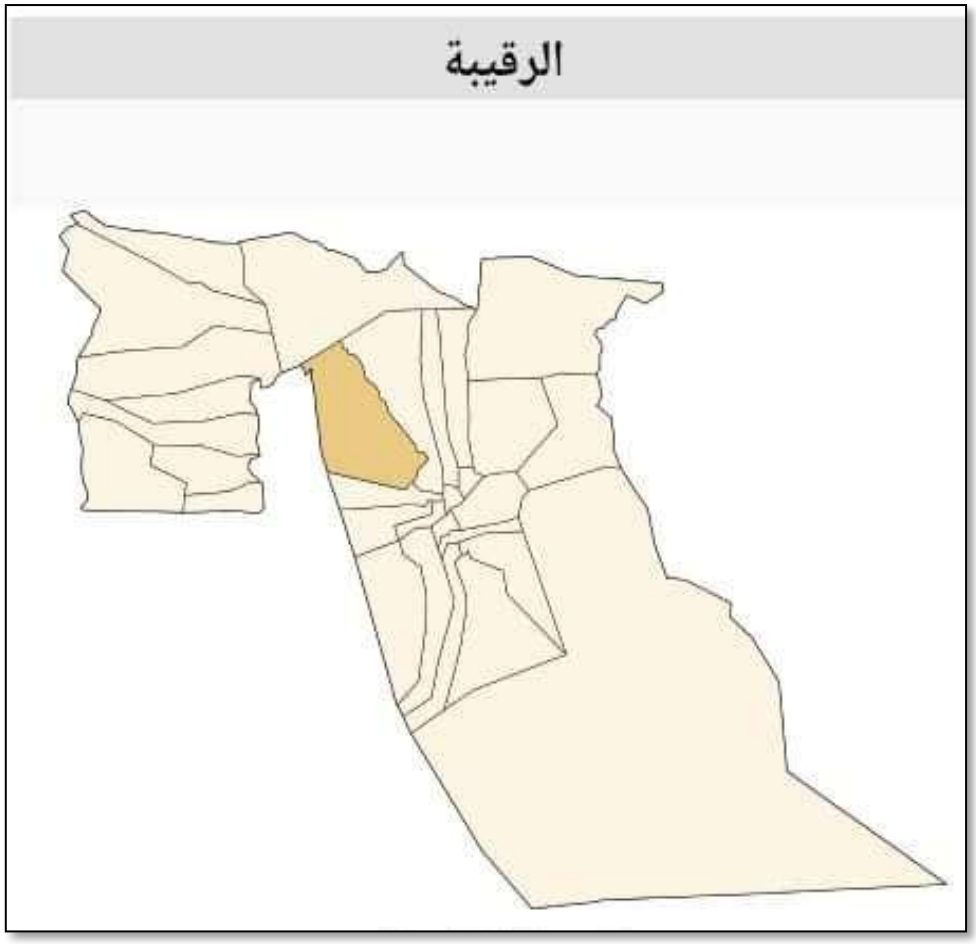
الفصل الرابع : الطرق والوسائل

مدخل

تمت هذه التجارب على مستوى مخابر كلية العلوم الدقيقة بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي و اختبار الفعالية البيولوجية للمستخلصات المائية والإيثانولية ودراسة تأثيرها على بعض الأنواع البكتيرية وذلك بالاستعانة بمخابر مستشفى البشير بن ناصر بالوادي، وتم الحصول عليها من مخبر المجد بالوادي.

IV-1- جمع العينة :

تم الحصول على أوراق نبات التبغ(2018 /12/25) من مزارع منطقة الرقيبة بولاية الوادي، بعدها تمت عملية غسله وتجفيفه في الظل على قطعة من الورق مع تقلبيها من حين إلى آخر، وعدم تعرضها لأشعة الشمس. وتنتهي مدة التجفيف بعد أن نتأكد من عدم وجود الماء في النبات، ودامت مدة التجفيف 34 يوما. ثم بعد ذلك تم تقطيعه باليد إلى قطع صغيرة وتم الاحتفاظ بها داخل علب في مكان بارد جاف.



الوثيقةIV-1 : المنطقة التي تم فيها قطف النبتة ببلدية الرقيبة-ولاية الوادي.

IV-2- الأجهزة والمواد المستعملة :

جدول IV-1: الأدوات والمواد والأجهزة المستعملة.

الأجهزة	المواد	الأدوات
ميزان إلكتروني حساس Balance	ماء مقطر	بيشر
مخلاط مغناطيسي Agétateure	الإيثانول (CH_3-CH_2-OH) (96%)	ورق ترشيح
جهاز التبخير الدوار Rotavapor	الكلوروفورم $CHCl_3$	قمع
حاضنة Étuve	حمض الكبريت H_2SO_4	أنابيب اختبار
مضخة	حمض كلور الماء HCl (10%) و(2%)	مخبار مدرج
معقمة Autoclave	هيدروكسيد الأمونيوم NH_4OH	حبابة إبانة
موقد بنزن Bec benzene	ثنائي إيثيل الإيثر	ارلن ماير
جهاز مطيافية الأشعة الفوق البنفسجية – المرئية UV-Visible	كاشف ماير	علب بيتري 9سم
	كلوريد الحديد الثلاثي $FeCl_3$	مضاد حيوي *Gentamycine* (*GEN*)
	DMSO	ماصة
	Muller Hinton	
	محلول أملاح الصوديوم (ماء فزيولوجي)	
	برمنغنات البوتاسيوم $KMNO_4$(1%)	
	حمض الخل acide acétique (CH_3COOH) (99%)	
	كاشف الفولين (Réactif de Folin-ciocalteai)	
	كربونات الصوديوم NaOH (7.5%)	
	ميثانول (CH_3-OH)	

IV-3-طريقة الاستخلاص المتبعةّ :

✓ **الاستخلاص بواسطة الإيثانول :**

نزن20غ من العينة النباتية الجافة (أوراق نبات التبغ) ثم تنقع في حجم قدره400مل من الإيثانول لمدة24سا تكرر العملية مرتين متتاليتين مع تجديد المذيب في كل مرة، بعدها تجمع الرشاحات ويبخر الإيثانول بجهاز التبخير الدوراني ، حتى نحصل على مركب ذو قوام سميك ونتركه في الحاضنة حتى يجف.

✓ **الاستخلاص بواسطة الماء :**

نزن20غ من العينة النباتية الجافة ثم تنقع في حجم قدره 400 مل من الماء لمدة24سا تكرر العملية مرتين متتاليتين مع تجديد المذيب في كل مرة، بعدها تجمع الرشاحات ويبخر الماء بجهاز التبخير الدوراني، حتى نحصل على مركب ذو قوام سميك ونتركه في الحاضنة حتى يجف.

✓ **الاستخلاص بواسطة الإيثانول/الماء(20/80) :**

نزن20غ من العينة النباتية الجافة ثم تنقع في خليط من (الإيثانول +ماء) (80/320 مل) لمدة 24سا تكرر العملية مرتين متتاليتين مع تجديد المذيب في كل مرة، بعدها تجمع الرشاحات ويبخر المزيج بجهاز التبخير الدوراني ، حتى نحصل على مركب ذو قوام سميك ونتركه في الحاضنة حتى يجف.

IV-4- خصائص المذيب المستعمل :

جدول IV-2: خصائص المذيب المستعمل.

