رقم الترتيب:
رقم التسلسل:

وزراء التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمّه لخضر بالوادي

كــلية العلــوم الــدقيقــة

مذكرة تخرج لنيل شهادة

ماستر أكاديمي

قسم: الكيمياء

شعبة: الكيمياء

تخصص: كيمياء عضوية تحليلية

من إعداد الطالب: **كركوبي محمد**

بعنوان:

دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص المائي و الإيثانولي لقشور الرمان الحلو و الحامض

سلمت يوم: 2016/05/19

أعضاء لجنة المناقشة:

تجاني سكينة	أستاذة مساعدة (أ)	جامعة الشهيد حمّه لخضر بالوادي	رئيسا
زيدان محمد	أستـاذ مساعد(أ)	جامعة الشهيد حمّه لخضر بالوادي	مؤطرا
تامة نور الدين	أستاذ مساعد (أ)	جامعة الشهيد حمّه لخضر بالوادي	مناقشا
عطية جمال	أستاذة مساعدة(أ)	جامعة الشهيد حمّه لخضر بالوادي	مناقشا

الموسم الجامعي: 2016/2015

الإهداء

اهدي ثمرة جهدي:

إلى التي على بساط الأوجاع ولدتني و بأيدي الآلام ربتني و بعيون التعب رعتني و بصدر المشقات حمتني، إلى أغلى إنسانة في الكون وأجمل ابتسامة في الحياة، إلى أعذب صوت في الدنيا، إلى من كان دعائها سر نجاحي و حنانها بلسم جراحي إلى من بوجودها اكتسب قوة و محبة لا حدود لها

"إليك أمي"

إلى من كلله الله بالهيبة و الوقار، إلى من علمني العطاء دون انتظار، إلى من احمل اسمه بكل افتخار، ارجو من الله ان يمد في عمرك لترى ثمارا قد حان قطافها بعد طول انتظار و ستبقى كلمتك نجوم أهتدي بها اليوم، غدا و إلى الأبد

"إليك أبي"

إلى من يطيب لي معهم همي و تعبي و يسري في عروقهم دمي إلى رفقاء دربي الذين كونوا شجرة الأخوة التي قطفت منها ثمار الحب الخالص، إلى من زرعوا الأمل و رسموا الابتسامة على وجهي، إلى من أحبهم دوما إخواني و أخواتي الاعزاء.

إلى الذي كان لي خير صاحب، رفيقي و صديقي "حسن بن عمارة" إلى كل من علمني حرفا و وهبني معلومة أساتذتي الكرام.

إلى كل من عرفوني و عرفتهم فأحبوني و أحببتهم

إلى أعز صديق و نعم الخليل "بورزمة ابراهيم"

إلى كل الأصدقاء و الزملاء و الأحباب: بلقاسم، اسماعيل، سليم، حمزة، شعيب، طارق، عبد الطيف

إلى جميع زملائي في الدراسة خاصة طلبة السنة ثانية ماستر كيمياء

إلى كل من تسعهم ذاكرتي و لا تسعهم مذكرتي.

إلى كل من تصفح هذه المذكرة يوما ما أهدي إليه ثمرة جهدي.

شكر و عرفان

الحمد لله العلي القدير نحمده و نستعين به و نشكره على الهداية لطريق الخير و الصواب و العلم و السعي إلى المعرفة و التطلع إلى المستقبل و نصلي و نسلم على صفوة خلقه و على أله و صحبه و على من اهتدى بهديه إلى يوم الدين عملا.

بقوله صلى الله عليه و سلم "لا يشكر الله من لا يشكر الناس"

الشكر لله ربي المعين الذي و فقنا لإتمام هذا العمل المتواضع و ما كنا لنصل لولا فضله علينا.

و عملا بقول نبيه صلى الله عليه و سلم " من صنع إليكم معروفا فكافئوه، فإن لم تجدو ما تكافئوه به، فأدعوا له حتى ترو أن قد كافأتموه "

واعترافنا بالفضل نتقدم بأسمى عبارات التقدير و العرفان إلى الأستاذ " زيدان محمد " الذي ساعدنا في انجاز هذا العمل، فندعو الله ان ييسر له بعمله طريقا للجنة.

كما نتقدم بالشكر لرئيس لجنة المناقشة الأستاذة " تجاني سكينة " بالإضافة إلى الأستاذين: " تامة نور الدين" و" عطية جمال " على قبولهما مناقشة و إثراء هذه المذكرة.

و كذلك نشكر كل من ساعد على إتمام هذا البحث و قدم لنا العون و مد لنا يد المساعدة و زودنا بالمعلومات اللازمة للإتمام هذا البحث

خاصة أعضاء مخبر الكيمياء: علي، كريمة، جميلة، حفيظة

و من ساعدنا في المراجع الأجنبية : Giovanni & Sygrid

و نشكر كل الزملاء و الزميلات الذين شجعونا و لو بالكلمة الطيبة

"إنّي رأيتُ أنّه ما كَتَبَ أحَدُهُم في يَومِهِ كِتاباً إلا قالَ في غَدِهِ، لوغُيّرَ هذا لَكانَ أَحسن ولَو زُيِّدَ ذاكَ لَكانَ يُستَحسن، ولَو قُدِّمَ هذا لكانَ أفضل، ولو تُرِكَ ذاكَ لَكانَ أجمل،

وهذا مِن أعظَمِ العِبر، وهو دَليلٌ على استيلاءِ النّقْصِ على جُملَةِ البَشر".

العماد الأصفهاني

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى اختبار الفعالية البيولوجية لمستخلصات قشور ثمار الرمان Punica granatum.L.

لتحقيق هذا الهدف قمنا بحصر كيميائي أولي لمواد الأيض الثانوي في مختلف المستخلصات الإيثانولي، مزيج (إيثانول + ماء) و المستخلص المائي لإجراء الفعالية المضادة للبكتيريا المستخلصة من قشور ثمار الرمان الحلو و الحامض.

توصلنا من خلال هذه الدراسة إلى أن قشور ثمار الرمان غنية بمواد الأيض الثانوي والمتمثلة في عديدات الفينول و الفلافونيدات

أما عن الفعالية التثبيطية للبكتيريا، فوجدنا السلالات البكتيرية كانت حساسة لمختلف المستخلصات لكن المستخلص المائي كان الأكثر مردود، حيث قدر ب 38.32 % بينما المستخلص الأكثر فعالية ضد البكتيريا كان المستخلص الإيثانولي و كان قطر التثبيط 19 ملم عند البكتيريا P.aerogenosa ، و يمكن ملاحظة أن قشور الرمان الحامض اكثر فعالية ضد البكتيريا من قشور الرمان الحلو

الكلمات المفتاحية: مستخلصات قشور الرمان، الأيض الثانوي، السلالات البكتيرية

قـائـمـة الـجـداول

الرقم	الـــعـــنـــــــوان	الصفحة
01	تصنيف نبات الرمان: Punica granatum L من قبل العالم Linné	05
02	القيمة الغذائية لعصير نبات الرمان	10
03	التركيب الكيميائي لمختلف أجزاء نبات الرمان	11
04	دور الفلافونويدات عند النبات	18
05	بعض من أقسام القلويدات	20
06	أقسام الصابونيات	25
07	أقسام التانينات	30
08	تصنيف البكتيريا E.Coli	37
09	تصنيف البكتيريا العنقودية Staphylococcus aureus	38
10	تصنيف البكتيريا العنقودية *Pseudomonas aeruginosa*	39
11	أنواع البكتيريا المدروسة	44
12	نسبة المردودية الإنتاجية لكل المستخلصات	48
13	أقطار مناطق التثبيط (ملم) لمستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحامض	54
14	أقطار مناطق التثبيط (ملم) لمستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحلو	56
15	أقطار مناطق التثبيط (ملم) للمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحامض	58
16	أقطار مناطق التثبيط (ملم) للمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحلو	59
17	أقطار مناطق التثبيط (ملم) للمستخلص المائي لقشور الرمان الحامض	61
18	أقطار مناطق التثبيط (ملم) للمستخلص المائي لقشور الرمان الحلو	63
19	أقطار مناطق تثبيط(ملم) للمضادات الحيوية على نمو السلالات البكتيرية المختبرة	65

قـائـمـة الأشـكال

الرقم	الـعـنـاويـن	الصفحة
1	شجرة نبات الرمان .Punica granatum L	6
2	أوراق نبات الرمان .Punica granatum L	7
3	زهرة نبات الرمان .Punica granatum L	7
4	بذور نبات الرمان .Punica granatum L	8
5	ثمرة نبات الرمان .Punica granatum L	8
6	أجزاء نبات الرمان .Punica granatum L	9
7	الهيكل القاعدي للفلافونويدات	15
8	الهياكل الأساسية لمختلف الفلافونيدات	17
9	بنية بعض الزيوت الاساسية	23
10	الصيغة الكيميائية ل Rutine	27
11	البنية الكيميائية لمركب Catechol و Pyrogallole	29
12	تركيب الخلية البكتيرية	34
13	صورة بالمجهر الإلكتروني لبكتيريا Escherichia coli	37
14	صورة بالمجهر الإلكتروني لبكتيريا Staphylococcus aureus	38
15	صورة بالمجهر الإلكتروني لبكتيريا Pseudomonas aeruginosa	39
16	اعمد بيانية تمثل مردود المستخلصات (%) المستعملة لدراسة الفعالية البيولوجية	48
17	منحنى عيارية لحمض الغاليك للمستخلص الإيثانولي	49
18	منحنى عيارية لحمض الغاليك للمستخلص المائي	50
19	منحنى عيارية لحمض الغاليك للمستخلص(الإيثانول +ماء)	50
21	منحنى عيارية للمركب الكرستين للمستخلص الإيثانولي	52

22	منحنى عيارية للمركب الكرستين للمستخلص المائي	52
23	منحنى عيارية للمركب الكرستين للمستخلص(الإيثانول +ماء).	53
24	كمية الفلافونيدات بالملغ مكافئ للكرستين/ غ من وزن المستخلص. (mg QE/g Extract)	53
25	أقطار مناطق التثبيط (ملم) لمستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحامض	55
26	أعمدة بيانية توضح أقطار التثبيط لمستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحامض	55
27	أقطار مناطق التثبيط (ملم) لمستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحلو	56
28	أعمدة بيانية توضح أقطار التثبيط لمستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحلو	57
29	أقطار مناطق التثبيط (ملم) للمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحامض	58
30	أعمدة بيانية توضح أقطار التثبيط للمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحامض	58
31	أقطار مناطق التثبيط (ملم) للمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحلو	60
32	أعمدة بيانية توضح أقطار التثبيط للمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحلو	60
33	أقطار مناطق التثبيط (ملم) للمستخلص المائي لقشور الرمان الحامض	61
34	أعمدة بيانية توضح أقطار التثبيط للمستخلص المائي لقشور الرمان الحامض	62
35	أقطار مناطق التثبيط (ملم) للمستخلص المائي لقشور الرمان الحلو	63
36	أعمدة بيانية توضح أقطار التثبيط للمستخلص المائي لقشور الرمان الحلو	63
37	مقارنة أقطار التثبيط للمستخلص عند التركيز100%	65
38	أعمدة بيانية توضح أقطار التثبيط للمضادات الحيوية	66

AGE: Acide Gallique Equivalent

QE: Quercetin Equivalent

DMSO : dimethyl solphoxide

MH: Muler Hinton

***E.coli*:** *Escherichia coli*

***S. aureus*:** *Staphylococcus aureus*

P. aerogenosa: *Pseudomonas aerogenosa*

R:rendement

T:température

FeCl3: Chlorure de fer

ATCC: American Type Culture Collection

UV: Ultra Violets

nm: nanometer

G . + : Gram positive

G - : Gram nigative**.**

AND: Acide désoxyribonucléique

g: Gramme

mg : Milligramme

ml: Millilitre

µl: microlitre

%: نسبة مئوية

م°: درجة مئوية

ملم: وحدة الميليميتر

مل: الميلليليتر

سم: السنتيميتر

غ: غرام

سا: ساعة

فهرس المحتويات

فهرس المحتويات	
فهرس الأشكال	
فهرس الجداول	
قائمة الاختصارات	
مقدمة	
الجزء النظري	
الفصل الأول دراسة نباتية حول نبات الرمان Punicagranatum L	
دراسة نباتية حول نبات الرمان *Punica granatum*	5
1. .نبذة تاريخية عن نبات الرمان Punica granatum .L	5
2. التصنيف النباتي لنبات الرمان Punica granatum .L	5
3. الأسماء الشائعة لنبات الرمان Punica granatum .L	6
4. الوصف النباتي لنبات الرمان Punica granatum .L	6
5. التوزيع الجغرافي لنبات الرمان Punica granatum. L	9
6. المكانة الاقتصادية لنبات الرمان Punica granatum .L	9
7. القيمة الغذائية لنبات الرمان Punica granatum .L	10
8. التركيب الكيميائي لنبات الرمان Punica granatum .L	10
9. الاستعمالات الطبية لنبات الرمان Punica granatum .L	11
10. الفعالية العلاجية لنبات الرمان Punica granatum .L	12
1.10 مضاد الالتهاب	12
2.10 مضاد للسرطان	12
الفصل الثاني دراسة كيميائية: دراسة كيميائية	
1. تعريف المنتجات الطبيعية الفعالة	14
1.1. الأيض الأولي Métabolites Primaires	14
2.1. الأيض الثانوي Métabolites Secondaires	14
2. الفلافونويدات	15
1.2 تعريف الفلافونويدات	15

3.2 أهمية الفلافونيدات البيولوجية	18
3 القلويدات	18
1.3 تعريف القلويدات	18
2.3 تصنيف القلويدات	20
3.3 دور وأهمية القلويدات البيولوجية	21
4 الزيوت الطيارة	22
1.4 تعريف الزيوت الطيارة	22
2.4 دور وأهمية الزيوت الطيارة البيولوجية	23
5 الصابونيات	24
1.5 تعريف الصابونيات	24
2.5 تصنيف الصابونيات	25
3.5 دور الصابونيات البيولوجية	25
6 Triterpen التربينات الثلاثية	25
1.6 تعريف التربينات الثلاثية	25
2.6 تصنيف التربينات الثلاثية	26
3.6 دور واهمية الرتبينات الثلاثية البيولوجية	26
7 الجليكوزيدات Glycosides	27
1.7 تعريف الجليكوزيدات	27
2.7 أهمية ودور الجليكوزيدات البيولوجية	28
8 التانينانات	29
1.8 تعريف التانينات	29
2.8 تواجد وانتشار التانينات	29
3.8 خواص التانينات	30
4.8 تصنيف التانينات	30
5.8 دور واهمية التانينات البيولوجية	31
الفصل الثالث : دراسة بيولوجية	
1. الفعالية المضادة للبكتيريا	33
2. تعريف البكتيريا	33

3. بنية البكتيريا	34
4. تصنيف البكتيريا	35
1.4. من حيث توزيع أسواطه	35
2.4. من حيث الشكل	35
3.4. من حيث الوسط الذي تعيش فيه	35
4.4. من حيث التغذية	36
5.4. من حيث طريقة التلوين	36
6.4. من حيث الأثر على الانسان	36
5. البكتيريا المستعملة في الدراسة	37
1.5. البكتيريا Escherichia Colie	37
2.5. البكتيريا Staphylococcus aureu	38
3.5. البكتيريا Pseudomonas aeruginosa	39
الجزء التطبيقي	
الفصل الأول: المواد وطرق البحث	
1. تحضير المادة النباتية المدروسة	42
2. تحضير المستخلصات المستعملة في دراسة الفاعلية البيولوجية	42
1.2 تحضير المستخلص المائي بالنقع(macération)	42
2.2 تحضير المستخلص الإيثانولي بالغليان(décoction)	42
3.2 تحضير مستخلص مزيج من الماء و الإيثانول بالنقع(macération)	43
3 تقدير المركبات الفينولية و الفلافونيدية للمستخلصات	43
3. 1 تقدير المركبات الفينولية الكلية	43
2.3 التقدير الكمي للفلافونيدات	44
4 دراسة الفعالية ضد البكتيريا للمستخلصات	44
1.4 تحضير التخفيفات المختلفة لكل مستخلص	44
2.4 اختبار الفعالية ضد البكتيريا للمستخلصات بطريقة اختبار الحساسية بالأقراص	45
1.2.4 تنمية مزارع بكتيرية حديثة	45
2.2.4 تحضير أوساط الزرع	45

3.2.4 تحضير المعلق البكتيري	45
4.2.4 تطبيق الأقراص	45
الفصل الثاني : النتائج والمناقشة	
1 حساب مردود المستخلصات	48
2 تقدير المركبات الفينولية و الفلافونيدية لمستخلصات	49
1.2 تقدير المركبات الفينولية الكلية	49
2.2 تقدير المركبات الفلافونيدية	52
3 دراسة الفعالية ضد البكتيريا للمستخلصات	54
1.3 مستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحامض	54
2.3 مستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحلو	56
3.3 المستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحامض	58
4.3 المستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحلو	59
5.3 المستخلص المائي لقشور الرمان الحامض	61
6.3 المستخلص المائي لقشور الرمان الحلو	62
4 مقارنة المستخلصات السابقة	65
5 نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية	65
خاتمـــــة	68

مقدمة

مقدمـــــــــــة

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

و قد عرف العالم Dragendroff أن "كل شيء من أصل نباتي يستعمل طبيا فهو نبات طبي" [1] و من النباتات الطبية التي جرى تداولها منذ عصور عابرة نبات الرمان Punica granatum L الذي ينتمي إلى العائلة Punicaceae، و يعتقد أن شجرة الرمان نشأت في إيران و شمال غرب الهند و منها انتشرت من أزمان بعيدة إلى كل دول حوض البحر المتوسط.[2]

و خلال السنوات السبع الأولى في هذا القرن تضاعف عدد البحوث المنشورة حول هذه الفاكهة مما يوحي بأهميتها و دورها في تغذية الإنسان و صحته. و هذا لاحتوائها على العديد من المركبات الفعالة و أهمها التانينات و القلويدات و البولي فينول مثل الأنثوسيانين، التربينات الفلافونويدات الصابونيات، الستيرويدات، الجليكوزيدات و كذلك تحتوي على أحماض أمينية.[3]

و نظرا للأهمية النباتية الطبية اعطت منظمة الصحة العالمية أهمية كبيرة في توسيع استعمال الأدوية من المصادر النباتية بدلا من الأدوية الكيميائية المصنعة ، فكانت الدراسات التي قام بها العديد من الباحثين في المراكز البحثية، كشف النقاب عن الأهمية الكبيرة لبعض المستخلصات النباتية و أعطت للمهتمين فرصا تم من خلالها التعرف على الكثير من التركيبات الكيميائية ذات الفعالية الطبية، فقد تناولت الكثير من الدراسات تأثير المستخلصات النباتية على نمو الأحياء المجهرية، و بالتالي إمكانية استخدامها في علاج بعض الأمراض الناتجة عن الإصابات الميكروبية المختلفة.

ولو أمعنا النظر في استعمالات الرمان، لوجدنا أنه ذو فعالية عظمى حيث يستخدم غي علاج ألام البطن و الإسهال لاحتوائه على مواد دابغة للمعدة، و جسم الثمرة مقوي للقلب و المعدة و البذور مفيدة لاضطرابات الجهاز الهضمي أما عصير الثمرة مفيد لتخفيف آلام الأسنان وتخفيف حرارة الجسم. [4]،[5]

من هنا تبادرا إلى اذهاننا العديد من الأسئلة من بينها ما هو التأثير البيولوجي لقشور الرمان؟ و هل هناك فرق بين الرمان الحلو و الحامض؟ و إلى ما يعزى هذا التأثير؟ هل لمستخلصات قشور الرمان تأثير على نمو الأحياء المجهرية؟

بحثنا عن اجابة لكل هذه التساؤلات ارتأينا في هذا العمل أن نتعرف على التأثير البيولوجي لمستخلصات قشور الرمان الحلو و الحامض و منه قسمنا البحث إلى جزئيين

- جزء نظري.

- جزء عملي.

في الجزء النظري : قسم إلى ثلاث فصول.

- الفصل الأول :شمل عموميات حول نبات الرمان
- الفصل الثاني: شمل دراسة كيميائية حول مواد الأيض الثانوية.
- الفصل الثالث: شمل دراسة بيولوجية و كذا عموميات حول السلالات البكتيرية المدروسة

أما في الجزء العملي فقد شمل فصلين

- الفصل الأول: الطرق و مواد البحث.
- الفصل الثاني: النتائج و المناقشة.

الجزء النظري

الفصل الأول

دراسة نباتية

دراسة نباتية حول نبات الرمان : *Punica granatum*

1. نبذة تاريخية عن نبات الرمان : Punica granatum L

من نباتات العائلة الرمانية التي عرفت منذ عهد قدماء المصريين وهي قديمة العهد جدا في مصر، وعرفه القدماء باسم أرهماني ومنها اشتق الاسم القبطي ارمين أو رمن الذي اشتق من الاسم العبري رمون والعربي رمان. تمت زراعة الرمان منذ العصور القديمة لثمارها الصالحة للأكل وأزهارها الكبيرة المستعملة في الزينة، وكان يعرف من قديم الزمان عند الشعوب المصرية، الفينيقية، الرومانية واليونانية[1]. ينتمي الرمان الى عائلة الرومانية punicaceae والجنس Punica وهو الوحيد في العائلة ويضم نوعين نباتيين الأول Punica granatum والثاني هو Punica protopunica [2].

2. التصنيف النباتي لنبات الرمان . Punica granatum L

تم تصنيف نبات الرمان .Punica granatum في سنة 1753 م من قبل العالم Linné كما هو موضح في الجدول (1):

Régne : plantae	المملكة : النباتية
Embranche : Spermaphytes	شعبة : النباتات البذورية
Sous-embranche : Angoispermes	تحت الشعبة : كاسيات البذور
Classe : Magnoliopsida	صنف : ثنائيات الفلقة
Ordre : Myrtales	رتبة : الأسية
***Famille** : Punicaceae*	العائلة : الرمانية
***Genre** : Punica*	جنس : الرمان
***Espèce** : Punica granatum L.*	نوع : الرمان المثمر

الجدول1 : تصنيف نبات الرمان: *Punica granatum L* من قبل العالم Linné [9]

3. الأسماء الشائعة لنبات الرمان .Punica granatum L

الاسم العلمي :*Punica granatum* L.

الاسم الفرنسي : *Grenadier*

الاسم الإنجليزي : *Pomegranate*

الاسم العربي : الرمان (*Romane*)

الشكل1: شجرة نبات الرمان *Punica granatum L.* [9]

4. الوصف النباتي لنبات الرمان .Punica granatum L

شجرة صغيرة أو شجيرة متساقطة الأوراق في المناطق الصحراوية الجافة. ونصف متساقطة في المناطق الساحلية، والرمان كثير التفرعات الجذرية (السرطانات)، والأفرع أسطوانية ملساء ضاربة للسمرة مرنة وتتحول بعض الفريعات الجانبية إلى أشواك قصيرة . عادة يصل ارتفاع الشجرة إلى أمتار حيث يتراوح ما بين 4 – 5 متر ولو أنها من الممكن أن يزيد ارتفاعها كثيرا عن ذلك، تميل الأغصان إلى الخارج من ثقل الثمار، حيث تتهدل وتتدلى على الأرض. [12]

- **الورقة**

ورقة الرمان رمحيه، ضيقة ومتطاولة، لامعة من السطح العلوي ملساء تكون متقابلة على الافرع وطولها يتراوح ما بين 3 إلى 7 سم وعرضها 2 سم [13]

الشكل2: أوراق نبات الرمان *Punica granatum. L* [6]

- **الزهرة**

الأزهار حمراء كبيرة الحجم تتكون من كأس لحمي ملتحم السبلات، ويتكون التويج من 5 – 8 بتلات حمراء غالبا سائبة وتخرج الأسدية من السطح الداخلي للتخت الذي يمتد إلى أعلى المبيض والتخت أحمر اللون مثل السبلات والبتلات، والميسم مطمور بين الأسدية وهي صغيرة ذات لون أخضر، المبيض صغير يتركب من طبقتين مفصولتين بغشاء شفاف وكل طبقة تتألف من عدة حجيرات عددها خمسة في أحد الطبقتين وثلاثة في الطبقة الأخرى وتتصل هذه المساكن بأغشية رقيقة شفافة وبكل حجرة بروز عبارة عن جزء من جدار المبيض تلتصق به المشيمة[12] .

