



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة كربلاء

كلية العلوم / قسم علوم الحياة

## تهجين مركبات نانوية مع مادة أوكسيل كالكيت الحافظة للأغذية ودراسة بعض فعاليتها الحيوية

رسالة مقدمة

الى مجلس كلية العلوم - جامعة كربلاء

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير علوم في علوم الحياة

من قبل

صلاح هاشم شهيد جاسم الفتلاوي

بكالوريوس علوم حياة - جامعة كربلاء

2011

إشرافه

أ.د.

عباس مطرود باشبي

شباط 2014

أ.م.د.

علي عبد الكاظم الغانمي

ربيع الاخر 1435 هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وقل رب أدخلني مدخل  
صدق وأخرجني  
مخرج صدق واجعل  
لي من لدنك سلطانا  
نصيرا

سورة «الاسراء» الآية (80)

## إقرار المشرفين

نشهد بأن إعداد هذه الرسالة قد جرى تحت إشرافنا في جامعة كربلاء بوصفها جزءاً من متطلبات نيل درجة ماجستير علوم في علوم الحياة .

التوقيع:

التوقيع

الاسم: د . علي عبد الكاظم الغانمي

الاسم : د . عباس مطرود باشي

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

المرتبة العلمية : استاذ

التاريخ: / /

التاريخ: / /

## توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوصيات أعلاه, أحيل هذه الدراسة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع :

الاسم: د . ناجح هاشم كاظم

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

العنوان : رئيس قسم علوم الحياة

التاريخ: / /

## إقرار المقوم اللغوي

أشهد بأني قومت رسالة الماجستير الموسومة بـ ( تهجين مركبات نانوية مع مادة أوكنتيل كالكيت الحافظة للأغذية ودراسة بعض فعاليتها الحيوية ) بوصفها جزءاً من متطلبات نيل درجة ماجستير علوم في علوم الحياة إذ تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة قدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير .

التوقيع :

الاسم

المرتبة العلمية :

## إقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة, نشهد أننا اطعنا على هذه الرسالة وقد ناقشنا الطالب ( صلاح هاشم شهيد) في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ 2014/5/12 ونرى أنه جدير بالقبول لنيل شهادة الماجستير في علوم الحياة وبتقدير ( امتياز ) .

### رئيس اللجنة

التوقيع :

الاسم : د. حميد مجيد جاسم

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان : جامعة النهريين / كلية العلوم

التاريخ : / / 2014

### عضواً

التوقيع:

الاسم: د. ناجح هاشم كاظم

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: جامعة كربلاء / كلية العلوم

التاريخ: / / 2014

### عضواً

التوقيع :

الاسم : د. علي شهاب احمد

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان : جامعة النهريين / كلية العلوم

التاريخ : / / 2014

### عضواً ومشرفاً

التوقيع:

الاسم : د. عباس مطرود باشي

المرتبة العلمية : أستاذ

العنوان : جامعة كربلاء / كلية العلوم الطبية التطبيقية

التاريخ : / / 2014

### عضواً ومشرفاً

التوقيع :

الاسم : د. علي عبد الكاظم جاسم

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان : جامعة كربلاء / كلية العلوم

التاريخ : / / 2014

### مصادقة عميد كلية العلوم / جامعة كربلاء

التوقيع :

الاسم : د. احمد محمود عبد اللطيف

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان : جامعة كربلاء / كلية العلوم

التاريخ : / / 2014



# الإهداء

إلى من تفرعت أغصاني بعرق جبينه ولا أطمح إلا برضاه  
والذي العزيز

إلى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي  
والدتي الغالية

إلى من يحملون همي واشدد بهم أوزي  
أخوتي وأخواتي

أهدي ثمرة جهدي المتواضع هذا

صلاح





## شكر وتقدير

بسم الله الرحمن الرحيم والصلاة والسلام على النبي محمد وآل بيته الطيبين الطاهرين....

الحمد لله العليّ القدير , الذي اسبغ نعمه ظاهرة وباطنة , وشرح بنوره الصدور وأقر بنوره العيون . أسجد لله العظيم شكراً ومحمداً على ما غمرني به من سدادٍ وتوفيقٍ وما منحني به من صبرٍ وثباتٍ حتى تم إنجاز هذه الرسالة .

يطيب لي ان اتقدم بجزيل الشكر والتقدير والامتنان الى الاستاذ المساعد الدكتور علي عبد الكاظم والاستاذ الدكتور عباس مطرود باشي لأشرفها المباشر على العمل وكتابة البحث فضلاً عن النصائح القيمة والجهد والدعم السخي والذي أتمر بإخراج هذا العمل إلى حيز الوجود فجزاهم الله عني خير الجزاء.

كما اتوجه بخالص التقدير والاحترام الى عمادة كلية العلوم ورئاسة قسم علوم الحياة لأتاحة الفرصة لي لأكمال دراستي.

ومن دواعي الوفاء ان اوجه شكري وتقديري لعمادة كلية العلوم الطبية التطبيقية و رئاسة ومنتسبي قسم الكيمياء في كليتنا واخص بالذكر منهم الدكتور زيد حسن عبود والدكتورة لمى مجيد والسيد نصير كاظم لما قدموه من مساعدة , جعل الله ثمرة ذلك في موازين حسناتهم .....

كما اتقدم بجزيل شكري وامتناني الى الاستاذ الدكتور علي المحنة /كلية الطب / جامعة الكوفة لتوفيره بعض العزلات البكتيرية المهمة جزاه الله عن ذلك خير الجزاء ...

ولا يفوتني ان أتقدم بخالص أمتناني وتقديري للدكتور علاء عبد الحسين الدعيمي /كلية العلوم التطبيقية /جامعة كربلاء لتفضله بانجاز التحليل الاحصائي الذي تطلبه البحث . .

كما اتقدم بالشكر والعرفان الى طلبة الدراسات العليا واخص بالذكر منهم زميلي العزيزين براك ثامر شبيب وعمار عبد الحسين وكل من قدم لي يد المساعدة او النصيحة او اهداني جواب اطفئ به حيرة سؤالي وساهم في اتمام بحثي .

الباحث



## الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية تحضير مركبين نانويين هجينين للمادة الحافظة أوكتيل كاليث (Octyl gallate, OG) وتشخيصهما ودراسة بعض فعاليتيهما الحياتية . وأوضحت النتائج ما يأتي :

1- حضر مركبان نانويان هما Mg/Al-Octyl gallate-Layered double hydroxide (Mg/Al-OG-LDH) و Zinc oxide-Octyl gallate (ZnO-OG) باستخدام طريقة التبادل الأيوني (Ion exchange) بين المادة الحافظة أوكتيل كاليث (OG) وطبقات المغنسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد (Mg/Al-NO<sub>3</sub>-Layered double hydroxide , Mg/Al-NO<sub>3</sub>-LDH) واوكسيد الزنك (Zinc oxide , ZnO) (كلا على انفراد).

2- تم تشخيص المركبين النانويين الهجينين المذكورين اعلاه بالطرائق الطيفية ، اذ اوضحت مطيافية حيود الاشعة السينية عن ظهور مستويات حيود جديدة للمركبين النانويين الهجينين مقارنة بطيف حيود الطبقات ثنائية الهيدروكسيد واوكسيد الزنك. وكشفت مطيافية الاشعة تحت الحمراء عن ظهور مجاميع جديدة في طيف المركبين النانويين الهجينين مقارنة مع طيف الطبقات ثنائية الهيدروكسيد واوكسيد الزنك مما يشير الى الحصول على مركبين جديدين .

3- أثبتت صورة المجهر الالكتروني الماسح عن ظهور تغيرات في سطح المركبين النانويين الهجينين مقارنة مع الطبقات ثنائية الهيدروكسيد واوكسيد الزنك. كما كشفت صورة مجهر القوة الذرية الثنائية والثلاثية الابعاد للمركبين النانويين قيد الدراسة عن الحصول على مركبات ضمن المقاسات والابعاد النانوية والتي تتوافق مع نتائج طيف حيود الاشعة السينية .

4- درست عملية تحرر المادة الحافظة OG من بين طبقات المركبين النانويين الهجينين المشار اليهما في اعلاه الى ثلاثة اوساط ، اذ لوحظ ان عملية تحرر المادة الحافظة تحدث بصورة سريعة في بداية التحرر ثم تتباطأ تدريجيا مع مرور الزمن . كما اوضحت النتائج زيادة نسبة التحرر بزيادة تركيز الوسط فضلا عن زيادة تلك النسبة في الوسط الحامضي مقارنة بالوسط القاعدي .



5- كانت نتائج الفعالية التثبيطية للمركبين النانويين الهجينين والمادة الحافظة OG قيد الدراسة ضد بعض انواع البكتيريا والفطريات كالآتي:

أ- امتلاك المركبين النانويين وكذلك المادة الحافظة OG فعالية تثبيطية ضد بعض انواع البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام اذ ابدى المركب النانوي ZnO-OG اعلى فعالية تثبيطية ضد كل من بكتريا *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas aeruginosa* بينما ابدت المادة الحافظة OG اعلى فعالية تثبيطية ضد كل من بكتريا *Bacillus cereus* و *Pseudomonas aeruginosa* .

ب - بينت النتائج تفوق المركب ZnO-OG على كل من المركب النانوي Mg/Al-OG-LDH والمادة الحافظة OG في تثبيطه للفطرين *Aspergillus flavus* و *A.parasiticus* بينما تفوق المركب OG الحر في تثبيطه للفطر *Penicillium expansum* .

6- أثبتت نتائج دراسة الفعالية المضادة للأكسدة ما يأتي :

أ- كانت قيمة  $IC_{50}$  (Half maximal inhibitory concentration) بطريقة كسح الجذور الحرة (باستخدام الجذر ABTS) للمركبين النانويين الهجينين عند التركيز 75 مايكرو غرام / مل ، بينما بلغت تلك القيمة عند التركيز 25 مايكرو غرام/ مل للمركب OG .

ب- بينت نتائج قياس القوة الاختزالية لأيون الحديديك امتلاك المركب OG الحر اعلى قوة اختزالية من بين المركبات المدروسة يليه المركب Mg/Al-OG-LDH في حين ابدى المركب ZnO-OG اقل قوة اختزالية .

ج - اتضح من خلال استخدام طريقة الفعالية المخيلية لأيون الحديدوز ان النسبة المئوية للتأثير المخلي للمركبين النانويين الهجينين (Mg/Al-OG-LDH) و (ZnO-OG) و المضاد القياسي BHA كانت متقاربة اذ بلغت (25 و 26.15 و 27.85) % ،على التوالي عند اعلى تركيز تم استخدامه من هذه المركبات بينما اظهر المركب OG الحر تأثيرا مخليا اقل مقارنة بالمركبات الثلاثة اعلاه ، اذ بلغت نسبة التأثير 15.9 % عند التركيز ذاته.

## قائمة المحتويات

| الصفحة | المحتويات   | التسلسل   |
|--------|---|-----------|
| 1      | المقدمة   |           |
| 3      | استعراض المراجع   | -1        |
| 3      | المضافات الغذائية (Food additives)                          | 1-1       |
| 3      | المواد الحافظة للأغذية (Food preservatives)                 | 2-1       |
| 5      | تصنيف المواد الحافظة (Classification of food preservatives) | 1-2-1     |
| 6      | العوامل المحددة لاستخدام المواد الحافظة                     | 2-2-1     |
| 6      | بعض المواد الحافظة الشائعة الاستخدام                        | 3-2-1     |
| 6      | المركب أوكتيل كاليث (Octyl gallate ,OG)                     | 1-3-2-1   |
| 8      | بنزوات الصوديوم (Sodium benzoate)                           | 2-3-2-1   |
| 10     | سوربات البوتاسيوم (Potassium Sorbate)                       | 3-3-2-1   |
| 11     | فساد الاغذية (Food spoilage)                                | 3-1       |
| 12     | تلف الاغذية بوساطة الاحياء المجهرية                         | 1-3-1     |
| 13     | البكتيريا (Bacteria)  | 1-1-3-1   |
| 13     | بكتيريا <i>Listeria monocytogenes</i>                       | 1-1-1-3-1 |
| 15     | الفطريات (Fungi)  | 2-1-3-1   |
| 16     | الاكسدة (Oxidation)   | 4-1       |
| 16     | الاكسدة في الاغذية (Oxidation in foods)                     | 1-4-1     |
| 17     | مضادات الاكسدة (Antioxidant)                                | 5-1       |
| 20     | تقنية النانو (Nanotechnology)                               | 6-1       |
| 22     | الدقائق النانوية (Nano-particles)                           | 7-1       |
| 23     | مركبات النانو (Nano-composite)                              | 8-1       |

|    |  |            |
|----|--|------------|
| 24 | المعادن الطينية (Clay minerals)  | 9-1        |
| 25 | الطبقات ثنائية الهيدروكسيد (Layered double hydroxide)  | 10-1       |
| 28 | اوكسيد الزنك (Zinc oxide)  | 11-1       |
| 30 | تطبيقات تقنية النانو في الاغذية  | 12-1       |
| 32 | <b>المواد وطرائق العمل</b>   | <b>-2</b>  |
| 32 | المواد والاجهزة المستخدمة  | 1-2        |
| 32 | الاجهزة المستخدمة والشركات المصنعة لها   | 1-1-2      |
| 33 | المواد الكيميائية المستخدمة والشركات المصنعة لها   | 2-1-2      |
| 36 | <b>طرائق العمل</b>   | <b>2-2</b> |
| 36 | تحضير المركبات النانوية الهجينة  | 1-2-2      |
| 36 | تحضير المضيف او الحامل (Host or Carrier)   | 1-1-2-2    |
| 37 | اختيار المادة الحافظة  | 2-1-2-2    |
| 38 | تحضير المركب النانوي الهجين من طبقات المغنسيوم/ الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد Mg/Al-NO <sub>3</sub> -LDH مع المادة الحافظة بطريقة التبادل الايوني | 2-2-2      |
| 39 | تحضير المركب النانوي الهجين من طبقات اوكسيد الزنك Zinc oxide مع المادة الحافظة بطريقة التبادل الايوني المباشر                                    | 3-2-2      |
| 39 | تشخيص المركبات النانوية الهجينة  | 3-2        |
| 42 | التشخيص باستخدام طيف الاشعة تحت الحمراء FT-IR  | 1-3-2      |
| 42 | التشخيص باستخدام حيود الاشعة السينية XRD   | 2-3-2      |
| 42 | التشخيص باستخدام مجهر القوة الذرية AFM   | 3-3-2      |
| 43 | التشخيص باستخدام المجهر الالكتروني الماسح SEM  | 4-3-2      |
| 43 | دراسة تحرر المادة الحافظة أو كتيل كاليت (OG)   | 4-2        |
| 44 | تعيين منحنى المعايرة (Calibration curve) للمادة الحافظة OG   | 1-4-2      |
| 44 | طريقة التحرر الى المحاليل القياسية   | 2-4-2      |
| 45 | الدراسات الحركية (Kinetic studies)   | 3-4-2      |

|    |   |           |
|----|---|-----------|
| 46 | دراسة النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة أوكتيل كاليث من بين طبقات المركب النانوي الهجين   | 4-4-2     |
| 47 | الفعالية التثبيطية للمركبات النانوية الهجينة  | 5-2       |
| 47 | الفعالية التثبيطية للمركبات النانوية الهجينية ضد البكتيريا  | 1-5-2     |
| 52 | دراسة الفعل التثبيطي التازري بين المركبات النانوية الهجينة والمواد الحافظة Potassium sorbate و Sodium benzoate ضد بكتريا <i>Listeria monocytogenes</i> wild type 10403s | 2-5-2     |
| 52 | حفظ العزلات البكتيرية   | 6-2       |
| 52 | تأثير المركبات النانوية الهجينة في تثبيط الفطريات المنتجة للسموم الفطرية  | 7-2       |
| 54 | تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات النانوية الهجينة  | 8-2       |
| 54 | تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بطريقة كسح الجذور الحرة (Free Radicals Scavenging)   | 1-8-2     |
| 55 | تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بقياس القوة الاختزالية المضادة للأكسدة لأيون الحديد Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)   | 2-8-2     |
| 58 | تقدير الفعالية المضادة للاكسدة بطريقة المخلبية لأيون الحديدوز (Ferrous ion chelating activity)  | 3-8-2     |
| 59 | التحليل الاحصائي Statistics Analytic  | 2-9       |
| 60 | <b>النتائج والمناقشة</b>  | <b>-3</b> |
| 60 | تشخيص المركبات النانوية الهجينة   | 1-3       |
| 60 | طيف الأشعة تحت الحمراء (FT-IR)  | 1-1-3     |
| 60 | اختيار المادة الحافظة النانوية الهجينة  | 1-1-1-3   |
| 60 | طيف الأشعة تحت الحمراء للمادة الحافظة OG  | 2-1-1-3   |
| 61 | طيف الأشعة تحت الحمراء لطبقات المغنيسيوم /الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد  | 3-1-1-3   |
| 61 | طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب النانوي الهجين Mg/Al-OG-LDH   | 4-1-1-3   |

|     |   |         |
|-----|---|---------|
| 62  | طيف الأشعة تحت الحمراء لطبقات اوكسيد الزنك (ZnO)  | 5-1-1-3 |
| 62  | طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب النانوي ZnO-OG  | 6-1-1-3 |
| 62  | طيف حيود الأشعة السينية (XRD)   | 2-1-3   |
| 70  | المجهر الالكتروني الماسح (SEM)  | 3-1-3   |
| 74  | مجهر القوة الذرية (AFM)   | 4-1-3   |
| 77  | دراسة تحرر المادة الحافظة أوكتيل كاليت (OG) من المركبين النانويين الهجينين Mg/Al-OG-LDH و ZnO-OG  | 2-3     |
| 81  | دراسة تأثير تغير الرقم الهيدروجيني في تحرر المادة الحافظة OG  | 1-2-3   |
| 84  | دراسة حركيات التفاعل (Release Kinetics)   | 2-2-3   |
| 94  | الفعالية التثبيطية للمركبين النانويين (ZnO-OG و MG/Al-OG- LDH) والمركب OG الحر ضد البكتريا  | 3-3     |
| 94  | الفعالية التثبيطية ضد بعض انواع البكتريا الموجبة لصبغة كرام   | 1-3-3   |
| 97  | الفعالية التثبيطية ضد بعض انواع البكتيريا السالبة لصبغة كرام  | 2-3-3   |
| 100 | الفعل التثبيطي التازري للمركبين النانويين الهجينين Mg/Al-OG-LDH و ZNO-OG والمادتين الحافظتين Sodium benzoate(SB) و Potassium sorbate(PS) ضد بكتريا <i>Listeria monocytogenes wild type 10403s</i> | 4-3     |
| 105 | الفعالية التثبيطية للمركبات النانوية الهجينية ضد بعض الانواع الفطرية  | 5-3     |
| 106 | الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات النانوية الهجينة  | 6-3     |
| 106 | الفعالية المضادة للأكسدة بطريقة كسح الجذور الحرة  | 1-6-3   |
| 109 | الفعالية المضادة للأكسدة بطريقة قياس القوة الاختزالية المضادة للأكسدة لأيون الحديدك (FRAP)  | 2-6-3   |
| 112 | الفعالية المضادة للأكسدة بطريقة الفعالية المخليبية لأيون الحديدوز   | 3-6-3   |
| 118 | الاستنتاجات والتوصيات   |         |
| 119 | المصادر العربية   |         |

|     |                    |  |
|-----|--------------------|--|
| 120 | المصادر الانكليزية |  |
|-----|--------------------|--|

## قائمة المحتويات

| الصفحة | العنوان  | رقم الشكل |
|--------|--|-----------|
| 7      | الصيغة التركيبية لحمض الكاليك  | 1         |
| 8      | الصيغة التركيبية للمركب أوكثيل كاليت (Octyl gallate , OG)  | 2         |
| 9      | الصيغة التركيبية لبنزوات الصوديوم  | 3         |
| 11     | الصيغة التركيبية لسوربات البوتاسيوم  | 4         |
| 27     | الطبقات ثنائية الهيدروكسيد   | 5         |
| 28     | مقارنة بين طبقات البروسايت (a) وطبقات ثنائية الهيدروكسيد (b)   | 6         |
| 45     | منحنى المعايرة لمحلول المادة الحافظة أوكثيل كاليت (OG)   | 7         |
| 63     | طيف الاشعة تحت الحمراء للمادة الحافظة (OG)   | 8         |
| 64     | طيف الاشعة تحت الحمراء لطبقات المغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد                                    | 9         |
| 65     | طيف الاشعة تحت الحمراء للمركب النانوي الهجين Mg/Al-OG-LDH  | 10        |
| 66     | طيف الاشعة تحت الحمراء لطبقات اوكسيد الزنك   | 11        |
| 67     | طيف الاشعة تحت الحمراء للمركب النانوي الهجين ZnO-OG  | 12        |
| 69     | طيف حيود الاشعة السينية (XRD) لطبقات اوكسيد الزنك  | 13        |
| 69     | طيف حيود الاشعة السينية (XRD) للمركب النانوي الهجين (ZnO-OG)   | 14        |
| 71     | طيف حيود الاشعة السينية (XRD) لطبقة المغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد (Mg/Al-NO <sub>3</sub> -LDH) | 15        |

|    |   |    |
|----|---|----|
| 71 | طيف حيود الاشعة السينية (XRD) للمركب النانوي الهجين Mg/Al-OG-LDH  | 16 |
| 72 | صورة بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM) لطبقات اوكسيد الزنك  | 17 |
| 72 | صورة بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM) للمركب النانوي الهجين (ZnO-OG)   | 18 |
| 73 | صورة بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM) لطبقات المغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد (Mg/Al-NO <sub>3</sub> -LDH)                                    | 19 |
| 73 | صورة بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM) للمركب النانوي الهجين (Mg/Al-OG-LDH)   | 20 |
| 76 | صورة ثنائية الابعاد (a) وثلاثية الابعاد (b) للمركب Mg/Al-OG-LDH بواسطة مجهر القوة الذرية  | 21 |
| 76 | صورة ثنائية الابعاد (a) وثلاثية الابعاد (b) للمركب ZnO-OG بواسطة مجهر القوة الذرية  | 22 |
| 79 | النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة OG من المركب Mg/Al-OG-LDH الى الوسط المائي لكاربونات الصوديوم بتركيز 0.1 مولاري وبطريقة التبادل الايوني المباشر | 23 |
| 79 | النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة OG من المركب Mg/Al-OG-LDH الى الوسط المائي لكاربونات الصوديوم بتركيز 0.5 مولاري وبطريقة التبادل الايوني المباشر | 24 |
| 80 | النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة OG من المركب ZnO-OG الى الوسط المائي لكاربونات الصوديوم بتركيز 0.1 مولاري وبطريقة التبادل الايوني المباشر       | 25 |
| 80 | النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة OG من المركب ZnO-OG الى الوسط المائي لكاربونات الصوديوم بتركيز 0.5 مولاري وبطريقة التبادل الايوني المباشر       | 26 |
| 82 | النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة OG من المركب Mg/Al-OG-LDH الى الوسط المائي الحامضي (الرقم الهيدروجيني 2) بطريقة التبادل الايوني المباشر         | 27 |
| 83 | النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة OG من المركب Mg/Al-OG-LDH الى الوسط المائي القاعدي (الرقم الهيدروجيني 13) بطريقة التبادل الايوني المباشر        | 28 |

|     |   |    |
|-----|---|----|
| 83  | النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة OG من المركب ZnO-OG الى الوسط المائي الحامضي (الرقم الهيدروجيني 2) بطريقة التبادل الايوني المباشر             | 29 |
| 84  | النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة OG من المركب ZnO-OG الى الوسط المائي القاعدي (الرقم الهيدروجيني 13) بطريقة التبادل الايوني المباشر            | 30 |
| 86  | معادلة الرتبة الصفرية والاولى والثانية الكاذبتين لبيان تحرر المادة الحافظة OG من المركب Mg/Al-OG-LDH لوسط كاربونات الصويوم وبتركيز 0.1 مولاري     | 31 |
| 87  | معادلة الرتبة الصفرية والاولى والثانية الكاذبتين لبيان تحرر المادة الحافظة OG من المركب Mg/Al-OG-LDH لوسط كاربونات الصويوم وبتركيز 0.5 مولاري     | 32 |
| 88  | معادلة الرتبة الصفرية والاولى والثانية الكاذبتين لبيان تحرر المادة الحافظة OG من المركب Mg/Al-OG-LDH للوسط المائي الحامضي ( الرقم الهيدروجيني 2)  | 33 |
| 89  | معادلة الرتبة الصفرية والاولى والثانية الكاذبتين لبيان تحرر المادة الحافظة OG من المركب Mg/Al-OG-LDH للوسط المائي القاعدي ( الرقم الهيدروجيني 13) | 34 |
| 90  | معادلة الرتبة الصفرية والاولى والثانية الكاذبتين لبيان تحرر المادة الحافظة OG من المركب ZnO-OG لوسط كاربونات الصويوم وبتركيز 0.1 مولاري           | 35 |
| 91  | معادلة الرتبة الصفرية والاولى والثانية الكاذبتين لبيان تحرر المادة الحافظة OG من المركب ZnO-OG لوسط كاربونات الصويوم وبتركيز 0.5 مولاري           | 36 |
| 92  | معادلة الرتبة الصفرية والاولى والثانية الكاذبتين لبيان تحرر المادة الحافظة OG من المركب ZnO-OG للوسط المائي الحامضي ( الرقم الهيدروجيني 2)        | 37 |
| 93  | معادلة الرتبة الصفرية والاولى والثانية الكاذبتين لبيان تحرر المادة الحافظة OG من المركب ZnO-OG للوسط المائي القاعدي ( الرقم الهيدروجيني 13 )      | 38 |
| 110 | الفعالية المضادة للأكسدة للمضاد القياسي Trolox  | 39 |
| 110 | الفعالية المضادة للأكسدة للمركب Mg/Al-OG-LDH بطريقة كسح الجذور الحرة  | 40 |
| 111 | الفعالية المضادة للأكسدة للمركب ZnO-OG بطريقة كسح الجذور الحرة  | 41 |
| 111 | الفعالية المضادة للأكسدة للمركب OG الحر بطريقة كسح الجذور الحرة   | 42 |
| 113 | المنحنى القياسي لكبريتات الحديدوز بطريقة FRAP   | 43 |



|     |  |    |
|-----|--|----|
| 113 | الفعالية المضادة للأكسدة للمركب Mg/Al-OG-LDH بطريقة FRAP                             | 44 |
| 114 | الفعالية المضادة للأكسدة للمركب ZnO-OG بطريقة FRAP                                   | 45 |
| 114 | الفعالية المضادة للأكسدة للمركب OG الحر بطريقة FRAP                                  | 46 |
| 116 | الفعالية المضادة للأكسدة للمركب Mg/Al-OG-LDH بطريقة الفعالية المخيلية لأيون الحديدوز | 47 |
| 116 | الفعالية المضادة للأكسدة للمركب ZnO-OG بطريقة الفعالية المخيلية لأيون الحديدوز       | 48 |
| 117 | الفعالية المضادة للأكسدة للمركب OG الحر بطريقة الفعالية المخيلية لأيون الحديدوز      | 49 |
| 117 | الفعالية المضادة للأكسدة للمضاد القياسي BHA بطريقة الفعالية المخيلية لأيون الحديدوز  | 50 |

## قائمة الجداول

|     |   |   |
|-----|---|---|
| 48  | العزلات البكتيرية المستخدمة في الدراسة ومصادر الحصول عليها  | 1 |
| 75  | اقطار وحجوم وتجمعات جزيئات المركب النانوي Mg/Al-OG-LDH بعد فحصه بمجهر القوة الذرية  | 2 |
| 75  | اقطار وحجوم وتجمعات جزيئات المركب النانوي ZnO-OG بعد فحصه بمجهر القوة الذرية  | 3 |
| 95  | الفعالية التثبيطية للمركبين النانويين Mg/Al-OG-LDH و ZnO-OG والمركب OG الحر ضد بعض انواع البكتيرية الموجبة لصبغة كرام   | 4 |
| 98  | الفعالية التثبيطية للمركبين النانويين MG/AL-OG-LDH و ZnO-OG والمركب OG الحر ضد بعض انواع البكتيريا السالبة لصبغة كرام   | 5 |
| 101 | الفعالية التازيرية للمركبين النانويين Mg/Al-OG-LDH و ZnO-OG مع مادتين الحافظتين Sodium benzoate و Potassium sorbate (PS) (SB) بتركيز (0.5) ملغم/مل ضد بكتيريا <i>L.monocytogenes wild type</i> 10403s | 6 |

|     |   |   |
|-----|---|---|
| 104 | الفعالية التآزرية للمركبين النانويين ZnO-OG و Mg/Al-OG-LDH مع<br>المادتين الحافظتين Sodium benzoate و Potassium sorbate (PS)<br>(SB) بتركيز (1) ملغم/مل ضد بكتيريا <i>L.monocytogenes</i> wild type<br>10403s | 7 |
| 106 | الفعالية التثبيطية للمركبين النانويين ZnO-OG و Mg/Al-OG-LDH<br>والمركب OG الحر ضد بعض الانواع الفطرية   | 8 |

## قائمة المخطاط

| الصفحة | العنوان  | رقم المخطاط |
|--------|--|-------------|
| 19     | انواع مضادات الاكسدة الصناعية  | 1           |
| 20     | تصنيف مضادات الاكسدة   | 2           |
| 31     | تطبيقات تقنية النانو في مجال الاغذية                                       | 3           |
| 40     | تحضير المركب النانوي الهجين Mg/Al-OG-LDH بطريقة التبادل الايوني<br>المباشر | 4           |
| 41     | تحضير المركب النانوي الهجين ZnO-OG بطريقة التبادل الايوني المباشر          | 5           |

## قائمة المحتويات

|                  |  |
|------------------|--|
| ABTS             | (2,2'-azinobis-3 ethylbenzothiazole 6-sulfonic acid) |
| AFM              | Atomic Force Microscope                              |
| BHA              | Butylated hydroxyanisole                             |
| DMSO             | Dimethyl sulfoxide                                   |
| DPPH             | 1-diphenyl-2-picryl hydrazyl                         |
| FIC              | Ferrous ion Chelating activity                       |
| FRAP             | Ferric reducing antioxidant potential                |
| GA               | Gallic Acid  |
| GC               | Guanine Cytosine                                     |
| GRAS             | Generally Recognized As Safe                         |
| IC <sub>50</sub> | Half maximal inhibitory concentration                |
| L.S.D            | Least significant difference                         |
| LDH              | Layered double hydroxide                             |
| MBC              | Minimal bactericidal concentration                   |
| Mg/Al-OG-LDH     | Mg/Al-Octyl gallate-Layered double hydroxide         |
| MIC              | Minimal inhibitory concentration                     |
| OG               | Octyl gallate  |
| PI               | Percentage of Inhibition                             |
| SEM              | Scanning Electrons Microscope                        |
| ZnO              | Zinc oxide   |
| ZnO-OG           | Zinc oxide-Octyl gallate                             |

المقدمة

*Introduction*

## المقدمة

تشير احدى الاحصائيات العالمية الى ان حوالي ثلث كمية الغذاء المنتج للاستهلاك البشري (Human consumption) تتعرض للتلف اي بما يعادل 1.3 بليون طن سنويا (Gustavsson *et al.*, 2011). ويحصل التلف من خلال مسببات عدة يقع التلف المايكروبي (Microbial spoilage) في مقدمتها ، اذ ان تعرض الغذاء للتلوث بالأحياء المجهرية سواء بعد عمليات الحصاد (Post-Harvest) او بعد عمليات الذبح (Post-slaughter) يتسبب بتلف حوالي 25% من الغذاء المنتج عالميا.

وتظهر اثار التلف المايكروبي اما من خلال حصول تغيرات غير مقبولة في الغذاء المنتج او التلوث بالسموم الميكروبية التي تعد خطرا على الصحة العامة. تشمل التغيرات غير المرغوبة على الاكسدة (Oxidation) وتغير اللون (Color modification) وظهور نكهة غير مرغوبة (Off-flavors) فضلا عن روائح غير مرغوبة (Off – odors) (Gram *et al.*, 2002). فيما تشمل مصادر التلوث بالسموم الميكروبية على البكتريا والفطريات. وتعد الاخيرة الاكثر خطورة في هذا المجال، اذ اشارت احدى الاحصائيات العالمية الى ان حوالي (30-40) % من الانتاج العالمي للغذاء يتعرض للتلوث بالسموم الفطرية (Mycotoxins) (Tzatzarakis *et al.*, 2000; Dantigny *et al.*, 2005) والتي من اخطرها سموم الافلاتوكسينات (Aflatoxins) المنتجة من الفطرين *Aspergillus flavus* و *Aspergillus parasiticus* (Cole and Schweikert, 2003).

تمثل الاحصائيات المذكورة اعلاه مصدر قلق اقتصادي كبير ، وبسبب هذه المخاوف اتجهت الدراسات نحو ايجاد تقنيات جديدة للحصول على مركبات بديلة ذات خصائص مضادة للأحياء المجهرية لاستخدامها في حفظ الغذاء وزيادة مدة صلاحيته . وتعد التقنية النانوية (Nanotechnology) واحدة من اهم تلك التقنيات الحديثة التي توفر فرصا هائلة لتطوير مواد حافظة ذات خصائص مميزة في تثبيط الاحياء المجهرية . تشمل تلك الخصائص على زيادة المساحة

السطحية للمواد النانوية (Nanosize materials) بتناقص حجمها وصولاً للمقياس النانوي (Nanoscale) فضلاً عن امتلاك المواد النانوية لفعالية بايولوجية أقوى مقارنة بنفس المواد بمقياس أكبر (ماكروبي، macroscale، أو مايكروبي، microscale) (Ren *et al.*, 2009). فضلاً عما سبق فإن التقنية النانوية تتيح إمكانية الحصول على هجائن بايولوجية نانوية جديدة (novel nano-biohybrids) من خلال التوليف بين حوامل النقل الكفوءة والأمينية (efficient and safe transport carriers) والجزئيات البيولوجية (Choy *et al.*, 2007).

تهدف هذه الدراسة إلى استخدام التقنية النانوية في الحصول على مركب نانوي هجين لأحدى المواد الحافظة عبر تحقيق المحاور الآتية:

1- تحضير بعض المركبات النانوية الهجينة من خلال توليف بعض المواد الحافظة شائعة الاستخدام مع بعض المواد اللاعضوية (حوامل للضيف Guest carriers) مثل طبقات ثنائية الهيدروكسيد واوكسيد الزنك.

2- تشخيص المركبات النانوية الهجينة المحضرة باستخدام تقنيات مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FT-IR) وحيود الأشعة السينية (X-Ray diffraction) ومجهري القوة الذرية (AFM) والالكتروني الماسح (SEM).

3- دراسة تحرر المادة الحافظة من بين طبقات الحامل

4- دراسة بعض الفعاليات الحيوية للمركبات النانوية الهجينة مثل الفعالية التثبيطية ضد البكتيريا والفطريات فضلاً عن الفعالية المضادة للأكسدة.

# الفصل الأول

## استعراض المراجع

### *Literature review*

## 1- استعراض المراجع

### 1-1 المضافات الغذائية (Food additives)

تعرف بانها اي مادة تضاف الى الغذاء بحيث تصبح بشكل مباشر او غير مباشر من مكوناته ويمكن ان تؤثر في خصائصه ، لذا يتضمن هذا التعريف اي مادة تستخدم في انتاج وتصنيع ومعالجة وتعبئة ونقل وخرن الغذاء (James , 2004) .

تؤدي المواد المضافة ادواراً عدة تشتمل على حفظ الغذاء وتحسين قوامه وتعزيز نكهته وتحسين مظهره فضلا عن اطالة مدة خزنه (Race ,2009).

تصنف المواد المضافة الى :-

- 1- العوامل المضادة للأحياء المجهرية (Antimicrobial agents)
- 2- المواد المضادة للأكسدة (Antioxidants)
- 3- الملونات الصناعية (Artificial colors)
- 4- المنكهات الصناعية (Artificial flavors)
- 5- العوامل القاصرة (Bleaching agents)
- 6- العوامل المخلبية (Chelating agents)
- 7- المضافات المغذية (Nutrient additives)
- 8- العوامل المثخنة والمثبتة (Thickening and stabilizing agents) .

(Abdulummeen *et al.*, 2012)

### 2-1 المواد الحافظة للأغذية (Food preservatives)

تعرف المواد الحافظة بانها تلك المواد التي يؤدي استخدامها الى تأخير او منع او اخفاء التغيرات غير المرغوبة في الاغذية والناجمة عن الاحياء المجهرية المسببة لتلف الاغذية ،



اذ تتداخل المواد الحافظة الكيميائية مع اغشية خلايا الاحياء المجهرية وانزيماتها او ألياتها الوراثية مما يؤدي الى تثبيط نمو تلك الاحياء (Sunitha and Sagar, 2012) .

