وزارة التعليـم العالـي والبحـث العلمـي

جامعـة قاصـدي مربـاح ورقلـة

كليـة الرياضيات وعلـوم المـادة

قسـم الكيمياء

مذكـرة مقدمة ضمن استكمال متطلبات نيل شهادة ماستر أكاديمي

فـــي الكيـــمياء.

التخصص: كيمياء مطبقة

من إعداد: عبدالنور غرياني، شيماء مزار

بعنـــوان

المساهمة في دراسة مستخلصات نبات البطم الأطلسي
(*Pistacia atlantica* Desf.)

نوقشت علنا يوم: 25 / 05 / 2017 **أمام لجنة المناقشة:**

سمارة ونيسة	أستاذ محاضر -أ-	رئيسا
مخلفي طارق	أستاذ مساعد -ب-	مناقشا
دندوقي حسين	أستاذ تعليم عالي	مــقررا

السنة الجامعية : 2017 / 2016

شكر و عرفان

الحمد لله ذي المن والفضل والاحسان حمدا يليق بجلاله وعظمته. وصل اللهم على خاتم الرسل، سيدنا محمد، صلاة ترفعنا بها أعلى الدرجات وتبلغنا بها أقصى الغايات، في الحياة وبعد الممات. ولله الشكر أولا وأخيرا، على حسن توفيقه، وكريم عونه، وعلى كل ما وهبنا إياه.

لقد تم إنجاز هذه المذكرة بفضل الله وعونه ثم برعاية الأستاذ الدكتور **دندوقي حسين** الذي نتوجه إليه بجزيل الشكر و العرفان على تقبله الإشراف على إنجاز هذه المذكرة، و على كل مساعداته التي أعاننا بها، و توجيهاته ونصائحه القيمة و حرصه دائما على توفير كل الإمكانيات اللازمة.

كما نتوجه بالشكر الجزيل إلى السادة أعضاء اللجنة على قبولهم مناقشة هذه المذكرة.

نتقدم بالشكر الخالص إلى بكة شهرزاد، بلقيدوم مهدي، بيرش كميليا، محجر صالحة، شيماء، آسيا، جميلة وفاطمة وكل أساتذة وطلبة مخبر البحث العلمي (**VPRS**) على مساعدتهم ونصحهم لنا..

نوجه خالص الشكر والإمتنان والتقدير إلى: السادة العمال: مكاوي رمضان، خضراوي عباس، أنيسة، حنان، أسماء، فاطمة على مساعدتهم لنا.

كما لا ننسى أن نشكر كل طلبة دفعة ماستر كيمياء مطبقة **2016-2017**، مع تمنياتنا لهم بالسداد والتوفيق.

كما نَدِينُ بعظيم الفضل والشكر إلى كل أساتذتنا الكرام الذين ساهموا في تكويننا في كل الأطوار.

ولا يسعنا إلا أن نشكر كل من ساهم في مساعدتنا من قريب أو بعيد فجزاهم الله عنا خير الجزاء.

الإهداء

أهدي ثمرة هذا العمل المتواضع إلى أعز ما في الوجود إلى: أمي التي غمرتني بحنانها وعطفها وأمنت علي بدعواتها أطال الله في عمرها وأبي العزيز الذي لم يبخل علي بشيء حفظه الله وأطال في عمره.

إلى أخواتي الحبيبات: أم هاني، زهية، عامرة ونورة، وإخوتي الأعزاء: سليم، بلخير، محمد الأزهر وجابر.

إلى الأطفال: أحلام، رجاء، محمد سيف الدين، إخلاص، مروة، عبدالقدر، أماني والبراعم محمدالعيد، محمدعلي ومحمدالعيد.

إلى كل الأحباب والأقارب

إلى جميع زملائي وزميلاتي

إلى كل أساتذتي في جميع الأطوار الدراسية

إلى كل معلم ومتعلم وباحث

إلى كل من ساعدني من قريب أو بعيد

إلى كل من تمنى لي النجاح

لكل هؤلاء أهدي ثمرة جهدي في هذا العمل.

عبدالنور

الإهداء

الحمد لله الذي أنار لنا دربـ العلم والمعرفة،نحمده سبحانه على حسن التوفيق والتمكين لإكمال مذكرتنا هذه

إلى كل من وفر لي سبل التعليم و أنار لي دربـ الحياة إلى والدي الكريمين

إلى إخوتي الأعزاء اللذين أمدوني بروح المثابرة والعمل الجاد ولن أنسى فضلهم عليا

إلى كل أقاربي و أصدقائي و زملائي الذين ساندوني في كل كبيرة و صغيرة حتى لو كان بكلمة

شيماء مزار

الفهرس

الفهرس

العنوان	الصفحة
المقدمة	**1**
الجانب النظري	
الفصل الأول: الدراسة النظرية للنبتة	
I-1 المقدمة	2
I- 2 الامتداد الجغرافي لنبات البطم	2
I-3 أنواع البطم المتواجد في العالم:	2
I-4 أنواع البطم المتواجد في الجزائر	3
I-5 البطم الاطلسي	4
I-5-1 التصنيف النظامي للنبتة	4
I-6 وصف أجزاء شجرة البطم الأطلسي	4
I-7 التوزيع الجغرافي للبطم الأطلسي	5
I-8 المسح الكيميائية	6
I-8-1 المسح الكيميائية لجنس البطم	6
I-8-2 المسح الكيميائية للبطم الاطلسي	6
I-9 المسح البيولوجي	12
الفصل الثاني: منتجات الأيض الثانوي	
II-1- منتجات الأيض الثانوي	13
II-2- الزيوت الطيارة	13
II-3- التربينـــات	13
II-4 المركبات الفينولية	14
II-5 الفلافونيدات	16
II-5-1 تعريف الفلافونيدات	16
II-5-2 تصنيف الفلافونيدات	16
II-5-3 البناء الحيوي للفلافونيدات	17
II-5-3-1 البناء الحيوي للشالكون	17
II-5-3-2 البناء الحيوي لمختلف هياكل الفلافونيدات بدءا من الشالكون	18
II-5-4 أهمية الفلافونيدات	20
II-5-5 الدراسة الكيميائية للفلافونيدات	22
II-5-5-1 الاستخلاص	22

II-5-5-2 الفصل الكروماتوغرافي	22
II-5-5-3 الطرق الطيفية	23
II-5-5-3-1 طيف الأشعة فوق البنفسجية (UV)	23
الفصل الثالث: الفاعلية المضادة للأكسدة	
III-1 مقدمة	25
III-2-1 الجذور الحرة	25
III-2-2 الجذر: DPPH (1,1- Diphenyl-2-picryl-Hydrazyl)	26
III-3 مضادات الاكسدة	26
III-4 تصنيف مضادات الأكسدة	27
III-4-1 حسب آليات تفاعلات مضادات الأكسدة	27
III-4-2 حسب طبيعة مضادات الاكسدة	27
III-4-3 حسب مصدر مضادات الاكسدة	27
III-5 آلية عمل مضادات الأكسدة	28
III-6 الآثار الضارة للمواد المضادة للاكسدة	28

الجانب التطبيقي

الفصل الرابع: العمل التطبيقي	
IV-1 الدراسة الفيتوكيميائية لنبتة البطم الأطلسي	29
IV-1-1 تحضير المادة النباتية:	29
IV-1-3 الاستخلاص	29
IV-1-4 الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية	31
IV-1-4-1 الكشف عن القلويدات Les Alcaloïdes	31
IV-1-4-1-أ اختبار ماير Mayer	31
IV-1-4-2 الكشف عن الفلافونيدات Les Flavonoides	31
IV-1-4-2-أ اختبار Shinoda	31
IV-1-4-2-ب اختبار الكاشف القاعدي NaOH	32
IV-1-4-3 الكشف عن التانينات Les Tanins	32
IV-1-4-4 الكشف عن الكومارينات Les coumarines	32
IV-1-4-5 الكشف عن الستيرولات والتربينات الثلاثية	33
IV-1-4-5-أ اختبار Salkowski	33
IV-1-4-5-ب اختبار Liebermann- Burchared	33
IV-2 الدراسة التحليلية النوعية للمستخلصات ثمار النبتة	34

IV-2-1 كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM	35
IV-2-1-1 المستخلص الكلوروفورمي	35
IV-2-1-2 مستخلص خلات الإيثيل و البيوتانول	37
IV-2-2 كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لمتعدد الأميد	40
IV-2-3 الكروماتوغرافيا الورقية	43
IV-2-3-1 كروماتوغرافيا أحادية البعد	43
IV-2-3-2 الكروماتوغرافيا ثنائية البعد الصاعدة	46
IV-3 التحليل الكمي للمركبات الفينولية	47
IV-3-1 التقدير الكمي للفينولات الكلية	48
IV-3-2 التقدير الكمي للفلافونيدات الكلية	49
IV-3-3 التقدير الكمي للتانينات المتراكمة	49
IV-4 دراسة الفعالية المضادة للأكسدة	50
IV -4-1 اختبار DPPH	50
IV-5 دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا	51
IV-5-1 تعريف البكتيريا	51
IV-5-2 مكونات البكتيريا	51
IV-5-4 أنواع البكتيريا	52
IV-5-5 أصناف البكتيريا المختارة للدراسة	52
IV-5-5-1 المكورات الذهبية العنقودية (*Staphylococcus aureus*)	52
IV-5-5-2 بكتيريا القولون (*Escherichia coli*)	52
IV-5-6 إختبار الفعالية المضادة للبكتيريا	52
IV-5-6-1 تحضير المستخلص النباتي	52
IV-5-6-2 تحضير الوسط الزراعي	53
IV-5-6-3 زرع البكتيريا	53
IV-5-6-4 وضع الأقراص والحضن	53
IV-5-6-5 قراءة النتائج	53
الفصل الخامس: النتائج والمناقشة	
V-1 الدراسة الفيتوكيميائية لنبتة البطم الأطلسي	54
V-1-1 الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية	54
V-2 الدراسة التحليلية النوعية للمستخلصات ثمار النبتة	53
V-2-1 كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM	54
V-2-1-1 المستخلص الكلوروفورمي	54

V-2-1-2 مستخلص خلات الإيثيل و البيوتانول	54
V-2-2 كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة متعدد الأميد	55
V-2-3 الكروماتوغرافيا الورقية	55
V-2-3-1 كروماتوغرافيا أحادية البعد	55
V-2-3-2 الكروماتوغرافيا ثنائية البعد الصاعدة	55
V-1-3 التحليل الكمي للمركبات الفينولية	55
V-1-3-1 التقدير الكمي للفينولات الكلية	55
V-1-3-2 التقدير الكمي للفلافونيدات الكلية	56
V-1-3-3 تقدير التانينات المتراكمة	57
V-4 الفاعلية المضادة للأكسدة	57
V- 4 -1 نتائج القدرة التثبيطية لجذر الـ DPPH	57
V-5 دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا	59
V-5-1 المذيبات المسعملة وفاعليتها	59
V-5-2 مستخلصات الكلوروفورم	59
V-5-3 مستخلص خلات الإيثيل و البيوتانول	59
V-5-3-1 الثمار الخضراء	60
V-5-3-2 الثمار السوداء	61
V-5-3-3 الثمار الحمراء	62
الخــاتمة	63

قائمة الأشكال

الشكل	الصفحة
الفصل الأول: الدراسة النظرية للنبتة	
الشكل I-1 خريطة توضح التوزع الجغرافي لجنس البطم	2
الشكل I-2 خريطة توضح أنواع البطم المتواجد في العالم والتموقع الجغرافي لكل نوع	3
الشكل I-3 أوراق البطم الأطلسي	4
الشكل I-4 ثمار البطم الأطلسي بألوانها المختلفة	4
الشكل I-5 جذع شجرة البطم الأطلسي	5
الشكل I-6 أزهار شجرة البطم الأطلسي	5
الشكل I-7 خريطة توضح التوزع الجغرافي للبطم الاطلسي في العالم	5
الشكل I-8 خريطة توضح التوزع الجغرافي للبطم الأطلسي في الجزائر	5
الفصل الثاني: منتجات الأيض الثانوي	
الشكل II-1 الهيكل الاساسي للفلافونيدات	16
الشكل II-2 أهم أنواع الفلافونيدات	17
الشكل II-3 تشكيل (4-coumaroyl-CoA) انطلاقا من (phenylalanine)	18
الشكل II-4 تشكل الشالكونات والستيلبين	17
الشكل II-5 العلاقة البيووراثية بين مختلف المركبات الفلافونيدية	19
الفصل الثالث: الفاعلية المضادة للأكسدة	
الشكل III-1 التراكيب الرنينية لجذر DPPH	26
الشكل III -2 الصيغة المؤكسدة	26
الشكل III-3 الصيغة المرجعة	26
الشكل III -4 مضادات الأكسدة المستعملة في الصناعة الغذائية	27
الشكل III-5 الصيغ الحدية لمركب فينولي	28
الفصل الرابع: العمل التطبيقي	
الشكل IV-1 مراحل الاستخلاص للنبتة	30
الشكل IV-2 نتائج اختبار ماير	31
الشكل IV-3 نتائج اختبار Shinoda	31
الشكل IV-4 نتائج اختبار الكاشف القاعدي	32
الشكل IV-5 نتائج اختبار التانينات	32
الشكل IV-6 نتائج اختبار الكومارينات	32
الشكل IV-7 نتائج أ اختبار Salkowski	33
الشكل IV-8 نتائج اختبار Liebermann- Burchared	33
الشكل IV-9 كيفية وضع البقع على الصفيحة	35

36	الشكل IV-10 كروماتوغرام CCMتحت مصباح UV لمستخلص الكلوروفورم
37	الشكل IV-11 كروماتوغرام CCM تحت مصباحUV لمستخلصي خلات الإيثيل والبيتانول
39	الشكل IV-12 كروماتوغرام CCM تحت U V للمستخلص البيتانولي
40	الشكل IV-13 كروماتوغرام CCM تحت U V لمستخلصي خلات الإيثيل و البيتانول للعينة الخضراء
41	الشكل IV-14 كروماتوغرام CCM تحت مصباح UV لمستخلصي خلات الإيثيل والبيتانول للعينات الثلاث
43	الشكل IV-15 رسم تخطيطي للكروماتوغرافيا أحادية البعد
44	الشكل IV-16 طريقة وضع ورق الفصل في الكروماتوغرافيا الورقية أحادية البعد
44	الشكل IV-17 الكروماتوغرافيا الورقية لكلا الطورين لمستخلصي خلات الإيثيل والبيتانول للعينات الثلاث
46	الشكل IV-18 رسم تخطيطي للكروماتوغرافيا ثنائية البعد
47	الشكل IV-19 ورق (Whatman) تحت مصباح UV لمستخلصي خلات الإيثيل و البيتانول للعينة الخضراء
48	الشكل IV-20 حمض الغاليك
48	الشكل IV-21 المنحنى القياسي لحمض الغاليك
49	الشكل IV-22 مركب الكرستين Quercetine
49	الشكل IV-23 المنحنى القياسي لمركب الكرستين
50	الشكل IV-24 مركب الكتشين
50	الشكل IV-25 المنحنى القياسي لمركب الكتشين
50	الشكل IV-26 تفاعل الـ DPPH مع الفينول
51	الشكل IV-27 منحنى اختبار الـ DPPH بواسطة V.C
51	الشكل IV -28 شكل تخطيطي للبكتريا
	الفصل الخامس: النتائج والمناقشة
54	الشكل V-1 بعض نتائج الإختبار الفيتوكيميائية الأولية
56	الشكل V -2 المقارنة بين الكمية الكلية للفينولات لمختلف المستخلصات
56	الشكل V-3 المقارنة بين الكمية الكلية للفلافونيدات لمختلف المستخلصات
57	الشكل V-4 المقارنة بين الكمية الكلية التنينات للمكثفة لمختلف المستخلصات
58	الشكل V-5 منحنيات المستخلصات المدروسة في اختبار الـ DPPH
58	الشكل V-6 مقارنة قيم IC_{50} لمختلف المستخلصات مع الـ IC_{50} لحمض الأسكوربيك
60	الشكل V-7 نتائج اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلصات الكلوروفورم
60	الشكل V-8 بعض نتائج اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا وطريقة القياس
61	الشكل V-9 نتائج اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا للثمار الخضراء
61	الشكل V-10 نتائج اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا للثمار السوداء
62	الشكل V-11 نتائج اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا للثمار الحمراء

قائمة الجداول

الجدول	الصفحة
الفصل الأول: الدراسة النظرية للنبتة	
الجدول I-1 التصنيف النظامي للبطم الاطلسي وفق Fennane	4
الجدول I-2 كمية ونسبة مركبات الأحماض الدسمة في بذور البطم الأطلسي الجافة (بـ مغ لكل 100 غ)	8
الجدول I-3 كمية ونسبة الستيرولات النباتية في بذور البطم الأطلسي الجافة (بـ مغ لكل 100 غ)	8
الجدول I-4 بنى بعض المركبات الفلافونيدية	10
الفصل الثاني: منتجات الأيض الثانوي	
الجدول II-1 تصنيف التربينات	14
الجدول II-2 صيغ بعض الهياكل لمتعددات فينولية	15
الجدول II-3 التأثيرات البيولوجية لبعض أنواع الفلافونيدات	21
الجدول II-4 أهم الأطوار المتحركة لفصل الفلافونيدات على كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة باستعمال سليكاجال كطور ثابت	23
الجدول II-5 بعض إمتصاصات طيف الأشعة فوق البنفسجية	23
الفصل الثالث: الفاعلية المضادة للأكسدة	
الفصل الرابع: العمل التطبيقي	
الجدولIV -1 الوزن المستعمل من الثمار	29
الجدول IV-2 وزن ومردود المستخلصات	30
الجدول IV-3 نتائج الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية	34
الجدولIV -4 نتائج الفصل الكروماتوغرافي للمستخلص الكلوروفورمي للعينات الثلاث	36
الجدول IV-5 نتائج فصل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لمستخلصي خلات الإيثيل والبيوتانول للعينات الثلاث	37
الجدولIV-6 نتائج فصل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للمستخلص البيوتانولي للعينات الثلاث	39
الجدولIV-7 نتائج فصل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لمستخلصي خلات الإيثيل والبيوتانول للعينة الخضراء	40
الجدولIV-8 نتائج فصل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لمستخلصي خلات الإيثيل والبيوتانول للعينات الثلاث	42
الجدولIV-9 نتائج فصل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لمستخلصي خلات الإيثيل والبيوتانول للعينة الخضراء	45
الجدولIV-10 نتائج فصل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لمستخلصي خلات الإيثيل والبيوتانول للعينات الثلاث	47
الفصل الخامس: النتائج والمناقشة	
الجدول V-1 كمية الفينولات الكلية للمستخلصات	55
الجدول V-2 كمية الفلافونيدات الكلية للمستخلصات	56
الجدول V-3 كمية التانينات المكثفة الكلية في المستخلصات	57
الجدول V-4 الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة البطم الأطلسي لاختبار DPPH.	58

الجدول V-5 فاعلية المذيبات المسعملة	59
الجدول V-6 قيم متوسط أقطار التثبيط لمستخلصات الكلوروفورم	59
الجدول V-7 قيم متوسط أقطار التثبيط لمستخلصي خلات الإيثيل و بيوتانول الثمار الخضراء	60
الجدول V-8 قيم متوسط أقطار التثبيط لمستخلصي خلات الإيثيل و بيوتانول الثمار السوداء	61
الجدول V-9 قيم متوسط أقطار التثبيط لمستخلصي خلات الإيثيل و بيوتانول الثمار الحمراء	62

قائمة الرموز

ADN	:	الحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين
ARN	:	الحمض النووي الريبي
λ	:	الطول الموجي
A	:	الامتصاصية
DPPH	:	الجذر الحر 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl
B.A.W	:	بيتانول.حمض الخل.ماء مقطر
IC_{50}	:	تركيز المستخلص اللازم لتثبيط 50 %من جذر الـ DPPH
CCM	:	كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة
CP	:	الكروماتوغرافيا الورقية
I%	:	النسبة المئوية للتثبيط
UV-Vis	:	الأشعة الفوق البنفسجية– المرئية
V.C	:	حمض الاسكوربيك
مم	:	ميليمتر
ن م	:	نانومتر
مل	:	ميليلتر
ل	:	لتر
مغ	:	ميليغرام
غ	:	غرام
°م	:	درجة مئوية
E– coli	:	*Escherichia coli*
S– aureus	:	*Staphylococcus aureus*
φ_B	:	المستخلص البيتانولي
φ_A	:	مستخلص أسيتات الإيثيل

المقدمة

المقدمة

بالرغم من التطور الهائل الذي توصل إليه الإنسان خاصة في مجال الكيمياء إلا انه لم يستطع تعويض أو تقليد ما تقدمه الطبيعة من مركبات يستفيد منها ويستعملها في حياته اليومية.

فمنذ القدم ولازال حتى الوقت الحاضر يستغل الإنسان النباتات و يستعملها في عدة مجالات كالتغذية، العطور، التجميل و العلاج، هذا لما تحتويه اغلب النباتات من مركبات فعالة، ومن أهم العوامل التي أدت إلى الاهتمام بالنباتات الطبية وزراعتها في الوقت الحاضر انها قدمت فرصا عديدة لاكتشاف المزيد والجديد من المواد الكيميائية العلاجية ،كما أنه ثبت عدم إمكانية الاستغناء عن النباتات الطبية كمصدر لصناعة الدواء واستبدالها بالمواد الفعالة المصطنعة كيميائيا بالمعمل، حيث أثبتت التجارب أن المادة الفعالة المصطنعة كيميائيا في المعمل لا تؤدي التأثير الفسيولوجي (العلاجي) نفسه الذي تؤديه المادة الفعالة الطبيعية، لان الخالق عز وجل جعل هذه المواد الفعالة في النباتات بتركيزات يمكن للجسم البشري التفاعل معها برفق في صورتها الطبيعية، مع العلم أن المادة المصطنعة معمليا تكون على درجة كبيرة من النقاوة لكنها تحمل الكثير من الاثار الجانبية الضارة، زد على دلك انها تحضر تحت ظروف قاسية. قال سبحانه و تعالى في كتابه الكريم : ﴿ **والأرض مددناها وألقينا فيها رواسي وأنبتنا فيها من كل شيء موزون** ﴾ الحجر الآية 19.

تعد نباتات العائلة الأناكاردية (Anacardiaceae) على غرار نبتة البطم الأطلسي (*Pistacia atlantica* Desf.) و التي هي محل دراستنا من النباتات الطبية التي تمتلك إمكانيات علاجية متعددة فهي تستعمل كمضاد للأكسدة، مضاد للميكروبات، مضاد للالتهابات، خافض للحرارة، خافض للسكري إلى جانب استخدامها في علاجات أخرى متعددة. وهي نبتة تنتشر على ضفاف البحر المتوسط وتفضل المناطق الجافة وشبه الجافة [10,2].

نهدف من خلال هذه المذكرة إلى المساهمة في الدراسة الفيتوكيميائية لمستخلصات هذه النبتة وتقييم الفاعلية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة وكذا التقدير الكمي لمركباتها الفينولية، الفلافونيدية والتانينات حيث لاحظنا من خلال المسح البيبليوغرافي للدراسات الفيتوكيميائية السابقة اهتمامها وتركيزها على المستخلصات غير القطبية كالزيوت الطيارة وبعض مستخلصات الكلوروفورم، لذا ارتأينا أن ينصب هذا البحث على منتوجات الأيض الثانوي الأكثر قطبية. وتشتمل هذه المذكرة على جانبين الأول نظري يتضمن ثلاث فصول:

الفصل الأول: الدراسة النظرية للنبتة.

الفصل الثاني: منتجات الأيض الثانوي.

الفصل الثالث: الفاعلية المضادة للأكسدة.

والثاني جانب تطبيقي يحوي فصلين:

الفصل الرابع: الذي يتناول المسح الفيتوكيميائي للنبتة، دراسة تحليلية باستعمال الكروماتوغرافيا وكذا التقدير الكمي لمركباتها الفينولية والفلافونيدية ودراسة الفاعلية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا لمستخلصاتها.

الفصل الخامس: يتناول النتائج والمناقشة.

الجانب النظري

الفصل الأول:

الدراسة النظرية

للبنة

I-1 المقدمة

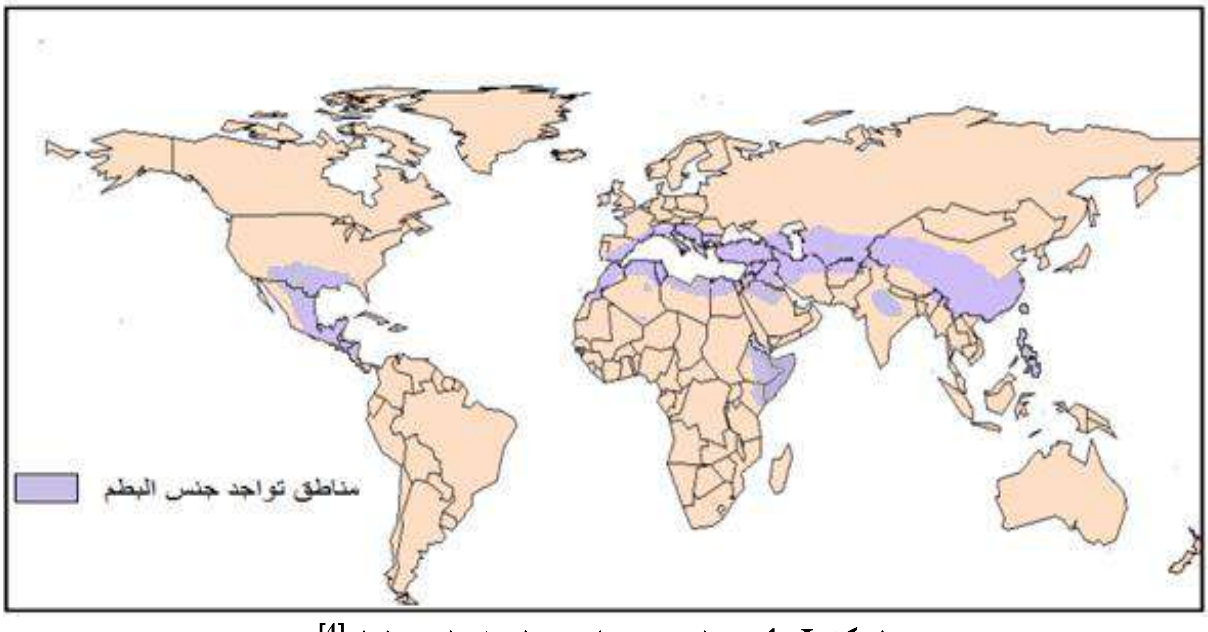
ينتشر في الجزائر عدد هائل من الفصائل النباتية وتتوزع حسب المناخ والمنطقة، فلكل نبات مناخ وظروف مناسبة لنموه وازدهاره و من هذه الفصائل الفصيلة المظلية Anacardiaceae التي ينتمي اليها جنس البطم[1]. والذي هو محل اختيارنا لدراسة احد انواعه وهو البطم الأطلسي.

من أسمائه الشائعة: البطم أو البطمة (بالعربية)، pistachier (بالفرنسية) و pistachio (بالانجليزية) [1]. يتراوح ارتفاع أشجار البطم من 5 إلى 20 متر، تزهر خلال شهري مارس وأفريل [1] ويتم جني ثماره بين شهري سبتمبر و أكتوبر[2].

I– 2 الامتداد الجغرافي لنبات البطم

يرجع اصل نبات البطم الى آسيا الوسطى وقد وجد في تركيا حوالي 7000 سنة قبل الميلاد و في إيطاليا مند القرن الأول قبل الميلاد. وفي وقت لاحق انتشرت زراعته في البلدان المتوسطية[3].

تمتد أشجار البطم انتشاراً من الصين وبعض دول آسيا (تايوان، الفلبين، الهند، أفغانستان، ايران، العراق، الكويت، سوريا، الأردن، فلسطين،...) وكذلك الدول المطلة على البحر الابيض المتوسط و شمال أفريقية و القرن الافريقي (الصومال، أثيوبيا، جيبوتي، إريتريا وكينيا) الى أمريكا الوسطى والشمالية (المكسيك، الولايات المتحدة الامريكية، الهندوراس وغواتيمالا) [4].