الشكل3: زهرة نبات الرمان *Punica granatum. L* [6]

- **البذور**

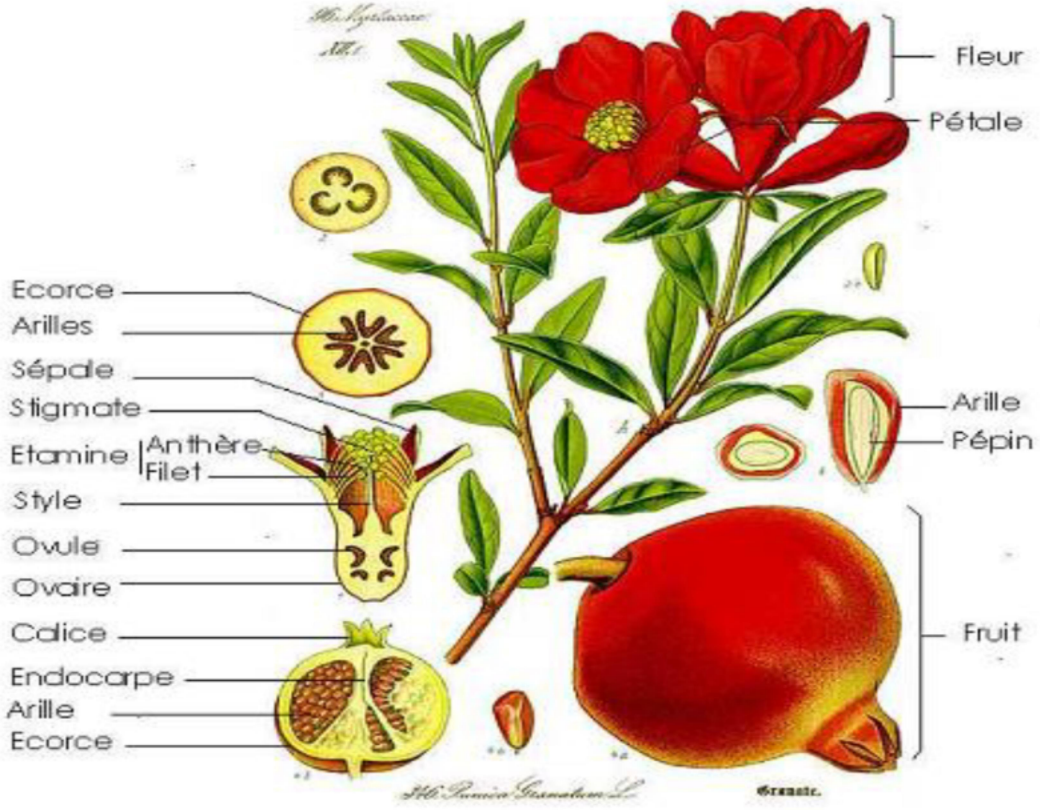
البذور مضلعة، قشرتها الخارجية عبارة عن طبقة جيلاتينية رقيقة (عصير سكري أو حامضي حسب الأصناف النباتية)، يوجد بداخلها العصير يتفاوت لونه من الأبيض إلى المصفر إلى القرمزي وغلاف الثمرة داكن وذلك يختلف حسب الصنف، الطبقة الداخلية من القشر الخارجية جلدية قرنية يوجد بداخلها الجنين [6]

الشكل4: بذور نبات الرمان *Punica granatum. L*

- **الثمار**

غلاف الثمرة عبارة عن أنبوبة الكأس التي نمت بداخلها المبيض وقمة الثمار عبارة عن سبلات نفسها وبداخلها الأسدية ويختلف لون القشرة من ابيض مصفر أو مخضر إلى قرمزي داكن حتى الأسود حسب الأصناف [6] .

الشكل5: ثمرة نبات الرمان *Punica granatum. L.* [6]



الشكل6: أجزاء نبات الرمان *Punica granatum .L* [6]

5. التوزيع الجغرافي لنبات الرمان *Punica granatum .L*

تنتشر زراعة الرمان وتزدهر في المناطق شبه المدارية من العالم، بين خطي عرض 410 شمالا و 410 جنوبا ، وتستطيع أشجار الرمان أن تنمو على ارتفاعات كبيرة من سطح البحر تصل إلى 2300م كما تنمو في بعض المناطق الساحلية، والدافئة. [2]

6. المكانة الاقتصادية لنبات الرمان *Punica granatum. L*

تتصدر إيران قائمة الدول المنتجة للرمان في العالم إذ تنتج ما يقارب 670 ألف طن تأتي بعدها تركيا، الهند، سورية، تونس واسبانيا. [2]

وتبعا لإحصائيات مديرية الفلاحة لولاية الوادي بلغ مردود الرمان المنتجة عام 2014/2013 حوالي 225 قنطار/هكتار، أما مردود الرمان المزروعة 227 قنطار/هكتار وجملة الإنتاج 11225 قنطار/هكتار (إحصائيات مديرية الفلاحة لولاية الوادي 2014).

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

تبلغ نسبة البذور 70% من وزن الثمرة ويعطي كل 100 غرام من العصير حوالي 63-87 سعرة حرارية ، ويحتوي عصير الرمان على نسبة عالية من السكريات 16-18 % أما البروتين فيكون حوالي 0.5 – 1 %، وهو فقير من الدهون 0.3 – 0.5 % ، وتصل نسبة الألياف الى حوالي 1 % كما أن العصير غني بعناصر هامة كالبوتاسيوم، الحديد والفوسفور، حيث يحتوي على كميات لا بأس بها من فيتامين ب، ج (100 سم3 عصير يمد الجسم حوالي 10 % من احتياجاته اليومية من فيتامين ج، 8% من فيتامين ب، 6% من البوتاسيوم) ، كم يحتوي عصير الرمان على مواد مضادة للأكسدة تعادل ثلاثة أضعاف الموجودة بالشاي الأخضر، وساعد العصير في علاج التهابات الحنجرة، وآلام الروماتيزم[4].

العناصر الغذائية	النسبة
البذور	% 70
السكريات	% 18 - 16
فيتامين ج	% 10
البوتاسيوم	% 6
الفيتامين ب	% 8
الألياف	% 1
البروتين	% 1 – 0.5
دهون	% 0.5 – 0.3
الحديد والفوسفور	نسبة معتبرة

الجدول 2 : القيمة الغذائية لعصير نبات الرمان (لكل 100 غ من العصير حوالي 63 – 87 سعرة حراري)[7].

8. التركيب الكيميائي لنبات الرمان *Punica granatum .L*

لعل أبرز ما يميز نبات الرمان، والعامل الذي استدعى انتباه العلماء والباحثين احتواءه على العديد من المركبات النباتية الطبيعية ذات التأثيرات الصحية النافعة Bioactive functional compounds ، والتي تم تحديد وتقدير العشرات منها في مختلف مكونات الرمان كالعصير والورق والقشور. وتتميز الكثير من هذه المركبات بخاصية القدرة على منع التأكسد ومقاومة الجذور الحرة، التي تقوم بالدور الأهم في تطور الكثير من الأمراض الخطيرة، كالسرطان وانسداد الشرايين، ويتميز ثمر الرمان، وعصيره باحتوائها على النصيب الأوفى والحظ الأوفر من المركبات النباتية والعناصر الغذائية، مما يجعله الأكثر

أهمية من الناحية التغذوية والعلاجية، حيث تم تحديد وتقدير حوالي ثلاثين من هذه المركبات، والتي تشمل متعدد الفينولات polyphenols ومنها الأنثوسيانيدينات Anthocyanidins، التانينات Tannis، الفلافونويدات Flavonoids فضلا عن الأحماض العضوية Organig acids الكثيرة مثل أحماض الفيوماريك fumaric، الخليك Acetic والماليك Malik، الترتريك Tartaric وأخيرا حمض الإلاجيك Ellagic الأكثر أهمية حتى الآن من الناحية الصحية والوظيفية ، والجدول التالي يوضح تركيب الكيميائي لمختلف أجزاء نبات الرمان (ben Abdennebi).

الجزء الثمرة	التركيب الكيميائي
عصير البذرة	الأنثوسيانين، غليكوز، حمض الأسكوربيك، حمض الإيلاجيك، حمض القاليك، كاتشين، معادن وأحماض أمينية.
زيت البذرة	95 % زيت البينيك، حمض الإيلاجيك وأحماض أخرى دهنية وإستيرول.
قشرة الثمرة	أحماض دهنية، فلافونول، فلافون، أنثوسيانيدين، التربينات، الفلافونويدات، الصبونيات، الستيرويدات، الجليكوزيدات والتانيات.
الأوراق	التانينات والفلافونويدات السكرية.
الأزهار	حمض القاليك، ثلاثي التربان ومركبات أخرى.
الجذور	القلويدات، ثلاثي التربان.

الجدول 3 : التركيب الكيميائي لمختلف أجزاء نبات الرمان .[8]،[9]

9. الاستعمالات الطبية للرمان *Punica granatum. L*

بالنسبة للاستعمالات الشعبية الطبية للرمان، فقد استخدمت اجزاءه المختلفة، بما في ذلك الزهرة والثمرة والجدع لعلاج حالات مختلفة من أهمها:

- علاج اضطرابات الجهاز الهضمي، مثل علاج التقرحات وللقضاء على الديدان الشريطية.
- لتخفيف آلام الأسنان ولتخفيف حرارة الجسم .[10]
- من استعمالات الرمان الأخرى التقليل من آلام القدمين وتحفيز عمل المخ . [11]
- علاج أمراض البطن، والاسهال لاحتوائها على مواد دابغة للمعدة، وجسم الثمرة مقوي للقلب والمعدة والبذور مفيدة للمعدة .[4]

- أما عصير الثمرة فهو مرطب ومبرد والمواد الفعالة فيه تشمل القلويدا وأهمها pelleteine و granatin ومواد دباغية. [5]

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

استخدام الرمان لعدة قرون في الطب القديم، إذ يعتبر نبات الرمان صيدلية في حد ذاتها حيث ركزت الكثير من الدراسات، والأبحاث العلمية المخبرية والسريرية على اختبار قدرة مركبات الرمان سابقة الذكر على مقاومة أنواع من السرطانات، ومنع الالتهابات والتقليل من حدة بعض الأمراض المزمنة كالسكري، وقد استخدم الرمان ومنتجاته في تحضير الكثير من العلاجات الطبية لأمراض العين، والحساسية، تنظيف الفم، علاج أمراض القلب وتصلب الشرايين.

كما قام العلماء بدراسة واختبار أجزاء الرمان المختلفة ، والتي استخدمت في الطب الشعبي في علاج العديد من الأمراض، بغية تحديد المركبات المسؤولة عن تلك الخاصية العلاجية.

وقد ركزت معظم البحوث على الخصائص المضادة للأكسدة، المضادة للسرطان، المضادة للالتهاب والمضادة لمرض السكري[14]

1.10 مضاد الالتهاب

أظهرت الدراسات التي أجريت في الجسم الحي قدرة بعض المركبات الموجودة في الرمان على منع، وتثبيط إنزيمات الأكسدة الحلقية cyclooxygenase2 (cox-2)، الذي يؤثر بشكل مباشر في حصول الالتهابات من خلال قدرته على تحويل الأركيدونيك arachedonic acid الى مركبات البروستاجلاندين prostaglandins التي تتوسط بدورها في حصول الالتهاب، يستطيع زيت بذور الرمان على تثبيط 37 % من هذه الانزيمات. [15] ،[16]

2.10 مضاد للسرطان

أظهرت العديد من الدراسات المخبرية قدرة عصير ومستخلص الرمان على منع سرطان البروستات لدى الرجال، والحد من نمو سرطان الثدي، ذلك راجع لاحتواء الرمان على كميات وافرة من حمض acid Ellagic إذ أن هذا الحمض يتميز بقدرة فائقة على منع النمو السرطاني مثل سرطان الجلد والرئة، وثبت في دراسات عديدة أجريت على الفئران مقدرته على منع النمو السرطاني في كل من الكبد والمريء. ونظرا لقدرة هذا الحمض على تنشيط الإنزيمات المحطمة للسموم المسرطنات في الكبد والرئتين، مثل إنزيمات Quinone Reductase و Reduclase Glutathase .[17] ،[16]

الفصل الثاني

دراسة كيميائية

الدراسة الكيميائية

كثر الاهتمام بدراسة النبات الطبية، و الاستفادة منها في معالجة الأمراض المختلفة إذ تحتوي النباتات على عدد كبير جدا من المركبات الفعالة طبيا التي تعكس الامكانيات العلاجية الكبيرة لهذا النبات، فمن المعلوم أن لبعض العقاقير النباتية قدرة علاجية أكبر من تلك التي تملكها الأدوية المصنعة في معالجة بعض الأمراض [18] .

1. تعريف المنتجات الطبيعية الفعالة

المنتجات الطبيعية الفعالة هي مركبات عضوية من أصل طبيعي، فهي مواد أنتجتها الكائنات الحية، وأكثر هذه المكونات أهمية تلك التي تؤدي دورا في التفاعلات الأيضية، والتي يتم فصلها من الباتات والكائنات الحية الدقيقة. وهي جزيئات تنتج انطلاقا من عمليات الأيض، ونميز منها قسمين: أيض أولي و أيض ثانوي [19].

1.1 الأيض الأولي .Métabolites Primaires.

تتميز المنتجات الأولية بخاصيها الحيوية والضرورية لبقاء الخلية والجسم، فهي مركبات تدخل في التفاعلات الأولية، وتشير في الغالب الى العمليات الأيضية (Métabolites Primaires) التي تنتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة، والأحماض الأمينية، السكريات، الدهون والبروتين..[20]

2.1 الأيض الثانوي Métabolites Secondaires .

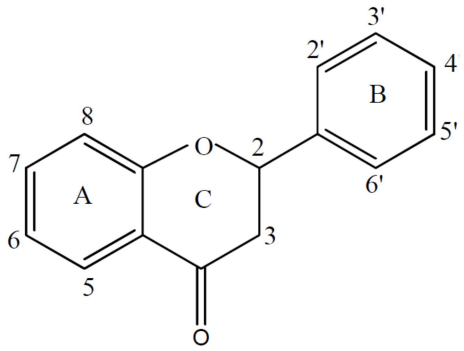
هناك العديد من المركبات التي تنتج في النبات يطلق عليها اسم المشتقات الثانوية لعمليات الأيض الثانوي، وتشمل كل من التربينات، الفينولات، القلويدات، وغيرها [19].

وهي جزيئات كبيرة العدد، لها شكل بنيوي غير عادي، ولها استعمالات دوائية عديدة، وتسمى بالمنتجات الطبيعية الفعالة، تعتبر مركبات الأيض الأولي المواد البدائية لها، ولهذا فهي تمثل مركبات الأيض الثانوي (Métabolites Secondaires)، وهناك ثلاثة مواد أولية رئيسية: حمض الشيكميك، الأسيتات والأحماض الأمينية، والتي تعتبر وحدات البناء للأيض الثانوي .[20]

2 الفلافونويدات

1.2 تعريف الفلافونيدات:

تمثل الفلافونيدات القسم الأكبر من الميتابوليزم الثانوي للنبات، وهي عبارة عن صبغات نباتية تنتشر في أجزاء النبات المختلفة ، تحوي جميع الفلافونيدات 15 ذرة كربون في هيكلها الأساسي موزعة على ثلاث حلقات C,B,A. إذ تتميز ببنية C_6-C_3-C_6 والفلافونيدات عموماً مركبات ملونة هي المسؤولة عن لون الإزهار والثمار والأوراق في النبات.[21]



الشكل7:الهيكل القاعدي للفلافونويدات [21]

2.2 تصنيف الفلافونيدات

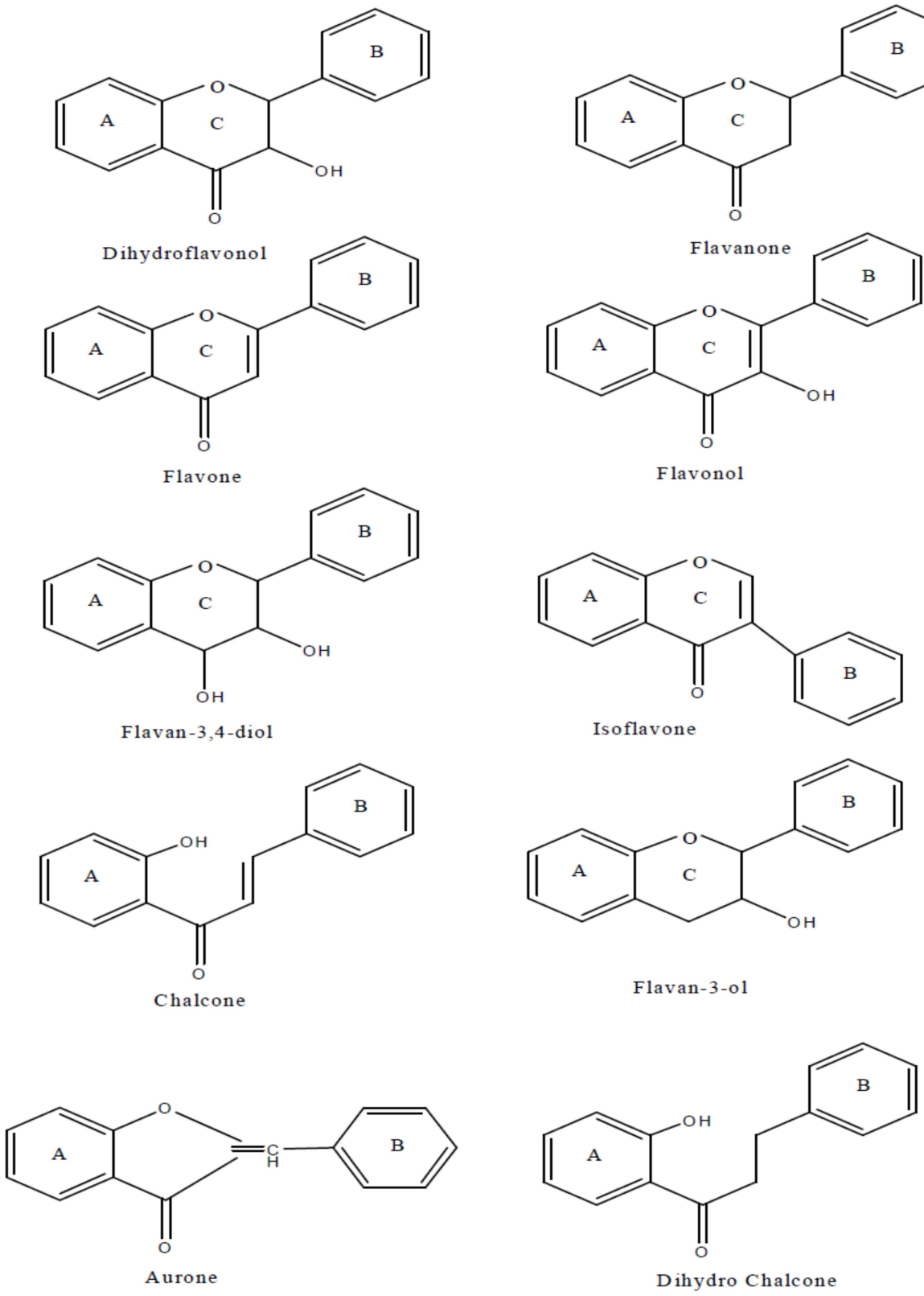
تتضمن الفلافونيدات مجموعات بديلة قد تكون مجموعات هيدروكسيل أو ميثوكسيل وقد توجد هذه

المجموعات على هيئة جليكوزيدات في صورة سكر أحادي أو ثنائي، أو قد يدخل في بناء المركب أكثر من مستبدل سكري، أغلب السكريات الأحادية المتوافرة في بناء الفلافونيدات هي (جلوكوز -جالاكتوز - أرابينوز - رامنوز- زيلوز) إذ يطلق على الفلافونيدات التي تحوي مجموعة أو أكثر من المجموعات آنفة الذكر على حلقات B,A أو إحداهما بالفلافونات، أما إذا وجدت مجموعة بديلة هيدروكسيلية حرة أو مستبدلة على الموضع رقم (3) لمركب فلافوني فعندئذ يطلق على المركب اسم فلافونول، إذا كانت الرابطة 2-3 في هيكل الفلافون مشبعة فيسمى المركب عندئذ فلافانون، كما أن هناك منتجات طبيعية وثيقة الصلة بالتركيب البنائي للفلافونات تسمى ايزوفلافونات وهي لا تختلف في بنائها عن الفلافونات إلاّ باختلاف ارتباط الحلقة B حيث توجد مرتبطة بالموضع (3) إلاّ أن هذه الأخيرة لا تنتشر بكثرة في الطبيعة بخلاف الفلافونات والفلافونولات التي توجد بشكل واسع. الشكل (1) يوضح بعض الأمثلة النموذجية لبناء الفلافونيدات.

تمثل الفلافونات والفلافونولات % 80 من الفلافونيدات، بالنسبة للحلقة A أكثر من % 90 تكون مستبدلة بواسطة مجموعات هيدروكسيل في الموضعين C-7,C-5 وقد تكون الهيدروكسيلات حرة أو ممثيلة أو مرتبطة بسكريات .

الحلقة B مستبدلة ب % 80 في الموضع '4 وقد تكون ثنائية الاستبدال في الموضعين '3, '4 وبنسبة أقل تكون ثلاثية الاستبدال في المواضع '5,'4,'3 وأغلب هذه المستبدلات هي OH و OCH .

أما بالنسبة للموضعين '6,'2 فنادراً ما تكون مستبدلة [21].



الشكل 8 : الهياكل الأساسية لمختلف الفلافونيدات

3.2 أهمية الفلافونيدات البيولوجية

- **دور الفلافونويدات عند النبات**

تلعب الفلافونويدات أدوارا عديدة في النبات نلخص بعضها في الجدول 5.

دورها في النبات	
الحماية ضدة الأشعة فوق البنفسجية	تتراكم الفلافونويدات في الطبقات السطحية للنبات، لتلتقط ما يصل إلى 90 % من الأشعة فوق البنفسجية، التي تصل إلى النبات، لمنع الآثار الضارة لهذه الإشعاعات على الأنسجة الدخلية.
طرد وجلب آكلات الأعشاب	بعض الفلافونيدات والتانينات تحمي النباتات من خلال الطعم المر، الشيء الذي يؤدي بآكلات الأعشاب إلى اختيار نباتات أخرى في حين بعض الفلافونيدات الأخرى تضفي لون، وعبيرا على النباتات
تنظيم نقل هرمون Auxine	وجد أن النباتات المشوهة لا تحتوى على أنزيم chalcone syntase الذي يشكل جزءا من مسار الاصطناع الحيوي للفلافونويدات، كما يعرف أن عدم انتظام النمو في النبات يرجع إلى وجود ضعف ففي نقل هرمون Auxine ولهذا السبب في عدم انتظام النمو هو عدم وجود الفلافونيدات.
إعطاء اللون للنبات	الفلافونويدات هي المركبات الملونة للازهار، على سبيل المثال الأزرق، والبرتقالي في الخضروات والفواكه، والانسجة المتراكمة في النباتات، وبذلك فإن لها دورا مهما في جذب الحشرات التي تساعد على عملية التلقيح، وتقل البذور فوق هذا تدخل الفلافونويدات، أيضا في عمليات التحسس للضوء نقل الطاقة وكذا في عمليات التمثيل الضوئي.