اما هيئة الدستور الغذائي التابعة لمنظمة الصحة العالمية (WHO) ومنظمة الاغذية والزراعة الدولية (FAO) فقد عرفت المواد الحافظة بانها تلك المواد التي لها القابلية على تثبيط او اعاقاة او تأخير عملية التخمر (Fermentation) والتحميض (Acidification) والتفكك (Decomposition) التي تحصل في الغذاء (Food safety and standards authority of india, fssai , 2012) .

ان عملية اضافة المواد الحافظة الى الاغذية ليست حديثة العهد وانما مورست منذ عدة قرون ، اذ ان العديد من الحضارات القديمة ومنها الحضارة المصرية واليونانية و الرومانية والسومرية والصينية قامت باستخدام اساليب عدة لحفظ الاغذية (Pawar *et al.*, 2011).

لاحقا استخدمت المواد الحافظة بشكل متزايد في مجال حفظ الاغذية بسبب التغيرات التي طرأت على الطرائق التي تنتج وتسوق بها الاغذية، اذ ان المستهلك اليوم يأمل بأن تكون الأغذية متوفرة على مدار السنة وخالية من الاحياء المجهرية الممرضة وذات عمر انتاجي طويل نسبيا (Davidson *et al.* , 2001).

قامت العديد من المنظمات العالمية بوضع مواصفات وقوانين صارمة بالنسبة لإضافة المواد الحافظة واشهر هذه المنظمات هي منظمة الغذاء والدواء الاميركية (Food and Drug Administration ,FDA) التي تعتمد على مواصفاتها غالبية الدول. وهي التي وصفت المادة المضافة للأغذية بمصطلح (GRAS) Generally Recognized As Safe أي المواد التي توصف عموما بكونها مأمونة ولقد وضعت هنا كلمة بصورة عامّة (Generally) ومعناه أن تبقى هذه المادة تحت المتابعة والمراقبة وفعلا اعتمدت مواد ثم سحبت (المصلح 1990).

## 1-2-1 تصنيف المواد الحافظة (Classification of food preservatives)

تصنف المواد الحافظة بشكل رئيس إلى صنفين تبعاً إلى مصدر منشأها

(Source of origin) (Singh *et al.*, 2010) هما:

## 1- المواد الحافظة المصنعة (Artificial preservatives)

هي مجموعة من المواد الكيميائية الصناعية التي تعمل على منع فساد وتلوث المنتجات

النهائية بواسطة الاحياء المجهرية وتشتمل هذه المواد على Potassium و Propyl gallate و Sodium benzoate و sorbate و Nitrates و Sulfites .

## 2- المواد الحافظة الطبيعية (Natural preservatives)

هي مجموعة من المواد الكيميائية المستخلصة من المصادر الطبيعية والتي تمتلك القابلية

على حماية المنتجات الغذائية من نمو الاحياء المجهرية وتشتمل هذه المواد على المركبات الفينولية والفلافونويدات ومكونات الزيت الأساس (Essential oil) وغيرها .

تصنف المواد الحافظة الطبيعية بدورها الى اربعة اصناف ثانوية هي :

أ- المواد الحافظة المشتقة من المصادر النباتية (الاعشاب والتوابل) .

ب- المواد الحافظة المشتقة من المصادر الحيوانية (شحم الخنزير, Lard) .

ج- المواد الحافظة المشتقة من مصادر الاحياء المجهرية (البكتريوسينات) .

د- بعض مكونات الاغذية التي تمتلك فعالية مضادة للأحياء المجهرية مثل انزيم اللايسوزايم ومركبات Conalbumen و Avidin .

كما يمكن تصنيفها اعتماداً على الية عملها (Shee *et al.*, 2010) الى:

## اولاً: المواد الحافظة المضادة للأحياء المجهرية (Antimicrobial preservatives)

التي تعمل على تثبيط نمو البكتريا والفطريات مثل نترات و نترات الصوديوم و بروبيونات الكالسيوم ومركبات الكبريت وغيرها من المواد الحافظة الاخرى .

ثانيا : المواد الحافظة المضادة للأكسدة (Antioxidant preservatives) التي تعمل على منع عملية اكسدة المواد الغذائية ومن الأمثلة على هذا النوع Butylated Hydroxy Anisole (BHA) و Butylated Hydroxy Toluene(BHT) .

### 2-2-1 العوامل المحددة لاستخدام المواد الحافظة

من بين جميع المواد الكيميائية التي تضاف للأغذية تعد المواد الحافظة الأكثر أهمية لما لها من فعالية تجاه ميكروبات الاغذية .ونظرا للأثار السلبية التي قد تسببها هذه المواد لذلك وضعت شروط عامة عند اختيار المادة الحافظة (المصلح، 1990) وهي :

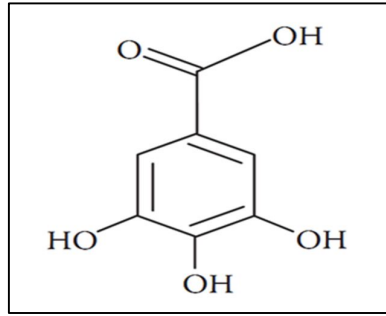
- 1- يجب ان تكون مثبطة او قاتلة لميكروبات الاغذية.
- 2- توقف او تثبط النشاط الكيميائي في الغذاء والذي يؤدي الى تلف الاغذية كالتحلل الذاتي والاكسدة وغيرها.
- 3- ليس فيها خطورة على صحة الانسان.
- 4- سهولة تحضيرها واستخدامها.
- 5- ان تكون متوفرة ومنخفضة الاسعار.
- 6- ان لا تتحول او تتغير او تتفاعل داخل الغذاء لتكون مادة ساممة او غير مرغوب فيها.

### 3-2-1 بعض المواد الحافظة الشائعة الاستخدام

#### 1-3-2-1 المركب أوكتيل كاليث (Octyl gallate ,OG)

تصنف المركبات الفينولية ( Phenolic compounds ) الى مركبات طبيعية (Natural) و مركبات صناعية (Artificial) وتعد استرات حامض الكاليك (Gallic acid esters) من أكثر المركبات الفينولية الصناعية شيوعا في الصناعات الغذائية من خلال استخدامها كمضادات للأكسدة (Jay et al., 2005) .

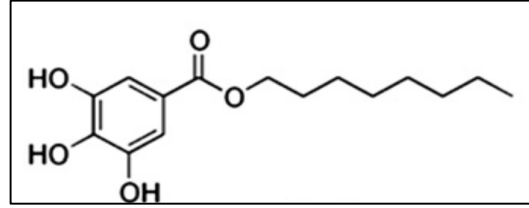
حامض الكاليك (Gallic acid) والذي يسمى ايضا (3,4,5-trihydroxy benzoic acid) هو حامض عضوي فينولي يوجد في العديد من النباتات مثل اوراق الشاي (Tea leaves) والجوز (Walnuts) والسماق (Sumac) وغيرها ويبين الشكل 1 الصيغة التركيبية لهذا الحامض . ويمتلك حامض الكاليك فعالية مضادة للفطريات (Antifungal) ومضادة للفيروسات (Antiviral) اضافة الى ان مشتقاته (استراته) مثل Propyl gallate و Octyl gallate تستخدم بشكل واسع في حفظ الاغذية (Theron and Lues, 2011) .



الشكل (1) : الصيغة التركيبية لحامض الكاليك

يعرف المركب أوكتيل كاليت (OG) بأنه احد استرات حامض الكاليك ويبلغ وزنه الجزيئي 282 دالتون ويستخدم كمضاف غذائي فسي العديد من الاغذية لما يمتلكه من فعالية مضادة للأكسدة (Leal et al, 2009) . يمتلك هذا المركب فعالية مضادة للعديد من الفطريات المنتجة للسموم الفطرية (Aflatoxins) والمسببة لتلف الاغذية مثل الفطر *Aspergillus flavus* الذي يعد واحدا من اخطر الفطريات التي تتسبب في تلف الكثير من المحاصيل الغذائية (Sultan,2010) .

ويعد المركب أوكتيل كاليت واحدا من اكثر المركبات الفينولية تميزا في مجال تصنيع الاغذية ليس فقط لفعاليتها المضادة للأكسدة بل ايضا لفعاليتها المضادة للعديد من الانواع البكتيرية المسببة لتلف الاغذية مثل بكتريا *Bacillus cereus* و *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas fluorescens* ، ويبين الشكل 2 الصيغة التركيبية للمركب أوكتيل كاليت (Gutiérrez-Larraínzar et al ., 2012) .



الشكل ( 2 ): الصيغة التركيبية للمركب أوكتيل كاليث (Octyl gallate , OG)

يصنف المركب OG بكونه واحدا من مضادات الاكسدة التي تبدي اكثر من الية واحدة في التثبيط وتسمى (Multifunctional antioxidants) مما يعزز استخدامه في تصنيع وحفظ الاغذية (Kubo *et al.* , 2010). فضلا عن ذلك يمتلك هذا المركب فعالية تثبيطية تجاه انزيم Lipoxigenase الذي يسبب اكسدة الدهن (Lipid peroxidation) (Ha *et al.*, 2004).

وقد وافقت كل من لجنة الخبراء للمواد المضافة للأغذية التابعة لمنظمة الصحة العالمية / منظمة الاغذية والزراعة الدولية Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives(JECFA) واللجنة العلمية للمجتمع الاوربي European Community Scientific Committee for Food (SCF) على استخدام المركب OG كمادة مضافة للأغذية (Pokorny *et al.*, 2001) . واعتمادا على نظام الترقيم الدولي (International numbering system , INS) فقد اعطي المركب OG الرقم 311 للدلالة على استخدامه كمادة حافظة ومضادة للأكسدة في الاغذية (Annawajad,2013).

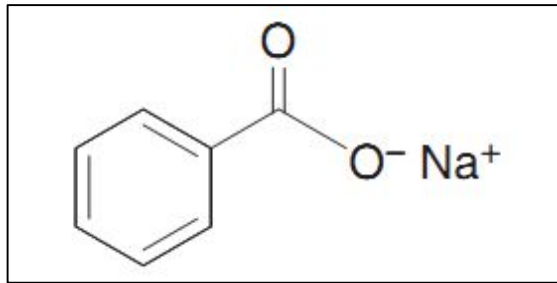
### 1-2-3 بنزوات الصوديوم (Sodium benzoate)

عادة ما تضاف الاحماض العضوية الضعيفة (Weak organic acids) التي الكثير من الاغذية بهدف زيادة مدة حفظها من خلال منع نمو الاحياء المجهرية المسببة لتلفها ، ومن اكثر تلك الاحماض استخداما في حفظ الاغذية هو حامض السوربيك (Sorbic acid) والبروبيونيك (Propionic acid) والبنزويك (Benzoic acid) (Ray and Liewen, 2004).

ويعد حامض البنزويك حامضاً عضوياً كربوكسيميا ويسمى أيضاً (Phenyl formic acid)، يمتلك الصيغة الجزيئية  $C_6H_5COOH$  ويبلغ وزنه الجزيئي 122.1 دالتون، ويوجد بشكل نقي كوريات او ابر بيضاء او عديمة اللون، كما ان له قابلية محدودة على الذوبان في الماء (Davidson *et al.*, 2005).

تستخدم املاح هذا الحامض التي من اشهرها بنزوات الصوديوم (Sodium benzoate) بشكل واسع في حفظ الاغذية الحامضية، اذ تبدي البنزوات فعالية اكبر تجاه الاحياء المجهرية المسببة لتلف الاغذية عند الرقم الهيدروجيني (4-4.5) (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2003).

تمتلك بنزوات الصوديوم الصيغة الجزيئية  $C_6H_5COONa$  ويبلغ وزنها الجزيئي 144.1 دالتون وعادة ما تكون بشكل مسحوق بلوري ابيض، كما تذوب بشكل اكبر في الماء مقارنة بحامض البنزويك لهذا السبب يفضل استخدامها على حامض البنزويك في كثير من الحالات ويبين الشكل 3 الصيغة التركيبية لبنزوات الصوديوم (Davidson *et al.*, 2005) وبشكل عام تمتلك البنزوات فعالية تثبيطية تجاه نمو العديد من الخمائر والاعفان، اضافة الى مدى واسع من البكتيريا (Zhang and Ma, 2013).



الشكل ( 3 ): الصيغة التركيبية لبنزوات الصوديوم

يوصف حامض البنزويك وبنزوات الصوديوم بكونهما من المواد المعروفة عموماً بكونها مأمونة (GRAS) وفق تصنيف منظمة الغذاء والدواء الاميركية ومنظمة الصحة العالمية (ومنظمة

الاعذية والزراعة الدولية ، اذ يسمح باستخدامها بمعدل (0.5 ملغم/كغم) من وزن الجسم (Kemin Food Technologies, 2010) .

يستخدم حامض البنزويك بصورة شائعة كمادة حافظة كيميائية نظرا لكلفته الواطئة وسهولة ادخاله في الاغذية وعدم احتوائه على لون فضلا عن سميته الواطئة (Davidson and Branen , 1993) .

### 3-3-2-1 سوربات البوتاسيوم (Potassium sorbate)

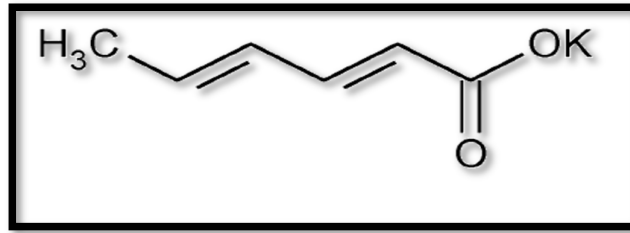
ان العديد من الاحماض العضوية واملاحها مثل حامض الخليك (Acetic acid) واللاكتيك (Lactic acid) والبروبيونيك (Propionic acid) والسوربيك (Sorbic acid) تبدي فعالية مضادة للعديد من الاحياء المجهرية ولهذا استخدمت بشكل تقليدي في حفظ الاغذية ،وتعد هذه الاحماض واملاحها من المواد التي تعد عموما بكونها مأمونة (GRAS) وذلك حسب تصنيف منظمة الصحة العالمية ومنظمة الاغذية والزراعة الدولية (Surekha and Reddy , 2000)

في عام 1859 قام Van Hoffman بعزل حامض السوربيك من ثمار التوت ، وفي بداية الاربعينات تم التعرف على الخصائص المضادة للأحياء المجهرية التي يبيدها هذا الحامض وفي بدايات الخمسينات اصبح حامض السوربيك متوفرا تجاريا ومنذ ذلك الحين تم استخدامه بشكل واسع كمادة حافظة في العديد من الاغذية (Davidson et al., 2005) .

يعد حامض السوربيك (Sorbic acid) حامضا عضويا كاربوكسليا مكون من سلسلة مستقيمة من الاحماض الدهنية غير المشبعة وصيغته الجزيئية  $CH_3-CH=CH-CH=CH-COOH$  ويبلغ وزنه الجزيئي 112.13 دالتون ،ويشكل حامض السوربيك رقائق او ابر عديمة اللون عندما يتبلور ويكون متوفرا تجاريا بشكل مسحوق ابيض او حبيبي .وتعد مجموعة الكاربوكسيل لحامض السوربيك نشطة وبذلك تنتج عن تكوين العديد من استرات واملاح حامض السوربيك التي من اشهرها سوربات البوتاسيوم (potassium sorbate)، (Sofos , 1989) .

تكون ذاتيية حامض السوربيك في الماء عند درجة حرارة الغرفة منخفضة ولكنها تزداد مع زيادة درجة الحرارة والرقم الهيدروجيني او كلاهما. كما يمتلك حامض السوربيك ذوبانية عالية في الايثانول وحامض الخليك الثلجي. وتعد املاح حامض السوربيك ذات ذوبانية اعلى من الحامض ولذلك تستخدم في العديد من التطبيقات الخاصة بحفظ المواد الغذائية (Sofos, 1989, 1992).

وتعرف سوربات البوتاسيوم بانها املاح البوتاسيوم لحامض السوربيك صيغتها الجزيئية  $C_6H_7KO_2$  ويبلغ وزنها الجزيئي 150.22 دالتون. وتمتلك السوربات (Sorbate) فعالية مضادة للعديد من الاحياء المجهرية المسببة لتلف الاغذية وتتميز السوربات بانها ذات طعم معتدل وفعالية عالية تعمل في مدى واسع من الرقم الهيدروجيني مقارنة مع البنزوات والبروبيونات ويوضح الشكل 4 الصيغة التركيبية لها (Barbosa-Canovas *et al.*, 2003).



الشكل ( 4 ) : الصيغة التركيبية لسوربات البوتاسيوم

تعد السوربات Sorbate اكثر كفاءة واقل سمية مقارنة مع البنزوات (Thakur *et al.*, 1994) وتصنف على انها من المواد الحافظة الامنة الاستخدام في الاغذية والمعترف بها من قبل منظمة الغذاء والدواء الاميركية (US.FDA, 2005).

### 3-1 فساد الاغذية (Food spoilage)

يقصد بالتلف او الفساد (spoilage) هو التغير العضوي (organoleptic) الذي يحدث في الغذاء كالتغير في الطعم او القوام والمظهر والنكهة ، مما يعتبره المستهلك غير مقبول قياسا بالحالة الطبيعية للغذاء . ولا بد من وجود صفات هامة للغذاء يتفق عليها الجميع هي أن لا يكون الغذاء خطرا على صحة المستهلك من حيث درجة التغير او التلف فيه من حيث التغير في مكوناته



الكيميائية او احتوائه على احياء مجهرية ممرضة وسمومها الخطرة على الصحة اما قضية النكهة والطعم واللون فهي مسائل نسبية يتحكم فيها ذوق المستهلك (المصلح, 1990).

تقسم الاغذية اعتمادا على قابليتها في التلف على ثلاثة مجاميع هي :

1- اغذية غير قابلة للتلف (Stable or non-perishable foods) هي اغذية لا تتلف بفعل الاحياء المجهرية لفترات طويلة جدا عند تخزينها تحت ظروف عادية مثل السكر والطحين والحبوب الجافة والبقليات الجافة.

2- اغذية متوسطة القابلية للتلف (Semi-perishable foods) هي اغذية تتلف بعد فترة متوسطة من التخزين مثل البطاطا والبصل والثوم والفواكه والخضر المجففة.

3- اغذية سريعة التلف (Perishable foods) هي اغذية تتلف بسرعة خلال ساعات او ايام وتشمل غالبية الاغذية المهمة مثل اللحوم والاسماك والحليب ومنتجات الدواجن والبيض وغالبية الخضر والفواكه (المصلح, 1990).

أوضح Forsythe and Hayes. (1998) ان أهم اسباب حدوث تلف الاغذية تتلخص بـ :

1- نمو الاحياء المجهرية ونشاطها خصوصا البكتريا والخمائر والاعفان

2- الحشرات واضرارها

3- التغيرات الكيميائية

4- الانزيمات المتواجدة في الانسجة النباتية والحيوانية

5- التغيرات الفيزيائية مثل تعرض الاغذية الى الحرارة والاشعاع والتجميد وغيرها.

**1-3-1 تلف الاغذية بوساطة الاحياء المجهرية:**

يوجد عدة الاف من الاجناس وانواع الكائنات الحية الدقيقة ومنها عدة مئات لها علاقة

بالمنتجات الغذائية ، وهي لا تسبب جميعها فساد الاغذية بل يوجد العديد منها يستخدم في حفظ

الاعذية مثل بكتيريا حامض اللاكتيك في الجبن والمخللات (اعضاء هيئة التدريس بقسم علوم الاعذية, 2013).

### 1-1-3-1 البكتريا (Bacteria)

توفر الاعذية ظروفًا بيئية ملائمة لنمو البكتريا ، ويؤدي هذا النمو الى جعل الاعذية غير مقبولة من نواحي عدة . وهناك العديد من العوامل التي تحدد نمو الاحياء المجهرية مثل درجة الحموضة والنشاط المائي في الاعذية (Modi , 2009).

تسهم البكتريا المكونة للسيرات بتلف الاعذية ويسمح تكوينها للسيرات بمقاومة الظروف غير الملائمة مثل درجات الحرارة العالية (اعلى من 55 درجة مئوية ) ومن الامثلة على هذه البكتريا هي *Bacillus spp* و *Clostridium spp* التي تعد من اهم مسببات تلف الاعذية (Doyle,2007). ولبعض انواع البكتريا القابلية على احداث تغيرات غير مرغوبة في الاعذية من الناحيتين المظهرية والكيميائية اذ تتمكن هذه الانواع من تحليل المركبات الكربوهيدراتية والبروتينية والدهنية من خلال افرازها لبعض الانزيمات مثل انزيم protease وانزيم lipase وبالتالي تؤدي الى تلف الاعذية (Murphy, 2010).

تقوم بعض انواع البكتريا والفطريات بإفراز السموم (Toxins) في الاعذية مما يؤدي الى تلف هذه الاعذية ومن امثلة تلك البكتريا هي *Clostridium botulinum* وغيرها (Lampel et al., 2012).

### 1-1-1-3-1 بكتريا *Listeria monocytogenes*

يضم جنس الليستريا *Listeria* مجموعة من الجراثيم الموجبة لصبغة كرام ذات المحتوى الواطي لـ GC . افراد هذا الجنس عصيات لاهوائية اختيارية تتراوح ابعادها ما بين 0.4 مايكرومتر عرضا و 1-1.5 مايكرومتر طولاً . لا تكون سبورات ولا تمتلك محفظة وتكون متحركة عند درجة حرارة تتراوح ما بين (10-25) م° (Sallen et al., 1996).

تعد بكتيريا *L.monocytogenes* من الانواع الانتهازية (opportunistic) الداخلة خلوية المهمة والخطرة على صحة الانسان في انحاء العالم كافة بسبب امراضيتها العالية والتي تنتقل الى الانسان عن طريق المواد الغذائية الملوثة بها (Liu et al.,2006) . اذ تسبب العديد من الامراض من اهمها الاجهاض عند النساء الحوامل (abortion) والتهاب الدماغ (encephalitis) وانتان الدم في الاطفال حديثي الولادة (septicemia) (Low and Donachie., 1997) فضلا عن داء Listeriosis (Odumeru et al., 2009).

تصيب بكتيريا الليستريا العاملين في المزارع والمسالخ (Sbalzarini et al., 1995) والاجنة والاطفال حديثي الولادة ومرضى السكري ومرضى العوز المناعي المكتسب (FAO/WHO, 2002).

تعد بكتيريا *L.monocytogenes* نبيت طبيعي في امعاء الاسماك ، وقد تبين امكانية عزل هذه البكتيريا من غلاصم الاسماك التي تعيش في المياه الملوثة (polluted water) لذا يمكن ان تعد غلاصم الاسماك نواقل (vectors) لانتقال هذه البكتيريا من الاسماك الى الانسان (FDA, 2001) .

تسبب بكتيريا *L.monocytogenes* امراضا في الحيوانات مثل مرض التهاب الدماغ (encephalitis) في المجترات ، كما تصاب الابقار والابقار والماعز بالاجهاض نتيجة لانتقال بكتيريا *L.monocytogenes* من الام الى الجنين عبر المشيمة (Barbuddhe et al .,2002).

تنتشر بكتيريا *L.monocytogenes* بصورة واسعة في البيئات الريفية لذلك تعد من اهم ملوثات الاغذية الخام المستخدمة في تصنيع الاغذية الجاهزة كالحليب ومشتقاته كما انها من ملوثات الفواكه والخضروات الطازجة ، اذ تمتلك هذه البكتيريا وسائل حماية جيدة تمكنها من مقاومة تقنيات حماية الغذاء منها القابلية على تحمل تراكيز ملحية عالية ومدى هيدروجيني واسع والاكثر من ذلك تستطيع البقاء والتكاثر في درجات حرارة منخفضة تصل الى 4 مئوي . (Mclanchlin et al .,1990)

## 2-1-3-1 الفطريات (Fungi)

توصف الفطريات بانها مسؤولة عن النكهات غير المرغوبة في الاغذية اضافة الى انتاج السموم الفطرية (Mycotoxins) والمركبات المثيرة للحساسية (Allergic compounds) مما يؤدي الى تلف الكثير من الاغذية (Nielson and Rios,2000) .

تستطيع الاعفان ان تنمو على انواع الاغذية كافة (الحبوب واللحوم والحليب والفواكه والخضروات والدهون ومنتجاتها ) وينتج عن نموها عدة انواع من تلف الاغذية مثل السموم (Toxins) والنكهات غير المرغوبة (Off-flavor) وتغير اللون (Discoloration) والتعفن (Rotting) وغيرها. وتنتج الاعفان عددا كبيرا من الانزيمات مثل lipase و carbohydrases و protease التي تعد من اهم الاسباب التي تؤدي الى اتلاف الاغذية (Filtenborg et al ., 1996) .

تنمو الانواع التابعة لجنس *Aspergillus* عموما بشكل اسرع واكثر مقاومة لدرجات الحرارة العالية والنشاط المائي الواطئ من الانواع التابعة لجنس البنسيليوم *Penicillium spp* ، وتمتلك العديد من الانواع التابعة لجنس *Aspergillus* القابلية على انتاج السموم الفطرية ومنها الافلاتوكسين (Aflatoxins) والأكروكرا توكسين (Ochratoxin) وحامض Cyclopiazonic مما يؤدي الى فساد مجموعة واسعة من المواد الغذائية وغير الغذائية (الورق والجلود وغيرها ) ويعد جنس *Aspergillus* من اهم اسباب فساد الحبوب والفاصوليا المجففة والبقول السوداني وبعض التوابل (Doyle,2007) .

يوجد اكثر من 40 نوعاً تابع لجنس *Aspergillus* لها القابلية على انتاج مواد ايسية سمية ، ومن اخطر تلك السموم هي الافلاتوكسينات التي تنتج بشكل رئيس من الفطرين *A.flavus* و *A.parasiticus* (Cole and Schweikert , 2003) .

يعد جنس *Penicillium* من الاجناس الفطرية الواسعة الانتشار في الطبيعة فهو يضم حوالي 220 نوع منها 50 نوع شائعة الانتشار وتمتاز بقابليتها على النمو في الاوساط الزراعية الصناعية وشبه الصناعية . وتقسم الانواع العائدة لجنس *Penicillium* المسببة لتلف الاغذية الى

ثلاث مجاميع رئيسة هي اولاً : الفطريات التي تصيب المواد الغذائية الطازجة وخاصة الفواكه و ثانياً: الفطريات التي تصيب الحبوب بعد الحصاد واثناء التجفيف و ثالثاً: الفطريات التي تصيب الاغذية المعلبة (Blackburn, 2006).

يعد الفطر *P.expansum* العائد الى جنس البنسيليوم من اهم الممرضات النباتية (Plant pathogens) التي تسبب تلف الكثير من الفواكه الموسمية مثل التفاح والكمثرى ، اذ تؤدي الاصابة بهذا الفطر الى ظهور تعفن ذو لون ازرق (Blue rot) اضافة الى قابلية هذا الفطر في انتاج واحد من اهم السموم الفطرية الذي يدعى بالباتولين (Patulin) (Tančinová et al , 2013). وغالبا ما يؤدي التعرض لهذا السم الفطري (Patulin) الى اثار سلبية على الجهاز العصبي والهضمي والمناعي (Puel et al., 2010).

#### 4-1 الاكسدة (oxidation) :

تعد الاكسدة تفاعلا كيميائيا يتم خلاله نقل الالكترونات من مادة الى عامل مؤكسد وتؤدي تفاعلات الاكسدة الى انتاج الجذور الحرة (Free radicals) التي تقوم بالبداة بسلسلة تفاعلات تؤدي في النهاية الى تلف الخلايا (Hamid et al., 2010).

وتعرف الجذور الحرة بأنها ذرات او جزيئات تحمل الكترونات مفردة غير مزدوجة في مدارها الخارجي ، مما يجعل هذه الجذور غير مستقرة ولها القابلية على التفاعل مع الجزيئات الاخرى مثل البروتينات والاحماض النووية والاحماض الدهنية مما يؤدي الى تغير في البنية والوظيفة لتلك الجزيئات . وبناءً على ذلك فإن هذه التغيرات يمكن ان تؤدي الى تلف الخلايا (Cell damage) والاختلال الوظيفي (Dysfunction) واخيرا موت الخلية . ويحدث الجهد التأكسدي (Oxidative stress) عندما لا يكون هنالك توازن بين الجذور الحرة وكاسحات (Scavengers) تلك الجذور اي تكون هنالك زيادة في انتاج الجذور الحرة وانخفاض في كاسحاتها مثل مضادات الاكسدة (Tuppo and Forman, 2001).

**1-4-1 الاكسدة في الاغذية (Oxidation in foods)**

الأكسدة هي واحدة من أهم العمليات التي تحدث في الأنظمة الغذائية، إذ تؤثر في العديد من التفاعلات التي تحدث بين مكونات الغذاء مما يؤدي إلى تكوين نواتج مرغوبة أو غير مرغوبة. وتعد الاغذية الدهنية (ذات المحتوى العالي من الدهون) أكثر عرضة لعمليات الأكسدة وبالتالي فإن تفاعلات الأكسدة هي واحدة من المصادر الرئيسية لتلف الاغذية التي تحدث خلال عمليات تصنيع وتخزين ونقل وتحضير تلك الاغذية (Wasowicz *et al.*, 2004).

أشار Choe and Min (2009) إلى أن هناك اليات كيميائية مختلفة مسؤولة عن أكسدة الدهون والزيوت خلال عمليات التصنيع والخرن والطبخ وهي :-

1- الأكسدة التلقائية (Autoxidation)

2- الأكسدة الحرارية (Thermal oxidation)

3- الأكسدة الضوئية (Photooxidation)

4- الأكسدة الانزيمية (Enzymatic oxidation)

**5-1 مضادات الاكسدة (Antioxidants)**

مضادات الاكسدة هي مجموعة من المواد التي لها القابلية على تثبيط عملية الاكسدة حتى عند استخدامها بتركيز منخفضة نسبيا وهكذا فإن لهذه المواد ادوارا فسيولوجية متنوعة ومهمة في الجسم (Mandal *et al.*, 2009) وتمثل مضادات الاكسدة صنفا من المركبات الكيميائية الواسعة الانتشار في الطبيعة والتي تمتلك اليات عمل متنوعة ، ومنها تفاعلها مع الجذور الحرة في الدهون وتكوين نواتج مستقرة وغير فعالة (Pokorny and Korczak, 2001).

تصنف مضادات الاكسدة المستخدمة كمواد حافظة في الاغذية الى صنفين رئيسين

(Venkatesh and Sood, 2011) هما :-

1- مضادات الاكسدة الطبيعية (Natural antioxidants)

هي عبارة عن مركبات طبيعية تتواجد في الكثير من الفواكه والخضروات واللحوم والعديد من المواد الغذائية الأخرى ، ومن أشهر هذه المركبات فيتامين C (Ascorbic acid) وفيتامين E (Tocopherols) وفيتامين A (Carotenoids) والعديد من مركبات متعددة الفينول مثل (Flavonoids) و (Anthocyanins) و (Lycopene) و (Coenzyme Q10) .

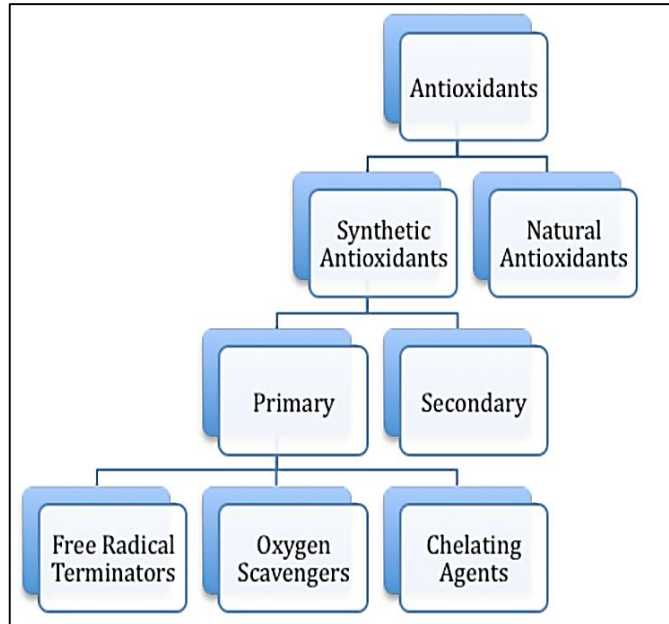
## 2- مضادات الأكسدة الصناعية (Synthetic antioxidants)

هي مركبات كيميائية صناعية لا توجد في مصادر الغذاء الطبيعية ، وتضاف هذه المركبات إلى الأغذية كمواد حافظة للمساعدة على إيقاف أو منع عملية أكسدة الدهون . ومن أشهر هذه المركبات (BHT)Butylated hydroxytoluene و (BHA)Butylated hydroxyanisole و (TBHQ)Tertiary butyl hydroquinone و (PG)Propyl gallate و (DG)dodecyl gallate و (OG) Octyl gallate .

كما يمكن تصنيفها اعتماداً على آلية عملها إلى صنفين (Wanasundara and Shahidi,2001) هما :-

## 1- مضادات الأكسدة الأولية (primary antioxidants)

يشار إليها أيضاً بالنوع 1 (Type1) أو مضادات الأكسدة القاطعة للسلسلة (Chain-breaking antioxidant) وبسبب الطبيعة الكيميائية لهذه الجزيئات فإنها تعمل ككاسحات للجذور الحرة كما يمكنها أيضاً تأخير أو تثبيط خطوة الابتدء (Initiation) والتكاثر (propagation) خلال عملية الأكسدة التلقائية . يمكن تصنيف مضادات الأكسدة الأولية إلى ثلاث أصناف هي كاسحات الأوكسجين (Oxygen scavengers) والعوامل الكلايبيية (Chelating agents) و Free radical terminators كما هو موضح في المخطط 1 (Venkatesh and Sood,2011).



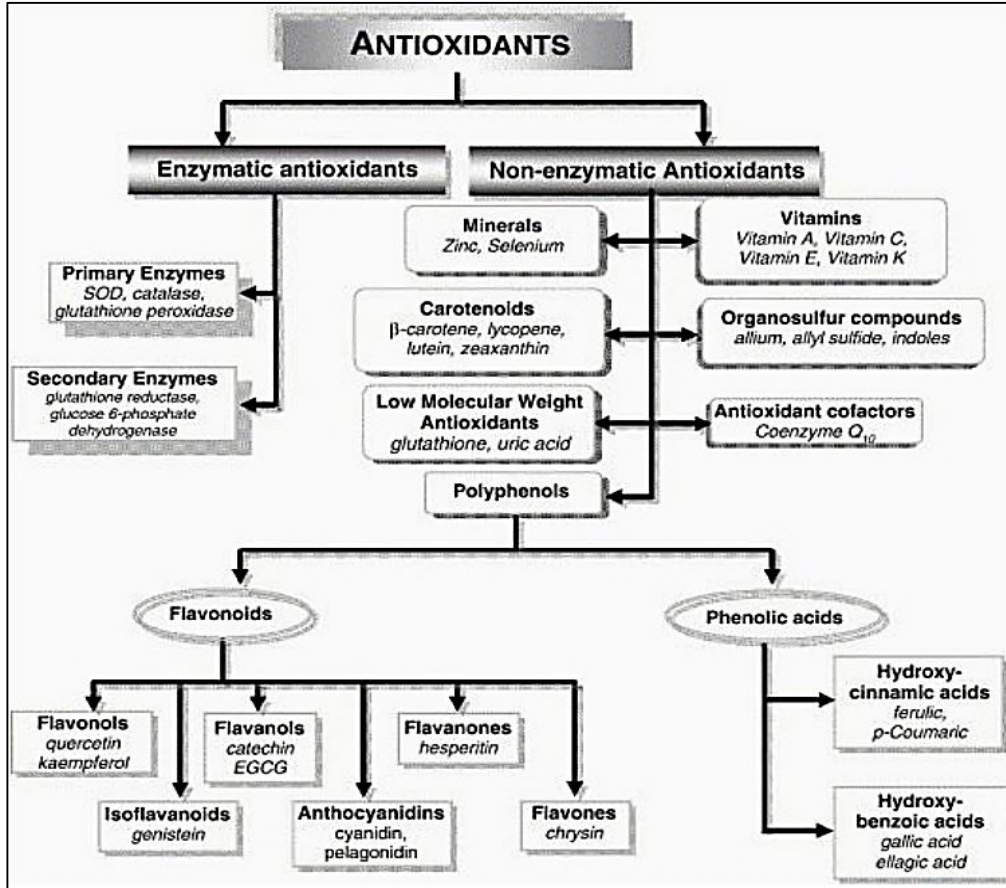
المخطط ( 1 ) : انواع مضادات الاكسدة الصناعية (Venkatesh and Sood,2011)

## 2- مضادات الاكسدة الثانوية (Secondary antioxidants)

يشار اليها بالصنف الثاني (Class11) او مضادات الاكسدة الوقائية (preventive) وتبدي هذه المركبات أليات عمل مختلفة لا بطء تفاعلات عملية الاكسدة . وان الفرق الأساس الذي يميزها عن مضادات الاكسدة الاولية هو عدم قدرتها على تحويل الجذور الحرة الى جزيئات مستقرة .وتستطيع هذه المركبات ابطاء عملية الاكسدة بأليات عديدة منها الارتباط بالمعادن و وهب ذرة هيدروجين الى مضادات الاكسدة الاولية وتحليل بيروكسيد الهيدروجين الى انواع غير جذرية وامتصاص الاشعة فوق البنفسجية وكسح اصناف الاوكسجين الفعالة فضلا عن قابليتها على تعزيز فعالية مضادات الاكسدة الاولية .

