

## Preparation of nanohybrid compound from the food preservative octyl gallate and studying some of its biological activities

\*<sup>1</sup>Salah Hashim Shaheed, <sup>1</sup>Ali Abdul Kadhim Al-Ghanimi, <sup>2</sup>Abbas Matrood Bashi

<sup>1</sup>Karbala University /College of science /Department of biology,

<sup>2</sup>Karbala University /College of Applied Medical Sciences.

**Key words:** Nanohybrid, Layered double hydroxide, Octyl gallate, Biological activities.

(Received :March 2013, Accept : Jun 2014)

### **Abstract:**

A nanohybrid compound Mg/Al-OG-LDH was prepared using ion exchange method between the food preservative octyl gallate (OG) and Mg/Al layered double hydroxide. The new nanocompound was identified. FT-IR spectroscopy revealed the appearance of new groups in the Mg/Al-OG-LDH spectrum which indicates the formation of new compound. The X-Ray Diffraction (XRD) spectrum revealed the appearance of new diffraction planes in the nanohybrid compound spectrum in compare with the spectrum of layered double hydroxide. Scanning Electron Microscope (SEM) showed the presence of some change in the Mg/Al-OG-LDH surface. The two and three dimensional image of the above compound in atomic force microscope confirmed the formation of new compound with nanodimensions. The antimicrobial activity of the nanohybrid compound was studied against five species of gram positive bacteria. Results showed that highest inhibition was obtained against *Staphylococcus aureus* with an inhibition zone of 14 mm at 15 mg/ml concentration. The nanocompound was more efficient than the free compound OG in inhibiting the two toxin producers fungi *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. Results of antioxidants activity showed the ability of the Mg/Al-OG-LDH in scavenging the free radical ATBS where the inhibition percent was at 75 µg/ml.

### تحضير مركب نانوي هجين من المادة الحافظة Octyl gallate ودراسة بعض فعالياته البيولوجية

\* صلاح هاشم شهيد<sup>1</sup>, علي عبد الكاظم الغانمي<sup>1</sup>, عباس مطرود باشي<sup>2</sup>

<sup>1</sup> جامعة كربلاء / كلية العلوم / قسم علوم الحياة , <sup>2</sup> جامعة كربلاء / كلية العلوم الطبية التطبيقية

الكلمات المفتاحية : المركب النانوي الهجين , الطبقات ثنائية الهيدروكسيد , اوكتايل كاليث , الفعاليات البيولوجية.

### الخلاصة :

تم تحضير مركب نانوي هجين Mg/Al-OG-LDH باستخدام طريقة التبادل الايوني بين المادة الحافظة Octyl gallate (OG) وطبقات المغنيسيوم / الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد Mg/Al-NO<sub>3</sub>-LDH . تم تشخيص المركب النانوي الجديد ، اذ كشفت مطيافية الاشعة تحت الحمراء عن ظهور مجاميع جديدة في طيف المركب Mg/Al-OG-LDH مما يشير الى تكون مركب جديد كما اوضحت تقنية حيود الاشعة السينية (X-Ray Diffraction, XRD) ظهور مستويات حيود جديدة في طيف المركب Mg/Al-OG-LDH مقارنة بطيف حيود طبقات ثنائية الهيدروكسيد . واثبت فحص المجهر الالكتروني الماسح (Scanning Electron Microscope ,SEM) عن ظهور تغيرات في سطح المركب النانوي كما اثبتت صورتي مجهر القوة الذرية (Atomic Force Microscope ,AFM) الثنائية والثلاثية الابعاد ، الحصول على مركب ضمن الابعاد والمقاسات النانوية . درست الفعالية المضادة للحياة المجهرية للمركب النانوي قيد الدراسة ضد خمسة انواع من البكتيريا الموجبة لصبغة غرام واوضحت النتائج ان اعلى فعالية تثبيطية كانت ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus* بقطر تثبيط مقداره 14 ملم عند التركيز 15 ملغم/ مل . كما تفوق المركب النانوي على المركب OG الحر في تثبيطه للفطرين المنتجين للسموم *Aspergillus flavus* و *A.parasiticus* . واوضحت نتائج الفعالية المضادة للاكسدة ان المركب النانوي Mg/Al-OG-LDH يمتلك القابلية على كسح الجذر الحر ABTS اذ كانت النسبة المئوية للتثبيط عند التركيز 75 مايكروغرام / مل .

**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 [1]. 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. وتشتمل 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) [2, 3].

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 . تشتمل تلك الخصائص على زيادة المساحة السطحية للمواد النانوية (Nanosize materials) بتناقص حجمها وصولا للمقياس النانوي (Nanoscale) فضلا عن امتلاك المواد النانوية لفعالية بايولوجية اقوى مقارنة بنفس المواد بمقياس اكبر (ماكروبي , macroscale او مايكروبي , microscale) [4].

تهدف هذه الدراسة الى الحصول على مركب نانوي هجين من المادة الحافظة (OG) Octyl gallate باستخدام طبقات ثنائية الهيدروكسيد كحامل ومن ثم تشخيص المركب النانوي باستخدام الطرائق الطيفية والفحوصات المجهرية فضلا عن دراسة بعض فعالياته البيولوجية .

**المواد وطرائق العمل :**

تحضير طبقات المغنيسيوم / الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد Mg-Al-NO<sub>3</sub>-LDH بوساطة الترسيب المشترك (Co-precipitation) :

استخدمت طبقات Mg/Al-NO<sub>3</sub>-LDH كحامل (carrier) للمادة الحافظة (OG) Octyl gallate اذ تم تحضيرها بطريقة الترسيب المشترك وفقا للطريقة الموصوفة من قبل [5] مع بعض التحوير وذلك بمزج محلول نترات المغنيسيوم 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 ومن ثم غسل بالماء المقطر المزال منه الايونات عدة مرات وبعدها جفف عند درجة حرارة 60 م° ثم طحن جيدا للحصول على مسحوق ناعم تم تخزينه في الثلاجة .

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

اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل [6] مع بعض التحوير في تحضير المركب النانوي الهجين وذلك بإضافة 50 مل من المادة الحافظة OG (المحضرة بتركيز 0.035 مولاري ) الى محلول الطبقات ثنائية 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 اعقبه فصل الراسب بوساطة جهاز الطرد المركزي ومن ثم غسله بالماء المقطر المزال منه الايونات عدة مرات وبعدها جفف الراسب عند درجة 50 م° وتم طحنه بالهاون الخزفي واخيرا خزنه .

