الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي
كلية العلوم الدقيقة
قسم الكيمياء

رقم الترتيب:.....
الرقم التسلسلي:.....

مذكرة تخرج لنيل شهادة
ماستر أكاديمي في الكيمياء
تخصص: كيمياء عضوية

إعداد الطالبة زبيدي فاطمة الزهراء

تحت عنوان:

كشف واستخلاص الفينولات والتربينات الثلاثية والستيرويدات لطلع النخيل ودراسة فعاليته البيولوجية

نوقشت يوم: 2018/06/09

أما اللجنة المكونة من:

التجاني سكينة	أستاذة محاضرة أ	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي	رئيسا
نموسة التجاني يحي	أستاذ مساعد أ	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي	ممتحنا
سويعي بلقاسم	أستاذ مساعد أ	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي	ممتحنا
تامة نور الدين	أستاذ محاضر ب	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي	مؤطرا

السنة الجامعية: 2018/2017م

الملخص

إن الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تقدير كمي ونوعي للمنتجات الفعالة (التربينات الثلاثية والسترويدات، والفينولات) الموجودة في طلع النخيل (حبوب اللقاح) لما له أهمية كبيرة في علاج الكثير من الأمراض، وتمكنا في هذه الدراسة من تحديد هذه المنتجات وذلك من خلال الكشف والاستخلاص.

وقد قمنا بالتقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة جهاز الأشعة فوق البنفسجية UV-Visible حيث بينت النتائج أن الكمية الكلية للمركبات الفينولية كانت أكبر عند المستخلص الفينولي لمنطقة العلندة وقدرت بـ (494.496 mgEAG/g)، بينما كمية الفلافونويدات الكلية كانت بكمية أكبر عند المستخلص الفينولي لمنطقة الحمراية فقد قدرت بـ (229.59 mgER/g)، ثم تلاها تقدير كمي ونوعي بواسطة جهاز الـ HPLC، حيث وجدنا إحتواء المستخلصات الفينولية على أغلب المركبات المرجعية بنسب متفاوتة.

كما تم أيضا اختبار الفعالية المضادة للأكسدة بالنسبة للمركبات الفينولية بواسطة تقنية الفولطامتري الحلقي، حيث سجلنا القدرة الإجمالية للفعالية المضادة للأكسدة الأكبر لدى مستخلص منطقة الحمراية المقدرة بـ (8.648 mgE/g) وفي الأخير قمنا باختبار الفعالية المضادة للبكتيريا لهذه المستخلصات على ثلاث أنواع من البكتيريا وكانت النتيجة إيجابية ضد نوع من البكتيريا وهي *Listeria monocytogenes* حيث سجلنا قدرة تثبيطية جد فعالة عند المستخلص التربيني لمنطقة العلندة قدرت بـ 26 mm عند التركيز الأعلى وهي أكبر من الأقطار التثبيطية لدى المضادات الحيوية الصناعية (Ampicilin و Amoxicilin)

الكلمات المفتاحية: طلع النخيل (حبوب اللقاح)، المنتجات الفعالة (التربينات الثلاثية والسترويدات، المركبات الفينولية)، الفعالية البيولوجية.

Résumé

L'objectif principal de cette étude est une évaluation quantitatifs et qualitatifs des produits efficaces (Triterpène et stéroïdes , phénols) présents dans le pollen de palm, qui est d'une grande importance dans le traitement de nombreuses maladies. dans cette étude, nous avons pu pour identifier ces produits par détection et l'extraction.

Nous avons quantifié les composés phénoliques au moyen du dispositif UV-Visible Les résultats ont montré que la quantité totale de composés phénoliques était plus élevés dans l'extrait phénolique de la région d'Alanda estimé à (494.496 mgEAG /g), alors que les flavonoïdes totaux étaient plus élevés dans l'extrait phénolique de la région d'Hamraia estimé à (229,59 mgER /g), suivi d'une estimation quantitative et qualitative par le dispositif HPLC, Nous avons trouvé que les extraits phénoliques contenaient la plupart des composés de référence dans des proportions variables.

L'efficacité antioxydant a également été testée pour les composés phénoliques par la technique de voltamétrie cyclique, où nous avons enregistré la capacité totale de l'effet antioxydant supérieur à l'extrait de la région d'Hamraia (8.648 mgE /g).

Enfin, nous avons testé l'efficacité antibactérienne de ces extraits sur trois types de bactéries et le résultat était positif contre un seul type de bactéries, à savoir les bactéries *Listeria monocytogenes*, où nous avons enregistré un pouvoir inhibiteur très efficace à l'extrait de Alanda estimé à 0,26 mm à la concentration maximale qui est supérieure à Les diamètres inhibiteur chez les antibiotique industrielles (Amoxicilline , Ampicilline).

Mots-clés: palme pollen, produits actifs (Triterpène et stéroïdes, composés phénoliques), efficacité biologique.

الفهارس

فهرس المحتويات

شكر وتقدير
ملخص
Résumé
فهرس الموضوعات
فهرس الجداول
فهرس الأشكال والصور
قائمة الرموز
المقدمة
المراجع

الجانب النظري

الفصل الأول

عموميات حول طلع النخيل ومنطقة القطف

I-1- الموقع الجغرافي لمنطقة القطف	8
I-2- مميزات الغطاء النباتي في سوف	8
I -3- تعريف النباتات الطبية	9
I -4- تصنيف النباتات الطبية	9
I-4-1- التصنيف المورفولوجي	10
I-4-2- التصنيف الفيزيولوجي	10
I-4- 3- التصنيف الكيميائي	11
I-4- 4- التصنيف التجاري	11
I -5- مصدر النباتات الطبية	12
I -6- أهمية النباتات الطبية	12
I -7- طرق استخلاص النباتات الطبية	12
I-8- النخيل	13
I-8-1- التوزيع الجغرافي للنخيل	13
I-8-2- التصنيف العلمي للنخلة	14
I-8-3- الوصف المورفولوجي للنخلة	15

الفهرس

I-9- طلع النخيل	18
I-9-1- تعريف الطلع	18
I-9- 2- الوصف المورفولوجي لطلع النخيل	20
I-9- 2- 1- الشكل	20
I-9- 2- 2- الحجم	20
I-9- 2- 3- الزخرفة السطحية	20
I-9- 2- 4- أنواع وعدد ومواقع فتحات الإنبات	20
I-9-3- مراحل تكون الطلع	21
I-9-4- المكونات الغذائية لحبوب اللقاح	22
I-9- 5- الاستعمالات الطبية للقاح النخيل(طلع) وفوائده العلاجية	23
المراجع	

الفصل الثاني

منتجات الأيض الثانوي

II- 1- المنتجات الطبيعية الفعالة	29
II- 1-1- الأيض الأولي	29
II- 1-2- الأيض الثانوي	29
II- 2- التربينات Les Terpènes	29
II- 2-1- تعريف التربينات	29
II- 2-2- تصنيف التربينات	30
II- 2-2-1-التربينات الأحادية (Monoterpène)	30
II- 2-2-2- سيسكوتربينات (Sesquiterpène)	31
II- 2-2-3- التربينات الثنائية (Diterpène)	32
II- 2-2- 4- السيسترتربينات (Sesterterpène)	33
II- 2-2- 5- التربينات الثلاثية (Triterpène)	33
II- 2-2- 6- التربينات الرباعيات (Tetraterpène)	33
II- 2-2-7- متعدد التربينات (Polyterpène)	33
II-2- 3- التربينات الثلاثية Les Triterpène	33
II-2- 3-1- تعريف التربينات الثلاثية	33
II- 2-3-2- تصنيف التربينات الثلاثية	34

II- 2-3- 3- أهمية التربينات الثلاثية	34
II- 2-3-3-1- دور التربينات الثلاثية عند الإنسان	34
II- 2-3-3-2- دور التربينات الثلاثية عند النبات	35
II- 3- الستيرويدات Les Stéroïdes	35
II- 3-1- تعريف	35
II- 3- 2- بعض المركبات الستيرويدية	36
II- 4- المركبات الفينولية Les Polyphénols	36
II- 4-1- تعريف	36
II- 4- 2- أهمية المركبات الفينولية	37
II- 4- 3- أقسامها	37
II- 4- 3-1- عائلة المركبات الفينولية قليلة الانتشار	37
II- 4- 3-1-1- المركبات الفينولية من الشكل (C_6-C_3, C_6-C_1, C_6)	37
II- 4- 3-1-2- المركبات الفينولية من الشكل (C_6-C_4, C_6-C_3)	38
II- 4- 3-1- 3- المركبات الفينولية من الشكل (C_6-C_2-C_6, C_6-C_1-C_6)	38
II- 4- 3-2- عائلة المركبات الفينولية واسعة الانتشار	39
II- 4- 3-2-1- الأحماض الفينولية	39
II- 4- 3-2-1-1- أحماض البنزويك C_6-C_1	39
II- 4- 3-2-1-2- أحماض سيناميك C_6-C_3	39
II- 4- 3-2-2- الكومارينات C_6-C_3	40
II- 4- 3-2- 3- الفلافونويدات	40
II- 4- 5-2- 3- 1- تصنيف الفلافونويدات	41
المراجع	

الفصل ثالث

الفعالية البيولوجية

III- 1- الفعالية المضادة للبكتيريا	48
III- 1-1- تعريف البكتيريا	48
III- 1-2- بنية البكتيريا	48
III- 1- 3- خصائص البكتيريا	49
III- 1- 4- تصنيف البكتيريا	49

الفهرس

III- 1- 4-1- من حيث الشكل	49
III- 1- 4- 2- من حيث توزيع أسواطها	50
III- 1- 4- 3- من حيث تركيب جدارها الخلوي	50
III- 1- 4- 4- من حيث الوسط الذي تعيش فيه	50
III-1- 4- 5- من حيث التغذية	50
III- 1- 4- 6- من حيث الأثر على الإنسان	50
III- 1- 5- البكتيريا المستعملة في الدراسة	51
III- 1- 5- 1- البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*	51
III- 1- 5- 2- البكتيريا المعوية *Escherichia coli*	52
III- 1- 5- 2- البكتيريا *Listeria monocytogene*	52
III- 2- المضادات الحيوية	53
III- 2- 1- تعريف المضادات الحيوية	53
III- 2- 2- أنواع المضادات الحيوية	53
III- 2- 2-1- مضادات حيوية كابحة للنشاط الخلية البكتيرية	53
III- 2- 2-2- مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية	53
III- 2- 3- تأثير المضادات الحيوية	54
III- 2- 3-1- العمل على الجدار الخارجي للبكتيريا	54
III- 2- 3- 2- العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا	54
III- 2- 3- 3- العمل على تثبيط نمو الـ ADN	54
III- 2- 4- طريقة تحديد درجة حساسية المضادات الحيوية	54
III- 2- 4- 1- خواص الجذمة البكتيرية (La souche bactérienne)	54
III- 2- 5- حساسية البكتيريا	54
III- 2- 5- 1- طريقة دراسة فعالية المضاد البكتيري	55
III- 2- 5- 2- طريقة الأنتيبيوغرام القياسي L'antibiogramme	55
III- 2- 5- 2-1- طريقة التمديد Méthode de dilution	55
III- 2- 5- 2-2- طريقة الانتشار Méthode de diffusion	55
III- 3- الفعالية المضادة للأكسدة	56
III- 3-1- اختبار الفولطامتري الحلقي Cyclic Voltammetry	56
III-3-1-1- تعريف	56

III- 3-1-2- الأجهزة المستعملة في الفولطامتري الحلقي	57
III- 3-1-3 -الخصائص الكهروكيميائية للفينولات	58
المراجع	
الجزء العملي	
الفصل الرابع	
المواد والطرق	
IV-1- جمع عينات النبتة المدروسة (طلع النخيل Palm pollen)	65
IV-1-1- وقت جمع طلع النخيل (Palm pollen)	65
IV-1-2- تجفيف الطلع	65
IV-1-2- تخزين الطلع (الحفظ)	65
IV-2- المواد والأجهزة المستعملة	66
IV-2-1- الأجهزة والأدوات المستعملة	66
IV-2-2- المحاليل المستعملة	66
IV-2-3- المذيبات العضوية المستعملة	66
IV-2-4- الكحولات المستعملة	66
IV-2-5- الكواشف المستعملة	66
IV-2-6- المستخلصات المدروسة	67
IV-3- الكشف عن مواد الأيض الثانوي لطلع النخيل (Palm pollen)	67
IV-3-1- الكشف عن التربينات الثلاثية والستيرويدات	67
IV-3-2- الكشف عن الفينولات	68
IV-3-3- الكشف عن الفلافونويدات	68
IV-4- استخلاص مواد الأيض الثانوي من طلع النخيل (حبوب اللقاح)	68
IV-4-1- استخلاص التربينات الثلاثية والستيرويدات	68
IV-4-2- استخلاص المركبات الفينولية	70
IV-5- التقدير الكمي بواسطة مطيافية الاشعة فوق البنفسجية – المرئية	72
IV-5-1- مبدأ العمل	72
IV-5-2- التقدير الكمي للمركبات الفينولية	73
IV-5-2-1- رسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك	73

IV- 2- التقدير الكمي للفينولات في المستخلصات	74
IV- 5- 3- التقدير الكمي للفلافونويدات	75
V- 5- 3- 1- رسم المنحنى القياسي لحمض الروتين	75
IV- 5- 3- 2- التقدير الكمي للفلافونويدات في المستخلصات	76
IV-6- التحليل الكيفي بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية HPLC	76
IV- 6-1- التحليل الكيفي والكمي	76
IV- 6-1-1- الشروط التجريبية	77
IV- 7-2 -الخصائص الكهروكيميائية للفينولات	86
IV- 7-2- 2- طريقة تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	78
V- 7- 2-2- رسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك	80
IV- 8- الفعالية البيولوجية	81
IV- 8- 1- جمع السلالات البكتيرية	81
IV- 8- 2- تحضير محاليل مستخلصات الدراسة	81
IV- 8- 3- تحضير الأقراص	81
IV- 8- 4- تحضير وسط الزرع	82
IV- 8- 5- تحضير المعلق البكتيري	82
IV- 8- 6- وضع الأقراص المشبعة بالتراكيز المحضرة	82
V- 8- 7- أنواع البكتيريا المدروسة	82
المراجع	
الفصل الخامس	
النتائج والمناقشة	
V-1- الكشف عن مواد الايض الثانوي في طلع النخيل Palm Pollen (حبوب اللقاح)	87
V-2- مردود الاستخلاص	88
V- 3- التقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة جهاز المطيافية الأشعة UV-Visible	90
V- 4- التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة جهاز المطيافية الاشعة UV-Visible	92
V- 5- التقدير الكمي للفينولات بواسطة الـ HPLC	93
V- 6- الفعالية المضادة للأكسدة	97
V- 7- الفعالية البيولوجية	99
الخاتمة	106

الفهرس

الملاحق	109

فهرس الجداول

الجزء النظري

الفصل الأول: عموميات حول طلع النخيل ومنطقة القطف		
جدول I-1	التصنيف العلمي للنخيل	14
جدول I- 2	يوضح الفرق بين الطلع الذكري والطلع الأنثوي	19
جدول I-3	يوضح مراحل تكوين الطلع	21
جدول I-4	يوضح المكونات الغذائية لحبوب لقاح النخل	22
الفصل الثاني: منتجات الأيض الثانوي		
الجدول II- 01	جدول يوضح أقسام التربينات	30
الفصل الثالث: الفعالية البيولوجية		
الجدول III-01	تصنيف بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*	52
الجدول III-02	تصنيف بكتيريا *Escherichia coli*	52
الجدول III-03	البكتيريا *Listeria monocytogene*	53
الفصل الرابع: المواد والطرق		
جدولIV-01	قيم الامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الغاليك	73
جدولIV-02	قيم الامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الروتين	75
جدولIV-03	زمن المكوث للفينولات المرجعية	77
جدولIV-04	الشروط التجريبية لجهاز الـ HPLC لفصل المركبات الفينولية	77
جدولIV-05	تغيرات نسب الطور المتحرك A و B بدلالة الزمن	78
جدولIV-06	قيم كثافة التيار المتحصل عليها بدلالة التركيز	80
الفصل الخامس: النتائج والمناقشة		
الجدول V-01	مردود الإستخلاص للمركبات الفينولية:	89
الجدول V-02	مردود الاستخلاص للتربينات الثلاثية والستيرويدات	90
الجدول V-03	قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة	90
الجدول V-04	المركبات الفينولية كمية الكلية في المستخلصات	91
الجدول V-05	قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة	92
الجدول V-06	كمية الفلافونويدات في المستخلصين	92

الفهرس

الجدول V-07	المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلص PPH_{ph}	94
الجدول V-08	المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلص PPA_{ph}	95
الجدول V-09	يوضح المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلصين وكميتها	96
الجدول V– 10	كمية مضادات الأكسدة في المستخلصات النباتية بإستعمال الفولطامتري الحلقي	98
الجدول V– 11	تراكيز المستخلصات المحضرة للدراسة البيولوجية	99
الجدول V– 12	أقطار التثبيط للبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* الناتجة عن التراكيز المختلفة للمستخلصات	99
الجدول V– 13	أقطار التثبيط للبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* الناتجة عن التراكيز المختلفة للمضادات الحيوية	100
الجدول V– 14	أقطار التثبيط للبكتيريا *Escherichia coli* الناتجة عن التراكيز المختلفة للمستخلصات	101
الجدول V– 15	أقطار التثبيط للبكتيريا *Escherichia coli* الناتجة عن التراكيز المختلفة للمضادات الحيوية	101
الجدول V– 16	أقطار التثبيط للبكتيريا *Listeria monocytogenes* الناتجة عن التراكيز المختلفة للمستخلصات	103
الجدول V– 17	أقطار التثبيط للبكتيريا *Listeria monocytogenes* الناتجة عن التراكيز المختلفة للمضادات الحيوية	103

فهرس الأشكال والصور

الجزء النظري

الفصل الأول: عموميات حول طلع النخيل ومنطقة القطف

الشكل I-01	الموقع الجغرافي لمنطقة وادي سوف	08
الشكل I-02	الانتشار الجغرافي للنخيل في العالم	13
الشكل I-03	يوضح صورة فوتوغرافية للنخلة	14
الشكل I-04	يوضح شكل ورقة النخيل ومختلف أجزائها	15
الشكل I-05	يوضح الأزهار المذكرة للنخيل	17
الشكل I-06	يوضح الأزهار المؤنثة للنخيل	17
الشكل I-07	يوضح مقطع عرضي لأزهار النخيل	18
الشكل I-08	يوضح طلع النخيل	18
الشكل I-09	يوضح مسحوق طلع النخيل	19
الشكل I-10	صورة بالمجهر الإلكتروني لطلع النخيل الذكري (حبوب اللقاح)	21

الفصل الثاني: منتجات الأيض الثانوي

الشكل II-01	الوحدة الأساسية لبناء التربينات	30
الشكل II- 02	تربينات أحادية مفتوحة الحلقة	31
الشكل II- 03	تربينات أحادية - أحادية الحلقة	31
الشكل II- 04	تربينات أحادية ثنائية الحلقة (سداسية- ثلاثية)	31
الشكل II- 05	بعض أنواع السيسكوتربينات	32
الشكل II- 06	التربينات الثنائية اللاحلقية	32
الشكل II- 07	التربينات الثنائية أحادية الحلقة	32
الشكل II- 08	تربينات ثنائية ثلاثية الحلقة	32
الشكل II- 09	تربينات رباعية β كاروتين	33
الشكل II- 10	أمثلة عن التربينات الثلاثية رباعية وخماسية الحلقة	34
الشكل II- 11	الوحدة الأساسية لتكوين الستيرويدات	35
الشكل II- 12	بعض المركبات الستيرويدية	36
الشكل II- 13	نموذج لفينول بسيط	37

الشكل II- 14	بعض المركبات الفينولية من الشكل (C_6-C_3, C_6-C_1, C_6)	38
الشكل II- 15	بعض المركبات الفينولية من الشكل(C_6-C_4, C_6-C_3)	38
الشكل II- 16	بعض المركبات الفينولية من الشكل(C_6-C_2-C_6, C_6-C_1-C_6)	38
الشكل II-17	أمثلة عن أحماض البنزويك(C_6-C_1)	39
الشكل II- 18	أمثلة عن أحماض السيناميك C_6-C_3	39
الشكل II- 19	يوضح الهيكل الأساسي للكومارين	40
الشكل II- 20	الشكل العام للفلافونويدات	41
الشكل II- 21	بعض أصناف الفلافونويدات	42

الفصل الثالث: الفعالية البيولوجية

الشكل III-01	رسم تخطيطي لخلية بكتيرية	49
الشكل III-02	قطر منطقة التثبيط للبكتيريا	56
الشكل III-03	المنحنى العام للفولطامتري الحلقي	57
الشكل III-04	الخلية المستعملة في الفولطامتري الحلقي	58
الشكل III-05	تفاعل أكسدة المركبات الفينولية و تشكل جذر الفينوكسيل	59

الجانب التطبيقي

الفصل الرابع: المواد والطرق

الشكل IV-01	مخطط يوضح طريقة استخلاص التربينات الثلاثية والستيرويدات	69
الشكل IV-02	مراحل استخلاص التربينات الثلاثية والستيرويدات	70
الشكل IV-03	مخطط يوضح طريقة استخلاص الفينولات	71
الشكل IV-04	مراحل استخلاص الفينولات	72
الشكل IV-05	المنحنى القياسي لحمض الغاليك	74
الشكل IV-06	المحاليل بعد إضافة كاشف فولين	74
الشكل IV-07	المنحنى القياسي لحمض الروتين	75
الشكلIV- 08	المحاليل بعد إضافة ثلاثي كلوريد الحديد	76
الشكلIV- 09	المسارى على الترتيب: (1) المسرى المرجعي، (2) المسرى المساعد،(3) مسرى العمل	79
الشكلIV- 10	المنحنيات الفولطامترية الحلقية لحمض الغاليك	80

الشكلIV- 11	المنحنى القياسي لـ (AG) حسب الطريقة الفولطامترية الحلقية	81
	الفصل الخامس: النتائج والمناقشة	
الشكل V- 01	الكشف عن التربينات الثلاثية والستيرويدات	87
الشكل V- 02	الكشف عن التربينات الثلاثية والستيرويدات باستخدام ورق CCM	87
الشكل V- 03	الكشف عن المركبات الفينولية	88
الشكل V- 04	الكشف عن الفلافونويدات	88
الشكل V- 05	مخطط يوضح نسبة مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية	89
الشكل V- 06	مخطط يوضح نسبة مردود الاستخلاص للتربينات الثلاثية والستيرويدات	90
الشكل V- 07	مخطط يوضح كمية الفينولات الكلية في المستخلصين	91
الشكل V- 08	مخطط يوضح مقارنة بين كمية الفينولات والفلافونويدات في المستخلصين	92
الشكل V- 09	يوضح الكروماتوغرام الناتج عن العينة PPH_{ph}	93
الشكل V- 10	يوضح الكروماتوغرام الناتج عن العينة PPA_{ph}	94
الشكل V- 11	مقارنة بين كميات المركبات الفينولية في المستخلصين	97
الشكل V- 12	المنحنى الفولطامتري الحلقي للمستخلص الفينولي PPH_{ph}	97
الشكل V- 13	المنحنى الفولطامتري الحلقي للمستخلص الفينولي PPA_{ph}	98
الشكل V- 14	الأثر التثبيطي للمستخلصات التربينية والفينولية لطلع النخيل (حبوب اللقاح) على البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*	100
الشكل V- 15	الأثر التثبيطي للمضادات الحيوية على البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*	100
الشكل V- 16	الأثر التثبيطي للمستخلصات على البكتيريا *Escherichia coli*	102
الشكل V- 17	الأثر التثبيطي للمضادات الحيوية على البكتيريا *Escherichia coli*	102
الشكل V- 18	الأثر التثبيطي للمضادات الحيوية على البكتيريا *Listeria monocytogenes*	103
الشكل V- 19	الأثر التثبيطي للمستخلصات على البكتيريا *Listeria monocytogenes*	104

قائمة الرموز

الرمز	المعنى
A.G	Acide gallic
$AlCl_3$	Chlorure d'aluminium
MeOH	Methanol
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
CCM	Chromatographie en couche mince
$NaCO_3$	Carbonate de Sodium
UV-Visibe	Ultra Violet- Visible
PPH	Palm Pollen de Hamraia
PPA	Palm Pollen de Alanda
H2SO4	Acide Sulfirique

مقدمة عامة

مقدمـة عامة

تزخر الجزائر بأنواع كثيرة من النباتات الطبية ذات أهمية بالغة في حياتنا، منها ما يعتبر مصدر هام للحصول على الأدوية التي تتمثل في المواد الفعالة بيولوجيا والمفصولة من النباتات الطبية، والمصدر الثاني للأدوية الذي يستعمل كثيرا في هذا العصر هو تخليق المواد الكيميائية المصنعة في المعامل والشركات، ونتيجة للإستعمال المكثف للأدوية الصناعية ظهرت بعض الأمراض الفتاكة التي لم تكن معروفة من قبل، مثل ظهور حالات السرطان الخبيثة التي تهاجم معظم الأعضاء الداخلية، وأمراض أخرى ناتجة عن قدرة البكتيريا على تطوير مقاومتها للمضاد الحيوي. [1]

ومن جهة أخرى لوحظ أن الأدوية الطبيعية ليس لها تأثيرات جانبية ولا أضرارا سلبية عند تناولها فهي تحتوي على مواد فعالة من النواحي البيولوجية و الفيزيولوجية والكيميائية داخل جسم الإنسان مؤدية إلى حصول العلاج وتمنع أي أضرار جانبية للمواد الفعالة. [2]

منطقة وادي سوف من بين المناطق الغنية بالنباتات الطبية التي يستخدمها أهل المنطقة، ومن بين هذه النباتات طلع النخيل (حبوب اللقاح)، إذ أن زراعة النخيل في سوف تعتبر من أهم الزراعات المنتشرة في المنطقة ولا يكاد يخلو أي بيت من هذه الشجرة، لما لها من فوائد جمه، إذ يستخدم طلعها في العديد من المجالات الطبية والصناعية.

وفي هذا العمل سنقوم بدراسة طلع النخيل (حبوب اللقاح Palm Pollen) لمنطقتين مختلفتين من وادي سوف وهما (منطقة الحمراية ومنطقة العلندة) وجاءت هذه الدراسة لمعرفة المنتجات الطبيعية الموجودة في الطلع وذلك من خلال إستخلاص المنتجات الفعالة ودراسة النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للبكتيريا.

تهدف الدراسة إلى:

- استخلاص التربينات الثلاثية والستيرويدات والمركبات الفينولية.
- تحديد وتقدير كمية الفينولات المستخلصة.
- دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية بالطريقة الكهروكيميائية.
- دراسة الفعالية المضادة للبكتريا لها.

ومن هنا نطرح الإشكال التالي:

هل دراسة المستخلصات الفينولية والتربينية والستيرويدية لطلع النخيل (حبوب اللقاح) تكشف عن مواد فعالة تجعل من طلع النخيل نبات طبي ذو فعالية حيوية؟

وللإجابة عن هذا الأشكال تم تقسيم الدراسة إلى جزئين جزء نظري يحتوي على ثلاث فصول الأول: عموميات حول طلع النخيل ومنطقة القطف، والثاني منتجات الأيض الثانوي ويشمل (الفينولات، التربينات الثلاثية والستيرويدات)، والثالث حول الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة، بينما الجزء العملي احتوى على فصلين هما: الفصل الرابع: المواد والطرق والفصل الخامس، النتائج والمناقشة، وفي خاتمة هذا البحث تطرقنا إلى تسجيل أهم النتائج المتحصل عليها.

المراجع

المراجع بالعربية:

[2] حسين دندوقي (2002). دراسة الأيض الثانوي الفلافونيدي والتربيني لبعض أنواع الضايات الصحراء الجزائرية . مذكرة دكتوراه دولة في الكيمياء العضوية، جامعة قسنطينة، ص88.

المراجع الأجنبية:

[1] Said Rahal (2009) ,"Chimie des produits naturels et des etres vivants",Alger,p 63-78.

الجزء النظري

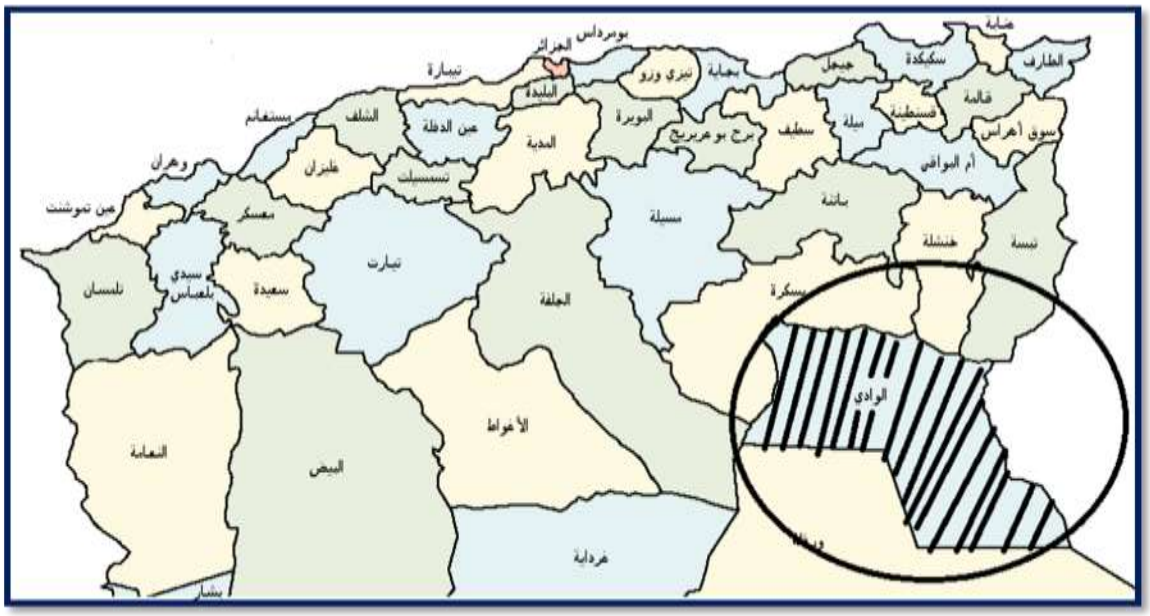
الفصل الأول

عموميات حول طلع النخيل ومنطقة القطف

I-1- الموقع الجغرافي لمنطقة القطف:

تقع وادي سوف في الجنوب الشرقي من القطر الجزائري، ضمن منطقة العرق الشرقي الكبير، ما بين خطي عرض 31º و 34º شمالا، وما بين خطي طول 6º و8º شرق خط غرينيتش، بمساحة تقدر بـ 44.586.80 كلم^2[1]، يحدها من الشمال تبسة، خنشلة وبسكرة، ومن الجنوب ورقلة، ومن الغرب ورقلة، بسكرة والجلفة، أما شرقا فتحدها الجمهورية التونسية. [2]

كما أنها عبارة عن مسطح تغطيه الكثبان الرملية، يتواجد على التخوم الشمالية للعرق الشرقي الكبير ومحاط بثلاثة سبخات وهي شط وادي ريغ من الغرب وشط مروانة، ملغيغ والغرسة من الشمال، وشط الجريد من الشرق. أما ارتفاع سطح الأرض بسوف فهي حوالي 80 مترا فوق سطح البحر، بينما تنخفض في وسط شط ملغيغ إلى ما يقارب 24 مترا تحت سطح البحر وهو أكبر انخفاض في الجزائر. [1]



الشكل I-01: الموقع الجغرافي لمنطقة وادي سوف

I-2- مميزات الغطاء النباتي في سوف:

يرى العديد من الباحثين أن المناطق الصحراوية بما فيها منطقة سوف لم تكن مركز تنويع، وإنما هاجرت إليها الأنواع من المناطق المجاورة، ومعنى ذلك أن الأنواع البرية الموجودة حاليا في منطقة سوف لم تظهر لأول مرة في هذه المنطقة وإنما جاءتها من مناطق جغرافية أخرى عن طريق نقل وانتشار هذه النباتات بمساعدة عوامل بيئية مختلفة.[3]

ويتميز المظهر العام لمنطقة سوف بغطاء نباتي مفتوح وقليل الكثافة[3] نتيجة لظروفها المناخية، إلا أنها سمحت لأنواع عديدة من النباتات والأعشاب بالنمو الكثيف فيها[1]، فمن هذه النباتات نجد

الحشائش العلفية التي ساعدت البدو على الرعي وتربية المواشي كالبشنة والعرجف، الخبيز، وبوقريبة، النمص، اللّبين، الغبيشاء، الحميض، النجم، والشيح وغيرها.[1]

كما تنتشر بأرض سوف أنواع عديدة من النباتات الطبية التي يستخدمها أهل المنطقة كشجيرة عنب الذئب، الحرمل، الفجل والترثوث، وأهم شجرة على الإطلاق في سوف هي النخلة، فهي شجرة مباركة ومصدر رزق لأغلبية السكان.[1]

وتعتبر النباتات الطبية من أقدم النباتات التي عرفها الانسان واستخدمها على مر العصور في أغراض عديدة، كما تعتبر من أهم المصادر الطبيعية التي تتوفر على مواد علاجية غير مستثمرة، وتحتل في الوقت الحاضر مكانة كبيرة في الإنتاج الزراعي والصناعي، وتلقى عناية بالغة في كثير من الدول المنتجة لها، وتعتبر النباتات الطبية هي المصدر الرئيسي للعقاقير النباتية أو هي مصدر المواد الفعالة التي تدخل في تحضير الدواء على شكل خلاصات (مواد فعالة أو مواد خام) لإنتاج بعض المركبات الكيميائية التي تعتبر النواة للتخليق الكيميائي لبعض المواد الدوائية مثل مادة الكورتيزون وهرمونات الجنس.[4]

I -3- تعريف النباتات الطبية:

يعرف النبات الطبي على أنه النبات الذي يحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه المختلفة على مادة كيميائية أو أكثر بتركيز منخفض أو مرتفع ولها القدرة الفسيولوجية على معالجة مرض معين، أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة به إذا ما أعطيت للمريض إما في صورته النقية بعد استخلاصها من المادة النباتية، أو إذا ما تم استخدامها وهي مازالت على سيرتها الأولى في صورة عشب نباتي طازج أو مجففة أو مستخلص جزئيا، هذا المفهوم الشامل للنبات الطبي يهيئ فرصا عديدة لاكتشاف المزيد والجديد من المواد الكيميائية العلاجية وغير العلاجية ذات الأصل النباتي مثل المضادات الحيوية والمبيدات الحشرية أو الحشائشية.[5]

I -4- تصنيف النباتات الطبية:

يمكن تصنيف النباتات الطبية بأنواعها الكثيرة إلى مجموعات أصغر لتسهيل دراستها، وتختلف طرق تصنيفها بحسب الغرض منها، وتكون في العادة بحسب المواد الفعالة، أو الجزء المستعمل من النبات، أو بحسب التصنيف النباتي الحديث، ويمكن أن يكون التصنيف بحسب الاستخدامات الصناعية للنباتات أو موسم زراعتها أو الأمراض التي تعالجها.[6]

هناك العديد من الأسس التي يمكن الاعتماد عليها في تصنيف النباتات الطبية نذكر منها ما يلي:

I-4-1- التصنيف المورفولوجي:

يعتمد هذا التصنيف على مكان تواجد المادة الفعالة بالأجزاء النباتية المختلفة، حيث تعتبر هذه الأجزاء هي المصدر الأول والرئيسي للحصول على مادة فعالة معينة، ومنه فإن هذه النباتات تصنف إلى المجموعات التالية:[7]

1. نباتات تستعمل بأكملها:

وهي نباتات تتوزع فيها المواد الفعالة في كل أجزاء النبات المختلفة مثل شجرة الصنوبر الأسود أو الونكا والشيح الخراساني والداتورة.

2. نباتات تستعمل أوراقها:

وهي التي تتواجد فيها المواد الفعالة في أوراقها مثل الريحان، النعناع، الشاي، الحناء، الصبار.

3. نباتات تستعمل نويراتها أو أزهارها:

وهي النباتات التي تتواجد فيها المادة الفعالة في النويرة كما في البابونج والأقحوان، أو في بتلات الأزهار كما في الورد والفل والياسمين، أو في كأس الزهرة كما في الكركديه، أو مياسم الأزهار كما في الزعفران.

4. نباتات تستعمل ثمارها:

وهي النباتات التي تكون فيها المادة الفعالة في الثمار مثل الشمر، الكراوية، الحنظل أو في المواد غير الناضجة مثل الخشخاش.

5. نباتات تستعمل بذورها:

وهي التي تكون المادة الفعالة موجودة في البذور مثل بذور الحنظل، حبة البركة، الخردل الأبيض والأسود والكاكاو والبن، وعباد الشمس.

6. نباتات تستعمل أجزائها الأرضية:

في هذه الحالة قد تكون سيقان أرضية متحورة أو جذورا وتدية أو جذورا متدرنة، وجميعها تحتوي المواد الفعالة مثل الجذور الوتدية لعرق الحلاوة، وعرقسوس، ودرنات السحلب.