قام (2013) Shalaby and Shanab بتصنيف مضادات الاكسدة الى مضادات اكسدة انزيمية (Enzymatic antioxidants) وغير انزيمية (Non-enzymatic antioxidants) كما هو موضح في المخطط 2 .





المخطط (2) : تصنيف مضادات الاكسدة (Shalaby and Shanab,. 2013)

## 6-1 تقنية النانو (Nanotechnology)

تقنية النانو هي حقل متعدد التخصصات تغطي مجموعة واسعة ومتنوعة من الادوات ذات العلاقة بالعلوم الهندسية والفيزيائية والكيميائية والاحيائية ، ويمكن تعريف هذه التقنية بانها العلم والهندسة والتقنية التي تتضمن تصميم وتصنيع وتوصيف وتطبيق المواد والادوات التي تمتلك اصغر تنظيم وظيفي والذي يكون على الاقل احد ابعاده يقترب من المقياس النانوي (Sahoo *et al.*, 2007) ، بينما تم تعريفها من قبل بعض الباحثين بأنها التقنية التي تدرس وتعمل على تطويع (Manipulation) وتصنيع تراكيب فائقة الصغر (Ultra small structure) وآلات (Machines) كل منها يعمل بصورة متناغمة كوحدة واحدة او كجزئية واحدة (العبيدي, 2012) .

تنسب تسمية تقنية النانو الى النانوميتر لأنه ادق وحدة قياس مترية يبلغ طوله  $10^{-9}$  متر (Ramsden, 2005) ويعود مصطلح النانو (Nano) الى الكلمة اليونانية dwarf والتي تعني "القزم" وعموما تشير الى المواد التي تتراوح ابعادها بين (1-100) نانوميتر ، و تبدي هذه المواد ضمن المقياس النانوي خصائص مختلفة عن المواد الاكبر منها (المواد ذات المقياس المايكرو متري او أكبر) ، اذ تتعلق هذه الاختلافات بظاهرة التوصيل الكهربائي والتفاعلية الكيميائية والتأثيرات البصرية والمغناطيسية (Joseph and Morrison, 2006) .

وتستخدم العديد من المصطلحات الحاوية على كلمة نانو (Nano) للدلالة على تقنية النانو ومنها المقياس النانوي (Nano scale) والطور النانوي (Nano phase) والبلورة النانوية (Nano crystal) والجسيم النانوي (Nano particle) والماكنة النانوية (Nano machine) (Klabunda,2001) .

يعد عالم الفيزياء الشهير ريتشارد فينمان (Richard Feynman) اول من اشار الى فكرة تقنية النانو في محاضرة له عام 1959 حينما قال ( هناك الكثير من الغرف في الاسفل ) مما فتح البوابة نحو عصر جديد ومذهل من التقدم العلمي ، في حين ان اول من اطلق مصطلح التقنية النانوية هو العالم الياباني Norio Taniguchi عام 1974 (Ramsden, 2009) .

هناك استراتيجيتان بنائيتان تستخدمان في التقنية النانوية (Föster and Konrad,2003) هما :-

#### Top – down Approach -1

يعتمد مقياس الانتاج التجاري للمواد النانوية بشكل أساس على استراتيجية التصنيع من القمة الى القعر (Top-down) ، اذ يتم الحصول على التراكيب النانو مترية بواسطة اختزال حجم المادة الاساس باستخدام عدة تقنيات منها الطحن (Milling) و (Nanolithography) و الهندسة الدقيقة (Precision engineering) .

#### Down – Top Approach -2

تعد هذه الاستراتيجية احدث مقارنة بسابقتها ، اذ يتم بناء التراكيب النانو مترية من الجزيئات والذرات التي لها القابلية على التجمع الذاتي (Self-assembling) . ويعتمد التجمع الذاتي للجزيئات والذرات على تحقيق التوازن بين قوى التجاذب والتنافر ما بين زوج من الجزيئات التي تعد عناصر اساسية لتشكيل تراكيب جزيئية وظيفية (Sanguansri and Augustin , 2006).

### 7-1 الدقائق النانوية (Nano- particles)

تتضمن التقنية النانوية العديد من التراكيب الاساسية مثل الدقائق النانوية او البلورات النانوية (Nano-crystals) والطبقات النانوية (Nano layers) والانابيب النانوية (Nanotubes) وتختلف هذه التراكيب النانوية بكيفية تصنيعها وايضا بكيفية ترتيب الذرات والجزيئات ، ومن اهم هذه التراكيب الاساسية في التقنية النانوية هي الدقائق النانوية التي تعرف بأنها مجموعة من عشرات الى الاف الذرات التي تتراوح اقطارها بين 1-100 نانوميتر ، وهذه الدقائق يمكن ان توصف ايضا بالبلورات النانوية وذلك بسبب الترتيب الفائق للذرات ضمن تلك الدقائق او اشكالها البلورية (Zhang ,2003) .

تعد الدقائق النانوية ذات اهمية كبيرة للعلوم والتقنيات الحديثة لانها تمثل جسرا بين الدقائق الاكبر حجما (bulk materials) والتراكيب الجزيئية او الذرية ، اذ ان الخصائص الفيزيائية للمادة بحجمها الكبير هي ثابتة بغض النظر عن حجمها ولكن عند المقياس النانوي فليس بالضرورة ان تكون كذلك ، اذ تبدأ خصائص المادة بالتغير حين يقترب حجمها من المقياس النانوي (Ghotbi,2009) .

تتميز المواد النانوية (Nano materials) عن بقية المواد الاخرى بزيادة مساحتها السطحية وتأثيرات الكم (Quantum effects) وهاتان الخاصيتان يمكن ان تسهمان في تغيير او زيادة بعض الخواص مثل التفاعلية (reactivity) والقوة (Strength) والخواص الكهربائية (electrical characteristic) . اذ كلما يقل حجم الجزيئة فان نسبة كبيرة من

الذرات تتواجد على السطح مقارنة بتلك الموجودة داخل الجزيء (The Royal society and the Royal Academy of engineering,2004).

تعد الدقائق النانوية احدى اهم ادوات التقنية النانوية التي تستخدم في العديد من التطبيقات الحيوية مثل الاختبارات التشخيصية والكشف المبكر عن الامراض وايصال الدواء لأماكن محدده من الجسم (Hofmann-Antenbrink *et al.* , 2009) وازالة الملوثات من البيئة (Khin *et al.*,2012) فضلا عن استخدام تلك الدقائق في مجالات عديدة اخرى مثل الالكترونيات (Electronics) والنقل والاتصالات (Transportation and Telecommunication) والتصوير (Imaging) ومستحضرات التجميل (Cosmetics) والطلاء (Coatings) والهندسة الميكانيكية (Mechanical engineering) (Buzea *et al.*,2007).

### 8-1 مركبات النانو (Nano composites)

جذب حقل المركبات النانوية في السنوات الاخيرة انتباه الكثير من العلماء والمهندسين، اذ تعد المركبات النانوية عناصر اساسية (بنائية) في تصميم واستحداث مواد جديدة ذات مرونة وصفات فيزيائية غير مسبوقه . وتتكون هذه المواد عادة من مركب صلب غير عضوي (المضيف) يحتوي على مركب عضوي او العكس بالعكس، او انها تتكون من اثنين او اكثر من الاطوار غير العضوية / العضوية في بعض التوليفات مع بقاء واحد على الاقل من الاطوار ضمن المقياس النانوي (Ajayan *et al.*, 2003).

ونظرا لما تتمتع به المركبات النانوية من خصائص فريدة فقد استخدمت في العديد من التطبيقات مثل انظمة الكشف المغناطيسية والكهروكيميائية واجهزة الاستشعار البصرية (optical biosensor) (Merhari , 2008) وفي معالجة المياه (Water remediation) والاجهزة الطبية وفي صناعة اجهزة الكمبيوتر والبلاستيك والطلاء وغيرها من التطبيقات الاخرى (Masia , 2008).

مركبات النانو (Nano composite) هي مواد متعددة الاطوار تنتج عن ارتباط مكونين او اكثر بما في ذلك القالب matrix (الطور المستمر) والطور غير المستمر الذي يكون على الاقل أحد ابعاده ضمن المقياس النانوي . يقسم الطور ذو الابعاد النانوية على ثلاثة اصناف طبقا الى حجم الابعاد النانوية (Alexandre and Dubois, 2000) وهي:

- 1- الدقائق النانوية (Nano particles) التي تمتلك ثلاثة ابعاد ضمن المقياس النانوي .
- 2- الانابيب النانوية (Nano tubes) و القضبان النانوية (Nano rods) اللذان يمتلكان بعدين ضمن المقياس النانوي .
- 3- الصفائح النانوية (Nano sheets) التي تمتلك بعداً واحداً ضمن المقياس النانوي .

تمتلك معظم الاطوار (مركبات) ذات المقياس النانوي دورا تركيبيا مهما اذ تعمل على تحسين وتعزيز الخواص الميكانيكية للقالب او الطور المستمر (عادة ما يكون بوليمر) اذ تؤدي عملية اندماج المعززات النانوية (Nano reinforcement) الى البوليمرات الحيوية الى فتح امكانيات جديدة لتحسين تلك البوليمرات ليس فقط من ناحية خصائصها بل ايضا من ناحية كلفتها وكفاءتها وفعاليتها (Sorrentino et al., 2007).

### 9-1 المعادن الطينية (Clay minerals)

حصلت المعادن الطينية على قدر كبير من الاهتمام منذ الايام الاولى للحضارة الانسانية ويعود السبب في ذلك الى وفرتها في الطبيعة وتطبيقاتها غير المحدودة ، اضافة الى استخدام تلك المعادن قديما لأغراض علاجية ووقائية (Choy et al., 2007) .

وتقسم المعادن الطينية الى مجموعتين رئيسيتين هما : اولاً- الاطيان الموجبة (Cationic clays) وهي واسعة الانتشار في الطبيعة و ثانياً- الاطيان السالبة (Anionic clays) وهي نادرة في الطبيعة وتتميز ببساطتها ويمكن تصنيعها بكلفة واطئة نسبيا . الاطيان الموجبة مثل طبقات سليكات الألومينا تكون ذات شحنة سالبة وتحتوي على ايونات موجبة في الفراغ ما بين الطبقات لمعادلة الشحنة ، ففي حين ان الاطيان السالبة مثل طبقات

هيدروكسيد المعادن (Metal hydroxide) تكون ذات شحنة موجبة ، وتحتوي على ايونات سالبة لمعادلة الشحنة فضلا عن احتوائها على جزيئات ماء في الفراغ ما بين الطبقات (Kiš *et al.*, 2002) .

ونتيجة للتطورات الحاصلة في العلوم والتقنيات النانوية وجهت الانظار نحو المعادن الطينية ، واعتمادا على ابعاد الطبقات والفراغ ما بين الطبقات لهذه المعادن الذي يكون ضمن المقياس النانوي فأنها يمكن ان تعمل كمواد نانوية طبيعية او مفاعلات نانوية (Nano-reactors) لتصنيع الانواع النانوية (Nano species) والدقائق النانوية (Nano particles) و الاجهزة النانوية (Nano devise) (Zhou *et al.*, 2006) ، اذ ان العديد من الانواع والدقائق النانوية تم اقامها الى الفراغ ما بين طبقات المعادن الطينية مما أدى الى انتاج مواد ذات مجاميع وظيفية جديدة (Tong *et al.*, 2009) .

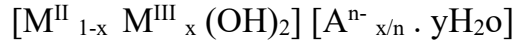
كما تم استخدام المعادن الطينية في العديد من التطبيقات الصيدلانية لما تتمتع به من خصائص فريدة مثل قابليتها العالية على الادمصاص والمساحة العالية للسطوح الداخلية وقابليتها العالية على التبادل الايوني اضافة الى كونها ذات سمية واطنة او معدومة (Carretero,2002).

### 10-1 الطبقات ثنائية الهيدروكسيد (Layered double hydroxides)

استخدمت المواد المركبة العضوية – لا عضوية في المجالات العلمية والتقنية المختلفة نظرا لما تمتلكه هذه المواد من خصائص مميزة وفريدة اذ استعملت في تطبيقات واسعة اشتملت على التفاعلات الكيموضوية والمواد المغناطيسية وبوليمرات الهجائن النانوية والمحسسات الحيوية والمحفزات اضافة الى خاصية التحرر التي تمتلكها هذه المواد (Ghotbi and Hussein, 2010) .

تعرف الطبقات ثنائية الهيدروكسيد بأنها اطيان الايونات السالبة (anionic clay) او الاطيان الشبيهة بالهيدروتالسايت (Hydrotalcite) ، وتعد هذه الطبقات صنفا من المركبات الرقائقية (Lamellar compounds) التي تحتوي على طبقات المضيف الشبيهة بالبروسايت (Brucite) والمشحونة بشحنة موجبة ، اذ تظهر تلك الشحنة من خلال

الاستبدال (Isomorphous substitution) لجزء من الأيون الثنائي مع الأيون الثلاثي كما في الشكل 5 (Liu *et al.*, 2006) ولها الصيغة الأتية :

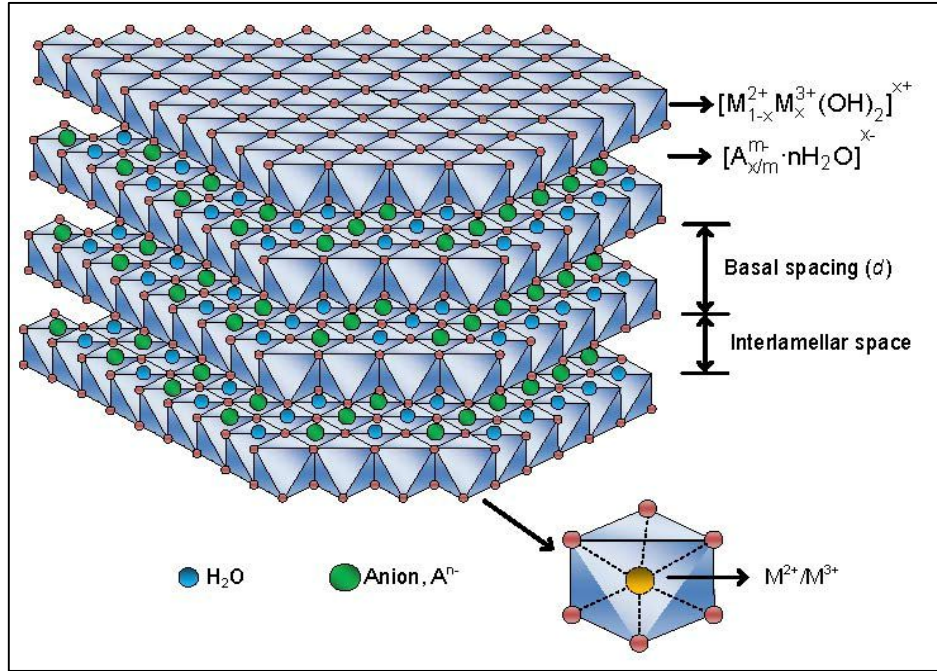


اذ يمثل M(II) الايون الموجب ثنائي التكافؤ بينما يمثل M(III) الايون الموجب الثلاثي التكافؤ ، اما  $An-$  فتمثل الايونات الحاملة للشحنة السالبة داخل الطبقات و- $n$  يمثل رقم الشحنة للأيونات داخل الطبقة ، ويمثل  $x$  قيمة الكسر المولي التي تتراوح قيمته بين (0.2-0.33) . اذ يترتب هيدروكسيد المعدن حول الايون الموجب الثنائي او الثلاثي بشكل ثماني السطوح لذا فهي تشبه مركبات (brucite) من حيث ترتيب مجاميع الهيدروكسيد حول ايون المغنسيوم مكونا شكل ثماني الاسطح كما هو موضح في الشكل 6a الا ان الاختلاف الجوهري بينهما يكمن في استبدال الايون الموجب ثنائي التكافؤ بالأيون ثلاثي التكافؤ مما يؤدي الى احاطة الطبقات بالشحنة الموجبة كما في الشكل 6b وعلى هذا الاساس سوف تكتسب هذه الطبقات خاصية التبادل الايوني السالب (Kovanda *et al.*, 2011) .

استخدمت الطبقات ثنائية الهيدروكسيد لتحضير مواد نانوية هجينة عضوية - لا عضوية بواسطة اقحام الايونات العضوية مثل الاحماض الامينية (amino acids) والدينا (DNA) و المضادات الحيوية (antibiotic) ومضادات السرطان (anticancer) ومضادات التخثر (anticoagulants) وغيرها الى الفراغ ما بين الطبقات وبذلك تصبح هذه الجزئيات محمية ضد التغيرات التي تنشأ بواسطة الرطوبة والضوء والحرارة وغيرها من المؤثرات الاخرى ، اضافة الى خاصية التحرر المسيطر عليه التي تمتلكها هذه الطبقات مما يجعلها ذات فائدة كبيرة في العديد من التطبيقات (Arco *et al.*, 2010) .

ان عملية اقحام الايونات السالبة الشحنة الى الفراغ البيئي للطبقات ثنائية الهيدروكسيد ينجز بثلاث طرائق هي الترسيب المشترك (co-precipitation) والتبادل الايوني (ion exchange) واعادة التكوين او التشكيل (reconstruction) للطبقات ثنائية الهيدروكسيد من اوكسيد المعدن ، اذ ان طريقة التبادل الايوني واعادة التكوين او التشكيل تتضمن خطوات

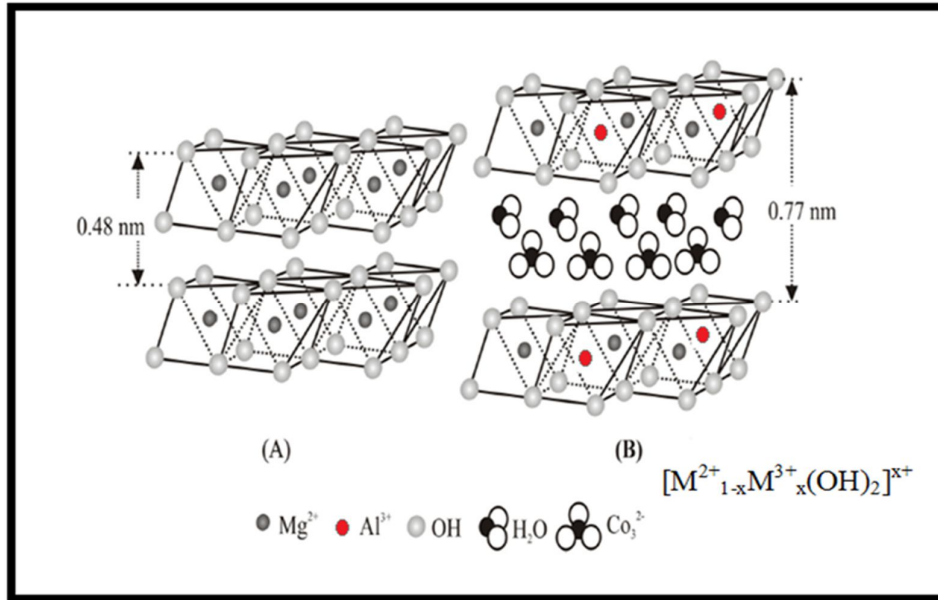
عدة لتصنيع المركبات النانوية الهجينة في حين ان طريقة الترسيب المشترك تتضمن خطوة واحدة لتصنيع المواد المركبة مما يجعلها الطريقة الافضل لتصنيع كميات كبيرة من الطبقات ثنائية الهيدروكسيد المطلوبة تجاريا في العديد من التطبيقات (Kameda *et al.*, 2009).



الشكل (5): الطبقات ثنائية الهيدروكسيد (Liu *et al.*, 2006)

تعد الاطيان السالبة (طبقات ثنائية الهيدروكسيد) من المواد الواعدة التي يمكن استخدامها لتقييد (Immobilization) العديد من الجزيئات الحيوية وتطوير اقطاب المحسسات الحيوية (Biosensor electrodes) ويعزى ذلك الى قابليتها على التبادل الايوني و الاقحام وادمصاص الجزيئات الحيوية مثل البروتينات والانزيمات اضافة الى كونها غير سامة وذات توافق حيوي جيد (Biocompatibility) (Shafiei *et al.*, 2008).





الشكل (6): مقارنة بين طبقات البروسايت (a) وطبقات ثنائية الهيدروكسيد (b) (Kovanda *et al*, 2011)

تمتلك الطبقات ثنائية الهيدروكسيد قابلية عالية للتبادل الأيوني السالب والتي تقدر بحوالي (2-3) meq/g مقارنة بالمبادلات الأيونية السالبة (anion exchange resins) سواء كانت هذه الأيونات السالبة عضوية أم غير عضوية إذ تعمل هذه الطبقات على احتجاز الأيونات السالبة ويرجع السبب في ذلك إلى هيمنة الشحنة الموجبة على سطح هذه الطبقات لذا تعمل على جذب الأيونات السالبة داخل الطبقات بشكل مستقر ولأيمكن أن تتحرر إلا في أوساط معينة وأن القوى التي تتحكم في استقرارية هذه الطبقات هي القوى الكهروستاتيكية والأواصر الهيدروجينية التي تنشأ بين مجاميع الهيدروكسيد في الطبقة والأيونات السالبة وجزيئات الماء داخل الطبقة ، لذا يستفاد من هذه المبادلات في احتجاز المواد الملوثة العضوية وغير العضوية والسيطرة على تحررها للحد من العديد من المشاكل البيئية (Goh *et al* ., 2008).

### 11-1 اوكسيد الزنك (Zinc oxide) :

توجهت الأنظار حديثاً نحو استخدام المواد اللاعضوية مثل أكاسيد الزنك (ZnO) والمغنيسيوم (MgO) وغيرها من الأكاسيد الأخرى كعوامل مضادة للأحياء المجهرية والتي تعزى إلى تولد أنواع الأوكسجين الفعالة على أسطح هذه الأكاسيد . وتتميز هذه الأكاسيد اللاعضوية

باحثائها على عناصر امنة بيئيا واساسية للإنسان و تبدي فعالية قوية حتى عندما تؤخذ بكميات صغيرة جدا ، كما انها غير سامة ومقاومة للحرارة وذات انتقائية عالية مقارنة مع المواد العضوية المضادة للأحياء المجهرية (Yousef and Danial,2012) .

ومن اشهر الاكاسيد اللاعضوية المستخدمة في التقنية النانوية هي دقائق الزنك النانوية (Zno nanoparticles) التي تبدي فعالية مضادة ضد طيف واسع من الانواع البكتيرية والتي تعزى الى زيادة المساحة السطحية لهذه الجسيمات مما يسمح لها بالتفاعل بشكل اكبر مع البيئة المحيطة لها (Seil and Webster,2011) . كما تم ادخال تلك الدقائق في العديد من البوليمرات المختلفة مثل polypropylene فضلا عن استخدامها كمضافات للعديد من المنتجات مثل السيراميك والزجاج والمواد الغذائية والصبغات وغيرها (Rajamanickam *et al.*, 2012) .

تستخدم دقائق الزنك النانوية في تحضير المواد التي تمتلك خصائص طبيعية مفيدة ، اذ استخدمت بشكل مساحيق (powders) وكريمات مطهرة (antiseptic creams) وأشرطة جراحية (surgical tapes) والشامبو (shampoos) للتخفيف من جفاف وتهيج الجلد والطفح والبتور. كما يستخدم اوكسيد الزنك مع المضاد ciprofloxacin لزيادة فعاليته المضادة للبكتريا ومع المضاد eugenol في علاج الاسنان فضلا عن استخدامه في واقيات الشمس (sunscreens) لقابليتها على امتصاص الاشعة فوق البنفسجية وبالتالي حماية البشرة من اضرار اشعة الشمس (Shailaja *et al.*, 2013) .

يمكن ان تحضر دقائق الزنك النانوية بطرائق عدة منها تفاعل فلز الزنك مع الايثانول عند درجة حرارة 200 م° اذ تتراوح اقطار الدقائق النانوية الناتجة بين 50-200 نانوميتر بمعدل اقطار مقداره 100 نانوميتر (Shah and AL-Shahry,2009) .

يعد اوكسيد الزنك من المواد المعرفة عموما بكونها آمنة GRAS من قبل منظمة الغذاء والدواء الاميركية (FAD) لذا فقد تم استخدامها كمادة مضافة للأغذية فضلا عن استخدامها كمواد تدمج مع المواد المغلفة للأغذية (packaging material) مما يقلل الحاجة الى استخدام

تراكيز عالية من مضادات الأحياء المجهرية المضافة بشكل مباشر الى المنتجات الغذائية (Espitia *et al.*, 2012).

### 12-1 تطبيقات تقنية النانو في الاغذية :

تعد التقنية النانوية ذات تأثير كبير في حياة المستهلك اذ يتضح ذلك من خلال زيادة توفر المنتجات النانوية ويتوقع خبراء صناعة الاغذية ان تؤثر تقنية النانو بطرائق شتى تأثيرا كبيرا في المنتجات الغذائية سواء كان ذلك بشكل مباشر أم غير مباشر. ومن الامثلة على استخدام تقنية النانو في صناعة الاغذية هو مجال المواد الملامسة للأغذية ، فالمواد النانوية التركيب متاحة بالفعل كعبوات او اغلفة في الحاويات البلاستيكية لمنع تسرب الغاز واطالة مدة الحفظ (الشبكة الدولية المعنية بالسلامة الغذائية، 2008).

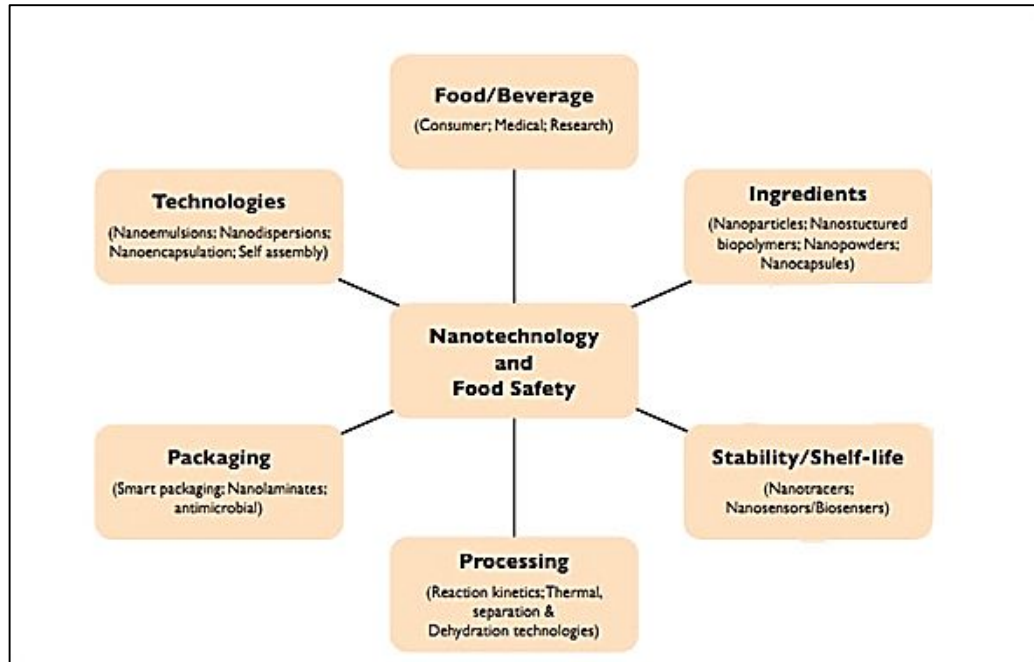
ان تطبيقات التقنية النانوية لازالت حديثة العهد في مجال الاغذية الا انه يتوقع ان تنمو باضطراد في السنين القادمة (Chaudhry *et al.*, 2008). تعد عملية تغليف المواد او المضافات الغذائية (Encapsulation) بالمواد النانوية واحدة من اهم تطبيقات التقنية النانوية في مجال الاغذية اذ توفر مميزات عدة منها تعزيز ثباتية المواد الغذائية المغلفة من خلال حماية هذه المواد من مدى واسع من الظروف البيئية والتغيرات الكيميائية والانزيمات ومنحها سعة كبيرة كمحالييل منظمة ضد الارقام الهيدروجينية المتطرفة وتغيرات درجة الحرارة والقوة الايونية فضلا عن اخفاء الروائح والنكهات غير المرغوب فيها . وهناك العديد من تقنيات التغليف (Encapsulation) التي يمكن ان تستخدم في صناعة الاغذية وتشمل nanoparticles و surfactant micelles و nanospheres و nanoemulsions و nanoliposomes و liposomes و nanocochleates (Mozafari *et al.*, 2008).

أوضح Court (2008) ان التطبيقات الاخرى للتقنيات النانوية في مجال الاغذية تنحصر ب :

1- التحسينات الحسية للمواد الغذائية من حيث النكهة و اللون فضلا عن تحسين قوامها .

2- زيادة امتصاص وايصال المواد المغذية والمركبات الفعالة حيويا.

- 3- ثباتية المكونات الفعالة مثل المغذيات في المنتجات الغذائية .
- 4- التعبئة والتغليف والمنتجات المبتكرة لزيادة صلاحية الاغذية .
- 5- المحسسات الحيوية لزيادة سلامة الاغذية .
- 6- مضادات الأحياء المجهرية المسببة لتلف الاغذية .
- ويبين المخطط 3 اهم تلك التطبيقات.



المخطط (3): تطبيقات تقنية النانو في مجال الاغذية (Court, 2008)

# الفصل الثاني

## المواد وطرائق العمل

### *Materials and Methods*

## 2- المواد وطرائق العمل

## 1-2 المواد والاجهزة المستخدمة :

## 1-1-2 الاجهزة المستخدمة والشركات المصنعة لها

| الشركة المصنعة           | اسم الجهاز  | ت  |
|--------------------------|---|----|
| Binder – Germany         | حاضنة (Incubator)   | 1  |
| Denver – Germany         | ميزان حساس (Sensitive Balance)  | 2  |
| Perkin-Elmer 1725X Japan | مطياف الأشعة تحت الحمراء<br>Fourier transform infrared (FT-IR)<br>Spectrophotometer | 3  |
| GFL - Germany            | جهاز تقطير (Distiller)  | 4  |
| Hettich - Germany        | جهاز طرد المركزي (Centrifuge)   | 5  |
| Human - Germany          | ماصات دقيقة (Micropipettes)   | 6  |
| Japan                    | مضخة تفريغ (Vacuum pump)  | 7  |
| Jeio – Tech- Korea       | هود بايولوجي (Laminar flow cabinet)   | 8  |
| Labtech - Korea          | حاضنة هزازة (Shaker incubator)  | 9  |
| LG - Korea               | ثلاجة (Refrigerator)  | 10 |
| Mauritius - Germany      | جهاز قياس الرقم الهيدروجيني (pH-meter)  | 11 |

|  |   |    |
|--|---|----|
| Rome - Italy                                     | مازج (Vortex)   | 12 |
| Sartorius - Germany                              | ميزان عادي  | 13 |
| Shimadzu -1800 Japan                             | مطياف الأشعة المرئية – فوق البنفسجية<br>(UV- Visible Spectrophotometer) | 14 |
| Shimadzu XRD-6000 powder<br>diffractometer Japan | مطياف حيود الأشعة السينية<br>(X-Ray diffraction)                        | 15 |
| AFM model, AA3000, Advanced<br>Angstrom Inc- USA | مجهر القوة الذرية<br>(Atomic force microscope)                          | 16 |
| Tudor - Korea                                    | مطياف ضوئي (Spectrophotometer)  | 17 |
| YX-280B-China                                    | مؤسدة (Autoclave)   | 18 |
| TE SCAN VEGA-EasyPrpbe                           | المجهر الإلكتروني الماسح (Scanning Electron<br>Microscope)              | 19 |

2-1-2 المواد الكيميائية المستخدمة والشركات المصنعة لها :

| الشركة المصنعة                             | اسم المادة   | ت  |
|--|--|----|
| Alpha-Aleppo Pharmaceutical Ind.-<br>Syria | Gentamycin المضاد الحيوي   | 1  |
| Analytical Rasayan                         | HCl حامض الهيدروكلوريك   | 2  |
| BDH  | Aluminum (III) nitrate نترات الالمنيوم   | 3  |
| BDH  | Magnesium (II) Nitrate نترات المغنيسيوم  | 4  |
| BDH  | K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> Potassium Persulfate  | 5  |
| BDH  | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> كربونات الصوديوم   | 6  |
| Bekasi - Indonesia                         | Chloramphenicol المضاد الحيوي  | 7  |
| Carloerba                                  | FeCl <sub>3</sub> كلوريد الحديدك   | 8  |
| Fluka                                      | Zinc oxide اوكسيد الزنك  | 9  |
| GCC-UK                                     | ميثانول مطلق (Absolute Methanol)<br>CH <sub>3</sub> OH   | 10 |
| Himedia-India                              | BHA (butylated hydroxyanisole)   | 11 |
| Himedia                                    | ABTS(2,2'-azinobis-3 ethylbenzothiazole<br>line 6-sulfonic acid)C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub> S <sub>4</sub> | 12 |
| Himedia                                    | Ferrozine  | 13 |
| Himedia                                    | Listeria selective agar base   | 14 |
| Himedia                                    | MacConkey agar   | 15 |



|                          |  |    |
|--------------------------|--|----|
| Himedia                  | Mannitol Salt agar   | 16 |
| Himedia                  | Muller Hinton agar   | 17 |
| Himedia                  | Nutrient agar  | 18 |
| Himedia                  | Nutrient broth   | 19 |
| Himedia                  | Potassium sorbate  | 20 |
| Himedia                  | Salmonella-Shigella agar   | 21 |
| Himedia                  | Sodium benzoate  | 22 |
| Sigma                    | Dimethyl Sulfoxide   | 23 |
| Himedia                  | TPTZ(2,4,6-Tripyridyl-s-Triazine)  | 24 |
| BDH                      | Ferrous sulfate كبريتات الحديدوز المائية<br>hydrate (FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O) | 25 |
| Scharlau-European Union  | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH (Absolute Ethanol) ايثانول مطلق                           | 26 |
| Himedia                  | Potato وسط البطاطا دكستروز الصلب<br>Dextrose Agar (PDA)                                    | 27 |
| GCC-UK                   | (Glacial acetic acid) حامض الخليك الثلجي<br>CH <sub>3</sub> COOH                           | 28 |
| Schorlau- European Union | KOH هيدروكسيد البوتاسيوم   | 29 |
| Sigma                    | Nisin  | 30 |

|                          |                         |    |
|--------------------------|-------------------------|----|
| Sigma-Aldrich            | Trolox المضاد القياسي   | 31 |
| Sigma                    | Octyl gallate           | 32 |
| Thomas Baker-India       | كلوريد الصوديوم NaCl    | 33 |
| Schorlau- European Union | هيدروكسيد الصوديوم NaOH | 34 |

## 2-2 طرائق العمل:

### 1-2-2 تحضير المركبات النانوية الهجينة

#### 1-1-2-2 تحضير المضيف او الحامل (Host or Carrier)

- المحاليل المستخدمة:

#### محلول رقم (1): محلول نترات المغنسيوم $(0.5M) Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$

حضر هذا المحلول بإذابة 32.05 غم من نترات المغنسيوم في كمية من الماء المقطر المزال منه الايونات ،وبعد اتمام عملية الاذابة اكمل الحجم الى 250 مل بالماء المقطر المزال منه الايونات ايضا.

#### محلول رقم (2): محلول نترات الالمنيوم $(0.125M) Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$

حضر هذا المحلول بإذابة 11.72 غم من نترات الالمنيوم في كمية من الماء المقطر المزال منه الايونات ،وبعد اتمام عملية الاذابة اكمل الحجم الى 250 مل بالماء المقطر المزال منه الايونات ايضا.

#### محلول رقم (3): محلول هيدروكسيد الصوديوم (2 M , NaOH)

حضر هذا المحلول بإذابة 4 غم من هيدروكسيد الصوديوم في كمية من الماء المقطر المزال منه الايونات ،وبعد اتمام عملية الاذابة اكمل الحجم الى 50 مل بالماء المقطر المزال منه الايونات ايضا .

- طريقة التحضير:

تحضير طبقات المغنسيوم / الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد Mg-Al-NO<sub>3</sub>-LDH بوساطة

الترسيب المشترك Co-precipitation :

تم تحضير طبقات المغنسيوم / الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيل بوساطة الترسيب المشترك وفق الطريقة الموصوفة من قبل (Klemkaite et al.(2011) مع بعض التحوير وذلك بمزج محلول نترات المغنسيوم المائية مع محلول نترات الالمنيوم المائية، إذ تم الترسيب عند الرقم الهيدروجيني 10.5 وذلك بإضافة قطرات من محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 2 مولاري مع استمرار تحريك المزيج مغناطيسيا لمدة ساعتين اعقبه وضع المزيج في الحاضنة عند درجة حرارة 70 م لمدة 18 ساعة ثم فصل الراسب بوساطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 5000 دورة / دقيقة ولمدة 20 دقيقة ومن ثم غسل الماء المقطر المزال منه الايونات مرات عدة وبعدها جفف عند درجة حرارة 60 م ثم طحن جيدا للحصول على مسحوق ناعم تم تخزينه في الثلاجة .