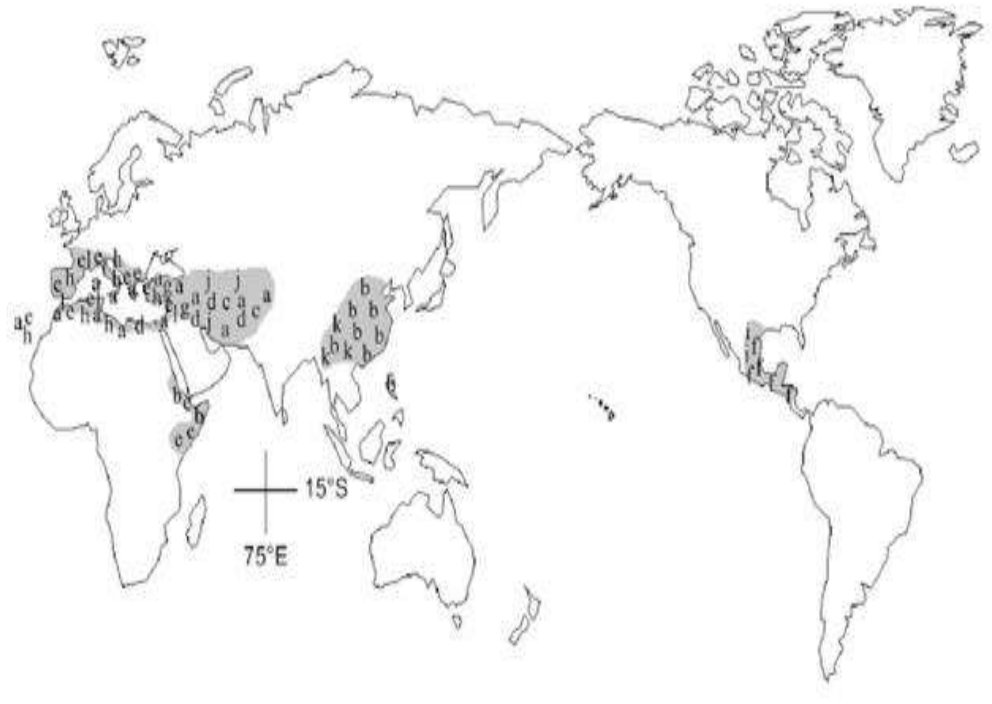


الشكل I–1 خريطة توضح التوزع الجغرافي لجنس البطم[4]

I–3 أنواع البطم المتواجد في العالم:

البطم الأطلسي (*P. atlantica*)، البطم العدسي (*P. lentiscus*)، البطم التربنتيني (*P. terebinthus*)، بطم الكينجوك (*P. khinjuk*)، بطم الأنترغريما (*P. integerrima*)، بطم سبارتا (*P. saportae*) وبطم الوينمانيفوليا (*P. weinmannifolia*)، وينسب أحيانا الى منطقة تواجده أو منطقته الاصلية التي انتشر منها وهنا نذكر البطم الحلبي (*P. vera*)، البطم الفلسطيني (*P. palaestina*) [5]، البطم الأفغانستاني (*P. afghanistania*) [6]، البطم المكسيكي

(*P. mexicana*)، البطم التكساسي (*P. texana*) و البطم الصيني (*P. chinensis*) [5]. وخريطة الشكل (I–2) تبين توزع اهم أنواع البطم في العالم.



a = *P. atlantica* , b = *P. chinensis* , c = *P. integerrima* , d = *P. khinjuk* , e = *P. lentiscus* , f = *P. Mexicana* , g = *P. palaestina* , h = *P. terebinthus* , i = *P. texana* , j = *P. vera* , *k* = *P. weinmannifolia* , l = *P. saportae.*

الشكل I–2 خريطة توضح أنواع البطم المتواجد في العالم والتموقع الجغرافي لكل نوع [5]

I–4 أنواع البطم المتواجد في الجزائر:

تتواجد في الجزائر ثلاث أنواع من البطم [7]:

أ- البطم العدسي *Pistacia lentiscus*: يتواجد في الحوض الصومام (بجاية) بالاشتراك مع الصنوبر الألبي، الصنوبر الأخضر و البلوط الفليني، يسمى محليا بالضرو[7].

ب- البطم التربنتيني *Pistacia terebinthus*: يتواجد في حوض الصومام (بجاية)، شمال جرجرة و في حوض القصر بالاشتراك مع الصنوبر الألبي و البلوط الأخضر[7].

ج- البطم الأطلسي *Pistacia atlantica* Desf.: يصنف ضمنه أربع تحت أنواع وهي: *P. atlantica mutica* ، *P. atlantica cabulica* ، *P. atlantica kurdica* و *P.atlantica atlantica* و هذا الأخير يتواجد في شمال افريقيا [8]، يسمى البطم الأطلسي محليا بالخذيري[7]، إغث أو أجن في مناطق أخرى.

5–I البطم الأطلسي:

1–5–I التصنيف النظامي للنبتة

الجدول 1–I التصنيف النظامي للبطم الأطلسي وفق Fennane [9].

المملكة	النباتات	Plante
الفرع	البذريات	Spermatophyta
تحت الفرع	كأسيات البذور	Magnoliophyta
الصنف	ثنائيات الفلقة	Magnoliopsida
تحت الصنف	الوردانيات	Rosidae
الرتبة	الصابونيات	Sapindales
الفصيلة	المظلية	Anacardiaceae
الجنس	البطم	*Pistacia*
النوع	البطم الأطلسي	*Pistacia atlantica* Desf.

6–I وصف أجزاء شجرة البطم الأطلسي:

شجرة متساقطة الأوراق يتراوح ارتفاعها ما بين 15 و20 متر ونموها بطيء، تبدأ الإنتاج في غضون 5 إلى 7 سنوات، يحتوي غصنها على أوراق مركبة من 7 إلى 11 أوراق طويلة حادة الطرف وبرية، ثمارها بيضوية الشكل ذات نواة واحدة وتكون بعدة الوان (في البداية صفراء وتتغير تدريجيا الى الأحمر فالأزرق ثم الاخضر الداكن عند النضج) ،صالحة للأكل غنية بالزيوت والطاقة. لحاؤها محمر أو رمادي، ينتج الراتنج الذي يفرز بشكل طبيعي في الطقس الحار [2]، الأزهار لا تويجية و محمرة. الذكرية من الطرف والأنثوية من جهة الإبط، فيتم التلقيح عن طريق الرياح[6].

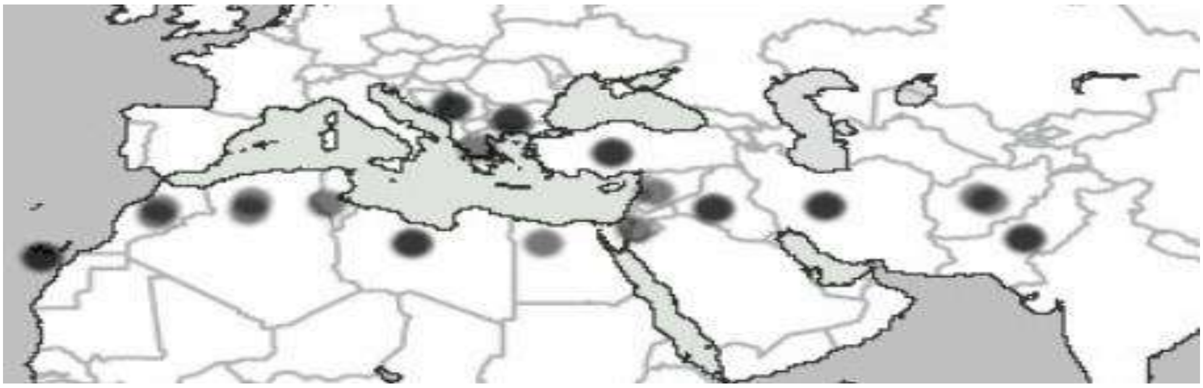
الشكلI–3 أوراق البطم الأطلسي صورت من طرفنا

الشكلI–4 ثمار البطم الأطلسي بألوانها المختلفة [10,8]

الشكلI–5 جذع شجرة البطم الأطلسي[10]   الشكلI–6 أزهار شجرة البطم الأطلسي[8]

7–I التوزيع الجغرافي للبطم الأطلسي

يحتل البطم الأطلسي مساحات واسعة من الجزائر، المغرب، تونس، ليبيا، مصر، سوريا، الأردن، فلسطين، إيران، أفغانستان، باكستان، تركيا واليونان ... [4].



الشكل I–7 خريطة توضح التوزع الجغرافي للبطم الاطلسي في العالم[35]

كما ينتشر البطم الأطلسي في عدة أنحاء من الجزائر خاصة في المناطق الجافة وشبه الجافة كمناطق: الجلفة (عين وسارة ومسعد)،الأغواط (الجزء الجنوبي)، غرداية(واد ميزاب) [2] و قليل الإنتشار في صحراء الهقار والتاسيلي [7]وهو يفضل الصخور والمروج الجافة[2].

الشكلI–8 خريطة توضح التوزع الجغرافي للبطم الأطلسي في الجزائر[11]

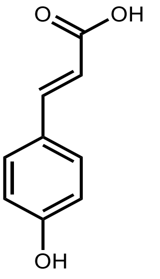
I–8 المسح الكيميائي

I–8–1 المسح الكيميائي لجنس البطم

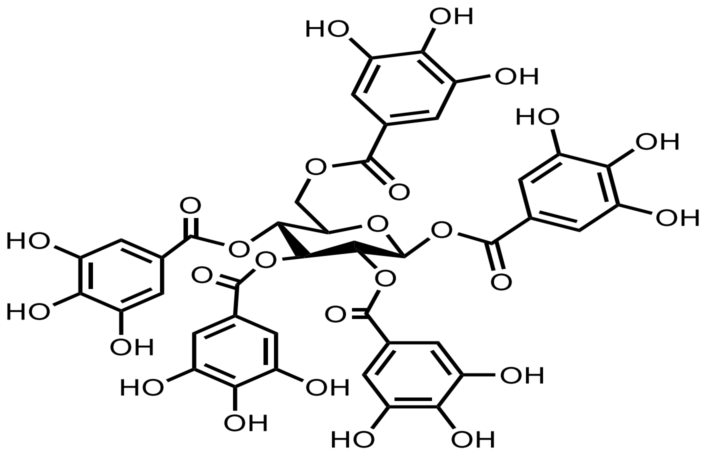
بينت دراسات سابقة لجنس البطم غناه بالتربينات الأحادية مثل (α -terpinolene ، limonene)، التربينات الثلاثية، الفلافونويدات، عديدات الفينول، الزيوت الطيارة، الأحماض الأمينية والستيرولات النباتية. كما بين التحليل الفيتوكيميائي للزيوت الطيارة لجنس البطم أن الإختلافات النوعية و الكمية في المحتوى من الزيوت الطيارة التي تم الحصول عليها من أجزاء مختلفة من النبات ترتبط بعدة معايير مثل نوع النبتة والجزء، وقت الجني، الظروف المناخية والمنطقة الجغرافية [10].

I–8–2 المسح الكيميائي للبطم الأطلسي

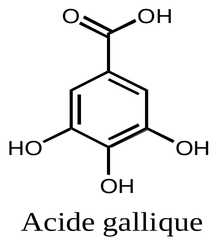
من خلال الدراسات الفيتوكيميائية السابقة لأجزاء مختلفة من النبتة تبين أن الخاصية المضادة للأكسدة قد ترجع لاحتوائها على مركبات فلافونويدية، غلوتانين (gallotannins) والفينولات البسيطة مثل حمض الغاليك (acide gallique) وحمض الكوماريك (acide p-coumarique) [2].



Acide p-coumarique



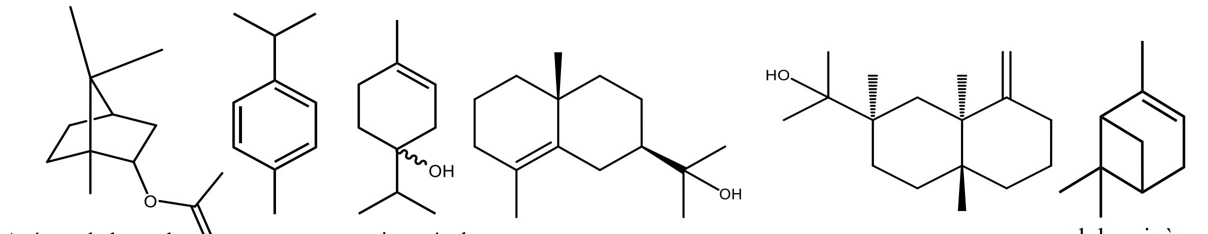
Gallotannine



Acide gallique

بالإضافة إلى مجموعات كيميائية أخرى يتميز بها زيت ثمار البطم الأطلسي وهي التربينات الثلاثية، الأحماض الدهنية غير المشبعة، الستيرويدات والدهون الثلاثية (triglycerides). ومع ذلك فان التركيب الكيميائي للراتنج الزيتي يكشف عن ثرائه بالتربينات الأحادية: α- pinène (70%) و β-pinène(1.94%)[2]. أما المركبات الكيميائية في زيت مختلف أجزاء النبتة هي terpinen-4-ol (21.7%) و elemol (20.0%) التي تتركز أساسا في الأوراق مع كمية صغيرة من

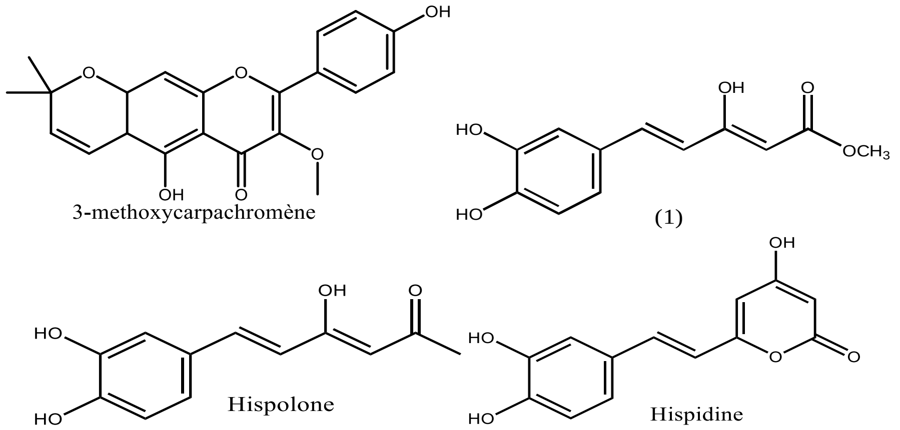
β-eudesmol (8.4%)، γ- eudesmol (7.0%) و(5.0%) p-cymen وعلى العكس من ذلك فقد سيطر على الثمار المركبين (21.5%) bornyl acétate [10,2] و (8.2%) acide octanoique. تمثل التربينات الأحادية والسيسكوتربينات القسم الغالب في الأوراق والثمار [2].



Acétate de bornyle p-cymene terpinen-4-ol Gamma-eudesmol Béta-eudesmel alpha-pinène

كما تبين ثراء النبتة بمركبات متعددة الفينول وتم التعرف على مضادات أكسدة جديدة هي:

(1) (méthyl5-(3,4-dihydroxyphényl)-3-hydroxypenta-2,4-dienoate) [12,2]، (2)Hispolone (6-(3,4- dihydroxyphenyl)-4-hydroxyhexa-3,5-dien-2-one) و(3)Hispidine (6-(2-(3,4-dihydroxyphenyl)vinyl)-4-hydroxy-2H-pyran-2-one) [12]. دراسة أخرى سلطت الضوء على مادة مستخلصة من أوراق وأغصان البطم الأطلسي مضادة للمتصورة المنجلية (anti- *Plasmodium falciparum*) هي الفلافون 3–methoxycarpachromène كما يشار ان لهذا الأخير فاعلية ضد السالمونيلا (*Salmonella*) [10,2].



3-methoxycarpachromène (1) Hispolone Hispidine

المتصورة المنجلية (*Plasmodium falciparum*): إحدى طفيليات الملاريا الرئيسة التي تصيب الانسان [13].

و دلت دراسة أجريت على بذور البطم الأطلسي الجافة على مدى غناها بالأحماض الدسمة مشار إليها في الجدول (I-2).

الجدول I–2 يوضح كمية ونسبة الأحماض الدسمة في بذور البطم الأطلسي الجافة (بـ مغ لكل 100 غ) [14].

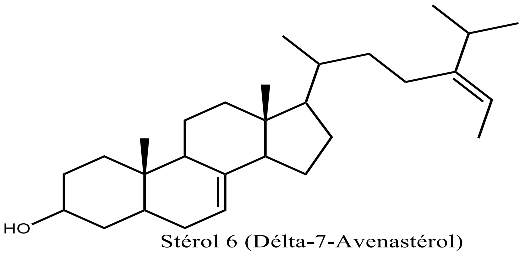
الحمض الدسم	الكتلة (مغ /100 غ)	النسبة(%)
Acide laurique (12: 0)	40	0.07
Acide myristique (14: 0)	50	0.09
Acide palmitique (16:0)	6900	12.21
Acide palmitoléique (16:1)	1000	1.77
Acide stéarique (18:0)	1350	2.39
Acide oléique (18:1)	30600	54.15
Acide linoléique (18: 2)	16300	28.84
Acide linolénique (18:3)	240	0.42
Acide arachidonique (20: 0)	30	0.05
المجموع	56510	100
Acides gras saturés	8370	14.81
Acides gras mono insaturés	31600	55.92
Acides gras poly insaturés	16540	29.27

كما ابرزت نفس الدراسة السابقة احتواء بذور البطم الأطلسي الجافة على مركبات ستيرولية نباتية وهي ممثلة في الجدول(I–3) (بـ ملغ لكل 100 غ) [14].

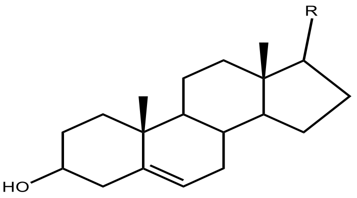
الجدول I–3 يوضح كمية ونسبة الستيرولات النباتية في بذور البطم الأطلسي الجافة (بـ مغ لكل 100 غ) [14].

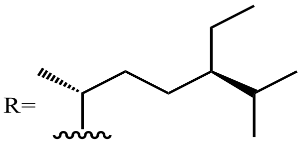
الستيرول (Stérols)	الكتلة (مغ /100 غ)	النسبة (%)
β-sitostérol	95.55	91
Campestérol	5.25	5
Stigmastérol	4.20	4
المجموع	105	100

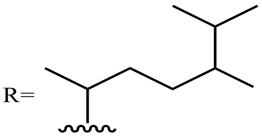
وتم التأكيد ان اهم ستيرول في ثمار البطم الاطلسي وهو β-sitosterol [10] مع نسب من Cholestérol، Δ5-Avenastérol، Δ7-Avenastérol [6] ومركبات أخرى وجدت بكثرة في زيت الثمار هي tocopherols و tocotrienols [10].

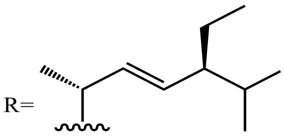


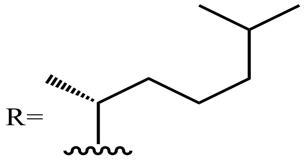
Stérol 6 (Délta-7-Avenastérol)

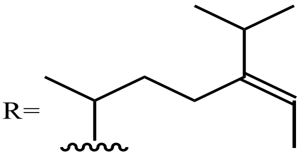



Stérol 1 (Beta-Sitostérol)


Stérol 2 (Campestérol)


Stérol 3 (Stigmastérol)


Stérol 4 (Cholestérol)

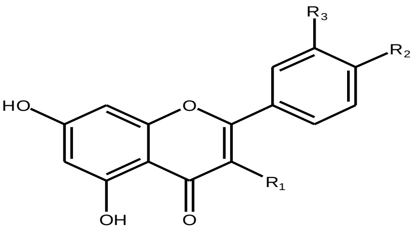

Stérol 5 (Délta-5-Avenastérol)

من المركبات التي تم عزلها في الدراسة الفيتوكيميائية السابقة على البطم الاطلسي:

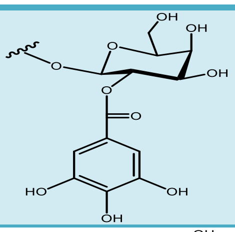
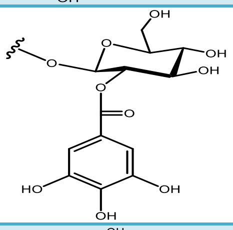
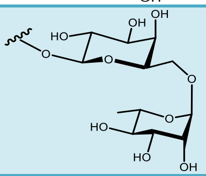
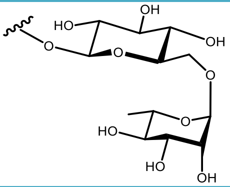
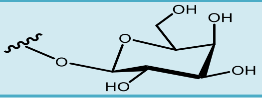
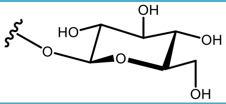
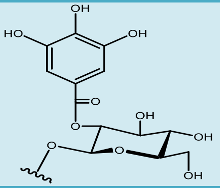
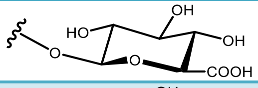
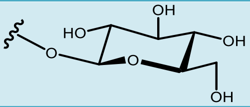
- من الثمار تم فصل المركبات التالية: acétate de bornyle ، terpinen-4-ol، sabinène، myrcène [10]، acide Chlorogénique [12]، acide gallique ، acide ellagique، acide ellagique glucoside ، galloyl quinate، glucoside galloyle، digalloyle quinate-1، digalloyle quinate-2، gallate de méthyle، glucoside digalloyle، glucoside trigalloyle، tetragalloyle glucoside-1 ، tetragalloyle glucoside-2، pentagalloyle glucoside، glucoside acide méthyl ellagique و diglucoside acide ellagique [15].

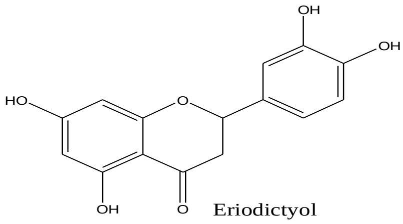
بالاضافة الى مركبات فلافونيدية تم الكشف عنها ايضا في الثمار تتمثل في kampferol، naringine- 7-glycoside، naringine، luteoline-7-glycoside [12]، luteoline [15,12]، kaempferol-3-O-glucoside ، 2´´-O-galloyl-quercetine-3-O-galactoside، 2´´-O-galloyl-quercetine-3-O-glucoside ، quercetine-3-O-rhamnogalactoside ، quercetine-3-O-rhamnoglucoside ، apigenine، quercetine-3-O-galactoside، luteoline-4´-O-glucoside، 2´´-O-galloyl-luteoline-4´-O- glucoside، eriodictyol، quercetin-3-O-glucuronide [15] و Apigénine-6,8-di-C-glucoside [16].

بنى المركبات الفلافونيدية التي تم فصلها من ثمار البطم الأطلسي

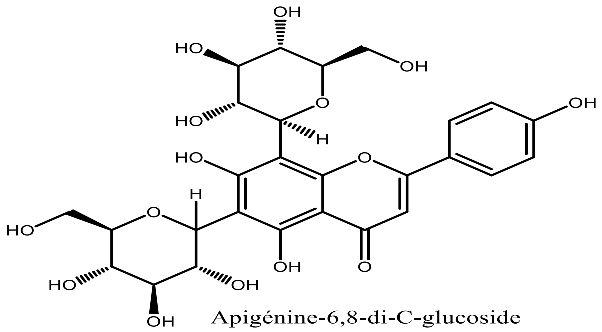


الجدول I–4 بنى بعض المركبات الفلافونيدية

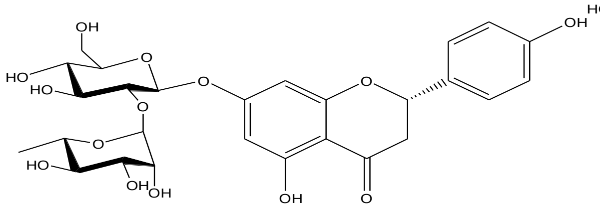
R1	R2	R3	
	OH	OH	2´´-O-galloyl-quercetine-3-O-galactoside
	OH	OH	2´´-O-galloyl-quercetine-3-O-glucoside
	OH	OH	quercetine-3-O-rhamnogalactoside
	OH	OH	quercetine-3-O-rhamnoglucoside
	OH	OH	quercetine-3-O-galactoside
H		OH	luteoline-4´-O-glucoside
H		OH	2´´-O-galloyl-luteoline-4´-O-glucoside
	OH	OH	quercetine-3-O-glucuronide
	OH	H	kaempferol-3-O-glucoside
H	OH	OH	Luteoline
H	OH	H	Apigenine



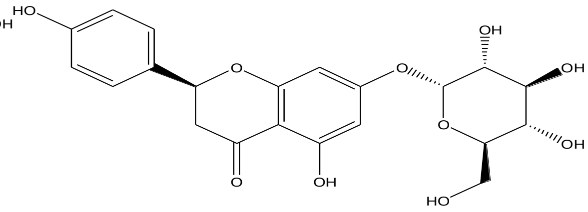
Eriodictyol



Apigénine-6,8-di-C-glucoside



Naringine



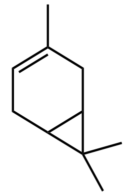
Naringenin-7-glucoside

- من الاوراق: *p*-mentha-1(7),8-diène، myrcene، terpinen-4-ol وocimène [10]، glucogallin، acide galloylquinique ، tetragalloylglucose، acide galloylshikimique، gallate de Methyl ، tetragalloylquinique acide ، acide digalloylquinique ، acide quinique، acide gallique ، trigalloylglucose، acide digallique، acide gentisique [17]، ester méthylique d'acide gallique [12].

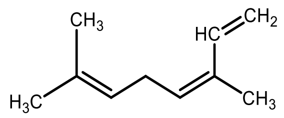
- من البراعم: p-mentha-1(7),8-diène وsabinène[10].

- من الصفراوات (Galles) : Δ_3–carene ، acide gallique ، epicatechine وCatechine [10].

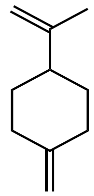
- من الراتنج: acide masticadienolique، acide morolique ، acide ursonique، acide oléanolique ، acide masticadienonique [10].



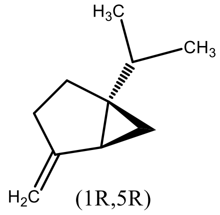
3-carene



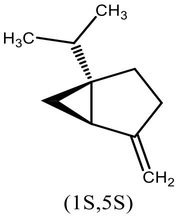
Cis-béta-ocimene



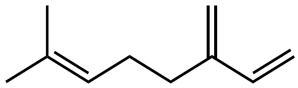
p-mentha-1(7),8-diene



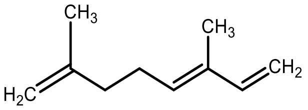
(1R,5R)
R-Sabinène



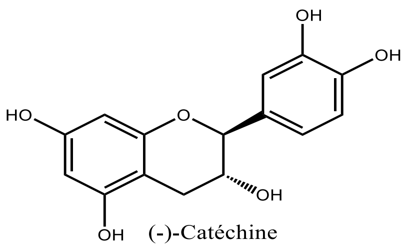
(1S,5S)
S-Sabinène



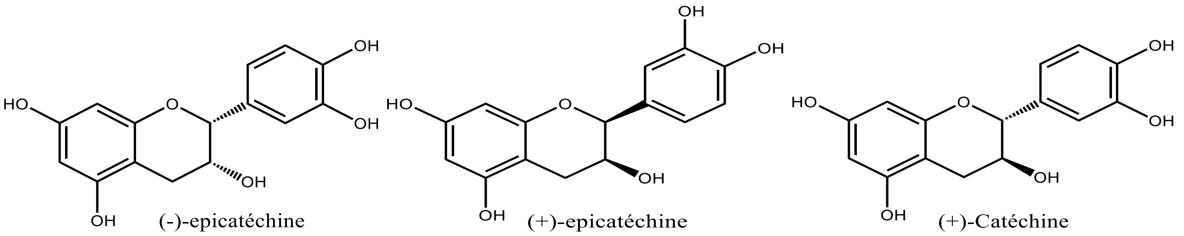
myrcene



Alpha-ocimene



(-)-Catéchine



أما في زيت ثماره تم تحديد الأحماض الدهنية السائدة التالية: حمض الأوليك (Acide Oléique) ، حمض البلميتيك (Acide Palmitique) و حمض اللينوليك (Acide Linoléique) [18]، بالإضافة الى احماض دهنية أخرى acide hexadecanoique، acide pentadecanoique ، acide stéarique ، acide eicosanoique ، acide octadecanoique، acide myristique، acide linolenique، acide lignocerique، omega-3 ، acide arachidonique، acide palmitoleique ، acide margarique و acide behenique [10].

الصفراوات (Galles): هي نوع من تورم النمو على الأنسجة الخارجية من النباتات أو الحيوانات. الصفراوات النباتية هي امتداد غير طبيعي من الأنسجة النباتية، على غرار الأورام الحميدة أو الثآليل في الحيوانات. يمكن أن تسببها طفيليات مختلفة، من الفطريات و البكتيريا، الحشرات والسوس [19].

I–9 المسح البيولوجي

يحتل البطم الأطلسي مكانة هامة في الطب الشعبي فجذب انتباه الباحثين من خلال إمكانياته العلاجية كمضاد للأكسدة، مضاد للميكروبات، مضاد للالتهابات، خافض للحرارة، خافض للسكري الى جانب استخدامها في علاجات أخرى [10,2].

البطم الأطلسي والبطم العدسي هما النوعين الرئيسيين في إنتاج الراتنج الذي يستخدم كمطهر للجهاز التنفسي ولأغراض طبية أخرى. ففي المغرب يستخدم منقوع الأوراق على نطاق واسع لعلاج التهابات العين، وتستخدم ثماره في المطبخ والطب الشعبي في بعض مناطق الجزائر (الجلفة، الأغواط و غرداية). ويخلط زيتها مع عجينة التمر ويؤكل [10,2].

زيت بذور البطم الأطلسي له طعم مشابه للزبدة ويحظى بشعبية كبيرة في مناطق الجلفة، الأغواط و غرداية. فيتم تجفيف البذور وتسحق جيدا وتخلط مع الماء المحلى بالسكر لتشكل على شكل كرات لتستعمل كغذاء[2].

في الطب التقليدي الإيراني قد تم الإشارة إلى أن تناول ثمار البطم الأطلسي مفيد في تقوية الدافع الجنسي، تأثير مدر للبول، يحفز الدورة الشهرية، تخفيف آلام الظهر وآلام المفاصل و لعلاج الإسهال البسيط. والراتنج يمكن استخدامه للتخفيف من فقر الدم. [10]

تستخدم الثمار و الأوراق أيضا كعلف للماشية (خاصة في الخريف). كما يستخدم الراتنج للدباغة إلى جانب مساهمة الشجرة في مكافحة التصحر[7].

الفصل الثاني:

منتجات الأيض

الثانوي

II-1- منتجات الأيض الثانوي:

تبين من المسح الكيميائي للنبتة البطم الأطلسي أنها غنية بمنتجات الأيض الثانوي وهذه الأخيرة هي مجموعة من المركبات الطبيعية تشمل كل من المضادات الحيوية، التربينات، الستروبدات، القلويدات، الفينولات، الفيتامينات وهذه الفئات تنقسم بدورها إلى مجموعة واسعة من المركبات [20].

وهي مهمة جدّا للنبات فهي مصدر للصبغات النباتية، كما أنها تحمي النبات من الميكروبات والحشرات. بالإضافة إلى كونها جد هامّة للإنسان حيث تستخدم في كثير من الصناعات كصناعة الأدوية، الصابون، ومواد التجميل، صباغة الجلود، واستخراج الزيوت العطرية ... [20].