**تشخيص المركب النانوي الهجين :**

تم تشخيص المركب النانوي الهجين Mg/Al-OG-LDH بالطرائق الطيفية وفحوصات مجهري الالكتروني الماسح (SEM , Scanning Electron Microscope) و القوة الذرية (AFM , Atomic Force Microscope) وكما يأتي :

**1- التشخيص باستخدام طيف الاشعة تحت الحمراء (FT-IR)**

تم عمل قرص من المركب النانوي الهجين مع بروميد البوتاسيوم (KBr) بعد طحنهما بصورة جيدة وتم قياس طيف الاشعة تحت الحمراء في مدى من الاعداد الموجية (400-4000) سم<sup>-1</sup> .

**2- التشخيص باستخدام طيف حيود الاشعة السينية (X-Ray Diffraction , XRD)**

تم تشخيص المركب النانوي الهجين Mg/Al-OG-LDH باستخدام طيف حيود الاشعة السينية 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.

### 3- الفحص باستخدام المجهر الالكتروني الماسح (SEM)

تم فحص المركب النانوي Mg/Al-OG-LDH بالمجهر الالكتروني الماسح لغرض معرفة شكل السطح للمركب قيد الدراسة ، اذ تم ارسال النموذج الى الجامعة التكنولوجية / قسم هندسة المواد لغرض فحص النموذج المشار اليه اعلاه .

### 4- الفحص باستخدام مجهر القوة الذرية (AFM)

استخدم مجهر القوة الذرية فـي فحص المركب النانوي Mg/Al-OG-LDH وقياس اقطار وحجوم وتجمعات الجزيئات النانوية ، اذ تم ارسال النموذج الـى د. عبد الكريم السامرائي / كلية العلوم / جامعة بغداد لغرض فحصه . وتم استخراج معامل البلورية (Crystallinity Index) بالاستعانة بالمعادلة التالية [7] .

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

### دراسة الفعاليات الحياتية للمركب النانوي الهجين Mg/Al-OG-LDH :

#### ا- الفعالية المضادة للبكتيريا:

تم دراسة الفعالية التثبيطية للمركب النانوي الهجين قيد الدراسة اضافة الى المركب OG الحر ضد بعض انواع البكتيريا الموجبة لصبغة كرام . اشتملت العزلات على بكتيريا *Staphylococcus aureus* و *Listeria monocytogenes Wild* و *Listeria monocytogenes Local* type 10403s و *Bacillus cereus* و *Bacillus subtilis* . تم اختبار الفعالية التثبيطية للمركب النانوي والمركب OG الحر باستخدام طريقة الانتشار بوساطة الحفر [8] اذ تراوحت التراكيز المستخدمة من المركبين قيد الدراسة من (0.1-15) ملغم /مل .

#### ب- الفعالية المضادة للفطريات :

تم دراسة تأثير كلا من المركب النانوي الهجين Mg/Al-OG-LDH والمركب OG الحر ضد ثلاثة انواع فطرية اثنان منها يعودان الى جنس *Aspergillus* وهما *A.flavus* و *A.parasiticus* بينما تعود العزلة الثالثة الى جنس الـ *Penicillium* وهي *P.expansum* . وقد استخدم المركبان قيد الدراسة بتركيز 20 ملغم /مل . و تم استخراج نسبة التثبيط بقياس معدل فطر مستعمرة الفطر بعد فترة الحضانة المذكورة اعتمادا على المعادلة الاتية [9] :

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

#### ج- الفعالية المضادة للأكسدة بطريقة كسح الجذور الحرة (Free Radicals Scavenging) :

استخدمت الطريقة الموصوفة من قبل [10] في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة ، اذ تم استخدام الجذر (2,2- azionbis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonicacid (ABTS) . وقدرت نسبة تثبيط الجذر ABTS بحسب المعادلة الاتية :

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

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

### النتائج والمناقشة :

#### تشخيص المركبات النانوية الهجينة

#### 1- التشخيص باستخدام طيف الاشعة تحت الحمراء

##### ا- طيف الاشعة تحت الحمراء للمادة الحافظة OG

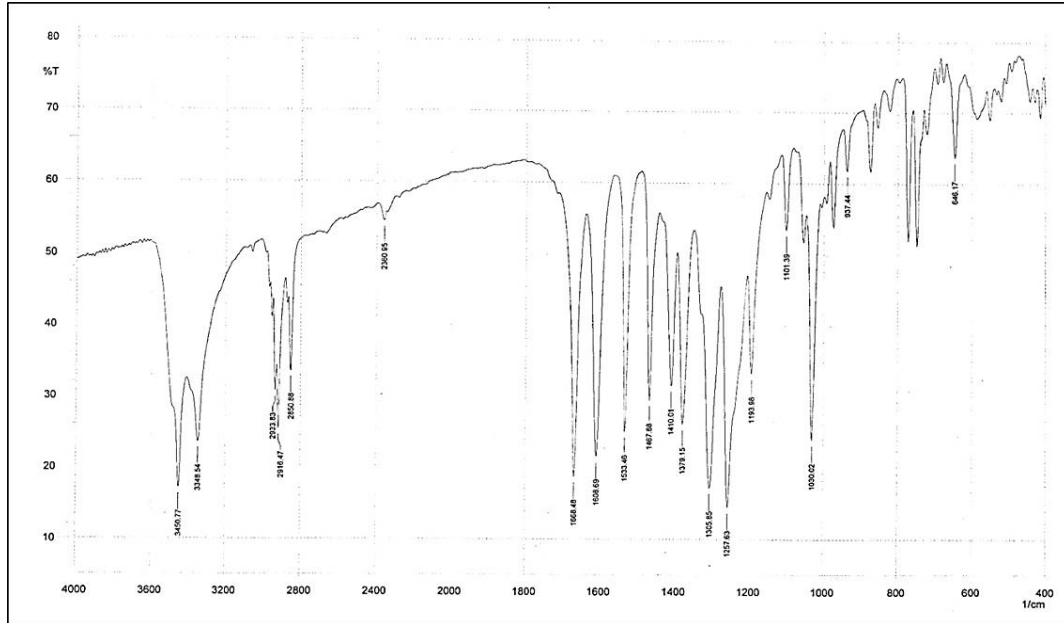
اظهرت المادة الحافظة العديد من الحزم المميزة عند ترددات معينة ، اذ يتضح من الشكل 1 ان الحزمة عند التردد 3450 سم<sup>-1</sup> و 3345 سم<sup>-1</sup> تعزى الى اهتزاز المط لرابطة الهيدروكسيل (O-H) [11] في حين ان الحزمة عند 3020 سم<sup>-1</sup> تعود الى اهتزاز المط لرابطة (C-H) الاروماتية . اما الحزم الواقعة بين 2850-2933 سم<sup>-1</sup> فتعزى الى اهتزاز المط المتناظر وغير المتناظر لرابطة (C-H) الالفاتية [12] 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> فتعزى الى اهتزاز الانحاء لرابطة (C-H) الالفاتية 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 الانحاء لرابطة (C-H) الاروماتية خارج المستوى .