7. نباتات يستعمل قلفها:

وهي النباتات التي يحتوي قلفها على المادة الفعالة مثل القرفة، الصفصاف، الكينا، الحور والرمان، وأبو فروة [7]

I-4-2- التصنيف الفيزيولوجي:

ويعتمد هذا التصنيف على أساس الأثر العلاجي أو الطبي وليس بحسب نوعية المادة الفعالة أو مكان تواجدها، وتصنف تبعا لهاته الخاصية إلى المجموعات التالية:

1. نباتات مسهلة أو ملينة:

مثل السنامكي ويعتبر من النباتات المسهلة القوية أما من النباتات الملينة فنجد عرقسوس والصبر والحنظل.

2. نباتات مسكنة أو مخدرة:

ومن أمثلتها نجد نبات الصفصاف وهو مسكن، أما من النباتات المخدرة فنجد الخشخاش والقنب الهندي.

3. نباتات مانعة لتهتك الاوعية الدموية:

مثل النباتات الموالح والحنطة السوداء.

4. نباتات منشطة للقلب:

مثل نبات الدفلة، وبصل العنصل الأبيض، والديجيتالس. [7]

I-4- 3- التصنيف الكيميائي:

يعتمد هذا التصنيف على المواد الكيميائية الفعالة الموجودة بأجزاء النبات المختلفة حسب طبيعة المادة الكيميائية، وهي مقسمة كالتالي:

- نباتات تحتوي على القلويدات: مثل نبات الدخان، الكوكا، الفلفل الأسود والبن.
- نباتات تحتوي على الجليكوزيدات: من أمثلتها الديجيتاليس وبصل العنصل والدفلة.
- نباتات تحتوي على التانينات: مثل نبات أبو فروة والبلوط وبعض أنواع الكافور.
- نباتات تحتوي على الزيوت الطيارة: مثل النعناع، الريحان، الزعتر والبردقوش.
- نباتات تحتوي على راتنجات: مثل نباتات الصمغ العربي والقنب الهندي والزنجبيل.
- نباتات تحتوي على مواد صابونية: مثل نبات عرقسوس.[7]

I-4-4- التصنيف التجاري:

ويعتمد هذا التصنيف على الأسس التجارية المعمول بها في الأسواق المحلية أو الخارجية، طبقا لقوائم الاستيراد والتصدير وتنقسم إلى:

- ✓ نباتات طبية.
- ✓ نباتات عطرية.
- ✓ نباتات التوابل والبهارات ومنكهات الطعم والملونات الغذائية.
- ✓ نباتات مبيدة للحشرات.
- ✓ نباتات تستخدم كمشروبات.[8]

I -5- مصدر النباتات الطبية:

يمكن الحصول على النباتات الطبية من مصدرين أحدهما النباتات البرية التي تنمو في الوديان والسهول والغابات، والثاني يكون عن طريق زراعة النباتات الطبية في حقول ومزارع خاصة، حيث تقوم شركات الأدوية والمؤسسات الاستثمارية بإنشاء هذه المزارع لإنتاج أصناف عديدة وأنواع محددة من هذه النباتات التي يحتاجها السوق الدولي والمحلي بكميات معينة لصناعة الأدوية.[9]

I -6- أهمية النباتات الطبية:

تكمن أهمية النباتات الطبية فيما يلي:

- علاج لكثير من الأمراض سواء أخذ بشكل مباشر من الطبيعة كأعشاب أو مصنع مختبريا بالإستخلاص والتنقية.
- غذاء مباشر للإنسان، فهي تدخل في غذاء الإنسان اليومي بشكل مباشر، مثل الحبوب والأعشاب بمختلف أنواعها.
- تستخدم كتوابل وبهارات في الطعام، فهناك العديد من البهارات التي يستخدمها الإنسان مثل القرفة، الزعفران، الفانيليا وغيرها من المنكهات والتوابل.
- تدخل في تحضير المشروبات المنعشة مثل الشاي والقهوة والكاكاو.
- تدخل النباتات الطبية في مجالات صناعية عديدة كصناعة المبيدات، استخراج الزيوت النباتية، صناعة العطور ومواد التجميل بالإضافة إلى بعض الصناعات الأخرى.
- تلعب النباتات الطبية دورا مهما في الزينة خاصة تزيين الحدائق العامة والمنزلية، فبعضها على شكل أعشاب كالخشخاش، وبعضها على شكل شجيرات كالدفلة، والبعض الآخر على شكل أشجار كالكافور.
- تزرع النباتات الطبية لتوفير العلف للحيوانات مثل البرسيم.
- تلعب بعض النباتات الطبية دورا في تحسين البيئة، كتحسين الخواص الفيزيائية والكيميائية للتربة، وزيادة خصوبتها وبعض الأشجار تعمل كجدار للرياح.[10]

I -7- طرق استخلاص النباتات الطبية:

إن معرفة طرق الإستخلاص ضروري للتمكن من الحصول على مستحضرات طبية من هذه النباتات، هذه المستحضرات معرفة من طرف دليل الأدوية.

كما تمكن طرق الاستخلاص من عزل العديد من الجزيئات النقية التي تكون معرفتها ضرورية في المراقبة الكيميائية للنبتة.

ويمكن تقسيم هذه الطرق إلى أربع مجموعات:

- طرق الاستخلاص بواسطة المذيبات.
- طرق تستعمل عمليات للإدمصاص. [11]

ومن النباتات الطبية التي يستخدمها أهل المنطقة في العلاج طلع النخيل (حبوب اللقاح)، حيث يعالجون بها حالات العقم عند الرجال والنساء ويستخدمونه في طعامهم وفي هذا الجزء سنتعرف على هذه النبتة الطبية.

I-8- النخيل:

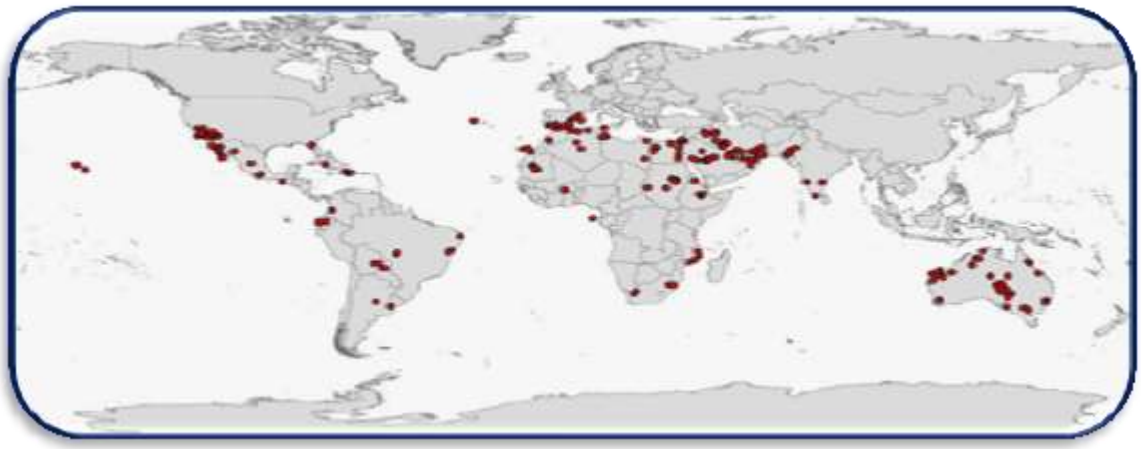
مدخل:

تعد شجرة النخيل من أقدم النباتات التي عرفها الإنسان وتعايش معها حتى أصبحت جزءا لا يتجزأ من حياته منذ بداية الحياة، وحتى عهدنا هذا لازالت النخلة تحافظ على مكانتها الشامخة في حياة الإنسان، وقد ذكرها العرب منذ القدم في تراثهم، كتبهم، أشعارهم وحتى أمثالهم فقد سميت في بعض النصوص الأثرية بـ (شجرة الحياة) لما لها من واقتصادية وعلاجية عظيمة.

I-8-1- التوزيع الجغرافي للنخيل:

يعتبر النخيل من أهم عناصر الغطاء النباتي في العالم العربي [12]، ونظرا لأهميته فقد امتدت زراعته إلى بلاد أخرى وشملت مناطق تمتد من جزر الكناري في المحيط الأطلسي غربا إلى نهر الأندلس في باكستان شرقا بين خطي عرض 10و35 شمال خط الاستواء، كما امتدت زراعته خارج هذه البقاع في الكثير من انحاء العالم كجنوب أفريقيا واستراليا وجزء من جنوب أوروبا والأمريكيتين.[13]

ومن أهم الدول المنتجة للنخيل في العالم هي: السعودية، العراق، الجزائر، إيران، مصر والمغرب، وتوجد بكميات أقل في كل من الدول التالية: تونس، السودان، الهند والولايات المتحدة الأمريكية.[14]



الشكل I- 02: الانتشار الجغرافي للنخيل في العالم

I-8-2- التصنيف العلمي للنخلة:

تعتبر أشجار النخيل من النباتات المعمرة في الأرض [13]، وقد سميت بـ *Phoenix dactylifera* من قبل Linne عام 1734م [15]، حيث جاء اسم *Phoenix* من التسمية اليونانية للتمر الذي يشير إلى الاسم القديم لمدينة فينيقية، أما *dactylifera* فيعني الاسم الإغريقي للشجرة حاملة الأصابع، حيث تكون الثمار في العذوق كالأصابع في اليد.[16]

والجدول I- 01 يوضح التصنيف العلمي للنخلة:

جدول I- 01: التصنيف العلمي للنخيل

Plant	النباتية	المملكة
Anthophyta	النباتات الوعائية المزهرة	**القبيلة**
Angiospermae	مغطاة البذور	**الصف**
Monocotayledonae	ذوات الفلقة الواحدة	**الشعبة**
Palmalea	النخيليات	**الرتبة**
(palmae) arecaceae	النخيلية	**العائلة**
Phoenix		**الجنس**
Dactylifera		**النوع**

وفي الشكل I- 03 صورة فوتوغرافية للنخلة لمنطقة وادي سوف [17]

الشكل I- 03: يوضح صورة فوتوغرافية للنخلة

I-8-3- الوصف المورفولوجي للنخلة:

أ- المجموع الجذري:

يعتمد النخيل على المجموع الجذري في امتصاص الماء والغذاء من التربة، كما أن جذور النخيل خالية من الشعيرات الجذرية ولذا فإنه يعتمد في الامتصاص على تفرعات جانبية قصيرة تخرج من الجذور الأصلية.[18]

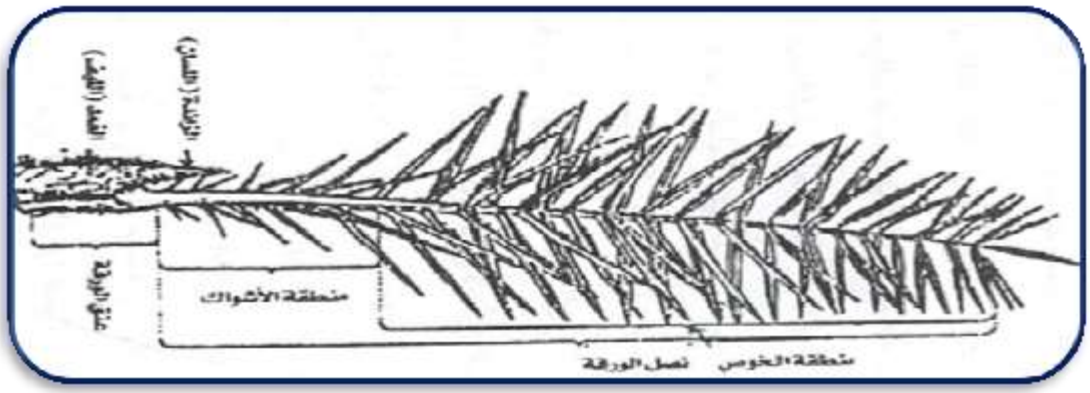
ولأن شجرة النخيل من ذوات الفلقة الواحدة فإنها لا تملك جذر صنوبري، وتتألف البنية الجذرية لها من جذور ليفية أو خيطية متشعبة عريضة، ويمكن لجذور النخل أن تتواجد على مدى بعيد يصل إلى 25 متر من مركز الجذع وعلى عمق 6 أمتار.[19]

ب- المجموع الخضري:

- **الأوراق (الجريد):**

وهي ورقة مركبة ريشية كبيرة يتراوح طولها من 6-7.2 متر، حسب الصنف والظروف البيئية والخدمة[20]، وتنتج النخلة سنويا من 10 إلى 20 سعفة (ورقة)، وتتركب الورقة من عرق وسطي ذي أربع جهات، الجهة الداخلية والخارجية شديدتا التحدب أما الجهتان الجانبيتان فهما مسطحتان[18]، ويمكن تقسيم الورقة إلى قسمين:

- **القسم الأعلى:** يسمى النصل، ويشمل منطقتي الغوص والشوك.
- **القسم الأسفل:** يسمى السويق أو قاعدة السعفة، والاسم الشائع لها الكربة أو الكرنافة.[13]



الشكل I- 04: يوضح شكل ورقة النخيل ومختلف أجزائها

- **الساق (الجذع):**

ساق النخل اسطوانية تنمو فوق سطح التربة ويتراوح ارتفاعها بين 10-25 مترا، وقد يصل في بعض الحالات إلى حوالي 30 مترا [13]، كما أن الساق مغطاة بليف ينمو من قواعد الأوراق ومحيط بها ليحميها من العوامل الجوية، أما قطر الساق فيتراوح بين 40-90 سم حسب صنف النخلة والظروف المناخية وعمليات الخدمة.[12]

رأس النخلة (البرعم):

يوجد البرعم الطرفي في قلب رأس النخلة الذي يقودها للنمو، وحول هذا البرعم تلتف الأوراق الحديثة في العمر والطول واللون المختلفة ما بين الأبيض الناصع إلى الأبيض المخضر، وبينها الليف الذي يشكل حزاما محكما بحيث تكون كلها مكبوسة وتشكل في داخلها كتلة بيضاء هشة ذات عصارة حلوة المذاق وتسمى هذه المجموعة بالجمارة وهي ذات أهمية كبيرة للنخلة فإذا حدث فيها شلخ أو رضوض فسيؤدي ذلك إلى القضاء على النخلة.[18]

الغلاف الليفي:

يتكون الغلاف الليفي من أنسجة بيضاء تسمى اللحمة تتخللها حزم وعائية، ومع نمو السعفة تختفي معظم أنسجة اللحمة تاركة الحزم الوعائية الجافة كغلاف من الليف الخشن محيطا بالجذع. ومنه فإن الغلاف الليفي يشكل الغمد الذي يحيط بالجذع ويزيده متانة، كما أنه يحفظ الجذع من الصدمات الخارجية وكذلك من أضرار الحيوانات، كما يخفف من وطأة الحر والبرد لخاصية العزل التي يتصف بها.[12]

العرجون:

هو عبارة عن ساق طويل يحمل أعواد رفيعة جزؤه السفلي غير مستقيم بل متعرج، العلوي مستقيم وتسمى هذه الأعواد بـ (شماريخ)، ويحمل العرجون الواحد من 20 إلى 100 شمراخ، وتكون الأزهار المذكرة متلاصقة وقريبة من بعضها البعض، أما الأزهار المؤنثة فتكون بعيدة عن بعضها البعض.[21]

ج- المجموع الزهري:

يعتبر النخيل من النباتات ثنائية المسكن، أي أن الأزهار الأنثوية تحمل على نخلة والأزهار الذكرية تحمل على نخلة أخرى وتسمى " الأفحل" [20]، تبدأ الأزهار في الظهور على شكل أكياس أو أكمام خضراء مغلقة جلدية زغبية بيضاوية أو مستطيلة مستدقة الأطراف والحواف منتفخة من وسطها وعليها زغب ضعيف، وعند انشقاقها تظهر على شكل نورة مؤنثة أو مذكرة حسب نوع النخلة.[22]

- ***النورة المذكرة:***

تحمل الأزهار المذكرة في هذه النورة على شماريخ قصيرة يتراوح طولها بين 12-24 سم، وتوجد الأزهار متلاصقة ولكل زهرة غلاف زهري شمعي اللون يتكون من ثلاثة أجزاء، وعندما يفتح الغلاف تظهر منه ستة متوك بحبوب اللقاح بيضاء اللون ومائلة إلى الإصفرار.[18]

والشكل I- 05 يوضح الأزهار المذكرة للنخيل [23]

الشكل I- 05: يوضح الأزهار المذكرة للنخيل

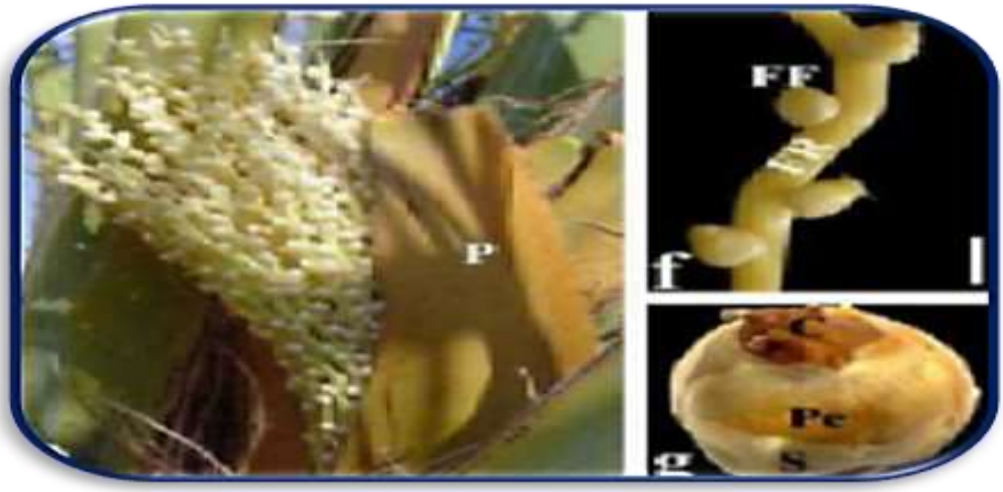
p: إغريض (طلعة) ذكرية متفتحة، c: أزهار ذكرية

متموضعة على الشمروخ، d: مقطع طولي لزهرة ذكرية.

- ***النورة المؤنثة:***

يبلغ طول النورة المؤنثة من 20 إلى 110 سم وهي أطول من الشماريخ المذكرة، وتتموضع الأزهار المؤنثة متباعدة فيما بينها على الشمراخ وحجمها أصغر من حجم الأزهار المذكرة، ويوجد بكل زهرة مؤنثة ثلاث كرابل متساوية الحجم بطرف كل منها ميسم تام التكوين غير متفرع وواحدة فقط من هذه الكرابل الثلاثة خصبة وهي التي تتحول إلى ثمرة بعد التلقيح والإخصاب.[18]

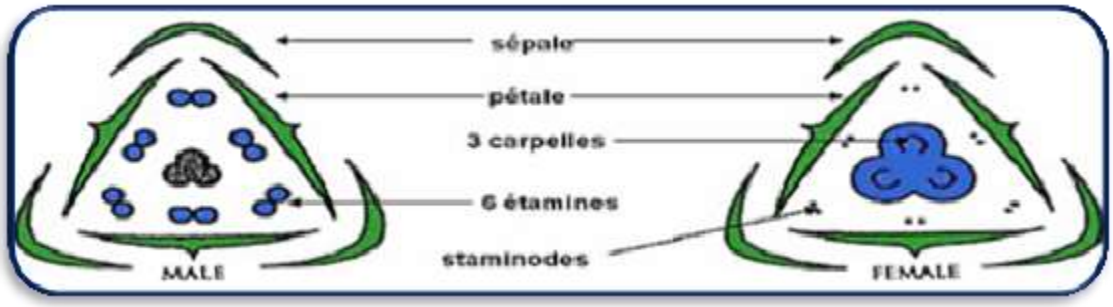
والشكل I- 06 و يوضح الأزهار المؤنثة النخيل [23]



الشكل I- 06: يوضح الأزهار المؤنثة للنخيل

e: طلعة أنثوية متفتحة، f: شمروخ لأزهار أنثوية

والشكل I- 07 يوضح مقطع عرضي لأزهار النخيل الذكرية والأنثوية [22]



الشكل I- 07: يوضح مقطع عرضي لأزهار النخيل

I-9- طلع النخيل:

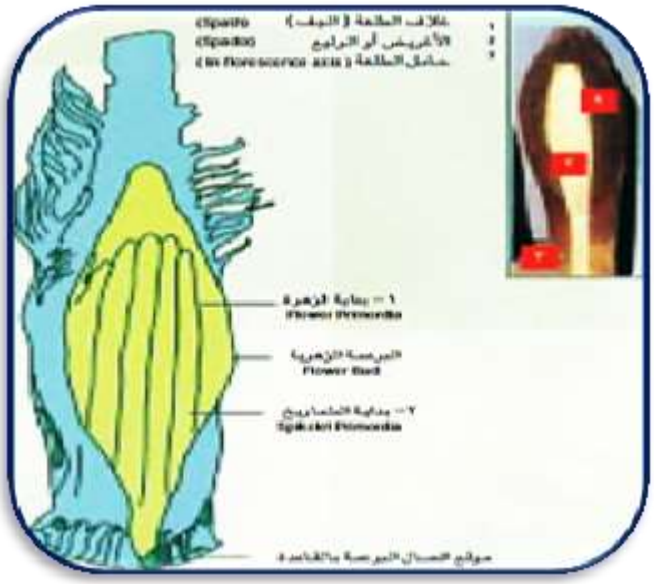
مدخل:

يعتبر طلع النخيل من النباتات التي استخدمها الناس قديما للعلاج والتغذية لأنه يخرج من الشجرة المباركة، وقد ذكر الله تبارك وتعالى الطلع في كتابه الكريم في ثلاث مواضع حيث قال: ﴿ وَالنَّخْلَ بَاسِقَاتٍ لَّهَا طَلْعٌ نَّضِيد﴾ (ق/10)، وقال: ﴿ وَزُرُوعٍ وَنَخْلٍ طَلْعُهَا هَضِيمٌ ﴾ (الشعراء/148). ﴿ وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ ﴾ (الأنعام/ 99)، لأهميته الكبيرة لحياة الإنسان. [20]

I-9-1- تعريف الطلع:

الطلع في نخيل التمر إما أن تكون من الأزهار الذكرية وتنمو على شجرة يطلق عليها بالفحل (الذكر) أو تتكون من الأزهار الأنثوية وتنمو على شجرة منفصلة تسمى بالأنثى، ويختلف لون وشكل وحجم الطلعة سواء كانت الذكرية أو الأنثوية على حسب صنف النخلة ويتكون من:

- ✓ الجف (الغلاف).
- ✓ الأغريض(الوليع).



الشكل I- 08: يوضح طلع النخيل

و الشكل I- 08 يوضح ذلك

الجف (الغلاف):

وهو الوعاء المحيط بمجموعة الأزهار، وهو عبارة عن غلاف متين مستدق الحواف وأملس من الداخل.[13]

الأغريض (الوليع):

هو عبارة عن النورة أو المجموعة الزهرية المحاطة بالجف، ويسمى أيضا بالسيف، أو الجراب، وعند نمو الأزهار ونضجها ينشق الغلاف الذي يحيط بها وتظهر الأزهار المذكرة أو المؤنثة محمولة على شماريخها.[16]

الشكل I- 09: يوضح مسحوق طلع النخيل

كما يعرف الطلع على أنه لقاح النخلة وهو مسحوق ناعم جدا لونه أبيض يشبه دقيق القمح، ويتطاير سريعا في الجو لأقل هبة ريح، وذكور النخيل هي المسؤولة عن إنتاج لقاح النخلة. [24] والشكل I- 09 يوضح مسحوق طلع النخيل (حبوب اللقاح) الذكري

كما يتألف الطلع من الأجزاء التالية:

أ- الشماريخ: وهي عبارة عن فروع متحورة ولحمية غليظة تحمل الأزهار ويختلف طولها وعددها باختلاف الطلعة الذكرية والأنثوية والصنف.

ب- الأزهار: وهي وحيدة الجنس موزعة بانتظام وبدون عنق زهري محمولة على الشمراخ مباشرة، ويوجد ما يقارب عشرة آلاف زهرة بالطلعة الواحدة.

ج- محور أو حامل الطلعة: وهو الجزء الذي يحمل النورة (الطلعة) ويصلها برأس جذع النخلة.[25]

أما ما يميز بين الطلع والأزهار الذكرية عن الأنثوية فهي موضحة في الجدول I- 04 التالي [25]:

جدول I- 02: يوضح الفرق بين الطلع الذكري والطلع الأنثوي

الطلعة والأزهار الذكرية	الطلعة والأزهار الأنثوية
1- الطلعة طويلة يتراوح طولها من (60-125) سم ويتراوح عرضها من (15-17) سم ووزنها من (1.5-3) كيلوغرام.	1- الطلعة قصيرة ونحيفة يتراوح طولها من (40-70) سم وعرضها من (3-8) سم ووزنها حوالي (3) كيلوغرام.
2- الشماريخ قصيرة يتراوح طولها من (12-41) سم.	2- الشماريخ طويلة يتراوح طولها من (10-125) سم.
3- عدد الأزهار كبير ما يزيد عن (40) زهرة في الشمراخ الواحد حسب الصنف.	3- عدد الأزهار متباين حسب الصنف وعموما يتراوح عددها من (20-50) زهرة في الشمراخ الواحد.

I-9- 2- الوصف المورفولوجي لطلع النخيل:

I-9- 2- 1- الشكل:

تختلف أشكال حبة اللقاح من نبتة إلى أخرى، لكن شكل حبوب لقاح النخيل بيضاوي Ellipsoidal أو اهليليجي، وهذا الشكل يوجد بصورة رئيسية في نباتات ذوات الفلقة الواحدة وبعض نباتات ذوات الفلقتين.[26]

I-9- 2- 2- الحجم:

إن حجم حبة اللقاح يختلف حسب مرحلة نضجها وحسب طبيعة رعاية النخلة، إلا أن حجمها يتراوح ما بين 17- 25 ميكرون وعرضها من 1.8- 2 ميكرون.[26]

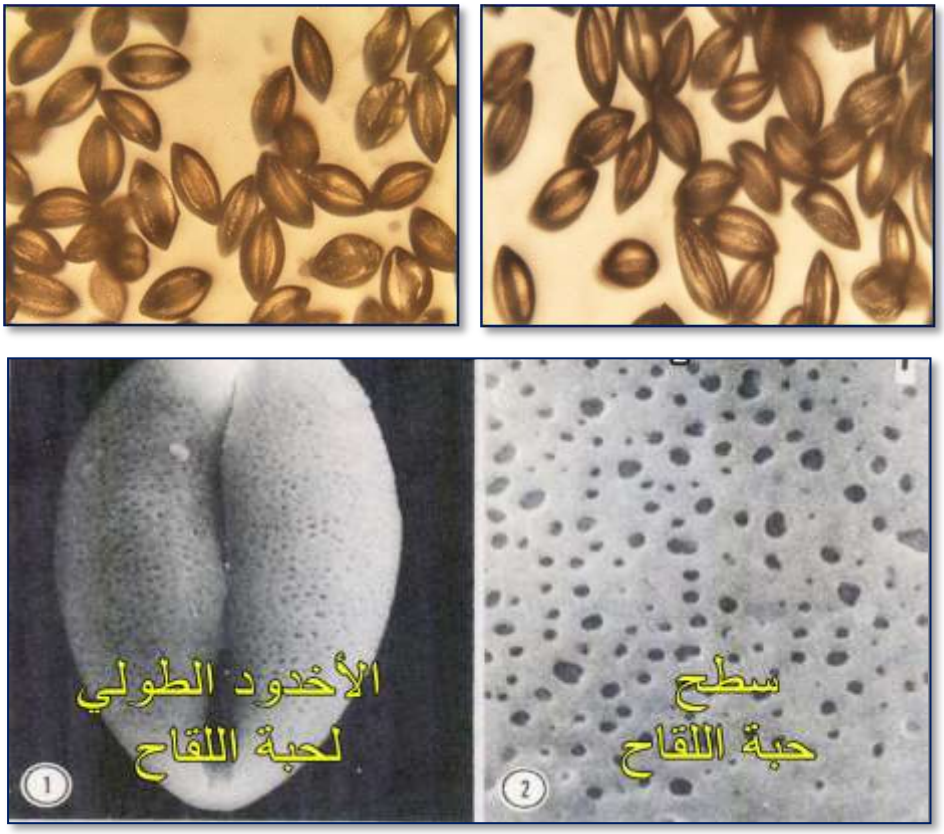
I-9- 2- 3- الزخرفة السطحية:

يتكون جدار حبة اللقاح من غلافين أساسين أحدهما داخلي والثاني خارجي، والجدار الخارجي هو المسؤول عن شكل الزخرفة إذ يتكون من طبقتين رئيسيتين طبقة علوية تدعى الأدمة والتي تليها تدعى بطبقة العويمد، وهذه الأخيرة هي أحد أسباب تكوين زخرفة الغلاف الخارجي وإعطائها شكلها المميز.[26]

I-9- 2- 4- أنواع وعدد ومواقع فتحات الإنبات:

تمتلك أغلب حبوب اللقاح فتحات أو مناطق رقيقة في جدارها الخارجي والتي من خلالها ينبثق أنبوب اللقاح أو المادة الحية الموجودة داخل حبة اللقاح، وهناك نوعين من فتحات الإنبات أحدها يسمى بالثقب والآخر يدعى بالأخدود، وتغطى فتحتات الإنبات بغشاء قد يكون أملس أو حبيبي أو قشري.

إن حافات فتحات الإنبات قد تكون مشابهة لبقية الجدار الخارجي للحبة، أو قد تكون ذات نهايات مصفوفة، والأخيرة تنتج من تغير سمك طبقتي الجدار الخارجي لحبة اللقاح حول الفتحة مكونا ما يعرف بالحافة في حالة الأخدود.[26]



الشكل I- 10: صورة بالمجهر الإلكتروني لطلع النخيل الذكري (حبوب اللقاح)

I-9-3- مراحل تكون الطلع:

لقد تم دراسة مراحل تكون الطلع في صنف دقلة نور من بعض الباحثين، حيث تم تقسيم مراحل تكوين الطلع إلى ثمانية مراحل كما هو موضح في الجدول I- 05 التالي: [18]

جدول I- 03: يوضح مراحل تكوين الطلع

مراحل نمو الطلع	طول النورات بالسم	طول الأغلفة الخارجية للأغاريض بالسم	مميزات كل مرحلة
المرحلة الأولى	أقل من 1.5 سم	أقل من 3.5 سم	مبادئ زهرة في شكل كتل مرستيمية دون أي تمايز
المرحلة الثانية	بين 1.5-3.5 سم	بين 3.5-8 سم	بداية تكون السبلات
المرحلة الثالثة	بين 3.5-5 سم	بين 8-11 سم	بداية تكون البتلات
المرحلة الرابعة	بين 5-7 سم	بين 11-16 سم	بداية انفصال الأعضاء الذكرية العقيمة المتموضعة بالمحيط الخارجي

المرحلة الخامسة	بين 7-10 سم	بين 16-23 سم	بداية انفصال الأعضاء الذكرية العقيمة المتموضعة بالمحيط الداخلي
المرحلة السادسة	بين 10-18 سم	23 سم	بداية انفصال الكرابل
المرحلة السابعة	ظهور الطلع	ظهور الطلع	كرابل منفصلة
المرحلة الثامنة	انشقاق الطلع	انشقاق الطلع	أزهار جاهزة للتلقيح

I-9-4- المكونات الغذائية لحبوب اللقاح:

أثبتت التحاليل الغذائية والصيدلانية بأن حبوب اللقاح سواء حبوب لقاح نخيل التمر أو حبوب اللقاح التي يجمعها النحل من مصادرها النباتية المختلفة تعد مصدرا جيدا للكثير من الفيتامينات والأملاح المعدنية والإنزيمات والأحماض الأمينية التي تبعث على النشاط والحيوية لمن يتناولها، وتختلف النسبة المئوية لمكوناتها باختلاف المصدر النباتي الذي جمعت منه وفيما يلي جدول يوضح تلك المكونات: [27] و جدول I- 06: يوضح المكونات الغذائية لحبوب لقاح النخل الذكري [27]

جدول I- 04: يوضح المكونات الغذائية لحبوب لقاح النخل

المكون الرئيسي	المحتويات
الماء	11% لحبوب اللقاح الطازجة، 5 % لحبوب اللقاح الجافة
الرماد	% 6
الهرمونات	هرمون الإيسترون
فيتامينات	فيتامين (A, H, D, E, K)، مجموعة فيتامينات (B1, B2, B6, B12 niacine, biotine, inositol, Routine)،
عناصر غذائية	كربوهيدرات 34%، بروتينات 35%، دهون 5% تقريبا.
أملاح معدنية	كالسيوم، فوسفور، بوتاسيوم، كبريت، صوديوم، كلور، مغنزيوم، حديد، منغنيز، نحاس، يود، خارصين، سيليكون، بورون، مولبيدنيوم، تيتانيوم.
إنزيمات	Catalyse, Lopez, Anfertase, Ameliz, Diamites, Pectis, Phosphates.
مساعدات الإنزيمات	Cytochrome, isomères, déshydrogénations lactiques
صبغات	Carotène, Xanthophylle
مواد أخرى	أحماض معدنية، أحماض فينولية، جليسيريدات أحادية وثنائية وثلاثية.

I-9- 5- الاستعمالات الطبية للقاح النخيل(طلع) وفوائده العلاجية:

- يساعد على زيادة إنتاج الحيوانات المنوية عند الرجال، ما يسهم في زيادة فرص تعزيز الإخصاب.
- يمكن أن يسهم في دعم الاخصاب لدى النساء لتعزيز الإخصاب وتنشيط المبايض عن طريق حمام مائي خاص لمدة 10 أيام بعد الدورة الشهرية.
- يعتبر طلع النخيل من المقويات العامة للجسم، حيث يعمل على دعم وتنشيط الدورة الدموية لرفع مستوى الطاقة عند الانسان، والتخلص من الوهن والارهاق، ويضاف الى العسل، ويمكن تناول ملعقة عسل مخلوطة بطلع النخيل يومياً صباحاً.
- يسهم في التخلص من فقر الدم لاحتوائه على معادن مهمة لإنتاج كريات دم نقية ونشيطة.
- يعتبر طلع النخيل من المغذيات التي تفيد في التخلص من اضطرابات الجهاز الهضمي، وتسهم في الوقاية من قرحة المعدة والأمعاء.
- يفيد في حالة اضطرابات الذاكرة، ويعزز التركيز ويعيد نشاط الذاكرة، ويمكن تناوله للطلاب وكبار السن، كما يفيد الذين تحتاج أعمالهم الى التركيز في الأرقام.
- يعزز طلع النخيل امتصاص الكالسيوم من الأطعمة، فإذا استعمل مع الحليب ومشتقاته فهو يدعم قوة العظام والوقاية من الهشاشة.
- يفيد المرأة العاملة لدعم القوة الانتاجية لديها، وذلك بتنشيط الجسم وإعادة الحيوية والطاقة له.
- يستعمل طلع النخيل خارجياً ليسهم في التخلص من الدمامل والحبوب الملتهبة.
- يعتبر طلع النخيل من المواد الطبيعية التي تسهم في تعزيز جمال البشرة ومحاربة شيخوخة الجلد، وذلك بخلط كمية من طلع النخيل مع العسل ووضعه على البشرة.
- إن الأنزيمات الموجودة في طلع النخيل تعمل على تحلل الدهون على البشرة، وبالتالي تخلصها من الزيوان والحبوب.
- بسبب احتواء غبار الطلع على عناصر غذائية نادرة وبروتينات وأحماض نووية، فهو غذاء متكامل من الطبيعة لرفع معدل المناعة في الجسم ضد الأمراض المعدية، ويفضل تناوله مع العسل يومياً قبل السفر بـ15 يوماً.
- يمكن استعماله للمرأة المرضع بتوازن، أي عدم الإكثار منه، إلا أنه يفيد في تعزيز المغذيات لحليب المرضع.[28]

المراجع

المراجع باللغة العربية:

[1] ابراهيم مياسي، الصحراء الجزائرية في ضلال وادي سوف (دراسة تاريخية)، دار هومة، الجزائر، 2014، ص 113- 114.

[2] العوامر ابراهيم، الصروف في تاريخ الصحراء وسوف، دار ثالة، الجزائر العاصمة، 2007، ص 42-43.

[3] يوسف حليس، الموسوعة النباتية لمنطقة وادي سوف (النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير)،2005، ص31،19،18،17،15.

[4] اتحاد مجالس البحث العلمي العربية، دراسات مؤتمر النباتات الطبية في الوطن العربي وآفاق تطويرها، بغداد، 1986 .

[5] ميثاق الجبر، بحث وتحديد نواتج الأيض الثانوي لنبات القات Catha edulis من العائلة (Celastraceae) ونبات البوليكاريا Pulicaria jaubertii من العائلة (Asteraceae) وتقييم الفعالية البيولوجية، رسالة مقدمة لنيل شهادة دكتوراه علوم في الكيمياء العضوية، جامعة منتوري، قسنطينة، 2010، ص1.