II-2- الزيوت الطيارة:

الزيوت الطيارة عبارة عن خلائط من مركبات عطرية ذات وزن جزيئي منخفض نسبيا واخرى طيارة (تربينات أحادية ونصف ثلاثية) ذات مصدر نباتي والتي تنجم عن عملية التحول الأيضي في النبات[22,21]، نتحصل عليها بواسطة الجرف ببخار الماء أو العصر على البارد، رغم مكوناتها المختلفة فإن الزيوت الطيارة تبدي عددا معينا من الخصائص المشتركة [22].

عموما، تكون سوائل عند درجة الحرارة العادية، ذات رائحة عطرية قوية. قليلة الذوبان في الماء، ذوابة في المذيبات العضوية اللاقطبية وفي الكحولات ذات الدرجة المرتفعة [22].

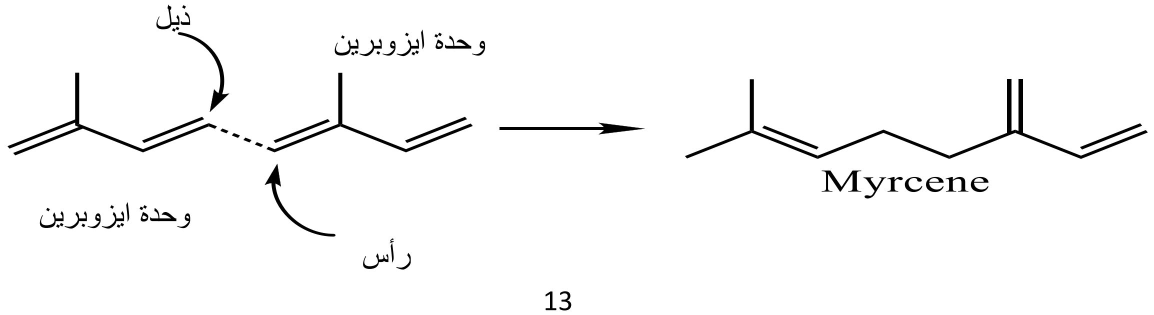
تفرز على شكل إفرازات تتجمع وتلتصق ببعضها البعض[22] داخل تراكيب خاصة مثل الشعيرات الغدية (Glandular hairs) كما في العائلة الشفوية أو القنوات الزيتية (Oil vittae) كما في العائلة الخيمية أو الغدد الزيتية (Oil glands) كما في العائلة السذبية من خلال سطح قشرة الأوراق أو الزهور، و غالبا تنشر معها رائحة خاصة هي عطر النبات[22,21].

تعد النباتات المصدر الأساسي للزيوت الطيارة والثابتة، إذ تتواجد في أكثر من 3000 نبات وفي حوالي ستين عائلة نباتية. والزيوت الطيارة غالبا عبارة عن تربينات أحادية وسيسكوتربينات (نصف ثلاثية)[21].

II-3- التربينـــات:

تؤلـف التربينـــات مجموعـــة واســعة مـــن منتجـــات المملكـــة النباتيـــة. فهـــي مركبـــات مشـــتقة مـــن مـــزيج مـــن وحـــدتين أو أكثـــر مـــن وحـــدات الأيزوبـــرين، الـــذي يتكـــون مـــن خمســـة ذرات كربـــون الـــذي يعـــرف كيميائيـــا باســـم: (2-methylbuta-1,3-diene)[23].

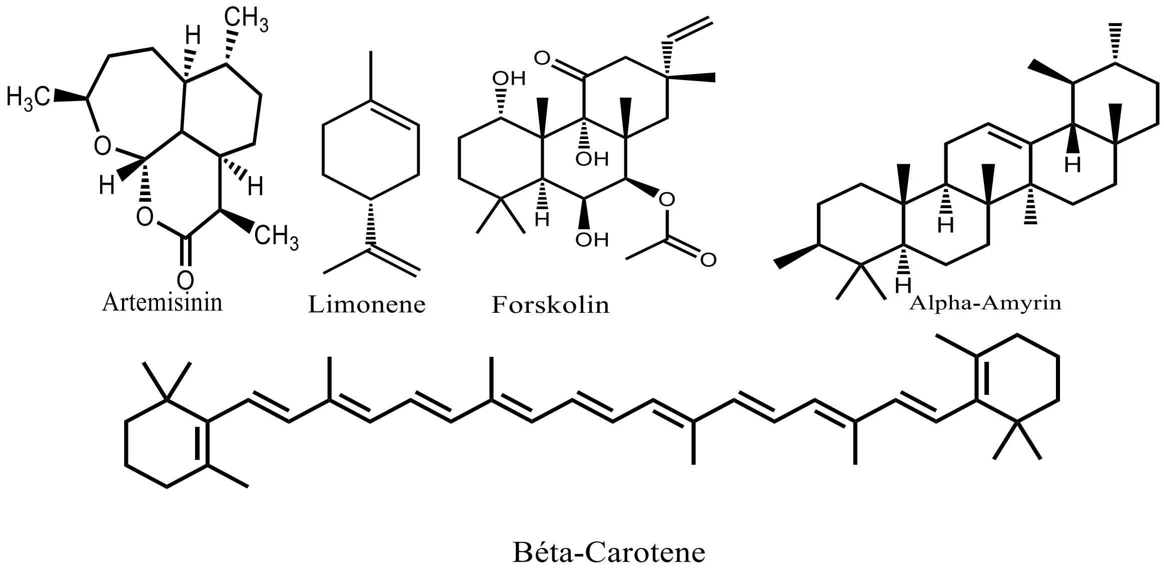
-تتكون التربينات باتحاد رأس ذيل كما هو موضح في المثال التالي[23]:



توجد التربينات في معظم النباتات العليا كما يمكن أن توجد في الطحالب والفطريات، كما تم العثور على بعض التربينات في الحشرات و الجراثيم، و تصنف التربينات حسب عدد وحدات الأيزوبرين الداخلة في تشكيله [23]:

الجدول II–1 تصنيف التربينات[23].

نوع التربين	عدد ذرات الكربون	عدد وحدات الإيزوبرين	مثال
تربينات احادية	10	2	Limonene
سيسكوتربينات	15	3	Artemisinine
تربينات ثنائية	20	4	Forskoline
تربينات ثلاثية	30	6	α-amyrine
تربينات رباعية	40	8	β-carotene
متعددات التربين	أكثر من 40	أكثر من 8	Rubber



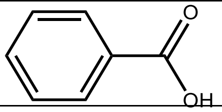
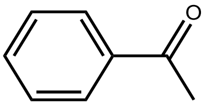
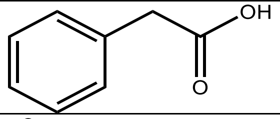
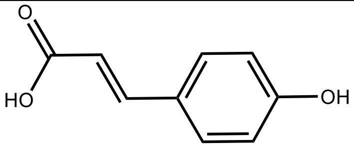
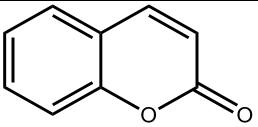
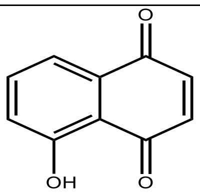
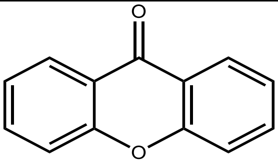
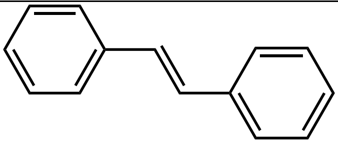
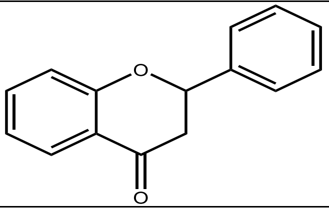
II–4 المركبات الفينولية:

هي جزيئات تتكوّن من حلقة بنزين على الأقل تحوي مجموعة هيدروكسيل حرة أو مستبدلة، يشترط فيها أن تكون مشتقة غير أزوتية، وتصنع الحلقة أو الحلقات العطرية من حمض الشيكيميك أو/ و عديد الأسيتات [20].

تتواجد بكثرة في المملكة النباتية و في مختلف أجزاء النبات مثل: الجذور، الأوراق، الفواكه، القشرة، الأزهار [2].

كما يتم تقسيمها حسب مجموعة المستبدلات، عدد وتغير الوظائف. و أهم أقسام المركبات الفينولية هي الفينولات البسيطة، الأحماض الفينولية، الفلافونويدات، التنينات، الستيلبان، الكومارينات [2].

الجدول II–2 يوضح صيغ بعض الهياكل لمتعددات فينولية [2].

عدد الكربونات	الهيكل	تقسيمات	الصيغة الأساسية
7	C_6-C_1	Acides phenols	
8	C_6-C_2	Acétophénones	
8	C_6-C_2	Acide phénylacétique	
9	C_6-C_3	Acides hydroxycinamiques	
9	C_6-C_3	Coumarines	
10	C_6-C_4	Naphthoquinones	
13	C_6-C_1-C_6	Xanthones	
14	C_6-C_2-C_6	Stilbènes	
15	C_6-C_3-C_6	Flavonoïdes	

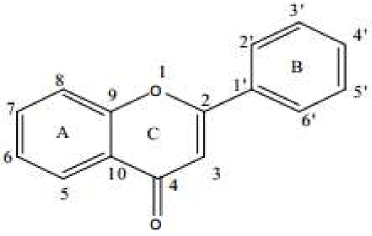
II-5 الفلافونيدات

II-5-1 تعريف الفلافونيدات:

الفلافونيدات هي إحدى نواتج الأيض الثانوية النباتية و يرجع أصل تسمية الفلافونيد إلى الكلمة الإغريقية flavus التي تعني اللون الأصفر[22]، تنتشر الفلافونويدات في الأجزاء النباتية المختلفة، و هي عبارة عن أصباغ نباتية تمسح مجال لوني واسع في النبات، مسؤولة عن تلوين الأزهار، الثمار و أحيانا الأوراق [24,22]، توجد في معظم الأصناف النباتية بالأخص الراقية منها، و منعدمة تقريبا عند الطحالب [22].

في أغلب الأحيان تكون مرتبطة بالسكريات، أي على شكل فلافونيدات جليكوزيدية تتكون من جزء فينول أجليكون أو جينيان مرتبط بجزء سكري برابطة من النوع C- C أو النوع C-O-C [25,24 ,22,21].

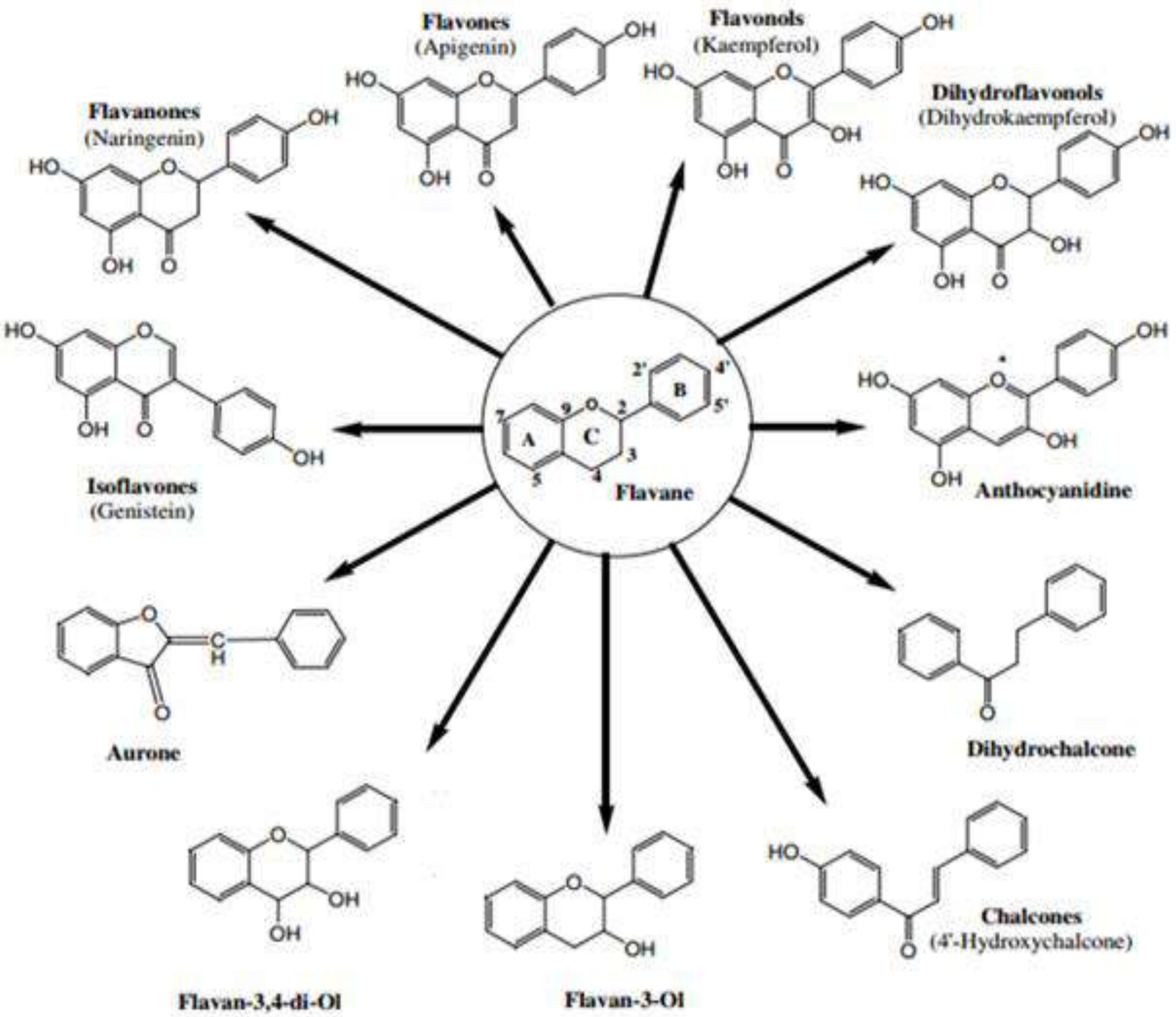
تمتلك جميع الفلافونيدات هيكلًا كربونيًا مكوناً من 15 ذرة كربون موزعة على الشكل C_6-C_3-C_6، وهي عبارة عن وحدتين عطريتين تعرف إحداهما بالحلقة A و الأخرى بالحلقة B ترتبطان بسلسلة جانبية من 3 ذرات كربون قد تكون مفتوحة وقد تكون حلقية لتشكل الحلقة C التي تمثل حلقة Chromane (حلقة البيران المركزية) وتعطي الهيكل القاعدي للفلافونيدات التي تنحدر منه الوحدة الأساسية المسماة 2-phenylchromane كما الشكل(II-1)[20]:



الشكل II-1 الهيكل الاساسي للفلافونيدات

II-5-2 تصنيف الفلافونيدات:

بنيويا تتفرع الفلافونيدات إلى عدة أنواع تبعا: لعدد، موضع وطبيعة المستبدلات التي تكون في أغلب الأحيان عبارة عن مجموعات مثوكسيل أو جليكوزيل أو تبعا لمستوى الأكسدة للحلقة غير المتجانسة و يمكن تلخيص أهم انواعها فيما يلي[25,24]:



الشكل II–2 أهم أنواع الفلافونيدات [25]

حيث تتم التحولات بفضل الانزيمات ذات الاداء عالي الانتقائية.

II–5–3 البناء الحيوي للفلافونيدات

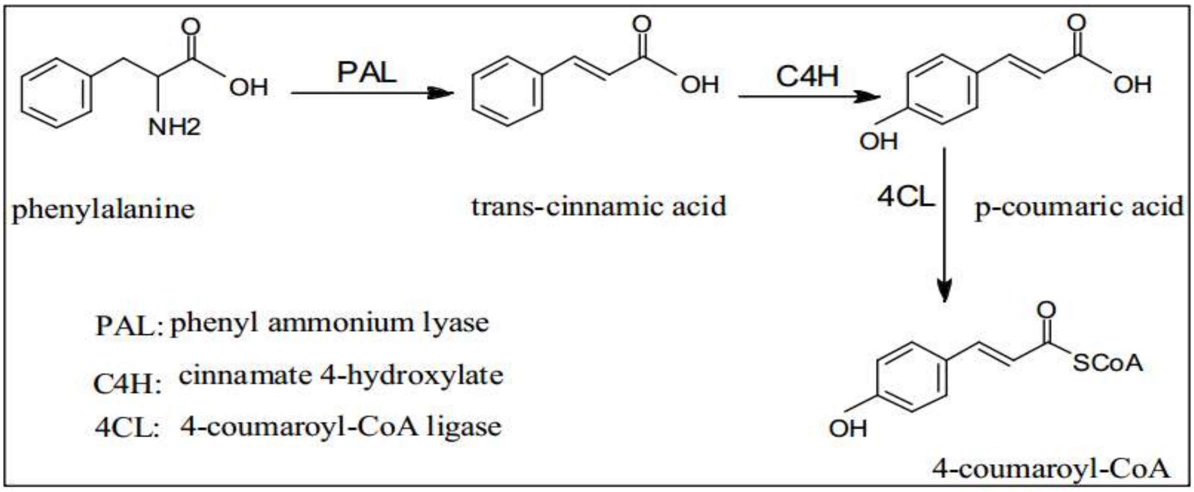
يتم بناء الفلافونيدات في الخلية النباتية انطلاقا من تشكيل الهيكل الأساسي وفق عملية معقدة تشمل سلسلة من التفاعلات [24].

لاحظ الباحث Robinson سنة 1936 أن استبدال النواتين البنزينيتين للمركبات الفلافونيدية مختلف جوهريا فاستنتج أن ليس لهما نفس الاصل الوراثي الحيوي [26].

II–5–3–1 البناء الحيوي للشالكون

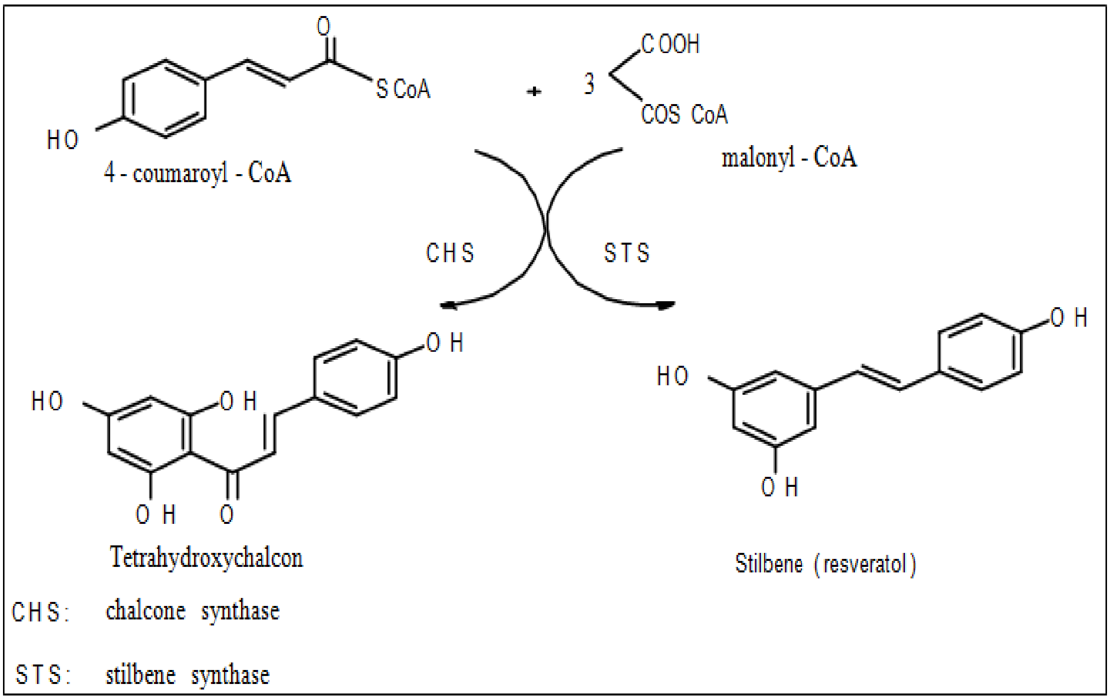
عموما الإصطناع الحيوي للفلافونيدات يبدأ بـ (phenylpropanoid) الذي يتشكل بإزالة مجموعة الأمين لمركب (phenylalanine) بواسطة انزيم (PAL) لإنتاج حمض السيناميك (trans–acide cinnamique) ثم تثبت مجموعة

الهيدروكسيل على الحلقة الأروماتية بواسطة إنزيم (C4H) لينتج المركب (acide p-coumarique) الذي يعطي (4-coumaroyl-CoA) بتحفيز إنزيم (4CL) و التفاعلات تتم وفق المراحل في الشكل (II-3) [24]:



الشكل II-3 تشكيل (4-coumaroyl-CoA) انطلاقا من (phenylalanine)

يبدأ إصطناع الفلافونيدات في الخلية بتكاثف (4-coumaroyl-CoA) مع ثلاث وحدات من مالونيل (Malonyl-CoA) بتحفيز كلا من الانزيمين (CHS) و(STS) لإنتاج الشالكونات والستيلبين [24].

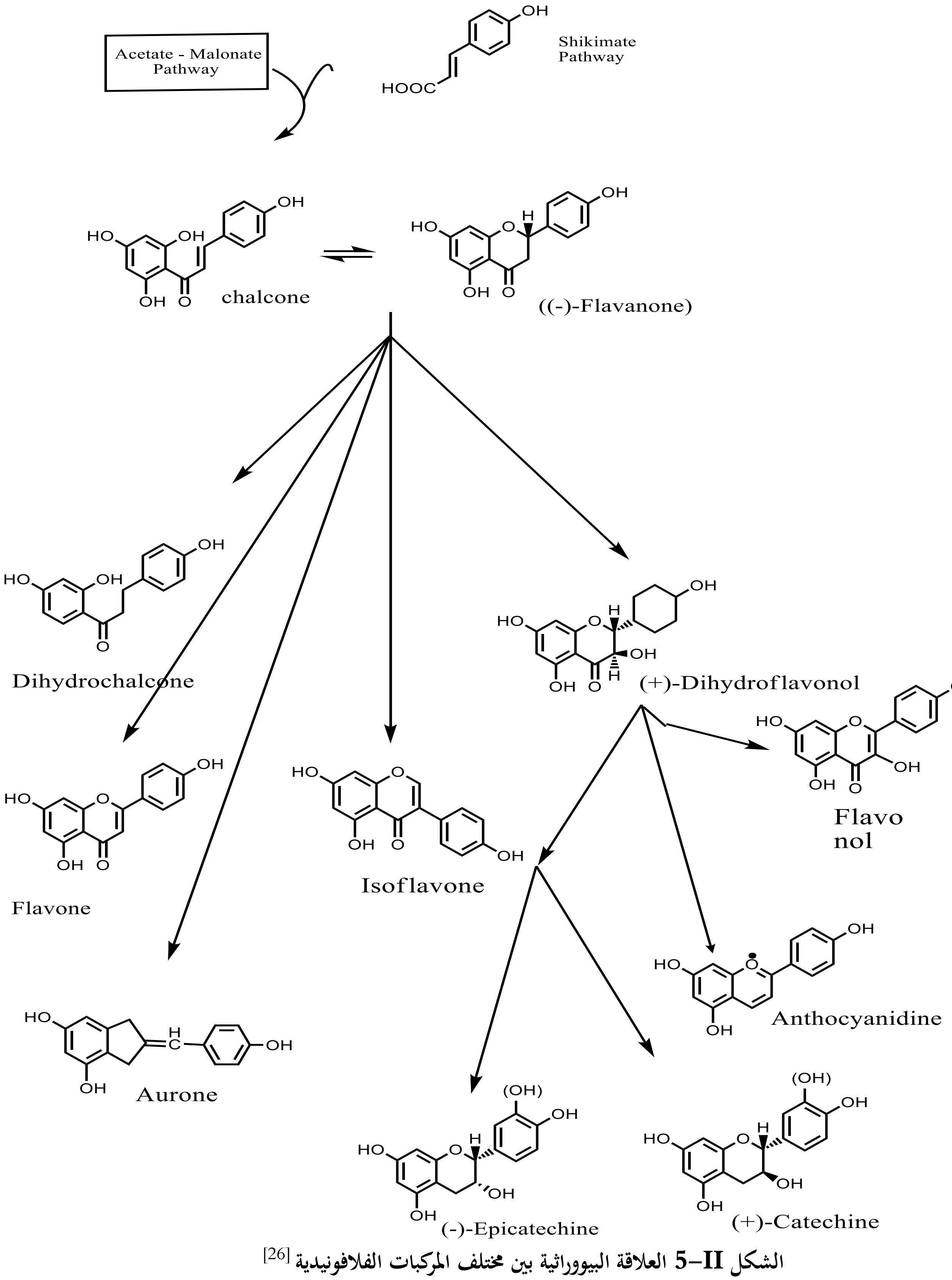


الشكل II-4 تشكل الشالكونات والستيلبين

II-5-3-2 البناء الحيوي لمختلف هياكل الفلافونيدات بدءا من الشالكون

يعتبر تكوين نواة الشالكون نقطة انطلاق باقي الفلافونيدات الاخرى ويتم ذلك فيي البلاستيدات الخضراء، وينتج التنوع الفلافونيدي من التسلسل المثبت على الجدع الأيضي (الميتابولي) المركزي chalcone – flavanone، ويعبر عن كل تسلسل

بمواد متراكمة ذات تعقيد بنيوي يتغير بدلالة الإنزيمات القائمة على خدمته فهناك الإنزيمات المحفزة لتفاعلات التماكب، الأكسدة، الألكلة، الأسيلة، وتثبيت السكر ...إلخ والشكل (II-5) يمثل تشكل مختلف أنماط الفلافونيدات **[26]**.



الشكل II-5 العلاقة البيووراثية بين مختلف المركبات الفلافونيدية [26]

ويمكن للفلافونيدات أن تتواجد في صورة أحادية الجزيئة، بلمرة ثنائية (ديمر) أو عديدة الجزيئة وتعرف الأخيرة بالتانينات (tannins) [26].

II-5-4 أهمية الفلافونيدات

إن معرفة دور وأهمية الفلافونيدات بالنسبة للنبات لازال محدودا ومحصورا.

النبات هو كائن حي يمتلك نظام مقاومة يسمح له بمكافحة اثار البيئة من اجل البقاء و المحافظة على شكله ،و قلب هذا النظام هو إحدى أهم نواتج الأيض الثانوي" **المركبات الفلافونيدية** ".

تتوزع هذه الأخيرة على كافة الأعضاء النباتية تقريبا فتوزعها على المساحات الورقية يشكل طبقة واقية تعمل على الحماية من الظواهر النحتية التبخرية في الأوساط الجافة، ومن المهام الأكثر ذكرا للمركبات الفلافونويدية هو أنها تعمل بمثابة مرشحات للأشعة فوق البنفسجية، مما يؤدي إلى توفير حماية للمواد الأساسية مثل: البروتينات والأحماض النووية من التأثر بهذه الإشعاعات [28].

وبالمقابل الفلافونيدات لها دور بالغ الأهمية في عالم الحيوانات، على سبيل ذلك نذكر الخاصية المضادة للفطريات والمضادة للبكتريا لهذه المركبات التي يستعملها النحل بصفة فطرية لتعقيم خلاياه، وذلك من خلال تواجدها في المادة اللزجة التي تفرزها هذه الحشرات لسد الثغرات بين الخلايا.ولبعض الفلافونيدات مثل: (7-Xylosidcatechin) و (6-methoxy-7-Rhamnosideluteoline) دور في جذب وتوجيه آكلات الأعشاب إلى غذائها و للأيزوفلافونات دور هام خلال دورة تكاثر الثدييات على أساس منشطات ، أو مثبطات للتكاثر [29].

الفعالية المضادة للأكسدة:

من المعروف أن الفلافونيدات لها خصائص مضادة للأكسدة قوية تجاه كثير من الأمراض المرتبطة بالأكسدة: الإجهاد والشيخوخة ،بفضل ارتباطها بالجذور الحرة، حيث أثبتت الدراسات تواجد مستبدلات مجموعات الهيدروكسيل على الحلقة B له تأثير كبير في زيادة هذه الخاصية بينما تواجدها على الحلقتين A و C له تأثير ضعيف، كما أثبتت الدراسات أن هذه الخاصية تزداد ببلمرة الفلافونيدات (فبوليمر الكاتشين مضاد للأكسدة قوي لأنه يملك عدد كبير من مجموعات الهيدروكسيل) [31,30].

الفعالية المضادة للألتهاب:

تؤثر الفلافونيدات على مختلف الالتهابات من خلال تثبيطها لسلسلة من الانزيمات خلال هذه العملية، وقد اثبتت الدراسات بان وجود الرابطة المضاعفة C_2-C_3 له تأثير ايجابي بالإضافة الى عدد ومواضع المجموعات الهيدروكسيلية، حيث ان الخاصية التثبيطية تزداد بتواجد مجموعتي الهيدروكسيل في الموضعين 5و 7على الحلقة A وفي الموضع '4 على الحلقة B بينما تواجدها في الموضع '3 على الحلقة B ينقص من هذه الخاصية [32].

الفعالية المضادة للبكتيريا:

العديد من المركبات الفلافونيدية تمتلك خاصية مضادة للبكتيريا حيث تختلف درجة التثبيط باختلاف بنية هذه المركبات، حيث ثبت أن الحلقة B تلعب دور هام حيث تقتحم الحمض النووي و تثبط اصطناع ADN وARN ووجود المستبدلات الهيدروكسيلية على هذه الحلقة ضروري لتحقيق هذه الفعالية **[30,24]**.

الفعالية المضادة للفيطريات:

تملك بعض من المركبات الفلافونيدية خاصية مضادة للفيطريات أغلبيتها فلافونات وفلافانونات فهذه الأخيرة فعالة ضد الفطر (*albicans candida*)، كما أن الفلافونات متعددة المستبدلات الميثوكسيلية فعالة ضد الفطر (*aspergillus flavus*) **[30,24]**.