2-1-2-2 اختيار المادة الحافظة:

تم استخدام اربعة مواد حافظة في الدراسة الحالية لتصنيع مركبات نانوية هجينة اشتملت على Octyl gallate و Sodium benzoate و Potassium sorbate و Nisin .

محلول رقم (1): محلول Octyl gallate (0.035M)

حضر هذا المحلول بإذابة 0.5 غم من المركب Octyl gallate في كمية من 50% ايثانول وبعد اتمام عملية الاذابة اكمل الحجم الى 50 مل باستخدام 50% ايثانول ايضا .

**محلول رقم (2): محلول (0.066M) Potassium sorbate**

حضر هذا المحلول بإذابة 0.5 غم من مادة Potassium sorbate في كمية من الماء المقطر المزال منه الايونات وبعد اتمام عملية الاذابة اكمل الحجم الى 50 مل بالماء المقطر المزال منه الايونات ايضا .

**محلول رقم (3): محلول (0.069M) Sodium benzoate**

حضر هذا المحلول بإذابة 0.5 غم من مادة Sodium benzoate في كمية من الماء المقطر المزال منه الايونات ،وبعد اتمام عملية الاذابة اكمل الحجم الى 50 مل بالماء المقطر المزال منه الايونات ايضا .

**محلول رقم (4): محلول (0.03M) Nisin**

حضر هذا المحلول بإذابة 0.5 غم من مادة Nisin في كمية من الماء المقطر المزال منه الايونات ،وبعد اتمام عملية الاذابة اكمل الحجم الى 50 مل من الماء المقطر المزال منه الايونات ايضا .

### 2-2-2 تحضير المركب النانوي الهجين من طبقات المغنسيوم / الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد (Mg/Al-NO<sub>3</sub>LDH) مع المادة الحافظة بطريقة التبادل الايوني المباشر

اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل Bashi *et al.*(2013a) مع بعض التحوير في تحضير المركب النانوي الهجين وذلك بإضافة 50 مل من كل مادة حافظة (على انفراد) من المحضرة اعلاه الى محلول الطبقات الثنائية الهيدروكسيد (الناتج عن اذابة 1 غم من راسب الطبقات الثنائية الهيدروكسيد في 50 مل من الماء المقطر المزال منه الايونات ) وحرك المزيج مغناطيسيا بدرجة حرارة الغرفة لمدة 24 ساعة ثم وضع المزيج في الحاضنة عند درجة حرارة 40 م° لمدة 18 ساعة عقبه فصل الراسب بوساطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 5000 دورة / دقيقة ولمدة 20 دقيقة ومن ثم غسل بالماء المقطر المزال منه الايونات مرات عدة

وبعدها جفف الراسب عند درجة 50م° وتم طحنه بالهاون الخزفي واخيرا خزنه كما هو موضح في المخطط 4 .

### 3-2-2 تحضير المركب النانوي من طبقات اوكسيد الزنك (Zinc oxide) مع المادة الحافظة بطريقة التبادل الايوني المباشر .

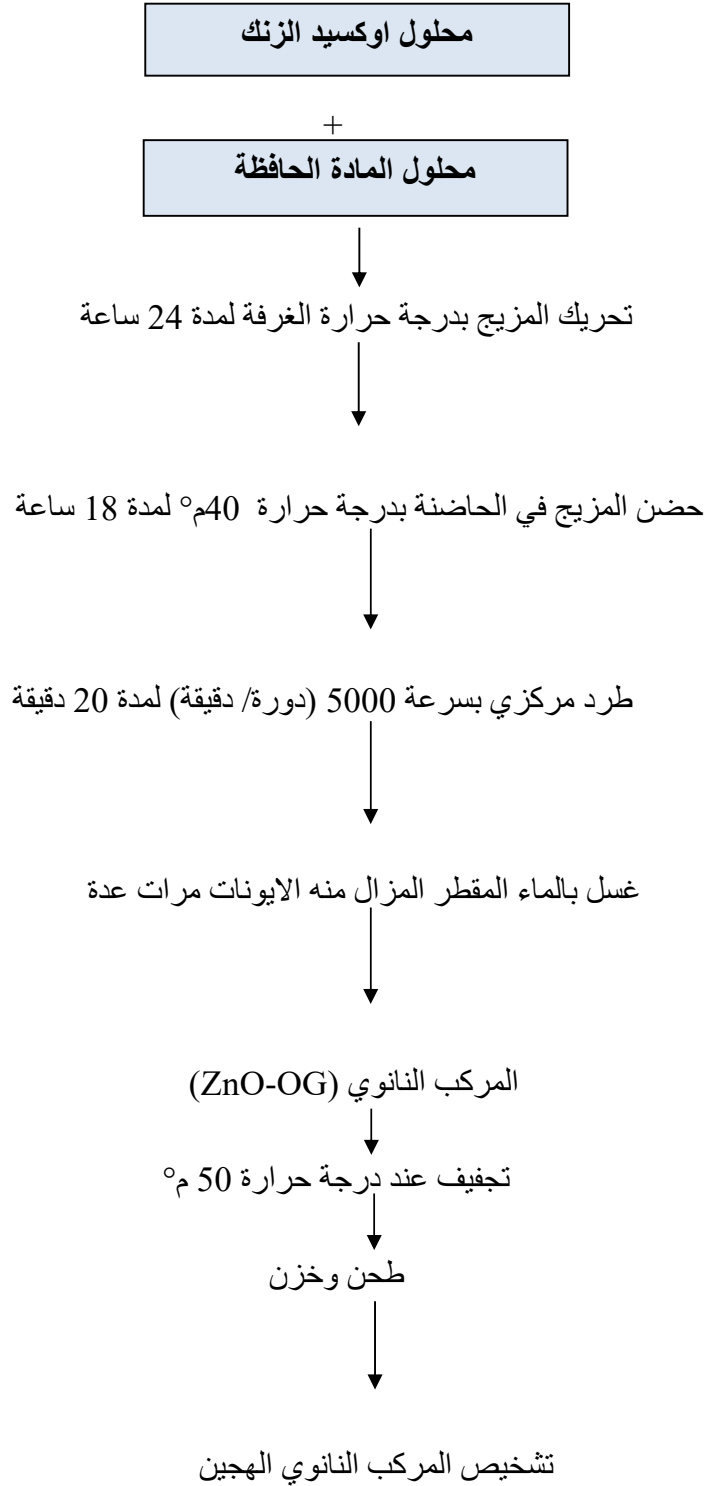
اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل Bashi *et al.*(2013b) مع بعض التحوير في تحضير المركب النانوي الهجين وذلك بإضافة 50 مل من كل مادة حافظة (على انفراد) من المحضرة اعلاه الى محلول اوكسيد الزنك (الناتج من اذابة 1غم من اوكسيد الزنك في 50 مل من الماء المقطر المزال منه الايونات) وحرك المزيج مغناطيسيا بدرجة حرارة الغرفة لمدة 24 ساعة ثم وضع المزيج في الحاضنة عند درجة حرارة 40 م° لمدة 18 ساعة اعقبه فصل الراسب بوساطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 5000 دورة/ دقيقة ولمدة 20 دقيقة وممن ثم غسل بالماء المقطر المزال منه الايونات مرات عدة وبعدها جفف الراسب عند درجة حرارة 50 م° وتم طحنه بالهاون الخزفي وأخيرا خزنه كما هو موضح في المخطط 5 .

### 3-2-3 تشخيص المركبات النانوية الهجينة :

تم استخدام اربع طرائق لتشخيص المركبات النانوية الهجينة قيد الدراسة ، حيث اشتملت هذه الطرائق على طيف الأشعة تحت الحمراء Fourier transform infrared spectroscopy(FT-IR) وطيف حيود الأشعة السينية (XRD) X-ray diffraction فضلا عن استخدام مجهري القوة الذري Atomic Force Microscope(AFM) والالكتروني الماسح Scanning Election Microscope (SEM) .



المخطط ( 4 ): تحضير المركب النانوي الهجين Mg/Al-OG-LDH بطريقة التبادل الايوني المباشر



المخطط (5): تحضير المركب النانوي الهجين ZnO-OG بطريقة التبادل الايوني المباشر

### 2-3-1 التشخيص باستخدام طيف الأشعة تحت الحمراء FT-IR

تم دراسة طيف الأشعة تحت الحمراء لكل مركب من المركبات النانوية الهجينة قيد الدراسة وكذلك المواد الحافظة بشكلها الحر فضلا عن طبقات ثنائية الهيدروكسيد وطبقات اوكسيد الزنك , اذ تم عمل قرص من كل مركب من هذه المركبات مع بروميد البوتاسيوم (KBr) بعد طحنها بصورة جيدة وتم قياس طيف الأشعة تحت الحمراء في مدى من الاعداد الموجي (400-4000 سم<sup>-1</sup>) وتم تثبيت جميع الحزم الظاهرة مع اعدادها الموجية كما تم تشخيص معظم الحزم الرئيسية .

### 2-3-2 التشخيص باستخدام طيف حيود الأشعة السينية XRD

تم تشخيص المركبات النانوية الهجينة باستخدام طيف حيود الأشعة السينية (X-Ray) والذي يوضح الاختلاف في سمك الطبقة قبل عملية الاقحام وبعدها للمادة الحافظة Octyl gallate وذلك باستخدام قانون براك  $n\lambda = 2d\sin\theta$  لاستخراج قيمة سمك الطبقة (d) قبل عملية الاقحام وبعدها.

إذ ان :

n : رتبة المستوى البلوري الذي يكون منه حيود للأشعة السينية

$\lambda$  : الطول الموجي للأشعة السينية المستخدمة ( أنبوبة نحاس )

$\theta$  : زاوية الحيود للأشعة السينية

d : المسافة البلورية العمودية بين مستويين متوازيين

### 2-3-3 التشخيص باستخدام مجهر القوة الذرية AFM

استخدم مجهر القوة الذرية في فحص المركبين النانويين Mg/Al-OG-LDH و Zno-OG و قياس اقطار وحجوم وتجمعات الجزيئات النانوية ، اذ تم ارسال النموذجين الى د. عبد الكريم السامرائي / كلية العلوم / جامعة بغداد لغرض فحصهما .



وتم استخراج معامل البلورية (Crystallinity Index) بالاستعانة بالمعادلة الأتية  
(Pine et al., 2010).

$$\text{Crystallinity Index} = D_p / L$$

اذ ان :

$$D_p = \text{حجم الجزئية المراد قياسها بجهاز AFM}$$

$$L = \text{معدل حجم البلورة ، الذي يتم حسابه بالاستعانة بمعادلة Scherrer .}$$

### 4-3-2 التشخيص باستخدام المجهر الالكتروني الماسح SEM

تم فحص المركبين النانويين Mg/Al-OG-LDH و ZnO-OG بالمجهر الالكتروني الماسح لغرض معرفة شكل السطح للمركبين قيد الدراسة ، اذ تم ارسال النموذجين الى الجامعة التكنولوجية / قسم هندسة المواد لغرض فحص النماذج المشار اليها .

### 4-2 دراسة تحرر المادة الحافظة أوكتيل كاليث (OG)

اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل Wang and Zhang (2012) مع بعض التحوير في دراسة تحرر المادة الحافظة OG الى عدد من المحاليل المائية .

#### 1- المحاليل المستخدمة:

محلول رقم (1) : محلول كربونات الصوديوم (0.5M) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

حضر هذا المحلول بإذابة 2.65 غم من كربونات الصوديوم في كمية من الماء المقطر المزال منه الايونات وبعد اتمام عملية الاذابة اكمل الحجم الى 50 مل بالماء المقطر المزال منه الايونات ايضا، ومن هذا التركيز تم تحضير التركيز 0.1M .

محلول رقم (2) : محلول هيدروكسيد الصوديوم (2M) NaOH

حضر هذا المحلول بإذابة 4 غم من هيدروكسيد الصوديوم في كمية من الماء المقطر المزال منه الايونات وبعد اتمام عملية الاذابة اكمل الحجم الى 50 مل بالماء المقطر المزال منه الايونات ايضا.

### محلول رقم (3) : محلول حامض الهيدروكلوريك HCL (2M)

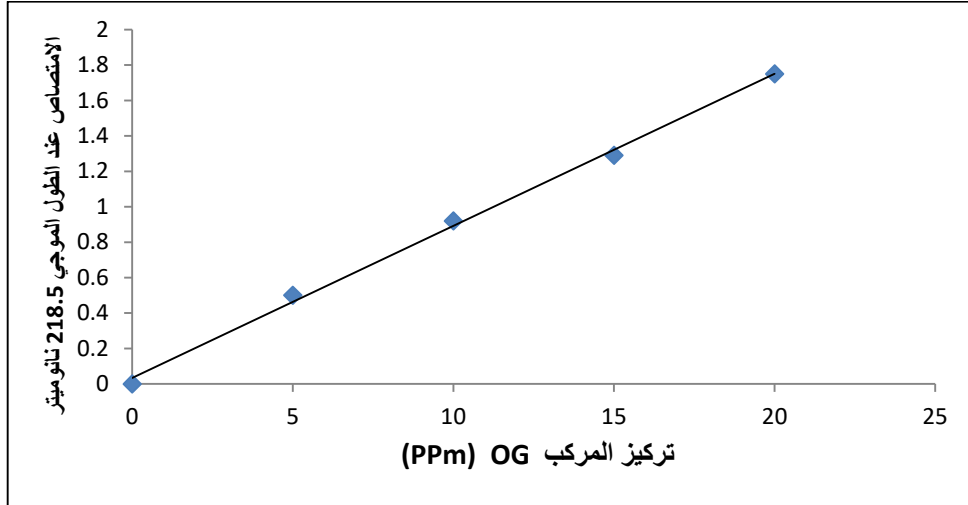
حضر هذا المحلول بمزج 4.2 مل من حامض الهيدروكلوريك المركز مع كمية من الماء المقطر المزال من الايونات ومن ثم اكمل الحجم الى 50 مل بالماء المقطر المزال منه الايونات ايضا .

### 1-4-2 تعيين منحنى المعايرة (Calibration Curve) للمادة الحافظة OG

تم تعيين منحنى المعايرة الذي يمثل العلاقة بين الامتصاص والتركيز عن طريق تحضير اربعة تراكيز متتابعة ضمن المدى (5- 20 ppm) من محلول المادة الحافظة أوكتيل كاليث المستخدم في الدراسة وتم قياس الامتصاص لهذه التراكيز عند الطول الموجي الأعظم ( $\lambda_{max}$ ) 218.5 nm للمادة الحافظة وبعدها رسم المنحنى القياسي بين الامتصاص والتركيز كما مبين في الشكل 7 ومن معادلة الخط المستقيم التالية  $Y = mx + b$  يتم ايجاد قيمة التركيز مع مرور الزمن.

### 2-4-2 طريقة التحرر الى المحاليل القياسية

تم دراسة نسبة التحرر للمادة الحافظة من المضيف ( طبقات ثنائية الهيدروكسيد وطبقات اوكسيد الزنك) بوساطة مطياف الاشعة فوق البنفسجية والمرئية (Uv-Visib) اذ يعين الطول الموجي الاعظم للمادة الحافظة ثم يعمل منحنى معايرة وتعين معادلة الخط المستقيم وعلى اساسها يتم متابعة تحرر المادة الحافظة الى المحاليل المستخدمة في الدراسة من خلال زيادة مقدار الامتصاص بدلالة الزمن استنادا الى قانون بير لا مبرت  $A = acx$  .



الشكل ( 7 ) : منحنى المعايرة لمحلول المادة الحافظة أوكثيل كاليث (OG)

إذ أن

A : الامتصاص

a : الامتصاصية

c : التركيز

x : طول المسار الضوئي

### 3-4-2 الدراسات الحركية (Kinetic studies)

تم استخدام مطياف الأشعة فوق البنفسجية لدراسة حركية التحرر للمادة الحافظة الى ثلاثة انواع من المحاليل اشتملت على كربونات الصوديوم بتركيزين (0.1 و 0.5) مولاري , والمحلول الحامضي برقم هيدروجيني(2) اضافة الى المحلول القاعدي برقم هيدروجيني (13) . تم تعديل الرقم الهيدروجيني الحامضي باستخدام حامض الهيدروكلوريك بينما تم تعديل الرقم الهيدروجيني القاعدي باستخدام هيدروكسيد الصوديوم.

اضيف 1 ملغم من المركب النانوي الهجين الى 3.5 مل من كل من المحاليل الثلاثة المشار اليها اعلاه ورشح النموذج باستخدام ورقة ترشيح (Whatman) وتم قياس الامتصاص له عند قيمة الامتصاص العظمى للانيون (المادة الحافظة) وتمت متابعة الزيادة في مقدار الامتصاص في مدد زمنية مختلفة لمعرفة رتبة التفاعل وتحديد اعلى سرعة لتحرر المادة الحافظة.

#### 4-4-2 دراسة النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة أوكتيل كالكيت من بين طبقات المركب النانوي الهجين :

تم متابعة دراسة النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة OG بواسطة مطياف الأشعة فوق البنفسجية وذلك بإضافة 1 ملغم من المركب النانوي الهجين الى 3.5 مل من محلول حامض الهيدروكلوريك (2 مولاري) اذ تم قياس الامتصاص لها عند قيمة الامتصاص العظمى للمادة الحافظة لمعرفة التركيز الكلي للمادة الحافظة داخل الطبقة (CT) وبقسمة التركيز عند كل زمن (Ct) المستخرجة في الفقرة (1-4-2) على التركيز الكلي وحسب المعادلة الآتية يتم حساب النسبة المئوية للتحرر.

$$\text{Release\%} = \frac{Ct}{CT} \times 100 \dots\dots(1)$$

كما تم دراسة مسار التحرر لتحديد الرتبة التي يسلكها هذا المسار. فاذا كان المسار المذكور يستند إلى موديل الرتبة الصفرية فإنه يخضع للمعادلة الآتية

$$Ct = k_0 t \dots\dots\dots(1)$$

اما في حالة سلوكه الرتبة الاولى الكاذبة فإنه يخضع للمعادلة الآتية

$$\text{Log} (1 - Ct/ CT) = K_1 t/ 2.303 \dots\dots\dots(2)$$

بينما في حالة سلوكه الرتبة الثانية الكاذبة فإنه يخضع للمعادلة الآتية

$$t/ Ct = 1/ K_2 CT^2 + t/ CT \dots\dots\dots(3)$$

إذ أن :

t : زمن التحرر

Ct : التحرر عند زمن t

CT : التحرر الكلي عند زمن  $\infty$

K0 : ثابت السرعة للرتبة الصفرية

K1 : ثابت السرعة للرتبة الاولى

K2 : ثابت السرعة للرتبة الثانية

## 5-2 الفعالية التثبيطية للمركبات النانوية الهجينة

### 1-5-2 الفعالية التثبيطية للمركبات النانوية الهجينة ضد البكتريا

- العزلات البكتيرية المستخدمة في الدراسة :

استخدمت ثمان عزلات بكتيرية خمس منها موجبة لصبغة كرام وثلاث سالبة للصبغة وذلك لاختبار الفعالية التثبيطية للمركبات النانوية الهجينة قيد الدراسة وحسب ما هو موضح في الجدول (1).

الجدول ( 1 ):العزلات البكتيرية المستخدمة في الدراسة ومصادر الحصول عليها .

| ت | الاسم العلمي                                      | مصدر الحصول عليها                                 |
|---|---|---|
| 1 | <i>Staphylococcus aureus</i>                      | مختبر الصحة العام / كربلاء                        |
| 2 | <i>Listeria monocytogenes</i> Wild type<br>10403s | مختبر الاحياء المجهرية / كلية الطب / جامعة الكوفة |
| 3 | <i>Listeria monocytogenes</i> Local               | مختبر الاحياء المجهرية / كلية الطب / جامعة الكوفة |
| 4 | <i>Bacillus cereus</i>                            | قسم علوم الحياة /كلية العلوم /جامعة كربلاء        |
| 5 | <i>Bacillus subtilis</i>                          | قسم علوم الحياة /كلية العلوم /جامعة كربلاء        |
| 6 | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922                | مختبر الاحياء المجهرية / كلية الطب / جامعة الكوفة |
| 7 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                     | مختبر الصحة العام / كربلاء                        |
| 8 | <i>Salmonella typhi</i>                           | مختبر الصحة العام / كربلاء                        |

## الايوساط الزرعوية المستخدمة:-

## الوسط المغذي السائل (Nutrient broth):

حضر بحسب تعليمات الشركة المجهزة بإذابة 13 غم من الوسط في 1 لتر من الماء المقطر , و تم تعقيم الوسط باستخدام جهاز المؤصدة بدرجة حرارة 121م° و لمدة 15 دقيقة و قد تم استخدام هذا الوسط لتنشيط العزلات البكتيرية.

## 2-الوسط المغذي الصلب (Nutrient agar):

حضر بحسب تعليمات الشركة المجهزة بإذابة 28 غم في 1 لتر من الماء المقطر ثم قسم الوسط على قسمين : وزع القسم الأول (500 مل) في أنابيب اختبار , بينما ترك القسم الثاني (500 مل) المتبقية في الدورق الذي حضر فيه أصلا . عقم الوسط باستخدام المؤصدة وبعد إكمال عملية التعقيم وضعت الأنابيب الخاصة بالقسم الأول بشكل مائل لعمل (Slants) بينما برد القسم الثاني الى درجة (45-50) م° و تم صبه في أطباق بتري معقمة . و قد استخدمت الاطباق للتأكد من نقاوة العزلات البكتيرية و لتنمية بكتريا *P. aeruginosa* بينما استخدمت انابيب الاختبار لحفظ العزلات.

## 3- وسط MacConky agar :

حضر بحسب تعليمات الشركة المجهزة بإذابة 50 غم منه في 1 لتر من الماء المقطر , و عقم باستخدام المؤصدة ثم صب في أطباق بتري معقمة. استخدم هذا الوسط لتنمية بكتريا *E. coli* .

## 4- وسط Mannitol Salt agar :

حضر بحسب تعليمات الشركة المجهزة بإذابة 111 غم في 1 لتر من الماء المقطر وعقم بالمؤصدة وتم صبة في أطباق بتري وقد استخدم هذا الوسط لتنمية بكتريا *Staphylococcus aureus* .

## 5- وسط Muller Hinton agar :

حضر بحسب تعليمات الشركة المجهزة بإذابة 38 غم في 1 لتر من الماء المقطر و عقم باستخدام المؤصدة وتم صبه في أطباق بتري معقمة و قد تم استخدام هذا الوسط لغرض اختبار الفعالية التثبيطية للمركبات النانوية الهجينة ضد البكتريا.

#### 6- وسط *Listeria selective agar base*

حضر بحسب تعليمات الشركة المجهزة بإذابة 27.75 غم في 500 مليلتر من الماء المقطر و عقم بالمؤصدة وتم صبه في أطباق بتري معقمة. استخدم هذا الوسط لتنمية بكتريا *Listeria monocytogenes*

#### 7- وسط *Salmonella-Shiglla agar*

حضر بحسب تعليمات الشركة المصنعة بإذابة 63.02 غم من الوسط في 1 لتر من الماء المقطر و عقم باستخدام المؤصدة وتم صبه في أطباق بتري معقمة و قد تم استخدام هذا الوسط لتنمية بكتريا *Salmonella typhi*.

#### - المحلول الملحي الفسيولوجي :

حضر بإذابة 0.85 غم من كلوريد الصوديوم في 50 مل ماء مقطر وبعد اتمام عملية الاذابة اكمل الحجم الى 100 مل بالماء المقطر ايضا.

#### - تحضير اللقاح :

استخدم الوسط المغذي السائل لغرض تحضير اللقاح اذ وزع الوسط في انابيب اختبار بواقع 10 مل لكل انبوبة وعقم بالمؤصدة . وحضر اللقاح لكل عزلة بكتيرية بنقل قطعة من الاغار ذات قطر 5 ملم من كل عزلة من العزلات المنماة على وسط المغذي الصلب بعد التأكد من نقاوتها(كلا على انفراد) الى الانابيب المخصصة لها وحضنت الانابيب بدرجة حرارة 37 درجة مئوية ولمدة 24 ساعة .

- طريقة تقدير الفعالية التثبيطية للمركبات النانوية الهجينة ضد البكتريا:



تم اختبار الفعالية التثبيطية للمركبين النانويين الهجينين Zinc oxide-Octyl gallate (ZNO-OG) و Mg/Al-Octyl gallate-Layered double hydroxide (Mg/Al-OG-LDH) والمركب Octyl gallate (OG) الحر ضد العزلات البكتيرية الثمان والمبينة في الجدول ( 1 ) وبتراكيز (0.1 و 0.25 و 0.5 و 1 و 5 و 10 و 15 ) ملغم /مل وفق طريقة الانتشار في الاكار بواسطة الحفر (Egorove ,1985) بحسب الآتي :

- 1- تم عمل سلسلة من التخفيف العشرية لكل عزلة بكتيرية و لغاية الحصول على التخفيف المناسب لكل عزلة منها.
- 2- سحب 0.1 مل من التخفيف المناسب لكل عزلة بكتيرية , و اضيف الى اطباق حاوية على من وسط Muller Hinton agar الصلب وتم نشره جيدا على سطح الطبق بواسطة الناشر L-Shape و تركت الاطباق مدة ساعة في الثلاجة .
- 3- تم عمل حفر على سطح الاكار باستخدام الثاقب الفليني ذو قطر 5 ملم اذ كانت المسافة متساوية بين حفرة و اخرى.
- 4- خففت المركبات النانوية الهجينة والمركب OG الحر باستعمال المذيب Dimethyl sulfoxide (DMSO) للحصول على تراكيز متدرجة تراوحت بين (0.05- 15) ملغم/مل.
- 5- وضع 40 مايكرو ليتر من كل تركيز من تراكيز المركبات قيد الدراسة في كل حفرة و حضنت لمدة ساعة في الثلاجة ، و من ثم حضنت في الحاضنة بدرجة 37 مئوية لمدة 24 ساعة و تم استخدام المضادين الحيويين Gentamycin و chloramphenicol كسيطرة موجبة .
- 6- تم قياس اقطار تثبيط نمو البكتريا (ملم) باستعمال المسطرة بعد اكمال فترة الحضانة.

2-5-2 دراسة الفعل التثبيطي التازري بين المركبات النانوية الهجينة والمواد

الحافظة Sodium benzoate (SB) و Potassium sorbate (PS) ضد بكتيريا

*Listeria monocytogenes* Wild type 10403s

تم اختبار الفعل التازري بين المركبات النانوية الهجينة والمواد الحافظة Sodium

benzoate و Potassium sorbate ضد بكتيريا *L.monocytogenes* بطريقة

العمل المتبعة أعلاه بنفسها باستخدام تراكيز من المركبات النانوية الهجينة تراوحت بين

0.1 ملغم/مل الى 15 ملغم / مل وبتراكيز من المواد الحافظة 1 ملغم/مل و 0.5 ملغم / مل .

## 2-6 حفظ العزلات البكتيرية :

تم حفظ العزلات البكتيرية وذلك بزرعها في انابيب مائلة (Slants) حاوية على الوسط

المغذي الصلب , وحضنت لمدة 18 ساعة لتنميتها في درجة حرارة 37 درجة مئوية وبعدها

حفظت بالثلاجة اذ يتم تجديد المزارع كل شهر.

## 2-7 تأثير المركبات النانوية الهجينة في تثبيط الفطريات المنتجة للسموم الفطرية

تم الحصول على ثلاث عزلات فطرية من قسم علوم الحياة/ كلية العلوم /جامعة كربلاء

،اثنان منها يعودان الى جنس *Aspergillus* وهما *A.flavus* و *A.parasiticus* بينما تعود

العزلة الثالثة الى جنس الـ *Penicillium* وهي *P.expensum* .

تم دراسة تأثير المركبات النانوية الهجينة Mg/Al-OG-LDH و ZnO-OG وكذلك

المركب OG الحر في تثبيط نمو الفطريات المذكورة اعلاه وفقا للاتي :

المحاليل والأوساط المستخدمة:

### 1-محاليل المركبات النانوية الهجينة والمركب OG الحر (40 ملغم /مل )

اذيب 400 ملغم من المركبات النانوية قيد الدراسة (كلا على انفراد) في كمية قليلة

من المذيب Dimethyl sulfoxide (DMSO) وبعد اتمام عملية الاذابة اكمل الحجم الى 10 مل بالمذيب نفسه .

## 2- وسط اكار دكستروز البطاطا (Potato Dextrose Agar)

حضر هذا الوسط بإذابة 78 غم من الوسط الجاهز في 1 لتر من الماء المقطر ثم عقم الوسط بالمؤصدة.

### - طريقة العمل

اضيف 10 مل من المركبات النانوية الهجينة المحضرة بتركيز 40 ملغم /مل فضلا عن المركب OG الحرالى الوسط PDA المحضر أعلاه ، وذلك عند درجة حرارة (45-50) م ° ، وتم رج المزيج جيدا للحصول على تركيز من المركب النانوي قدره (20 ملغم/مل ) في اطباق بتري وتركت لكي تتصلب.

نقل قرص واحد من كل من الفطريات المستخدمة في الدراسة (وبواقع مكررين) لكل طبق من اطباق PDA الحاوية على المركبات قيد الدراسة وحضنت الاطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 28 م ولمدة 4 ايام وقورنت النتائج بمعاملة السيطرة (Control) المتمثلة بتنمية كل فطر من الفطريات قيد الدراسة على وسط PDA دون اضافة اي مركب اخر .

تم استخراج نسبة التثبيط بقياس معدل قطر مستعمرة الفطر بعد فترة الحضانة المذكورة

اعتمادا على المعادلة الاتية (Wang *et al.*, 2006) :

قطر فطر السيطرة – قطر فطر المعاملة

$$\text{نسبة التثبيط (\%)} = \frac{\text{قطر فطر السيطرة}}{100} * 100$$

قطر فطر السيطرة

## 8-2 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات النانوية الهجينة

## 1-8-2 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بطريقة كسح الجذور الحرة

## (Free Radicals Scavenging)

استخدمت الطريقة الموصوفة من قبل Budrat and Shotipruk(2008) مع بعض

التحوير بحسب الآتي :-

## 1- المحاليل المستخدمة:

محلول رقم (1): محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (0.1M) :

حضر هذا المحلول بإذابة 0.5611غم من هيدروكسيد البوتاسيوم في كمية من الماء

المقطر وبعد اتمام الاذابة اكمل الحجم الى 100 مل بالماء المقطر ايضا.

محلول رقم (2): محلول خلات البوتاسيوم (0.1M) :

حضر هذا المحلول بمزج 1.2 مل من حامض الخليك الثلجي مع كمية من الماء المقطر

المزال منه الايونات وعدل الرقم الهيدروجيني الى 4.7 باستعمال محلول هيدروكسيد البوتاسيوم

المحضر أعلاه ثم اكمل الحجم الى 100 مل بالماء المقطر المزال منه الايونات ايضا .

محلول رقم (3) : محلول

(2,2-azionbis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonicacid (ABTS)(1Mm)

الحاوي على Potassium persulfate (2.45mM) :

حضر هذا المحلول بإذابة 0.132غم من بيرسلفات البوتاسيوم في كمية من محلول خلات

البوتاسيوم 0.1 مولر ثم اضيف 0.11 غم من الجذر ABTS الى المحلول وبعد اتمام عملية

الاذابة اكمل الحجم الى 100 مل باستعمال خلات البوتاسيوم .

## 2- طريقة التقدير:

1- تم عمل سلسلة من التخفيف للمركبات النانوية الهجينة Mg/Al-OG-LDH و ZnO-OG اضافة الى المضاد القياسي Trolox والمركب OG الحر باستخدام المذيب Dimethyl sulfoxide (انحصرت تراكيز المركبات قيد الدراسة بين 1 ملغم/مل الى 5 مايكرو غرام/مل) .

2- خفف محلول ABTS ليعطي امتصاصا مقداره  $(0.7 \pm 0.02)$  عند طول موجي 734 نانوميتر بعد تصفير الجهاز بمحلول خلاص البوتاسيوم المنظم , ثم اضيف 3 مل من المحلول اعلاه الى 0.3 مل من كل تركيز من تراكيز المركبات المستخدمة في الدراسة .

3- رجت الانابيب باستخدام جهاز المازج (Vortex) وحضن المزيج بدرجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق .

4- تم قياس الامتصاص بطول الموجي 734 نانوميتر .

قدرت نسبة تثبيط الجذر ABTS بحسب المعادلة الآتية :

$$PI (\%) = [1 - (At / Ar)] * 100$$

اذ ان At و Ar هما امتصاصيتي العينة و ABTS على التوالي .

2-8-2 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بقياس القوة الاختزالية المضادة للأكسدة لأيون الحديد

### Ferric Reducing Antioxidant power (FRAP)

قدرت القوة الاختزالية وفقا للطريقة الموصوفة من قبل Benzin and

Strain(1996) و Katalinic *et al.*(2005) بحسب الآتي :

1- عمل المنحنى القياسي :-

- المحاليل المستخدمة:

محلول رقم (1): محلول (10mM) 2,4,6-Tripyridyl-s-Triazine (TPTZ)

حضر هذا المحلول بإذابة 0.0312 غم من مادة TPTZ في 5 مل من حامض الهيدروكلوريك (40 ملي مولر) وبعد اتمام عملية الاذابة اكمل الحجم الى 10 مل بحامض الهيدروكلوريك ايضا.

### محلول رقم (2) : محلول كلوريد الحديدك $(20\text{mM}) \text{FeCl}_3$

حضر هذا المحلول بأذابة 0.162 غم من كلوريد الحديدك في كمية من الماء المقطر المزال منه الايونات وبعد اتمام عملية الاذابة اكمل الحجم الى 50 مل بالماء المقطر المزال منه الايونات ايضا.

### محلول رقم (3): محلول منظم خلات الصوديوم $(0.3\text{M})$

حضر هذا المحلول بمزج 1.714 مل من حامض الخليك الثلجي مع كمية من الماء المقطر وعدل الرقم الهيدروجيني الى 3.6 باستعمال محلول هيدروكسيد الصوديوم ثم اكمل الحجم الى 100 مل بالماء المقطر.

### محلول رقم (4): محلول كاشف Frap

حضر هذا المحلول بمزج المحاليل الثلاثة اعلاه بنسبة 10:1:1 .

### محلول رقم (5): محلول كبريتات الحديد سباعية جزئ الماء $(1\text{mM}) \text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

حضر هذا المحلول بإذابة 0.0278 غم من كبريتات الحديد سباعية جزئ الماء في كمية من الماء المقطر وبعد اتمام عملية الاذابة اكمل الحجم الى 100 مل بالماء المقطر المزال منه الايونات ايضا.

## 2- طريقة التقدير

1- حضرت تراكيز متدرجة من محلول كبريتات الحديد سباعية جزئ الماء انحصرت بين

(1-0.1) ملي مولاري كما هو موضح في الجدول الاتي :

| التركيز النهائي<br>(mM) | حجم الماء المقطر<br>(مل) | حجم محلول FeSo <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O<br>(1mM)<br>(مل) | رقم الانبوب |
|-------------------------|--------------------------|---|-------------|
| 0.1                     | 0.9                      | 0.1   | 1           |
| 0.3                     | 0.7                      | 0.3   | 2           |
| 0.5                     | 0.5                      | 0.5   | 3           |
| 0.7                     | 0.3                      | 0.7   | 4           |
| 0.9                     | 0.1                      | 0.9   | 5           |
| 1.0                     | 0.0                      | 1.0   | 6           |

2- أضيف 3.6 مل من كاشف Frap الى 200 مايكرو ليتر من كل تركيز من تراكيز محلول كبريتات الحديد سباعية جزئ الماء.

3- مزجت المحاليل جيدا وتركت بدرجة حرارة الغرفة لمدة 4 دقائق .

4- تم قراءة الامتصاص عند طول موجي 593 نانوميتر بعد تصفير جهاز المطياف بالمحلول المتكون من مزج 200 مايكرو ليتر من خلات الصوديوم مع 3.6 مل من كاشف Frap .

5- استحصل المنحنى القياسي من رسم الامتصاص عند الطول الموجي 593 نانوميتر مقابل تراكيز الكبريتات .

قدرت الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات قيد الدراسة بعمل سلسلة من التراكيز لهذه المركبات (انحصرت بين 1 ملغم/ مل الى 10 مايكرو غرام / مل) ثم اكملت بقية خطوات التقدير بطريقة عمل المنحنى القياسي بنفسها .

## 3-8-2 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بطريقة الفعالية المخلبية لأيون الحديدوز

## (Ferrous ion Chelating activity)

قدرت النسبة المئوية للتأثير المخلبي وفقا للطريقة الموصوفة من قبل Lim *et al.* (2007).