الجدول 4: دور الفلافونويدات عند النبات . [30]،[29]،[31]

- **فائدة الفلافونيدات عند الإنسان**

✓ تلعب الفلافونويدات دورا مهما في صحة الإنسان، وتملك فعاليات مفيدة واقية من الأمراض، حيث تتعلق الفعاليات البيولوجية للفلافونيدات، بصيغتها الكيميائية، ومواقع المستبدلات على هياكلها.[32]

✓ تحمي الفلافونويدات من اضرار الأكسدة الناتجة عن أشعة الفوق البنفسجية والتلوث البيئي عن طريق الحد من تفاعلات الجذور الحرة المسببة أضرار للأكسدة.[33]

✓ تقلل من خطر الإصابة بالسرطان و تمنع نمو الخلايا السرطانية كما تخفف أعراض الحساسية و التهاب المفاصل.[33]

✓ كما لها فعاليات بيولوجيا أخرى ظهرت نتيجة للعديد من الأبحاث منها:

- ✓ تقوي وتحسن أداء عضلة القلب وتقلل من مخاطر أمراض القلب. [34]،[35]
- ✓ تزيد من مقاومة انكسار الشعيرات الدموية وتمنع حدوث النزيف .[29]
- ✓ تحمي من الجلطات الدموية وتخفض نسبة الكلوسترول في الدم. [29]
- ✓ تحمي الغشاء المخاطي للجهاز الهضمي.[30]
- ✓ تقلل من حدوث مرض السكري.[36]
- ✓ مضادة للجراثيم والفيروسات خاصة الإيزوفلافون.[35]

3. القلويدات

1.3 تعريف القلويدات

أقترح مصطلح قلويد لأول مرة سنة 1818 م من طرف الباحث Meisser . تعتبر القلويدات أحد أهم المنتجات الطبيعية التي ينتجها النبات الطبي [65،43]

القلويدات هي قواعد أزوتية معقدة التركيب ذات أصل نباتي، تحتوي على عنصر النيتروجين

كعنصر أساسي مما يعطي الصفات القلوية لها [27]، معظم القلويدات يحتوي التركيب

البنائي لها على مجموعات فعالة بها ذرة الأوكسجين مثل المجموعة الهيدروكسيلية أو المجموعة الكيتونية، كما يحوي الكثير منها في البنية التركيبية على حلقة غير متجانسة أو أكثر[28]

قد يحتوي النبات أكثر من 100 من القلويدات المختلفة، إلا أن تركيزها لا يتجاوز 10 ٪ من

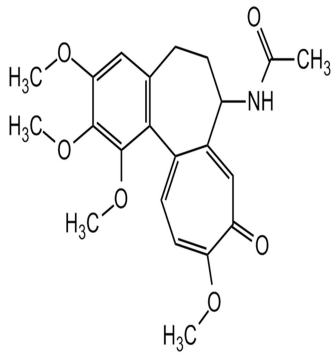
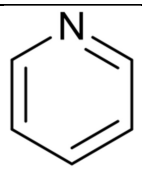
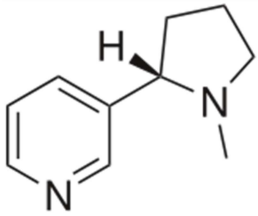
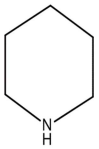
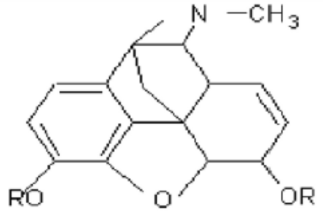
الوزن الجاف لنبات [27]. تنتشر هذه المركبات في أكثر من الاجناس المختلفة في فصائل نباتية مختلفة، ونادرا ما تتواجد القلويدات في النبات في الحالة الحرة بل في أغلب الحالات تكون مرتبطة بحمض عضوي أو في العفص (tanins)، ونسبة القلويدات في النبات تختلف، وعموما تكون ما بين 1 % و 3 %(من الوزن الجاف للنبات).[37]

تتراوح الكتلة المولية للقلويدات من 100 إلى 900 غرام/مول، حيث توجد بشكل أملاح في صورة بلورية صلبة، القلويدات مركبات قاعدية تعطي أملاح مع الأحماض وذوبانيتها في مختلف المذيبات تتغير بدلالة PH ، و حسب الحالة القاعدية (تذوب في المذيبات العضوية اللاقطبية، ولا تذوب في الماء و المذيبات العضوية القطبية)[38] .

اختلاف التركيب البنائي للقلويدات يجعل وجود مسار موحد لاصطناعها الحيوي مستبعدا لذلك إقترح العديد من الطرق التي يمكن أن تتكون بواسطتها هذه المركبات داخل المصدر الطبيعي.[39]

2.3 تصنيف القلويدات

تنقسم القلويدات عادة إلى مجموعات على اساس التركيب الكيميائي للحلقة الاساسية في الجزء القلويد.[40] وفيما يلي بعض هذه المجموعات ومميزاتها مع الأمثلة :

القسم	المميزات	النوع	مثال
مجموعة القلويدات متجانسة الحلقة **(Non Hétérocyclic)**	-لا تحتوي على مجموعة حلقية - بها ذرتين نيتروجين -عبارة عن مركبات مشتقة من فينيل إيثيل أمين Phenyl Ethyl Amine	القلويدات الأمينية Amino Alkaloids	
مجموعة القلويدات غير متجانسة الحلقة **(Heterocyclic)**	عبارة عن مركبات حلقية بداخلها ذرة من النيتروجين أو أكثر تبعا لنوع القلويد - تحتوي قلويداتها على عدة مجموعات حلقية أساسية غير متجانسة	بيريدين pyridine	
		نيكوتين nicotine	
		بيبريدين pipéridine	
		مورفين morphine	

الجدول 5 : بعض من أقسام القلويدات [41].

3.3 دور وأهمية القلويدات البيولوجية

تعتبر القلويدات كمربات الأيض الثانوي، إذ لها دور مهم في الدفاع عن آكلات الأعشاب عند النبات وتستعمل كذلك في مجال الصيدلة عند وتتلخص أدوارها فيما يلي :

- **دور القلويدات عند للنبات**

✓ القلويدات النباتية تلعب دورا بيولوجيا ونظاما هاما خلال فترات دورة الحياة النباتية المنتجة لهذه المنتجات الطبيعية المتميزة بالتأثيرات البيولوجية والأنشطة الفيسيولوجية متمثلا في الفعالية كمنظمات للنمو. [42]

✓ تعتبر كمواد مخزنة للنتروجين ولمواد أخرى التي يحتاجها النبات خلال مراحل النمو.[43]،[44]

✓ هي نواتج هدم أو نواتج نهاية لعملية التمثيل الآزوتي وتخزن في صور غير ضارة للنبات. [45]

- **فائدة القلويدات**

القلويدات لها العديد من الأدوار حسب.[38]،[46]

✓ مضادة لألم المفاصل مثل كولشين Colchicine .

✓ مسكنات : كالمورفين والكوديين.

✓ مثبطات السعال : كالكوديين.

✓ معالجة لمرض الزهايمر.

✓ مدر للبول، خافض للحرارة مثل مركب الهوردينين Hordenine الموجود في الشعير.

✓ تعلب دور ضد البكتيريا، الفيروسات والحساسية.

✓ وجود زيادة في مجاميع الهيدروكسيل ينتج عنه زيادة النشاط المضاد للأورام.

✓ الزيادة في عدد مجاميع الميتوكسيل ينتج عنه الزيادة في النشاط المضاد للسرطان.

4 الزيوت الطيارة

1.4 تعريف الزيوت الطيارة

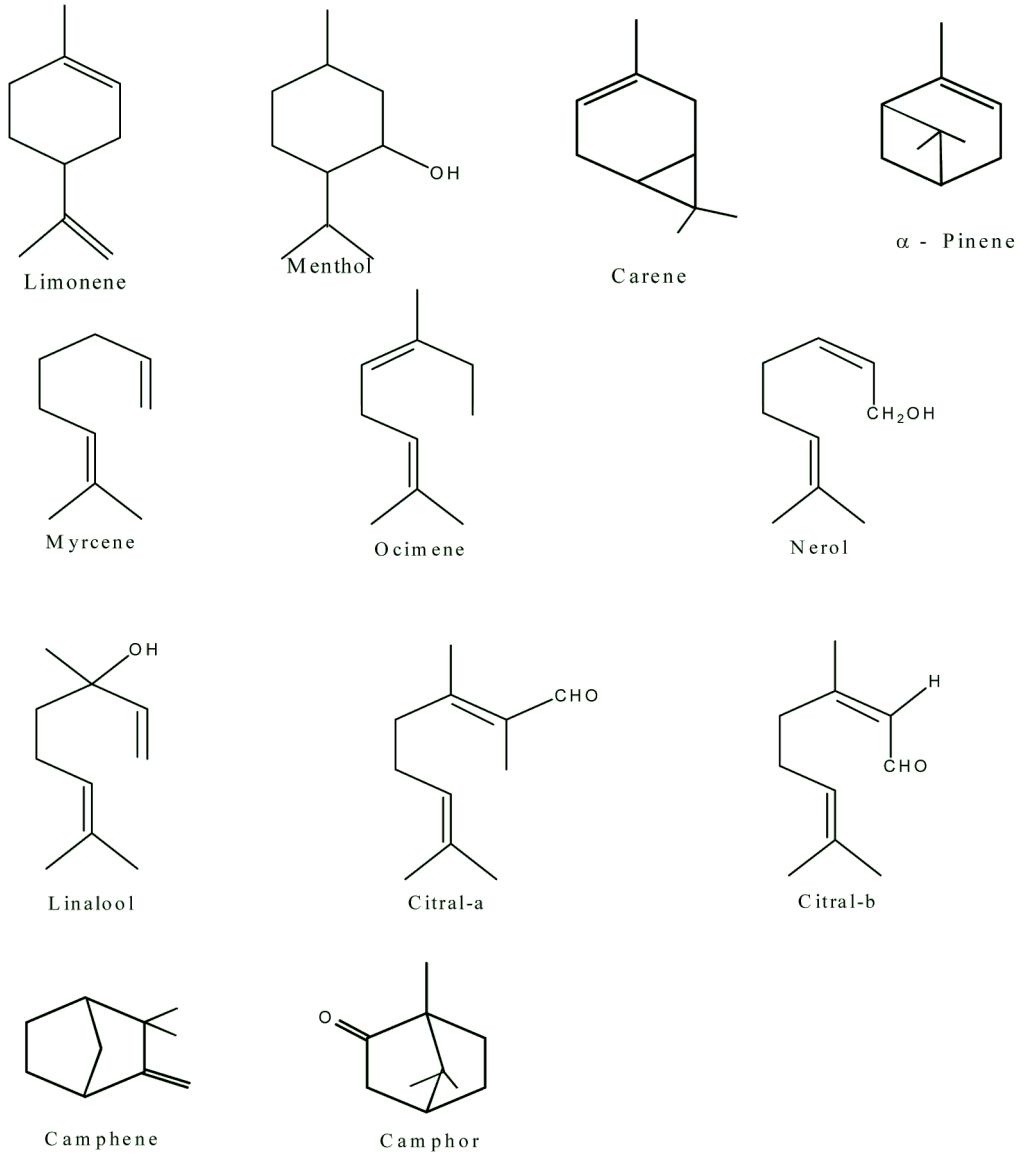
الزيوت الطيارة مواد زيتية ذات روائح عطرية مميزة، تتجزأ وتتطاير عند درجات الحرارة العادية دون أن تتحلل، على عكس الزيوت الثابتة والتي لا تتطاير ولكنها تتحلل إذا عرضت للتبخير أو التسخين . تسمى الزيوت الطيارة بعدة أسماء منها: الزيوت العطرية ، الزيوت الأثيرية ، الزيوت الأساسية.

و هي عبارة عن خلائط من المركبات العطرية والطيارة ذات المصدر النباتي والتي تنجم عن عملية التحول الأيضي في النبات .وتتجمع داخل تراكيب خاصة مثل الشعيرات الغدية (Glandular hairs) كما في العائلة الشفوية. [49]أو القنوات الزيتية (Oil vittae)كما في العائلة الخيمية أو الغدد الزيتية

(Oil glands) كما في العائلة السذبية تعد النباتات المصدر الأساسي للزيوت الطيارة والثابتة، إذ تتواجد في أكثر من 3000 نبات. [48]

تتواجد هذه الزيوت في جميع أجزاء النبات كما تتركز في بعض أجزائه (كأوراق نبات النعناع)، (قلف القرفة) (أزهار الورد والياسمين)،(ثمار العائلة الخيمية)،(قشر ثمار الليمون والبرتقال).تتفاوت نسبة الزيوت الطيارة من نبات لأخر إذ قد تصل من 16-18 % أو تتضاءل إلى 0.02 % [26]

تتمير الزيوت الطيارة برائحة عطر قوية ، قليلة الذوبان في الماء، تكون سائلة عند درجة الحرارة العادية ، ذوابة في المذيبات العضوية اللاقطبية المستعملة، وفي الكحولات ذات الدرة المرتفعة، وهي غالبا مرتبطة مع مواد أخرى مثل الأصماغ، والتراتنجات .[50]



الشكل 9:بنية بعض الزيوت الاساسية [51]

2.4 دور وأهمية الزيوت الطيارة البيولوجية

حسب العديد من النظريات البيئية فإن دورها يكمن في :

- **دور الزيوت الطيارة عند النبات**

✓ إزالة والتخلص من نواتج العمليات الحيوية وطرح خارج الأنسجة .[51].

✓ جذب الحشرات النافعة مما يساعد على تلقيح الأزهار

- ✓ طرد الحشرات الضارة أو قتلها وبالتالي تمنع تخربب الأزهار والأوراق
- ✓ تضمن حماية ضد البكتيريا والطفيليات المسببة للأمراض النباتية.[51]
- ✓ تساعد على التئام الجروح النباتية ومنع خروج العصير الخلوي. [48]

- **فائدة الزيوت الطيارة عند الإنسان**

- ✓ تستعمل في مجال الصناعة (العطور والتجميل ...الخ)[53]
- ✓ تستخدم كمطهرات بيولوجية على مستوى الجلد والأمعاء
- ✓ مضاد للفطريات وللبكتيريا
- ✓ مقوية للجهاز العصبي المركزي.[52]
- ✓ طارد للغازات.[52]

5 الصابونيات

1.5 تعريف الصابونيات

هي عبارة عن تربينات ثلاثية حقيقية في صورة غليكوزيدية ويعدد السكر ليصل من اثنين الى عشرة وعليه فالصابونيات ذات وزن عالي وعند تحللها تحرر سكر أو عدة سكريات مع الجنين يسمى هذا الأخير عبارة عن نواة إستيرودية وقليل منها يتألف من نواة ثلاثية التربين.[37]

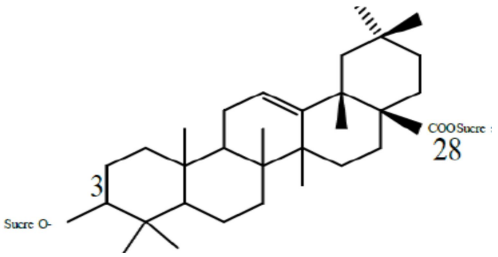
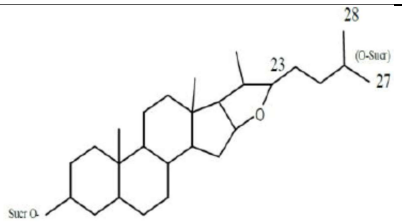
وقد اشتق اسمها من الكلمة اليونانية، sapo بمعنى صابون لأنها تعطي رغوة كثيفة إذا رجت مع الماء أو الكحولات المخففة وتستمر مدة طويلة.[47]

توجد في النباتات أحادية الفلقة مثل النرجسية والزنبقية وقليل جدا من ثنائيات الفلقة مثل العائلة الغدبية.

ذوبان في الماء الدافئ (قابلة لإماهة بسهولة) وذوابة في مزيج (ماء – كحول) بعد استخلاصها بإيثر البترول.[37]

2.5 تصنيف الصابونيات

الجدول 6 : أقسام الصابونيات .[40]

القسم	النوع	مثال
الصابونيات ذات نواة ثلاثية التربين **(Group des triterpènes)**	Mono bidesmosides	B-amyrine 
الصابونيات ذات نوات تربينية استريرودية **(Group des steroids)**	Bidesmosides	 furostanes

3.5 دور الصابونيات البيولوجية

الصابونيات لها أدوار كثيرة [52] من بينها .

- ✓ تأثر على الأغشية الدهنية، وتعمل على حث تمديد الدم في المختبر، أو عند حقنها وريديا.
- ✓ لها آثار سامة لغذاء الانسان والحيوان
- ✓ تستخدم في المنظفات .
- ✓ مضاد للبكتيريا والفطريات
- ✓ مضاد للالتهابات

6 التربينات الثلاثية Triterpen

1.6 تعريف التربينات الثلاثية

مركبات صلبة بيضاء، أغلبها ينصهر عند درجة حرارة عالية، موجودة في الطبيعة في صورة حرة أو اتيروزيداتية (Hétérosid) ، ويدخل في التركيب البنائي لهذه التربينات أربع أو خمس حلقا الا ان

التربينات المحتوية على خمس حلقات في بنائها هي الاكثر وفرة في الطبيعة ويعرف حتى الوقت الحاضر حوالي 40 هيكلا بنائيا يتألف منها التركيب البنائي لجميع التربينات الثلاثية.

وتتميز بعض التربينات بخواصها القابضة البارزة بالأخص مرارتها الحادة فاللمونين هو الأساس المر لثمار الحمضيات ينتمي إلى سلالة التربينات الثلاثية خماسة الحلقة ذات الطعم المر .

يتم الاصطناع الحيوي للتربينات الثلاثية عن طريق ترابط ثلاث وحدات من– Isopentenyl pyrophosphate (IPP) إلى تكوين(Farnesyl-pyrophosphate (FPP ،ويحدث لهذا الأخير إلى تكوين السكوالين (المركب الأم للتربينات الثلاثية والستيرويدات) [54]

2.6 تصنيف التربينات الثلاثية

يعتبر السكوالين المصدر الاساسي للتربينات الثلاثية، حيث أن غالبية التربينات الثلاثية حلقية ولكن يوجد القليل منها على شكل خطي، تتميز التربينات الثلاثية بهياكل بنائية مختلفة مما يؤدي إلى تنوعها وهذه بعض اهم هياكل التربينات الثلاثية الأكثر انتشارا في المملكة النباتية، ومقسمة على حسب الحلقات : ثلاثية حقيقية، وستيرويدات قلويدات ستيرويدية(alcalamines stéroidiques).[54]

3.6 دور واهمية الرتبينات الثلاثية البيولوجية

ان الأهمية العلاجية والاستعمال الصناعي للتربينات الثلاثية بجعل منها منتجات الأيض الثانوي ذات اهمية كبرى[54] تبرز فيما يلي :

- **دور التربينات الثلاثية عند النبات**

- تلعب التربينات الثلاثية دورا مهما [20] يتمثل في ما يلي :

✓ ذات أهمية معتبة في التصنيف الكيميائي في أنها مضادة للحشرات ، وهو يتيح للنبات حماية ذاتية من اضرار التي تسببها الحشرات.

✓ مسؤول عن اللون الأصفر للأزهار.

✓ تساهم في منح الرائحة والطعم لكثير من النباتات.

- **فائدة التربينات الثلاثية عند الانسان**

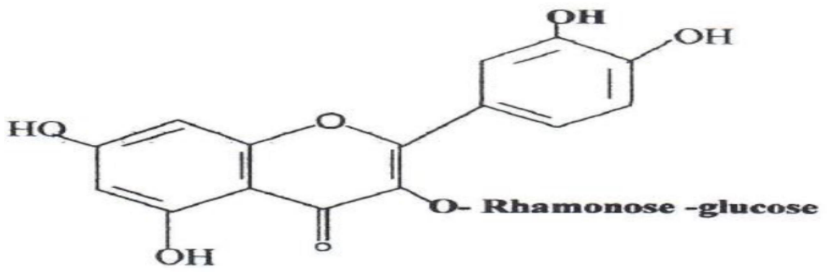
أن التربينات له العديد من الأدوار للانسان منها [20]

- ✓ أهمية المقويات القلبية الاتيروزيدات والتي لم يعوضها أي من المنتجات الاصطناعية حتى الان..
- ✓ مضادات الالتهاب .
- ✓ مبيدات حشرية ، مبيدات رخوية .
- ✓ مؤثرات على نمو النبات .
- ✓ مسكنات للألم .
- ✓ كما ان للعديد منها فعالية ضد الأورام كذلك السرطان.

7 الجليكوزيدات Glycosides

1.7 تعريف الجليكوزيدات

هي عبارة عن مجموعة من المركبات العضوية الناتجة من الايض الثانوي، ولفظ الغليكوزيدات مشتق من ارتباط نوع خاص من المواد العضوية الناتجة من عمليات التمثيل والأيض مع جزئ أو أكثر من السكريات البسيطة. وهذه الغليكوزيدات تتحلل سريعا بفضل الأحماض المعدنية والنشاط الانزيمي المتخصص مكونة نوعين من المواد العضوية إحداهما سكرية يعرف بالغليكون (glycon) والثاني غير سكري يدعى بالأغليكون (glycone ,genine).[37]



الشكل 10 : الصيغة الكيميائية ل Rutine [37]

تتواجد الجليكوزيدات بكثرة في معظم أجزاء النباتات الراقية ونادرا ما توجد في النباتات الدنيئة ويتركز توافرها في العصير الخلوي للفجوات النباتية.[37]

2.7 أهمية ودور الجليكوزيدات البيولوجية

لها العديد من الأدوار من بينها:

- **دور الجليكوزيدات عند النبات**

أن الجليكوزيدات تلعب دورا هاما في حياة النبات وهذا لأن الجليكوزيدات[61] :

- ✓ تنظم نموه.
- ✓ تقوم بدور وقائي لحفظ النبات من الحشرات والحيوانات.
- ✓ تعتبر مواد مخزنة يستعملها النبات في عمليات التمثيل أثناء الحاجة.
- ✓ تعمل على تنظيم درجة الحموضة داخل الخلايا النباتية (PH)، كما تعمل على تنظيم الضغط الاسموزي.
- ✓ بعض ألوان الأزهار تعود لوجود الجليكوزيدات وتعتبر طريقة لجذب الحشرات لإتمام التلقيح.
- ✓ التخلص من نشاط بعض المواد الضارة والسامة للنبات.
- ✓ تنظيم الضغط الاسموزي.
- ✓ انتقال بعض المواد الازمة لعمية التمثيل الضوئي في النبات.

- **فائدة الجليكوزيدات عند الانسان**

تتمثل ادوار الجليكوزيدات [56]،[44] فيما يلي :

- ✓ يستخدم كمطهر للمجاري البولية.
- ✓ مطهر للكلى والمسالك البولية .
- ✓ الحمى، الروماتيزم، الصداع، تخفيف الضغط، وسيولة الدم.
- ✓ تدخل في تركيب الادوية (الذوق).
- ✓ مقيئ لطرد محتوى المعدة أثناء حالات التسمم.
- ✓ يقوي القلب وينظم ضرباته.

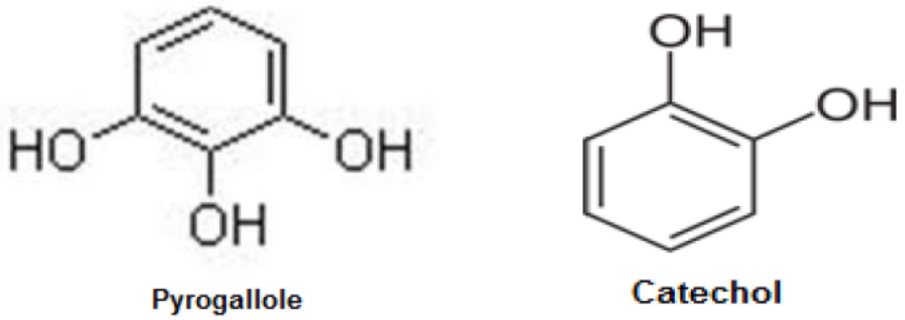
- ✓ تقوية جدران الأوعية الدموية وادرار البول.

8 التانينانات

1.8 تعريف التانينات

تسمى بالمواد القابضة (الدابغة) ، وهي مركبات فينولية ذات أوزان جزيئية كبيرة نوعا ما ولها بالإضافة الفينولات: ترسيب القلويدات الجلاتين (alcloids) البروتينات الأخرى(Gelatibne). [57]

حسب الاشتقاق فان التنينات هي المركبات المستخدمة في الدباغة (Tanerie) لها خاصية تحويل جلود الحيوانات الطرية الى جلود غير قابلة للتعفن، وقليلة النفاذية، ويعزى ذلك على قدرتها على الاتحاد بالبروتينات. عند تحللها تنتج بعض الفينولات البسيطة مثل مركب البيروجالول Pyrogallol أو مركب الكاتيكول Catechol[37].



الشكل 11: البنية الكيميائية لمركب Catechol و Pyrogallole [43]

2.8 تواجد وانتشار التانينات

تنتشر وفرة في المملكة النباتية وخاصة في الفصائل : الوردية (Rosaceae) ، الأسية (Myrtaceae)، Leguminaseae, Polygoniceae,Rubiacess وتتوزع في جميع اعضاء النباتية، وخاصة القلف اما داخل، فتتواجد في الفجوات ، وقد تصل نسبة التنينات في بعض النباتات الى 70 % (مثل ما هو الحال عند البلوط وقشور الرمان Pomegranate).[37]

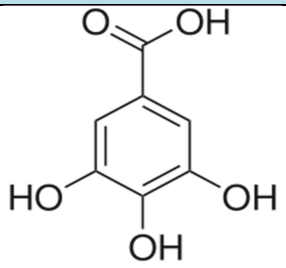
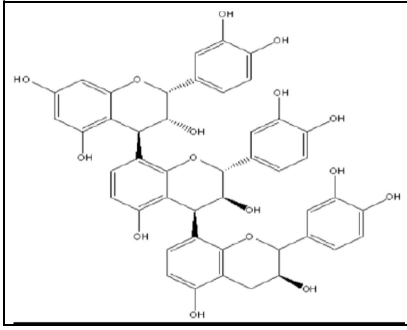
توجد التانينات في النبات عادة مركزة في اجزاء خاصة منه مثل الاوراق، والسيقان، والقلف كما توجد في الثمار غير الناضجة ولكنها تختفي عندما يتم نضج الثمرة.[58]

3.8 خواص التانينات

- ✓ مواد غي متبلورة تذوب في الماء تكون مستحلبا حامضيا له طعم قابض astringent.وتذوب في الكحول، والجليسرين، ولا تذوب في الايثر ولا البنزين.
- ✓ لهذه المواد القدرة على ترسيب البروتينات والقلويدات من محاليلها وهذه هي العملية التي تتم عند دباغة الجلود، والتي تتميز بها هذه المجموعة من المكونات النباتية إذ عندما تترسب البروتينات التي تكون الجلود فانها تصبح غير قابلة لعمليات التحلل.
- ✓ ترسب التانينات نفسها من محاليلها باضافة أملاح النحاس أو الرصاص أو القصدير كما تترسب بواسطة محلول قوي من بيكرومات البوتاسيوم في المحاليل القوية.
- ✓ تمتص التانينات الاكسجين من الجو، وتتحول الى اللون الأسود[58]

4.8 تصنيف التانينات

تصنف التانينات الى عدة اقسام من بينها[59],[47]

أقسامها	أهم مكوناتها	الصيغة الكيميائية
تانينات متحللة Tanins hydrolysables	بها عدد ضئيل أو متعدد الاستر و عدد لا متناهي من حمض الفينول السكري	
تانينات مكثفة Tanins 30ondenses ou tanins catéchiques	تانينات مشتقة من تكاثف الكتيشول أو من بروتوأنتوسيانيدول و هذا النوع من التانينات تكون غير متحللة و تسمى أيضا تانينات كتيشيك	

الجدول 7 : أقسام التانينات [59]،[47]

5.8 دور واهمية التانينات البيولوجية

تلعب التانينات دورا حيويا اما يتمثل [60]

- **دور التانينات عند النبات**

تتعدد أدوار التانينات في النبات[60]من اهمها :

- ✓ المواد التانينية هي مصدر الطاقة التي يستهلكها النبات في عمليات لتحول الغذائي، ولذلك فان كميتها تقل باستنفاذها في عمليات النضج، كما وان ما يتبقى منها يتحول الى أحماض تعطي الثمار طعمها الحامضي.
- ✓ التانينات مواد فينولية مطهرة تحمي النبات من الحشرات والفطريات الضارة فتحافظ على حياء النبات أثناء نموه .
- ✓ تشارك في وقاية القشور ولب القشرة.