الفعالية المضادة للفيروسات:

تلعب الفلافونيدات دورا في تثبيط نشاط الفيروسات كما بينت بعض الدراسات المواقع الفعالة في ذلك تتمثل في توفر ثلاث عوامل ضرورية مجموعة الميثوكسيل في الموضعC_3، الوظيفة الكربونيلية والرابطة المزدوجة C_3-C_2، ولقد توصلت الأبحاث كذلك إلى أن الزيادة في عدد المجموعات الهيدروكسيلية (OH) على الحلقة Aأو B ينتج عنها زيادة في النشاط المضاد للأورام حيث تلعب الإيزوفلافونيدات دور بالغ الأهمية ضد فيروس نقص المناعة (VIH)، ومن بين المركبات الفلافونيدية الفعالة نذكر:

3-methyl Kaempferol , Génistine , Quercétine

كما بينتت الدراسات بان غياب مجموعة الهيدركسيل في الموضع '4 وغياب المستبدلات في الموضع 5ضروري لتحقيق هذه الفعالية**[30]**.

الجدول II–3 :التأثيرات البيولوجية لبعض أنواع الفلافونيدات [24]

الامراض	الفلافونيدات
القرحة	((+)-Cyandidanol-3, meciadanol, Kaempferol, catechins) (Sofalcone, Quercetin)
الالتهاب	(Quercetin, apigenin, catechin) (Hesperidin, rutin, luteolin) (Kaempferol, myricetin, fisetin)
السرطان	(Quercetin, Kaempferol, Galangin, Apigenin) (luteolin, Catechins ,Genistein)
ضعف الذاكرة	(Fisetin) ، (Quercetin) ، (Genistein)
الكآبة	(S-hesperidin, Linarin , Naringenin)
أمراض القلب والأوعية الدموية	(Quercetin) (7’,3’,4’-trihydroxyrutoside)
داء السكري	(Quercetin) ، (Fisetin)

الحساسية	(Rutin, Citrin) ، (Quercetin)
الكبد	(luteolin, Onitin) , (Avicularin, hirustrin) ، (Quercetin)
الجلطة	(Tangeratin, hesperidin, quercetin, rutin) , (O-Trihydroxyethylrutoside (-)Nobelitin, droxyethyl, rutoside, (+)catechol), (sinesetin)

II-5-5 الدراسة الكيميائية للفلافونيدات:

II-5-5-1 الاستخلاص:

تستخلص الفلافونيدات باستخدام مذيبات مختلفة القطبية و يتم اختيار المذيب المناسب وفقا لنوع الفلافونيد المراد استخلاصه، فالفلافونيدات ضعيفة القطبية (Methoxy flavone، Flavonone و isoflavones . . .الخ) تستخلص بأحد المذيبات: الكلوروفورم، ثنائي كلورو ميثان، الاسيتون، ثنائي اثيل ايثر، بينما المركبات الاكثر قطبية كالفلافونيدات عديدة الهيدروكسي و كذا السكرية فتستخلص باستعمال خلات الإيثيل و الكحول البيوتيلي [26].

اشهر الطرق اتباعا في استخلاص المركبات الفلافونيدية هو الاستخلاص الانتقائي باستخدام مزيج من الميثانول (أو الايثانول) مع الماء بنسب (70٪ أو٪ 80)، ثم نبخير الكحول و يخضع الطور المائي لاستخلاص سائل-سائل باستعمال المذيبات مختلفة وفق تدرج القطبية لها [25,24].

II-5-5-2 الفصل الكروماتوغرافي:

يعد الفصل الكروماتوغرافي من انجع الطرق وأكثرها اتباعا في فصل وتنقية المركبات الفلافونيدية، وقد طبقت منذ القدم؛ فعلى سبيل المثال استخدمت كروماتوغرافيا العمود بتشى أطوارها الثابتة (السليلوز، السيليكجال، متعدد الأميد) في فصل هذه المركبات ويعد هذا الأخير الأنجع لفصل كل أنواع هذه المركبات.

كما تعد كروماتوغرافيا الورق التحضيرية من أحسن هذه الطرق خصوصا في فصل الفلافونيدات الجليكوزيدية و يكمن العيب فيها في صعوبة التخلص من آثار الورق المستعمل ومن اشهر الاطوار المتحركة لها نذكر[33]:

BAW: n-BuOH/AcOH/H2O(4/1/5)
TBA: t-BuOH/AcOH/H2O(3/1/1)
AcOH: (10 % - 30 %)

وبالمقابل نجد انه من ابسط وأسرع طرق الفصل الكروماتوغرافي في هذا المجال كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة التحضيرية (CCM)، حيث يعرف السليكاجال تطبيقا واسعا نظرا لتوفره وقلة تكلفته ومن أشهر الاطوار المتحركة له ما هو مذكور في الجدول (II-4) [33].

الجدولII-4 أهم الأطوار المتحركة لفصل الفلافونيدات على كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة باستعمال سليكاجال كطور ثابت [24]

نوع الفلافنويد	الطور المتحرك
فلافونيد جليكون (Flavonid glicon)	EtOAc/CHCl3 : 60/40
	CHCl3/MeOH : 96/4
	Toluene/CHCl3/MeCOMe : 8/5/7
	Toluene/HCOOEt/HCOOH: 5/4/1
	Toluene/EtCOMe/HCOOH: 18/5/1
فلافونيد جليكوزيد (Flavonid glicosed)	n-BuOH/HOAc/H2O: 65/15/25, 3/1/1
	EtOAc/EtOH/HCOOH/H2O: 100/11/11/26
	EtOAc/HCOOH/HOAc/H2O: 100/11/11/26, 25/2/2/4
	CHCl3/MeCOMe/HCOOH: 50/33/17
	CHCl3/EtOAc/MeCOMe: 5/1/4
شالكون (Chalcone)	EtOAc/hexane: 1/1
إيزوفلافون	CHCl3/MeOH: 92/8, 3/1
إيزوفلافون جلاكوزيد (isoflavone glicosed)	n-BuOH/HOAc/H2O: 4/1/5 (الطور العضوي)
ثنائي هيدروفلافونول (Dihydroflafonol)	CHCl3/MeOH/HOAc: 7/1/1
أنثوسيانيدين (Anthocyanidines)	BuOH/HOAc/H2O: 4/1/2
	EtCOMe/HCOOEt/HCOOH/H2O: 4/3/1/2

II-5-5-3 الطرق الطيفية:

II-5-5-3-1 طيف الأشعة فوق البنفسجية(UV) :

تعتبر مطيافية الأشعة فوق البنفسجية من أهم الطرق المستعملة للتعرف على البنية الكيميائية للفلافونيدات، حيث يسجل الطيف عادة للمركب الفلافونيدي في محلول الميثانول أو الإيثانول، وبصورة عامة فإن الطيف (UV) يتميز بعصابتين في جميع الفلافونيدات إلا أن موضع امتصاص هاتين العصابتين يختلف باختلاف نوع المركب الفلافونيدي، الجدول (II-5) [33].

الجدولII-5 يوضح بعضا من تلك الإمتصاصات[33]:

نوع المركب الفلافونيدي	العصابة λ_I(nm)	العصابة λ_{II}(nm)
فلافون	350-304	270-250
فلافونول (OH الموقع3 مستبدلة)	360-330	280-250
فلافونول (OH الموقع3 حرة)	385-352	280-250

إيزوفلافون	330-310 ذروة في 320	275-245
فلافونون أوثنائي هيدروفلافونول	330-300	295-275
شالكون	390-340	270-220
أورون	430-370	270 -230
أنثوسيان أو أنثوسيانيدين	560-456	280 -270

يعتمد مكان امتصاص العصابتين ضمن المدى المذكور في الجدول على عدد ومواضع مجموعات الهيدروكسيل البديلة، فمن الملاحظ أنه كلما زاد عدد مجموعات الهيدروكسيلية فإن عصابة الامتصاص تنزاح إلى طول موجي أعلى وعند استبدال مجموعات الهيدروكسيل بمجموعات ميثوكسيل تنزاح عصابتا الامتصاص إلى طول موجي أقل[33].

الفصل الثالث:

الفاعلية المضادة للأكسدة

III-1 مقدمة:

الأكسدة هي انتقال الكترونات من مادة ما إلى العامل المؤكسد، حيث أن العامل المؤكسد هو المادة القادرة على ان تختزل (تستقبل الكترونات) وترجع غيرها (أي تفقد غيرها الكترونات) [34].

تعتبر الأكسدة أحد التفاعلات الأساسية والمهمة في جسم الإنسان، فمثلاً يقوم الجسم بأكسدة الغذاء للحصول على الطاقة، فيحتاج الأكسجين لذلك، لكن بعض نواتج هذه الأكسدة عبارة عن اجسام ضارة تدعى الجذور الحرة [34].

الجذور الحرة لا تصدر فقط من عملية احتراق الاكسجين بل هنالك عوامل خارجية كثيرة تؤدي الى ذلك منها : التعرض للإشعاع سواء من الشمس لمدة طويلة او من مصدر صناعي كأشعة اكس(X) المستخدمة في الطب، أو الصادرة من الكومبيوتر والتلفاز، تدخين التبغ ودخان السيارات والمصانع، التمارين الرياضية العنيفة، الوجبة الغنية بالأحماض الدهنية و العوامل المسرطنة [35].

ومن لطف الخالق بنا وعظمة تدبيره أن أجسامنا تصنع مركبات تثبط هذه الجذور تسمى مضادات الأكسدة، تتمتع هذه المركبات بميزة أنها قابلة للأكسدة من قبل الجذور الحرة، وبهذا فهي تحمي المركبات العضوية في الجسم من الأكسدة.و لكننا نحتاج إلى كمية إضافية لحماية الجسم، عن طريق الأغذية المحتوية على مضادات الأكسدة الطبيعية الموجودة في الخضراوات الطازجة والفواكه والأغذية البحرية وبعض المكسرات وغيرهم [35].

تسبب الجذور الحرة عدة أمراض خطيرة منها: السرطان، الأمراض القلبية، الشيخوخة، بعض أمراض العيون، الامراض النفسية والعصبية (الزهايمر، البيركينسون ...)، تليف الكبد، أمراض الدم وغيرها [35].

III-2-1 الجذور الحرة:

وهي عبارة عن وحدات غير مستقرة تعاني من نقص الالكترونات، فهي تسعى لإكمال هذا النقص بهجومها على مركبات بها ذرات تملك كما من الالكترونات وبالتحديد تهاجم المركبات التي قد تكون وظيفية أو بنائية على النحو التالي: تهاجم ليبيدات الأغشية مما يسهل وصولها الى داخل الخلايا لتهاجم مركبات ذات أدوار وظيفية هامة كالبروتينات والإنزيمات، والتفاعل معها قد يؤدي الى خلل وظيفي ما. أخطر ما تقوم به الجذور الحرة هو الارتباط بالأحماض النووية مما ينتج عنه تخريب في البنية وبالتالي ظهور الطفرات وتدمير الجسم [37,36].
تستمد الجذور الحرة الإلكترونات من ثلاثة عناصر: الأكسجين، النيتروجين والكبريت وبالتالي تنتج الأنواع التفاعلية التالية:

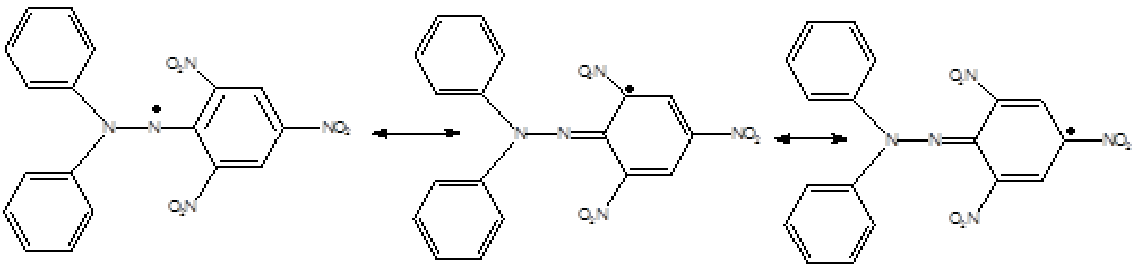
النوع الأكسجيني التفاعلي (ROS)، النوع النيتروجين التفاعلي (RNS) والنوع الكبريتي التفاعلي (RSS).

النوع الأهم بالنسبة للإنسان هو (ROS) الذي ينتج في الجسم إما من مصادر فيزيولوجية منها الأكسدة الذاتية الناتجة من تنشيط الخلايا المناعية أو من مصادر غير فيزيولوجية منها الاشعة فوق البنفسجية [38].

من الوسائل المعتمدة في المخبر لقياس الفاعلية المضادة للأكسدة استعمال الجذر DPPH.

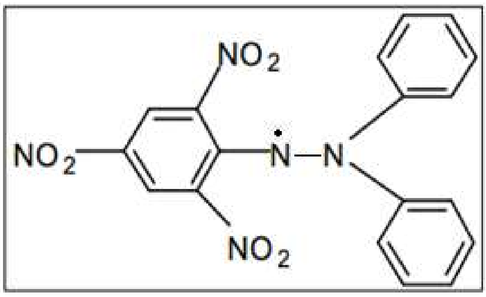
III-2-2 الجذر: DPPH (1,1- Diphenyl-2-picryl-Hydrazyl)

هو عبارة عن جذر مستقر على خلاف الجذور الحرة الاخرى لأن الالكترون المنفرد تتقاسمه كل ذرات الجزئ كما توضح صيغه الحدية في الشكل (III-1). عدم ثبات الالكترون المنفرد يعطي اللون البنفسجي الداكن عند إذابته في الإيثانول ويتميز بطول موجة امتصاص 520-515 nm [39].

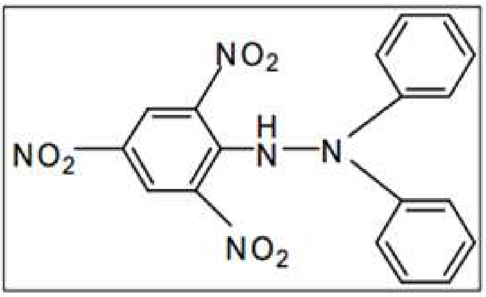


الشكلIII-1 التراكيب الرنينية لجذر DPPH

عند خلط محلول DPPH مع المادة المضادة للتأكسد نتحصل على الصيغة المرجعة. يمكن ملاحظة هذا الإرجاع بفقدان اللون البنفسجي. وقد تم تطبيق طريقة DPPH على نطاق واسع لتقدير نشاط مضادات الأكسدة في السنوات الأخيرة نظرا للايجابيات التي تتمتع بها هذه الطريقة أهمها: السرعة والفاعلية، والشكلين (III-2) و(III-3) يوضح صيغه [39].



الشكل III -2 الصيغة المؤكسدة [24]



الشكلIII-3 الصيغة المرجعة [24]

III-3 مضادات الاكسدة:

هي جزيئات قادر على إبطاء أو منع تأكسد الجزيئات في جسم الكائن الحي و بما أن التأكسد هو تفاعل كيميائي يقوم بتحويل الالكترونات من مادة معينة إلى عامل مؤكسد أي التسبب في سلسلة من التفاعلات تتلف الخلايا ، فإن مضادات التأكسد تمنع أو تثبط هذه السلسلة من التفاعلات بإزالة الوسيط الأساسي تماماً كما عرفها هاليويل (Halliwell) بانها كل مادة تتواجد بتركيز منخفض بالنسبة للمادة المؤكسدة ولها القدرة على منع أو تثبيط هذه المادة [40].

كما أنه هنالك عدة تعريفات مختلفة لمضادات الأكسدة منها:

- المادة المتواجدة بتراكيز منخفضة مقارنة مع المادة القابلة للأكسدة، فهي تؤخر بشكل كبير أو تمنع أكسدة تلك المادة [38].
- المادة التي تمنع أو تقلل الضرر التأكسدي للجزيء الهدف [38].

ومن الناحية الغذائية تعرف مضادات الأكسدة بأنها تلك المركبات التي تضاف إلى الغذاء بتراكيز منخفضة، بحيث تمنع أو تعيق أكسدة بعض المركبات الحيوية مثل الدهون والكربوهيدرات والأحماض النووية ...وغيرها [34].

III-4 تصنيف مضادات الأكسدة

III-4-1 حسب آليات تفاعلات مضادات الأكسدة

أ- مضادات الأكسدة الأولية

هي مركبات تتفاعل مع الجذور الليبيدية (L·, LO·, LOO·) لإنتاج مركبات أكثر استقرار (LH, LOH, LOOH) وهذا راجع إلى أنها مركبات مانحة لبروتونات نشطة، ومشتق الجذر يحول إلى ناتج مستقر [42,41].

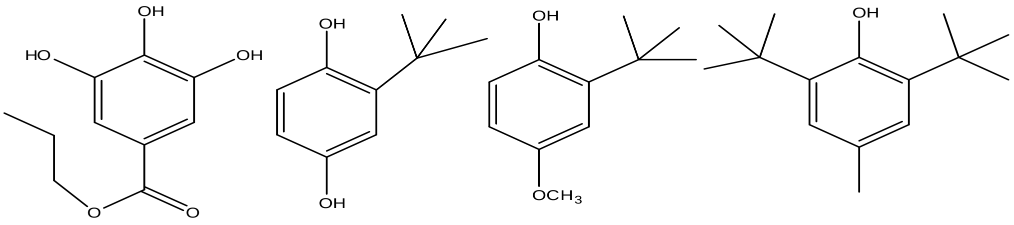
ب- مضادات الأكسدة الثانوية (وقائية)

وفق Gordan فإن المركبات المضادة للأكسدة الثانوية هي المركبات التي تؤخر أكسدة الدهون في تفاعلات مختلفة: امتصاص الأشعة فوق البنفسجية، التمخلب مع المعادن، تثبيط الأكسجين الأحادي وتفكك الهيدروبيركسيد [43].

III-4-3 حسب مصدرها

أ- الصناعية: تعتبر مضادات الأكسدة المصنعة كعنصر أساسي يجب إضافته للأطعمة المعلبة للتقليل من إتلافها إلى أقصى حد وذلك مخافة سرعة تأكسدها، منها BHA (3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole)، PG (Gallate Propylée)، (2,6-ditertiobutyle-4-hydroxytoluéne) و TBHQ(tertiobutylhydroxyquinone). هذه المركبات واسعة الاستعمال في الصناعة الغذائية، لأنها فعالة وقليلة التكلفة بالمقارنة مع نظيراتها الطبيعية [44].

ومع ذلك فهي تحتاج إلى دراسة استباقية من ناحية سلامة استعمالها، ففي السنوات الأخيرة أثيرت العديد من الشكوك حول مدى سلامة مضادات الاكسدة الصناعية من الناحية الصحية، إذ أشير إلى أن استخدام هذه المضادات ينتج عنه مواد مسرطنة أو سمية، لذلك إتجه الباحثون واجتهدوا في ايجاد مضادات طبيعية أكثر أمانا، فسلط الضوء على المركبات المستخلصة من النباتات وعلى رأسها المركبات الفينولية التي تتمتع بفعالية مضادة للأكسدة عالية [46,45].



PG	TBHQ	BHA	BHT

الشكلIII -4 مضادات الأكسدة المستعملة في الصناعة الغذائية [48]

ب- الطبيعية: ونذكر منها المركبات الفينولية (الفلافونيدات، التانينات، الأحماض الفينولية) الكاروتينويدات، ثنائيات التربين، المركبات العضوية الكبريتية، الفيتامينات [47].

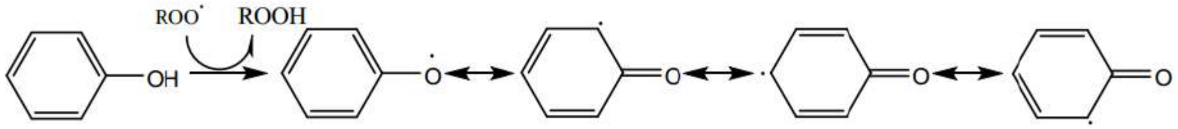
III-5 آلية عمل مضادات الأكسدة

تعمل مضادات الأكسدة الاولية على إعاقة وقطع تفاعلات انتشار السلسلة وبالتالي تبطئ عملية الأكسدة، وتعود لتتسارع عند نفاذها. وتعد متعددات الفينول من أهم مضادات الأكسدة [49].

$RH + R'^{\cdot}$	⟷	$R^{\cdot} + R'H$
$R'^{\cdot} + O_2$	⟷	$R'OO^{\cdot}$
$ROOH$	⟷	$ROO^{\cdot} + H^{+}$
$ROOH$	⟷	$RO^{\cdot} + OH^{-}$
$2ROOH$	⟷	$RO^{\cdot} + ROO^{\cdot} + H_2O$
$R'OO^{\cdot} + RH$	⟷	$R'OOH + R^{\cdot}$

يحدث التأكسد بسرعة عالية وبطاقة تنشيط منخفضة جدا ولذلك يكون تركيز جذور الألكيل بيروكسي $ROO^{\cdot}$ أعلى بكثير من جذور الألكيل $R^{\cdot}$. وذلك في جميع المنظومات الغذائية الحاوية على الأكسجين [49].

تقوم المركبات الفينولية بدور المستقبلات للجذور الحرة المتشكلة في مرحلة البدء وذلك من خلال التنازل عن $H^{\cdot}$ ليشكل جذر الفينوكسيل المستقر بسبب صيغه الحدية التالية [51,50]:



الشكلIII-5 الصيغ الحدية لمركب فينولي [48]

III-6 الآثار الضارة للمواد المضادة للأكسدة

تعد مضادات الأكسدة الصناعية أقل خطورة مقارنة مع منتجات تأكسد المواد الدسمة دون إضافة مضادات الأكسدة، ولكن لها تأثير جانبي على صحة الإنسان عند استعمالها [52]. نأخذ على سبيل المثال الدراسة التي أجريت في إطار الفحص التجريبي لسرطان البروستات والرئة والقولون والمستقيم والمبيض. كانت دراسة استطلاعية في الولايات المتحدة تشمل 25.400 إمرأة تتراوح أعمارهن مابين 55 و74 سنة أي بعد سن اليأس. تمت متابعتهن لمدة 10 سنوات، وأظهرت النتائج أن خطر الإصابة بسرطان الثدي زادت بنسبة كبيرة (20%) لدى النساء اللواتي لديهن حامض الفوليك (Acide folique) أكبر من أو يساوي 400 ميكروغرام في اليوم. في حين لم يرتبط تناول حمض الفوليك (Acide folique) الغذائي مع زيادة الخطر [53].

الجانب التطبيقي

الفصل الرابع:

العمل التطبيقي

IV–1 الدراسة الفيتوكيميائية لنبتة *P. atlantica* Desf.

IV–1–1 تحضير المادة النباتية:

جني، تجميع وتجفيف الثمار:

تم جني وتجميع ثمار النبتة في شهر جويلية 2016 من منطقة أولاد جلال بولاية بسكرة. أجريت عملية تجفيف المادة النباتية في مكان خاص تحت الظل وبعيدا عن الرطوبة و تم فرزها حسب ألوانها.

تكسير البذور:

تم تكسير الثمار باستخدام هاون للحصول على فتات غير ناعم و تجنبنا خروج الزيت منها. كان الوزن المستعمل من الثمار في كل حالة حسب ما يشير إليه الجدول (IV–1)

الجدولIV –1 الوزن المستعمل من الثمار

لون الثمار	الأحمر	الأزرق المحمر	الأسود المحمر	الأسود	الأخضر
الوزن المستعمل بالغرام	18 غ	18 غ	18 غ	18 غ	100 غ

IV–1–2 الاستخلاص

النقع في ايثر البترول

تم نقع فتات ثمار النبتة في ايثر البترول مدة ليلة بغية التخلص من الكلوروفيل والدهون، بعدها ترشح وتجفف.

النقع في المحلول الكحولي

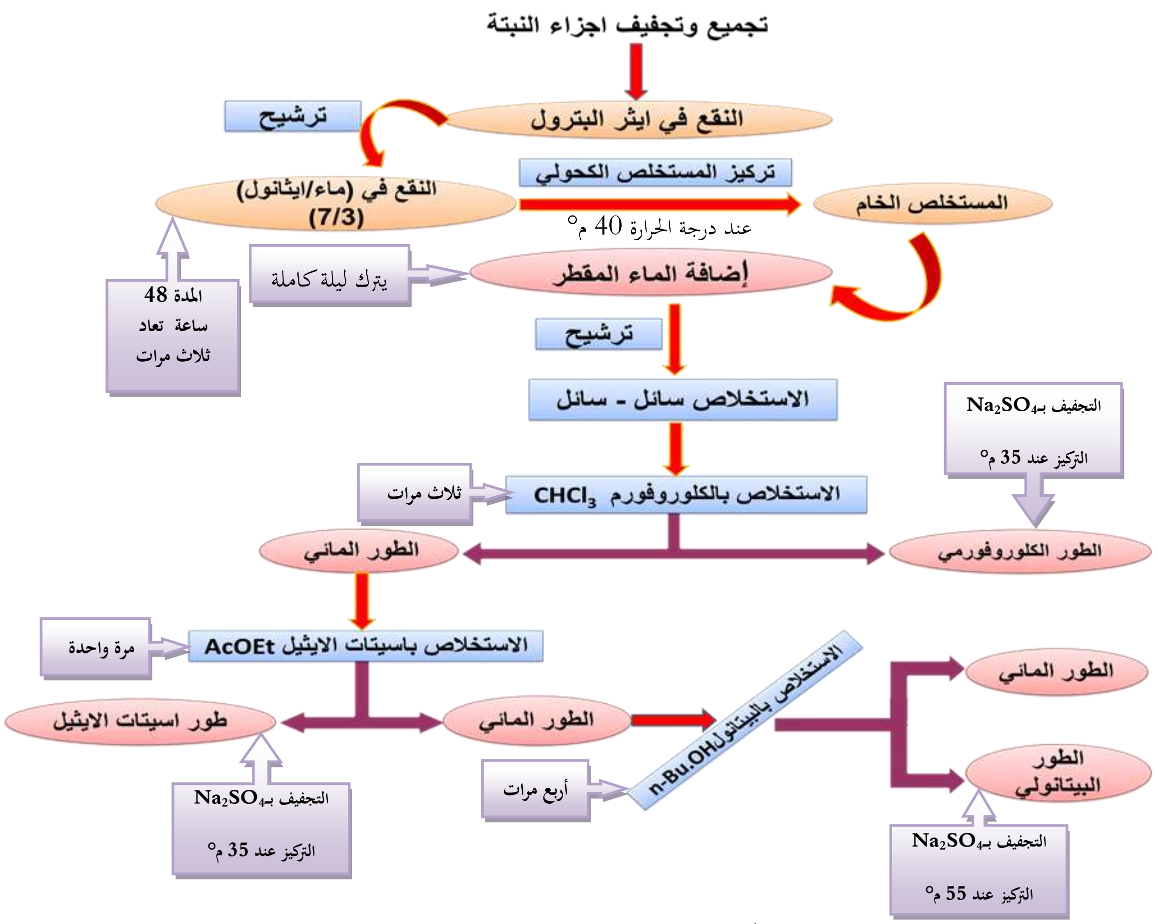
تنقع فتات الثمار من جديد في محلول كحولي ايثانولي ($EtOH/\ H_2O$: 70/30) وتترك لمدة 48 ساعة، ليُرشح بعدها ويُركز الراشح، أما المحلول المسترجع بعد التركيز فيُجدد بالكمية الكافية لغمر المادة النباتية وهذا لإعادة العملية حتى يضعف تركيز لون الراشح أي استخلاص اكبر كمية ممكنة ولذلك كررنا العملية 3 مرات.

إضافة الماء المقطر

نضيف للمستخلص الخام الماء المقطر الدافئ حسب العلاقة: من 400 إلى 600 مل ماء لكل واحد كيلوغرام (1 كغ) من ثمار النبتة ويترك ليلة كاملة للراحة، ثم يرشح مرتين للتخلص من الرواسب.

مرحلة الاستخلاص سائل–سائل

في هذه المرحلة قمنا باستخلاص انتقائي من نوع سائل–سائل، حيث بدأنا بالكلوروفورم بنسبة الثلث من حجم المستخلص المذاب في الماء المقطر وكررت العملية 3 مرات، وبعد فصل الطور العضوي عاملنا الطور المائي المتبقي باسيتات الايثيل (مرة واحدة)، ثم فصلنا الطور العضوي و عاملنا الطور المائي الجديد بالبيوتانول النظامي لأربع مرات وتم الاحتفاظ أيضا بالطور المائي في مكان بارد و بعيد عن الضوء من أجل الدراسة الفيتوكيميائية. يجفف الطور العضوي في كل مرحلة بـ Na_2SO_4 و يركز تحت ضغط منخفض في جهاز التبخير الدوراني (Rotavapeur).