مع بعض التحوير بحسب الآتي:

## 1- المحاليل المستخدمة:

محلول رقم (1): محلول كبريتات الحديد سباعية جزئ الماء (0.375mM)  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

حضر هذا المحلول بأذابة 0.104 غم من كبريتات الحديد سباعية جزئ الماء في

كمية من الماء المقطر المزال منه الايونات وبعد اتمام عملية الاذابة اكمل الحجم الى 100 مل

بالماء المقطر المزال منه الايونات ايضا

محلول رقم (2): محلول Ferrozine (1mM)

حضر هذا المحلول بأذابة 0.0492 غم من مادة Ferrozine في كمية من الماء المقطر

المزال منه الايونات وبعد اتمام عملية الاذابة اكمل الحجم الى 100 مل بالماء المقطر المزال منه

الايونات ايضا .

محلول رقم (3): محلول السيطرة (Control solution)

حضر هذا المحلول بمزج 1.5 مل من محلول كبريتات الحديد سباعية جزئ الماء و 1.5

مل من محلول مادة Ferrozine .

## 2- طريقة التقدير

1- تم عمل سلسلة من التخافيف لمضاد الاكسدة القياسي BHA باستعمال الماء المقطر المزال منه

الايونات (انحصرت التراكيز بين 1 ملغم /مل الى 10 مايكروغرام /مل) .

2- تم عمل سلسلة من التخافيف للمركبات المستخدمة في الدراسة باستعمال المذيب

Dimethyl sulfoxide (انحصرت التراكيز بين 10 مايكرو غرام /مل الى 1 ملغم/مل) .

3- اضيف 1 مل من محلول كبريتات الحديد سباعية جزئ الماء الى 1 مل من محلول مادة

Ferrozine وبعد مزج المحلولين جيدا اضيف 1 مل من كل تركيز من تراكيز المركبات النانوية

ومضاد الاكسدة القياسي الى المزيج كلا على انفراد .



4- رجت الانابيب باستخدام جهاز المازج (Vortex) وحضن المزيج بدرجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق في مكان معتم.

5- تم قياس الامتصاص عند الطول الموجي 562 نانوميتر بعد تصفير الجهاز على المحلول المتكون من 1 مل من الماء المقطر المزال منه الايونات و 1 مل من محلول كبريتات الحديد سباعية جزئ الماء و 1 مل من محلول مادة Ferrozine .  
 قدرت نسبة التأثير المخلبي (Chelating effect) باستعمال المعادلة الاتية :

$$\text{Chelating effect \%} = (\text{A control} - \text{A sample}) / \text{A control} * 100$$

A : الامتصاصية

## 9-2 التحليل الاحصائي Statistics Analytic

تم تحليل النتائج الواردة في الجداول (4 و 5 و 6 و 7) احصائيا وفق تحليل التجارب العاملية Factorial experiments ومقارنة الفروقات المعنوية عند مستوى معنوية 0.01 (الامام ، 2007) .

# الفصل الثالث

## النتائج و المناقشة

### *Results and Discussion*

## 3-النتائج والمناقشة

### 3-1 تشخيص المركبات النانوية الهجينة

#### 1-3-1 طيف الاشعة تحت الحمراء FT-IR

##### 3-1-1-1 اختيار المادة الحافظة النانوية الهجينة

استخدمت اربع مواد حافظة لتصنيع مركبات نانوية هجينة باستخدام طريقة التبادل الايوني المباشر بين تلك المواد وطبقات اوكسيد الزنك وكذلك طبقات ثنائية الهيدروكسيد . وقد كشفت تقنية الاشعة تحت الحمراء (كما سيرد لاحقا) ان المادة الحافظة OG هي التي اعطت طيفا يشير الى اقحامها وتكوين مركب جديد في حين لم تنجح المواد الحافظة الاخرى بالتحول الى مركبات جديدة ، لذا فقد اختيرت المادة الحافظة OG واستخدمت في جميع مراحل الدراسة اللاحقة .

#### 2-1-3-1 طيف الاشعة تحت الحمراء للمادة الحافظة OG

اظهرت المادة الحافظة العديد من الحزم المميزة عند ترددات معينة ، اذ يتضح من الشكل 8 ان الحزمة عند التردد 3450 سم<sup>-1</sup> و 3345 سم<sup>-1</sup> تعزى الى اهتزاز المط لرابطة الهيدروكسيل (O-H) (Mohammed-ziegler and Billes, 2002) في حين ان الحزمة عند 3020 سم<sup>-1</sup> تعود الى اهتزاز المط لرابطة (C-H) الاروماتية . اما الحزم الواقعة بين 2933-2850 سم<sup>-1</sup> فتعزى الى اهتزاز المط المتناظر وغير المتناظر لرابطة (C-H) الاليفاتية (Billes et al., 2007) اما الحزمة عند 1688 سم<sup>-1</sup> فتعزى الى اهتزاز المط لمجموعة الكربونيل (C = O) ، اذ تظهر هذه الحزمة في الحالة المثالية عند 1715 سم<sup>-1</sup> ولكن بسبب التاثر الهيدروجيني البيئي انزاحت الى 1668 سم<sup>-1</sup> . وتعزى الحزم عند 1608 سم<sup>-1</sup> و 1533 سم<sup>-1</sup> و 1467 سم<sup>-1</sup> الى اهتزاز المط (C=C) الاروماتية . اما الحزمة عند 1410 سم<sup>-1</sup> وتعزى الى اهتزاز الانحناء لرابطة (C-H) الاليفاتية بينما الحزمة عند 1030 سم<sup>-1</sup> تعزى الى اهتزاز المط لرابطة (C-O) في حين ان الحزم الواقعة بين 834-785 سم<sup>-1</sup> تعزى الى اهتزاز الانحناء لرابطة (C-H) الاروماتية خارج المستوى .

#### 3-1-3-1 طيف الاشعة تحت الحمراء لطبقات المغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد

يتضح من الشكل 9 ان طبقات المغنيسيوم /الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد اظهرت العديد من الحزم المميزة عند ترددات معينة ، فالحزمة عند 3527 سم<sup>-1</sup> تعود الى اهتزاز المط لرابطة (O-H) وهي حزمة مستعرضة لوجود تداخل من انواع مختلفة من الهيدروكسيل مثل هيدروكسيل الطبقة الثنائية و

هيدروكسيل الماء المتميز فيزيائياً (Cheng, et al, 2010 ; Parida, et al, 2010) اما الحزمة المميزة عند 1383 سم<sup>-1</sup> فتعزى الى مجموعة النترات (NO<sub>3</sub>) الموجودة بين الطبقات (Arizaga, et al, 2009 ; Chai, et al, 2009) بينما تعود الحزم الواقعة بين 400-600 سم<sup>-1</sup> الى اهتزاز رابطة O-Mg و Al-O (Feng, et al, 2006).

### 4-1-3-1 طيف الاشعة تحت الحمراء للمركب النانوي الهجين (Mg/Al-OG-LDH)

يلاحظ من الشكل 10 ان المركب النانوي الهجين يظهر العديد من الحزم المميزة الجديدة التي تدل على نجاح عملية اقحام المادة الحافظة (OG) بين طبقات المغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد مقارنة بحزم الطبقات الثنائية الهيدروكسيد فالحزمة عند 3450 سم<sup>-1</sup> تعود الى اهتزاز المط لرابطة (O-H) التابعة للطبقات ثنائية الهيدروكسيد وجزيئات الماء المتميز فيزيائياً اما الحزم عند 2850-2933 سم<sup>-1</sup> فتعزى الى اهتزاز المط لرابطة (C-H) الليفاتية بينما تعود الحزمة عند 1672 سم<sup>-1</sup> الى اهتزاز المط لمجموعة الكربونيل (C=O). وتعود الحزمة عند 1577 سم<sup>-1</sup> و 1496 سم<sup>-1</sup> الى اهتزاز المط ل (C=C) الاروماتية. وتمثل الحزمة عند 1379 سم<sup>-1</sup> بقايا اثار مجموعة لنترات (NO<sub>3</sub>) المتبقية والتي حصلت فيها ازاحة اذ كانت هذه الحزمة واضحة في طيف الطبقات ثنائية الهيدروكسيد عند 1384 سم<sup>-1</sup> (Hussein, et al, 2010) اما الحزمة عند 1030 سم<sup>-1</sup> فتعزى الى اهتزاز المط لرابطة (C-O) في حين ان الحزم الواقعة عند 400-600 سم<sup>-1</sup> تعزى الى اهتزاز المط لرابطة او كسيد المعدن ل Mg-O و Al-O (Cornejo, et al, 2000).

### 5-1-3-1 طيف الاشعة تحت الحمراء لأوكسيد الزنك (ZnO)

اظهرت طبقات او كسيد الزنك حزمة غير واضحة واقعة عند 400-500 سم<sup>-1</sup> والتي تعزى الى اهتزاز رابطة المعدن O-Zn (Bashi, et al, 2013b) كما هو موضح في الشكل 11 .

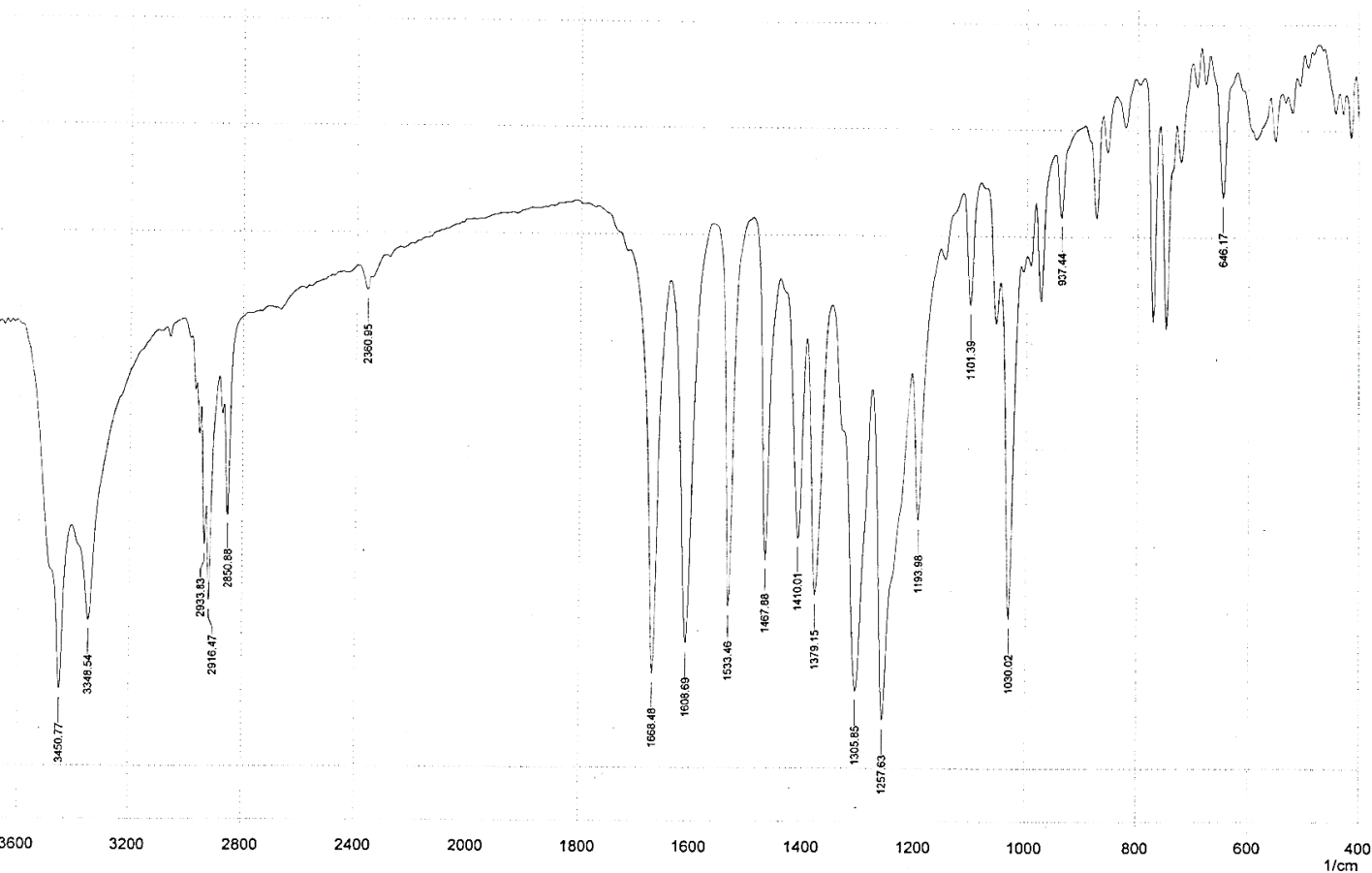
### 6-1-3-1 طيف الاشعة تحت الحمراء للمركب النانوي الهجين (ZnO-OG)

من ملاحظة الشكل 12 يتضح ان المركب النانوي الهجين العديد من الحزم المميزة الجديدة التي تدل على نجاح عملية اقحام المادة الحافظة OG بين طبقات هيدروكسيد الزنك مقارنة بحزم طبقات هيدروكسيد الزنك . ان ظهور الحزمة عند 3200-3500 سم<sup>-1</sup> يعزى الى اهتزاز المط لرابطة الهيدروكسيل (O-H) العائدة الى المادة الحافظة OG اما الحزم عند 2854-2956 سم<sup>-1</sup> فتعزى الى اهتزاز المط لرابطة (C-H) الليفاتية. ويعزى ظهور الحزمة عند 1712 سم<sup>-1</sup> الى اهتزاز المط لمجموعة الكربونيل (C=O) بينما الحزم الواقعة بين 1477-1583 سم<sup>-1</sup> تعزى الى اهتزاز المط ل (C=C) الكربونيل (Hussein, et al, 2011) العائدة للمادة الحافظة OG في حين ان الحزمة عند 1037 سم<sup>-1</sup> تعزى الى اهتزاز المط لرابطة (C-O). كما ان الحزمة عند 763-893 سم<sup>-1</sup> تعزى الى اهتزاز الانحناء لرابطة (C-H)

الاروماتية (et al Hussein, 2011) اما الحزم الواقعة بين 430-570 سم<sup>-1</sup> فتعزى الى اهتزاز  
رابطة اوكسيد المعدن O-Zn (et al Bashi, 2013b).

### 3-1-2 طيف حيود الاشعة السينية (XRD)

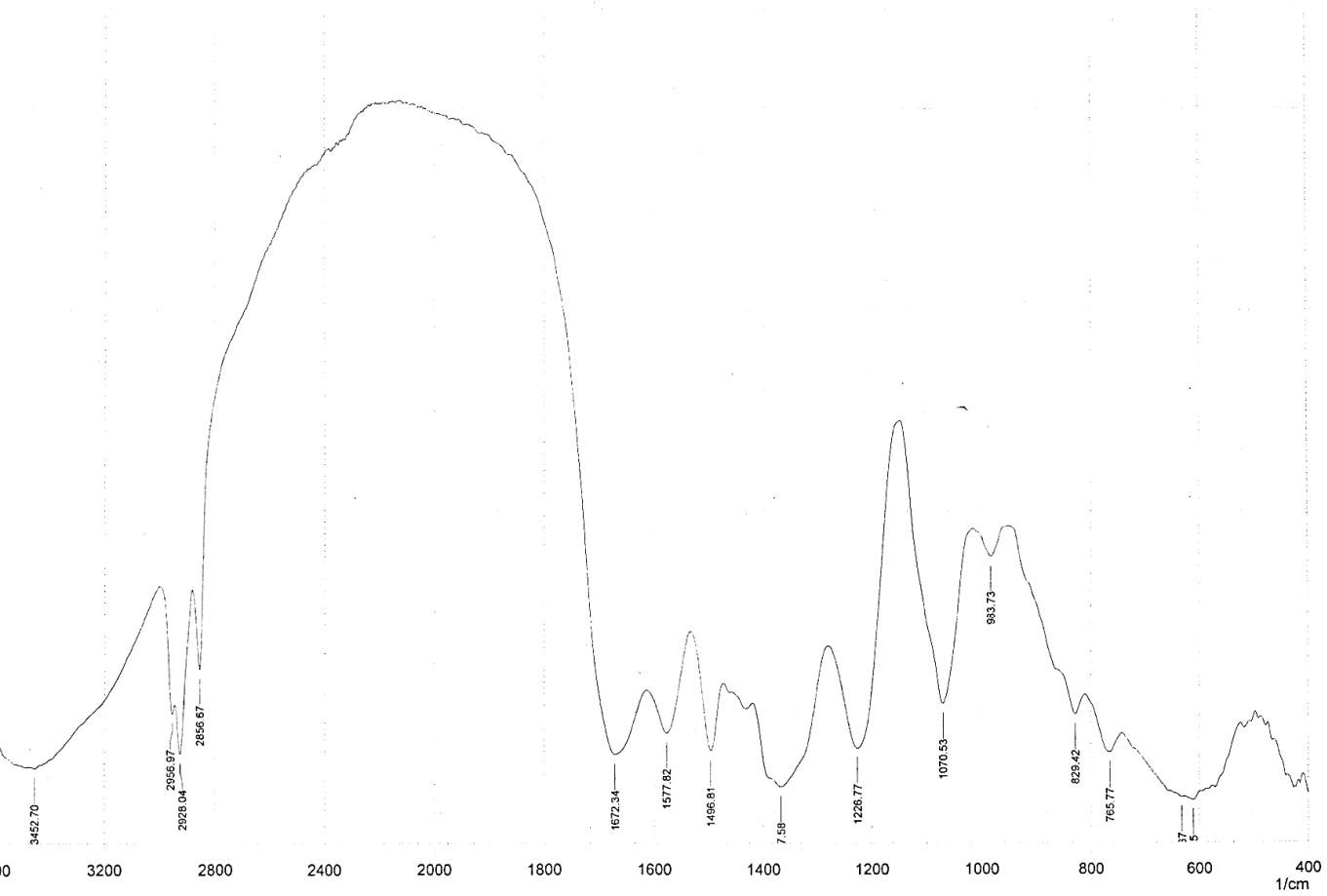
تم دراسة طيف حيود الاشعة السينية للمركبين النانويين الهجينين Mg/Al-OG-LDH و ZnO-  
OG وطبقات المغنسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد (LDH-Mg/Al-NO<sub>3</sub>) فضلا عن طبقات  
اوكسيد الزنك (ZnO) لمعرفة الاختلاف في سمك الطبقة قبل عملية اقحام المادة الحافظة



الشكل ( 8 ) : طيف الاشعة تحت الحمراء للمادة الحافظة OG



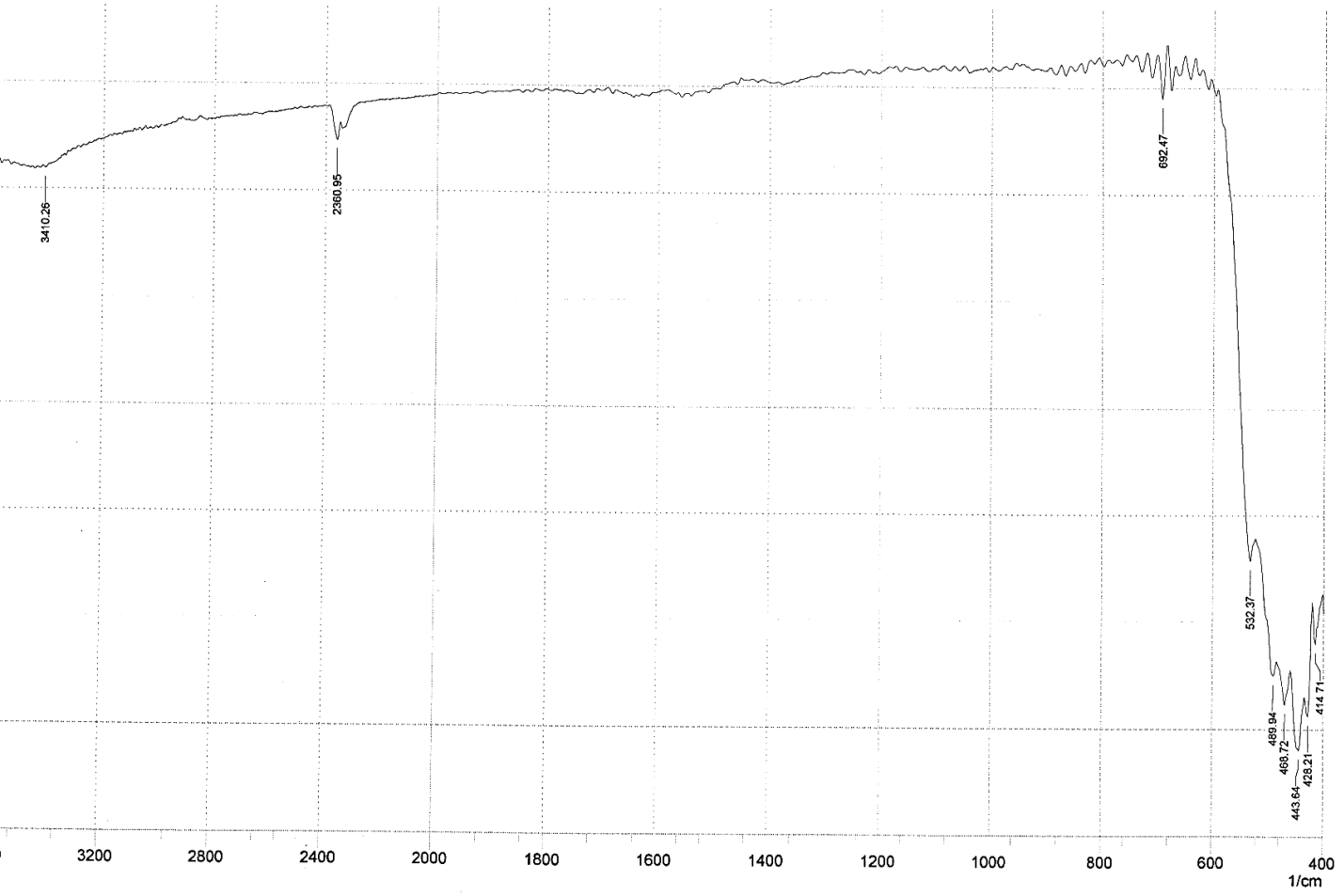
الشكل ( 9 ) : طيف الاشعة تحت الحمراء لطبقات المغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد



Mg/Al-OG-LDH

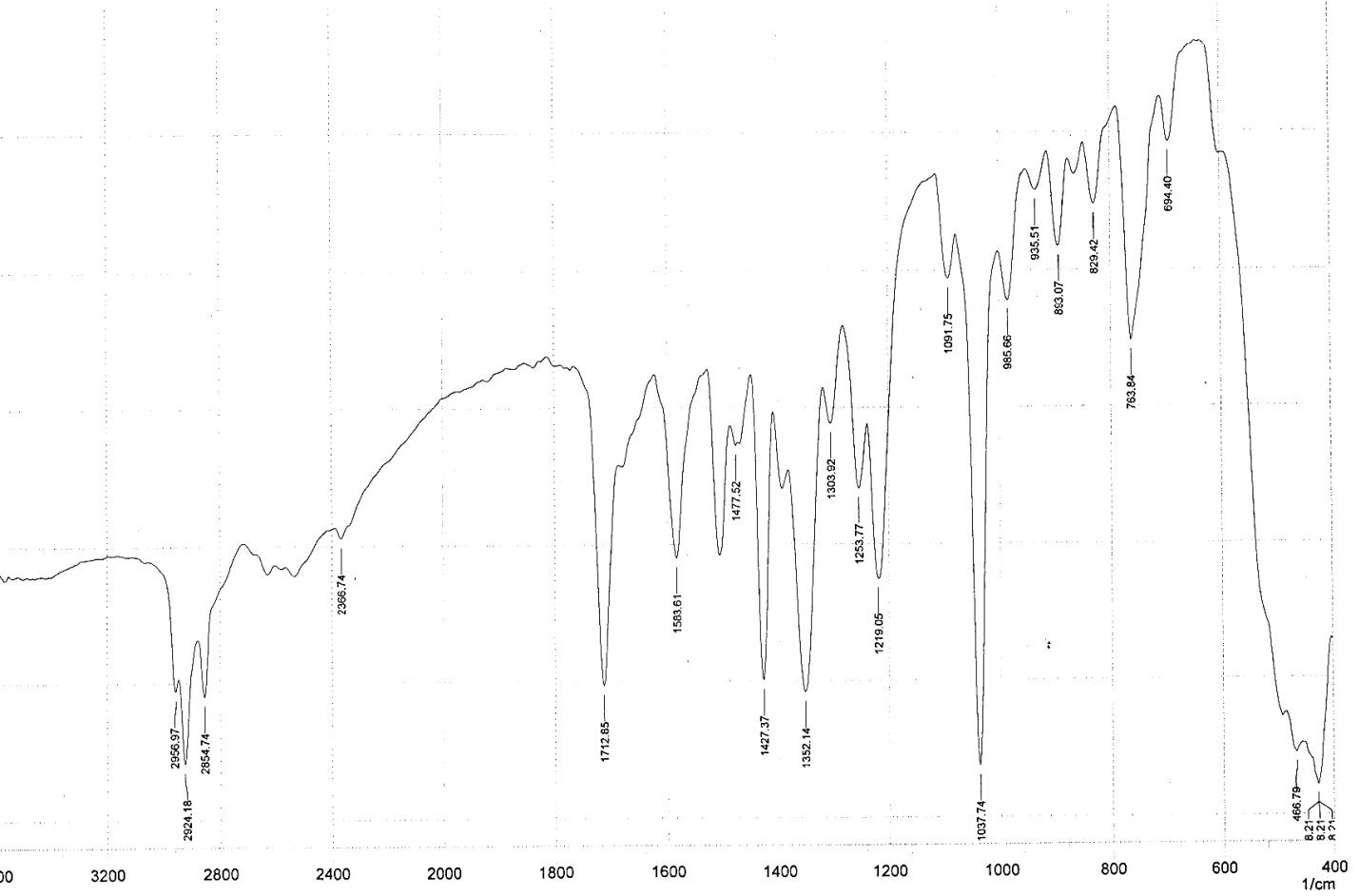
Date/Time: 22/04/2013 10:20:24

(طيف الاشعة تحت الحمراء للمركب النانوي الهجين 10 الشكل Mg/Al-OG-LDH)



( : طيف الاشعة تحت الحمراء لطبقات اوكسيد الزنك 11 الشكل )



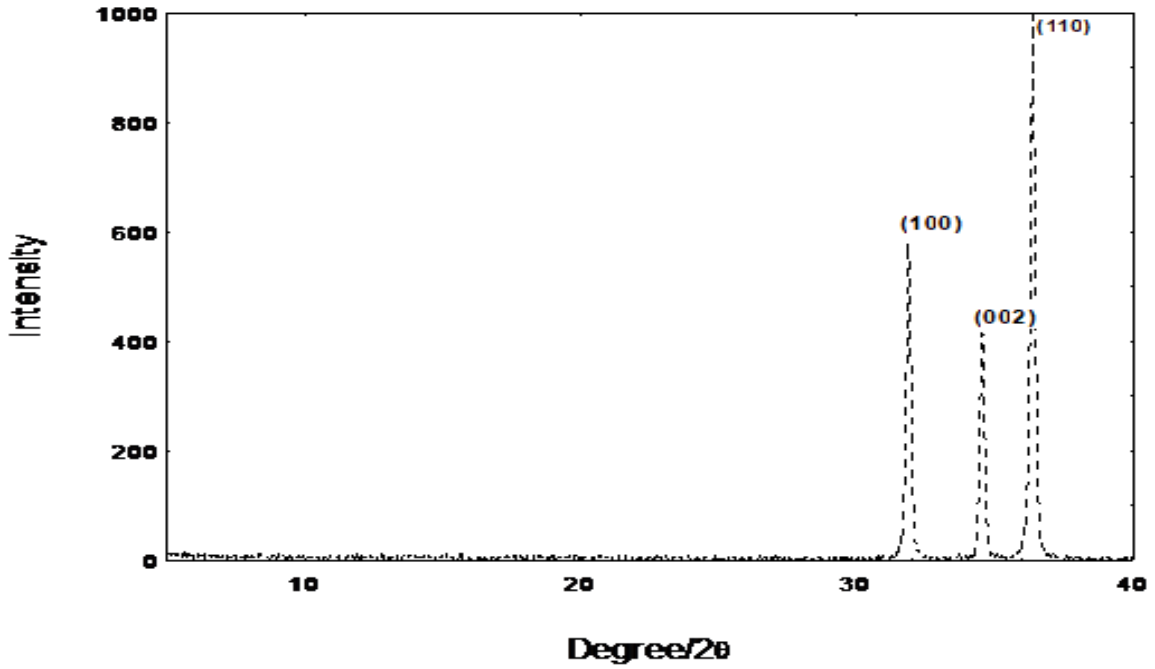


( : طيف الاشعة تحت الحمراء للمركب النانوي الهجين 12 الشكل ( ZnO-OG )

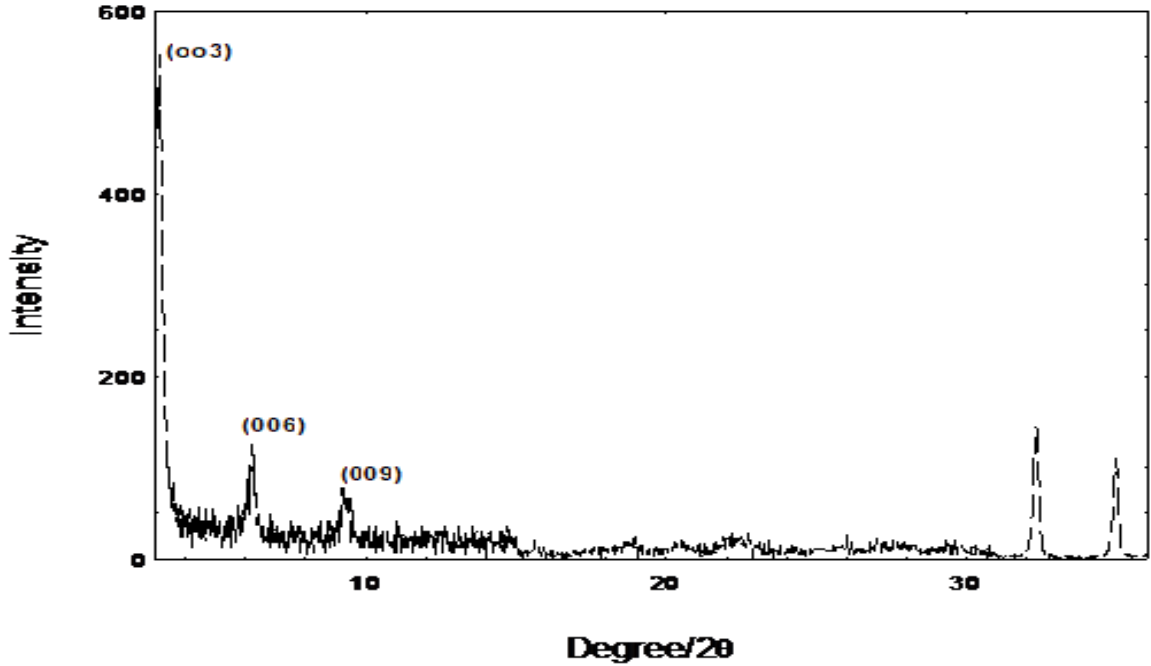
OG داخل طبقات ثنائية الهيدروكسيد واوكسيد الزنك (كلا على انفراد) وبعدها باستخدام قانون براك .

يبين الشكل 13 طيف حيود الاشعة السينية لأوكسيد الزنك ويظهر فيه حيود المستويات (100) عند الزاوية  $31.29^\circ$  ولها مسافة بلورية (d) تساوي  $0.281\text{nm}$  والمستوي (002) عند زاوية  $34.82^\circ$  بمسافة بلورية تساوي  $0.259\text{nm}$  اما المستوي (101) فقد ظهر عند الزاوية  $36.29^\circ$  وله مسافة بلورية تساوي  $247\text{nm}.0$  (Bashi, et al 2013b). وعند اجراء عملية التبادل الايوني بين طبقات اوكسيد الزنك والانيون القادم OG يظهر حيود للمستوى (003) عند الزاوية  $2.97^\circ$  وبمسافة بلورية تساوي  $2.58\text{nm}$  ومستوى اخر (006) عند الزاوية  $6.38^\circ$  وبمسافة بلورية تساوي  $1.38\text{nm}$  ومستوى (009) عند الزاوية  $9.8^\circ$  وبمسافة بلورية تساوي  $0.57\text{nm}$  اضافة الى وجود المستويات العائدة الى طبقات اوكسيد الزنك مما يدل على ان طبقات اوكسيد الزنك لاتزال تحافظ على تركيبها الطبيعي وان الانيون القادم OG قد انحسر بين طبقات اوكسيد الزنك كما هو موضح في الشكل 14 .

يوضح الشكل 15 طيف حيود الاشعة السينية لطبقة المغنيسيوم /الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد (LDH-Mg/Al-NO<sub>3</sub>) اذ تلاحظ المستويات البلورية (003) و(006) و(009) . يظهر المستوى (003) عند الزاوية 10.47° وبمسافة بلورية تساوي 0.84nm اما المستوى (006) فيظهر عند الزاوية 22.03° وبمسافة بلورية تساوي 0.41nm بينما يظهر المستوى (009) عند الزاوية 34.44° وبمسافة بلورية تساوي 0.26nm. ومن خلال ملاحظة طيف حيود الاشعة السينية للمركب النانوي الهجين (Mg/Al-OG-LDH) يتضح ان المسافة البلورية (d) للمستوى (003) قد انزاحت من 0.79nm الى 2.5nm مما يدل على ان المركب OG قد تم تبادله ايونياً بين الطبقات الثنائية الهيدروكسيد مما سبب ارتفاع المحور البلوري (C) من 0.79nm الى 2.5nm والذي بدوره يدل على ان الارتفاع البلوري الذي سببه المركب OG بين الطبقات ثنائية الهيدروكسيد هو فرق المسافة العمودية بين المستويين كما هو موضح في الشكل 16 .



الشكل ( 13 ): طيف حيود الاشعة السينية (XRD) لطبقات اوكسيد الزنك



الشكل ( 14 ): طيف حيود الاشعة السينية (XRD) للمركب النانوي الهجين (ZnO-OG)

كما يلاحظ ايضا في الشكل 16 نفسه ان الحزمة عند الزاوية  $11.11^\circ$  والزاوية  $22.27^\circ$  هي بقايا لطبقات المغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد غير المتبادلة ايونيا مع المادة الحافظة OG لكن قلت شدتها عما كانت عليه قبل عملية التبادل ايونيا اذ أن الاختلاف في قيمة سمك الطبقة قبل عملية الاقحام وبعدها يمكن أن ينسب إلى تأثير الحجم و التوجيه الفراغي للجزء العضوي في الطبقة ثنائية الهيدروكسيد (Cardoso *et al*, 2006).

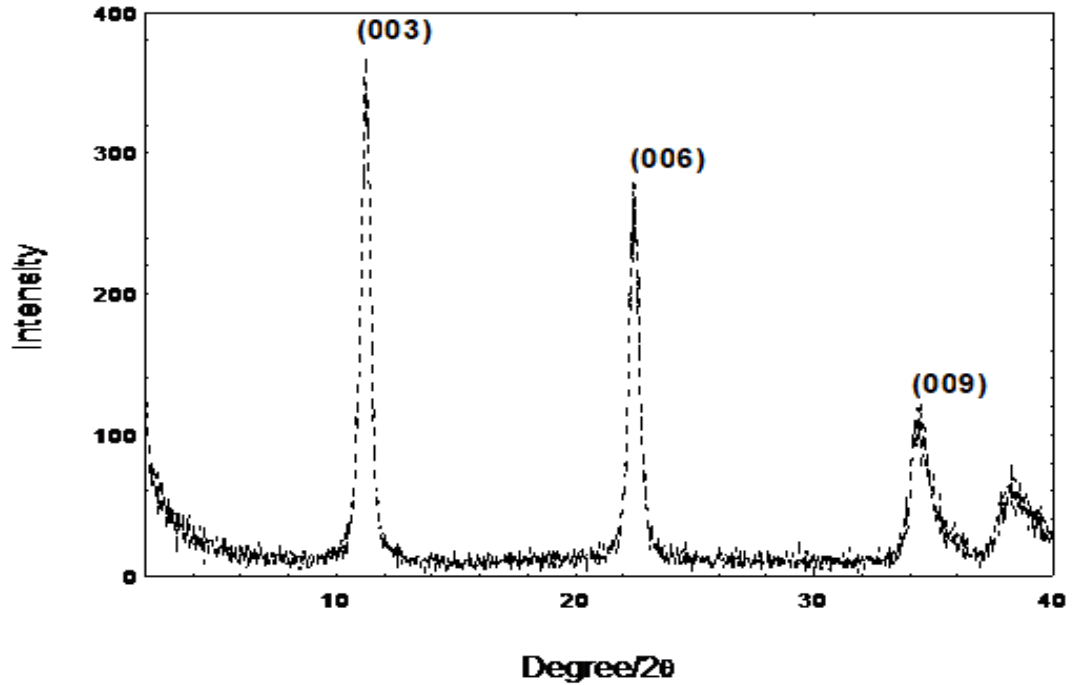
### 3-1-3 المجهر الالكتروني الماسح (SEM)

تم دراسة السطح الخارجي للمركبين النانويين (Mg/Al-OG-LDH) و (ZnO-OG) وكذلك سطح الطبقات ثنائية الهيدروكسيد (LDH-NO<sub>3</sub>-Mg/Al) وطبقات اوكسيد الزنك (ZnO) باستخدام المجهر الالكتروني الماسح (SEM).