- **فائدة التانينات عند الانسان**

التانينات لها العديد من الأدوار [59]،[60] من بينها .

اتحاد التانينات بالمواد البروتينية تصبح غير قابلة للتحلل بفعل الانزيمات وبذلك يمكن حفظ الجلود باستعمالها في الصناعات الجلدية المختلة.

- ✓ موقف للنزف بسبب تاثيرها القابض والمرسب للبروتينات.
- ✓ مضاد للأورام Antitumour: يثبط تكاثر الخلايا السرطانية ويوقي ADN من التخريب.
- ✓ مضاد للإسهال Antidiarrhoeals.
- ✓ مضاد للإلتهابات الحلق والفم.
- ✓ لها القدرة على تثبيط نمو البكتيريا مثل (*Clostridium Aminophilum* و *Staphylococcus aureus*).

الفصل الثالث

دراسة بيولوجية

دراسة نظرية حول البكتيريا:

1) الفعالية المضادة للبكتيريا:

تعد البكتيريا الممرضة من أكثر الأحياء المجهرية المسببة لأمراض الأنسان و الحيوان على حدّ سواء، و الميكروبات هي كائنات حية دقيقة (بكتيريا، فطريات، فيروسات...) توجد في كل مكان من المحيط الذي نعيش فيه، منها الفطريات التي تتجمع في عدة أجناس و أنواع، فالبعض منها نافع في الصناعات الصيدلانية و في الصناعات الزراعية الغذائية و البعض الاخر ضارّ يسبب إتلاف المواد الغذائية و تلوث الجو، مما ينتج عنه عدة أمراض في العالم الحيواني(التسمم، الحساسية ...) وفي العالم النباتي أيضا (مرض العفونة)، ومن الاجناس الميكروبية الأكثر انتشار نذكر البكتيريا.

توجد الكائنات الدقيقة المجهرية في كل مكان حولنا فهي في التربة و الماء و الهواء كما تعيش في الأغذية و داخل و خارج أجسامنا و في أي نظام بيئي، تشكّل أعداد الكائنات الدقيقة نسبة كبيرة إذا ما قورنت بالكائنات الحية الأخرى.

و بسبب انتشارها الواسع، و تعدد قدرتها الكيميائية فهي تملك قدرة كبيرة على احداث تغيرات واضحة في الوسط التي تعيش فيه و تعتبر مسؤولة عن الكثير ممّا يتمّ حولنا من عمليات أساسية فبعضها قادر علة تحليل المخلفات العضوية و الصناعية و إعادة تدويرها لتصبح غذاء لكائنات أخرى، أو تنساب في التربة فتزيد من خصوبتها.

و البعض الأخر قادر على تكوين كربوهيدرات و بروتينات من مواد بسيطة موجودة في الجو كالأزوت و ثاني أوكسيد الفحم، كما أنها تعتبر بالغة الأهمية من الناحية الصناعية فهي ضرورية لإنتاج بعض الأغذية و المنتجات اللبنية و كذلك الصناعات الصيدلانية فأغلب المضادات الحيوية تمّ استخراجها من كائنات دقيقة.

و من جهة أخرى تعتبر البكتيريا من المسببات الأساسية للأمراض فقد تم التعرف على علاقتها بالمرض في القرن 19 بعد أبحاث قام بها العالم باستر Pasteur كما اثبت العالم روبرت كوخ Robert Koch علاقة بكتيريا تدعى العصيات Bacille بأمراض خطيرة كالسلّ و التفوئيد و الكوليرا.[62]

2) تعريف البكتيريا:

البكتيريا كائنات دقيقة مجهرية أحادية الخلية بدائية النواة (Procaryote) كروية، عصوية أو حلزونية يتراوح طولها بين 1 ميكرومتر إلى بضة أعشار الميكرومتر، نجدها في كل مكان في الماء، الهواء و التربة.[63]

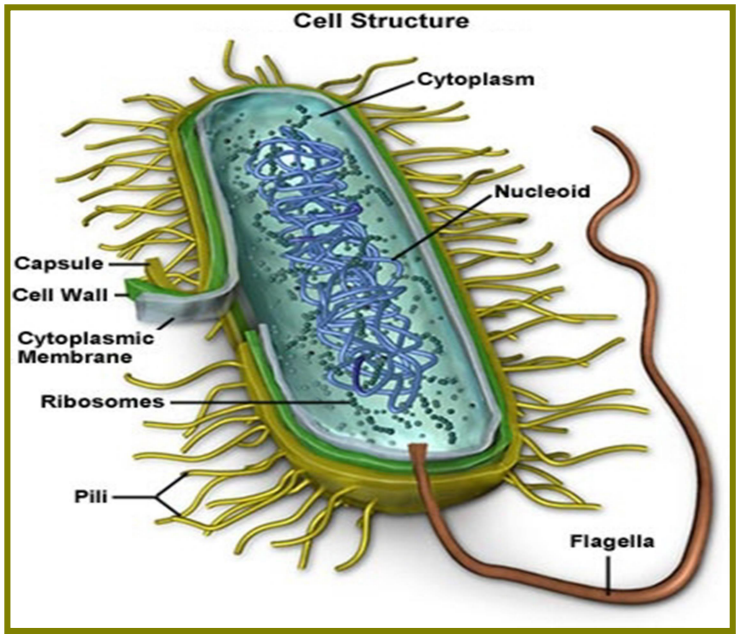
تستطيع البكتيريا العيش لأعوام طويلة متحملة جميع الأحوال غير الملائمة من درجة الحرارة المرتفعة أو المنخفضة أو غير ذلك من الظروف القاسية، و عند تحسن هذه الظروف المحيطة بها تعود إلى سابق عهدها.[64]

3) **بنية البكتيريا**:

تركيبة الخلية البكتيرية بسيطة حيث يحيط بها غلافين الاول جدار خلوي سميك و صلب و هو الذي يعطيها شكلها الثابت و يحميها من الهجوم الخارجي أما الثاني فهو رفيع السمك يدعى بالجدار الخلوي السيتوبلازمي.

محتواها مؤلف من بروتوبلازم متجانسة و فجوات، و لا تحتوي على نواة الا انها تحتوي على ADN الذي يتحكم في نمو الخلية و تكاثرها و جميع النشاطات الأخرى. و أغلب الجراثيم عديمة اللون لكن بعضها تحتوي على أصباغ تعطي الجراثيم ألوانها، مثل الكبريتية الحمراء Thiorhodaceae و الكبريتية الخضراء Chlorobium .

الجدار، الغشاء الخلوي، البروتوبلازم و الكروموزومات كلها عناصر ثابتة و أساسية في جميع أنواع الخلايا البكتيرية، ولكن قد نجد بعض الاختلافات فبعض الخلايا البكتيرية تكون محاطة من الخارج بمحفظة Capsule، أو تملك سوطا يساعدها على الحركة بالإضافة إلى أنه توجد بعض البكتيريا لديها زوائد خلوية Pili و هي تساعد الخلية على الالتصاق. [62]



الشكل12 :تركيب الخلية البكتيرية

دورة حياة الخلية تتركز في استمرارية انقسامها، حيث حوالي كل 20 دقيقة تنقسم الخلية البكتيرية لإعطاء خليتين جديدتين فخلال ساعات تعطي خلية بكتيرية واحدة الملايين من الخلايا، و أغلب البكتيريا تتكاثر بطريقة الانشطار الثنائي. ولدرجة الحرارة تأثير على بقاء و تتكاثر البكتيرية، فمنها من تعيش في درجات الحرارة المنخفضة و منها من تعيش في درجات حرارة عالية بالإضافة إلى أن PH المثالي لنمو البكتيريا هو في حدود PH=7. كما أن الاوساط الغنية بالرطوبة و الماء تعتبر وسط جيد لتكاثر البكتيريا. [41]

4) تصنيف البكتيريا:[41]

يتم تصنيف البكتيريا حسب المعايير التالية:

1.4) من حيث توزيع أسواطها: فيمكن تقسيمها إلى:

- **بكتيريا وحيدة السوط**
- **بكتيريا متعددة الأسواط** و هذه الأخيرة تنقسم إلى مايلي:

أ) متجمعة عند طرف واحد.

ب) موزعة على كل الخلية.

2.4) من حيث الشكل: [62]

1- **البكتيريا العصوية (Bacilli)**: التي تأخذ خلاياها شكل العصويات الصغيرة تحت المجهر

2- **البكتيريا الكراوية (Cocci)**: التي تأخذ خلاياها شكل الكريات الصغيرة، و هذه الأخيرة نميز منها مايلي:

أ) البكتيريا الكراوية المضاعفة Diplococci

ب) البكتيريا الكراوية المتجمعة بشكل سبحة Streptococci

3- **البكتيريا الحلزونية (Spiral):** التي تأخذ الشكل الحلزوني.

4-**البكتيريا الواوية(Vibrio):** التي تأخذ شكل حرف الواو.

3.4) من حيث الوسط الذي تعيش فيه:

يمكن تقسيمها إلى ثلاثة أنواع. [64]

أ- **بكتيريا هوائية(Aerobic):**هي البكتيريا التي تعيش في وجود الهواء الجوي فقط وهي تعتبر المصدر الاساسي لتسمم المواد الغذائية ومن أمثلتها Neisseria.

ب- **بكتيريا لاهوائية (Anaerobic):** هي البكتيريا التي تعيش فقط في غياب الهواء الجوي مثل Clostridium.

ج- بكتيريا لاهوائية اختيارية (Facultative Anaerobic): هي البكتيريا التي يمكنها العيش و النمو في ظل وجود الهواء الجوي أو عدمه مثل *E.Coli*.

4-4) من حيث التغذية:

يمكن تقسيمها إلى نوعين: [64]

1- **بكتيريا ذاتية التغذية Autotrophie Bactérie:** هي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو.

2- **بكتيريا عضوية التغذية Hétérotrophie Bactérie:** و تقسم هذه المجموعة إلى بكتيريا رمّية و أخرى طفيلية، حيث تتغذى البكتيريا الرمّية على المواد العضوية للعضيات الميتة، أما الطفيلية فتعيش على سطح جسم الكائن الحي (نبات أو حيوان) و تتغذى على حسابه.

3- 4-5) من حيث طريقة التلوين:[65]

تصنف البكتيريا عن طريق استخدام الفروق في بنية الجدار الخلوي وهذا باستخدام التقنية المسماة (Gram Stain) نسبة للعالم البلجيكي H.C.J Gram المخترعة سنة 1884 و عن طريقها يمكن ان تقسم البكتيريا إلى:

1- بكتيريا موجبة الغرام (Gram positive)

2- بكتيريا سالبة الغرام (Gram négative)

و تعود هذه الفروق إلى بنية الجدار الخلوي فالخلية سالبة الغرام تحتوي على غشاء خارجي مشكل من lipopolysaccharides و هذا ما لا نجده في البكتيريا موجبة الغرام، فإذا حافظت البكتيريا على لون الكاشف كانت بكتيريا موجبة الغرام أمّا إذا تغير اللون إلى اللون الوردي كانت البكتيريا سالبة الغرام

3- 4-4) من حيث الأثر على الانسان:

يمكن تقسيمها إلى ثلاثة أنواع:

1- البكتيريا النافعة Bénéficial Bactérie:

و هي التي تقدم خدمات جليلة للإنسان، الحيوان و البيئة فهناك نوع من البكتيريا يعيش في أمعاء الإنسان فتساعده على هضم الطعام، و هناك نوع آخر من البكتيريا يعيش في التربة و يلعب دور مهم في غذاء النبتات، و تستعمل بعض الأنواع الأخرى في صناعة منتجات الألبان و بعض الأدوية [62]

2- البكتيريا الانتهازية Opportunistic Bactérie :

هناك أنواع من البكتيريا تعيش في جسم الانسان من دون أن تسبب له أي أضرار صحية إلا أنها عند انخفاض مناعة الانسان لأي سبب من الاسباب، تهاجم الجسم، متحولة إلى بكتيريا ضارة تسبب العديد من الأمراض مثل الإصابة بالتهاب الحلق أو التهاب اللوزتين. [62]

3- البكتيريا الضارة Bactéries nocives:

تسبب للانسان امراضا و مشاكل صحية عديدة، مثل السّل، الكوليرا، التيفوئيد...الخ. و تدخل البكتيريا عن طريق الفتحات الطبيعية مثل فتحة الانف و الفم او عبر شقوق الجلد و قد تصيب البكتيريا النباتات مثل اللفحة النارية التي تصيب أشجار التفاح و التعفن البكتيري الذي يسبب تلف بعض الفواكه و الخضروات [41]

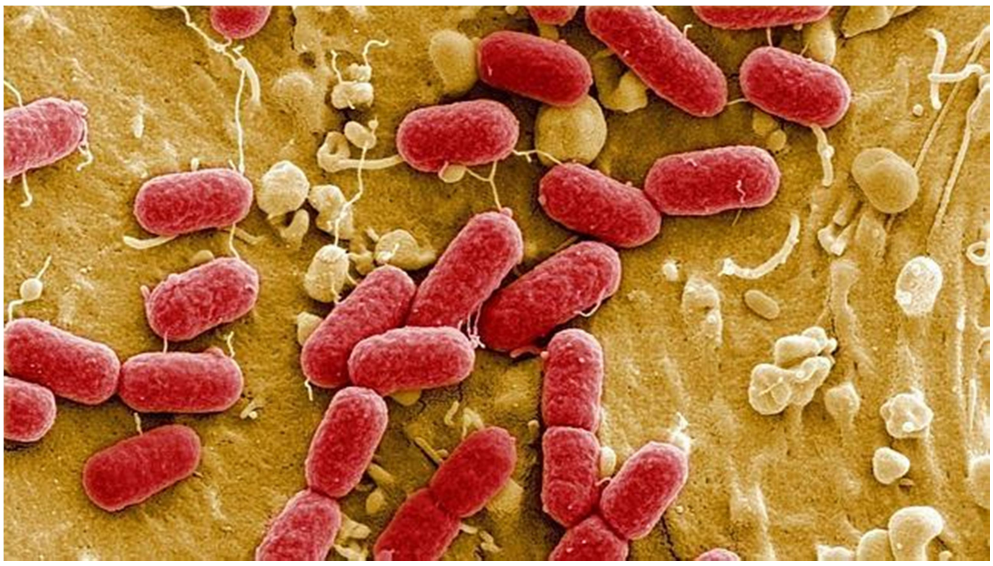
5) البكتيريا المستعملة في الدراسة:

1.5 البكتيريا *Escherichia Colie*:

هي بكتيريا اختيارية الهواء، عصوية الشكل، ذات أبعاد من 1 إلى 3 ميكرومتر، تعيش في جسم الانسان، الحيوان، النبات و في التربة[62] ، تكون متحركة على شكل عصيات، تتكاثر بسرعة عند درجة حرارة الجسم 37C° . كم بين الامراض التي تسببها: أمراض الجهاز البولي، الإسهال الطفيلي، التهاب السحايا و تسمم الدم.[66] و هي بكتيريا سالبة الغرام تنتمي الى:

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

الجدول8: تصنيف البكتيريا *E.Coli* [64]



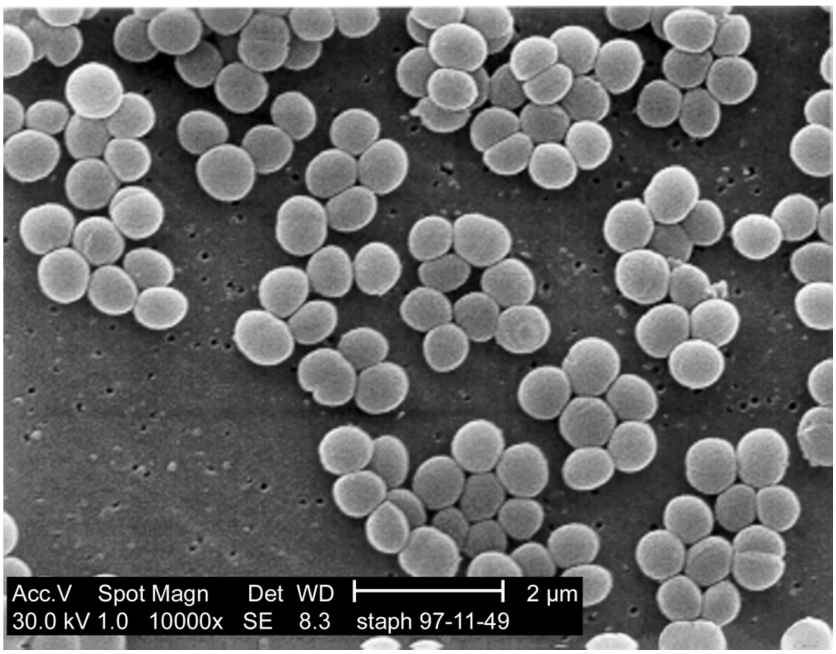
الشكل13 : صورة بالمجهر الإلكتروني لبكتيريا *Escherichia coli* [64]

2.5 البكتيريا *Staphylococcus aureus*:

هي بكتيريا كروية الشكل ذات لون أصفر بارق عديمة الحركة، تكون على شكل أكوام عنقود العنب، قطرها حوالي 1 ميكرومتر، تنمو بالتنفس الهوائي أو التخمر، تم اكتشاف هذه البكتريا من طرف العالم باستور، توجد لدى الإنسان في الجلد، الأمعاء و الجهاز التناسلي. [62] هذه البكتيريا مسؤولة على تشكل الصديد، و تسبب التسمم الغذائي، تسبب الالتهابات الجلدية الخطيرة و الانسجة الطرية و قد تصل إلى مجرى الدم مسببة انتان الدم (Sepsis)، [67] قد تسبب البكتيريا في موجات و بائية و وفيات هائلة نتيجة التهابات الرئتين، مرض السحايا، و غيرها من الأمراض القاتلة. [67]

المملكة	*Bactérie*
التصنيف	*Firmicutes*
القسم	*Bacilli*
الرتبة	*Bacillales*
العائلة	*Staphylococcaceae*
النوع	*Staphylococcus*
الصنف	*Staphylococcus aureus*

الجدول9: تصنيف البكتيريا العنقودية *Staphylococcus aureus* [64]



الشكل14: صورة بالمجهر الإلكتروني لبكتيريا *Staphylococcus aureus*

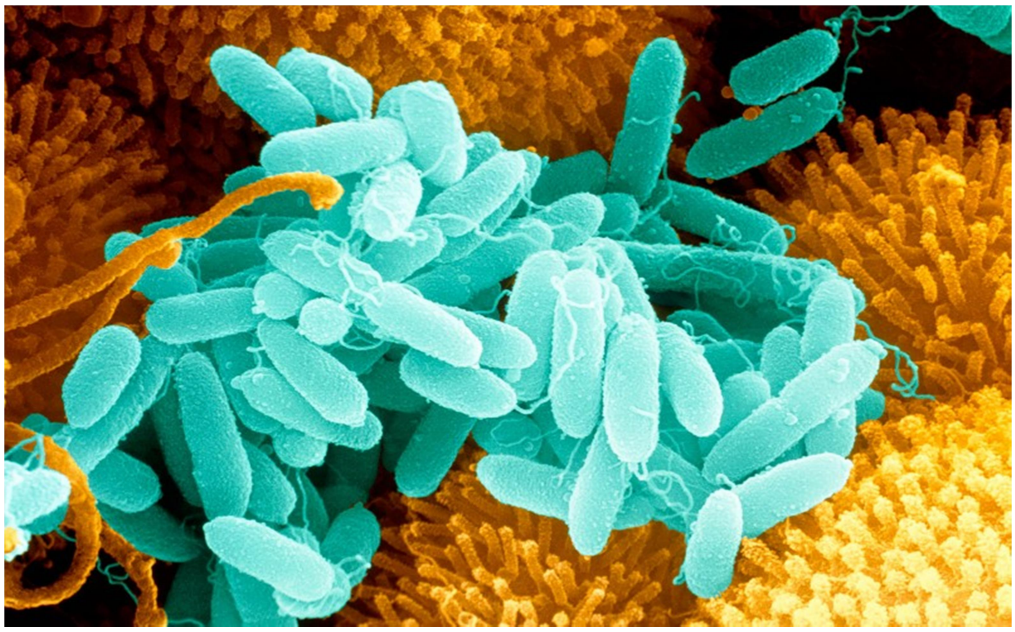
3.5 البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* :

هي بكتيريا متحركة هوائية عصوية الشكل، مصدر هذه البكتيريا الجهاز الهضمي للإنسان، الحيوان، الماء و التربة تعمل هذه البكتيريا على الإتلاف السطحي للأغذية المبردة و تعد من الميكروبات المحللة للدهون الموجودة باللبن مما يؤدي إلى تغير لونه و طعمه، [41] كما ترتبط هذه البكتيريا بحالات العدوى المكتسبة في المستشفيات خصوصا في صالات العمليات الجراحية و هي تصيب المرضى الذين يعانون من ضعف المناعة [68] لها القدرة على مقاومة العديد من المضادات الحيوية إضافة إلى و جود آليات أخرى تساهم في منع مرور المضاد عبر غشائها الخلوي [69]

بكتيريا ***Pseudomonas aeruginosa*** سالبة الغرم تنتمي إلى:

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

الجدول10: تصنيف البكتيريا العنقودية *Pseudomonas aeruginosa* [64]



الشكل15 : صورة بالمجهر الإلكتروني لبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*

الجزء التطبيقي

الفصل الأول

المواد وطرق البحث

1) تحضير المادة النباتية المدروسة:

في هذه الدراسة استعملنا قشور ثمار الرمان Punic Granatum.L ، و تم الحصول عليه من مزرعة ببلدية الرباح و كذلك من مزرعة بالدبيلة حيث فصلت قشر الرمان الحامض و الحلو على حدا و تم تجفيفها تحت الظل بدرجة حرارة الغرفة و شروط تهوية جيدة من 24 /2015/10 إل غاية 2016/01/11 . طحنت القشور بمطحنة كهربائية للحصول على مسحوق ناعم تم حفظه في أكياس بعيد عن الضوء و الرطوبة للاستعمال لاحقا .

2) تحضير المستخلصات المستعملة في دراسة الفاعلية البيولوجية:

تم تحضير المستخلص المائي و مزيج من الايثانول و الماء (8-2) عن طريق النقع و المستخلص الاثانولي عن طريق الغليان لكل من قشور الرمان الحلو و الحامض لنتحصل على ست مستخلصات لنستعملها في الدراسة.

