



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

The people's Democratic Of Algeria

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministry Of Higher Education and scientific
Research

جامعة قاصدي مرباح - ورقلة -

University Kasdi Merbah -Ouargla-

كلية الرياضيات وعلوم المادة

Faculty Of Mathematics and sciences Matiarial

قسم الكيمياء

Chemistry Department

مذكرة مقدمة ضمن إستكمال متطلبات لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء

التخصص: كيمياء تحليلية

من إعداد الطالبتين: بن الشحم سهير - رقايدة ليلي

بعنوان:

تطبيقات مطيافية الاشعة المرئية و فوق البنفسجية (UV-Vis) في تقدير المركبات
الفعالة وفعاليتها

نوقشت علنا يوم: 06/06/2022

أمام لجنة المناقشة:

رئيسا	جامعة قاصدي مرباح ورقلة	أستاذ محاضر أ-أ-	د.بن منين عبد القادر
مناقشا	جامعة قاصدي مرباح ورقلة	أستاذ محاضر أ-أ-	د. علاوي عبد الفتاح
مؤطرا	جامعة قاصدي مرباح ورقلة	أستاذ محاضر أ-أ-	د . مصطفى بن علي

السنة الجامعية: 2022/2021



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

The people's Democratic Of Algeria

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministry Of Higher Education and scientific
Research

جامعة قاصدي مرباح - ورقلة -

University Kasdi Merbah -Ouargla-

كلية الرياضيات وعلوم المادة

Faculty Of Mathematics and sciences Matiarial

قسم الكيمياء

Chemistry Department

مذكرة مقدمة ضمن إستكمال متطلبات لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء

التخصص: كيمياء تحليلية

من إعداد الطالبتين: بن الشحم سهير - رقايدة ليلي

بعنوان:

تطبيقات مطيافية UV-Vis في تقدير المركبات الفعالة وفعاليتها

نوقشت علنا يوم: 2022/06/06

أمام لجنة المناقشة:

رئيسا	جامعة قاصدي مرباح ورقلة	أستاذ محاضر -أ-	د.بن منين عبد القادر
مناقشا	جامعة قاصدي مرباح ورقلة	أستاذ محاضر -أ-	د. علاوي عبد الفتاح
مؤطرا	جامعة قاصدي مرباح ورقلة	أستاذ محاضر -أ-	د . مصطفى بن علي

السنة الجامعية: 2022/2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

شكر وتقدير

أول من يشكر ويحمد آناء الليل وأطراف النهار ، هو العلي القهار ، الأول والأخر والظاهر والباطن ، الذي أغرقنا بنعمه التي لا تحصى ، وأغدق علينا برزقه الذي لا يفنى ، وأنار دروبنا ، فله جزيل الحمد والثناء العظيم هو الذي أنعم عينا إذ أرسل فينا عبده ورسوله " محمد ابن عبد الله " عليه أزكى الصلوات وأطهر التسليم أرسله بقرآنه المبين ، فعلمنا ما لم نعلم ، وحثنا على طلب العلم أينما وجد .

الشكر الجزيل إلى من حملوا أقدس رسالة في الحياة إلى الذين مهدوا لنا طريق العلم و المعرفة إلى جميع أساتذتنا الأفاضل وعلى رأسهم أستاذنا " بن علي مصطفى " الذي اشرف على هذا العمل من خلال توجيهاته وإرشاداته فجزاه الله عنا كل خير وجعلها في ميزان حسناته .

كما نتوجه بالشكر الجزيل إلى أساتذتنا أعضاء لجنة المناقشة كل من الأستاذ

" علاوي عبد الفتاح " و " بن منين عبد القادر "

لقبولهم مناقشة هذه المذكرة .

كما لا يفوتنا أن نشكر أساتذتنا الأفاضل الذين اشرفوا على تكويننا خلال مشوارنا الجامعي دون أن ننسى زملاءنا في الدفعة كيمياء 2022 .

إِهْدَاء

الحمد لله وكفى والصلاة على الحبيب المصطفى وأهله ومن وفى .

وصلت رحلتي الجامعية إلى نهايتها بعد تعب ومشقة وها أنا ذا اختتم بحث تخرجي فالحمد لله الذي وفقنا لتثمين هذه الخطوة في مسيرتنا بمذكرتنا هذه فما أجمل أن يجود المرء بأعلى ما لديه والأجمل أن يهدي الغالي للأعلى هي ذي ثمرة جهدي اجنيها اليوم هي هدية اهديتها :

إلى من رضاها غايتي وطموحي من أعطتني الكثير ولم تنتظر الشكر صاحبة البصمة الصادقة في حياتي والدتي العزيزة "فاطمة "

إلى من سعى و شقي لأنعم بالراحة والهناء إلى من احمل اسمه بكل افتخار الذي لم يبخل بشي من أجل أن ارتقي سلم الحياة والذي العزيز " حمود "

إلى عمود البيت الواقف ونس البيت و العائلة " مسعودة " جدتي أطال الله عمرها .

إلى أول من علمتنا كتابة حرف وقراءة نص عمتي " حورية "

إلى من بهم أكبر وعليهم أعتمد رفقاء البيت الطاهر إلى من حبهم يجري في عروقي أخوتي وأخواتي " عبد الجبار " " عبد العزيز " " عبد القهار "

"مسعودة" "خلود" "جهينة "

إلى عائلتي الثانية عمي "مسعود" وزوجته "فتيحة" إلى من لا تكفي الكلمات لوصفهم أخواتي بالدم "سحر" "سيرين" "إيمان" "هديل "

إلى كل من يحمل لقب "رقادة" و"رقاب "

إلى أحسن من عرفني بهم القدر صديقتاتي من تقاسمت معهم أجمل الذكريات من الثانوية إلى اليوم .

إلى جميع الأصدقاء و رفقاء المشوار الجامعي من تقاسمت لحظاته معهم .

إلى الذين حملوا أقدس رسالة في الحياة إلى من مهدوا لنا طريق العلم والمعرفة أساتذتنا الأفاضل .

إلى كل قسم الكيمياء بجامعة قاصدي مرباح ورقلة دفعة ماستر كيمياء تحليلية 2022 مع تمنياتي لهم بالتوفيق و النجاح .

ليلى

إِهْدَاء

بسم الله الرحمن الرحيم
الحمد لله رب العالمين و الصلاة على رسوله الكريم
أهدي ثمرة جهدي إلى من كانا نورا في ظلامي، و فرحا في أحزاني، و قدوة في كياني،
و منبع الحنان، والداي الغاليين، فبفضل الله ثم جهودهما وصلت إلى ما أنا فيه الآن أسأل الله
أن يتمتعهما بالصحة والعافية، و أن يطيل في أعمارهما في الخير.

إلى أخواتي سر سعادتي ونجاحي فهم لي كل السند والعون بحيث
يعجز عن وصفه اللسان وما نطق والقلم وما كتب.
إلى أخي الصغير **بوبكر**.

إلى جميع أصدقائي وصديقاتي .

إلى كل أسرة الكيمياء بجامعة قاصدي مرباح ورقلة الذين لم يتوانوا في مد يد العون.
إلى كل أحرار الأمة الإسلامية في كل بقاع العلم وإلى كل صاحب فكر مصلح يعيش
لأجل فكره .
أهدي إليكم بحثي المتواضع راجية من المولى سبحانه، أن يكون نافعا قواما لأمتي و
ديني.

وإلى كل من طلبة دفعة ماستر 2022.

فهرس المحتويات

الصفحة	الفهرس
I	قائمة الجداول
II	قائمة الأشكال
V	قائمة الرموز
VII	ملخص الدراسة
1	مقدمة عامة
الفصل الاول : طرق التحليل الطيفي	
2	تمهيد
2	I-1 معنى الطيف:
2	I-2 الأشعة الكهرومغناطيسية
3	I-3 الطيف الكهرومغناطيسي
5	I-4 تفاعل المادة مع الأشعة
5	I-5 الطيف الذري
7	I-6 الطيف الجزيئي
7	I-7 طرق التحليل الطيف الذري
7	I-7-1 الامتصاص الذري
10	I-7-2 مطيافية الانبعاث الذري ألهمي
11	I-7-3 مطيافية الانبعاث في البلازما
12	I-8 طرق التحليل الطيف الجزيئي
12	I-8-1 مطيافية التآلق والوميض الجزيئي
13	I-8-2 مطيافية الأشعة تحت الحمراء
15	I-9 مطيافية الكتلة
16	I-10 مطيافية الأشعة السينية
17	I-11 مطيافية الرنين النووي المغناطيسي
الفصل الثاني:مطيافية الأشعة المرئية وفوق البنفسجية UV-Vis	

فهرس المحتويات

20	II تمهيد
20	II-1 مطيافية الأشعة البنفسجية والمرئية
21	II-1-1 الإثارة للإلكترونية
21	II-1-2 الإنتقالات الإلكترونية
22	II-1-2-1 الانتقالات الالكترونيات أوربتالات σ و π و n
23	II-2-1-2 الانتقالات الالكترونيات أوربتالات d و f
23	II-2-1-3 امتصاص فصائل انتقال شحنة في المعقدات
24	II-2 قانون لامبرت
25	II-2-1 قانون بيير
26	II-3 الحيود قانون بيير - لامبرت
27	II-4 الانحراف عن قانون لامبرت - بيير
27	II-4-1 أسباب ذاتية في أصل قانون
27	II-4-2 الانحراف الكيميائي
28	II-4-3 تأثير الرقم الهيدروجيني ph
28	II-5 مكونات أجهزة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية
28	II-5-1 مصدر الأشعة
29	II-5-1-1 مصادر الأشعة المرئية
29	II-5-1-2 مصدر الأشعة فوق البنفسجية
30	II-5-2 وحدة التحكم الأطوال الموجية
31	II-5-2-1 المرشح
31	II-5-2-2 المنشور ومحزوز الحيود
32	II-5-3 خلية العينة
34	II-5-4 الكاشف
38	II-6 المذيب ودوره في القياسات في مطياف الأشعة فوق البنفسجية
38	II-6-1 تأثير المذيب
39	II-7 الأجهزة
39	II-7-1 الفوتومتر photometer

39	2-7-II سبكترو فوتومتر
40	8-II تصميم أجهزة قياس الامتصاص
40	1-8-II نظام أحادي الحزمة
40	2-8-II نظام ثنائي الحزمة
41	9-II التحليل النوعي
41	10-II التحليل الكمي
الفصل الثالث: المركبات الفعالة والفعالية المضادة للأكسدة	
43	III مقدمة
43	1-III مركبات الفعالة
43	2-III مركبات الأيض الثانوي
43	1-2-III القلويدات
44	2-2-III الصابونيات
44	3-2-III الجليكوسيدات
44	4-2-III الراتجات
45	5-2-III المركبات الفينولية
45	1-5-2-III الفلافونيدات
46	2-5-2-III الكومارينات
46	3-5-2-III التينينات
47	6-2-III التربينات
47	7-2-III الزيوت الطيارة
48	8-2-III الدهون
48	9-2-III الستيرويدات
49	3-III الفعالية المضادة للأكسدة
49	1-3-III تعريف الأكسدة
49	2-1-3-III الأجهاد التأكسدي
49	2-3-III الجذور الحرة ومصادرها

50	III-3-1 فعالية الجذور الحرة
50	III-3-3 مضادات الأوكسدة
51	III-3-3-1 تصنيف مضادات الأوكسدة
51	III-3-3-1-1 مضادات الأوكسدة الطبيعية
51	III-3-3-2 مضادات الاصطناعية
53	III-3-2 مضادات الأوكسدة الأنزيمية
54	III-3-3-3 مضادات الأوكسدة غير الأنزيمية
56	III-3-4 آلية عمل الأوكسدة
56	III-4 طرق تقدير فعالية المضادات للأوكسدة
57	III-5 الطرق الطيفية لتقدير مضادات الأوكسدة
57	III-5-1 الاختبارات المبنية على أساس انتقال ذرة الهيدروجين
58	III-5-1-1 اختبار تقدير إجمالي محاصرة الجذور الحرة
58	III-5-1-2 اختبار قدرة امتصاص الأوكسجين الجذري
59	III-5-2 الاختبارات المبنية على أساس الانتقال الالكتروني الأحادي
60	III-5-2-1 اختبارات تقليل مضادات الأوكسدة المحتملة
60	III-5-2-1-1 اختبار القدرة الإرجاعية
61	III-5-2-1-1-1 اختبار تقليل أيونات الحديدك (فسيرسيانيدات البوتاسيوم)
62	III-5-2-1-2 اختبار الفوسفومولبيديوم
62	III-5-2-1-3 اختبار بيتا-كاروتين-β-Caroten
64	III-5-3 اختبار كسح الجذور الحرة
64	III-5-3-2 اختبار الجذر الكاتيوني ABTS المعبر بالترلوكس المكافئ
65	III-5-4 اختبارات أو أليات نشاط مضادات الأوكسدة في الجسم

65	III-5-4-1 اختبار حمض ثيوبرباريك
الفصل الرابع: تطبيقات في التقدير الكمي وتشخيص المركبات الفعالة وفعاليتها UV-Vis	
67	IV-1 تطبيقات UV-Vis في تقدير مركبات الفعالة
67	IV-1-1 التقدير الكمي للفينولات
68	IV-1-1-2 مناقشة النتائج
69	IV-1-2 تقدير كمية الفلافونيدات
70	IV-2-1-1 مناقشة النتائج
70	IV-1-3-1 تقدير الكمي للفلافانول
71	IV-1-3-1 مناقشة النتائج
72	IV-1-4 التقدير الكمي الكربوهيدرات
73	IV-1-4-1 مناقشة النتائج
73	IV-1-5 التقدير الكمي للمركبات التانينية TTC
74	IV-1-6 التقدير الكمي للبروتينات
75	IV-1-6-1 التقدير الكمي البروتينات Biuret
75	IV-1-6-2 تقدير محتوى البروتينات بطريقة lowry
78	IV-1-7 تقدير الستيروولات
78	IV-1-7-1 المعايرة الكلية للستيرويلات
79	IV-1-7-2 النتائج والمناقشة
79	IV-1-8 التقدير الكمي التوكوفيرولات
80	IV-1-8-1 النتائج والمناقشة
80	IV-2 تطبيقات UV في تشخيص المركبات الفعالة
81	IV-2-1 مساهمة في تشخيص جسيمات الفضة النانوية
82	IV-2-2 مساهمة تشخيص الفلافونيدات
87	IV-2-3 تشخيص الليكاند ومعداتها الفلزية
87	IV-2-3-1 أطياف الأشعة فوق البنفسجية - المرئية
88	IV-2-4 طيف امتصاص الأشعة فوق البنفسجية المرئية (UV-Vis)
89	IV-3 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بطرق الطيفية
89	IV-3-1 اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH

فهرس المحتويات

90	IV -1-3-1 النتائج والمناقشة
91	IV -2-3-2 اختبار القدرة الارجاعية للحديد الثلاثي (RP)
92	IV -1-2-3 النتائج والمناقشة
92	IV -3-3-3 اختبار فعالية مضادات الأكدسة الكلية CAT باستعمال موليبيداتالأمنيوم
93	IV -1-3-3 النتائج والمناقشة
94	IV -4-3-4 اختبار تثبيط الجذر الكاتيوني ABTS
95	IV -1-4-3 النتائج والمناقشة
96	IV -5-3-5 اختبار القدرة الإرجاعية للحديد (FRAP)
97	IV -1-5-3 مناقشة النتائج
98	الخلاصة العامة
99	المراجع

قائمة الجداول

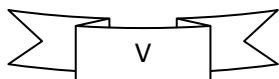
رقم الصفحة	عنوان الجدول	رقم الجدول
68	نتائج تقدير الكمي الفينولات	(1- IV)
70	نتائج تقدير الكمي الفلافونيدات	(2- IV)
71	نتائج تقدير الكمي للفلافانول	(3- IV)
74	كمية TTC للمستخلصات	(4- IV)
77	يمثل قيم نسبة البروتين في العينات المدروسة	(5- IV)
79	نسبة الستيروولات (mg/g)	(6- IV)
81	كمية المركبات الفينولية مع التوكوفيرولات في الزيوت المدروسة	(7- IV)
83	العلاقة بين بنية الفلافونويدولونه تحت UV	(8- IV)
84	موضع امتصاص العصابتين I و II للفلافونيدات	(9- IV)
85	أهم الإنزيمات الملاحظة عن إضافة الكواشف	(10- IV)
87	الخصائص الفيزيائية لليكاند ومعقداتها الفلزية	(11- IV)
90	نتائج اختبار DPPH بالنسبة للمستخلصات	(12- IV)
92	نتائج اختبار القدرة الأرجاعية للمستخلصات	(13- IV)
93	قيم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية	(14- IV)
96	قيم IC ₅₀ للمستخلصات و BHT	(15- IV)
97	قيم الإمتصاصية التركيز المحضرة والفعالية المضادة للأكسدة باستعمال القدرة الأرجاعية	(16- IV)

قائمة الأشكال

رقم الصفحة	عنوان الشكل	رقم الشكل
الفصل الأول		
3	الحركة الموجية للأشعة الكهرومغناطيسية	الشكل (1-I)
5	طيف الأشعة الكهرومغناطيسية	الشكل (2-I)
6	مخطط يوضح طول الأشعة المطلوبة لإثارة انتقال الإلكترون من مستوى الطاقة الأدنى إلى مستويات أعلى	الشكل (3-I)
8	مستويات الطاقة في الجزيء	الشكل (4-I)
9	جهاز مطيافية الأمتصاص الذري	الشكل (5-I)
11	جهاز الأنبعاث الذري باللهب	الشكل (6-I)
12	جهاز مطيافية الأنبعاث الذري للبلازما	الشكل (7-I)
15	مطياف الأشعة تحت الحمراء IR spectrometer	الشكل (8-I)
16	جهاز مطياف الكتلة	الشكل (9-I)
17	جهاز طيف الأشعة السينية	الشكل (10-I)
19	مطياف الرنين النووي المغناطيسي	الشكل (11-I)
الفصل الثاني: مطيافية الأشعة المرئية وفوق البنفسجية UV-vis		
20	جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية UV-Vis	الشكل (1-II)
23	الانتقالات الالكترونية (للروابط التساهمية) في ال UV-Vis	الشكل (2-II)
30	مصباح الهيدروجين والديوتيريوم	الشكل (3-II)
30	مصباح التنجستن	الشكل (4-II)
33	شكل خلايا العينة	الشكل (5-II)
36	خلية الطبقة الحاجزة	الشكل (6-II)
37	الخلية الضوئية	الشكل (7-II)
38	الخلية الضوئية المضاعفة	الشكل (8-II)
40	نظام أحادي الحزمة	الشكل (9-II)
41	نظام ثنائي الحزمة	الشكل (10-II)

42	العلاقة بين شدة الامتصاص والتركيز	الشكل (11-II)
الفصل الثالث: المركبات الفعالة وفعاليتها المضادة للأكسدة		
44	الصيغة الكيميائية للصابونيين	الشكل (1.III)
46	تركيب الفلافونيدات	الشكل (2.III)
46	تركيب الكومارينات	الشكل (3.III)
47	وحدة الإيزوبرين	الشكل (4.III)
48	الوحدة الأساسية لتكوين السترويدات	الشكل (5.III)
52	بنية BHA	الشكل (6.III)
52	بنية BHT	الشكل (7.III)
53	بنية ل (AG) و (PG)	الشكل (9.III)
55	بنية الفيتامين هـ	الشكل (10.III)
55	بنية حمض الأسكوربيك	الشكل (11.III)
55	بنية β - Carotene	الشكل (12.III)
59	آلية عملاًختبار ORAC	الشكل (13.III)
61	آلية تشكل المعقد (TPTZ- Fe^{+3} / Fe^{+2}) والتفاعل مع مضادات الأكسدة	الشكل (14.III)
61	آلية التفاعل لاختبار فيرسيانيدالبوتاسيوم	الشكل (15.III)
62	آلية التفاعل لاختبارالفوسفولبيدينيوم	الشكل (16.III)
63	آلية التفاعل بيتا-كاروتين β -caroténe	الشكل (17.III)
64	آلية كسح الجذور الحرة DPPH	الشكل (18.III)
65	آلية التفاعل الجذر الكاتيوني ATBS	الشكل (19.III)
66	آلية التفاعل حمض ثيوبيرياريك TBA	الشكل (20.III)
الفصل الرابع: تطبيقات جهاز التحليل الطيفي UV-Vis في التقدير الكمي وتشخيص المركبات الفعالة وفعاليتها		
68	المنحنى القياسي لحمض الغاليك	الشكل (1- IV)
69	المنحنى القياسي للروتين	الشكل (2- IV)
71	المنحنى القياسي للكركستين	الشكل (3- IV)
72	المنحنى القياسي للغلوكوز	الشكل (4- IV)

73	محتوى الكمي الكربوهيدرات ثمار نخيل دقلة نور دقلة بيضاء خلال مرحلة نضج (ملغ / 100 غرام)	الشكل (5- IV)
74	المنحنى القياسي للكاتشين	الشكل (6- IV)
75	المنحنى القياسي للألبومين	الشكل (7- IV)
76	المنحنى القياسي لبروتين الألبومين	الشكل (8- IV)
78	المنحنى القياسي للكولسترول	الشكل (9- IV)
80	المنحنى القياسي لـ a التوكوفيرول	الشكل (10- IV)
82	طيف امتصاص الأشعة الضوئية وفوق البنفسجية لنترات الفضة (AgNO ₃) ومستخلص نبات الدقلة الصفراء (T. neriifolia) وجسيمات الفضة النانوية المحضرة منه (T.n.AgNPs).	الشكل (11- IV)
88	طيف الأشعة فوق البنفسجية - المرئية لمعدن النيكل مع الليكاند (p-BrPAI)	الشكل (12- IV)
88	طيف الأشعة فوق البنفسجية - المرئية لمعدن النحاس مع الليكاند (p-BrPA)	الشكل (13- IV)
89	طيف الأشعة فوق البنفسجية لليكاند (6-MBTANP) ومعدنه مع النيكل	الشكل (14- IV)
89	منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة التركيز للمستخلص الميثانولي	الشكل (15- IV)
90	منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة التركيز للمستخلص المائي	الشكل (16- IV)
91	منحنى القدرة الإرجاعية للمستخلص الميثانولي	الشكل (17- IV)
91	منحنى القدرة الإرجاعية للمستخلص المائي	الشكل (18- IV)
93	المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك	الشكل (19- IV)
95	منحنيات تثبيط للجذر الكاثيوني ABTS للمستخلصات	الشكل (20- IV)
95	المنحنى المعياري لـ BHT	الشكل (21- IV)
97	المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك بطريقة القدرة الإرجاعية للحديد	الشكل (22- IV)



قائمة الرموز

الرمز	مدلوله بالعربية	مدلوله بالأجنبي
ml	مليتر	millilitre
IR	أشعة تحت الحمراء	Infrarouge
MS	مطيافية الكتلة	Mass spectromrter
X-ray	مطيافية الأشعة السينية	X-ray spectroscopy
AAS	الامتصاص الذري	absorption atomique
A	الامتصاصية	Absorbance
C	التركيز	Concentration
λ_{max}	طول الموجة	The weight
AE	انبعاث الذري	Atomic Emission
UV-Visible	أشعة فوق البنفسجية والمرئية	Ultraviolet/Visible
Instruments	الأجهزة	Instruments
Qualiative A	التحليل النوعي	Qualitative analysis
Quantitattive A	التحليل الكمي	analysis Quantitative
BHA	بيوتيل هيدروكسي أنزول	Butylate hydroxyanisol
BHT	بيوتيل هيدروكسي تولين	Butyl hydroxy toluene
GPX	غلوتاتيون بيروكسيداز	Glutathion peroxidase
SOD	سبيروكسيد دوزميتاز	Superoxide Dismutase
GAT	كاتالاز	Catalase
V (E)	الفيتامين هـ	vitamin E
V (C)	الفيتامين ج	vitamin C
β C	بيتاكاروتين	β - Carotene
AG	حمض الغاليك	Acide galique

Propyle gala	بروبيل الغالات	PG
peroxyl radical	جذر البيروكسيل	ROO•
Hydrogen Atom Transfer	انتقال ذرة الهيدروجين	HAT
Oxygen Radical Absorption Capacity	قدرة إمتصاص الأوكسجين الجذري	ORAC
Total Peroxyl Radical Trapping Antioxidant Parameter	إجمالي محاصرة الجذور الحرة	TRAP
Single Electron Transfe	الانتقال الالكتروني الأحادي	SET
Ferric Ion Reducing Antioxidant Power	تقليل القدرة الأرجاعية للحديد	FRAP
Phosphomolybdenum	الفوسفومولبيديوم	PM
2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl	2،2 ديفينيل -1بيركيل هيدرازيل	DPPH
Reactive types of Thiobarbituric Acid	أنواع التفاعلات لحمض الثيوباريتريك	TBARS
The concentration inhibited the formationof radicalby50 %	التركيز الذي يثبط 50% من الشكل الجذر	IC ₅₀
/	كمية الفينولات المكافئة الغالبك الموجودة في 1 غ من كل مستخلص	mgEG /g
/	كمية الفلافونيدات المكافئة الروتين الموجودة في 1 غ من كل مستخلص	mgER/g
/	كمية الفلافانول المكافئة الكرستين الموجودة في غ من كل - مستخلص	mg EQ/g
/	النسبة المئوية	%

ملخص الدراسة

من خلال هذه الدراسة النظرية تطرقنا إلي تطبيقات جهاز التحليل الطيفي UV-Vis في تقدير المركبات الفعالة وفعاليتها. كان الهدف من الدراسة هو شرح وتبسيط المفاهيم الأساسية للتحليل الطيفي وكذا تطبيقات مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية .

تم التقدير الكمي للمركبات الفعالة منها: الفينولية ،الفلافونيدات ،الفلافانول ،الكوبوهيدرات ،البروتينات ،السترولات ،التوكوفيرولات، باستخدام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية -UV (visible) والمساهمة في تشخيص المركبات النانوية ، و تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بإتباع الاختبارات كـ ABTS ، DPPH وغيرها من الطرق الطيفية.

الكلمات المفتاحية : التحليل الطيفي(UV-vis) ،الفعالية المضادة للأكسدة، تقدير كمي للمركبات ، الطرق الطيفية

ABSTRACT :

Through this theoretical study, we touched upon the applications of UV-Vis spectroscopy in estimating active compounds and their effectiveness. The aim of the study was to explain and simplify the basic concepts of spectroscopy, as well as the applications of UV and visible spectroscopy.

The quantitative estimation of the active compounds, including: phenolics, flavonoids, flavanols, carbohydrates, proteins, sterols, tocopherols, using UV-visible spectroscopy, and contributing to the diagnosis of nanocomposites, and estimation of the antioxidant activity by following tests such as ABTS, DPPH and others. of spectroscopic methods.

Keywords: UV-vis spectroscopy, antioxidant activity, quantitative determination of compounds, spectroscopic methods.

مقدمة عامة

مقدمة عامة

يعرف علم الكيمياء بأنه العلم الذي يدرس ماهية المادة، وعلاقة المواد ببعضها البعض. ولمعرفة ماهية المادة لابد من القيام بتحليلها. فالتحليل إذافهو عبارة عن العلم الذي يحدد ماهية وكمية المركبات والعناصر التي تتكون منها المادة[1]. وأدى التقدم العلمي لعلم الكيمياء إلى انقسامه إلى مجالات: والتي تتمثل في التحليلية والحيوية والعضوية وغير العضوية لكن من الصعب في كل الحالات محاولة الفصل بين كل هذه الحالات الخمسة بسبب تداخل وتكامل بين مختلف الفروع وقد عرفت الكيمياء التحليلية فترة تطور ملحوظة شأنها شأن بقية العلوم الأخرى وهذا راجع لما تقدمه العلوم التجريبية والفيزيائية من علاقات رياضية وأجهزة فيزيائية تساعد في تقدم الأبحاث. ويمكن تصور أهمية الكيمياء التحليلية بالنسبة للمجالات العلمية المختلفة بالنظر إلى تأثيرها في التحليل الطبية والأبحاث الصيدلانية. فالكيمياء التحليلية هي أحد فروع علم الكيمياء المتعددة. والغرض منها الكشف عن المواد وطرق فصلها ومعرفة مكونات أي مادة أو مخلوط وتقديرها تقديرا كميًا[2]. يعرف التحليل الطيفي Spectroscopic analysis باستخدام أجهزة المطيافيات المختلفة في دراسة التداخلات بين المواد والمركبات مع الأشعة الكهرومغناطيسية. أو في التقدير الكمي لتلك المواد والمركبات عن طريق القياس تراكيذها[3].

حيث تعد مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية تقنية مفيدة في تحديد المركبات [4]، واحد أبسط الطرق الطيفية، لفحص تفاعلات التحليل حيث يتم قياس التغيير في الامتصاص كدالة لطول الموجة[5]. يتم تطبيقها بشكل شائع على القياس الكمي وتحديدًا لتحديد التراكيز المذابة[6]، وكذا التحليل النوعي أو ما يعرف بتشخيص المركبات.

وقصد شرح وتبسيط المفاهيم الأساسية للتحليل الطيفي للطالب و الباحث و تطبيقات مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية في تقدير وتشخيص المركبات الفعالة والفعالية المضادة للأكسدة. تم هذا العمل والذي تم تقسيمه الي اربعة فصول

➤ الفصل الاول: نتطرقنا فيه إلى طرائق التحليل الطيفي بصورة مبسطة لأهم نقاطها وهذا

لكونها متكاملة فيما بينها.

➤ الفصل الثاني: نتطرقنا وبالتفصيل إلى مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية ومكونات الجهاز.

➤ الفصل الثالث: نتاولنا المركبات الفعالة وطرق تقدير الفعالية المضادة للأكسدة.

➤ الفصل الرابع: قمنا بمناقشة تطبيقات UV في تقدير الكمي للمركبات الفعالة وتشخيص المركبات بجهاز مطيافية UV-Vis والفعالية المضادة للأكسدة لدراسات سابقة.

الفصل الأول: طرق التحليل الطيفي

تمهيد:

التحليل الطيفي هو طريقة من طرق التحليل ويعتبر عملية يستخدم فيها العديد من التقنيات المختلفة التي تستعمل الإشعاع ،وذلك للحصول على معلومات حول خصائص وتركيب المادة .
 وطريقة عمل هذا التحليل هو قياس وتفسير الأطياف التي تنشأ من تفاعل الإشعاع الكهرومغناطيسي مع المادة ، تطور ليحوي على كل منطقة من مناطق الطيف الكهرومغناطيسي ، حيث يمكن أن تطلق أو تمتص إشعاعات ذات ترددات مختلفة ويعتبر الطيف رسم بياني لشدة الإشعاع الممتص أو المنبعث. باختصار إن التحليل الطيفي هو دراسة العلاقة التي توجد بين ظهور الطيف وتركيز وبنية العينة [7] .

I-1 معنى الطيف:

ويطلق عادة وصف ألوان الطيف على "قوس قزح " الذي يظهر في السماء بعد هطول المطر ، حيث تظهر ألوان الطيف نتيجة انكسار أشعة الشمس جراء مرورها بزخات المطر ،ووصفت هذه الظاهرة سواء بألوان الطيف أو قوس الطيف، ويعد قوس الطيف تعبيراً صحيحاً،والطيف إذا هو عبارة عن الضوء أو الأشعة بعد تحليلها إلى مكوناتها من الأطوال الموجية المختلفة ، ويتم تقسيم الأطياف إلى ما يلي: [8].

الطيف المستمر : يحتوى على جميع الأطوال الموجية في نطاق معين [9] .

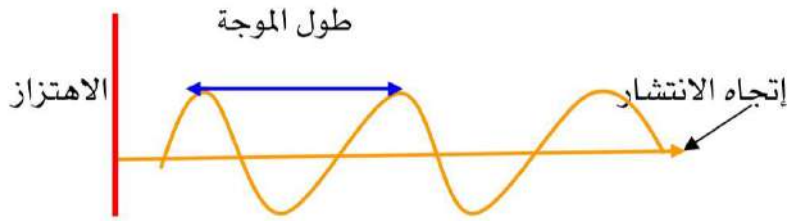
الطيف المنفصل(الخط) : يحتوى على أطوال موجية قليلة (محددة) ،يخلق طيف امتصاص

وطيف انبعاث [9] .