يبين الشكل 17 صورة المجهر الالكتروني الماسح لطبقات اوكسيد الزنك اذ تشاهد الاشكال السداسية واضحة المعالم والتي تظهر فيها وريقات الاوكسيد متراكبة فوق بعضها البعض بأشكال واحجام غير منتظمة (Bashi *et al*, 2013b). وان هذه الاشكال غير المنتظمة لطبقات اوكسيد الزنك تتحول الى

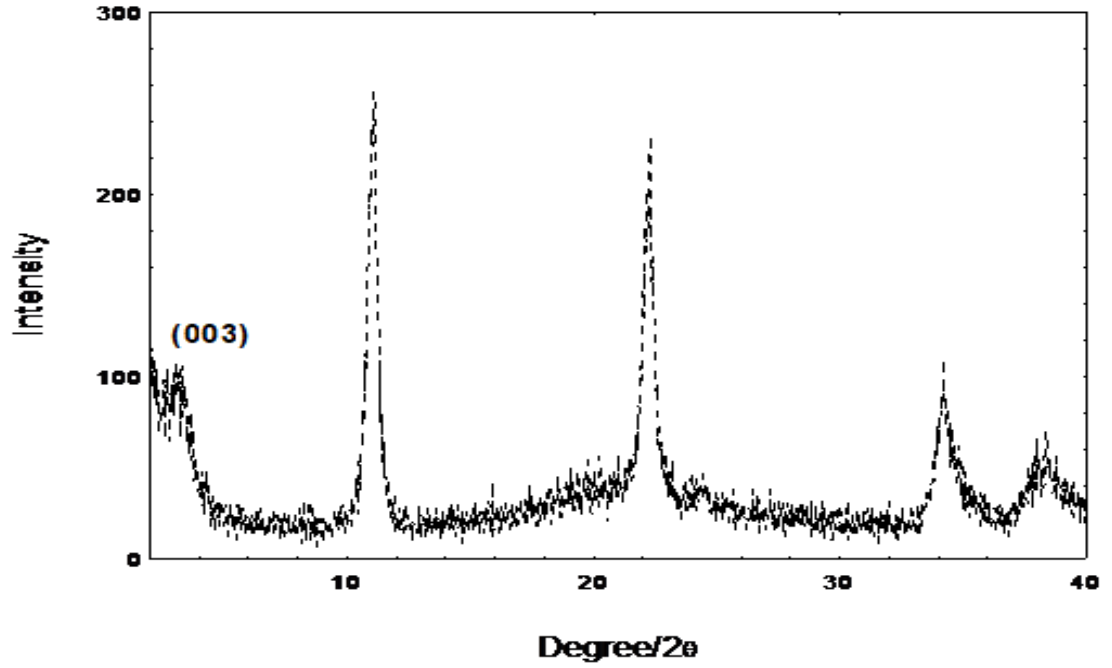
تجمعات ذات اشكال عصوية (rod-like agglomerates) (Hussein, et al., 2011) عند تكون المركب النانوي الهجين (OG-ZnO) الناتج عن التفاعل المباشر لطبقات اوكسيد الزنك مع الانيون (المادة الحافظة) مما يدل على نجاح عملية اقحام المادة الحافظة الى طبقات اوكسيد الزنك والذي يؤيده طيف حيود الاشعة السينية كما هو موضح في الشكل 18.

وتبين احدي الدراسات التي قام بها (Hussein, et al., 2010) ان اقحام المركب (2, 4--4) dichlorophenoxy) butyrate (DPBA) الى طبقات هيدروكسيد الزنك يؤدي الى تغير شكل السطح لهذه الطبقات من تراكيب حبيبية غير منتظمة الى تراكيب نانوية صفيحية (Nanosheet).

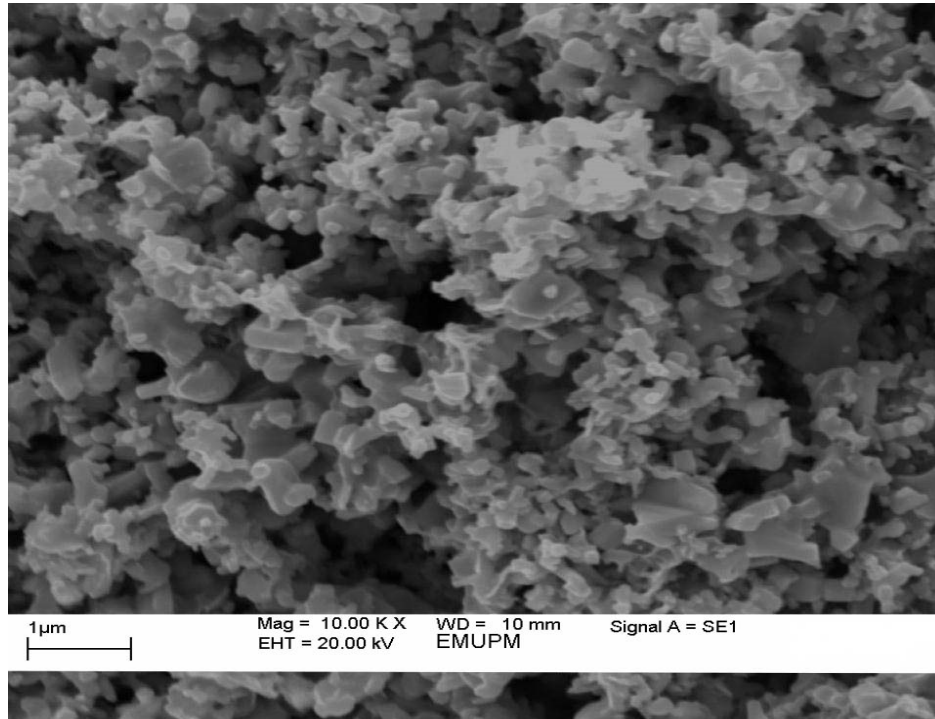


الشكل ( 15 ) :

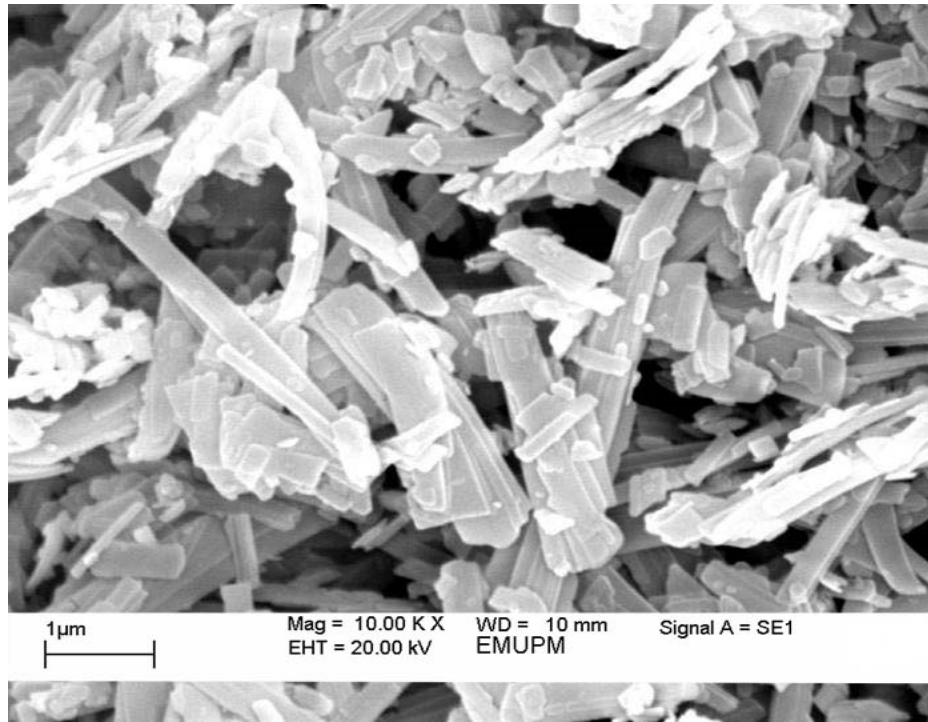
طيف حيود الاشعة السينية (XRD) لطبقة المغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد (LDH-Mg/Al-NO<sub>3</sub>)



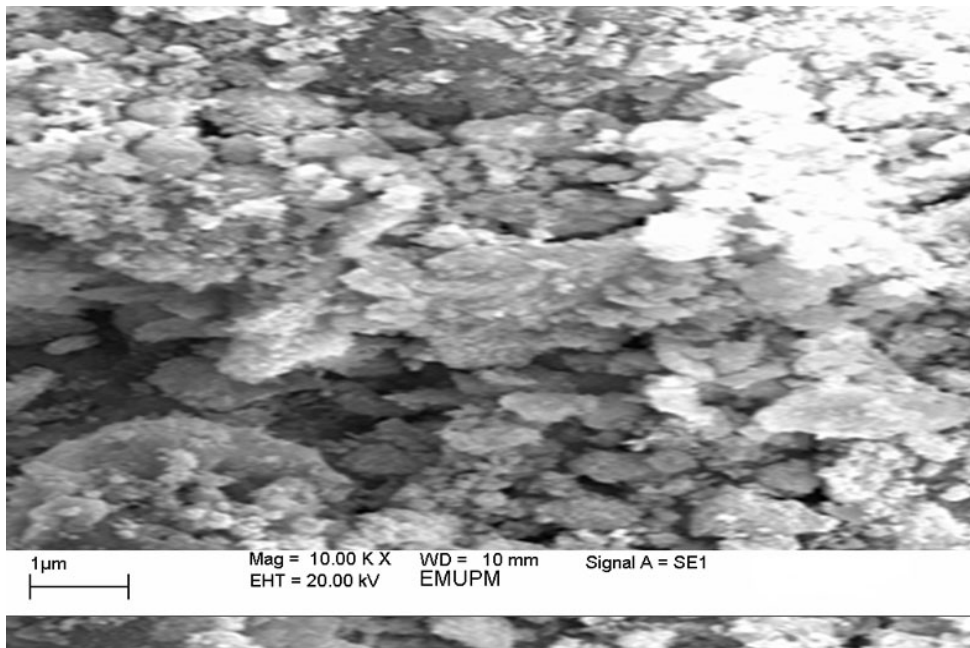
الشكل ( 16 ): طيف حيود الاشعة السينية (XRD) للمركب النانوي الهجين Mg/Al-OG-LDH



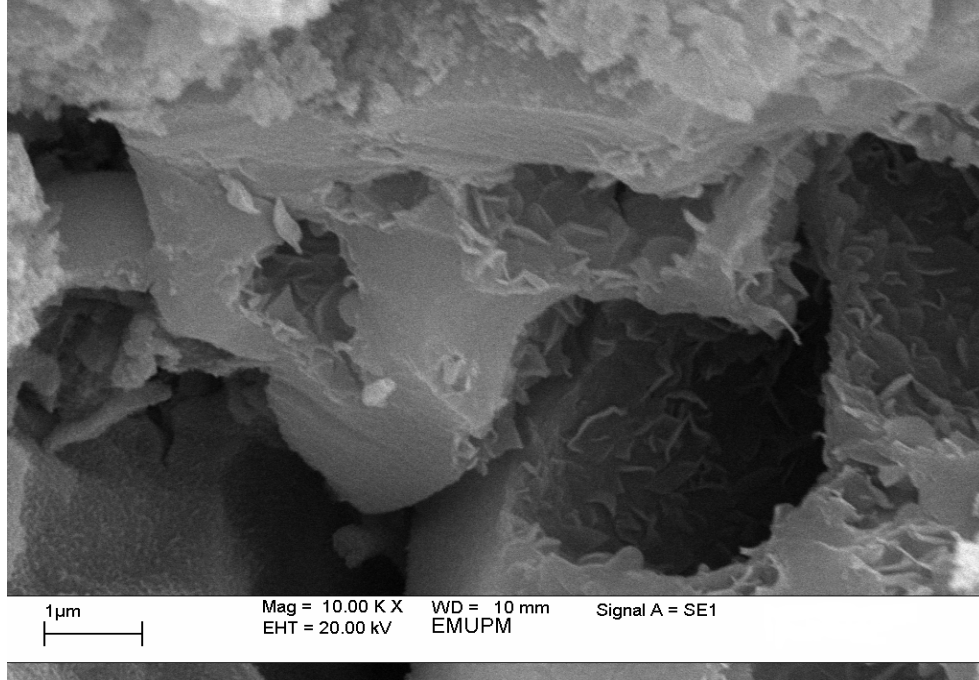
الشكل ( 17 ): صورة بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM) لطبقات اوكسيد الزنك



الشكل ( 18 ) : صورة بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM) للمركب النانوي الهجين (OG-ZnO)



الشكل ( 19 ) : صورة بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM) لطبقات المغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد (Mg/Al)-LDH-NO<sub>3</sub> .



الشكل ( 20 ): صورة بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM) للمركب النانوي الهجين (Mg/Al-OG-LDH).

تظهر صور المجهر الالكتروني الماسح للطبقات ثنائية الهيدروكسيد وجود تراكيب شبيهه بالصفائح (Plate-like structure) قليلة المسامات ذات اشكال واحجام غير منتظمة (Wang and Zhang,2012) كما في الشكل رقم 19 ، في حين ان صور المجهر الالكتروني الماسح للمركب النانوي الهجين (Mg/Al-OG-LDH) تبين وجود تراكيب ذات مسامية عالية بين الطبقات نتيجة للتجاذب الحاصل بين الانيون (المادة الحافظة) و سطح الطبقات ثنائية الهيدروكسيد مما يدل على نجاح عملية اقحام المادة الحافظة بين الطبقات الثنائية الهيدروكسيد كما في الشكل 20 .

#### 3-1-4 مجهر القوة الذرية (AFM)

تم دراسة السطح الخارجي للمركبين النانويين الهجينين Mg/Al-OG-LDH و ZnO-OG باستخدام مجهر القوة الذرية ، يبين الشكلان (21a) و (22a) صورة ثنائية الابعاد للمركب النانوي Mg/Al-OG-LDH و ZnO-OG ، على التوالي تظهر فيها تجمعات جزئية ذات اشكال كروية .

يظهر من الشكلين (21b) و (22b) صورة ثلاثية الابعاد لمقطع من السطح للمركبين النانويين Mg/Al-OG-LDH و ZnO-OG ، على التوالي حيث يظهر فيها ارتفاع التجمعات الجزئية الذي يكون

بحدود 0.66 nm و 0.43 nm للمركبين Mg/Al-OG-LDH و ZnO-OG ، على التوالي مما يشير الى تصنيع مركبات نانوية من المادة الحافظة OG وطبقات المغنسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد و اوكسيد الزنك متناهية في الصغر.

يتضح من الجدول (2) ان معدل احجام جزيئات (means of particle size) للمركب النانوي Mg/Al-OG-LDH هي بحدود 82.49 nm بينما بلغ احجام جزيئات المركب النانوي ZnO-OG بحدود 61.09 nm كما هو موضح في الجدول (3) .

واعتمادا على البيانات المتحصل عليها من الجدولين (2 و 3) وطيف حيود الاشعة السينية (الاشكال 14 و 16 ) فقد تم حساب معامل البلورية (Crystallinity Index) للمركبين قيد الدراسة ، اذ بلغ ( 15.16 و 3.84 ) للمركبين Mg/Al-OG-LDH و ZnO-OG ، على التوالي .

الجدول (2) : اقطار وحجوم وتجمعات جزيئات المركب النانوي Mg/Al-OG-LDH بعد فحصه بمجهر القوة الذرية

**nm 82.49 :Avg. Diameter .**

| Cumulation (%) | Volume (%) | Diameter (nm)< | Cumulation (%) | Volume (%) | Diameter (nm)< | Cumulation (%) | Volume (%) | Diameter (nm)< |
|----------------|------------|----------------|----------------|------------|----------------|----------------|------------|----------------|
| 81.25          | 6.82       | 105.00         | 31.82          | 9.09       | 70.00          | 0.57           | 0.57       | 35.00          |
| 86.93          | 5.68       | 110.00         | 41.48          | 9.66       | 75.00          | 2.27           | 1.70       | 40.00          |
| 90.91          | 3.98       | 115.00         | 50.57          | 9.09       | 80.00          | 3.41           | 1.14       | 45.00          |
| 97.73          | 6.82       | 120.00         | 55.68          | 5.11       | 85.00          | 6.25           | 2.84       | 50.00          |
| 100.00         | 2.27       | 125.00         | 64.20          | 8.52       | 90.00          | 10.23          | 3.98       | 55.00          |
|                |            |                | 69.89          | 5.68       | 95.00          | 14.20          | 3.98       | 60.00          |
|                |            |                | 74.43          | 4.55       | 100.00         | 22.73          | 8.52       | 65.00          |

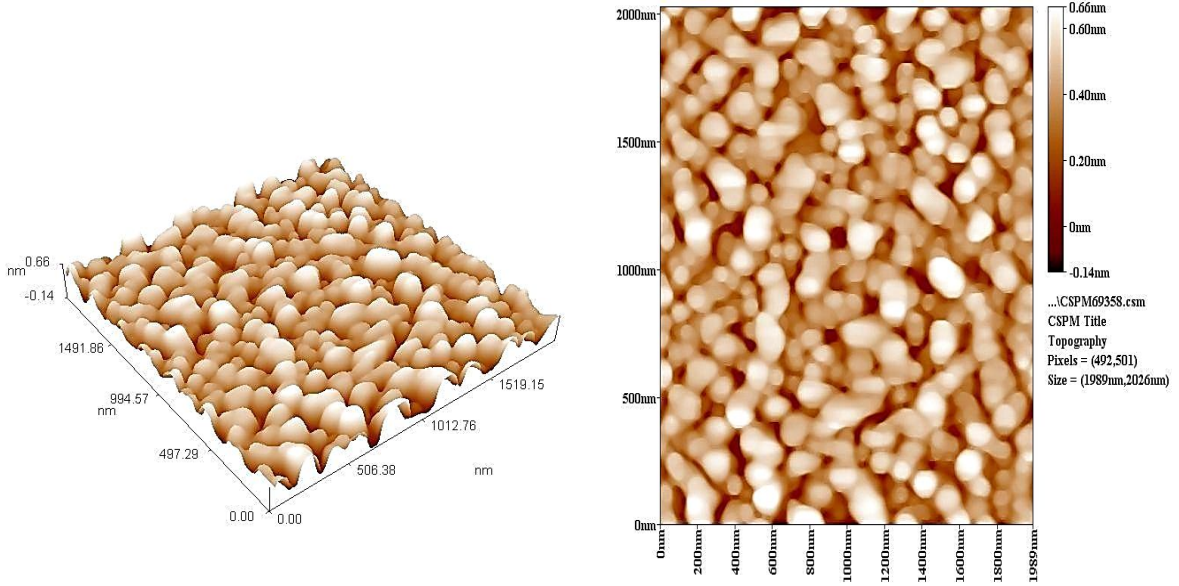
الجدول (3) : اقطار وحجوم وتجمعات جزيئات المركب النانوي ZnO-OG بعد فحصه بمجهر القوة الذرية

**nm 61.09 :Avg. Diameter**

| Cumulation (%) | Volume (%) | Diameter (nm)< | Cumulation (%) | Volume (%) | Diameter (nm)< | Cumulation (%) | Volume (%) | Diameter (nm)< |
|----------------|------------|----------------|----------------|------------|----------------|----------------|------------|----------------|
| 98.63          | 0.68       | 100.00         | 89.73          | 8.22       | 75.00          | 11.64          | 11.64      | 50.00          |
| 99.32          | 0.68       | 105.00         | 92.47          | 2.74       | 80.00          | 40.41          | 28.77      | 55.00          |
| 100.00         | 0.68       | 110.00         | 94.52          | 2.05       | 85.00          | 58.22          | 17.81      | 60.00          |
|                |            |                | 97.26          | 2.74       | 90.00          | 71.23          | 13.01      | 65.00          |

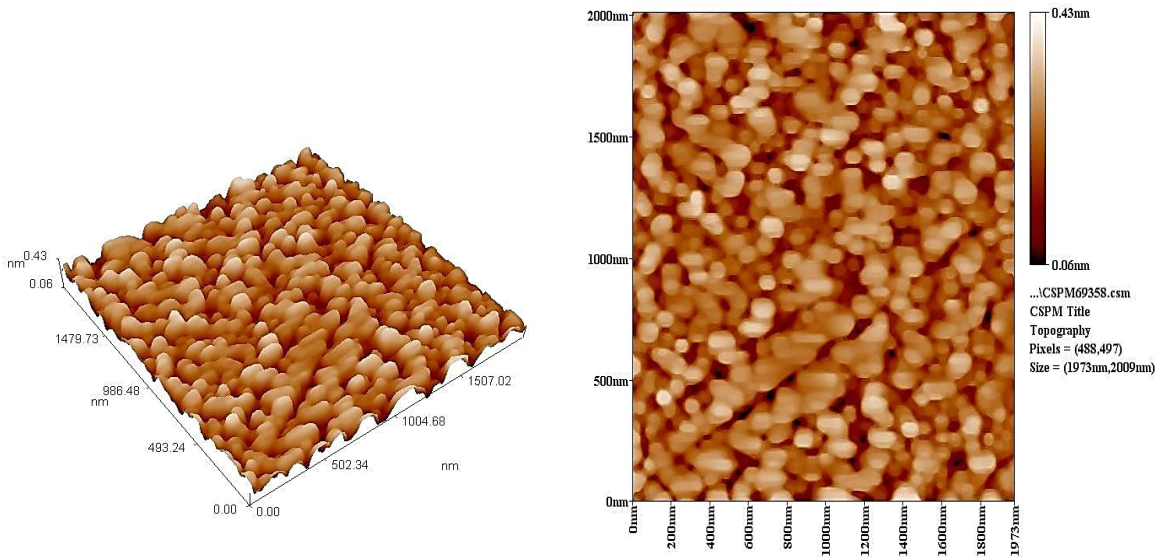


|  |  |  |       |      |       |       |       |       |
|--|--|--|-------|------|-------|-------|-------|-------|
|  |  |  | 97.95 | 0.68 | 95.00 | 81.51 | 10.27 | 70.00 |
|--|--|--|-------|------|-------|-------|-------|-------|



(b)

الشكل ( 21 ) : صورة ثنائية الابعاد (a) وثلاثية الابعاد (b) للمركب Mg/Al-OG-LDH بواسطة مجهر القوة الذرية



(b)

الشكل ( 22 ) : صورة ثنائية الابعاد (a) وثلاثية الابعاد (b) للمركب ZnO-OG بواسطة مجهر القوة الذرية

## 3-2 دراسة تحرر المادة الحافظة أوكثيل كالت (OG) من المركبين النانويين الهجينين Mg/Al-OG- LDH و ZnO-OG

درس تحرر المادة الحافظة (OG) من المركبين النانويين الهجينين خلال الوسط المائي لكاربونات الصوديوم ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) بتركيزين (0.1 و 0.5) مولاري وبمدد زمنية تراوحت بين (0.15 – 25) ساعة باستخدام المعادلة الاتية :

$$\text{Release \%} = \text{Ct} / \text{CT} * 100$$

يتضح من الشكلين ( 23 و 24 ) ان شدة التبادل الايوني بين سطح المركب Mg/Al-OG-LDH والانيون القادم ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) كبيرة مما يؤدي الى زيادة نسبة تحرر المادة الحافظة لتصل الى اكثر من 95% الى وسط كاربونات الصوديوم وبكلا التركيزين (0.1 و 0.5) مولاري خلال 25 ساعة من زمن بدء التحرر .

ويتبين من الشكلين ( 25 و 26) ان نسبة التحرر للمادة الحافظة من بين طبقات المركب ZnO-OG قد بلغت اكثر من 98 % الى الوسط المائي لكاربونات الصوديوم بتركيز (0.5) مولاري خلال 25 ساعة من زمن بدء التحرر في حين لم تتعدى نسبة التحرر 92 % عند التركيز (0.1) مولاري لوسط الكاربونات نفسة خلال المدة المذكورة نفسها .

يلاحظ من الاشكال المذكورة اعلاه ان عملية تحرر المادة من بين طبقات المركبين النانويين المذكورين اعلاه تحدث بصورة سريعة في بداية عملية التحرر وهذا ربما يعزى الى التركيز العالي لأيون كاربونات ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) في الوسط المائي مما ينتج عنه تحرر كميات كبيرة من المادة الحافظة ، وان عملية التحرر سوف تتباطأ بصورة تدريجية مع مرور الزمن والتي تعزى الى اختزال ايون الكاربونات ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) وتكون مركب جديد مع ايون الكاربونات كأيون معادل لأيون العضوي (المادة الحافظة ) المتحرر (Hussein Ghotbi and, 2010) .

فسر *et al Biswick* (2012). ان التحرر السريع لحمض الكافائيك (Caffeic acid) الذي يحدث خلال الوهلة الاولى من عملية التحرر من بين طبقات هيدروكسيد الزنك ربما يعزى الى سببين هما وجود كميات قليلة من الانيونات مدمصة على القالب اللاعضوي (inorganic matrix) و الانيونات المقحمة التي تكون قريبة من الحواف البلورية للبلورات .

تتفق نتائج دراستنا الحالية جزئياً مع ما وجدته Hussein and Ghotbi (2010) عند دراسته تأثير تراكيز مختلفة من محاليل الكربونات المائية على معدل تحرر حامض الكاليك (Gallic acid) من بين طبقات الزنك /الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد ووجد ان معدل التحرر يكون سريع في الـ 500 دقيقة الاولى من وقت بدء التحرر , لاحظ بعد ذلك ان معدل التحرر يتباطأ تدريجياً اذ يتحقق التوازن في عملية التحرر عند حدود 1000 دقيقة . كما بين ان كمية الحامض المتحررة ومعدل التحرر تزداد عموماً مع زيادة التركيز الاولى لأيون الكربونات في المحاليل المائية .

قام Hussein *et al* (2011) بمراقبة عملية تحرر حامض الأيلاجيك ( Ellagic acid) من بين طبقات هيدروكسيد الزنك الى محلول كربونات الصوديوم و فوسفات الصوديوم الثلاثية خلال مدة زمنية قدرها 38 ساعة ، ووجد ان عملية التحرر تكون سريعة خلال اول 5 ساعات من بدء التحرر اذ بلغت نسبة التحرر (44 و 85) % الى وسط كربونات الصوديوم وفوسفات الصوديوم الثلاثية ، على التوالي ثم تتباطأ سرعة التحرر تدريجياً .

بشكل عام هناك نوعان من الاليات التي تتحكم بنظام التحرر من بين طبقات ثنائية الهيدروكسيد هما انتشار الانيون من خلال جزيئات الطبقات ثنائية الهيدروكسيد وتفكك (dissolution) جزيئات هذه الطبقات (et al Latip, 2013) .

يتضح من النتائج المذكورة اعلاه ان عملية التبادل الايوني بين المادة الحافظة وايون الكربونات يتبع زيادة التركيز لأيون القادم ( $CO_3^{2-}$ ) اذ ان نسبة التحرر خلال التركيز 0.5 مولاري لوسط كربونات الصوديوم اكبر من نسبة التحرر خلال التركيز 0.1 مولاري من نفس الوسط .

الشكل ( 23 ) : النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة OG من المركب Mg/Al-OG-LDH الى الوسط المائي لكربونات الصوديوم بتركيز 0.1 مولاري وبطريقة التبادل الايوني المباشر.

الشكل ( 24 ) : النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة OG من المركب Mg/Al-OG-LDH الى الوسط المائي لكربونات الصوديوم بتركيز 0.5 مولاري وبطريقة التبادل الايوني المباشر .

الشكل ( 25 ) : النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة OG من المركب ZnO-OG الى الوسط المائي لكاربونات الصوديوم بتركيز 0.1 مولاري وبطريقة التبادل الايوني المباشر.

الشكل ( 26 ) : النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة OG من المركب ZnO-OG الى الوسط المائي لكاربونات الصوديوم بتركيز 0.5 مولاري وبطريقة التبادل الايوني المباشر.

### 3-2-1 دراسة تأثير تغير الرقم الهيدروجيني في تحرر المادة الحافظة OG

تم دراسة تأثير تغير الرقم الهيدروجيني في تحرر المادة الحافظة من بين طبقات المركبين النانويين الهجينين Mg/Al-OG-LDH و ZnO-OG الى الوسط المائي الحامضي (الرقم الهيدروجيني 2) والوسط المائي القاعدي (الرقم الهيدروجيني 13) خلال مدة زمنية تراوحت بين (0.15 – 25) ساعة باستخدام المعادلة المذكورة سابقا .

يلاحظ من الشكل 27 ان نسبة التحرر للمادة الحافظة (OG) من طبقات المركب Mg/Al-OG-LDH الى الوسط الحامضي (الرقم الهيدروجيني 2) هي بحدود 88% خلال 25 ساعة من زمن بدء التحرر بينما بلغت نسبة التحرر الى الوسط القاعدي (الرقم الهيدروجيني 13) 80% ، (الشكل 28) وهذا يشير الى ان تحرر المادة الحافظة (OG) من طبقات المركب Mg/Al-OG-LDH في الوسط الحامضي يحدث بشكل افضل من الوسط القاعدي .

يتضح من الشكل 29 ان نسبة تحرر المادة الحافظة OG من بين طبقات المركب النانوي ZnO-OG الى الوسط الحامضي (الرقم الهيدروجيني 2) تتخطى 90% خلال 25 ساعة من زمن بدء التحرر في حين كانت نسبة التحرر الى الوسط القاعدي (الرقم الهيدروجيني 13) بحدود 85% (الشكل 30) مما يدل على ان المادة الحافظة تتحرر في الوسط الحامضي بشكل افضل مما هي في الوسط القاعدي .

تتفق نتائج دراستنا الحالية مع ما وجدته *et al Pool (2012)* عند دراسته تحرر الفلافونويدين Quercetin و Catechin من الدقائق النانوية لبوليمر PLGA الى المحلول المنظم Briton-Robinson عند ارقام هيدروجينية مختلفة (7.2 و 4.5 و 2) وخلال مدة زمنية تتراوح بين (0.25-32) ساعة ، اذ لاحظ ان تحرر كلا الفلافونويدين يزداد كلما اتجه الرقم الهيدروجيني نحو الظروف الحامضية وربما يعزى السبب في ذلك الى تفكك البوليمر PLGA في الوسط الحامضي.

ان الاختلاف في سلوكية تحرر الانيونات (Anions) من بين طبقات المضيف (Host) لها علاقة بعوامل عدة مثل حجم الانيون المقحم وطريقة تحضير المركب النانوي الهجين وألفة الانيون لوسط التحرر وحجم الدقائق وكثافة التعبئة (packing density) والتداخلات الكيميائية بين الضيف (guest) والمضيف (Host) Yang *et al*, 2007; Demel *et al*, 2010).

الشكل ( 27 ) : النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة OG من المركب Mg/Al-OG-LDH الى الوسط المائي الحامضي (الرقم الهيدروجيني 2) بطريقة التبادل الايوني المباشر

الشكل ( 28 ) : النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة OG من المركب Mg/Al-OG-LDH الى الوسط المائي القاعدي (الرقم الهيدروجيني 13) بطريقة التبادل الايوني المباشر

الشكل ( 29 ) : النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة OG من المركب ZnO-OG الى الوسط المائي الحامضي (الرقم الهيدروجيني 2) بطريقة التبادل الايوني المباشر

الشكل ( 30 ) : النسبة المئوية لتحرر المادة الحافظة OG من المركب ZnO-OG الى الوسط المائي القاعدي (الرقم الهيدروجيني 13) بطريقة التبادل الايوني المباشر

## 3-2-2 دراسة حركيات التفاعل (Release Kinetics)

تم دراسة حركية التبادل الايوني لتحرر المادة الحافظة OG الى وسط الكربونات والوسطين الحامضي والقاعدي من خلال تطبيق معادلات الرتبة الصفرية والاولى والثانية الكاذبتين للانتشار كما في الاشكال (31-38) .

$$C_t = k_0 t \dots \dots \dots (1) \quad (\text{Zero order})$$

$$\text{Log} (1-C_t / C_T) = k_1 t / 2.303 \dots \dots \dots (2) \quad (\text{Pseudo first order})$$

$$t / C_t = 1/k_2 C_T^2 + t / C_T \dots \dots \dots (3) \quad (\text{Pseudo second order})$$

وفقا لمعادلة الرتبة الصفرية المشار اليها اعلاه فقد تم رسم قيم (Ct) مقابل الزمن (t) وتم معرفة قيم معامل الارتباط (r<sup>2</sup>) ، ويلاحظ من الاشكال (31-38) انحراف القيم عن الخط المستقيم مما يدل على عدم مطاوعة عملية تحرر المادة الحافظة (OG) لموديل الرتبة الصفرية .

كما يلاحظ ايضا من الاشكال المشار اليها اعلاه والتابعة للرتبة الاولى الكاذبة انحراف القيم عن الخط المستقيم مما يدل ايضا على عدم مطاوعة عملية التحرر لموديل الرتبة الاولى الكاذبة و لذلك طبقت معادلة الرتبة الثانية الكاذبة المذكورة اعلاه ، اذ تم رسم t/Ct مقابل الزمن (t) وتم استخراج قيم معامل الارتباط (r<sup>2</sup>) .

كما يتضح ايضا من الاشكال (31-38) ان الموديل الرياضي للرتبة الثانية الكاذبة هو الاكثر انطباقا لتفسير سلوكية تحرر المادة الحافظة (OG) من بين طبقات المركبين النانويين الهجينين Mg/Al-OG-LDH و ZnO-OG ولكل الاوساط قيد الدراسة .

تتفق نتائج دراستنا الحالية مع وجده *et al Kovanda* (2011) اذ بين ان عملية تحرر المركب paracetamol من بين طبقات المغنسيوم /الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد تنطبق مع الموديل الرياضي للرتبة الثانية الكاذبة لتفسير سلوكية عملية التحرر .

كما تتفق نتائج دراستنا الحالية مع ما وجده *et al Hussein* (2011) اذ بين ان الموديل الرياضي للرتبة الثانية الكاذبة هو الاكثر انطباقا لتفسير تحرر المركب Ellagic acid من بين طبقات هيدروكسيد الزنك. في حين لا تتفق مع ما وجده *and Hussein Ghobti* (2010) اذ بين ان الموديل الرياضي للرتبة الاولى الكاذبة هو الاكثر انطباقا لتفسير تحرر حامض الكاليك من بين طبقات ثنائية الهيدروكسيد اعتمادا على قيمة r<sup>2</sup> .

الشكل ( 31 ) معادلة الرتبة الصفرية والاولى والثانية الكاذبتين لبيان تحرر المادة الحافظة OG من المركب-Mg/Al-OG-LDH لوسط كاربونات الصوديوم بتركيز 0.1 مولاري.

الشكل ( 32 ) معادلة الرتبة الصفرية والاولى والثانية الكاذبتين لبيان تحرر المادة الحافظة OG من المركب-Mg/Al-OG-LDH لوسط كاربونات الصوديوم بتركيز 0.5 مولاري

الشكل ( 33 ) معادلة الرتبة الصفرية والاولى والثانية الكاذبتين لبيان تحرر المادة الحافظة OG من المركب-Mg/Al-OG-LDH للوسط المائي الحامضي ( الرقم الهيدروجيني 2).

الشكل ( 34 ) معادلة الرتبة الصفرية والاولى والثانية الكاذبتين لبيان تحرر المادة الحافظة OG من بين-Mg/Al-OG-LDH للوسط المائي القاعدي ( الرقم الهيدروجيني 13)

الشكل (35) معادلة الرتبة الصفرية والاولى والثانية الكاذبتين لبيان تحرر المادة الحافظة OG من المركب ZnO-OG لوسط كاربونات الصويوم بتركيز 0.1 مولاري

الشكل (36) معادلة الرتبة الصفرية والاولى والثانية الكاذبتين لبيان تحرر المادة الحافظة OG من المركب ZnO-OG لوسط كاربونات الصويوم بتركيز 0.5 مولاري

الشكل (37) معادلة الرتبة الصفرية والاولى والثانية الكاذبتين لبيان تحرر المادة الحافظة OG من المركب ZnO-OG للوسط المائي الحامضي ( الرقم الهيدروجيني 2)

الشكل (38) معادلة الرتبة الصفرية والاولى والثانية الكاذبتين لبيان تحرر المادة الحافظة OG من المركب ZnO-OG للوسط المائي القاعدي ( الرقم الهيدروجيني 13)

**3-3-1 الفعالية التثبيطية للمركبين النانويين (ZnO-OG و OG-LDH-Al/Mg) والمركب OG الحر ضد البكتريا**

**3-3-1 الفعالية التثبيطية ضد بعض انواع البكتريا الموجبة لصبغة كرام**

تم دراسة الفعالية التثبيطية للمركبين النانويين الهجينين (ZnO-OG و Mg/Al-OG-LDH) والمركب OG الحر ضد خمسة انواع من البكتيريا الموجبة لصبغة كرام ومقارنة النتائج مع المضاد الحيوي Gentamycin لكل من بكتيريا *S.aureus* و *L.monocytogenes* wild type 10403s و Local *L.monocytogenes* والمضاد الحيوي Chloramphenicol لكل من بكتيريا *B.cereus*



*B.subtilis* ويتضح من النتائج المبينة في الجدول (4) ان هنالك تباينا واضحا في تأثير المركبات النانوية الهجينة و المركب OG الحر على الانواع البكتيرية المدروسة ، اذ بلغت اعلى فعالية تثبيطية للمركب النانوي (Mg/Al-OG-LDH) ضد بكتريا *S.aureus* بقطر تثبيط مقداره 14 ملم عند التركيز 15 ملغم /مل بينما بلغت اوطأ فعالية تثبيطية بقطر تثبيط 11 ملم عند التركيز ذاته ضد بكتريا *B.subtilis* وعن التمعن في الجدول (4) يتضح ان معدل التثبيط الادنى قد بلغ 500 مايكرو غرام /مل لكل من بكتيريا *S.aureus* و *Local L.monocytogenes* و 10403s wild type *L.monocytogenes* بينما بلغ 250 مايكرو غرام /مل لبكتريا *B.subtilis*.