المذيب المستعمل	الإيثانول C2H6O
الشركة المصنعة	VWR CHEMICALS
درجة الغليان م°	78.4
درجة النقاوة(%)	96
الكتلة المولية (غ/مول)	46.7
الكثافة	0.789

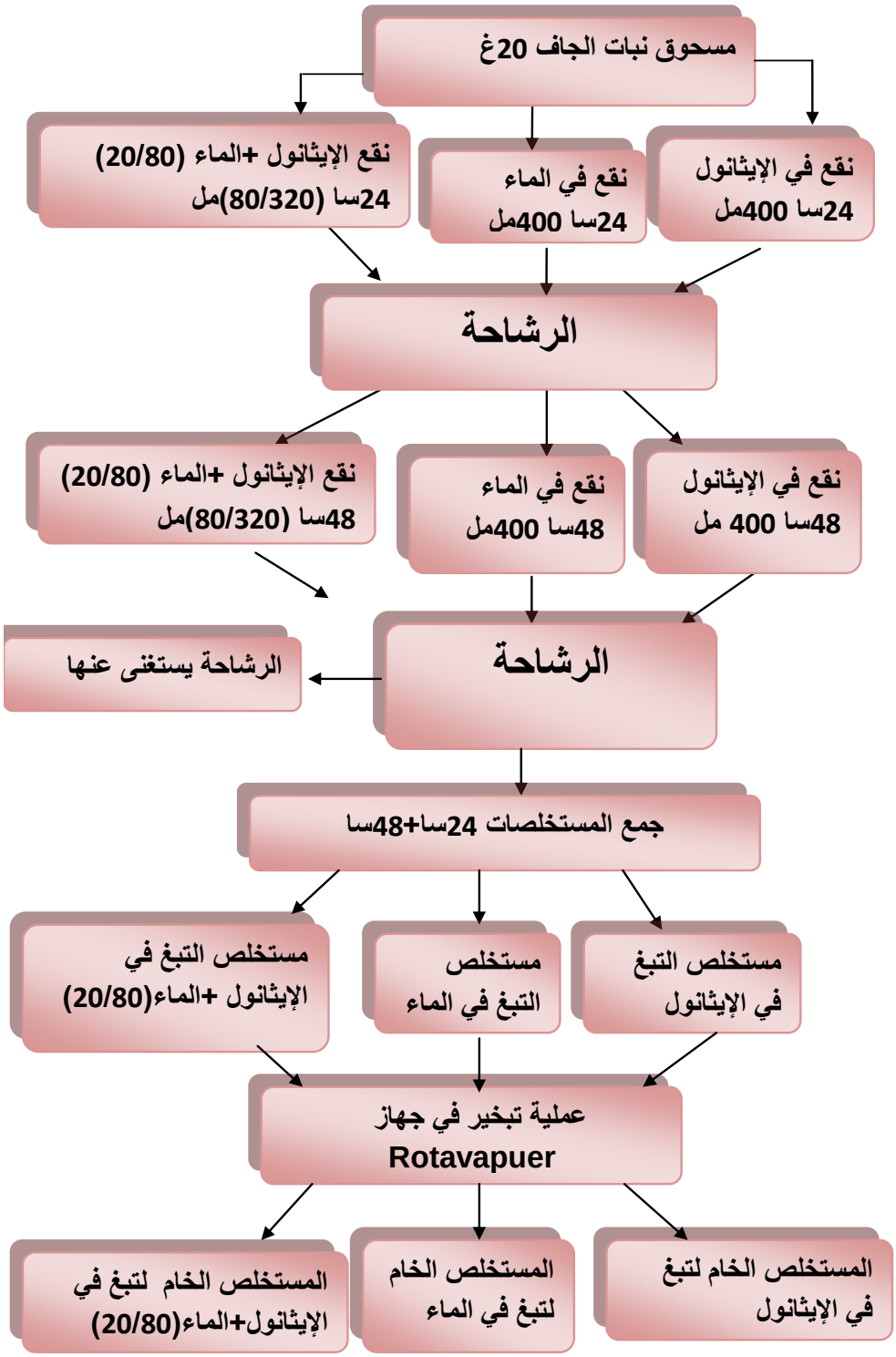
IV-5- عملية الترشيح :

بعد عملية النقع للعينة النباتية للمدة المذكورة سلفا بكل المذيبات ، نقوم بترشيح النقيع (عينة نباتية+مذيب) حتى نتحصل على المستخلصات النباتية في الحالة السائلة كما هو موضح في الوثيقة(IV-2) وبعد ذلك نأخذ المستخلص ونقوم بعملية تبخير المذيبات بجهاز المبخر الدوار نتحصل على المستخلصات النباتية الخام.

الصور التالية توضح المستخلصات النباتية بعد عملية الترشيح :

الوثيقةIV–2: مستخلصات أوراق نبات التبغ بعد عملية الترشيح.

IV-6- عملية الاستخلاص المتبعة :



الوثيقة IV-3: تحضير المستخلصات.(انظر الملحق2)

IV-7- الكشف عن المواد الفعالة :

IV-7- 1- الكشف عن التربينات :

تم أخذ 2 غ من المسحوق الجاف نضعها في 10مل من الكلوروفورم $CHCl_3$، بعد ساعة نرشح ثم نضيف إلى الرشاحة 0.2 مل من H_2SO_4 يتحول لون المحلول إلى اللون الأحمر الأجوري وذلك دليل على وجود التربينات[1].

الوثيقةIV-4: الكشف عن التربينات

IV-7- 2-الكشف عن الفينولات :

تم أخذ1 ملغ من مستخلص الخام ونذيبها في 2 مل من الماء ونرج المحلول جيدا، ثم نضيف له قطرات من كلوريد الحديد الثلاثي $FeCl_3$ تغير اللون إلى الأخضر المسود دليل على وجود الفينولات.

الوثيقةIV-5: الكشف عن الفينولات.

IV-7- 3-الكشف عن أملاح القلويدات :

تم أخذ1غ من المسحوق الجاف ونضيف لها 10مل من الإيثانول، نرج لمدة ساعة ثم نرشح.

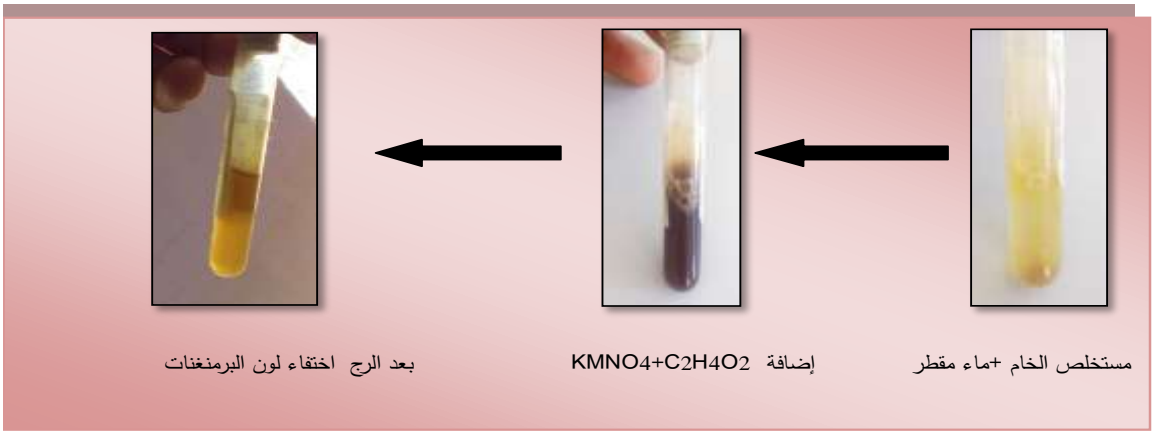
نبخر 2مل من محلول الإيثانول، نضيف للراسب 5 مل من حمض الكلورHCl (10%) نسخن قليلا ونرشح، المحلول الناتج نضيف له قطرات من هيدروكسيد الامونيوم NH_4OH حتى يصبح المحلول قاعدي (PH=9).