I-2الأشعة الكهرومغناطيسية:

الأشعة الضوئية هي نوع من أنواع الطاقة التي تنتقل عبر الفضاء ،ووصفها بكونها نوع من أنواع الطاقة لما تحمله من طاقة تؤثر في الأجسام تتفاعل معها،خصائص الأشعة الكهرومغناطيسية يمكن وصفها بالنظر إليها على اعتبار أنها موجات ،والموجات لها العديد من الخصائص كالطول الموجي والتردد والسرعة [10]، هذه الموجات تمتاز بكونها لا تحتاج لوسط لكي تنتقل من خلاله

حيث يمكن للأشعة أن تنتقل عبر الفراغ بخلاف الصوت مثلا ،الذي يوصف بأنه عبارة عن موجات ويحتاج إلى وسط لانتقاله، من المهم الإشارة إلى أن وصف الأشعة بالموجات قد لا يفسر ظواهر مهمة مثل الامتصاص والانبعث ،لذا توصف الأشعة في مثل هذه الظواهر بكونها تحمل خصائص الجسيمات [8] ، فالأشعة هنا عبارة عن حزم من الطاقة المنفصلة يطلق عليها الفوتونات ولكل فوتون طاقة تتناسب طرديا مع تردد الأشعة. يمكن وصف الأشعة باستخدام الطول الموجي وهو عبارة عن مسافة دورة واحدة أو المسافة بين قمتين أو قاعدتين متتاليتين [10] [8] ، كما يتضح من الشكل (1-I)



الشكل (1-I): الحركة الموجية للأشعة الكهرومغناطيسية

3-I الطيف الكهرومغناطيسي:

يعرف بأنه النطاق أو الحيز الخاص بالأشعة الكهرومغناطيسية حيث يمتد عبر نطاق من الأطوال الموجية والترددات ، يطلق عليه بالطيف الكهرومغناطيسي ويحوي على جميع أجزاء الإشعاع الكهرومغناطيسي. من خصائص هذا الطيف انه يتكون من جميع أنواع الأشعة في الكون ،حيث ينقسم إلى طيف مرئي يرى بالعين (الضوء المرئي) وطيف غير مرئي، كما يحوي على أنواع طاقة اقل ترددا وأعلى في الطول الموجي [11] .

تنقسم أنواع الطيف الكهرومغناطيسي إلى:

موجات الراديو Radio: تعد جزء من الطيف الكهرومغناطيسي تستخدم في مجال الاتصالات،

كما أنها تنبعث أيضا من الغازات والنجوم في الفضاء.

موجات الميكروويف Microwared: تستخدم هذه الموجات المنبعثة من الطيف الكهرومغناطيسي في أجهزة الميكروويف المستخدمة في تسخين الطعام، كما تستخدم من طرف علماء الفلك لدراسة بنية المجرات القريبة من الكرة الأرضية .

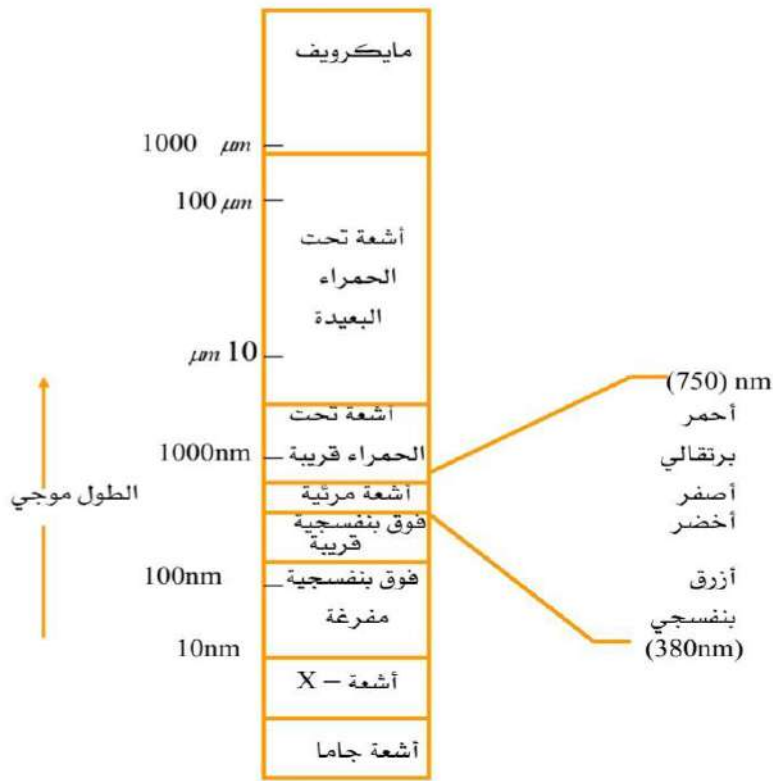
الأشعة تحت الحمراء Infrared: هي أشعة كهرومغناطيسية لا يستطيع الإنسان رؤيتها، فالعين البشرية تستطيع رؤية الضوء المرئي من الطيف الكهرومغناطيسي فقط، ويمكن الشعور بحرارتها حيث تعد إحدى طرق نقل الحرارة الطول الموجي لها أطول من طول الموجي للضوء المرئي ،حيث تنبعث من إي جسم.

الأشعة المرئية Visible: وهي جزء من الطيف الكهرومغناطيسي نستطيع أن نراه ونرى بواسطته حيث يكون ابيض اللون عند انكساره بواسطة منشور يعطي لنا ألون الطيف حيث ينحرف كل لون بزاوية خاصة حسب طوله الموجي.

الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet: تعد شكل من أشكال الطيف الكهرومغناطيسي الذي يأتي من أشعة الشمس أو مصادر أخرى من صنع الإنسان ،يكون للأشعة فوق البنفسجية UV طول موجي اقصر من الضوء المرئي لذا فان العين لا تراه لكن الجلد يستشعرها لكونها تؤثر على صبغة البشرة ولونها، كما أنها تنبعث من الكتل والأجسام مرتفعة الحرارة في الفضاء الخارجي.

الأشعة السينية X-ray: هي موجات من الإشعاع عالي الطاقة يمكن أن تخترق معظم المواد بدرجات متفاوتة، حيث تنبعث من الغازات الساخنة في الكون الخارجي ،كما تستخدم في الطب كطب الأسنان وفي الأجهزة الأمنية للكشف عن ما في داخل الطرود والحقائب .

أشعة جاما Gmma ray: تعد أشعة منبعثة من الكون الخارجي وهي أشعة الأكثر نشاط في الطيف الكهرومغناطيسي تمتلك الطول الموجي الأصغر والطاقة الأكبر، تستخدم في الطب البشري [12] .



الشكل (I-2): الأشعة الكهرومغناطيسية.

I-4 تفاعل المادة مع الأشعة:

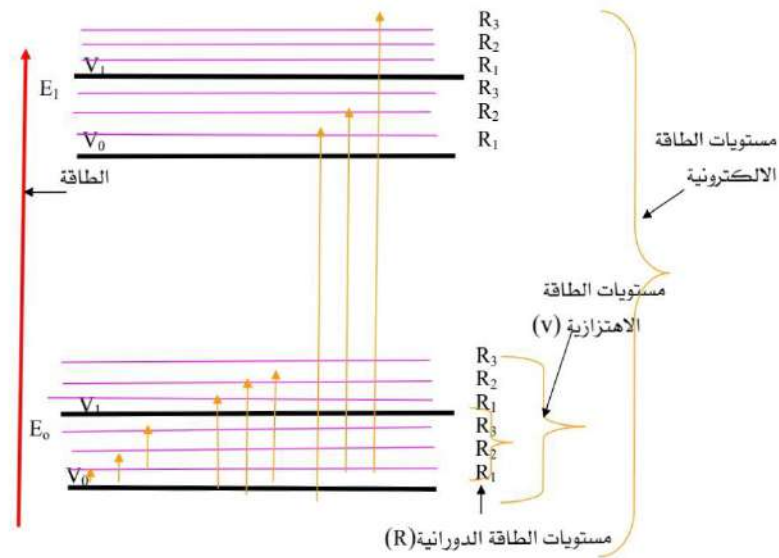
عند مرور حزمة من الأشعة الكهرومغناطيسية على عينة من الذرات أو الجزيئات يحدث تأثير متبادل بينهما ، ويكون نتيجة لذلك أن الأشعة الساقطة إما أن تمر خلال المادة transmitted مع حدوث تغير في سرعتها والذي يؤدي إلى انكسار الأشعة Refraction (أي تغيير في اتجاهها) . أو قد يحدث انعكاس Reflection أو تبعثر Scattering أو تشتت Dispersion, أو قد تمتص الأشعة Absorption بواسطة الذرات والجزيئات مع انخفاض في كثافة الأشعة وانتقال الذرات أو الجزيئات إلى مستويات طاقة اعلي. يعاد انبعاث mission الطاقة الممتصة بواسطة الأنظمة . بعض الأنظمة الكيميائية (المركبات لا نشطة ضوئيا) قد تحدث دورانا في مستوى الضوء المستقطب وحيد المستوى [13] .

I-5 الطيف الذري:

هو طيف خطي غير متصل وهو ناتج تحلل الأمواج الكهرومغناطيسية سواء مرئية أو غير مرئية [14]، تساعد دراسة الطيف الذري في العديد من المجالات كاستكشاف المجرات والنجوم

وكذا تحديد نقاوة المواد المحفزة في الصناعات الدوائية والتعدينية لتحديد نوع وكم العناصر الثمينة كالذهب والفضة. ينقسم الطيف الذري إلى طيف امتصاص خطي وطيف انبعاث أو الإشعاع الخطي.

- **طيف الامتصاص أو الامتصاص الذري:** هو امتصاص للإشعاع الكهرومغناطيسي إذ انه يصف كيفية امتصاص الذرات لأطوال موجية معينة من الإشعاع الكهرومغناطيسي، حيث يتطلب مصدر يمكنه إصدار إشعاع لتحفيز الإلكترونات في الذرة للانتقال إلى مستوى أعلى [14].
- **الانبعاث الذري:** هو انبعاث الإشعاع الكهرومغناطيسي من الذرات، وهو يصف كيف تنبعث الذرات أطوال موجية معينة، حيث يحدث الانبعاث الذري حتى في عدم وجود مصدر للإشعاع، عن طريق الانبعاث تعود الإلكترونات المثارة إلى مستوى أدنى الامتصاص الذري والانبعاث الذري هما ظاهرتان متعارضتان تحدثان في نفس الوقت [15].



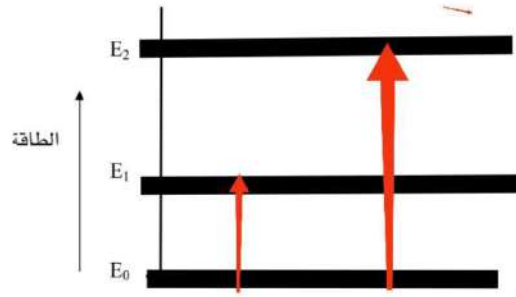
الشكل (3-I): مخطط يوضح مستويات الطاقة الإلكترونية و الاهتزازية و الدورانية في البنى الجزيئية.

6-I الطيف الجزيئي:

من المعروف أن الذرة تحوي مستويات طاقة الكترونية (انتقال الكتروني) فقط، ولأن الجزيء عبارة عن مجموعة من الذرات مرتبطة فيما بينها بروابط كيميائية فان الجزيء يحوي بالإضافة إلى مستويات طاقة الكترونية مستويات طاقة اهتزازية ودورانية [8].

فالأطياف الجزيئية تنتج إما عن امتصاص أو انبعاث وتشتت الإشعاع الكهرومغناطيسي بواسطة الذرات والجزيئات، حيث تخضع الجزيئات للتغيرات من حالة طاقة كمية إلى أخرى.

- طاقة دورانية E_r تنتج من دوران الجزيء حول محوره أو عدة محاور.
- طاقة اهتزازية E_v فتأتي من اهتزاز ذرات الجزيء حول مواقع اتزانها [16].



الشكل (4-I): مستويات الطاقة الالكترونية في الجزيء.

7-I طرق التحليل الطيفي الذري:

1-7-I الامتصاص الذري:

مطيافية الامتصاص الذري AAS وهي دراسة امتصاص الطاقة الإشعاعية من قبل الذرات باعتبارها طريقة تحليلية تشتمل على تحويل العناصر المتحدة إلى الذرات حرة طليقة. لها القابلية على امتصاص الطاقة الإشعاعية حيث تتم عندما تمتص الذرات الموجودة في حالتها المنفردة العادية الأشعة الضوئية عند طول موجي معين وتنقل إلى الحالة المثارة، وتزداد كمية الأشعة الممتصة عند هذا الطول الموجي بزيادة عدد ذرات العنصر الموجودة في مسار الأشعة [13]. والعلاقة بين كمية الأشعة الممتصة وتركيز العنصر المراد تقديره يمكن الحصول عليها باستعمال

مادة قياسية معروفة التركيز تحتوي على العنصر المراد تقديره ، على أن تكون الصورة الطبيعية و الكيميائية لهذا العنصر مماثلة لصورته في المادة مجهولة التركيز، ومن تركيز العنصر في المادة القياسية وكثافة الامتصاص الضوئي يمكن رسم المنحى القياسي Standard curve لهذا العنصر، والذي يوضح العلاقة بين الامتصاص الضوئي والتركيز ومن تم يمكن تقدير العنصر والعينة المجهولة، وذلك بقياس الامتصاص الضوئي للعينة ، ومن هذا الامتصاص الضوئي يمكن تقدير تركيز بالاستعانة بالمنحى القياسي [13].

ومبدأها عند سحب محلول العينة إلى داخل اللهب بواسطة atomiser، يتبخر أو يحترق المذيب تاركا العينة والتي بدورها تتفكك بواسطة الطاقة الحرارية إلى ذرات. الجزء الأكبر من هذه الذرات تكون في حالة الاستقرار، وجزء يسير منها ويبعث أشعة في شكل خطوط مميزة للعنصر. أما الذرات المستقرة فتمتص أشعة خاصة لها آتية من مصباح كاثود المجوف، الامتصاص الناتج يتناسب طرديا مع عدد الذرات والذي بدوره يتناسب طرديا مع التركيز، إذا تحليل كمي. والتأكد من أن الامتصاص فقط هو الذي يقاس يتم إخضاع الجهاز إلى عملية تعديل [8]. يستخدم مصدر حراري كاف إما اللهب بأنواعه أو مصدر تسخين كهربائي لتحويل العينة التي يتم وضعها داخل المصدر الحراري إلى ذرات. وعند سقوط شعاع ضوئي من مصدر إضاءة ذي طول موجي مناسب على تلك الذرات، فإنها تمتص جزءا من ذلك الشعاع، ويتناسب مع تركيز المادة المجهولة في العينة [17].

يتكون جهاز المطيافية من:

مصدر الأشعة: والذي يكون عادة لمبة الكاثود المفرغة Hollow cathod lamp ويعطي هذا المصدر خطا حادا ويشع أطوال موجية معينة خاصة بحيث

- _ كاثود (المهبط) يكون على شكل أسطواناني مصنوع من نفس المعدن المراد تحليله
- _ أنود (مصعد) مصنوع من التنجستون .
- _ يوضع الأنود والكاثود داخل أنبوبة زجاجية مجهزة بنافذة من الكوارتز وبداخل هذه الأنبوبة كمية من غاز حامل (أرغون أو نيون) تحت ضغط منخفض.

وحدة تحويل العناصر المرتبطة إلى الصورة الذرية: في عملية تقدير العناصر بالامتصاص الذري يجب تحويل هذه العناصر المرتبطة في مركباتها إلى الصورة الذرية ، أكثر الطرق استخداما.

استخدام اللهب ك مذرار: وهذا بحرق محلول المادة في اللهب، فيسحب محلول المادة ويرش في صورة رذاذ دقيق في اللهب
المذرات الكهروحرارية:

فرن مسامان Massman furnace : يتكون من أنبوبة اسطوانية من الجرافيت ويوضع بدلا من اللهب في مسار الأشعة الآتية من المصدر بحيث تمر بمحور اسطواني.
فرن لفوف L'vov : توضع العينة في الجزء العلوي من قطب متحرك ويتم رفعه إلى اعلي بحيث يكون جزء من الأنبوب الجرافيتي وبالتالي يتم سريان التيار والحصول على درجات الحرارة اللازمة للتبخير والحرق والتذيرير كما في فرن مسامان.

وحدة فصل الأطوال الموجية: وظيفة وحدة فصل الأطوال الموجية هي فصل الطول الموجي المستخدم في التقدير عن باقي الأطوال الموجية ،وتستخدم معظم أجهزة الامتصاص الذري المنشور أو المحزوز.

وحدة قياس طاقة الإشعاع: تستخدم خلية ضوئية مركبة لتحويل الطاقة الإشعاعية إلى إشارات كهربية يمكن تسجيلها على لوحة القياس في صورة امتصاص [8].



الشكل (I-5) : جهاز مطيافية الأمتصاص الذري [18].

I-7-2 مطيافية الانبعاث الذري أللهبي:

تستخدم هذه الطريقة في تقدير العناصر عن طريق تقدير كثافة الانبعاث الذري. يقوم اللهب بتحويل العناصر من صورتها المرتبطة إلى الصورة الحرة المثارة، عند رجوع الذرات المثارة إلى حالة العادية يحدث اللهب يقاس كثافة الانبعاث عند طول الموجي الخاص بالعنصر المراد تقديره يمكن تقدير تركيز العنصر [13]. تمتاز أجهزه الانبعاث بسهولة تشغيلها هذه التنقية شائعة الاستعمال لدى الكيميائيين الذين يعملون في مجال التحاليل الطبية والمياه ومستخلصات الأغذية والترية. ويستخدم بكثرة في تقدير عناصر الصوديوم والبوتاسيوم والليثيوم والكالسيوم والماغنسيوم وذلك بسهولة إثارة هذه العناصر بواسطة طاقة اللهب. ويتركب الانبعاث الذري أللهبي من عدة أجهزة الرئيسية وهي اللهب، وحدة فصل الأطوال الموجية، وحدة قياس كثافة الانبعاث. وهناك عدة عوامل تؤثر على شدة الأشعة المنبعثة من الذرات المثارة منها الحرارة اللهب واستعمال المذيبات العضوية وتأثير الانيونات ويتم ذلك تحفيز العينة والمحاليل القياسية في التحليل الكمي ويمكن رسم المنحى تدريجيا قياسي ومنه يتم إيجاد التركيز مجهولة بطريقة الإضافة القياسية [8].

مبدأ هذه المطيافية انه عند تمرير العينة في شكل رذاذ عن طريق المرشة إلى داخل اللهب تحدث الخطوات التالية: تبخر المذيب أو احتراقه مخلفا جسيمات صلبة من المركبات المذابة في المحلول. تتبخر أو تنصهر الجسيمات الصلبة وتتحول جزئيا إلى ذرات مستقرة في الحالة الغازية. يثار جزء قليل جدا من هذه الذرات الحرة المستقرة بواسطة الطاقة الحرارية ولأنها غير مستقرة تعود بسرعة إلى حالة الاستقرار بفقد طاقتها المكتسبة على هيئة انبعاث أشعة مرئية أو فوق بنفسجية مميزة لكل عنصر [8].

يتكون جهاز من :

منظم ضغط الغاز: للحصول على خصائص اللهب يجب خلط الغازات وتغذيتها للموقد بنسب صحيحة وبمعدل سريان ثابت ويتم الحصول على هذا بمساعدة صمامات ومنظمات الضغط ومقياس السريان .

الحاقن: الغرض منها إدخال العينة إلى اللهب بمعدل ثابت ومتطابق ويجب ان تكون ذات مقاومة للصدأ وسهلة التنظيف.

اللهب والمواقد:

اللهب: يستخدم اللهب في تحويل العينة من صورة سائلة إلى الغازية، وكذا تفكيك المادة وتحويلها إلى ذرات حرة مستقرة. والذرات المستقرة إلى مثارة .

المواقد: يجب أن تكون ذات لهب ثابت ومتطابق وكذا حاجز واقى للموقد لحماية اللهب من التيار الهوائي وهناك نوعان: موقد ذو الاختلاط المبكر، وموقد ذو الاختلاط المتأخر .

وحدة فصل الأطوال الموجية: الغرض منها فصل أشعة الانبعاث للمادة المراد تحليلها من أشعة مختلف الذرات المثارة الموجودة في اللهب وتوجيهها إلى الكاشف . هناك نوعان من الجهاز البصري هما: مرشح ضوئي (فلتر)، أو منشور أو محزوز الحيود.

وحدة قياس الأشعة (الكاشف): يحول الطاقة الضوئية إلى طاقة كهربائية ويستفاد من هذه الطاقة في تسجيل شدة الانبعاث الناتج [8].



الشكل (I-6): جهاز الانبعاث الذري باللهب [19].

I-7-3 مطيافية الانبعاث الذري في البلازما:

تعتبر تقنية إثارة ذرات العناصر باستخدام لهب مولد كهربائيا في (البلازما) من التقنيات الحديثة ولها كثير من مزايا في تنقية الانبعاث الذري اللهبى [8]. تعرف البلازما بأنه خليط غازي به تركيز عالية من الكاتيونات والإلكترونات ولهذا له كفاءة عالية لتوصيل التيار كهربائى. وفي البلازما الأرجون يبدأ تأين غاز الأرجون بوضع شعلة في مساره، وتتفاعل الأيونات والإلكترونات

الناجمة مع المجال المغناطيسي من الملف الحاث فتتحرك الأيونات والالكترونات في الممرات الحلقية المغلفة وينتج عن هذا ما يعرف بالحرارة الأومية بسبب المقاومة لهذا. وهذه الأيونات تمتص قدر كبير من الطاقة من مصدر خارجي للحفاظ على درجة الحرارة العالية (10000K) التي تفوق ثلاث أضعاف حرارة اللهب العادي. هناك ثلاث مصادر للطاقة تستخدم للبلازما الأروغون (تيار كهربائي مستمر، ترددات الراديو والميكروويف). تستخدم هذه الطاقة العالية لتذرع المواد ثم إثارة الذرات ثم قياس شدة الانبعاث الذري للطياف ولهذا تسمى هذه الطريقة الانبعاث الذري للبلازما الحثية المزدوجة [20].



الشكل (I-7): جهاز مطيافية الأنبعاث الذري للبلازما [21].

I-8 طرق التحليل الطيفي الجزيئي:

I-8-1 مطيافية التآلق والوميض الجزيئي:

عملية الوميض والتآلق هي ظاهرة ضوئية تحدث لبعض المركبات العضوية نتيجة لإثارتها بطول موجي محدد فتنتج ضوء ينبعث من هذه الجزيئات نفسها تبعثر في جميع الاتجاهات نتيجة لامتصاص الطاقة من إلكتروناتها فتتهيج وعند رجوعها إلى مستوى الاستقرار بنفس البرم تعطي طول موجي أقل من الطول الموجي المستخدم في الإثارة، وعادة تكون الإثارة في طول موجي معين لكن الانبعاث يحدث في طول موجي أطول أي يحدث خسارة في الطاقة. فإذا كان الانبعاث في طول موجي ضمن المنطقة البنفسجية أو المرئية فتسمى عملية تآلق وان حدث انتقال الكتروني بعكس البرم فيحدث فقدان حراري فتسمى بعملية الوميض [22]. يوجد عدد قليل نسبيا من المركبات التي لها خاصية التآلق مثل مركبات الافلاتوكسينات *aflatoxins* و الريبوفلافين

aromatic hydrocarbons و *riboflavin* والمركبات الهيدروكربونية الأروماتية العديدة الأنوية *polynuclear* وهذه المركبات يمكن كشفها بواسطة مطياف الوميض [8].

أما المركبات التي تملك خاصية الوميض مثل الأمينات الأليفاتية *aliphatic amines* أو الأحماض *acids* يمكن تحويلها إلى مشتقات فلوري سينية *fluorescent derivatives* بإضافة مجموعة فلوروفور إليها *fluorophore group*. يستخدم مطياف الوميض عموماً في مجال الأبحاث الكيميائية، والبيوكيميائية، والطبية لتحليل المركبات العضوية كما يستخدم في تمييز الأورام الجلدية الحميدة والخبيثة. مطياف التآلق يحلل الاستضواء الناتج عن العينة عند امتصاصها قدر من الطاقة، ثم تعيد بثه مرة أخرى ويطلق على مطياف الوميض أسماء منها *Spectrofluorimeter* أو *Fluorescence Spectrometer* [22].

إما مطياف الوميض فيستخدم حزمة من الضوء عادة تكون في نطاق الأشعة فوق البنفسجية، تمر هذه الحزمة على العينة فيحدث امتصاص لهذا الطيف مما يترتب عليه حدوث إثارة للالكترونات في جزيئات المركب نتيجة الطاقة الممتصة ثم تعود هذه الالكترونات إلى الحالة المستقرة مرة أخرى وذلك عن إعادة بث أو انبعاث الطاقة الممتصة مرة أخرى في صورة وميض *fluorescence* [22].

I-8-2 مطيافية الأشعة تحت الحمراء *Infra-Red Spectroscopy*:

يتم تقسيم منطقة الأشعة تحت الحمراء إلى ثلاث مناطق رئيسية [23]

منطقة الأشعة تحت الحمراء القريبة $4000-12500\text{cm}^{-1}$ Near IR

منطقة الأشعة تحت الحمراء الوسطى $200-4000\text{cm}^{-1}$ Mid IR

منطقة الأشعة تحت الحمراء البعيدة $10-200\text{cm}^{-1}$ Far IR

حيث تعد طاقة الأشعة تحت الحمراء غير كافية لحدوث انتقال الكتروني، أما تحدث اهتزاز للجزيئات حيث يقاس مطيافية IR العدد الموجي بدلاً من الطول الموجي ويقدر بوحدة cm^{-1} . حيث تختص منطقة تحت الحمراء البعيدة في دراسة الحركة الدورانية الصرفة للجزيئات Pure

rotation Spectroscopy فنادرا ما تستخدم في مجالات التحليل الكيميائي بسبب الصعوبات التقنية والعملية في تشخيص الإشارات الناتجة . لذا يكون اغلب اهتمامنا بمنطقتين تحت الحمراء الوسطى والقريبة ،حيث يمكن دراسة الانتقالات الاهتزازية الصرفة Pure vibrational transition إضافة إلى الانتقالات الاهتزازية والد ورائية Vibrational and Rotation transition . وبهذا فإن الجزيئات التي تعطي طيف في مجال تحت الحمراء هي التي يحدث ضمنها اختلاف في العزم الكهربائي لثنائي القطب وهذا ما يحدث إما في الجزيئات المتناظرة التي يكون فيها مركز الشحنات الموجبة والسالبة متمايزا والتي يسبب فيها الاهتزاز الحاصل حالة غير متناظرة. وهنا يحصل التأثير المتبادل فنحصل على طيف المادة . أما الجزيئات التي تحتوي على ذرات متماثلة فإنها غير قادرة على الامتصاص في مجال الأشعة تحت الحمراء ومنها جزيئات O_2, Cl_2, H_2, N_2 وهي مختلفة بكتلتها وقوة روابطها توافق ترددات مختلفة بالتالي حزم امتصاص مميزة لكل جزيء موزعة على سلم الطيف في مجال تحت الحمراء . إما أنماط الاهتزاز الطبيعية فتتقسم إلى قسمين :

نمط اهتزاز الامتطاط Stretching Vibration (يوافق اهتزاز امتطاط الرابطة بفعل طاقة مطبقة (مؤثر) عند زواله تعود الرابطة إلى وضعها الطبيعي محدثة هزة بتواتر محدد)

نمط اهتزاز التشوه Deformation Vibration (تهتز في حالة الذرات بشكل عمودي على محور الرابطة) [23].

مكونات جهاز مطيافية تحت الحمراء هي:

مصدر الإشعاع: حيث هناك مصدران الأول عبارة عن سلك نرن ست المتوهج Nernst glower (عبارة عن أكاسيد العناصر القلوية الترابية المسخنة كهربائياً والثاني هو سلك غلوبار (Globar)

ناخب الضوء أحادي ألون Monochromator: يستخدم محلل مثل الموشور لإعطاء شعاع أحادي اللون ويصنع من مادة شفافة لمجال تحت الحمراء مثل كلوريد الصوديوم.

خلايا القياس Cells: تختلف خلايا القياس في IR باختلاف طبيعة طيف المادة المدروسة ففي حالة المادة الصلبة نستخدم قرصاً من بروم يد البوتاسيوم، في حالة المادة سائلة نستخدم خلايا شفائيتها عالية لطيف تحت الحمراء .وتكون سماكة طبقة 0.01 mm . وفي حالة الغازية فتكون

خلايا خاصة اسطوانية الشكل من الزجاج طولها بحدود 5-10 cm وتكون مغلقة ويدخل الغاز من خلال صمامات بتطبيق ضغط جزئيا 50 mm زئبقي.

الكاشف Detector: تعتمد على دراسة تأثيرين الأول هو قياس تأثيرات درجات الحرارة ويستخدم في هذه الحالة المزوجة الحرارية Thermocouple أو الكاشف الذي يعتمد على قياس تغيرات التأثيرات الكهربائية الحرارية Pyroelectric effect.

إما بما يخص تطبيقاتها فيعد طيف IR بقممه العديدة بمثابة بطاقة شخصية للمركب المدروس، تسمح بتحديد نوعه وكذا المجموعات الوظيفية فيه ، فيما يخص التحليل النوعي. أما في التحليل الكمي فقليلًا ما نستعمل مطيافة تحت الحمراء لإجراء هذا التحليل لذا يتم ذلك بقياس الامتصاصية وفقا لقانون لامبيرت-بير $A = \epsilon L C$ [23].



الشكل (8-I): جهاز مطياف الأشعة تحت الحمراء IR spectrometer [24].

9-I مطيافية الكتلة Mass Spectromrter:

يختلف التحليل بواسطة مطيافية الكتلة عن مطيافيات الأخرى في أن جزيئات المادة المطلوب تحليلها بواسطة جهاز مطياف الكتلة تتعرض إلى قدر عالي من الطاقة، ويكون أكبر الكثير من الطاقة اللازمة العملية الانتقالات التي تحدث في حالة التحليل بالأشعة تحت الحمراء أو المرئية أو فوق البنفسجية. يؤدي قذف الجزيئات بواسطة حزمة من الإلكترونات سريعة الحركة فتمتص الجزيئات هذه الطاقة، ويؤدي هذا الامتصاص للطاقة إلى انفصال إلكترون أو أكثر من الجزيء أي تحدث عملية التأين ionization للجزيء. وتكون أيونات موجبة positive للجزيء الأصلي إلى تكسير بعض الروابط الضعيفة في الجزيء مما يؤدي إلى تكوين أيونات الصغيرة

أخرى تسمى شظايا fragments وعندما يتعرض الجزيء الطاقة الناتجة عن حزمة من الكترونات. يتكون عدد من الايونات الموجبة تختلف عن بعضها في الكتلة (m)mass والشحنة (e)charge. ولذلك يتم الفصل هذه الايونات على أساس اختلافها في نسبة الكتلة إلى الشحنة e/m باستخدام المجال مغناطيسي، وتتألف مطياف الكتلة من الأجهزة وهي وحدة وضع العينة وحجرة التأين، وحدة فصل أو فرز الايونات وحدة جمع الايونات وتكبيرها، وحدة التسجيل. ويحتوي الجهاز على وحدة تفريغ عالية High vacuum pump لتفريغ الهواء من وحدة وضع العينة وحتى وحدة التسجيل. وعلى الرغم من بساطة فكرة الجهاز إلا أنه يعتبر من أعقد الأجهزة الاليكترونية والميكانيكية المستخدمة في مجال الكيمياء من حيث التركيب والتشغيل هذا الجهاز [25]. ويمكن مطيافية الكتلة أن تساعد الباحث الكيميائي في عدد من مجالات الكيمياء وخاصة للمركبات مجهولة وتحديد التركيب النظائر والعناصر في الجزيء لمراقبه شظاياه وتحديد بنية المركب ما في العينة أولدراسة كيمياء الأيونات في الطور الغازي [26].



الشكل (9-I): جهاز مطياف الكتلة [27].

10-I مطيافية الأشعة السينية X-ray Spectroscopy:

عرفت الأشعة السينية على أنها شعاع كهرومغناطيسي بطول موجي قصير جداً يتراوح ما بين $(10^{-9} \text{ _ } 10^{-11})$ ولها مواصفات متشابهة للضوء حيث أنها تنتقل بخطوط مستقيمة صادرة من مصدرها. وتتم من خلال المجالات المغناطيسية والكهربائية، عند تسليط حزمة من الأشعة السينية من مصدر معين وتدعى الأشعة السينية الأولية على ذرات العينة يحدث إثارة للالكترونات (إلكترونات الأغلفة L،K) وبعد ذلك تطلق على هذه الذرات المثارة بالأشعة السينية الثانوية، ويمكن

الحصول عن طريق قياس الأشعة الأولية الممتصة أو المحايد أو شدة الأشعة السينية الثانوية الصادرة عن ذرات المادة. نستنتج من ذلك هناك ثلاث طرائق لاستخدام الأشعة السينية في التحليل الكيميائي X-ray methods وهي طرائق الامتصاص التي تعتمد على الوزن الذري وطرائق التآلق التي تعتمد على العدد الذري وعلى طول موجي الأشعة الساقطة وطرائق الحيود التي تعتمد على الخواص البلورية الصلبة. ويتكون الجهاز من أجزاء الرئيسة من مصدر الأشعة السينية الأولية التي توجه إلى العينة ،وبعد ذلك تفصل الأشعة الثانوية الصادرة من العينة بواسطة موحد طول موجة مناسب حيث تسقط على كشاف Detector لقياس شدتها. يمكن تلخيص عيوب طرائق الأشعة السينية عامة في أنها غير حساسة فيما يتعلق بالتحليل العنصري كما أن دقتها في حدود % 10-5 بالإضافة إلى أن الجهاز غالبا ما يكون كبير الحجم وغالي ثمن ومعقد ولهذا لا يتوفر إلا في المختبرات خاصة [23].