[6] اشتية محمد سليم علي ورنا ماجد جاموس، النباتات في الطب العربي الفلسطيني التقليدي، نابلس، فلسطين، 2008، ص 17.

[7] هيكل محمد وعبد الله عمر، النباتات الطبية والعطرية كيمياؤها، إنتاجها، فوائدها، منشأة المعارف الإسكندرية، مصر، 1993، ص 13-28.

[8] فوزي طه قطب حسين، النباتات الطبية، زراعتها ومكوناتها، دار المريخ، الرياض، السعودية، 1981، ص 57.

[9] بوخبتي حبيبة، النباتات الطبية المتداولة في المنطقة الشمالية لولاية سطيف دراسة تشريحية لنوعين من جنس Mentha والنشاطية ضد البكتيرية لزيوتهما الأساسية، مذكرة لنيل شهادة ماجستير، جامعة فرحات عباس، 2010، ص6.

[10] عثمان الحاج سناء وأخرون، استخلاص وتعبئة المواد الفعالة من نباتات الحرجل والحنظل والصبار واستخدامها في التداوي، بحث تكميلي لنيل درجة بكالوريوس الشرف في البيئة والموارد، جامعة البحر الأحمر، 2014، ص 15.

[11] زمالي جعفر، دراسة فيتوكيميائية وبيولوجية لنبتة الصحراوية Solanum Nigroum، مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، 2007، ص 6.

[12] عاطف محمد ابراهيم ومحمد نظيف حجاج خليف، نخلة التمر (زراعتها، رعايتها وإنتاجها في الوطن العربي)، دار المعارف، ط3، الاسكندرية، مصر، 2003، ص 29، 82، 94.

[13] فتحي حسين أحمد علي، نخلة التمر شجرة الحياة بين الماضي والحاضر والمستقبل، ج1، دار العربية، ط1، القاهرة، مصر، 2005، ص173،162،151،57.

[14] د. محمد ابراهيم عبد المجيد، د. زيدان هندى عبد الحميد، د. جميل برهان السعدي، آفات النخيل والتمور في العالم العربي، المكتبة الأكادمية 1996.

[15] غيابة زينب، دراسة تحليلية للبيدات وفينولات ومكونات أخرى لبعض أصناف نخيل التمر المحلية، رسالة محضرة لنيل شهادة الدكتوراه علوم، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، 2015، ص13،7.

[16] عبد الباسط عودة ابراهيم، نخلة التمر شجرة الحياة (الاجهادات البيئية- الانتاج العضوي للتمور- بعض الظواهر الفسيولوجية والغريبة)، دار دجلة، ط1، العراق، 2013، ص174،14.

[18] صبحي سليمان، تربية نخيل البلح، دار الكتب العلمية، مصر، 2005، ص 116، 122، 127، 354، 391.

[19] قواميد مسعود، المساهمة في دراسة تشخيص وتثمين مخلفات نخيل الغرس، اطروحة مقدمة لنيل شهادة دكتوراه، جامعه قاصدي مرباح ورقلة،2015، ص 11.

[20] د. شحاتة أحمد عبد الفتاح، موسوعة النخيل والتمور، دار الطلائع، القاهرة، مصر، 2009، ص 25-27.

[22] صقر المسلم ا.، 1996- نخيل التمر. مجلة الخفجي، المجلد (25)، العدد(8).

[24] منصور عبد الحكيم، معجزات الشفاء بالتمر، دار الكتاب العربي، دمشق، سوريا، ط1، 2011، ص134.

[25] د. حسام حسن علي غالب، التقسيم النباتي لشجرة نخيل التمر والأنواع الأخرى في جنس فينكس، 2012.

[26] علي ألازيرج، دراسة مورفولوجية لحبوب لقاح الأنواع البرية من ذوات الفلقة الواحدة النامية في مجمع الجادرية، مذكرة ماجستير في علوم الحياة، جامعة بغداد، العراق، 2011، ص 5-7.

[27] أ. سعود بن عبد الكريم الفدا و أ.د. رمزي عبد الرحيم أبو عيانة، المنتجات الثانوية للنخيل.. أنواعها وأهميتها الاقتصادية، ط2، 2016، ص 84،83.

[28] عبد الباسط عودة ابراهيم، نخلة التمر تاريخ وتراث، غذاء ودواء، مركز عيسى الثقافي، 2014، ص160.

المراجع باللغة الأجنبية:

[21] ZAID A , AND ARIAS E J , Date Palm Cultivation. FAO Product and Protection Paper, Number 156-Rev, 2002.

[23] MERNEH A., D. Déteermination sex chez le palmier dattier: Approches histo-cytologique et moléculaires. Thèse doctorat. diversité et adaptation des plantes. Université Montpellier 2, 2010.

المواقع الإلكترونية:

[16] http://www.alamy.com/stock-photo/date-palm / 23-03-2018

الفصل الثاني

منتجات الأيض الثانوي

مدخل:

تختلف النباتات الطبية عن باقي النباتات الأخرى في احتوائها على المواد الفعالة، وكيمياء النواتج الطبيعية هي جزء خاص وكبير من الكيمياء العضوية يهتم بعزل وتحليل وتحضير وكذلك معرفة الخواص الكيميائية لمكونات الكائنات الحية نباتية أو حيوانية أو ميكروبية.

ولقد عرف الإنسان على مر العصور العديد من الأمراض واستخدم المنتجات الطبيعية لعلاجها، ولقد تم تقسيم هذه المنتجات إلى مجموعتين، المجوعة الأولى تحتوي على مكونات غير فعالة، والثانية تحتوي على مكونات فعالة، هذه المواد قسمت على حسب طبيعتها الكيميائية إلى عدة مجموعات لكل منها خواصها ومميزاتها الخاصة، ومن هنا سنتطرق إلى دراسة بعض هذه المواد الفعالة.[1- 2]

II- 1- المنتجات الطبيعية الفعالة:

هي مركبات عضوية من أصل طبيعي تقوم بإنتاجها الكائنات الدقيقة، وأهم هذه المركبات هي التي تؤدي دورا في التفاعلات الأيضية، ويتم فصلها من النباتات والكائنات الحية، وتنتج هذه المركبات انطلاقا من عمليات الأيض، ونميز منها نوعين الأيض الأولي والأيض الثانوي.[3]

II- 1-1- الأيض الأولي:

تتميز المنتجات الأولية بخاصيتها الحيوية والضرورية لبقاء الخلية والجسم، فهي مركبات تدخل في التفاعلات الأولية، وتشير في الغالب إلى العمليات الأيضية الأساسية التي ينتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة، والأحماض الأمينية، السكريات، الدهون والبروتين.[3]

II- 1-2- الأيض الثانوي:

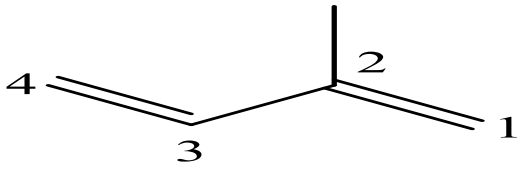
هناك العديد من المركبات التي تنتج في النبات يطلق عليها اسم المشتقات الثانوية لعمليات الأيض الثانوي، وتشمل كل من التربينات، الفينولات، القلويدات، وغيرها، وهي جزيئات كبيرة العدد، لها شكل بنيوي، ولها استعمالات دوائية عديدة، وتسمى بالمنتجات الطبيعية الفعالة. تعتبر مركبات الأيض الأولي أول المواد البادئة لها، ولهذا فهي تمثل مركبات الأيض الثانوي وهناك ثلاث مواد أولية رئيسية : حمض الشيكميك، الأسيتات والأحماض الأمينية، والتي تعتبر وحدات البناء للأيض الثانوي.[3]

II- 2- التربينات Les Terpènes :

II- 2-1- تعريف التربينات:

هي مركبات عديدة توجد خاصة في النباتات والحيوان والبكتيريا أيضا، والتربينات مجموعة هائلة من المنتجات الطبيعية ذات هياكل كربونية متنوعة بدءا من السلاسل الخطية البسيطة إلى البنى المتعددة الحلقات الكربونية [4]، وتعتبر التربينات أحد أهم منتجات الأيض الثانوي للنباتات، والوحدة البنائية لها هي وحدات الإيزوبرين(2-méthylbuta-1,3-diéne (Isoprène.[5]

والشكل II- 01 يوضح الوحدة الأساسية لبناء التربينات $(C_5H_8)_n$: [6]



Isoprène (2-méthylbuta-1,3-diène)

الشكل II- 01: الوحدة الأساسية لبناء التربينات

II- 2-2- تصنيف التربينات:

تشترك التربينات في الوحدة البنائية المكونة لها، لذلك يتم تصنيفها على حسب عدد وحدات الإيزوبرين الداخلة في تشكيلها، كما هو موضح في الجدول التالي:[7]

والجدول II- 01 يوضح أقسام التربينات[2]

الجدول II- 01: جدول يوضح أقسام التربينات

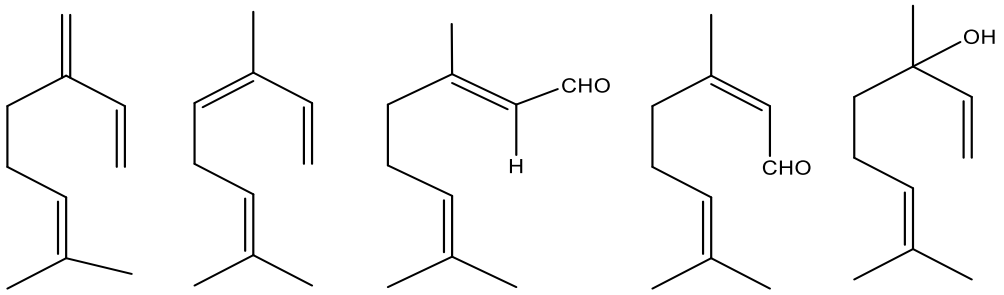
نوع التربين	عدد ذرات الكربون	عدد وحدات الإيزوبرين	عدد وحدات التربين
تربينات أحادية Monoterpène	10	2	1
سيسكوتربينات Sesquiterpène	15	3	1.5
تربينات ثنائية Diterpène	20	4	2
سيسترتربينات Sesterterpène	25	5	2.5
تربينات ثلاثية Triterpène	30	6	3
تربينات رباعية Tetraterpène	40	8	4
متعدد التربينات Polyterpène	أكبر من 40	أكبر من 8	أكبر من 4

II- 2-2-1- التربينات الأحادية (Monoterpène):

تعتبر التربينات الأحادية من أكثر الأنواع انتشارا في المملكة النباتية، حيث تدخل في تركيب بنيتها وحدتي إيزوبرين، وقد تكون هيدروكربونات فقط أو قد تحتوي على مجموعات وظيفية مثل: مجموعة الهيدروكسيل، الألدهيد، أو سيتون، ومنها مركبات حلقية و مفتوحة، أحادية الحلقة وثنائية الحلقة،

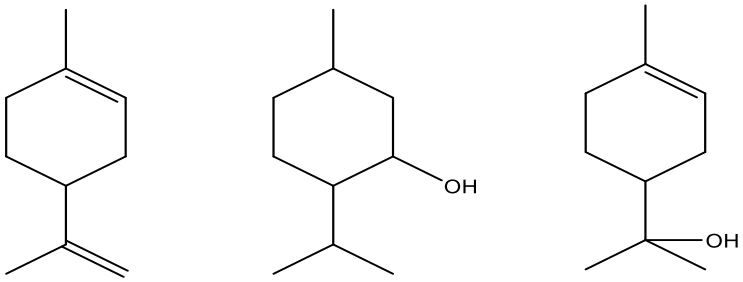
وتستخدم التربينات الأحادية في العديد من الصناعات مثل صناعة العطور لما لها من رائحة زكية تميز بها العديد من النباتات.[2]

والأشكال التالية توضح بعض أنواع التربينات الأحادية:



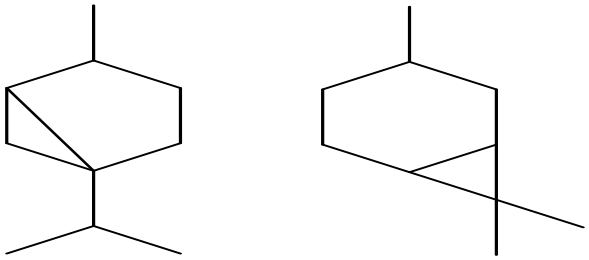
لينالول سبترال ب سبترال أ β أوسيمين ميرسين

الشكل II- 02: تربينات أحادية مفتوحة الحلقة



α تربينول منثول ليمونين

الشكل II- 03: تربينات أحادية - أحادية الحلقة

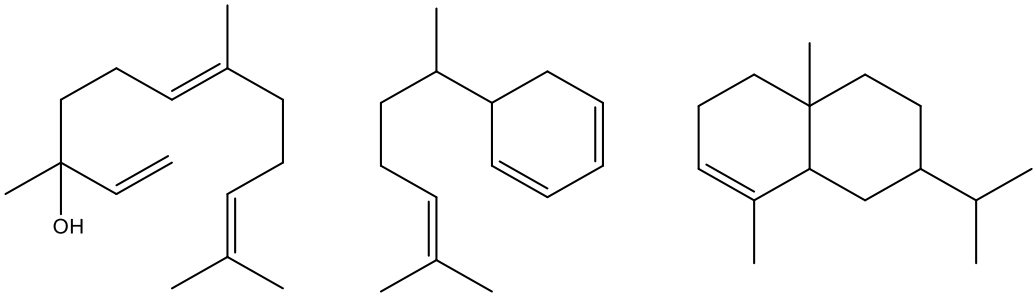


كاران ثوجان

الشكل II- 04: تربينات أحادية ثنائية الحلقة (سداسية- ثلاثية)

II- 2-2-2- سيسكوتربينات (Sesquiterpène):

تتكون السيسكوتربينات من ثلاث وحدات إيزوبرين تتحد مع بعضها بطرق مختلفة في البناء، فقد تكون مفتوحة أو حلقية (أحادية أو ثنائية أو ثلاثية الحلقة)، ومنها الأوكسيجينية وغير الأوكسجينية، وتتواجد في الزيوت الطيارة للنباتات العطرة، والسيسكوتربينات اللاكتونية هي الأكثر انتشارا في الطبيعة ويتركز وجودها في الفصيلة المركبة منها نباتات الشيح والأقحوان والقرطم.[2]

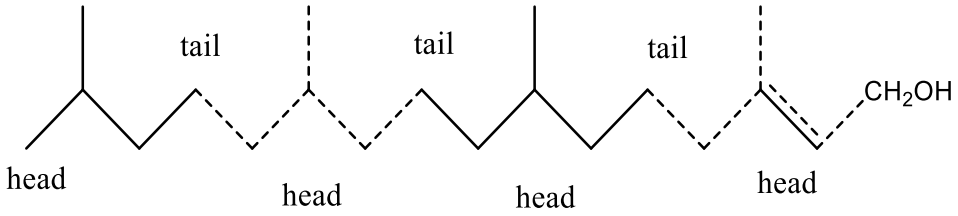


α- سيلانين زنجبيرين فارينسول

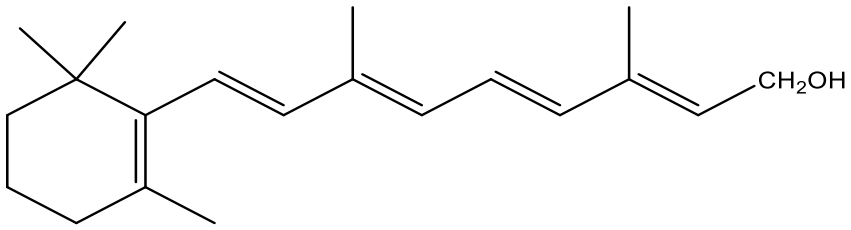
الشكل II- 05: بعض أنواع السيسكوتربينات

II- 2-2-3- التربينات الثنائية (Diterpène):

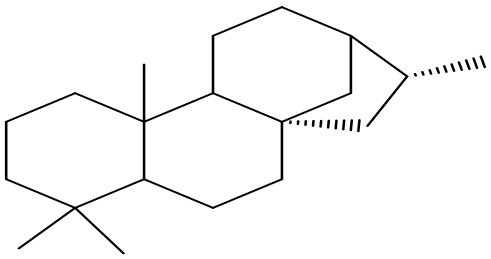
=التربينات الثنائية عبارة عن مواد صلبة القليل منها يتواجد في الزيوت الطيارة والكثير منها تم عزله من الراتنجات والأجزاء الخشبية للنباتات، وتتكون من أربع وحدات إيزوبرين إما تكون لا حلقية (مفتوحة) أو حلقية وقد تكون أحادية الحلقة أو ثنائية أو ثلاثية أو رباعية، وتتواجد بكثرة في نباتات الفصيلة الشفوية مثل نبات السدر. [11]



الشكل II- 06: التربينات الثنائية اللاحلقية



الشكل II- 07: التربينات الثنائية أحادية الحلقة



الشكل II- 08: تربينات ثنائية ثلاثية الحلقة

II- 2-2- 4- السيسترتربينات (Sesterterpène):

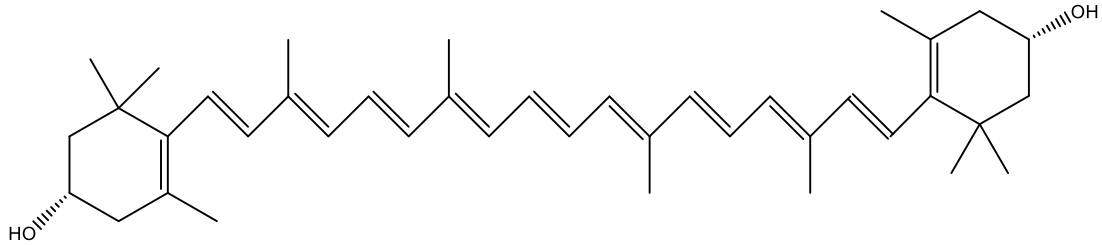
تتكون من خمس وحدات إيزوبرين، وتتواجد في الراتنجات ولا يعرف منها إلا القليل ويندر وجودها في الأجزاء الخشبية للنباتات.[24]

II- 2-2- 5- التربينات الثلاثية (Triterpène):

تتكون من ستة وحدات إيزوبرين، وهي مركبات صلبة تتميز بهياكل بنائية متعددة، يحتوي التركيب البنائي لها على أربع أو خمس حلقات وهي الأكثر انتشارا في الطبيعة. وتتبع هذه المجموعة مواد هامة خاصة في المملكة الحيوانية حيث تشكل عدد كبير من المواد مثل الكوليسترول و الهرمونات الجنسية الستيرويدية ومجموعة فيتامين D وجلوكوسيدات القلب والصابونين. [24]

II- 2-2- 6- التربينات الرباعية (Tetraterpène):

تتواجد في جميع أجزاء النباتات التي لها القدرة على القيام بعملية التمثيل الضوئي، فهي تتواجد في الأجزاء الخضرية للنباتات الزهرية والطحالب والبكتيريا، كما تتواجد في الجذور والأوراق وبالأخص الأوراق الصفراء، وتتكون من ثماني وحدات إيزوبرين.[24]



الشكل II- 09: تربينات رباعية β كاروتين

II- 2-2-7- متعدد التربينات (Polyterpène):

تنشأ عديدات التربينات من الإضافة المتكررة لوحدات الإيزوبرين إلى بعضها (بولي إيزوبرين)، وتتواجد في شمع الأوراق وعصارة الأشجار اللبنية مثل: المطاط الطبيعي، الذي يوجد في الطبيعة على هيئة مستحلب لبني يحصل عليه من أشجار المطاط في بعض المناطق الإستوائية.[24]

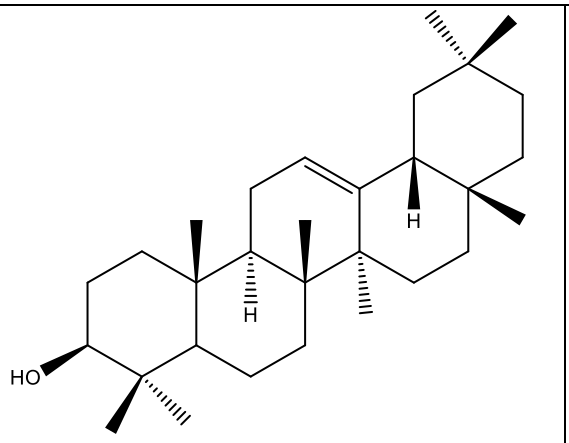
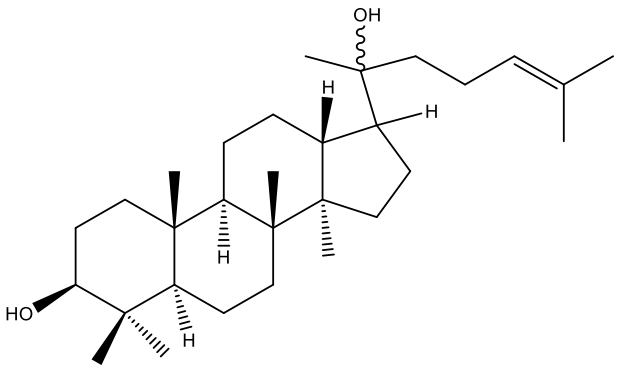
II-2- 3- التربينات الثلاثية Les Triterpène :

II-2- 3-1- تعريف التربينات الثلاثية:

هي مركبات صلبة، بيضاء، أغلبها ينصهر عند درجة حرارة عالية، وهي مواد نشطة ضوئيا لاحتوائها على العديد من المراكز الكيرالية، موجودة في الطبيعة في صورة حرة أو إيتيروزيدية، ويدخل في التركيب البنائي لها أربع أو خمس حلقات إلا أن التربينات المحتوية على خمس حلقات في بنائها هي الأكثر انتشارا في الطبيعة، ويعرف حتى الآن حوالي 40 هيكلا بنائيا يتألف منها التركيب البنائي لجميع التربينات.[9]

II- 2-3- 2- تصنيف التربينات الثلاثية:

يعتبر السكوالين المصدر الأساسي للتربينات الثلاثية، حيث أن غالبية التربينات الثلاثية حلقية والقليل منها يوجد على شكل خطي، وتتميز هذه التربينات الثلاثية بهياكل بنائية مختلفة، مما يؤدي إلى تنوعها وهذه بعض أهم هياكل التربينات الثلاثية الأكثر انتشارا في المملكة النباتية ومقسمة على حسب عدد الحلقات: تربينات ثلاثية حقيقية، ستيرويدات، قلويدات ستيرويدية وهذه بعض الأمثلة عن التربينات الثلاثية موضحة في الأشكال التالية: [11]

	
β-Amynn	**Lanostane**

الشكل II- 10: أمثلة عن التربينات الثلاثية رباعية وخماسية الحلقة

II- 2-3- 3- أهمية التربينات الثلاثية:

إن الأهمية العلاجية للتربينات الثلاثية واستعمالاتها الصناعية يجعل منها منتجات الأيض الثانوي ذات أهمية كبيرة تبرز فيما يلي:

II- 2-3-3-1- دور التربينات الثلاثية عند الإنسان:

تلعب التربينات الثلاثية دورا مهما يتمثل في:

- ✓ مسكنات للألم.
- ✓ مضادات للإلتهابات.
- ✓ مبيدات حشرية ومبيدات رخوية.
- ✓ مؤثرات على نمو النبات.
- ✓ أهمية المقويات القلبية الإيتيروزيدية والتي لم يعوضها أي من المنتجات الاصطناعية حتى الآن.
- ✓ الكثير من التربينات الثلاثية لها فعالية ضد الأورام وكذلك السرطان.[5-12]

وتتميز بعض التربينات الثلاثية بخواصها المذاقية البارزة بالأخص مرارتها الحادة فالليمونين Limonine هو الأساس المر لثمار الحمضيات الذي ينتمي إلى سلاسل التربينات الثلاثية خماسية الحلقة ذات الطعم المر.[13]

II- 2-3-3-2- دور التربينات الثلاثية عند النبات:

تلعب التربينات دورا مهما عند النبات يتمثل فيما يلي:

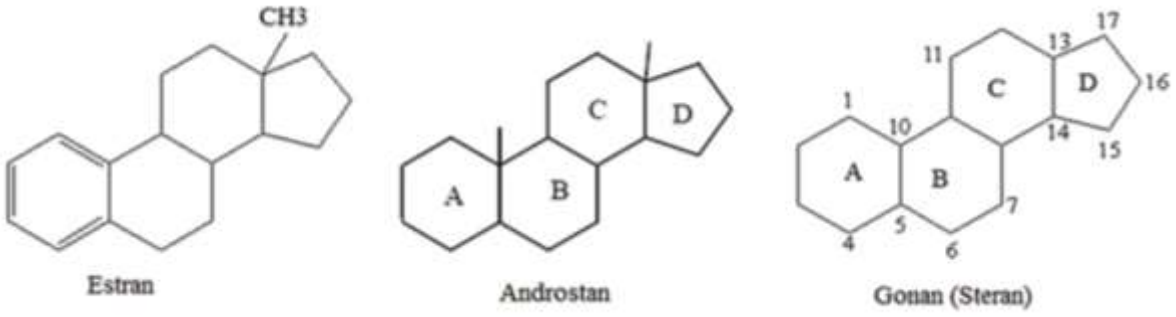
- ✓ ذات أهمية معتبرة في التصنيف الكيميائي في أنها مضادات للحشرات، مما يتيح للنبات حماية ذاتية من الأضرار التي تسببها الحشرات.
- ✓ تساهم في منح الرائحة والطعم لكثير من النباتات.
- ✓ مسؤولة عن اللون الأصفر للأزهار.[3]

II- 3- الستيرويدات Les Stéroïdes:

II- 3-1- تعريف:

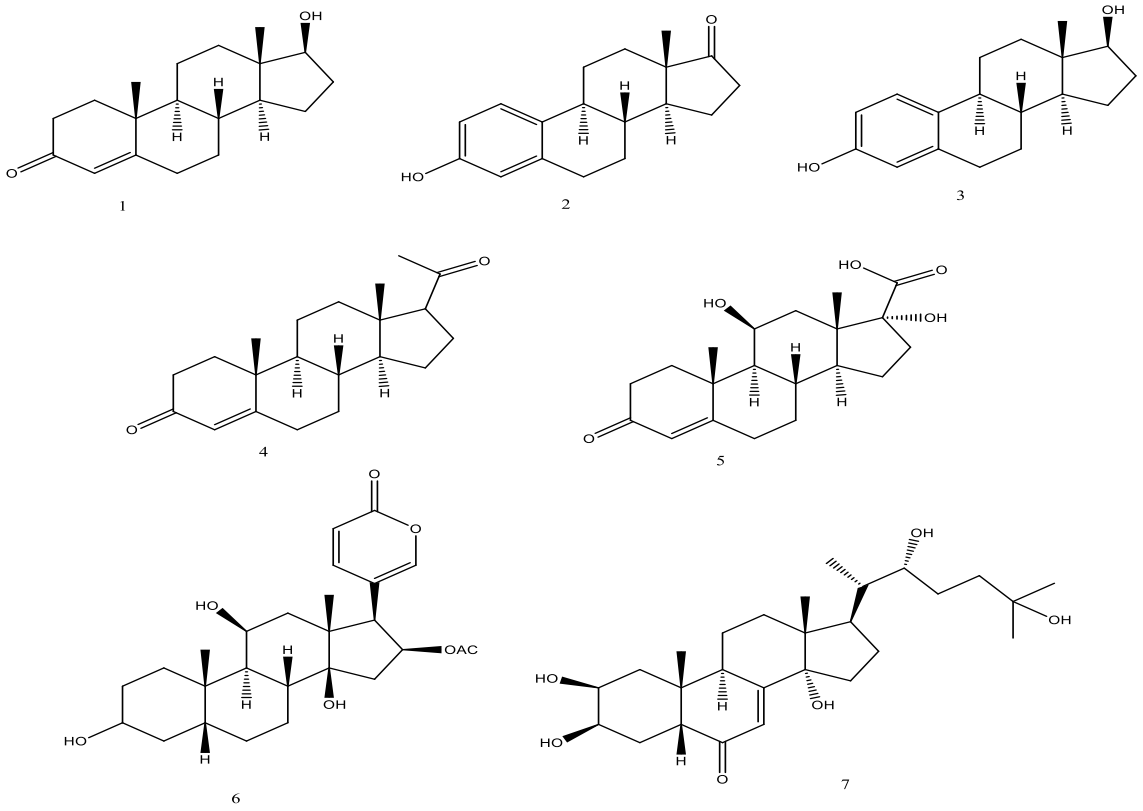
تعتبر الستيرويدات من أهم المركبات الطبيعية على الإطلاق لاحتوائها على مجموعات وظيفية ذات أهمية بيولوجية وصناعية بالغتين بسبب استخداماتها الطبية الواسعة، أهم هذه المجموعات هي الهرمونات الستيرويدية والجليكوزيدات القلبية بالإضافة إلى الصابونيات والستيرويدات القلويدية، وتنتشر بشكل واسع في النباتات والحيوانات وتوجد أيضا في الميكروبات.[2]

جميع مركبات الستيرويدات تمتلك كوحدة أساسية مركب رباعي الحلقات وهو Gonan (في الماضي كان اسمه Steran)، ويمكن اعتبارها مشتقات Androstan الذي يحتوي على مجموعتي ميثيل في المواضع 10 و 13 ماعدا مجموعة Estran فيها الحلقة A أروماتية ولا تحتوي على مجموعة ميثيل في الموضع 10.[2]



الشكل II- 11: الوحدة الأساسية لتكوين الستيرويدات

II- 3- 2- بعض المركبات الستيرويدية:[25]



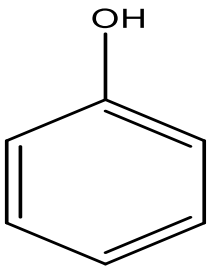
الشكل II- 12: بعض المركبات الستيرويدية

Testostérone (1)، Estrone (2)، Estradiol (3)، Progestérone (4)، Hydrocortisone (5)
Bufotalin (6)، X-ecdysone (7)

II- 4- المركبات الفينولية Les Polyphénols:

II- 4-1- تعريف:

تعتبر المركبات الفينولية من أكثر المركبات انتشارا في المملكة النباتية، وهي من نواتج الأيض الثانوي، تمتلك تركيبة كيميائية جد متنوعة حيث تم تحديد عدة الآلاف من الجزيئات في العديد من النباتات، وهي عبارة مواد بلورية صلبة في درجة الحرارة العادية لها درجة غليان عالية بسبب وجود الروابط هيدروجينية بين جزيئاتها، إذ تتميز بنيتها بوجود حلقة عطرية أو أكثر مرتبطة بعدة مجاميع هيدروكسيلية حرة أو مرتبطة بمجاميع أخرى مثل الاستر والإيثر، وتختلف في عدد الحلقات ونوع المجاميع المرتبطة، وبتعريف أدق هي عبارة عن منتج الأيض الثانوي الحاوي على حلقة بنزين أو أكثر تحمل مجموعة هيدروكسيل حرة أو مرتبطة بوظيفة أخرى، تكونت حلقاتها من أيض حمض الشيكميك (acide shikmique) أو متعدد الأسيتات (polyacétate). [14-15-16]



الشكل II- 13: نموذج لفينول بسيط

II- 4- 2- أهمية المركبات الفينولية:

- التخلص من الضرر الضوء الزائد وذلك بامتصاص الطاقة الضوئية وحماية المواد الحيوية.
- تنظم نمو وتطور النبات وذلك بالتأثير على فعالية الهرمونات.
- تلعب دورا في تكوين اللجنين.
- تكيف بيئة الخلية بتنظيم درجة الغليان والتجمد وتنظيم المحتوى الاسموزي.
- تسيطر على فعالية بعض الإنزيمات.
- تعطي بعض الأزهار ألوان زاهية تؤدي إلى جذب الحشرات وحدوث عملية التلقيح.
- تلعب دورا مهما في مقاومة الأمراض في بعض النباتات.[18]

II- 4- 3- أقسامها:

يتم تقسيم المركبات الفينولية الطبيعية تبعا لتواجدها وتعقيداتها إلى عدة اقسام أهمها: الأحماض الفينولية، الفلافونويدات، التانينات، الستلبينات، اللقان.[19]

وقد قام العالمان Harborne و Simmonds سنة 1964 بوضع أقسام لها كالتالي :

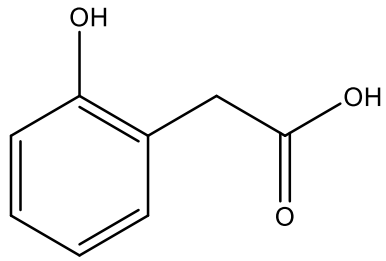
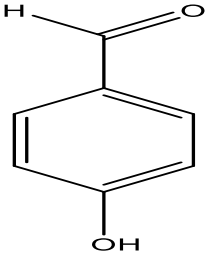
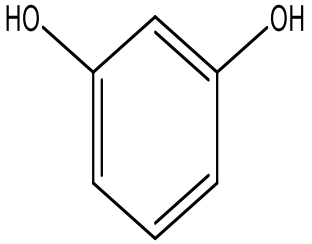
- عائلة المركبات الفينولية قليلة الانتشار.
- عائلة المركبات الفينولية كثيرة الانتشار.
- عائلة المركبات الفينولية المتواجدة في الطبيعة على صورة بوليمرات.[20]

II- 4- 3-1- عائلة المركبات الفينولية قليلة الانتشار:

II- 4- 3-1-1- المركبات الفينولية من الشكل (C_6-C_3, C_6-C_1, C_6):

وهي مركبات ذات هيكل كربوني بسيط تحتوي على حلقة بنزن مرتبطة بمجموعة واحدة أو أكثر من مجموعات الهيدروكسيل.[17]

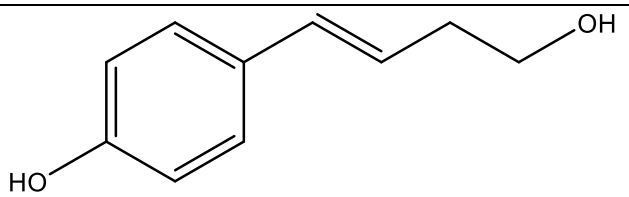
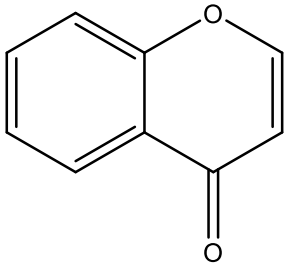
أمثلة:

		
Hydroxy phénylacétique	**4-hydroxy- benzaldehyde**	**Résoreinol**

الشكل II- 14: بعض المركبات الفينولية من الشكل (C_6-C_3, C_6-C_1, C_6)

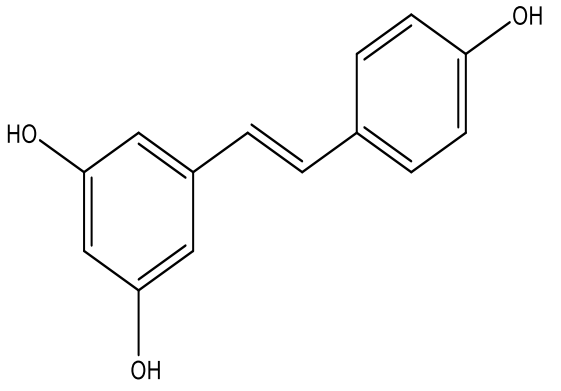
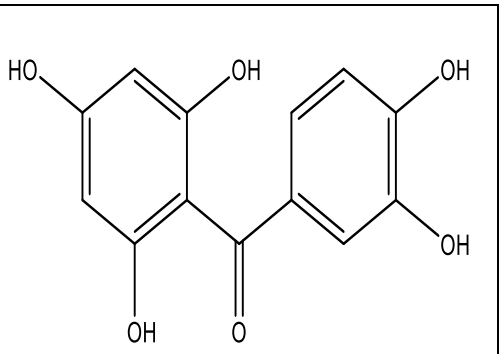
II- 4- 3-1-3 -2- المركبات الفينولية من الشكل (C_6-C_4, C_6-C_3):

وتتواجد أكثر من سابقتها وبعض هياكلها موضحة في (الشكل II- 15) التالي [3]

	
4-(E)-4-hydroxybut-1-enyl phénol	**Chromone**

الشكل II- 15: بعض المركبات الفينولية من الشكل(C_6-C_4, C_6-C_3)

II- 4- 3-1-3 -3- المركبات الفينولية من الشكل (C_6-C_2-C_6, C_6-C_1-C_6):

	
Resvératrol	**Maclurine**

الشكل II- 16: بعض المركبات الفينولية من الشكل (C_6-C_2-C_6, C_6-C_1-C_6)

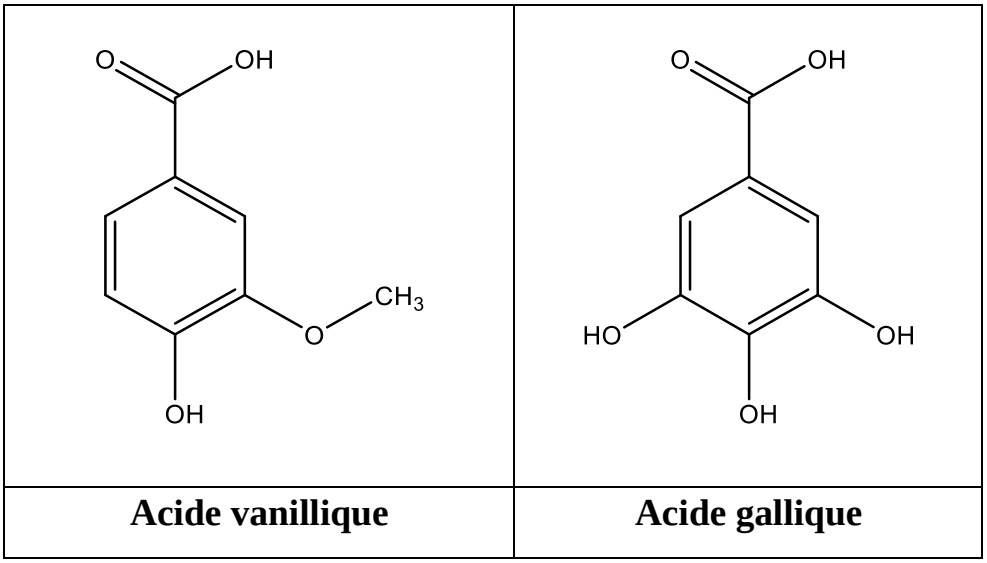
II- 4- 3-2- عائلة المركبات الفينولية واسعة الانتشار:

II- 4- 3-2-1- الأحماض الفينولية:

ويتكون من حلقة بنزن مرتبطة بمجموعة حامضية وهي مجموعة الكربوكسيل COOH وكذلك واحد أو أكثر من مجموعات الهيدروكسيل وقد يحصل أيضا مجموعات اخرى مثل مجموعة الميثيل.

