مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية – سلسلة العلوم الأساسية المجلد (39) العدد (6) 2017
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Basic Sciences Series Vol. (39) No. (6) 2017

تحديد كمية الفلافونيدات الكلية في كل من أوراق وأزهار الزعرور البري الطازجة والمجففة

الدكتورة فاتن شومان*

شاديا إبراهيم حسام الدين**

(تاريخ الإيداع 22 / 6 / 2017. قُبِل للنشر في 21 / 11 /2017)

□ ملخّص □

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد المحتوى الكلي من الفلافونيدات في المستخلصات المائية، والكحولية المائية لأوراق وأزهار الزعرور البري الجافة والطازجة، إذ استخدمت طريقة النقع على البارد والساخن لتحضير هذه المستخلصات وتم الكشف عن المركبات الفعالة الموجودة في هذه المستخلصات عن طريق إجراء تفاعلات كيميائية عدة.

أظهرت نتائج هذه الدراسة احتواء المستخلصات على: االفينولات، الفلافونيدات، الصابونينات، أما الكمية الكلية من الفلافونيدات في المستخلصات فقد حددت بالطريقة الطيفية الضوئية في المجال المرئي عن طريق تشكيل معقد مع كلوريد الألمنيوم وقياس الامتصاصية عند طول موجة 510nm وتبين أن كمية الفلافونيدات في العينات المجففة تتراوح بين 1–0.16 % بينما كميتها في العينات الطازجة كانت بين.0.18%–0.026

الكلمات المفتاحية: زعرور بري، فلافونيدات، تحليل كيفي، تحليل كمي، التحليل الطيفي الضوئي.

* أستاذ – قسم الكيمياء –كلية العلوم – جامعة تشرين–اللاذقية–سورية

** طالبة دراسات عليا (ماجستير)– قسم الكيمياء –كلية العلوم –جامعة تشرين – اللاذقية–سورية

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية – سلسلة العلوم الأساسية المجلد (39) العدد (6) 2017
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Basic Sciences Series Vol. (39) No. (6) 2017

Determination of total content of flavonoids in dried and fresh hawthorn leaves and flowers

Dr. Faten Chouman*
Shadia Hussam Aldeen**

(Received 22 / 6 / 2017. Accepted 21 / 11 /2017)

□ ABSTRACT □

This study was carried out to determine the total content of flavonoids of dried and fresh hawthorn flowers and leaves in water and hydroalcolic extracts. The method of cold and hot maceration was used to prepare these extracts. The active compounds which were found in these extracts were detected by many chemical reactions. The results of these tests showed that the extracts contain: phenols, flavonoids, and saponins.The total content of flavonoids was determined using spectrophotometric methods by forming complex with aluminum chloride and measurement absorbance at 510nm, it has been shown that quantity of flavonoids in dried samples ranges from 0.16 to 1%, while it's quantity in fresh samples 0.026- 0.18%.

Key words: crataegus, flavonoids, extraction, qualitative analysis, quantitive analysis,analysis spectrophotometer.

* **prof .Faculty of Sciences (Department of Chemistry) –Tishreen University- Lattakia- Syria.**
Postgraduate student-master, Faculty of Sciences (Department of Chemistry) –Tishreen University- Lattakia- Syria.

مقدمة:

الزعرور: أشجار من فصيلة الورديات، حراجية متوسطة الحجم يصل ارتفاعها حتى 8 أمتار، تنتهي فروعها بشوك، أوراقها مجنحة وصلبة كالجلد، تزهر أزهاراً بيضاء، حبات الطلع فيها وردية أو حمراء، ثمارها كروية حمراء أو صفراء تحتوي كل منها عدد من البذور يصل أحيانا إلى خمسة ويعتمد ذلك على النوع. تزرع الأشجار عادة من الفسائل. تقطف الأطراف العليا المزهرة في أواخر الربيع، والثمار في أواخر الصيف وأوائل الخريف [1].

عرفت في أوروبا في العصور الوسطى كرمز للأمل، تؤخذ لكثير من العلل. وتتواجد في أوروبا، وغرب آسيا، وشمال أمريكا، وشمال أفريقيا[2].

يعرف الزعرور بقدرته على معالجة أمراض القلب كالتهاب عضلة القلب كما يستخدم لمعالجة تصلب الشرايين وفي حالات الذبحة الصدرية والكوليسترول المرتفع وينظم ضغط الدم إضافة إلى ذلك فإن خلاصة الزعرور مفيدة في علاج اضطرابات عضلة القلب وأمراض صمامات القلب [3,4].