ب - طيف الأشعة تحت الحمراء لطبقات المغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد

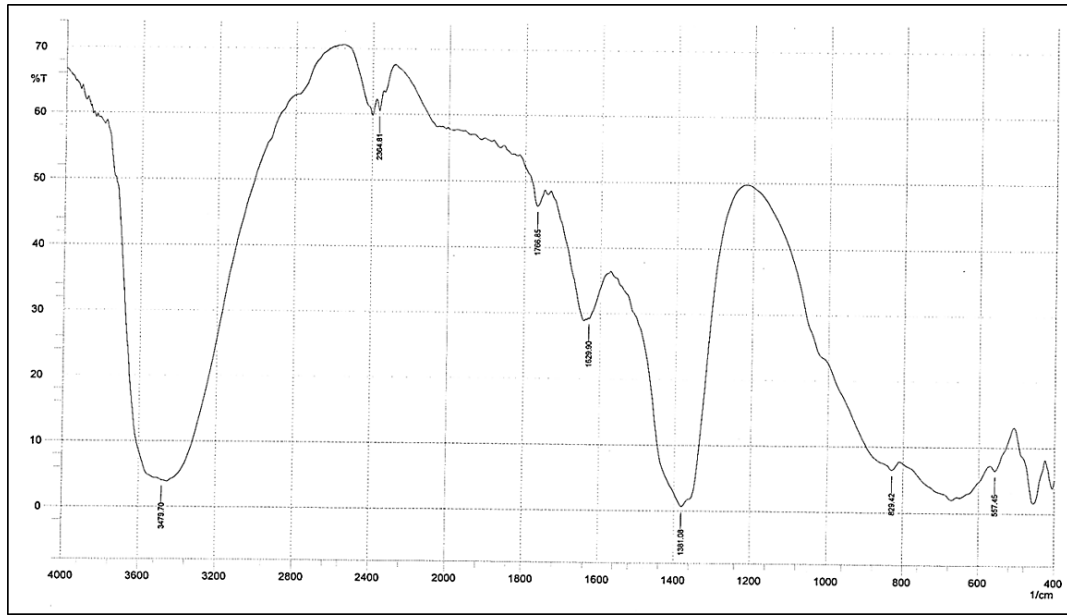
يتضح من الشكل 2 ان طبقات المغنيسيوم /الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد أظهرت العديد من الحزم المميزة عند ترددات معينة ، فالحزمة عند 3527 سم<sup>-1</sup> تعود الى اهتزاز المط لرابطة (O-H) وهي حزمة مستعرضة لوجود تداخل من انواع مختلفة من الهيدروكسيل مثل هيدروكسيل الطبقة الثنائية و هيدروكسيل الماء الممتز فيزيائيا [14 , 13] اما الحزمة المميزة عند 1383 سم<sup>-1</sup> فتعزى الى مجموعة النترات (NO<sub>3</sub>) الموجودة بين الطبقات [16 , 15] بينما تعود الواقعة بين 400-600 سم<sup>-1</sup> الى اهتزاز رابطة Mg-O و Al-O [17] .

ج - طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب النانوي الهجين (Mg/Al-OG-LDH)

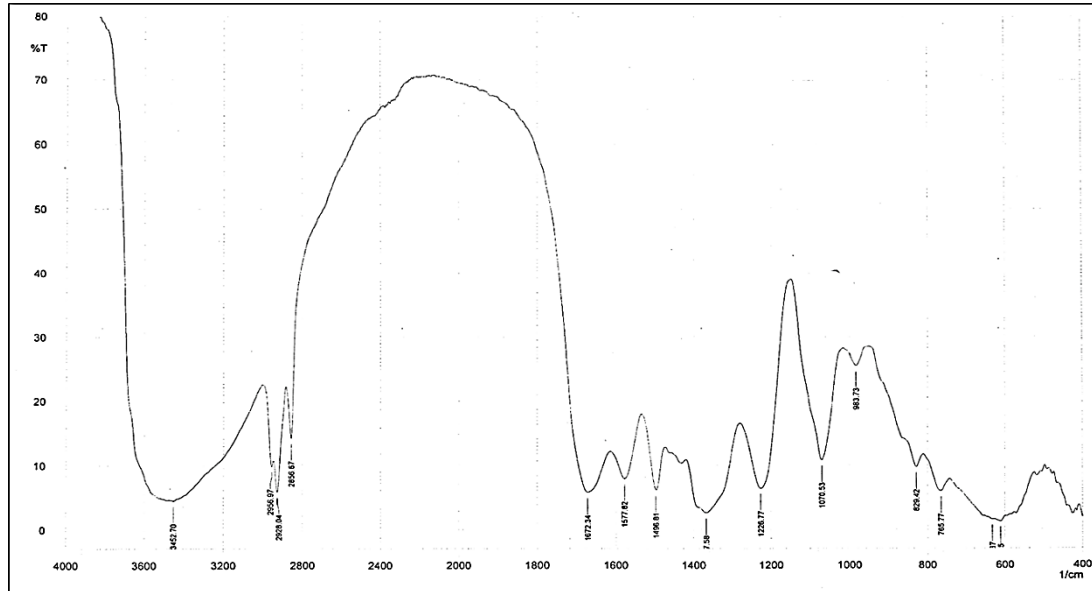
يلاحظ من الشكل 3 ان المركب النانوي الهجين يظهر العديد من الحزم المميزة الجديدة التي تدل على نجاح عملية اقحام المادة الحافظة (OG) بين طبقات المغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد مقارنة بحزم الطبقات الثنائية الهيدروكسيد فالحزمة عند 3450 سم<sup>-1</sup> تعود الى اهتزاز المط لرابطة (O-H) التابعة للطبقات ثنائية الهيدروكسيد وجزئيات الماء الممتز فيزيائيا اما الحزم عند 2933-2850 سم<sup>-1</sup> فتعزى الى اهتزاز المط لرابطة (C-H) الاليفاتية 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 لـ (C=C) الاروماتية. وتمثل الحزمة عند 1379 سم<sup>-1</sup> بقايا اثار مجموعة النترات (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> [18] 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 اوكسيد المعدن لـ Mg-O و Al-O [19].