وهي تنقسم الى مجموعتين:

II- 4- 3-2-1-1- أحماض البنزويك C_6-C_1:



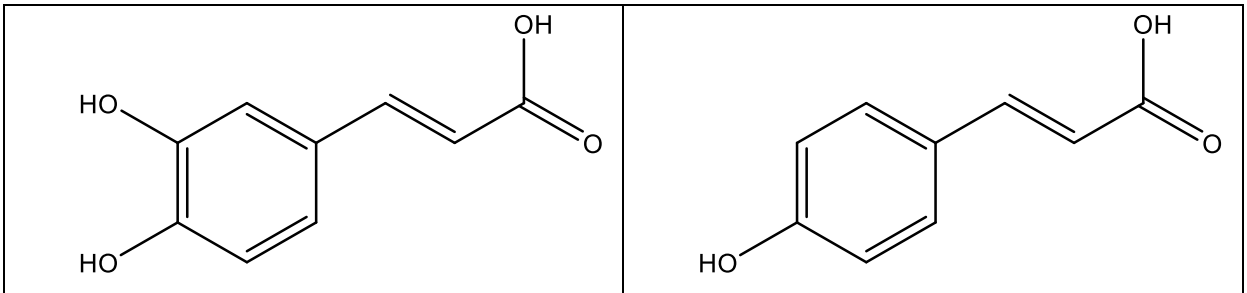
Acide gallique	Acide vanillique

الشكل II- 17: أمثلة عن أحماض البنزويك(C_6-C_1)

II- 4- 3-2-1-2- أحماض سينامیك C_6-C_3:

أحماض السينامیك توجد على شكل متماكبات (E et Z diastéréoisomèrs) بسبب وجود رابطة مزدوجة في الجذر الجانبي، حيث أن التشكيلة (E) أكثر تواجد لأنها أكثر استقرار ترموديناميكيا، وتوجد في شكل أسترات أو سكريات[20].

وتشمل أحماض السينامیك أربعة مركبات لا يخلو منها أي عضو نباتي من أحدها على الأقل وهي: أحماض الفيريليك، السينابيك، الكافييك، الكوماريك.



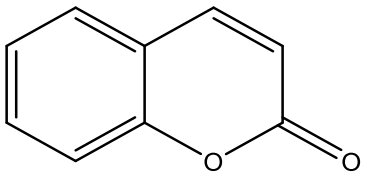
Ac.β- coumarique	Ac. Cafeique

الشكل II- 18: أمثلة عن أحماض السينامیك C_6-C_3

II- 4- 3-2-3- 2- الكومارينات C_6-C_3 :

تعتبر الكومارينات مركبات طبيعية مهمة جدا حيث تستعمل كمواد حافظة للأغذية وكذا مواد التجميل، حيث اشتق اسم الكومارين من كلمة (coumarou) وهو اسم نبات (willd odorata Dipteryx) من عائلة Fabaceae الذي فصل منه الكومارين (سنة 1820)، وتنتمي هذه الأخيرة إلى مجموعة من مركبات α_benzopyrone حيث تتكون من حلقة عطرية مرتبطة مع حلقة بيران

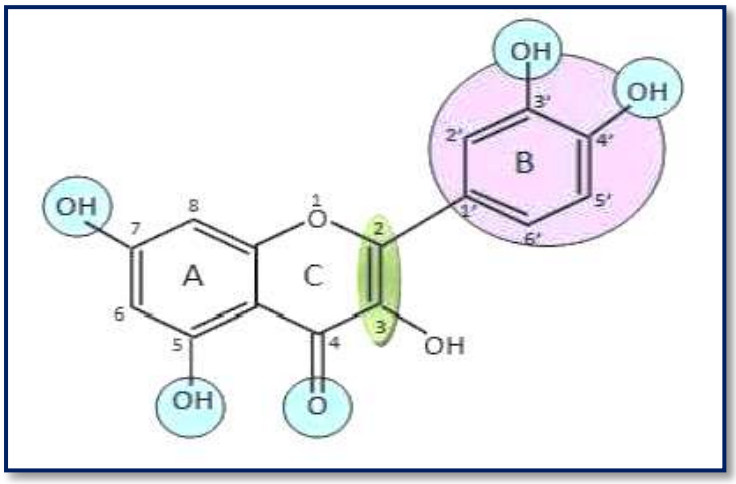
تتواجد الكومارينات في الطبيعة بشكل أجليكونات أو مرتبطة بجزيئات سكرية مشكلة جليكوزيدات (glycosides) .[19].



الشكل II- 19: يوضح الهيكل الأساسي للكومارين

II- 4- 3-2- 3- الفلافونويدات:

تعتبر الفلافونويدات عائلة واسعة الانتشار من المركبات الفينولية التي ينتجها النبات، تحتوي على أكثر من 6000 نوع، تملك الفلافونويدات بنية كيميائية مشتركة يتكون فيها الهيكل الكربوني من 15 ذرة كربون (C_6-C_3-C_6) موزعة على حلقتين عطريتين سداسيتين (حلقة A و B) مرتبطتين بحلقة غير متجانسة pyrone أو pyrane تدعى الحلقة c، تتوزع الفلافونويدات في الأوراق والقشرة وفي الأزهار، كما تنتشر بكثرة في الخضر الورقية، تساهم الفلافونويدات في إعطاء النكهة ولون الازهار والثمار والاوراق، حيث ان غالبية الألوان عبارة عن chalcone وaurones وanthocyanins، كما لها دور في نمو وتكاثر النبات والمقاومة ضد العوامل الممرضة للنبات والاشعة UV، تؤدي التغيرات الحاصلة على مستوى الحلقات الى وجود عدة اقسام من الفلافونويدات ومشتقاتها التي تختلف فيما بينها في عدد ومواقع مجاميع OH، وكذلك في طبيعة ومدى الارتباط بالسكريات هذه الاقسام هي: Flavanonols، Flavanones، Flavones، Flavanols Isoflavones، Anthocyanins، Aurones، Chalcone، Flavan3-ols، 4diols، Flavan3.[21]



الشكل II- 20: الشكل العام للفلافونويدات

II- 4- 3-2- 3- 1- تصنيف الفلافونويدات:

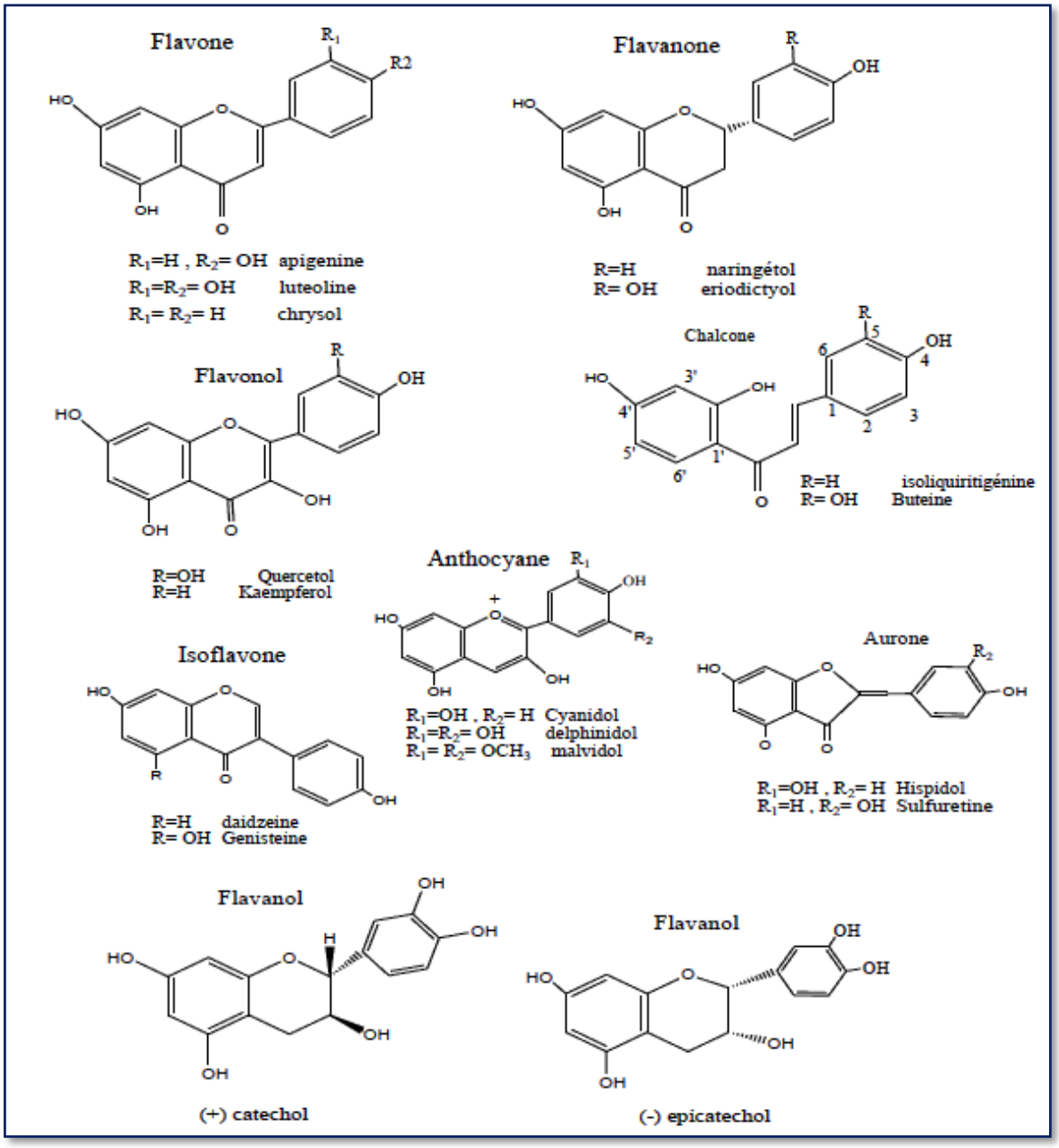
أحدثت دراسة الفلافونويدات عارضة كبيرة لمعرفة أنواعها البنيوية، حيث تم معرفة أكثر من 6500 بنية فلافونويدية إلى غاية 1999م حيث يمكن تقسيم الفلافونويدات حسب جهة ارتباط الحلقة C إلى:

- فلافونويدات: إذا كان ارتباط الحلقة B مع الحلقة C انطلاقا من الموقع C_2
- إزوفلافونويدات: إذا كان ارتباط الحلقة B مع الحلقة C انطلاقا من الموقع C_3.

كما يمكن تقسيمها تبعا لدرجة أكسدة الحلقة C إلى عدة أصناف، فأكثرها انتشارا الفلافونات Flavones والفلافونولات Flavonols وهي مركبات متماثلة في الهيكل الرئيسي ، ويكون الاختلاف في الموقع C_3 إذا كان غير مستبدل فهنا يكون الفلافون، أما إذا كان مستبدل بـ: OH فهو فلافون، وفيهما تكون الحلقة A مستبدلة بمجموعة هيدروكسي حرة في الموقع C5 وC7 بنسبة 90% أما الحلقة B فتكون مستبدلة في الموقع C4 بنسبة 50%، تثبيت هذه المجموعات يكون قبل تشكل الحلقات A وB ولهذا فهي تعتبر مجموعات أصلية.[22]

وتتميز الفلافانونات Flavanones وفلافولات Flavanols بغياب الرابطة الثنائية بين C2 و C3 وهنا كنوع خاص من الفلافونيدات يتواجد في الأزهار يتغير لونه على حسب ال PH وهو عبارة عن الأنثوسيانات.[22]

وبعض أصناف الفلافونويدات موضحة في الشكل التالي :



الشكل II- 21: بعض أصناف الفلافونويدات

المراجع

المراجع باللغة العربية:

[1] فوزي طه قطب حسين، النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها، دار المريخ، الرياض، السعودية، 1981، ص 62.

[2] د. محمد عبد الجليل مسعود، كيمياء المنتجات الطبيعية، منتجات نباتية، ميكروبية وحيوانية، دار الفكر، ط1، عمان، الأردن، 2009، ص 13، 39-41، 43، 48، 61، 74-78.

[3] دندوقي حسين، دراسة الميتابوليزم الفلافونويدي لنبات Inulaviscosa، مذكرة ماجستير في الكيمياء العضوية، جامعة قسنطينة، ، ص 13.

[4] حوة ابراهيم، دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة، مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، 2013، ص 109.

[7] بن عربية ع، دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء Lawsonia Inermis لولاية أدرار، مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، 2013، ص 54.

[10] دندوقي حسين، دراسة الأيض الفلافونويدي والتربيني لبعض أنواع نباتات ضايات الصحراء الجزائرية، رسالة دكتوراه في الكيمياء العضوية، جامعة منتوري، قسنطينة، 2002، ص 74- 76.

[11] بوديار طارق، فصل وتحديد نواتج الأيض الثانوي ودراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبتة Euphorbia guyoniana، مذكرة ماجستير في الكيمياء العضوية، جامعة منتوري، قسنطينة، 2008، ص 14، 75-81.

[18] بالقط خولة، سباع نجوى، دراسة مقارنة للمردودية والنشاطية المضادة للأكسدة في مستخلص الكحولي والمائي عند نبات Plantago albicans L، مذكرة ماستر أكاديمي في بيولوجيا وتثمين النبات، جامعة حمه لخضر الوادي، 2015، ص 8، 16-17.

[23] بن سلامة عبد الرحيم ، النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق Hertia cheiriffolia.L مذكرة مقدمة لنيل شهادة ماجستير تخصص بيوكيمياء والفسيولوجيا التجريبية جامعة فرحات عباس، سطيف، 2012 .

المراجع باللغة الأجنبية:

[5] J. BRUNTON. Pharmacologie (phytochimie, médicales plantes). 3éme édition, paris: Edition internationales et édition Tec et Doc, 1999, p 445, 758.

[6] DACOSTA E., les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (ED). Paris, 2003, p 317.

[8] E. KOLLI. Recherche et détermination structurale de métabolites secondaires d'espèces du genre Centaurea. Activité cytoxique, Thèse de doctorat, Constantine: université Constantine1, 2013, p 18-19.

[9] Gutteridge, JMC. Free radicals in disease processes. a compilation of cause andconsequence. *Free Radic. Res. Comms*., 19 (3),1993, p 141.

[12] Tokuyama, C.T., Hayashi, Y., Nishizawa, M., Tokaka, S.,Chariul, S.M. and Hayashi, Y, phytochemistry 30, 1991, 4105.

[13] Connolly, J.D., Qverton, K.M.andpolonsky.j, phytochemistry 2, 1970, 385.

[14] G. Richter, Métabolisme des végéteaux, physiologie et biochimie. Presses, polytechnique et universitaire Romandes, 1993, p 328-339.

[15] C. Manach, A. Scalbert, C. Morand, C. Remesy, L. Jiminez, polyphenols: Food source and bioavailability. American Journal of Clinical Nutrition, 2004, p 727-747.

[16] b. jean, farmacognnosie phytochimie planates medicinales, 3eme ediciontechniqe, et documention , paris, 1999.

[19] D.A.Sliha,"etude quantitative des composesphenoliques des extraiats de trois varietes de datte (phoenx dactylifera1.)et evaluation in vitro de leur activite biologique." Mémoire pour l obtentiom de diplôme de magister en biologie universite el-hadj lakhdar,Batna , 2010.

[20] L.Salah Eddine, Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des phoenix dactylifera dans la region du sud d'Algérie (la region d oued souf), These présentée en vue de l'obtention du diplôme Doctorat en science.Universite Mohammed Khider ,Biskra, 2014.

[21] G. J.Kiating .R . OKennedy, Thechemistry and occurrence of coumarins, 1997, p23-66.

[22] R.D.H. Murry.J.Mendez.S.A. Brown . The Natural Coumarine: Occurrence Chemestry and Biochemrstry .JohnWiley and SonsLtd. Chichester,1982.

المواقع الإلكترونية:

[17] http://www.smsec.com/ar/encyc/2/index.htm . 28/05/2018

[24] https://www.kau.edu.sa/ 29/05/2018

[25]https://www.sciencedirect.com/sdfe/pdf/download/eid/1.29/05/2018

الفصل الثالث

الفعالية البيولوجية

III- 1- الفعالية المضادة للبكتيريا:

مدخل:

إن أول من اكتشف وجود البكتيريا والتعرف عليها هو العالم الكيميائي الفرنسي (باستور Pasteur)، وذلك من خلال تجاربه على التخمر وقد اكتشف أيضا طعومها، وارتبط اسمه بعملية البسترة لقتل الكائنات الحية المجهرية التي يمكن أن تتواجد بالسوائل وخاصة الحليب، وقد قام العالم الألماني روبرت كوخ في اكتشاف العلاقة بين البكتيريا والأمراض وهو أول من عمل مزارع نقية للبكتيريا.

وارتبط اسم البكتيريا كثيرا بالأمراض التي تسببها للإنسان، لكن الاكتشافات الحديثة أظهرت أن البكتيريا لها دور كبير في الكثير من الصناعات الغذائية والدوائية، والتخلص من المواد العضوية وغير العضوية، ومعالجة المياه وكذا المعالجة الحيوية لمخلفات المزارع واستخدامها في إنتاج الطاقة وغاز الميثان.[1]

III- 1-1- تعريف البكتيريا:

هي كائنات دقيقة مجهرية أحادية الخلية بدائية النواة ذات أشكال مختلفة، يتراوح قطر معظمها ما بين 0.3-2 ميكرون، توجد في كل مكان في الماء، الهواء، التربة، وحتى داخل جسم الإنسان.[2]

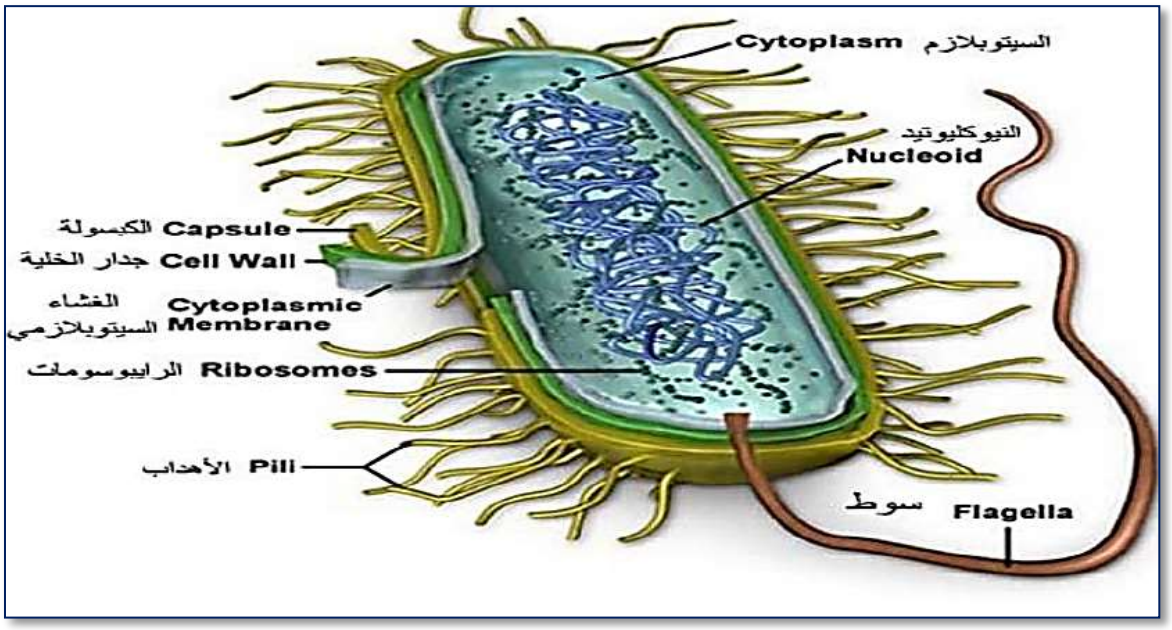
ويمكن للبكتيريا أن تعيش لسنوات طويلة، حيث يمكنها تحمل جميع الأحوال غير الملائمة من ارتفاع درجة الحرارة أو انخفاضها، أو غير ذلك من الظروف القاسية، وعند تحسن هذه الظروف المحيطة بها تتخلص الجرثومة من الغشاء السميك وتعود إلى سابق عهدها.[3]

III- 1-2- بنية البكتيريا:

إن بنية الخلية البكتيرية بسيطة حيث تتركب من غلافين الأول جدار خلوي سميك وصلب وهو الذي يعطيها شكلها الثابت ويحميها من الهجوم الخارجي، والثاني غلاف رفيع يسمى بالجدار الخلوي السيتوبلازمي، أما محتواها الداخلي فهو مؤلف من بروتوبلازم متجانسة وفجوات، ولا تحتوي على نواة إلا أنها تحتوي على ADN الذي يتحكم في نمو الخلية وتكاثرها وجميع النشاطات الأخرى. وأغلب الجراثيم عديمة اللون إلا أن بعضها يحتوي على أصباغ تعطي للجراثيم ألوانها، مثل الكبريتية الحمراء Thiorhodaceae والكبريتية الخضراء Chlorobium.

ويعتبر كل من الجدار، البروتوبلازم، والغشاء الداخلي والكروموزومات عناصر ثابتة وأساسية في جميع أنواع الخلايا البكتيرية، مع وجود اختلافات بسيطة، فبعض الخلايا البكتيرية تكون محاطة بمحفظة capsule من الخارج، أو تمتلك سواطا يساعدها على الحركة، بالإضافة إلى بعض الأنواع من البكتيريا يوجد لديها زوائد خلوية pili وهي تساعد الخلية على الإلتصاق.[4]

والشكل III-01 يمثل رسم تخطيطي لخلية بكتيرية



الشكل III-01- رسم تخطيطي لخلية بكتيرية

III- 1- 3- خصائص البكتيريا:

- البكتيريا كائنات دقيقة يتراوح حجمها بين 2-3 ميكرون.
- البكتيريا كائنات دقيقة بدائية النواة.
- درجة الحرارة المناسبة لنموها تتراوح ما بين 37° م- 45° م حيث يمكنها التكاثر خلال مدة وجيزة إلى أعداد كبيرة.
- بعض أنواع البكتيريا نافع والبعض الآخر ضار، لكل منهما أنواع عديدة تزيد على 2000 حجمها صغير جدا، منها الكروية ذات قطر يتراوح بين 0.15-2 ميكرون والعضوية يتراوح بين 4×1.5-2.5×6 ميكرون. [1]

III- 1- 4- تصنيف البكتيريا:

قام العلماء بتصنيف البكتيريا على عدة مقاييس منها:

III- 1- 4-1- من حيث الشكل:

- **البكتيريا الحلزونية (Spiral):** التي تأخذ شكلا حلزونيا.
- **البكتيريا العصوية (Bacilli):** التي تكون خلاياها على شكل عصيات تحت المجهر.
- **البكتيريا الواوية (Vibrio):** وتأخذ شكل الواو أو الضمة العربية.
- **البكتيريا الكروية (Cocci):** التي تأخذ خلاياها شكل الكرة الصغيرة.
  - البكتيريا الكروية المضاعفة Diplococci.
  - البكتيريا الكروية المتجمعة بشكل سبحة Streptococci.[5]

III- 1- 4- 2- من حيث توزيع أسواطها:

يمكن تقسيمها إلى:

- بكتيريا وحيدة السوط.
- بكتيريا ذات أسواط عديدة:
  - متجمعة عند طرف واحد.
  - موزعة على كل الخلية.[5]

III- 1- 4- 3- من حيث تركيب جدارها الخلوي:

تم اكتشاف هذه التقنية من قبل العالم J.GRAM سنة 1884، وسميت هذه التقنية باسمه، حيث يوضح الاختلاف في تركيب جدار الخلية عن طريق التلوين، وقد استنبط نوعين من خلال هذه الطريقة:

- ❖ بكتيريا موجبة غرام Gram-positive.
- ❖ بكتيريا سالبة غرام Gram-négative.[6]

III- 1- 4- 4- من حيث الوسط الذي تعيش فيه:

وتقسم إلى ثلاث أنواع هي:

- ✓ بكتيريا هوائية (Aerobic): وهي التي تعيش فقط على الأكسجين وتعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية.
- ✓ بكتيريا لا هوائية (Anaerobic): وهي بكتيريا تعيش فقط في غياب الأكسجين.
- ✓ بكتيريا هوائية إختيارية (Facultative Anaerobic): وهي التي تعيش وتنمو في وجود الأكسجين أو عدمه.[5]

III-1- 4- 5- من حيث التغذية:

ويمكن تقسيمها إلى نوعين:

- بكتيريا ذاتية التغذية Autotrophie bactérie: هي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو.
- بكتيريا عضوية التغذية Hétérotrophie Bactérie: وتقسم هذه المجموعة إلى بكتيريا رمّية وأخرى طفيلية، وتتغذى البكتيريا الرمّية على المواد العضوية للعضيات الميتة، أما الطفيلية فتعيش على سطح جسم الكائن الحي وتتغذى على حسابه.[5]

III- 1- 4- 6- من حيث الأثر على الإنسان:

يمكننا تقسيمها إلى ثلاثة أنواع:

بكتيريا نافعة Bénéficial bactérie:

وهي التي تقدم خدمات للإنسان، الحيوان والبيئة فهناك نوع من البكتيريا يعيش في أمعاء الإنسان فتساعده على هضم الطعام، ومنها من يفرز بعض المواد المفيدة للجسم مثل الفيتامينات وتعمل على تدمير

البكتيريا الضارة، وهناك نوع آخر من البكتيريا يعيش في التربة ويلعب دورا مهما في غذاء النبات، تستعمل أيضا في صناعة منتجات الألبان، وبعض الأدوية.[4]

- **بكتيريا إنتهازية Opportumistic Bacterria:**

هناك أنواع من البكتيريا تعيش في جسم الإنسان من دون أن تسبب له أضرار صحية إلا أنها تؤدي إلى انخفاض مناعة الإنسان لأي سبب من الأسباب، وتهاجم الجسم متحولة إلى بكتيريا ضارة تسبب العديد من الأمراض مثل إلتهاب الحلق أو اللوزتين.[4]

- **بكتيريا ضارة Bactéries nocives:**

تسبب للإنسان أمراضا ومشاكل صحية عديدة، مثل السل، الكوليرا، التيفوئيد، السعال الديكي...إلخ وتدخل البكتيريا عن طريق الفتحات الطبيعية مثل فتحة الأنف والفم أو عبر شقوق الجلد وتحمل البكتيريا مع الهواء، الماء والطعام. وقد تصيب البكتيريا النبات مثل اللفحة النارية التي تصيب أشجار التفاح والتعفن البكتيري الذي يسبب تلف بعض الفواكه والخضروات.[4]

III- 1- 5- البكتيريا المستعملة في الدراسة:

خلال هذه الدراسة تم استعمال ثلاث أنواع من البكتيريا تم جلبها من مخابر البيولوجيا بكلية العلوم الطبيعة والحياة وهي:

- *Pseudomonas aeruginosa*.
- *Escherichia coli*.
- *Listeria monocytogenes*.

III- 1- 5- 1- البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*:

هي بكتيريا متحركة هوائية عصوية الشكل، ذات غرام سالب، مصدرها الجهاز الهضمي للإنسان، الحيوان، الماء والتربة، تعمل هذه البكتيريا على الإتلاف السطحي للأغذية المبردة وتعد من بين الميكروبات المحللة للدهون الموجودة باللبن مما يؤدي إلى تغير لونه وطعمه، وهي مقاومة للعديد من المضادات الحيوية والمطهرات مما يفسر نموها وتكاثرها في الأوساط الاستشفائية حيث تنمو في الأجهزة الطبية، الأفرشة، الألبسة... وتكون ممرضة بضعف الجهاز المناعي للجسم.[7]

وتنتمي بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* إلى:

الجدول III-01- تصنيف بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*

المملكة	**Bactérie**
التصنيف	Pseudomonabactérie
القسم	Gammaproteobacteria
الرتبة	Enterobacteriales
العائلة	Enterobacteriaceae
النوع	*Pseudomonas*
الصنف	*Pseudomonas aeruginosa*

III- 1- 5- 2- البكتيريا المعوية *Escherichia coli*:

هي بكتيريا اختيارية الهواء، عصوية الشكل، غرام سالب وذات أبعاد من 1 إلى 3 ميكرون، تكون متحركة على شكل عصيات وتتكاثر بسرعة عند درجة حرارة الجسم °37، تعيش في جسم الإنسان والحيوان والنبات وفي التربة، ومن بين الأمراض التي تسببها أمراض الجهاز البولي، الإسهال الطفيلي، إلتهاب السحايا وتسمم الدم.[8]

وتنتمي بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* إلى:

الجدول III-02- تصنيف بكتيريا *Escherichia coli*

المملكة	**Bactérie**
التصنيف	Proteobactérie
القسم	Gammaproteobacteria
الرتبة	Enterobacteriales
العائلة	Enterobacteriaceae
النوع	*Escherichia*
الصنف	*Escherichia coli*

III- 1- 5- 2- البكتيريا *Listeria monocytogene*:

للستيريا هي البكتيريا تضم 10 أنواع كل منها يحتوي على نويعين. سميت نسبة إلى الجراح جوزف ليستر الذي اكتشفها عام 1940. في عام 2014 تم اكتشاف 5 أنواع أخري.كل سلالات الليستيريا هي موجبة الغرام، قد تسبب بكتيريا الليستيريا الإصابة بالحمى أو الإسهال لدى بعض الأشخاص، فيما قد

تتفاقم الحالة لدى أشخاص آخرين ما ينتج عن أوجاع في العضلات، والصداع، وتصلب الرقبة، والتشنجات.وقد تؤدي بكتيريا الليستيريا إلى حالة الإجهاض لدى النساء الحوامل أيضا.

ويمكن لهذه البكتيريا أن تقتل.. إذ يقدر مركز مكافحة الأمراض أن حوالي 260 شخصاً يموت سنوياً بسبب تناول الأطعمة الملوثة ببكتيريا الليستيريا، بالإضافة إلى 1,600 مرض آخر.[9]

وتنتمي بكتيريا *Listeria monocytogene* إلى:

الجدول III-03- البكتيريا *Listeria monocytogene*

Bactérie	**المملكة**
Firmicutes	**التصنيف**
Bacilli	**القسم**
Bacillales	**الرتبة**
Listeriaceae	**العائلة**
Listeria	**النوع**
L. monocytogene	**الصنف**

III- 2- المضادات الحيوية:

III- 2- 1- تعريف المضادات الحيوية:

استعمل المصطلح لأمرة مرة بواسطة العالم Vullemin سنة 1889 الذي عرفها بأنها الظروف التي يمكن تحتها لكائن حي إبادة كائن حي آخر ليحتفظ هو بحياته ووجوده ولا يختلف تعريف فيولمين لهذه الظاهرة كثيرا عن التعريف الحالي والذي ذكره Waksman سنة 1945 في أن هذه الظاهرة ترجع إلى إفراز مواد كيماوية ذات تأثير ضار بالميكروبات.[10]

III- 2- 2- أنواع المضادات الحيوية:

إن الوظيفة الأساسية للمضاد الحيوي في الجسم تنقسم إلى قسمين:

III- 2- 2-1- مضادات حيوية كابحة للنشاط الخلية البكتيرية:

يمنع تكاثرها وهو ما يساعد في القضاء عليها مثل: سلفوناميد، كلورام فينكول.

III- 2- 2-2- مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية:

إما عن طريق التأثير على جدار خليتها أو بالتسبب في انتفاخ خليتها وانفجارها أو بمنع تكوين مادة البروتين داخل خليتها مثل: أمبيسيلين، بنيسيلين، جنتاميسين. [11]

III- 2- 3- تأثير المضادات الحيوية:

تعمل المضادات الحيوية على قتل الميكروب، أو كبح الميكروبات، ويكون مفعول المضاد الحيوي على مستوى الغلاف الداخلي، أو يعمل على مستوى الخلية لإيقاف تصنيع البروتين.

III- 2- 3-1- العمل على الجدار الخارجي للبكتيريا:

المضاد الحيوي يوقف تركيب الجدار بتثبيط Transpeptidase هذا ما يمنع من تركيب peptidoglycane، وهذا يوقف نموها وعملها، ومن المضادات الحيوية التي تعمل على ذلك، بنيسيلين pinicillin، سيفلوسبورين céphalosporine، فانكوميسين vancomycin، سيكلوسبورين cyclosporine.[11]

III- 2- 3- 2- العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا:

المضاد الحيوي له خواص سطحية التي تمكنه من تخريب عمل نفاذية الغشاء الداخلي (زيادة غير طبيعية)، ويسمح بطرح المواد السائلة خارج البكتيريا هذا ما يسمح بتدميرها مثل Polymyxines (Lipopeptides cycliques).[12]

III- 2- 3- 3- العمل على تثبيط نمو الـ ADN:

يعمل المضاد الحيوي على المعقد ADN – ADN ، حيث يعمل المضاد الحيوي على التثبيط الأيضي لنمو ADN البكتيريا، ومن المضادات التي تعمل على ذلك، ستربتوميسين Streptomycin، كانواميسين Kanamycin ، أرثروميسين Erythromcin، ريفامبيسين Rifampicin ، سبترين Septrin.[12]

III- 2- 4- طريقة تحديد درجة حساسية المضادات الحيوية:

المضادات الحيوية مركبات كيميائية محضرة ذات فاعلية خاصة بتراكيز مخففة، بعضها يملك فعالية كبيرة أو صغيرة تختلف حسب نوع البكتيريا الحساسة للمضاد.

كما أن للبكتيريا القدرة على مقاومة المضاد الحيوي وذلك بتعديل جيناتها.[13]

III- 2- 4- 1- خواص الجذمة البكتيرية (La souche bactérienne):

تعتبر الجذمة البكتيرية مقاومة للمضاد الحيوي على حسب تركيزه، أي كلما ارتفع التركيز قلت المقاومة لإعطاء أفق لكي تتم المعالجة.

III- 2- 5- حساسية البكتيريا:

إن دراسة حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي لها عدة أهداف أهمها:

- اختيار المضاد الحيوي الأكثر نشاطا.
- معالجة الأمراض المعدية، وذلك باختيار المضاد الحيوي الفعال باختباره على الميكروب المسؤول عن المرض.

- تحديد التركيز اللازم للتخلص من العامل المعدي والممرض للعضو المريض.

ولتحقيق ذلك توجد طريقتين هما:

III- 2- 5- 1- طريقة دراسة فعالية المضاد البكتيري:

هذه الطريقة تدرس مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي بدلالة الزمن والتركيز، وذلك برسم منحنيين الأول يسمى منحنى النمو، ويمثل عدد البكتيريا بدلالة الزمن(ساعات)، والثاني نسبة التثبيط بدلالة تركيز المضاد الحيوي، ويحدد من المنحنيين ما يلي:

- التركيز الأدنى للتثبيط La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).
- التركيز الأدنى القاتل للبكتيريا La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) .

والقيمتين CMB، CMI، تكون متقاربتين بالنسبة للمضادات الحيوية القاتلة، ومتباعدة بالنسبة للمضادات الحيوية المثيطة.[1]

III- 2- 5- 2- طريقة الأنتيبيوغرام القياسي L'antibiogramme:

وهي طريقة تحليلية لتحديد مدى فعالية المضاد الحيوي على البكتيريا (CMI)، وتعتبر الأفضل لمعالجة المرض المتسبب في هذا الأخير.

