الجمـــهوريـــة الجـــزائريـــة الديـمقراطيـــــــة الشـــعبيـــــة

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعـليـم الـعالـــي والـبحـث الـعلـمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جـامـعــة عمّـــار ثـلـيـــجـــي بالأغـــواط

UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كـلـيــــة الـعـلـــــوم

FACULTE DES SCIENCES

قسم علوم المادة

DEPARTEMENT Sciences de la Matière

مذكرة ماستر

الميدان: علوم المادة

الفرع: كيمياء

التخصص :كيمياء عضوية تطبيقية

من إعداد الطالبة: زخروف شيماء

بعنوان:

تقييم نشاط مضادات الأكسدة لأوراق شجرة الفستق الأطلسي

نوقشت علنا يوم : 27 جوان 2024

أمام لجنة المناقشة المكونة من:

بن قشوة ماجدة	أستاذ محاضرأ- جامعة عمار ثليجي_ الأغواط	رئيسيا
بوزيان أمال	أستاذ محاضر ب - جامعة عمار ثليجي_ الأغواط	مناقشا
عمي يسمينة	أستاذ مساعد أ - جامعة عمار ثليجي_ الأغواط	مشرفا

السنة الدراسية 2024/2023

شكر وتقدير

قال تعالى " وما توفيقي الا بالله عليه توكلت واليه أنيب" صدق الله العظيم

بداية أشكر الله تعالى وأحمده على بلوغي لهذا المستوى والحمد لله والشكر له بما من علينا به من نعمة

والصلاة والسلام على خير خلقه الاميين نبينا محمد واله

الأطهار وأصحابه عليه أفضل الصلوات وأزكى التسليم

أتقدم بجزيل الشكر والتقدير والامتنان الى رئيسة اللجنة الاستاذة بن قشوة ماجدة و الشكر الخالص الى

الاستاذة الممتحنة بوزيان امال لقبولهم مناقشة واثراء هذه المذكرة

أتقدم بجزيل الشكر الى الاستاذة المشرفة عمي يسمينة التي بخبرتها قمت بانجاز هذا العمل و بمجهوداتها

الكبيرة.

و نخص بالشكر البروفيسور يوسفي محمد مدير مخبر البحث للعلوم الاساسية على استقباله لنا و فتحه

لنا ابواب المخبر و الاساتذة حراث محمد و جريدان عمر

كما أتقدم بخالص الشكر والتقدير الى جميع الاساتذة المحترمين لقسم علوم المادة

وخاصة اساتذة الكيمياء و لكل من ساهم في انجاز هذا العمل

قائمة الأشكال

الشكل1: التوزيع الجغرافي للبطم الأطلسي في مناطق من العالم..... 1

الشكل 2: التوزيع الجغرافي لشجرة الفستق الأطلسي في الجزائر 2

الشكل 3: شجرة البطم في سهوب الجزائر 3

الشكل 4 :حمض الغاليك 5

الشكل 5 :بلديات ولاية الأغواط 8

الشكل6: المادة النباتية على شكل مسحوق 9

الشكل7: نزع الصبغيات والليبيدات والحصول على طورين: عضوي و مائي.....10

الشكل8: جهاز المبخر الدوار.....10

الشكل9: مخطط استخلاص المادة النباتية.....11

الشكل 10 :التفاعل بين حمض الغاليك ومركبات الموليبدينوم في فولين سيوكالتيو 12

الشكل 11 :معادلة تثبيط جذر DPPH بواسطة مضادات الأكسدة 14

الشكل 12 :معادلة إرجاع شوارد الحديد الثلاثية Fe^{+3} بواسطة مركب TPTZ 17

الشكل13 :المنحنى العياري لحمض الغاليك 20

الشكل 14:المنحنى العياري لحمض الأسكوربيك للنشاط المضاد للأكسدة DPPH 26

الشكل15: المنحنى العياري لحمض الأسكوربيك للنشاط المضاد للأكسدة FRAP.....28

الشكل 16 :المنحنى العياري لحمض الأسكوربيك للنشاط المضاد للأكسدة ABTS 31

الشكل 17 : ACP من المستخلصات الفينولية من أوراق الفستق.....36

قائمة الجداول

الجدول 1: أنواع شجرة الفستق..... 3

الجدول2 : المواد والوسائل المستعملة في الدراسة 7

الجدول3 : التصنيف العلمي لشجرة الفستق الأطلسي 8

الجدول 4 : كمية الفينولات لمستخلصات الاستخراج سائل-سائل.....21

الجدول5 : كمية الفينولات لمستخلصات الاستخراج صلب-سائل.....23

الجدول 6 : دراسات سابقة عن فينولات اوراق الفستق الاطلسي 25

الجدول 7: نتائج اختبار النشاط المضاد للجذور الحرة DPPH.....27

الجدول 8: نتائج اختبارالنشاط المضاد للأكسدة FRAP 29

الجدول 9: نتائج اختبار النشاط المضاد للأكسدة ABTS 32

الجدول 10: مصفوفة الارتباط بين TPC والأنشطة المضادة للأكسدة لمستخلصات الأسيتات ..33

الجدول 11 :مصفوفة الارتباط بين TPC والأنشطة المضادة للأكسدة لمستخلصات الميثانول

الجدول 12 : الترابط بين المتغيرات والعوامل (تحليل العنصر الرئيسي) 35

قائمة الاختصارات

A	الامتصاصية
A_0	الإمتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلصات النباتية
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6- sulphonic acid
ACP	تحليل العنصر الرئيسي
A_1M	مستخلص ورق شجرة الفستق الأطلسي من منطقة العسافية جنس ذكر
A_2M	مستخلص ورق شجرة الفستق الأطلسي من منطقة العسافية جنس ذكر
D_2F	مستخلص ورق شجرة الفستق الأطلسي من منطقة حاسي الدلاعة جنس أنثى
D_5F	مستخلص ورق شجرة الفستق الأطلسي من منطقة حاسي الدلاعة جنس أنثى
D_1M	مستخلص ورق شجرة الفستق الأطلسي من منطقة حاسي الدلاعة جنس ذكر
DPPH	هيدازيل بكيل فنيل ثنائي 2.2
GAE	حمض الغاليك مكافئ
IC50	التركيز الذي يثبط 50 **%**من تشكل الجذر
I_2F	مستخلص ورق شجرة الفستق الأطلسي من منطقة انفوس جنس أنثى
K_1F	مستخلص ورق شجرة الفستق الأطلسي من منطقة الخنق جنس أنثى
LSF	مخبر البحث للعلوم الأساسية
MS	المادة النباتية الجافة
$R^{\cdot}$	جذر حر
ROS	اصناف الاوكسجين الفعالة
ROO	جذر البيروكسيل
RO	جذر الالكوكسيل
PI%	لنسبة المئوية للتثبيط
%	النسبة المئوية
T_0F	مستخلص ورق شجرة الفستق الأطلسي من منطقة ترقلل جنس أنثى
T_1F	مستخلص ورق شجرة الفستق الأطلسي من منطقة ترقلل جنس أنثى
T_0M	مستخلص ورق شجرة الفستق الأطلسي من منطقة ترقلل جنس ذكر
T_2M	مستخلص ورق شجرة الفستق الأطلسي من منطقة ترقلل جنس ذكر

الفهرس

مقدمة عامة..... 1

1.2الأدوات والمواد المستعملة في الدراسة 7

2.2.المادة النباتية..... 7

2 .2. 1طرق الإستخلاص(نقع) ..... 9...

3.2.طرق العمل 11

1.3.2التحديد الكمي للفينولات..... 11.

2. 2.3.طريقة العمل :..... 12

4.2.اختبار النشاط المضاد للأكسدة.DPPH..... 14

1.4.2.تحضير المحاليل المرجعية ..... 14...

2. 2.4.تحضير العينات..... 15

5.2.اختبارالنشاط المضاد للأكسدة $ABTS^{+}$..... 15

1.5.2.تحضير محاليل العمل:..... 16

2.5.2.تحضير المحاليل المرجعية..... 16....

6.2.اختبار قدرة الحديد الارجاعية FRAP..... 17

3. النتائج والمناقشة..... 20

1.3اختبار النشاط المضاد للأكسدة DPPH..... 26

2.3 .اختبار النشاط المضاد للأكسدة FRAP 28

3.3.اختبار النشاط المضاد للأكسدة ABTS..... 30

4.3.مصفوفة ارتباط المستخلصات..... 33....

5.3.دراسة إحصائية لمستخلصات الفستق الأطلسي..... 35

الخاتمة..... 39

المصادر و المراجع..... 42

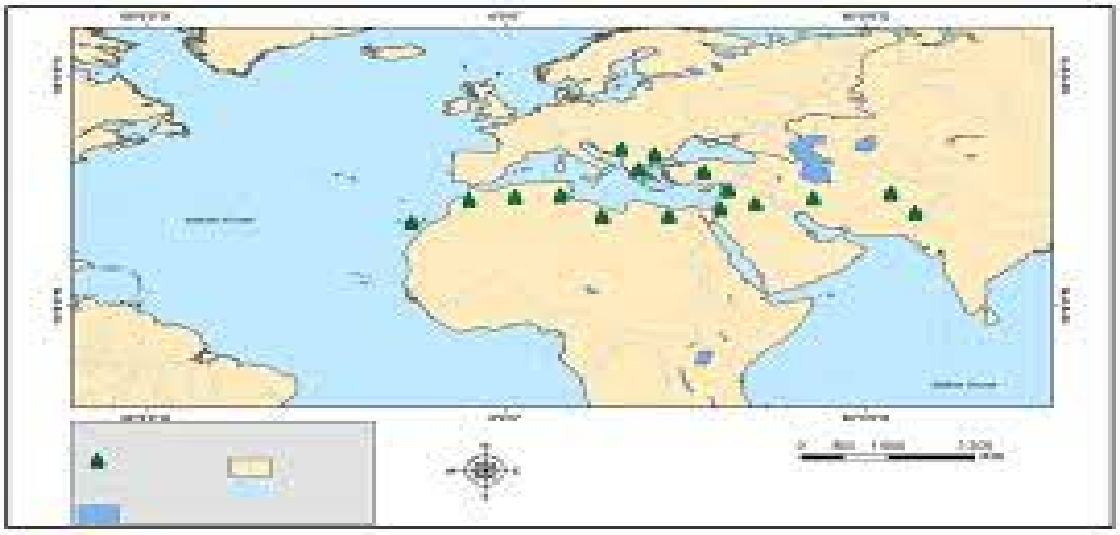
مقدمة عامة

مقدمة عامة

أدت الثورة الصناعية وتطور الكيمياء العضوية إلى تفضيل المنتجات المصنعة للمعالجة الدوائية على المعالجة بالأعشاب**[1]** .. واعتقد البعض بأن العودة لاستعمال النباتات الطبية في التداوي هو إما ضرب من التخلف**[2]** .. أو خيار لذوي التعليم الضعيف أو ذوي الدخل المنخفض أو ببساطة كخرافة دينية ليس لها قيمة دوائية ، إلا أ ن الواقع عكس ذلك فقد أوضحت البحوث الحديثة أ ن الاعتماد على المواد العلاجية المصنعة له الكثير من السلبيات التي تجلت في التأثيرات الجانبية وسميتها المزمنة إذ تعرف الأدوية المتوفرة من ظهور سلالات مقاومة لها بالإضافة إلى ارتفاع تكلفة العلاج **[3]** .