نستخلص المحلول بثنائي إيثيل إيثر ثم نبخر المذيب، ونضيف للراسب قليل من حمض الكلور HCl (2%) ثم نضيف له قطرات من كاشف ماير (Mayer) ظهور الراسب يدل على وجود القلويدات [2].

الوثيقةIV-6: الكشف عن القلويدات.

IV-7- 4-الكشف عن الكحولات:

تم أخذ 25 ملغ من المستخلص الخام لأوراق نبات التبغ وإذابتها في 2 مل من الماء المقطر في أنبوبة اختبار ثم يضاف إلى المحلول قطرة- قطرة من المحلول المائي لبرمنغنات البوتاسيوم،(1%) ونضيف قطرات من حمض الخل (CH_3COOH) مع الرج الشديد للأنبوبة وتغير لون البرمنغنات دليل على وجود الكحولات [3] .



الوثيقة IV-7: الكشف عن الكحولات.

IV–7– 5–الكشف عن الاحماض الكربوكسيلية:

نأخذ وزن قدره 30ملغ من المستخلص الخام نذيبه في2 مل من الماء المقطر مع الرج الجيد للأنبوبة، نضيف كمية من كربونات الصوديوم Na_2CO_3.

نغلق الأنبوبة جيدا لمنع تسرب غازCO_2 ونوصلها بمصاصة ونوصل طرفها الأخر بأنبوبة بها رائق الكلس ، بعد مدة زمنية نلاحظ خروج الغاز وتعكر رائق الكلس دليل على وجود الأحماض الكربوكسيلية.

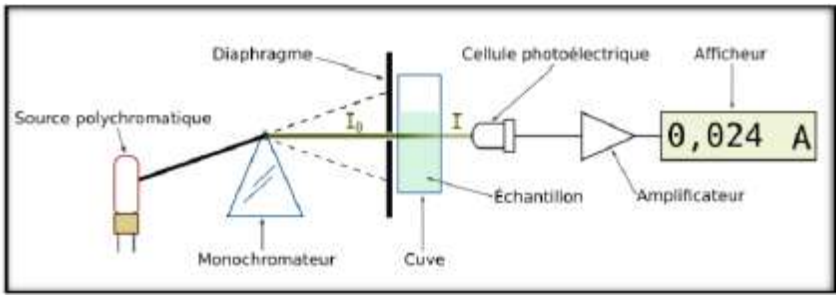
الوثيقةIV–8: الكشف عن الأحماض الكربوكسيلية.

IV–8– التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية–المرئية :

IV–8–1–مطيافية الأشعة فوق البنفسجية–المرئية UV–Visible :

تعد هذه التقنية من أقدم الطرق للتحليل الكمي والكيفي والأكثر استعمالا ، تساعد في تحديد البنى الكيميائية للمركبات، ومن أهم طرق التقدير الكمي طريقة قياس الامتصاصية(الكثافة الضوئية) للمحاليل، حيث مجال طولها الموجي محصور بين400– 800 نانومتر.

يتكون هذا الجهاز من قسمين هما المصدر الضوئي لأي طول موجي محدد ومقياس الكثافة الضوئية، حيث يتم وضع العينة المراد قياس إمتصاصيتها داخل أنبوب يسمح بمرور الضوء، وبالتالي فإن كمية الضوء المار خلال العينة يعبر عنها بالامتصاصية[5،4].



الوثيقةIV–9: مبدأ عمل جهاز مطيافية الأشعة UV–Visible [5].

IV-8-2- التقدير الكمي للمركبات الفينولية :

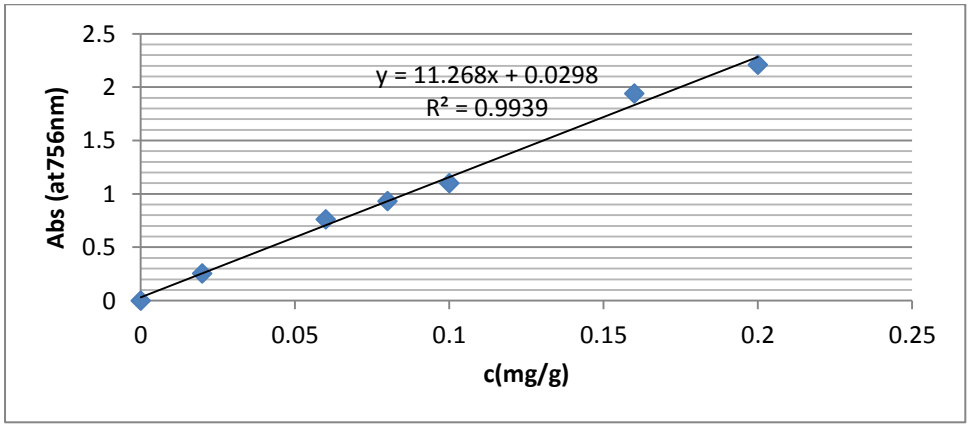
تقدر كمية الفينولات بطريقة singleton Rossi باستخدام كاشف الفولين-(Réactif de folin ciocalteai)،حيث أن هذا الكاشف يتكون من حمض فوسفوتنغستيني($H_3PW_{12}O_{40}$) وحمض فوسفوموليبيديك ($H_3PMO_{12}O_{40}$) الذي يرجع إلى أكسيد التنغستين(WO) والموليبدين (MoO_3) ذات اللون الأزرق.

ويتم تقدير كميتها بواسطة جهاز UV-Visible بإستخدام حمض الغاليك كفينول مرجعي عند طول موجي λ_{max}=765nm [6].

✓ **المنحنى القياسي لحمض الغاليك :**

نقوم بتحضير محاليل ممددة لحمض الغاليك تراكيزها تتراوح مابين 0.02 و0.2 ملغ/مل في أنابيب اختبار 0.1 مل من المحاليل الممدة ونضيف لها 0.5 مل من كاشف (Folin ciocalteu) (الممدد10مرات)، ثم نضيف 0.4 من كربونات الصوديوم Na_2CO_3 (7.5%) ونضع المحاليل في الظلام لمدة 30دقيقة.

تتم بعد ذلك قراءة الامتصاصية الضوئية لكل تركيز بجهاز UV-visible عند طول موجي λ_{max}=765nm.



الوثيقة IV-10: المنحنى القياسي لحمض الغاليك.

✓ **طريقة العمل:**

نحضر من المستخلص تركيز قدره0.8ملغ/مل لكل من مستخلص الايثناول، مستخلص الماء ومستخلص (الإيثانول+ الماء)، ثم نأخذ 0.2 مل من كل المستخلصات ونضيف لها 1مل من كاشف الفولين (Réactif de folin-ciocalteai) ونتركه مدة 5 دقائق في الظلام ثم نضيف لها 0.8 مل من محلول كربونات الصوديوم Na_2CO_3 (7.5%) ونتركه في الظلام مدة نصف ساعة فنتحصل على اللون الأزرق.