الشكلIV –1 مخطط مراحل الاستخلاص للنبتة

بعد مراحل الاستخلاص وتركيز المستخلصات تم أخذ أوزانها وحساب المردود والنتائج موضحة في الجدول(IV–2)

الجدول IV–2 وزن ومردود المستخلصات

اللون	المادة النباتية	المستخلص	وزن المستخلص	المردود%
الأحمر	18 غ	مستخلص إيثر البترول	1.4504 غ	08.0577 %
		مستخلص الكلوروفورم	0.0153غ	0.0850 %
		مستخلص خلات الإيثيل	0.0221غ	0.1227 %
		مستخلص البيوتانول	0.1336 غ	0.7422 %
الأزرق المحمر	18 غ	مستخلص إيثر البترول	2.0180 غ	11.2111%
		مستخلص الكلوروفورم	0.1744غ	0.9688 %
		مستخلص خلات الإيثيل	0.0446 غ	0.2477 %
		مستخلص البيوتانول	0.1979 غ	1.0994 %
الأسود المحمر	18 غ	مستخلص إيثر البترول	2.2601 غ	12.5561 %
		مستخلص الكلوروفورم	0.0498 غ	0.2766 %
		مستخلص خلات الإيثيل	0.0095 غ	0.0527 %
		مستخلص البيوتانول	0.1461 غ	0.8116 %

الأسود	18 غ	مستخلص إيثر البترول	2.4210غ	13.45 %
		مستخلص الكلوروفورم	0.0268 غ	00.1488%
		مستخلص خلات الإيثيل	0.0196 غ	00.1088 %
		مستخلص البيوتانول	0.1777غ	00.9872 %
الأخضر	100 غ	مستخلص إيثر البترول	19.0158غ	19.0158 %
		مستخلص الكلوروفورم	0.0489غ	0.0489%
		مستخلص خلات الإيثيل	0.4196غ	0.4196 %
		مستخلص البيوتانول	1.7874غ	1.7874%

IV-1-4 الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية للثمار الخضراء

قمنا بإختبار المستخلصات المتحصل عليها في عملية الإستخلاص السابقة حيث رقمنا المستخلصات كالتالي، واقتصر عملنا على عينة الثمار الخضراء

1- مستخلص الكلوروفورم **2- مستخلص خلات الإيثيل** **3- مستخلص البيوتانول** **4- المستخلص المائي**

IV-1-4-1 الكشف عن القلويدات Les Alcaloïdes باستخدام اختبار ماير

نأخذ 1 مل من كل مستخلص ونضيف له قطرات من كاشف ماير (5 غ من KI و 1.36 غ من $HgCl_2$ ونذوبها في 100 مل من الماء المقطر)، تشكل الراسب الأبيض المصفر دليل على وجود القلويدات[54].

قبل إضافة الكاشف **بعد إضافة الكاشف**

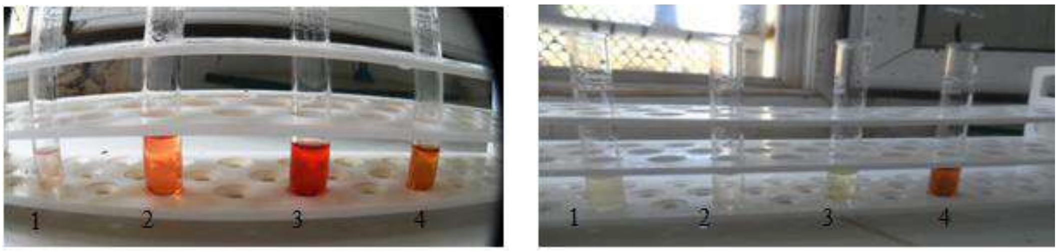
الشكلIV -2 نتائج اختبار ماير

IV-1-4-2 الكشف عن الفلافونيدات Les Flavonoides

IV-1-4-2-أ اختبار Shinoda

نأخذ 1 مل من كل مستخلص ونضع فيها قليل من المغنيزيوم ثم نضيف له قطرات من حمض الكلوروهيدريك المركز (37%) بحذر على جدار الأنبوب، ظهور اللون الأحمر يدل على وجود الفلافونيدات[54].

قبل إضافة الكاشف **بعد إضافة الكاشف**



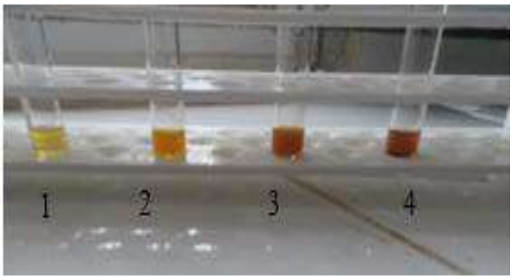
الشكلIV -3 نتائج اختبار Shinoda

IV-1-4-2-ب اختبار الكاشف القاعدي NaOH

نأخذ 1 مل من كل مستخلص توضع في أنابيب اختبار ثم يضاف إليها محلول هيدروكسيد الصوديوم المشبع، يدل تغير لون المستخلص إلى الأصفر على وجود الفلافونيدات[54].

قبل إضافة الكاشف

بعد إضافة الكاشف

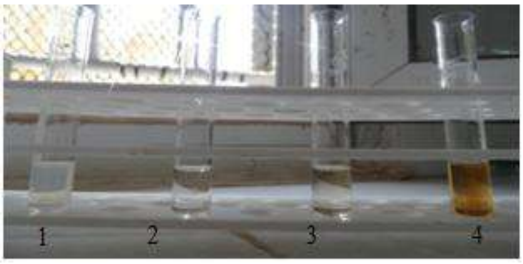


الشكلIV -4 نتائج اختبار الكاشف القاعدي

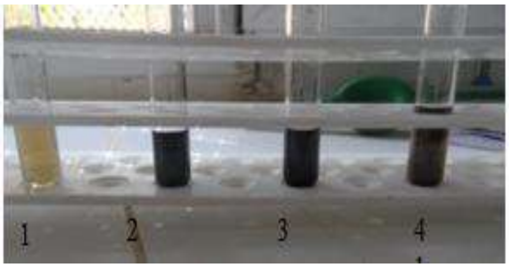
IV-1-4-3 الكشف عن التانينات Les Tanins

نأخذ 0.5 مل من كل مستخلص ونضيف له 1 مل من الماء المقطر، ثم نضيف له من 1-2 قطرات من محلول كلوريد الحديد الثلاثي $FeCl_3$. ظهور اللون المخضر يدل على تواجد التانينات[55].

قبل إضافة الكاشف



بعد إضافة الكاشف

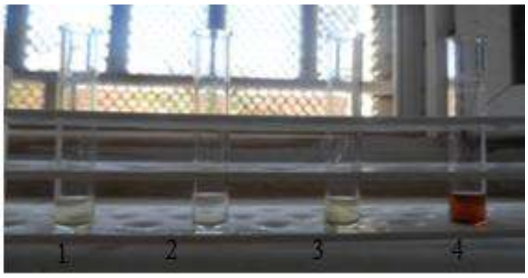


الشكل IV-5 نتائج اختبار التانينات

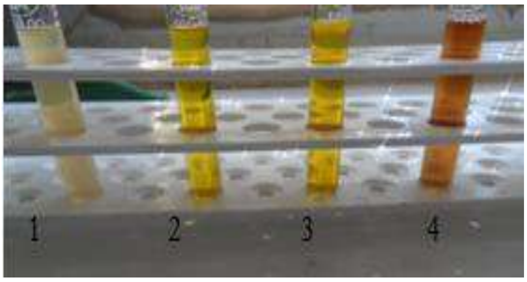
IV-1-4-4 الكشف عن الكومارينات Les coumarines

نأخذ 2 مل من كل مستخلص ثم نضيف لها 3 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم(10%) NaOH، ظهور اللون الأصفر يدل على وجود الكومارينات (المركبات الفينولية)[56].

قبل إضافة الكاشف



بعد إضافة الكاشف



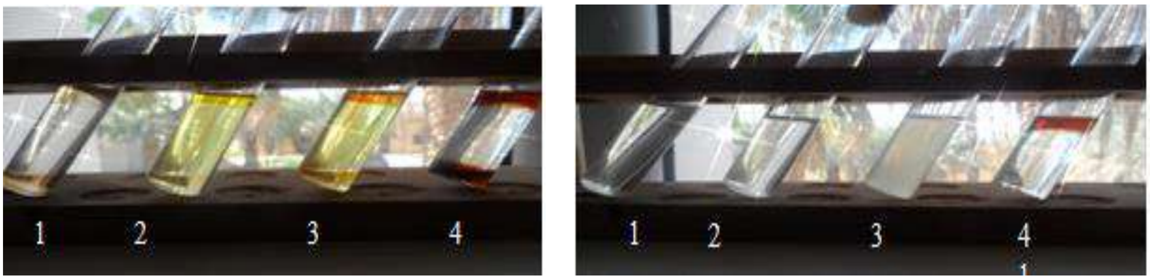
الشكلIV-6 نتائج اختبار الكومارينات

IV-1-4-5 الكشف عن الستيرولات والتربينات الثلاثية

IV-1-4-5-أ اختبار Salkowski

نضع 1 مل من كل مستخلص ونضيف له 5 مل من الكلوروفورم، ثم يضاف له 1 مل من حمض الكبريت المركز H_2SO_4 بحذر ويرج جيدا. تشكل اللون الأحمر القرمزي في الطبقة السفلى يدل على وجود الستيرولات[54].

قبل إضافة الكاشف بعد إضافة الكاشف

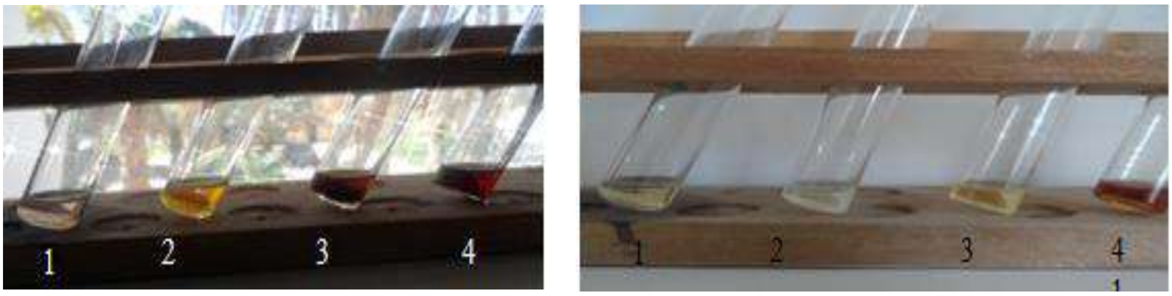


الشكلIV -7 نتائج أ اختبار Salkowski

IV-1-4-5-ب اختبار Liebermann- Burchared

نأخذ 1 مل من كل مستخلص ونضيف له القليل من قطرات محلول لاماءات الاسيتيك، ثم نضيف بضع قطرات من حمض الكبريت المركز H_2SO_4. ظهور حلقة حمراء دليل على وجود التربينات الثلاثية وظهور اللون الأخضر دليل على وجود الستيرولات[56,54].

قبل إضافة الكاشف بعد إضافة الكاشف



الشكلIV -8 نتائج اختبار Liebermann– Burchared

النتائج السابقة ملخصة في الجدول(IV-3)

الجدول IV–3 نتائج الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية

		مستخلص الكلوروفورم (1)	مستخلص خلات الإثيل (2)	مستخلص البيوتانول (3)	الطور المائي (4)
القلويدات	اختبار ماير "Mayer"	–	–	–	–
الفلافونيدات	اختبار **Shinoda**	+ +	+ + +	+ + + + +	+
	اختبار **NaOH**	+	+ + + +	+ + + +	+
التانينات		+	+ + + + +	+ + + +	+ +
الكومارينات		–	+ +	+ + +	+
الستيرولات و التربينات	اختبار **Salkowski**	+ + +	+ +	+ +	–
	اختبار **Liebermann-Burchared**	+ + +	+ +	+	–

–	+	+ +	+ + +	+ + + +	+ + + + +
غياب تام	أثار	تواجد بكميات قليلة	تواجد متوسط	تواجد معتبر	تواجد بكميات كبيرة

IV–2 الدراسة التحليلية النوعية لمستخلصات ثمار النبتة

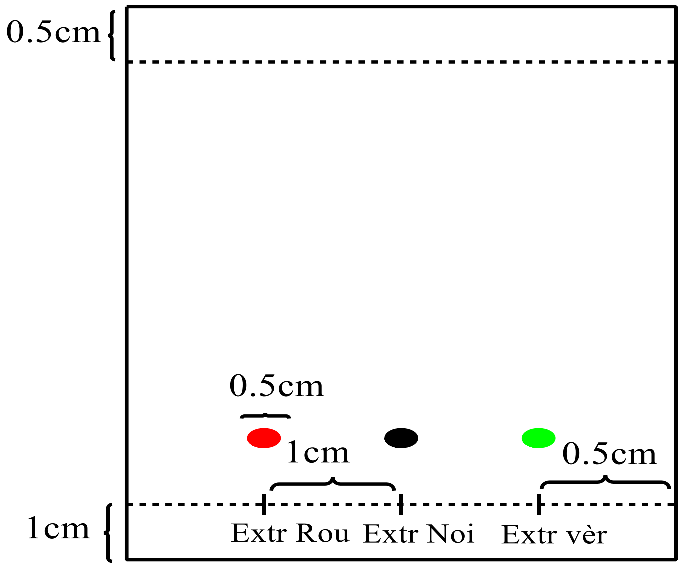
يتم فصل و تنقية المركبات الفلافونيدية بواسطة تقنيات الكروماتوغرافيا بمختلف أقسامها بمجموعة من العوامل المساعدة التي تسمح بالكشف عن الإتيروزيدات والأجليكونات من المستخلصات الخام، وأكثر هذه الطرق شيوعا هي كروماتوغرافيا الورق و كروماتوغرافيا العمود و كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، و من هذا المنطلق سيتم دراسة مستخلصاتنا تحليليا عن طريق نوعين من الكروماتوغرافيا وهما:

كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM (بإستعمال طورين ثابتين السليكاجال ومتعدد الأميد) والكروماتوغرافيا الورقية CP.

IV-2-1 كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM

تحضير صفيحة الـ CCM

نحضر صفيحة CCM بأبعاد (7 سم x 11 سم) حيث الطور الثابت هو السليكاجال، و نضع على بعد 1 سم من الجهة السفلية البقع بـ 0.5 سم لكل عينة ونترك مسافة بين كل بقعة و أخرى. ويتم ذلك بواسطة أنابيب شعرية، إذا كانت البقع غير واضحة أو المستخلص ممدد نوعا ما تجفف و توضع فوقها بقعة أخرى لتكون مركزة. كما هو مبين في الشكل (IV-9).



الشكلIV-9 كيفية وضع البقع على الصفيحة

الإظهار اللوني يكون باستخدام مصباح الأشعة فوق البنفسجية قبل و بعد تعريضها لأبخرة الأمونياك مع تغيير عصابة الإمتصاص.

IV-2-1-1 المستخلص الكلوروفورمي:

اختيار الطور المتحرك المناسب للفصل:

لاختيار نظام كروماتوغرافي مناسب للمستخلص الكلوروفورمي (ضعيف القطبية) نستخدم السيليكاجال كطور ثابت ولاختيار الطور المتحرك المناسب، قمنا تجربة الأطوار التالية:

خلات الإيثيل / إيثر البترول (1/6)، (1/4)، (1/2)، (1/1)، (2/1).

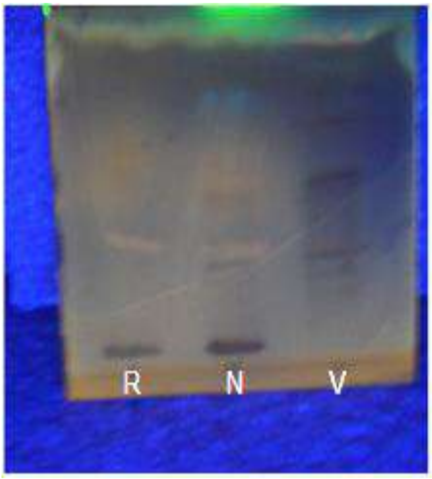
هكسان / كلوروفور (1/8)، (1/6)، (1/4)، (1/2).

هكسان /كلوروفورم / خلات الإيثيل (1/5/15)، (1/4/4)، (1/2/2)، (1/1/2).

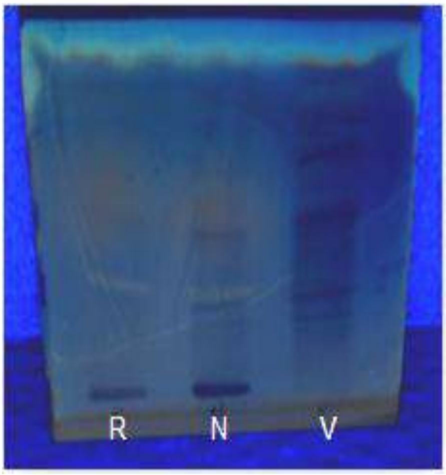
كلوروفورم /أسيتون (1/6)، (1/4)، (1/2)، (1/1)، (2/1)، (4/1).

كلوروفورم /ميثانول (1/40)، (1/20)، (1/10)، (1/1).

وكان النظام الذي أعطى أحسن فصل هو كلوروفورم / ميثانول (1/10) و بالتالي يسكب في الخلية الكروماتوغرافية بحيث نحصل على نتائج الفصل الكروماتوغرافي للمستخلص الكلوروفورمي للعينات الثلاث والموضح في الشكل (IV-10)



صفيحة تحت مصباح (256 nm)



صفيحة تحت مصباح (365nm)

R مستخلص الثمار الحمراء **N** مستخلص الثمار السوداء **V** مستخلص الثمار الخضراء

الشكل IV–10 كروماتوغرام CCM تحت مصباح UV لمستخلص الكلوروفورم

الجدول التالي يوضح نتائج الكروماتوغرام في الشكل (IV–10)

الجدول IV –4 نتائج الفصل الكروماتوغرافي للمستخلص الكلوروفورمي للعينات الثلاث

المستخلص	العينة	النظام	عدد البقع	الألوان
المستخلص الكلوروفورمي	الثمار الخضراء	كلوروفورم / ميثانول (1,10)	10	2 أزرق 2 بني أخضر بنفسجي أحمر بنفسجي فاتح 2 أصفر
	الثمار السوداء		9	2 أزرق 2 بني بنفسجي أحمر أخضر أحمر آجري بني فاتح
	الثمار الحمراء		2	أحمر أحمر آجري

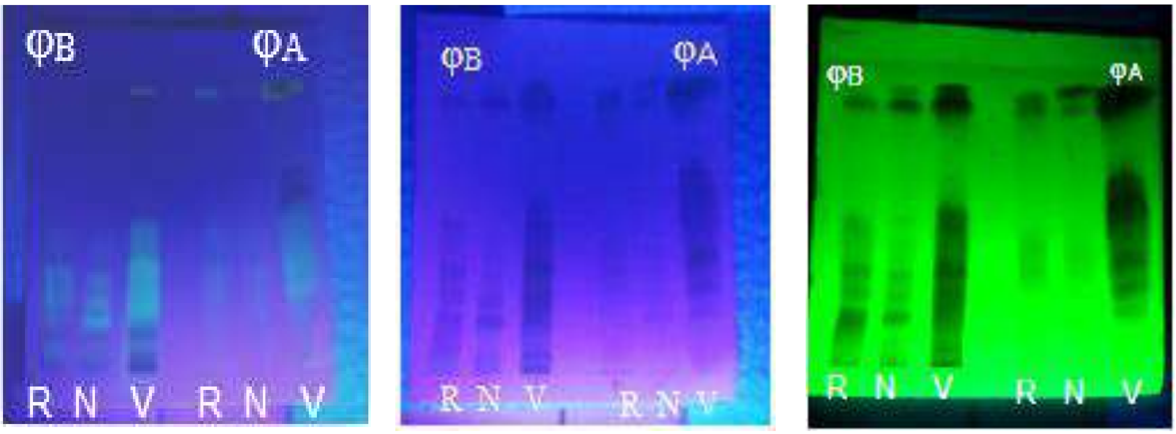
IV-2-1-2 مستخلص خلات الإيثيل و البيوتانول

لإختيار نظام كروماتوغرافي مناسب لمستخلصي خلات الإيثيل والبيتانول نستخدم السليكاجال كطور ثابت و لإختيار طور متحرك مناسب قمنا بتجربة الأطوار التالية:

خلات الإيثيل / حمض النمل / حمض الخل / الماء (2.6/1.1/1.1/10)، (2.1/1.1/1.1/12)، (1.1/1.1/1.1/20)، (1.1/1.1/1.1/25) و (0.5/1/1/40).

و كان أحسن نظام فصل لمستخلصي خلات الإيثيل و البيتانول المتواجدان في صفيحة واحدة هو المزيج نفسه ذو النسب (0.5/1/1/40).

و بالتالي يسكب الطور في الخلية الكروماتوغرافية، وتستغرق عملية الفصل مدة 45 دقيقة، و تجفف الصفيحة جيدا في الهواء ثم تعرض لأبخرة الأمونياك و وضعها تحت مصباح الأشعة فوق البنفسجية كما نلاحظ في الشكل (IV-11)



صفيحة تحت مصباح (256 nm) — صفيحة تحت مصباح (365nm) — صفيحة تحت مصباح (365nm) بعد تعريضها لأبخرة الأمونياك

R مستخلص الثمار الحمراء **N** مستخلص الثمار السوداء **V** مستخلص الثمار الخضراء **φA** مستخلص خلات الإيثيل **φB** المستخلص البيتانولي

الشكلIV-11 كروماتوغرام CCM تحت مصباح UV لمستخلصي خلات الإيثيل والبيوتانول

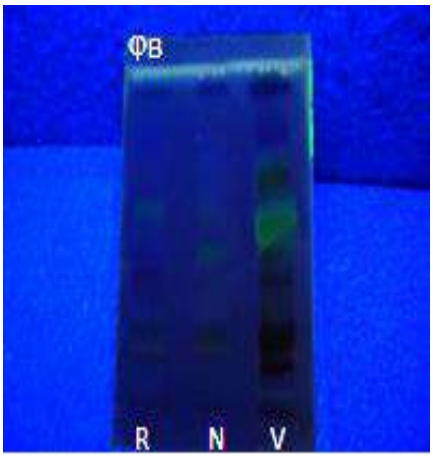
تترجم هذه الكروماتوغرامات في الجدول (IV-5)

الجدول IV-5 نتائج فصل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لمستخلصي خلات الإيثيل والبيوتانول للعينات الثلاث

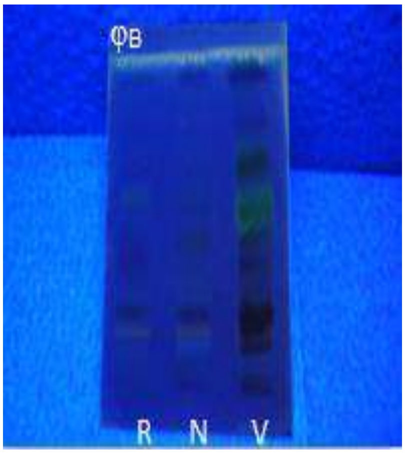
المستخلص	العينة	عدد البقع	الألوان
خلات الإيثيل / حمض النمل / حمض الخل / الماء (0.5/1/1/40)			
	الثمار الخضراء	10	3 بنفسجي أصفر 2 أخضر أزرق

			أحمر 2 بني
مستخلص خلات الإيثيل	الثمار السوداء	7	2 بنفسجي 2 أصفر 1 بني 2 أخضر
	الثمار الحمراء	6	2 بنفسجي 2 أصفر أخضر أزرق
	الثمار الخضراء	11	4 بنفسجي 3 بني أصفر أزرق أحمر
مستخلص البيوتانول	الثمار السوداء	8	2 بني 2 بنفسجي أزرق أصفر فاتح أحمر أخضر
	الثمار الحمراء	6	2 بني أزرق أصفر بنفسجي أحمر

وكان الطور المتحرك ذو الفصل الأحسن لمستخلص البيوتانول هو المزيج السابق ذو النسب: (2/1.1/1.1/12)



صفيحة تحت مصباح (256 nm)



صفيحة تحت مصباح (365nm)

R مستخلص الثمار الحمراء **N** مستخلص الثمار السوداء **V** مستخلص الثمار الخضراء **φA** مستخلص خلات الإيثيل **φB** المستخلص البيتانولي

الشكلIV–12 كروماتوغرام CCM تحت UV للمستخلص البيتانولي

الجدول (IV–6) يلخص نتائج الشكل (IV–12)

الجدولIV–6 نتائج فصل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للمستخلص البيوتانولي للعينات الثلاث

المستخلص	العينة	النظام	عدد البقع	الألوان
مستخلص البيوتانول	الثمار الخضراء	خلات الإيثيل / حمض النمل / حمض الخل / الماء (2/1.1/1.1/12)	12	أزرق أخضر 2 أخضر الداكن بني 2 بنفسجي أحمر 2 بنفسجي داكن 2 أصفر
	الثمار السوداء		8	أزرق 2 بني 2 بنفسجي أحمر أخضر أصفر فاتح
	الثمار الحمراء		6	2 أزرق بني بنفسجي

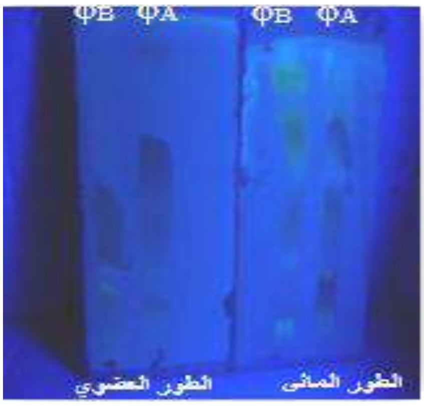
				أحمر أصفر

IV-2-2 كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لمتعدد الأميد

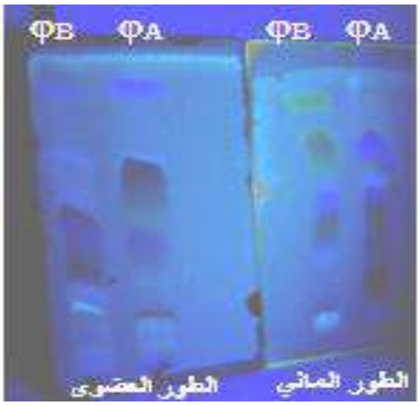
العمل على طبقة CCM متعدد الأميد ذات البعد 20x10 سم لمستخلصي خلات الإيثيل و البيوتانول للعينة الخضراء في الطورين التاليين:

الطور العضوي: (ميثانول / مثيل إيثيل سيتون / توليان) (4/3/3)

الطور المائي: (حمض الخل / ميثانول/ بيتانول نظامي / ماء) (60/25/20/2)



صفيحة تحت مصباح(256nm)



صفيحة تحت مصباح (365 nm)

φA مستخلص خلات الإيثيل φB المستخلص البيتانولي

الشكلIV-13 كروماتوغرام CCM تحت UV لمستخلصي خلات الإيثيل و البيوتانول للعينة الخضراء

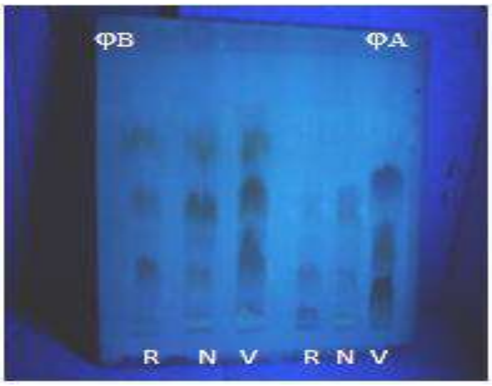
تتلخص النتائج في الجدول(IV-7) الذي يوضح عدد وألوان البقع

الجدولIV-7 نتائج فصل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لمستخلصي خلات الإيثيل و البيوتانول للعينة الخضراء

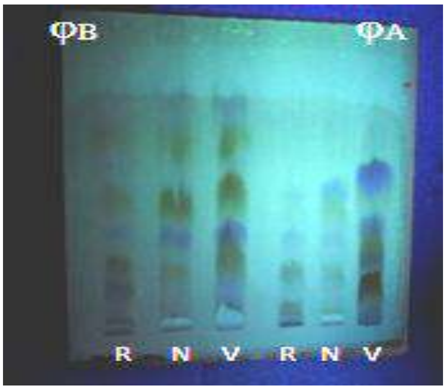
المستخلص	عدد البقع	الألوان
الطور العضوي: ميثانول / مثيل إيثيل سيتون / توليان (4/3/3)		
مستخلص خلات الإيثيل للثمار الخضراء	10	2 أزرق فاتح أصفر 2 بني 2 أخضر بنفسجي أحمر أزرق
		3 أزرق فاتح أصفر فاتح

مستخلص البيوتانول للثمار الخضراء	11	بني بني داكن أخضر 2 بنفسجي بنفسجي فاتح أزرق
الطور المائي: حمض الخل / ميثانول/ بيتانول نظامي / ماء (60/25/20/2)		
مستخلص خلات الإيثيل للثمار الخضراء	11	3 أزرق أصفر بني 3 أخضر 3 بنفسجي
مستخلص البيوتانول للثمار الخضراء	12	2 أزرق أصفر 2 بني 3 أخضر 3 بنفسجي أصفر الفاتح

العمل على الطبقة CCM متعدد الأميد لمستخلصي خلات الإيثل و البيوتانول للعينات الثلاث في الطور المتحرك التالي (ماء/ بيتانول/ ميثانول/ حمض الخل) (2/20/25/60) كما يوضح كروماتوغرام



صفيحة تحت مصباح (256 nm)



صفيحة تحت مصباح (365nm)

R مستخلص الثمار الحمراء **N** مستخلص الثمار السوداء **V** مستخلص الثمار الخضراء **$A\varphi$** مستخلص خلات الإيثيل **φ_B** المستخلص البيتانولي

الشكل IV–14 كروماتوغرام CCM تحت مصباح UV لمستخلصي خلات الإيثيل و البيتانول للعينات الثلاث

تم تدوين النتائج في الجدول(IV–8) بعد إظهار ألوان البقع تحت مصباح UV

الجدول IV–8 نتائج فصل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لمستخلصي خلات الإيثيل و البيوتانول للعينات الثلاث

المستخلص	العينة	عدد البقع	الألوان
(ماء/ بيتانول/ ميثانول / حمض الخل) (2/20/25/60)			
مستخلص خلات الإيثيل	الثمار الخضراء	9	أزرق 2 أصفر بني 2 أخضر 3 بنفسجي
	الثمار السوداء	8	أزرق 2 أصفر بنفسجي فاتح 2 أخضر 2 بنفسجي
	الثمار الحمراء	7	أزرق أصفر بني أخضر بنفسجي بنفسجي فاتح أخضر فاتح
مستخلص البيوتانول	الثمار الخضراء	12	2 أزرق أصفر 3 بني 2 أخضر 3 بنفسجي أزرق فاتح
	الثمار السوداء	11	2 أزرق أصفر فاتح 2 بني 3 أخضر 3 بنفسجي

	الثمار الحمراء	10	أزرق فاتح أصفر 3 بني 2 أخضر 2 بنفسجي أحمر

IV-2-3 الكروماتوغرافيا الورقية:

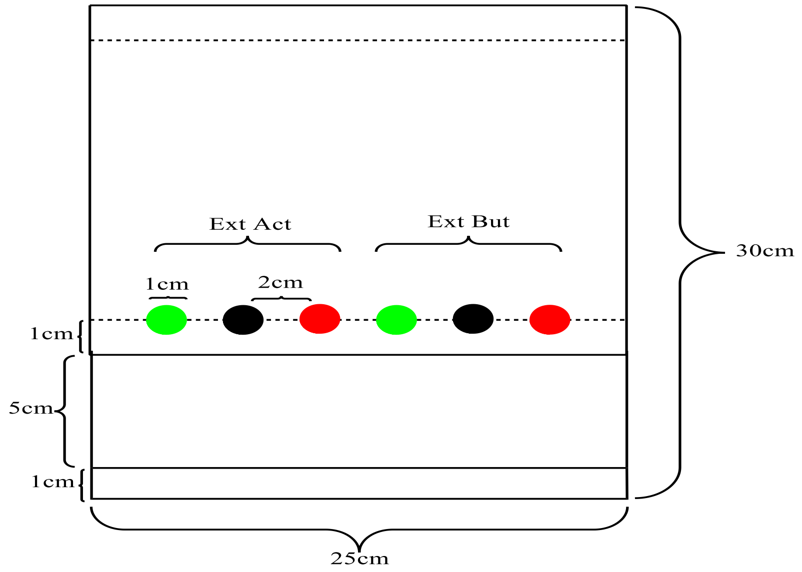
تقنية كروماتوغرافيا على الورق تحتل مكانة شاسعة في مجال تحليل و فصل مختلف المركبات و الخلائط المعقدة، بحيث تستخدم لفصل كميات معتبرة كانت أو صغيرة منها.