الشكل ( 1 ) : طيف الأشعة تحت الحمراء للمادة الحافظة OG



الشكل ( 2 ) : طيف الاشعة تحت الحمراء لطبقات المغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد

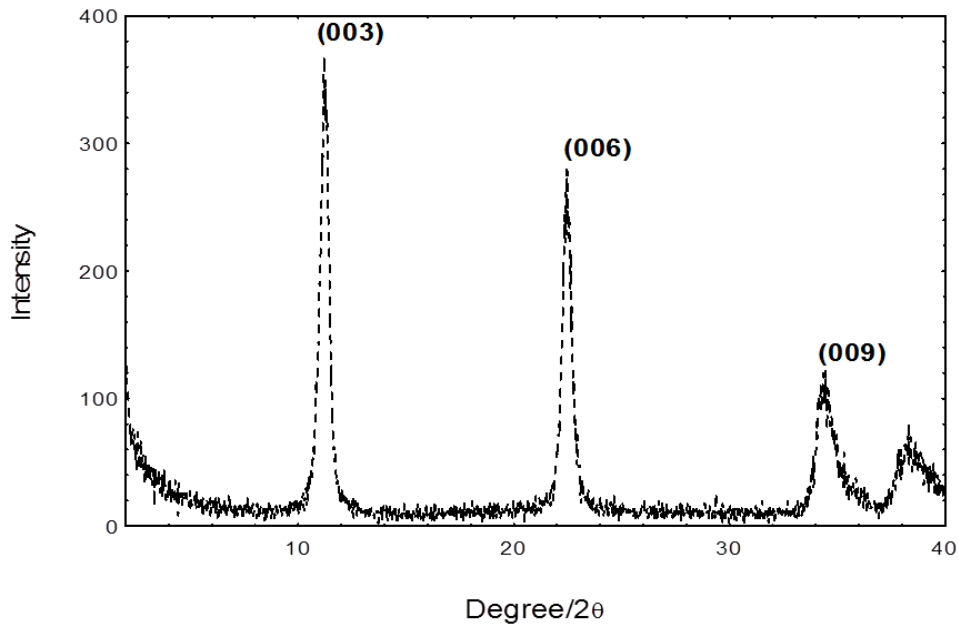


الشكل (3): طيف الاشعة تحت الحمراء للمركب النانوي الهجين Mg/Al-OG-LDH

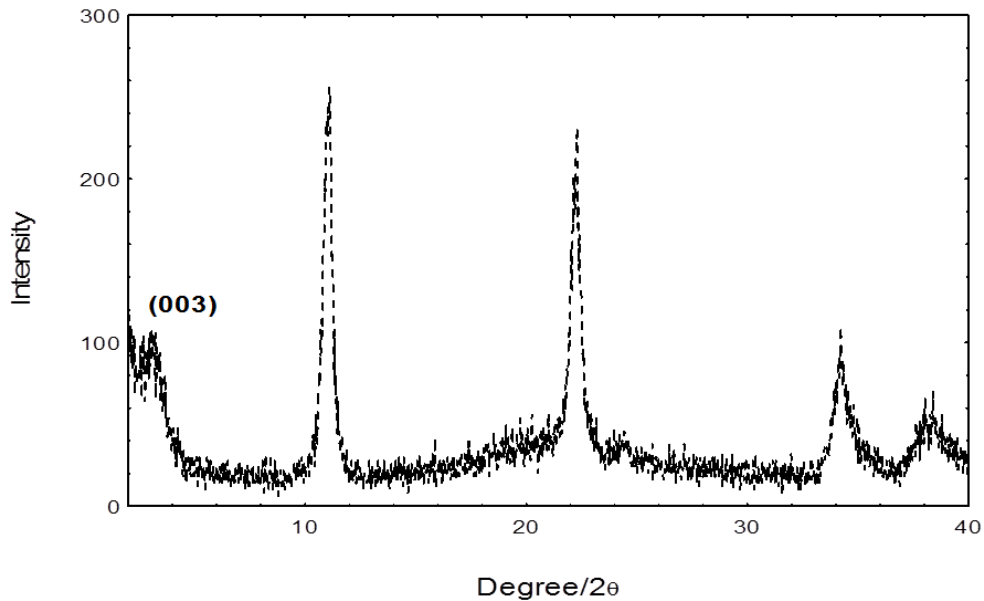
## 2- التشخيص باستخدام طيف حيود الاشعة السينية

تم دراسة طيف حيود الاشعة السينية للمركب النانوي الهجين Mg/Al-OG-LDH وطبقات المغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد (Mg/Al-NO<sub>3</sub>-LDH). يوضح الشكل 4 طيف حيود الاشعة السينية لطبقة المغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد (Mg/Al-NO<sub>3</sub>-LDH) 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 5. كما يلاحظ ايضاً في الشكل 5 نفسه ان الحزمة عند الزاوية 11.11° والزاوية 22.27° هي بقايا لطبقات المغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد غير المتبادلة ايونياً 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 [20] .



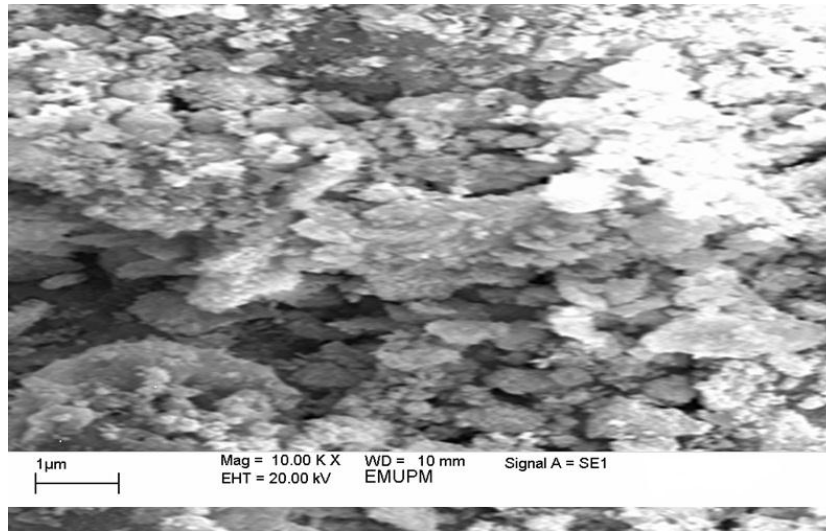
الشكل ( 4 ) : طيف حيود الاشعة السينية (XRD) لطبقةالمغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد (Mg/Al-NO<sub>3</sub>-LDH)