الشكل (10-I): جهاز طيف الأشعة السينية [23].

11-I مطيافية الرنين النووي المغناطيسي:

تعد ظاهرة الرنين النووي المغناطيسي (Nuclear magnetic resonance) NMR إحدى الظواهر الفيزيائية التي تعتمد على الخواص المغناطيسية الميكانيكية الكمية لنواة الذرة، ويستخدم الرنين النووي المغناطيسي للدلالة على مجموعة منهجيات وتقنيات علمية ،وتستخدم هذه الظاهرة لدراسة الجزيئات من حيث البنية والشكل الفراغي [28]. حيث يعتمد التحليل الطيفي للرنين المغناطيسي على الخواص المغناطيسية لأنوية بعض الذرات، مثل انويه الهيدروجين ^1H ، وانويه الكربون ^{13}C [13]، وغيرها من نظائر العناصر أخرى يمكن أن تستخدم ولكن استخداماتها

تبقى اقل [28] ويمثل الرنين النووي المغناطيسي لأنوية الهيدروجين 80% من دراسات الرنين النووي المغناطيسي، وذلك لما لأنوية الهيدروجين من خواص مغناطيسية قوية وانتشار ذرات الهيدروجين في معظم المركبات العضوية .

في الرنين النووي المغناطيسي للبروتين فإنه بوضع الجزيئات تأثير مجال مغناطيسي خارجي، فإنه يحدث انفصال لمستويات الطاقة الخاصة بالحركة المغزلية، فيحدث انفصال لمستوى الطاقة الفردي الخاص بالحركة المغزلية لأنوية ذرات الهيدروجين إلى مستويين [13]، مستوى طاقة منخفض LOW energy level وهنا يكون العزم المغناطيسي في اتجاه المجال المغناطيسي الخارجي .مستوى طاقة مرتفع High energy level وهنا يكون العزم المغناطيسي في اتجاه مضاد للمجال المغناطيسي الخارجي [28]. ويزداد الفرق في الطاقة (ΔE) بين هذه المستويات بزيادة شدة المجال المغناطيسي الخارجي، ولذلك توضع هذه النوى في مجال مغناطيسي خارجي (بين قطبي مغناطيس كبير) ويسلط عليها أشعة الراديو Radiowave، فتمتص هذه النوى طاقة أشعة الراديو وتنتقل إلى مستوى الطاقة الأعلى وينتج عن ذلك تغير في اتجاه الحركة المغزلية للنواة، ثم ترجع لأنوية من المستوى العالي في الطاقة إلى المستوى المنخفض مرة أخرى وهكذا، ويطلق على هذه الظاهرة بالرنين النووي المغناطيسي. وامتصاص الطاقة يمكن الكشف وتكبيره كطيف خطي ويطلق عليه إشارة الرنين المغناطيسي resonance signal. ويمكن استخدام طيف الرنين النووي المغناطيسي في التعرف على التركيب البنائي للجزيئات [28].

مكونات جهاز الرنين النووي المغناطيسي هي:

المغناطيس Magnet: يمكن استعمال كل من المغناطيس الدائم أو المغناطيس الكهربائي.

وحدة تغيير شدة المجال المغناطيسي Magnetic field sweep generator: يتم تغييره بواسطة ملف coil في مواجهة قطبي المغناطيس

مصدر إنتاج أشعة الراديو Radiofrequency: تنتج أشعة الراديو من متذبذب أشعة الراديو radiofrequency oscillator حيث تغذي في سلك مزدوج coil ملفوف حول العينة والذي يسمى وشيعة الإرسال transmitter coil ويكون محوره عموديا على اتجاه المجال المغناطيسي .

وحدة وضع العينة **Sample Holder and probe**: تستخدم أنابيب من الزجاج قطرها الداخلي 5mm لوضع العينات وتكون متصلة turbine يدار بالهواء، يمكن بواسطته دوران الأنبوبة حول محورها الرأسي .

وحدة الكشف عن الامتصاص **The absorption detector**:

يمكن الكشف عن امتصاص أشعة الراديو بواسطة ملف آخر من السلك يحيط بالعينة أيضاً ويكون عمودياً على كل من ملف الإرسال والمجال المغناطيسي ويطلق عليه ملف الاستقبال receiver coil ويتولد فيه فيض كهربائي ينتقل إلى المستقبل receiver حيث يتم تكبيره وتسجيله. وتحتوي جميع أجهزة الرنين النووي المغناطيسي على وحدة لقياس المساحة تحت كل منحنى امتصاص (وحدة تكامل إلكترونية) electronic integrator ويلاحظ أن المساحة تحت كل منحنى امتصاص تكون متناسبة طردياً مع عدد البروتونات المسؤولة عن هذا الامتصاص [28].



الشكل (11-I): مطياف الرنين النووي المغناطيسي [23].

الفصل الثاني: مطيافية الأشعة

المرئية وفوق البنفسجية UV-Vis

تمهيد:

يسلك الضوء المرئي سلوك الضوء فوق البنفسجي في كثير من مظاهره. حيث أن كلاهما ينتج عن امتصاص الجزيئات [29] ، للأشعة الكهرومغناطيسية في المنطقة فوق البنفسجية (UV) Ultraviolet والمنطقة المرئية Visible من الطيف إلى انتقال واحد أو أكثر من الإلكترونات الموجودة في مدارات ذات طاقة منخفضة (مدارات الرابطة) إلى مدارات ذات طاقة أعلى [13] .

كما أن أغلب الأجهزة التي تستخدم في طرق التحليل الطيفي في مجال الأشعة المرئية هي نفسها التي تستخدم في طرق التحليل الطيفي في مجال الأشعة فوق البنفسجية. لذا فقد جرت العادة على دراستهما معا. يغطي هذان الطيفان المجال من (200-800)nm [29].

حيث هي عبارة عن تقنية قياس يتم فيها تسجيل أطيف الامتصاص لعينات مختلفة باستخدام الأشعة فوق البنفسجية (UV) والضوء المرئي (VIS) بواسطة مقياس طيف ضوئي، أي أداة قادرة على قياس طيف عينة في الأشعة فوق البنفسجية [30].

II-1 مطيافية فوق البنفسجية والمرئية UV and Visible Spectroscopy:

هي مطيافية إلكترونية و احد الطرق الطيفية والتي تعتمد على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية أو المرئية، ولقد سميت بهذا الاسم لان امتصاص الأشعة في هاتين المنطقتين يؤدي إلى إثارة الإلكترونات في لجزيء الذي يمتص تلك الأشعة. حيث تعتمد على امتصاص هذه الأخيرة للأشعة بواسطة جزيئات المادة في المحلول، ويتناسب هذا الامتصاص طرديا مع التركيز حسب قانون بير_لامبرت $A = \epsilon Lc$ [29] .



الشكل (1.11) : جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية UV-Vis [31].

1-1-II الإثارة الإلكترونية:

كما هو معروف تتكون الجزيئات من ذرات كل منها يتألف من نواة ومن إلكترونات تدور حولها في مستويات طاقة محددة. فإذا امتصت الجزيئات طاقة معينة انتقلت الإلكترونات من المستوى الطاقة الأدنى (*ground state*) إلى مستوى أعلى (*excited state*). وهذا ما يدعى بالإثارة الإلكترونية. ولكي يسبب شعاع ضوئي إثارة إلكترونية ينبغي أن يكون الشعاع في مجال الأشعة المرئية أو فوق البنفسجية. وتردد الشعاع الممتص يرتبط بالطاقة بالعلاقة: $E=h\nu$ هذا ويوجد في الجزيئات العضوية ثلاث أنواع من الإلكترونات الأولى إلكترونات مشتركة في رابطة مشبعة كالرابطة بين الهيدروجين والكربون، والكربون والكربون في المركبات المشبعة وتسمى هذه الرابطة برابطة σ وكمية الطاقة اللازمة لإثارة الإلكترونات الرابطة σ أكبر بكثير من طاقة الأشعة فوق البنفسجية لذا فإن المركبات المشبعة لا تمتص في هذا المجال لذا تستعمل عادة كمذيبات جيدة .

والنوع الثاني من الإلكترونات تلك التي تشترك في رابطة غير مشبعة. وهذه المركبات تحتوي عادة على رابطة σ ورابطة π وكمثال على المركبات التي تحتوي على ثلاث روابط متناوبة (*conjugated*) البنزين و هيكسا نترين المتناوب.

والنوع الثالث من الإلكترونات هي التي لا تشترك بروابط بين الذرات وهذه تدعى بالإلكترونات الحرة. والمركبات العضوية المشبعة لا تحوي إلكترونات n لأن كل الإلكترونات في المستويات الخارجية للكربون والهيدروجين تشترك في الروابط الكيميائية. أما المركبات العضوية التي تمتص

الأشعة المرئية أو فوق البنفسجية لأن هذه الأشعة يمكنها إثارة الإلكترونات n والخاصة إن الأشعة فوق البنفسجية أو المرئية يمكن أن يمتصها مركب يحتوي على ذرة نيتروجين أو أكسجين أو هالوجين أو كبريت أو يحوي على رابطة غير مشبعة وتسمى المجموعة التي تحوي ذلك بالمجموعة الماصة أو الكروموفور (*chromophore*) [32].

II-1-2 الانتقالات الإلكترونية:

يعتمد لامتصاص في منطقتي الأشعة فوق البنفسجية والمرئية من الطيف لكهرومغناطيسي على عدد وترتيب الكثرونات في الجزيئات وتوجد ثلاثة أنواع من الانتقالات الإلكترونية هي :

1 انتقال الكثرونات أوربتا لات σ و π و n .

2 - انتقال الكثرونات أوربتا لات d و f .

3 - انتقال الشحنة في المعقدات .

II-1-2-1 انتقالات الكثرونات أوربتا لات σ و π و n :

الإلكترونات المعنية بالامتصاص هي الإلكترونات الرابطة المكونة لروابط σ أو المكونة لروابط π وكذلك الكثرونات التكافؤ الرابطة n [33].

تختلف هذه الانتقالات في كمية الطاقة اللازمة لحدوثها، وقد يحدث واحد أو أكثر من هذه الانتقالات في المركب الواحد وهذا يتوقف على التركيب الإلكتروني للمركب .

- الانتقال $\sigma \rightarrow \sigma^*$ يحدث في جميع المركبات التي تحتوى على روابط σ ، تكون طاقته مرتفعة، هذا النوع من الانتقال لا يعطي معلومات يمكن الاستعانة بها بدرجة كبيرة في التحليل الوصفي والكمي للجزيئات .

- الانتقال $\pi \rightarrow \pi^*$ يحدث في المركبات التي تحتوى على رابطة غير مشبعة كالروابط الزوجية أو الثلاثية أو المركبات العطرية .

- $\sigma \rightarrow \sigma^*$ يحدث في المركبات التي تحوى على ذرة O, N, S, X، هذا النوع من الانتقال يحتاج طاقة اقل من $\sigma \rightarrow \sigma^*$.

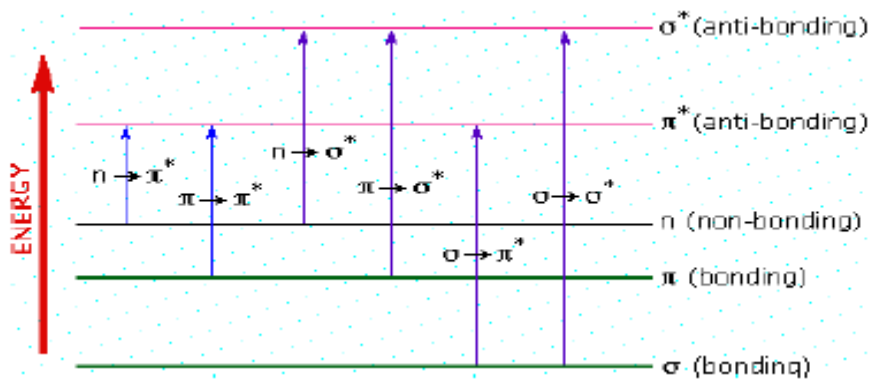
- الانتقال $\pi \rightarrow \pi^*$ يحدث في المركبات التي تحوى على ذرة O, N, S، وتكون مرتبطة بروابط زوجية مع الذرة المجاورة [34].

مجموعة حاملة اللون (الكروموفور) *Chromophore*:

يطلق على المجموعة المسؤولة عن الامتصاص في الجزيء اسم كروموفور إي (هي التي تعطي اللون للمركب بسبب امتصاصها للأشعة المرئية وفوق البنفسجية). وهي المجموعة الحاوية على الكترونات π أو n [35].

مجموعة مطورة اللون (أوكسوكروم) *Auxochrome*:

يطلق اسم مجموعة أوكسوكرومية على مجموعة مشبعة تحتوي ذرة مغايرة ذات ثنائية إلكترونية حرة (الكترونات n) مثل مجموعات الهيدروكسي والامين والهالوجينات. وهي لا تمتص الأشعة في المجال المرئي وفوق البنفسجي إذا وجدت بمفردها في الجزيء، لكنها تزيد من امتصاص حاملات اللون أو تغير من طول موجة الامتصاص الاعظمي $\lambda \max$ [35].



الشكل (2.11): الانتقالات الإلكترونية للمركبات (للروابط التساهمية) في ال UV-Vis

2-2-1-II انتقالات الكترونات أوربتالات d و f:

(وتسمى أيضا حزم امتصاص مجال الليكاند) لمعظم أيونات ومعقدات العناصر الانتقالية تكون أوربتالات 3d و 4f مشغولة (ممتلئة) جزئيا بالكترونات، ويحصل امتصاص الأشعة

عندما ينشأ مستوى طاقة (أور بتال) غير مشبع (أور بتال d) يحيطه ويغلفه مستوى الكتروني ثابت (أوربتا لات ممتلئة) من جزيئات الليكاند. أما الامتصاص بواسطة أيونات عناصر اللانثانات و الاكتينات الانتقالات المسؤولة عن الامتصاص تحصل بسبب اختلاف مستويات الطاقة للالكترونات في أوربتا لات 4f و 5f وتمتاز حزم الامتصاص هذه أنها تكون ضيقة نسبيا [33].

II-1-2-3 امتصاص فصائل انتقال الشحنة في المعقدات:

تظهر المعقدات اللاعضوية وبعض المعقدات العضوية امتصاص الأشعة فوق البنفسجية المرئية بسبب انتقال الشحنة حيث يكون احد مكونات المعقد صفة وهب الالكترونات – donor electron والمكون الثاني صفة استقبال الالكترونات acceptor-electron وتتضمن إثارة وانتقال الإلكترون من المكون الواهب إلى أور بتال المكون المستقبل وهي بمثابة أكسدة واختزال داخلي [33].

II-1-3 الأطياف الإلكترونية *Electronic Spectra*:

الطيف الالكتروني لمركب ما عبارة عن منحنى يوضح تغير شدة الامتصاص (الامتصاصية) مع تغير طول موجة الأشعة المارة في محلول المركب تحت الدراسة. وبهنا في هذا المنحنى معرفة طول الموجة التي تكون عندها شدة الامتصاص اكبر ما يمكن ويرمز لها بالرمز λ_{max} وكذلك معامل الامتصاص المولي ϵ عند هذه الموجة وترتبط شدة الامتصاص (A) بتركيز المحلول (C) وطول الخلية (L) بالمعادلة التالية: $A = \epsilon LC$ وتعرف هذه المعادلة أحيانا باسم قانون لامبرت-بيير ومنها يتضح إن شدة الامتصاص للمركب (أو امتصاصية المركب) تتناسب طرديا مع كل من التركيز المولي (C) وطول الخلية (L), وان معامل الامتصاص المولي للمركب ما يساوي شدة الامتصاص لمحلول المركب الذي تركيزه 1mol/L وموضوع في خلية طولها 1cm.

يعتبر كلا من λ_{max} و ϵ من الثوابت الفيزيائية التي تميز المركبات العضوية عن بعضها. ولا تصلح هذه العلاقة في حالة التركيزات المرتفعة جدا. لذا ينصح في التطبيق العلمي استعمال المنحنى المعياري (Calibration curve) للامتصاص بدلالة التركيز عند قيمة الامتصاص الضوئي

للمركب. كما يمكن تقدير الكثير من المواد التي لا تمتص الضوء مباشرة وذلك بإضافة مركبات معينة لتكن متراكبات ماصة للضوء أو تكون مجموعة امتصاص (*Chromophore*) [36].

II-2 قانون لامبرت *Lambert*:

أوضح العالم Lambert العلاقة بين كثافة لون المحلول ، وعمق المحلول الذي يمر خلاله الشعاع. أي العلاقة بين الامتصاص، والمسافة التي يمكثها الشعاع. وينص القانون على أن عند مرور شعاع ضوئي ذو طول موجة واحد *monochromatic light* خلال وسط ما فإن شدة الضوء تتناقص بعلاقة أسية عندما يزداد سمك المادة أو المحلول الذي يمر فيه الضوء. وعلى ذلك تتناسب الكثافة الضوئية أو الامتصاص طرديا مع سمك محلول المادة.

ويعبر عن ذلك رياضيا كما يلي:

$$I/I_0 = 10^{-kL}$$

$$\log I_0 / I = k L$$

I_0 شدة الضوء الساقط

I شدة الضوء النافذ

L سمك المحلول أو المسافة التي يمر خلالها الضوء

k ثابت الامتصاص.

حيث: I/I_0 تمثل نسبة الشعاع النافذ إلى الشعاع الساقط أو القادم من المصدر وتدعى بالنفاذية T أما مقلوب العبارة (I_0 / I) فيمثل الامتصاصية A أو الكثافة الضوئية $O.D$ (*optical density*) والعلاقة بينهما لوغاريتم أي يمكن كتابة

$$O.D. = A = \log I_0 / I = k L$$

I/I_0 : النفاذية

$$A = \log 1/T$$

ولأن الامتصاص يمثل اللوغاريتم السالب للنفذية ويعبر عنها بما يلي: [37]

$$A = - \log T = \log I/T = I_0/I$$

II-1-2-1 قانون بيير *Beer s law*:

أوضح Beer العلاقة بين كثافة اللون في المحلول (الامتصاص) وتركيز المحلول، وينص القانون على أن شدة الضوء عند طول موجي معين والمار في محلول ما سوف يتناقص بعلاقة أسية عندما يزداد تركيز المادة في المحلول.

ويعبر عن ذلك رياضيا كما يلي:

$$I_0 / I = 10^{-k'c}$$

حيث أن:

C عبارة عن تركيز المحلول مول / لتر

$$A = \log I_0/I = k'C$$

ويجمع كلا القانونين Lambert-Beer

$$\log I_0/I = 10 -kk'CL$$

$$A = \log I_0/I = aCL$$

وهنا ثابت الامتصاص النوعي a يتوقف على طبيعة المادة ، وعلى الطول الموجي للأشعة الممتصة، وناتج ضرب ثابت الامتصاص - السابق ذكره - في الوزن الجزيئي للمادة يسمى بثابت الامتصاص المولاري (معامل الامتصاص المولاري) *molar absorbtivity* ويرمز له بالرمز ε ويستخدم عند التقدير لمادة ما تركيزها معبرا عنه بالجزيئي *molar*

$$A = \epsilon C L$$

$$A = \log_{10} I_0 / I$$

$$= \epsilon C L$$

وفي التقديرات الكمية نجد أن المقدار الممتص من الضوء الساقط على العينة، يتناسب مع عدد الجزيئات الموجودة بالعينة (التركيز) في مسار الضوء [37].

II-3 الحيود عن قانون بيير-لامبرت:

تعتمد القياسات الطيفية على مدى خطية العلاقة بين الامتصاصية والتركيز وعندما تنحرف عن الخط المستقيم فهي إما انحراف سلبي أو انحراف ايجابي وكلاهما يسبب خطأ في القياسات الطيفية وهناك عدة أسباب للحيود عن العلاقة الخطية بين التركيز والامتصاص التي يقترحها قانون لامبرت-بيير ومن الممكن تصنيف تلك الأسباب إلى ثلاث مجموعات:

1-التداخل من قبل الشوائب في خاصية الامتصاص أو التآلق

2_ظروف التجربة: مثل درجة الحرارة والمذيب.

3_ الأخطاء آلية: تنشأ بصورة عامة نتيجة بعض عيوب الآلة المستخدمة مثل عدم ثبات المصدر الضوئي، خلية كهر وضوئية والية اختيار λ_{max} وكذلك استخدام فتحة ضوئية *slit width* واسعة نسبياً قد تسمح بمرور شعاع غير مرغوب فيه *stray light* [38].

II-4 الانحراف عن قانون لامبرت-بيير:

II-4-1 أسباب ذاتية في أصل القانون:

1- وذلك لأنه لا يصلح إلا للمحاليل المخففة التي يكون تركيزها أقل من (0.01M) لأن الجزيئات تحتوي على سحب الكترونية تؤثر وتتأثر بالسحب الالكترونية للجزيئات الأخرى وحتى مكونات المحلول، وبالتالي تحدث تشوهات في تلك السحب، مما يغير في طبيعة امتصاصها. وبالطبع، كلما كان تركيز المحلول أكبر، كلما اقترب تلك الجزيئات بعضها من بعض، وبالتالي يزداد تأثير السحب الالكترونية بغيرها، ويتغير امتصاصها. وقد تم اختبار

مدى حقيقة ذلك باستخدام محاليل إلكتروليتيّة مركزة ، بينما تم استخدام تركيزات قليلة من المركب الذي يمتص، فتبين أن تأثير السحب الإلكترونيّة الموجودة في الأيونات يؤثر على امتصاص الجزيئات المعنيّة، مما يجعل العلاقة بين التركيز والامتصاص غير خطية.

2- عند اشتقاق القانون، تم استخدام معامل امتصاص ثابت، وهو يعتمد على معامل الانكسار وكما هو معلوم فإن معامل الانكسار يتوقف على التركيز، أي أنه يعتمد على التركيز ويتغير بتغيره ، أي أنه ليس ثابتاً لكن لحسن الحظ ، فإنه ثابت عند التخفيف فمعامل الانكسار لا يكاد يتغير عند التركيزات المنخفضة. وأيضاً من المعلوم أن معامل الانكسار يعتمد على الطول الموجي أيضاً وبما أن القانون يتم العمل به في طول موجي ثابت فلا يتغير معامل الانكسار [17] .

II-4-2 الانحراف الكيميائي:

1- بعض المركبات النادرة لا تطيع قانون بير لامبير مثل صبغة الأزرق المثلين في حالة التخفيف وهو خلل لا يمكن إصلاحه. لكن لحسن الحظ أن تلك المركبات نادرة جداً.

2- القانون صالح فقط في حالة كون المركب موجود كوحدة واحدة في المحلول، لا يتفاعل مع مكونات العينة، ولا أن يتحد مع نفسه، ولا أن يتفكك. إن تفاعل المركب المعني مع أي مادة أخرى يعني تغيير طبيعته، وبالتالي امتصاصه. فعند تفاعل المركب مع نفسه فإنه يعطي مركب ثنائي (دايمر) وبالتالي يتغير امتصاصه [17].

II-4-3 تأثير الرقم الهيدروجيني pH:

بعض المركبات تعتبر الكتروليتات ضعيفة ، وتتفكك جزئياً في الماء بدرجات متفاوتة، تبعاً لقيمة ثابت الاتزان الخاص بكل منها. وتتغير حالة الاتزان هذه في حالة تغير pH حيث بعض المركبات حاوية على مجاميع حمضية أو قاعدية تتفكك بتأثير الأس الهيدروجيني مما يسبب تغيراً ملحوظاً في اللون كما في الفينول فتالين حيث يحوي مجموعة كاربوكسيل في تركيبه والتي في حالة التآين في الوسط القاعدي فإنها تعطي لون وردي لكن إن تحول إلى ألحامضي يختفي اللون ولهذا يجب تثبيت pH بمحاليل منظمة لكي يبقى الأس الهيدروجيني ثابت [37]

II-5 مكونات أجهزة الأشعة المرئية وفوق البنفسجية:

توجد مجموعة مختلفة من الأجهزة التي تختلف عن بعضها في التصميم منها الفوتومتر *Photometer* الاسبيكتروفوتوميتر *Spectrophotometer*, وهذه الأجهزة تتكون أساسا من أربعة أجزاء رئيسية: مصدر الأشعة *Radiation Source*, وحدة التحكم في الأطوال الموجية (الجهاز البصري) *monochromator*, ووحدة العينة أو (خلايا) *cells*, وحدة قياس طاقة الأشعة (الكاشف) *Detector* [13].

II-5-1 مصدر الأشعة RADIATION SOURCE:

يستخدم مصدر الإشعاع في مطياف الأشعة فوق البنفسجية والمرئية ليغطي المنطقة من 200-800 nm. لتقدير الامتصاص للجزيئات يجب أن يكون المصدر الضوئي يعطي أشعة ذات طاقة مناسبة أي يولد قدرة كافية, وأيضا يعطي أشعة مستمرة (مستقرة) تحتوي على جميع الأطوال الموجية في المدى المستخدم في التقدير (أي لا تتغير قدرة المصدر على مدى أطواله الموجية), كما يجب أن يكون ثابت خلال فترة التقدير [13].

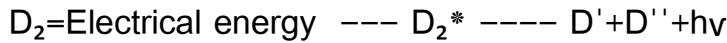
II-5-1-1 مصادر الأشعة المرئية:

ويستخدم مصباح فتيل تنجستن-هال وجين (في غلاف من الكوارتز) كمصدر لضوء المرئي حيث تعطي إشعاعات ذات طاقة مناسبة للأطوال الموجية من 2500_320 nm وتنتج هذه الأشعة المستمرة نتيجة لتذبذب الذرات في الفتيل عند ارتفاع درجة حرارته إلى درجة التوهج, وتعمل لمبة تنجستن على درجة تساوي 2860K, ويلاحظ أن جزء كبير من الأشعة ينتج في المنطقة تحت الحمراء القريبة ولذلك يوضع مرشح ضوئي ماص للحرارة *heat absorbing filter* بين المصدر الضوئي والعينة لامتصاص الأشعة تحت الحمراء, ومصابيح تنجستن-هال وجين التي تستخدم في الوقت الحالي تحتوي على كمية صغيرة من اليود في غلاف من الكوارتز يحتوي على فتيل تنجستن. يتفاعل اليود مع تنجستن الغازي المتكون بالتسامي *Sublimation* مكونا WI_2 المتطاير *Volatile*, عندما تصدم جزيئات WI_2 الفتيل تتحلل وتعيد ترسيب تنجستن على الفتيل. وعمر مصباح تنجستن-هال وجين يساوي تقريبا ضعف عمر مصباح تنجستن العادي وكفاءته عالية جدا, خارج هذا المصباح حتى الأشعة فوق البنفسجية, لذا هو يستخدم في معظم أجهزة

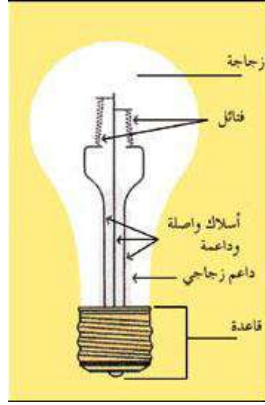
المطياف الحديثة. هذا بالنسبة لقياس الأشعة المرئية (visible) في المدى بين (800_350)nm [38].

II-5-1-2- مصدر الأشعة فوق البنفسجية:

تستخدم لمبة التفريغ الكهربائي للهيدروجين أو الديوتيريوم *Hydrogen or deuterium discharge lamp* والتي تعمل تحت ضغط منخفض والتيار كهربائي متردد DC لإنتاج الأشعة فوق البنفسجية [13], حيث يستخدم مصدر قوس الديوتيريوم *Deuterium arc sources* في المنطقة اقل من 320 nm ليعت أو يشع طيفا مستمرا اقل من 400 nm وتستخدم فلترات خاصة في مسار الشعاع في حالة استخدام مصباح تنجستن-هال وجين الأقل من 400nm, هذه الفلترات مطلوبة لتقليل الأشعة المشتتة التي تصل إلى الكاشف والتي تسبب أخطاء في قيم الامتصاص . ينتج عن الإثارة الكهربائية للديوتيريوم أو الهيدروجين عند ضغط منخفض طيفا مستمرا للأشعة فوق البنفسجية ويتكون هذا الطيف نتيجة تكوين جزيء مثار يتحطم ليعطي صنفين من الذرات وأيضا فوتون الأشعة فوق البنفسجية كما هو موضح أدناه



مصابيح الديوتيريوم والهيدروجين تبعث أشعة مستمرة في المنطقة 375-160nm وغلاف هذه المصابيح يكون من الكوارتز, (لان الكوارتز لا يمتص الأشعة ذات الأطوال الموجية اقل من 350nm [38]. لمبة ديوتيريوم (*Lamp D₂*) هي لمبة لا يفض مشاهدتها بالعين المجردة لأنها يمكن أن تتسبب بالعمى المؤقت نظرا لقوة إشعاعها . هذا بالنسبة لقياس الأشعة فوق البنفسجية في المدى (350_200)nm [29].



الشكل (3.ii): مصباح الهيدروجين (الديوتيريوم) **الشكل (4.ii):** مصباح التنجستن. [36]

II-5-2 وحدة التحكم في الأطوال الموجية :

تحتوي الأشعة الناتجة من مصدر الإشعاع على جميع الأطوال الموجية المميزة لهذا المصدر ، وفي طرق الامتصاص الضوئي يجري تقدير الامتصاص باستخدام أشعة تحتوي على مدى صغير من الأطوال الموجية ، مما يستدعي فصل الأطوال الموجية عن بعضها وتوجيه الأشعة ذات الأطوال الموجية المرغوبة إلى العينة المراد تقديرها ، واستبعاد بقية الأطوال الموجية الأخرى [13] فباستخدام الجهاز البصري يمكن للمحلل أن يتحصل على طيف المادة ومن ثم اختيار الطول الموجي المناسب λ_{max} للتحليل .حيث تختلف وحدة فصل الأطوال الموجية باختلاف تصميم الجهاز [8] .

II-5-2-1 المرشح Filter :

تكون غالبا في أجهزة الفوتومتر والتي تستخدم أساس في أغراض التحليل الكمي للمركبات باستخدام طول موجي معين ،تستخدم المرشحات الضوئية حيث يسمح فقط بمرور حزمة تحتوي على مدى صغير من الأطوال الموجية التي يجري عليها التقدير ،بينما لا يسمح بمرور الأشعة في مدى معين من الأطوال الموجية ،وعلى ذلك يتوقف اختيار نوع المرشح على الطول الموجي الذي يجري عليه التقدير [13]. وهذه المرشحات هي عبارة عن زجاج ملون أو مواد جلاتينية ملونة ،وهذه قوة تفريقها للأشعة ضعيفة وتستخدم في الحالات التي لا توجد بها تداخلات طيفية [8]

II-5-2-2 المنشور ومحزوز الحيود Prism and Diffraction Grating :

يستخدم المنشور أو محزوز الحي ود في أجهزة سبكتروفوتومتر في عملية فصل الأطوال الموجية للأشعة. ويمتاز كل منهما عن مرشحات الضوئية في أمرين :

1- أن درجة الفصل تكون على درجة عالية من الجودة ،فتحتوي الحزم الضوئية المفصولة على مدى ضيق جدا من الأطوال الموجية بالمقارنة بالمرشحات الضوئية .

2- أنه بتغيير الوضع الهندسي للمنشور أو محزوز الحي ود ،يمكن توجيه الحزم المفصولة الواحدة تلو الأخرى على العينة وبصورة مستمرة ،وبذلك يمكن تقدير الامتصاص في هذه الحالة كدالة الطول الموجي. هذا النظام في فصل الأشعة يكون ذا أهمية في التحليل الوصفي للمركبات ، ويتطلب دراسة كثافة الامتصاص على الأطوال الموجية المختلفة (طيف الامتصاص) [13] تعمل وحدة فصل الأطوال الموجية على اختيار شريط ضيق من الأطوال الموجية ليمر خلال العينة وفي معظم الأجهزة الحديثة يستخدم محزوز الحي ود .أهم خصائص وحدة فصل الأطوال الموجية هي نطاق المرور *Band Path* أو اتساع الشريط أي مدى انتشار الأطوال الموجية الخارجة من شق الخروج لأي اتساع للشق .واحد مساوي محزوز الحي ود هو إمكانية مرور رتب طيفية مختلفة من شق الخروج، ويستخدم عادة فلتر احمر في طريق الضوء عندما يستخدم محزوز الحي ود لأعلى من 600 nm) للتخلص من نفاذ الرتب الثانية والأعلى منها، هذه المشكلة لا توجد في الأجهزة التي كانت تستخدم فلترات ذات أشرطة ضيقة أو مناشير لاختيار الأطوال الموجية. كل وحدات الأطوال الموجية تتكون من المكونات التالية :

1-شق الدخول *Entrance Slit*

2-عدسة تجميع *Collimating Lens*

3-وحدة تفريق (في العادة منشور أو محزوز الحيود) *dispersing Device*

4- عدسة لامة (مركزة) *Focusing Lens*

5- شق الخروج *Exit Slit*

تصل الأشعة متعددة الأطوال الموجية إلى وحدة فصل الأطوال الموجية من خلال شق الدخول . تتجمع الحزمة الضوئية ثم بعدئذ تصدم وحدة التفريق بزاوية ما ،تنقسم الحزمة الضوئية إلى مركباتها من الأطوال الموجية بواسطة محزوز الحي ود أو المنشور . وبتحريك عنصر التفريق أو شق الخروج تترك أشعة ذات أطوال موجية معينة فقط وحدة فصل الأطوال الموجية خلال شق الخروج [38].