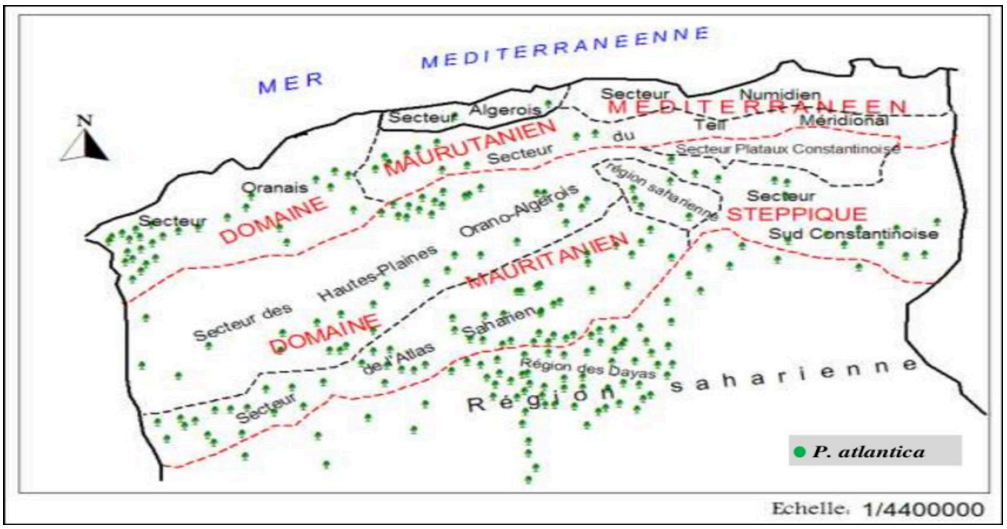
ونحن كباحثين نتطلع في دراستنا هذه لمعرفة نشاط مضادات الأكسدة لأوراق شجرة الفستق الأطلسي ، فماهي شجرة الفستق الأطلسي ؟ وماهي فوائدها ؟

البطم الأطلسي أو المستكي أو البطوم نوع شجري معمر يتبع جنس البطم وينتمي إلى الفصيلة البطمية ،موطنه الأصلي المغرب العربي والمشرق العربي وغرب آسيا وصولا إلى إيران**[4]**.



الشكل(1): التوزيع الجغرافي للبطم الأطلسي في مناطق من العالم [5].

بينما توضح الصورة التالية توزيع شجرة االفستق الأطلسي في الجزائر



الشكل (2): التوزيع الجغرافي لشجرة الفستق الأطلسي في الجزائر[6].

لهذا النبات وجود مميز في تخوم الصحراء الجزائرية أي في منطقة السهوب ، ومن مميزات هذا النبات أنه يتواجد أينما يتواجد نبات السدر حيث تتم عملية تكاثر هذه الشجرة طبيعيا وفق ظروف خاصة, وذلك كون بذورها تحتاج معاملة استثنائية لتكون في حالة تسمح بإنتاشها. إذ يقوم طائر السرندي بأكل ثمرة شجرة البطم والتي تسمى ثمرة الخُذيري في منطقة الأغواط و عندما يحط على غصن من شجرة السدر يلقيها مع فضلاته وبعد مدة تظهر شجيرة البطم تحت شجرة السدر ثم تكبر على حساب الشجرة المضيفة حتى تبقى وحدها مكان السدر[7].

الشكل (3): شجرة البطم في سهوب الجزائر [8]

يمكن أن يصل طولها إلى 15 متر وقطرها قد يتجاوز 60 سم, أوراقها متساقطة مركبة ريشية, تضم من 3- 4 أزواج من الوريقات. وشجرة البطم بطيئة النمو كغيرها من الأشجار التي تعمر طويلا إذ تصل أعمارها إلى 400 سنة وتحتاج للحماية عند تشجيرها **[9]** تختلف أنواع شجرة الفستق حسب البلد كما يوضح الجدول

الجدول (1): أنواع شجرة الفستق[10]

الإسم باللاتيني	الإسم بالعربي
Pistacia atlantica	البطم الأطلسي
Pistacia afghanistania	البطم الأفغاني
Pistacia terebinthus	البطم التربنتيني
Pistacia texana	البطم التكساسي
Pistacia vera	الفستق الحلبي
Pistacia lentiscus	البطم العدسي
Pistacia palaestina	البطم الفلسطيني
Pistacia khinjuk	بطم كينجوك
Pistacia khinjuk	البطم المكسيكي

علاوة على ذلك هو نبات طبي بامتياز، وقد أثبتت ذلك النتائج التي تم الحصول عليها فيما يتعلق باستخدامه في علاج أمراض الفم والأكزيما والشلل والإسهال والتهابات الحلق وحصوات الكلى والربو**[11]** ويعتبر عاملا قابضا ومضادا ل :الالتهابات، الحرارة ، البكتيريا و الفيروسات **[12]**؛ كما يستخدم النبات في تحضير بعض مستحضرات التجميل بنسبة 21.4٪ مثل صابون تازة الشهير **[13]**.

مضادات الأكسدة هي عبارة عن جزيئات تحافظ على الخلايا من التلف الذي قد تسببه الجذور الحرة فيها وهي ناتج طبيعي عن عملية الأيض **[14]**.كما يمكن تعريفها بأنها مواد مانحة لذرات الهيدروجين أوأنها تتحد مع الجذر وتحوله إلى مركب مستقر كما هو في المعادلة التالية **[15]** :

$$ROOH + AH\bullet \longleftarrow ROO\bullet + AH_2$$

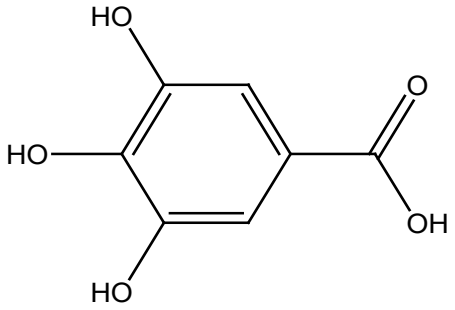
$$A\bullet + AH_2 \longleftarrow AH\bullet + AH$$

والدور الأساسي لهاته الأخيرة هو كسر سلسلة التفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة ، امتصاص الأشعة فوق البنفسجية و المرئية، كبح الجذور الحرة، توقيف انتقال الالكترونات وإزالة المعادن**[16]** .

في حين تعرف الجذور الحرة أو الشوارد الحرة أنها عبارة عن ذرة أو مجموعة من الذرات تحتوي على الكترون غير مزدوج على الأقل، وعندما يتحول الإلكترون من مزدوج إلى غير مزدوج فإن خطره يزيد ويصبح غير مستقر**[17]**.

تنتج النباتات مركبات عضوية معقدة ليس لها وظيفة مباشرة في النمو تسمى مركبات الأيض الثانوي والتي تنتج من مركبات الأيض الأولي (الكربوهيدرات، البروتينات والدهون) حيث يتجلى دورها في الدفاع عن النبات فهي بمثابة جهاز المناعة للنبات**[18]** وتمثل المركبات الفينولية قسما بالغ الأهمية في

حقل منتجات الأيض الثانوي وذلك لتعددها وتباين هياكلها البنائية. وتعرف الفينولات على أنها مركبات غير آزوتية يتم تخليقها من أيض حمض الشكميك أو من متعدد الأسيتات **[14]** . والشكل الموالي يوضح صيغة حمض الغاليك.



الشكل(4): حمض الغاليك

تمتلك المركبات الفينولية العديد من الخصائص الطبية و أكثرها التي تم وصفها وتحديدها هي الخصائص المضادة للأكسدة، حيث تمتلك العديد من الزمر الوظيفية الموجودة على الحلقة العطرية فعالية مضادة للأكسدة وتعتمد هذه الفعالية بشكل أساسي على ترتيب هذه الزمر على الحلقة العطرية .تحدد البدائل الموجودة على الحلقة العطرية، البنية الكيميائية العامة، عدد مجموعات الهيدروكسيل آلية عمل الفعالية المضادة للأكسدة مثل التخلص من الجذور الحرة أو تخليب المعادن(**العناصر المخلبية هي مواد عضويه تقوم بتغليف العنصر وترتبط به من أكثر من ناحية، او بمعنى اخر ترتبط به على هيئة مخلب، ولذلك سميت بالعناصر المخلبية، وتقوم بقلب العناصر التي تحتفظ بها بعيدا عن مشاكل التربة**) والعناصر المؤكسدة **[19]**.

الأدوات و المواد المستعملة في

الدراسة

1.2 .الأدوات والمواد المستعملة في الدراسة

الجدول(2): المواد والوسائل المستعملة في الدراسة:

الأدوات	المواد
ميزان الكتروني، أوراق الترشيح، حامل، مقص، زجاجيات مختلفة(بيشر، دورق مخروطي، حوجلة عيارية، مخبار مدرج، جهاز الإبانة أو قمع الفصل) أنابيب اختبار، قمع، خلاط كهربائي، مغناطيس، طارحة ماء، ارلينة ماير، زجاجة ساعة، جهاز المبخر الدوار، جهاز المطيافية SHIMADZU-1800 الهاون	هكسان حمض الأسكوربيك ,أسيتات الإثيل ، ثنائي فينيل بكريل هايدرازيلDPPH ، فولين ، حمض الغاليك ، حمض الأسيتيك ترايريديل تريازينTPTZ كلوريد الحديديك $FeCl_3$ فوسفات ثنائي الصوديوم Na_2HPO_4، فوسفات أحادي الصوديوم ، NaH_2PO_4 كلور الصوديوم NaCl ، ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل كربونات الصوديومNa_2CO_3 سيلفات الصوديوم ايثانول مستخلصات أوراق البطم ، ماء مقطر ميثانول، حمض الكلور,

تمت الدراسة في مخبرالبحث والعلوم الأساسية بجامعة عمار ثليجي بولاية الأغواط **LSF**

2.2.المادة النباتية

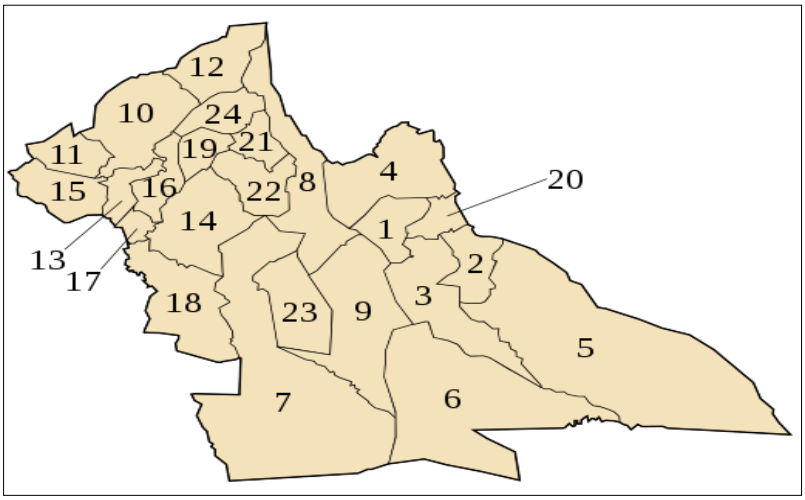
يمكن تصنيف شجرة البطم الأطلسي كما في الجدول التالي :

الجدول(3): التصنيف العلمي لشجرة الفستق الأطلسي [21]

التصنيف العلمي	شجرة الفستق الأطلسي
النطاق	حقيقيات النوى
المملكة	النباتات
الشعبية	مستورات البذور
الرتبة	صابونيات
الفصيلة	البطمية
الأسرة	Anacardioideae
الجنس	Pistacia بطم
النوع	atlantica اطلسي

أ) جمع العينات

بعد أن قام الأستاذ يوسفي بجلب أوراق البطم من مناطق مختلفة من ولاية الأغواط (الخنق 9، حاسي الدلاعة 5 ، العسافية20 ، ترقلل وانفوس 14 ،) وذلك خلال شهر ماي 2021 .



الشكل(5): بلديات ولاية الأغواط [22]

قمنا باستعادة الجزء العلوي من النبات، وذلك بفصل الأوراق وتجفيفها في درجة حرارة الغرفة لبضعة أيام، وتخزينها في أكياس ورقية حتى وقت الاستخدام

ب) فرز الأوراق: يعتمد فرز الرقائق على نفس اللون ونفس الخصائص.