نستخدم في الكروماتوغرافيا الورقية ورق واتمان (Whatman 3) للفصل الأحادي والثنائي البعد مع استخدام نوعين من الأطوار المتحركة: - الطور العضوي :بيتانول / حمض الخل / ماء (5/1/4) الطبقة العضوية العلوية

- الطور المائي: حمض الخل 20%

IV-2-3-1 الكروماتوغرافيا أحادية البعد النازلة:

أخذ ورق (Whatman 3) ذو أبعاد 30x25 سم بحيث نترك 1سم من الأعلى مع ثنيها ثم نترك طول 5سم مع الثني، و على بعد 1 سم نضع مستخلصي الخلات الإيثيل و البيتانول للعينات الثلاث بحيث توضع العينات على طول 1 سم و المسافة بين كل عينتين 2سم كما هو موضح في الشكل (IV- 15)



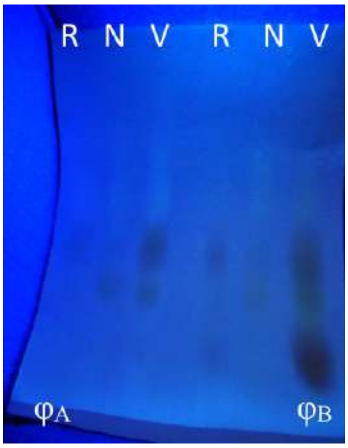
الشكل IV- 15 رسم تخطيطي للكروماتوغرافيا أحادية البعد النازلة

تثبّت الورقة في الخلية من الجهة العلوية بواسطة لوح زجاجي ثمّ يسكب الطور 1 (الطور المتحرك العضوي) على الحافّة العليا وتجرى عملية الفصل بتحرك الطور المتحرك إلى الأسفل (الوقت المستغرق في الفصل 14ساعة).

ثمّ بنفس الطريقة نحضّر ورقة كروماتوغرافية CP ثانية وتثبّت في الخلية ويسكب الطور المتحرك 2 (الطور المتحرك المائي) حيث كان الوقت المستغرق في عملية الفصل هو 8ساعات كما هو موضح في الشكل (16–IV)

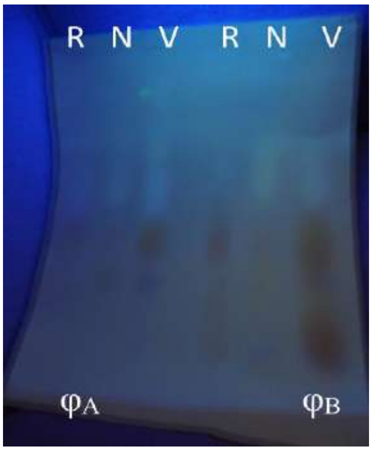
الشكل16–IV طريقة وضع ورق الفصل في الكروماتوغرافيا الورقية أحادية البعد

الطور العضوي



صفيحة تحت مصباح (256 nm)

صفيحة تحت مصباح (365nm)

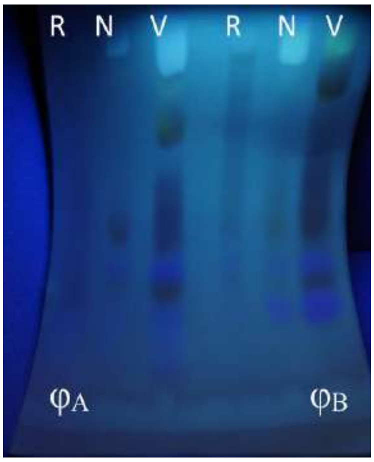


صفيحة تحت مصباح (256 nm) بعد تعريضها لأبخرة الأمونياك

الطور المائي

صفيحة تحت مصباح (256 nm)

صفيحة تحت مصباح (365nm)



صفيحة تحت مصباح (256 nm) بعد تعريضها لأبخرة الأمونياك

R مستخلص الثمار الحمراء **N** مستخلص الثمار السوداء **V** مستخلص الثمار الخضراء **φA** مستخلص خلات الإيثيل **φB** المستخلص البيوتانولي

الشكل 17–IV كروماتوغرامات الورق لكلا الطورين لمستخلصي خلات الإيثيل و البيوتانول للعينات الثلاث

النتائج المدونة في الجدول(IV-9) تم التحصل بعد إظهار ألوان البقع تحت مصباح UV

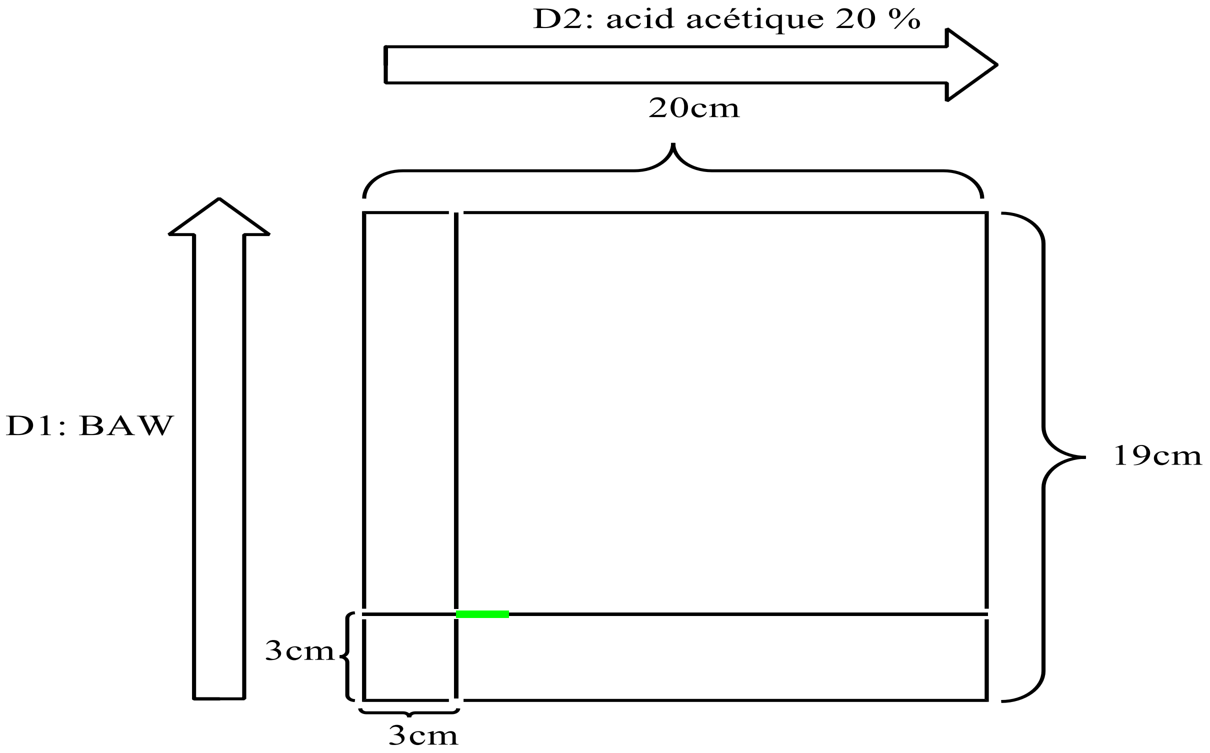
الجدولIV-9 نتائج فصل الكروماتوغرافيا الورقية لمستخلصي خلات الإيثيل والبيوتانول للعينات الثلاث في كلا الطورين

المستخلص	العينة	عدد البقع	الألوان
الطور العضوي (بيوتانول / حمض الخل / ماء) (5/1/4)			
مستخلص خلات الإيثيل	الأخضر	8	2 بنفسجي 4 أصفر 2 بني
	الأسود	3	2 بنفسجي أصفر
	الأحمر	2	2 بنفسجي
مستخلص البيوتانول	الأخضر	7	3 بنفسجي بني 2 أصفر أزرق
	الأسود	3	بني 2 أصفر
	الأحمر	4	2 بني أصفر بنفسجي
الطور المائي(حمض الخل 20%)			
مستخلص خلات الإيثيل	الأخضر	9	2 أصفر أخضر 2 بني 2 بنفسجي 2 بنفسجي مزرق
	الأسود	3	أصفر بني بنفسجي
	الأحمر	3	أصفر فاتح بني بنفسجي
مستخلص البيوتانول	الأخضر	10	أصفر فاتح

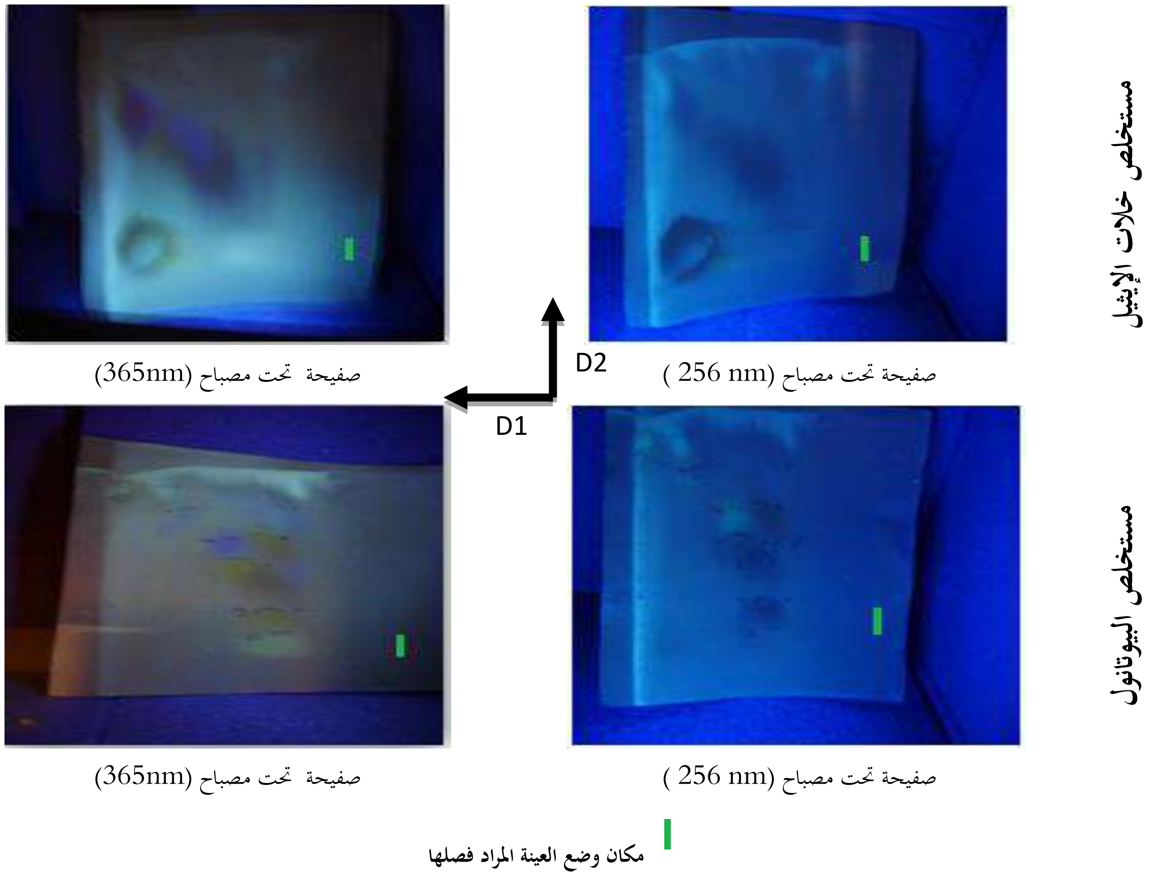
			3 بني أصفر 4 بنفسجي بنفسجي مزرق
	الأسود	4	أصفر فاتح بني بنفسجي بني فاتح
	الأحمر	5	أصفر فاتح بني فاتح 2 بنفسجي بنفسجي مزرق

IV-2-3-2 الكروماتوغرافيا ثنائية البعد الصاعدة:

نستعمل ورق (Whatman 3) ذو الأبعاد 20x19 سم، بحيث نترك 3 سم من الجهة السفلى و 3 سم أخرى من الجهة العمودية ثمّ نرسم خط رفيع بقلم الرصاص على بعد 1سم من نفس الجهتين ونحدّد مكان وضع البقعة ب 1 سم كما هو موضح في الشكل (IV-18)



الشكل IV-18 رسم تخطيطي للكروماتوغرافيا ثنائية البعد



الشكلIV–19 كروماتوغرام الورق تحت مصباح UV لمستخلصي خلات الإيثيل و البيوتانول للعينة الخضراء

الجدولIV–10 نتائج فصل الكروماتوغرافيا الورقية لمستخلصي خلات الإيثيل و البيوتانول للعينة الخضراء

المستخلص	البعد(الطور)	عدد البقع	الألوان
مستخلص خلات الإيثيل	البعد1: (بيتانول / حمض الخل / ماء) (5,1,4) البعد 2: (حمض الخل 20%)	7	أزرق فاتح 2 بني أصفر بنفسجي مزرق 2 بنفسجي
مستخلص البيوتانول	البعد1: (بيتانول / حمض الخل / ماء) (5,1,4) البعد 2: (حمض الخل 20%)	10	3 بنفسجي 3 أصفر 2 أزرق 2 بني

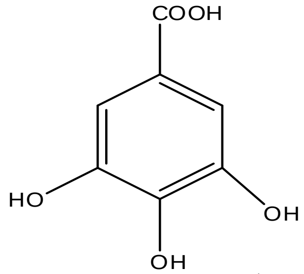
IV–3 التحليل الكمي للمركبات الفينولية للثمار الخضراء

يقوم التحليل الكمي للمركبات الفينولية بتقدير كمية الفينولات الكلية في كل مستخلص باستخدام الطريقة اللونية لـ Singeleton et Rossi باستعمال كاشف Folin – ciocalteu ، والكشف عن كمية الفلافونيدات الكلية في المستخلص بواسطة طريقة Lamaison et Carnat التي تعتمد على كلوريد الألمونيوم[57].

IV-3-1 التقدير الكمي للفينولات الكلية

تم تقدير الكمية الكلية للمركبات الفينولية باستخدام كاشف Folin-ciocalteu في وسط قاعدي، وهذا الأخير يتكون من حمض الفوسفوتنغستنيك ($H_3PW_{12}O_{40}$ phosphotungstique acide) و حمض فوسفوموليبديك (acide phosphomolybdique $H_3PMo_{12}O_4$) و الذي يرجع في وجود المركبات الفينولية إلى اكاسيد التنغستن والموليبدن (W_8O_{23}/Mo_8O_3) ذات اللون الأزرق.

وتقدر كمية الفينولات بقياس امتصاصية العينات باستخدام جهاز spectroscopie UV عند طول موجة 760 nm.
حيث استعملنا حمض الغاليك الشكل (IV-20)كفينول مرجعي .

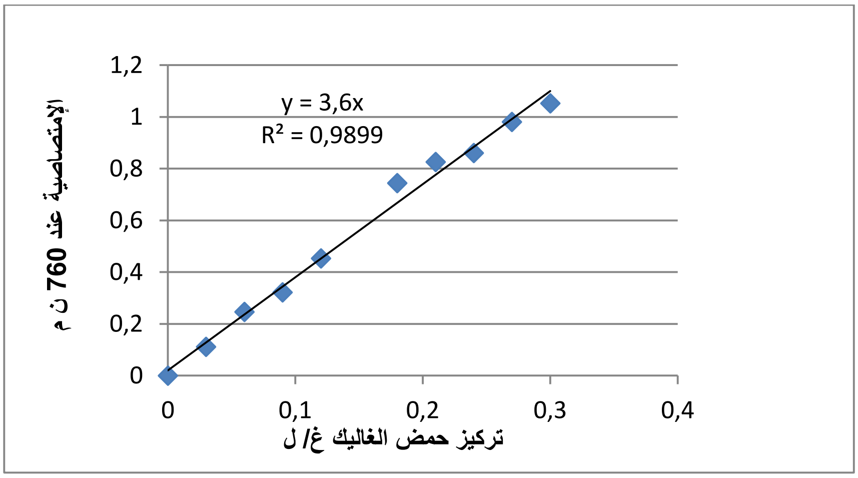


الشكل IV-20 حمض الغاليك

المنحنى القياسي

حضرنا محاليل مختلفة التركيز لحمض الغاليك تتراوح مابين (0.3-0.03) غ/ل.

نأخذ من كل تركيز 0.1 مل ونضيف له 0.5 مل من كاشف Folin-ciocalteu (ممدد 10 مرات) نتركها مدة 5 دقائق، ثم نضيف لها 2 مل من محلول كربونات الصوديوم Na_2CO_3 (20%) نتركها مدة 30 دقيقة في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة . والمنحنى القياسي في الشكل(IV-21). يمثل الامتصاصية عند 760 nm بدلالة تركيز حمض الغاليك بـ: غ/ل.

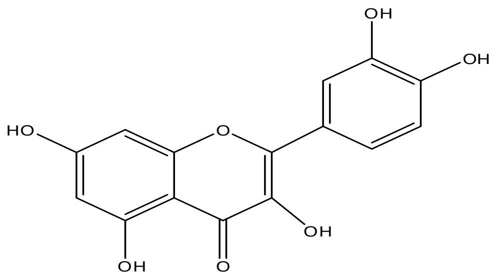


الشكل IV-21 المنحنى القياسي لحمض الغاليك

وعاملنا مختلف المستخلصات بنفس معاملة حمض الغاليك بكاشف Folin-ciocalteu، والنتائج موجودة في فصل النتائج والمناقشة.

IV-3-2 التقدير الكمي للفلافونيدات الكلية

قمنا بتقدير كمية الفلافونيدات الكلية باستخدام $AlCl_3$، حيث يشكل كلوريد الالومنيوم معقدات مع المركبات الفينولية، لونه أصفر يمتص في المجال المرئي عند طول موجة 430 nm، واستعملنا مركب الكرستين (الشكل IV-22) كفلافونيد مرجعي.

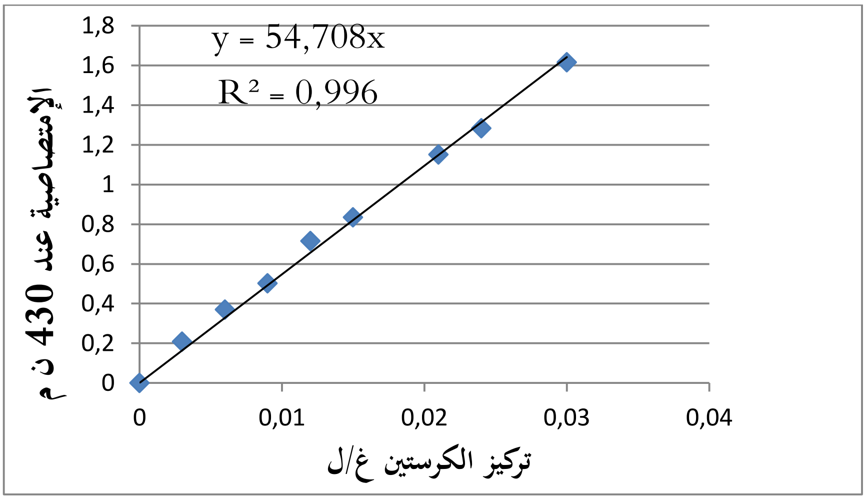


الشكل IV-22 مركب الكرستين Quercetine

المنحنى القياسي

حضرنا محاليل مختلفة التركيز للكرستين وتتراوح مابين (0.03-0.003) غ/ل .

نأخذ من كل تركيز 1.5 مل وأضفنا له 1.5 مل من محلول كلوريد الألمونيوم الايثانولي(2 %)، ثم نتركها مدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة بعيدا عن الضوء ثم قسنا امتصاصية كل تركيز عند 430 nm. والمنحنى القياسي لمركب الكرستين في الشكل (IV-23). يمثل الإمتصاصية عند 430 nm بدلالة تركيز الكرستين بـ: غ/ل.



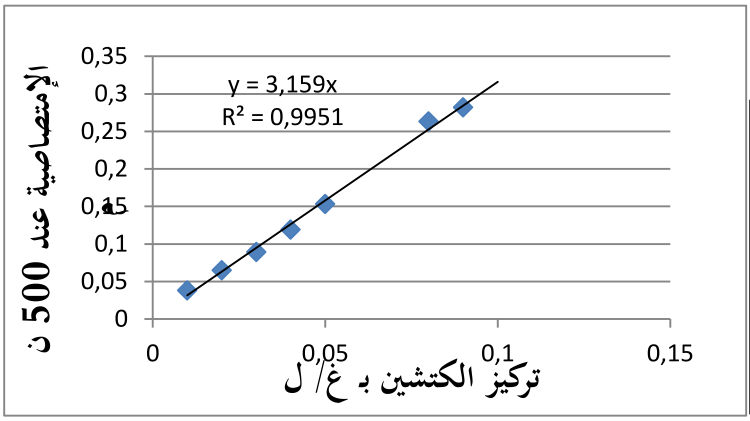
الشكل IV-23 المنحنى القياسي لمركب الكرستين

وعاملنا المستخلصات بنفس الطريقة المتبعة مع المحاليل المختلفة لمركب الكرستين، ونتائجها موضحة في فصل النتائج والمناقشة.

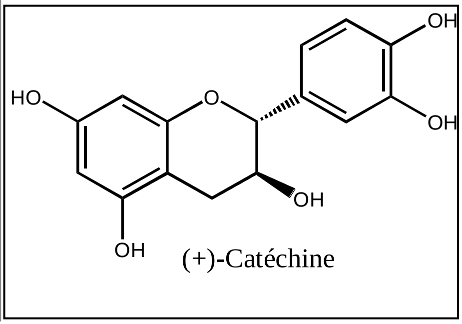
IV-3-3 التقدير الكمي للتنينات المتراكمة

نأخذ من كل مستخلص 0,4 مل ونضعه في أنبوب اختبار، ثم نضيف له 3 مل من الفانلين (4%) (Vanilin) محضر في الإيثانول، ثم نضيف 1,5 مل من حمض كلور الماء المركز، نترك الأنابيب في مكان مظلم وفي درجة حرارة المخبر لمدة 15 دقيقة ونقيس الامتصاصية عند طول موجة 500 nm.

نستعمل فلافونيد الكتشين (Catechin) الشكل (IV–24) كأساس مرجعي تركيزه يتراوح ما بين (0.12غ/ل – 0.02غ/ل) محضر في الميثانول لرسم المنحنى القياسي لتغير الامتصاصية الضوئية (A) بدلالة التركيز[58].



الشكلIV–25 المنحنى القياسي لمركب الكتشين



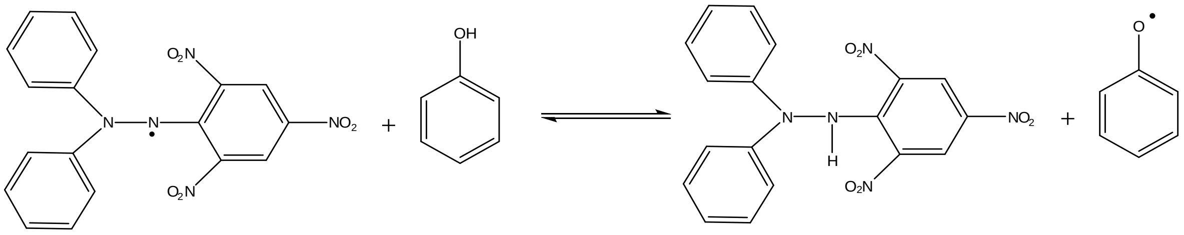
الشكلIV–24 مركب الكتشين

IV–4 دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للثمار الخضراء

IV–4–1 اختبار DPPH

يسمح هذا الاختبار بتقييم قدرة المستخلصات على أسر والتقاط الجذور الحرة بالطريقة اللونية، وذلك باستعمال الجذر الحر الثابت DPPH الذي يعتبر من أهم الاختبارات المعتمدة في تقييم الدور المانع للأكسدة.

حيث يتم إرجاع جذر الـ DPPH باقتناصه لذرة هيدروجين من الجزيئات المانحة لذرات الهيدروجين (الجزيئات المضادة للأكسدة) إلى مركب DPPH-H ، ويصاحب ذلك تغير في اللون من البنفسجي إلى الأصفر حسب التفاعل التالي[57].



DPPH phénol diphénylpicrylhydrazine phénoxy

الشكل IV–26 تفاعل الـ DPPH مع الفينول

طريقة العمل

في دراستنا اخترنا استعمال حمض الاسكوربيك (V.C) كأساس مرجعي في أسر الجذور الحرة، حيث قمنا بتحضير تراكيز مختلفة من V.C تتراوح ما بين (0.003 – 0.03) غ/ل.

نأخذ 1 مل من كل تركيز ونضيف له 1 مل من محلول الـ DPPH المذاب في الميثانول ذو تركيز 0.25 مليمولر، يرج جيدا ويترك في الظلام مدة 30 دقيقة.

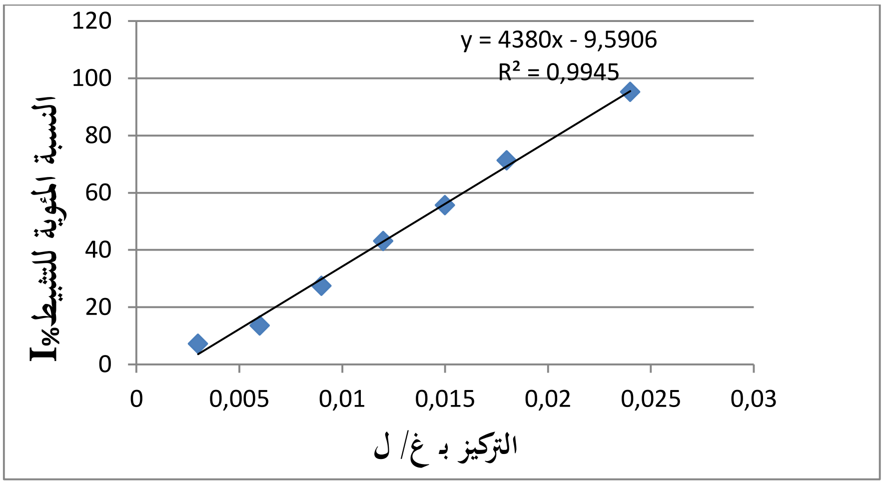
قيست الامتصاصية عند طول موجة 517 nm، ثم من خلال النتائج نقوم بحساب النسبة المئوية للتثبيط I % وذلك وفق العلاقة التالية :

$$I\% = \frac{(A0 - Ai)}{A0} \times 100$$

حيث A_0 : الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلص

A_i : الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في وجود المستخلص .

ثم نرسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز I%= f(C) .



الشكل IV–27 منحنى اختبار الـ DPPH بواسطة V.C

وعاملنا كل مستخلصات الثمار الخضراء بنفس الطريقة التي عاملنا بها حمض الاسكوربيك، ثم حسبت IC_{50} المعرفة على أنها تركيز المستخلص اللازم لتثبيط 50% من جذر DPPH.

IV–5 دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا

IV–5–1 تعريف البكتيريا

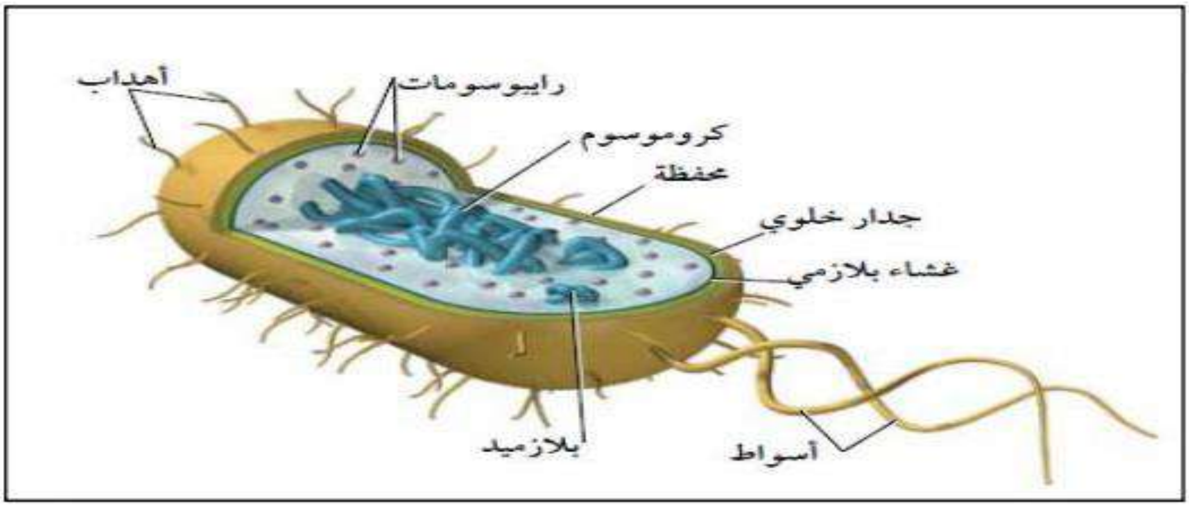
كائنات دقيقة مجهرية بدائية النوى، يوجد منها حوالي 1500نوع أو أكثر، منتشرة في البيئات الطبيعية، بيئات البكتيريا متنوعة جدا. عادة يوجد حوالي عشرة مليار خلية بكتيرية في الغرام الواحد من التربة، ومئات الآلاف من الخلايا في المليمتر المكعب من ماء البحر [24]. هي مخلوقات لا ترى إلا تحت المجهر الضوئي أو تحت المجهر الالكتروني يتراوح حجمها مابين 1 و 10 ميكرومتر.