II- 5-3 خلية العينة Sample Cells:

يتم اختيار الوعاء أو الخلية التي توضع فيها العينة بحيث تكون من مادة لا تمتص الضوء الساقط عليها ،ذلك لأننا معنيون فقط بامتصاص العينة ،الذي يتناسب مع تركيزها [17].

هناك عدة أنواع من الخلايا مختلفة من حيث مادة الصنع هي :

البلاستيك: غالبا يتم استخدامها في مجال الضوء المرئي visible فقط، نظرا لسهولة الحصول عليها لسعرها الرخيص.

الزجاج: تستخدم كذلك في مجال الضوء المرئي Visible فقط لكون الزجاج لا يمتص الضوء المرئي.

لا تستخدم خلايا المصنوعة من الزجاج في مجال فوق البنفسجي Ultraviolet نظرا لامتناسه للأشعة فوق البنفسجية [39].



الشكل (5.II): شكل خلايا العينة.

الكوارتز والسيليكا **fased silica**:

يتم استخدام خلايا الكوارتز وال **Fased silica** في منطقة الضوء المرئي وفوق البنفسجي أيضا ، لأنها لا تمتص لا الضوء المرئي ولا الأشعة فوق بنفسجية [40].

-كما تستخدم أيضا خلايا للعينه مصنوعة من بوليمرات مثل البولي ايثيلين والبولي ستايرين nm (900-340) أو إل Polymethyl methacrylate nm (900-300) في منطقة لأشعة المرئية أو حتى اقل من ذلك بقليل في حالة الاكريل ،وهذا النوع من الأوعية يستخدم لمرة واحدة فقط ، لأنه عادة ما تمتص جزءا من الإصباغ أو المواد المختلفة لذلك يتم التخلص منه بعد الاستخدام . [17]

-شكل الأوعية (وعاء) يجب أن يكون مناسب لتقليل الفقد في الأشعة نتيجة الانعكاس.

-تستخدم عادة خلايا مكعبة أو متوازي مستطيلات يكون عرضها 1سم.

-كما يمكن أن يكون هناك خلايا عرضها 1cm أو 10cm يمكن استخدامها في بعض التحليل الخاصة [13] .

-يتراوح طول مسار الأشعة داخل الأوعية المستخدمة لقياس المحاليل ما بين 1-15cm.

-يوجد أوعية صغيرة *microcells* لقياس العينات الصغيرة جدا.

-النوافذ البصرية تكون مصنفة ومسطحة ومتوازية ومسار الضوء بين الأسطح الداخلية يكون ثابتا [38].

تنبيه :

- يجب أن يكون وعاء العينه نظيف من الداخل والخارج وخالي من الخدوش . وخاصة الجانبان اللذان ينفذ من خلالهما الضوء ،حيث يجب التأكد من خلوهما من بصمات الأصابع.

-توجد خلايا خاصة أيضا لتحليل الغازات [39].

- يمكن تنظيف الأوعية قبل التحليل بالماء المقطر أو بمحلول مطهر مناسب أو محلول النيتريك HNO_3 وذلك حسب دقة التحليل المطلوب.

II-4-5 الكاشف Detector:

الكاشف أو *detector* هو جزء من الجهاز المسئول عن قياس شدة الأشعة التي تصله. وظيفته الاستجابة للأشعة الساقطة على أسطحه الحساسة بعد عبورها من خلال العينة، وإعطاء إشارة كهربائية تتناسب مع شدة الأشعة [38]، أي تحويلها من طاقة ضوئية إلى طاقة كهربائية يمكن تكبيرها والحصول على قيم الامتصاص أو النفاذية [8].

II-4-5-6 خصائص الكاشف المطلوبة :

لا شك بأن هناك العديد من خصائص الكاشف المرغوبة ، والتي يجب أن تتوفر كلها أو معظمها في الكاشف ، كي يمكن أن يلبي رغبتنا في قياس شدة الأشعة ، ومن هذه الخصائص ما يلي:

- 1 - أن يكون حساساً جداً، بحيث يتمكن من قياس شدة الأشعة مهما كانت ضعيفة
- 2 - أن يكون سريع الاستجابة، بمعنى أن يعطي النتيجة بمجرد سقوط الشعاع عليه
- 3 - أن تكون استجابته ثابتة مع الوقت، بمعنى أننا إذا أسقطنا عليه شعاع ثابت الشدة، فإن القراءة التي يعطيها الكاشف يجب أيضاً أن تكون ثابتة طيلة الوقت، ما دامت شدة الشعاع ثابتة. إن معظم الكاشفات تعطي زيادة مستمرة ولو بسيطة جداً أو نقصاً مستمراً في الإشارة مع الوقت، وهو ما يطلق عليه مصطلح، drift حيث يجب أن يكون آل drift أقل ما يمكن، وهذه الخاصية تكون ضمن خصائص الجهاز ومواصفاته ، حيث يتم ذكر قيمة آل drift في الإشارة لكل 8 ساعات، مثلاً، ويجب الانتباه لها.

4 - يجب أن تكون الإشارة التي يقرأها الكاشف صفراً في حالة عدم سقوط أي شعاع عليه، وهذا منطقي إذ إن المكاشف يقيس شدة الشعاع الساقط عليه، فإذا كانت شدة الشعاع الساقط صفراً فيجب أن يقرأ المكاشف إشارة بقيمة صفر. لكن للأسف العديد من المكاشف تعطي قيمة للإشارة بالرغم من عدم سقوط شعاع، وهو ما يعرف بال، *dark current* حيث تكون الإشارة التي يعطيها

$$S = Kd + KI$$

الكاشف:

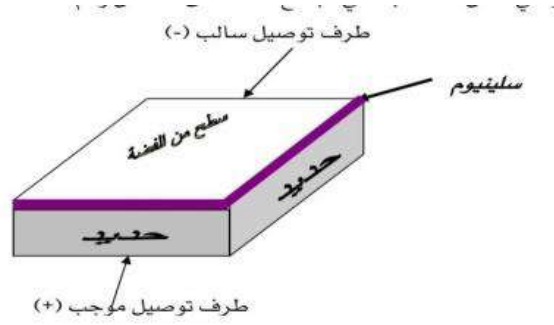
حيث اهي شدة الإضاءة الساقطة على الكشاف، K_d هي قيمة آل *dark current* بينما هي الإشارة التي يقرأها الكاشف. وكان الأصل أن تكون الإشارة تتناسب طردياً مع (الشدا) بدون قاطع. ويعتبر آل *dark current* مشكلة حقيقية في بعض المكاشف كما سنرى، وتزيد انعكاسات تلك المشكلة كلما كان الكشاف أكثر حساسية.

- 5 - إشارة الكاشف يجب ألا تعتمد على الطول الموجي. وللأسف فإن معظم المكاشف تستجيب بحساسية عالية لأطوال موجية معينة أكثر بكثير من غيرها، وبالتالي فإن قيمة الإشارة التي يقرأها الكاشف عادة ما تتوقف على الطول الموجي، أي أنه بالرغم من استخدام شدة شعاع متساوية لجميع الأطوال الموجية الساقطة إلا أن إشارة الكاشف تختلف .
- 6 -يفضل أن لا يتأثر الكاشف بالأحوال الجوية، مثل نسبة الرطوبة، أو درجة الحرارة، وغيرها. ولعله من المسلم به أنه ليس من الممكن عملياً بناء كاشف يتحلى بكل هذه الخصائص (وخصائص أخرى لم نتحدث عنها)، ودائماً ما يتوجب علينا اتخاذ قرارات للترجيح بين كاشف وآخر، بحسب الحاجة، بما في ذلك التكلفة المالية [17] .

- هناك عدة أنواع من الكاشف هي :

خلية الطبقة الحاجزة Photovoltaic or Barrier Cell:

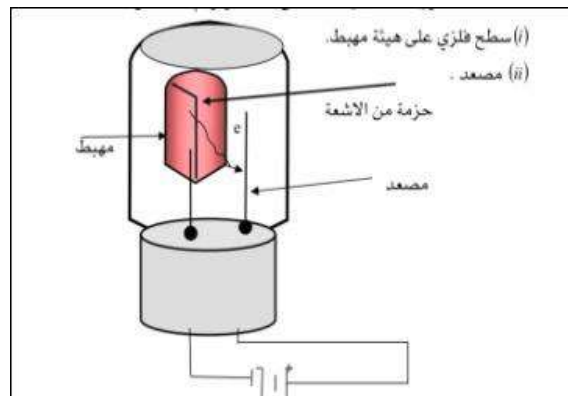
وهي خلية بسيطة قائمة على أساس تكنولوجيا أشباه الموصلات، حيث تتكون من طبقة من مادة شبه موصلة مثل السيلينيوم موجودة على قاعدة من النحاس أو الحديد(القطب الموجب)، وتُغطى المادة شبه الموصلة بغشاء رقيق + جداً وشبه منفذ للضوء ،مصنوع من الفضة أو الذهب (القطب السالب)، ويتم حفظ كل ذلك باستخدام بوليمر منفذ لحماية الخلية.أما طريقة استجابة الخلية فبسيطة للغاية، حيث يسقط الضوء على المادة شبه الموصلة فتتكسر بعض الروابط ، مما يحرر الكترولونات وشحنات(موجبة).فتتجه الالكترولونات إلى غشاء الفضة (مما يجعله قطباً سالباً) بينما تتجه الشحنات الموجبة إلى النحاس (مما يجعله قطباً موجباً)، وعند وصل القطب الموجب بالسالب تندفع الالكترولونات من القطب السالب إلى القطب الموجب، أي يمر تيار، تتناسب شدته مع شدة الشعاع الساقط (كلما ازدادت شدة الشعاع الساقط كلما ازداد عدد الالكترولونات والشحنات الموجبة)، وبذلك يمكن قياس شدة الشعاع [17] .



الشكل (6.II): خلية الطبقة الحاجزة.

الخلية الضوئية (Photocell) : Photocell (phototube)

عند سقوط حزمة من الأشعة على المهبط تتحرر منه الكترونات وتتجذب تلقائياً نحو المصعد محدثة تياراً كهربائياً بين القطبين، تتناسب قوة هذا التيار مع شدة الأشعة والتي تتناسب بدورها مع تركيز المادة المراد تحليلها [8].

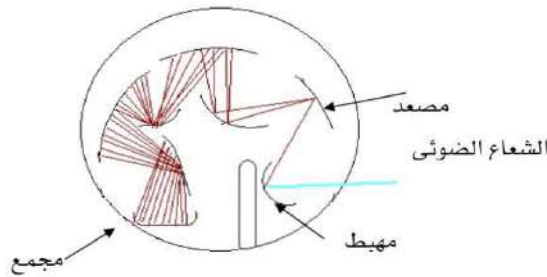


شكل (7.II): الخلية الضوئية.

الخلية الضوئية المضاعفة Photomultiplier tube

يعتبر الكاشف الأكثر استعمالاً ويتميز بالدرجة العالية من الحساسية. عند سقوط حزمة من الأشعة على المهبط تنطلق منه الكترونات وتتجذب إلى المصعد الموجب ويتكون نتيجة اصطدام إلكترون واحد بسطح المصعد الأول من 2-5 الكترونات ثانوية. هذه الكترونات الثانوية تتجذب

بدورها إلى مصعد أخر أكثر ايجابية حيث تسبب انطلاق الكترونات أخرى.تتكرر هذه العملية على كل مصعد في خطوات متتالية إلى أن يتم الحصول على سيل من الالكترونات والتي تصل إلى المجمع *collector* وينتج عن هذا تيار يمكن تكبيره و قياسه. التيار الناتج يتناسب طردا مع الأشعة الساقطة والذي بدوره يتناسب طرديا مع التركيز [8].



الشكل (8.11): الخلية الضوئية المضاعفة.

6-II المذيب ودوره في القياسات في مطياف الأشعة فوق البنفسجية:

يلعب المذيب دور مهم في قياسات U. V لان جميع العينات التي يتم قياسها يجب ان تكون سائلة (محلول شفاف) لان وجود الحبيبات يسبب تشتت الإشعاع المار بالمحلول لمعرفة تفاصيل أكثر تقسم المذيبات إلى :

1-المذيبات القطبية polar solvent : مثل الماء والايثانول 95% ودا يكسان

2-المذيبات الغير قطبية non polar solvent : مثل الهكسان وسايكلوهكسان (الهكسان الحلقي) والكلوروفورم

1-6-II تأثير المذيب :

ان لا يمتص اشعة UV-Vis في نفس المنطقة التي تمتص فيها المادة ويفضل المذيب الذي ليس به روابط مزدوجة متعاقبة حتى يكون شفاف نحو الأشعة [41].

يفضل المذيب غير قطبي حتى لا يكون روابط هيدروجينية مع المذاب عكس المذيب القطبي الذي يكون رابطة هيدروجينية مع المذاب ويؤدي إلى ظهور طيف غير واضح أو غير دقيق [41].

المذيب القطبي يسبب إزاحة زرقاء *shift blue or hypsochromic* نحو طول موجي أقصر $\pi \leftarrow n$ أما انتقال $\pi \leftarrow \pi$ تحصل إزاحة حمراء *bathochromic or red shift* نحو طول موجي أطول أي (يحصل العكس). يسبب المذيب في خفض أو بتال n أكثر من أور بتال π *لانتقالات $\pi \leftarrow n$ أي يسبب زيادة طاقة الانتقال ΔE لهذا تحصل إزاحة زرقاء نحو طول موجي أقصر أما انتقالات $\pi \leftarrow \pi$ يسبب المذيب نقصان في طاقة انتقال ΔE لأنه يسبب في خفض أور بتال π * أكثر من أور بتال π لهذا تحصل إزاحة حمراء نحو الطول الموجي الأطول [33].

7-II الأجهزة Instruments:

تنقسم أجهزة الامتصاص إلى فوتومتر وسبيكتروفوتومتر، وفي جميع هذه الأجهزة توضع وحدة فصل الأشعة بين العينة والمصدر الضوئي [13].

1-7-II الفوتومتر Photometer:

تستخدم هذه الأجهزة في التحليل الكمي، عندما يكون الغرض هو تقدير تركيز المركبات التي تمتص الأشعة في المنطقة الأشعة فوق البنفسجية والمرئية من الطيف، ويجرى التقدير على طول موجي ثابت ومحدد وتستهمل المرشحات الضوئية في الحصول على الحزمة، كما أنها تستعمل الخلية الضوئية ذات الطبقة الحاجزة، وقد تكون الأجهزة ذات حزمة واحدة أو ذات حزمتين [13].

2-7-II سبيكتروفوتومتر Spectrophotometer:

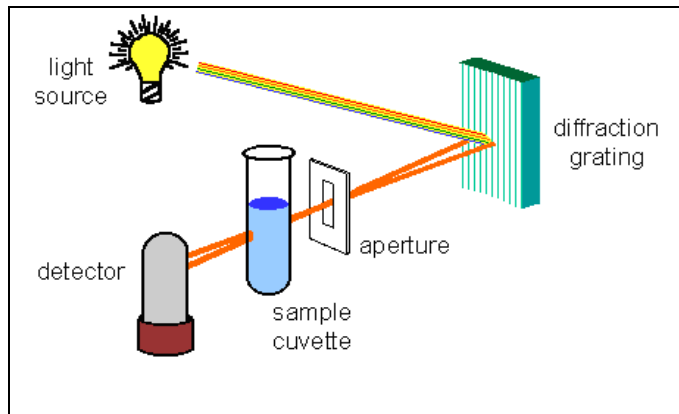
يختلف هذا النوع من الأجهزة عن أجهزة الفوتومتر في استخدام منشور أو محزوز الحيود في فصل الأطوال الموجية لأشعة المصدر ، كما أنها تستخدم مصدرين للضوء احدهما للأشعة المرئية والآخر للأشعة فوق البنفسجية، وكذا تستخدم الخلايا الضوئية أو الخلايا الضوئية المركبة لقياس الأشعة، وتختلف فيما بينها، فمنها حزمة واحدة (سبكتروفوتومتر وحيد الحزمة *Single-beam Spectrophotometer*) وكذا ما يستخدم حزمتين (سبكتروفوتومتر ذو الحزمة المزدوجة *Double-beam Spectrophotometer*) [13].

8-II تصميم أجهزة قياس الامتصاص:

تصمم أجهزة الامتصاص في المجال المرئي وفوق البنفسجي طبقا لنظام أحادي الحزمة أو ثنائي الحزمة [8].

1-8-II نظام أحادي الحزمة *Single beam*:

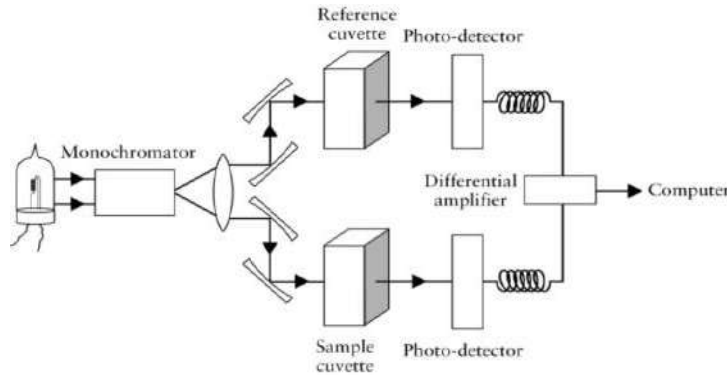
يكون مسار الضوئي للأشعة في هذه الأجهزة سواء في الأجهزة فوتومتراو سبكتروفوتومتر مسار واحد [8]، يكون من مصدر ضوئي يمر بمرشح منه إلى العينة ثم إلى وحدة القياس، هذا نظام يقيس مجموعة الأشعة المفقودة (بالانعكاس و امتصاص المحلول الخالي) وليس فقط الأشعة الممتصة بواسطة المادة المراد تحليلها [8]، حيث تتطلب هذه الأجهزة تبديل المحلول النموذج المرجع لكل طول موجي [39].



الشكل (9.II): نظام أحادي الحزمة [36].

2-8-II نظام ثنائي الحزمة Double beam:

تقسم أشعة المصدر بواسطة قاسم الأشعة (مرآة على شكل حرف V) إلى حزمتين ذات شدة متساوية، واحدة تمر خلال المحلول المرجع الخالي إلى الكاشف وثانية تعبر خلال العينة في نفس الوقت إلى الكاشف الخارج من الكاشفين يتم تكبيرهما [8]، أي أنها الأجهزة تستطيع أن تقيس حزمة النموذج إلى حزمة المرجع إن إي تغير في شدة شعاع من مصدر لا يؤدي إلى أخطاء تحليلية لوجود خليتين وكاشفين يمكننا تجنب تقلل من الفولتية أيضا [39].



الشكل (10.II): نظام ثنائي الحزمة [36].

9-II التحليل النوعي Qualitative analysis:

حيث يتم تشخيص المواد عن طريق أطيف امتصاصها حيث تتوفر بيانات لامتناس المركبات العضوية في منطقة ال (UV - Vis) من خلال مجاميعها والتي غالبا ما تكون مساعدة في التحليل النوعي العضوي. وكذلك شدة الامتناس تعد ميزة إضافية للتشخيص إضافة إلى الطول الموجي الأعظم للمادة كدالة للفحص النوعي حيث يمثل الطول الموجي λ_{max} الذي يحصل عند أعلى امتناس ويعبر عنه λ_{max} [39].

10-II التحليل الكمي Quantitative analysis:

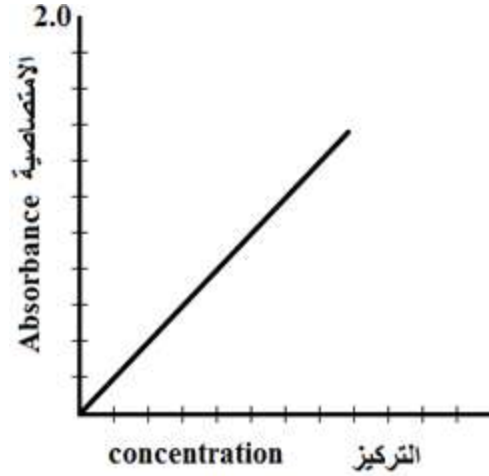
1. من خلال قانون لامبرت بير إذا تم معرفة المعطيات (عرض الخلية , معامل الامتناس المولاري) .

$$A = \epsilon L c$$

ويتم قياس الامتناسية عند الطول الموجي الأعظم (λ_{max}) والذي يمثل أعلى قيمة للامتناسية عند تركيز معين أي التركيز الذي يعطي أعلى امتناسية

2. طريقة المنحني القياسي Standard curve

حيث يحظر سلسلة من التراكيز للمادة القياسية (Standard) ويتم قياس الامتصاصية لكل تركيز من المادة القياسية ثم تحلل المادة المجهولة التركيز وترسم العلاقة البيانية بين التركيز والامتصاصية ويتم حساب تركيز المادة المجهولة من المنحني القياسي [39].



الشكل (11.11): العلاقة بين شدة الامتصاص والتركيز

يمكن تمثيل العلاقة بين الامتصاص وتركيز العنصر المراد تقديره في صورة معادلة خط مستقيم وتوقعها بيانيا .

ومن الرسم البياني يمكن حساب أيضا معامل الامتصاص المولاري والذي يكون مساويا لميل الخط المستقيم

*وتوجد طرق أخرى في التحليل الكمي منها طريقة النسب المولية وطريقة التغير المستمر (طريقة جوب [39] .

الفصل الثالث: المركبات الفعالة

والفعالية المضادة للأكسدة

تمهيد:

يعرف النبات بإنتاجه للعديد من المركبات التي تعرف باسم المشتقات الثانوية، وهي تشمل كل من التربينات والفينولات و القلويدات وغيرها، ولكن بالرغم من أن العديد من النظريات (الفرضيات) تعتبرها مواد بدون فائدة بالنسبة للنبات ولكن البعض يعتبرها مصدرا للصبغات والهرمونات النباتية والزيوت العطرية[42] .

III-1-المركبات الفعالة:

كل عنصر نباتي مؤكد يحتوي على عدد من المركبات التي تنتج من عمليات الأيض الثانوي للنبته بحيث تمثل المنتجات الطبيعية الفعالة لها، والتي يمكن تقسيمها إلى أصناف مختلفة لتسهيل دراستها، إلا أن الطريقة المتبعة في تقسيمها تختلف من مصدر إلى آخر، فقد تصنف أحيانا وفقا للمصادر الطبيعية التي تنتج منها، وتصنف أحيانا أخرى لتأثيراتها الفيزيولوجية، كما تصنف أكثر الحالات شيوعا تبعا لتركيبها البنائي أو على الأقل دراستها على هيئة مجموعات حيث تصنف إلى، التربينات وأشباهاها، القلويدات وأشباهاها، الزيوت الطيارة، المضادات الحيوية، الفيتامينات، المركبات الفينولية، التانينات ، الصمغ والراتنجات [43-45].

III-2- مركبات الأيض الثانوي :

III-2-1- القلويدات :

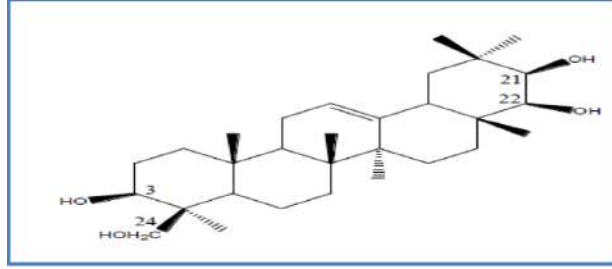
تعرف القلويدات على أنها مجموعة قواعد معقدة التركيب ذات الحلقة الغير متجانسة وتحتوي على ذرة نيتروجين، وأغلبها يكون على شكل مواد صلبة متبلورة[46،47]، وتنتج النباتات نحو 12000 من القلويدات المختلفة [48]. ويختلف توزيع القلويدات في الأنسجة النباتية حسب نوع وسن النسيج النباتي، وعادة ما توجد في الأنسجة الصغيرة وفي عصير الخلايا ولكنها تتحول إلى الحالة الصلبة في طور النضج كما في الحبوب والثمار والجذور، وتتواجد القلويدات بكثرة عند النباتات ثنائية الفلقة مقارنة بأحاديات الفلقة. ومن خصائص القلويدات الكيميائية أنها تذوب في المذيبات العضوية مثل الكلوروفورم والإيثر وهذا في صورتها الحرة كما تتأثر بالضوء المستقطب[46،47].

III-2-2 الصابونيات:

اشتق اسمها من الكلمة اليونانية (sapo) نسبة للصابون وذلك بسبب قدرتها على تشكيل رغوة في المحاليل المائية. والصابونيات عبارة عن تربينات ثلاثية حقيقية في صورة غليكوزيدية [46،49]. فإن الصابونيات لها درجة انصهار مرتفعة [46،50]، وهي تستخدم في طب الأعشاب وفي صناعة مواد التجميل، وتدخل في صناعة الأدوية ذات الطبيعة الستيرويدية، حيث تصنف حسب بنية الشق اللاسكري في هيكلها إلى:

✓ صابونيات ستيرويدية: شائعة عند النباتات مغلفات البذور أحاديات الفلقة.

✓ صابونيات تربينية: متوفرة بكثرة عند النباتات مغلفات البذور ثنائيات الفلقة [46].



الشكل (1.III): الصيغة الكيميائية للصابونيين [46،51]

III-2-3 الجليكوسيدات :

هي عبارة عن مركبات كيميائية عضوية تتكون من عناصر الكربون، الهيدروجين والأكسجين ذات الصيغة العامة (CH₂O)_n، تمثل أول نواتج عملية التمثيل الضوئي ومنها تتكون المكونات الكيميائية الأخرى. تكمن أهميتها في كونها مصدر للطاقة في الخلية الحية، تدخل في تركيب الجزيئات الحيوية الفعالة والمواد الغذائية المختلفة [52،53].

III-2-4 الراتنجات :

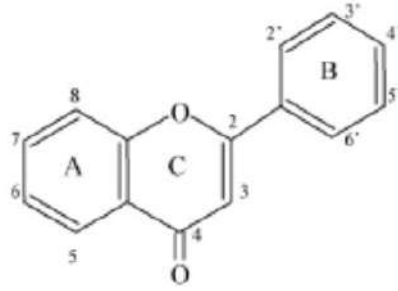
هي عبارة عن مواد كيميائية مختلفة منها الكحولية والفينولية والحمضية وغيرها، وهي مواد سائلة تتحول إلى صلبة عندما تخرج من النبات إلى الضوء والهواء، وهي تفرز من أنسجة بعض النباتات، وتكون على هيئة دموع صغيرة [52،54].

III-2-5 المركبات الفينولية :

تشكل المركبات الفينولية حيزا كبيرا في حقل المنتجات الطبيعية, نظرا لكثرة عددها وتباين هيكله البنائية لها[55,56], وقد تم عزل والتعرف على أكثر من 8000 مركب فينولي وتم توزيعها في مختلف الأقسام بدلالة هيكلها الكربوني[55,57]. تتميز بنيتها بوجود حلقة عطرية أو أكثر مرتبطة بمجموعة هيدروكسيل حرة أو مستبدلة مع مجموعة أخرى (أثير, أستر . . .) [51,58], غير أن تعريفها كيميائيا صرفا للفينولات بهذا الطريقة يعد غير كاف لتشخيص المركبات الفينولية النباتية , إذا أن هناك منتجات ايضية ثانوية أخرى تشمل هذا التعريف أيضا ولكنها تنتمي إلى مجموعات كيميائية نباتية مختلفة مثل بعض القلويدات كالمورفين (Morphin) وبعض التربينات كالثيمول (Thymol) التي تضم في بنائها حلقة بنزينية ومجموعة هيدروكسيل فينولية مما يستوجب إدخال شرط الاصطناع الحيوي لحصر حدود هذه المجموعة وعليه ليكون تعريف المركبات الفينولية أكثر ضبط يستوجب أن يكون على النحو التالي: مشتق غير أزوتي حاوي على حلقة بنزين أو أكثر تحمل مجموعة هيدروكسيل حر أو مرتبط بوظيفة أخرى تكونت حلقاتها العطرية إما من حمض شيكيميك ($C_7H_{10}O_5$) أو عديد الأسيئات[55,59]. حيث تمثل المركبات الفينولية نواتج ثانوية للنباتات وتشارك عموما في الدفاع ضد الأشعة فوق البنفسجية أو العدوان الخارجي من قبل مسببات الأمراض. وتُعرف المركبات الفينولية على أنها مركبات فعالة ذات أوزان جزيئية منخفضة حاوية على حلقة أروماتية تحمل واحدا أو أكثر من مجاميع الهيدروكسيل وتقسم إلى عدة مجاميع نذكر أهمها: [46,60].

III-2-5-1 الفلافونيدات :

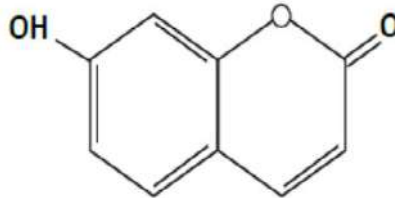
هي عبارة عن صبغات نباتية توجد في النباتات على هيئة سكريات إذ تتحد إحدى مجاميع الهيدروكسيل الفينولية مع مركبات سكرية[52,61]. وهي واسعة الانتشار في الطبيعة إذ تتواجد في جميع أعضاء النباتات، كما تساهم في إعطاء النكهة والطعم و اللون الجذاب للكثير من الفواكه والخضراوات. الفلافونيدات لها أنشطة بيولوجية هامة، فهي مضادة للميكروبات، الأكسدة، السرطان والالتهاب[52,62]. ومن الناحية الكيميائية فهي تتكون من 15 ذرة موزعة على 3 حلقات[52].



الشكل (2.III): تركيب الفلافونيدات

III-2-5-2 الكومارينات :

الكومارينات هي مجموعة من المركبات الفينولية يعبر عنها بالصيغة C_6-C_3 ، تعرف باسم الذي عُزل منه (*Dipteryx odorata willd, Fabaceae*) وهو الاسم العام للنبات [Coumarou] الكومارين لأول مرة سنة 1820 [63,52]. وأشار إلى أن الكومارينات تمتلك عدة أنشطة بيولوجية فهي مضادة للتخثر، مضادة للميكروبات، مضادة للالتهابات، مضادة للأكسدة، مضادة للسرطان، مضادة للفيروسات، ومضادة للملاريا... الخ. [64,62]



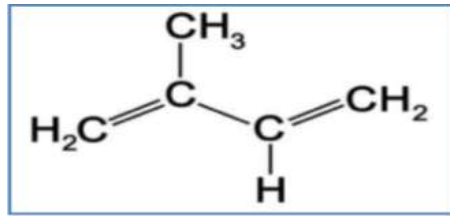
الشكل (3.III): تركيب الكومارينات

III-2-5-3 التينينات :

هي مواد فينولية معقدة التركيب الكيماوي كثيرة التواجد في النباتات تذوب بالماء والكحول والغل يسيرين. وللتينينات قدرة على ترسيب البروتينات والقلويدات لهذا تستعمل في الدباغة وتمتاز بتأثيراتها المطهرة والقابضة لهذا تستعمل كمضادات للإسهال وقاطعة للنزيف كما لها دور في حماية النباتات ضد الحشرات الضارة [65,52]

III-2-6 التربينات :

هي مركبات هيدروكربونية غير مشبعة قابلة للاشتعال تدخل في بنائها وحدة، (C_5H_8) Isoprene أو تعرف كيميائياً باسم (2-methyl-1,3-butadiene) ترتبط وحدات الإيزوبرين غالباً باتحاد رأس إلى ذيل وتشمل التربينات على عدد كبير من المواد الهامة للنبات، أهمها الزيوت الطيارة و الكاروتينيدات والمطاط وبعض الهرمونات، إذ أحصى العلماء أكثر من 40000 مركب تربيني في الطبيعة معظمها ذات الأصل النباتي[52،66].



الشكل (III.4): وحدة الإيزوبرين

III-2-7 الزيوت الطيارة :

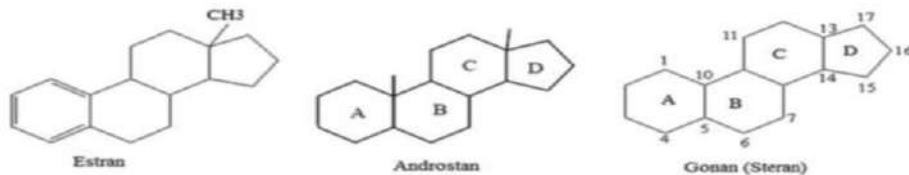
الزيوت الطيارة هي مركبات تتبخر عند تعرضها للهواء على درجات الحرارة العادية كما أنها تتطاير مع بخار الماء[52،67]. لذا سميت الزيوت الطيارة أو الزيوت الأثرية أي أنها تشبه الأثير في سرعة تبخرها وتسمى أيضاً الزيوت العطرية نجدها إما في الشعيرات الغدية في أوراق وأزهار النباتات أو في الخلايا النسيجية مثل: النسيج البرانشيمي للفشور والريزومات والثمار وغيرها[52،54]. وهي عبارة عن مجموعة من المركبات الكيماوية التي تتجمع تحت قسمين: القسم الأول ويتكون من مركبات هيدروكربونية والقسم الآخر يتكون من مواد أكسوجينية وتختلف نسبة هذه المركبات من زيت إلى آخر[52،68]. وبالرغم من اختلاف الزيوت الطيارة فيما بينها باختلاف تركيبها الكيميائية إلا أنها تشترك جميعها في معظم الصفات الطبيعية عندما تكون طازجة، ومن الصفات العامة لهذه الزيوت: الرائحة، القوام والطبيعة، التطاير، اللون والذوبان [52،69].