ج) الطحن: يتم سحق العينات المجففة يدويًا باستخدام هاون

د) الغربلة: بعد الطحن، يتم الحصول على مسحوق ناعم وذلك بعد غربلته بواسطة مصفاة (250 ميكرومتر) كما هو موضح في الصورة أدناه:

الشكل(6): المادة النباتية على شكل مسحوق

2 .2.1طرق الإستخلاص(نقع)

❖ **استخلاص صلب – سائل :**

– نزن 2 غ من الأوراق ونضعها في قارورة زجاجية نظيفة

– ننقع ما في القارورة بميثانول / ماء (80 ميليلتر / 20 ميليلتر) لمدة 24 ساعة في درجة حرارة المخبر مع الرج ، ثم نقوم بعملية الترشيح

– بعد عملية الترشيح نقوم بتبخير الرشاحة تحت الضغط المخلخل في جهاز (Rotavapeur) المبخر الدوراني تحت درجة حرارة لا تتجاوز 40 دقيقة .

❖ **استخلاص سائل – سائل**

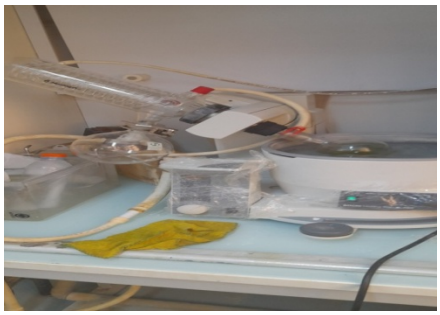
نشرع في عملية فصل انتقائية سائل – سائل بعد الحصول على الطور المائي المتبقي من المرحلة الأولى وفقا لتدرج قطبية المذيبات المستعملة (الهكسان –أسيتات الاثيل).

1- تحضير الطور المائي بإضافة الهكسان عدة مرات بغية نزع الصبغيات والليبيدات .

2-نعيد نفس العملية ولكن باستعمال أسيتات الإيثيل .

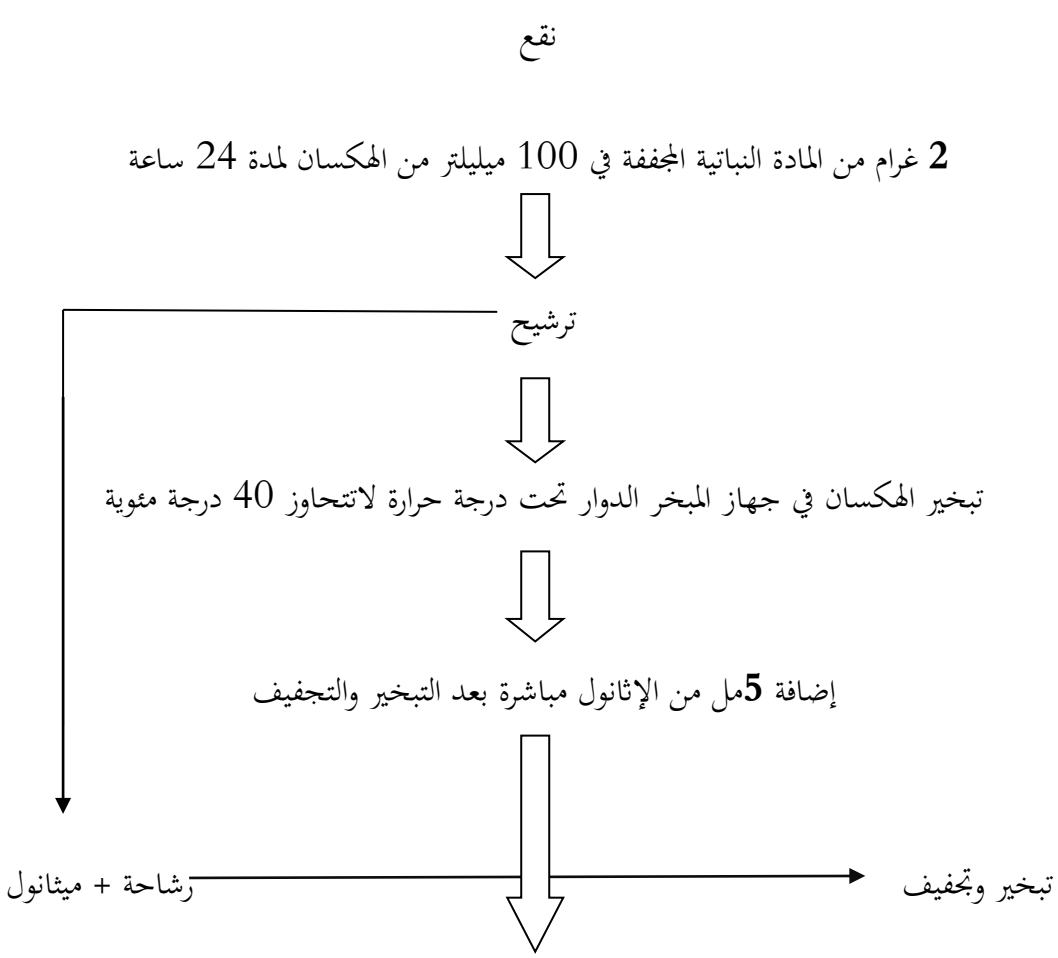
الشكل (7): نزع الصبغيات والليبيدات والحصول على طورين: عضوي و مائي

ثم نضيف كبريتات الصوديوم اللامائية لامتصاص الماء وتجفيفه وبعدها يتم تركيز المستخلصات تحت ضغط منخفض باستعمال جهاز المبخر الدوراني .



الشكل (8):جهاز المبخر الدوراني

بينما تم الإستخلاص الثاني لمستخلصات (**إيثانول / هكسان)و (ميثانول**) كمايلي:



الشكل(9): مخطط استخلاص المادة النباتية

3.2.طرق العمل

بعد تحضير العينات والمستخلصات قمنا بتحديد كمية الفينولات ونشاط مضادات الأكسدة الخاص بها.

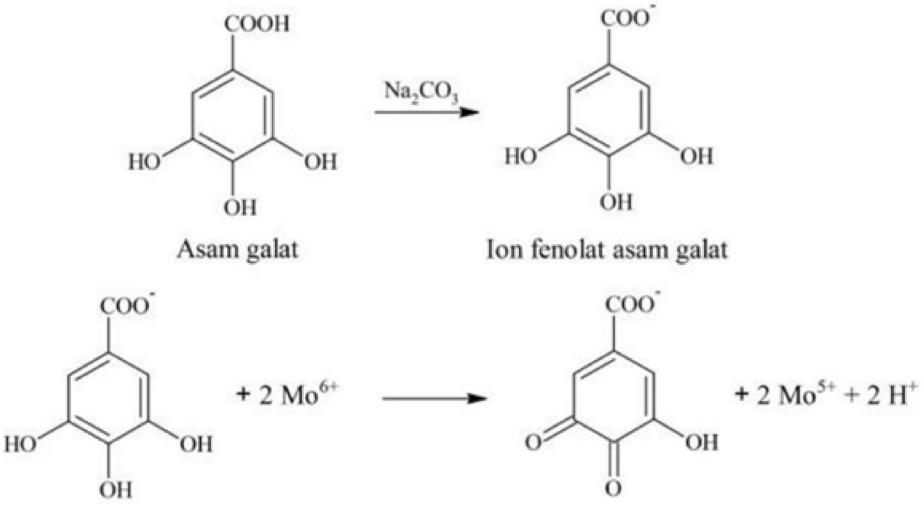
2. 1.3. التحديد الكمي للفينولات:

حدد تركيز الفينولات ضمن الخلاصات النباتية بالاعتماد على الطريقة الطيفية كما يلي:

– حضرت سلسلة عيارية من حمض الغاليك انطلاقاً من محلول أم تركيزه غرام/لتر فكانت تراكيز السلسلة محصورة بين (0,35–0,004 غرام/لتر) وذلك بأخذ حجوم مختلفة تم تمديدها باستخدام الميثانول .

– تحضيركاشف الفولين المائي % 10 حجم/حجم ,

– المحلول المائي لكربونات الصوديوم المستعمل 2 % وزن/حجم .



الشكل (10): التفاعل بين حمض الغاليك ومركبات الموليبدينوم في فولين سيوكالتيو[15]

2. 2.3.طريقة العمل :

عملنا على تعيين نسبية الفينولات الكلية في النبات، بدلالة منحنى عياري خطي لحمض الغاليك حيث تشكل المنحنى المعياري الخطي لحمض الغاليك من خلال قياس الامتصاصية الموافقة لكل تركيز من تراكيز المنحنى المعياري وذلك بعد أخذ 100 ميكرولتر من المحلول ذي التركيز المطلوب مع 500 ميكرولتر من حمض الفولين سيوكالتيو ومزجه جيدا وبعدها بدقيقتين نضبف2 ميليلتر من المحلول المائي لكربونات الصوديوم اللامائية ومزجه بشكل جيدا أيضا نضع المزيج في مكان مظلم لمدة 30 دقيقة

وتقاس امتصاصية المحاليل بواسبطة جهاز قياس الطيف الضوئي عند طول موجة 760نانومتر أما بالنسبة لتعيين الفينولات الكلية في العينات فحضر تركيز ممدد لكل مستخلص وعومل بنفس الطريقة التي عومل بها المنحنى العياري لمحلول حمض الغاليك، وبعدها تم قياس امتصاصية هذه العينة المجهولة عند الطول الموجي نفسه وقد تكرر تحضير وتحليل كل عينة ثلاث مرات.

وتم حساب محتوى الفينولات الكلي من المنحنى العياري ب ميليغرام /غرام بالعلاقة:

$$\mathbf{C(mg\ /g)=}\frac{\mathbf{A}}{\mathbf{K}}\times \boldsymbol{D}\times\frac{\boldsymbol{V}}{\boldsymbol{M}}$$

A: الإمتصاصية عند 760 نانومتر

K: هو ميل المنحنى القياسي لحمض الغاليك

D: معامل التمديد بالنسبة للمستخلصات

V: الحجم المذاب فيه المستخلصات

M: كتلة المستخلصات

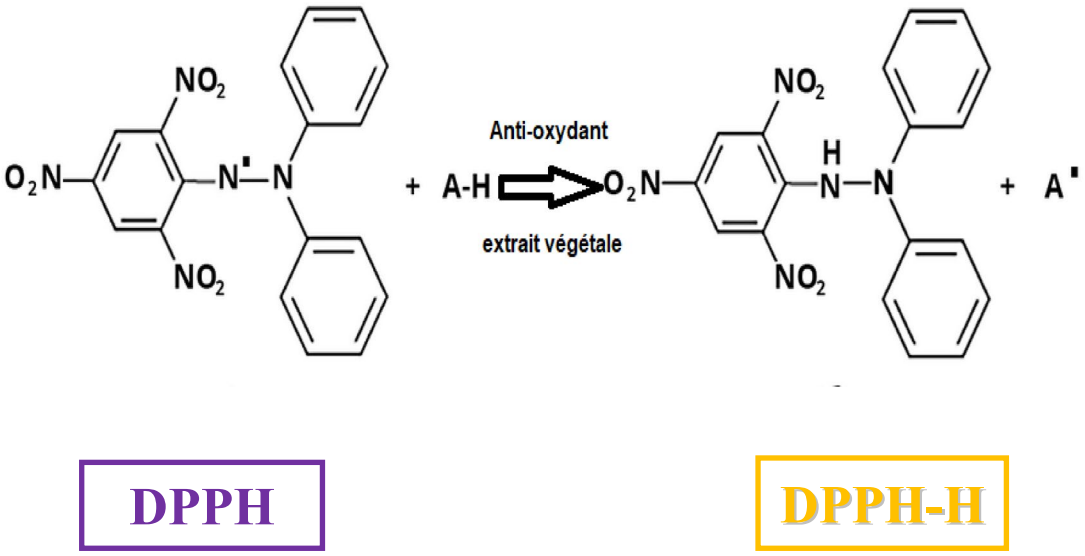
C: كمية المركبات الفينولية الكلية

2. 3.3. طرق تقدير نشاط مضادات الأكسدة :

بغرض تقدير الفعل الآسر للجزيئات المضادة للتأكسد للمستخلصات المتحصل عليها، قمنا باختبار النشاط المضاد للأكسدة DPPH و ABTS واختبار القدرة الإرجاعية للحديد FRAP.