تعود الفائدة العظيمة لنبات الزعرور إلى احتوائه على الفلافونيدات (الروتين، الهيبيروسيد، الكورسيتين، الفيتكسين) والبروسيانيدين [5].

يدخل الزعرور في الصناعة الغذائية إذ يستخدم لصناعة المربى والأشربة المختلفة مثل النبيذ، العصير وشاي عشبي [6].

تؤخذ المستخلصات الحديثة من الأزهار والأوراق في حين قديماً كانت تستخدم الثمار الناضجة فقط للحصول على الفوائد الطبية منه [7].

تبين الدراسات المرجعية أن محتوى أوراق وأزهار الزعرور البري من الفلافونيدات يتراوح بين % 2-0.1 التي تتضمن الروتين، هيبيروسيد، فيتكسين، كورسيتين [8].

حدد الباحث [9] المحتوى الكلي من الفلافونيدات في عينات من أزهار وأوراق الزعرور البري بطريقة كلوريد الألمنيوم اللونية باستخدام الميتانول بتركيز 50%و85% كمذيب استخلاص وبطريقة النقع في درجة حرارة الغرفة. بعد تبخير الطبقة الإيتانولية تم استخلاص الطبقة المائية بكلٍ من المذيبات التالية: الكلوروفورم، الهكسان، أسيتات الإيتيل وبينت النتائج أن الكمية الكلية من الفلافونيدات كانت 2 مغ (كوريستين)/غ عينة جافة من أجل المستخلص المائي و21 مغ /غ من أجل المستخلص الميتانولي و24 مغ /غ من أجل مستخلص الكلوروفورم و32 مغ/غ من أجل مستخلص أسيتات الإيتيل.

أما [10] فقد بينت دراستها التي تناولت فيها عينات من أوراق وأزهار الزعرور مستخدمةً الميتانول المائي كمذيب للاستخلاص بطريقة النقع في درجة حرارة الغرفة مع التحريك من وقت لأخر أن كمية الفلافونيدات في عينات أوراق الزعرور الجافة 57.08مغ كاتشين/غ مستخلص وفي مستخلص الأزهار 67.04 مغ كاتشين/غ مستخلص.

أما كمية الفلافونيدات التي حددها[11] في عينات من أزهار وأوراق الزعرور المجففة، استخدم فيها الإيتانول المائي كمذيب للاستخلاص في حمام للأمواج فوق الصوتية بطريقة كلوريد الألمنيوم اللونية فقد تراوحت بين7- 21غ/كغ كما قام بتحديد بتحليل المركبات الفينولية الموجوده في أوراق وثمار الزعرور باستخدام HPLC-DAD و HPLC- MS-ESI باستخدام نظام الطور المتحرك الثنائي من أجل HPLC-DAD:(حمض الفورميك-ماء)(0.5- 95.5) كمحل A وأسيتونتريل-متانول (20-80) كمحل B وبسرعة تدفق للطور المتحرك 1مل/دقيقة وقد وجد اثنان

وعشرون مركب فينولي في أوراق وثمار الزعرور حدد منها حمض الكلوروجينيك، البروسيانيدين B2، الإيبيكاتشين والهيبيروسيد.

وفي دراسات أجريت على أنواع من الفواكه المختلفة مثل التفاح والليمون والإجاص تم فيها استخلاص الفلافونيدات منها وتحديد كميتها تم تلخيص النتائج في الجدول التالي:[12]

نوع الفاكهة	المذيب المستخدم	كمية الفلافونيدات الموجوده
التفاح (بلا قشر)	الأسيتون المائي80%	306.1مغ كاتشين/100غ مادة جافة
الإجاص (بلا قشر)	الميتانول المائي80%	69.9مغ كوريستسن/100غ ماده طازجة
الخوخ	الميتانول المائي80%	15مغ كوريستسن/100غ مادة طازجة
الكرز الحلو	الميتانول المائي80%	19.6مغ كوريستسن/100غ مادة طازجة
العنب الأبيض	الميتانول المائي80%	36.5مغ كوريستسن/100غ مادة طازجة
التين	الميتانول المائي80%	20.2 مغ كوريستين/100غ مادة طازجة
العنب الأسود	الميتانول المائي80%	77.1مغ كوريسستين/100غ مادة طازجة

أهمية البحث واهدافه:

أهمية البحث:

تحتوي بعض النباتات البرية على مركبات كيميائية ذات فائدة وأهمية كبيرتين تكون نواتجاً ثانوية من عمليات الأيض داخل النبات، تسمى بالنواتج الطبيعية أو الثانوية وغالباً ما يطلق عليها اسم المواد الفعالة، استخدمت هذه المركبات قديماً (بشكل مستخلصات خام) كعقاقير، إلا أن تنقية وتشخيص العديد من هذه المواد الفعالة ذات التأثير البيولوجي لايزال يشغل علماء الصيدلة والكيمياء وعلوم الحياة.[13]

تأتي أهمية البحث من كون الزعرور البري كنبات يصنف بالمرتبة الرابعة عالميا من حيث فائدته وذلك حسب منظمة الغذاء والدواء الأمريكية FDA والهيئة الألمانية للأعشاب الطبية والهيئة الأوروبية لسلامة الغذاء والدواء. لما له من فوائد طبية على مستوى القلب ومعالجة الجلطات القلبية من خلال توسيع قطر الأوعية الدموية الاكليلية[14].

أهداف البحث:

يهدف البحث أولاً إلى التعرف على المواد الفعالة الموجودة في أوراق وأزهار الزعرور البري، ثم استخلاص الفلافونيدات من أزهار وأوراق الزعرور بنوعيه المجفف والطازج وتقدير كمية الفلافونيدات الموجودة فيها بالإضافة لمقارنة كمية الفلافونيدات في عينات الأوراق والأزهار ومقارنة كمية الفلافونيدات في مستخلصات الأوراق والأزهار الباردة والساخنة وكذلك دراسة تأثير المذيب المستخدم (المائي، الكحولي) على كمية الفلافونيدات المستخلصة من عينات أزهار وأوراق الزعرور المجففة والطازجة.

طرائق البحث ومواده:

المواد الكيميائية والأجهزة المستخدمة:

الإيتانول (Shamlab،99.9)، الهكسان (Panreac,95%)، نتريت الصوديوم، كلوريد الألمنيوم، هيدروكسيد الصوديوم، ماء مقطر، الروتين (Titan،India)، مبخر دوار، رجاج كهربائي (Cyclo Mixer)، جهاز الطيف الضوئيSpectrophotometer(T60UV–vis).

العمل المخبري:

جمع وتحضر العينات:

تم جمع العينات المجففة من السوق المحلي وتم فصل الأوراق والأزهار كل على حدة وتجفيفها بالفرن للتخلص من أية نسبة موجودة للرطوبة فيها ومن ثم طحنها بوساطة الخلاط الكهربائي حتى الحصول على مسحوق بودرة حفظت في المجفف بعيداً عن الضوء والرطوبة والحرارة.

أما بالنسبة للعينات الطازجة: تم قطف العينات الخضراء من قرية عين الشرقية التابعة لمدينة جبلة – محافظة اللاذقية وقطعت إلى أجزاء صغيرة جداً وتم العمل عليها.

استخلاص الفلافونيدات:

أخذ1 غرام من مسحوق كل من أوراق وأزهار الزعرور (المجففة والطازجة) كل على حدة ووضعت في بيشر ونقعت في 20مل من الهكسان للتخلص من الكلوروفيل والدهون لمدة 24 ساعة وأعيدت العملية ثلاث مرات متتالية حتى لوحظ تناقص اللون الأخضر من الرشاحة السائلة، تم إجراء تحليل كيفي لرشاحة الهكسان للتأكد من خلوها من الفلافونيدات وأجري الاستخلاص المائي والكحولي للعينات كما يلي:

الاستخلاص المائي على البارد: نقع 1 غرام من مسحوق كل من أوراق وأزهار الزعرور المنزوعة الكلوروفيل والدهون كلٍ على حدة في 20 مل من الماء المقطر في درجة حرارة الغرفة لمدة 24 ساعة مع التحريك من وقت لأخر ورشحت على قطعة من الموسلين أولاً وبعدها على ورق ترشيح وأعيدت العملية ثلاث مرات متتالية وتم جمع الرشاحات السائلة.

الاستخلاص المائي على الساخن: وضع 1 غرام من مسحوق كل من أوراق وازهار الزعرور البري المنزوعة الكلوروفيل والدهون (كلٍ على حدة) في 20 مل من الماء المقطر على درجة حرارة $100\ ^{\circ}C$ مع التحريك لمدة ربع ساعة وبعد ذلك اتبعت الخطوات السابقة نفسها.

الاستخلاص الكحولي على البارد: نقع 1 غرام من مسحوق كل من أوراق وأزهار الزعرور البري المنزوعة الكلوروفيل والدهون في 20 مل من الإيتانول 70% في درجة حرارة الغرفة لمدة 24 ساعة مع التحريك من وقت لأخر وبعد ذلك اتبعت الخطوات السابقة نفسها.