ثم نقرا الامتصاصية عند طول موجي λ_{max}=765nm.

IV-9- دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا :

تمت هذه الدراسة على مستوى مخبر المؤسسة الإستشفائية بشير بن ناصر بالوادي ابتدائا من يوم (2019/04/15) لمعرفة تأثير المستخلصات العضوية إتجاه 6 أنواع بكتيرية بتطبيق أشهر الطرق وهي طريقة الانتشار حول الأقراص المشبعة بالمضادات الحيوية على طبق مزروع زرعا متجانس بالبكتيريا في وسط ميلر هنتون (Mueller Hinton)، وبعد حضن الأطباق لمدة 24سا تقاس أقطار التثبيط حول الأقراص [8،7].

IV-9-1- جمع السلالات البكتيرية المستهدفة:

تم الحصول على السلالات من مخبر المجد بالوادي ومخبر العلوم الطبيعة والحياة بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي .

حيث تم إستعمال الأنواع البكتيرية التالية:

- *Escherichia coli*
- *Salmonella typhi*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Staphylococcus aureus*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Shigella dysenteriae*

IV-9-2- طريقة العمل:

قبل الشروع في هذا العمل يجب تعقيم كل الأدوات في المعقمة والتنظيف الجيد لمكان العمل بالقرب من موقد بنزن وسنتبع في هذا العمل طريقة الانتشار كما في الخطوات التالية:

✓ **تحضير التراكيز :**

تم تحضير خمس تراكيز مختلفة لكل مستخلص (20،40،60،80،100ملغ/مل) وذلك بإذابتها1 في مل من Dimethyl Solphoxide (DMSO) .

✓ **تحضير وسط زرع:**

تحضر أوساط الزرع بتسخين محلول الغلوكوز (Muller Hinton) في حمام مائي درجة حرارته 85م°، ثم يسكب في علب بيتري حتى يغطى السطح مع مراعاة التجانس في سمك السطح ونتركها تبرد حتى تتجانس وتتماسك.

✓ **تحضير الأقراص:**

بواسطة آلة خاصة تم قص ورق ترشيح *Whatman* رقم3 إلى أقراص بقطر5 ملم، ثم نضعها في أنبوب اختبار للتعقيم في درجة حرارة عالية ثم نشبع الأقراص بالمستخلص المحضر.

✓ **تحضير المعلق البكتيري:**

بإستخدام العود القطني نأخد الجذمة البكتيرية، ونغمرها في أنبوب اختبار يحوي على 3مل من الماء الفيزيولوجي المعقم، ثم نزرع نوع بكتيري في علب بيتري، حيث يتم المسح بالعود القطني وتوزيع البكتيريا على مستوى السطح بشكل منتظم.

✓ **وضع الأقراص المشبعة:**

توضع الأقراص المشبعة بالمستخلصات الثلاثة داخل علب بيتري بواسطة ملقط معقم، أي كل علبة تحوي على ثلاث أقراص مختلفة التركيز بالإضافة إلى قرص المضاد الحيوي، ثم تغلق العلب وتوضع مقلوبة في الحاضنة لمدة 24سا تحت درجة حرارة 37م° ثم تقرأ الأقطار بواسطة مسطرة (**انظر الملحق3**).

المراجع

المراجع باللغة العربية :

[1]غميمة صفاء،مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي بعنوان دراسة مقارنة للمردود والفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص المائي والإيثناولي في بذور نبات القناوية *Abelmoschus esculentus*،جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي ،2018.

[2]ش.أبو زيد " , فسيولوجيا وكيمياء القلويدات في النباتات الطبية وأهميتها الدوائية والعلاجية , دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع , القاهرة , ص496 (2005).

[3]فاضل عمران عيسى الزاملي،الكشف عن الكحولات ،2017/11/19 16:00 ،كلية التربية الأساسية ،جامعة بابل 2017

[6] ربيعي عبد الكريم، المساهمة في دارسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بروبوليس جنوب الجزائر بالطرق االكيميائية و الكهروكيميائية، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة2010.

[7]علاوي مسعودة، رسالة محضرة لنيل شهادة دكتوراه، الدراسة الفيتوكيمائية والتقيم الميكروبيولوجي لنبتتينمن الفصيلة الرمرامية تستعملان في طب التقليدي الصحرواي *Haloxylon Scoparium Pomel (Thamran) Traganum nudatum (Remth)* جامعة قاصدي مرباح ورقة (2015).

المراجع باللغة الاجنبية :

[4]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)

[5] HAMIDI .A. Etude phytochimique et activité biologique de la plante Limoniastrum guyonianum. PHYSICO-CHIMIE MOLECULAIRE .Université Kasdi Merbah Ouargla2012

[8] V .Guerin-Faublée, C.Carrt,L'antibiogramme: principes , méthodologie, Intérêt et limites .Journées nationales GVT-INRA.(1999), P 5-12.

الفصل الخامس: النتائج والمناقشة

مدخل :

في هذا الفصل تم القيام بتحليل النتائج المتحصل عليها من خلال التجارب المنجزه و مناقشتها.

V-1- نتائج الاختبارات الكيميائية الاولية :

جدول V-1: نتائج إختبارات المواد الفعاله.

المادة الفعالة	نسبة تواجدها في النبات
التربينات	+
الفينولات	+
القلويدات	+
الكحولات	+
الأحماض الكربوكسيلية	+

ملاحظة:

(+) وجود المادة الفعالة.

من خلال النتائج المدونة في الجدول(V-1) يتضح لنا مايلي: أن أوراق نبات التبغ غنية بمعظم المواد الفعالة كالقلويدات، الفينولات، التربينات، الكحولات والاحماض الكربوكسيلة.

V-2- مردود المستخلصات :

- ✓ مستخلص الماء لأوراق نبات التبغ .
- ✓ مستخلص الإيثانول لأوراق نبات التبغ .
- ✓ مستخلص الماء +الإيثانول(80/20) لأوراق نبات التبغ.

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

R%:المردود

Mf:الكتلة النهائية

Mi:الكتلة الابتدائية

بعد عملية الاستخلاص نتحصل على قيم المردود التالية:

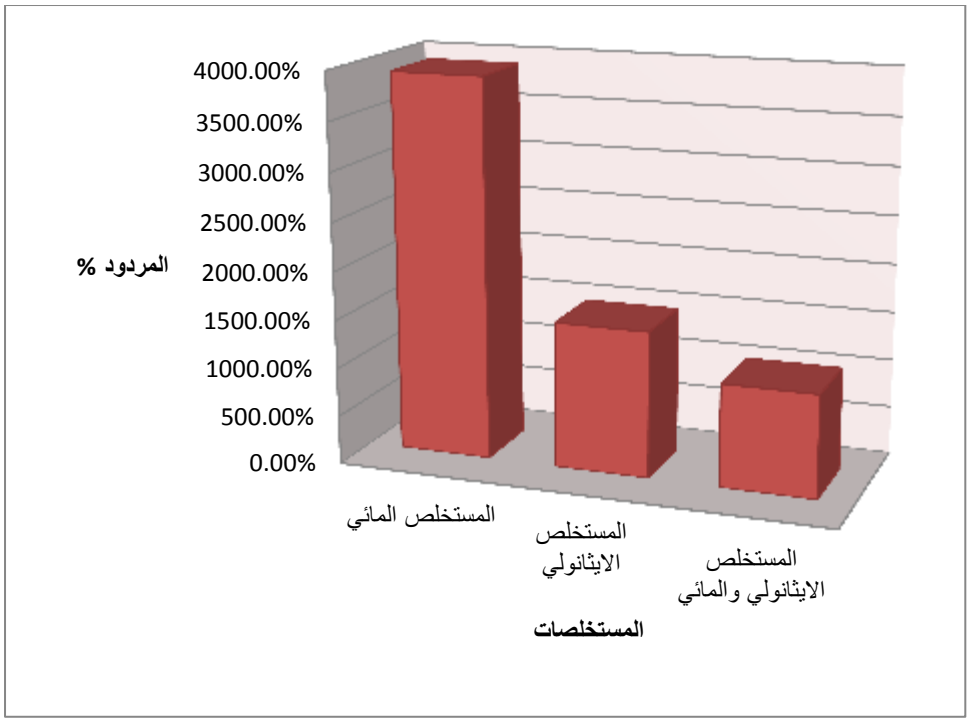
جدول V –2: قيم مردود المستخلصات.

مستخلص	الكتلة الابتدائية(غرام)	الكتلة النهائية (غرام)	المردود%
الماء	20	7.84	39.2
الإيثانول	20	3.02	15.1
الماء+ الإيثانول	20	2.13	10.65

❖ **تفسير النتائج :**

من خلال النتائج الموضحة في الجدول(V–2) نجد أن أكبر مردود كان لمستخلص الماء(39.2%) ثم الإيثانول(15.1%) يليه مستخلص (الماء+الإيثانول) (10.65%) وهذا راجع لإختلاف ذوبانية التبغ في المذيبات، كما يمكن القول أن المستخلص المائي لأوراق نبات التبغ هو الأكثر مكونات لمواد الأيض بالمقارنة ببقية المستخلصات الأخرى.

مردود المستخلصات موضح في الشكل التالي :



الوثيقة V –1: قيم مردود المستخلصات.

V-3-التقدير الكمي للفينولات بإستخدام جهاز UV-visible :

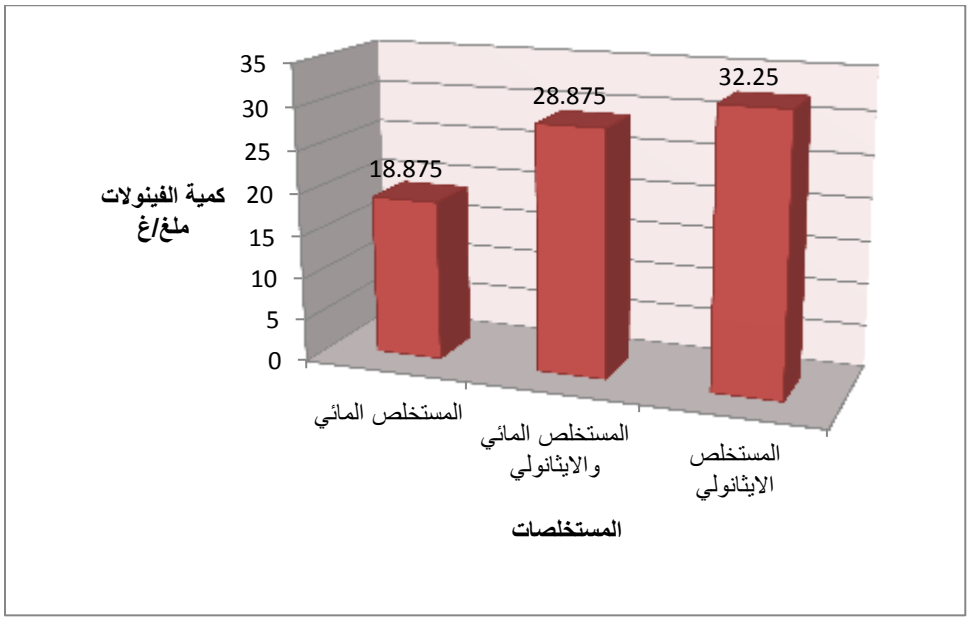
من نتائج الامتصاصية للمحاليل المحضرة وبحسابات رياضية ومن علاقة المنحنى القياسي لحمض الغاليك تم تسجيل النتائج المتعلقة بتقدير الفينولات الكلية للمستخلصات ، ويمكننا حساب الكمية المكافئة لـ 1 غ من المستخلص من خلال المعادلة التالية:

$$Y=11.26x+0.029$$

والجدول التالي يوضح كمية الفينولات المكافئة غراميا :

جدول V -3: قيم الامتصاصية وكمية الفينولات في كل مستخلص .

العينة	مستخلص الماء	مستخلص (الماء +الايثناول)	مستخلص الإيثانول
التركيز ملغ/مل	0.8	0.8	**0.8**
الامتصاصية	0.20	0.29	**0.32**
الكمية ملغ/غ	18.875	28.875	**32.25**



الوثيقة V-2: كمية الفينولات بملغ مكافئ لحمض الغاليك / غ من وزن المستخلص.

❖ **تفسير النتائج :**

من خلال النتائج الموضحة في الوثيقة(**V-2**) والتي تمثل كمية الفينولات للمستخلصات تبين أن كمية الفينولات، متفاوتة بين المستخلصات حيث سجلت أكبر قيمة في مستخلص الايثانول حيث قدرت ب(32,25ملغ/غ) و في مستخلص (الايثانول +الماء) فقدرت ب(28,875ملغ/غ) أما مستخلص الماء فقدرت ب(18,875ملغ/غ)، إن اختلاف هذه النتائج راجع إلى الإختلاف في التركيبة الكيميائية لكل مذيب، وكذا الاختلاف في نوع المذيب يؤثر على مردود الفينولات حيث أن مستخلص الايثانول يحوي اكبر كمية من الفينولات ، وهذا أيضا يعني أن مذيب الإيثانول لديه القدرة على إذابة الفينولات المتواجدة في أوراق نبات التبغ.

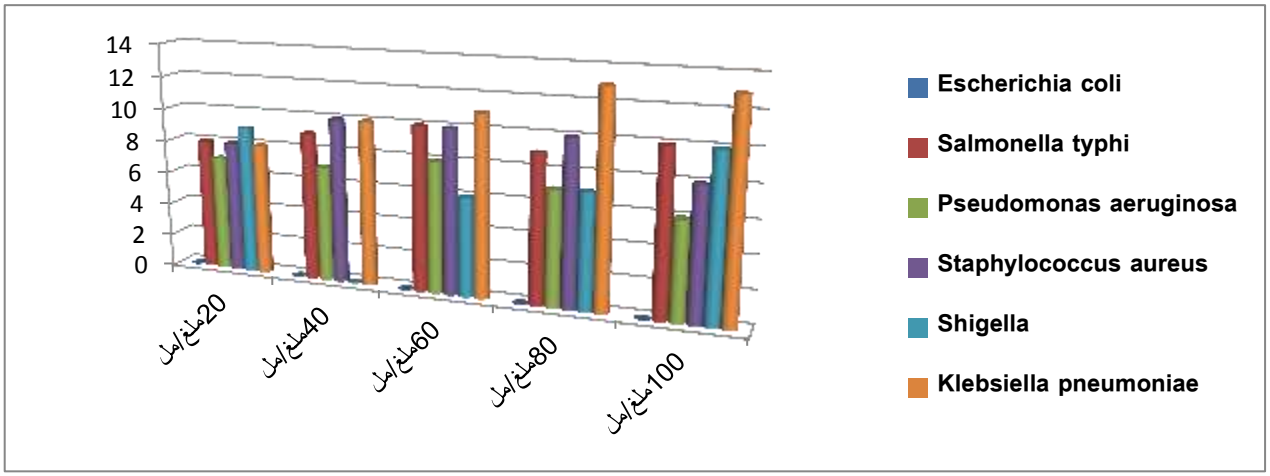
V-4- نتائج الفعالية البيولوجية:

بعد الزرع والحضن لمدة 24سا، نقوم بقياس أقطار التثبيط حول الأقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة للمستخلصات.