وتنقسم إلى طريقتين:

III- 2- 5- 2-1- طريقة التمديد Méthode de dilution:

تتم في وسط سائل أو صلب، وهي صعبة التطبيق في حالة التحليل الروتيني.[1]

III- 2- 5- 2-2- طريقة الانتشار Méthode de diffusion:

وهي الأكثر استعمالا في المستشفيات لتشخيص الأمراض المعدية، ويكون الوسط المستعمل صلب من الجيلوز وأهم وسط جيلوزي هو Hilton Muller، نسبة للباحث الذي حضره Hilton Muller عام 1941م، والهدف الأساسي من هذه الطريقة هو معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي، وتحديد التركيز الأدنى للتثبيط CMI (وهو أقل تركيز يبدأ عنده تثبيط نمو البكتيريا) ويتم باتباع الخطوات التالية:

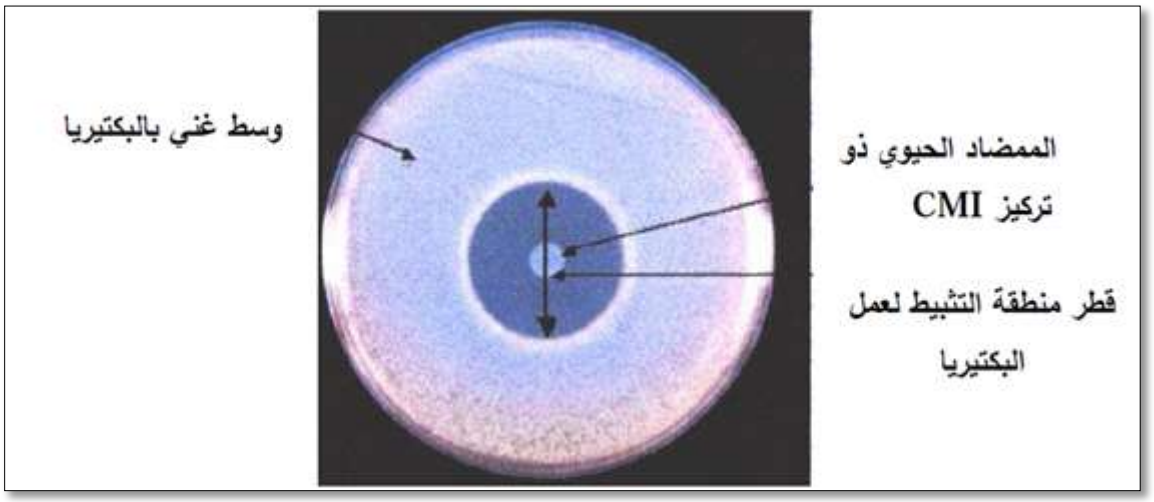
بعد إذابة الجيلوز يسكب بكميات محددة في علب بتري، وبعد تصلبه تدخل العلب للحاضنة للتجفيف، وبعدها يحضر المعلق البكتيري بوضع جذمة منه في الماء الفسيولوجي ويشتل في علب بتري المحضرة مسبقا، بعدها توضع أقراص الإختبار معقمة ومشبعة بتراكيز مختلفة للمضاد الحيوي المراد اختبار فعاليته، ثم تعاد اللعلب للحاضنة تحت درجة 37° لمدة 24 سا.[14]

ولتحديد مدى حساسية البكتيريا وتأثرها بالمضاد الحيوي نقيس قطر طبقة التثبيط وعندها يمكن القول أن:

- ✓ البكتيريا حساسة للمضاد الحيوي إذا كان القطر ما بين 15 و 20 مم.
- ✓ البكتيريا حساسة جدا للمضاد الحيوي إذا كان القطر أكبر من 20 مم.

- ✓ البكتيريا متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي إذا كان القطر ما بين 9 و14 مم.
- ✓ البكتيريا مقاومة للمضاد الحيوي إذا كان القطر أقل من 8 مم.[15]

وهذا الشكل يوضح قطر منطقة التثبيط.



الشكل III- 02: قطر منطقة التثبيط للبكتيريا

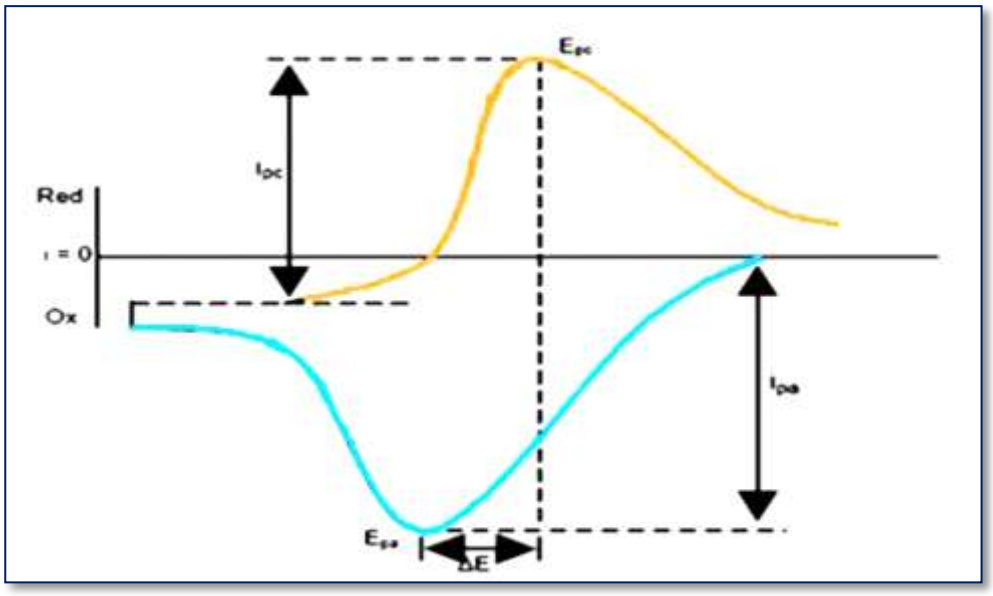
III- 3- الفعالية المضادة للأكسدة:

III- 3-1- اختبار الفولطامتري الحلقي Cyclic Voltammetry:

III-3-1-1- تعريف:

تعتبر طريقة الفولطامتري من أهم طرق التحليل الكهروكيميائي التي تسمح بقياس نشاط مضادات الأكسدة، فهي تستعمل لمعرفة الخصائص الكهروكيميائية للمواد المدروسة، وتسمح هذه الطريقة بتحديد الشروط التي ينجز فيها تفاعل الأكسدة والإرجاع وكذا تقدير درجة عكوسية الجملة (أكسدة - إرجاع)، وأحيانا تسمح بتحديد آلية التفاعل عند الإلكترود.

ويظهر المخطط الفولطامتري على هيئة قمم مصعدية ومهبطية متعاكسة والتي تمثل عمليتي الأكسدة والإرجاع.[16]



الشكل III- 03: المنحنى العام للفولطامتري الحلقي

حيث: Ipc، Ipa: تيارات النتوءات المصعدية والمهبطية.

Epc، Epa: كمونات النتوءات المصعدية والمهبطية.

ΔEp: التغير في الكمونات بين Ipc و Ipa:

III- 3-1-2- الأجهزة المستعملة في الفولطامتري الحلقي:

تتم دراسة السلوك الكهروكيميائي للمواد داخل خلية زجاجية مزدوجة الجدار غطاؤها يحتوي على خمس ثقب، ثلاثة منها تسمح بدخول إلكترود العمل ، إلكترود المرجع، إلكترود مساعد، أما الثقبان الآخران أحدهما يسمح بتزويد الوسط بالآزوت الذي يعمل على نزع الأكسجين ويمكن أن يكون نشط كهربائيا والثقب الآخر لإضافة المواد.[16]

- **إلكترود العمل:**

هو عبارة عن أسطوانة من كربون زجاجي أو اسطوانة من البلاتين، وهو الذي تتم فيه عمليات الأكسدة والإرجاع.

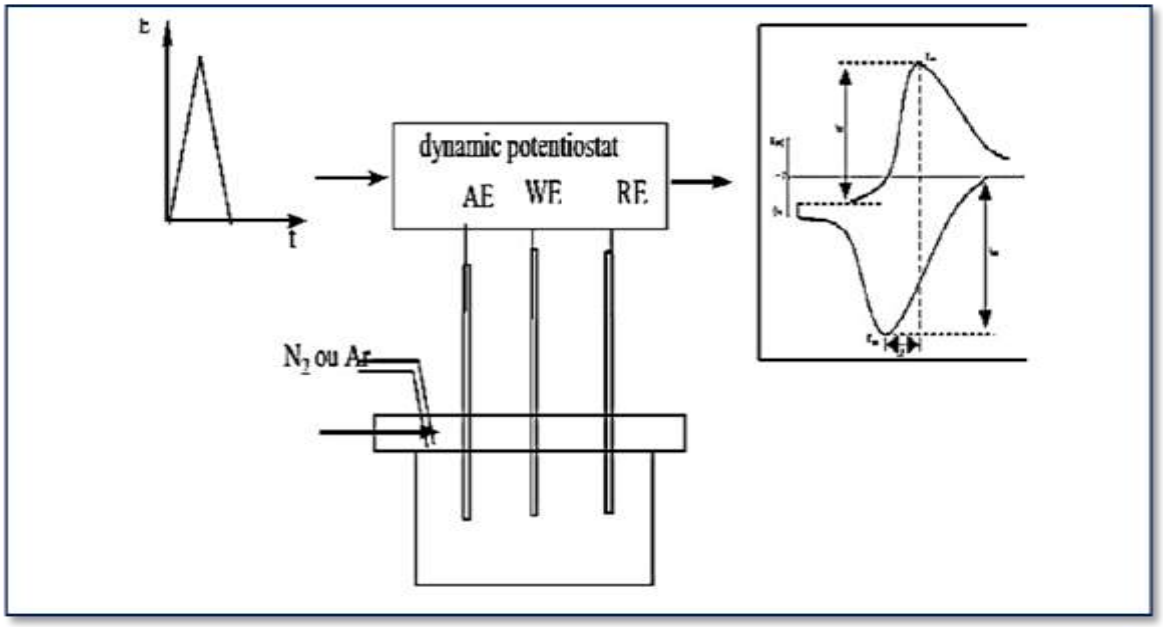
- **إلكترود المرجع:**

هو عبارة عن إلكترود من الكالومال المشبع بـ KCl.

- **إلكترود المساعد:**

وهو عبارة عن إلكترود مصنوع من البلاتين يضمن مرور التيار الكهربائي.

والشكل III- 04 يوضح الخلية المستعملة في الفولطامتري الحلقي



الشكل III- 04: الخلية المستعملة في الفولطامتري الحلقي

III- 3- 1- 3 -الخصائص الكهروكيميائية للفينولات:

إن النشاط المضاد للأكسدة عند الفينولات يعتمد على الخاصية الارجاعية لهذه المركبات والمرتبطة بصفة خاصة بعدد مجموعات الهيدروكسيل التي يمتلكها الجزيء ووجود مجموعة الكربوكسيل، حيث تتأكسد مجموعة الهيدروكسيل لتعطي إكترون و ذرة هيدروجين [17].

$$\mathbf{Red} \longleftrightarrow \mathbf{Ox + H^+ + é}$$

حيث:

Red : المركب الفينولي المضاد للأكسدة(عامل مرجع) .

Ox : الناتج (مؤكسد) .

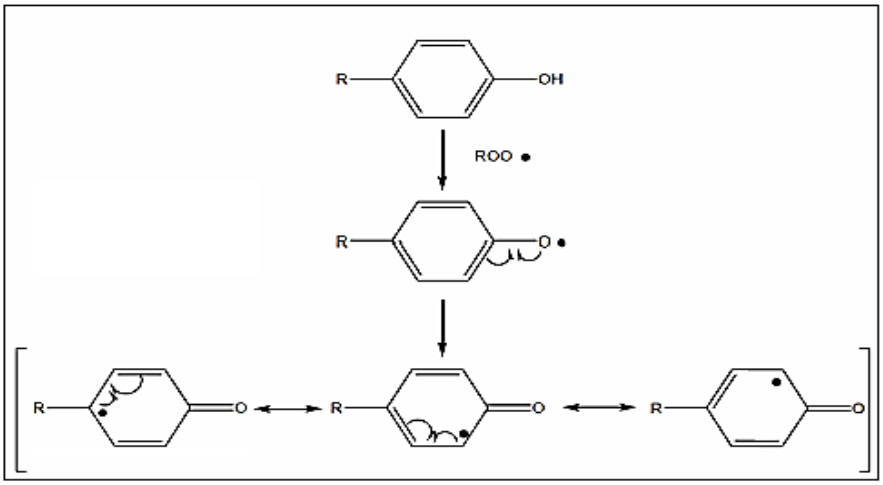
إذ أن هناك علاقة تداخل بين الإلكترونات المتحركة للحلقة وإلكترونات الأزواج الحرة لذرة الأكسجين حيث يلعب الأكسجين دورا ميزوميريا مانح (+M) للإلكترونات، وعليه فنقصان الكثافة الالكترونية تعمل على اجتذاب إلكترونات الربط الهيدروكسيلية نحو الأكسجين، وكنتيجة لذلك فإن الحلقة البنزينية تعمل على تسهيل انفصام الرابطة بين O وH بخلاف انفصام الرابطة بين O و C التي تكون أكثر صعوبة.

فسهولة الرابطة بين H-O تجعل هيدروجين الوظيفة الفينولية متحرك مما يمنحه الخاصية الحمضية شأنه شأن الحمض الضعيف.

حامضية الوظائف الفينولية يمكن أن تتغير كثيرا تبعا للبنية العامة للجزئية فعلى سبيل المثال : 2,4,6 trinitrophénol يعتبر حمضا قويا (pH=0.71) وهكذا نجد أن مجموعة الكربونيل (C=O) في المركبات (flavonol وFlovone) ذات تأثير ميزوميري ساحب (-M) لإلكترونات الحلقة

البنزينية تزيد من استقطاب الرابطة O-H وبالتالي حركية H أي خاصية الحمضية [18] ، كما أن وجود مستبدلات مختلفة في الحلقة سوف يؤثر على استقطاب الرابطة O-H ويغير من قيمة القدرة الإرجاعية.

بصفة عامة إن أول خطوة في أكسدة المركب الفينولي هي تشكل جذر الفينوكسيل (phenoxyl) الغير مستقر، والذي يلعب دور مركب وسيط يمكنه أن يشارك في تفاعلات اقتران إعطاء البروتونات أو هجوم نيكليوفيلي . انظر **الشكل III-05** [19].



الشكل III- 05: تفاعل أكسدة المركبات الفينولية و تشكل جذر الفينوكسيل

المراجع

المراجع باللغة العربية:

[1] عابد إ، دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران، مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، 2009، ص 47-48، 106.

[2] مصطفى د، وأخرون، النباتات العامة، منشأة المعارف، الإسكندرية، 1979، ص110.

[3] د. محمد عبد المحسن معارج، وراثة الأحياء الدقيقة، شركة الشهاب للنشر والتوزيع، 1995، ص18-20.

[4] لبوز م، الدراسة الفيتوكيميائية لنبتة Rhetinolepis lonadioides Coss (الزيوت الطيارة والليبيدات)، مذكرة ماستر أكاديمي، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، 2012، ص 80.

[11] برهام ل، المضادات الحيوية سلاح ذو حدين، سوء استخدام المضادات الحيوية خطر يهدد المرضى، جامعة أم القرى، السعودية، 1998.

المراجع باللغة الأجنبية:

[5] P. Courvalin, Interpretative Reading of antimicrobial susceptibility testes, ASM News,58,1992, p 368-375.

[6] J.H. Jorgensen, M.J. Ferraro, antimicrobial susceptibility testing: general principles and contemporary practices, Clinical Infectious Diseases,26, 1998, p 973-976.

[7] Harrar A ., activités anti oxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus alaternus L. Mémoire magister ,Université Farhat Abbas Sétif, 2012, p 95.

[8] MELLIES J., BARRON A., CARMONA A., Enterpathogenic and enterohemorrhagic Escherichia coli virulence gene regulation. Infection and Immunity, 2007, p 4199- 4210.

[9] C.HAMIA. Contribution à la composition et à l'étude chimique de l'huile du fruit de l'Arganier « *Argania spinosa* ». Mémoire de Magister. Ouargla : Université Kasdi merbah, 2007, p 80-82.

[12] Poyart, C.,Tétracyclines. In : antibiogramme Courvalain.P, Leclercq.R, bingen .e 2ème édition, 2006, P 325-334.

[13] D.G.Hollis, RE.Weaver, CN.Baker, C.Thornsberry, Halophilic Vibrio species isolated from blood cultures, jornal of clinical microbiol, 1976, p425.

[14] A.W.Bauter, W.M.Mkirry, J.C.A.Sherris, M.Truch, Antibiotic susceptibility testing by a standardized single, Journal of clinical pathologiy, 1966, p 493-496.

[15] G.Poncea, Frized, I.Del vallc et Rouras, Antimicrobial activity of essential oils of the native microflora of organic Swiss chard, Lebensmittel-Wissenxchuft und Technologie, 2003.

[16] S. Chvion, MA. Robert, M. Chvion,The use of cyclic voltammetry for the evaluation of Antioxidant capacity, Free Radic Biol Med 28,2000, p 860-870.

[17] W. R.Sousa; C.da Rocha; C. L.Cardoso; S. D. H.Silva, J.Food Comp .Anal. 2004, 17 619.

[18] S: Chevion,., M. A: Roberts, M.Chevion,. Free Radical Biology and Medicine, 2000, 28(6) 860–870.

[19] A.Simić; D.Manojlović; D.Šegan; M. Todorović, Molecules, 2007, 12.2327.

المواقع الإلكترونية:

[10] https://www.marefa.org/Listeria_monocytogenes.30/05/2018

الجزء العملي

الفصل الرابع

المواد والطرق المستعملة

تمت هذه التجارب على مستوى مخابر كلية العلوم الدقيقة، وعلى مستوى مخبر تثمين وترقية الموارد الصحراوية (VTRS) بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي، وأيضا في مستشفى البشير بن ناصر بالوادي.

IV-1- جمع عينات النبتة المدروسة (طلع النخيل Palm pollen):

إن الوقت المناسب لعملية الجمع مهم جدا في عملية استخلاص المواد الفعالة، إذ تتأثر بمجموعة من العوامل منها التغيرات المناخية كدرجة الحرارة التي تؤثر بشكل مباشر على موعد إزهار الطلع ومن الخطوات اللازمة لجمع العينات نتبع ما يلي:

IV-1- 1- وقت جمع طلع النخيل (Palm pollen):

ليتم جمع طلع النخيل (حبوب اللقاح) والاستفادة منه يجب اختيار الفصل المناسب له من السنة الذي يلائمه وهذا لأنها تحتفظ بالمادة الفعالة الموجودة فيها طوال تلك الفترة، ويختلف تركيزه من فصل إلى آخر لذلك تم الحصول على عينتي طلع النخيل (Palm pollen) في موسمه من منطقتين مختلفتين وهما الحمراية ووادي العلندة خلال فصل الربيع بدايات شهر فيفري حتى أواخر شهر أفريل وتلك هي الفترة التي تنتج فيها أفحل النخيل الطلع فله موسم واحد من السنة، حيث ينشق الطلع ليتم تلقيح الأزهار المؤنثة.[1]

IV-1- 2- تجفيف الطلع:

تنشر الشماريخ المذكرة على ورق أو أطباق أو تعلق على أسلاك في غرفة ذات تهوية جيدة ورطوبة نسبية منخفضة غير معرضة للتيارات الهوائية أو لأشعة الشمس المباشرة لمدة أسبوعين أو ثلاثة مع تقليب الشماريخ يوميا لضمان جفافها.[2]

IV-1- 2- تخزين الطلع (الحفظ):

بعد عملية التجفيف يتم جمع غبار الطلع الجاف من النورات بعد عملية هزه جيدا، ثم يحفظ الطلع (حبوب اللقاح) في أماكن بعيدة عن الرطوبة أو الحشرات أو الحرارة الشديدة.[2]

IV- 2- المواد والأجهزة المستعملة:

IV-2-1- الأجهزة والأدوات المستعملة:

- ✓ جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية- المرئية (Spectrophotomètre UV-Visible).
- ✓ جهاز الكروماتوغرافيا السائلة العالية الأداء (HPLC).
- ✓ جهاز المبخر الدوار (Rotavapeur).
- ✓ ميزان إلكتروني حساس.
- ✓ حاضنة.
- ✓ معقمة.
- ✓ علب بيتري.

IV-2-2- المحاليل المستعملة:

- ✓ محلول الروتين (Rutine).
- ✓ حمض الغاليك (A.G).
- ✓ حمض الكبريت (H_2SO_4; 2%).
- ✓ حمض كلور الماء (HCL; 1%).
- ✓ هيدروكسيد الأمونيوم (NH_4OH).
- ✓ محلول كربونات الصوديوم ($NaCO_3$; 7.5%).
- ✓ محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم ($ALCl_3$; 2%).
- ✓ محلول كلوريد الحديد ($FeCl_3$).

IV-2- 3- المذيبات العضوية المستعملة:

- ✓ إيثر البترول (R-O-R').
- ✓ هكسان (hexane).
- ✓ كلوروفورم ($CHCL_3$).

IV-2- 4- الكحولات المستعملة:

- ✓ ميثانول (Eau: Méthanol / 20:80).
- ✓ إيثانول (Eau: Ethanol / 20:80).

IV-2- 5- الكواشف المستعملة:

- ✓ كاشف فولن (Folin).
- ✓ كاشف ماير (Mayer).

IV-2- 6- المستخلصات المدروسة:

- ✓ المستخلص الفينولي لطلع النخيل لمنطقة الحمراية (PPH_{ph}).
- ✓ المستخلص التربيني لطلع النخيل لمنطقة الحمراية (PPH_t).
- ✓ المستخلص الفينولي لطلع النخيل لمنطقة العلندة (PPA_{ph}).
- ✓ المستخلص التربيني لطلع النخيل لمنطقة العلندة (PPA_t).

IV- 3- الكشف عن مواد الأيض الثانوي لطلع النخيل (Palm pollen) :

IV- 3-1- الكشف عن التربينات الثلاثية والستيرويدات:

بأخذ 2غ من المسحوق الجاف من الطلع ونضعها في 4 مل من الكلوروفورم ($CHCl_3$)، ثم نضيف بعد الترشيح إلى الرشاحة 0.2 مل من حمض الكبريت (H_2SO_4) على جدار الأنبوب، حيث يتحول اللون الأخضر إلى اللون الأحمر دلالة على وجود التربينات الثلاثية والستيرويدات.[3]

وللتأكد من نتيجة الكشف نقوم باستخدام ورق CCM، وهي تقنية تستخدم لفصل مخاليط من المكونات. وذلك عن طريق الطور الثابت، ويكون ذلك على لوح مغلف بطبقة رقيقة من المواد الممتزة على لوح من البلاستيك، أو الزجاج، أو رقائق الألومنيوم، ومن المعروف أن هذه الطبقة من المواد الممتزة تعرف بالطور الثابت. ويستخدم الفصل اللوني لفصل خليط من المواد إلى مكوناتها.

تستخدم هذه التقنية في عمليات الفصل السريع وفي تحليل الكميات القليلة من المواد ويعود ذلك للأسباب التالية :

1- بساطة الطريقة و عدم الحاجة إلى أجهزة معقدة .

2- إمكانية الوصول إلى جودة الفصل نفسها التي تعطيها الطرق الكروماتوغرافية الأخرى .

3- إمكانية الوصول الى فصل انتقائي باستخدام كواشف خاصة .[4]

- ✓ في حالة عدم ظهور البقع المفصولة نستخدم كواشف لونية منها، اليود، حمض الكبريت، وتسمى بالكواشف اللونية لإظهار البقع، حيث نقوم برش الطبقة الرقيقة بمحلول مخفف من هذه الكواشف فتتلون البقع وتظهر.

IV- 3-2- الكشف عن الفينولات:

نضيف قطرات من محلول كلوريد الحديد الثلاثي إلى المحلول الفينولي، سيتحول اللون إلى بنفسجي.[5]

IV- 3- 3- الكشف عن الفلافونويدات:

نأخذ 2.5 غ من طلع النخيل ونضعها في 30 مل من حمض الكلور (1% HCl) ونتركها لمدة 24 سا، بعد الترشيح نقوم بإجراء الإختبارات التالية:

نأخذ 5 مل من الرشاحة ونضيف لها هيدروكسيد الأمونيوم حتى القاعدية، نلاحظ ظهور اللون الأصفر الفاتح دليل على وجود الفلافونويد.[6]

IV-4- استخلاص مواد الأيض الثانوي من طلع النخيل (حبوب اللقاح):

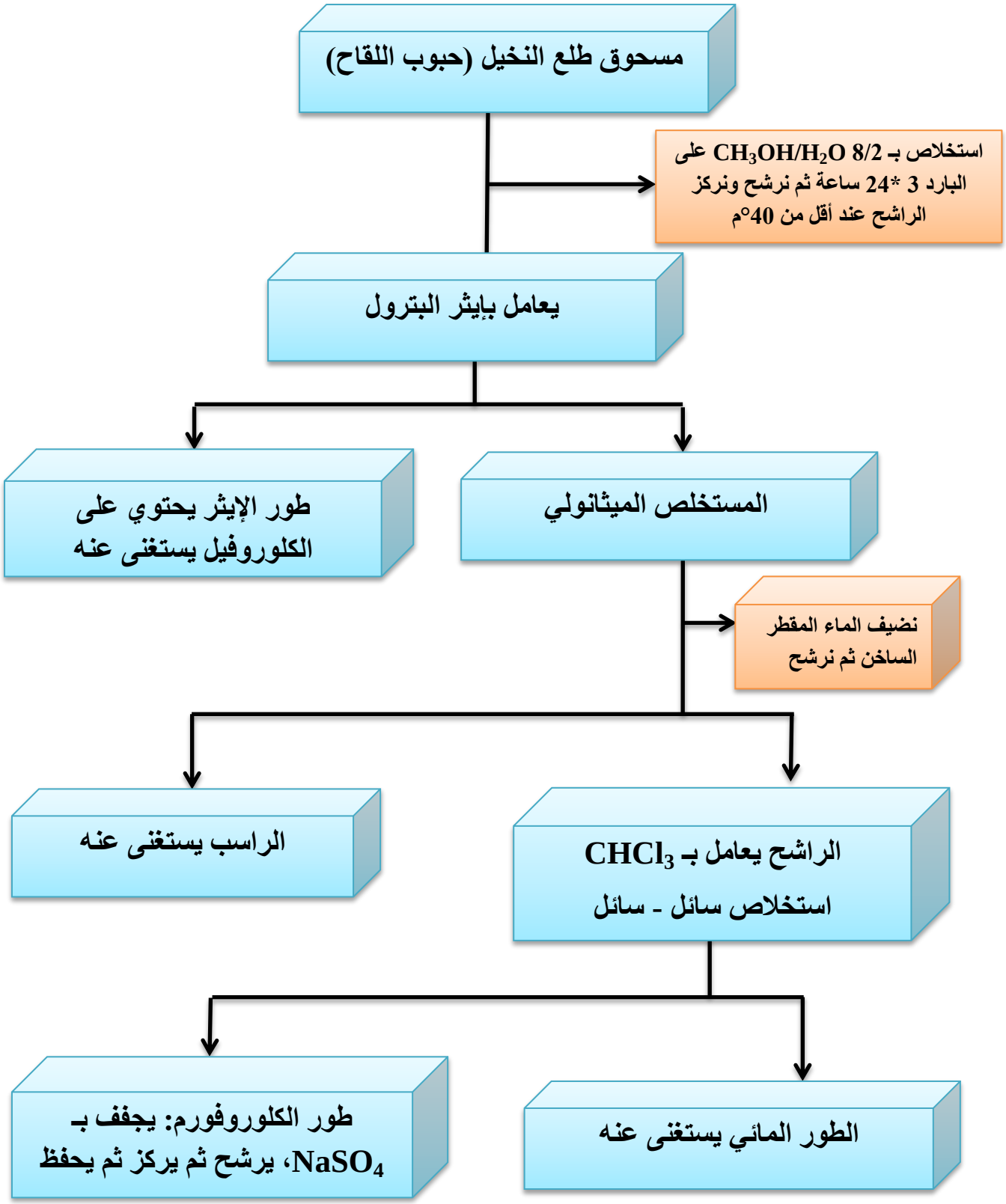
IV-4-1- استخلاص التربينات الثلاثية والستيرويدات:

نأخذ وزن قدره 35 غ من مسحوق طلع النخيل من كل عينة ونقوم بنقعه في حجم قدره 150مل من إيثر البترول، نقوم بالتحريك لمدة ساعة واحدة ونتركه مدة 24 سا في درجة حرارة الغرفة.

نضيف إلى الرشاحة بعد الترشيح 150 مل من الميثانول 80% مدة 72 ساعة، يجدد المذيب كل 24 ساعة، بعد الترشيح والتركيز دون الجفاف يعامل المستخلص الميثانولي بـ 1لتر من ماء مقطر ويترك ليلة كاملة في الثلاجة، بعدها يرشح المحلول.

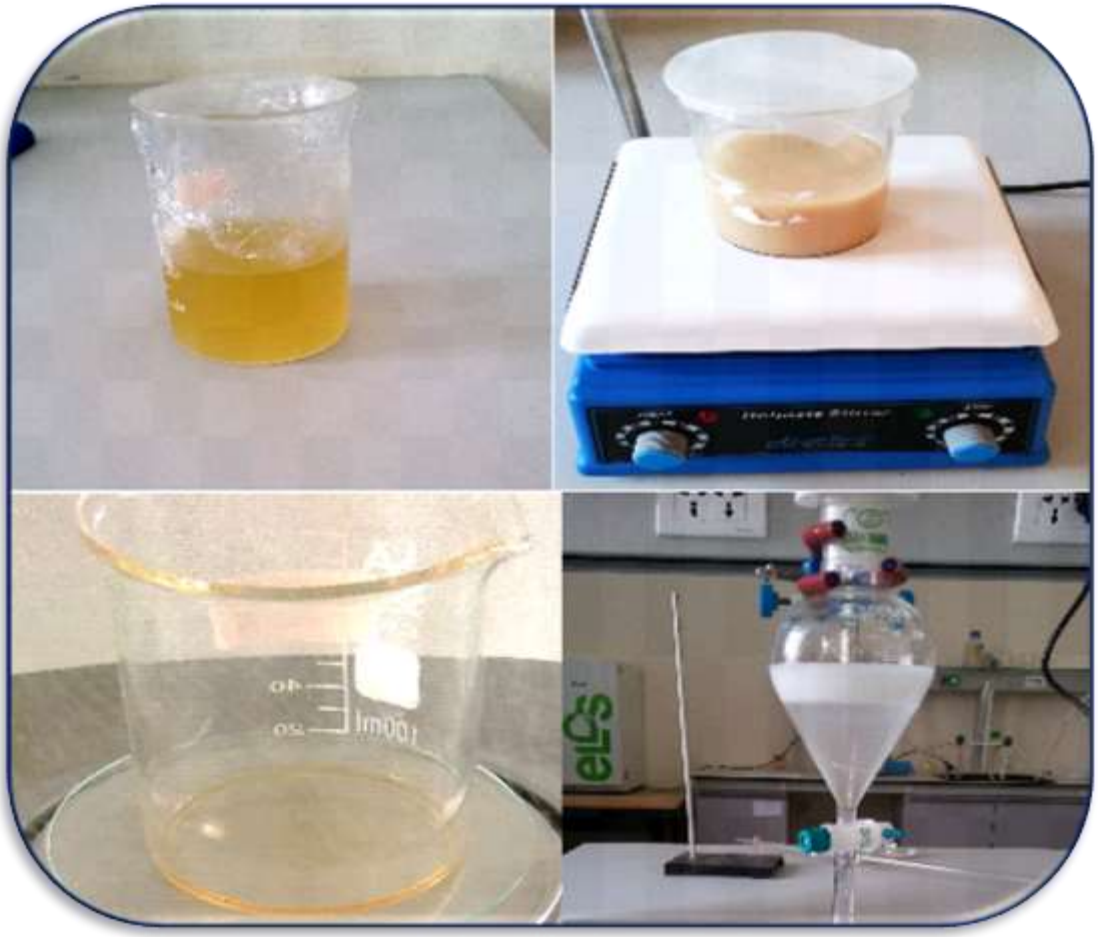
نجري على الراشح استخلاصا من نوع سائل – سائل باستخدام مذيب الكلوروفورم، بعد عملية الفصل يجفف طور الكلوروفورم بكبريتات الصوديوم ، ثم يعاد تركيزه للتحصل على المستخلص الخام وبعدها يتم وزن المستخلصات للتحصل على مردود الاستخلاص.

والشكل IV- 01 التالي يوضح مراحل استخلاص التربينات الثلاثية والستيرويدات.[3]



الشكل IV- 01: مخطط يوضح طريقة استخلاص التربينات الثلاثية والستيرويدات

والشكل IV- 02 يوضح مراحل استخلاص التربينات الثلاثية والستيرويدات



الشكلIV- 02: مراحل استخلاص التربينات الثلاثية والستيرويدات

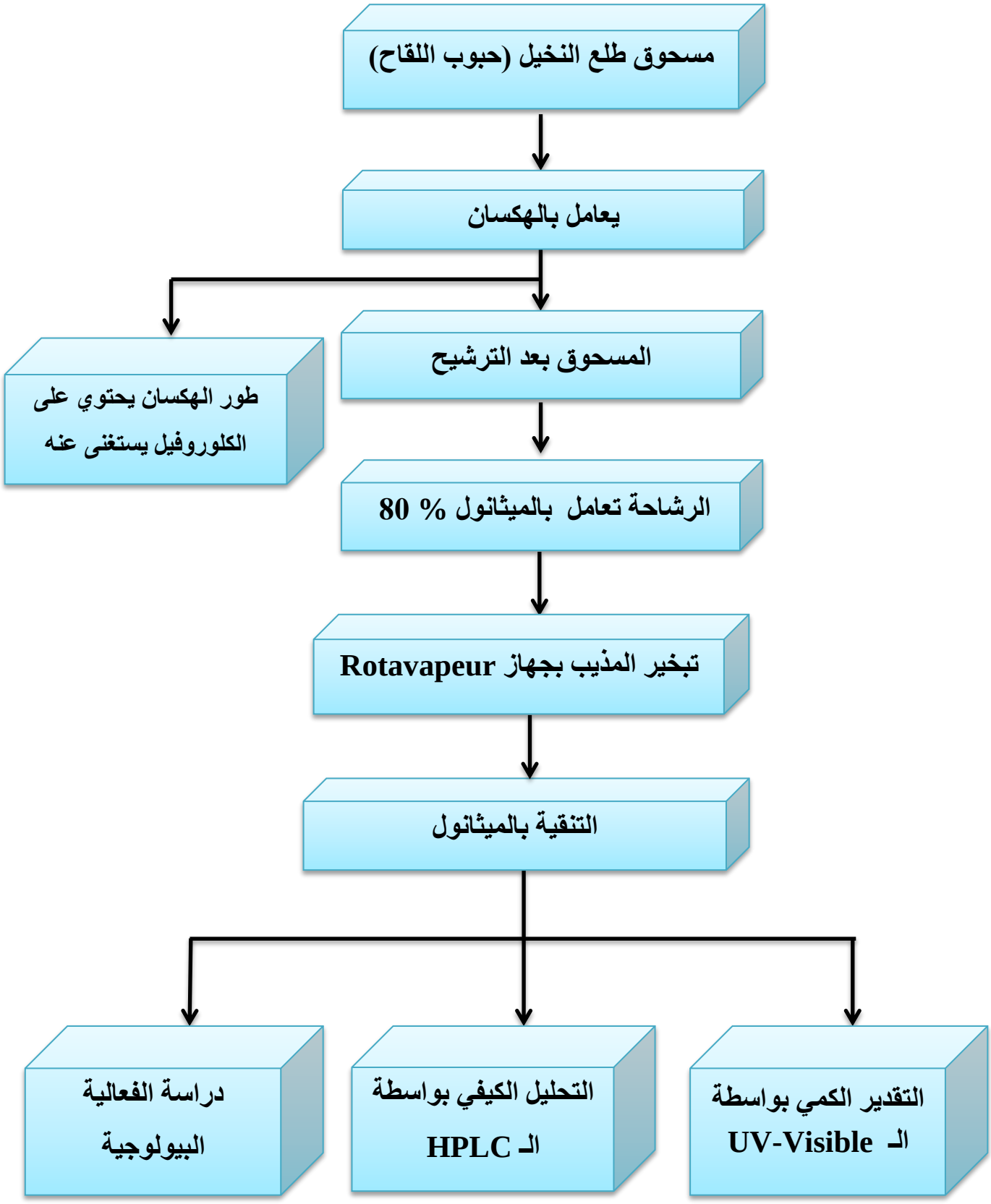
IV- 4- 2- استخلاص المركبات الفينولية:

نأخذ وزن قدره 35غ من مسحوق طلع النخيل من كل عينة ونقوم بنقع في حجم قدره 150مل من الهكسان، نقوم بالتحريك لمدة ساعة واحده ونتركه مده 24 سا في درجة حرارة الغرفة.