1-2) تحضير المستخلص المائي بالنقع(macération):

نضع في بيشر50 غ من قشور الرمان الحامض، نضيف 500 ملل من الماء المقطر . نغط البيشر بواسطة ورق البرافيلم ثم توضع فوق مخلاط مغناطيسي لمدة 24 ساعة لغرض النقع . نقوم بترشيح المستخلص باستعمال ورق whattman .يوضع هذا المستخلص في جهاز المبخر الدوراني Rotavapeur حتى نحصل مركب ذو قوام سميك نتركه تحت التهوية لنتأكد من تبخر الماء ثم نقوم بحساب المردود حسب العلاقة التالية:

$$R = \frac{\text{كتلة المستخلص بعد التجفيف}}{\text{كتلة القشور المستعملة}}$$

2-2) تحضير المستخلص الإيثانولي بالغليان(décoction):

نضع في بيشر50 غ من قشور الرمان الحامض، نضيف 500 ملل إيثانول، توضع في جهاز Réfrigèrent لمدة ساعة، ثم نقوم بترشيح المستخلص. يوضع هذا المستخلص في جهاز المبخر الدوراني Rotavapeur (عند درجة حرارة 65C°) حتى نحصل على مركب ذو قوام سميك نتركه تحت التهوية لنتأكد من تبخر الإيثانول ثم نقوم بحساب المردود حسب العلاقة التالية:

$$R = \frac{\text{كتلة المستخلص بعد التجفيف}}{\text{كتلة القشور المستعملة}}$$

3-2) تحضير مستخلص مزيج من الماء و الإيثانول بالنقع(macération):

نضع في بيشر50 غ من قشور الرمان الحامض، نضيف 100 ملل من الماء المقطر و 400 ملل من الإيثانول بنسبة حجمية (8-2). نغط البيشر بواسطة ورق البرافيلم ثم توضع فوق مخلاط مغناطيسي لمدة 24 ساعة لغرض النقع . نقوم بترشيح المستخلص باستعمال ورق whattman .يوضع هذا المستخلص في جهاز المبخر الدوراني Rotavapeur حتى نحصل مركب ذو قوام سميك نتركه تحت التهوية لنتأكد من تبخر الماء ثم نقوم بحساب المردود حسب العلاقة التالية:

$$R = \frac{\text{كتلة المستخلص بعد التجفيف}}{\text{كتلة القشور المستعملة}}$$

ملاحظة: نكرر نفس الخطوات السابقة مع قشور الرمان الحلو لنتحصل على المستخلصات الستة.

3) تقدير المركبات الفينولية و الفلافونيدية للمستخلصات

3. 1) تقدير المركبات الفينولية الكلية

تم تقدير عديدات الفينول الكلية باستخدام كاشف Folin-Ciocalteau [74]، حيث تعتمد هذه الطريقة على إرجاع مكونات كاشف Folin- Ciocalteau بواسطة المركبات الفينولية لإعطاء كينون أو كيتون المتميزة باللون الأزرق .نمزج 0.2 مل من تراكيز مختلفة من المستخلصات المذابة في الماء أو الإيثانول مع 1 مل من محلول Folin-Ciocalteau المخفف 10 مرات، ترج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة 5 دقائق، بعدها نضيف 0.8 مل من كربونات الصوديوم 7.5% ترج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة نصف ساعة . تقاس امتصاصية المحلول الناتج عند طول موجة 765 نانومتر بجهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية . Spectrophotometers نستعمل حمض الغاليك بتراكيز مختلفة و نسجل الامتصاصية عند تلك التراكيز ثم نرسم المنحى العياري، و يتم التعبير عن النتائج بعدد المليغرامات الموافقة لحمض الغاليك لكل غرام من وزن المستخلص (mg AGE /g Extrait).

2.3) التقدير الكمي للفلافونيدات

تم التقدير الكمي للفلافونيدات بطريقة كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ [70]، نأخذ 0.5 مل من تراكيز مختلفة من المستخلصات المذابة في الإيثانول أو الماء ونضيف لها 0.5 مل من محلول $AlCl_3$ بتركيز % 2 فيظهر اللون الأخضر المصفر و نتركها في الظلام لمدة ساعة، ثم تقرأ الامتصاصية عند طول موجة 420نانومتر .نستعمل الكرستين بتراكيز مختلفة و نسجل الامتصاصية عند تلك التراكيز ثم نرسم المنحى العياري ، ويعبر عن النتائج بعدد الملغرامات الموافقة للكرستين لكل غرام من وزن المستخلص (mg QE/g Extract).

4) دراسة الفعالية ضد البكتيريا للمستخلصات:

في هذه الدراسة قمنا باختبار الفعالية البيولوجية للمستخلصات السابقة و المتمثلة في المستخلص المائي و مزيج من الايثانول و الماء (8-2) عن طريق النقع و المستخلص الايثانولي عن طريق الغليان لكل من قشور الرمان الحلو و الحامض و هذا بتطبيق ثلاث سلالات بكتيرية ممرضة، والتي تم الحصول عليها من مخبر كلية علوم الطبيعة و الحياة بجامعة الشهيد حمة الاخضر وهي موضحة في الجدول أدناه هذه السلالات تصيب الإنسان بكثرة و لهذا تم اختيارها.

البكتيريا المدروسة	طبيعة الجدار الخلوي
Escherichia coli	Gram négatif
Pseudomonas aerogenosa	Gram négatif
Staphylococcus aureus	Gram positif

جدول11: أنواع البكتيريا المدروسة

1.4 تحضير التخفيفات المختلفة لكل مستخلص:

لتحضير التراكيز المختلفة من كل مستخلص قمنا بإذابة 100 ملغ من مستخلص القشور السابقة(المائي، الإيثانولي، المزيج إيثانول+ماء) في 5 ملل من DMSO للحصول على تركيز قياسي (20ملغ/مل) و انطلاقا من هذا المحلول نحضر التراكيز التالية:

(100 %، 75%، 50%، 25%) أي يتراكيز (20ملغ/مل، 15ملغ/مل، 10ملغ/مل، 5ملغ/مل)

2.4 اختبار الفعالية ضد البكتيريا للمستخلصات بطريقة اختبار الحساسية بالأقراص:

لتقدير الفعالية ضد البكتيريا للمستخلصات أعتمدنا طريقة الإنتشار بالأقراص و ذلك بتشبيع الأقراص ب 10 µL من كل مستخلص

1.2.4 تنمية مزارع بكتيرية حديثة:

تم تنشيط العزلات المختبرة المذكورة سابقا وذلك بأخذ مسحة من العزلات البكتيرية باستعمال anse de platine و تنميتها في وسط زراعي gélose nutritive و حضنها في الحاضنة Etuve بدرجة 37° لمدة 24 سا.

2.2.4 تحضير أوساط الزرع

- نقوم بتعقيم وسط Muler-Hinton (MH) في Autoclave

- نسكب من الوسط (MH) في علبة بتري ذات قطر قدره 9 سم حتى النصف تقريبا و نتركها تجمد على سطح طاولة المخبر. تتم العملية أمام موقد حراري من أجل خلق وسط معقم.

3.2.4 تحضير المعلق البكتيري:

- نضع 5 مل من الماء الفيزيولوجي المعقم في ثلاث أنابيب اختبار معقمة.
- انطلاقا من مزرعة حديثة نأخذ 3 إلى 5 مستعمرة بكتيرية

(E.coli, P.Aerogenosa, S. aureus) بعيدة عن بعضها و معزولة توضح في ثلاث أنابيب اختبار المحضرة سابقا.

- تترك لمدة 10 دقائق قبل استعمالها.
- نغمس الماسح القطني المعقم في المعلق البكتيري الذي يحتوي على *E.coli* ثم يمسح به على كامل الوسط الجاف لأوساط الزرع المحضرة سابقا بشكل خطوط متلاصقة مع تكرار العملية ثلاث مرات و ذالك بتدوير الطبق البتري بزاوية 60° في كل مرة و نقوم بنفس العملية لكل من *P.aerogenosa,S. aureus* .
- نتركها مدة 15 دقيقة ثم نقوم باستعمال تقنية الاقراص الورقية.

4.2.4 تطبيق الأقراص:

- بواسطة ملقط معقم نأخذ الاقراص المشبعة بالمستخلص بمختلف تراكيزه و أنواعه و توضع على سطح الوسط المغذي داخل علب بتري.
- نترك العلبة على سطح طاولة المخبر لمدة 30 دقيقة ثم نضعها بشكل مقلوب في الحاضنة تحت درجة حرارة 37° لمدة 24 سا.
- كما قمنا بتحضير ثلاث أطباق بتري تحتوي على المضادات الحيوية و DMSO لكل سلالة بكتيرية مدروسة

ملاحظة:

نطبق على كل بكتيريا (***E.coli, P.Aerogenosa, S. aureus***) ست مستخلصات (المستخلص المائي و مستخلص مزيج(الايثانول + الماء) (8-2) عن طريق النقع و المستخلص الايثانولي عن طريق الغليان بالنسبة لقشور الرمان الحامض و الحلو بالتراكيز (100 %، 75%، 50%، 25%) . تكرر العملية مرتين في كل علبة بيتري.

- **قراءة النتائج:**
- المستخلص له قدرة فعالة ضد البكتيريا إذا كان قطر التثبيط اكبر من محيط القرص.
- وجود منطقة واضحة حول القرص اختبار ايجابي و غيابها اختبار سلبي.
- يتم قياس أقطار التثبيط بواسطة مسطرة من ثلاث جهات و حساب المتوسط

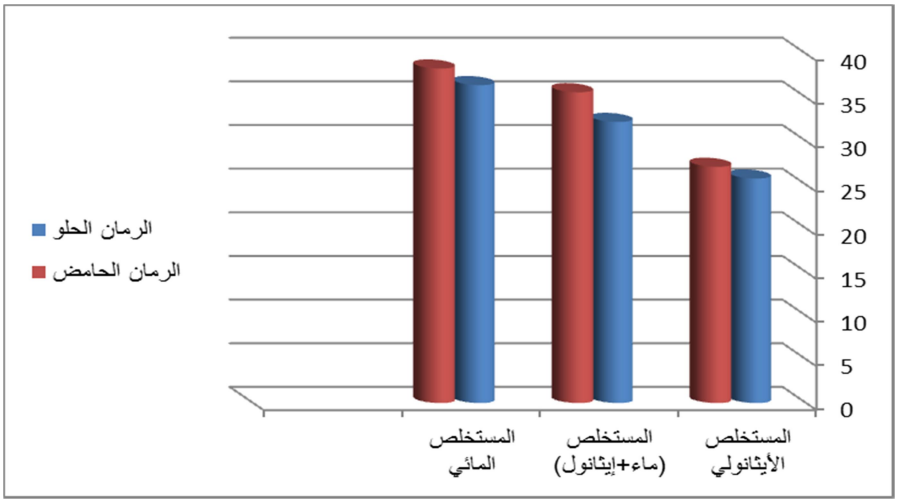
الفصل الثاني

النتائج والمناقشة

1) حساب مردود المستخلصات:

تم حساب المردودية لإنتاجية المستخلصات انطلاقا من كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة وكتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة لكلا المستخلصات وكانت نسبة المردودية الإنتاجية لكلا مستخلص كما هي موضحة في الجدول 12

كتلة العينة	المستخلص	الكتلة المتحصل عليها ب غ	المردود(%)
50غ	المستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحلو	12.86	25.72
	المستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحامض	13.53	27.06
	المستخلص مزيج (الإيثانول+ماء) لقشور الرمان الحلو	16.10	32.20
	المستخلص مزيج (الإيثانول+ماء) لقشور الرمان الحامض	17.80	35.60
	المستخلص المائي لقشور الرمان الحلو	18.21	36.42
	المستخلص المائي لقشور الرمان الحامض	19.16	38.32



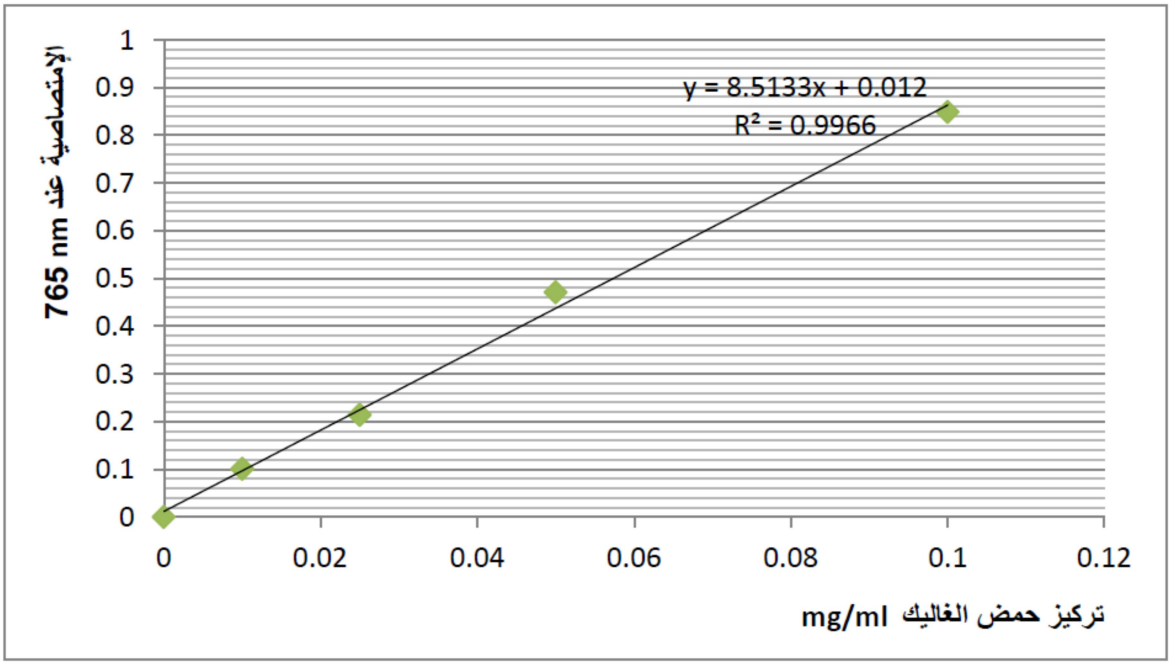
الشكل16: اعمد بيانية تمثل مردود المستخلصات (%) المستعملة لدراسة الفعالية البيولوجية

من خلال الجدول الجدول (12) و الشكل(16) نلاحظ أن مردود المستخلص المائي كان معتبر حيث بلغ 38.32 % بالنسبة لقشور الرمان الحامض بينما 36.42 % لقشور الرمان الحلو ثم يليه مستخلص المزيج (ماء+ إيثانول) حيث بلغ 35.60 % بالنسبة لقشور الرمان الحامض بينما 32.20 % لقشور الرمان الحلو في حين أن نسبة مردود المستخلص الإيثانولي بالغليان كان اقل مقارنة بالمستخلص المائي و مستخلص المزيج (ماء+ إيثانول) حيث بلغ 27.06 % بالنسبة لقشور الرمان الحامض بينما 25.72 % لقشور الرمان الحلو، هذا ما يدل على أن قشور الرمان غنية بالمركبات القطبية و أن نسبتها تكون اكثر في قشور الرمان الحامض.

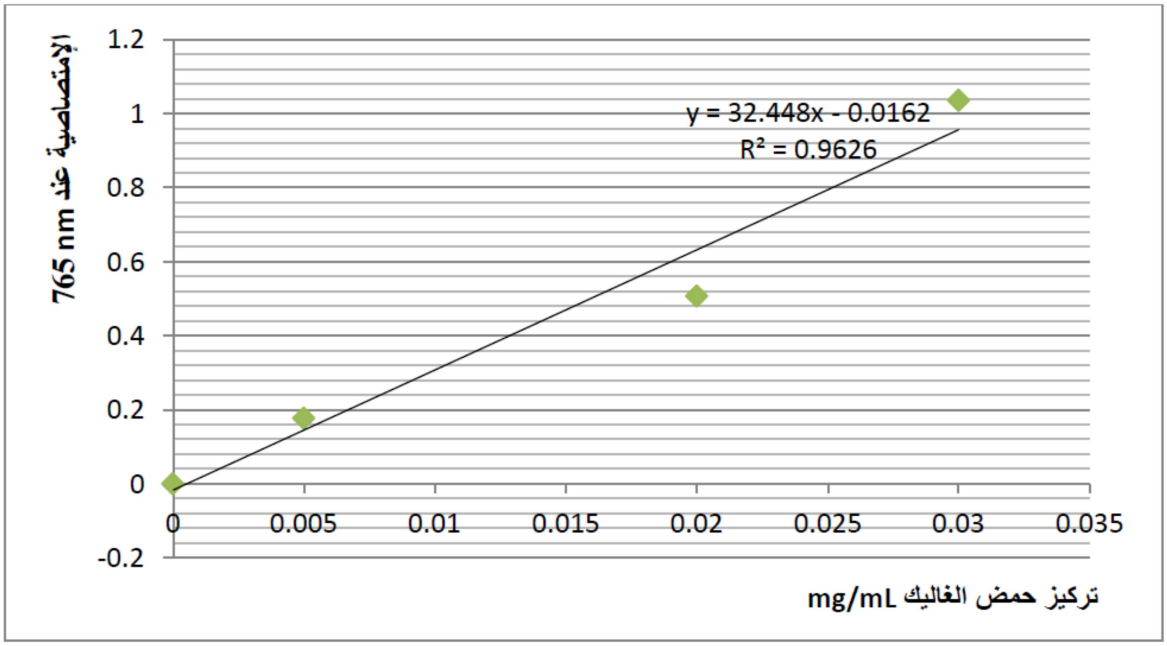
2 تقدير المركبات الفينولية و الفلافونيدية لمستخلصات

1.2 تقدير المركبات الفينولية الكلية

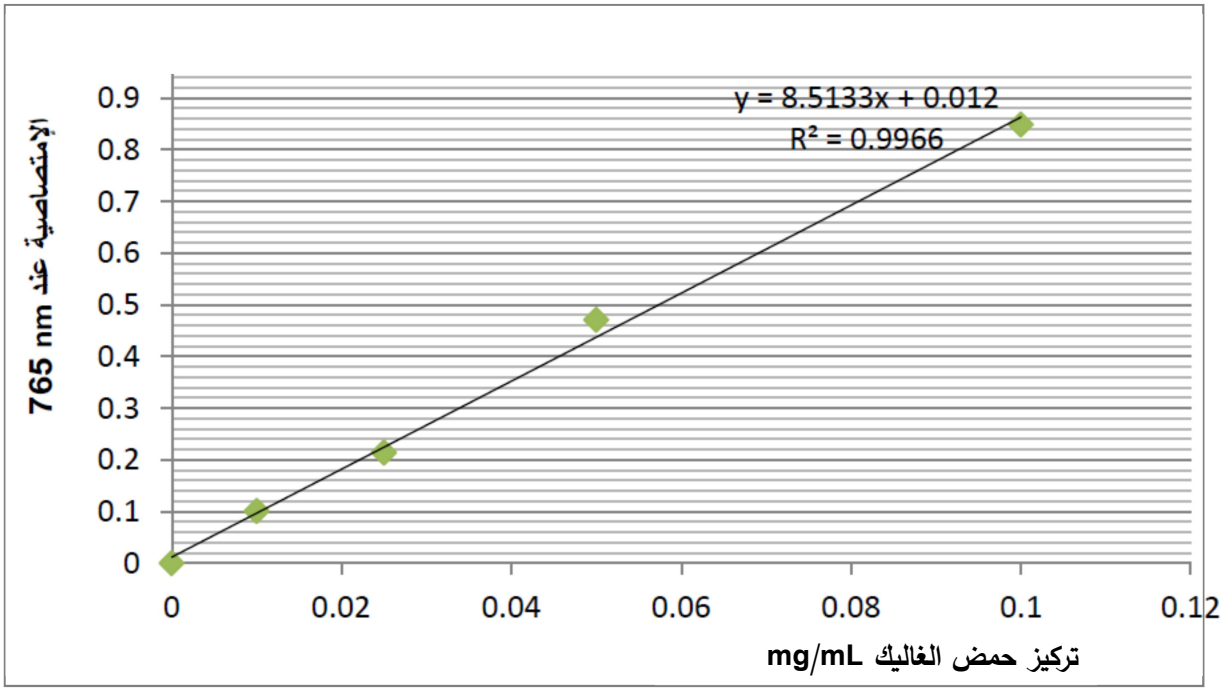
بإستعمال منحنى العيارية لحمض الغاليك للمستخلص الإيثانولي، المائي و المزيج (ماء+إيثانول) الموضح في الاشكال (17، 18،19) تم تدوين النتائج المتعلقة بتقدير المركبات الفينولية للمستخلصات الإيثانولية و المائية و المزيج (ماء+إيثانول) كما هو موضح في الشكل (17) :



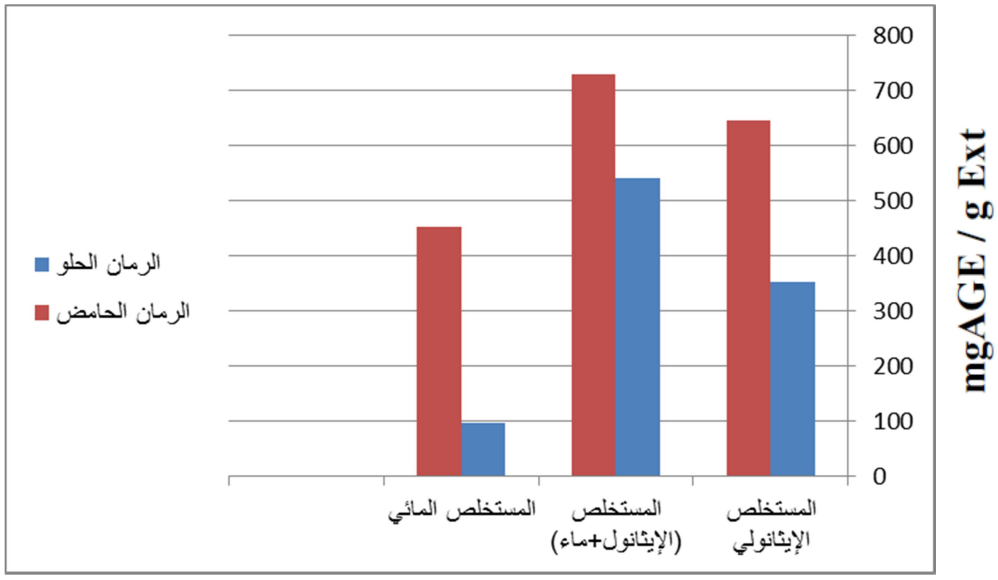
الشكل : (17) منحنى عيارية لحمض الغاليك للمستخلص الإيثانولي.



الشكل (18): منحنى عيارية لحمض الغاليك للمستخلص المائي.



الشكل (19): منحنى عيارية لحمض الغاليك للمستخلص(الإيثانول +ماء).