جدول V-4: أقطار التثبيط(ملم) لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة لمستخلص الإيثناول.

العينة / أنواع البكتيريا	مستخلص الإيثانول لأوراق نبات التبغ					الأثر التثبيطي
	20ملغ/مل	40ملغ/مل	60ملغ/مل	80ملغ/مل	100ملغ/مل	
Escherichia coli	0	0	0	0	0	
Salmonellatyphi	8	9	10	9	10	
Pseudomonas aeruginosa	7	7	8	7	6	

	8	10	10	10	8	***Staphylococcus aureus***
	10	7	6	0	9	***Shigella dysenteriae***
	13	13	11	10	8	***Klebsiella pneumoniae***



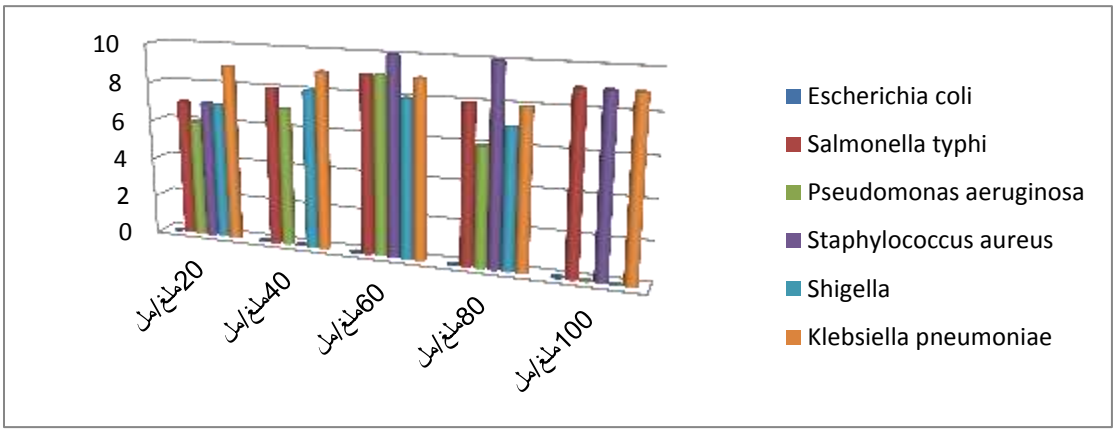
الوثيقةV –3: درجة الكبت لمستخلص الايثانول لجميع السلالات البكتيرية.

❖ **تفسير النتائج:**

من خلال النتائج المتحصل عليها في الجدول(V-4) والوثيقة (V-3) نلاحظ أن مستخلص الايثانول لم يعطي أي فعالية اتجاه بكتيريا *Escherichia Coli*، وكانت له نتائج إيجابية مع باقي السلالات البكتيرية المدروسة حيث سجل أكبر قطر تثبيط (13ملم) إتجاه *Klebsiella pneumoniae* عند التراكيز(80 و100ملغ/مل) واقل قطر تثبيط (6 ملم) اتجاه *Shigella dysenteriaa* عند التركيز(60 ملغ/مل)، يمكن استنتاج أن مستخلص الايثانول يملك فعالية مضادة للبكتريا متوسطة الحساسية.

جدول V -5: أقطار التثبيط(ملم) لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة لمستخلص (الإيثانول +الماء).

العينة	مستخلص الإيثانول +الماء لأوراق نبات التبغ					الأثر التثبيطي
أنواع البكتيريا	20ملغ/مل	40ملغ/مل	60ملغ/مل	80ملغ/مل	100ملغ/مل	
Escherichia coli	0	0	0	0	0	
Salmonella typhi	7	8	9	8	9	
Pseudomonas aeruginosa	6	7	9	6	0	
Staphylococcus aureus	7	0	10	10	9	
Shigella dysenteriae	7	8	8	7	0	
Klebsiella pneumoniae	8	9	9	8	9	



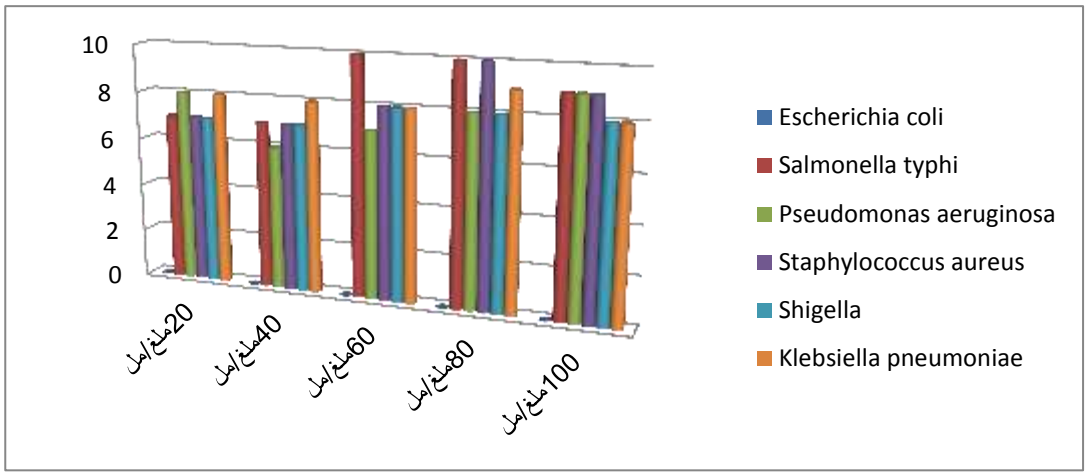
الوثيقةV –4: درجة الكبت لمستخلص (الايثانول+الماء) لجميع السلالات البكتيرية.

❖ **تفسير النتائج :**

من خلال النتائج المتحصل عليها في الجدول(V–5) والوثيقة(V–4) نلاحظ أن مستخلص(الايثانول+ الماء) لم يعطي أي فعالية اتجاه بكتيريا *Escherichia Coli*. وكانت له نتائج إيجابية مع باقي السلالات البكتيرية المدروسة حيث سجل اكبر قطر تثبيط (10 ملم) اتجاه *Staphylococcus aureus* عند التركيز (60 و80 ملغ/مل) واقل قطر تثبيط (6 ملم) اتجاه *Pseudomonas aeruginosa* عند التركيز(20 و 80 ملغ/مل) يمكن استنتاج أن مستخلص (الايثناول+ الماء) يملك فعالية مضادة للبكتريا متوسطة الحساسية.

جدول v–6: أقطار التثبيط(ملم) لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة لمستخلص الماء.