الاستخلاص الكحولي على الساخن: وضع 1 غرام من مسحوق كل من أوراق وأزهار الزعرور البري المنزوعة الكلوروفيل والدهون في 20 مل من الإيتانول 70% على حمام مائي بدرجة حرارة $60^{\circ}C$ لمدة ربع ساعة ونفذت بعد ذلك الخطوات السابقة نفسها.

التحليل الكيفي للمستخلصات:

تم الكشف عن المركبات الفعالة في كل من المستخلصات المائية، الكحولية، وفي طبقة الهكسان (للعينات المجففة والطازجة) وفق ما يلي:[15,16,17].

الكشف عن الفلافونيدات:

1_ ذوبت كميات قليلة من المستخلصات في محلول مائي لهيدروكسيد الصوديوم ولاحظنا ظهور اللون الأصفر وهذا دليل على وجود الفلافونيدات.

2_ أضفنا إلى جزء صغير من المستخلص حمض الكبريت المركز، فظهر لون برتقالي مصفر دليل على وجود الفلافونيدات.

الكشف عن المركبات الفينولية:

وضعنا كميات قليلة من المستخلصات المائية في أنابيب اختبار وأجرينا عليها اختبارات المركبات الفينولية والتانينات عن طريق الكواشف الأتية:

1_ محلول كلوريد الحديد 5%: لون أخضر.

2_ محلول أسيتات الرصاص 10% يعطي راسب أبيض هلامي القوام.

الكشف عن التانينات:

تم غلي 1 غ من الزعرور مع . 5 مل من الماء المقطر ثم رشحنا المحلول وتركناه ليبرد بعدها قسمنا الراشح إلى قسمين، أضفنا للقسم الأول محلول 1% من خلات الرصاص للاستدلال على وجود التانينات بظهور راسب أبيض هلامي القوام.

الكشف عن القلويدات: أضفنا لكميات قليلة من المستخلصات بضع قطرات من حمض كلور الماء الممدد ورشحنا ومن ثم أضفنا كاشف ماير الذي يؤدي لظهور راسب أبيض كريمي عند وجود القلويدات.

الكشف عن الصابونينات: مددنا المستخلصات بـ 20 مل من الماء المقطر وقمنا بالخض جيداً لمدة ربع ساعة من الوقت. تشكل طبقة بسماكة 1 سم من الرغوة دليل على وجود الصابونينات.

الكشف عن الكاربوهيدرات:

أذبنا كميات قليلة من المستخلصات المائية والكحولية (كلٍ على حدة في 4 مل من الماء المقطر ثم رشحنا وأجرينا على الرشاحة الكشوفات التالية:

1_ اختبار مولش: عالجنا الرشاحة بقطرتين إلى ثلاث قطرات من ألفانفتول الكحولي ثم أضفنا 2مل من حمض الكبريت المركز على جدار الأنبوب. فلاحظنا ظهور حلقة بنية عند منطقة تلاقي السائلين دليل على وجود الكاربوهيدرات.

اختبار فهلنغ: عالجنا الرشاحة بـ 1 مل من (محلول فهلنغ1 + محلول فهلنغ 2) وسخنا على حمام مائي. فلاحظنا ظهور راسب أحمر دليل على وجود الكاربوهيدرات.

الكشف عن الدهون والزيوت:

1_ اختبار ورقة الترشيح: قمنا بضغط كميات قليلة من المستخلصات (كلٍ على حدة) بين ورقتي ترشيح، ظهور بقعة زيت على الورقة دليل على وجود زيوت ودهون ولكن النتيجة كانت سلبية.

2_ اختبار التصبن: أضفنا بضع قطرات من هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي 0.5M إلى كميات قليلة من المستخلصات المختلفة وأضفنا قطرة من الفينول فتالئين وسخنا المزيج على حمام مائي من ساعة إلى ساعتين. فلم نلاحظ تشكل طبقة صابونية التي تدل على وجود الدهون والزيوت.

الكشف عن البروتينات:

أذبنا كميات قليلة من المستخلصات في بضع ميليلترات من الماء ومن ثم رشحنا وأجرينا الكشوفات التالية على الرشاحة:

2_ اختبار بيوريت: أضفنا إلى المستخلصات المحضرة أعلاه حجوم متساوية من هيدروكسيد الصوديوم 5%وسلفات النحاس 1%. فلم نلاحظ ظهور اللون البنفسجي وهذا نتيجة سلبية على وجود البروتينات.