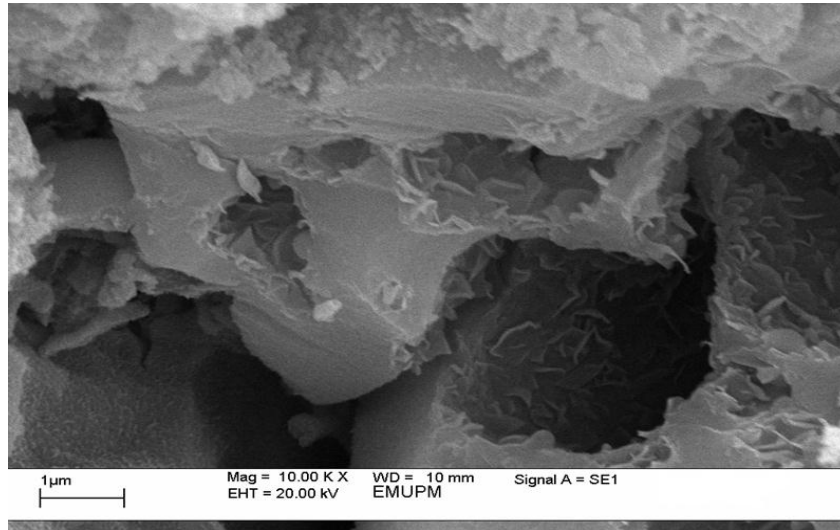
الشكل ( 5 ) : طيف حيود الاشعة السينية (XRD) للمركب النانوي الهجين Mg/Al-OG-LDH

### 3- الفحص بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM)

تم دراسة السطح الخارجي للمركب النانوي (Mg/Al-OG-LDH) و كذلك سطح الطبقات ثنائية الهيدروكسيد (Mg/Al-NO<sub>3</sub>-LDH) باستخدام المجهر الالكتروني الماسح (SEM). تظهر صور المجهر الالكتروني الماسح للطبقات ثنائية الهيدروكسيد وجود تراكيب شبيهه بالصفائح (Plate-like structure) قليلة المسامات ذات اشكال واحجام غير منتظمة [21] كما في الشكل رقم 6 ، 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 ثنائية الهيدروكسيد كما في الشكل 7 .



الشكل ( 6 ): صورة بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM) لطبقات المغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد (Mg/Al-NO<sub>3</sub>-LDH).



الشكل ( 7 ): صورة بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM) للمركب النانوي الهجين (Mg/Al-OG-LDH).

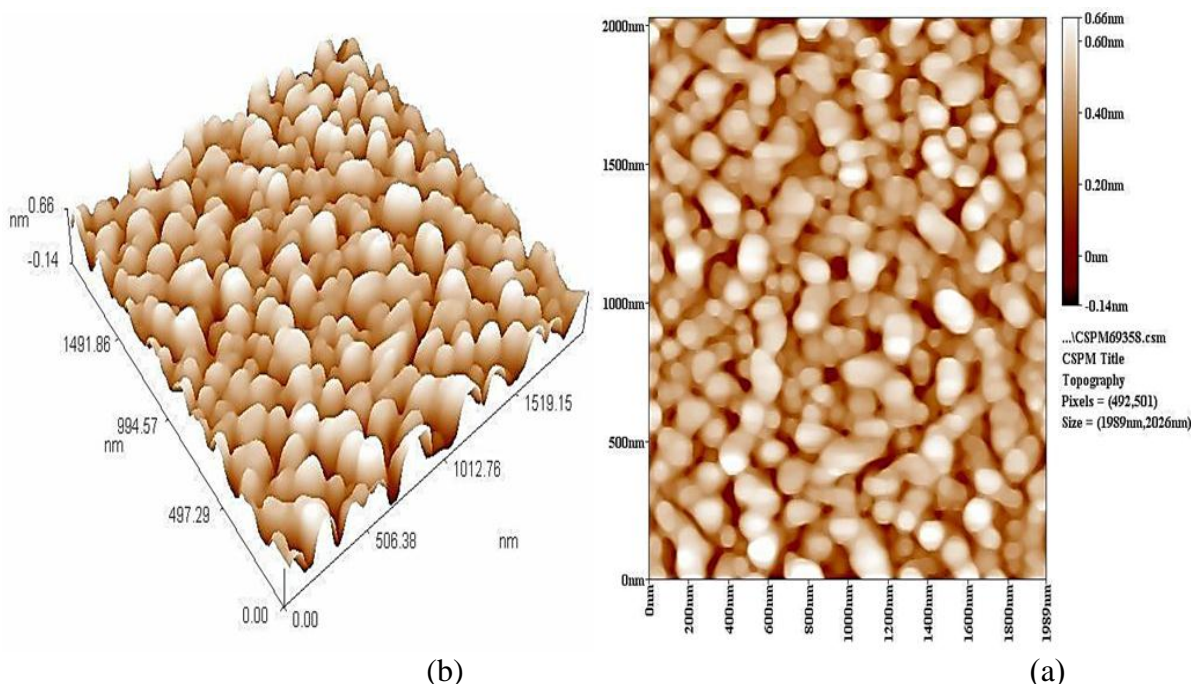
#### 4- الفحص بمجهر القوة الذرية (AFM)

تم دراسة السطح الخارجي للمركب النانوي الهجين Mg/Al-OG-LDH باستخدام مجهر القوة الذرية ، اذ بين الشكل (8a) صورة ثنائية الابعاد للمركب النانوي Mg/Al-OG-LDH تظهر فيها تجمعات جزيئية ذات اشكال كروية . اما الشكل (8b) فيظهر صورة ثلاثية الابعاد لمقطع من السطح للمركب النانوي Mg/Al-OG-LDH يظهر فيها ارتفاع التجمعات الجزيئية الذي يكون بحدود 0.66 nm للمركب Mg/Al-OG-LDH مما يشير الى تصنيع مركب نانوي من المادة الحافظة OG وطبقات المغنيسيوم/الالمنيوم ثنائية الهيدروكسيد متناهي 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 . واعتمادا على البيانات المتحصل عليها من الجدول (1) وطيف حيود الاشعة السينية (شكل 5) فقد تم حساب معامل البلورية (Crystallinity Index) للمركب قيد الدراسة ، اذ بلغ ( 15.16 ) للمركب Mg/Al-OG-LDH .