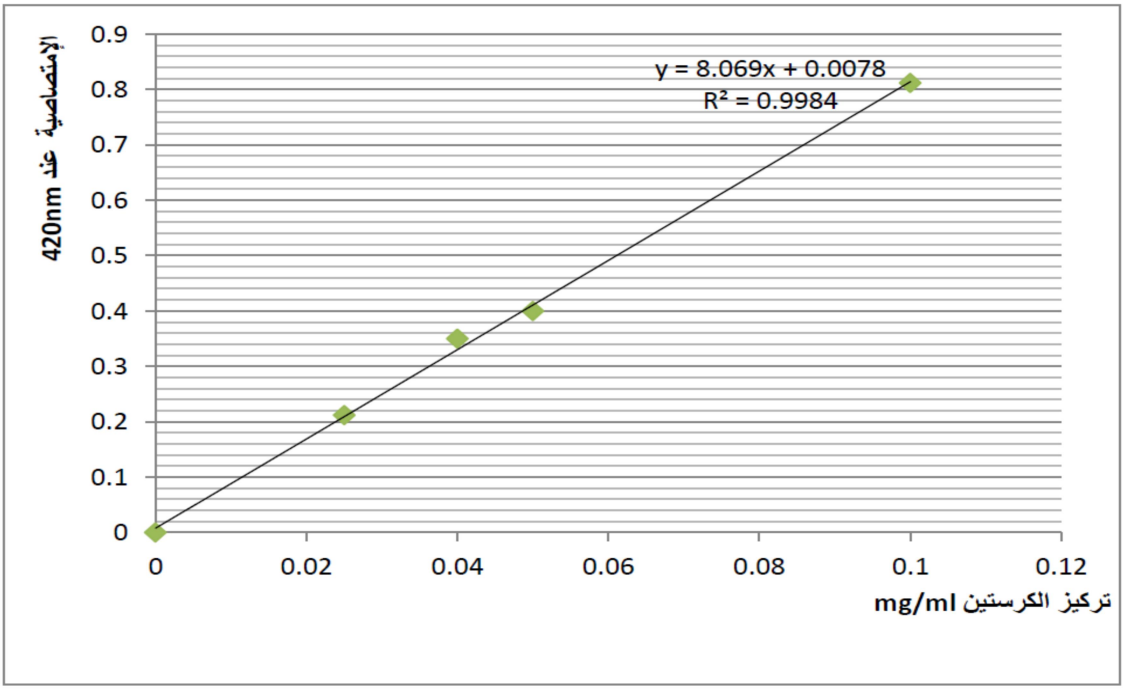


الشكل : **(20)** كمية عديدات الفينول بالملغ مكافئ لحمض الغاليك/ غ من وزن المستخلص (mgAGE/g Extract)

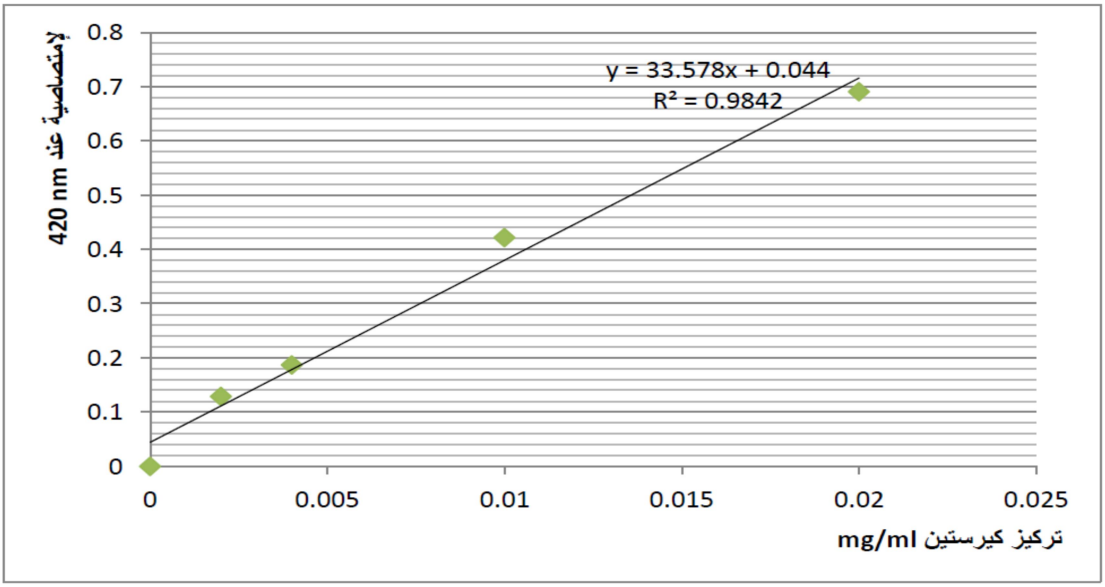
من خلال النتائج المدرجة في الشكل (20) والتي تمثل التقدير الكمي لعديدات الفينول بالملغ المكافئ لحمض الغاليك لكل غرام من وزن المستخلص، لوحظ أن كمية المركبات الفينولية للمستخلصات كانت متفاوتة إذ قدرت قيمتها ب 729.446 mg GAE/g Ext لمستخلص المزيج (ماء+ إيثانول) بالنسبة لقشور الرمان الحامض بينما 540.918 mg GAE/g Ext لقشور الرمان الحلو و يليه المستخلص الإيثانولي حيث بلغت643.698 mg GAE/g Ext لقشور الرمان الحامض بينما 352.977 mg GAE/g Ext لقشور الرمان الحلو في حين أن كميتها في المستخلص المائي كان اقل مقارنة بالمستخلص مستخلص المزيج (ماء+ إيثانول) و المستخلص الإيثانولي حيث بلغت 452.223 mg GAE/g Ext بالنسبة لقشور الرمان الحامض بينما 97.201mg GAE/g Ext لقشور الرمان الحلو، من خلال النتائج يتبين أن اختلاف في نوع المذيب يؤثر في مردود الفينولات الكلية، فالمستخلص المزيج (ماء+ إيثانول) يضم أكبر كمية من عديدات الفينول مقارنة بالمستخلص المائي، وهذا يعود إلى اختلاف نسبة الذوبانية والقطبية للمركبات في المذيبات، و هذا يعني أيضا أن المزيج (ماء+ إيثانول) لديه القدرة الأكبر لإذابة الفينولات المتواجد في هذا النبات

2.2 تقدير المركبات الفلافونيدية:

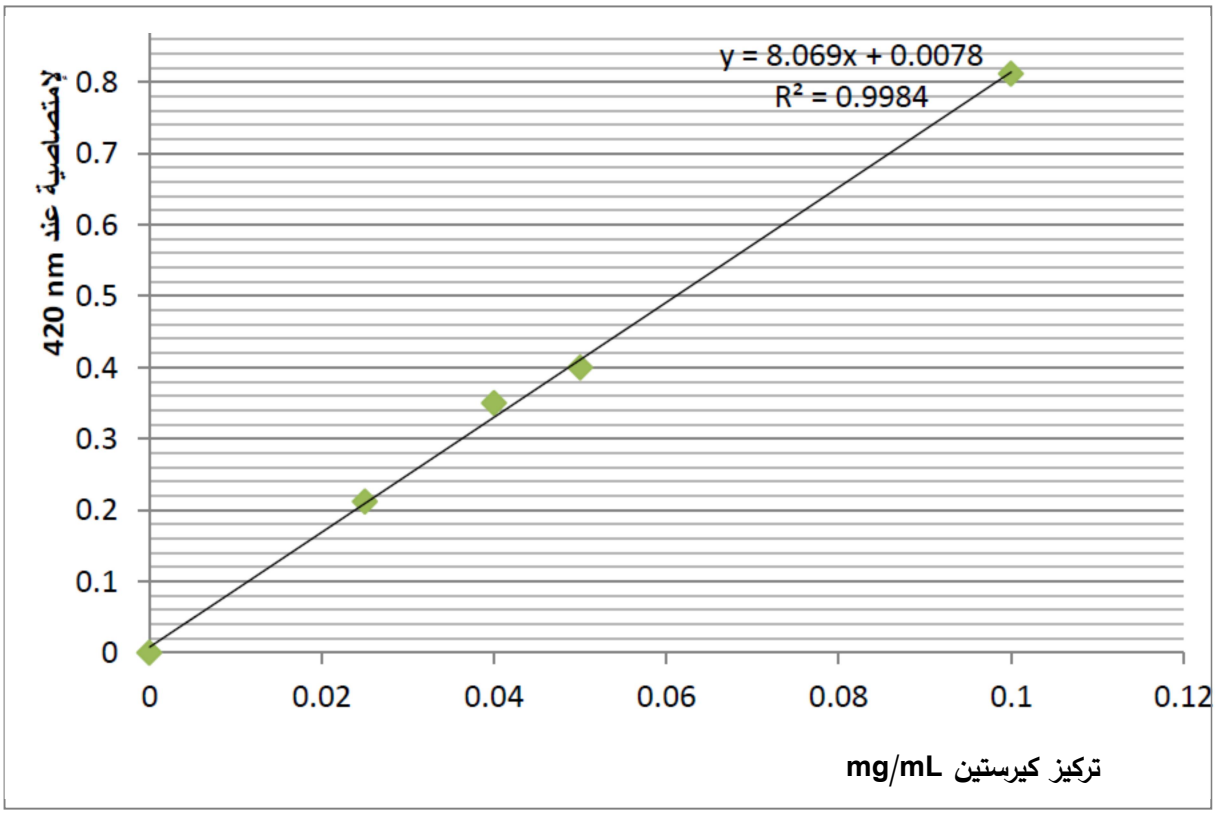
باستعمال منحنى العيارية لمركب الكرستين للمستخلص الإيثانولي، المائي و المزيج (ماء + إيثانول) الموضح في الاشكال (21، 22،23) تم تدوين النتائج المتعلقة بتقدير كمية الفلافونيدات للمستخلصات الإيثانولية و المائية و المزيج (ماء + إيثانول) كما هو موضح في الشكل (21) :



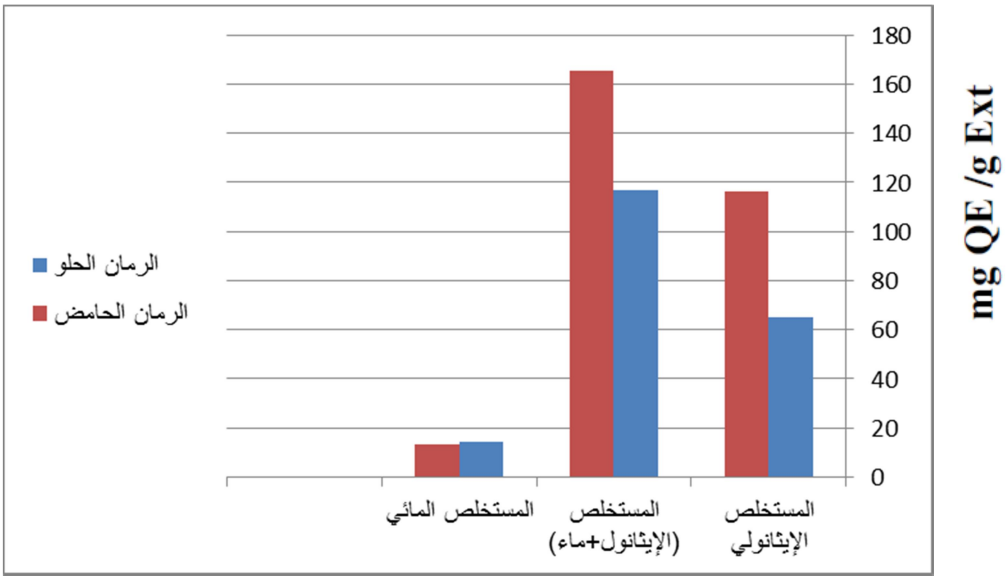
الشكل(21): منحنى عيارية للمركب الكرستين للمستخلص الإيثانولي.



الشكل(22): منحنى عيارية للمركب الكرستين للمستخلص المائي.



الشكل(23): منحنى عيارية للمركب الكرستين للمستخلص(الإيثانول +ماء).



الشكل : **(24)** كمية الفلافونيدات بالملغ مكافئ للكرستين/ غ من وزن المستخلص.
(mg QE/g Extract)

يظهر من خلال الشكل (24) الذي يعبر عن كمية الفلافونيدات بعدد المليغرامات الموافقة للكرستين لكل غرام من وزن المستخلص، أن كمية الفلافونيدات المتواجدة بالمستخلص الإيثانولي والتي قدرت قيمتها ب 167.373 mg QE/g Ext لمستخلص المزيج (ماء+ إيثانول) بالنسبة لقشور الرمان الحامض بينما 116.792 mg QE/g Ext لقشور الرمان الحلو و يليه المستخلص الإيثانولي حيث بلغت116.296 mg QE/g Ext لقشور الرمان الحامض بينما 64.989 mg QE/g Ext لقشور الرمان الحلو في حين أن كميتها في المستخلص المائي كان اقل مقارنة بالمستخلص مستخلص المزيج (ماء+ إيثانول) و المستخلص الإيثانولي حيث بلغت 97.201 mg QE/g Ext بالنسبة لقشور الرمان الحلو بينما 13.58 mg QE/g Ext لقشور الرمان الحامض.

من خلال النتائج المتحصلة عليها نلاحظ أن هناك علاقة طردية بين تركيز الفينولات والفلافونويدات، حيث كلما زاد تركيز الفينولات يزداد تركيز الفلافونويدات و بمان كمية الفلافونويدات في مستخلص المزيج (ماء+ إيثانول) أعلى من المتواجدة في المستخلص المائي و المستخلص الإيثانولي و هذا ما يتطابق مع ما تحصلنا عليه سابقا حيث كانت كمية الفينولات أعلى في مستخلص المزيج (ماء+ إيثانول).

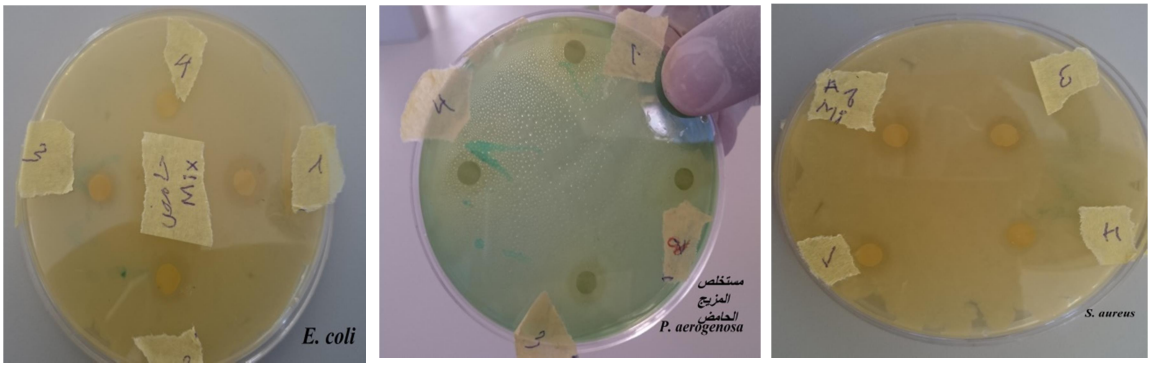
3 دراسة الفعالية ضد البكتيريا للمستخلصات:

1.3 مستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحامض:

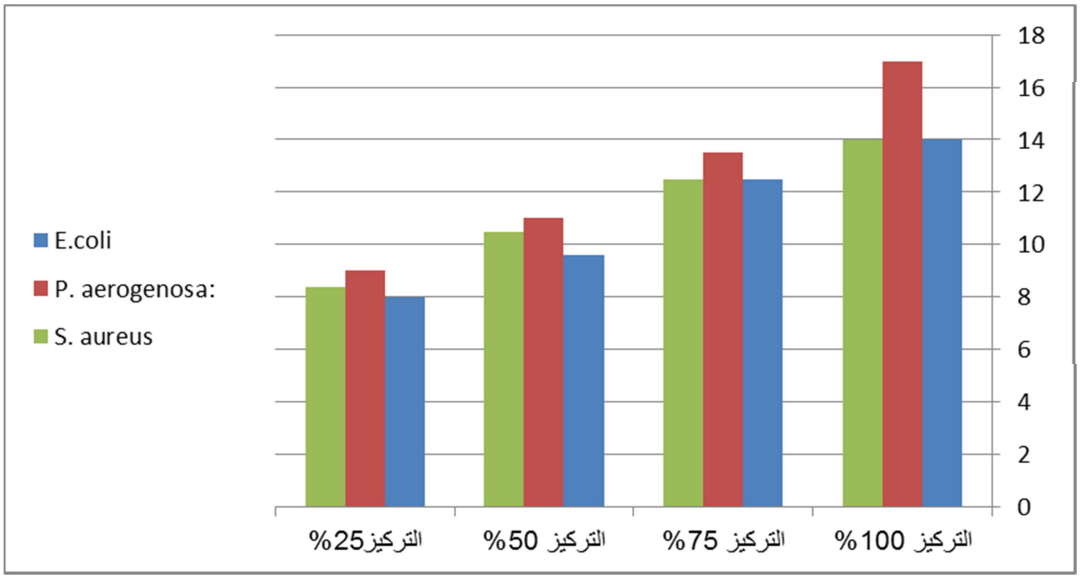
أدت معاملة السلالات البكتيرية المختبرة بمستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحامض و بتراكيز مختلفة إلى رسم مناطق تثبيط موضحة في الجدول(13) و الشكل (25،26)

	قطر منطقة التثبيط (ملم)			
التركيز / البكتيريا	%100	%75	%50	%25
Escherichia - coli	14	12.5	9.6	8
Pseudomonas aerogenosa	17	13.5	11	9
Staphylococcus aureus	14	12.5	10.5	8.4

جدول 13: أقطار مناطق التثبيط (ملم) لمستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحامض



الشكل 25:أقطار مناطق التثبيط (ملم) لمستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحامض



شكل 26: أعمدة بيانية توضح أقطار التثبيط لمستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحامض

من خلال الجدول 13 و الشكل 26 نلاحظ أن مستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحامض حقق أقطار تثبيطية معتبرة عند كل السلالات البكتيرية.

عند E. coli نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 14 ملم مقارنة بالتركيز 75 % و 50% حيث بلغ قطر التثبيط 12.5ملم و 9.6 ملم على التوالي. بينما سجل أقل قطر تثبيط في التركيز 25 % حيث بلغ 8 ملم.

أما عند P. aerogenosa نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 17 ملم مقارنة بالتركيز 75 %و 50 % حيث بلغ قطر التثبيط 13.5 ملم و 11 ملم على التوالي. بينما سجل أقل قطر تثبيط في التركيز 25 % حيث بلغ 9 ملم.

أما عند S. aureus نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 14 ملم مقارنة بالتركيز 75 %و 50 % حيث بلغ قطر التثبيط 12.5 ملم و 10.5 ملم على التوالي. بينما سجل أقل قطر تثبيط في التركيز 25 % حيث بلغ 8.4 ملم.

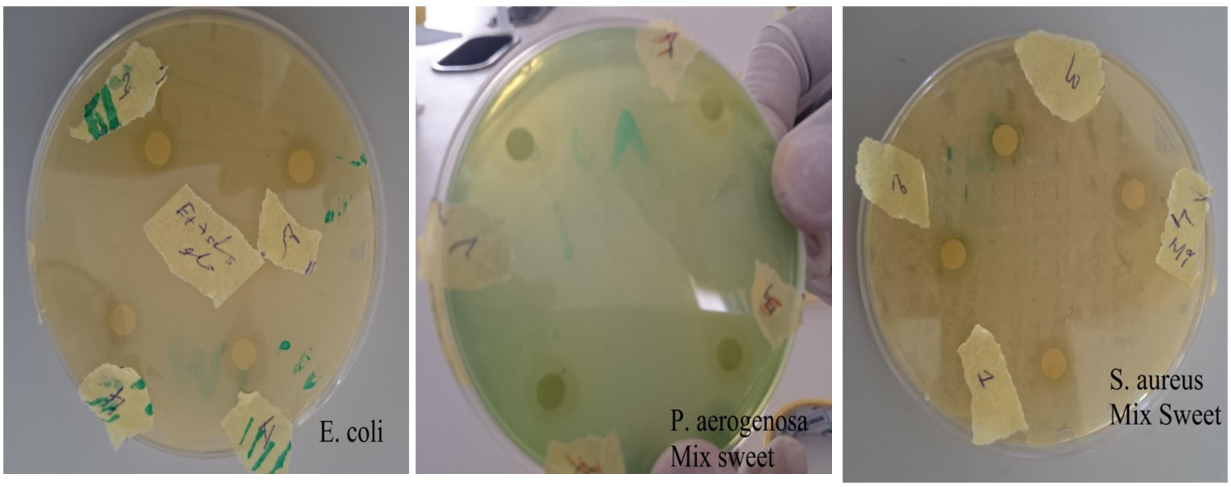
ومنه يمكن القول أن P. aerogenosa أكثر حساسية لمستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحامض تليها S. aureus ثم E. coli ، و يعزى ذلك إلى أن المادة الفعالة لديها فعالية حيوية و بيولوجية ضد الاحياء المجهرية حيث زيادة المادة الفعالة تعمل على تثبيط انواع من البكتيريا .

2.3 مستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحلو:

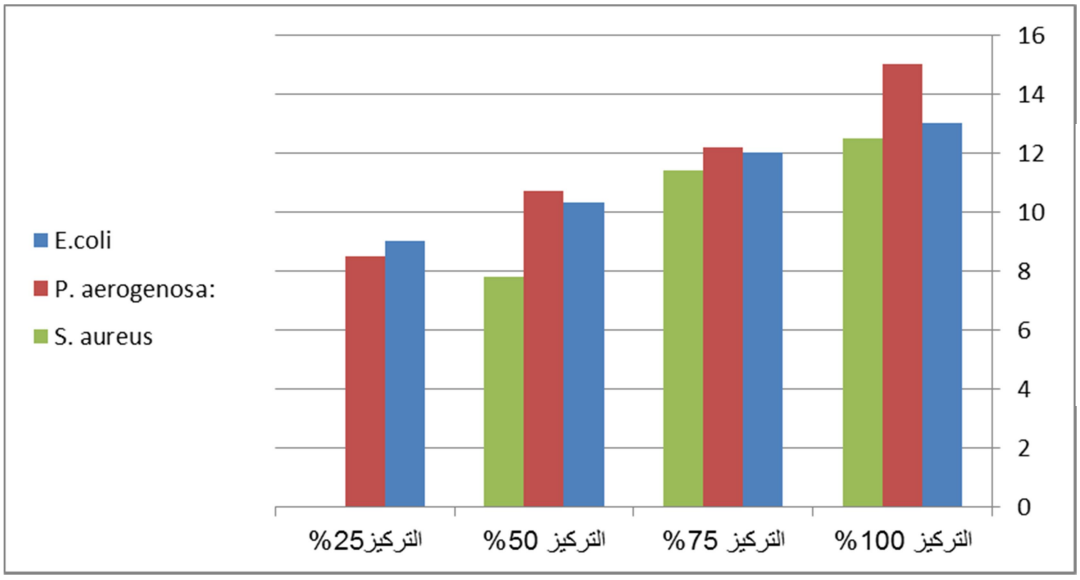
أدت معاملة السلالات البكتيرية المختبرة بمستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحلو و بتراكيز مختلفة إلى رسم مناطق تثبيط موضحة في الجدول(14) و الشكل (28،27)

	قطر منطقة التثبيط (ملم)			
التركيز / البكتيريا	%100	%75	%50	%25
Escherichia - coli	13	12	10.3	9
Pseudomonas aerogenosa	15	12.2	10.7	8.5
Staphylococcus aureus	12.5	11.4	7.8	-

جدول 14: أقطار مناطق التثبيط (ملم) لمستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحلو



الشكل 27:أقطار مناطق التثبيط (ملم) لمستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحلو



شكل 28: أعمدة بيانية توضح أقطار التثبيط لمستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحلو

من خلال الجدول 14 و الشكل 28 نلاحظ أن مستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحلو حقق أقطار تثبيطية معتبرة عند كل السلالات البكتيرية.

عند E. coli نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 13 ملم مقارنة بالتركيز 75 % و 50% حيث بلغ قطر التثبيط 12ملم و 10.3 ملم على التوالي. بينما سجل أقل قطر تثبيط في التركيز 25 % حيث بلغ 9 ملم.

أما عند P. aerogenosa نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 15 ملم مقارنة بالتركيز 75 %و 50 % حيث بلغ قطر التثبيط 12.2 ملم و 10.7 ملم على التوالي. بينما سجل أقل قطر تثبيط في التركيز 25 % حيث بلغ 8.5 ملم.

أما عند S. aureus نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 12.5 ملم مقارنة بالتركيز 75 %و 50 % حيث بلغ قطر التثبيط 11.4 ملم و 7.8 ملم على التوالي. بينما لم نسجل أي قطر تثبيط في التركيز 25 % .

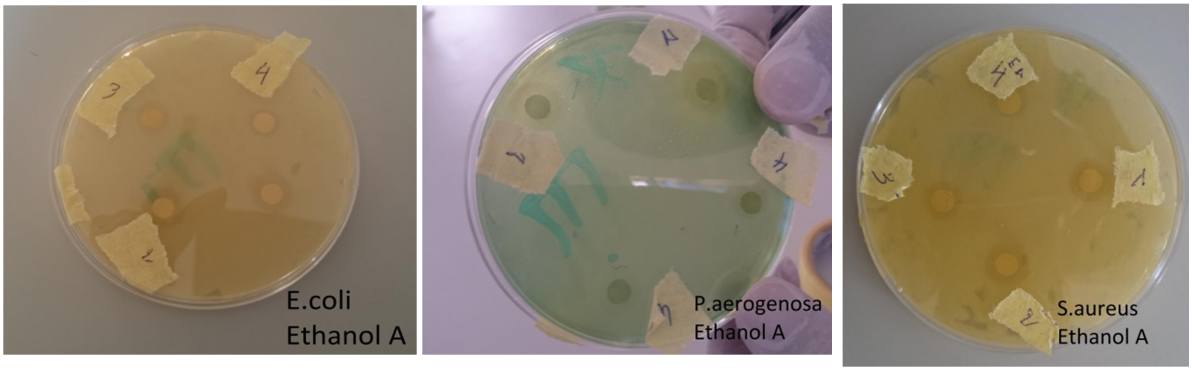
ومنه يمكن القول أن P. aerogenosa أكثر حساسية لمستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحلو

3.3 المستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحامض:

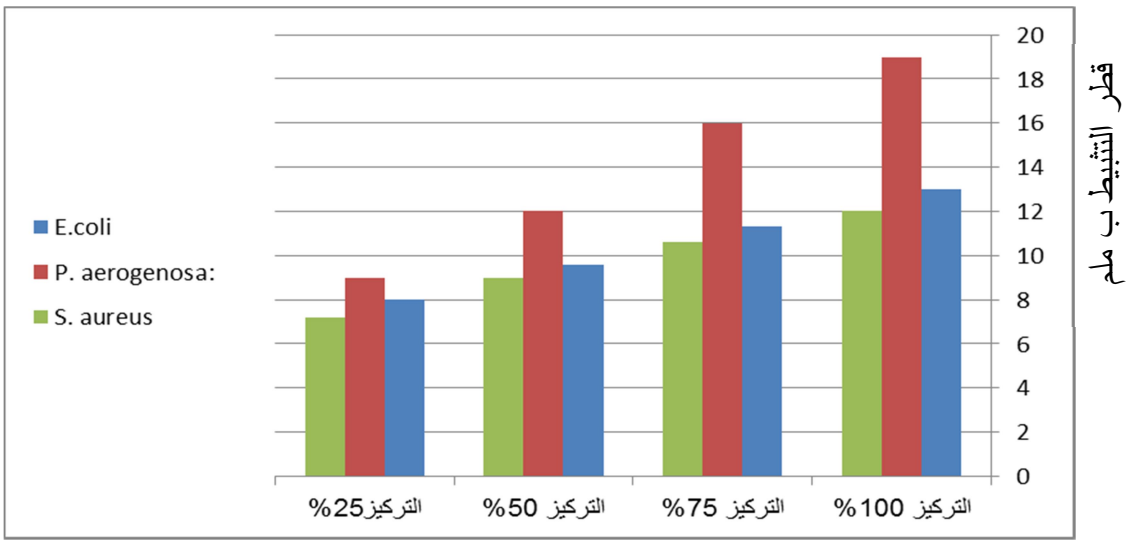
أدت معاملة السلالات البكتيرية المختبرة بالمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحامض و بتراكيز مختلفة إلى رسم مناطق تثبيط موضحة في الجدول(15) و الشكل (30،29)

	قطر منطقة التثبيط (ملم)			
التركيز / البكتيريا	%100	%75	%50	%25
Escherichia - coli	13	11.3	9.6	8
Pseudomonas aerogenosa	19	16	12	9
Staphylococcus aureus	12	10.6	9	7.2

جدول 15: أقطار مناطق التثبيط (ملم) للمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحامض



الشكل 29:أقطار مناطق التثبيط (ملم) للمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحامض



شكل 30: أعمدة بيانية توضح أقطار التثبيط للمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحامض

من خلال الجدول 15 و الشكل 30 نلاحظ أن لمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحامض حقق أقطار تثبيطية معتبرة عند كل السلالات البكتيرية.