3_ اختبار النينهيدرين: عالجنا المستخلصات بكاشف النينهيدرين، فلم نلاحظ ظهور اللون الأرجواني الذي يدل على وجود البروتين.

الكشف عن الستيرولات والتربينات:

قمنا بحل كميات قليلة من المستخلصات (كلٍ على حدة) في 5 مل من الكلوروفورم ومن ثم أجرينا على المحلول الكلوروفورمي الاختبارات الأتية:

1_ اختبار سالكوشي: أضفنا إلى 1 مل من المحلول الكلوروفورمي المحضر بضع قطرات من حمض الكبريت المركز بحذر. فلم نلاحظ ظهور اللون البني المحمر الذي يدل على وجود التربينات.

2_ اختبار ليبرمان: أضفنا للمحلول الكلوروفورمي المحضر بضع قطرات من حمض الكبريت المركز يليه بضع قطرات من حمض الخل اللامائي. فلم يظهر اللون الأخضر المزرق الدليل على وجود الستيرولات.

الكشف عن الكومارينات: نضع قليل من المستخلص النباتي لكل من المستخلصات المحضرة في أنبوب اختبار ونغطي الأنابيب بأورق ترشيح مبللة بمحلول من هيدروكسيد الصوديوم المخفف ونضع هذه الأنابيب في حمام مائي مغلي لبضع دقائق ثم بعد ذلك نعرض أوراق الترشيح لمصدر للأشعة فوق البنفسجية. يدل ظهور لون أصفر مخضر على وجود الكومارينات.

ووضعت النتائج في الجدول (1):

وأيضاً أجري التحليل الكيفي نفسه على رشاحة الهكسان ودونت النتائج في الجدول رقم (1) أيضاً.

جدول(1)المركبات الفعالة الموجودة في المستخلصات المائية والكحولية لأوراق وأزهار الزعرور المجففة والطازجة:

المركبات الفعالة	اسم الاختبار	المستخلص المائي البارد	المستخلص المائي الحار	المستخلص الكحولي البارد	المستخلص الكحولي الحار	مستخلص الهكسان
الفلافونيدات	هيدروكسيد الصوديوم	+++	+++	+++	+++	–
	حمض الكبريت	+++	+++	+++	+++	–
المركبات الفينولية	كلوريد الحديد	+	+	+	+	–
	أسيتات الرصاص	+	+	+	+	–
الكربوهيدرات	مولش	+	+	+	+	–
	فهلنغ	+	+	+	+	–
القلويدات	ماير	–	–	–	–	–
الصابونينات	اختبار الرغوة	+	+	+	+	–

الدهون والزيوت	ورقة الترشيح	–	–	–	–	+
	التصبن	–	–	–	–	+
الستيرولات والتربينات	سالكوشي	–	–	–	–	–
	ليبرمان	–	–	–	–	–
البروتينات	بيوريت	–	–	–	–	–
	النينهيدرين	–	–	–	–	–
التانينات	أسيتات الرصاص	–	–	–	–	–
الكومارينات	هيدروكسيدالصوديوم	–	–	–	–	–

+: نتيجة إيجابية على تواجد المركب، +++: تواجد كثيف للمركب،–نتيجة سلبية على تواجد المركب.

نلاحظ احتواء المستخلصات المائية والكحولية على الفلافونيدات، الفينولات، الصابونينات، كما نلاحظ خلو رشاحة الهكسان من الفلافونيدات واحتوائها فقط على الدهون والزيوت.

التحديد الكمي للفلافونيدات:

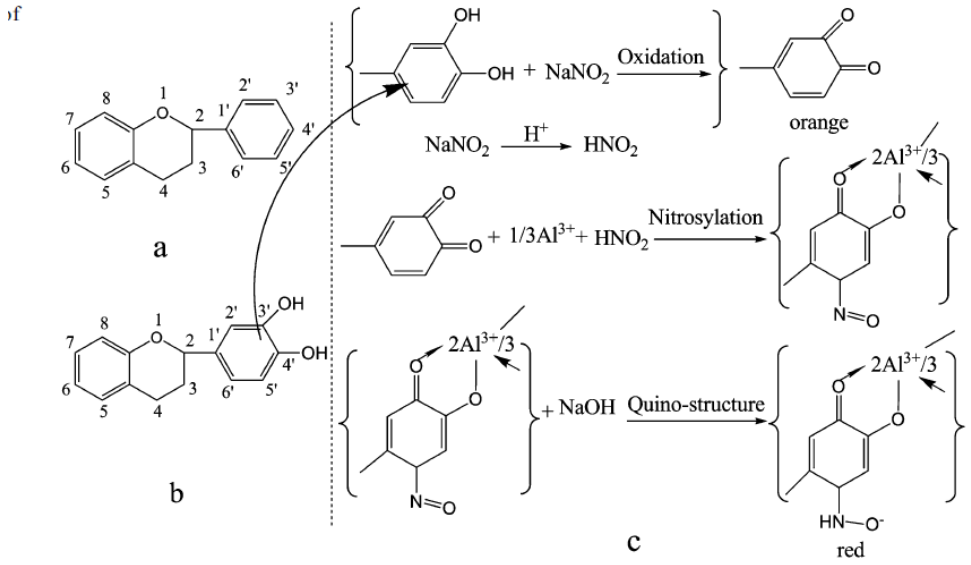
أخذت المستخلصات المائية أو الكحولية للعينات المجففة والطازجة كلٍ على حدة وركزت بالمبخر الدوار عند الدرجة 40 درجة مئوية من أجل المستخلصات الكحولية و50درجة مئوية من أجل المستخلصات المائية حتى حجم معين ومن ثم أكملت هذه الحجوم حتى 60 مل بالمذيب المستخدم وتم العملعليها وفق ما يلي:

من أجل العينات المجففة:

تحضير محاليل العينة:

أخذ 1 مل من المستخلص المائي أو الكحولي ووضع في بالون معايرة 10 مل ومدد بالماء المقطر حتى علامة السعة ثم أخذ 1 مل من المستخلص الممدد ووضعت في بالون معايرة 10 مل وأضيف إليه 0.3 مل من نتريت الصوديوم 5% وأضيف 0.3 مل من كلوريد الألمنيوم (بالإيثانول) 10% مع التحريك الجيد من أجل إتمام التفاعل والانتظار مدة ست دقائق بين كل مرحلة والتي تليها ومن ثم أضفنا 2 مل من هيدروكسيد الصوديوم 4.3% وأكملنا بالماء المقطر حتى علامة السعة وتم الانتظار مدة ربع ساعة قبل قياس الامتصاصية عند طول موجة 510 nm. (بعد إجراء مسح طيفي من طول موجة 450nm حتى 550nm) .

يتم حدوث التفاعلات التالية:



تحضير المحاليل العيارية:

حضر المحلول الأم بتركيز 0.08 مغ (روتين) / مل(إيتانول)، حيث أخذ 4 مغ من الروتين وحل في أقل كمية من الإيتانول و من ثم أكمل الحجم بالإيتانول حتى 50 مل وأخذ منه الحجوم التالية: 0.4- 0.8- 1.2- 1.6- 2- 2.4مل ووضعت في دوارق حجمية سعة 10 مل وأضيف لها 0.3 مل من نتريت الصوديوم 5% و0.3 مل من كلوريد الألمنيوم 10%مع التحريك جيداً لإتمام حدوث التفاعل و الانتظار 6 دقائق بعد كل إضافة ومن ثم أضيف 3 مل من هيدروكسيد الصوديوم فتشكل معقد أحمر وأكمل الحجم بالماء المقطر حتى علامة السعة وحرك المحلول جيداً وتم الانتظار مدة ربع ساعة قبل قياس الامتصاصية عند طول الموجة 510nm باستخدام الإيتانول 70% كبلانك.

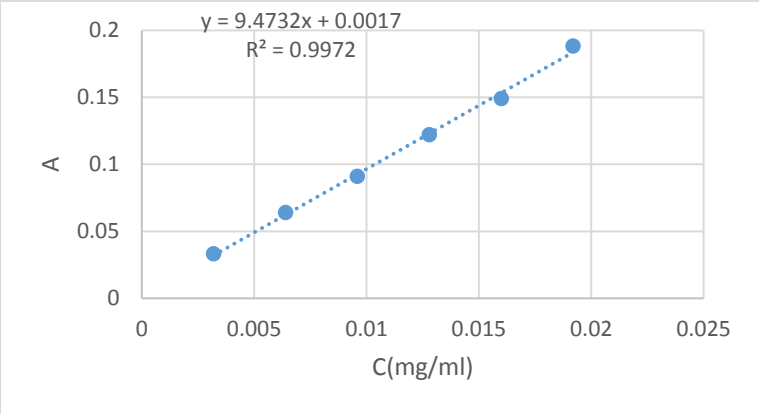
تحضير العينات الطازجة: حضرت محاليل العينة كما في العينات المجففة أما المحاليل العيارية فقد حضرت كما يلي:

حضر المحلول الأم بتركيز 0.008مغ (روتين)/ مل، حيث أخذ 0.8 مغ من الروتين وحل في أقل كمية من الإيتانول ومن ثم أكمل الحجم بالإيتانول 70% حتى 100 مل وأخذ منه الحجوم التالية: 0.4- 0.8- 1.2- 1.6- 2- 2.4 مل ووضعت في دوارق حجمية سعة 10 مل وأضيف لها 0.3 مل من نتريت الصوديوم 5% و0.3مل من كلوريد الألمنيوم 10% وتم الانتظار 6 دقائق بعد كل إضافة مع التحريك جيداً لإتمام حدوث التفاعل ومن ثم أضيف 2 مل من هيدروكسيد الصوديوم فتشكل معقد أحمر وأكمل الحجم بالماء المقطر حتى علامة السعة وتم الانتظار مدة ربع ساعة قبل قياس الامتصاصية عند طول الموجة 510nm باستخدام محلول بلانك من الإيتانول 70%.

النتائج والمناقشة:

التحليل الكمي:

درس المنحني العياري للفلافونيدات (روتين) من أجل تحديد تركيزها في العينات المجففة وهذا ما يوضحه الشكل(1):



الشكل (1)المنحني العياري للعينات المجففة

من معادلة الخط البياني للتراكيز بدلالة الامتصاصية(mg/g)الفلافونيدات $F = Y * N * \frac{V}{W}$

حيث:**F** كمية الفلافونيدات محسوبة بـ mg/g.

Y: تركيز العينة من الفلافونيدات و التي تم حسابها من معادلة المنحني العياري بـ مغ/مل.

N: معامل التمديد،حيث:N=10.

V: حجم المستخلص بالميليلتر

W: وزن العينة الجافة بالغرام

تم تحديد تراكيز الفلافونيدات وذلك كما هو موضح في الجدول (2):

الجدول(2): قيم الامتصاصية والتراكيز ووزن والنسبة المئوية لكمية الفلافونيدات في كل من عينات أوراق وأزهار الزعرور المجففة:

المستخلص	A	C(mg/ml)	W(mg/g)	w%	sd	Rsd
م1	0.027	0.002670	1.602	0.16	0.00346	2.13
م2	0.045	0.00457	2.7424	0.27	0.00346	1.255
م3	0.101	0.01	6.289	0.62	0.0363	0.5764
م4	0.119	0.0123	7.429	0.74	0.004	0.545
م5	0.031	0.00309	1.855	0.18	0.006	3.32
م6	0.058	0.005943	3.565	0.35	0.003	0.978
م7	0.144	0.0156	9.3928	0.93	0.0264	2.93
م8	0.16	0.0167	10.0261	1	0.0346	3.392

حيث:

م 1:عينة ورق زعرور مجفف/ ماء بارد.

م 2: عينة ورق زعرور مجفف/ ماء ساخن.

م 3: عينة ورق زعرور مجفف/ كحول بارد.

م 4: عينة ورق زعرور مجفف/ كحول ساخن.

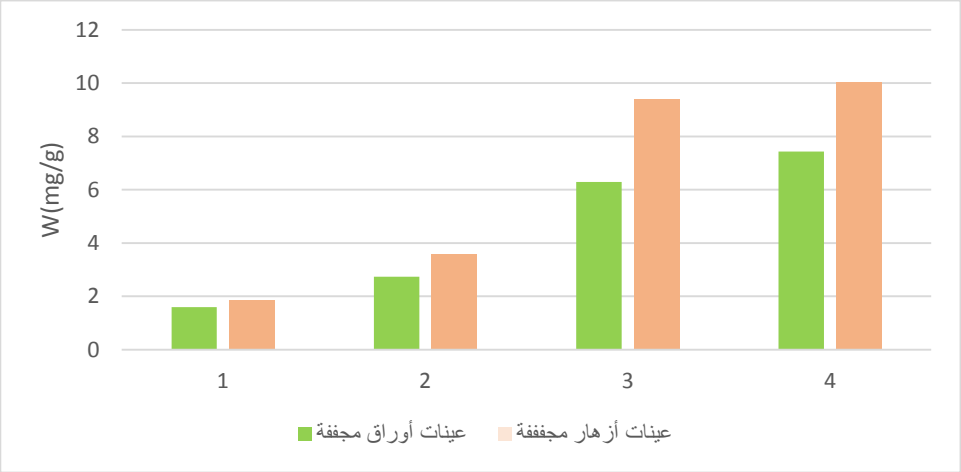
م 5: عينة زهر زعرور مجفف/ ماء بارد.