الأثر التثبيطي	مستخلص الماء لأوراق نبات التبغ					العينة
	100ملغ/مل	80ملغ/مل	60ملغ/مل	40ملغ/مل	20ملغ/مل	انواع البكتيريا
	0	0	0	0	0	***Escherichia coli***
	9	10	10	7	7	***Salmonella typhi***
	9	8	7	6	8	***Pseudomonas aeruginosa***
	9	10	8	7	7	**Staphylococcus aureus**
	8	8	8	7	7	*Shigella dysenteriae*
	8	9	8	8	8	*Klebsiella pneumoniae*



الوثيقةV –5: درجة الكبت لمستخلص الماء لجميع السلالات البكتيرية.

❖ **تفسير النتائج :**

من خلال النتائج المتحصل عليها في الجدول(V–6) والوثيقة(V–5) نلاحظ أن مستخلص الماء لم يعطي أي فعالية اتجاه بكتيريا *Escherichia Coli*، وكانت له نتائج إيجابية مع باقي السلالات البكتيرية المدروسة حيث سجل اكبر قطر تثبيط (10 ملم) اتجاه *Salmonella typhi* عند التركيز (60 و80 ملغ/مل) و *Staphylococcus aureus* عند التركيز (80 ملغ/مل) واقل قطر تثبيط (6 ملم) اتجاه *Pseudomonas aeruginosa* عند التركيز(40 ملغ/مل) يمكن استنتاج أن مستخلص الماء يملك فعالية مضادة للبكتيريا متوسطة الحساسية.

نتيجة عامة :

نلاحظ أن هناك فروقات واضحة بين السلالات البكتيرية المختبرة، مع مستخلصات (الإيثانول، الماء، (الإيثانول+ الماء)) .حيث كانت السلالات البكتيرية حساسة لها، أما *Escherichia Coli* فحساسيتها كانت منعدمة. في حين أظهرت جميع السلالات البكتيرية حساسية معتبرة اتجاه المضاد الحيوي *Gentamycine(GEN)*.

خلاصة عامة

تعتبر أوراق نبات التبغ أكثر جزء مستخدم من النبات ككل، ولأن أوراق نبات التبغ شائعة الاستخدام من قبل الكثير من الناس من مختلف الأعمار وبجميع أشكالها سجائر ، نرجيلة. ولهذا قمنا بإختبار الفعالية المتواجد فيها ضد البكتيريا.

وتم في هذه الدراسة استخلاص أوراق نبات التبغ حيث تم إتباع طريقة النقع في المذيب (إيثانول) والنقع (ماء) والنقع (ايثانول+ماء(20/80))، وعلى ضوء النتائج المتحصل عليها يمكننا أن نستنبط النقاط التالية:

✓ بعد تجفيف المستخلصات لوحظ أن أكبر مردود كان في مستخلص الماء(39.2%)على غيره من المستخلصات.

✓ بعد قيام بالكشوفات الكيمائية لوحظ غنى أوراق نبات التبغ بالعديد من المنتجات الطبيعية من تربينات، كحولات ،أحماض كربوكسيلية ، فينولات وقلويدات.

✓ عند التقدير الكمي للفينولات باستخدام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية لوحظ أن أكبر كمية كانت في مستخلص الإيثانول قدرت ب(32.25 ملغ/غ).

✓ إختبار الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلصات المدروسة تجاه ست أنواع بكتيرية، أظهرت نتائج متقاربة لكن مستخلص الإيثانول سجل أعلى قطر تثبيط حيث قدر ب (13 ملم) عند التراكيز(100/80 ملغ/مل) عند النوع البكتيري*Klebsiella pneumoniae* .

رغم أن النتائج كانت مقبولة وهي نتائج لم تتطرق لها المراجع، إلا أن التطبيق الميداني للمستخلصات المائية والإيثانولية لأوراق نبات التبغ يتطلب إنضمام تخصصات أخرى مكملة ، أبحاث ودراسات تشمل :

توسيع دائرة هذا البحث على هذه المستخلصات بإستعمال طرق وتقنيات أكثر حداثة وخاصة في مجال الكائنات الحية الدقيقة وكذا عدد العينات المختبرة من كل نوع .

الملاحق

الملحق1: الأجهزة المستعملة

حاضنة

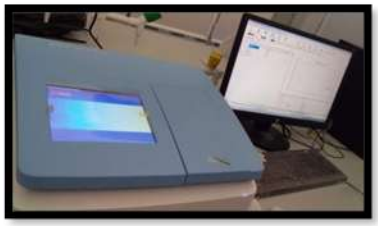
ميزان حساس

جهاز تبخير دوارني

معقمة

حاضنة البكتيريا

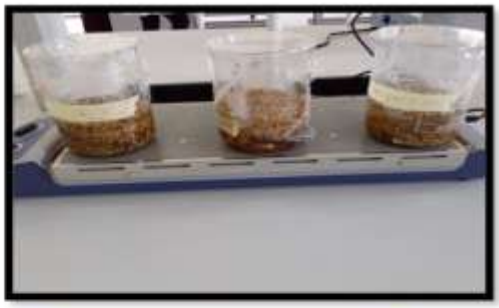
موقد بنزان



جهاز UV–visible

الملحق2: تحضير المستخلصات

تجفيف أوراق التبغ



نقع اوراق التبغ

مستخلص الإيثانول

مستخلص الإيثاول +ماء

مستخلص الماء

ترشيح المستخلصات

تبخير المستخلصات

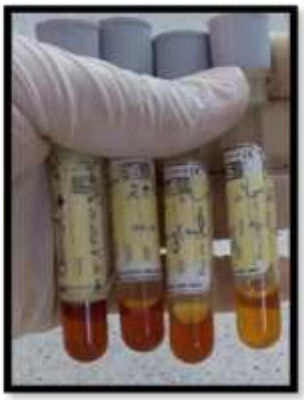
المستخلصات الخام

الملحق 3: دراسة الفعالية المضادة للبكتريا

إذابة المستخلصات في DMSO

تراكيز مستخلص الماء

تراكيز مستخلص الإيثانول



تراكيز مستخلص الإيثانول+الماء

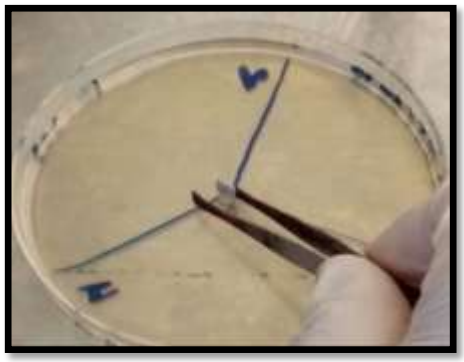
تسخين محلول الغلوكوز Muller Hinton

ملئ علب بيتري

أخذ الجذمة البكترية

زرع الجذمة البكترية في الماء الفيزولوجي

زرع نوع بكتيري على وسط الجيلوز



وضع الأقراص على وسط الجيلوز

المضاد الحيوي Gentamycine(GEN)