4.2.اختبار النشاط المضاد للأكسدة DPPH

هو اختبار مضاد للجذور الحرة يسمى ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل وهو عبارة عن مادة صلبة لونها بنفسجي مسود، يشتق هذا الجذر الحر من جزيئة DPPH-H وهي مادة صلبة غير جذرية لونها أصفر.



الشكل (11): معادلة تثبيط جذر DPPH بواسطة مضادات الأكسدة [24]

2. 1.4.تحضير المحاليل المرجعية

حضرنا محلولا من حمض الأسكوربيك بتركيز 0,03ميليغرام /ميليلتر ثم حضرت منه سلسلة بتراكيز مختلفة تتراوح بين 0,008-0,0016 غرام/لتر نأخذ 1 ميليلتر من كل تركيز ثم نضيف لها 1 ميليلتر من DPPH (250 ميكرومول المحضر في الميثانول)، نقوم برج هذه الأنابيب ونحفظها في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة. نقرأ شدة الإمتصاص الضوئي لكل أنبوب عند طول موجي 517 نانومتر.

2. 2.4.تحضير العينات

– حضر محلول أم من كل مستخلص بتركيز معين، ثم حضرت منه تراكيز ممدة وعوملت بنفس الطريقة السابقة .

– يحتوي الأنبوب الشاهد على المذيب المستخدم في تحضير المستخلصات أو المحاليل المرجعية.

– تعاد كل تجربة 3 مرات

تحسب نسبة التثبيط المئوية (PI)للجذر الحرة بالنسبة لكل عينة كمايلي :

$$\textbf{الفعالية المضادة للأكسدة} = \frac{(\text{امتصاصي العينة} - \text{امتصاصية المرجعي})}{\text{امتصاصية المرجعي}} \times 100$$

5.2.اختبارالنشاط المضاد للأكسدة $ABTS^{+}$

يعتمد هذا الإختبار على قدرة مضادات الأكسدة على تثبيط الجذر الكاتيوني $ABTS^{+}$ ذو اللون الأزرق المخضر الذي يتشكل بعد أكسدة ABTS مع مركبات أخرى مثل سلفات الأمونيوم . لهذا التفاعل يحدث على مرحلتين:

الأولى: تشكل الجذر الكاتيوني $ABTS^{+}$ وذلك باقتناص الكترون من طرف ذرة الآزوت لل ABTS

أما الثانية: فيأخذ الجذر الكاتيوني المتشكل سابقا $H^{\cdot}$ من مضادات الأكسدة ويتشكل $ABTSH^{+}$ حيث يرافق هذا التفاعل نزع اللون من المحلول. تتم قراءة الإمتصاصية بجهاز المطيافية عند طول موجي 734 نانومتر

1.5.2.تحضير محاليل العمل:

تحضير المحلول الموقي pH=7 ,4

- نذيب 0,7098غرام من NA_2HPO_4 و 0,78 غرام منNAH_2PO_4 و 9 غرام من NaCl في كمية من الماء ثم نكملها ل 1 لتر من الماء المقطر .....(1)

- تحضير محلول 20 ميليمول ABTS وذلك بإذابة 0,10937غرام من الجذر ABTS في 10 ميليلتر من الماء المقطر.....(2)

- تحضير محلول 70 ميليمول $K_2S_2O_8$ وذلك بإذابة 0,18922 غرام من $K_2S_2O_8$ في 10 ميليلتر ماء ..... (3)

- نمزج 100ميكرولتر من (3) مع 10 ميليلتر من (2) ونتركه من 12 إلى 24 ساعة.....(4)

- نأخذ 1 ميليلتر من (4) ونضيف لها 25 ميليلتر من (3) وبالتالي نحصل على ال ABTS 20 ميليمول

2.5.2.تحضير المحاليل المرجعية

حضرنا محلولا من حمض الأسكوربيك بتركيز 0,03ميليغرام / ميليلتر ثم حضرت منه سلسلة بتراكيز مختلفة تتراوح بين 0,003-0,0005 غرام/لتر نأخذ 10 ميكرولتر من كل تركيز ثم نضيف لها 2 ميليلتر من ABTS ، نقوم برج هذه الأنابيب ونحفظها في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة لمدة 15 دقيقة. نقرأ شدة الإمتصاص الضوئي لكل أنبوب عند طول موجي 734نانومتر

- تم تحضير تراكيز ممدة لكل مستخلص وعوملت أيضا بنفس طريقة حمض الأسكوربيك

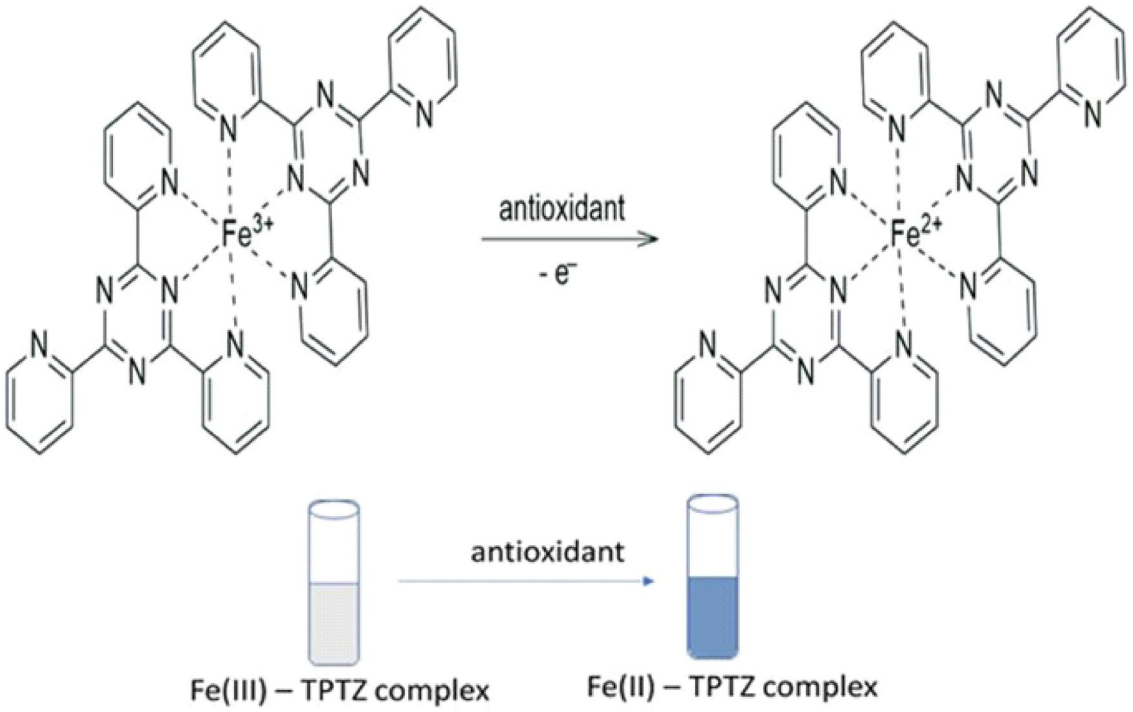
- يحتوي الأنبوب الشاهد على المذيب المستخدم في تحضير المستخلصات أو المحاليل العيارية

- تعاد كل تجربة 3 مرات

تحسب نسبة التثبيط المئوية (PI)للجذر الحرة بالنسبة لكل عينة مثل اختبارالنشاط المضاد للأكسدة .DPPH

6.2.اختبار قدرة الحديد الارجاعية FRAP

يعتمد التفاعل على قياس إرجاع أحد أملاح الحديد الثلاثي وهو مركب TPTZ وتشكيل منتج ذي لون أزرق. تعد مضادات الأكسدة مواد مرجعة ترجع مركب TPTZ المؤكسد لتشكيل المركب الملون الذي يمكن قياس شدة تلونه بطرق مختلفة .



الشكل (12): معادلة إرجاع شوارد الحديد الثلاثية Fe^{+3} بواسطة مركب TPTZ [25]

تم تحضير FRAP انطلاقا من:

- المحلول الموقي 3 ميليمول pH=3.6 وذلك بإذابة 0,62 غرام من اسيتات الصوديوم و 3,2 ميليلتر من حمض الخل في 200 ميليلتر ماء.

- محلول TPTZ وذلك بإذابة 0,3124 غرام من TPTZ و 0,33 ميليلتر من حمض الخل في 100 ميليلتر من الماء.

- محلول $FeCl_3$ بإذابة 0,35 غرام في 25 ميليلتر من الماء.

لرسم الخط العياري نأخذ من كل محلول 50 ميكرولتر ونضيف لها 1 ميليلتر من المزيج (10 ميليلتر موقي و 1 ميليلتر $FeCl_3$ و 1 ميليلتر TPTZ) ثم نحضر سلسلة عيارية من حمض الأسكوربيك انطلاقا من محلول أم تركيزه 9,54 غرام/لتر فكانت هناك تراكيز مختلفة (0,001- 0,02 غرام/لتر)بأخذ حجوم من المحلول الأم وتمديدها. يحضن المزيج لمدة 7 دقائق وبعدها تقاس امتصاصية المحاليل بواسطة جهاز قياس الطيف الضوئي عند طول موجة 593 نانومتر .

- تم تحضير تراكيز ممدة لكل مستخلص وعوملت أيضا بنفس طريقة حمض الأسكوربيك.

- يحتوي الأنبوب الشاهد على المذيب المستخدم في تحضير المستخلصات أو المحاليل العيارية .

- تعاد كل تجربة 3 مرات .

- تحسب نسبة التثبيط المئوية (PI)للجذورالحرة بالنسبة لكل عينة كمايلي:

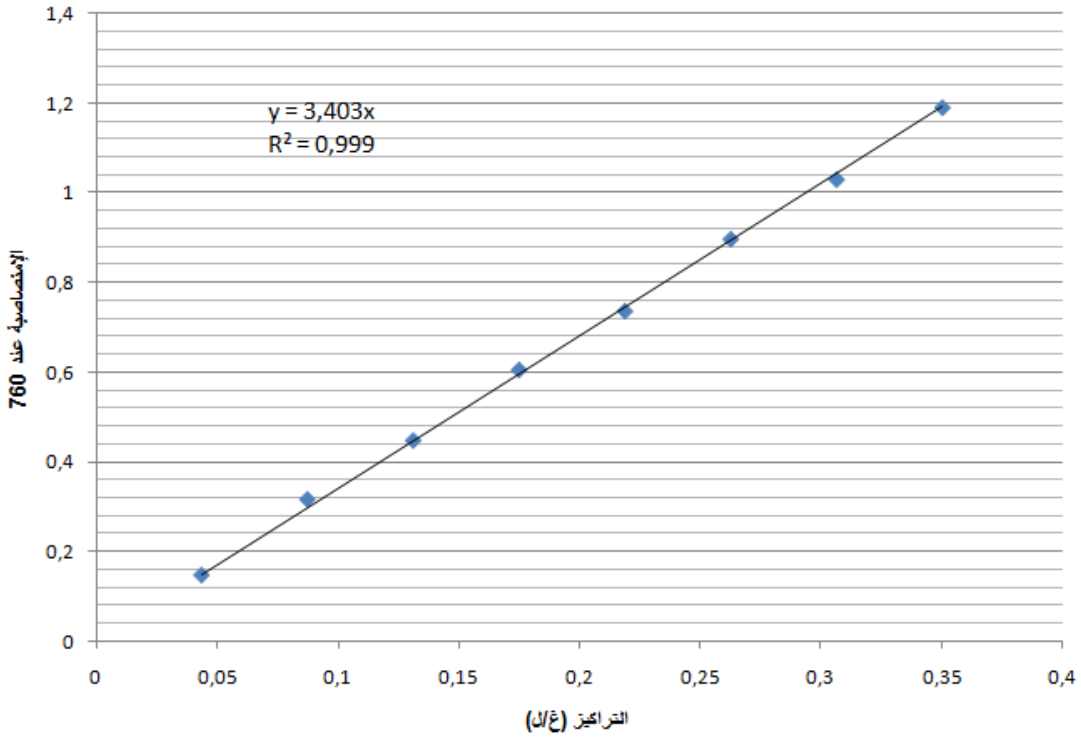
$$\textbf{الفعالية المضادة للأكسدة} = \textbf{100 x} \frac{\text{امتصاصية العينة}}{\text{امتصاصية المرجعي}}$$