نضيف إلى المسحوق بعد الترشيح 150 مل من الميثانول % 80 بعد التحريك تترك 24 سا أخرى ثم نقوم بعملية الترشيح، نكرر عملية الاستخلاص بالميثانول مرتين على الأقل وذلك لفصل جيد ثم نجمع الأطوار المفصولة ويعاد تركيزها (تبخير المذيب) بواسطة جهاز التبخير الدوار (Rotavapeur)، نقوم بتنقية المستخلص الخام بإضافة كمية من الميثانول ونعيد تركيزه للتحصل في الأخير على المستخلص الخام .

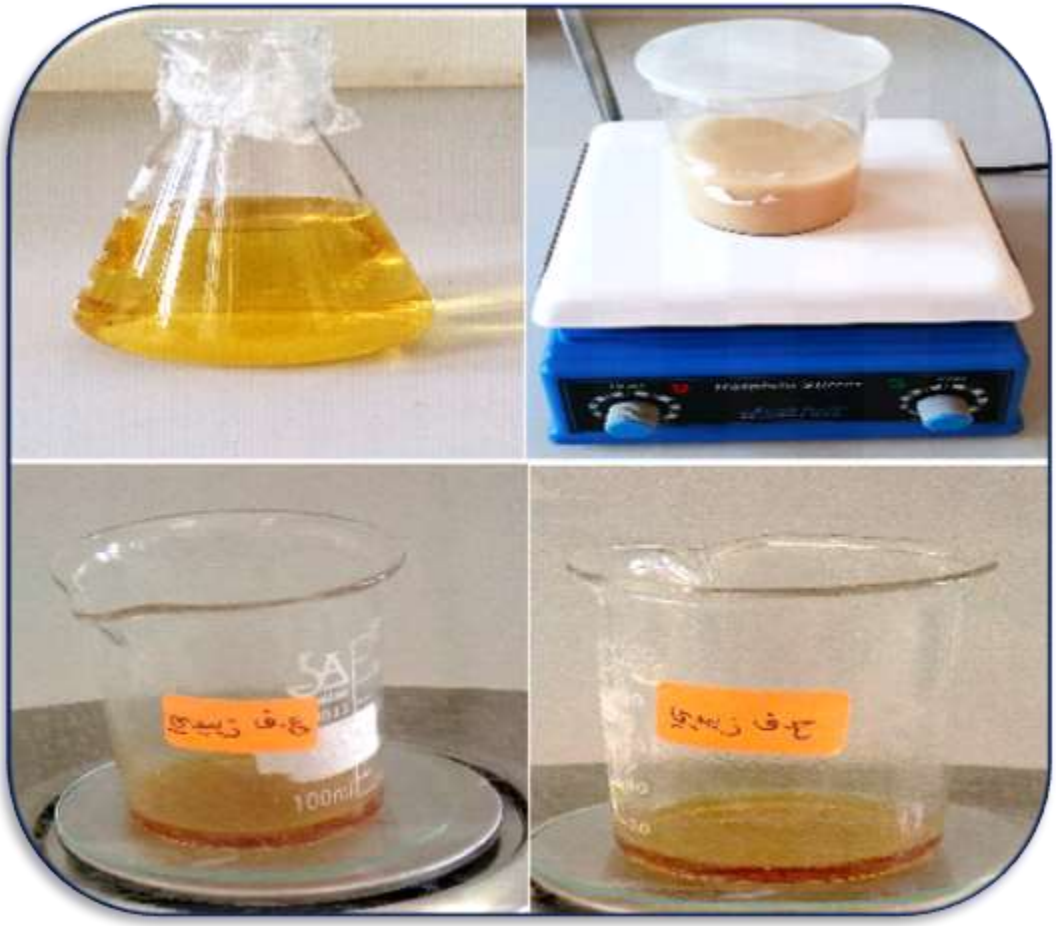
بعد عملية الاستخلاص يتم وزن المستخلصات المتحصل عليها ونحسب مردود الاستخلاص.[7]

و الشكل IV- 03 يوضح طريقة العمل على استخلاص المركبات الفينولية.



الشكل IV- 03: مخطط يوضح طريقة استخلاص الفينولات

و الشكل IV- 04 يوضح مراحل استخلاص المركبات الفينولية.



الشكل IV- 04: مراحل استخلاص الفينولات

IV- 5- التقدير الكمي بواسطة مطيافية الاشعة فوق البنفسجية – المرئية:

IV- 5-1- مبدأ العمل:

يتكون جهاز الطيف الذري من قسمين رئيسيين هما المصدر الضوئي لكل لأي طول موجي محدد، ومقياس كثافة الضوء، حيث يتم وضع السائل المراد قياس تركيز العناصر الموجودة بداخله في حامل العينة (Cuvette)، ثم يتم وضع العينة بين المصدر الضوئي والكاشف، وعند تعرض الكاشف الضوئي للضوء فإنه يتولد على أقطابه إشارة كهربائية تتغير بتغير كمية الضوء الممتصة من قبل السائل، حيث يعتمد تغير امتصاص العينة للضوء على تغير تركيز المادة في المحلول وبالتالي يمكن حساب التركيز بالاعتماد على امتصاص الضوء عند طول موجي محدد. [8]

قانون لامبرت – بير .

$$A = \log I_0/I$$

حيث:

I_0: شدة الضوء الوارد.

I: شدة الضوء الصادر.

IV- 5-2- التقدير الكمي للمركبات الفينولية:

تم تقدير عديدات الفينول الكلية باستخدام كاشف Folin-Ciocalteau حسب طريقة (Single ton, Ross 1965) وتم استخدام حمض الغاليك كأساس مرجعي، و يتغير لون كاشف فولين من الأصفر إلى الأزرق بالأكسدة.

IV- 5-2-1- رسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك:

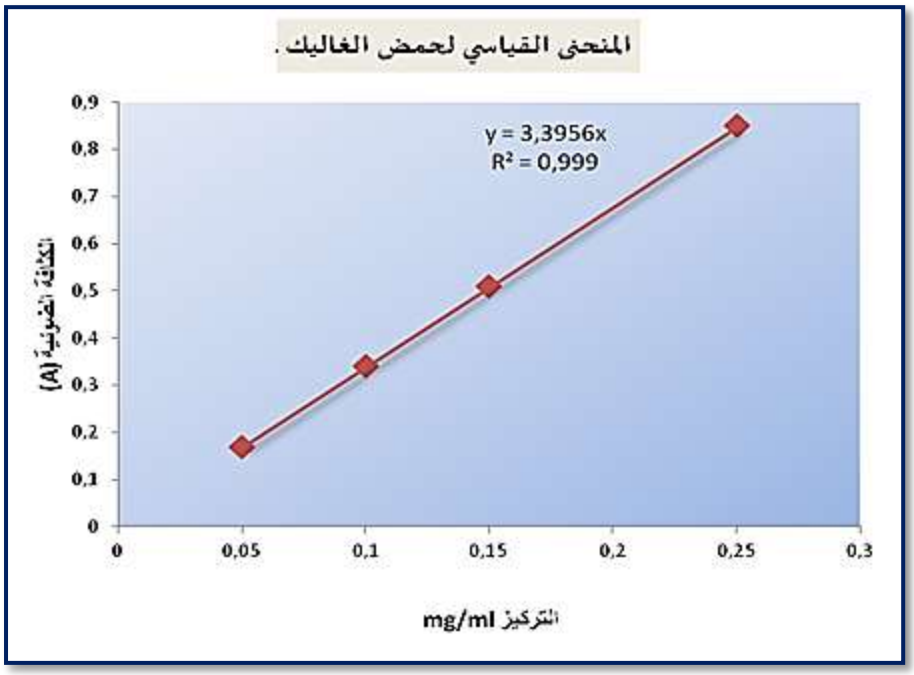
✓ **تحضير المحاليل:**

تم تحضير تراكيز مختلفة من حمض الغاليك محصورة بين 0.03 mg/ml و 0.3 mg/ml في أنابيب إختبار، حيث نضع في كل أنبوب اختبار 0.5 ml من المحلول المحضر ثم نضيف 0.5 ml من كاشف فولين الممدد ونضيف لهم 1 ml من كربونات الصوديوم (Na_2CO_3) ذو التركيز % 7.5، نرج الأنابيب جيدا ونضعها في الظلام لمدة 30 دقيقة، بعدها تتم قراءة الامتصاصية بجهاز (UV-Visible) عند طول الموجة $\boldsymbol{\lambda\, max = 765\, nm}$ [9].

جدولIV-01: قيم الامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الغاليك

التركيز mg/ml	0.05	0.1	0.15	0.25
الامتصاصية A	0.1698	0.3397	0.509	0.849

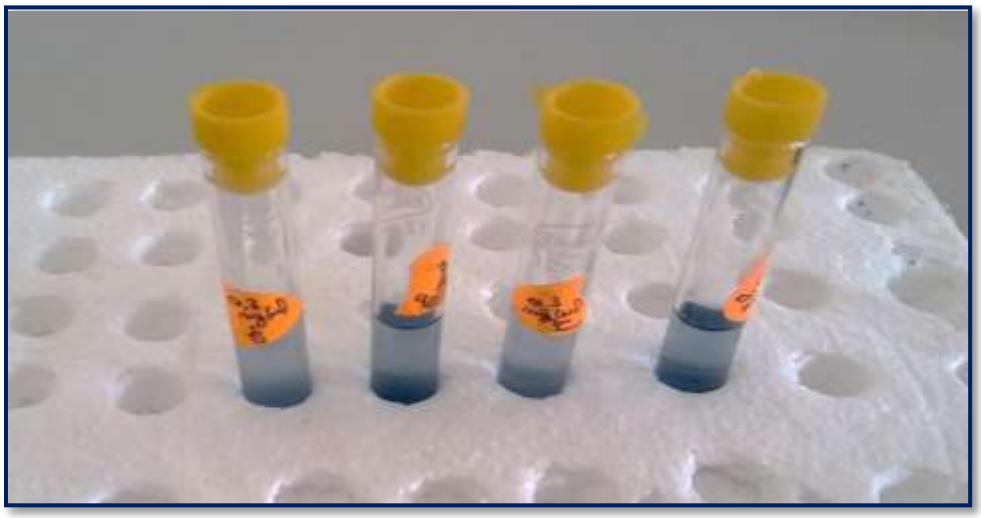
انطلاقا من النتائج أعلاه نرسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك الذي يبين تغير الامتصاصية (A) بدلالة التركيز (mg/ml). والشكلIV -06 يوضح المنحنى القياسي لحمض الغاليك [9]



الشكلIV -05: المنحنى القياسي لحمض الغاليك

IV- 2- التقدير الكمي للفينولات في المستخلصات:

بنفس الطريقة التي عومل بها حمض الغاليك نعامل المستخلصات المدروسة، حيث نأخذ من كل مستخلص 0.5 ml و 0.5 ml من كاشف فولين و 1 ml من كربونات الصوديوم ونتركها في الظلام مدة 30 دقيقة، بعدها نقوم بقراءة الامتصاصية لمختلف التراكيز ونستخدم المنحنى القياسي لحمض الغاليك لحساب تراكيز الفينولات في مختلف المستخلصات. [10]



الشكلIV- 06: المحاليل بعد إضافة كاشف فولين

IV- 5- 3- التقدير الكمي للفلافونويدات:

نستعمل في التقدير الكمي للفلافونويدات فلافونويد الروتين (Rutine) كفلافونويد مرجعي لرسم المنحنى القياسي حيث تعتمد هذه الطريقة على قدرة تكوين المعقد الأصفر بين ثلاثي كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$) مع مجموعة الهيدروكسيل (OH) الموجودة على الحلقات البنزينية للفلافونويدات.[10]

V- 5- 3- 1- رسم المنحنى القياسي لحمض الروتين:

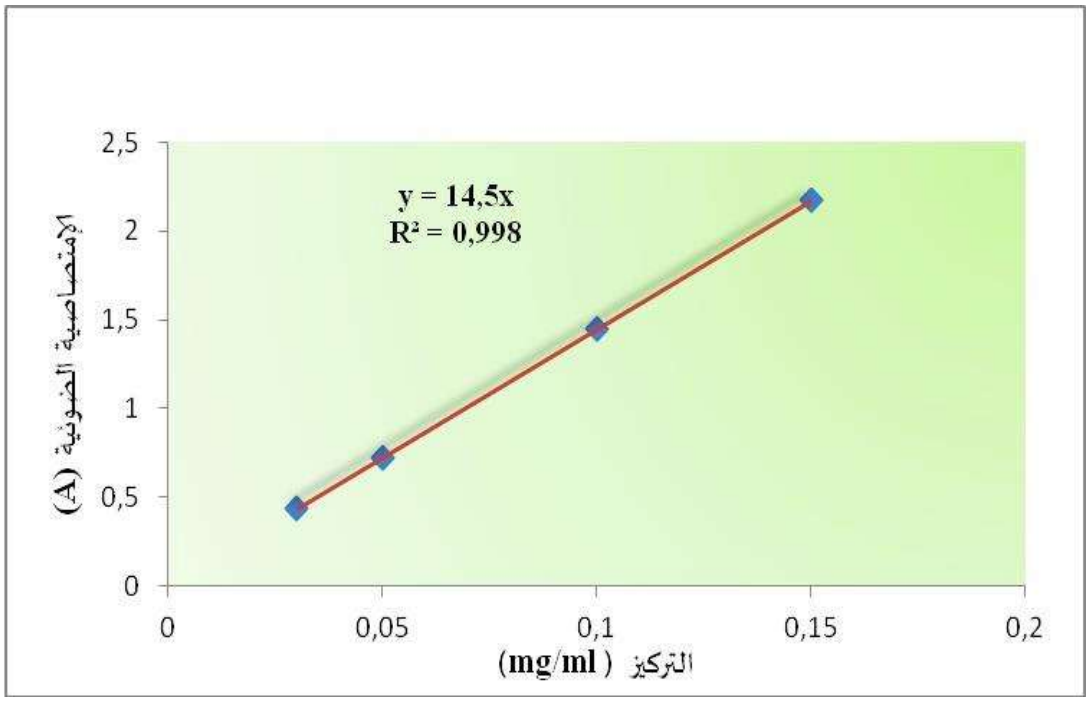
✓ **تحضير المحاليل:**

تم تحضير تراكيز مختلفة من محلول الروتين (Rutine) الممدد في الميثانول محصورة ما بين (0.03 mg/ml و 0.3 mg/ml) في أنابيب اختبار، حيث نأخذ 1 ml من المحلول المحضر ونضيف لها 1 ml من ثلاثي كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$) ذو التركيز 2%، يترك المزيج ساعة في الظلام حتي يتم التفاعل ثم نقرأ شدة الامتصاصية لكل محلول عند طول موجي $\boldsymbol{\lambda\, max = 420\, nm}$ [10]

جدولV-02: قيم الامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الروتين

التركيز (mg/ml)	0.03	0.05	0.1	0.15
الإمتصاصية A	0.435	0.724	1.450	2.175

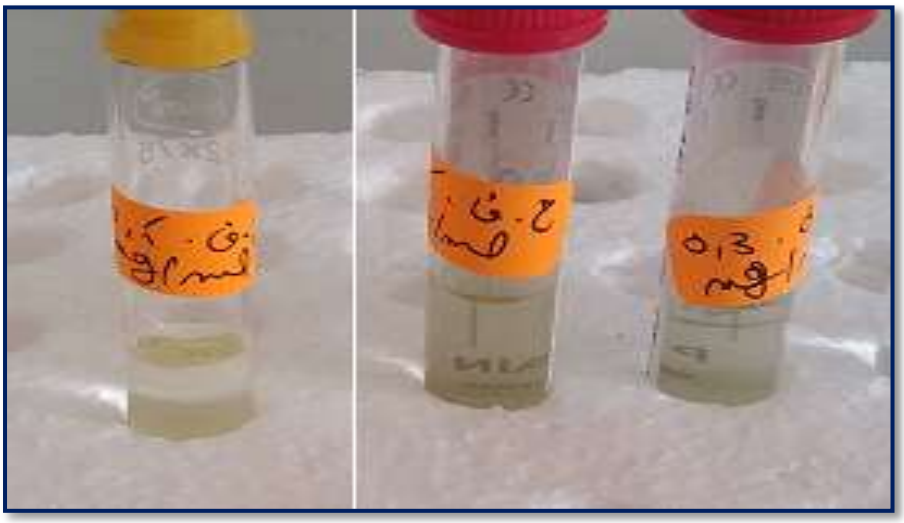
انطلاقا من النتائج أعلاه نرسم المنحنى القياسي للروتين الذي يبين تغير الامتصاصية (A) بدلالة التركيز (mg/ml).



الشكل IV- 07: المنحنى القياسي لحمض الروتين

IV- 5- 3- 2- التقدير الكمي للفلافونويدات في المستخلصات:

نعامل المستخلصات الممددة بنفس الطريقة التي عومل بها حمض الروتين، بعد الحصول على الامتصاصية نحسب تركيز الفلافونويدات في العينات.



الشكلIV- 08: المحاليل بعد إضافة ثلاثي كلوريد الحديد

IV- 6- التحليل الكيفي بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية (HPLC):

IV- 6-1- التحليل الكيفي والكمي:

للتأكد من وجود المركبات الفينولية وعددها نستعمل جهاز الـ HPLC بغرض التحليل الكمي، وذلك بحقن عينة المركب المرجعي لمعرفة زمن المكوث المميز، ثم نحقن بعد ذلك العينة المراد تحليلها في نفس شروط حقن المركب المرجعي وبنفس الحجم (20 µl) بتركيز 5 mg/ml من الميثانول % 100، ثم نقرأ على الكروماتوغرام زمن المكوث للمركبات المكونة للعينة ونقارنها مع القيمة المرجعية، وبذلك نحدد المركبات الفينولية التي تم تحديد زمن مكوثها والمدونة في الجدول (V-03)

جدولV-03: زمن المكوث للفينولات المرجعية [14]

المركبات الفينولية المرجعية	زمن المكوث t_r (min)
حمض الغاليك	5.29
حمض الكلوروجينيك	13.392
حمض الفانيليك	15.531
حمض الكافيين	16.277
الفانيلين	21.46
حمض البيوكومارين	23.817
روتين	28.37
نارجنين	34.788
كروتين	45.047

IV- 6-1-1- الشروط التجريبية:

الجدول V-04 يوضح الشروط التجريبية لفصل المركبات الفينولية الموجودة في العينات بواسطة جهاز HPLC :

جدولV-04: الشروط التجريبية لجهاز الـ HPLC لفصل المركبات الفينولية [14]

العامل	الشروط التجريبية
النظام	الطور المعكوس Rp- HPLC
العمود	(25 cm × 46 cm) C18
حجم الحقن	20 µl
معدل الحقن	1 ml/min
طول الموجة	$\lambda = 300\ nm$
الزمن	50 min
درجة الحرارة	25 °
الطور المتحرك	Acetonitril(A) (0.2%) Acide acetique (B)

تغيرات نسب الطور المتحرك A و B بدلالة الزمن موضحة في الجدول التالي:

جدولV-05: تغيرات نسب الطور المتحرك A و B بدلالة الزمن [14]

الزمن	نسبة (A) %	نسبة (B) %
النظام	10	90
العمود	10	90
حجم الحقن	14	86
معدل الحقن	17	83
طول الموجة	19	81
الزمن	23	77
درجة الحرارة	10	90
الطور المتحرك	10	90

IV- 7- طريقة تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

- **مبدأ الطريقة:**

إن فعالية مضادات الأكسدة تكمن في أنها عوامل مرجعة تميل إلى التأكسد بسهولة على الأقطاب الخاملة، هذا ما جعلها تكون محل دراسات كهروكيميائية مكنت من استنتاج علاقة مهمة بين السلوك الكهروكيميائي و القدرة الإرجاعية [12].

كل المعلومات يمكن استخلاصها من المنحنى الفولطامتري الحلقي الناتج و الذي ينقسم إلى قسمين:

- ❖ مصعدي في جهة الكون الموجب .
- ❖ مهبطي في جهة الكمون السالبة .

القسم المصعدي من المنحنى الفولطامتري الحلقي، يمكننا من استخراج معطيات متعلقة بقابلية الجزيئات لمنح الكترونات للمصعد، أي أن هذه الجزيئات تلعب دور عوامل مرجعة (تحصل لها أكسدة) .

القدرة الارجاعية للعينة يمكن أن يعبر عنها بالعوامل التالية:

- ❖ كمون الأكسدة (E) يتعلق بطبيعة الجزيئات.
- ❖ التيار الحدي المصعدي (I_a): يتعلق بتركيز الجزيئات، فمن شدة التيار يمكننا تحديد تركيز المركبات الموجودة في العينة المدروسة [12].

إن النتائج المتحصل عليها من المنحنى الفولطامتري الحلقي للعينة المدروسة يتم مقارنتها بعامل أخر إضافي هو حمض الغاليك ، حيث يلعب دور المركب القياسي الذي يفضله اغلب الباحثين و الذي منه يمكن استخلاص الكمية المكافئة [13].

بعد معرفة أسس الطرق الفولطامترية الحلقية و الخصائص الكهروكيميائية للمواد المدروسة نباشر عملية تقدير الفعالية المضادة للأكسدة، وهذا بأخذ حمض الغاليك كمركب قياسي .

- **خطوات العمل:**

قبل الشروع في العمل لابد من تحضير مسرى العمل حيث تعتبر هذه الأخيرة الركيزة الأساسية للدراسة الكهروكيميائية حيث تتم على سطحه عملية الأكسدة و الارجاع، لذا وجب التأكد من خلو السطح من أي مادة تعمل على إعاقة عمليتا الاكسدة و الارجاع، كوجود أكاسيد أو مادة مرجعة أو دهون من هنا كانت أهمية معالجة السطح و تنظيفه قبل أي عملية قياس.

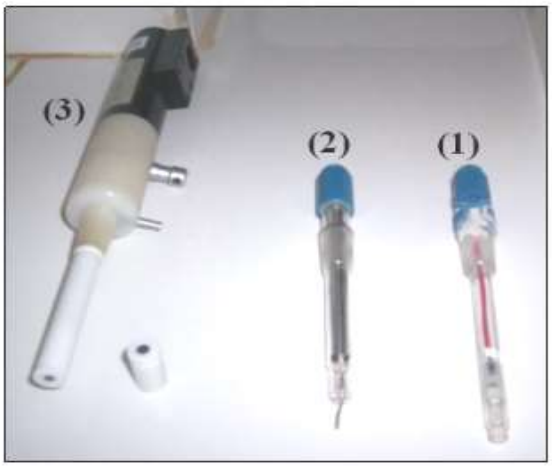
معالجة السطح وتنظيفه تتم فيزيائيا بإستعمال أوراق كربيد السيلكون (4000) و كيميائيا باستعمال الاسيتون لإزالة الدهون والماء المقطر لإزالة الأملاح كما يجفف السطح من الماء لأنه يؤثر في القياسات، و يتم التأكد من نظافة السطح كهروكيميائيا.

و أنواع المسرى كالتالي:

❖ **المسرى المرجعي :** هو إلكترورد الكالومال المشبع بكلوريد البوتاسيوم .

❖ **المسرى المساعد:** له وظيفة وحيدة وهي إغلاق الدارة، وهو عبارة عون سلك من البلاتين قطره 1 مم .

❖ **مسرى العمل:** هو الإلكترود الذي تتم عليه تفاعلات الأكسدة والإرجاع، وهو عبارة عن اسطوانة من الكربون الزجاجي قطرها 3ملم، و الشكل التالي يبن صور المسارى السابقة الذكر .



الشكل IV- 09: المسارى على الترتيب: (1) المسرى المرجعي، (2) المسرى المساعد،(3) مسرى العمل .

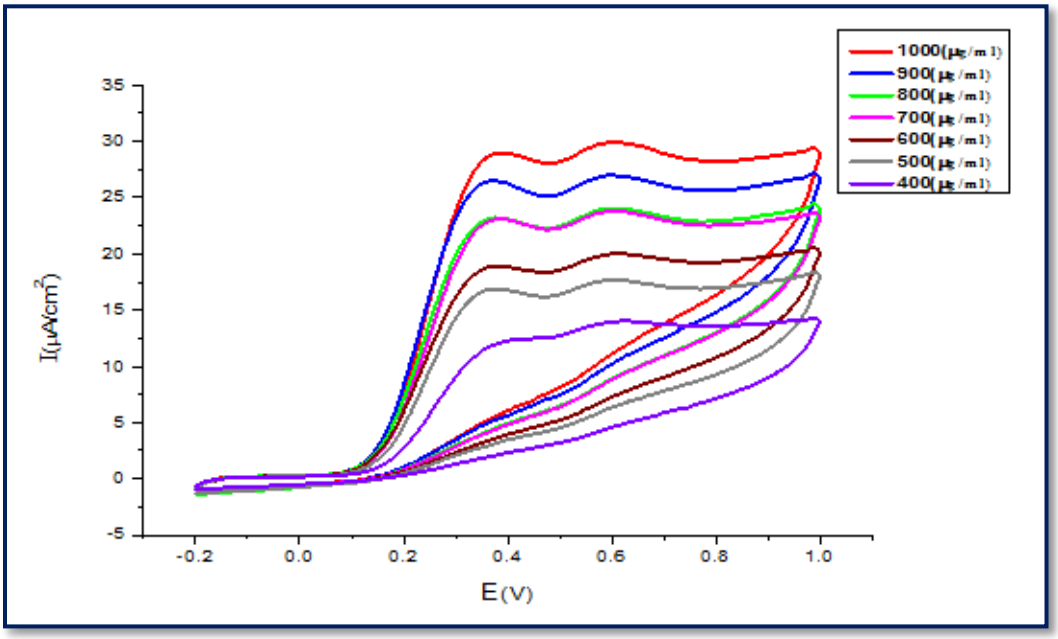
IV- 7- 1- رسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك:

يتم تحضير تركيز معلوم من حمض الغاليك (1mg/ml) ، ومن خلال هذا التركيز حضرنا تراكيز مختلفة أخرى من، (400 - 900g/ml µ)، وكذلك تحضير الخلية الكهروكيميائية التي تحوي على وسط موقي ذو pH= 4 و كهروليت مساعد هو KCl .

ثم نقوم برسم المنحنيات الفولطامترية الحلقية وفق تراكيز متزايدة لحمض الغاليك في الخلية الكهروكيميائية، حيث تتم هذه الخطوة بعد ضبط الشروط المتمثلة في مجال الفاعلية و سرعة المسح حيث أن :

- الكمون (E) من (200 – إلى 1000 Mv)
- سرعة المسح 100 mV/s.

وتم الحصول على المنحنيات التالية كما هي موضحة في الشكل IV-10 التالي[9]

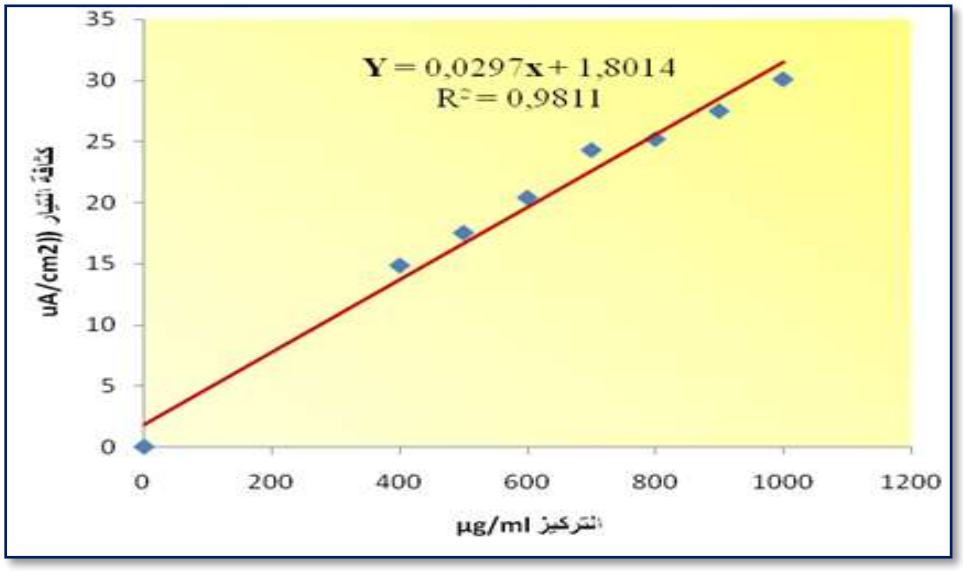


الشكل IV- 10: المنحنيات الفولطامترية الحلقية لحمض الغاليك

بعد رسم المنحنيات الفولطامترية الحلقية للتراكيز، نقوم بإيجاد كثافة التيار عند قمم (نتوء) الموجة المصعدية (تفاعل غير عكوس) لكل منحنى، حتى نحصل على منحنى قياسي لحمض الغاليك يمثل كثافة التيار بدلالة التركيز **I = F(C)** ، كما في الشكل IV- 15

جدول IV-06: قيم كثافة التيار المتحصل عليها بدلالة التركيز

التركيز (µg/ml)	400	500	600	700	800	900	1000
كثافة التيار (uA/cm^2)	14.85	17.52	20.40	24.30	25.20	27.50	30.10



الشكل IV- 11: المنحنى القياسي لـ (AG) حسب الطريقة الفولطامترية الحلقية

بنفس الطريقة المحضرة لحمض الغاليك نقوم برسم المنحنى الفولطامتري الحلقي للعينات المدروسة ذات التركيز المعلوم 33.33 mg/ml ، ثم نستنتج شدة التيار المصعدية التي تم اسقاطها على المنحنى القياسي، فنحصل على التركيز المكافئ من حمض الغاليك.[13]

IV- 8- الفعالية البيولوجية:

تتمثل الدراسة البيولوجية في الاختبار سلالات بكتيرية بمستخلصات غبار طلع النخيل وتهدف هذه الدراسة لمعرفة مدى تأثير المستخلصات على البكتيريا من خلال اختبارات عيارية وصيدلية وكذلك طبية.

IV- 8- 1- جمع السلالات البكتيرية:

تم الحصول على السلالات البكتيرية من مخابر كلية العلوم الطبيعية والحياة .

IV- 8- 2- تحضير محاليل مستخلصات الدراسة:

تم تحضير ثلاث تراكيز لكل مستخلص (0.1،1،10) ملغ/مل حيث أذيبت المستخلصات الخام الفينولية في كحول الميثانول (80 %)، والتربينات الثلاثية والستيرويدات في الكلوروفورم.

كما تم تحضير نفس التراكيز السابقة للمضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة وهم: الأمبيسيلين (Ampicilin)، والأموكسيسيلين (Amoxicilin).

IV- 8- 3- تحضير الأقراص:

استخدم في الدراسة ورق الترشيح من نوع Whatman وتم قصه إلى أقراص بقطر 6 ملم، ثم وضعت في أنبوب اختبار زجاجي يحتوي على 10ml من الماء المقطر، ثم وضعت في جهاز المعقمة (Autoclave) لمدة 20 دقيقة على درجة حرارة 120°م بعدها تم التخلص من الماء ثم وضعت الأقراص في الحاضنة لتجف.

IV- 8- 4- تحضير وسط الزرع:

نقوم بإذابة الجيلوز Muller Hinton في حمام مائي ثم نسكب كميات محددة في كل علبة بيتري بمقدار 20 ما وتترك حتى تتصلب، بعدها توضع العلب في الفرن لإزالة الرطوبة المتبقية بعدها تحفظ لاستخدامها.

IV- 8- 5- تحضير المعلق البكتيري:

نأخذ من كل نوع من البكتيريا جذمة بكتيرية بواسطة ماصة ثم نضعها في زجاجة تحتوي على ماء فيزيولوجي، ونقوم برج بسيط حتى تنحل الجذمة البكتيرية في الماء ثم نسكب قطرات منه في علبة بيتري المحضرة مسبقا، نقوم بالتحريك حتى تتوزع كليا في العلبة ومن ثم نتخلص من الكمية الزائدة وبعدها تترك في الحاضنة في درجة حرارة 37م°.

IV- 8- 6- وضع الأقراص المشبعة بالتراكيز المحضرة:

- **بالنسبة للمستخلصات التربينية والستيرويدية:**

نضع ثلاث أقراص مشبعة بالتراكيز المحضرة مسبقا للمستخلصين التربينين PPHt و PPAt داخل علب بيتري بواسطة ملقط معقم (Pince)، بحيث تكون الأقراص بعيدة عن حافة العلبة وعلى بعد مسافات متساوية، ثم نقلب العلب ونضعها داخل الحاضنة تحت درجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة.

- **بالنسبة للمستخلصات الفينولية:**

نضع ثلاث أقراص مشبعة بالتراكيز المحضرة سابقا للمستخلصين الفينوليين PPHph و PPAph داخل علب بيتري بواسطة ملقط معقم (Pince)، بحيث تكون الأقراص بعيدة عن حافة العلبة وعلى بعد مسافات متساوية، ثم نقلب العلب ونضعها داخل الحاضنة تحت درجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة.

نضع في علبة بيتري أخرى أقراص مشبعة بالشواهد للمستخلصين التربيني والفينولي وهما الكلوروفورم، الميثانول (80 %).

- **بالنسبة للمضادات الحيوية:**

بنفس الطريقة السابقة توضع الأقراص المشبعة بتراكيز المضادات الحيوية في علب بيتري على مسافات متساوية وبعيدة عن حافة العلبة ثم ندخلها الحاضنة مدة يوم كامل على درجة حرارة 37م° .

V- 8- 7- أنواع البكتيريا المدروسة:

- *Pseudomonas aeruginosa.*
- *Escherichia coli.*
- *Listeria monocytogenes.*

المراجع

المراجع باللغة العربية:

[1] صبحي س، تربية نخيل البلح، دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع، القاهرة، مصر، 2005، ص 341.
[2] محمد يوسف الشرفا، نخلة التمر الشجرة الكاملة، التلقيح في نخلة التمر، ص 7.
[3] دندوقي حسين، دراسة الأيض الفلافونويدي والتربيني لبعض أنواع نباتات ضايات الصحراء الجزائرية، رسالة دكتوراه، جامعة منتوري، قسنطينة، 2002، ص 88،249،247.
[7] سوسن علي حميد الحلفي، أم البشير جابر الموسوي، الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات المائية والكحولية لبعض الفواكه، مجلة أبحاث البصرة، العلميات، 2011.
[8] ربيعي عبد الكريم، المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية، مذكرة ماجستير في الكيمياء التحليلية، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، 2010، ص 35.
[14] مخبر تثمين وترقية الموارد الصحراوية (VTRS) بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي

المراجع باللغة الأجنبية:

[5] K. Hosttmann, M. Hosttmann, Brocédés modernes d'isolement des substances naturelles biologiquement active, Ler congrés international sur les plantes et substances naturelles d'inetérét thérapeutique, Monastir,1986.
[6] R. Ikan, Natural produit, a laboratory guide, acadèmic press, london, 1969.
[9] Djeridane, AEffet des Polyphenols Naturels sur l'Inhibition de la Carboxylestérase et l'Acylase et Évaluation de leur Pouvoir Antioxydant, Thèse de doctorat l'école normale supérieure de kouba-alger., 2008.
[10] Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH(2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. Journal of Agriculture and Food Chemistry;50, 3010–14.
[11] A.S.Abd Elchakour, chemie organique moderne et pratique, Université du Roi Abd Elaziz, Djedda, 1987, p 132.
[12] S. Chevion, E.M. Berry, N. Kitrossky, R. Kohen, Free Radic.Biol. Med. 1997, 22 .411.106
[13] S: Chevion,., M. A: Roberts, M.Chevion,. Free Radical Biology and Medicine, 2000, 28(6) 860–870.

المواقع الإلكترونية:

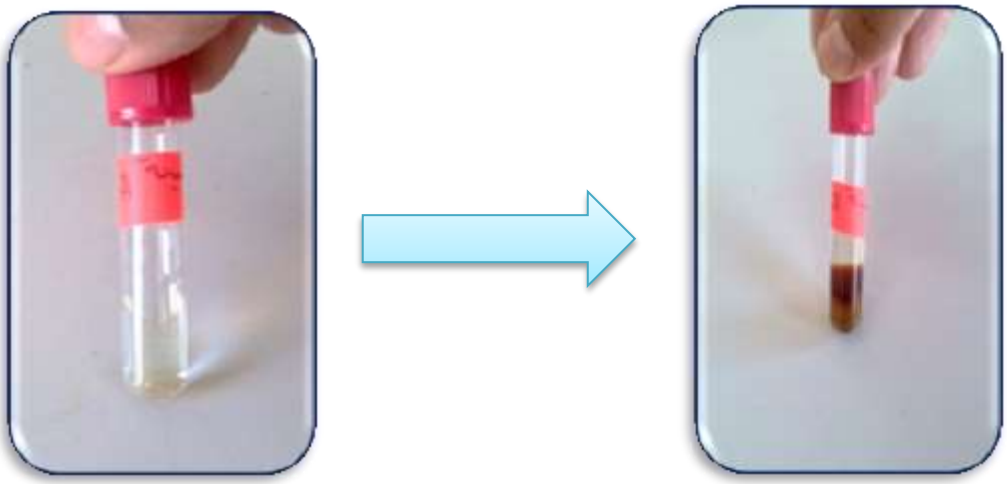
[4] http://www.chemistrysources.com/2014/01/ . 01/06/2018.