IV–5–2 مكونات البكتيريا

تتميز ببساطة التركيب إذ تتركب الخلية البكترية مما يلي:

الأجزاء الرئيسية: وتتمثل في الجدار الخلوي، الغشاء البلازمي، السيتوبلازم والنواة.

الأجزاء الإضافية: تختلف من بكتيريا إلى أخرى كما يمكن غياب بعضها عند بعض أنواع البكتيريا وهي: المحفظة (الكبسولة)، الأسواط، الأهداب و الجراثيم الداخلية (الأبواغ) [24].



الشكلIV –28 شكل تخطيطي للبكتريا[24]

IV–5–3 أنواع البكتيريا

نقتصر على تصنيفها حسب استجابتها للصبغة

– موجبة الغرام (Positive–Gram) – سالبة الغرام (Negative – Gram)

IV–5–4 أصناف البكتيريا المختارة للدراسة

IV–5–4–1 المكورات الذهبية العنقودية (*Staphylococcus aureus*)

هذه البكتيريا تتميز بشكل مكور، تجمع عنقودي، إيجابية لصبغة الغرام، يتراوح قطرها ما بين 0.8 و1 ميكرومتر، غير متحركة لا هوائية إختياريا، مقاومة للجفاف ودرجات الحرارة العالية، تسبب التسمم الغذائي، والتهاب المعدة والأمعاء، تتواجد في العديد من الأغذية منها اللحوم. يتميز التسمم الذي تسببه بالآلام في البطن والعضلات، غثيان، صداع، إسهال وغيرها من الأعراض ولا تؤدي للموت، تقتل هذه البكتيريا عند معاملتها بالمطهرات الفينولية [24].

IV–5–4–2 بكتيريا القولون (*Escherichia coli*)

بكتيريا عصوية، سالبة لصبغة الغرام، من العائلة المعوية يصل معدل أبعادها إلى (0.8 × 2.5) ميكرومتر، تعيش في الظروف الهوائية والغير هوائية، تفضل العيش في وسط متعادل درجة الحموضة وبدرجة حرارة مثلى37 م°، تقاوم الجفاف والحموضة تتواجد في لحوم البقر الغير مطبوخة جيدا، وفي الحليب الغير مبستر، وفي أمعاء الإنسان، العديد منها غير مؤذي ومتعايش مع الأحياء الأخرى، ولكن البعض منها مرضية تسبب الإسهال. تقتل هذه البكتيريا باستخدام تراكيز قليلة من المطهرات مثل الكلور [24].

IV–5–5 إختبار الفعالية المضادة للبكتيريا

IV–5–5–1 تحضير المستخلص النباتي:

تجفف المستخلصات النباتية المحصل عليها تماما وتوزن لتذاب في مذيب ثنائي مثيل سيلفوكسيد (DMSO) بحجوم مختلفة وفق تراكيز محددة.

تقـص أقـراص مـن ورق (Whatman 3) بأقطـار 6 مم وتوضـع فـي جهـاز التعقيم.

IV-5-5-2 تحضير الوسط الزراعي

نذوب وسط MH (Muler-Hinton) معقم في حمام مائي تحت درجة حرارة 95 م° و نسكب حوالي 15 مل من هذا الوسط في علب بتري ذات قطر 90 مم ويترك ليبرد ويتجمد في درجة حرارة المخبر.

IV-5-5-3 زرع البكتيريا

نضع في أنابيب إختبار معقمة 10 مل من الماء الفيزيولوجي (NaCl 0.9 %) نزرع في كل وسط مستعمرة واحدة من كل عينة بكتيرية ونخلط الأنبوب جيدا.

نسكب بسرعة 5 مل من محتوى كل قارورة في علب بتري المحتوية على الوسط الزراعي على كل المساحة.

IV-5-5-4 وضع الأقراص والحضن

تشبع الأقـراص المعقمـة بـ 10 ميكرولتر من المستخلصـات المحضـرة، ثـم توضـع بصـورة صـحيحة فـي علـب بتـري المحضـرة، وتوضع العلب بشكل مقلوب في الحاضنة لمدة تتراوح من 18 إلى 24 ساعة في درجة حرارة 37 م°.

IV-5-5-5 قراءة النتائج

نعتبر أن مستخلص نباتي له قدرة فعالة ضد البكتيريا إذا كان قطر التثبيط أكبر من محيط القرص ويكون ذلك بوجود منطقة واضحة حول القرص أي أن الإختبار إيجابي وغياب هذه المنطقة يعتبر إختبار سلبي، ويقاس قطر التثبيط باستعمال القدم القنوية بوحدة المليمتر.

الفصل الخامس:

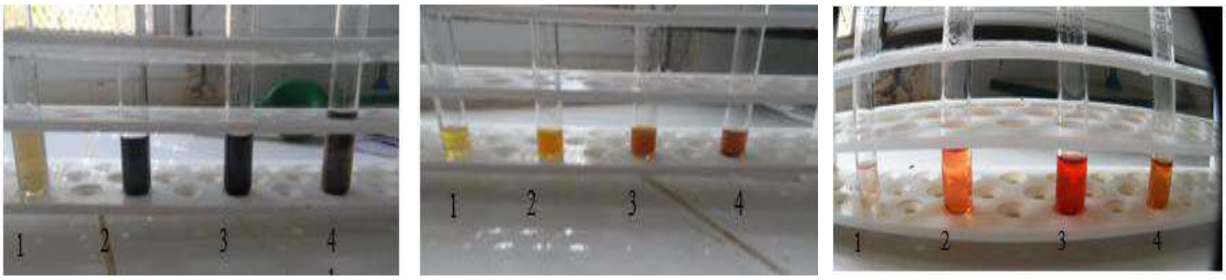
النتائج و المناقشة

V-1 الدراسة الفيتوكيميائية لنبتة *P. atlantica* Desf.

V-1-1 الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية

من خلال المسح الفيتوكيميائي الأولي تبين أن نبتة *P. atlantica* Desf. غنية بمنتجات الأيض الثانوي، بالأخص الفلافونيدات والتانينات، فظهور اللون الأحمر في كل المستخلصات في اختبار Shinoda وكذلك ظهور اللون الأصفر عند جميع المستخلصات في إختبار الكاشف القاعدي دلالة على وجود الفلافونيدات، كما أن ملاحظة اللون المخضر في إختبار الكشف على التانينات يؤكد إحتواء النبتة على هذه الأخيرة بكميات لا بأس بها.

نتائج اختبار Shinoda | نتائج اختبار الكاشف القاعدي | نتائج اختبار الكشف على التانينات



1- مستخلص الكلوروفورم 2- مستخلص خلات الإيثيل 3- مستخلص البيوتانول 4- المستخلص المائي

الشكل V-1 بعض نتائج الإختبار الفيتوكيميائية الأولية

V-2 الدراسة التحليلية النوعية للمستخلصات ثمار النبتة:

V-2-1 كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM

V-2-1-1 المستخلص الكلوروفورمي

من خلال الكروماتوغرامات و نتائج الجداول نلاحظ أن كلا من العينتين الخضراء و السوداء يحتويان على عدة بقع (أكثر من 8 بقع) مختلفة الألوان مقارنة بالعينة الحمراء التي تحتوي على بقعتين.

وبالمقارنة بين العينتين الخضراء و السوداء نجد أنهما تتكونان من نفس المركبات تقريبا مع الإختلاف في تركيز بعض المركبات (البقع)، و هذا يبرهن أن نضوج الثمرة يمر بمراحل لونية و ذلك من خلال تزايد عدد المركبات تدريجيا.

ومن أهم المركّبات المتواجدة نذكر الفلافونيدات (ذات البقع البنية، الخضراء أو الصفراء) أو الكومارينات التي تأخذ اللونين الأزرق و الأصفر[59].

V-2-1-2 مستخلص خلات الإيثيل و البيوتانول:

نلاحظ أن المستخلص البيوتانولي يحتوي على بقع أكثر من مستخلص خلات الإيثيل في كل العينات و هذا يدل على غناه بالمركبات الفلافونيدية.

ومن خلال نتائج الكروماتوغرامات نستنتج مدى غنى العينتين الخضراء و السوداء بالمركبات (البقع) مقارنة بالعينة الحمراء، بحيث تشترك العينات في بعض من هذه البقع التي تزداد من العينة الحمراء إلى الخضراء مرورا بالسوداء.

V-2-2 كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لمتعدد الأميد

من خلال النظام المستعمل نلاحظ الإختلاف بين مراحل تطور ثمار نبات *P. atlantica* Desf . وذلك من خلال التشكل التدريجي للمركبات.

V-2-3 الكروماتوغرافيا الورقية

V-2-3-1 كروماتوغرافيا أحادية البعد

في هذه التقنية استخدمنا نظامين ففي النظام العضوي نلاحظ فصلا مقبولا لمستخلصي خلات الإيثيل والبيوتانول، أما بالنسبة للنظام المائي فكان الفصل أحسن بكثير من سابقه خاصة مع المستخلص البيوتانولي الذي ظهرت فيه العديد من البقع بألوانها المختلفة وهذا يثبت مدى غنى المستخلص البيوتانولي بالمركبات الإيتروزيدية وتزداد هذه الأخيرة بمرور مراحل النضج وللتحقق من هذه النتائج استعنا بكروماتوغرافيا ثنائية البعد.

V-2-3-2 الكروماتوغرافيا ثنائية البعد الصاعدة

مستخلص البيوتانول يحتوي على بقع أكثر من مستخلص خلات الإيثيل وهذا يوضح غني مستخلص البيوتانول بالمركبات المختلفة.

بعدما أجرينا تقنية الكروماتوغرافيا في دراستنا التحليلية لمستخلصات العينات الثلاث لثمار نبات البطم الأطلسي وضحت لنا غناها بالمركبات المختلفة ومن هذه المركبات الفلافونيدات.

V-3 التحليل الكمي للمركبات الفينولية للثمار الخضراء

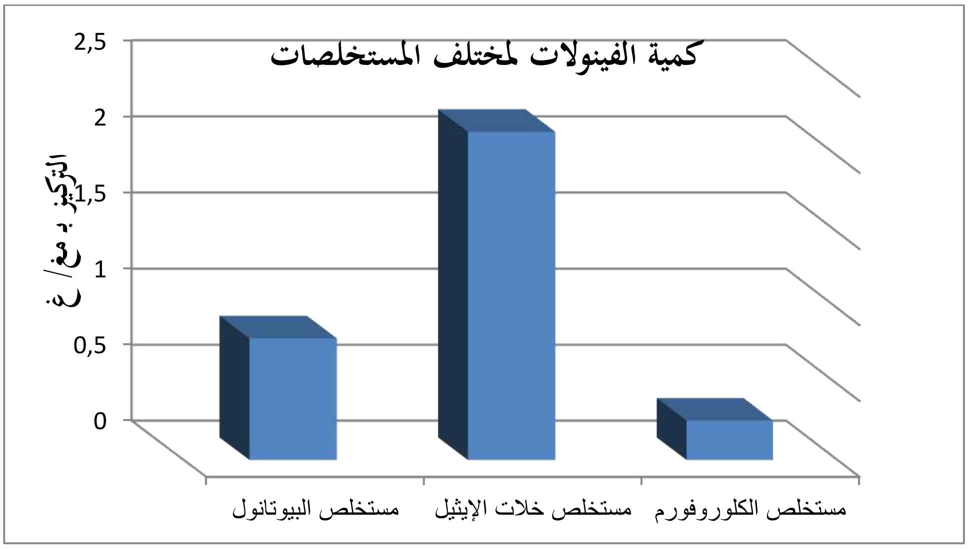
V-3-1 التقدير الكمي للفينولات الكلية

قدرت كمية الفينولات الكلية للمستخلصات الفينولية باستعمال المنحنى القياسي لحمض الغاليك، حيث تم التعبير عن المحتوى الفينولي لكل مستخلص بعدد الملغرامات المكافئة من حمض الغاليك لكل غرام من الوزن الجاف للنبتة (مغ/غ)، والنتائج مدونة في الجدول(V-1).

الجدول V-1 كمية الفينولات الكلية للمستخلصات

المستخلص	المستخلص الكلوروفورمي	مستخلص خلات الايثيل	المستخلص البيوتانولي
كمية الفينولات (مغ/غ)	0,26 مغ/غ	2,1581 مغ/غ	0,8019 مغ/غ

نلاحظ من النتائج المدونة في الجدول (V-1) أن مستخلص خلات الإيثيل يحوي أكبر كمية من الفينولات قدرت بـ 2,1581 مغ/غ، يليه المستخلص البيوتانولي بكمية 0,8019 مغ/غ وأدنى كمية سجلت عند المستخلص الكلوروفورمي بـ 0.26 مغ/غ.



الشكلV–2 المقارنة بين الكمية الكلية للفينولات لمختلف المستخلصات

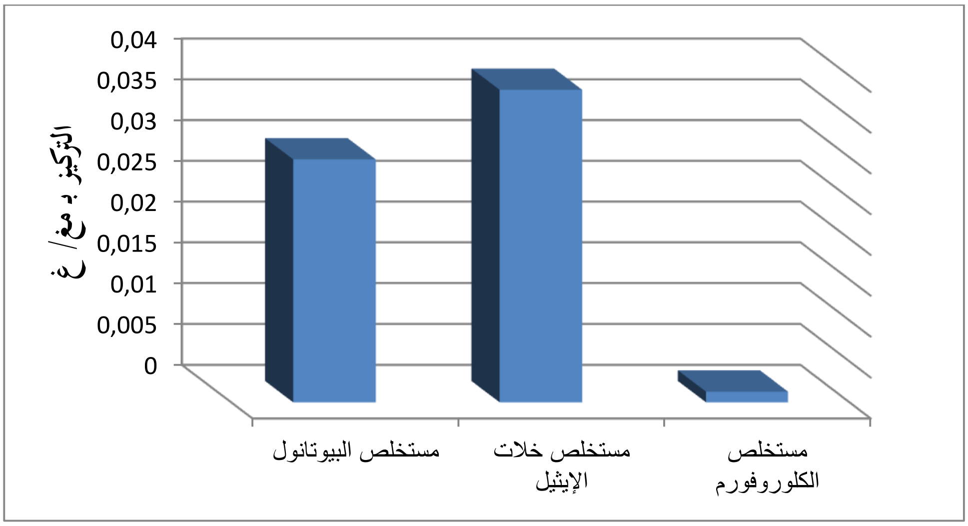
V–3–2 التقدير الكمي للفلافونيدات الكلية

قدرت كمية الفلافونيدات الكلية باستعمال المنحنى القياسي للكرسيتين، إذ حسبت كمية الفلافونيدات الكلية بالمليغرام المكافئ للكرسيتين لكل غرام من الوزن الجاف للنبتة (مغ/غ)، ويبين الجدول (V–2) أن كمية الفلافونيدات العظمى قدرت بـ 0,03829 مغ/غ في حين كانت أصغر كمية عند مستخلص الكلوروفورم والتي وصلت إلى 0,001301 مغ/غ.

الجدول V–2 كمية الفلافونيدات الكلية للمستخلصات

المستخلص	المستخلص الكلوروفورمي	مستخلص خلات الإيثيل	المستخلص البيوتانولي
كمية الفلافونيدات (مغ/غ)	0,001301 مغ/غ	0,03829 مغ/غ	0,02975 مغ/غ

سجلت أكبر كمية لدى مستخلص خلات الايثيل بمقدار 0,03829 مغ/غ، و أقل كمية لمستخلص الكلوروفورم بمقدار 0,001301 مغ/غ، وبلغت الكمية عند مستخلص البيوتانول 0,02975مغ/غ .



الشكل V–3 المقارنة بين الكمية الكلية للفلافونيدات لمختلف المستخلصات

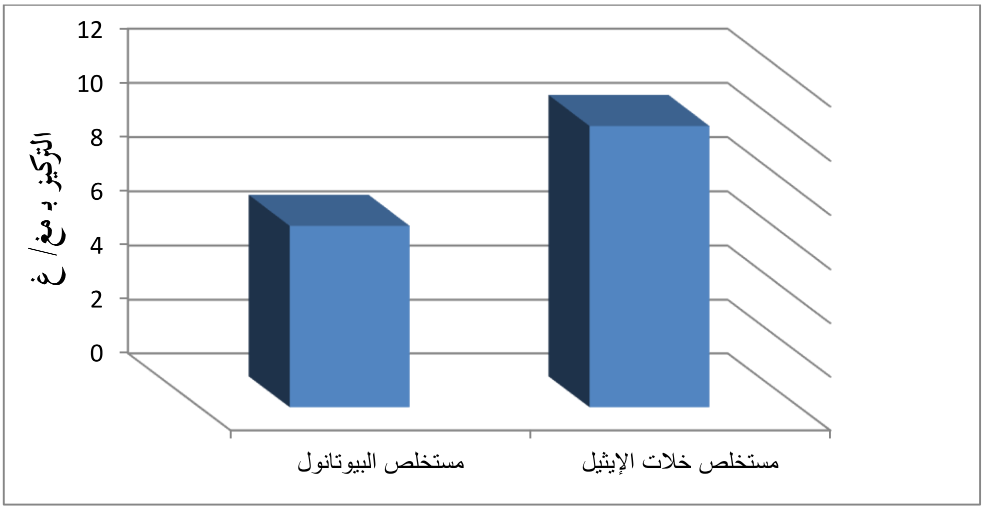
V-3-3 تقدير التنينات المتراكمة

قدرت كمية التانينات المتراكمة الكلية باستعمال المنحنى القياسي للكاتشين و النتائج موضحة في الجدول (V-3)

الجدول V-3 كمية التنينات المكثفة الكلية في المستخلصات

المستخلص	مستخلص خلات الإيثيل	المستخلص البيوتانولي
كمية التنينات المتراكمة (مغ/غ)	10.42 مغ/غ	6.763 مغ/غ

سجلت أكبر كمية من التانينات المتراكمة في مستخلص خلات الايثيل بمقدار 10.42 مغ/غ، وبلغت كميتها في المستخلص البيوتانولي 6.763 مغ/غ، ولم نشر إلى المستخلص الكلوروفورمي لنفوذه حيث كانت كميته من البداية ضئيلة.

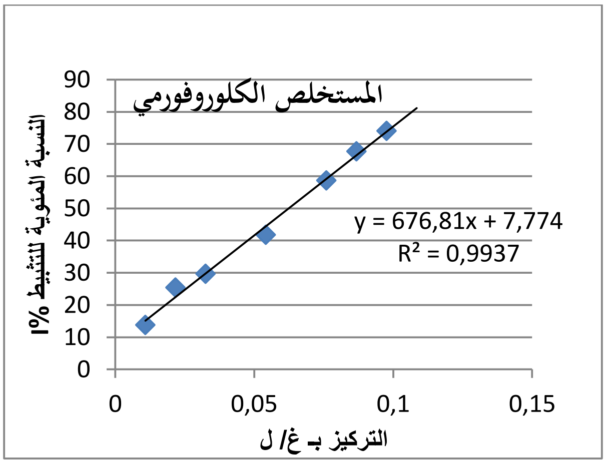


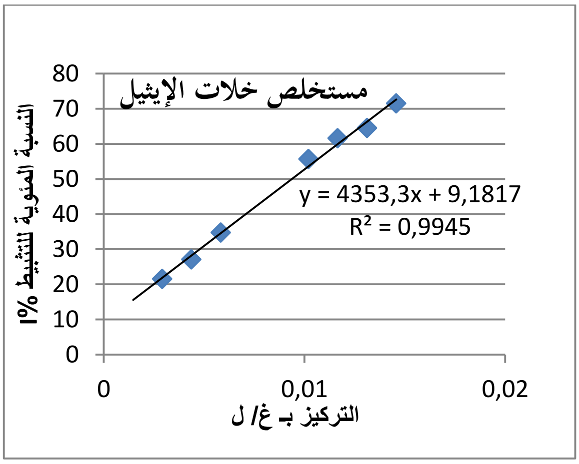
الشكل V-4 المقارنة بين الكمية الكلية للتانينات المتراكمة لمختلف المستخلصات

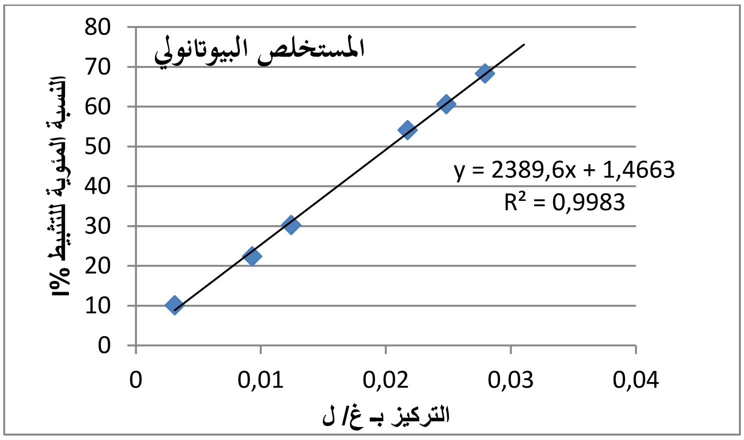
V-4 الفاعلية المضادة للأكسدة للثمار الخضراء

V- 4 -1 نتائج القدرة التثبيطية لجذر الـ DPPH

بعد قياس الامتصاصية قمنا بحساب النسب المئوية للتثبيط (I %) ونمثلها في المنحنيات التالية بدلالة التراكيز المستعملة.







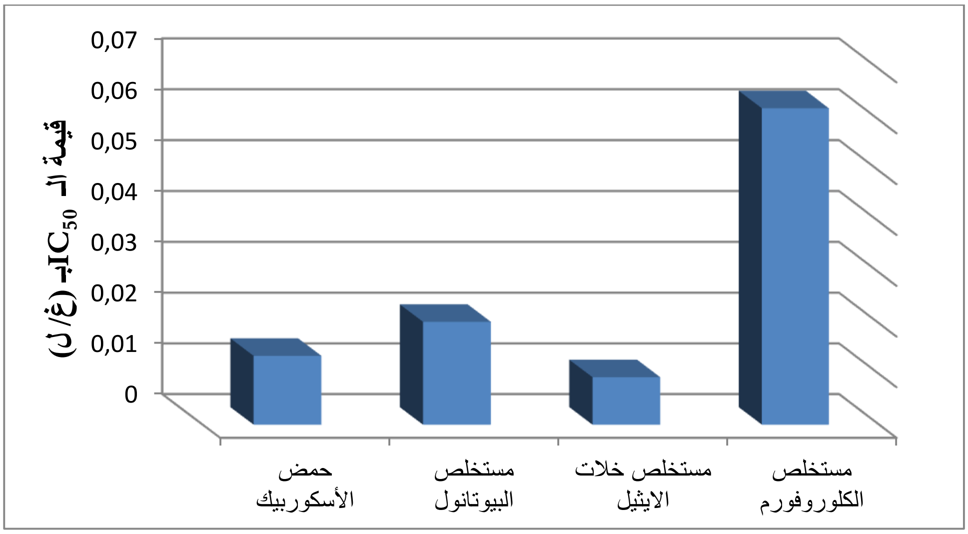
الشكل V– 5 منحنيات المستخلصات المدروسة في اختبار الـ DPPH

لمقارنة الفاعلية المضادة للأكسدة لمختلف المستخلصات المدروسة حسبت القيمة IC_{50} من معادلة لكل منحنى في الشكل (V– 5)، والنتائج موضحة في الجدول(V– 4).

الجدول V– 4 الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة البطم الأطلسي لاختبار DPPH.

المستخلصات	حمض الأسكوربيك	مستخلص الكلوروفورم	مستخلص خلات الإيثيل	مستخلص البيوتانول
IC_{50}(غ/ل)	0.0136 (غ/ل)	0.0623(غ/ل)	0.00937(غ/ل)	0.02031(غ/ل)

من المعلوم أن الفاعلية المضادة للأكسدة تزيد كلما نقصت قيمة IC_{50}، وبمقارنة قيمة IC_{50} لحمض الأسكوربيك التي قدرت بـــ 0.0136 غ/ل مع قيم المستخلصات نجد أن الفاعلية المضادة للأكسدة للمستخلص الكلوروفورمي كانت أقل بحوالي ست مرات من فاعلية حمض الأسكوربيك وهي القيمة الأدنى في حين أن فاعلية المستخلص البيوتانولي كانت أقل بحوالي المرتين أما فاعلية مستخلص خلات الإيثيل فكانت هي الأفضل فقد كانت أعلى حتى من فعالية حمض الأسكوربيك المرجعي وقد قدرت فاعليته بـ 0.00937 غ/ل.



الشكل V– 6 مقارنة قيم IC_{50} لمختلف المستخلصات مع الـ IC_{50} لحمض الأسكوربيك

V–5 دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا

بعد أن تركت البكتيريا 24 ساعة في الحاضنة تم أخذ القياسات والنتائج التالية:

V–5–1 المذيبات المسعملة وفاعليتها

الجدول V–5 فاعلية المذيبات المسعملة

البكتيريا / المذيب	بكتيريا *S- aureus*	بكتيريا *E- coli*
إيثانول (EtOH)		
ثنائي مثيل سيلفوكسيد (DMSO)		

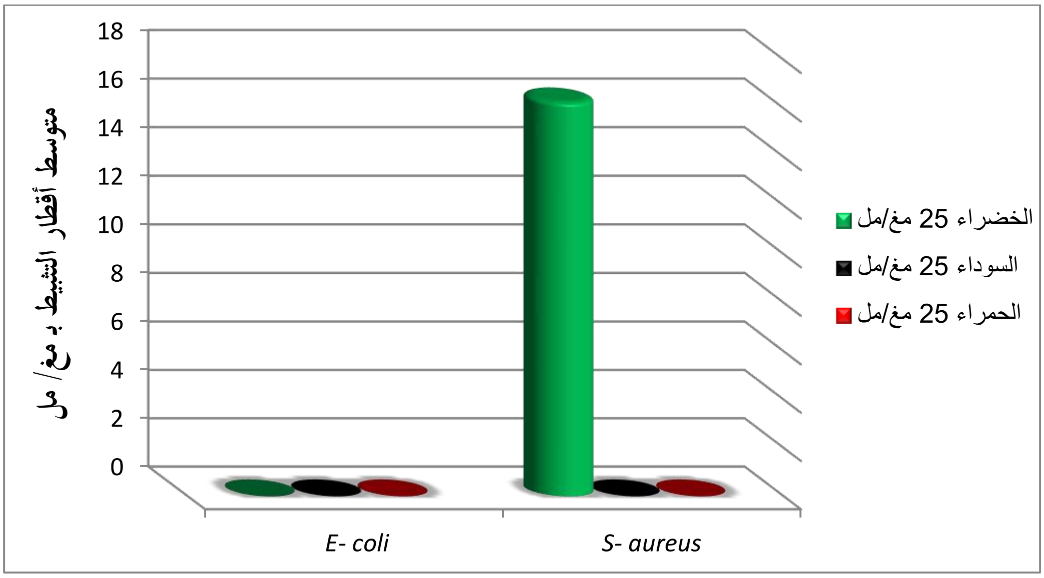
لم يكن للمذيبات المستعملة أي فاعلة على العينات البكتيرية المدروسة.