النتائج و المناقشة

3. النتائج والمناقشة

توضح الدراسات السابقة أنه لاتوجد طريقة واحدة شاملة وكافية لتقييم الفعالية المضادة للأكسدة بشكل كمي ودقيق و أنه من المستحسن إجراء طريقتين على الأقل لهذا الغرض، لذلك استخدمنا في هذا البحث 3 طرق لتقييم الفاعلية المضادة للأكسدة وهي على الترتيب DPPH

FRAP, ABTS لتكوين صورة متكاملة عن فعالية العينات المدروسة وهذا طبعا بعد التقدير الكلي للفينولات، أين قمنا برسم المنحنى العياري لحمض الغاليك والذي كان كالتالي:



الشكل(13): المنحنى العياري لحمض الغاليك

مستخلصات الاستخراج سائل– سائل

كانت النتائج المتحصل عليها كما في الجدول :

الجدول(4):كمية الفينولات لمستخلصات الاستخراج سائل– سائل

مستخلص	أسيتات مكافئ حمض الغاليك ب ميليغرام / غرام	هكسان مكافئ حمض الغاليك ب ميليغرام/ غرام
$\mathbf{A_1M}$	188,43 ± 2,077	0,3451 ± 0,01
$\mathbf{A_2M}$	265,26 ± 7,685	1,4706 ± 0,008
$\mathbf{D_1M}$	161,43 ± 0,414	3,7349 ± 0,01
$\mathbf{D_2F}$	243,82 ± 1,245	1,6646± 0,023
$\mathbf{D_5F}$	168,33 ± 5,396	0,2142 ± 0,001
$\mathbf{K_1F}$	281,485± 8,073	0,1151± 0,001
$\mathbf{T_0F}$	223,06 ± 1,037	4,3983 ± 0,00
$\mathbf{T_1F}$	191,03± 1,242	0,8231 ± 0,009
$\mathbf{T_0M}$	172,11 ± 5,806	0,0881± 0,00
$\mathbf{T_2M}$	265,45 ± 5,188	2,4615± 0,005
$\mathbf{I_2F}$	226,259 ± 5,608	3,316± 0,005

تختلف قيم المحتويات اختلافًا كبيرًا بين المستخلصات، سواء للهكسان أو للأسيتات، حيث نلاحظ أن أعلى محتوى من إجمالي الفينولات يتم تسجيله في المستخلص الميثانولي لأوراق الفستق الأطلسي لمرحلة أسيتات الإيثيل بين 161.43 و 281.485 ميليغرام/1 غرام، مقابل قيم منخفضة لمستخلصات الهكسان من الرتبة 0.0881 و 4.39 ميليغرام/1 غرام

في حين أبلغ اخرون عن مستخلصات فينولية من أوراق الفستق الأطلسي بحوالي(255.789ميليغرام /غرام) (4.733 ميليغرام /غرام) ، هذه النتائج مشابهة لنتائجنا **[26]**.

وفي دراسة أخرى تحصلوا على محتوى البوليفينول لأوراق مستخلصات الميثانوليك بقيمة 117.3 ميليغرام/1 غرام أين نلاحظ أن قيمنا أعلى قليلاً من عوائد قطبية المذيبات المستخدمة في أسيتات الإيثيل **[27]**.

بالإضافة إلى ذلك، فإن اختلاف المحتوى الكلي لليفنولات للذكور والإناث لمستخلصاتنا ليس مهمًا، على سبيل المثال المستخلص D_1M والمستخلص D_5F يحتويان على محتويات تقريبية على التوالي 161,43، 168.33 ميليغرام/1 غرام ، و نُشر في دراسة **[28]** عدم وجود تباين كبير في جنس أوراق الفستق الأطلسي في منطقة الأغواط.

من ناحية أخرى، نلاحظ أن المستخلص K_1F الذي يسجل المحتوى الأقصى (281 485 ميليغرام/غرام) أعلى من المحتوى الذي وجد في دراسة أخرى (88,41 ميليغرام/غرام) في شهر مايو لنفس الموقعK **[8]**.

ومع ذلك، تظل مستويات هذه المركبات متغيرة بشكل كبير وفقًا لعدة عوامل مثل المذيبات المستخدمة وبروتوكول الاستخراج والظروف البيئية (التربة والمياه والمناخ وما إلى ذلك)

مستخلصات الاستخراج صلب– سائل:

يبين الجدول أدناه نتائج مستخلصات الاستخراج صلب- سائل:

الجدول (5) :كمية الفينولات لمستخلصات الاستخراج صلب–سائل

مستخلص	هكس/ ايثانول مكافئ حمض الغاليك ب ميليغرام/غرام	ميثانول مكافئ حمض الغاليك ب ميليغرام/غرام
A_1M	ND	582,17± 10,8
A_2M	0,715 ± 0,004	427,121± 4,154
D_1M	0,901± 0,031	428,519± 3,321
D_2F	1,020 ± 0,036	1012,3± 2,493
D_5F	0,751 ± 0,035	407,502 ± 1,656
K_1F	0,831 ± 0,002	601,1± 0,001
T_0F	0,738± 0,022	392,260± 24,011
T_1F	0,452± 0,003	615,46± 3,32
T_0M	0,565± 0,024	855,86± 0,828
T_2M	0,576±0,008	823,69± 2,444
I_2F	0,660± 0,043	726,14± 7,985

بشكل عام، يشير تقدير إجمالي محتوى البوليفينول باستخدام كاشف فولين سيوكالتيو إلى أن أوراق الفستق الأطلسي المستخرجة في الميثانول غنية بهذه الجزيئات، مع قيم تتراوح من 392.26 إلى 1012.3 ميليغرام/غرام من المادة النباتية .

تحتوي عينة D_2F على أقصى محتوى في الميثانول والإيثانول بقيم على التوالي (1012.3 ميليغرام/غرام و 1.02 ميليغرام/غرام)، ومع ذلك يتم تسجيل الحد الأدنى من المحتوى للعينة T_0F من النتائج، يتضح أن هناك تباينًا كبيرًا في محتويات المركبات الفينولية وأن المحتويات تختلف من شجرة إلى أخرى مستقلة عن جنس الذكر والأنثى. سمحت لنا هذه النتائج باستنتاج أن كميات الفئات المختلفة من المركبات الفينولية هي شخصية محددة لكل شجرة وتعتمد على عوامل فيزيائية مختلفة.(ذكرت سابقا)

واعتماداً على نوع مذيب الاستخراج وطريقة الاستخراج، تم الحصول على أفضل مستويات البوليفينول الكلي عن طريق استخلاص صلب – سائل باستعمال الميثانول النقي (1012.3 ميليغرام/غرام)، وسائل– سائل باستعمال أسيتات الإيثيل (281.485 ميليغرام/غرام)، على غرار الهكسان والإيثانول (4.39 ميليغرام/غرام)إذ تبدو هذه النتائج منطقية للغاية نظرًا لأن المذيبات المستخدمة ذات قطبية متغيرة كون الميثانول ينتقي جميع الجزيئات القطبية المرجعة بدون اسثناء على غرار أسيتات الإثيل الذي ينتقي المركبات الفينولية فقط .

يعطي الجدول(6)بعض الأعمال السابقة على مستويات المركبات الفينولية في أوراق الفستق

الجدول (6): دراسات سابقة عن فينولات اوراق الفستق الاطلسي

المذيب	المحتوى بالميليغرام /1 غرام من المادة النباتية	المراجع
أسيتات الايثيل	514	29
ميثانول	42,2-57,5	30
(8/2) ماء /ميثانول	58,8-64,5	31
أسيتات الايثيل	533	32
ميثانول	256	26
ميثانول	25	33
ميثانول	246	34
أسيتات الايثيل	12,62	34

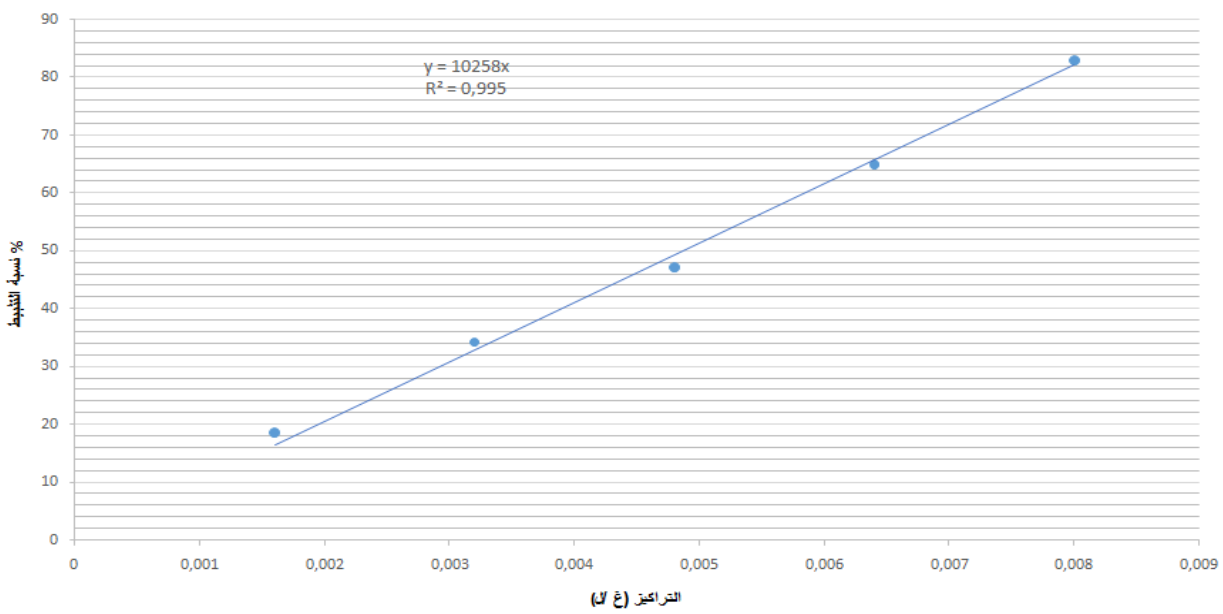
وخلص إلى أن مستخلصات الأوراق من الفستق الأطلسي كانت مصدراً واعداً للمركبات الفينولية التي تتراوح بين 44.12 ميلغرام/غرام إلى 104.46 ميلغرام/غرام ومن 5.42 إلى 20.73 ميلغرام/غرام للفاكهة. لتأكيد أن الأوراق كانت أغنى في البوليفينول من الثمار**[30]**.

كشفت الصورة الكيميائية النباتية لأوراق وثمار الفستق الأطلسي عن مستوى عالٍ إلى حد ما من الأيض الثانوي.

في الواقع، البوليفينول هي مكونات شائعة للأطعمة ذات المنشأ النباتي ومضادات الأكسدة الرئيسية للنظام الغذائي البشري. إنها تحمي المكونات الخلوية من الضرر التأكسدي وبالتالي تحد من خطر الإصابة بالعديد من الأمراض التنكسية المرتبطة بالإجهاد التأكسدي.