III-2-8 : الدهون

الدهون هي جزيئات كبيرة ومتنوعة موجودة في النظم الحية، ومعظمها غير قابل للذوبان في الماء ولكنها قابلة للذوبان في مذيب غير قطبي، مثل الكحول [70،71]. تعرف بأنها الأطعمة التي تكون نسبة الدهون فيها عالية جدا، وتشمل الزيوت النباتية والحيوانية [70،72،73] تتكون الزيوت النباتية بشكل رئيسي من الدهون الثلاثية التي تحلل إلى الأحماض الدهنية غير المشبعة، والأحماض الزيتية واللينوليكية (linoléique)، وحمض ألفا لينولينيك (α -linoléique)، وتسمى أيضا أوميغا 9، أوميغا 6، وأوميغا 3 [70،74]. تستخدم الزيوت النباتي بشكل عام في صناعة الأغذية الزراعية، من بين أشياء أخرى مثل زيوت التوابل. ولكن يمكن تقدير هذه الزيوت لاستخدامات أخرى غير الغذاء. على الرغم من ارتفاع أسعار الزيوت النباتية في السنوات الأخيرة، فإنها ستصبح قادرة على المنافسة على المدى الطويل مقارنة بسعر الزيت كمادة خام [70].

III-2-9 : الستيرويدات

تعتبر الستيرويدات من أهم المركبات الطبيعية على الإطلاق لاحتوائها على مجموعات وظيفية ذات أهمية بيولوجية وصناعية بالغتين بسبب استخداماتها الطبية الواسعة، أهم هذه المجموعات هي الهرمونات الستيرويدية والجليكوزيدات القلبية بالإضافة إلى الصابونيات والستيرويدات القلويدية، وتنتشر بشكل واسع في النباتات والحيوانات وتوجد أيضا في الميكروبات. جميع مركبات الستيرويدات تمتلك كوحدة أساسية مركب رباعي الحلقات وهو Gonan في الماضي كان اسمه Steran، ويمكن اعتبارها مشتقات Androstan الذي يحتوي على مجموعتي ميثيل في المواضع 10 و 13 ماعدا مجموعة Estran فيها الحلقة A أروماتية ولا تحتوي على مجموعة ميثيل في الموضع 10 [75،76].



الشكل (III.5): الوحدة الأساسية لتكوين الستيرويدات

III-3 الفعالية المضادة للأكسدة :

ازداد الاهتمام بدراسة الجذور الحرة خاصة في الوقت الحاضر، ليس فقط بسبب دورها في الظواهر الحادة مثل الصدمات أو نقص التروية، بل أيضا مشاركتها في العديد من الأمراض المزمنة المرتبطة بالشيخوخة مثل السرطان وأمراض القلب والأوعية الدموية والالتهابات وتدهور الجسم. [77،70].

III-3-1 تعريف الأكسدة :

هي تفاعل كيميائي يحدث خلال نقل إلكترونات أو هيدروجين من مادة إلى عامل مؤكسد، وينتج عن عملية التأكسد شوارد حرة، (free radicals) وهذه بدورها تنتج سلسلة من الشوارد الحرة الأخرى. وعندما يحدث ذلك في الخلية يؤدي إلى تلفها وموتها [78،52].

III-3-1-1 تعريف الإجهاد التأكسدي:

الإجهاد التأكسدي (Oxidative stress) هو عبارة عن اختلال في التوازن بين مضادات الأكسدة ومولدات الأكسدة، يكون هذا الاختلال نتيجة الزيادة المفرطة لمولدات الأكسدة أو النقص في مضادات الأكسدة [79،52].

III-3-2 الجذور الحرة ومصادرها :

هي جزيئات أو أجزاء من جزيئات خسرت أو اكتسبت إلكترون مما يجعلها فردية الالكترونات فتصبح نشطة عشوائيا وتميل لكسب إلكترون لتستقر، ومن اجل ذلك تهاجم الأغشية الخلوية، البروتين الخلوي، الأنسجة، والمادة الوراثية لتكسب إلكترون يعيد لها الاستقرار، ونتيجة ذلك يحدث تلف في الخلايا أو الأنسجة التي خسرت إلكترونها [80،52] ، وتعد الميتوكوندريا المصدر الرئيسي لإنتاج هذه الجذور ومن أهم مصادر تكوينها تلوث البيئة بالإشعاعات والمواد الكيميائية، الأمراض المزمنة والإفراط في تناول الأدوية،

الأغذية المشوية أو المحروقة أو المقليّة بزيوت قديمة و أشعة X الطبية وغيرها من وسائل تشخيص الأمراض الإشعاعية [81،52]. وتقسّم الجذور الحرة من حيث استقرارها إلى نوعين: النوع

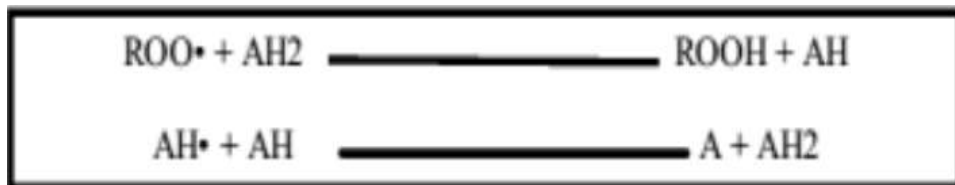
الأول وهي الجذور ذات أعمار حياة قصيرة جدا ويشمل هذا النوع ذرات العناصر مثل النيتروجين، الكلور، الهيدروجين والجذور ذات وزن جزيئي صغير. أما النوع الثاني فيمثل الجذور التي لها أعمار طويلة مثل جذر (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazy) الذي هو عبارة عن مواد صلبة ذات لون بنفسجي مسود و يكون مستقر لعدة أيام [82,52].

III-3-2-1 فعالية الجذور الحرة :

معظم الجذور الحرة على درجة عالية من الفعالية وعادة لا يمكن فصلها، وفي بعض الأحيان لا بد من استخدام طرق غير مباشرة للكشف عن أحد الجذور، وطاقت التنشيط بين جذرين حرين ضئيلة للغاية تقرب من الصفر غالبا ومع ذلك فالمعدل الحقيقي للتفاعل يعتمد على سرعة تقابل الوجدتين مع بعضهما البعض. ومثل هذه التفاعلات توصف بأنها محكومة بالانتشار، وينطبق هذا التفاعل على خطوة الإيقاف في كثير من التفاعلات المتسلسلة على الاتحاد بين الجذور السريعة. [83,43]

III-3-3 مضادات الأكسدة :

تعرف مضادات الأكسدة بأنها مادة أو مركب له فعالية ضد الأضرار التأكسدية ، بإمكانها تثبيط أو تأخير الجذور الحرة. تستعمل الخلية العديد من الآليات المضادة للأكسدة ، حيث تختلف طبيعة هذه الأنظمة حسب توأجدها في الوسط داخل وخارج خلوي [70]، تشمل مركبات داخلية المصدر ذات طبيعة إنزيمية وبعض الجزيئات غير إنزيمية ، وأخرى ذات مصدر خارجي من بينها الفيتامينات المضادة للجذور الحرة، كفيتامين C، E [70]. والدور الأساسي لمضادات الأكسدة هو كسر سلسلة التفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة وتستطيع أن تعدل أو تصلح الإتلاف الذي تسببه الجذور الحرة. ويمكن تقسيم مضادات الأكسدة من حيث مصادرها إلى طبيعية والمصنعة [43].



III-3-3-1 تصنيف مضادات الأكسدة :

III-3-3-1-1 مضادات الأكسدة الطبيعية :

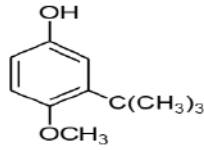
هي عبارة عن مركبات يكون مصدرها نباتي منها الخضروات، الفواكه، والحبوب، النباتات الطبية، كالأعشاب العطرية. التي تحتوي على المركبات الفينولية مثل الأحماض الفينولية، الفلافونيدات، الأنتوسيانيدات، التانينات، الكومارينات، الكاروتينويدات، و الفيتامينات، و معادن، أثبتت عدة دراسات أن الفاعلية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية راجع إلى خاصية الأكسدة والإرجاع والتي يمكن أن تلعب دورا هاما في امتصاص أو تعديل الجذور الحرة و تمنع الأكسجين الأحادي و الثلاثي وتفكك البروكسيدات. أو مصدر حيواني منها اللحوم الحمراء، ولحوم الدواجن والأسماك و البيض والتي تحتوي على الفيتامينات، (C, E, A)، الأحماض الدهنية -3أوميغا، و معادن نادرة مثل السيلينيوم، المنغنيز، مغنيسيو، الزنك [70].

III-3-3-2-1 مضادات الأكسدة الاصطناعية :

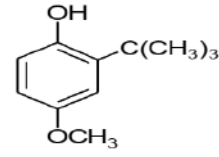
تعتبر عنصر أساسي يجب إضافته للأطعمة المعلبة لمنع فسادها منها :

▪ BHA (Buthylhydroxyanisole):

لايوجد هذا المركب في الطبيعة ولكن هو صنع بطريقة Butylation للمركب، paramethoxyphenol، ولBHA صيغتين، ولكليهما رائحة الفينول وينبان بشكل جيد في الدهون ومن أهم خواص هذين المركبين هو قدرتهما على المحافظة على قابليتهما كمواد مضادة للأكسدة في الغذاء أثناء التسخين كالقلي مثلا [70]. [70]



3-tert-butyl-4-methoxyphenol

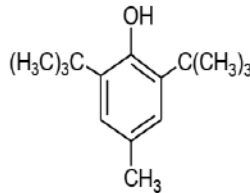


2-tert-butyl-4-methoxyphenol

الشكل (6.III): بنية BHA

▪ **BHT (Buthylhydroxytoluene) :**

يعتبر مركب BHT من مضادات الأكسدة التي تصنع تجاريا لاستعماله في المنتجات البترولية والمطاط واستعمل بعد ذلك في منتجات الأغذية ، المركب النقي ذو لون أبيض وهو مادة متبلورة عديم الرائحة، لا يذوب في الماء لكنه يذوب في المذيبات العضوية والدهون، صيغته كالتالي [] : [70]



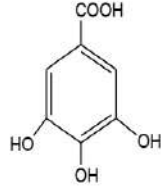
2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol (Butyl hydroxy toluène)

الشكل (7.III): بنية BHT

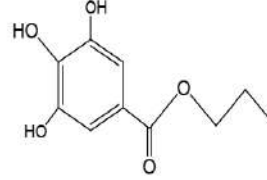
▪ **حمض الغاليك وبروبيل الغالات Propyle gallate et Ac.gallique :**

يذوب حمض الغاليك في الماء لكنه قليل الذوبان في الزيوت. ولأجل السماح باستعمال هذه المواد في الأغذية، يجب أن تكون ذات درجة سمية ضعيفة وأن تكون فعالة بتركيز منخفضة وفي أنواع عديدة من الدهون وأن لاتضيف نكهة أو رائحة أو لونا غير مرغوب فيه للمنتوج. أما بروبيل غالاتي فهو استر بشكل من التكتيف حمض الغاليك وبروبانول، وهذا المضادة للأكسدة يضاف إلى الأطعمة التي تحتوي على الزيوت والدهون لمنع الأكسدة، ويتم استخدامه تحت رقم E310،

وهو يحمي الأكسدة بواسطة بروكسيد الهيدروجين والأكسجين الجذور الحرة، وصيغته كالتالي [70] :



3,4,5-trihydroxybenzoic acid
(Ac.gallique)



Propyl 3,4,5-trihydroxybenzoate
(propyle gallate)

الشكل (8.III): بنية ل (PG) و (AG)

III-3-1-3 مضادات الأكسدة الإنزيمية (Enzymatic Antioxidants) وتشمل الإنزيمات:

(SOD) Super oxide Dismutase : يعد الإنزيم Super oxide Dismutase (SOD) من الإنزيمات المضادة للأكسدة فهي تؤدي دور وقائي حيوي عن طريق تسريع معدل تحويل O_2 إلى H_2O_2 بواسطة الأكسدة الدورية بمساعدة بعض المعادن مثل النحاس و المنغنيز وفقاً للتفاعل التالي: [52]



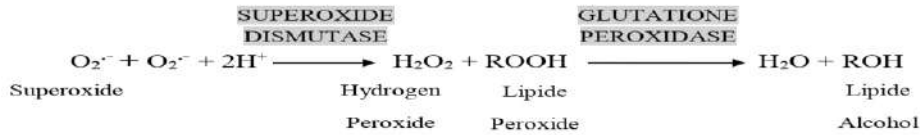
ويوجد هذا الإنزيم في النباتات والحيوانات وبتركيز عالي في المخ والكبد والقلب وكريات الدم الحمراء.

(CAT) Catalase : إنزيم الكاتالاز هو واحد من الإنزيمات المضادة للأكسدة، يلعب دوراً محورياً في حماية الخلايا من تأثير العديد من المواد السامة وذلك من خلال أكسبتها وبالتالي تثبيط فعاليتها، ومن هذه المواد، فوق أكسيد الهيدروجين H_2O_2 الذي يعد مضرًا لجميع مكونات الخلية

تقريباً، وبالتالي فإن إزالته السريعة ذات أهمية حيوية للكائنات الهوائية ، فهو بذلك يحفز تكوين الأكسجين والماء من جزيئات H_2O_2 [52].



Glytathion peroxydase (Gpx) : هو إنزيم يحتوي على السيلينيوم، و يعتبر الجلوتاثيون بيروكسيداز (GPx) أحد أهم مضادات الأكسدة التي تحفز إزالة سمية بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) و البيروكسيد العضوي في الكائنات الحية المستهلكة للأوكسجين، وذلك باستخدام الجلوتاثيون كمتبرع إلكترون [52].



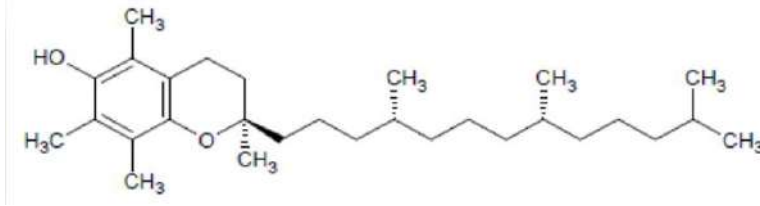
III-3-3-1-4 مضادات الأكسدة غير الإنزيمية (Non Enzymatic)

: (Antioxidants)

هي مواد يتم تخليقها من قبل الجسم مثل الألبومين والبيروبين والكوتاتايون ومنها ما نتحصل عليه من الغذاء فنجد : [52]

: فيتامين هـ (E) Vitamine

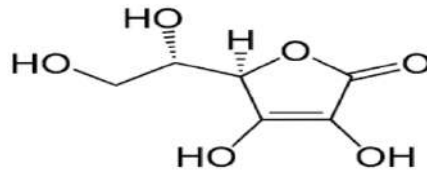
هو فيتامين قابل للذوبان في الدهون. متوفر في الزيوت النباتية مثل زيت الزيتون، زيت الذرة، زيت السمسم... وفي الدهون الحيوانية. ويعمل هذا الفيتامين أساساً على تحسين أداء الغدد التناسلية وإفرازاتها الهرمونية، لكنه في الوقت ذاته يحمي الأغشية الخلوية من أضرار الشوارد الحرة، كما يمنع أكسدة الدهون البروتينية المنخفضة الكثافة LDL وبالتالي ترسبها على جدران الأوعية الدموية مما يتسبب في تضيقها وتصلبها [52].



الشكل (9.III) : بنية الفيتامين هـ

الفيتامين ج (C) Vitamine (C) :

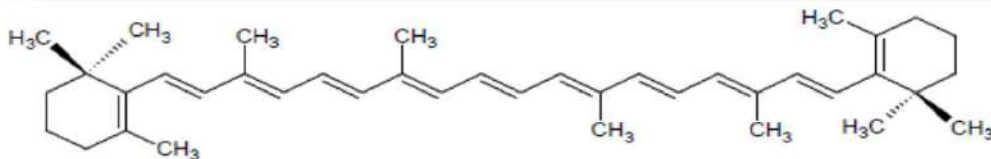
هو حمض الأسكوربيك، يتم الحصول عليه في المقام الأول من خلال استهلاك الفواكه والخضراوات والمكملات الغذائية... يقوم هذا الفيتامين بتعزيز قدرة جهاز المناعة لمواجهة الجراثيم والفيروسات، يسرع في التئام الجروح والحروق، يحسن حالة الأوعية الدموية ويزيد في كفاءة التنفس. يتواجد الفيتامين C في الجزء المائي من الخلية الحية وهو عنصر فاعل في تنظيف الشوارد الحرة وتخليص الجسم من مختلف أنواع السموم ومتبقيات الأدوية [52].



الشكل (10.III) : بنية حمض الأسكوربيك

بيتا كاروتين β- Carotene :

توجد الكاروتينات بشكل رئيس في النبات، وبالتحديد تلك التي تمتلك ألوانا صفراء، حمراء وبرتقالية، ويعد الجزر، المشمش، البطاطس الحلوة، الباباي والشمام من النباتات الغنية بالكاروتينات، ويوجد من الكاروتينات أكثر من 600 صنف وتقسم إلى قسمين هما: xanthophylls ويحتوي على الأوكسجين، والكاروتين الذي لا يحتوي على الأوكسجين، ولكنه يحتوي على هيدروكربونات نقية [52].



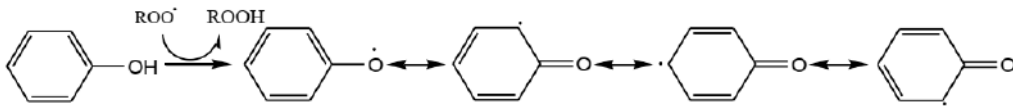
الشكل (11.III) : بنية β- Carotene

متعددات الفينول:

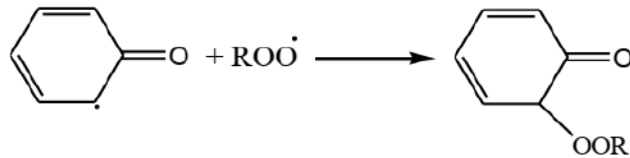
توجد الفينولات Phenols في جميع الأغذية تقريباً . وأشارت الدراسات الوبائية إلى أن الاستهلاك الطويل الأجل للأنظمة الغذائية الغنية بمتعددات الفينول النباتي يوفر بعض الحماية ضد تطور السرطان وأمراض القلب والأوعية الدموية والسكري وهشاشة العظام والأمراض العصبية [52].

III-3-4 آلية عمل مضادات الأكسدة :

تعمل مضادات الأكسدة الأولية على إعاقة وقطع تفاعلات الانتشار وبالتالي تبطئ عملية الأكسدة، وتعود لتتسارع عند نفاذه، ويعد متعددات الفينول من أهم مضادات الأكسدة وخاصة تلك التي تحمل زمري هيدروكسيل أو زمرة هيدروكسيل ومستبدل في المواقع أورثو أو بارا، وهي فعالة بالتراكيز المنخفضة وبالدم الحيوانية أكثر من النباتية . تتميز جذور المواد الدسمة بتفاعلية عالية وتدخل بسرعة في التفاعلات الانتشار من خلال سحب الهيدروجين أو بتفاعل مع الأكسجين. حيث تقوم المركبات الفينولية بدور المستقبلات للجذور الحرة المتشكلة في مرحلة البدء وذلك من خلال التنازل عن H• ليشكل جذر الفينوكسيل المستقر [43].



وتتفاعل مضادات الأكسدة الفينولية مع الهيدروبيروكسيدات كالتالي :



III-4 طرق تقدير الفعالية المضادة للأكسدة :

على مدى العقود الماضية اقترحت العديد من الطرائق التي تهدف إلى تحديد مستوى النشاط المضاد للأكسدة، منها ما كانت تعتمد على كواشف كيميائية أو تجهيزات ونظم آلية. فقد

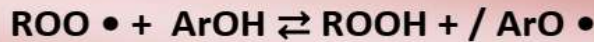
نشرت العديد من الدراسات التي تتناول هذا الميدان ،حيث أعتد في طرق كيميائية وفيزيائية لتحديد النشاط المضاد للأكسدة. هذه الطرائق مبنية على القياس المباشر أو الغير مباشر لسرعة التفاعل و مردوده. من الطرق التي تعتمد على القياسات أعلاه (FRAP) و (TEAC) و (ABTS) وغيرها ... ، في كل هذه الطرق وغيرها النشاط المضاد للأكسدة هو دالة للكثير من المتغيرات كدرجة الحرارة، وزمن التفاعل ،طبيعة المادة وتركيزها، الوسط وغيرها...وهي متغيرات كثيرة تجعل من الصعب إيجاد ترابط بين هته الطرق [84] .

III-5 الطرق الطيفية لتقدير مضادات الأكسدة: هناك عدة طرق في تقدير مضادات

الأكسدة نذكر منها:

III-5-1 الإختبارات المبنية على أساس إنتقال ذرة الهيدروجين: (HATHydrogen Atom Transfer)

يقيس هذا النوع من الاختبارات قدرة أحد مضادات الأكسدة على إزالة الجذور الحرة عن طريق إعطاء ذرة هيدروجين، حيث أن آليات عمل (HAT) (تثبت عمل مضادات الأكسدة عن طريق نقل ذرة H) (من الفينول ArOH) إلى جذور البيروكسيل وفق الآلية التالية:



حيث يتميز (ArO) بإستقراره الأكبر مقارنة (ROO[•])، كما يعمل على المشاركة في تفاعلات المتتالية للسلاسل الإضافية .ومن بعض الأمثلة النموذجية للاختبارات المستندة إلى ذرة الهيدروجين هي قدرة امتصاص الأكسجين الجذري (ORAC)، إجمالي معامل مقاومة الأكسدة إقتناص للجذور البيروكسيلية (TRAP) [85].

III-1-5-1-1 اختبار تقدير إجمالي محاصرة الجذور الحرة (TRAP) :TotalPeroxyl Radical Trapping Antioxidant Parameter assay

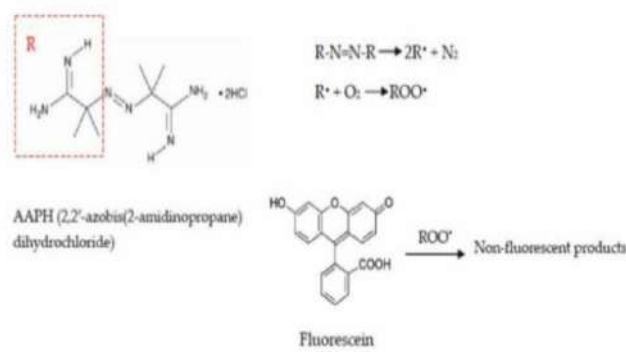
هو واحد من أقدم الطرق المستخدمة لقياس التقدير الكمي لمضادات الأكسدة في بلازما الدم أو الأمصال ، يقوم اختبار TRAP على الحماية التي توفرها مضادات الأكسدة ضد المركبات الجذرية المتولدة من التحليل الحراري لأحد مركبات الأزو على اضمحلال المركب الفلوري (المسبار المستهدف) حيث يعتمد مراقبة كل تلك المواد المتفاعلة عن طريق قياس الأكسجين المستهلك أثناء التفاعل على سطح قطب الأكسجين، يتضمن هذا اختبار في بدء عملية الأكسدة لتوليد جذور البروكسيل القابلة للذوبان في الماء و حساسة لجميع مضادات الأكسدة التي تكسر تفاعلات السلاسل الجذرية، حيث تسمح هذه الطريقة بالتحديد الكمي لمضادات الأكسدة على وجه التحديد تجاه ثلاث مؤكسدات وهي (جذور الهيدروكسيل، جذور البيروكسيل، وجذور البيروكسينترات). واحدة من كبر مشاكل اختبار TRAP الأصلي تكمن في الاستخدام من قطب الأكسجين ككاشف، لأنه قد لا يحافظ على استقراره خلال المدة الزمنية المطلوبة إذ جرت العديد من التحسينات في هذا الاختبار باستخدام مجموعة واسعة من العينات البادئة في التفاعل مثل (ABAP، Peroxidise، AAPH) و (فلورسين، ثنائي هيدروفلوريسين ثنائي أسيتات ، -DA DCFH و Liminoll) كمركبات ناهية للتفاعل [85].

III-1-5-2-1 اختبار قدرة امتصاص الأكسجين الجذري (ORAC) Oxygen

: Radical Absorption Capacity assay

تعد قدرة امتصاص جذور الأكسجين (ORAC) من الاختبارات الحديثة المثيرة التي يمكن الاستفادة منه لاختبار قوة مضادات الأكسدة للأغذية والمواد الكيميائية الأخر. هذا الاختبار يقيس قدرة كسر السلسلة الجذرية لمضادات الأكسدة من خلال مراقبة تثبيط الأكسدة الناتجة عن جذور البيروكسيل (ROO[·]) باعتبارها من أكثر الجذور التي تسود في أكسدة الدهون في الأنظمة البيولوجية وكذلك في المواد الغذائية في الظروف الفسيولوجية. حيث ترتبط حركية التحلل التأكسدي لجزيء الفلورسنت ارتباطا مباشرا بتفاعل تركيز الجذور الحرة في الوسط وذلك بعد إضافة مولد الجذور الحرة وفقا لهذا الاختبار، يتفاعل شق البيروكسيل المنبعث من المولد مع عينة

الفلورسنت التي تؤدي إلى فقدان التآلق المسجل على مقياس التآلق بمرور الزمن، تستخدم هذه الطريقة في وجود مضادات الأكسدة وغيابها. كمركب مرجعي، يتم استخدام أحد مضادات الأكسدة القياسية، عادةً trolox، ويتم وصف قيم ORAC لمضادات الأكسدة التي تم تقييمها على أنها مكافئة لـ trolox. الميزة الرئيسية لهذه الطريقة أن لها القدرة على تقييم حركية المركبات الفعالة المضادة للأكسدة إذ تسمح على وجه الخصوص باكتشاف زمن عمل هذه الأخيرة، حيث تعتبر هذه النقطة مثيرة للاهتمام بشكل خاص لدراسة المستخلصات النباتية، الأغذية أو المكملات الغذائية التي تحتوي على أكثر من مضادات أكسدة سريعة الاستجابة أو بطيئة الاستجابة والتي يصعب التنبؤ بها بسبب تأثيراتها المشتركة كما أنها طريقة حساسة جدا ومتكيفة مع مركبات المحبة للماء والدهون ولهذه الطريقة سلبيات في أنها تقيس نشاط المضاد للأكسدة لجذور البيروكسيل فقط وتتجاهل الجذور الفسيولوجية الأخرى [85].

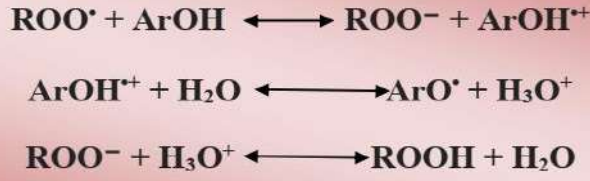


الشكل (12.III): آلية عمل إختبار ORAC

III-5-2 الاختبارات المبنية على أساس الانتقال الإلكتروني الأحادي

: Single Electron Transfer (SET)

والتي تكشف عن قدرة مضادات الأكسدة على انتقال الإلكترون واحد من أجل تخفيض الأيونات المعدنية ومجموعات الكربون يل والجذور الحرة، حيث يمكن تلخيص آليات مجموعة عمل مضادات الأكسدة لهذا النوع بالتفاعلات التالية:



يعتمد التفاعل النسبي في طرق الانتقال الإلكتروني الأحادي بشكل أساسي على إمكانية نزع البروتون والتأين للمجموعة الوظيفية التفاعلية لذلك تعتمد تفاعلات الانتقال الإلكتروني الأحادي على الرقم الهيدروجيني ومن الأمثلة النموذجية للاختبارات المستندة إليها [85].

III-5-2-1 اختبارات تقليل مضادات الأكسدة المحتملة :

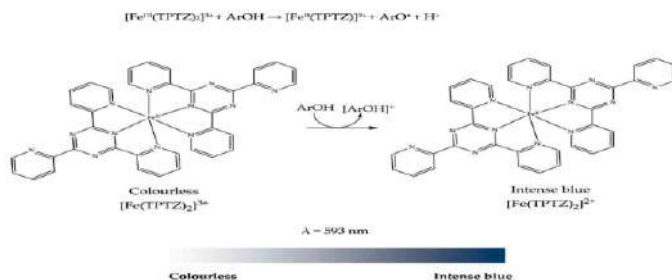
من المعلوم أنه يمكن لمضادات الأكسدة أن تثبت الجذور عن طريق إعطاء الإلكترونات، حيث يتضمن هذا النوع من اختبارات مضادات الأكسدة إمكانية الاختزال للمعادن الانتقالية، وهي الحديد (Fe) والنحاس (Cu). فمن المعلوم أن هناك عدم يقين فيما يتعلق بدور مضادات الأكسدة تجاه الجذور الحرة في وجود أيونات المعادن، وبالتحديد (Cu²⁺) و (Fe²⁺). باعتبار أن دور مضادات الأكسدة غير مؤكد في وجود هذه الأيونات المعدنية لأنه لا يزال من غير الواضح ما إذا كان مضادات الأكسدة سوف تثبط الجذور الحرة أو تتخلص من أيونات المعادن، بالإضافة إلى ذلك قد يكون من الصعب العمل مع الجذور الملونة مشكلة، حيث يصعب تكوينها، إضافة إلى صعوبة الحفاظ على استقرارها وكتفسير أدق لا يمكن تقييم قدرة مضادات الأكسدة لعينة بيولوجية باختبار واحدة، حيث لا يتم أخذ العديد من العوامل في الاعتبار [85].

III-5-2-1-1 القدرة الإرجاعية للحديدك (FRAP) Ferric Ion

Antioxidant Power

تم اقتراح هذه التجربة من قبل (Benzie and strain) عام 1996، والتي تم تطبيقها بشكل واسع في علوم التغذية حيث استخدمت لاكتشاف امتصاص مضادات الأكسدة من الأغذية خاصة الخاضعة لتأثير المعالجة و ممارسات الطهي التي تؤثر على مستو مضادات الأكسدة القابلة للتغيير كما استخدمت أيضا كجزء من نظام مراقبة الجودة في الأغذية الزراعية لتقييم اختلاف التأثير الجيني ظروف النمو و التخزين على إجمالي مضادات الأكسدة . تعتمد طريقة FRAP

على إرجاع المعقد الملحي للحديد، (Complex-Fe⁺³)، مكونا معقدا حديديا ذي اللون الأزرق القاتم (Complex-Fe⁺²) عند PH حمضية في وجود مضادات الأكسدة و التي يتم تحديد نشاطها كزيادة في الامتصاصية عند 593nm [85].

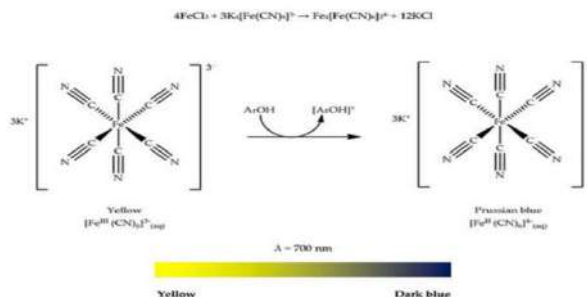


الشكل (13.III): آلية تشكل المعقد (TPTZ- Fe⁺³/ Fe⁺²) والتفاعل مع مضادات الأكسدة

1-1-1-2-5-III اختبار تقليل أيونات الحديد (فيرسيانيد البوتاسيوم):

Potassium Ferricyanide Assay

تم تحديده في سنة 1986 من طرف Oyaizu، كمؤشر يبين فاعلية الالكترونات المانحة التي هي مهمة في آلية تفاعل مضادات الأكسدة. ويعتمد هذا الاختبار على مدى قدرة مضادات الأكسدة على منح الكنونات باستخدام طريقة اختزال مركب فريسيانيد البوتاسيوم و هذا بإرجاع الحديد الثلاثي إلى الحديد الثنائي. يمكن تحديد كمية معقد الحديد الثنائي بقياس طول موجة تشكل اللون الأزرق الداكن عند 700nm [86].