واظهرت النتائج ايضا ان اعلى فعالية تثبيطية للمركب النانوي (ZnO-OG) ضد بكتيريا *B.subtilis* بقطر تثبيط مقداره 15 ملم عند التركيز 15 ملغم /مل بينما بلغت اوطأ فعالية تثبيطية بقطر تثبيط 12 ملم عند التركيز ذاته ضد بكتريا *Local L.monocytogenes* و 10403s wild type *L.monocytogenes* كما يتضح من الجدول المذكور في اعلاه ان معدل التثبيط الادنى قد بلغ 500 مايكرو غرام /مل لكل من بكتيريا *S.aureus* و *wild type 10403s L.monocytogenes* و *B.cereus* بينما بلغت 250 مايكرو غرام /مل لبكتريا *B.subtilis* و *Local L.monocytogenes* .

وتبين النتائج ايضا ان اعلى فعالية تثبيطية للمركب OG الحر ضد بكتريا *B.cereus* بقطر تثبيط مقداره 37 ملم عند التركيز 15 ملغم /مل بينما بلغت اوطأ فعالية تثبيطية بقطر تثبيط 20 ملم عند التركيز ذاته ضد بكتيريا *B.subtilis* كما يتضح من النتائج ان معدل التثبيط الادنى قد بلغ 250 مايكرو غرام /مل لكل الانواع البكتيرية المشار اليها في الجدول ( 4 ) .

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي ان هناك فروقات معنوية بين الانواع البكتيرية بمستوى معنوية 0.01 , اذ تفوقت بكتريا *B.cereus* في معدل قطر التثبيط مقارنة بالأنواع البكتيرية الاخرى بفروقات معنوية بينما لم تظهر الانواع البكتيرية الاخرى فروقات معنوية بينها. واظهرت نتائج التحليل الاحصائي ان هناك فروقات معنوية بين التراكيز المستعملة من المركبات مقارنة بمعاملة السيطرة كما بينت النتائج ان اعلى اقطار للتثبيط كانت عند التركيز 15 ملغم /مل من المركبات قيد الدراسة وبفروقات معنوية عن بقية التراكيز . كما اظهرت نتائج التحليل الاحصائي ايضا ان هناك فروقات معنوية بين المركبات النانوية الهجينة من جهة والمركب OG الحر من جهة اخرى . وعند المقارنة بين المركبين النانويين الهجينين تبين تفوق المركب النانوي (ZnO-OG) على المركب (MG/AL-OG-LDH) بفروقات معنوية عند مستوى احتمالية 0.01 .

لم تتوفر دراسات سابقة عن الفعالية المضادة للأحياء المجهرية للمركبات النانوية المحضرة من المركب Octyl gallate بيد انه اشار *et al Gutierrez-Larrainzar* (2012) في دراسة شملت سبعة

مركبات من بينها المركب OG الحر الى ان المركب المذكور ابدى اعلى فعالية ضد كل من بكتيريا *Bacillus cereus* و *Staphylococcus aureus* .

بين *et al* Ryu (2010) ان عملية اقحام المركب cefazolin الى طبقات الزنك/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد يؤدي الى تعزيز الفعالية المضادة للبكتيريا مقارنة بالمركب cefazolin الحر اذ ان الزيادة في الفعالية المضادة للبكتيريا يمكن ان تعزى الى الاستقرار الكيميائي لجزيئات Cefazolin داخل الطبقات اضافة الى خاصية التحرر المسيطر عليه .

قام *et al* Rue (2011) باختبار الفعالية المضادة للبكتيريا لستة انواع من المركبات الفينولية النقية من بينها المركب OG لتحديد التركيز المثبط الادنى (MIC) ضد سلالات عدة من بكتيريا *S.aureus* المعزولة من منتجات الالبان واللحوم ، ووجد ان المركب OG هو الاكثر فعالية اذ بلغ التركيز المثبط الادنى (MIC) له 20.89 مايكروغرام /مل .

يعد المركب أوكتيل كاليت مركبا فينوليا ، وقد اوضح *et al* Moreno (2006) ان فعالية المركبات الفينولية المضادة للأحياء المجهرية لها علاقة بتثبيط (inactivation) الانزيمات الخلوية ، اذ تعتمد تلك الفعالية اما على معدل اختراق تلك المركبات لخلايا الأحياء المجهرية او التغيرات في نفاذية اغشية الأحياء المجهرية. وتعد تلك النفاذية عاملا رئيسا ومهما في الفعالية المضادة للأحياء اذ تسبب تلك المركبات تمزيق الاغشية مما يؤدي الى فقدان التنظيم الخلوي وبالتالي موت الخلايا .

تمتلك المركبات الفينولية والجزئيات الحيوية المضادة للأكسدة فعاليات مضادة للبكتيريا والفطريات والفيروسات ولهذا اصبحت هدفا للعديد من الابحاث لسنوات عديدة (*et al* Hulin, 1998; Suppakul; *et al* Lai and Roy, 2004; Cushnie and Lamb, 2005; Fattouch; 2003; *et al* Szabo, 2010) وبسبب امتلاكها لهذه الفعاليات امكن استخدام المركبات الفينولية كعوامل علاجية كيميائية وكمواد حافظة للأغذية فضلا عن استخدامها كمطهرات (Dorman and Deans, 2000) .

### 3-3-2 الفعالية التثبيطية ضد بعض انواع البكتيريا السالبة لصبغة كرام

تم دراسة الفعالية التثبيطية للمركبين النانويين الهجينين ZnO- و Mg/Al-OG-LDH والمركب OG الحر ضد ثلاثة انواع من البكتيريا السالبة لصبغة كرام ومقارنة النتائج مع المضاد الحيوي Gentamycin ويتضح من النتائج المبينة في الجدول (5) ان اعلى فعالية تثبيطية للمركب النانوي OG-LDH-Al/Mg كانت ضد بكتيريا *P.aeruginosa* بقطر تثبيط

مقداره 12.5 ملم عند التركيز 15 ملغم /مل بينما لم يبدي هذا المركب اي فعالية تجاه بكتيريا *E.coli* 25922 ATCC و *S.typhi* وعند التمعن بالجدول (5) يتضح ان معدل التثبيط الادنى قد بلغ 500 مايكرو غرام /مل لبكتيريا *P.aeruginosa* .

بينما بلغت اعلى فعالية تثبيطية للمركب النانوي (ZnO-OG) ضد بكتيريا *P.aeruginosa* بقطر تثبيط مقداره 14.5 ملم عند التركيز 15 ملغم /مل في حين بلغت اوطأ فعالية تثبيطية بقطر 9.5 ملم عند التركيز ذاته ضد بكتيريا *E.coli* وبلغ معدل التثبيط الادنى 500 مايكروغرام /مل للأنواع البكتيرية الثلاثة قيد الدراسة الجدول (5) .

اما اعلى فعالية تثبيطية للمركب OG الحر فقد كانت ضد بكتيريا *P.aeruginosa* بقطر تثبيط مقداره 19 ملم عند التركيز 15 ملغم /مل بينما بلغت اوطأ فعالية تثبيطية بقطر 11 ملم عند التركيز ذاته ضد بكتيريا *E.coli* وبلغ معدل التثبيط الادنى 500 مايكرو غرام /مل لكل من بكتيريا *E.coli* و *S.typhi* بينما بلغ 250 مايكرو غرام /مل لبكتيريا *P.aeruginosa* .

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروقات معنوية بين الانواع البكتيرية بمستوى معنوية 0.01 ، اذ تفوقت بكتيريا *P.aeruginosa* في معدل قطر التثبيط مقارنة بالأنواع البكتيرية الاخرى. واطهرت نتائج التحليل الاحصائي ان هناك فروقات معنوية بين التراكيز المستعملة من المركبات مقارنة بمعاملة السيطرة كما بينت النتائج ان اعلى اقطار للتثبيط كانت عند التركيز 15 ملغم /مل من المركبات قيد الدراسة وبفروقات معنوية عن بقية التراكيز . كما اظهرت نتائج التحليل الاحصائي ايضا ان هناك فروقات معنوية بين المركبات النانوية الهجينة من جهة والمركب OG الحر من جهة اخرى .

وعند المقارنة بين المركبين النانويين الهجينين تبين تفوق المركب النانوي (ZnO-OG) على المركب (MG/AL-OG-LDH) بفروقات معنوية عند مستوى احتمالية 0.01 .

يتضح من النتائج المبينة في الجدولين (4) و (5) ان البكتيريا السالبة لصبغة كرام اكثر مقاومة للمركبات قيد الدراسة مقارنة مع البكتيريا الموجبة وربما يعزى السبب في ذلك الى التعقيد في جدارها الخلوي (Cell well) الذي يتألف من طبقة رقيقة من الببتيدوكلايكان (peptidoglycan) و الغشاء الخارجي (outer membrane) و Lipopolysaccharide و البروتينات الدهنية (Lipoproteins) (Rao ,2009) .

في دراسة قام بها *et al Gutierrez-Larrainzar* (2012) اتضح ان المركب OG الحر كان فعالا ضد بكتيريا *Pseudomans fluorescens* السالبة لصبغة كرام اذ بلغت قيمة التركيز المثبط الادنى ( $ml/ \mu g 100 >$ ).

قام *et al Kubo* (2002a) بتصنيع سلسلة من مركبات الالكيل كاليت (alkyl gallate) واختبار فعاليتها ضد بكتريا *Salmonella choleraesuis* السالبة لصبغة كرام ووجد ان المركبين Nonyl gallate(C9) و Octyl gallate(C8) هما الاكثر فعالية اذ بلغ التركيز القاتل الادنى 12.5 مايكرو غرام / مل لكل منهما .

### 3-4 الفعل التثبيطي التازري للمركبين النانويين الهجينين (Mg/Al-OG-LDH و ZnO-OG) والمادتين الحافظتين (Sodium benzoate(SB) و Potassium sorbate(PS) ضد بكتريا 10403s type wild *Listeria monocytogenes*

درست الفعالية التازرية للمركبات النانوية الهجينية Mg/Al-OG-LDH و ZnO-OG مع المادتين الحافظتين PS و SB بتركيزين هما (0.5 و 1) ملغم/ مل ضد بكتيريا *type wild L.monocytogenes* 10403s .

يتضح من النتائج في الجدول (6) انعدام الفعالية التثبيطية للمركب Mg/Al-OG-LDH المتأزر مع 0.5 ملغم/مل من المادتين الحافظتين PS و SB (كلا على افراد) بينما يلاحظ وجود

فعالية تثبيطية ضعيفة للمركب ZnO-OG المتأزر مع المادتين الحافظتين المشار اليهما اعلاه وبالتركيز نفسه ، اذ اعطى التركيزان (10 و 15) ملغم/مل من المركب النانوي قيد الدراسة اقطار تثبيط مقدارها (8 و 10) ملم و (6.5 و 9) ملم ، على التوالي عند تأزره مع المادتين SB و PS ، على التوالي ايضا . كما يلاحظ من النتائج تفوق المركب ZnO-OG المتأزر مع SB على المركب نفسه المتأزر مع PS .

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي ان هناك فروقات معنوية بين التراكيز المستعملة بمستوى معنوية 0.01 ، اذ تبين النتائج ان اعلى اقطار تثبيط كانت عند التركيز 15 ملغم/مل المتأزر مع 0.5 ملغم/مل من المادتين الحافظتين PS و SB . كما يتضح من النتائج ايضا ان هناك فروقات معنوية بين المركبين النانويين المتأزرين مع المادة الحافظة PS و SB (كلا على انفراد) ، اذ تفوق المركب النانوي ZnO-OG المتأزر مع المادتين الحافظتين المذكورتين على المركب النانوي Mg/Al-OG-LDH المتأزر مع نفس المادتين وبفروقات معنوية عند مستوى احتمالية 0.01 . كما تشير النتائج ايضا الى تفوق المركب نانوي ZnO-OG المتأزر مع المادة الحافظة SB على نفس المركب النانوي المتأزر مع المادة الحافظة PS وبفروقات معنوية عند مستوى احتمالية 0.01 .

ان ظهور فعالية تثبيطية عند استخدام المركب ZnO-OG وعدم ظهورها عند استخدام المركب Mg/Al-OG-LDH تعزى الى دور اوكسيد الزنك ZnO كمادة مضادة للأحياء المجهرية فقد اشار *et Wang al* (2012) الى ان الألية التثبيطية للمركب ZnO يمكن ان تفسر كما يأتي:

1- انتاج بيروكسيد الهيدروجين من سطوح اوكسيد الزنك والذي له القابلية على اختراق غشاء الخلية البكتيرية مما يؤدي الى تثبيط نمو تلك الخلايا .

2- الالفة العالية بين جزئيات اوكسيد الزنك والخلايا البكتيرية تعد عاملا مهما للفعالية المضادة للبكتيريا .

اما عند استخدام المادتين الحافظتين PS و SB بتركيز 1 ملغم/مل فيلاحظ من الجدول (7) ايضا انعدام الفعالية التثبيطية للمركب Mg/Al-OG-LDH المتأزر مع SB اما المركب Mg/Al-OG-LDH المتأزر مع PS فلم يظهر فعالية تثبيطية سوى عند استخدام المركب اعلاه بتركيز 15 ملغم/مل اذ بلغ قطر التثبيط 7 ملم . واطهر المركب ZnO-OG المتأزر مع PS و SB فعالية تثبيطية عند استخدامه بالتراكيز (5 و 10 و 15) ملغم/مل اذ بلغ اعلى قطر تثبيط 11.5 ملم عند تأزر المركب قيد الدراسة بتركيز 15 ملغم/مل مع المادة الحافظة SB .

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي ان هناك فروقات معنوية بين التراكيز المستعملة بمستوى معنوية 1% ، اذ تبين النتائج ان اعلى اقطار تثبيط كانت عند التركيز 15 ملغم/مل المتأزر مع 1 ملغم/مل من المادة الحافظة PS و SB وبفروقات معنوية عن بقية التراكيز . كما اظهرت النتائج ايضا ان هناك فروقات معنوية بين المركبين النانويين المتأزرين مع المادة الحافظة PS و SB (كلا على انفراد) ، اذ تفوق المركب النانوي ZnO-OG المتأزر مع المادتين الحافظتين المذكورتين على المركب النانوي Mg/Al-OG-LDH المتأزر مع المادتين نفسها وبفروقات معنوية عند مستوى احتمالية 0.01 . كما تبين النتائج ايضا تفوق المركب نانوي ZnO-OG المتأزر مع المادة الحافظة SB على نفس المركب النانوي المتأزر مع المادة الحافظة PS وبفروقات معنوية عند مستوى احتمالية 0.01 .

يتضح من نتائج الفعل التارزي للمركبات النانوية قيد الدراسة مع المادتين الحافظتين PS و SB انخفاض الفعالية التثبيطية ضد بكتيريا *L.monocytogenes* مقارنة باستخدام المركبات النانوية بمفردها ( الجدول 4 و5) مما يشير الى حدوث فعل تضادي وليس تآزري بين المركبات النانوية قيد الدراسة والمادتين الحافظتين PS و SB وهناك عدة نظريات تفسر حدوث الفعل التضادي هي :

1- الجمع بين المضادات الميكروبية ذات التأثير المثبط bacteriostatic والقاتل bactericidal .

2- المضادات الميكروبية التي لها نفس موقع العمل.

3- تداخل المضادات الميكروبية مع بعضها البعض. (Davidson and Parish ,1989) .

### 5-3 الفعالية التثبيطية للمركبات النانوية الهجينة ضد بعض الانواع الفطرية

درست الفعالية التثبيطية للمركبات النانوية المحضرة في هذه الدراسة ضد ثلاثة انواع فطرية اشتملت على *A.flavus* و *A.parasiticus* و *P.expansum* . ويتضح من النتائج المبينة في الجدول (8) تفوق المركب ZnO-OG على كل من المركب النانوي Mg/Al-OG-LDH والمركب OG الحر في تثبيطه للفطرين *A.flavus* و *A.parasiticus* ، اذ بلغت نسبة التثبيط (90.9 و 100) % لكل من الفطرين المذكورين، على التوالي . بينما تفوق المركب OG الحر في تثبيطه للفطر *P.expansum* بنسبة تثبيط مقدارها 100 %.

تتفق نتائج دراستنا الحالية في جزء منها مع ما ورد في دراسة سابقة فقد وجد *et Kaur al* (2012) ان المركب النانوي المتكون من دقائق الفضة النانوية Ag NP وال Chitosan يبدي فعالية مضادة للفطريات اعلى من الفعالية التي تبديها دقائق الفضة النانوية او ال Chitosan (كلا على انفراد) وذلك في دراسة شملت ثلاثة انواع من الفطريات والتي تصيب بذور المحاصيل هي *A.flavus* و *Alternaria alternata* و *Rhizoctonia solani* .

لقد اشار Hsu *et al* (2009) الى ان مركب أوكتيل كالكيت يعد مضادا فطريا لطيف واسع من الفطريات. تبدي مركبات ال gallates فعالية مضادة للفطريات من خلال عملها كمستحلب (Surfactant) (Kubo *et al*, 2002b).

اقترح Kubo *et al* (1995) فرضية لتفسير الفعالية المضادة للفطريات للمركبات الكيميائية ذات راس وذيل (head and tail) اذ تتألف هذه المركبات من جزئين هما الراس المحب للماء (hydrophilic) و الذيل (tail) الذي هو عبارة عن سلسلة طويلة كارهة للماء (hydrophobic)، اذ ان الجزء المحب للماء يستخدم الروابط الهيدروجينية بين الجزئيات للارتباط مع الجزء المحب للماء الموجود في غشاء الكائن المجهرى بينما الجزء الكاره للماء غير القطبي (الذيل) يترتب بمحاذاة الاغشية الدهنية ثنائية الطبقة بواسطة قوى التشتت (dispersion force) ويبعث طبقة الدهن-البروتين المواجهة لبروتينات الغشاء المدمجة (integral protein) مما يؤدي

الى تغير في طبيعة تكوينها وهذا يؤدي بدوره الى اعاقه سيولة غشاء الخلية والقنوات الايونية والبروتينات الناقلة في الغشاء .

الجدول ( 8 ) : الفعالية التثبيطية للمركبين النانويين Mg/Al-OG-LDH و ZnO-OG والمركب OG الحر ضد بعض الانواع الفطرية

| المركبات<br>المدرسة  | النوع<br>الفطري | % نسبة التثبيط                 |                          |                      |
|----------------------|-----------------|--------------------------------|--------------------------|----------------------|
|                      |                 | Mg/Al-OG-LDH<br>(ملغم / مل 20) | ZnO-OG<br>(ملغم / مل 20) | OG<br>(ملغم / مل 20) |
| <i>A.flavus</i>      |                 | 85.4                           | 90.9                     | 83.2                 |
| <i>A.parasiticus</i> |                 | 96.09                          | 100                      | 84.8                 |
| <i>P.expansum</i>    |                 | 90                             | 96.6                     | 100                  |

### 3-6 الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات النانوية الهجينة

#### 3-1-6 الفعالية المضادة للأكسدة بطريقة كسح الجذور الحرة

استخدمت طريقة كسح الجذور الحرة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لثلاث مركبات اشتملت على المركبين النانويين الهجينين (Mg/Al-OG-LDH) و (ZnO-OG) والمركب OG الحر من خلال تحديد تركيز المركب الذي له القابلية على اختزال او تثبيط امتصاص الجذر ABTS الى النصف (IC<sub>50</sub>) والذي عادة ما يعبر عنه بشكل نسبة مئوية % (PI).

يتضح من الشكلين ( 40 و 41) ان للمركبين النانويين الهجينين فعالية مضادة للأكسدة عند التركيز 75 مايكرو غرام / مل نفسه ، وهي اعلى من تركيز المضاد القياسي Trolox القادر على اختزال او تثبيط امتصاص الجذر ABTS الى النصف بتركيز 25 مايكروغرام /مل ( الشكل 39) بينما كانت الفعالية المضادة للأكسدة للمركب OG الحر 25 مايكرو غرام /مل مساوية لتركيز مضاد الاكسدة القياسي Trolox كما هو موضح في الشكل ( 42 ) .

بينت احدى الدراسات التي قام بها Pool *et al*. (2012) ان عملية اقحام جزيئات الفلافونويدين Quercetin و catechin الى الدقائق النانوية لبوليمر (D,L-lactide-co-glycolide, PLGA) تؤدي الى زيادة فعاليتها المضادة للأكسدة من خلال زيادة قابليتها التثبيطية لجذر الاوكسجين (O<sub>2</sub>) مقارنة مع جزيئات الفلافونويد الحرة ويعزى السبب في ذلك الى الحماية التي توفرها الدقائق النانوية لبوليمر (PLGA) من الاوكسجين الجزيئي (molecular oxygen) المتولدة اثناء عملية الحضان ، اذ تتحرر جزيئات الفلافونويد بعد انتهاء الحضان وتقوم بكسح الجذور الحرة في حين ان جزيئات الفلافونويد الحرة تكون غير محمية مما يؤدي الى انخفاض فعاليتها الكاسحة للجذور الحرة .

تعد الفينولات (Phenols) من المواد التي تمتلك فعالية مضادة للأكسدة عالية (Yanishlieva *et al* , 1999) اذ اشار Gutierrez-Larraínzar *et al* , (2012) الى ان حامض الكاليك يمتلك فعالية عالية لكسح الجذور الحرة مقارنة مع مركبات فينولية اخرى مثل Thymol و Carvaerol و Hydroquinone وربما يعزى السبب في ذلك الى عدد مجاميع الهيدروكسيل (hydroxyl groups) المرتبطة بالحلقة الاروماتية ، اضافة الى ان الفينولات الاحادية اقل فعالية من الفينولات المتعددة (Rice-Evans *et al* , 1996) .

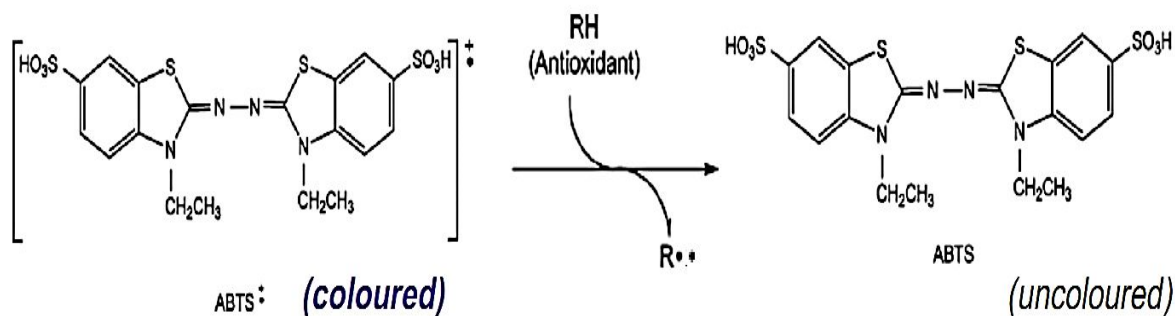
قام Kasture *et al* (2009) بتصنيع عدد من مشتقات حامض الكاليك واختبار فعاليتها المضادة للأكسدة بطريقة كسح الجذور الحرة (DPPH) اشتملت هذه المشتقات على (methyl gallate (MG) و propyl gallate (PG) و butyl gallate (BG) و gallate pentyl (PG) و isopentyl gallate (IPG) و phenyl gallate (PhG) و (TABA)



(MTMB) و trimethoxy gallic acid-3,4,5 (TMBA) و triacetoxy gallic acid-3,4,5  
trimethoxy gallic acid-methyl 3,4,5 وتبين ان الفعالية المضادة للأكسدة لتلك  
المواد تتبع الترتيب التالي GA < MG < PG < PhG < BG < TMBA < TABA < MTMB وهذا  
يشير الى ان الطول الامثل لسلسلة استرات حامض الكالريك لإعطائها اعلى فعالية  
مضادة للأكسدة هو اربع ذرات كاربون في السلسلة الاليفاتية وان وجود مجاميع  
الهيدروكسيل (hydroxyl groups) على الحلقة الاروماتية ضروري جدا لتعزيز خاصية  
كسح الجذور الحرة . وعلى الرغم من ان المركبات GA و PG و BG و PG و PEG و  
PTB لها العدد والتوزيع نفسه من مجاميع الهيدروكسيل الا ان كفاءتها في كسح  
الجذور الحرة متباينة وهذا يشير الى ان التأثير الفراغي يلعب دورا مهما في كسح  
الجذور الحرة .

تستعمل طريقة (ABTS) بشكل واسع في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة  
للعديد من المواد اذ ان الجذر ABTS الذي يمتص عند الطول الموجي 743  
نانوميتر (معطينا لونا اخضر مزرق) يتكون من فقدان الالكترين من ذرة النتروجين  
من ABTS (azino-bis(3-ethylbenzthiazolin-6-sulphonic acid)-2,2) وفي وجود المركبات او  
المستخلصات المضادة للأكسدة التي لها القابلية على وهب ذره هيدروجين فان ذرة النتروجين لـ ABTS  
سوف تقتنص ذرة الهيدروجين مما يؤدي الى ازالة لون المحلول (et al Marc, 2004)  
(decolonization) .

ومن الجدير بالذكر ان توليد الجذر (ABTS radicals) ينتج من تفاعل مسبق بين ABTS و  
بيرسلفات البوتاسيوم ( $K_2S_2O_8$ ) (Pisoschi and Negutescu , 2011) ويمكن توضيح آلية التفاعل  
بين الجذر ABTS والمادة المضادة للأكسدة وفق المعادلة الاتية (Lomillo , 2011) .



يتميز الجذر الكاتيوني (+•ABTS) بتفاعله السريع مع المواد المضادة للأكسدة اذ يكتمل التفاعل عادة في غضون 30 دقيقة ، ويمكن استخدامه في مدى واسع من الارقام الهيدروجينية مما يجعله ذات فائدة في دراسة تأثير الرقم الهيدروجيني في الفعالية المضادة للأكسدة . كما ان الجذر (+•ABTS) له القابلية على الذوبان في المذيبات المائية والعضوية مما يوفر امكانية تحديد الفعالية المضادة للأكسدة في اوساط مختلفة (Shalaby and Shanab,2013) .

### 3-6-2 الفعالية المضادة للأكسدة بطريقة قياس القوة الاختزالية المضادة للأكسدة لأيون الحديدك (FRAP)

تم قياس القوة الاختزالية التي تبديها المركبين النانويين الهجينين (Mg/Al-OG-) و (LDH) و (ZnO-OG) والمركب OG الحر اعتمادا على المنحنى القياسي لكبريتات الحديدوز (FeSO<sub>4</sub>) .

اظهرت النتائج الموضحة في الاشكال ( 43 و 44 و 45 و 46 ) زيادة القوة الاختزالية للمركبات قيد الدراسة بزيادة تراكيزها مما يعني ان هذه المركبات تتمكن من منح ذرة الهيدروجين لكسر سلاسل الجذور الحرة . وعند التمعن في الاشكال اعلاه ايضا يتضح امتلاك المركب OG الحر اعلى قوة اختزالية من بين المركبات المدروسة يليه المركب Mg/Al-OG-LDH في حين ابدى المركب ZnO-OG اقل قوة اختزالية .

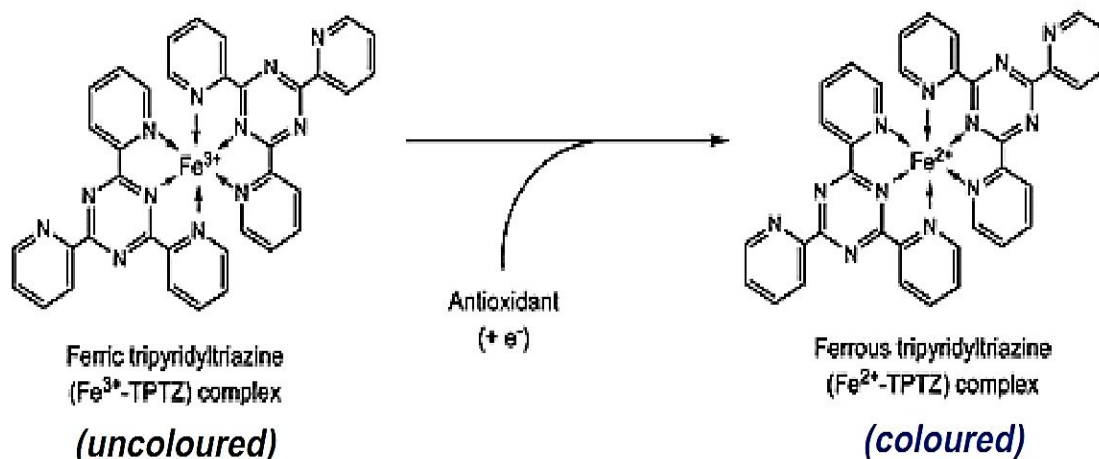
الشكل ( 39 ):الفعالية المضادة للأكسدة للمضاد القياسي Trolox

الشكل ( 40 ):الفعالية المضادة للأكسدة للمركب Mg/Al-OG-LDH بطريقة كسح الجذور الحرة

الشكل ( 41 ):الفعالية المضادة للأكسدة للمركب ZnO-OG بطريقة كسح الجذور الحرة

الشكل ( 42 ):الفعالية المضادة للأكسدة للمركب OG الحر بطريقة كسح الجذور الحرة

يعتمد مبدأ قياس القوة الاختزالية التي تبديها مضادات الاكسدة (FRAP) على قابلية هذه المضادات على اختزال المعقد Fe(III)-TPTZ complex مما يؤدي الى تكوين أيون الحديدوز Ferrous(II) يتبعه تطور لون ازرق حاد يقاس طيفيا عند الطول الموجي 593 نانوميتر كما هو موضح في المعادلة الاتية (Lomillo,2011) .



وبالمقارنة مع الطرائق الأخرى تعد طريقة FRAP من الطرائق البسيطة والسريعة وغير المكلفة ، كما انها لا تتطلب معدات متخصصة ويمكن اجرائها باستخدام الطرائق الألية او اليدوية (Prior *et al* , 2005).

### 6-3-3 الفعالية المضادة للأكسدة بطريقة الفعالية المخيلية لأيون الحديدوز

تم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لأربعة مركبات اشتملت على المركبين النانويين الهجينين (Mg/Al-OG-LDH) و (ZnO-OG) والمركب OG الحر والمضاد القياسي BHA من خلال قابلية تلك المركبات في التنافس مع المركب Ferrozine للارتباط مع ايون الحديدوز والذي يعبر عنه بالنسبة المئوية للتأثير المخيلي (% Chelating effect) .

الشكل (43) : المنحنى القياسي لكبريتات الحديدوز بطريقة FRAP

الشكل (44) : الفعالية المضادة للأكسدة للمركب Mg/Al-OG-LDH بطريقة FRAP

الشكل (45) : الفعالية المضادة للأكسدة للمركب ZnO-OG بطريقة FRAP

الشكل (46) : الفعالية المضادة للأكسدة للمركب OG بطريقة FRAP

يتضح من الاشكال ( 47 و 48 و 50 ) ان النسبة المئوية للتأثير المخلي للمركبين النانويين الهجينين (Mg/Al-OG-LDH) و (ZnO-OG) و المضاد القياسي BHA كانت متقاربة اذ بلغت (25 و 26.15 و 27.85) % ، على التوالي عند اعلى تركيز تم استخدامه من هذه المركبات والبالغ 1 ملغم /مل بينما اظهر المركب OG الحر تأثيرا مخليا اقل مقارنة بالمركبات الثلاثة اعلاه ، اذ بلغت نسبة التأثير 15.9 % عند التركيز ذاته وكما هو موضح في الشكل 49 .

تشير النتائج المذكورة اعلاه الى تفوق المركبين النانويين الهجينين في قابليتهما المضادة للأكسدة على المركب OG الحر مقارنة بالمضاد القياسي BHA .

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج الدراسة التي قام بها *et al Pool* (2012) اذ وجد ان عملية اقحام جزئيات الفلافونويد مثل catechin و Quercetin الى الدقائق النانوية لبوليمر PLGA تزيد من قابليتها المخلبية تجاه ايون الحديدوز مقارنة مع جزئيات الفلافونويد الحرة ويعود السبب في ذلك الى ان الدقائق النانوية لبوليمر PLGA توفر الحماية لجزئيات الفلافونويد مما يجعلها ثابتة ومستقرة اثناء التفاعل مما يزيد من قابليتها المخلبية.

تعد طريقة الفعالية المخلبية لأيون الحديدوز من الطرائق الشائعة التي تستخدم لتحديد فعالية مضادات الاكسدة الثانوية من خلال مراقبة اختزال اللون الارجواني لمحلول التفاعل ، اذ تستند الية الفحص على الانخفاض في امتصاص المعقد Ferrozine –Fe(II) عند الطول الموجي 562 نانوميتر إذ ان الانخفاض الكبير يشير الى القوة المخلبية العالية التي تمتلكها مضادات الاكسدة . ومن خلال تكوين المعقد المستقر Fe(II)-Chelate فان تركيز ايونات الحديدوز سوف يختزل مما يقود الى خفض درجه تفاعل فنتون (Fenton reaction) الذي يسهم في حدوث العديد من الامراض (*et al Othman*, 2006) .

الشكل ( 47 ) : الفعالية المضادة للأكسدة للمركب Mg/Al-OG-LDH بطريقة الفعالية المخلفية لأيون الحديدوز

الشكل ( 48 ) : الفعالية المضادة للأكسدة للمركب ZnO-OG بطريقة الفعالية المخلفية لأيون الحديدوز

الشكل ( 49 ) : الفعالية المضادة للأكسدة للمركب OG الحر بطريقة الفعالية المخلفية لأيون الحديدوز

الشكل ( 50 ) : الفعالية المضادة للأكسدة للمضاد القياسي BHA بطريقة الفعالية المخلفية لأيون الحديدوز

الاستنتاجات و التوصيات

*Conclusions and  
Recommendations*

**الاستنتاجات :**

- 1- امكانية استخدام المادة الحافظة (OG) Octyl gallate في تحضير مركبات نانوية هجينة .
- 2- كفاءة المركب النانوي الهجين ZnO-OG في تثبيط نمو بعض العزلات الفطرية المنتجة للسموم وخاصة *A.flavus* و *A.parasiticus* .
- 3- كفاءة المركبين النانويين الهجينين ZnO-OG و Mg/Al-OG-LDH كمضادات أكسدة .

**التوصيات :**

- 1- استخدام مواد حافظة اخرى في تحضير مركبات نانوية هجينة .
- 2- استخدام مواد عضوية ولا عضوية اخرى كحوامل (Carriers) في تحضير المركبات النانوية الهجينة .
- 3- دراسة الفعالية التثبيطية للمركبات النانوية الهجينة قيد الدراسة ضد انواع اخرى من الاحياء المجهرية المسببة لتلف الاغذية .



المصادر

*References*

## المصادر العربية :

- اعضاء هيئة التدريس بقسم علوم الاغذية (2013) . اساسيات علوم الاغذية . مركز التعليم المفتوح . كلية الزراعة. جامعة بنها .
- الشبكة الدولية للسلطات المعنية بالسلامة الغذائية (2008) . التكنولوجيا النانوية . منظمة العالمية الصحة . [www.who.int/foodsafety](http://www.who.int/foodsafety) .
- العبيدي ، اياد محمد علي فاضل (2012) . التقنية الحياتية النانوية وتطبيقاتها المتقدمة في الطب والهندسة الوراثية وعلم الاحياء الجزيئي . الطبعة الاولى . دار الكتب والوثائق في بغداد .
- المصلح ، رشيد محجوب و حسين ، بهاء الدين (1990) . الاحياء المجهرية في الاغذية . الطبعة الثانية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة بغداد .
- الامام , محمد محمد طاهر (2007) . تصميم وتحليل التجارب . دار المريخ للنشر . المملكة العربية السعودية .