عند E. coli نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 13 ملم مقارنة بالتركيز 75 % و 50% حيث بلغ قطر التثبيط 11.3ملم و 9.6 ملم على التوالي. بينما سجل أقل قطر تثبيط في التركيز 25 % حيث بلغ 8 ملم.

أما عند P. aerogenosa نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 19 ملم مقارنة بالتركيز 75 %و 50 % حيث بلغ قطر التثبيط 16 ملم و 12 ملم على التوالي. بينما سجل أقل قطر تثبيط في التركيز 25 % حيث بلغ 9 ملم.

أما عند S. aureus نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 12 ملم مقارنة بالتركيز 75 %و 50 % حيث بلغ قطر التثبيط 10.6 ملم و 9 ملم على التوالي. بينما . بينما سجل أقل قطر تثبيط في التركيز 25 % حيث بلغ 7.2 ملم.

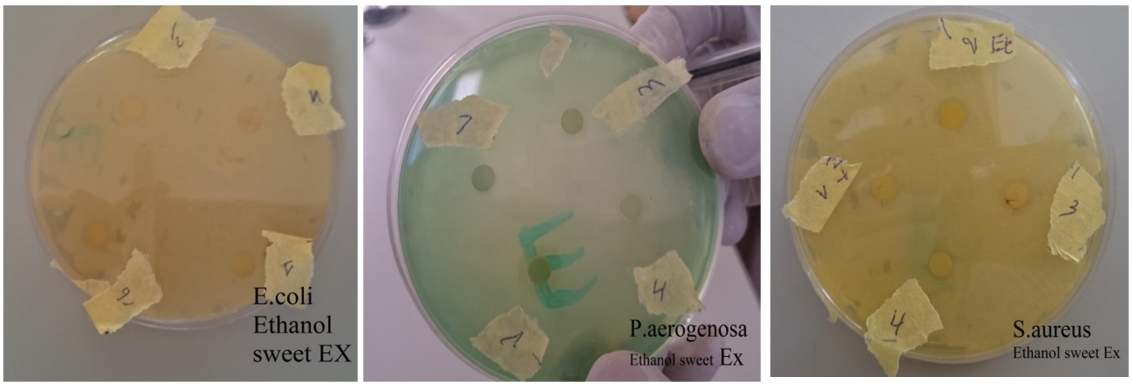
ومنه يمكن القول أن P. aerogenosa أكثر حساسية للمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحامض تليها E. coli ثم S. aureus ، و يعزى ذلك إلى كمية و نوعية المواد الفعالة المتحررة و المذابة في الكحول الإيثيلي و التي تتأثر بدرجة الحرارة لذلك نلاحظ وجود هذا الاختلاف لديها فعالية حيوية و بيولوجية ضد الاحياء المجهرية حيث زيادة المادة الفعالة تعمل على تثبيط انواع من البكتيريا .

4.3 المستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحلو:

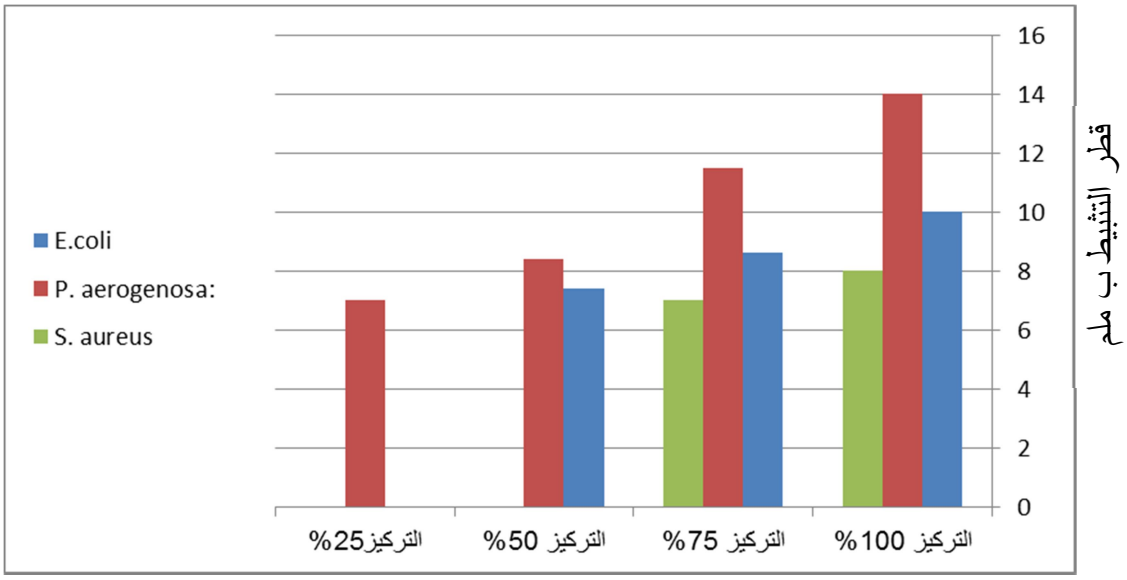
أدت معاملة السلالات البكتيرية المختبرة بالمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحلو و بتراكيز مختلفة إلى رسم مناطق تثبيط موضحة في الجدول(16) و الشكل (31،32)

	قطر منطقة التثبيط (ملم)			
التركيز / البكتيريا	%100	%75	%50	%25
Escherichia - coli	10	8.6	7.4	-
Pseudomonas aerogenosa	14	11.5	8.4	7
Staphylococcus aureus	8	7	-	-

جدول 16: أقطار مناطق التثبيط (ملم) للمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحلو



الشكل 31:أقطار مناطق التثبيط (ملم) للمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحلو



شكل 32: أعمدة بيانية توضح أقطار التثبيط للمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحلو

من خلال الجدول 16 و الشكل 32 نلاحظ أن المستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحلو حقق أقطار تثبيطية معتبرة عند كل السلالات البكتيرية.

عند E. coli نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 10 ملم مقارنة بالتركيز 75 % و 50% حيث بلغ قطر التثبيط 8.6ملم و 7.4 ملم على التوالي. بينما لم نسجل أي قطر تثبيط في التركيز 25 % .

أما عند P. aerogenosa نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 14 ملم مقارنة بالتركيز 75 %و 50 % حيث بلغ قطر التثبيط 11.5 ملم و 8.4 ملم على التوالي. بينما سجل أقل قطر تثبيط في التركيز 25 % حيث بلغ 7 ملم.

أما عند S. aureus نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 8 ملم مقارنة بالتركيز 75 % حيث بلغ قطر التثبيط 7 ملم. بينما لم نسجل أي قطر تثبيط في التركيز 50% و 25 % .

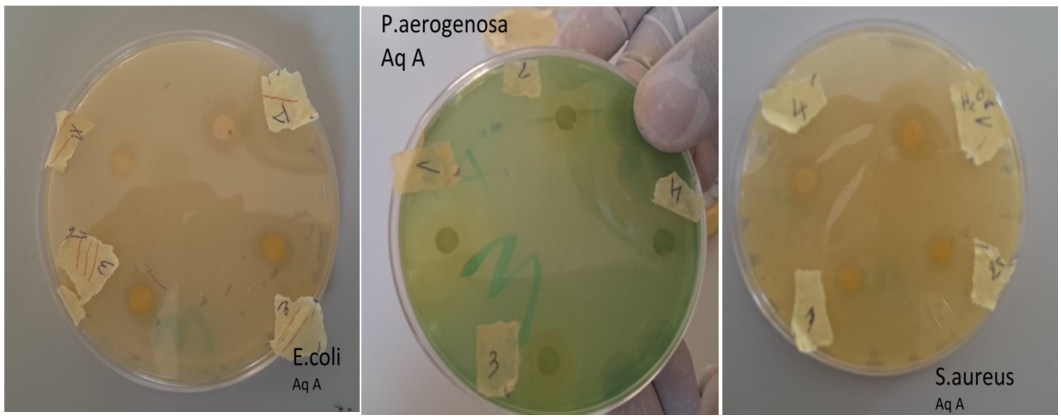
ومنه يمكن القول أن P. aerogenosa أكثر حساسية للمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحلو تليها E. coli ثم S. aureus ، أما في التراكيز المنخفضة لم تبدي كل من S. aureus و E. coli أي حساسية ضد هذه التراكيز (50 % ، 25%) و (25%) على الترتيب أي أن هذه الاخيرة كانت غير كافية لأحداث التأثير المطلوب ، و قد يرجع ذلك لانخفاض تركيز المواد الفعالة في هذه التراكسز ـو ربما يعود السبب في ـأثير المذيب الأيثانولي على المركبات الكيميائية لقشور الرمان مما يؤدي إلى فقدان قابليتها في التأثير التثبيطي ضد الجراثيم

5.3 المستخلص المائي لقشور الرمان الحامض:

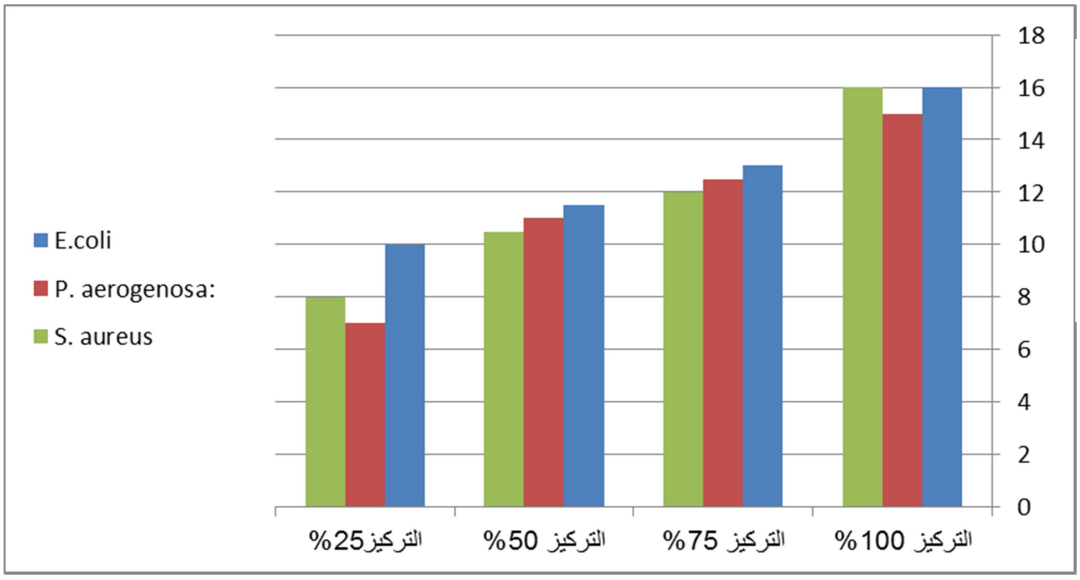
أدت معاملة السلالات البكتيرية المختبرة بالمستخلص المائي لقشور الرمان الحامض و بتراكيز مختلفة إلى رسم مناطق تثبيط موضحة في الجدول(17) و الشكل (33،34)

	قطر منطقة التثبيط (ملم)			
التركيز / البكتيريا	%100	%75	%50	%25
Escherichia - coli	16	13	11.5	10
Pseudomonas aerogenosa	15	12.5	11	7
Staphylococcus aureus	16	12	10.5	8

جدول 17: أقطار مناطق التثبيط (ملم) للمستخلص المائي لقشور الرمان الحامض



الشكل 33:أقطار مناطق التثبيط (ملم) للمستخلص المائي لقشور الرمان الحامض



شكل 34: أعمدة بيانية توضح أقطار التثبيط للمستخلص المائي لقشور الرمان الحامض

من خلال الجدول 17 و الشكل 34 نلاحظ أن لمستخلص المائي لقشور الرمان الحامض حقق أقطار تثبيطية معتبرة عند كل السلالات البكتيرية.

عند E. coli نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 16 ملم مقارنة بالتركيز 75 % و 50% حيث بلغ قطر التثبيط 13ملم و 11.5 ملم على التوالي. بينما سجل أقل قطر تثبيط في التركيز 25 % حيث بلغ 10 ملم.

أما عند ***P.*** aerogenosa نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 15 ملم مقارنة بالتركيز 75 %و 50 % حيث بلغ قطر التثبيط 12.5 ملم و 11 ملم على التوالي. بينما سجل أقل قطر تثبيط في التركيز 25 % حيث بلغ 7 ملم.

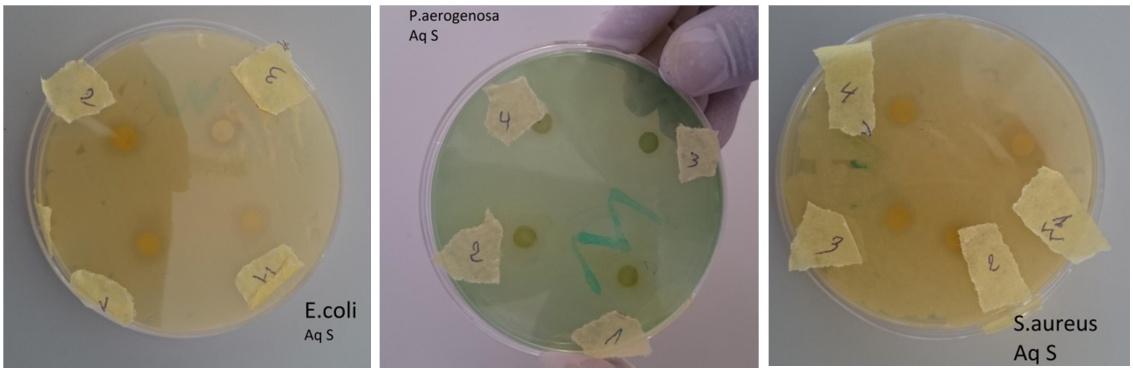
أما عند S. aureus نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 16 ملم مقارنة بالتركيز 75 %و 50 % حيث بلغ قطر التثبيط 12 ملم و 10.5 ملم على التوالي. بينما . بينما سجل أقل قطر تثبيط في التركيز 25 % حيث بلغ 8 ملم.

6.3 المستخلص المائي لقشور الرمان الحلو:

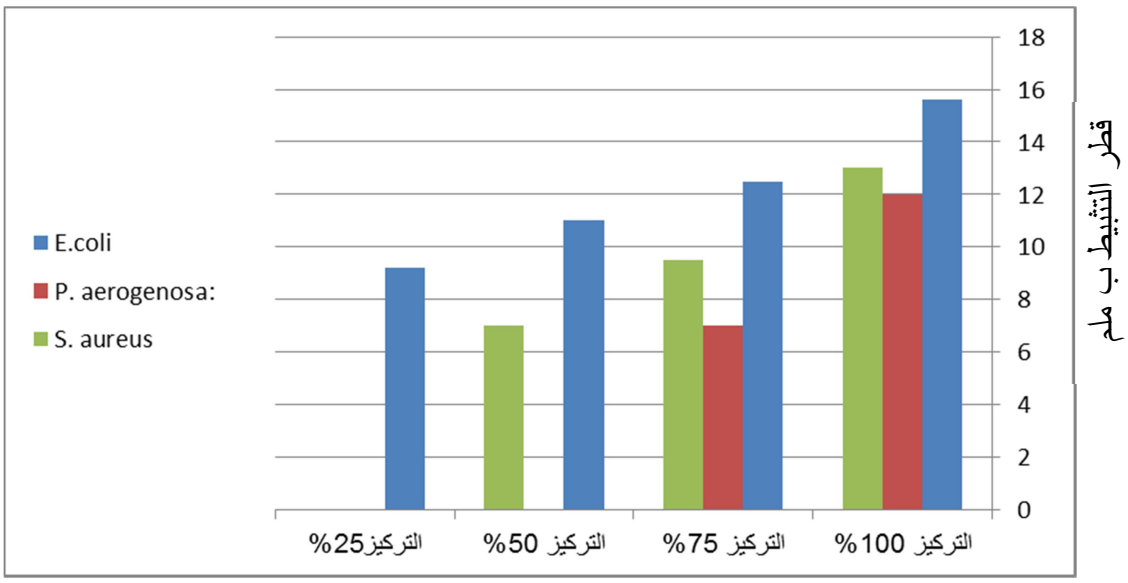
أدت معاملة السلالات البكتيرية المختبرة بالمستخلص المائي لقشور الرمان الحلو و بتراكيز مختلفة إلى رسم مناطق تثبيط موضحة في الجدول(18) و الشكل (35،36)

	قطر منطقة التثبيط (ملم)			
البكتيريا / التركيز	%100	%75	%50	%25
Escherichia - coli	15.6	12.5	11	9.2
Pseudomonas aerogenosa	12	7	-	-
Staphylococcus aureus	13	9.5	7	-

جدول 18: أقطار مناطق التثبيط (ملم) للمستخلص المائي لقشور الرمان الحلو



الشكل 35:أقطار مناطق التثبيط (ملم) للمستخلص المائي لقشور الرمان الحلو



شكل 36: أعمدة بيانية توضح أقطار التثبيط للمستخلص المائي لقشور الرمان الحلو

من خلال الجدول 18 و الشكل 36 نلاحظ أن المستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحلو حقق أقطار تثبيطية معتبرة عند كل السلالات البكتيرية.

عند E.coli نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 15.6 ملم مقارنة بالتركيز 75 % و 50% حيث بلغ قطر التثبيط 12.5ملم و 11 ملم على التوالي. بينما . بينما سجل أقل قطر تثبيط في التركيز 25 % حيث بلغ 9.2 ملم.

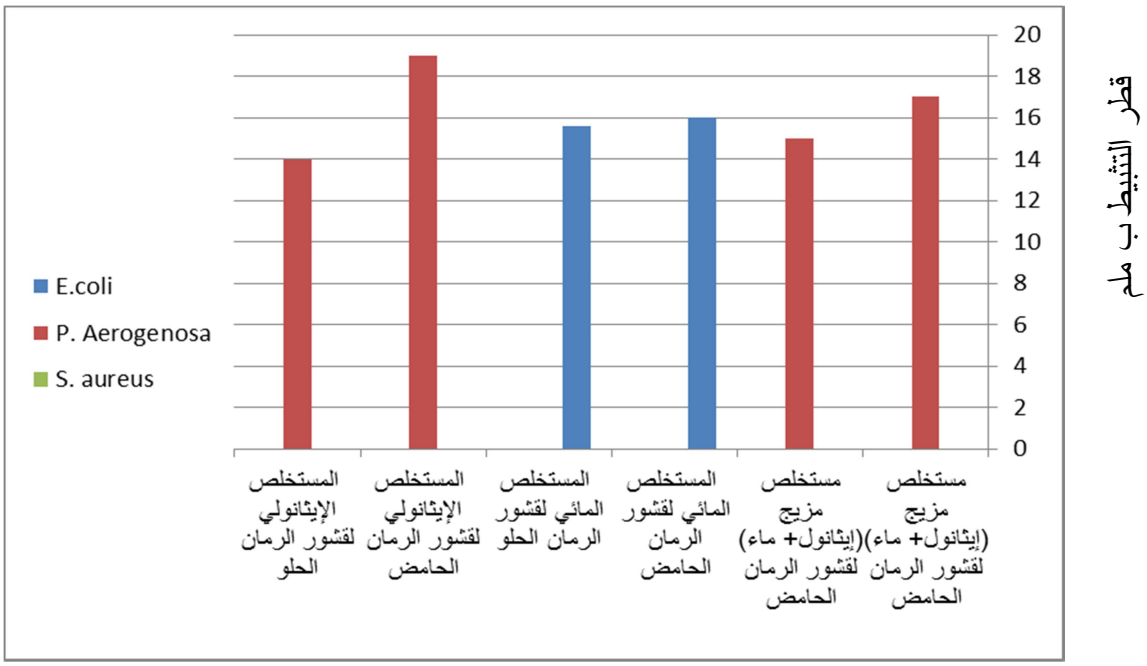
أما عند P.aerogenosa نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 12 ملم مقارنة بالتركيز 75 %و حيث بلغ قطر التثبيط 7 ملم. بينما . بينما لم نسجل أي قطر تثبيط في التركيز 50% و 25 % .

أما عند S.aureus نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز 100 % إذ بلغ 13 ملم مقارنة بالتركيز 75 % و 50% حيث بلغ قطر التثبيط 9.5ملم و 7 ملم على التوالي.. بينما لم نسجل أي قطر تثبيط في التركيز 25 % .

و منه يمكن القول أن E.coli كانت حساسة للتراكيز العالية تليها ***S. aureus*** ثم ***P. aerogenosa*** و يعزى ذلك إلى كمية و نوعية المواد الفعالة المتحررة في هذا المستخلص و قطبية المذيب [41]، إذ ان الماء يعمل على تفكيك المواد القابلة للتحلل مثل التانينات المتحللة، القلويدات، الغليموزيدات والصابونيات.

أما في التراكيز المنخفضة لم تبدي كل من ***S. aureus*** ثم ***P. aerogenosa*** أي حساسية ضد هذه التراكيز(50 % 25 %) أي أن هذه التراكيز كانت غير كافية لإحداث الـأثير المطلوب و قد يرجع ذلك لانخفاض تركيز المواد الفعالة في هذا التركيز و ذلك باختلاف تركيب الرمان الحامض على الرمان الحلو

4 مقارنة المستخلصات السابقة



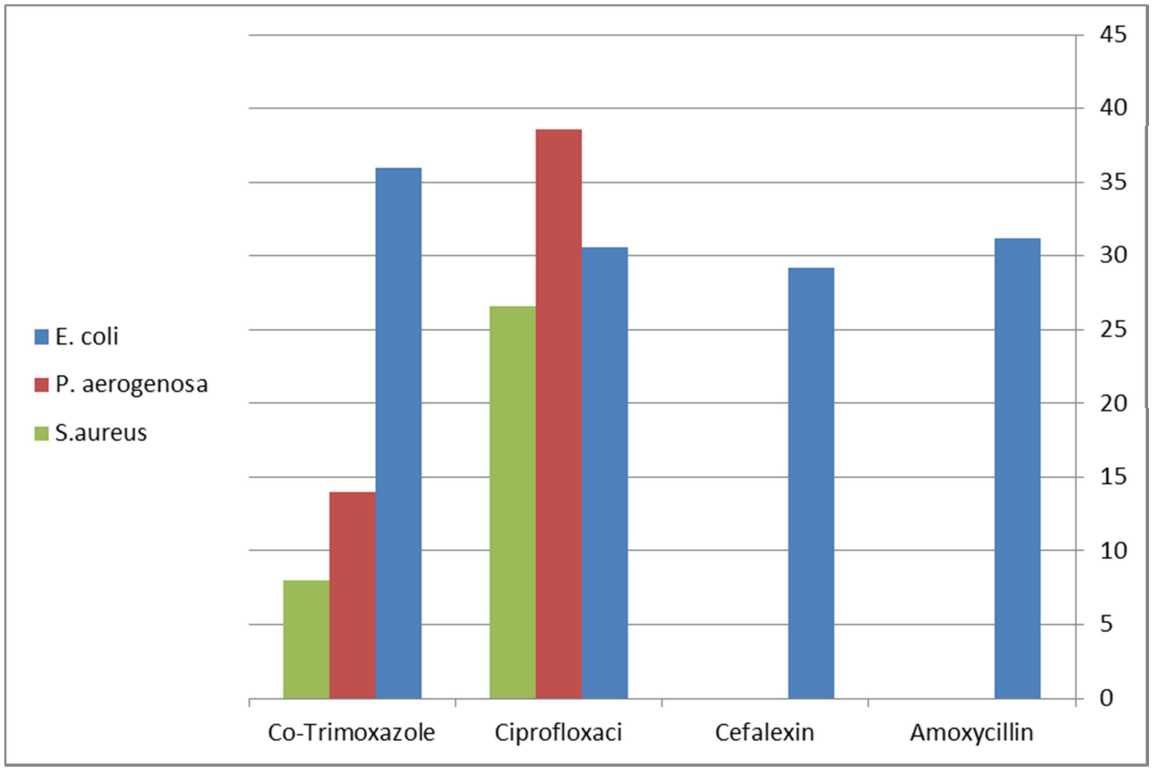
شكل 37: مقارنة أقطار التثبيط للمستخلص عند التركيز100%

من خلال الشكل (37) نلاحظ أن المستخلص اللاإيثانولي لقشور الرمان الحامض حقق أعلى قطر تثبيطي مقارنة بالمستخلصات الاخرى عند السلالة البكتيرية P. aerogenosa (19 ملم) ثم يليه المستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحامض بقطر (17 ملم) عند السلالة البكتيرية P. aerogenosa ثم يليه المستخلص المائي لقشور الرمان الحامض بقطر (16 ملم) عند السلالة البكتيرية E.coli كما نلاحظ أنه يوجد اختلاف ملحوظ بين مستخلصات قشور الرمان الحامض و قشور الرمان الحلو

5 نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية:

جدول 19: أقطار مناطق تثبيط (ملم) للمضادات الحيوية على نمو السلالات البكتيرية المختبرة

قطر منطقة التثبيط (ملم)				
المضاد الحيوي / السلالات البكتيرية	Amoxycillin	Cefalexin	Ciprofloxaci	Co-Trimoxazole
Escherichia coli	31.2	29.2	30.6	36
Pseudomona aerogenosa	0	0	38.6	14
Staphylococcus aureus	0	0	26.6	8



شكل 38: أعمدة بيانية توضح أقطار التثبيط للمضادات الحيوية

انطلاقا من الجدول (19) و الشكل (38) نلاحظ أن المضادات الحيوية كان لها تأثير واضح على معظم السلالات البكتيرية.