V–5–2 مستخلصات الكلوروفورم

نتائج فاعلية مستخلصات الكلوروفورم ملخصة في الجدول (V–6)

الجدول V–6 قيم متوسط أقطار التثبيط لمستخلصات الكلوروفورم

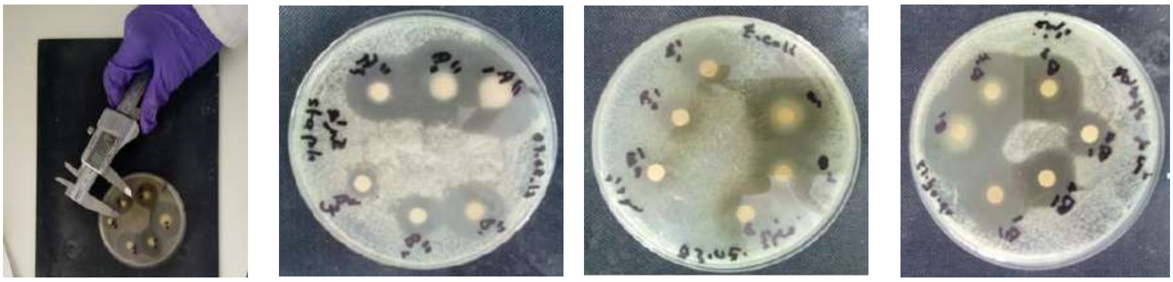
لون الثمار	الخضراء	السوداء	الحمراء
تركيز المستخلص بـ: مغ/مل	25 مغ/مل	25 مغ/مل	25 مغ/مل
القطر المتوسط للتثبيط لبكتيريا *E- coli* (مم)	0.0 مم	0.0 مم	0.0 مم
القطر المتوسط للتثبيط لبكتيريا *S- aureus* (مم)	16.26 مم	0.0 مم	0.0 مم



الشكل V-7 نتائج اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلصات الكلوروفورم

V-5-3 مستخلصات خلات الإيثيل و البيوتانول

بعض نتائج دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا لمستخلصات خلات الإيثيل والبيوتانول وكذا طريقة قياس أقطار التثبيط بإستعمال القدم القنوية وهي الموضحة في الشكل (V-8)



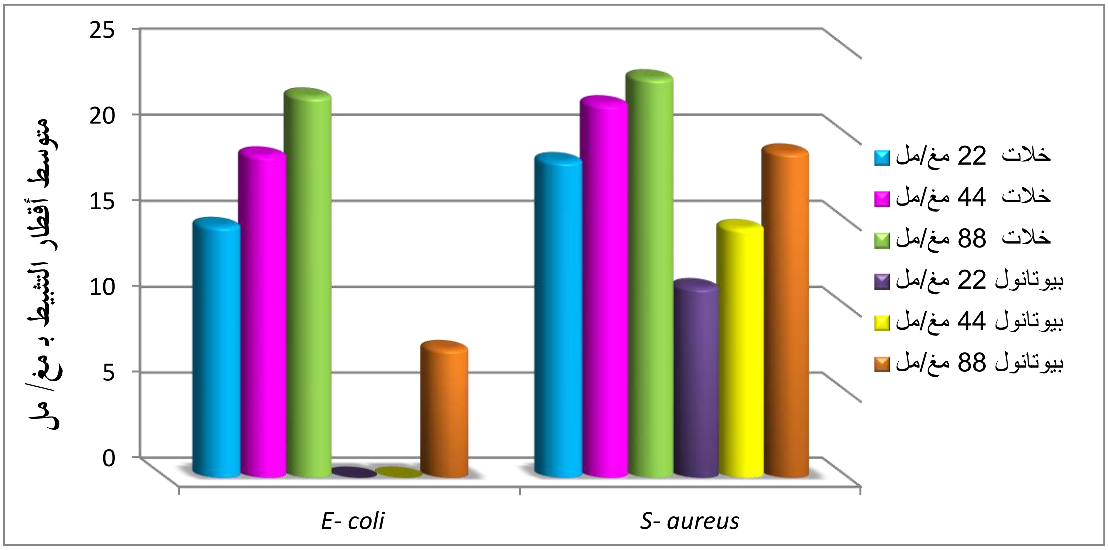
الشكل V-8 بعض نتائج اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا وطريقة القياس

V-5-3-1 الثمار الخضراء

تم تدوين متوسط أقطار التثبيط لمستخلصي الثمار الخضراء في الجدول (V-7)

الجدول V-7 قيم متوسط أقطار التثبيط لمستخلصي خلات الإيثيل و بيوتانول الثمار الخضراء

نوع البكتيريا	القطر المتوسط للتثبيط بـ: مم					
	مستخلص خلات الإيثيل			مستخلص البيوتانول		
	88 مغ/مل	44 مغ/مل	22 مغ/مل	88 مغ/مل	44 مغ/مل	22 مغ/مل
بكتيريا ***E- coli***	22.23	18.81	14.72	7.57	0.0	0.0
بكتيريا ***S- aureus***	23.29	21.78	18.48	18.98	14.60	11.16



الشكل V–9 نتائج اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا للثمار الخضراء

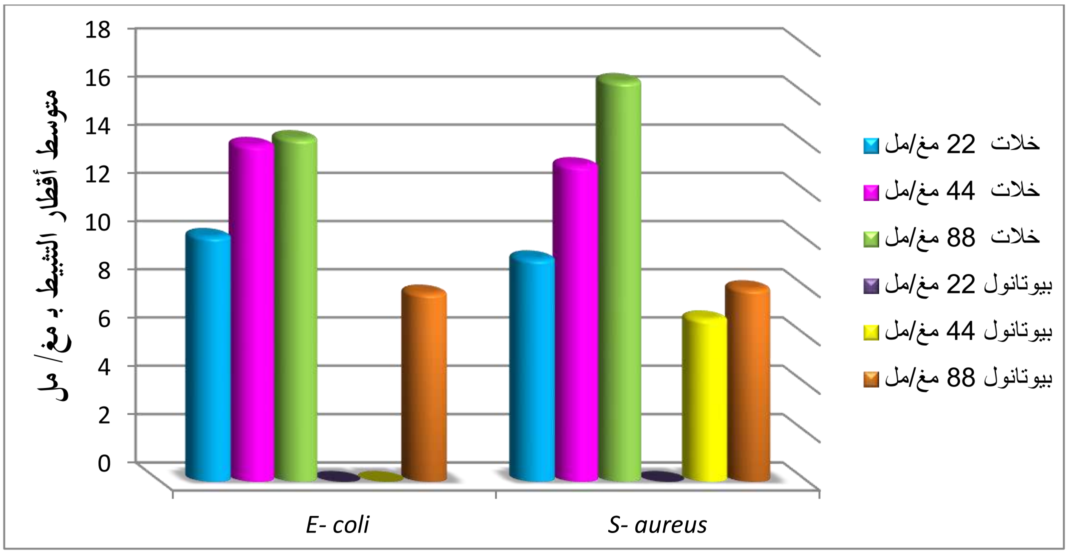
V–5–3–2 الثمار السوداء

نتائج فاعلية الثمار السوداء على السلالتين البكتيريتين مبينة في الجدول (V–8)

الجدول V–8 قيم متوسط أقطار التثبيط لمستخلصي خلات الإيثيل و بيوتانول الثمار السوداء

نوع البكتيريا	القطر المتوسط للتثبيط ب: مم					
	مستخلص خلات الإيثيل			مستخلص البيوتانول		
	88 مغ/مل	44 مغ/مل	22 مغ/مل	88 مغ/مل	44 مغ/مل	22 مغ/مل
بكتيريا ***E– coli***	14.21	13.93	10.15	7.80	0.0	0.0
بكتيريا ***S– aureus***	16.58	13.09	9.22	7.98	6.73	0.0

و الشكل (V–10) يترجم نتائج الجدول



الشكل V–10 نتائج اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا للثمار السوداء

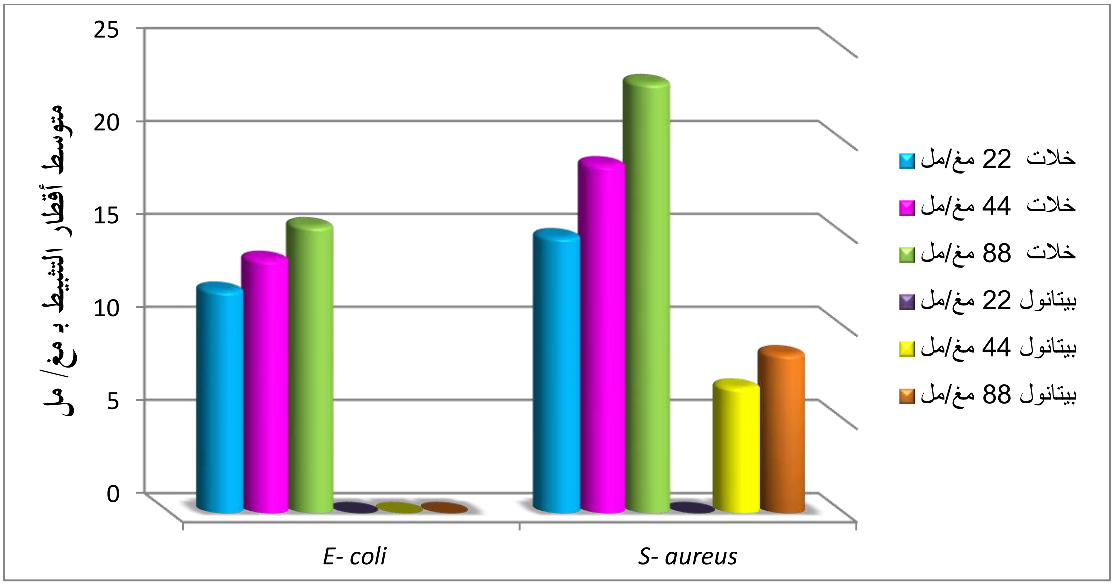
V-5-3-3 الثمار الحمراء

فاعلية الثمار الحمراء ضعيفة مقارنة بالثمار الأكثر نضج ونتائج هذه الفاعلية موضحة في الجدول (V-9)

الجدول V-9 قيم متوسط أقطار التثبيط لمستخلصي خلات الإيثيل و بيوتانول الثمار الحمراء

نوع البكتيريا	القطر المتوسط للتثبيط بـ: مم					
	مستخلص خلات الإيثيل			مستخلص البيوتانول		
	88 مغ/مل	44 مغ/مل	22 مغ/مل	88 مغ/مل	44 مغ/مل	22 مغ/مل
بكتيريا ***E- coli***	15.42	13.61	11.95	0.0	0.0	0.0
بكتيريا ***S- aureus***	23.12	18.70	14.83	8.53	6.74	0.0

الشكل (V-11) يوضح نتائج فاعلية الثمار الحمراء المدونة في الجدول (V-9)



الشكل V-11 نتائج اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا للثمار الحمراء

من النتائج السابقة نجد أن قطر التثبيط الأكبر لبكتيريا ***E- coli*** كان في مستخلصات خلات الإيثيل، ونفس الشيء مع بكتيريا ***S- aureus***، في حين أن مستخلصات الكلوروفورم كانت فعالة فقط مع بكتيريا ***S- aureus***.

وبالمقارنة بين فاعليات عينات الثمار فكانت مستخلصات الثمار الخضراء أكثر فعالية على كلا السلالتين البكتيريتين خاصة على بكتيريا ***S- aureus*** فمستخلص الكلوروفورم للثمار الخضراء هو المستخلص الكلوروفورمي الوحيد الذي سجل فاعلية، ولكنها اقتصرت على بكتيريا ***S- aureus***.

الخاتمة

الخاتمة

في هذا العمل سعينا للمساهمة في الدراسة الفيتوكيميائية لنبتة **البطم الأطلسي** (***Pistacia atlantica*** **Desf.**) ، فقمنا بالإستخلاص من النبتة بتطبيق أشهر طرق الاستخلاص ماء / ايثانول (70/30) حيث تحصلنا على أعلى مردود في مستخلص البيوتانول (1.7874 %)، فمن خلال نتائج الاختبارات الأولية تبين غنى النبتة بالمركبات الفينولية خصوصا الفلافونيدات والتانينات (tanines)، وأخضعنا المستخلصات المتحصل عليها للتحليل الكمي لكل من المركبات الفينولية، الفلافونيدات والتانينات، حيث وجدت أكبر كمية للفينولات، الفلافونيدات والتينات في مستخلص خلات الإيثيل، وباستعمال تقنيات الكروماتوغرافيا المختلفة تبين أن مستخلصات الثمار الخضراء هي الأغنى بالمركبات حيث أن المركبات تتراكم ومراحل النضج.

كما قمنا بدراسة الفاعلية المضادة للأكسدة للمستخلصات بطريقة اختبار الـ DPPH، فكانت فاعلية مستخلص خلات الإيثيل هي المثلى بين جميع المستخلصات يليها المستخلص البيوتانولي. أما الفاعلية المضادة للبكتيريا فإن الفاعلية الأحسن ضد بكتيريا *E- coli* كانت لمستخلص خلات الإيثيل، ونفس الشيء مع بكتيريا *S- aureus*. لكن مستخلص الكلوروفورم لعينة الثمار الخضراء كان فعالا فقط على بكتيريا *S- aureus*. وكانت فاعلية مستخلصات الثمار الخضراء هي الأفضل بين كل عينات مختلف أطوار النضج.

ويبقى الأمل قائما لدراسة مستخلص الكلوروفورم للثمار الخضراء دراسة فيتوكيميائية مستفيضة، تنصب على فصل وتحديد بنى المركبات المسؤولة عن الفاعلية البيولوجية.

فبالرغم من الإهتمام المنصب لدراسة النباتات الطبية لكن يبقى في هذا المجال كما هائلا من المواضيع قيد الدراسة وأخرى تستحق البحث والإستكشاف.

المراجع

المراجع

[1] جمال كرك، روعة خريط. دراسة بعض الخواص الكيميائية لثمار البطم والزيوت المستخلصة منها . مجلة. دمشق. جامعة العلوم الزراعية. 2011.

[2] M. Belyagoubi. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Mémoire de Doctorat. Tlemcen. Université Abou Bakr Belkaïd, 2012.

[3] M. Moghtader Comparative survey on the essential oil composition from the leaves and fruits of *Pistacia mutica* Fischer Kerman Province. Meadle east journal of scientific research, 2010, Vol.5, N°4, 291-297p.

[4] M. G. AL-Saghir. Phylogenetic Analysis of the Genus *Pistacia* (Anacardiaceae) ,Thèse, doc. Univ. Virginia2006

[5] T. Yi , J. Wen , A.Golan-Goldhirsh, D. E. Parfitt. Phylogenetics and reticulate evolution in *Pistacia* (Anacardiaceae). American Journal of Botany. America .2008,Vol.95.

[6] A.Bensatal.Etude phytoscreening chimique et antilithiais que de queleques espèces vègètales (*pistacia atlantica* Desf ,Artemisia campestris L ,Tamarix,gallica L) de la région de Djelfa. Mémoire de Doctorat .Ouargla. Université Kasdi merbah.2011,21p.

[7] S. Belhadj .Les pistacheraies algériennes : Etat actuel et dégradation. Centre international de hautes études agronomiques méditerranéennes. Djelfa. Centre Universitaire de Djelfa. 2001.

[8] A. Yaaqobi, L. EL Hafid, B.Haloui. Etude Biologique de *Pistacia Atlantica* Desf. De la Region Orientale du Maroc. Biomatec Echo. Oujda (Maroc). Université Mohamed Premier.2005.

[9] M. Feneane, M.Ibn Tattou, A. Ouyahya, J.Eloualidi. Flore pratique du Maroc. Manuel de détermination des plantes vasculaires. Vol : 2 Eds . Rabat. Institut Scientifique. 2007.636p.

[10] M. Bahmani, K. Saki , M. Asadbeygi, A.Adineh , S.Saberianpour, M. Rafieian-Kopaei , F. Bahmani ,E Bahmani . The effects of nutritional and medicinal mastic herb (*Pistacia atlantica*) . Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. Razi Herbal Medicines Research Center. Iran, Lorestan University of Medical Sciences. Khorramabad. Iran , Shahid Beheshti University of Medical Sciences. Tehran. Iran ,Medical Plants Research Center .Iran, Shahrekord University of Medical Sciences. Shahrekord. Iran ,Shohada Hospital of Dehloran City. Ilam. Iran, University of Medical Sciences. Ilam. Iran, Agri-Bank of Dehloran City. Ilam .Iran, Province. Ilam. Iran.2015,Vol. 7

[11] Monjauze, A., 1968 - Répartition et écologie de *Pistacia atlantica* Desf. en Algérie. Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Du N. N° 56, pp 1–127.

[12] M. Yousfi, A. Djeridane, I. Bombarda, C.Hamia, B. Duhem , E. M. Gaydou . Isolation and Characterization of a New Hispolone Derivative From Antioxidant Extracts of *Pistacia atlantica* . Phytotherapy Research. Université Amar Telidji. Laghouat. Algeria, Université Paul Cézanne (Aix-Marseille III), Escadrille Normandie Niémen. Marseille . France, Museum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire de Cryptogamie. Paris. France.2009.

[13] W. Liu, Y. Li, G. H. Learn, R. S. Rudicell, J. D. Robertson, B. F. Keele, J. B. N. Ndjango, C. M. Sanz, D.B.Morgan, S. Locatelli, M.K. Gonder, P.J. Kranzusch, P. D. Walsh, E. Delaporte, E. Mpoudi-Ngole, A. V. Georgiev, M.N. Muller, G. M. Shaw, M. Peeters, P.M. Sharp, J. C. Rayner, B. H. Hahn. Origin of the human malaria parasite Plasmodium falciparum in gorillas. Macmillan Publishers Limited. All rights reserved.2010,Vol. 467p.

[14] B. R. Ghalem, H. Benhassaini. Etude des phytostérols et des acides gras de *pistachia atlantica*. Afrique Science. Mascara. University of Mustapha Stambouli, Sidi bel Abbes. University of Djilali Liabes. 2007 Vol.5, pp409-410.

[15] F. Khallouki, A. Breuer, M. Elzemzoumi, C. M. Ulrich, R. W. Owen. Characterization and quantitation of the polyphenolic compounds detected in methanol extracts of *Pistacia atlantica* Desf. fruits from the Amellago region of Morocco. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. Morocco. 2016.

[16] B. Houari. Isolement et caractérisation d'inhibiteurs naturels de l'acétylcholinestérase. Mémoire de Doctorat. Oran. Université de Oran 1 . 2016.

[17] Z. Ben Ahmed, M. Yousfi, J. Viaene, B. Dejaegher, K. Demeyer, D. Mangelings, Y. Vander Heyden. Antioxidant activities of *Pistacia atlantica* extracts modeled as a function of chromatographic fingerprints in order to identify antioxidant markers. Microchemical Journal. University Amar Telidji. Laghouat. Algeria, Université Brussel. Brussels. Belgium, Université Libre de Bruxelles . Brussels, Belgium. 2016,Vol.128

[18] M. Yousfi, B. Nedjemi, R. Belal, D. Ben Berta. Étude des acides gras de huile de fruit de pistachier de l'Atlas algérien. Laghouat. Université de Laghouat, Blida. Université de Blida. 2003, Vol. 10

[19] R.P. Wawrzynski, J.D. Hahn, M.E. Ascerno. Insect and Mite Galls.Agricultural Food and Environmental Sciences. University of Minnesota. 2005.

[20] J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales 4e édition. 2009.262p.

[21] ميثاق الجبر. بحث وتحديد نواتج الايض الثانوي لنبات القات *Catha edulis* من العائلة (Celastraceae) ونبات البوليكاريا *Pulicaria jaubertii* من العائلة (Asteraceae) وتقييم الفعالية البيولوجية. مذكرة دكتوراه. قسنطينة:جامعة منتوري، 2010.

[22] زعيتر لحسن. تحديد المكونات الكيميائية لأطوار الكلوروفورم والزيوت الأساسية لأنواع من العائلتين المركبة (Composite) و السيستية (Cistaceae). مذكرة دكتوراه. قسنطينة:جامعة منتوري، 2006.

[23] S. D. Sarker, L. Nahar. Chemistry for Pharmacy Students. John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, England. 2007,331-332p

[24] علاوي مسعودة. الدراسة الفيتوكيميائية والتقييم الميكروبيولوجي لنبتتين من الفصيلة الرمرامية تستعملان في الطب التقليدي الصحراوي: *Traganum nudatum (Thamran).Haloxylon scoparium Pomel (Remth)* . مذكرة دكتوراه. ورقلة: جامعة قاصدي مرباح، 2015.

[25] احمد طويل. دراسة نواتج الميتابوليزم الثانوي لبعض نباتات منطقة الهقار. مذكرة دكتوراه. قسنطينة:جامعة منتوري، 2009.

[26] دندوقي حسين. دراسة الايض الفلفونيدي والتربيني لبعض أنواع نباتات ضايات الصحراء الجزائرية. مذكرة دكتوراه .قسنطينة:جامعة منتوري، 2002، 45 ص.

[27] C. S. Buer, N. Imin, M. A. Djordjevic. Journal of Integrative Plant Biology , 2010,Vol 52(1), 98-111p.

[28] H. Kaur Sandhar, B. Kumar, S. Prasher, P. Tiwari, M. Salhan, P. Sharma. Internationale Pharmaceutica Sciencia , 2011, 1(1), 25-41.

[29] J. B. Harborne. Flavonoids Pigments in Harbivores: Their Interaction with Secondary Plant Metabolites, Academic Press, 1979, 645p.

[30] K. Raj Narayana, M. Sripal Reddy, M. R. Chaluvadi, D. R. Krishna. Indian Journal of Pharmacology , 2001,Vol 33, 2-16p

[31] C. G. Fraga, P. I. Oteiza. Biology & Medicine, 2011, Vol 51, 813-832p.

[32] J. González-Gallego, S. Sánchez-Campos, M. J. Tuońn. Nutr. Hosp., 2007, Vol 22(3), 287-93p

[33] Z. Keivan, T. Boon-Teong, S. Sing-Sin, W. Pooi-Fong, M. Mohd Rais, A. Sazaly. Journal of Medicinal Plant Research , 2014, Vol 8(6), 307-312p.

[34] P. F. Surai. Aust. Polu. Sci. Sym.,2001, 126-134p.

[35] A. Das Sarma, A. Rahaman Mallick, A. K. Ghosh. International Journal of Pharma Sciences and Research , 2010, Vol. 1(3), 185-192p.

[36] U. Bandyopadhyay, D. Das, R. K. Banerjee. Current Science, 1999, Vol. 77(5),658-666p.

[37] B. Halliwell. Encyclopedia of Life Sciences,2001, 1-7p.

[38] M. Carocho, I. C.F.R. Ferreira. Food and C hemical Toxicology, 2013, Vol. 51 ,15-25p.

[39] P. Molyneux. Songklanakarin J. Sci. Technol., 2004, Vol.26(2), 212-219p.

[40] G. Tirzitis, G. Bartosz. Acta Biochimica Polinica, 2010, Vol. 57(1), 139-142p.

[41] M.Butnariu, I. Grozea. Antioxidant (Antiradical) Compounds. J Bioequiv Availab, 2012 Vol 4,107-109p.

[42] T. P. A. Devasagayam, , J. C. Tilak, K. K. Boloor, K. S. Sane, , S.S. Ghaskadbi,. R.D. Lele, Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. JAPI, 2004, Vol 52:794-804p.

[43] L. S. Oliboni, C. Dani, , C. Funchal, J. A. Henriques, M. Salvador. Hepatoprotective, cardioprotective, and renal-protective effects of organic and conventional grapevine leaf extracts (Vitis labrusca var. Bordo) on Wistar rat tissues. An.Braz. Acad. Sci, 2011, Vol 83, 1403-1411p.

[44] W. Lisu, Y. Jui-Hung, L. Hsiao-Ling, M. J. Wul. Antioxidant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (Nelumbo nucifera Gertn). J. food Drug Anal, 2003, Vol 11(1) : 60-66p.

[45] ع. خ. الركابي، مجلة أبحاث البصرة، 33(2)، 2007، 5-18ص.

[46] ص. جعفر عجينة، المجلة العراقية البيطرية الطبية، 2012، 36(2)، 111-112 ص.

[47] س. علي حميد الحلفي، أ. ب. حميد جابر الموسوي، مجلة أبحاث البصرة،2011، 37(5)، 82-91 ص.

[48] غيابة زينب. دراسة تحليلية للبيدات وفينولات ومكونات أخرى لبعض أصناف نخيل التمر المحلية. مذكرة دكتوراه. ورقلة : جامعة قاصدي مرباح، 2015. 40-95-112 ص

[49] F. Shahidi, P. K. Janitha, P. D. Wanasundara. Phenolic antioxidants. Critical Reviews of Food Science & Nutrition, 1992, Vol 32,67-103p.

[50] W. F. Nawar, Lipids. In: Fennema O, editor. Food chemistry. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, Inc ,1996, 225-320p.

[51] E. A. Decker. Antioxidant Mechanisms. In: Food Lipids, Chemistry, Nutrition, and Biotechnology.(ed) Akoh, C.C., Min, D. B., .Marcel Dekker, Inc. New York, Basel. 2002, pp 535-560

[52] N. C. Ward, J. M. Hodgson, K. D. Croft, V. Burke, L. J. Beilin, I. B. Puddey. The combination of vitamin c and grape-seed polyphenols increases blood pressure: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial, 2005, Vol 23, 427-434p.

[53] Y. I. Kim, Does a high folate intake increase the risk of breast cancer? Nutr. Rev, 2006, Vol 64, 468-475p.

[54] P.Archana, T.Samatha, B.Mahitha, N.Ramaswamy. Preliminary phytochemical screening from leaf and seed extracts of senna alata l.Roxb-an ethno medicinal plant. Journal of pharmaceutical and biological research, 2012, Vol.3, PP 82-85.

[55] G.Ayoola, H.Coker, S.Adesegun, A.Adepoju-Bello, K.Obaweya, E.Ezennia, T.Atangbaila. Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. Journal of pharmaceutical Research,2008, Vol.7, PP 1021.

[56] N.Savithramma, M.Limga Rao, D.Suhulatha. Screening of medicinal plants for secondary metabolites. Journal of scientific research,2011, Vol.8, PP 580-581.

[57] M. Belguidoum, H. Dendougui, Z. Kendour, A. Belfar, C. Bensaci, M .Hadjadj. Antioxidant activités, phenolic, flavonoïde and tannin contents of endemic Zygophyllum cornutum coss. from Algerian sahara.pharma chemical, 2015, Vol.7, PP 313.

[58] F. Toul, N. Belyagoubi-Benhammou, A. Zitouni, N. Ghembaza, F Atik-Bekkara. In-Vitro Antioxidant Effcts of Tannin Extracts of Pistacia Atlantica. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. Tlemcen. Algérie. 2016, Vol. 7(1)pp121-126

[59] T. J. Mabry, K. R. Markham, M. B. Thomas the systematic identification of flavonoids . Springer-Verlay New York.Inc 1970.

الملخص

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو الدراسة الفيتوكيميائية لنبتة البطم الاطلسي (*Pistacia atlantica* Desf.) من العائلة الاناكردية (Anacardiaceae) التي تنتشر في عدة أنحاء من الجزائر خاصة في المناطق الجافة وشبه الجافة ،وهي شجرة ثمارها صالحة للأكل غنية بالزيوت والطاقة، و تحتل مكانة هامة في الطب الشعبي بفضل إمكانياتها العلاجية وفاعليتها البيولوجية.

قمنا بنقع ثمار النبتة في إيثر البترول يليه استخلاص صلب–سائل بمحلول إيثانولي (70%) وبعد التخلص من الإيثانول قمنا بإجراء استخلاص انتقائي للمستخلص المائي الخام بمذيبات متزايدة القطبية: كلوروفورم، خلات الايثيل ثم بيوتانول حيث كان أعلى مردود تحصلنا عليه للمستخلص البيوتانولي (1.7874%). ومن خلال نتائج الاختبارات الأولية تبين غنى النبتة بالفينولات خصوصا الفلافونيدات و التانينات. وباستعمال الكروماتوغرافيا استنتجنا أن مستخلصات الثمار الخضراء هي الأغنى بمنتجات الأيض الثانوي، ومن نتائج التحليل الكمي للمركبات الفينولية، الفلافونيدية و التانينات، وجدنا أن أكبر كمية للفينولات، الفلافونيدات والتانينات كانت في مستخلص خلات الإيثيل.

كما قمنا بدراسة الفاعلية المضادة للأكسدة بطريقة اختبار الـ DPPH وكذا الفاعلية المضادة للبكتيريا فكانت فاعلية مستخلصات خلات الإيثيل هي المثلى لكليهما.

الكلمات الدالة: الأناكردية، البطم الأطلسى، المركبات الفينولية، الفاعلية المضادة للأكسدة، الفاعلية المضادة للبكتيريا.

Abstract

The principal aim of the present work is the phytochemical study of the plant *Pistacia atlantica* Desf . from Anacardiaceae family that are spread in many regions of Algeria, especially in arid and semi-arid regions, it is a tree wich its fruits are edible rich in oil and energy, and occupies an important place in traditional medicine due to its potential therapeutic and biological activities.

We soak the fruits of the plant in the petroleum ether followed by solid-liquid extraction with ethanol solution (70%), after the elimination of ethanol we have conducted a selective extraction of aqueous crude extracts with increasingly polar solvents: Chloroform, ethyl acetate and butanol where the highest yield obtained for the butanol extract (1.7874%). Through the results of the initial tests it is shown the richness of the plant with phenols especially flavonoids and Tannins. Using chromatography, we concluded that green fruits extracts are the richest in secondary metabolites, from the results of quantitative analysis of phenolic compounds, flavonoids and tannins, we found that the largest amount of phenols, flavonoids and tannins was in ethyl acetate extract.

We have also studied the antioxidant activity with the DPPH test method as well as the anti-bacterial activity. The efficacy of ethyl acetate extracts was optimal for both.

Keywords: Anacardiaceae, *Pistacia atlantica* Desf., Phenolic compounds, Effective anti-oxidant, Effective anti-bacterial.

Résumé

L'objectif principal du présent travail est l'étude phytochimique de la plante *Pistacia atlantica* Desf. de la famille Anacardiaceae qui se répand dans de nombreuses régions de l'Algérie, en particulier dans les régions arides et semi-arides, c'est un arbre dont les fruits sont comestibles riches en huiles et Énergie, et occupe une place importante dans la médecine traditionnelle en raison de ses activités thérapeutiques et biologiques potentielles.

Nous absorbons les fruits de la plante dans l'éther de pétrole suivi d'une extraction solide-liquide avec une solution d'éthanol (70%), après l'élimination de l'éthanol, nous avons effectué une extraction sélective d'extraits bruts aqueux avec des solvants de plus en plus polaires: Chloroforme, Acétate d'éthyle et Butanol où le rendement le plus élevé obtenu pour l'extrait de butanol (1,7874%). Grâce aux résultats des tests initiaux, on montre la richesse de la plante avec des phénols, en particulier des flavonoïdes et des tanins. En utilisant la chromatographie, nous avons conclu que les extraits de fruits verts sont les plus riches dans les métabolites secondaires, à partir des résultats de l'analyse quantitative des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins, nous avons constaté que la plus grande quantité de phénols, de flavonoïdes et de tanins était dans l'extrait d'acétate d'éthyle.

Nous avons également étudié l'activité antioxydante avec la méthode de test DPPH ainsi que l'activité anti-bactérienne. L'efficacité des extraits d'acétate d'éthyle était optimale pour les deux.

Mots-clés: Anacardiaceae, *Pistacia atlantica* Desf., Composés phénoliques, Activités anti-oxydant, Activités anti-bactérien.