الجدول (1) : اقطار وحجوم وتجمعات جزيئات المركب النانوي Mg/Al-OG-LDH بعد فحصه بمجهر القوة الذرية

Avg. Diameter: 82.49 nm

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



الشكل ( 8 ) : (a) صورة ثنائية الابعاد (a) وثلاثية الابعاد (b) للمركب Mg/Al-OG-LDH بواسطة مجهر القوة الذرية

الفعالية التثبيطية للمركب النانوي ( Mg/Al-OG-LDH ) والمركب OG الحر ضد بعض انواع البكتريا الموجبة لصبغة كرام

تم دراسة الفعالية التثبيطية للمركب النانوي الهجين ( Mg/Al-OG-LDH ) والمركب OG الحر ضد خمسة انواع من البكتريا الموجبة لصبغة كرام ومقارنة النتائج مع المضاد الحيوي Gentamycin لكل من بكتيريا *S.aureus* و *B.subtilis* و *B.cereus* و *L.monocytogenes* wild type 10403s و *L.monocytogenes* Local والمضاد الحيوي Chloramphenicol لكل من بكتيريا *B.subtilis* و *B.cereus* و *L.monocytogenes* wild type 10403s و *L.monocytogenes* Local والمركب النانوي Mg/Al-OG-LDH ضد بكتيريا *S.aureus* بقطر تثبيط مقداره 14 ملم عند التركيز 15 ملغم /مل بينما بلغت اوطاً فعالية تثبيطية بقطر تثبيط 11 ملم عند التركيز ذاته ضد بكتيريا *B.subtilis* وعند التمعن في الجدول (2) يتضح ان معدل التثبيط الادنى قد بلغ 500 مايكرو غرام /مل لكل من بكتيريا *S.aureus* و *L.monocytogenes* Local و *L.monocytogenes* wild type 10403s و *B.cereus* بينما بلغ 250 مايكرو غرام /مل لبكتيريا *B.subtilis*.

وتبين النتائج ايضا ان اعلى فعالية تثبيطية للمركب OG الحر ضد بكتيريا *B.cereus* بقطر تثبيط مقداره 37 ملم عند التركيز 15 ملغم /مل بينما بلغت اوطاً 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 ( 2 ) .

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي ان هناك فروقات معنوية بين الانواع البكتيرية بمستوى معنوية 1% , اذ تفوقت بكتيريا *B.cereus* في معدل قطر التثبيط مقارنة بالانواع البكتيرية الاخرى بفروقات معنوية. كما اظهرت نتائج التحليل الاحصائي ايضا ان هناك فروقات معنوية بين التراكيز المستعملة من المركبين مقارنة بمعاملة السيطرة كما بينت النتائج ان اعلى اقطار للتثبيط كانت عند التركيز 15 ملغم /مل من المركبين قيد الدراسة وبفروقات معنوية عن بقية التراكيز . كما اظهرت النتائج ايضا ان هناك



الجدول ( 2 ) : الفعالية التثبيطية للمركب النانوي الهجين Mg/Al-OG-LDH والمركب OG الحر ضد بعض انواع بكتيريا الموجبة لصبغة كرام .

المعدل	اقطار التثبيط ( ملم )								التركيز (ملغم / مل ) مركبات المدروسة	النوع البكتيري
	Contro l 0.1	15	10	5	1	0.5	0.25	0.1		
13.06	17	14	11.5	10.5	8	8	0	0	Mg/Al-OG-LDH	<i>S.aureus</i>
	17	32	27.5	20	16.5	15	12	0	OG	
13.06	22.5	13.5	10	9	8	7	0	0	Mg/Al-OG-LDH	<i>L.monocytogenes</i>
	22.5	26.5	22.5	22	17.5	15	13	0	OG	Wild type 10403s
11.56	24	10	9.5	8	7.5	6.5	0	0	Mg/Al-OG-LDH	<i>L.monocytogenes</i>
	24	22	20	18.5	15	11	9	0	OG	Local
15.84	25	12.5	12	11	8.5	8.5	0	0	Mg/Al-OG-LDH	<i>B.cereus</i>
	25	37	37	36	16.5	14.5	10	0	OG	
11.90	20	11	10	10	9	8	6.5	0	Mg/Al-OG-LDH	<i>B.subtilis</i>
	20	20	19	16.5	14.5	14	12	0	OG	
	21.7	19.85	17.9	16.15	12.10	10.75	6.25	0	المعدل	

OG	Mg/Al-OG-LDH	المركبات المدروسة
17.26	8.91	المعدل

LSD للبكتيريا = 1.49 للمركبات = 0.94 للتركيز = 1.89 للتداخل = 5.99

فروقات معنوية بين المركب النانوي الهجين من جهة والمركب OG الحر من جهة اخرى . وعند المقارنة بينهما تبين تفوق المركب (OG) الحر على المركب النانوي الهجين Mg/AL-OG-LDH بفروقات معنوية عند مستوى احتمالية 1%.

لم تتوفر دراسات سابقة عن الفعالية المضادة للأحياء المجهرية للمركبات النانوية المحضرة من المركب Octyl gallate بيد انه اشار [22] 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* .

يعد المركب Octyl gallate مركبا فينوليا ، وقد اوضح [23] 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 .

**الفعالية التثبيطية للمركب النانوي الهجين Mg/Al-OG-LDH و المركب OG الحر ضد بعض الانواع الفطرية :**

درست الفعالية التثبيطية للمركب النانوي المحضر في هذه الدراسة ضد ثلاثة انواع فطرية اشتملت على *A.flavus* و *P.expansum* . ويتضح من النتائج المبينة في الجدول (3) تفوق المركب النانوي Mg/Al-OG-LDH

على المركب OG الحر في تثبيطه للفطرين *A.flavus* و *A.parasiticus* ، اذ بلغت نسبة التثبيط (85.4 و 96.09) % لكل من الفطرين المذكورين، على التوالي . بينما تفوق المركب OG الحر في تثبيطه للفطر *P.expansum* بنسبة تثبيط مقدارها 100 % . تتفق نتائج دراستنا الحالية فـي جزء منها مع ما ورد في دراسة سابقة فقد وجد [24] ان المركب النانوي المتكون من دقائق الفضة النانوية Ag NP والـ Chitosan يبدي فعالية مضادة للفطريات اعلى من الفعالية التي تبديها دقائق الفضة النانوية اوالـ Chitosan (كلا على انفراد) وذلك في دراسة شملت ثلاثة انواع من الفطريات التي تصيب بذور المحاصيل هي *A.flavus* و *Alternaria alternata* و *Rhizoctonia solani* . لقد اشار [25] الى ان مركب Octyl gallate يعد مضادا فطريا لطيف واسع من الفطريات. تبدي مركبات الـ gallates فعالية مضادة للفطريات من خلال عملها كمستحلب (Surfactant) [26] .

اقترح [27] فرضية لتفسير الفعالية المضادة للفطريات للمركبات الكيميائية ذات راس وذيل (head and tail) اذ تتألف

### الجدول (3) : الفعالية التثبيطية للمركب النانوي Mg/Al-OG-LDH و المركب OG الحر ضد بعض الانواع الفطرية

نسبة التثبيط %		المركبات المدروسة
OG	Mg/Al-OG-LDH	النوع الفطري
83.2	85.4	<i>A.flavus</i>
84.8	96.09	<i>A.parasiticus</i>
100	90	<i>P.expansum</i>

هذه المركبات من جزئين هما الراس المحب للماء (hydrophilic) و الذيل (tail) الذي هو عبارته 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) وبيعثر طبقة الدهن-البروتين المواجهة لبروتينات الغشاء المدمجـة (integral protein) مما يؤدي الى تغير في طبيعة تكوينها وهذا يؤدي بدوره الى اعاقه سيولة غشاء الخلية والقنوات الايونية والبروتينات الناقلة في الغشاء .