1.3اختبار النشاط المضاد للأكسدة DPPH

حددت القدرة الكمية المضادة للأكسدة لخلاصة العينات المدروسة من نبات البطم من خلال دراسة قدرتها على تثبيط ال DPPH بالاعتماد على معادلة المنحنى المعياري الخطي لحمض الأسكوربيك المرسوم كتابع للامتصاصية بدلالة سلسلة التراكيز المتدرجة



الشكل (14): المنحنى العياري لحمض الأسكوربيك DPPH

يبين الجدول(7) النشاط المضاد للجذور الحرة بواسطة DPPH في 1 ميليغرام من مكافئ حمض الأسكوربيك لأنواع مختلفة من المستخلصات (هكسان، أسيتات، ميثانول)

الجدول (7): النشاط المضاد للجذور الحرة بواسطة DPPH

مستخلص	ميثانول مكافئ حمض الأسكوربيك ب ميليغرام / غرام	أسيتات مكافئ حمض الأسكوربيك ب ميليغرام / غرام	هكسان مكافئ حمض الأسكوربيك ب ميليغرام / غرام
A_1M	143,44±3,132	143,64±6,156	0,0084±0,01
A_2M	185,22±0	192,75±7,8	3,6682±0,17
D_1M	169,046±0,195	185,62±6,34	4,6508±0,24
D_2F	186,57±0,677	157,28±7,24	4,7835±0,19
D_5F	143,83±6,770	134,05±3,36	0,1668±0,0
K_1F	178,69±1,473	176,32±8,09	0,0083±0,01
T_0F	163,54±1,788	175,8±2,48	1,921±0,12
T_1F	153,57±1,276	158,87±12,49	1,235±0,04
T_0M	185,4±3,425	192,06±6,76	0,073±0,000
T_2M	190,45±2,636	526,37±39,23	7,528±0,18
I_2F	162,85±1,919	188,72± 2,48	8,274±0,020

من هذه النتائج الواردة في هذا الجدول، يلاحظ أن النشاط المضاد للأكسدة متشابه بين الأسيتات والميثانول مع اختلاف طفيف

يعطي المستخلص T_2M أعلى قيمة (526.37ميليغرام/غرام) في الأسيتات، في حين أن D_5F لديها أقل قيمة (134.05 ميليغرام/غرام).

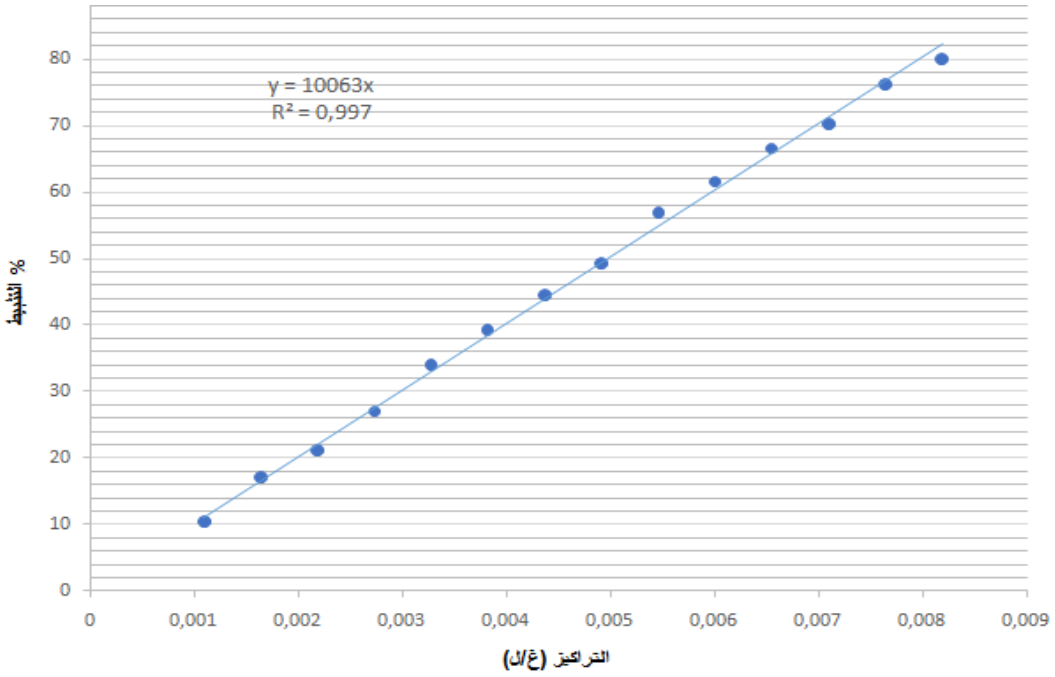
بالإضافة إلى ذلك، فإن المستخلصات D1M D5F لها قيم أقل في الميثانول على التوالي 169.046 ميليغرام/غرام و 143.83 ميليغرام/غرام.

إذا قارنا قيم مكافئ حمض الأسكوربيك مع المحتوى الكلي للفينولات للمستخلصات في طرق الاستخراج الثلاثة، فيمكننا أن نتوقع أن المحتوى الكلي للفينولات مسؤولة عن نشاط مكافحة الجذور (DPPH) للبعض كمستخلص T_2M .

2.3 .اختبار النشاط المضاد للأكسدة FRAP

تم تحديد القدرة المضادة للأكسدة للمستخلصات المختبرة من خلال طريقة FRAP بناءً على قدرة مضادات الأكسدة الموجودة في المستخلصات على تقليل TPTZ-Fe (III) في TPTZ-Fe (II).

يعبر عن نتائج حمض الأسكوربيك بمكافئ ميليغرام / غرام عن طريق منحنى المعايرة.



الشكل (15): المنحنى العياري لحمض الأسكوربيك FRAP

وترد نتائج مستخلصاتنا في الجدول أدناه

الجدول (8): نتائج اختبار النشاط المضاد للأكسدة FRAP

مستخلص	ميثانول مكافئ حمض الأسكوربيك ب ميليغرام / غرام	أسيتات مكافئ حمض الأسكوربيك ب ميليغرام / غرام	هكسان مكافئ حمض الأسكوربيك ب ميليغرام / غرام
A_1M	20,76±0,525	27,902±0,011	0,011±0,000298
A_2M	19,06±0,08	56,061±0,137	0,543±0,028
D_1M	20,47±0,82	17,801±0,016	0,458±0,019751
D_2F	23,63±1,303	34,346±0,10	0,090±0,001084
D_5F	21,89±0,1023	8,69±0,04	0,012±0,000247
K_1F	31,947±0,0506	18,253±0,024	0,0083±0,01
T_0F	22,23±0,0113	15,593±0	0,438±0,016551
T_1F	27,043±1,1058	25,595±0	0,500±0,000712
T_0M	31,455±0,88	16,291±0,056	0,169±0,053248
T_2M	32,62±0,58	38,779±0,016	7,528±0,18
I_2F	23,74±1,52	20,703±0,016	0,233±0

نجد نفس ترتيب نشاط المستخلصات في أنواع الاستخراج الأسيتات والميثانول.

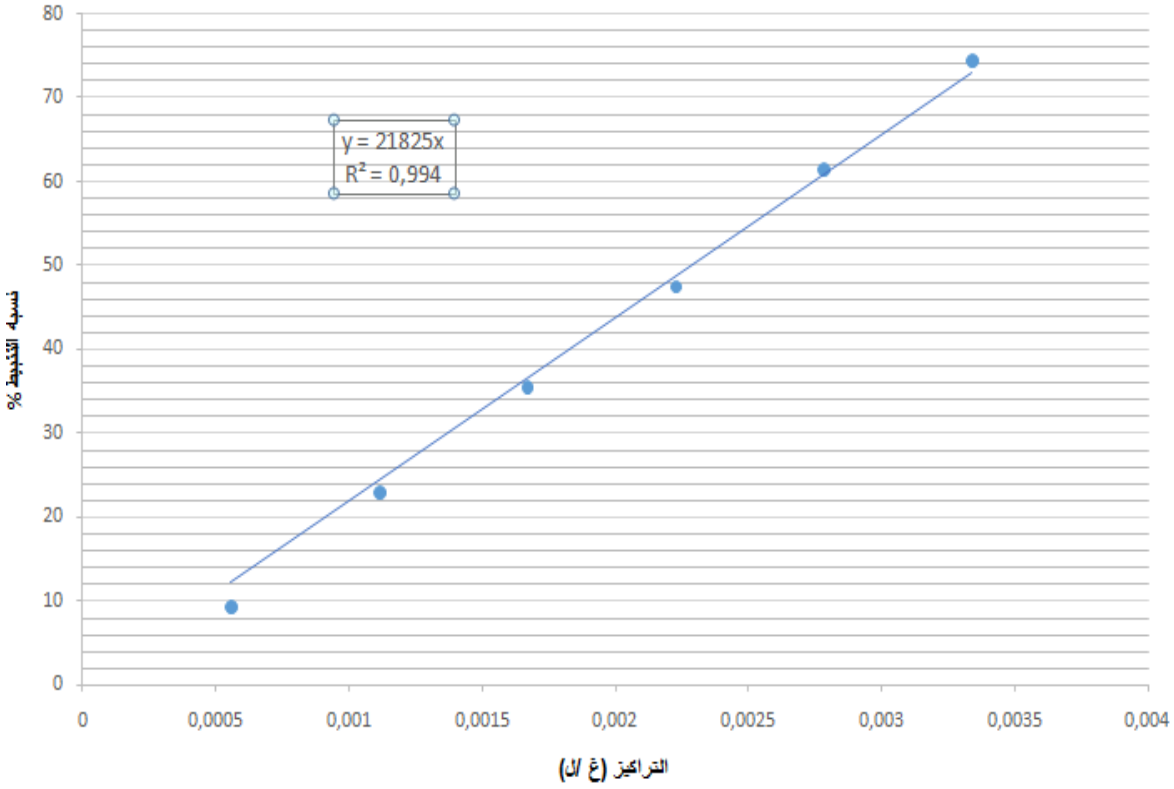
تعتبر قيم النشاط المضاد للأكسدة عن طريق تقليل الحديد مهمة نسبيًا في الميثانول والأسيتات. من المحتمل أن تكون الطاقة المنخفضة ناتجة عن وجود مجموعة الهيدروكسيل في المركبات الفينولية التي يمكن أن تكون بمثابة مانح للإلكترون.

علاوة على ذلك، لاتعتمد قوة التقليل على المتبرع بالإلكترون فحسب، بل تعتمد أيضًا على الجزيء المقبول. غالبًا ما يستخدم الحديد الحديدي (Fe^{+3}) كمقبل لأنه يقبل بسهولة الإلكترونات من جميع المتبرعين بالإلكترون تقريبًا في الأنظمة البيولوجية.

يحتوي مستخلص A_2M على محتوى أقصى في الأسيتات (56.061 ميليغرام/غرام) مقابل قيمة أقل في الميثانول (19.06 ميليغرام/غرام) مما يسمح لنا بالقول إن قيم المحتوى الكلي للفينولات التي يحددها اختبار الفولين قد تحتوي على مركبات أخرى غير المركبات الفينولية أو بنية الجزيئات الفينولية للأغلبية غير نشطة.

3.3.اختبار النشاط المضاد للأكسدة ABTS

التقنية المستخدمة لقياس القدرة المضادة للأكسدة للمستخلصات التي يتم الحصول عليها من أوراق شجرة الفستق الأطلسي هي طريقة نقل الإلكترون التي تستخدم أيضًا الكشف الطيفي للتحكم في تركيز المركب الملون حيث سمحت تقنيته بمقارنة وتقييم المستخلصات التي تم اختبارها من حيث مضادات الأكسدة.



الشكل (16): المنحنى العياري لحمض الأسكوربيك ABTS

الجدول (9): نتائج اختبار النشاط المضاد للأكسدة ABTS

مستخلص	ميثانول مكافئ حمض الأسكوربيك ب ميليغرام / غرام	أسيتات مكافئ حمض الأسكوربيك ب ميليغرام / غرام	هكسان مكافئ حمض الأسكوربيك ب ميليغرام / غرام
A_1M	2,904± 0,016	2,507±0,18	0,001±0,002155
A_2M	3,237± 0,273	3,203±0,143	0,055±0,0021
D_1M	2,361±0,089	5,45±0,44	0,044±0,0005
D_2F	4,268±0,037	4,89±0,25	0,05±0,0051
D_5F	2,496±0,279	2,444±0,123	0,002±0,0007
K_1F	2,614±0,155	4,159±0,088	0,001±0,00031
T_0F	3,27±0,425	4,194±0,26	0,020±0,001
T_1F	2,54±0,338	4,519±0,097	0,013±0,0037
T_0M	2,969±0,021	5,551±0,308	0,001±0,00003
T_2M	3,844±0,313	6,184±0,120	0,083±0,0024
I_2F	2,912±0,166	7,323±0,04	0,008±0,00027

تظهر النتائج اختلافات كبيرة في كميات ABTS لمستخلصات مختلفة بينها.

من الواضح أن مستخلصات الأسيتات والميثانول تحتوي على كميات أعلى من ABTS .