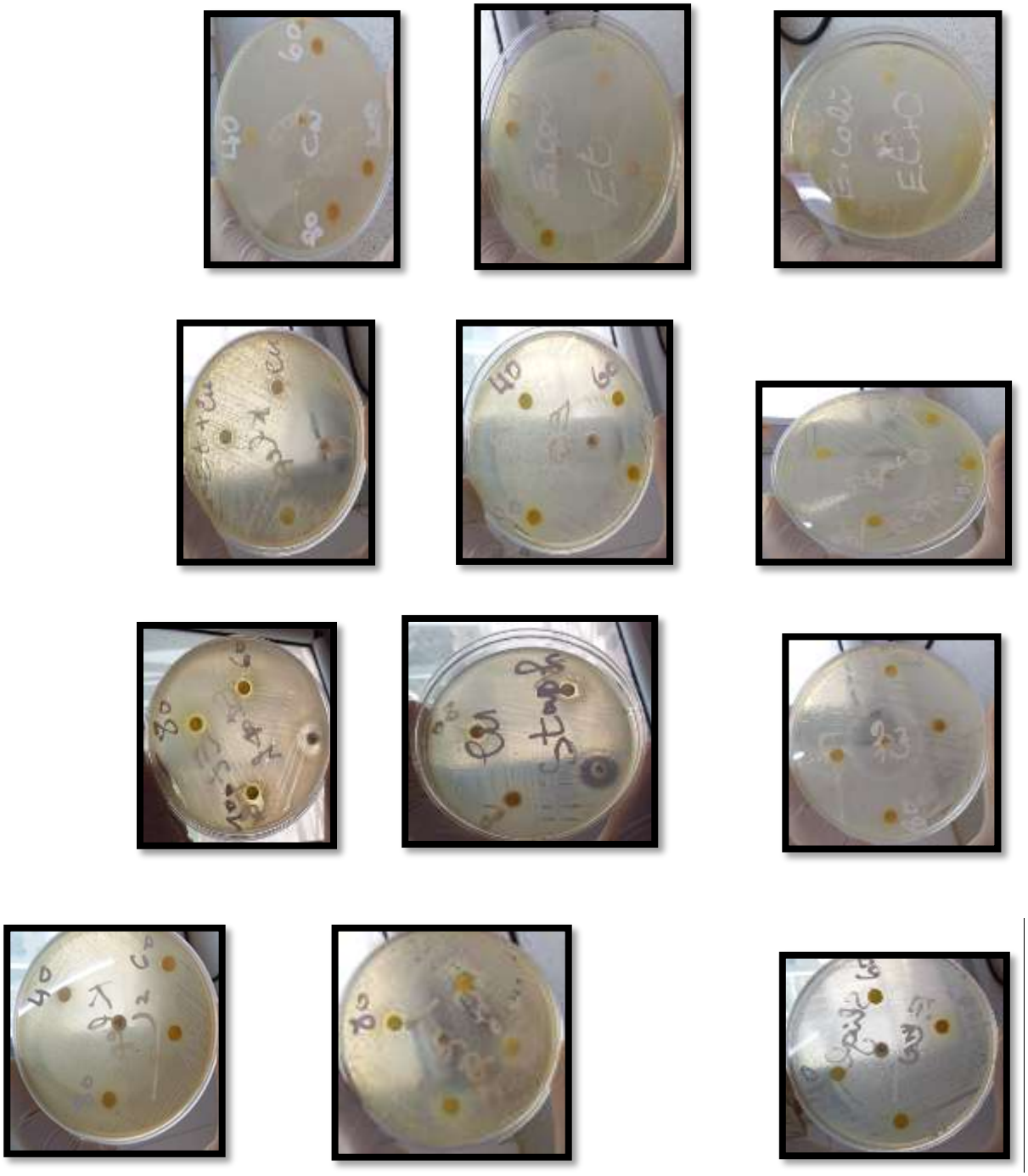
الملحق 4: يوضح مجالات أقطار تثبيط مضادات الحيوية .

Table de lecture 1* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour ***Entérobactéries***

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8	La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline
Amoxicilline +Ac.clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4	Les breakpoints des céphalosporines et de l'Aztréonam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises : céfazoline (2g toutes les 8h), **céfoxitine (2g toutes les 6h)**, céfotaxime (1g toutes les 8h), ceftriaxone (1g toutes les 24h)… Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R, I ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesurés. A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière. (voir chapitre recherches complémentaires).
Céfazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	
Céfalotine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Céfoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	
Céftriaxone	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	
Imipénème / Méropénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	Les breakpoints des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes : Imipénème : 500 mg toutes les 6h ou 1 g toutes les 8h, Ertapénème : 1g toutes les 24h, Méropénème : 1g toutes les 8h. La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques (voir chapitre recherches complémentaires).
Ertapénème	10µg	**≤ 18**	**19 - 21**	**≥ 22**	**≥ 2**	1	**≤ 0,5**	
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	---	≤ 16	
Ciprofloxacine	**5µg**	**≤ 15**	**16 – 20**	**≥ 21**	**≥ 4**	**2**	**≤ 1**	**Valable pour entérobactéries autres que *Salmonella* Typhi et *Salmonella* spp. extra-intestinales.**
	5µg	**≤ 20**	**21 – 30**	**≥ 31**	**≥ 1**	**0.12 – 0.5**	**≤ 0.06**	**Valable pour *S.*Typhi et *Salmonella* spp. extra-intestinales.**
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Ne pas tester en routine sauf pour les salmonelles.
Colistine	-------	-------	-------	-------	---------	------	---------	Ne tester à l'antibiogramme que pour un but diagnostique. (résistance si culture au contact du disque ou présence d'une cocarde).
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32	
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64	Indiqué uniquement pour les souches d'*E.coli*isolées d'infections urinaires. **Le disque de 200µg contient 50µg de glucose-6-phosphate.** La CMI est déterminée par la technique de dilution en gélose supplémentée de 25µg/ml de glucose 6-phosphate.
Triméthoprime+Sulf améthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38	

***Tableau extrait du Document M100 – S23. Vol. 33, n°1. 2013. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-third informational supplement.**
** Extraits des recommandations 2013 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

ملحق5:نتائج أقطار التثبيط المتحصل عليها من دراسة الفعالية البيولوجية.



الملخص :

تطرقنا في هذا البحث إلى دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات (مستخلص الإيثانول، مستخلص الماء، مستخلص الإيثانول+الماء) لأوراق نبات التبغ *Nicotiana Tabacum*

تم الكشف عن المنتجات الطبيعية حيث أظهرت النتائج غناها بمعظمها.

ثم التقدير الكمي للمركبات الفينولية الكلية بإستعمال جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية *UV-Visible*.

أما بالنسبة للفعالية المضادة للبكتيريا، وجدنا أن السلالات البكتيرية المدروسة كانت أكثر حساسية حيث كان المستخلص الأكثر فعالية ضد البكتيريا هو مستخلص الإيثانول الذي بلغ قطر تثبيطه (13 ملم) عند البكتيريا *Klebsiella pneumoniae* .

الكلمات المفتاحية: *Nicotiana Tabacum* ، المستخلصات ، الفعالية المضادة للبكتيريا،

Abstract :

In this paper, we studied the biological efficacy of extracts (ethanol extract, water extract, ethanol / water extract) for leaves of tobacco plant Nicotiana Tabacum. And then the detection of natural products where the results showed rich in most of them. And then quantification of total phenolic compounds using Uv-Visible. As for antibacterial efficacy, we found that the bacterial strains studied were more sensitive. The most effective extract against bacteria was the ethanol extract, which had a diameter of (13 mm) in the Klebsiella pneumonia

Key words: Nicotiana Tabacum, Extracts, Antibacterial Efficacy, Extraction.