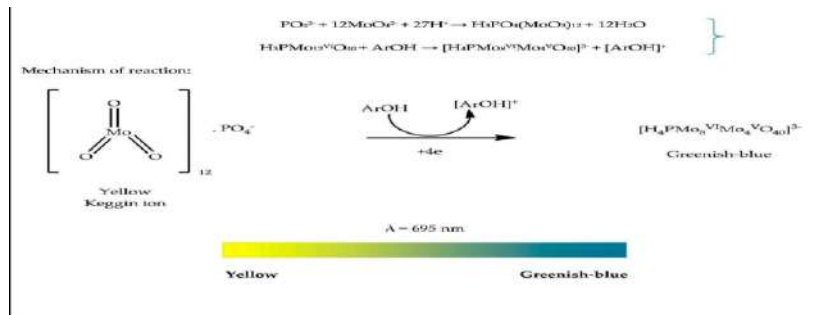


الشكل (14.III): آلية التفاعل لاختبار فريسيانيد البوتاسيوم

Phosphomolybdenum Assay (III-5-2-1-1-2-2-1-1-2-5-III) اختبار الفوسفوموليبدنيوم

(PM):

المبدأ الأساسي لتقييم القدرة المضادة للأوكسدة من خلال اختبار molybden يتضمن إرجاع Mo (VI) إلى Mo (V) بواسطة المستخلصات النباتية التي تحتوي على مركبات المضادة للأوكسدة، هذا الإرجاع يتجسد بتكوين مركب محضر من (phosphate / Mo (V)) (في وسط ذو pH حمضي. نقيس التناقص في درجة لون المعقد Mo(VI) في وجود مضادات الأوكسدة. على خلاف بقية الاختبارات هذا الاختبار لا يمكننا فقط من معرفة الفعالية المضادة للأوكسدة للفينولات ولأن يمكننا أيضا من معرفة الفعالية المضادة للأوكسدة لمركبات أخرى كالفيتامينات . تعد نقطة نهاية التفاعل التي تبلغ 90 دقيقة كافية للتكوين الكامل للمركب فوسفوموليبدنيوم ذي اللون الأزرق المخضر الذي ينتج انطلاقا من موليبدات الأمونيوم في ضل الظروف الحمضية إلى أكسيد يعرف باسم (Keggin ion). $[H_3 PO_4 (MoO_3)_{12}]$ ، والذي يتم إرجاع هذا الأخير في وجود مضادات الأوكسدة إلى وفق آلية التفاعل التالية $[H_4 PMo_8 VI Mo_4 V O_{40}]^{-3}$ عند أقصى إمتصاص 695 nm [85،43].



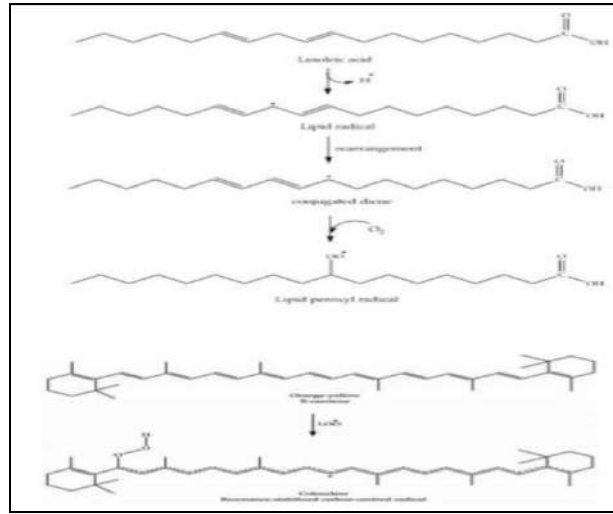
الشكل (III.15): آلية التفاعل لاختبار الفوسفوموليبدنيوم

Carotene : (β _carotene) اختبار بيتا-كاروتين III-5-2-1-1-2-5-III

β -Bleaching Assay

يعد اختبار β -carotene من أقدم الاختبارات الشائعة السريعة و البسيطة لفحص مضادات الأوكسدة الذي يعتبر مختلفا تماما مقارنة باختبارات مضادات الأوكسدة الأخر من الناحية المفاهيمية، حيث يقيس هذا الاختبار معدل التنشيط التأكسدي للبيتا-كاروتين (ركيزة مؤكسدة محبة

لدهون (C₄₀H₅₆) (أي إزالة اللون البرتقالي أو الأصفر الداكن أو الأصفر) بواسطة الجذور الحرة المتولدة عن طريق الأكسدة اللحضية للأحماض الدهنية الموجودة في مستحلب مائي لحمض اللينوليكو (هو عبارة عن حمض دهني غير مشبع ذو صيغة كيميائية C₁₈H₃₂O₂)، وكتفسير آخر تؤدي أكسدة حمض اللينوليك بواسطة الماء المقطر المؤكسد إلى تكوين الدهون أو دهون جذور البيروكسيل، هذه الأخيرة بمجرد تكوينها تؤدي إلى مهاجمة بيتا كار وتين مما يتسبب في إزالة اللون و الذي يرجع إلى كسر الرابطة عن طريق تفاعل الجذور الناتجة مع الرابطة C = C. بالمقابل يؤدي حضور مضادات الأكسدة إلى إبطاء عملية (إزالة اللون) والتي تعمل كدور المنافسة في إخماد الجذور الحرة وبالتالي إبطاء إزالة اللون ل بيتا كار وتين كما هو موضح في شكل. حيث يعتمد التقدير الكمي لمضادات الأكسدة على المعدلات المختلفة التي يتحلل فيها بيتا كار وتين و الذي يتم فيها قياس معدل استهلاك مضادات الأكسدة عن طريق قياس الامتصاصية ما بين 490-470nm[85].



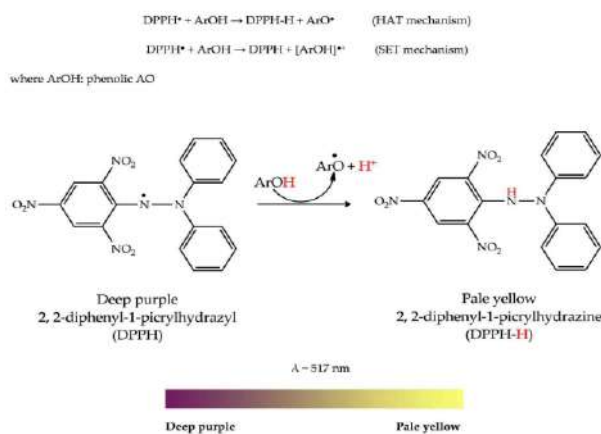
الشكل (16.III): آلية التفاعل بيتا-كاروتين β-carotène

III-5-3-1 اختبار كسح الجذور الحرة Radical Scavenging Capacity

DPPH : DPPH

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

هذا الاختبار يعتمد على تثبيط الجذر (DPPH[•] ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل diphenyl picrylhydrazyl) المستقر نسبياً وذو اللون البنفسجي حيث يتفاعل مع جزيئة مضادة للجذور الحرة ويتحول إلى (DPPH-H ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل-1-diphenyl-2,2picrylhdrazine) يتبع ذلك نقصان الامتصاصية عند طول الموجة الأعظمية بين $\lambda_{max} = 517-515\text{nm}$ المذيب المستعمل هنا الميثانول أو الإيثانول. ارجاع جذر (DPPH[•] ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل diphenyl picrylhydrazyl) واكتسابه بروتون يؤدي إلى تشكل (DPPH-H ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل-1-diphenyl-2,2picrylhdrazine) [84].



الشكل (17.III): آلية كسح الجذور الحرة DPPH

III-5-3-2 اختبار الجذر الكاتيوني ABTS المعبر عنه بالترولوكس

المكافئ: (TEAC)

Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) assay

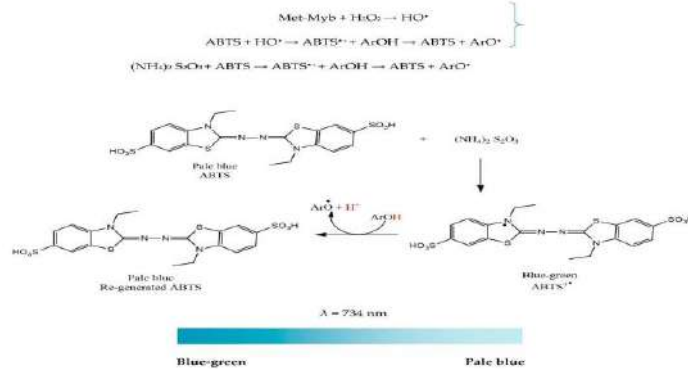
or (ABTS.+):

يتم تشكيل الكاتيون الجذري (ABTS^{•+}) الذي يمتص عند 743nm (إعطاء لون أخضر مزرق) لفقدان الإلكترون من ذرة النيتروجين لـ:

(ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid

وجود Trolox (أو مضادات أخرى للأكسدة قادرة على منح الهيدروجين)، ذرة النيتروجين تخدم ذرة الهيدروجين، مما يعمل على اختفاء اللون في المحلول. يمكن أكسدة ABTS بواسطة فوق سولفات

البوتاسيوم (potassium persulphate) أو ثاني أكسيد المنغنيز، لتشكل الكاتيون الجذر ($ABTS^{+}$) الذي يمتص عند 743nm التي تم رصدها في وجود Trolox، الذي تم اختياره كمرجع قياسي [87].



الشكل (18.III): آلية التفاعل الجذر الكاتيوني ATBS

III-5-4 إختبارات وأليات نشاط مضادات الأكسدة في الجسم:

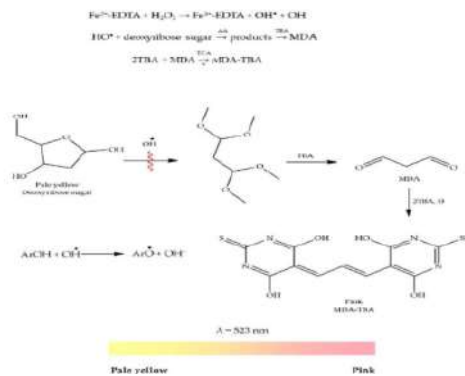
وهي الاختبارات التي تدرس ميكانيكية مضادات الأكسدة عند دخولها العضوية و بالتحديد داخل الخلية من امتصاص و إستقلاب و كيفية تفاعلاتها [85].

III-5-4-1 اختبار حمض ثيوبرباريك (TBA): Thiobarbituric Acid

Assay Reactive Species (TBARS)

تعد جذور الهيدروكسيل من بين أكثر الأنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) والتي يمكنها أن تؤدي إلى إتلاف أغشية الخلايا و تدمير مجموعات السكر و تسلسل قواعد الحمض النووي في أنضمتا البيولوجية بتفاعلها مع شقوق الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة التي يمكن أن تتلف غشاء الخلية. اختبار الأنواع التفاعلية لحمض الثيوباربيتوريك (TBARS)، أين تم إستخدامه في البداية لتحديد معدل التفاعل بين جذور الهيدروكسيل و المركبات ذات الأهمية العلاجية . إذ تحقق هؤلاء أن الإمتصاص الذي تم الحصول عليه من تفاعل دهن الحليب المؤكسد مع TBA كان مشابه لذلك الذي تم الحصول عليه من تفاعل MDA و الكاشف TBA. عرف هذا الإختبار والذي كان يشار إليه سابقاً أنه مقياس ل (MDA) إهتماماً واسع النطاق بتوفير معلومات قيمة عن الضرر الناجم أثناء الأكسدة التلقائية للجذور الحرة و كذلك بيروكسيد الأحماض الدهنية للأطعمة الناتج

من المصادر الحيوانية و النباتية، بعدها أصبح TBA يتفاعل مع عدد من المواد المتفاعلة منها ().
 Alkanal ,Alkadional حيث أصبح يرمزله(TBARS). يتمثل هذا الإختبار والتي يشار إليه
 باختبار المواد التفاعلية (TBARS) بتفاعله العام لتشكيل قاعدة شيف بإتحاد جزيئتين من TBA مع
 MDA بعد تشكلها مسبقا لتكوين مركب مكثف أحمر عند إمتصاص 535nm وفق التفاعل التالي
 .[85]



الشكل (19.III): آلية التفاعل حمض ثيوبرياريك TBA

الفصل الرابع تطبيقات UV-Vis

في التقدير الكمي وتشخيص

المركبات الفعالة وفعاليتها

IV تطبيقات uv-vis في تقدير مركبات الفعالة :

* عنوان الدراسة : فصل نواتج الايض الثانوي الفلافوني لنبات *Moltkia Ciliata* وتقييم الفعالية المضادة للأكسدة .

تم تقدير الكمي في هذه العمل لكمية الفينولات والفلافونويدات وكذا التقدير الكمي للفلافانول ، مع استعمال نوعين من المذيب ماء مقطر ، والميثانول ، من خلال أربع مستخلصات عضوية هي كالتالي :

مستخلص ١: إيثر البترول البيتانول(ميثانول /ماء) .

مستخلص ٢: الكلورفورم، اسيتاتالايثيل(ميثانول /ماء) .

مستخلص ٣: البيتانول (اسيتون /ماء) .

مستخلص ٤: اسيتاتالايثيل(استون /ماء) .

IV-1-1 التقدير الكمي للفينولات :

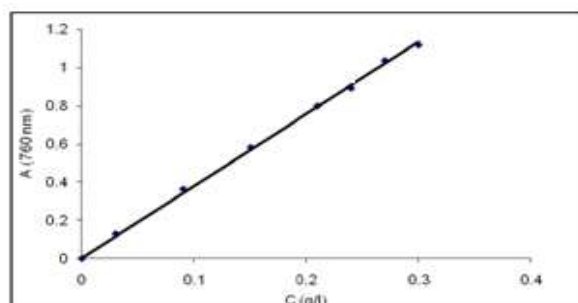
تم تقدير كمية الفينولات حسب بطريقة (Singleton-Rossi,1965) بمساعدة كاشف الفولين (*folin-cicalteai*) يتكون من حمض فوسفوتتغستينيك ($H_3PW_{12}O_{40}$) وحمض فوسفوموليبيديك ($H_3PMO_{12}O_{40}$) الذي يرجع بواسطة الفينولات إلى أكاسيد التتغستينيك (W_8O_2) والمولبدين (Mo_8O_3) ذات اللون الأزرق.

يتم تقدير المركبات الفينولية كميًا بواسطة جهاز طيف الأشعة فوق بنفسجية والمرئية (UV-vis) باستعمال حمض الغاليك كفينول مرجعي عند طول الموجي $\lambda_{max}=760nm$ [87، 88] .

المنحنى القياسي لحمض الغاليك:

عمليًا يتم بتحضير محاليل ممددة لحمض الغاليك ذو تراكيز مختلفة محصورة بين $0.3-0.03$ mg/ml، في أنبوب اختبار أخذ $0.1ml$ من التركيز المحضر ثم نضيف $0.5ml$ من كاشف الفولين ممدد 10مرات ثم نضيف $1.5ml$ من محلول كربونات الصوديوم Na_2CO_3 بتركيز % 20، في الأخير نضيف الماء المقطر حتى $10ml$ ثم يرج المزيج قليلاً وبعدها يترك في

الظلام لمدة ساعتين. نحسب كثافة الضوئية بجهاز الطيف المرئي عند طول موجي $\lambda=760$ nm. نتحصل على المنحنى القياسي لحمض الغاليك برسم تغيرات الامتصاصية الضوئية بدلالة التركيز $A=f(c)$.



الشكل (1.IV): المنحنى القياسي لحمض الغاليك

يتم تقدير المركبات الفينولية في المستخلصات المدروسة، حيث تخفف إلى التراكيز مختلفة ثم تعامل هذه الأخيرة بنفس معاملة حمض الغاليك.

2-1-1-IV مناقشة النتائج :

من خلال نتائج الامتصاص للمحاليل المحضرة وبحسابات رياضية بالإستعانة بمعادلة المنحنى القياسي للغاليك تم تقدير كمية الفينولات للمستخلصات المدروسة ب (mgEG/g). كما هو موضح في الجدول التالي :

الجدول (1-IV): نتائج تقدير الكمي الفينولات

العينات	مستخلص 1	مستخلص 2	مستخلص 3	مستخلص 4
التراكيز (mg/ml)	0.8	0.8	0.8	0.8
الامتصاصية (nm)	0.72	1.03	0.91	1.01
الكمية mgEG /g	76.56	110.95	97.64	108.73

حيث بلغت أعلى قيمة 110.95 mgEG/g وهي تمثل المستخلص 2، وأدنى قيمة 56.76 mgEG/g وتمثل المستخلص 1

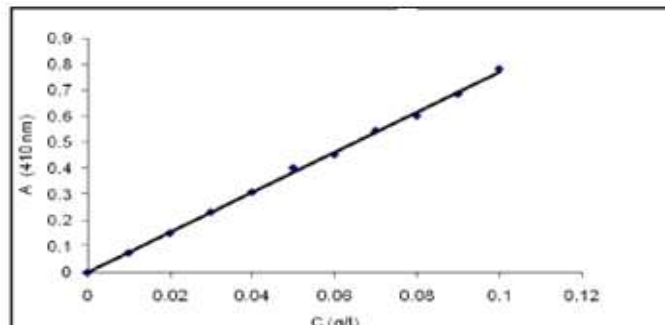
2-1-IV تقدير كمية الفلافونيدات:

يتم تحديد كمية الفلافونيدات وفق طريقة اللونية لكلوريد الألمنيوم التي وصفها *chang et al* واعتمدنا على طريقة *worisky and salation*، ويمكن تقديرها كميًا عن طريق التفاعل مع كلوريد الألمنيوم ALCL_3 وتكوين معقد ذو لون الأصفر مع الفلافونيدات. تقدر المركبات الفلافونيدية كميًا بواسطة جهاز مطيافية الضوئية عند طول موجي $\lambda = 420 \text{ nm}$ حيث نستعمل الروتين كفلافونويد مرجعي، ولأجل التقدير الكمي للمركبات الفلافونيدية نستعمل المنحنى القياسي للروتين. [89،87].

المنحنى القياسي للروتين:

يتم تحضير عدة تراكيز من محلول الروتين محصورة ما بين $(0.02-0.1) \text{ mg/ml}$ ، حيث نأخذ من كل تركيز 1.5 ml نضيف له 1.5 ml من محلول ثلاثي كلور الألمنيوم ALCL_3 ذو تركيز 2% ثم يرج المزيج جيدًا و نتركه في درجة حرارة المخبر المدة 15 min في الظلام، وبعدها نقوم بقراءة الامتصاصية عند طول موجي $\lambda = 420 \text{ nm}$.

ثم نتحصل على المنحنى القياسي للروتين، برسم قيم الإمتصاصية الضوئية بدلالة التركيز $A=f(c)$.



الشكل (2.IV): المنحنى القياسي للروتين

يتم تقدير المركبات الفلافونيدات في المستخلصات المدروسة، وذلك بعامله المحاليل هذه الأخيرة بنفس معاملة محلول الروتين.

IV-1-2-1 مناقشة النتائج :

من خلال نتائج الأمتصاص للمحاليل المحضرة وبحسابات رياضية بالإستعانة بمعادلة المنحنى القياسي للروتين تم تقدير كمية الفلافونيدات ب mgER/g كما هو موضح في الجدول التالي :

الجدول(2-IV): نتائج تقدير الكمي الفلافونيدات

العينات	مستخلص 1	مستخلص 2	مستخلص 3	مستخلص 4
التراكيز (mg/ml)	2	0.8	0.8	0.8
الامتصاصية (nm)	0.44	0.67	0.99	1.20
الكمية mgER /g	28.56	41.66	60.44	72.76

من خلال الجدول(2-IV) نلاحظ انه بلغت أعلى قيمة عند المستخلص 4 ب 76.

72mgER/g، وأدنى قيمة بالنسبة للمستخلص 1 ب 28.56 mgER/g.

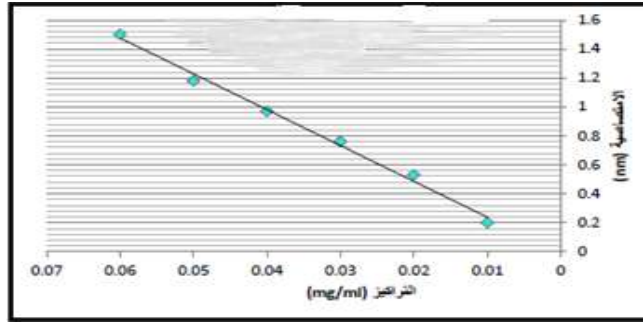
IV-1-3-1 تقدير الكمي للفلافانول :

يتم تقدير الفلافانول بطريقة *kunaran et karunakaran* بواسطة جهاز المطيافية

الضوئية عند طول موجي $\lambda=440 \text{ nm}$ وقد اختير الكرسيتين كفلافانول مرجعي. [87،90]

المنحنى القياسي للكرستين :

عمليا يتم تحضير المحاليل ممددة من حمض الكرسيتين ذو التراكيز تتراوح ما بين $(0.1-0.02)\text{mg/ml}$ ، نأخذ من كل تركيز 2ml ونضيف له 2ml من محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم (ALCL3) و3ml نضيف من خلات الصوديوم $(50) \text{ mg/ml}$ نتركة في درجة حرارة المخبر لمدة ساعتين. وبعدها نقوم بقراءة الامتصاصية عند طول موجي $\lambda = 440 \text{ nm}$. وثم نتحصل على المنحنى القياسي للكرستين، برسم تغيرات الامتصاصية الضوئية بدلالة التركيز $A=f(c)$.



الشكل (3.IV): المنحنى القياسي للكركستين

يتم تقدير المركبات الفلافانول في المستخلصات الدروسة، وذلك بعامله هذه الأخيرة بنفس المعاملة حمض الكركستين.

1-3-1-IV مناقشة النتائج :

من خلال نتائج الامتصاصية للمحاليل المحضرة للمستخلصات وبحسابات رياضية وبالإستعانة بمعادلة المنحنى القياسي للكركستين تم تسجيل النتائج المتعلقة بتقدير كمية الفلافونيدات بـ mg EQ/g كما هو موضح في الجدول:

الجدول (3-IV): نتائج تقدير الكمي للفلافانول

العينات	مستخلص 1	مستخلص 2	مستخلص 3	مستخلص 4
التركيز (mg/ml)	2	0.8	0.8	0.8
الامتصاصية (nm)	0.06	0.17	0.10	0.50
الكمية mgEQ /g	1.02	8.11	4.64	24.78

حيث سجلنا أعلى قيمة للمستخلص 4 بـ 28.56 mg EQ/g ، وأدنى قيمة للمستخلص 1 بـ 1.02 mg EQ/g . من خلال المقارنة بين المستخلصات نجد أن القيم المتحصل عليها من مستخلص (استون /ماء) تحوي على أكبر كميات من الفينولات والفلافونيدات والفلافانول. يمكن تفسير ذلك الاختلاف يرجع لتغير تركيز المركبات الحيوية بين المستخلصات وكذا نوع المذيب المستعمل في الاستخلاص.

IV-1-4 التقدير الكمي الكربوهيدرات :

* عنوان الدراسة : المساهمة في دراسة التغيرات الكيميائية لمحتوى ثمار نخيل التمر *Phoenixdactylifera l* (دقلة نور ،دقلة بيضاء)خلال مراحل تشكله .

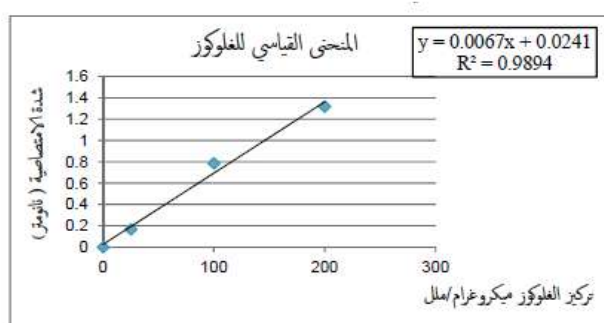
أجريت الدراسة على ثمار نخيل التمرا Phoenix dactylifera لصنفين دقلة نور ،دقلة البيضاء خلال مراحل تشكله (الحبابوك ، الجمري ،الخلال الملون ، الرطب ،التمر) . تم التقدير الكمي لكمية الكربوهيدرات في هذين الصنفين خلال مراحل تشكله .

تم تقدير كمية الكربوهيدرات وفقا لطريقة *Dubois et al (1956)* بواسطة جهاز مطيافية عند طول موجي $\lambda = 490 \text{ nm}$. و ذلك بإتباع الخطوات التالية مع إجراء بعض التعديلات [91]:

منحنى القياسي للغلوكوز :

يتم تحضير عدة تراكيز من محلول الغلوكوز تتراوح ما بين $(0,200)\text{mg/ml}$ ، حيث نأخذ 1مل من كل محلول ثم نضيف له 5ملل من كاشف فينول ،ثم نضيف(5%) حمض الكريت المركز و نرج أنابيب جيدا ونتركه في الظلام لمدة 15 دقيقة. نحسب كثافة الضوئية (الامتصاصية) عند طول موجي $\lambda = 490 \text{ nm}$.

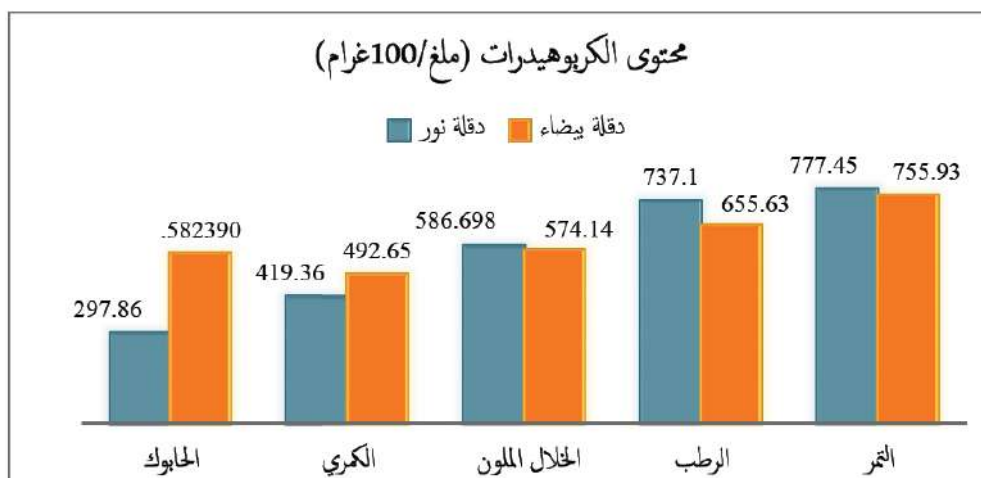
نتحصل على منحنى القياسي للغلوكوز ،برسم قيم الامتصاصية الضوئية بدلالة تركيز $A=f(C)$



الشكل (4.IV): المنحنى القياسي للغلوكوز

حيث يتم التقدير المركبات الكربوهيدرات في المستخلصات المتحصل عليها،نقوم معالجة المستخلصات بنفس معالجة المحلول المرجعي الغلوكوز .

1-4-1-IV مناقشة النتائج :



الشكل (5.IV): محتوى الكربوهيدرات ثمار نخيل دقلة نور دقلة بيضاء خلال مرحلة نضج (ملغ / 100غرام)

من خلال النتائج الموضحة في الشكل (5.IV) نلاحظ أن عينات ثمار نخيل التمر (دقلة نور، دقلة بيضاء) غنية بالكربوهيدرات مع تفوق لصنف دقلة نور على دقلة البيضاء، حيث كانت أعلى قيمة في مرحلة التمر (دقلة نور 77.75 %) و(دقلة بيضاء 75.59 %) وأدنى قيمة كانت في مرحلة الحبابوك (دقلة نور 29.78 %) و(دقلة بيضاء 58.23 %) [91].

5-1-IV التقدير الكمي للمركبات التانينية TTC:

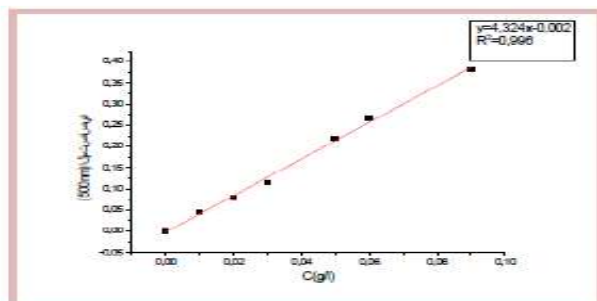
* عنوان الدراسة : الدراسة الفيتو كيميائية لبعض أصناف التمور من منطقة وادي سوف .

تم دراسة في هذه المذكرة صنفين من التمور المحلية الشارع. في منطقة وادي سوف ، هما حمرواية وتقزوين هما A و B على التوالي . تم تقدير كمية التانينات الكلية TTC في العينات A و B في المستخلصات التالية : الكلورفورم ، الاسيتات، البوتانول ، الطور المائي، الطور الكحولي.

المنحنى القياسي لحمض الكاتشين:

وعمليا يتم تحضير المحاليل لمدة لحمض الكاتشين ذو التراكيز مختلفة تتراوح ما بين (0.1-0.01)g/l، في أنابيب اختبار زجاجية نأخذ 0.3ml من محلول الكاتشين ونضيف له 2ml من المحلول الإيثانولي للفانيلين (4%) و0.26ml من HCl المركز ،وبعدها نترك المحلول في

الظلام لمدة 15min. ونحسب كثافة الضوءية (الامتصاصية) بجهاز الطيف المرئي عند طول موجة $\lambda_{max} = 500 \text{ nm}$. وذلك نتحصل على منحنى القياسي للكاشين، برسم تغيرات الامتصاصية الضوءية بدلالة التراكيز $A=f(c)$ [92]



الشكل (6.IV): المنحنى القياسي للكاشين

1-5-1-IV النتائج والمناقشة :

من خلال المنحنى القياسي للكاشين وتطبيق العلاقة نستنتج القيم المدونة في الجدول التالي :

الجدول(4-IV): كمية TTC للمستخلصات

المنحرف	المنحرف	المنحرف
تفزيون	حمراية	المنحرف
0.536±0.315	0.332±0.12	الكلورفورم
1.812±0.268	0.508±388	الأسيتات
1.895±0.382	2.497±0.123	البوتانول
13.57±0.430	8.315±1.56	الطور الكحولي
5.993±1.76	6.85±1.45	الطور المائي

من خلال نتائج الجدول(5-IV) نلاحظ أن كمية TTC بلغت أعلى قيمة في مستخلص الطور الكحولي صنف B بمقدار 13.57 mg وأدنى قيمة لمستخلص الكلورفورم لنفس الصنف بمقدار 0.332mg [92].

1-IV-6 التقدير الكمي البروتينات:

*عنوان الدراسة : دراسة الجزء الليبيدي والفينولي لنوى بعض أصناف التمور المحلية .

تم دراسة 12 صنفا من التمور المزروعة في منطقة ورقلة (غرس ، حمراية ، ياجميل ، دقلة نور ، بيض الحمام ، علي أورشاد ، تمصريت ، تقزوين ، تكرموس ، كسبة ، دقلة بيضاء ، بنت قبالة) .
تم التقدير الكمي لكمية السترويلات والمركبات الفينولية مع التوكوفيرولات (Eفيتامين) .

وكذا التقدير الكمي للبروتينات من مسحوق النوى منزوع الدهن في مستخلصين ملحي ومائة ، بطريقتين : الطريقة الأولى Biuret ، الطريقة الثانية Lowry .

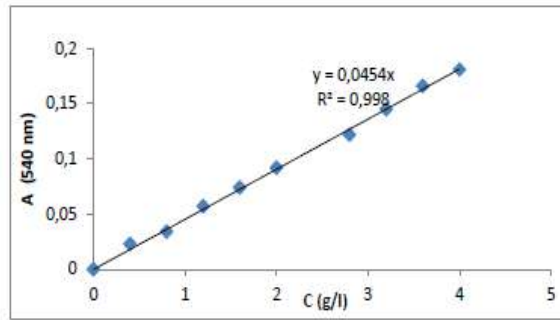
1-IV-1-6-1 تقدير محتوى البروتينات بطريقة Biuret

المنحنى القياسي للألبومين :

تم تقدير الكمي للبروتينات وذلك بتطبيق طريقة اللونية (Gornall et al 1949)

نقوم بتحضير محاليل الألبومين تراكيزها تتراوح بين 0.4 إلى 4 g/l.

نأخذ 1 مل من محاليل الألبومين المحضرة ونضيف لها 5 مل من محلول Gomall، وتترك لمدة 30 دقيقة في مكان بعيد من الضوء. تحسب الكثافة الضوئية (الامتصاصية) بجهاز الطيف المرئي عند طول موجي $\lambda=540 \text{ nm}$ [84].