أظهر مستخلص I_2F لأسيتات الايثيل نشاطًا أعلى بقيمة 7.323 ميليغرام/غرام و المستخلص T_2M يعطي نشاطًا أفضل (3,844 ميليغرام/غرام) في الميثانول، على عكس المستخلص D_1M 2.361 ميليغرام/غرام ووفقا لنتائج الأنشطة الثلاثة DPPH و FRAP وABTS ، يعود التباين

بين القيم إلى نوع الاستخراج مع اختلاف قطبية كل مذيب ومع غياب تباين الجنس النباتي في الأنشطة.

4.3 مصفوفة ارتباط المستخلصات :

يعطي الجدول التالي معاملات الارتباط بين محتويات المركبات الفينولية والأنشطة المختلفة DPPH و FRAP،و ABTS.

أسيتات الإيثيل ومستخلصات الميثانول مترابطة (انظر الجدول أدناه)

الجدول (10): مصفوفة الارتباط بين TPC والأنشطة المضادة للأكسدة لمستخلصات الأسيتات

	TPC	DPPH	FRAP	ABTS
TPC	1			
DPPH	0,431	1		
FRAP	0,552	0,368	1	
ABTS	0,226	0,470	0,0036	1

تعمل هذه المصفوفة فقط على مستخلصات أسيتات الإيثيل التي تظهر أن الأخير له تقارب كبير مع المركبات الفينولية. معامل تحديد R^2 بين البوليفينول والنشاط المضاد للأكسدة (DPPH و FRAP) هو 0.431 و 0.552 على التوالي ولهذا أنشأنا ارتباطًا فقط لمستخلصات أسيتات الإيثيل، حيث أن الأخير له تقارب كبير مع المركبات الفينولية.

ولذلك فهي علاقة ملحوظة بين TPC/FRAP تفسرها مشاركة جزيئات الفستق الأطلنسي الفينولي في قدرة تقليل الحديد (FRAP)، ويفسر ذلك بتحسين قابلية ذوبان المركبات الفينولية في أسيتات الإيثيل عن طريق استخراج السائل السائل.

على عكس ABTS الذي ميز الارتباط الضعيف مع (0.226) TPC. يمكن القول أن المركبات الفينولية لا يبدو أنها مرتبطة بانخفاض قدرة ABTS. ويوضح الجدول أدناه الترابط بين محتويات البوليفينول و النشاط المضاد للأكسدة :

الجدول (11): مصفوفة الارتباط بين TPC والأنشطة المضادة للأكسدة لمستخلصات الميثانول

	TPC	DPPH	FRAP	ABTS
TPC	1			
DPPH	0,52	1		
FRAP	-0,114	0,396	1	
ABTS	0,64	0,599	0,291	1

بناءً على هذه المصفوفة، لاحظنا أن هناك ارتباطًا جيدًا بين محتويات البوليفينول والنشاط المضاد للأكسدة DPPH في مستخلصات من أوراق الفستق الأطلسي، مع معاملات تحديد R^2 من ترتيب 0,528 على عكس اختبار القدرة الارجاعية للحديد FRAP التي ميزت الارتباط السيئ مع المحتوى الكلي للفينولات TPC (0,114-) وهذا يجعلنا نتوقع مسبقًا أن TPC لا يبدو مرتبطًا بانخفاض قدرة الحديد.

5.3.دراسة إحصائية لمستخلصات الفستق الأطلسي

كما يبين الجدول التالي الترابط بين المتغيرات و العوامل

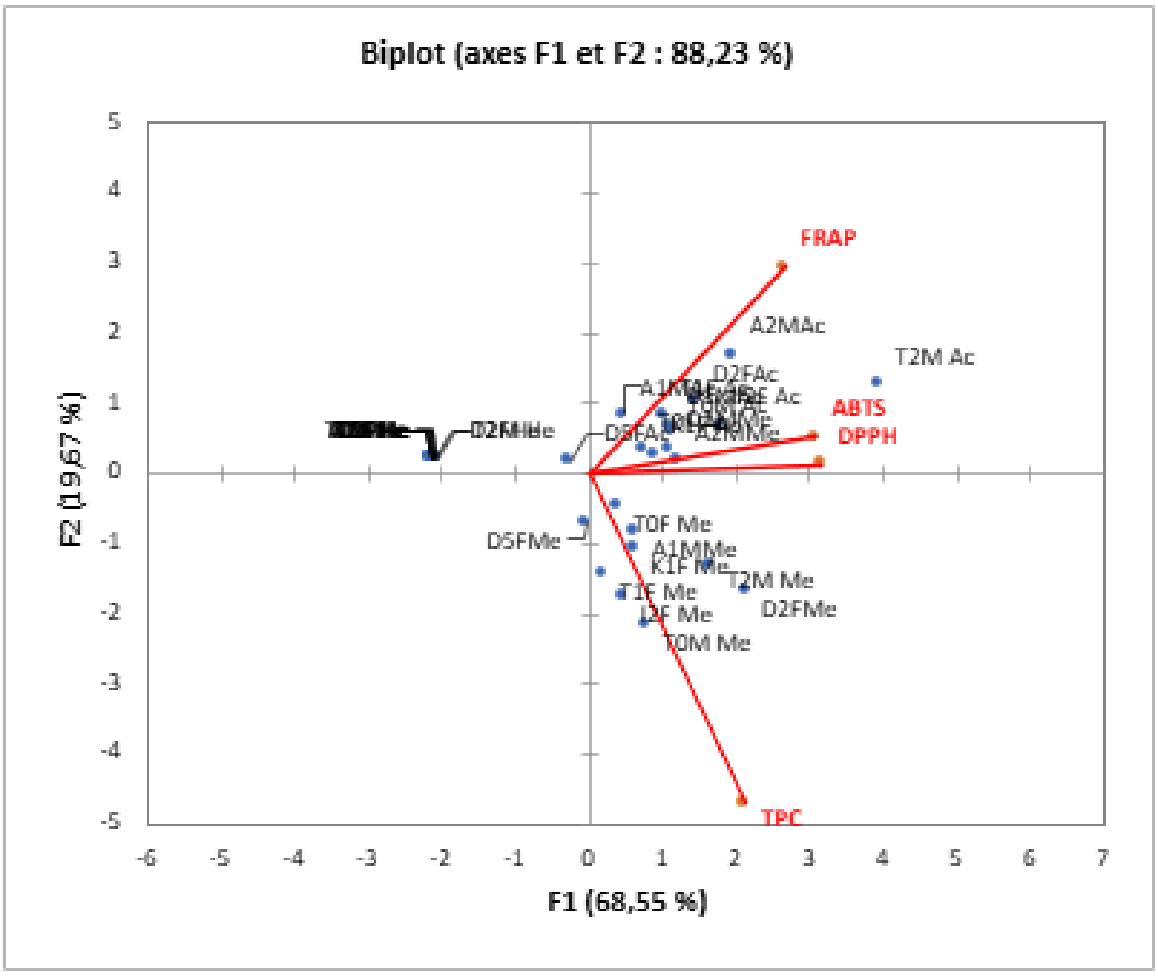
الجدول(12): الترابط بين المتغيرات والعوامل (العنصر الرئيسي)

	F1	F2	F3	F4
TPC	0,6308	-0,7468	0,2059	-0,0443
DPPH	0,9389	0,0232	-0,1650	0,3011
FRAP	0,7901	0,4707	0,3904	-0,0415
ABTS	0,9156	0,0846	-0,3095	-0,2424

يوضح هذا الجدول أن المحور الأول F1 مرتبط بشكل إيجابي (كبير جدًا) بإجمالي الفينولات (63.08٪ و % 93.89 (DPPH) و 79.01% (FRAP) و % 91.56 (ABTS). من ناحية أخرى، هناك ارتباط سلبي مع إجمالي الفينولات (74,68%-) وارتباط منخفض بالنشاط المضاد للأكسدة باستثناء FRAP المترابط بشكل معتدل (47.07%)بالنسبة ل F2

علاوة على ذلك، فإن المستوى الذي يمثل إسقاط الأصناف على المحورين F1et F2 يكشف عن تمييز واضح بين المستخلصات المختلفة التي تمت دراستها. يوضح الشكل التالي توزيع مقتطفاتنا فيما يتعلق بمعايير مذكورة سابقا .

من أجل الحصول على نظرة عامة على عيناتنا فيما يتعلق بالمعايير المختلفة، أجرينا تحليل بيانات بواسطة ACP لـ 11 عينة من طرق الاستخراج المختلفة. معالمنا هي محتوى البوليفينول والنشاط المضاد للأكسدة DPPH و FRAP و ABTS.



الشكل(17): ACP من المستخلصات الفينولية من أوراق الفستق

يحتوي ACP للصحائف على نسبة كبيرة إلى حد ما من المعلومات 88.23٪ بين TPC و DPPH. يمكننا القول أن TPC يمكن أن تغطي 68.55٪ من التباين بين الملاحظات. وهذا يعني أن العنصر الرئيسي الأول يفسر الكثير من التباين في البيانات وأن المكونين الرئيسيين الأولين معا يلتقطان معظم التباين في البيانات.

قد يشترك الأفراد المجمعون في مناطق معينة في خصائص مماثلة وفقًا للمكونات الرئيسية وهي السحابة النقطية بين الأنشطة المضادة للأكسدة، والتي تتميز بقوة مضادة للأكسدة (FRAP و ABTS و

DPPH) والسحابة من نقطة إلى أسفل، تتميز بمستويات عالية من المركبات الفينولية. فيما يتعلق بسحابة النقطة اليسرى (أقلية)، هي مستخلصات ضعيفة في البوليفينول والنشاط المضاد للأكسدة.

يبدو من هذه الدراسة أن المستخلصات في الميثانول عن طريق الاستخراج الصلب السائل تعطي محتويات مهمة من البوليفينول مقارنة بالمستخلصات الأخرى. في المقابل، فإن مستخلصات أسيتات الإيثيل عن طريق استخراج السائل لها قوة مضادة للأكسدة أكبر من المستخلصات في الميثانول.

أخيرًا، مستخلصات الهكسان هي الأضعف في المركبات الفينولية والنشاط المضاد للأكسدة.

الخاتمة

الخاتمة

تعتبر مضادات الأكسدة الموجهة للاستهلاك البشري عن طريق مضافات غذائية اومستحضرات صيدلانية او تجميلية محل اهتمام العلماء بغية الحفاظ على الصحة العامة لتفادي مشكل الخطر الناتج عن الجذور الحرة . O. كما ان مضادات الأكسدة المصنعة اثبتت فشلها مع مرور الوقت حيث أصبح العديد يلجأ للبحث عن مضادات الأكسدة الطبيعة. تمحورت هذه الدراسة حول قياس قدرة الفاعلية للمضادات الأكسدة المعروفة في الأوساط الغذائية وأوساط المجال الطبي (العلاج) لهذا كان الهدف من الدراسة هو تقدير مدى فاعلية مضادات الأكسدة لأوراق شجرة الفستق الأطلسي باستعمال إختبارات النشاط المضاد للأكسدة الثلاث: ABTS،FRAP ، DPPH حيث كانت أبرز النتائج كالآتي:

-اعتماداً على نوع مذيب الاستخراج وطريقة الاستخراج، تم الحصول على أفضل مستويات البوليفينول الكلي عن طريق استخلاص صلب – سائل باستعمال الميثانول النقي (1012.3 ميليغرام/غرام)، وسائل– سائل باستعمال أسيتات الإيثيل (281.485 ميليغرام/غرام)، على غرار الهكسان والإثانول (4.39 ميليغرام/غرام)إذ تبدو هذه النتائج منطقية للغاية نظرًا لأن المذيبات المستخدمة ذات قطبية متغيرة كون الميثانول ينتقي جميع الجزيئات القطبية المرجعة بدون اسثناء على غرار أسيتات الإثيل الذي ينتقي المركبات الفينولية فقط .