- **بالنسبة للبكتيريا E.coli :** نجد انها كانت حساسة لمختلف المضادات الحيوية حيث سجلنا عندها اكبر معدلات أقطار تثبيط، كما أنها أبدت حساسية لمستخلص قشور الرمان إلى أن حساسيتها للمضادات الحيوية كانت أعلى.

- **بالنسبة لبكتيريا P.aerogenosa :** فنجد انها ابدت مقاومة لكل من المضادات الحيوية Amoxycillinو Cefalexin لكنها ابدت حساسية لكل من Ciprofloxaci و Co-Trimoxazole حيث سجلنا أقطار تثبيط قدرت ب 38.6، 14 ملم على الترتيب، و منه يمكن القول ان مستخلص قشور الرمان كانت أكثر فعالية من المضادات الحيوية حيث كان قطر التثبيط 19 ملم مع المستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الحامض.

- **بالنسبة لبكتيريا S.aureus:** ابدت مقاومة للمضادين Amoxycillin و Cefalexin و كانت حساسة لكل من Ciprofloxaci وCo-Trimoxazole بأقطار تثبيط قدرت ب 26.6، 8 ملم على الترتيب و منه نجد أن فعالية مستخلص قشور الرمان كانت أكثر من المضادات الحيوية إذ سجلنا عند المستخلص المائي لقشور الرمان الحامض قطر تثبيط قدر ب 16 ملم.

الخاتمة

الخاتمـــــة

كانت النباتات و الأعشاب الطبية محل اهتمام الإنسان منذ القدم فاعتمد عليها من أجل الرعاية الصحية، ومن بين النباتات الطبية الاكثر استعمالا في منطقتنا نبات الرمان لاحتوائه على مركبات فعالة طبيعية تختلف في البنية و التأثيرات البيولوجية و آلية العمل.

و من هذا المنطلق قمنا بدراسة تطبيقية شاملة حول جزء مهم من هذا النبات هو القشرة الخارجية لنبات الرمان، حيث يندرج هذا العمل في إطار تثمين قشور ثمار الرمان *Punica granatum.L* الذي ينتمي للعائلة *Punicaceae*.

و للوقوف على التركيب الكيميائي لهذه القشور قمنا بتحضير ثلاث مستخلصات (مستخلص إيثنولي ساخن، مستخلص مائي بارد و مستخلص مزيج من الإيثانول و الماء) لكل من قسور الرمان الحامض و الحلو. وتم تعيين كمية الفينولات الكلية كمية الفلافونويدات الموجودة فيها حيث كان وجودها بنسبة كبيرة في مستخلص مزيج (الإيثانول+ماء) حيث بلغت كمية المركبات الفينولية 729.446mg GAE/g Ext بنما سجلنا 167.373mg QE/g Ext بالنسبة لكمية الفلافونيدات في قشور الرمان الحامض.

و من أجل تدعيم الدراسة الكيميائية ارتئينا أن ندعم هذا العمل بدراسة بيولوجية حيث تم اختيار ثلاث سلالات بكتيرية (Gram positif) و (Gram negative) (*Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* و *Pseudomonas aerogenosa*) لاختبار الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلصات الستة حيث تم حساب مردود كل مستخلص فكان أعلى مردود للمستخلص المائي حيث وصل 38.32 % بالنسبة للرمان الحامض ثم يليه 36.42 % لقشور الرمان الحلو ثم يليه مستخلص المزيج (ماء+ إيثانول) حيث بلغ 35.60 % بالنسبة لقشور الرمان الحامض بينما 32.20 % لقشور الرمان الحلو ثم المستخلص الإيثانولي بالغليان حيث بلغ 27.06 % بالنسبة لقشور الرمان الحامض بينما 25.72 % لقشور الرمان الحلو.

و لإظهار الفعالية البيولوجية للمستخلصات السابقة استعملنا السلالات البكتيرية مزروعة في وسط MH و هذا اعتمادا على طريقة الانتشار بالأقراص و منه تم تحديد أقطار تثبيط لمختلف التراكيز عند جميع المستخلصات، حيث أظهرت هذه المستخلصات نشاطية متفاوتة بين الضعيفة و الواضحة ضد السلالات البكتيرية المختبرة ووجدنا كلما زاد التركيز زاد التثبيط و يرجع سبب انخفاض فعالية التثبيط لنقص تركيز المادة الفعالة في المستخلصات و اتضح في هذه الدراسة أن المستخلص الإيثانولي كان الأكثر فعالية في التثبيط، حيث رسمت مناطق تثبيط حتى مع أقل تركيز و هذا عند السلالة البكتيرية *Pseudomonas aerogenosa* و قد قدر قطر التثبيط ب 19 ملم عند التركيز 100 % ثم يليه

المستخلص المزيج (إيثانول + ماء) لقشور الرمان الحامض بقطر (17 ملم) عند السلالة البكتيرية *P. aerogenosa* ثم يليه المستخلص المائي لقشور الرمان الحامض بقطر (16 ملم) عند السلالة البكتيرية *E.coli* و *S.aureus*

و بذا توصلنا إلى أن الفعالية ضد البكتيريا لقشور الرمان الحامض أكبر منها بالنسبة لقشور الرمان الحلو باختلاف المذيبات المستعملة و كذلك توصلنا إلى أن البكتيريا سالبة الغرام أكثر حساسية لقشور الرمان من البكتيريا موجبة الغرام في التراكيز العالية.

ان استقراء كل ما سبق من نتائج توصلنا اليها يوضح أن قشور ثمار الرمان لها تأثير واسع على الأحياء المجهرية، حيث تعتبر قشور ثمار الرمان مخزون مثالي لأغلب المواد الفعالة و خاصة التانينات التي ترجع لها الفعالية البيولوجية. لذا يستفاد من قشور ثمار الرمان في امكانية انتاج مادة علاجية مضادة ميكروبية و التي تقلل من حدوث المقاومة التي تظهر بين البكتيريا نتيجة للاستخدام الواسع للمضادات الحيوية الشائعة، و كذلك يمكن استخدامها في علاج الامراض التي تسببها الفطريات، و هذا يفتح مجال واسع أمام استثمار النبتات الطبية عامة و الرمان خاصة.

ان تحسين هذه النبتات التي تتوفر على مواد طبيعية جديرة بالاستعمال في دساتير الأدوية و مكملات و إضافات غذائية .

المراجع

المراجع باللغة الأجنبية

[6] WALD E., 2009- le grenadier (punicagrantum) : plantehistorique tevolutions therapeutique srecentes. le diplôme d'etat de docteur en pharmacie , universite henri poincare nancy 1.P:158.
[7] CHAKRABORTY M., GARACHH D., PATEL A., KAMATH V., 2012- phytochemical and pharmacological profile of Punica granatum an overview, Vol. 3. No. 2. P: 67.[2]
[8] BEN ABDENNEBI M., 2012- Le grenadier tunisien (*Punica granatum*) stimule le transport de glucose dans les cellules musculaires C2C12 via la voie. Insulinodépendante de l'Akt et la voie insulino-indépendante de l'AMPK. Mémoire présenté à la Faculté de Médecine en vue de l'obtention du grade de Maîtrise en pharmacologie. Université de Montréal. P:82.
[9] HMID I., 2014- contribution a la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (Punica granatum L.) : caracterisation physicochimique, biochimique et stabilite deleur jus frais. thése de doctorat .Universite d'Angers, French.p:180.
[13] PARRENO M.,2013- Development and assessment of pomegranate (*Punicagranatum* L.) derived food produts. rich in bioactive phytochemicals.thése doctora. université Miguel Hernàndez de elche.P:199.
[14] LANSKY E., NEWMAN R., 2007- *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. Journal of Ethnopharmacology, 109.P:177-206.
[15] ISMAEIL C, ATILLA T, ISHAK I., 2009- Hepatoprotective role and antioxidant capacity of pomegranate. .Food and chemical toxicology 47.PP: 145-149.
[16] CHAKRABORTY M., GARACHH D., PATEL A., KAMATH V., 2012- phytochemical and pharmacological profile of Punica granatum an overview, Vol. 3. No. 2. P: 67.
[17] DEBJIT B., HARISH G., PRAGATI K., DURAIVE L., ARAVIND K., SAMPATH K., 2013- Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry Medicinal Uses of *Punica granatum* and Its Health Benefits .Vol 1 ,No 5. P: 28.
[18] MABRY T., THOMAS M., MARKHAM K., 1970- The systematic identification of flavonoids, Springer-Verlag. Berlin.p: 13.
[19] HHURABLEILLE M., 1980- Abrégé De Matière Médicale, Pharmacognosie, tom1 Généralisés. Mongraphies. Masson, P:10-18 ,261-266.
[21] El HAZIMI M., 1990- Natural product efficedes publications universitaires. Université Du Roi Saoud, P:152 .
[24] FONATINE E., BARNOUD D., SCHWEBEL C., LEVERVE X., 2002- Place des antioxydants dans la nutrition du patient septique. *Réanimation*. P :620-650.
[26] Dubai, A.S.and Kholaidi,A.A. (2005) Medicinal and Aromatic Plants in Yemen, "deployment -components of effective - uses" Ebadi Center for Studies and Publishing. Sana'a - Yemen. p53-54.

[27] **MAURO NM., 2006 -** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±) camptothécine. Thèse doctorat, Université Joseph fourier. 195p.[29] PALAZON J., CUSIDO R., MORALES C., 1999- Métabolisme et la signification biologique des polyphénols dans le vin, Groupe de biotechnologie des plantes, Faculté de Pharmacie, Université de Barcelone.p:156.
[30] DICARLO G., MASCOLO N., IZZO A., CAPASSO F., 1999- Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life Sciences, 65(4), 337-353.
[31] BROWN D., RASHOTTE A., MURPHY A., NORMANLY B., TAGUE W., PEER L., TAIZ G., 2001. Flavonoids act as negative regulators of auxine pharmacie. Botanique – Pharmacognosie – Phytothérapie – Homéopathie. Ed. Pharmacol, 32.P :1995.
[32] PIETTA P., 2000. Flavonoids as Antioxidants. Journal of Natural Products,63(7),1035-1042.
[33] ZHOU J., WANG L., WANG J., TANG N., 2001. Antioxidative and antitumour activities of solid quercetin metal(II) complexes. Transition Met. Chem ,26(1-2), 57-63.
[34] YOCHUM L., 1999. Dietary Flavonoid Intake and Risk of Cardiovascular Disease in Postmenopausal Women. American Journal of Epidemiology.p: 149-10.
[35] HERTOG M., 1995- Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart. disease and cancer in the seven countries study. Archives of Internal Medicine, Vol. 155 No. 4.p:28.
[36] CHAUDHRY P., CABRER A ., JULIANI H., VARMA S., 1983- Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and Indomethacin Biochem Pharmacol, vol 32.p:1995.
[38] DONATIEN K., 2009- enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes - extraction, identification d'alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : etude de leur activité antioxydante. These en cotutelle. l'universite paul verlaine de metz –upv- m ,france. P:188.
[39] ATTOU A., 2011- contribution a l'etude phytochimique et activites biologiques des extraits de la plante ruta chalepensis (fidjel) de la region d'ain temouchent. memoire en vue de l'obtention du diploma de magister en biologie. Universite abou bekr belkaid, tlemcen. P:199.
[41] :AHMED S., WANG N., HAFEEZ B., CHERUVU K., 2005- Haqqi TM :Punica granatum L extract inhibits IL- tbeta- induced expression of matrix metalloproteinases by inhibiting the activation of MAP kinases and NF-kappaB in human chondrocytes in vitro .135. P:2096-2102.
[52] BRUNETON J., 1999 - Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. Tec & Doc, Paris. P : 484 – 510.
[53] BERNADET M., 1983 - La phytoaromathérapie pratique. Usage thérapeutique des plantes médicinales et des huiles essentielles Ed. Dangles, France. P : 19 -78.

[55] PINTO W., NES W., 1685- Stereochemical Specificity for Sterols in Saccharomyces cerevisae. J. Biol. Chem. 28.P: 4472-4476.
[56] GUIGNARD J., 1996 - Abrégé de biochimie végetale. 1ére ed Mansson, paris, P : 145-156.
[58] RIRA M., 2006- effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. diplôme de Magister. university mentouri constantine facult des sciences. P: 95.
[59] BOUZID W., 2009 - etude de l'activité biologique des extraits du fruit de crataegus monogyna jacq. diplôme de magister, universite -el hadj lakhder - batna . P:99.
[63] PARRENO M.,2013- Development and assessment of pomegranate (*Punica granatum* L.) derived food produts. rich in bioactive phytochemicals.thése doctora.
université Miguel Hernàndez de elche.P:199.
[66] MELLIES J., BARRON A., CARMONA A., 2007- Enterpathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* virulence gene regulation. Infection and Immunity. p:4199- 4210.
[67] ADEGOKE A., KOMOLAFE A., 2009- Multidrug resistant *Stahylococcus aureus* in clinical cases in Ile-Ife, Southwest Nigeria**.** International Journal of Medicine and Medical Sciences. Vol. 1 (3), p: 68-72.
[68] POOL K., 2001- Multidrug effux pumps and antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and releted organisms. *J. MOL. Microbiol. Biotechnol.* (2001)3(2):255-264.
[69] MASUDA N., SAGAKAWA E., OHYA S., 1995- Outer membrane proteins lnresponsible for multiple drug resistance in Pseudomonas aeruginosa. Antimicrobial Agents and Chemotherapy.VOL.39. No.3. p:645-649.
[70] MBAEBIE BO., EDEOGA HO., AFOLAYAN AJ., 2012: Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of Schotia latifolia Jacq. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine .118-124

المراجع باللغة العربية

[1] العابد إ.، 2007 - دراسة العالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة للمستخلص القلويدي الخام لنبات الضمران *Traganum nudatum* . مذكرة ماجستير في الكيمياء .جامعة قاصدي مرباح بورقلة . ص:106

[2] . الشاوش ف.، حامد ف.، العيسي ع.، 2006 تحديد الصفات النوعية والكيميائية لأهم طرز الرمان *Punica granatum* في اليمن مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية .المجلد 22 .العدد .2 ص227 :

[3] طالب أ.، نواف فرحان ح.، محمد تركي أ.، - 2009 الفعاليه التثبيطية لمستخلصات تجاه البكتيريا المرضيه المعزولة من الامعاء والمعده *Punica granatum* قشور الرمان في الإنسان.مجلة جامعة اللأنبارللعلوم الصرفة،المجلد3 ، العدد 2: ص5

[4] قدامة أ، 1985 - قاموس الغذاء والتداوي بالنبات.الطبعة الخامسة ، منشورات دار .النفائس ، بيروت.ص: 345.

[5] خلف الله ع.، 1988- النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي ،جامعة الدول العربية ،المنظمة العربية للتنمية الزراعية، الخرطوم، دار مصر للطباعة.ص187.

[10] مجيد أ.، هاشم س.، محمود م.، - 1988 النباتات والاعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي .الطبعة الاولى. دار الثورة للطباعة والنشر، بغداد ص:211 .

[11] الحسيني أ ، 1997 مختصرة داود مختصرة التذكرة ورأي العلم الحديث . مكتبة ابن سينا للطباعة والنشر والتوزيع والتصدير ، القاهرة.ص:231

[12] متولي أ.، الوكيل ح.، 2010 - خدمة الحاصلات البستانية(الفاكهة). مصر العربية، ص:338 .

[20] دندوقي ح. ، 1989- دراسة الميتابوليزم الفلافونيدي لنبات Inula viscosa مذكرة ماجستير في الكيمياء العضوية .جامعة قسنطينة .ص:13 .

[22] شروانة س، 2007 - فصل و تحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدي للنبتة *Lycium arabicum L.* شهادة الماجستير .جامعة منتوري قسنطينة .ص :85

[23] بن مرعاش ع.، 2012- دراسة نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي و الفعالية المضادة للأكسدة للنبتة (Convolvulus supinus Coss. & Kral. (Convolvulaceae) شهادة الماجستير.جامعة منتوري بقسنطينة .ص:136

[25] عاشوري آ، 2004- فصل و تحديد منتجات الأيض الفلافونيدي Pulicaria crispa (Forsk) لنيل شهادة الماجستير .جامعة منتوري قسنطينة .ص :107

[28] **الحازمي ح** ، 1995 - المنتجات الطبيعية . مطابع جامعة الملك سعود .المملكة العربية السعودية. 120 - 125ص.

[37] زمالي ج.، 2007- دراسة فيتوكيميائية و بيولوجية لنبتة *Solanum nigrum*. مذكرة ماجستير في الكيمياء .جامعة قاصدي مرباح بورقلة.ص:140

[40] بوقافلة ر.، 2013 - دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء *Lawsonia Inermis* لمنطقة بسكرة. مذكرة ماستر . جامعة قاصدي مرباح بورقلة .ص:78

[42] أبو زيد ش.، 2005- فسيولوجيا وكيمياء القلويدات في النباتات الطبية وأهميتها الدوائية . والعلاجية .دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع .القاهرة .ص:496

[43] طه ح.، 1981 -النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها .دار المريخ للنشر، الرياض،ص63-112

[44] شويخ ع.، 2004- تعداد النباتات الطبية في ولايتي أم البواقي و الوادي .مذكرة لنيل شهادة الدراسات العليا .تخصص بيولوجيا و فيزيولوجيا النبات .المركز الجامعي أم البواقي.ص:10-40

[45] أبو زيد ش.، 1986- النباتات والأعشاب الطبية .مكتبة مدبولي .دار البحار .القاهرة .بيروت. ص:122 137

[46] باز م.، - 2006 استخلاص، فصل و تحديد بنيات منتوج الأيض الثانوي عند نبات جنس *Centaure* L.*C.Sphaerocephala* . رسالة مقدمة لنيل شهادة الماجستير .جامعة .منتوري قسنطينة .ص:94

[47] صندالي ع.، 2013 -المسح الكيميائي لنبتتين من عائلة Chénopodiaceae و Brassicaceae مذكرة ماستر .جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص:78
[48] دحية م.، - 2009 النباتات الطبية في مناطق الجلفة، بوسعادة والمسيلة .دراسة نبات القزاح Pituranthos
أنواعه، التركيب الكيميائي والنشاطية البيولوجية للزيوت الطيارة للسيقان .شهادة دكتوراه العلوم .جامعة فرحات عباس بسطيف.ص:142
[49] زيدي م.، - 2012 المساهمة في الدراسة الفيتوكيميائية لنبات *Deverra scoparia* (سباس البري) (الزيوت الطيارة والليبيدات .)مذكرة ماستر أكاديمي . جامعة قاصدي مرباح .ورقلة. ص:72

[50] زعيتر ل.، 2000- تحديد المكونات الكميائية لأطوار الكلوروفورم والزيوت الأساسية لأنواع من العائلتين المركبة
(Cistaceae).و السيستية (Compositae) رسالة دكتوراه الدولة في العلوم .جامعة منتوري قسنطينة . ص219
[51] بوخبتي ح.، 2010- النباتات الطبية المتداولة في المنطقة الشمالية لولاية سطيف دراسة تشريحية لنوعين من جنس*Mentha* والنشاطية ضد البكتيرية لزيوتهما الأساسية .شهادة .الماجستير .جامعة فرحات عباس بسطيف .ص:116
[54] بوديار ط، - 2008 - فصل و تحديد نواتج الأيض الثانوي ودراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبتة *Euphorbia guyoniana* مذكرة مقدمة لنيل مذكرة الماجستير،جامعة منتوري قسنطينة .ص128 :
[57] بوبلوطة ح. ، 2009 -النشاط المضاد للتاكسد و امكانية وقاية المستخلص الميثانولي لنبتتي *Centaurea Incana*و*Matricaria pubescens* على السمية الكبدية .مذكرة ماجستير، جامعة منتوري قسنطينة. ص:125
[60] الخطيب ر، 2014- علم العقاقير (التانينات و الكومارينات)، كلية الصيدلة للسنة الثالثة. ص:20
[61] قطب م.، فوزي ط.، 1979 -النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها،الدار العربية . للكتاب،ليبيا.ص: 28
[62] لبوز م.، 2012 -الدارسة الفيتوكيميائية لنبتة Rhetinolepis lonadioides Coss (الزيوت الطيارة والليبيدات) مذكرة ماستر أكادمي، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة،ص:80
[64] حوة إ.، - 2013 - دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية و الفعالية ضد الأكسدة .مذكرة ماجستير في الكيمياء،جامعة قاصدي مرباح ،ورقلة.ص:109.
[65] ابوالذهب م.، الكشير ح.، القزاز س.، عاية ش.، - 1997 البكتيرتا .دار المعارف .الجزء . الأول.ص :20

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى اختبار الفعالية البيولوجية لمستخلصات قشور ثمار الرمان .Punica granatum.L

لتحقيق هذا الهدف قمنا بحصر كيميائي أولي لمواد الأيض الثانوي في مختلف المستخلصات الإيثانولي، مزيج (إيثانول + ماء) و المستخلص المائي لإجراء الفعالية المضادة للبكتيريا المستخلصة من قشور ثمار الرمان الحلو و الحامض.

توصلنا من خلال هذه الدراسة إلى أن قشور ثمار الرمان غنية بمواد الأيض الثانوي والمتمثلة في عديدات الفينول و الفلافونيدات

أما عن الفعالية التثبيطية للبكتيريا، فوجدنا السلالات البكتيرية كانت حساسة لمختلف المستخلصات لكن المستخلص المائي كان الأكثر مردود، حيث قدر ب 38.32 % بينما المستخلص الأكثر فعالية ضد البكتيريا كان المستخلص الإيثانولي و كان قطر التثبيط 19 ملم عند البكتيريا P.aerogenosa ، و يمكن ملاحظة أن قشور الرمان الحامض اكثر فعالية ضد البكتيريا من قشور الرمان الحلو

الكلمات المفتاحية: مستخلصات قشور الرمان، الأيض الثانوي، السلالات البكتيرية

Summary

The purpose of this study is to test the effectiveness of biological extracts of the peel fruit, Punica granatum. L .

To achieve this objective, we made first an inventory of chemicals used in secondary metabolism in a variety of alcoholic extracts, water and a mix of water-alcohol extracter for an anti-bacteria test. Through this study we found that pomegranate peel fruits are rich in materials and have a secondary metabolism of polyphenols and flavonoids. As for the effectiveness of the extracts in terms of their ability to inhibit bacteria, we found that bacterial strains were sensitive to the various extracts, but The extraction yield of the aqueous extract was the most copious, was estimated to be 38.32%. However, the ethanol extract was the most effective when used against the bacteria P.aerogenosa with a damping diameter of 19mm.

In addition, it would found that sour pomegranate peel was more effective against bacteria then sweet pomegranate peel.

Key words: pomegranate peel extracts, secondary metabolism, bacterial strains