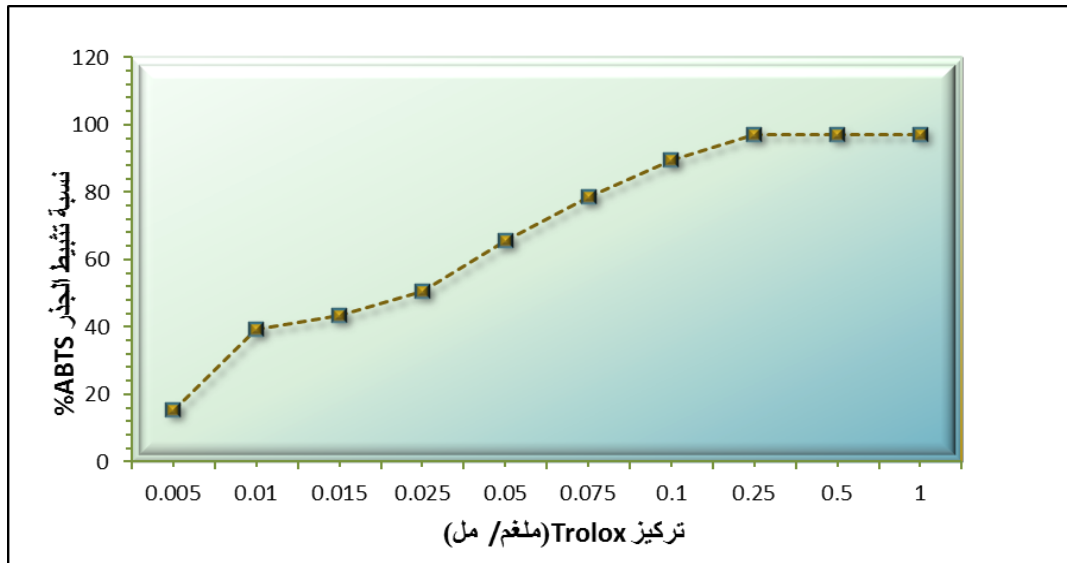
### الفعالية المضادة للأكسدة بطريقة كسح الجذور الحرة

استخدمت طريقة كسح الجذور الحرة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمركب النانوي الهجين (Mg/Al-OG-LDH) 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) % .

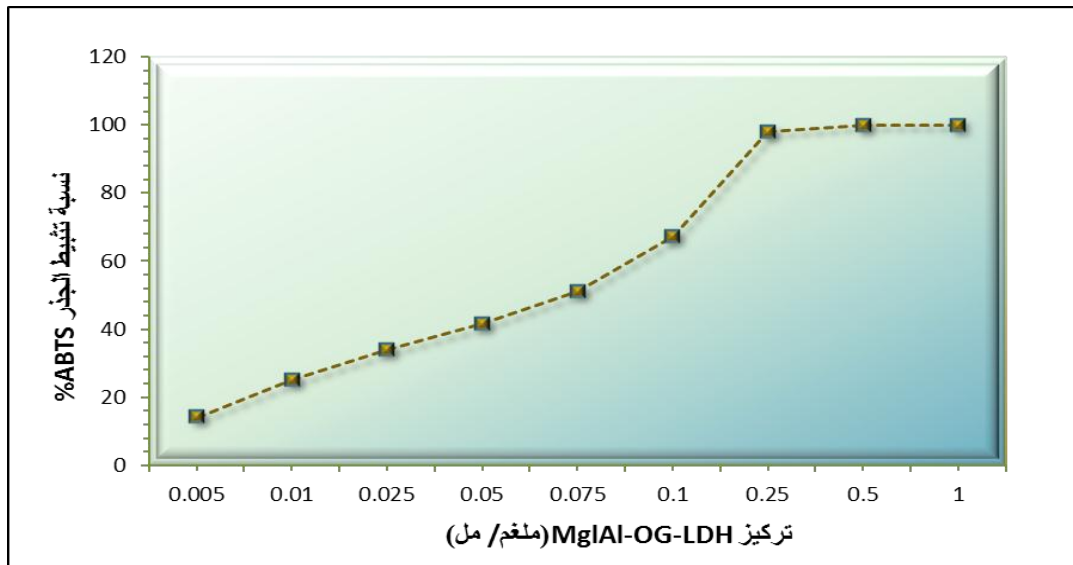
يتضح من الشكل ( 10 ) ان للمركب النانوي الهجين فعالية مضادة للأكسدة عند التركيز 75 مايكرو غرام / مل ، وهي اعلى من تركيز المضاد القياسي Trolox القادر على اختزال او تثبيط امتصاص الجذر ABTS الى النصف ( الشكل 9 ) بينما كانت الفعالية المضادة للأكسدة للمركب OG الحر عند التركيز 25 مايكرو غرام /مل مساوية لتركيز مضاد الاكسدة القياسي Trolox كما هو موضح في الشكل ( 11 ) .

بينت احدى الدراسات التي قام بها [28] ان عملية اقحام جزئيات الفلافونويدين Quercetin و Catechin الـى 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 جزئيات 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 جزئيات الفلافونويد بعد انتهاء الحضان وتقوم بكسح الجذور الحرة في حين ان جزئيات الفلافونويد الحرة تكون غير محمية مما يؤدي الى انخفاض فعاليتها الكاسحة للجذور الحرة .