-اختلاف TPC للذكور والإناث لمستخلصاتنا ليس مهمًا، على سبيل المثال D_1M والمستخلص D_5Fيحتويان على محتويات تقريبية على التوالي 161,43 ميليغرام/غرام ، 168,33 ميليغرام/غرام

-النشاط المضاد للأكسدة DPPHمتشابه بين الأسيتات والميثانول مع اختلاف طفيف

TPCمسؤولة عن نشاط مكافحة الجذور (DPPH) لبعض المستخلصات في طرق الاستخراج الثلاثة

-يحتوي A_2M على محتوى أقصى في الأسيتات (56,061 ميليغرام/غرام) مقابل قيمة أقل في الميثانول (19,06 ميليغرام/غرام) مما يسمح لنا بالقول إن قيم TPC التي يحددها اختبار الفولين قد تحتوي على مركبات أخرى غير المركبات الفينولية أو بنية الجزيئات الفينولية للأغلبية غير نشطة.

-تظهر النتائج اختلافات كبيرة في كميات ABTS لمستخلصات مختلفة بينها

مستخلصات أسيتات الإيثيل التي تظهر أن الأخير له تقارب كبير مع المركبات الفينولية. معامل تحديد R^2 بين البوليفينول والنشاط المضاد للأكسدة (DPPH و FRAP) هو 431,0 و 55,02 على التوالي .

يحتوي CPA للصحائف على نسبة كبيرة إلى حد ما من المعلومات 23,88٪ بين TPC و DPPH. يمكننا القول أن TPC يمكن أن تغطي 55,68٪ من التباين بين الملاحظات.

المصادر و المراجع

المصادر و المراجع

المراجع العربية

[1]العودات محمد (2001) موسوعة التداوي بالنباتات الطبية.دمشق.الأهالي للطباعة والنشر.الطبعة الأولى، سوريا

[2]مهند حسن (2021).أهمية النباتات الطبية كمصادر للأدوية مجلة جامعة النارة – مجلد (1) العدد (2)

[14]آمال بن بوحا،مطبوعة من دروس: الجزيئات الحيوية عند حقيقيات النواة، جامعة أم البواقي،2017

[16] بلفار آسيا. دراسة القدرة المضادة للأكسدة وللبكتيريا وللتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات Limoniastrum guyonianum (Dur), أطروحة دكتوراه (جامعة قاصدي مرباح ورقلة)، 2018 ، ص 209.

[21] مخلوفي الهاني، دراسة فيتوكيميائية لنوعين من النباتات الطبية ذات الأصل الجزائري من العائلة الخيمية مع دراسة فعاليتها البيولوجية Apiaceae(lutea Reutera) و aureus Doucus ، أطروحة دوكتوراه،قسنطينة،جامعة قسنطينة20141. - الدكتور. ب .كامل، الدكتور. ك .الركابي، " كيمياء الأغذية"، 0990 ، المكتبة الوطنية ببغداد.

المراجع الاجنبية

[3] Benmohamed M, Guenane H, Messaoudi M, Zahnit W, Egbuna C, Sharifi-Rad M, Chouh A, Seghir BB, Rebiai A, Boubekeur S, Azli T, Harrat M, Sawicka B, Atanassova M,

Yousfi M. Mineral Profile, Antioxidant, Anti-Inflammatory, Antibacterial, Anti-Urease and Anti-α-Amylase Activities of the Unripe Fruit Extracts of Pistacia atlantica. Molecules. 2023 Jan 1;28(1):349. doi: 10.3390/molecules28010349. PMID: 36615545; PMCID: PMC9824078.

-Belhadj, S. (2001). Les pistacherais algériens : état actuel et dégradation. In Ak B. E.

[4] XI GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds. Zaragoza : CIHEAM. Cahiers Options Méditerranéennes. N° 56/107-109.

[5] Labdelli, A., Adda, A., Tahirine, M., Foughalia, A., & Merah, O. (2021). Nutritional and medicinal interests of atlas pistachio (Pistacia atlantica Desf. subsp. atlantica).

[6] Monjauze, A. Répartition et Écologie de Pistacia Atlantica Desf. En Algérie. Bull. Soc. Hist. Nat.

Afr. Du **1968**, 56, 1–127.

[7] https://ar.wikipedia.org/wiki/

[8] BENGUECHOUA, M. I. (2021). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de pistachier de l'Atlas

(Pistacia atlantica. Desf) (Doctoral dissertation, Université Kasdi Merbah-Ouargla).

[9] Monjauze., A. (1980). Connaissance du bétoum Pistacia atlantica desf. R.F. F., 9, 356-363.

[10] Benhassaini. H, B. M. (2007). The chemical composition of fruits of Pistacia atlantica desf. Subsp. atlantica from Algeria. Chemistry of Natural Compounds, 43(2).

[11] Bozorgi, M.; Memariani, Z.; Mobli, M.; Salehi Surmaghi, M.H.; Shams-Ardekani, M.R.; Rahimi, R. Five Pistacia Species (P. Vera, P. Atlantica, P. Terebinthus, P. Khinjuk, and P. Lentiscus): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. Sci. World J. **2013**, 2013.

[12] Bellakhdar, J.; La, P.; Marocaine, T. Medecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires. La Pharmacopée Tradit. Ibis Press Paris, Fr. **1997**.

[13] Daoudi, A., Boutou, H., Ibijbijen, J., Zair, T., & Nassiri, L. (2013). Etude éthnobotanique du pistachier de L'Atlas, Pistacia atlantica, dans la ville de Meknes—Maroc. Science Lib, 5.

[15] Guendouz, M., Haddi, A., Grar, H., Kheroua, O., Saidi, D., & Kaddouri, H. (2017). Preventive effects of royal jelly against anaphylactic response in a murine model of cow's milk allergy. Pharmaceutical biology, 55(1), 2145-2152.

[17] FAVIER.A, « le stressoxydant : Intérêt conceptuel et expérimenta dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique l'actualité chimique 2003.et HILCENT.R, « chimie organique hétérocyclique », 2003, EDP. Sciences.

[18] Soltani, R., & Brahmi, M. (2020). Contribution a l'étude in vivo des propriétés antiAlzheimer de l'extrait de l'Ephédra chez les rats exposé au pesticide «Spinosad» (Doctoral dissertation, Universite laarbi tebessi tebessa).

[19] Rezine, F., & Fedaouche, M. S. (2017). Coumarines a intérêt thérapeutique: synthèse et contrôle analytique. Université Abou

Bekr Belkaîd. Faculte De Médecine Dr Benzerdjeb B. Tlemce

[20] Yaaqobi A., El Hafid L., Haloui B., (2009). Etude biologique de *Pistacia atlantica* Desf. de la région orientale du Maroc, Biomatec Echo, 3 : 39-49.

[22] https://www.wikiwand.com

[24] K.A. Wojtunik-Kulesza, Approach to optimization of FRAP methodology for studies based on selected monoterpenes, Molecules 25(22) (2020) 5267.

[25] Guessan J.D., B. A.-G. (2007). In vitro assays for bioactivity-guided isolation of antisalmonella and antioxidant compounds . African Journal of Biotechnology

[26] Toul, F., Belyagoubi-Benhammou, N., Zitouni, A., & Atik-Bekkara, F. (2017). Antioxidant activity and phenolic profile of different organs of Pistacia atlantica Desf. subsp. atlantica from Algeria. *Natural product research*, *31*(6), 718-723.

[27] Yousfi, M., Djeridane, A., Bombarda, I., Duhem, B., & Gaydou, E. M. (009). Isolation and characterization of a new hispolone derivative from antioxidant 2 extracts of Pistacia

[28] atlantica. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 23(9), 1237-1242.

[29] Maamri S. Etude de Pistacia atlantica de deux régions du Sud Algérien: dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Algérie: Mémoire de Magister, Univ. Boumerdes; 2008.

[30] BENAMAR et al 2018 : Benamar, H., Marouf, A., Bennaceur, M., 2018. Phytochemical composition, antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of aqueous extract and fractions of Pistacia atlantica subsp. atlantica from Algeria. J. Herbs, Spices, Med. Plants 24 (3), 229–244.

[31] Hatamnia et al 2014:Hatamnia, A.A., Abbaspour, N., Darvishzadeh, R., 2014. Antioxidant activity and

phenolic profile of different parts of Bene (Pistacia atlantica subsp. kurdica) fruits.Food Chem. 145, 306–311.

[32] Alidadi et al 2017 : Alidadi, S., Moradi, M.T., Asadi-Samani, M., Lorigooini, Z., 2017. Antioxidant potential and total phenolic compounds of extracts and fractions of Pistasia atlantica. Int JPharm Clin Res 9 (4), 293–297.

[33] Rhouma, A et al 2009: Rhouma, A., Ben Daoud, H., Ghanmi, S., Ben Salah, H., Romdhane, M., Demak, M., 2009.Antimicrobial activities of leaf extracts of Pistacia and Schinus species against some plant pathogenic fungi and bacteria. J. Plant Pathol. 91 (2), 339–345.

[34] Peksel, A et al, 2010 : Peksel, A., Arisan-atac, I.N.C.I., Yanardag, R., 2010. Evaluation of antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of the extracts of Pistacia atlantica Desf. leaves.J. Food Biochem. 34 (3), 451–476.

ملخص الدراسة

إن الهدف من هذا العمل هو دراسة الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبات أوراق شجرة الفستق الأطلسي .تم التقدير الكمي للمركبات الفينولية لمستخلصات الأوراق (مستخلص الهكسان،مستخلص الأسيتات، مستخلص الميثانول، مستخلص الهكسان / ايثانول) ووجدنا أن أكبر كمية لهذه المركبات كانت موجودة في مستخلصات الأسيتات والميثانول. كما أظهرت دراسة النشاط المضاد للأكسدة لمختلف مستخلصات الأوراق بثلاث طرق اختبار ، اختبار ارجاع الحديد $ABTS^{+}$ ،اختبار DPPH واختبارFRAP أن المستخلصات في الميثانول عن طريق الاستخراج الصلب السائل تعطي محتويات مهمة من البوليفينول مقارنة بالمستخلصات الأخرى. في المقابل، فإن مستخلصات أسيتات الإيثيل عن طريق استخراج السائل لها قوة مضادة للأكسدة أكبر من المستخلصات في الميثانول. أخيرًا، مستخلصات الهكسان هي الأضعف في المركبات الفينولية والنشاط المضاد للأكسدة.

الكلمات المفتاحية : *الفستق الاطلسي* ،الاوراق ،نشاط مضادات الاكسدة DPPH, FRAP, ABTS

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier la puissance antioxydante des extraits de feuilles de pistaches atlantiques. Les composés phénoliques ont été quantifiés pour les extraits de feuilles (extrait d'hexane, extrait d'acétate, extrait de méthanol, extrait d'hexane /éthanol) et nous avons constaté que la plus grande quantité d'hexane était présente dans les extraits d'acétate et de méthanol. L'étude a également montré l'activité antioxydante de divers extraits de feuilles dans trois méthodes d'essai, test de retour de fer, $ABTS^{+}$, test DPPH que les extraits dans le méthanol par extraction en acier liquide donnent des teneurs importantes en polyphénols par rapport à d'autres extraits. En revanche, les extraits d'acétate d'éthyle par extraction liquide ont une plus grande force antioxydante que les extraits de méthanol. Enfin, les extraits d'hexane sont les plus faibles en composés phénoliques et en activité antioxydante.

Mots clés : *Pistacia atlantica*, feuilles, activité antioxydante, DPPH, FRAP, ABTS

Abstract

The objective of this work is to study the antioxidant power of Atlantic pistachio leaf extracts. Phenolic compounds were quantified for leaf extracts (hexane extract, acetate extract, methanol extract, hexane /ethanol extract) and we found that the greatest amount of hexane was present in acetate and methanol extracts. The study also showed the antioxidant activity of various leaf extracts in three test methods, iron return test: ABTS + DPPH and FRAP test That the extracts in methanol by liquid steel extraction give important polyphenols contents compared to other extracts. In contrast, ethyl acetate extracts by liquid extraction have greater antioxidant strength than methanol extracts. Finally, hexane extracts are the weakest in phenolic compounds and antioxidant activity.

Key words: *Pistacia atlantica*, leaves , antioxidant activity, DPPH, FRAP, ABTS