الفصل الخامس

النتائج والمناقشة

V-1- الكشف عن مواد الايض الثانوي في طلع النخيل Palm Pollen (حبوب اللقاح) :

❖ **الكشف عن التربينات الثلاثية والستيرويدات:**

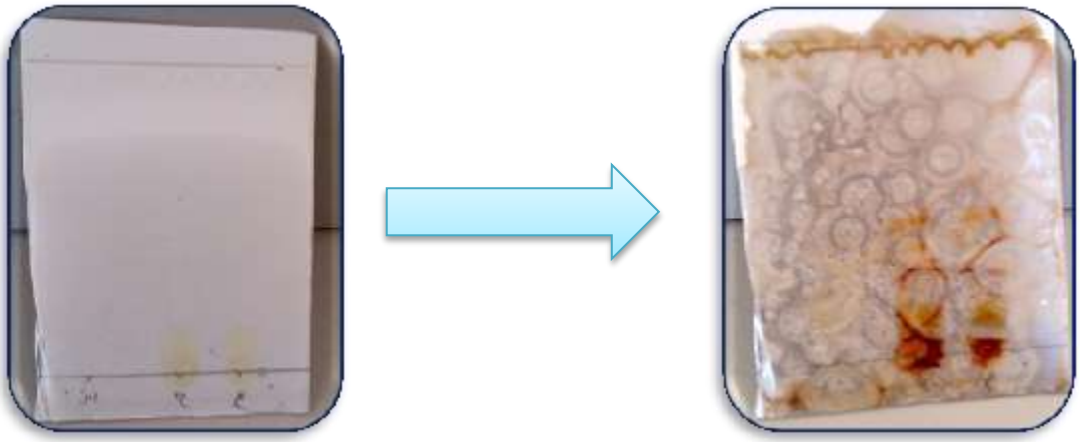


بعد الكشف **قبل الكشف**

الشكل V- 01: الكشف عن التربينات الثلاثية والستيرويدات

نلاحظ ظهور راسب أحمر آجوري دلالة على وجود التربينات الثلاثية والستيرويدات

وللتأكد من نتيجة الكشف عن التربينات الثلاثية والستيرويدات استخدمنا ورق CCM فأعطت النتائج التالية:

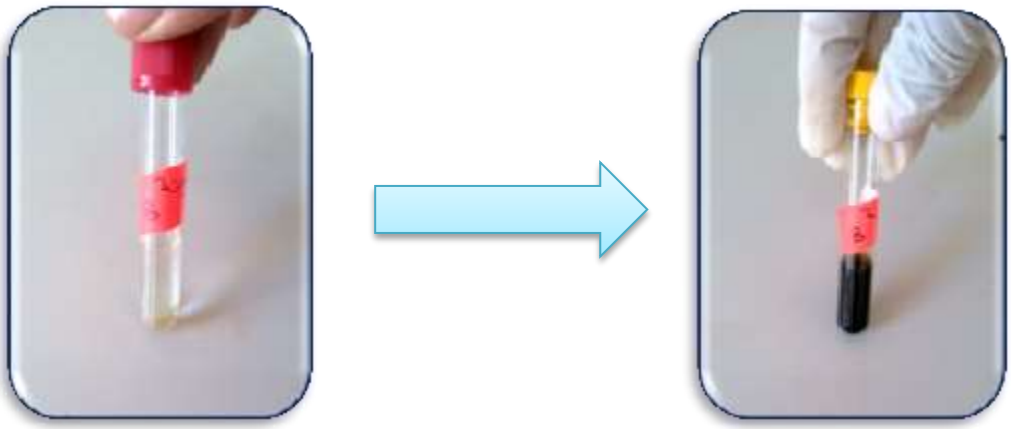


بعد إضافة H_2SO_4 **قبل إضافة H_2SO_4**

الشكل V- 02: الكشف عن التربينات الثلاثية والستيرويدات باستخدام ورق CCM

بعد إضافة H_2SO_4 لاحظنا ظهور بقع حمراء اللون دلالة على وجود التربينات الثلاثية وعدم ظهور اللون الأخضر دلالة على عدم احتوائها على الستيرويدات.

❖ **الكشف عن المركبات الفينولية:**

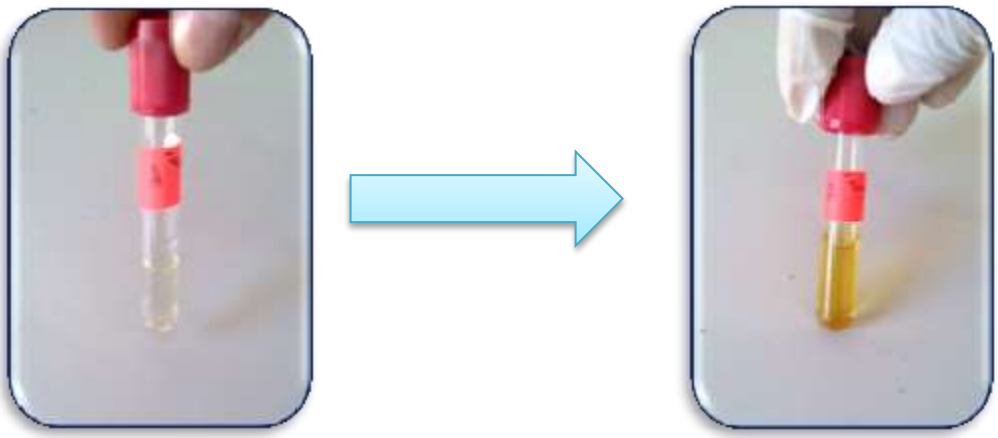


بعد الكشف **قبل الكشف**

الشكل V- 03: الكشف عن المركبات الفينولية

نلاحظ ظهور لون بنفسجي مسود و هذا دليل على وجود الفينولات بتركيز عالي.

❖ **الكشف عن الفلافونويدات:**



بعد الكشف **قبل الكشف**

الشكل V- 04: الكشف عن الفلافونويدات

نلاحظ ظهور اللون الأصفر دلالة على وجود الفلافونويدات.

V-2- مردود الاستخلاص:

نرمز لمردود الاستخلاص بالرموز التالية:

- ✓ المستخلص الفينولي لطلع النخيل لمنطقة الحمراية (PPH_{ph})
- ✓ المستخلص التربيني لطلع النخيل لمنطقة الحمراية (PPH_t)
- ✓ المستخلص الفينولي لطلع النخيل لمنطقة العلندة (PPA_{ph})
- ✓ المستخلص التربيني لطلع النخيل لمنطقة العلندة (PPA_t)

يحسب مردود الاستخلاص بالعلاقة التالية:

$$R\% = mf/mt \quad \text{..... (1 -V)}$$

حيث:

R%: المردود %

mf: الكتلة النهائية

mt: الكتلة الابتدائية

وبعد عملية الإستخلاص تحصلنا النتائج المدونة في الجدول V-01:

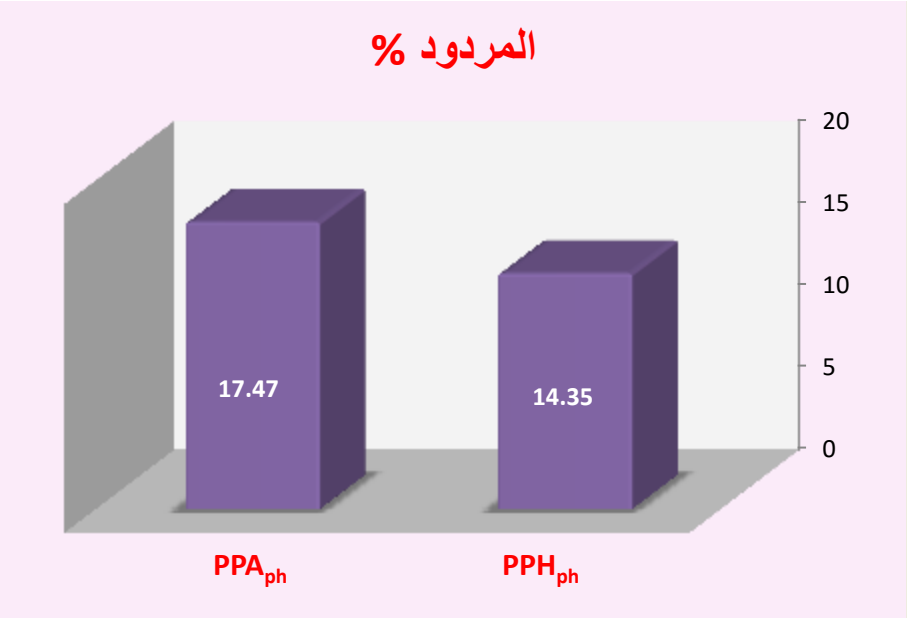
مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية:

الجدول V-01: مردود الإستخلاص للمركبات الفينولية:

العينة	الكتلة الأولية (غ)	الكتلة النهائية (غ)	المردود %
PPH_{ph}	35	5.0249	14.35
PPA_{ph}	35	6.1159	17.47

من خلال النتائج المبنية في الجدول أعلاه نجد أن مردود الاستخلاص بالنسبة للعينة PPA_{ph} أكثر من مردود العينة PPH_{ph}، وهذا يدل على أن محتوى المركبات الفينولية في العينة PPA_{ph} أكثر من العينة PPH_{ph}، ومنه فإن مردود الاستخلاص جيد .

مردود الاستخلاص للعينات PPH_{ph} و PPA_{ph} موضحة في الشكل V-05:



الشكل V- 05: مخطط يوضح نسبة مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية.

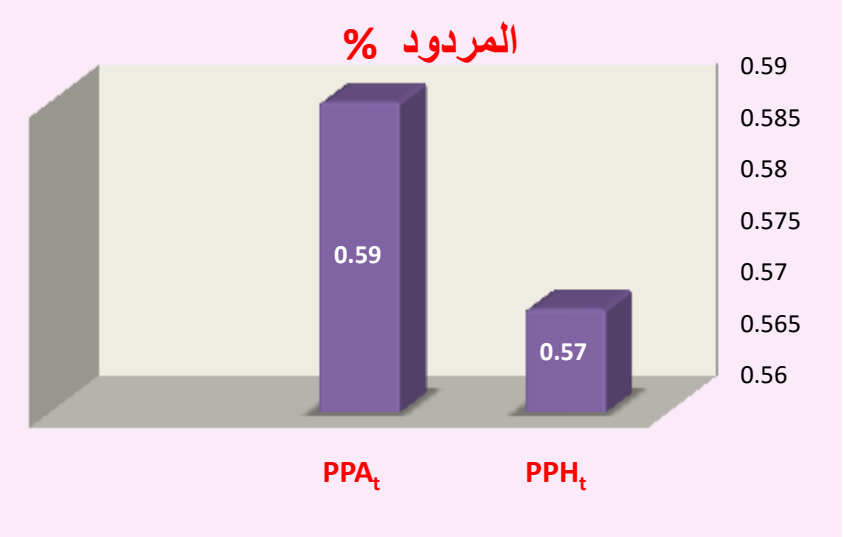
مردود الاستخلاص للتربينات الثلاثية والستيرويدات:

الجدول V- 2: مردود الاستخلاص للتربينات الثلاثية والستيرويدات:

العينة	الكتلة الأولية (غ)	الكتلة النهائية (غ)	المردود %
PPH_t	35	0.2024	0.57
PPA_t	35	0.2074	0.59

من خلال النتائج المبنية في الجدول نجد أن مردود الاستخلاص بالنسبة للعينة PPA_t أكثر من مردود العينة PPH_t ، هذا ما يدل على أن محتوى التربينات الثلاثية والستيرويدات في العينة PPA_t أكثر منه في العينة PPH_t.

مردود الإستخلاص للعينات PPH_t و PPA_t موضحة في الشكل V- 06:



الشكل V- 06: مخطط يوضح نسبة مردود الاستخلاص للتربينات الثلاثية والستيرويدات.

- بمقارنة مردود الاستخلاص بين المنطقتين نجد أن العينة PPA لها الأفضلية في المردود بالنسبة للمستخلصين الفينولي والتربيني من العينة PPH.

V- 3- التقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة جهاز المطيافية الأشعة UV-Visible:

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في الجدول V-03:

الجدول V- 03: قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة

العينة	PPH_{ph}	PPA_{ph}
التركيز (mg/ml)	0.5	0.5
الامتصاصية	0.39	0.84

نستخدم علاقة المنحنى القياسي لحمض الغاليك لنجد تركيز الفينولات الكلية في المستخلصات، حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة لـ 1غ من المستخلص لكل عينة.

$$Y = 3.3956x \quad \text{..... (2 -V)}$$

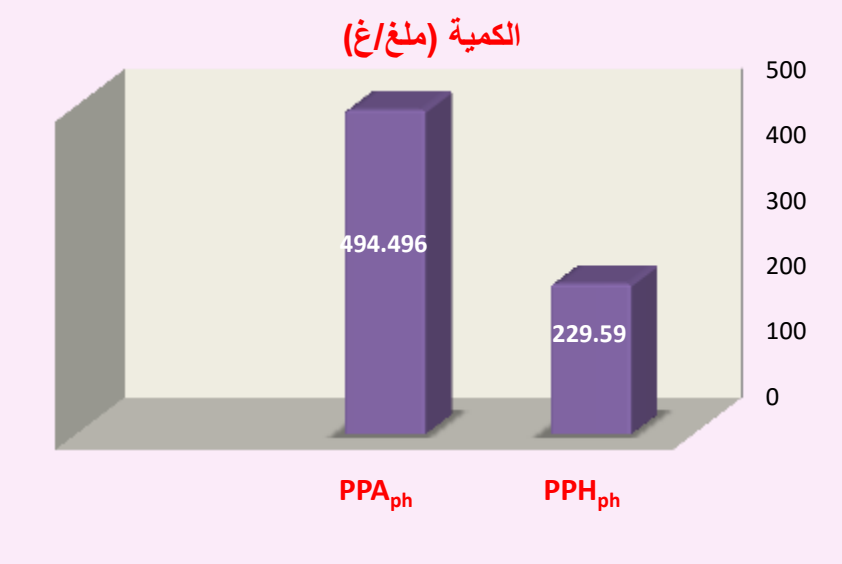
النتائج مدونة في الجدول V- 4:

الجدول V- 04: كمية المركبات الفينولية الكلية في المستخلصات

العينة	PPH_{ph}	PPA_{ph}
الكمية (mgEAG/g)	229.59	494.496

من خلال النتائج السابقة نلاحظ أن تواجد المركبات الفينولية في طلع النخيل (حبوب اللقاح)، تصل إلى 229.59 mgEAG/g من مستخلص العينة PPH_{ph} ، بينما تصل إلى 494.496 mgEAG/g من مستخلص العينة PPA_{ph} ، وهذا راجع إلى الاختلاف في نوعية التربة والمنطقة التي تؤثر على التركيب الكيميائي لكل نوع.

والشكل التالي يوضح الفرق بين الكميتين:



الشكل V- 07: مخطط يوضح كمية الفينولات الكلية في المستخلصين.

وبمقارنة الكمية في المستخلصين نجد أن كمية الفينولات الموجودة في المنطقة PPA_{ph} ضعف كمية الفينولات الموجودة في المنطقة PPH_{ph}.

V- 4- التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة جهاز المطيافية الاشعة UV-Visible:

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في الجدول VI- 5:

الجدول V- 5: قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة:

العينة	PPH_{ph}	PPA_{ph}
التركيز (mg/ml)	0.5	0.5
الامتصاصية	0.34	0.24

بنفس الطريقة السابقة باستخدام علاقة المنحنى القياسي للروتين نجد تركيز الفلافونويدات في المستخلصات، حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة لـ 1غ من المستخلص لكلتا العينتين.

$$Y = 14.5x \quad \text{.....(3 -V)}$$

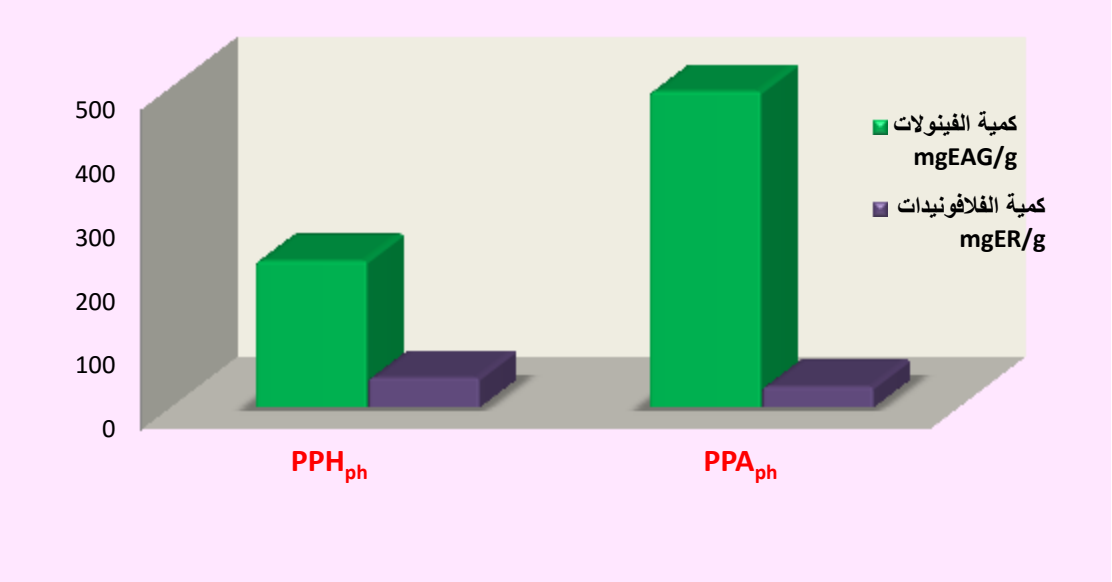
ونتائج الحساب مدونة في الجدول V- 06:

الجدول V- 06: كمية الفلافونويدات في المستخلصين:

العينة	PPH_{ph}	PPA_{ph}
الكمية (mgER/g)	46.90	33.11

نلاحظ من خلال الجدول أن كمية الفلافونويدات في العينة PPH_{ph} أكثر منها في العينة PPA_{ph}، وبما أن الفلافونويدات أكثر الفينولات انتشارا فهي تمثل نسبة معتبرة من كمية الفينولات المستخلصة من الطلع (حبوب القاح).

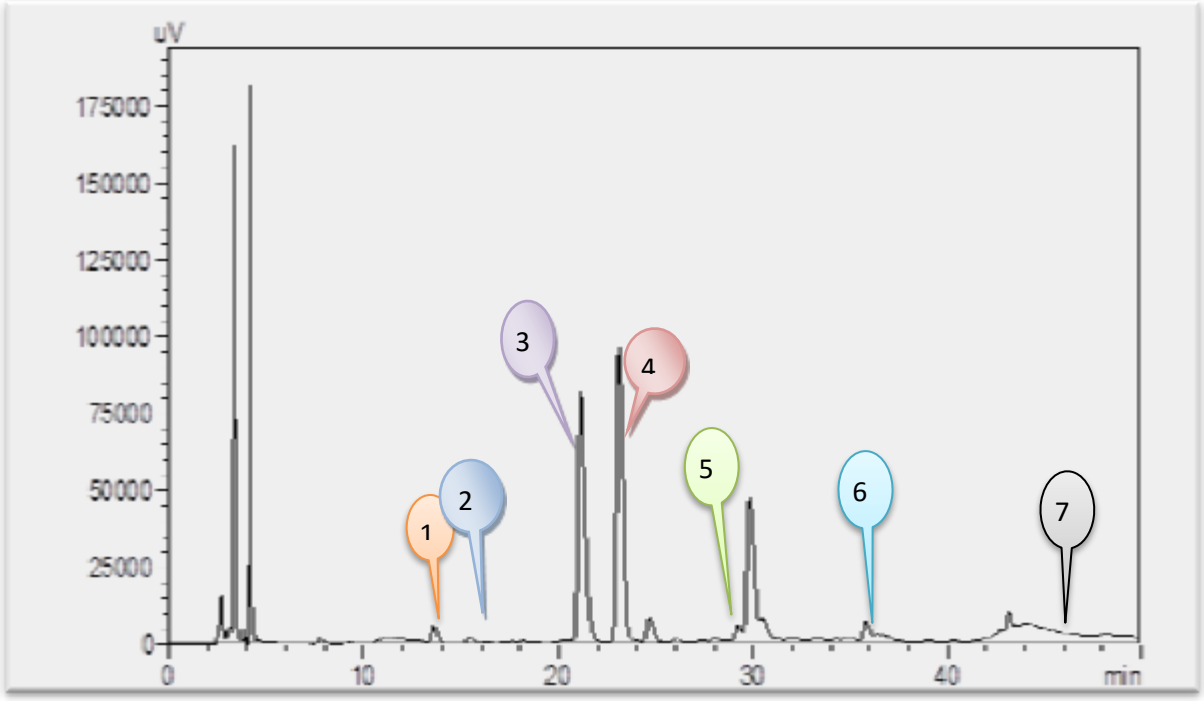
والمقارنة بين العينتين موضحة في الشكل V- 08:



الشكل V- 08: مخطط يوضح مقارنة بين كمية الفينولات والفلافونويدات في المستخلصين

V- 5- التقدير الكمي للفينولات بواسطة الـ HPLC:

تم استخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء للتقدير الكمي للفينولات في المستخلصات المدروسة، والشكل V- 09 يوضح الكروماتوغرام الناتج عن العينة PPH_{ph}.



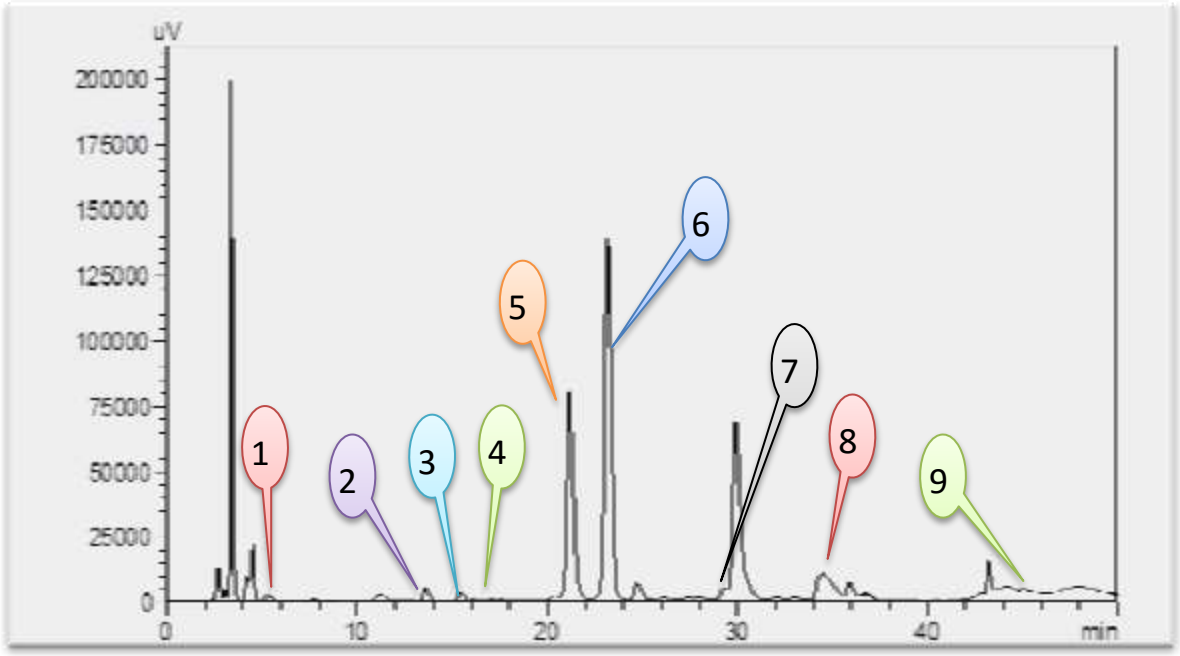
الشكل V- 09 : يوضح الكروماتوغرام الناتج عن العينة PPH_{ph}.

من خلال الكروماتوغرام الناتج يمكننا معرفة نوع المركبات الفينولية المتواجدة في طلع النخيل (حبوب اللقاح) للمنطقة PPH_{ph} والنتائج موضحة في الجدول V- 07:

الجدول V- 07: المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلص PPH_{ph}

رقم المركب	المركبات الفينولية	زمن المكوث للفينول المرجعي $t_{r(R)}$ (min)	زمن المكوث للفينول في المستخلص $t_{r(E)}$ (min) PPH_{ph}	كمية كل مركب في المستخلص PPH_{ph} (mg/g)
1	حمض كلوروجينيك	13.392	13.150	0.075
2	حمض فانيليك	15.531	15.405	1.12
3	فانيلين	21.46	21.109	6.92
4	حمض بيوكومارين	23.817	23.099	8.90
5	روتين	28.37	28.557	0.77
6	نارجنين	34.788	34.954	0.53
7	كرستين	45.047	45.378	5.41

من خلال الجدول أعلاه تم تحديد (7) مركبات فينولية موجودة في المستخلص الفينولي للعينة PPH_{ph} وذلك من خلال مقارنة زمن مكوثها مع زمن مكوث المركبات الفينولية المرجعية وكروماتوغرام العينة PPA_{ph} موضحة في الشكل V- 10 كالتالي:



الشكل V- 10 : يوضح الكروماتوغرام الناتج عن العينة PPA_{ph}

نلاحظ من خلال الكروماتوغرام وجود عدة مركبات فينولية موجودة في مستخلص العينة PPA_{ph} موضحة في الجدول V- 08

الجدول V- 08: المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلص PPA_{ph}

رقم المركب	المركبات الفينولية	زمن المكوث للفينول المرجعي $t_{r(R)}$ (min)	زمن المكوث للفينول في المستخلص $t_{r(E)}$ (min) PPA_{ph}	كمية كل مركب في المستخلص PPA_{ph} (mg/g)
1	حمض الغاليك	5.29	5.255	1.80
2	حمض كلوروجينيك	13.392	13.600	0.932
3	حمض فانيليك	15.531	15.425	0.187
4	حمض الكافاييك	16.277	16.132	0.049
5	فانيلين	21.46	21.161	3.35
6	حمض بيوكومارين	23.817	23.157	13.35
7	روتين	28.37	28.671	0.157
8	نارجنين	34.788	34.486	6.085
9	كرستين	45.047	45.046	0.32

من خلال الجدول نستنتج أن مستخلص العينة PPA_{ph} يحتوي على العديد من المركبات الفينولية، حيث تم تحديد (9) مركبات من خلال مقارنة زمن مكوثها مع زمن مكوث المركبات الفينولية المرجعية.

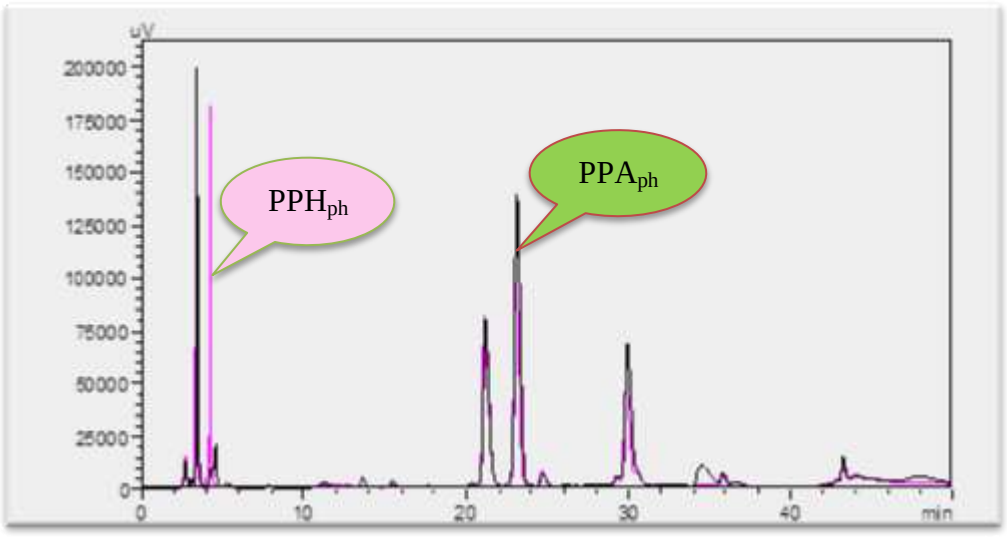
ومن النتائج السابقة نلاحظ اختلاف في عدد وبعض أنواع المركبات الفينولية الموجودة في المستخلصات وكذلك في كمية المركبات الفينولية المتواجدة في كلتا العينتين والجدول **V-** 09 يوضح الفرق بينهما.

الجدول V- 09: يوضح المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلصين وكميتها

رقم المركب	المركبات الفينولية	زمن المكوث للفينول المرجعي $t_{r(R)}$ (min)	زمن المكوث للفينول في العينة PPA_{ph} $t_{r(E)}$ (min)	زمن المكوث للفينول في العينة PPH_{ph} $t_{r(E)}$ (min)	كمية كل مركب في العينة PPA_{ph} (mg/g)	كمية كل مركب في العينة PPH_{ph} (mg/g)
1	حمض الغاليك	5.29	5.255	-	1.80	-
2	حمض الكلوروجينيك	13.392	13.600	13.150	0.932	0.075
3	حمض الفانيليك	15.531	15.425	15.405	0.187	1.12
4	حمض الكافييك	16.277	16.132	-	0.049	-
5	فانيلين	21.46	21.161	21.109	3.35	6.92
6	حمض بيوكومارين	23.817	23.157	23.099	13.35	8.90
7	روتين	28.37	28.671	28.557	0.157	0.77
8	نارجينين	34.788	34.486	34.954	6.085	0.53
9	كريستين	45.047	45.046	45.378	0.32	4.51

تفسير النتائج:

من خلال الجدول V- 09 ومن خلال المقارنة بين كروماتوغرام العينة PPH_{ph} والعينة PPA_{ph} نلاحظ غياب المركبين (حمض الغاليك، وحمض الكافييك) من المستخلص الفينولي للعينة PPH_{ph}، كما وجدنا اختلاف متفاوت في كمية باقي المركبات الموجودة في المستخلصين، حيث أن كمية كل من (حمض الكلوروجينيك، حمض بيوكومارين، ونارجينين) في العينة PPA_{ph} كانت أكبر من العينة PPH_{ph}، بينما كانت كمية باقي المركبات (كريستين، روتين، فانيلين، حمض الفانيلين) في العينة PPH_{ph} أكبر من العينة PPA_{ph} في والشكل V- 11 يوضح ذلك الاختلاف.

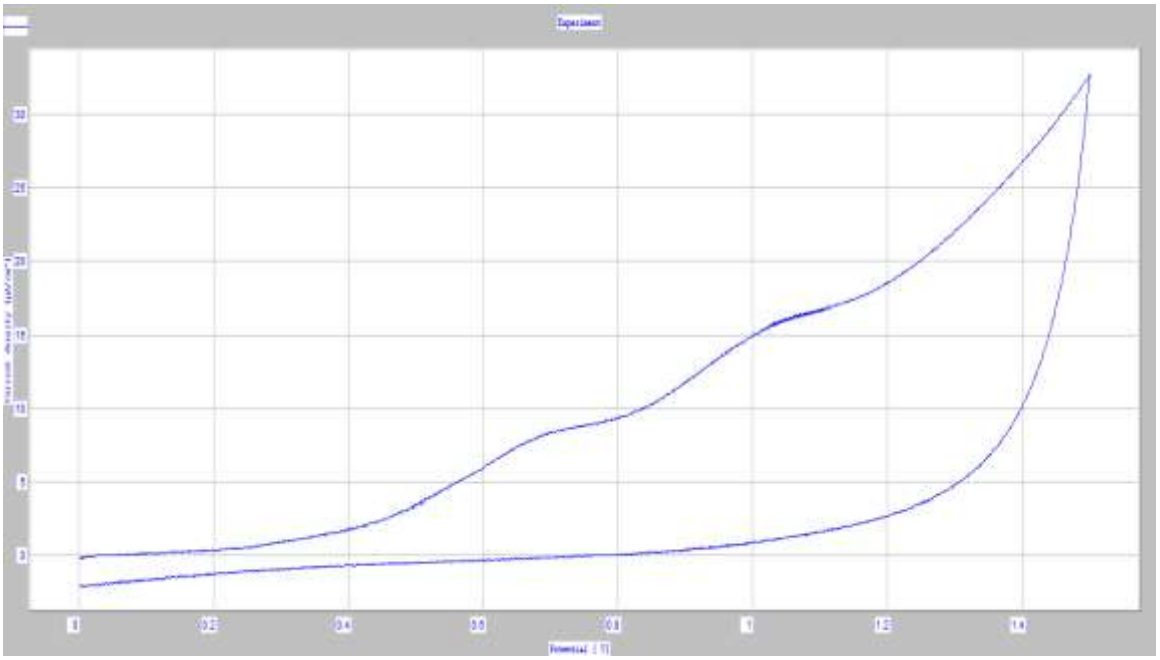


الشكلV- 11: مقارنة بين كميات المركبات الفينولية في المستخلصين

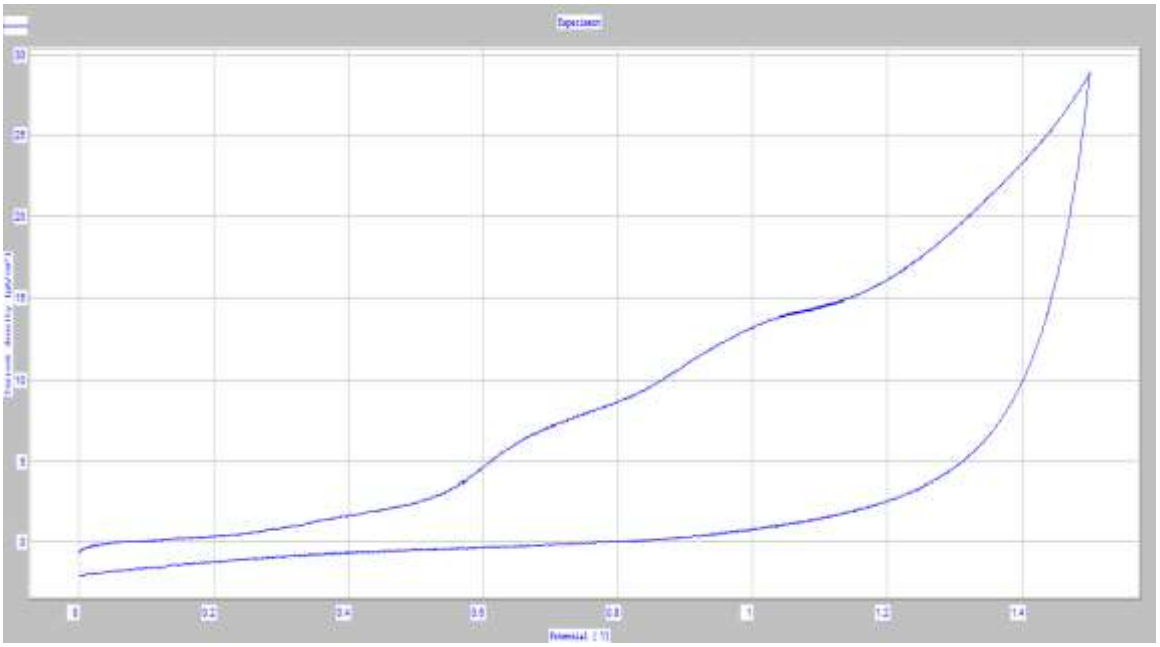
V- 6- الفعالية المضادة للأكسدة:

اختبار الفولطـامتري الحلقي (VMC):

بعد معاملة المستخلصات PPH_{ph} و PPA_{ph} بنفس الطريقة ونفس الشروط التي عومل حمض الغاليك، نرسم المنحنيات الفولطامترية الحلقية للمستخلصين PPH_{ph} و PPA_{ph} والموضحة في الشكل V- 12 و الشكل V- 13 على التوالي .



الشكل V- 12: المنحنى الفولطامتري الحلقي للمستخلص الفينولي PPH_{ph}



الشكل V- 13: المنحنى الفولطامتري الحلقي للمستخلص الفينولي PPA_{ph}

من خلال المنحنيات نقوم بإسقاط قمم نتوءات المنحنيات لكل مستخلص على المحور Y نجد قيمة شدة التيار، ومن خلال علاقة كثافة التيار بدلالة التركيز للمركب القياسي لحمض الغاليك (acide gallique)

$$I = 0.0297C+1.8014 \quad \text{.....(4 -V)}$$

نجد تركيز حمض الغاليك في العينات، والنتائج مدونة في الجدول V– 10 التالي :

الجدول V– 10 : كمية مضادات الأكسدة في المستخلصات النباتية بإستعمال الفولطامتري الحلقي

	كثافة التيار (µA/cm2)	التركيز (µg/ml)	الفعالية المضادة للأكسدة (mg EAG /g)
المستخلص PPA_{ph}	7.522	192.61	5.77
المستخلص PPH_{ph}	8.648	230.52	6.92

تفسير النتائج :

تم تقدير كمية المركبات المضادة للأكسدة بطريقة الفولطـامتري الحلقـي وذلك باستعمال المنحنى القياسي لحامض الغاليك Gallic acid ، حيث بلغت كميتها (5.77 mg EAG /g) من مستخلص PPA_{ph} وهي تعتبر كمية معتبرة نوعا ما، وبلغت كميتها (6.92 mg EAG /g) من مستخلص PPH_{ph} وهي كمية مقبولة من مضادات الاكسدة .