الشكل (7.IV): المنحنى القياسي للألبومين

1-IV-2-6-1 التقدير الكمي للبروتينات بطريقة lowry:

تم التقدير الكمي للبروتينات وذلك الطريقة اللونية (Lowry et al, 1951)

في هذا العمل نسقوم باستخدام جهاز *Spectroscopie UVvisible* حيث تعتبر بروتين الألبومين كبروتين مرجعي عند طول موجي $\lambda=760 \text{ nm}$ ، ومن أجل التقدير الكمي للمركبات البروتينية نتبع الخطوات التالية: [84]

المنحنى القياسي لبروتين الألبومين:

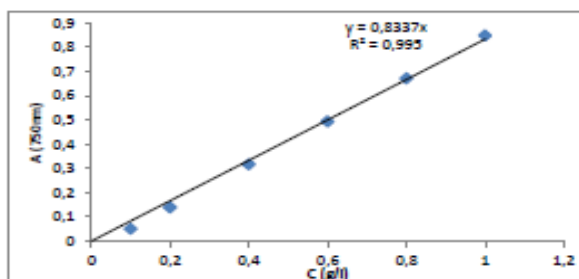
نقوم بتحضير محاليل من بروتين الألبومين تراكيزها تتراوح بين 0.1 إلى 1 غ/ل. ونستخدم ككاشف المحاليل التالية :

- المحلول A: نقوم بإذابة 2 غ من كربونات الصوديوم Na_2CO_3 في 100 مل من هيدروكسيد الصوديوم NaOH تركيزها 0.1N .
- المحلول B: sodium citrate 1% . $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.5% .
- المحلول C: 1 مل من محلول folin ciocltu مع 1 مل ممدد مرتين.
- المحلول D: 50:1 مل من محلول A مع 1 مل من المحلول B .

نأخذ $200 \mu\text{l}$ من محاليل الألبومين المحضرة ونضعها في أنبوب إختبار ونضيف لها من 2 مل من محلول D ونتركها لمدة 15 دقيقة ،بعدها نضيف 0.2 مل من المحلول C ،ونترك لمدة 30 دقيقة في مكان بعيد عن ضوء .

نحسب الكثافة الضوئية (الامتصاصية) بجهاز الطيف المرئي عند طول موجة 760 nm =

$A=f(c)$ ،نرسم المنحنى القياسي لبروتين الألبومين والكثافة الضوئية بدلالة التركيز [84]



الشكل (8.IV): المنحنى القياسي لبروتين الألبومين

3-6-1-IV النتائج والمناقشة :

من خلال النتائج المتحصل عليها والمدونة في **الجدول (5-IV)** يتضح أن هناك تباين بسيط في المحتوى البروتيني بين الطريقتين فقد تراوح المحتوى البروتيني حسب طريقة *Brnret* بين **6.40_14.78%** بالنسبة للمستخلص المائي حيث كانت أعلى قيمة لعينة علي اوراشد وأدناها لعينة تمصريت ، وبين **2.31_7.80 %** بالنسبة للمستخلص الملحي ، حيث كانت اعلى قيمة لعينة قبالي وأدناها لعينة تكرمست.

بينما تراوح المحتوى البروتيني حسب **Louryctal 1951** بين **8.43_11.08%** حيث سجلنا أعلى قيمة لعينة دقلة بيضاء وأدناها لعينة حمرافية بالنسبة للمستخلص المائي، أما المستخلص الملحي فكانت محصورة بين **3.16_4.87 %** حيث بلغت أعلى قيمة لعينة بنت قبالة وأدناها لعينة تكرمست [84] .

الجدول(5-IV) : قيم نسبة البروتين في العينات المدروسة

العينات	تقدير البروتين H2O(%)	تقدير البروتين NaCl(%)
تكرمست	6.98	2.31
تمصريت	6.40	2.48
علي وراشد	14.78	4.85
باجميل	8.02	2.48
بيض الحمام	9.35	5.31
بنت القبالة	8.35	7.80
كسبة	8.12	7.34
دقلة نور	8.71	3.22
غرس	10.30	4.74
تفزيون	9.10	3.51
دقلة بيضاء	11.08	4.87
حمرافية	8.43	3.12

IV-1-7-1- تقدير الستيرويدات:

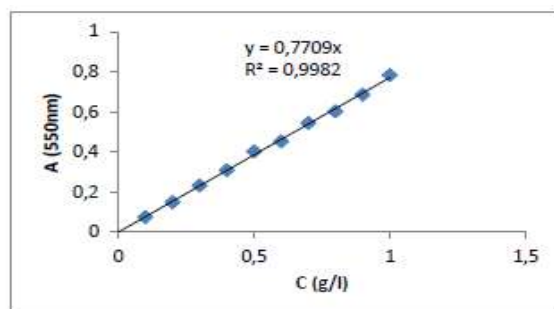
تحتوي الزيوت النباتية جميعها على كميات صغيرة من مواد غير غليسرديية (أقل من 5% من الزيوت الخام) ممثلة بالستيرويدات والشموع والفيتامينات وغيرها، وتختلف نسبة هذه المواد من زيت إلى آخر. فالستيرويدات تعد من أهم المواد عديمة التصبن الموجودة في الزيوت النباتية (تمثل 70% من كمية المواد غير القابلة في بعض المواد الدسمة [84]).

IV-1-7-1-1- المعايرة الكلية للستيرويدات:

بعد اختيار ليبرمان-برشاد (Liebermann-Burchard) اختبار لونيا حساسا جدا للستيرويدات، إذا يظهر لون أخضر-مزرق عند معاملة محلول الستيروول في الكلوروفورم مع أنهيدريد الخليك وحامض الكبريتيك المركز. وهذا الاختبار هو أساس تقدير الكمي حيث تتفاوت شدة اللون تبعا لكمية الستيروول الموجودة [84].

المنحنى القياسي للكولسترول:

عمليا يتم تحضير محاليل كولسترول (محضرة في الكلوروفورم) تراكيزها محصورة بين 0.1 إلى 1.0 غ/ل، تحضير كاشف ليبرمان (60ml بلا ماء حمض الخل +30مل من حمض الخليك +10مل حمض الكبريتيك) في أنبوب اختبار نأخذ 1مل من المحاليل الممددة ثم نضيف 2 مل من كاشف ليبرمان lebermane نضع المحاليل في مكان مظلم لمدة 30 دقيقة فنلاحظ تغير لون المحلول من الشفاف إلى أخضر مزرق تقاس الامتصاصية بجهاز الطيف اللوني عند طول موجة $\lambda=550 \text{ nm}$ ونسجل قيم الامتصاصية. نرسم المنحنى القياسي الكثافة الامتصاصية الضوئية بدلالة التركيز $A=f(c)$ كما الموضح في الشكل [84].



الشكل (9.IV): المنحنى القياسي للكولسترول .

IV-1-7-2 النتائج والمناقشة :

من خلال نتائج الجدول (6.IV) نلاحظ أن كمية السيتروولات في زيت العينات المدروسة بلغت (12.68mg/g) بالنسبة لعينة كسبة وهي تمثل أعلى قيمة نسبة، وأدنى نسبة سجلناها في عينة بيض الحمام (7.22mg/g).

الجدول(6-IV): نسبة السيتروولات (mg/g)

العينات	الكمية (mg/g)
تكرمست	8.12
تمصريت	8.57
علي وراشد	10.56
باجميل	8.28
بيض الحمام	7.22
بنت القبالة	8.45
كسبة	12.68
دقلة نور	7.98
غرس	8.23
تفروين	8.06
دقلة بيضاء	7.86
حمرية	7.43

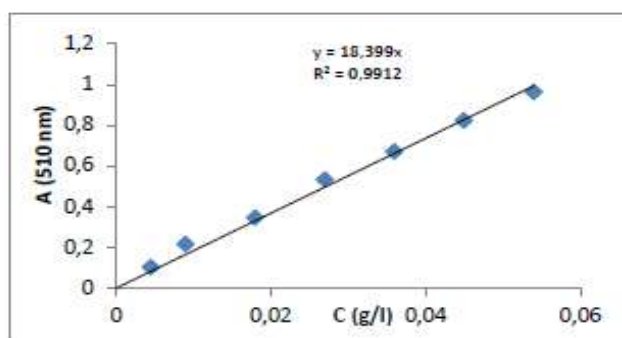
IV-1-8 التقدير الكمي التوكوفيرولات:

تعد التوكوفيرولات (فيتامين E) مركبات كيميائية منحلة في الدهون ذات طبيعة فينولية ، وتعمل بصفة مضادات أكسدة قوية لمنع حدوث التزنخ في الزيوت والدهون ، وتوجد في البذور الزيتية الخضراوات وبذور الحبوب و بذور البقوليات .

ويتم تقدير المركبات الفينولية مع التوكوفيرولات بواسطة طريقة (Emmerie-Engel،1939) وهذه الطريقة تعتمد على تفاعل الأكسدة الإرجاعية بين المركب الفينولية وأيون الحديد الثلاثي (Fe^{+3}) الذي يرجع الى (Fe^{+2}) وذلك بوجود الكاشف 1,10-phènantroline الذي يشكل معقد أحمر برتقالي مستقر [84].

المنحنى القياسي ل α التوكوفيرول :

نحضر محاليل مخففة ل α توكوفيرول (محضرة في CH_2Cl_2) تراكيزها محصورة بين 0.006-0.06 غ/ل في أنبوب اختبار نأخذ من كل محلول 1 مل ثم نضيف 2 مل من الكاشف الكحولي phenantroline (0.4%) وبعدها نضيف 0.5 مل FeCl_3 (محضر في الإيثانول) (0.12%) نضع المحاليل في مكان مظلم لمدة 5 دقائق فيتغير لون المحلول من الأصفر إلى الأحمر وتقاس الامتصاصية للمحاليل القياسية الممدة بجهاز قياس الطيف الضوئي عند طول موجة $\lambda = 510 \text{ nm}$ ثم نرسم المنحنى القياسي الكثافة الضوئية بدلالة التركيز $A=f(c)$ كما الموضح في الشكل. [84].



الشكل (10.IV): المنحنى القياسي ل α التوكوفيرول

1-8-1-IV النتائج والمناقشة :

من خلال نتائج الجدول (7-IV) نلاحظ أن كمية المركبات الفينولية مع التوكوفيرولات في زيت العينات المدروسة بلغت (1.1820 mg/g) وكانت أعلى قيمة بالنسبة لعينة كسبة ، بينما لم تتعدى الكمية في عينة علي وراشد (0.562mg /g) وكانت أقل قيمة.

الجدول (7-IV): كمية المركبات الفينولية مع التوكوفيرولات في الزيوت المدروسة

العينات	الكمية (mg/g)
تكرمست	0.9424
تمصريت	0.5621
علي وراشد	0.7623
باجميل	0.7341
بيض الحمام	0.7671
بنت القبالة	0.788
كسبة	1.182
دقلة نور	0.7348
غرس	0.9406
تفروين	0.8121
دقلة بيضاء	0.7539
حمرية	0.7509

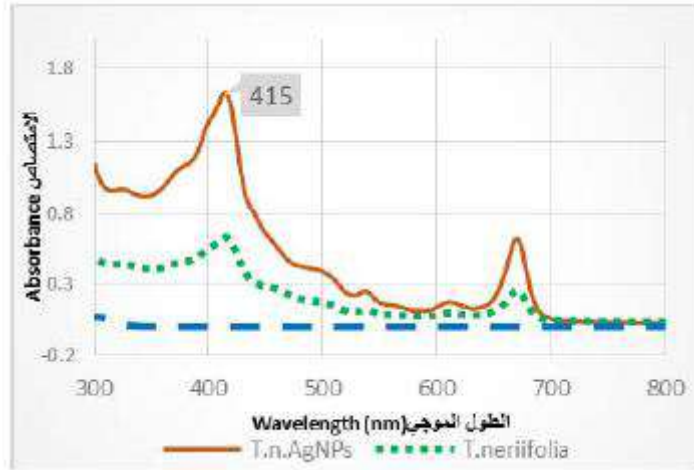
2-IV تطبيقات UV في تشخيص المركبات الفعالة :

*عنوان مقالة: التأثيرات الحيوية لجسيمات الفضة متناهية الصغر المحضرة من مستخلص

الدقلة نبات الصفراء *Thevetia neriiifolia* ضد يرقات بعوض *Culex pipiens* L.

1-2-IV مساهمة في تشخيص جسيمات الفضة النانوية

تضمنت هذه الدراسة استخدام مستخلص نبات الدقلة الصفراء كعامل حيوي لاختزال نترات الفضة إلى جسيمات فضة نانوية وقد أخذ لون المستخلص بالتغير تدريجياً مع مرور الوقت بعد إضافة نترات الفضة حتى وصل إلى اللون البني بعد 24 ساعة. كما أظهرت نتائج تحليل الطيف المرئي وفوق البنفسجية والموضحة في الشكل ظهور قمة امتصاص عند طول موجي 415 نانومتر والتي تشير إلى تشكل جسيمات الفضة النانوية. [93]



الشكل (11.IV): طيف امتصاص الأشعة الضوئية وفوق البنفسجية لنترات الفضة (AgNO_3) ومستخلص نبات الدفلة الصفراء (*T. neriifolia*) وجسيمات الفضة النانوية المحضرة منه (*T.n.AgNPs*).

2-2-IV مساهمة تشخيص الفلافونيدات:

إن لون المركبات الفلافونيدية تحت الأشعة فوق البنفسجية هو أول المعطيات التي تعطي فكرة أولية على بنية الفلافونيد التقريبية، فالجدول (8.IV) يلخص العلاقة بين بنية الفلافونويد ولونه تحت الأشعة فوق البنفسجية UV [94].

الجدول(8.IV): العلاقة بين بنية الفلافونويد و لونه تحت UV

الإستشعاع	التراكيب البنوية المحتملة
بنفسجي - أسود	-فلافون. - (5-OH).فلافون مع. - فلافون مستبدل في الموضع 3 . 5،7، 6أو8، 7، 5ثلاثي هيدروكسيل فلافون. -بعض الشالكونات.
بنفسجي - نيلي	-فلافون أو فلافانول بدون OH في الموضع 5 -فلافون أو فلافونول في يملك OH في الموضع 3 -فلافونول مستبدل في3وبدون OH في الموضع 5
أصفر أو أصفر باهت	-فلافونول مع OH حر في الموضع 3 و مع أو بدون OH في الموضع5.
برتقالي لامع	-إيزوفلافون
أصفر مخضر	-أورون.
أخضر	-بعض الشالكونات.
أزرق مخضر	-فلافانول بدون في الموضع OH 5

ان مطيافية الأشعة فوق البنفسجية تعتبر من أهم و أفضل الوسائل المستعملة في تحديد بنية الفلافونيدات، لسهولة كما أنها لا تتطلب كمية كبيرة من المركب . إذ تقوم على مبدأ انه لكل فلافونيد طيف امتصاص خاص به، حيث يتميز هذا الطيف بعصابتين امتصاص في الأوساط الكحولية . يختلف امتصاص العصابتين باختلاف المركب [94].

الجدول (9.IV): موضع امتصاص العصابتين I وII للفلافونيدات

نوع المركب الفلافونويد	العصابة II (nm)	العصابة I (nm)
فلافون	270-250	350-304
فلافونول في الموضع 3 الحر (OH)	280-250	352-385
إيزوفلافون	275-245 ذروة	330-310nm في 320
فلافانول أو ثنائي هيدرو فلافونول	295-275	330-300
شالكون	270-220	390-340
أورون	270-230	430-370
أنثوسيان أو أنثوسيانيد	280-270	560-456

أن طيف الامتصاص هذا يمكن أن يتغير بإضافة كواشف معينة للمحلول الكحولي للمركب، فيعطي ألوانا مميزة، هذا ناتج عن تشكيل معقدات بين الفلافونيد المدروس و الكواشف المستعملة [95].

الجدول.(10.IV): أهم الإنزيمات الملاحظة عن إضافة الكاشف

الكاشف	الإزاحة المشاهدة	التعليل(المدلول)
MeOH	تغير باتوكرومي يقدر ب 40-65 nm للعصابة I بدون تناقص في الشدة	تواجد OH في المواضع C 4' في الفلافونال أو الفلافونولات
	تغير باتوكرومي يقدر ب 40-65 nm للعصابة I بدون تناقص في الشدة	تواجد OH في المواضع C3 في غيابها في الموضع C 4' في الفلافونولات
	غياب الامتصاص في المجال 320-335 nm	تواجد مجموعة سكرية في الموضع C7 في الفلافونات والفلافونولات
NaOAc	استمرار تناقص شدة مع مرور الزمن (تفكك الطيف)	تواجد OH في المواضع , C3 C 4 ' أو أورتو ثنائي OH على الحلقة A
	تغير باتوكرومي يقدر ب 20-5 nm للعصابة II -ازاحة صغيرة للعصابة II	تواجد OH في المواضع C7 في المواضع C7 مستبدل أو كسجيني C6 أو C8
	طيف يتحلل بمرور الوقت	تواجد مجموعات ألكيلية في المواضع C6 ,C7 ,C5 أو في C5 C 8 ,C 7 ,مع OH C 3 ,C 4',C 3' في الفلافونات والفلافونولات
	$\Delta\lambda(I)(NaOAc) > \Delta\lambda(I)(NaOMe)$	تواجد OR في الموضع C7 (حالة الفلافون OH-4' و

الفلافونول فقط		
تواجد اورثو ثنائي هيدروكسي على B	تغير يقدر ب 12-36 nm للعصابة ا	NaOAc +
تواجد OH في المواضع C ₇ ، C ₆ أو C ₇ ، C ₈ في الفلافونونات الفلافونولات	ازاحة باتوكرومية ضعيفة للعصابة ا	H3BO3
تواجد مجموعتي OH في الحلقة B في الوضعية اورثو	-تغير باتوكرومي يقدر ب 30-40 nm للعصابة ا أكبرمن التغيرالملاحظ عند إضافة AICI3+HCl	AICI3
تواجد مجموعتي OH على الحلقة A في اورثو(بإضافة الوضعية تواجد مجموعتي OH في الحلقة B في الوضعية اورثو	-تغيرباتوكرومي يقدر ب 20-25 nm للعصابة ا أكبرمن التغيرالملاحظ عند إضافة AICI3+HCl	AICI3+HCl
تواجد OH في الموضع C ₅ مع عدم تواجد مجموعة اكسجينية في الموضع C ₆	-تغيرباتوكرومي يقدر ب 35-55 nm للعصابة ا	HCl+AICI3
تواجد OH في الموضع C ₅ تواجد مجموعة اكسجينية في الموضع C ₆	-تغيرباتوكرومي يقدر ب 17-20 nm للعصابة ا	
تواجد OH في الموضع C ₃ أو في الموضعين C ₃ و C ₅	-تغيرباتوكرومي يقدر ب 60-65 nm للعصابة ا	
امكانية تواجد OH في الموضع C ₅ ومجموعة prenyl في الموضع C ₆	دون تغيرالطيف.	

3-2-IV تشخيص الليكاند ومعقداتها الفلزية:

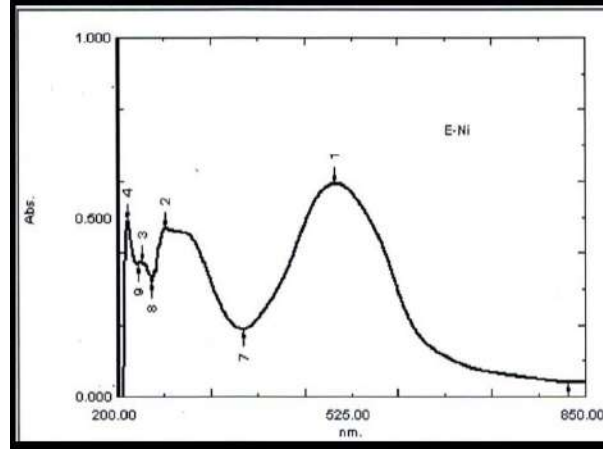
إن الليكاند (P-BrPAI) هو عبارة عن بلورات برتقالية اللون في حين أظهرت معقداتها الفلزية ألوان تراوحت بين الأحمر و الأرجواني. وان كلا من الليكاند ومعقداتها غير ذائبة في الماء لكنها ذائبة في معظم المذيبات العضوية و نلاحظ في الجدول (11.IV) الخصائص الفيزيائية لليكاند ومعقداتها الفلزية [96].

الجدول (11.IV): الخصائص الفيزيائية لليكاند ومعقداتها الفلزية.

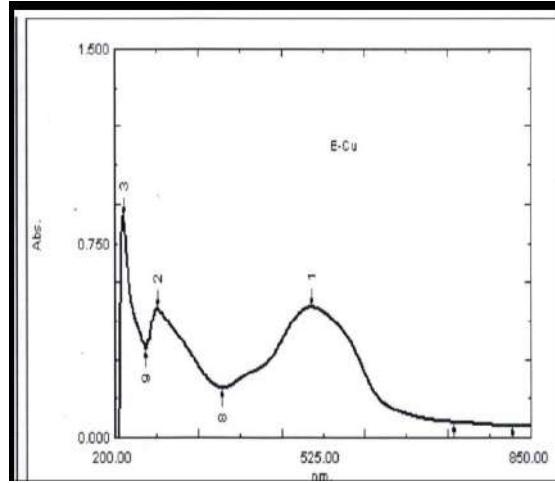
الصيغة الجزيئية	الاسم الكيميائي	اللون	درجة الانصهار °C
C ₁₅ H ₁₂ N ₂	4,5- Diphenylimidazole	ابيض	229 - 230
C ₂₁ H ₁₅ N ₄ Br	2-[(4-Bromophenyl) o]- 4,5- Diphenylimidazole	برتقالي	209
[Ni C ₂₁ H ₁₅ N ₄ Br) ₂ C ₁₂]	Bis(2[(4-Bromophenyl)azo] 4,5-diphenylimidazole)dichloro Nick el (II).	احمر	169
[Cu(C ₂₁ H ₁₅ N ₄ Br) ₂ C ₂]	Bis(2[(4-Bromophenyl)azo]4,5- diphenylimidazole) dichloro Copper (II).	بني مصفر	145

1-3-2-IV أطياف الأشعة فوق البنفسجية - المرئية :

أظهرت أطياف الأشعة فوق البنفسجية - المرئية لمحاليل المعقدات المحضرة في الايثانول قمم امتصاص في المواقع نفسها تقريبا التي ظهرت فيها قمم امتصاص محاليل مزج الايونات الفلزية مع الليكاند ولاسيما تلك المحاليل الدالة على النسبة المولية المختارة. وعلى العموم فان جميع هذه المعقدات أظهرت λ_{max} أعلى مما هو عليه في الليكاند الحرة وكما هو موضح بالإشكال (12.IV) و (13.IV) وتتفق نتائجنا هذه مع ما نشر في الأدبيات (17,4,3) حول حصول إزاحة حمراء في معقدات هذا النوع من الليكاندات. [96]



الشكل (12.IV): طيف الأشعة فوق البنفسجية - المرئية لمعقد النيكل مع الليكاند *P-BrPA*



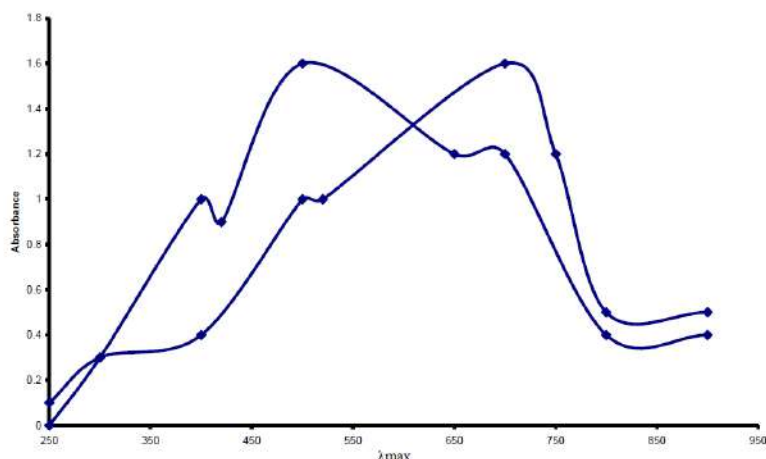
الشكل (13.IV): طيف الأشعة فوق البنفسجية - المرئية لمعقد النحاس مع الليكاند *p-BrPA*

*عنوان مقالة: تحضير وتشخيص مع دراسة طيفية للمركب (MBTANP) ومعقده ، مجلت
جامعة كربلاء العلمية - المجلد السابع - العدد الثالث/ علمي 2009/ .

4-2-IV طيف امتصاص الأشعة فوق البنفسجية المرئية (Uv-Vis):

لوحظ أن حزمة امتصاص معقد النيكل (II) مع الليكاند (6-MBTANP) تختلف عن حزمة الامتصاص العائدة لليكاند أو الأيون الفلزي كل على حدة وهذا متفق مع الدراسات وهو دليل حدوث التناسق بينهما فقد كان الطول الموجي الأعظم لليكاند (6-MBTANP) لوحده هو ($\lambda_{max}=510nm$) نانوميتر بينما كان معقد النيكل (II) هو ($\lambda_{max}=650nm$) نوناميتر، إذا

كان مقدار الانزياح (140) نانوميتر ويعزى الانزياح الكبير في الطول الموجي لوجود مجاميع معقدة للون كالنايترو. [97]

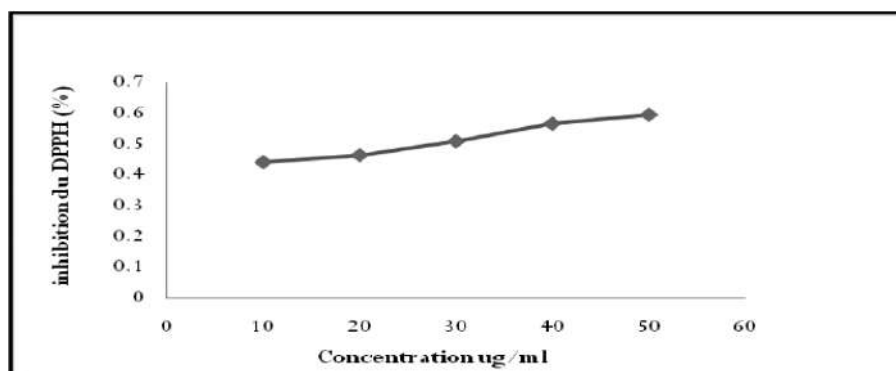


الشكل (14.IV): طيف الأشعة فوق البنفسجية لليكاند (6-MBTANP) ومعقدته مع النيكل

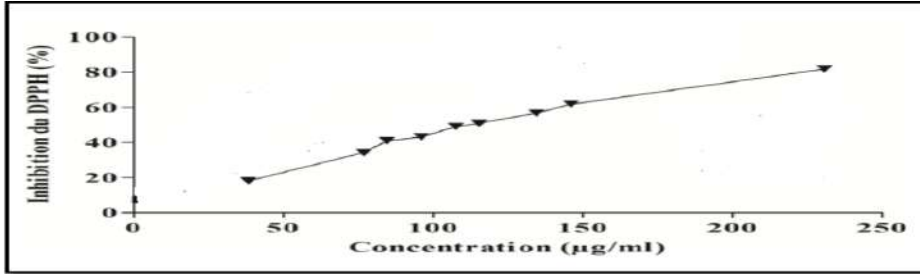
3-IV تقدير الفعالية المضادة للأوكسدة بطرق الطيفية:

1- 3-IV اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH :

يتم تحضير محلول من DPPH في الميثانول ذو تركيز 250 mm فنحصل على لون بنفسجي داكن، وتحضر تراكيز مختلفة من المستخلصات المدروسة. يأخذ 1ml من كل تركيز يضاف إليه 1ml من DPPH يجانس المحلول ويترك لمدة 30 دقيقة في الظلام. نقرأ الامتصاصية عند $\lambda_{max} = 517 \text{ nm}$



الشكل (15.IV): منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة التركيز للمستخلص الميثانولي



الشكل (16.IV): منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة التركيز للمستخلص المائي

من منحنيات تغيير النسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز تم تعيين قدرة المستخلصات المدروسة على كبح جذر DPPH بحساب قيمة IC₅₀، دوت النتائج في الجدول (12.IV).

الجدول (12.IV): نتائج اختبار DPPH بالنسبة للمستخلصات

العينات	المستخلص الميثانولي	المستخلص المائي	AA
EC50(µg/ml)	62	114.11	38

IV-3-1-1 النتائج والمناقشة :

مدن خلال النتائج المدونة في الجدول (12.IV) لقيم IC₅₀ ، نلاحظ أن جميع الأنظمة العضوية المدروسة تملك قدرة على اقتناص الجذر الحر DPPH بشكل نسبي، واعتمادا على قيمة IC₅₀ التي كلما نقصت زادت الفاعلية المضادة للأكسدة وجد أن المستخلص الميثانولي لبذور النبات *Lepidium sativum* L يملك أكبر فاعلية تثبيطية للجذر الحر DPPH بقيمة IC₅₀ تقدر بـ 62µg/ml وذلك مقارنة بالمستخلص المائي الذي سجل أقل قدرة تثبيطية

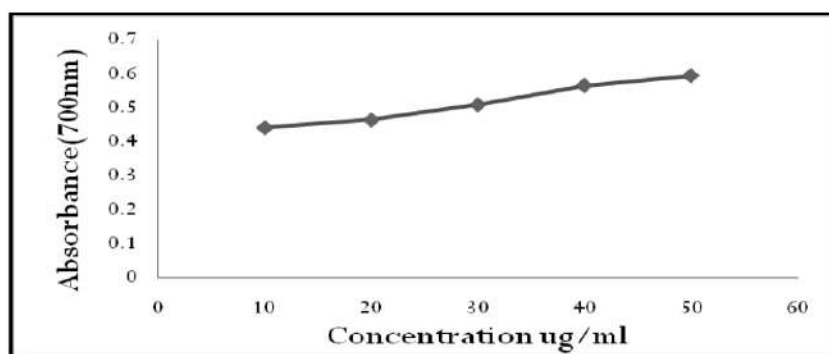
AA < المستخلص الميثانولي < المستخلص المائي

للجذر الحر والتي قدرت بـ 114.1 µg/ml. وعليه يمكن ترتيب القدرة التثبيطية للجذر

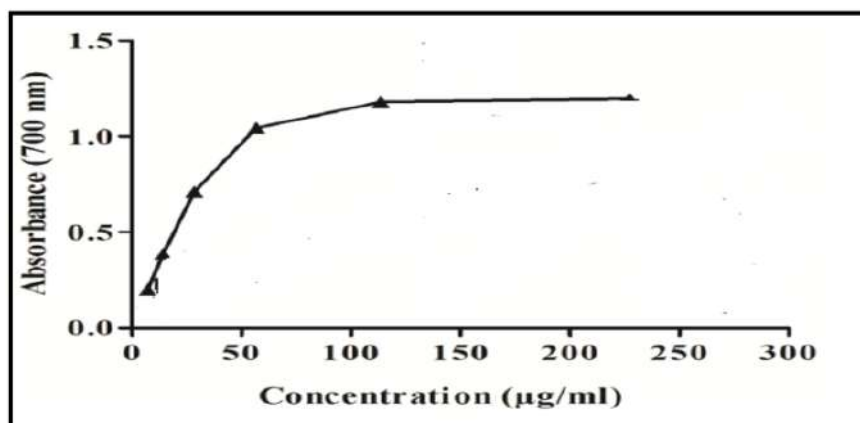
الحر DPPH للمستخلصات والشاهد الإيجابي المرجعي كمايلي :

2-3-IV اختبار القدرة الارجاعية للحديد الثلاثي (RP) :

يتم تحضير محاليل ذات تراكيز مختلفة للمستخلصات المدروسة ، ثم يؤخذ في أنبوب إختبار 1ml من كل محلول ممدد، ويضاف له 2.5 ml من محلول $K_3[Fe(CN)_6]$ (1%)، و 2.5 ml من محلول الفوسفات المنظم (*tampon phosphate*) (0.2M ، pH=6.6)، توضع المحاليل في حمام مائي لمدة 20دقيقة عند درجة حرارة $50C^\circ$ بعدها يضاف 2.5 ml من حمض ثلاثي الكلورور أسيتيك (10% TCA)، ثم يؤخذ 2.5 ml من المحلول المحضر + 2.5 ml من الماء المقطر + 0.5 ml $FeCl_3$ (1%) تقاس الامتصاصية عند طول موجة 700nm. يعامل vit c بنفس الطريقة حيث يستخدم كشاهد إيجابي مرجعي.