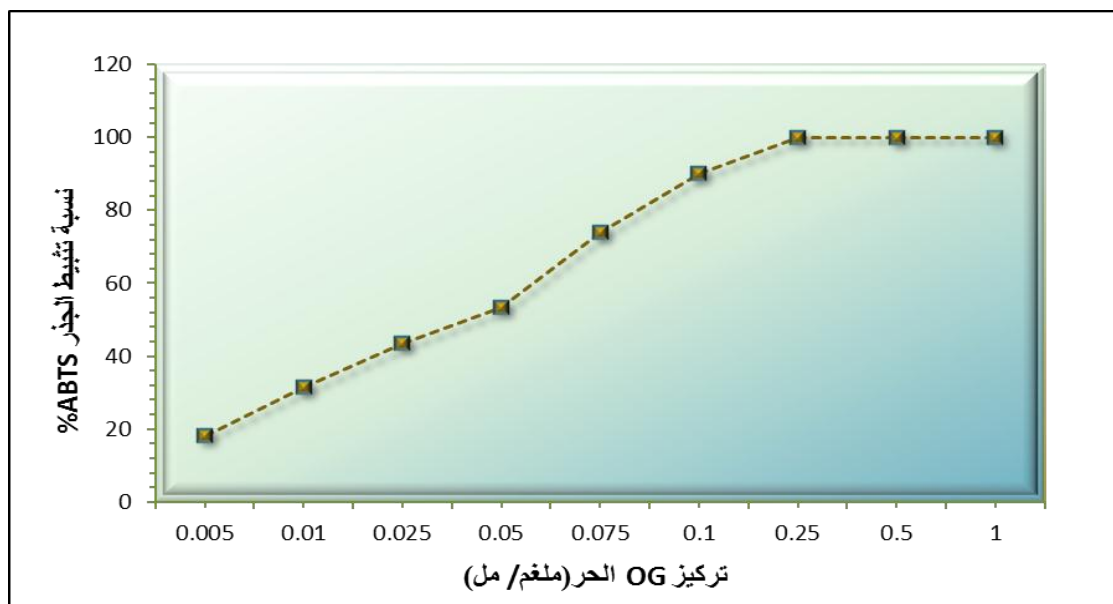
تستعمل طريقة (ABTS) بشكل واسع في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للعديد من المواد اذ ان الجذر ABTS الذي يمتص عند الطول الموجي 743 نانوميتر (معطياً لونا اخضر مزرق) يتكون من فقدان الالكترين من ذرة النتروجين من للأكسدة التي لها القابلية على وهب ذرة هيدروجين فان ذرة النتروجين لـ ABTS سوف تقتنص ذرة الهيدروجين مما يؤدي الى ازالة لـون المحلول (decolonization) [29].



الشكل ( 9 ):الفعالية المضادة للأكسدة للمضاد القياسي Trolox



الشكل ( 10 ):الفعالية المضادة للأكسدة للمركب Mg/Al-OG-LDH بطريقة كسح الجذور الحرة



الشكل ( 11 ) :الفعالية المضادة للأوكسدة للمركب OG الحر بطريقة كسح الجذور الحرة

#### المصادر :

- 1- **Gustavsson, J.**; Cederberg, C. and Sonesson, U. The Swedish Institute for Food and Biotechnology SIK, Rome. (2011) .
- 2- **Tzatzarakis, M.**; Tsatsakis, A.M.; Liakou, A. and Vakalounakis, D.J. J. Environ. Sci. Health, B35 (4): 527-537. (2000).
- 3- **Dantigny, P.**; Guilmart, A. and Bensoussan, M. Int. J. Food Microbiol., 100: 187-196. (2005).
- 4- **Ren, G.**; Hu, D.; Cheng, E.W.C.; Vargas-Reus, M.A.; Reip, P. and Allaker, R.P. Int J Antimicrob Agents, 33(6): 587–590. (2009) .
- 5- **Klemkaite, K.**; Prosycevas, I.; Taraskevicius, R.; Khinsky, A. and Kareiva, A. Cent. Eur. J. Chem, 9(2) : 275- 282. (2011).
- 6- **Bashi, A.M.**; Haddawi, S.M. and Mezaal, M.A. Arab J Sci Eng . 38:1663-1680. (2013).
- 7- **Pine, X.**; Medina-Ramirez, R.; Mernaughc, R. and Liu, J. Biointerfaces , 77:82-89. (2010).
- 8- **Egorove, N.S.** Mir Publishers, Moscow. (1985).
- 9- **Wang, S.L.**; Lin, T.Y.; Yen, Y.H.; Liao, H.F. and Chen, Y.J. Carbohydrate Research, 341: 2507-2515. (2006).
- 10- **Budrat, P.** and Shotipruk, A. *Chiang Mai J.Sci.* ;35(1):123-130. (2008).
- 11- **Mohammed-Ziegler, I.** and Billes, F. J.Mol.Struct.Theochem ,618:259-265. (2002).
- 12- **Billes, F.**; Mohammed-Ziegler, I. and Bombicz, P. Vib. Spectrosc,43 : 193–202. (2007).
- 13- **Cheng, X.**; Huang, X.; Wang, X. and Sun, D. Journal of Hazardous Materials, 177:516–523. (2010).
- 14- **Parida, K.M.**; Sahoo, M. and Singha, S. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical 329:7–12. (2010).
- 15- **Arizaga, G.G.C.**; Gardolinski, J.E.F.d.C.; Schreiner, W.H. and Wypych, F. Journal of Colloid and Interface Science, 330:352–358. (2009).
- 16- **Chai, H.**; Xu, X.; Lin, Y.; Evans, D.G. and Li, D. Polymer Degradation and Stability ,94:744–749. (2009).
- 17- **Feng, Y.**; Li, D.; Wang, Y.; Evans, D.G. and Duan, X. Polymer Degradation and Stability, 91:789–794. (2006).
- 18- **Hussein, M.Z.**; Hashim, N.; Yahaya, A.H. and Zainal, Z. Solid State Sciences. 12 : 770–775. (2010).

- 19- **Cornejo**, J.; Celis, R.; Avlovic, I.P.; Ulibarri, M.A. and Hermosin, M.C. J. Mater. Chem. 35:P 771. (2000).
- 20- **Cardoso** , L.P.; Celis , R.; Cornejo , J. and Valim, J. J. Agric. Food Chem , 54: P 5968 . (2006).
- 21- **Wang**, Y. and Zhang, D. Materials Research Bulletin, 47 : 3185–3194. (2012) .
- 22- **Gutiérrez-Larraínzar**, M.; Rúa, J.; Arriaga, D.D.; Valle, P.D. and García-Armesto, M.R. Food Control,30: 393-399. (2012).
- 23- **Moreno**, S.; Scheyer, T.; Romano, C. and Vojnov, A. Free Radic. Res, 40(2):223-231. (2006).
- 24- **Kaur**, P.; Thakur, R. and Choudhary, A. IJSTR,1(6):83-86. (2012).
- 25- **Hsu**, F.; Chen, P.; Chang, H. and Chang, S. International Biodeterioration & Biodegradation ,63 :543–547. (2009).
- 26- **Kubo**, I.; Xinao, P.; Nihei, K.; Fujita, K.; Yamagiwa, Y. and Kamikawa, T. J.Agric. Food Chem,50:3992-3998. (2002).
- 27- **Kubo**, I.; Muroi, H. and Kubo, A. Bioorganic and Medicinal Chemistry .3:873-880. (1995).
- 28- **Pool**, H.; Quintanar, D.; Figueroa, J.D.; Mano, C.M.; Etelvino, J.; Bechara, H.; Godinez, L.A. and Mendoza, S. Journal of Nanomaterials ,p 1-12. (2012).
- 29- **Marc**, F.; Davin, A.; Deglène-Benbrahim, L.; Ferrand, C. and Baccaunaud M. Med Sci. 20: 458-463. (2004) .