V- 7- الفعالية البيولوجية:

بعد عملية الزرع والحضن مدة 24 ساعة، نقوم بقياس أقطار التثبيط للمستخلصات حول الأقراص المشبعة بالتراكيز مع الأخذ بعين الاعتبار قطر التثبيط للشاهد، كذلك أقطار المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة.

الجدول V– 11 يوضح تراكيز المستخلصات المحضرة:

الجدول V– 11: تراكيز المستخلصات المحضرة للدراسة البيولوجية

10 mg/ml	1 mg/ml	0.1mg/ml	التركيز (mg/ml) / العينة
A3	A2	A1	**(A)PPH$_{ph}$**
A'3	A'2	A'1	**(A') PPH$_{t}$**
B3	B2	B1	**(B) PPA$_{ph}$**
B'3	B'2	B'1	**(B') PPA$_{t}$**
C3	C2	C1	**(C) AMOX**
D3	D2	D1	**(D) AMP**

بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*:

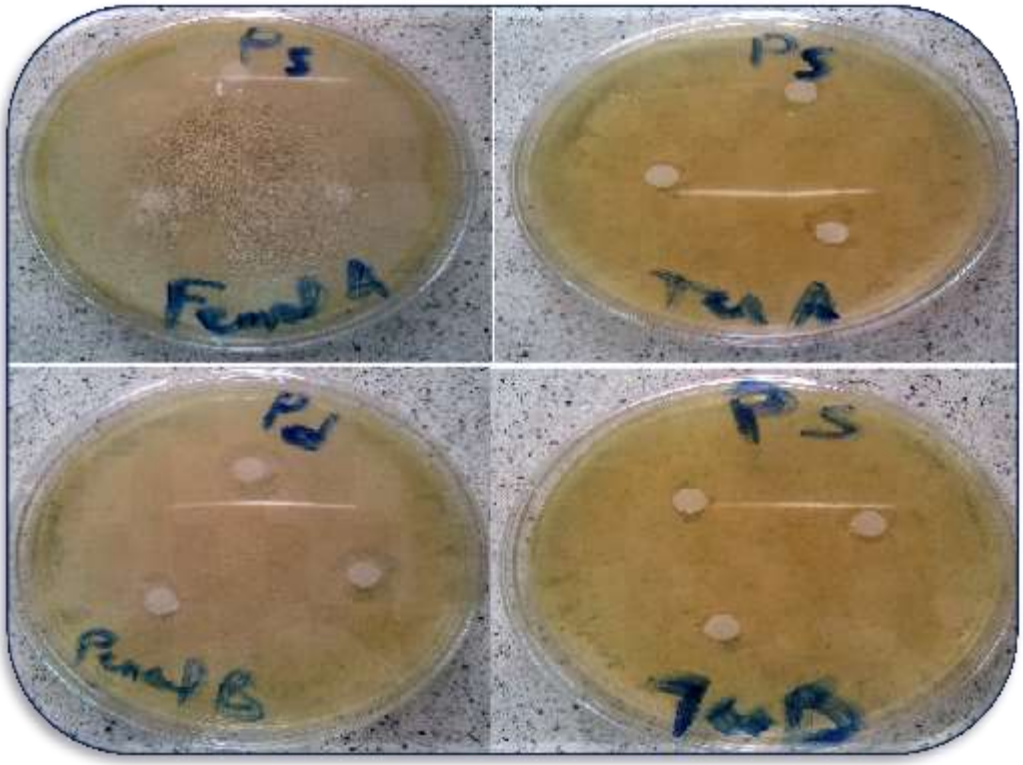
قيم أقطار التثبيط للبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* مدونة في الجدول V– 12:

الجدول V– 12: أقطار التثبيط للبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* الناتجة عن التراكيز المختلفة للمستخلصات

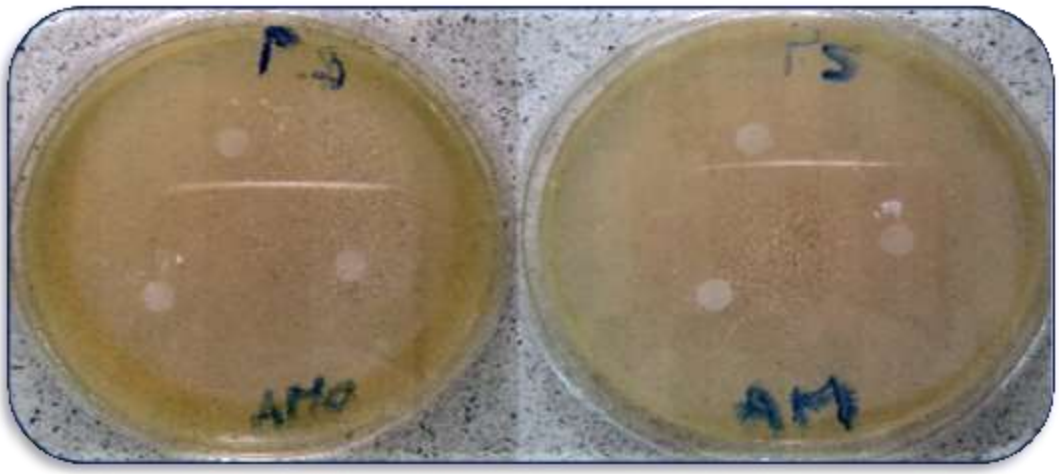
العينة	(A)PPH$_{ph}$			(A') PPH$_{t}$			(B) PPA$_{ph}$			(B') PPA$_{t}$		
التركيز mg/ml	A1	A2	A3	A'1	A'2	A'3	B1	B2	B3	B'1	B'2	B'3
قطر التثبيط (mm)	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

الجدول V– 13: أقطار التثبيط للبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* الناتجة عن التراكيز المختلفة للمضادات الحيوية

(D) AMP			(C) AMOX			العينة
D3	D2	D1	C3	C2	C1	التركيز mg/ml
19	14	--	--	--	--	قطر التثبيط (mm)



الشكل V- 14: الأثر التثبيطي للمستخلصات التربينية والفينولية لطلع النخيل (حبوب اللقاح) على البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*



الشكل V- 15: الأثر التثبيطي للمضادات الحيوية على البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*

تفسير النتائج:

أظهرت النتائج بالنسبة للمستخلصات الفينولية والتربينية أنه لا يوجد أثر تثبيط للمستخلصات على البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*، وبالتالي فإن هذه البكتيريا تمتلك مقاومة طبيعية.

بينما كان للمضاد الحيوي الأمبيسيلين (Ampeciline) الأثر التثبيطي على البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* ، حيث بلغ قطر التثبيط عند التركيزين D2 و D3 14 ملم و 19ملم على التوالي، ومنه يمكن القول أن البكتيريا حساسة للمضاد الحيوي أمبيسيلين، وهذه البكتيريا لم تظهر أي أثر تثبيطي على المضاد الحيوي الأموكسيسيلين (Amoxiciline) بالتالي فإن هذه البكتيريا مقاومة للمضاد الحيوي الأموكسيسيلين ومنه فإن البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* ، حساسة لنوع واحد من المضادات الحيوية.

بكتيريا *Escherichia coli*:

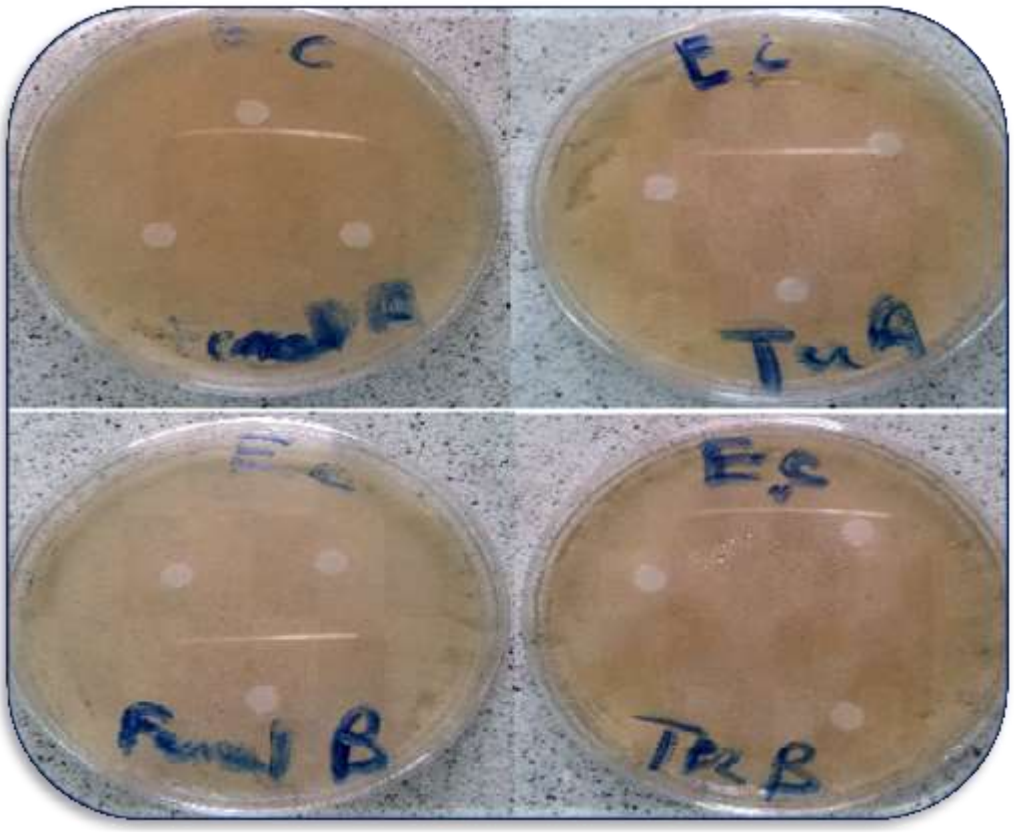
قيم قطر التثبيط للبكتيريا *Escherichia coli* مدونة في الجدول V– 14 و V– 15 على التوالي:

الجدول V– 14: أقطار التثبيط للبكتيريا *Escherichia coli* الناتجة عن التراكيز المختلفة للمستخلصات

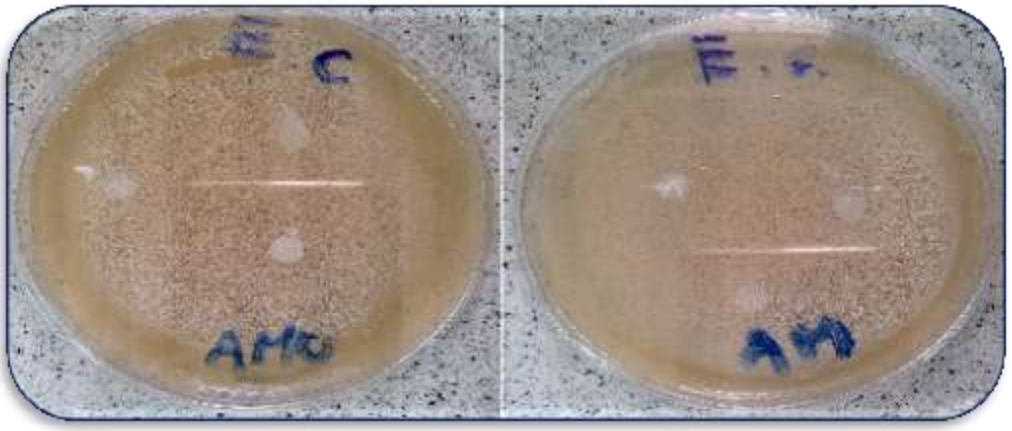
العينة	(A)PPH_{ph}			(A') PPH_t			(B) PPA_{ph}			(B') PPA_t		
التركيز mg/ml	A1	A2	A3	A'1	A'2	A'3	B1	B2	B3	B'1	B'2	B'3
قطر التثبيط (mm)	9	--	--	--	--	--	7	--	--	--	--	--

الجدول V– 15: أقطار التثبيط للبكتيريا *Escherichia coli* الناتجة عن التراكيز المختلفة للمضادات الحيوية

العينة	(C) AMOX			(D) AMP		
التركيز mg/ml	C1	C2	C3	D1	D2	D3
قطر التثبيط (mm)	7	9	10	12	10	11



الشكل V- 16: الأثر التثبيطي للمستخلصات على البكتيريا *Escherichia coli*



الشكل V- 17: الأثر التثبيطي للمضادات الحيوية على البكتيريا *Escherichia coli*

تفسير النتائج:

بلغت أقطار التثبيط في المستخلص الفينولي للعينتين PPH_{ph}(A) و PPA_{ph} (B) عند التركيز 0.1mg/ml ، 9 ملم و7 ملم على التوالي بينما لم تظهر المستخلصات التربينية أي نشاط حيوي ومنه نقول أن البكتيريا تمتلك مقاومة طبيعية.

أما بالنسبة للمضادات الحيوية فقد أظرت البكتيريا *Escherichia coli* حساسية متوسطة لكلا المضادات الحيوية حيث تراوحت أقطار التثبيط في الأموكسيسيلين والأمبيسيلين ما بين (7-12 ملم).

البكتيريا *Listeria monocytogenes*:

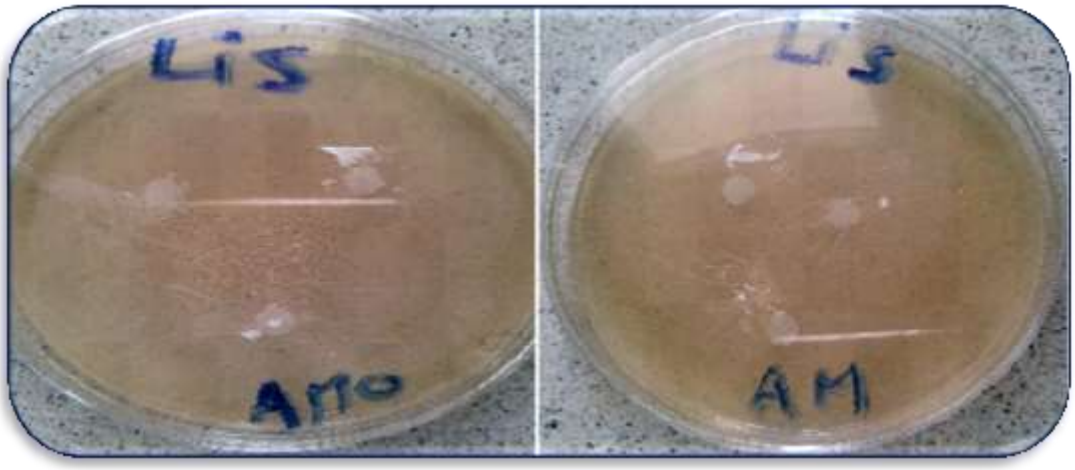
قيم أقطار التثبيط بالنسبة البكتيريا *Listeria monocytogenes* موضحة في الجدول V– 16 و V– 17 على التوالي:

الجدول V– 16: أقطار التثبيط للبكتيريا *Listeria monocytogenes* الناتجة عن التراكيز المختلفة للمستخلصات

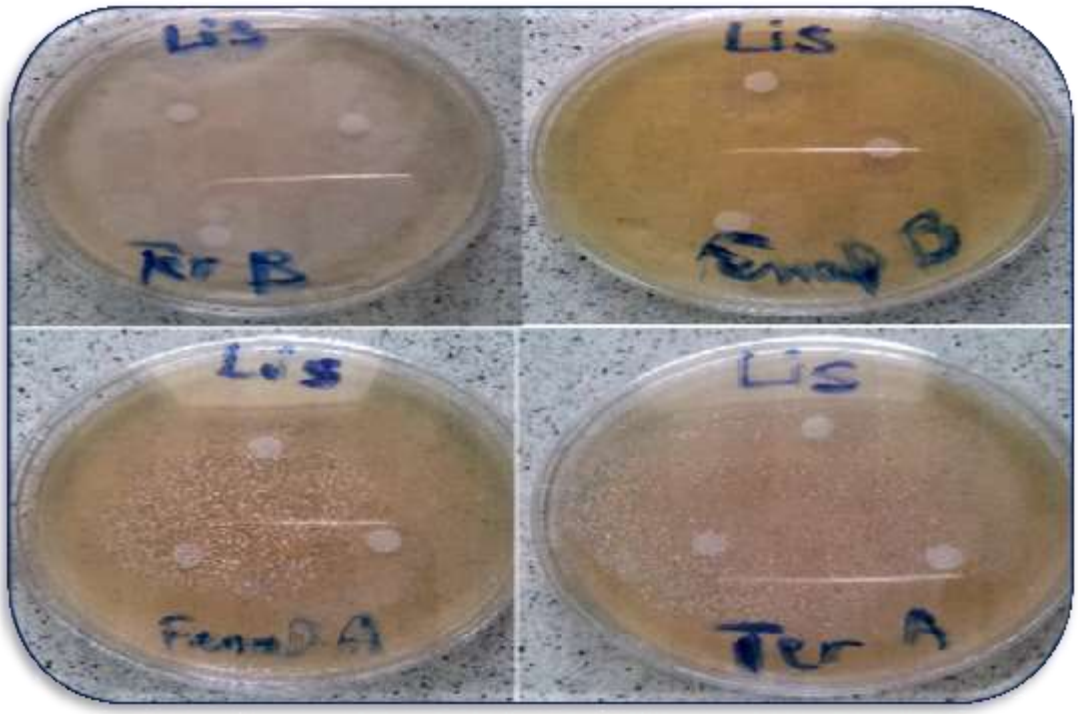
العينة	(A)PPH_{ph}			(A') PPH_t			(B) PPA_{ph}			(B') PPA_t		
التركيز mg/ml	A1	A2	A3	A'1	A'2	A'3	B1	B2	B3	B'1	B'2	B'3
قطر التثبيط (mm)	10	14	17	--	--	10	16	12	18	16	17	26

الجدول V– 17: أقطار التثبيط للبكتيريا *Listeria monocytogenes* الناتجة عن التراكيز المختلفة للمضادات الحيوية

العينة	(C) AMOX			(D) AMP		
التركيز mg/ml	C1	C2	C3	D1	D2	D3
قطر التثبيط (mm)	12	-	10	12	14	13



الشكل V- 18: الأثر التثبيطي للمضادات الحيوية على البكتيريا *Listeria monocytogenes*



الشكل V- 19: الأثر التثبيطي للمستخلصات على البكتيريا *Listeria monocytogenes*

تفسير النتائج:

- **في المستخلصات التربينية:**

لقد أظهر المستخلص التربيني للعينة PPA_t (B') أثرا تثبيطيا على البكتيريا *Listeria monocytogenes* إذ بلغ قطر التثبيط في التراكيز B'1، B'2، B'3 على التوالي 16، 17، 26 ملم، وبالتالي فإن البكتيريا *Listeria monocytogenes* حساسة جدا للمستخلص التربيني عند التركيز الأكبر. بينما في المستخلص التربيني للعينة PPH_t (A') أعطت قطر تثبيط عند التركيز الأكبر قدره 10 ملم ومنه يمكن القول أن البكتيريا *Listeria monocytogenes* متوسطة الحساسية للتركيز الأكبر لمستخلص العينة PPH_t (A').

- **في المستخلصات الفينولية:**

لقد كانت أقطار التثبيط للبكتيريا في كلا المستخلصين الفينوليين متقاربة وكانت أكبر القيم في التركيزين A3 و B3 على التوالي 17 و 18 ملم ومنه فإن البكتيريا *Listeria monocytogenes* حساسة للتركيز 10mg/ml.

- **بالنسبة للمضادات الحيوية:**

لقد أظهرت النتائج أن قدرة تأثير المضادات الحيوية على تثبيط البكتيريا *Listeria monocytogenes* كانت متوسطة، حيث كانت أعلى قيمة لقطر التثبيط في المستخلصين عند التركيزين C1 و D2 على

التوالي 12 و 14 ملم ومنه فإن البكتيريا *Listeria monocytogenes* متوسطة الحساسية للمضادات الحيوية.

نتيجة:

نستنتج من دراسة النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات الأربعة والمضادات الحيوية على السلالات البكتيرية الثلاثة، أن قدرة المستخلصات على تثبيط البكتيريا كانت أفضل من المضادات الحيوية إذ تم تسجيل أعلى قيمة للتثبيط من قبل المستخلص التربيني لمنطقة العلندة على بكتيريا *Listeria monocytogenes* قدرت بـ 26mm في حين كانت أعلى قيمة للتثبيط للمضادات الحيوية على نفس البكتيريا مقدرة بـ 14mm للمضاد الحيوي (Ampicilin)، ومن خلال هذه النتائج يمكن القول أن هذه المستخلصات يمكن اعتبارها كمضادات حيوية لما أظهرته من فعالية ضد البكتيريا.

الخاتمة

الخاتمـــــــة

إن النباتات الطبية الموجودة في الجزائر كثيرة ومتنوعة وتزخر منطقة وادي سوف بالعديد من هذه النباتات إذ يندرج هذا العمل ضمن تثمين الموارد النباتية الطبية في منطقة وادي سوف، ولقد اخترنا طلع النخيل لغناء المنطقة بغابات النخيل واستخدامه من قبل الناس في الكثير من المجالات، لما يحتويه على مواد فعالة مهمة وهذا ما تطرقنا لدراسته في هذا الموضوع.

وفي بحثنا هذا قمنا باستخلاص بعض المواد الفعالة الموجودة في طلع النخيل لمنطقتين مختلفتين بواسطة مذيبات مختلفة حيث استخدمنا لفصل المركبات الفينولية والميثانول للحصول على المستخلص الفينولي الخام، أما بالنسبة للتربينات الثلاثية والسترويدات فقد استخدمنا لاستخلاصها والكلوروفورم، ولقد قمنا بتقدير مردود الاستخلاص في كلا المستخلصين حيث أظهر مردود المستخلص الفينولي نسبة عالية مقارنة بمردود المستخلص التربيني، وتم تقدير محتوى الفينول في المستخلص الفينولي كما تم تقييم الفعالية المضادة للأكسدة لهذا الأخير، ومن ثم دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا لكل المستخلصات.

وللمقارنة بين مستخلصات المنطقتين قمنا بما يلي:

- ✓ التقدير الكمي للمركبات الفينولية باستعمال كاشف Folin- ciocalteu وقد سجلت أعلى كمية للفينولات في المستخلص الفينولي لمنطقة العلندة بمقدار (mg EAG/g) 494.496، أما بالنسبة لكمية الفينولات في المستخلص الفينولي لمنطقة الحمراية فقد قدر بـ (mg EAG/g) 229.59، ويرجع الاختلاف في ذلك إلى نوعية التربة التي يتواجد بها النخيل.
- ✓ أما التقدير الكمي للفلافونويدات باستخدام كاشف $AlCl_3$ فقد أعطى نتائج مختلفة إذ أن كمية الفلافونويدات الموجودة في المستخلص الفينولي لمنطقة الحمراية قدرت بـ (mg EAG/g) 46.90 بينما في المستخلص الفينولي لمنطقة العلندة قدر بـ (mg EAG/g) 33.11.
- ✓ ولقد تعرفنا على بعض المركبات الفينولية الموجودة في المستخلصات عن طريق التحليل الكمي والكيفي بواسطة جهاز HPLC حيث سجلنا وجود كل المركبات الفينولية المرجعية في المستخلص الفينولي لمنطقة العلندة وغياب بعضها في المستخلص الفينولي لمنطقة الحمراية، والمركبات هي:

حمض الغاليك، حمض كلوروجينيك، حمض فانيليك، حمض الكافييك، فانيلين، حمض بيوكومارين، روتين، نارجنين، كريستين. كل هذه المركبات تم إيجادها في مستخلص منطقة العلندة بينما غياب حمض الغاليك وحمض الكافييك في مستخلص منطقة الحمراية.

كما تمت الدراسة الفعالية المضادة للأكسدة على المستخلصات الفينولية لطلع النخيل (حبوب اللقاح) بواسطة الطريقة الكهروكيميائية وباستخدام جهاز الفولطامتري الحلقي (VCM) ولقد أظهرت النتائج أن الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص الفينولي لمنطقة الحمراية كان أفضل من منطقة العلندة

حيث قدرت الفعالية المضادة للأكسدة للأخيرة بـ 5.77(mg EAG/g) بينما كانت القيمة أعلى بالنسبة لمنطقة الحمراية وقد قدرت بـ 6.92(mg EAG/g) .

وفي الأخير قمنا بدراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات الأربعة على ثلاث أنواع من سلالات بكتيرية وهي (*Pseudomonas aeruginosa*، *Escherichia coli*، *Listeria monocytogenes*)، وذلك بطريقة الإنتشار بالأقراص حيث سجلنا قدرة تثبيطية جد فعالة عند المستخلص التربيني لمنطقة العلندة PPA_t (B') قدرت بـ 26mm عند التركيز الأعلى وهي أكبر الأقطار التثبيطية لدى المضادات الحيوية الصناعية (Ampicillin و Amoxiciliin) إيجابية مع المستخلصات الفينولية والتربينية بالنسبة للبكتيريا *Listeria monocytogenes* أما باقي السلالات فقد كانت النتائج قليلة نسبيا إذ أظهرت بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* مقاومة للمضادات الحيوية والمستخلصات الأربعة، بينما كانت مقاومة البكتيريا *Escherichia coli* للمضادات الحيوية والمستخلصات متوسطة.

بعد النتائج المتحصل عليها يمكن القول أن المسؤول عن الفعالية المضادة للأكسدة الأكبر هي النسبة المرتفعة للفلافونويدات لدى المستخلص الفينولي لطلع النخيل لمنطقة الحمراية، بينما أعطت الأقطار الأكبر للفعالية المضادة للبكتيريا عند المستخلص التربيني لطلع النخيل لمنطقة العلندة ضد بكتيريا *Listeria monocytogenes* نظرا لاحتوائها على كمية أكبر من المركبات التربينية.

وكخلاصة لما قدمناه في هذا البحث يمكن القول أن طلع النخيل (حبوب اللقاح) لمنطقة الحمراية أظهر نشاط مضاد للأكسدة أكبر من الطلع لمنطقة العلندة، بينما كانت القدرة التثبيطية لطلع منطقة العلندة أعلى من طلع منطقة الحمراية.

وفي الأخير ونظرا للنتائج المشجعة المتحصل عليها من مستخلصات طلع النخيل، يمكن تثمينه وتأهيله ليكون ضمن أكثر النباتات الطبية المستعملة في العلاج. ولزيادة آفاق هذا البحث نرجو التعمق فيه بالدراسة التحليلية الكمية والنوعية للمركبات الفعالة الموجودة فيه والتي لم يتم التعرف عليها حتى الأن كخطوة أولى لأعمال مستقبلية.

الملاحق

الملحق 01:

نتائج الـ HPLC للعينة PPA

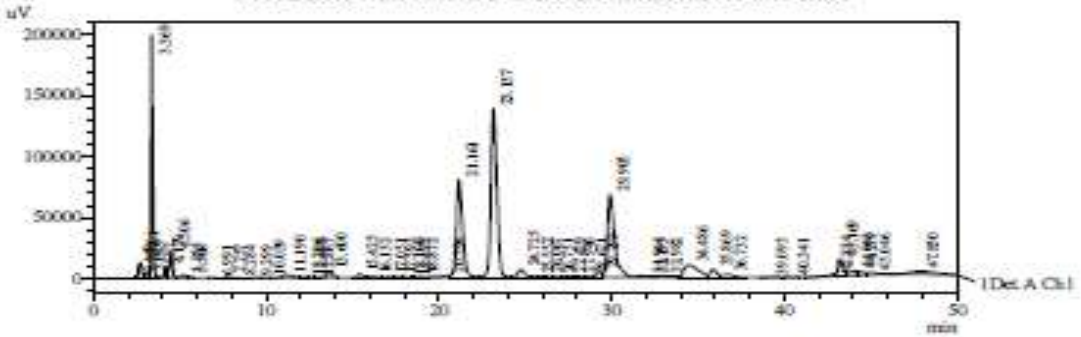
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar d'EL Oued
مخبر الموارد الصحراوية تثمينها وتكنولوجيتها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

Sample Information

Acquired by	Admin
Sample Name	ZOUBIADI-4
Sample ID	ZOUBIADI-4
Vial#	
Injection Volume	20 uL
Data Filename	ZOUBIADI-4
Method Filename	Nounia21.mc
Batch Filename	
Report Filename	dat0.lst
Date Acquired	24-05-2018 1
Data Processed	24-05-2018 1

Chromatogram

ZOUBIADI-A C:\LabSolutions\Data\2018\ZOUBIADI-A 24-05-2018-69.lcd



1 Det.A Ch1 / 268nm

Peak Table

Detector A Ch1 268nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.449	11624	1844	0.095	0.297
2	2.701	183904	13201	1.500	2.124
3	3.049	53481	4633	0.436	0.745
4	3.369	1560972	199348	12.734	32.071
5	3.682	2996	733	0.024	0.118
6	4.179	16884	3735	0.138	0.601
7	4.506	280637	21763	2.290	3.501
8	5.255	49355	2680	0.403	0.431
9	5.508	17466	1524	0.142	0.245
10	6.991	3555	201	0.029	0.032
11	7.757	32421	1474	0.264	0.237
12	8.284	5214	291	0.043	0.047
13	9.299	6971	267	0.057	0.043
14	10.039	5970	209	0.049	0.034
15	11.190	105525	2383	0.861	0.383
16	12.206	17550	640	0.143	0.103
17	12.465	13005	590	0.106	0.095

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
18	12.867	4632	355	0.038	0.057
19	13.600	101002	4921	0.824	0.792
20	15.425	61060	2785	0.498	0.448
21	16.132	20947	672	0.171	0.108
22	17.051	16401	611	0.134	0.098
23	17.593	16704	691	0.136	0.111
24	18.100	6230	300	0.051	0.048
25	18.475	3711	245	0.030	0.039
26	18.872	16260	566	0.133	0.091
27	20.394	53603	1660	0.437	0.267
28	21.161	1988589	80174	16.223	12.898
29	23.157	3304038	138429	26.954	22.270
30	24.725	175172	6450	1.429	1.038
31	25.557	13829	559	0.113	0.090
32	26.067	41022	1370	0.335	0.220
33	26.751	19199	689	0.157	0.111
34	27.429	32970	1157	0.269	0.186
35	27.946	42287	1375	0.345	0.221
36	28.671	22181	846	0.181	0.136
37	29.293	111840	4854	0.912	0.781
38	29.905	2049018	68176	16.716	10.968
39	31.944	10101	620	0.082	0.100
40	32.193	12166	609	0.099	0.098
41	32.982	24524	777	0.200	0.125
42	34.486	589665	10382	4.810	1.670
43	35.869	157289	6583	1.283	1.059
44	36.732	107390	2433	0.876	0.391
45	39.095	6571	221	0.054	0.036
46	40.341	3896	144	0.032	0.023
47	42.834	55521	1713	0.453	0.276
48	43.169	246587	14243	2.012	2.291
49	44.043	111864	3382	0.913	0.544
50	44.279	85380	3293	0.697	0.530
51	45.046	86367	2075	0.705	0.334
52	47.850	292329	2708	2.385	0.436
Total		12257916	621584	100.000	100.000

الملحق 02:

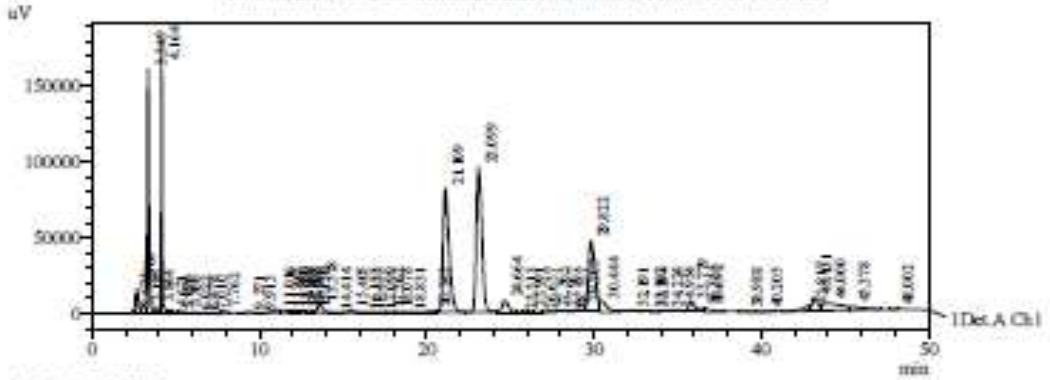
نتائج الـ HPLC للعينة PPH

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 الـوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar d'EL Oued
مخبر الموارد الصحراوية تـرقيتها وتكنولوجيتها
Laboratoire de Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes

Sample Information

Acquired by	: Admin
Sample Name	: ZOUBIADI-F
Sample ID	: ZOUBIADI-F
Vial#	:
Injection Volume	: 20 ul.
Data Filename	: ZOUBIADI-F
Method Filename	: Nesrnia21 me
Batch Filename	:
Report Filename	: dir0.lir
Date Acquired	: 24-05-2018 9
Data Processed	: 24-05-2018 1(

Chromatogram
ZOUBIADI-H C:\LabSolutions\Data\2018\ZOUBIADI-H 24-05-2018-68.lcd



1 Det.A Ch1 / 268nm

Peak Table
Detector A Ch1 268nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.475	13056	2616	0.128	0.382
2	2.704	196774	16298	1.925	2.378
3	3.145	77990	5544	0.763	0.809
4	3.349	1219661	162231	11.931	23.666
5	3.844	19992	4215	0.196	0.615
6	4.164	702919	182255	6.876	26.587
7	4.621	27513	1656	0.269	0.242
8	5.020	21832	1089	0.214	0.159
9	5.366	31952	1126	0.313	0.164
10	6.022	12575	557	0.123	0.081
11	6.478	13735	501	0.134	0.073
12	7.010	7719	372	0.076	0.054
13	7.762	32843	1740	0.321	0.254
14	9.271	21230	765	0.208	0.112
15	9.913	10204	344	0.100	0.050
16	11.016	62160	1785	0.608	0.260
17	11.465	60067	1939	0.588	0.283

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
18	11.880	17847	1397	0.175	0.204
19	12.099	20371	1248	0.199	0.182
20	12.409	13265	1155	0.130	0.168
21	12.605	14187	1178	0.139	0.172
22	12.780	21021	1135	0.206	0.166
23	13.150	8133	658	0.080	0.096
24	13.578	115252	5411	1.127	0.789
25	14.414	2639	118	0.026	0.017
26	15.405	36294	1641	0.355	0.239
27	16.133	3154	199	0.031	0.029
28	16.433	3536	200	0.035	0.029
29	17.099	7501	371	0.073	0.054
30	17.562	11678	589	0.114	0.086
31	18.078	19658	706	0.192	0.103
32	18.831	6421	281	0.063	0.041
33	20.342	30020	900	0.294	0.131
34	21.109	2038319	81728	19.940	11.922
35	23.099	2203273	95783	21.554	13.973
36	24.664	191352	7729	1.872	1.127
37	25.513	4604	224	0.045	0.033
38	25.991	22521	799	0.220	0.117
39	26.657	4090	176	0.040	0.026
40	27.363	18326	715	0.179	0.104
41	27.967	33378	1018	0.327	0.148
42	28.557	10856	541	0.106	0.079
43	29.205	119485	5049	1.169	0.737
44	29.822	1241857	47170	12.149	6.881
45	30.444	221920	7340	2.171	1.071
46	32.191	46815	933	0.458	0.136
47	33.192	20910	781	0.205	0.114
48	33.394	19914	786	0.195	0.115
49	34.224	24460	959	0.239	0.140
50	34.954	51245	1317	0.501	0.192
51	35.779	151333	6509	1.480	0.949
52	36.353	37826	1988	0.370	0.290
53	36.692	61454	1944	0.601	0.284
54	38.988	6210	215	0.061	0.031
55	40.205	5642	169	0.055	0.025
56	42.817	101780	2900	0.996	0.423
57	43.131	213009	9058	2.084	1.321
58	44.000	383853	4866	3.755	0.710
59	45.378	122698	2493	1.200	0.364
60	48.002	1932	91	0.019	0.013
Total		10222262	685499	100.000	100.000

الملحق 03:

جدول المركبات الفينولية المرجعية

المركب	Tr	المعادلة	R^2
Gallic acid	5.29	Y=54681x	R2=0.9956
Chlorogenic acid	13.392	Y=21665x	R2=0.9853
Vanilic acid	15.531	Y=65077x	R2=0.9921
Caffiec acid	16.277	Y=84066x	R2=0.9974
Vanilin	21.46	Y=58930x	R2=0.9966
p-Coumaric acid	23.817	Y=46495x	R2=0.9961
Rutin	28.37	Y=28144x	R2=0.9869
Narginig	34.788	Y=19379x	R2=0.9968
Quercetin	45.047	Y=45378x	R2=0.9962

الملحق 04:

الأجهزة المستعملة

- ✓ **جهاز المعقمة (Autoclave)**

✓ **جهاز الحاضنة (Etuve)**

✓ جهاز UV-Visible

✓ **جهاز التبخير الدوار**