## المصادر الانكليزية :

- Abdulummeen**, H.A.; Risikat, A.N. and Sururah, A.R. (2012). Food: Its preservatives, additives and applications. International Journal of Chemical and Biochemical Sciences,1:36-47.
- Ajayan**, P.M.; Schadler, L.S. and Braun, P.V. (2003). Nanocomposite Science and Technology. WILEY-VCH Verlag GmbH Co. KGaA, Weinheim.
- Alexandre**, M. and Dubois, P. (2000). Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. Materials Science and Engineering, R: Reports, Vol. 28:1-63.
- Annawajad**. (2013). Antioxidantienetc.– FoodLex.  
[http://www.foodlex.net/3300\\_antioxidantien\\_etc-e699.shtml](http://www.foodlex.net/3300_antioxidantien_etc-e699.shtml)
- Arco**, M.D.; Fernandez, A.; Martin, C. and Rives, V. (2010). Solubility and release of fenbufen intercalated in Mg, Al and Mg, Al, Fe layered double hydroxides (LDH): The effect of Eudragit S 100 covering. Journal of Solid State Chemistry, 183:3002–3009.
- Arizaga**, G.G.C.; Gardolinski, J.E.F.d.C.; Schreiner, W.H. and Wypych, F. (2009). Intercalation of an oxalatoxonioate complex into layered double hydroxide and layered zinc hydroxide nitrate. Journal of Colloid and Interface Science, 330:352–358.
- Barbosa-Canovas**, G.V.; Fernandez-Molina, J.J.; Alzamora, S.M.; Tapia, M.S.; Lopez-Malo, A.; and Chanes, J.W. (2003). General considerations for preservation of fruits and vegetables. In: Handling and Preservation of Fruits and Vegetables by Combined Methods for Rural Areas. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Barbuddhe**, S. B.; Chaudhari, S. P. and Malik, V. S. (2002). The occurrence of pathogenic *Listeria monocytogenes* and antibodies against Listeriolysin O in buffaloes J. Vet. B,49:181-184.

- Bashi**, A.M.; Haddawi, S.M. and Mezaal, M.A. (2013a). Layered Double Hydroxide Nanohybrid Intercalation with Folic Acid Used as Delivery System their Controlled Release Properties. Arab J Sci Eng . 38:1663-1680.
- Bashi**, A.M.; Hussein, M.Z.; Zainal, Z. and Tichit, D. (2013b). Synthesis and controlled release properties of 2,4-dichlorophenoxy acetate–zinc layered hydroxide nanohybrid. Journal of Solid State Chemistry,203:19–24.
- Benzin**, I.F.F. and Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “ antioxidant power “ : The FRAP assay. Anal. Biochem, 239:70-76.
- Billes**, F.; Mohammed-Ziegler, I. and Bombicz, P. (2007). Vibrational spectroscopic study on the quantum chemical model and the X-ray structure of gallic acid, solvent effect on the structure and spectra, Vib. Spectrosc,43 : 193–202.
- Biswick**, T.; Park, D. and Choy, J. (2012). Enhancing the UV A1 screening ability of Caffeic acid by encapsulation in layered basic zinc hydroxide matrix. Journal of physics and chemistry of solids ,73:1510-1513.
- Björck**, J. (2010). Evaluation of the Effect of Antimicrobial Substances in Cloudberries (*Rubus chamaemorus* L.) on Food Connected Microorganisms. MS.C thesis. Chalmers University of technology. Goteborg, Sweden.
- Blackburn**, C.D.W. (2006). Food spoilage microorganisms .CRC Press LLC, 6000 Broken Sound Parkway, NW ,Suite 300, Boca Raton, FL33487, USA.
- Budrat**,P.and Shotipruk,A.(2008).Extraction of phenolic compounds from fruits of Bitter Melon(*Momordica charantia*) with subcritical water extraction and antioxidant activities of these extracts.*Chiang Mai J.Sci.* ;35(1):123-130.

- Buzea, C.;** Blandino, I.I.P. and Robbie, K. (2007). Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4):MR17 - MR172.
- Cardoso , L.P.;** Celis , R.; Cornejo , J. and Valim, J.(2006). Layered Double Hydroxides as Supports for the Slow Release of Acid Herbicides, *J. Agric. Food Chem* , 54: P 5968 .
- Carretero, M.I.** (2002). Clay minerals and their beneficial effects upon human health. A review. *Appl. Clay Sci*, 21:155–163.
- Chai, H.;** Xu, X.; Lin, Y.; Evans, D.G. and Li, D. ( 2009). Synthesis and UV absorption properties of 2,3-dihydroxynaphthalene-6-sulfonate anion-intercalated Zn–Al layered double hydroxides. *Polymer Degradation and Stability* ,94:744–749.
- Chaudhry, C.;** Scotter, M.; Blackburn, J.; Ross, B.; Boxall, A.; Castle, L.; Aitken, R. and Watkins, R. (2008). Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food Additives and Contaminants*, 25(3): 241–258.
- Cheng, X.;** Huang, X.; Wang, X. and Sun, D. ( 2010). Influence of calcination on the adsorptive removal of phosphate by Zn–Al layered double hydroxides from excess sludge liquor. *Journal of Hazardous Materials*, 177:516–523.
- Choe, E. and Min, D.B.** (2009). Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Foods. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, Vol. 8.
- Choy, J.;** Choi, S.; Oh, J. and Park, T. (2007). Clay minerals and layered double hydroxides for novel biological applications. *Applied Clay Science*, 36:122 -32.
- Cole, R. J. and Schweikert, M. A.** (2003). *Handbook of Secondary Fungal Metabolites*, Vols 1 and 2, New York, Academic Press. (Cited from Blackburn, 2006).
- Cornejo, J.;** Celis, R.; Avlovic, I.P.; Ulibarri, M.A. and Hermosin, M.C. (2000). Structural changes in phenol-intercalated hydrotalcite caused by heating. *J. Mater. Chem.* 35:P 771.

- Court, A.** (2008). The Relevance for Food Safety of Applications of Nanotechnology in the Food and Feed Industries. Food Safety Authority of Ireland.
- Cushnie, T. and Lamb A.** (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents* ,26(5):343-356.
- Dantigny, P.; Guilmart, A. and Bensoussan, M.** (2005). Basis of predictive mycology. *Int. J. Food Microbiol.*, 100: 187-196.
- Davidson, P.; M. and Branen, A. L.** (1993). *Antimicrobials in Foods*, 2nd ed., rev. and expanded. New York, US: Madison Dekker, Inc. (cited from Björck ,2010).
- Davidson, P.M. and Parish, M.E.** (1989). Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol.* 43, 148–155.
- Davidson, P.M.; Juneja, V.K. and Branen, J.K.** (2001). Antimicrobial Agents .In: *Food Additives*. Edited by Branen, A.L.; Davidson, P.M.; Salminen, S. and Thorngate, J.H. Second Edition. Marcel Dekker, INC. New York. Basel.
- Davidson, P.M.; Sofos, J.N. and Branen, A.L.** (2005). *Antimicrobials in food*. 3 rd ed. CRC PressTaylor and Francis Group, Boca Raton, FL33487-2742.
- Demel, J.; Kubat, P.; Jirka, I.; Kovar, P.; Pospisil, M. and Lang, K.**(2010). Inorganic-organic hybrid materials: layered zinc hydroxide salts with intercalated porphyrin sensitizers. *J Phys Chem C* .114:16321-16328.
- Dorman, H. and Deans S.** (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl, Microbiol.* 88(2):308-316.
- Doyle, M.E.** (2007). *Microbial Food Spoilage - Losses and Control Strategies*. Food Research Institute, University of Wisconsin–Madison.
- Egorove,N.S.**(1985).*Antibiotics ascientific approach*. Mir Publishers, Moscow.

- Espitia**, P.J.P.; Soares, N.F.F.; Coimbra, J.S, R.; Andrade, N.J.; Cruz, R.S. and Medeiros, E.A.A. (2012). Zinc oxide Nanoparticles: synthesis, antimicrobial activity and food packaging applications. *Food Bioprocess Technol*, 5: 1447-1464.
- FAO/WHO** Microbiological Risk Assessment Series. (2002). Risk Assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: Interpretative Summary [http://www.who.int/food\\_safety/micro/assessment/listeria/en](http://www.who.int/food_safety/micro/assessment/listeria/en) Accessed on 24 April 2008. (Cited from Jeyaletchumi *et al.*, 2010).
- Fattouch**, S.; Caboni, P.; Coroneo, V.; Tuberoso, C.; Angioni, A.; Dessi, S.; Marzouki, N. and Cabras, P. (2007). Antimicrobial Activity of Tunisian Quince (*Cydonia oblonga* Miller) Pulp and Peel Polyphenolic Extracts. *J. Agric. Food Chem*, 55(3):963-969.
- FDA/** Center for Food safety and Applied Nutrition. March, (2001). Processing parameters needed to control pathogens in cold – smoked fish, potential hazards in cold –smoked fish: *Listeria monocytogenes*.
- Feng**, Y.; Li, D.; Wang, Y.; Evans, D.G. and Duan, X. (2006). Synthesis and characterization of a UV absorbent-intercalated Zn–Al layered double hydroxide. *Polymer Degradation and Stability*, 91:789–794.
- Filtborg**, O.; Frisvad, J.C. and Thrane, U. (1996). Moulds in food spoilage. *International Journal of Food Microbiology*, 33: 85-102.
- Food Safety and Standards Authority of India (Fssai)**. (2012). Manual of methods of analysis of foods. Food additives. Ministry of health and family welfare government of india. New Delhi.
- Forsythe**, S.J. and Hayes, P.R. (1998). *Food Hygiene, Microbiology and HACCP*. 3rd ed., Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, MD.
- Föster**, S. and Konrad, M. (2003). From self-organising polymers to nano-and biomaterials. *Journal of Materials Chemistry*, 13: 2671–2688.
- Ghotbi**, M.Y. (2009). Synthesis, modification and characterization of layered hydroxides and magnetite and their nanohybrids with-

- gluconate and gallate anions. PH.D thesis. University putra Malaysia.
- Ghotbi**, M.Y. and Hussein, M.Z. (2010). Gallate–Zn–Al-layered double hydroxide as an intercalated compound with new controlled release formulation of anticarcinogenic agent. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 71:1565–1570.
- Goh**, K.H.; Lim, T.T. and Dong, Z. (2008). Application of layered double hydroxides for removal of oxyanions: A review. *Water Reseach*, 42(6-7):1343-1368.
- Gram**, L.; Ravn, L.; Rasch, M.; Bruhn, J.B.; Christensen, A.B. and Givskov, M. (2002) . Food spoilage—interactions between food spoilage bacteria. *Int J Food Microbiol*, 78(1–2):79–97.
- Gustavsson**, J.; Cederberg, C. and Sonesson, U. (2011) .Global food losses and food waste: extent, causes and prevention. The Swedish Institute for Food and Biotechnology SIK, Rome.
- Gutiérrez-Larraínzar**, M.; Rúa, J.; Arriaga, D.D.; Valle, P.D. and García-Armesto, M.R. (2012). In vitro assessment of synthetic phenolic antioxidants for inhibition of foodborne *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Pseudomonas fluorescens* . *Food Control*,30: 393-399.
- Ha**, T.J.; Nihei, K. and Kubo, I. (2004). Lipxygenase Inhibitory Activity of Octyl Gallate. *J. Agric. Food Chem*, 52:3177-3181
- Hamid**, A.A.; Aiyelaagbe, O.O.; Usman, L.A.; Ameen, O.M. and Lawal, A. (2010). Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry* Vol. 4(8), pp. 142-151.
- Hofmann-Antenbrink**, M.; Rechenberg, B.V. and Hofmann, H. (2009). Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications. *Nanostructured Materials for Biomedical Applications*, 2:121-149
- Hsu**, F.; Chen, P.; Chang, H. and Chang, S. (2009). Effects of alkyl chain length of gallates on their antifungal property and potency as an



- environmentally benign preservative against wood-decay fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation* ,63 :543–547.
- Huang**, Y.; Wilson, M.; Chapman, B. and Hocking, A.D. (2010). Evaluation of the efficacy of four weak acids as antifungal preservatives in low-acid intermediate moisture model food systems. *Food Microbiology* ,27 : 33–36.
- Hulin**, V.; Mathot, A.; Mafart, P. and Dufosse, L. (1998). Antimicrobial properties of essential oils and flavour compounds. *Sci. Aliments* ,18(6):563-582.
- Hussein**, M.Z.; Al Ali, S.A.; Zainal, Z. and Hakim, M.N. (2011). Development of antiproliferative nanohybrid compound with controlled release property using ellagic acid as the active agent. *International Journal of Nanomedicine*, 6:1373-1383.
- Hussein**, M.Z.; Hashim, N.; Yahaya, A.H. and Zainal, Z. (2010). Synthesis and characterization of [4-(2,4-dichlorophenoxybutyrate)-zinc layered hydroxide] nanohybrid. *Solid State Sciences*. 12 : 770–775.
- James**, D. C. S. (2004). *Nutrition and Well-Being A to Z. Volume 1A-H*. Thomson Gale, a part of the Thomson Corporation. Printed in the United States of America.
- Jay**, J. M., Loessner, M. J. and Golden, D. A. Q. (20 05). *Modern food microbiology (7th ed.)*. New York: Springer Science
- Jeyaletchumi**, P.; Tunung, R.; Margaret, S.P.; Son, R.; Farinazleen, M.G. and Cheah, Y.K. (2010). Review Article Detection of *Listeria monocytogenes* in foods. *International Food Research Journal*. 17: 1-11.
- Joseph**, T. and Morrison, M. (2006). *Nanotechnology in Agriculture and Food*. Nanoforum report.org, European nanotechnology gateway.
- Kameda**, T.; Takeuchi, H. and Yoshioka, T. (2009). Hybrid inorganic/organic composites of Mg-Al layered double hydroxides

intercalated with citrate, malate, and tartrate prepared by co-precipitation. *Materials Research Bulletin*, 44:840-845.

**Kasture**, V.S.; Katti, S.A.; Mahajan, D.; Wagh, R.; Mohan, M. and Kasture, S.B. (2009). Antioxidant and Antiparkinson Activity of Gallic Acid Derivatives. *Pharmacologyonline*, 1:385-395.

**Katalinic**, V.; Modun, D.; Music, I. and Boban, M. (2005). Gender differences in antioxidant capacity of rat tissue determined by 2,2 –azinobis (3- ethyibenzoline 6-sulfonate; ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay. *Comp.Biochem.Physiol*,140:47-52.

**Kaur**, P.; Thakur, R. and Choudhary, A. (2012). An In Vitro Study of The Antifungal Activity of Silver/Chitosan Nanoformulations Against Important Seed Borne Pathogens. *IJSTR*,1(6):83-86.

**Kemin Food Technologies**, Inc. (2010). Petition for rulemaking to allow liquid sodium benzoate , sodium propionate, benzoic acid, propionic acid as antimicrobial agents in meat and poultry products. FSIS Docket Clerk U.S. Department of Agriculture Food safety and Inspection service Room 102, Cotton Annex Building 300 12th street, S.W. Washington, and D.C.20250-3700.

**Khin**, M.M.; Sreekumaran, N. A. and Jagadeesh, B.V. (2012) A review on nanomaterials for environmental remediation. *Energy and Environmental Science*, 5: 8075-8109

**Kiš**, K.K.; Ranogajec, G.J.; Marinkovič-Nedučin, R.P.; Dimič, E.B. and Vulič, T.J. (2002). Soybean oil bleaching by al-pillared montmorillonite. *APTEFF*, 33: 1-174.

**Klabunda**, K.J. (2001). *Nanoscale materials in chemistry*. John Wiley and Sons, Inc. ISBNs: 0-471-38395-3 (Hardback); 0-471-22062-0 (Electronic).

**Klemkaite**, K.; Prosycevas, I.; Taraskevicius, R.; Khinsky, A. and Kareiva, A. (2011). Synthesis and characterization of layered double hydroxides with different cations (Mg, Co, Ni, Al),

- decomposition and reformation of mixed metal oxides to layered structures. *Cent. Eur. J. Chem*, 9(2) : 275- 282.
- Kovanda**, F.; Maryskova, Z. and Kovar, P. (2011). Intercalation of paracetamol into the hydrotalcite-like host. *Journal of solid state chemistry*, 184: 3329-3335.
- Kovar**, P.; Pospisil, M.; Nocchetti, M.; Capkova, P.; Melanova, K. and Mol, J. (2007). *Model*, 937. (Cited from Wang and Zhang, 2012)
- Kubo**, I.; Fujita, K. and Nihei, K. (2002a). Anti-*Salmonella* activity of alkyl gallates. *J. Agric. Food Chem.* 50:6692-6696.
- Kubo**, I.; Masuoka, N.; Ha, T.J.; Shimizu, K. and Nihei, K. (2010). Multifunctional Antioxidant Activities of Alkyl Gallates. *The Open Bioactive Compounds Journal*, 3:1-11.
- Kubo**, I.; Muroi, H. and Kubo, A. (1995). Structural Functional of antimicrobial long-chain alcohols and phenols. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* .3:873-880.
- Kubo**, I.; Xinao, P.; Nihei, K.; Fujita, K.; Yamagiwa, Y. and Kamikawa, T. (2002b). Molecular Design of Antifungal Agents. *J. Agric. Food Chem*, 50:3992-3998.
- Lai**, P. and Roy J. (2004). Antimicrobial and chemopreventive properties of herbs and spices. *Curr. Med. Chem*, 11(11):1451-1460.
- Lampel**, K.A.; Al-Khaldi, S. and Cahill, S.M. (2012). *Bad Bug Book, Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins*. second edition.
- Latip**, A.F.A.; Hussein, M.Z.; Stanslas, J.; Wong, C.C. and Adenan, R. (2013). Release behavior and toxicity profiles towards A549 cell lines of ciprofloxacin from its layered zinc hydroxide intercalation compound. *Chemistry Central Journal*, 7:119.
- Leal**, P.C.; Mascarello, A.; Derita, M.; Zuljan, F.; Nunes, R.J.; Zacchino, S. and Yunes, R.A. (2009) Relation between lipophilicity of alkyl gallates and antifungal activity against yeasts and filamentous fungi. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 19:1793-1796.

- Lim, Y.Y.; Lim, T.T. and Tee, J.J. (2007).** Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chemistry*. 103 : 1003- 1008
- Liu, Z.; Ma, R.; Osada, M.; Iyi, N.; Ebina, Y.; Takada, K. and Sasaki, T. (2006).** Synthesis, Anion Exchange, and Delamination of Co-Al Layered Double Hydroxide: Assembly of the Exfoliated Nanosheet/Polyanion Composite Films and Magneto-Optical Studies. *J. AM. CHEM. SOC*, 128:4872-4880.
- Lomillo, J.G. (2011).** Antioxidant Activity in Decaffeinated Beverages: Instant Coffee and Black Tea. Master en Seguridad y Biotecnología Alimentarias Universidad de Burgos University of Leeds.
- Low, J.C. and Donachi, W. (1997).** A review of *Listeria monocytogenes* and Listeriosis. *The veterinary Journal*, 153(1):9-29.
- Mandal, S.; Yadav, S.; Yadav, S. and Nema, R.K. (2009).** Antioxidants: A Review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 1(1):102- 104.
- Marc, F.; Davin, A.; Deglène-Benbrahim, L.; Ferrand, C. and Baccaunaud M. (2004)** Studies of several analytical methods for antioxidant potential evaluation in food. *Med Sci*. 20: 458-463.
- Masia, L.S. (2008).** Nanocomposite Review.  
([http://www.strategyr.com/Nanocomposites\\_Market\\_Report.asp](http://www.strategyr.com/Nanocomposites_Market_Report.asp)).
- McLauchlin, J.; Green wood, M.H. and Pini, P.N. (1990).** The occurrence of *Listeria monocytogenes* in cheese from a manufacturer associated with a case of listeriosis *Int. J. Food Microbiol.* 10: 255-262.
- Merhari, L. (2008).** Hybrid Nanocomposites for Nanotechnology: Electronic, Optical, Magnetic and Biomedical Applications. Springer Science +Business Media, LLC.
- Modi, H.A. (2009).** Microbial Spoilage of Foods. Aavishkar Publishers, Distributors Jaipur 302 003 (Raj) India.

- Mohammed-Ziegler**, I. and Billes, F. (2002). Vibrational spectroscopic calculations on pyrogallol and gallic acid .  
J.Mol.Struct.Theochem,618:259-265.
- Moreno**, S.; Scheyer, T.; Romano, C.and Vojnov, A. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. Free Radic. Res, 40(2):223-231.
- Mozafari**, M.R.; Johnson, C.; Hatziantoniou, S. and Demetzos, C. (2008). Nanoliposomes and Their Applications in Food Nanotechnology. Journal of Liposome Research, 18:309–327.
- Murphy**, S.C. (2010). Basic Dairy Bacteriology. Dairy Foods Science Notes. Department of Food Science, Cornell University.
- Nielsen**, P.V. and Rios, R. (2000). Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. International Journal of Food Microbiology.60:219–229.
- Odumeru**, J.A.; Hedge, V. and Leon-velarde, C.G. (2009). Evaluation of New BBL™ CHROMagar™ Listeria for Isolation of Listeria monocytogenes in Foods. International Association for Food Protection (IAFP) Meeting, Baltimore, MD.
- Othman**, S.F.C.; Idid, S.Z.; Koya, M.S.; Rehan, A.M. and Kamarudin, K.R. (2011). Antioxidant Study of Garlic and Red Onion: A Comparative Study. Pertanika J. Trop. Agric. Sci, 34 (2): 253 - 261
- Pine**, X.; Medina-Ramirez, R.; Mernaughc, R. and Liu, J. (2010). Nanocharacterization and bactericidal performance of silver modified titania photocatalyst , Colloids and surfaces B. Biointerfaces , 77:82-89.
- Parida**, K.M.; Sahoo, M. and Singha, S. (2010). Synthesis and characterization of a Fe(III)-Schiff base complex in a Zn–Al LDH host for cyclohexane oxidation. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical 329:7–12.

- Pawar**, H.A.; Shenoy, A.V.; Narawade, P.D.; Soni, P.Y. and Shanbhag, P.P. (2011). Preservatives from Nature: A Review. In: J. Pharm. Phytopharmacol, 1 (2):78-88.
- Pisoschi**, A.M. and Negulescu, G.P. (2011). Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. Biochem and Anal Biochem, 1:1-10.
- Pokorny**, J. and Korczak, J. (2001). Preparation of natural antioxidant In: Pokorny, J. Yanishlieva, N., Gordon, M, editors. Antioxidants in food: Practical application. Cambridge England: Wood head publishing Limited, P41-311.
- Pokorny**, J.; Yanishlieva, N. and Gordon, M. (2001). Antioxidants in food. CRC Press LLC, 2000 Corporate Blvd, NW Boca Raton FL 33431. USA.
- Pool**, H.; Quintanar, D.; Figueroa, J.D.; Mano, C.M.; Etelvino, J.; Bechara, H.; Godinez, L.A. and Mendoza, S.(2012). Antioxidant Effects of Quercetin and Catechin Encapsulated into PLGA Nanoparticles. Journal of Nanomaterials ,p 1-12.
- Prior**, R.L.; Wu, X. and Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. J. Agric. Food Chem, 53:4290-4302.
- Puel**, O.; Galtier, P. and Oswald, I.P. (2010). Biosynthesis and Toxicological Effects of Patulin. Toxins, 2:613-631.
- Race**, S. (2009). The truth about BHA, BHT, TBHQ and other antioxidants used as food additives. Tigmor books, ISBN:9781907119002.
- Rajamanickam**, U.; Mylsamy, P.; Viswanathan, S. and Muthusamy, P. (2012). Biosynthesis of Zinc Nanoparticles Using Actinomycetes for Antibacterial Food Packaging International Conference on Nutrition and Food Sciences IPCBEE vol. 39.
- Ramsden**, J. (2009). Essentials of nanotechnology. Jeremy Ramsden and Ventus Publishing Aps. ISBN 978-87-7681-418-2.

- Ramsden, J.J.** (2005). What is the nanotechnology?. Nanotechnology perceptions .1: 3-17.
- Rao, S.** (2009). Anatomy of Bacterial Cell. www.microrao.com.
- Ray, P. and Liewen, M.B.** (2004). Antifungal food additives. In: Arora, D.K. (Ed.), Fungal Biotechnology in Agricultural, Food, and Environmental Applications. Marcel Dekker, New York, pp. 291–297. (Cited from Huang *et al.*, 2010).
- Ren, G.; Hu, D.; Cheng, E.W.C.; Vargas-Reus, M.A.; Reip, P. and Allaker, R.P.**(2009) .Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. Int J Antimicrob Agents, 33(6): 587–590.
- Rice-Evans, C. A.; Miller, N. J. and Paganga, G.** (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biology and Medicine. 20:933-956.
- Rue, J.; Fernandez-Alvarez, L.; Castro, C.; Delvalle, P.; Arriaga, D. and Garcia-Aemesto, M.** (2011). Antibacterial activity against foodborne Staphylococcus aureus and antioxidant capacity of various pure phenolic compounds. [Foodborne Pathog Dis.](#) 8(1):149-57.
- Ryu, S.; Jung, H.; Oh, J.; Lee, J. and Choy, J.** (2010). Layered double hydroxide as novel antibacterial drug delivery system. Journal of Physics and Chemistry of Solids. 71 :685–688.
- Sahoo, S.K.; Ph, D.; Parveen, S. and Panda, J.J.** (2007). The present and future of nanotechnology in human health care. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine 3 : 20– 31.
- Sallen, B.A.; Rajoharison, S.; Desverenne, S.; Quinn, F. and Mabilat, C.** (1996). Comparative analysis of 16S and 23S rRNA sequences of Listeria species. Int. J. Syst. Bacteriol. 46: 669-674.
- Sanguansri, P. and Augustin, M. A.** (2006). Nanoscale materials development – a food industry perspective. Trends in Food Science and Technology, 17 (10):547–556.

- Sbalzarini, G.;** Viale, P.L.; Ongis, G.A.; Signaroldi, A.; Casse, C.; Vimercati, M.E.; Belloni, L.; Vanelli, S.; Parlato, A. and Montani, A. (1995). *Listeria monocytogenes* meningitis. Description of a clinically significant case. *Minerva* ,86(11):499-502.
- Seil, J.T. and Webster, T.J.** (2011). Reduced *Staphylococcus aureus* proliferation and biofilm formation on zinc oxide nanoparticle PVC composite surfaces. *Acta Biomaterialia*, 7:2579–2584.
- Shafiei, S.;** Birgani, Z.T.; Darvish, A.; Azimi, M.S. and Solati-Hashjin, M. (2008). Layered Double Hydroxides for Diagnostic Applications. International Congress of Evaluation of Medical Diagnosis Modern Technologies.
- Shah, M.A. and Al-Shahry, A.** (2009). Zinc Oxide Nanoparticles Prepared by the Reaction of Zinc Metal with Ethanol. *JKAU: Sci.*, Vol. 21 No. 1, pp: 61-67.
- Shailaja, D.;** Shailaja, M.; Roselin, P.; Manasa, J. and Shalini, N. (2013). Comparative studies of synthesis, stability and antibacterial activity of zinc oxide nano-particles. *Int. J. Bioassays*, 2 (06): 914-917.
- Shalaby, E.A. and Shanab. S.M.M.** (2013). Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 7(10):528-539.
- Shee, A.K.;** Raja, R.B.; Sethi, D.; Kunhambu, A. and Arunachalam, K.D. (2010). Studies on the antibacterial activity potential of commonly used food Preservatives. *International Journal of Engineering Science and Technology*. 2(3):264-269.
- Singh, A.;** Sharma, P.A. and Garg, G. (2010). Natural products as preservatives. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1 (4):601-612.
- Sofos, J. N.** (1989). *Sorbate Food Preservatives*. CRC Press, Boca Raton, FL. (cited from Davidson *et al.*, 2005).



- Sofos, J. N.** (1992). Sorbic acid, mode of action. In Encyclopedia of Microbiology, Volume 4, Lederberg, J., Ed., Academic Press, Inc., San Diego, CA, pp. 43–52. (Cited from Davidson *et al.*, 2005).
- Sorrentino, A.; Gorrasi, G. and Vittoria, V.** (2007). Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. Trends in Food Science and Technology, Vol. 18(2):84-95.
- Steels, H.; James, S. A.; Roberts, I. N.; and Stratford, M.** (2000). Sorbic acid resistance: the inoculum effect. Yeast.16:1173–1183.
- Sultan, Y.Y.A.** (2010). Biodiversity of mycotoxigenic aspergillus species in Egyptian peanuts and strategies for minimizing Aflatoxin contamination. Ph.D. Thesis. Cranfield health Applied mycology group, Cranfield University.
- Sunitha, J. and Sagar, R.P.** (2012). B. Tech (Food Technology). Acharya N. G. Ranga Agricultural University. Course No.: FDST 213 Food Additives.
- Suppakul, P.; Miltz, J.; Sonneveld, K. and Bigger, S.** (2003). Antimicrobial properties of basil and its possible application in food packaging. J. Agric. Food Chem,51(11):3197-3207.
- Surekha, M. and Reddy, S. M.** (2000). Preservatives. Encyclopedia of food microbiology,pp. 1710–1717.
- Szabo, M.; Radu, D.; Gavrilas, S.; Chambre, D. and Iditoiu, C.** (2010). Antioxidant and Antimicrobial Properties of Selected Spice Extracts. Int. J. Food Prop. 13(3):535-545.
- Tančinová, D.; Barboráková, Z.; Kačínová, J.; Mašková, Z. and Volčková, M.** (2013). The occurrence of micromycetes in apples and their potential ability to produce mycotoxins. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 2(1):1800-1807.
- Thakur, B.R.; Singh, K.; and Arya, S.S.** (1994). Chemistry of sorbates—abasic perspective. Food Reviews International, 10:71–91.

- The Royal Society and the Royal Academy of engineering.** (2004). Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. Science Policy Section. Latimer Trend Ltd, Plymouth, UK.
- Theron, M.M. and Lues, J.F.R.** (2011). Organic acids and food preservation. Taylor and Francis Group, LLC. London. New York.
- Tong, D.S.; Xia, H.S. and Zhou, C.H.** (2009). Designed preparation and catalysis of smectite clay-based catalytic materials. *Chin. J. Catal*, 30 (11): 1170–1187.
- Tuppo, E.E. and Forman, L.J.** (2001). Free radical oxidative damage and Alzheimer's disease. *JAOA*, Vol 101, No 12.
- Tzatzarakis, M.; Tsatsakis, A.M.; Liakou, A. and Vakalounakis, D.J.** (2000). Effect of common food preservatives on mycelial growth and spore germination of *Fusarium oxysporum*. *J. Environ. Sci. Health, B35* (4): 527-537.
- U.S. FDA, Center for Food Safety and Applied Nutrition.** (2005). FDA List of Food Additives that are Generally Recognized as Safe (GRAS). Rockville, MD.
- Venkatesh, R. and Sood, D.** (2011). A Review of the Physiological Implications of Antioxidants in Food. Bachelor sciences thesis. The Faculty of the Worcester Polytechnic.
- Wanasundara, P. K. J. P. D. and Shahidi, F.** (2001). Antioxidants: Science, Technology, and Applications. In: Bailey's Industrial Oil and Fat Products edited by Shahidi, F. Sixth Edition, Six Volume. John Wiley and Sons, Inc.
- Wang, C.; Liu, L.; Zhang, A.; Xie, P.; Lu, J. and Zou, X.** (2012). Antibacterial effects of zinc oxide nanoparticles on *Escherichia coli* K88. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 11(44):10248-10254.
- Wang, S.L.; Lin, T.Y.; Yen, Y.H.; Liao, H.F. and Chen, Y.J.** (2006). Bioconversion of shellfish chitin wastes for the production of

- Bacillus subtilis W-118 chitinase . Carbohydrate Research, 341: 2507-2515.
- Wang, Y.** and Zhang, D. (2012) . Synthesis, characterization, and controlled release antibacterial behavior of antibiotic intercalated Mg –Al layered double hydroxides. Materials Research Bulletin, 47 : 3185–3194.
- Wasowicz, E.;** Gramza, A.; Hês, M.; Jeleñ, H.H.; Korczak. J.; Matecka. M.; Mildner-Szkudlarz, S. S.; Rudzińska, M.; Samotyja, U. and Zawirska-Wojtasiak, R. (2004). Oxidation of lipids in food. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. Vol. 13/54, SI 1, pp. 87–100.
- Yang, J.H.;** Han, Y.S.; Park, M.; Park, T.; Hwang, S.J.; Choy, J.H. (2007). New inorganic-based drug delivery system of indole-3-acetic acid-layered metal hydroxide nanohybrids with controlled release rate. Chem. Mater,19: 2679-2685.
- Yanishlieva, N.;** Marinova, E. M.; Gordon, M. H. and Raneva, V. G. (1999). Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. Food Chemistry. 64:59-66.
- Yigit, A.** and Korukluoglu, M. (2007). The effect of potassium sorbate, NaCl and pH on the growth of food spoilage fungi. Annals of Microbiology, 57 (2): 209-215.
- Yousef, J.M.** and Danial, E.N. (2012). In Vitro Antibacterial Activity and Minimum Inhibitory Concentration of Zinc Oxide and Nano-particle Zinc oxide Against Pathogenic Strains. Journal of Health Sciences, 2(4): 38-42.
- Zhang, G.** and Ma, Y. (2013). Spectroscopic studies on the interaction of sodium benzoate, a food preservative, with calf thymus DNA. Food Chemistry,141:41-47.
- Zhang, M.** (2003). Environmental technologies at the nanoscale. Environmental science and Technology. American Chemical Society.

- Zhou**, C.H.; Tong, D.S.; Bao, M.H.; Du, Z.X.; Ge, Z.H. and Li, X.N. (2006). Generation and characterization of catalytic nanocomposite materials of highly isolated iron nanoparticles dispersed in clays. *Top. Catal*, 39 (3–4): 213–219.

---

## Summary

This study including preparation of two nanohybrid compound from the food preservative octyl gallate (OG) , structure characterization of the synthesized compounds and studying some of their biological activities. The results revealed the following:

- 1- The two nanohybrid compounds Mg/Al-Octyl gallate as layered double hydroxide and Zinc oxide-Octyl gallate as layer hydroxide were prepared using ion exchange between octyl gallate with Mg/Al and ZnO.
- 2- The mentioned prepared compounds were identified by spectroscopic techniques . X-ray diffraction showed the appearance of new diffraction planes for the above compounds in compare with original spectrum of Mg/Al and ZnO.

FT-IR spectroscopy showed also the appearance of octyl gallate groups in the spectrum of the nanohybrid compounds.

- 3- Scanning Electron Microscope confirmed the presence of some changes in the nanohybrid compounds surface in compare with the surface of the layers double hydroxides and zinc oxide.

Atomic Force Microscope results confirmed that prepared compounds within nanodimensions which supported the XRD results.

- 4- Octyl gallate (OG) release from the mentioned compounds from inter layers were studied into three media. It was noticed that OG release occurs rapidly in the beginning of the release and then slowed gradually with time progress. Results showed release increasing with the increasing of the medium concentration and in the acidic medium in compare with the basic medium.

5- The results of the antimicrobial activity of the two nanohybrid compounds and the free octyl gallate against some bacterial and fungal species were as follows :

A-The nanohybrid compounds and free OG have an inhibition activity against some gram positive and gram negative bacterial species .The nanohybrid ZnO-OG gave highest inhibition activity against *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* while the food preservative OG gave highest inhibition against *Bacillus cereus* and *P. aeruginosa* .

B- Results confirmed the efficiency of the ZnO-OG nanohybrid in inhibiting *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* in compare with Mg/Al-OG-LDH and free OG, while the free OG was efficient in inhibiting *Penicillium expansum* .

6- The study of antioxidant activity confirmed the following:

A- Using free radical scavenging method, the IC<sub>50</sub>(Half maximal inhibitory concentration) value against ABTS free radical were at 75 µg /ml for Mg/Al-OG-LDH and ZnO-OG while it was at 25 µg /ml for free OG .

B- Measurement of ferric ion reducing power revealed that free OG had the highest reducing power followed by Mg/Al-OG-LDH while the ZnO-OG gave the lowest reducing power.

C- Ferrous ion chelating activity revealed that the percent of chelating activity were similar for Mg/Al-OG-LDH , ZnO-OG and the standard antioxidant BHA which were (25, 26.15 and 27.85) % for the three compounds, respectively , while the free OG gave lower chelating activity which was 15.9 % .

**Ministry of Higher Education  
& Scientific Research  
University of Kerbala/College of Science  
Department of Biology**



**Nanohybridization of a Nanocomposite from Food  
Preservative Octyl gallate and Studying some of their  
Biological activities**

**A thesis**

**Submitted to the council of the**

**College of Science – University of Kerbala**

**In partial of fulfillment of requirements for degree of Master of Science in Biology**

**By**

**Salah Hashim Shaheed Jassem Al-Fatlawi**

**B.SC. Kerbala University 2011**

**Supervised by**

**Asst. Prof.**

**Dr. Ali Abdul Kadhim Al-Ghanimi**

**2014**

**Prof.**

**Dr. Abbas Matrood Bashi**

**1435**