الشكل (17.IV) : منحنى القدرة الارجاعية للمستخلص الميثانولي



الشكل (18.IV) : منحنى القدرة الارجاعية للمستخلص المائي

بعد رسم منحنيات تغير الامتصاصية بدلالة التركيز ثم تعيين القدرة الأرجاعية للمستخلصات المدروسة بحساب قيمة EC_{50} ، دونت النتائج في الجدول (13.IV)

الجدول (13.IV): نتائج اختبار القدرة الأرجاعية للمستخلصات

العينات	المستخلص الميثانولي	المستخلص المائي	VitC
$EC_{50}(\mu\text{g/ml})$	26.75	45.3	48.9

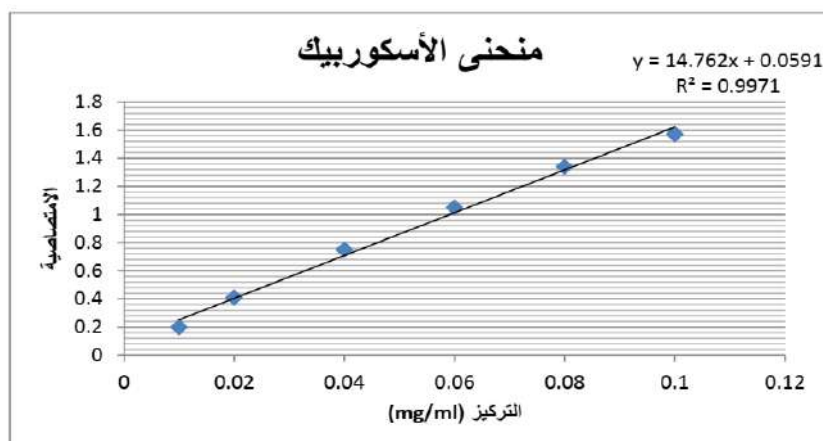
IV-3-2-1 النتائج والمناقشة :

من خلال النتائج المدونة في الجدول (13.IV) لقيم EC_{50} نلاحظ أن للنظامين المدروسين (العضوي والمائي) قدرة على إرجاع شوارد الحديد الثلاثي إلى ثنائي بشكل معتبر، واعتمادا على قيم EC_{50} التي كلما نقصت زادت القوة الاختزالية للمستخلصات، وجد أن للمستخلص الميثانولي لبذور نبات *Lepidium Sativum* L يملك أكبر قدرة إرجاعية للحديد الثلاثي والتي بلغت قيمتها ($26.75 \mu\text{g/ml}$) مقارنة بالمستخلص المائي الذي سجل قدرة إرجاعية بلغت ($45.3 \mu\text{g/ml}$). ويمكن ترتيب القدرة الاختزالية للمستخلصين والشاهد الإيجابي كمايلي [86]:

المستخلص الميثانولي <المستخلص المائي> VitC.

IV-3-3 اختبار فعالية مضادات الأكسدة الكلية CAT باستعمال موليبيدات الأميوم

نقوم بتحضير تراكيز قدرها (0.3-2) mg/ml من كل مستخلص، ونأخذ من كل تركيز 0.1 ml في أنابيب ونضيف له 1ml من محلول الموليبيدات ونضعه في حمام مائي تحت درجة الحرارة 95°C لمدة ساعة فنتحصل على اللون الأخضر، ونتركها تبرد ثم نقوم بقراءة الامتصاصية عند طول موجي $\lambda_{\text{max}} = 695\text{nm}$.



شكل (19.IV): المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك

1-3-3-IV النتائج والمناقشة :

من خلال نتائج الإمتصاصية المتحصل عليها من المحاليل المحضرة وبحسابات رياضية مطبقة على معادلة حمض الأسكوربيك تم تقييم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية CAT للمستخلصات من خلال المنحنى القياسي:

الجدول (14.IV): قيم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية

نوع العينة	المستخلص	التركيز (mg/ml)	الإمتصاصية (nm)	قيم اختبار نشاطية CAT(mgEAA/g)
العينات الطازجة	ثوم أحمر	1	0.313	17.19
	ثوم أبيض	1	0.337	18.82
العينات الجافة	ثوم أحمر (مسحوق)	1	0.330	18.35
	ثوم أبيض (مسحوق)	1	0.337	18.82

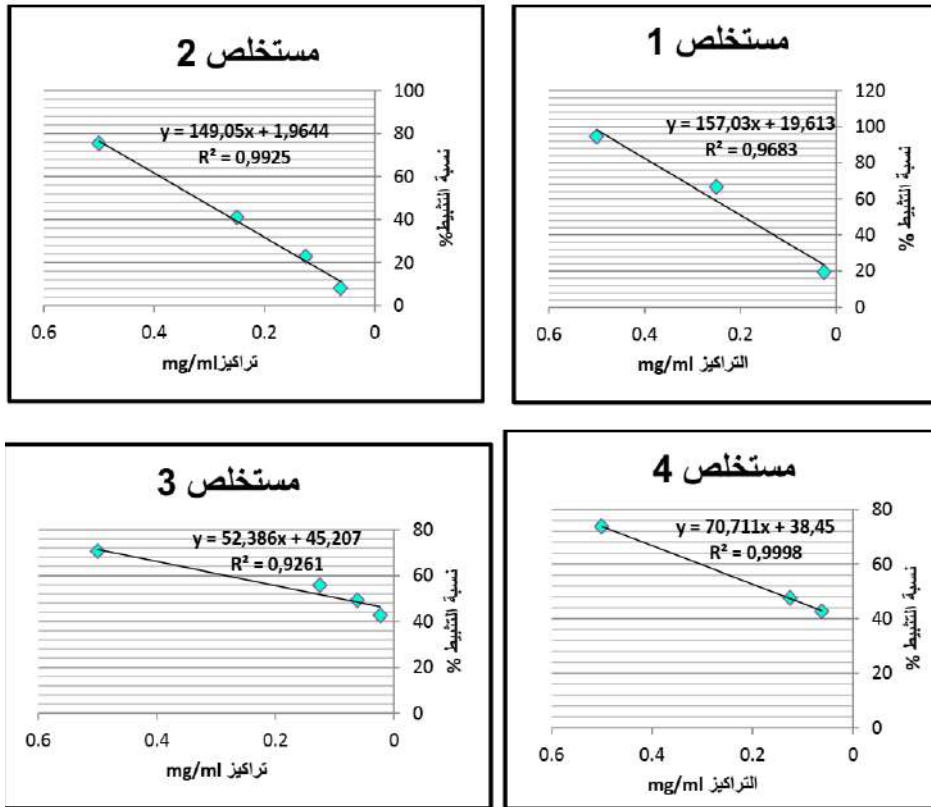
أظهرت النتائج الموضحة في إن الجدول (14.IV) قيم اختبار النشاطية للثوم الأبيض في كلى الحالتين (الطازج و الجافة) كانت أكبر من قيم النشاطية المضادة للأكسدة بالنسبة للثوم الأحمر في كلتا الحالتين (الجافة والطازجة) .

4-3-IV اختبار تثبيط الجذر الكاتيوني ABTS :

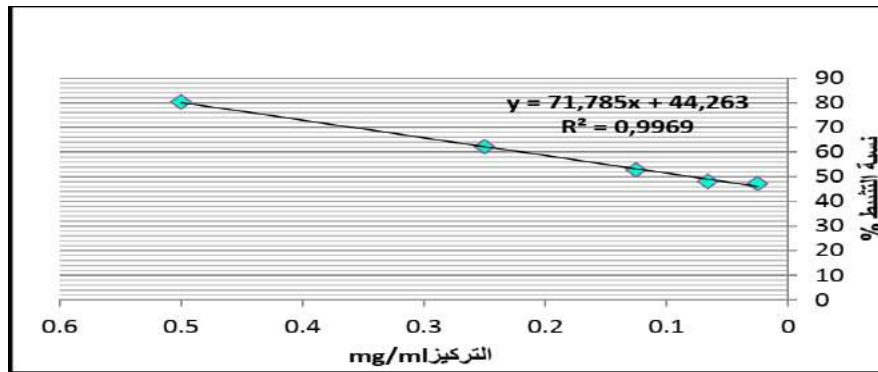
يعتمد اختبار ABTS على قياس قدرة المركبات المضادة للأكسدة على إزاحة جذر $ABTS^+$ الكاتيوني بعد تفاعل كل من ABTS (7mM) و (potassium persulfate) (2.45mM) في الماء المقطر وتقاس الامتصاصية عند طول الموجي ك 734nm ويستعمل BHT كشاهد للمقارنة .

تم أخذ (7mM) من ABTS و (2.45mM) من potassium persulfate ويتم إذابتهما في الماء المقطر، يترك المزيج في الظلام و درجة حرارة الغرفة مدة 12-16 h . يتم تخفيف محلول $ABTS^+$ في الميثانول إلى غاية الوصول إلى امتصاصية (0.01 ± 0.76) عند طول موجي 734nm .

تم تحضير عدة تراكيز مخففة من محلول BHT محصورة بين (0.1-1) mg/ml واخذ من كل تركيز 10µl يضاف إليها 1ml من محلول $ABTS^+$ ويمزج المحلول و يترك في الظلام، تقرا الامتصاصية بعد 10 دقائق عند طول الموجي 734nm . يعتبر جذر ABTS فعالا اتجاه معظم المركبات المضادة للأكسدة، كما أنه يذوب في كل من المذيبات العضوية والمائية، لذلك يمكن استعماله لتقدير نشاطية كل من مضادات الأكسدة التي تذوب في الماء والدهون في أطوار مختلفة.



شكل (20.IV): منحنيات تثبيط للجذر الكاتيوني ABTS للمستخلصات



شكل (21.IV): المنحنى المعياري لـ BHT

1-4-3-IV النتائج والمناقشة :

تتضح نشاطية المستخلصات في تثبيط الجذر الكاتيوني ABTS من خلال إرجاع لون من الأزرق إلى عديم اللون عند طول الموجي $\lambda = 734\text{nm}$ من خلال النتائج المتحصل عليها في شكل (22.IV) أن قدرت المستخلصات المدروسة على إزاحة الجذر الكاتيوني ABTS تتناسب طرديا مع الزيادة في التركيز. تم حساب قيم IC_{50} من المعادلات الخطية لمنحنيات التثبيط (%)

للمستخلصات وحمض الاسكوريك كما هو موضح الجدول (15.IV) حيث أن هذه القيم تمثل التركيز الموافق لتثبيط % 50 من جذر كاتيوني ABTS والقيمة الأقل له تعني التأثير التثبيطي الأفضل للعينة.

الجدول (15.IV): قيم IC50 للمستخلصات و BHT

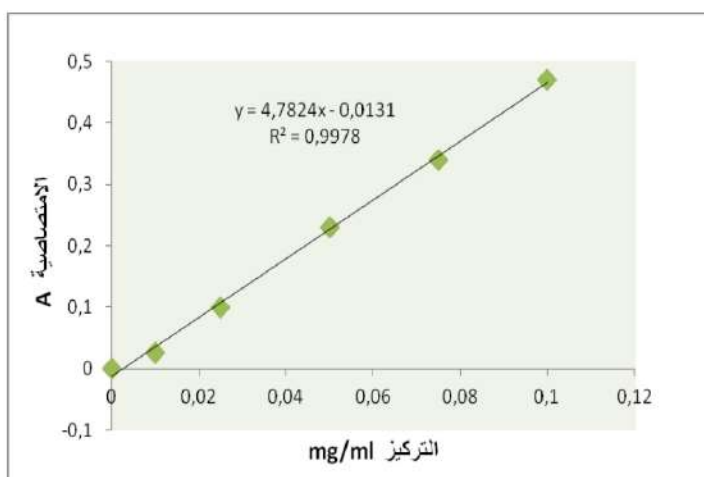
العينات	مستخلص 1	مستخلص 2	مستخلص 3	مستخلص 4	BHT
IC ₅₀	0.193	0.322	0.091	0.163	0.073

اظهرت النتائج لقيم IC₅₀ المدونة في الجدول (15.IV) ان لحمض الاسكوريك نشاطية مضادة للأكسد ABTS تفوق باقي المستخلصات بقيمة (0.073 mg/ml) بينما ابدت المستخلصات نشاطية معتبرة. كما ان المستخلص 3 اعطى نشاطية افضل من المستخلصات الاخرى. [87]

5-3-IV اختبار القدرة الإرجاعية للحديد (FRAP) :

نحضر محلول عياري من حمض الأسكوريك بتركيز (0.1mg/ml)، ثم حضر منه سلسلة عيارية بتركيز (0.01-0.1mg/ml). نأخذ 1ml من كل محلول عياري ونضيف لها 2.5ml من محلول منظم من فوسفات الصوديوم (0.2M, pH6.6)، ثم نضيف 2.5ml من المحلول K₃Fe(CN)₆ ذو تركيز (1%)، يحضن الخليط عند درجة حرارة 50 °C لمدة 20 دقيقة ويضاف إليه 2.5ml من محلول (10%) (acide trichloracetique) (TCA) المحضر في وسط مائي (10% m/v) ثم نعرضه للطررد المركزي لمدة 10 دقائق في درجة حرارة الغرفة، ونأخذ 2.5ml من المحلول ونضيف لها 2.5ml من الماء المقطر و 0.5ml من المحلول (0.1%) FeCl₃، ونقيس الإمتصاصية عند طول الموجة 700nm باستعمال جهاز UV-Vis. نعامل مستخلصات العينات ذات التركيز (0.5mg/ml) بنفس الطريقة التي عاملنا بها حمض الاسكوريك، ثم نستعمل المنحنى القياسي لتقدير فعالية مستخلصات العينات، هذا القياس يمثل الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات المدروسة وفق مقدار يدعى EAA؛ وهو يمثل الفعالية المضادة للأكسدة المكافئة لحمض الأسكوريك من طرف المستخلصات المدروسة بطريقة إرجاع للحديد، ويتضح هذا من خلال الإسقاط على المنحنى القياسي لحمض الأسكوريك. كل تجربة

تكررت ثلاث مرات و تعرض النتائج على النحو (\pm SEM) .



الشكل (22.IV): المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك بطريقة القدرة الإرجاعية للحديد

1-5-3-IV مناقشة النتائج :

الجدول (16.IV): قيم الإمتصاصية التركيز المحضرة والفعالية المضادة للأكسدة باستعمال القدرة الإرجاعية

Ad.Ph	Ha.Ph	العينات
0.5	0.5	التركيز (mg/ml)
0.3911 \pm 0.00012	0.2324 \pm 0.00028	الامتصاصية (nm)
169.04 \pm 4.27	102.67 \pm 2.43	الفعالية المضادة للأكسدة mgEAA /g

تبين من النتائج أن مستخلص **Ad.Ph** يختزل بقوة أيون الحديدك لمركب فيروسيانيد البوتاسيوم إلى صورة أيون الحديدوز مقارنة مع مستخلص **Ha.Ph**، ومن **الجدول (16.IV)** نجد الفعالية المضادة للأكسدة في العينة **Ha.Ph** تصل إلى ؛ **102.67 mg EAA/** وهي أقل من مستوى العينة **Ad.Ph** حيث يصل هذا الأخير إلى مستوى ؛ **160.87 mg EAA/g** وفي العموم تعتبر الفعالية المضادة للأكسدة لإختبار القدرة الإرجاعية للحديد للعينة **Ad.Ph** جد فعالة، وهي أقل فعالية بالنسبة للعينة **H. [43]**

الخلاصة العامة

الخلاصة العامة

الهدف من دراستنا هو شرح وتبسيط المفاهيم الاساسية للتحليل الطيفي للطالب والباحث وكذا تطبيقات مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية في تقدير وتشخيص المركبات الفعالة والمركبات النانوية والفعالية المضادة للأكسدة. تعد تقنية تقدير المركبات الفعالة للأشعة فوق البنفسجية والمرئية UV-Vis رغم استعمال الطرق الكروموتوغرافية في التقدير HPLC و CCM إلا ان معظم الدراسات تعتمد اعتمادا اكثر على الطرق الطيفية وخصوصا مطيافية الأشعة المرئية وفوق البنفسجية UV-Vis في التقدير وهذا لاتساع مجالها وكثرة استعمال الباحثين لهذه التقنية هي سهولة استخدامها وتعتبر أحد ابسط الطرق الاقتصادية (غير مكلفة) وحيث لاتحتاج إلا لبعض المتفاعلات.

وهي طرق مساعدة ومساهمة في التحليل الطيفي لايجاد البنية الإلكترونية للمركبات المفصلة او المستخلصة ،هناك عدة طرق أخرى لقياس الفعالية المضادة للأكسدة كابعض الطرق البيولوجية والألكتروكيميائية إلا أن الطريقة الطيفية والاختبارات الكسح الجذري ABTS, DPPH وكذلك FRAP وغير من الاختبارات الأخرى.

المراجع

المراجع:

- [1]: عبد الحميد زغداوي ، وليد قصار، كتاب التحليل باستعمال أطياف الأشعة فوق البنفسجية وتحت الحمراء ،ديوان المطبوعات الجامعية ، 2010 م.
- [2]: قلفيط خليل ،بوعافية مراد، التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية والمرئية في تحديد التركيز الأيوني للحديد Fe^{3+} . مذكرة لنيل شهادة التعليم الثانوي ،المدرسة العليا للأساتذة القبة القديمة (الجزائر)، 2004 .
- [3]: أ.م. رحيم جعفر عزيز ،كيميااء التحليل الألي العملي ، جامعة المستنصرية ، 2019 م.
- [7]: عبدالرحمن السليم ،الطب البشري جامعة البعث سوريا 2021، .
- [8]:كتاب طرق التحليل الطيفي النظري 250كيم. تخصص مختبرات للمؤسسة العامة للتعليم الفني والتطوير المهني.المملكة العربية السعودية، 1429 هـ.
- [10]: فاضل جاسم محمد،د.صبري مخيائيل فروحة،د.زهير متي قصير، التحليل الكيمياء الآلي جامعة بغداد، 1984م.
- [13]: د.عبد المنعم محمد السيد الأعسر، التحليل الطيفي للأنظمة الكيمياء والبيوكيمياء ،الدار العربية لنشر والتوزيع الطبعة الثانية، 1998م.
- [16]: د. صلاح الدين محمود يونس ، الفيزياء الجزيئية ، 2009 م .
- [17]: أ.د.منذر سليم عبد اللطيف ، مبادئ التحليل الآلي ، الجامعة الإسلامية، 2018 م.
- [18]: جهاز الامتصاص الذري ،كلية العلوم جامعة سوهاج مصر .
- [19]: جهاز الانبعاث الذري اللهب ، encrypted-tbn0.gstatic.com ،موقع ويب .
- [20]: شبيخة محمد جاسم الغنام ، جامعة الأمام عبد الرحمان بن فيصل .
- [21]: فيكتوريا بانبيبانكو ،فيكتوريا ماريا، أطروحة دكتوراه، جامعة سان مارتن الوطنية الولايات المتحدة الأمريكية، 2011 .
- [22]: أمجد موزة عودة السلطاني ، جامعة بابل ، 2012 م.
- [23]: أ.د.جمال محفوض ،تحليل الآلي جامعة الشام ، تحليل الآلي جامعة الشام .
- [24]: مطياف الاشعة تحت الحمراء (2000)، الفريد في الفيزياء ، موقع ويب ، 2019 .
- [25]: كامل السدي ، هشام امحد جواد ، سارة خالد ، جهاز مطيافية الكتلة ، جامعة القادسية العراق، 2017 م .

- [26] : عبد الحميد زغداوي ، وليد قصار ، الجامع في التحليل الطيفي ، 2020 م.
- [27]: مطياف الكتلة ، hama-univ.edu.sy ، موقع ويب .
- [28] : نجوانا حسان ياسر ، امير غازي محي ، سجاد حسين حسن ، مطياف الرنين النووي المغناطيسي ، جامعة القادسية ، 2017م.
- [29] : فاضل عمران عيسى الزامل، شبكة جامعة بابل ، 2016م .
- [31]: جهاز مطيافية UV-Vis ، المعهد الهندي للتكنولوجيا بومباي ، 2009م .
- [32]: أ.ك.بلال عبد الوهاب الرفاعي ، شبكة الكيمياء العربي ، .
- [33] : أ.م.د.عباس حسن ، التحليل الكيميائي الآلي طرائق التحليل الطيفي ، 2015 م .
- [34]: أ.د.فريد رفيق زقوت ، استخدام الاجهزة المخبرية وصيانتها ، جامعة الازهر بغزة ، 2009م.
- [35]: د.شهامة عدي ، المحاضرة الثانية في التحليل الآلي ، جامعة حماة كلية الصيدلة الجمهورية العربية السورية .
- [36]: زهرة حسين الساعدي ،ملاك أشرف الشريف ،دراسة تأثير أشعة UV على عدد من خصائص الفيزيائية لعينات مياه شرب معبأة ،جامعة سبها، 2020.
- [37]: أسيل مشتاق كاظم جاسم الجبوري ، شبكة جامعة بابل ، 2018 م .
- [38]: د.محمد عبد القادر محرم، سميرة محمد ربيع، أساسيات وتطبيقات المطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية، دار النشر للجامعات 2003 م .
- [39] : م.د. سرحان علي سلمان ، التحليل الآلي ، جامعة تركيت .
- [40] : أ. د. محمد مجدي عبد الله واصل ، أسس الكيمياء التحليلية ، دار الفجر للنشر والتوزيع .
- [41]: د.مؤيد أحمد رديعان ،مطيافية فوق البنفسجية والمرئية،جامعة ديالي .
- [42]: بالعيد حنان ،قرشية مجدة ، تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة و عديدات الفينولات لمستخلص النبات الطبي *Tamarix BoveanaBunge*، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، 2017.
- [43] : تامة نور الدين،الدراسة الفيتوكيميائية (القلويدات ،الفينولات والفلافونويدات، التربينات الثلاثية) والنشاط المضادة للأكسدة والمضاد للميكروبات لنبات الباقل والحمير الذي ينمو في جنوب شرق الجزائر، دار النشر جامعة العربي بن مهيدي أم البواقي، رسالة لنيل شهادة الدكتوراة 2018 .
- [44] :حسين دندوقي،دراسة الميتابوليز الفلافونيدي لنبات *Inulaviscosa*،مذكرة ماجستير في الكيمياء العضوية،جامعة قسنطينة،1989.

- [46]: سهام جفال، ياسمين العلواني ، تقدير محتوى الكلي للفينولات والفلافونيدات عند نبات الكركم (*Curcuma longa*)، جامعة العربي بن مهيدي أم البواقي ، مذكرة لنيل شهادة ماستر، 2020.
- [51]: لعابد، دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخامل نبات الضمران *Traganum nudatum*، مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية التطبيقية ، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، الجزائر، 2009.
- [52]: توميات كلثوم ،مسلم زينب ، المساهمة في الكشف عن المنتجات الفعالة لثمار نبات، *Ceratoniasiliqua* مع دراسة النشاط البيولوجي للمركبات الفينولية، جامعة بن مهيدي أم البواقي، مذكرة لنيل شهادة ماستر، 2018.
- [54]: جابر بن سالم، موسى القحطاني، موسوعة جابر لطب الأعشاب – الجزء الأول – الطبعة الثانية، مكتبة العبيكان، 2008.
- [55]: صالحى الخنساء، حدد سهيلة، لدراسة الكيمائية للمستخلصات الخامة لمسحوق نبتة الثوم *Allium sativum L* المزروعة بمنطقة الوادي. جامعة الشهيد حمه لخضل الوادي، مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي ، 2021.
- [56]: هاني ، م .، دراسة بيولوجية ومورفولوجية لبذور بعض الأعشاب الضارة بمحاصيل الحبوب الشتوية في منطقة الهضاب العليا السطايفية، أطروحة مقدمة لنيل شهادة : دكتوراء علوم ، جامعة فرحات عباس سطيف، 2012.
- [62]: جاسم محمد جندل، الطب الشعبي دليل موسع لعلاج الأمراض بالأدوية الطبيعية الخالية من الإضافات الكيمائية الضارة – الفصل الأول (الدواء)، دار الكتب العلمية، 2011.
- [65]: توفيق الحاجي، النبات والطب البديل، دار العربية للعلوم، 2003.
- [67]: علي منصور حمزة، النباتات الطبية العالمية :وصفها – مكوناتها – طرق استعمالها وزراعتها، منشأة المعارف بالإسكندرية – مصر، 2006.
- [68]: محمد الحسيني وتهاني المهدي، النباتات الطبية :زراعتها – مكوناتها – استخداماتها العلاجية، مكتبة ابن سينا للنشر والتوزيع القاهرة-مصر، 1990.
- [69]: معصومة حسين علامة وهيام محمود رزق، أسرار الشفاء بالطبيعة، دار القلم للطباعة والنشر والتوزيع، 2016.
- [70]: قرفة أمينة، الواعر خديجة، إسهام في دراسة زيوت نبات إفريقي *Moringa oleifera Lam*، جامعة العربي بن مهيدي أم البواقي، مذكرة لنيل شهادة ماستر، 2019.
- [75]: زبيدي فاطمة الزهراء، كشف وإستخلاص الفينولات والتربينات الثلاثية والسترويدات لطلع النخيل ودراسة الفعالية البيولوجية .جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي، مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي ، 2018 .
- [76]: د. محمد عبد الجليل مسعود، كيمياء المنتجات الطبيعية ، منتجات نباتية ، ميكروبية وحيوانية، دار الفكر ، ط1، عمان الأردن، 2009.
- [78]: درويش مصطفى الشافعي، مضادات الأكسدة – بدونها أنت مريض، دار الخطيب للنشر والتوزيع عمان – الأردن، 2012.

- [80]: درويش مصطفى الشافعي، النباتات الطبية والغذاء الصحي، دار الخطيب للنشر والتوزيع عمان - الأردن، 2014.
- [81]: فاطمة العراقي، الفيتامينات - المعادن ومضادات الأكسدة، ناشرون، 2017.
- [83]: م. بوقوادة (2008). "دراسة فيتوكيميائية لليبيدات كالفينولات في بعض أنواع نوى التمر المحلي"، مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- [84]: مصطفى، بن علي، دراسة الجزء الليبيديوالفينولي لنوى بعض اصناف التمور المحلية، رسالة الدكتوراة في العلوم. جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2018).
- [85]: صالح، اسماء، دراسة معايير وأسس اختيار طرق تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لبعض مستخلصات النباتات الطبية، نيل شهادة ماستر أكاديمي في كيمياء. جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2021).
- [86]: عبير فوحمة، نور الهدى بورقعة، تقدير الفعالية البيولوجية والفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات الخام (المائية والكحولية) لبذور نبات حب الرشاد *Lepidium sativum L*. جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي ، مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي، 2020.
- [87]: الأبيض ليلي، ميموني سمية، فصل نواتج الأيض الثانوية للفلافوني لنبات *Moltkia Ciliata* وتقييم الفعالية المضادة للأكسدة. جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي، مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي ، 2019.
- [91]: سايح عائشة، صوالح عمار آمنة، المساهمة في دراسة التغيرات الكيميائية لمحتوى ثمار نخيل التمر (*phoenixdactylifera*) (دقلة نور ودقلة بيضاء) خلال مراحل تشكله، لنيل شهادة ماستر أكاديمي. جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي ، 2020.
- [92]: عقلية بن کران ، الدراسة الفيتوكيميائية لبعض أصناف التمور من منطقة وادي سوف، مذكرة مقدمة لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة قاصدي مرباح ورقلة ، 2019.
- [93]: سديم عايض القرشي ، جازم عبد الله مهيب ، وأحمد إبراهيم السقاف ، التأثيرات الحيوية لجسيمات الفضة متناهية الصغر المحضرة من مستخلص نبات الدفلة الصفراء *Thevetia neriifolia* ضد يرقات بعوض *Culex pipiens L*. كلية العلوم جامعة طيبة ، كلية العلوم جامعة الملك عبد العزيز ، " المملكة العربية السعودية" 2015 .
- [94]: عباس بن مرعاش ، دراسة نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي والفعالية المضادة للأكسدة للنباتة *convolussupinus coss. & kral. (convolvulaceae)*، نيل شهادة الماجستير في كيمياء، جامع منتوري قسنطينة، 2012.
- [95]: عابدي إشراق، عرباوي نسرين، استخلاص الفلافونيدات وتثمين الفعالية المضادة للأكسدة لنبات صحراوي *Sonchustenerimus. L*، نيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، 2020.

[96]: أ.د. رحيم طاهر الساعدي ، م.م. ابتهاج كاظم كريم ، م.م. سحر عقيل حسين ، تحضير وتشخيص طيفي لمعقد ايوني (II) ونحاس (II) مع الليكاند 2-[4-بروموفينيل (أزو)]-5،4-ثنائي فنيل إيميدازول (P-BrpAI)، كلية التربية للبنات/جامعة الكوفة .

[97] : ميعاد محمد ، حسين عبد علي ، تحضير وتشخيص مع دراسة طيفية للمركب (MBTANP) ومعقده ، مجلة جامعة كربلاء العلمية -المجلد السابع -العدد الثالث /علمي . 2009/

REFERENCES :

[4]: Paul Worsfold, Colin Poole, *Encyclopedia of Analytical Science*. third Edition, 2019.

[5]: Songjun Li, Yi Ge, Joseph Lunec, *Molecularly Imprinted Sensors*, 2012.

[6]: L'Hocine Yahia, *Shape Memory Polymers for Biomedical Applications*. A volume in Woodhead Publishing Series in Biomaterials, 2015.

[9]: *Spectroscopy in Astronomy*, Douglas College Astronomy 1105 by Douglas College Department of Physics and Astronomy.

[11]: Dr. Alan Smal, *The Electromagnetic Spectrum*, 2014.

[12]: ph.D. Anne Marie Helmenstine, *Spectroscopy Definition*, 2020.

[14]: Andrew Fraknoi, David Morrison, Sidney C. Wolff, *Spectroscopy in Astronomy*, University of Houston, Houston Texas, 2016.

[15]: Joshua Edward Barnes, *Spectra in the Lab*, 2005.

[30]: *UV/VIS Spectrophotometry Fundamentals and Applications*, Cosimo A. DeCaro, Haller Claudia, 2015.

[45]: L. Delille, *Les plantes médicinales d'Algérie*, Berti Editions, Alger, 2007

[47]: Rabab Elamawi., *Prep, Alkaloids*, 2012.

[48]: Ziegler J., Facchini P.J. *Alkaloid biosynthesis; Metabolism and trafficking*. Annual Review of Plant Biology. 2008.

[49]: Richter, G., *Metabolisme des végétaux - physiologie et biochimie*, presses polytechniques et universitaires romandes, lausanne, 1993

[50]:Sparg, S.G., Light M.E., Van Staden , J., Biological activities and distribution of plant saponins. *J. Ethnopharmacol.*, 2004.

[53] :Michael , Biochemistry of Plant Secondary Metabolism. 2nd ed.p. cm. –(Annualplant reviews ; v.40), A John Wiley & Sons, Ltd., Publication,2010.

[57]:Rahmawati , L , U ,. Purwanti , E,. Budiyanto, M, A ,K,. Zaenab ,S , Susetyarini, R , E,. Permana,T,I,. Identification of Pollen Grains Morphology and Morphometry in Liliaceae, Department of Biology Education , Faculty of Teacher Training and Education ,University of Muhammadiyah Malang , East Java, Indonesia, IoPPublishingp,(2019).

[58]:Hammiche ,V,. Morphologie et Systematiquebotaniques , office. (1995).

[59]:Yousuf,A,.FAGBUARO,S,S,.FAJEMILEHIN,S,O,K Chemical composition ,phytochemical and mineral profile of garlic (*Allium Sativum*).*Journal of Bioscience and Biotechnology Discovery*, (2018).

[60]:Manach, C., Scalbert, C.M., Christian, R, Liliana, J., Polyphenols: food sources and bioavailability, *The American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 79, Issue, (2004).

[61]:Tim Cushnie, T. P & Lamb, A. J., Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents. International Journal of Antimicrobial Agents*.(26), (2005).

[63]:Dighe, N. S., Pattan, S. R., Dengale, S. S., Musmade, D. S., Shelar, M., Tambe, V &Hole, M. B. Synthetic and pharmacological profiles of coumarins. *Archives of Applied Science Research*. 2(2), (2010).

[64]:Sahoo, S. S., Shukla, S., Nandy, S & Sahoo, H. B. Synthesis of novel coumarin derivatives and its biological evaluations. *European Journal of Experimental Biology*.2 (4), (2012).

- [66]:Michael. Biochemistry of Plant Secondary Metabolism. 2nd ed.p. cm. –(Annualplant reviews ; v.40), A John Wiley & Sons, Ltd., Publication(2010).
- [71]: Hopkins W.G, Physiologie végétale. Ed De Boeck Universite, (2003).
- [72]:Uzzan A, « Fruits oléagineux et leurs huiles : olive et huile d'olive » inKARLESKIND A : manuel des corps gras. Tome 1. Ed : Technique et documentation. Lavoisier. Paris, (1992).
- [73]:Vierling, Aliments et boisson. « Filière et produits ». Ed : Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine. Bordeaux, (2003).
- [74]:Ademe , Oxydation catalytique de l'acide oleique sous ultrasons par le tetraoxyde de ruthenium: valorisation de l'acide pelargonique pour la precipitationselective de cations metalliques. thesepour l'obtention du grade dedoctor de l'universitepaulverlaine – metzdiscipline : chimiesandrinerup, (2009).
- [77]:Guinebert E, Durand P, Prost M, Grinand R. And Bernigault R, Mesure de la résistance aux radicaux libres. Sixièmes Journées de laRecherche Avicole 2005 .
- [79]: Kirschvink, N., de Moffarts , B & Lekeux, P., the oxidant/antioxidant equilibrium inhorses. *vet j*,2008.
- [82]:Raquibul, S. M., Hasan. DPPH free radical scavengingactivity of some Bangladeshi medicinal plants, Journal of Médicinal Plants Research, Vol. 3(11), 2009.
- [88]:L.Bellebcir , " Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales " 'Thèse de magister 'Université Mentouri de Constantine,(2008).

[89]: J.Zhishen, T .Mengcheng, W .Jianming, the determination of flavonoid Contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, Food chemistry, (1999).

[90]: Mbaebie .BO , Edeoga. HO , Afolayan. AJ , "Phytochemical analysis and Antioxidant activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq." Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2012.