م 6: عينة زهر زعرور مجفف/ ماء ساخن.

م 7: عينة زهر زعرور مجفف/ كحول بارد.

م 8: عينة زهر زعرور مجفف/ كحول ساخن.

من خلال النتائج التي توصلنا إليها يتبين لنا أن أزهار الزعرور المجففة تحتوي على كمية من الفلافونيدات أكبر من الكمية الموجودة في أوراقه وأن الإيتانول 70% أدى إلى استخلاص كمية أكبر من الفلافونيدات كما أن الاستخلاص على الساخن سواء الكحولي أو المائي أعطى نسبة أكبر من الفلافونيدات وهذا ما يوضحه الشكل(2):



الشكل(2)مقارنة محتوى الفلافونيدات بين أزهار وأوراق الزعرور المجففة

إذ أن: 1-عينات أزهار وأوراق زعرور مجفف مستخلصة بالماء على البارد 2-عينات أزهار وأوراق مستخلصة بالماء على الساخن 3-عينات أزهار وأوراق مستخلصة بالكحول على البارد 4-عينات أزهار وأوراق مستخلصة بالكحول على الساخن.

حساب معامل استودنت: للعينتين (زهر كحولي بارد وزهر كحولي ساخن):

(d-d)	(d-d)	D	(8م) Wt	(7م) Wt
0.001849	0.043-	0.07	1	0.93
0.000529	0.023-	0.09	1	0.91
0.004489	0.067	0.18	1.06	0.88

$$SD=\sqrt{\frac{\sum(d-\overline{d})}{n-1}}$$

$$SD=\sqrt{0.006867/2}$$

$$SD=0.058$$

$$t=\frac{0.113\sqrt{3}}{0.058}.=3.374$$

لا يوجد اختلاف يذكر بين الطريقتين .

حساب F:

$$F=sd1/sd2=(0.0346)/(0.0264)=1.717$$

حساب معامل أستودنت وفيوشر للعينتين زهر مائي ساخن وزهر كحولي ساخن:

زهر مائي ساخن	زهر كحولي ساخن	d	$(d-\bar{d})$	$(d-\bar{d})$
0.356	1	0.644	−0.022	0.000484
0.350	1	0.65	−0.016	0.000256
0.356	1.06	0.704	0.038	0.001444

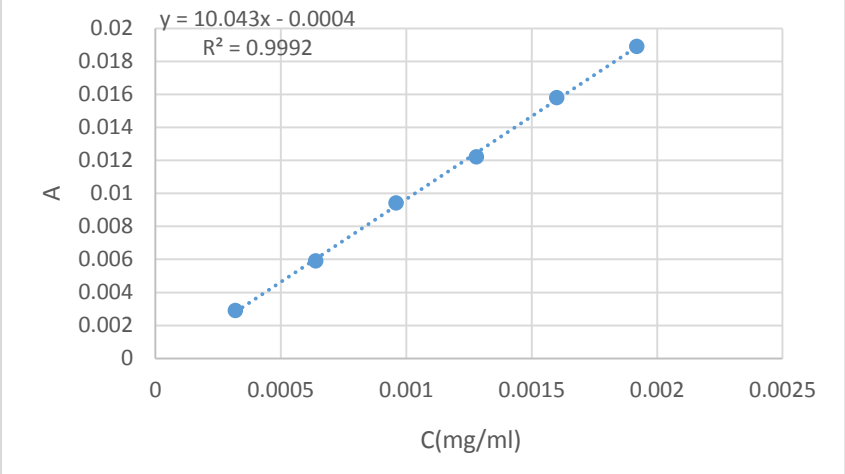
$$SD=\sqrt{\frac{0.00184}{2}}=\pm 0.033$$

$$t=\frac{0.666}{0.033}=34.95$$

هناك اختلاف كبير بين الطريقتين.

$$F=\frac{(0.0346)}{(0.00346)}=100$$

أما بالنسبة لتحديد الفلافونيدات في العينات الطازجة فدرس المنحني العياري وذلك كما هو موضح في الشكل (3):



الشكل(3) المنحني العياري للروتين

من معادلة المنحني العياري $Y=10.043x-0.0004$ نحسب تركيز الفلافونيدات في العينات وبتعويض القيمة بالعلاقة:

$$F=Y*N*\frac{V}{W}$$

إذ أن: F: كمية الفلافونيدات محسوبة بـ mg/g.

Y: تركيز العينة من الفلافونيدات و التي تم حسابها من معادلة المنحني العياري بـ مغ/مل.

N: معامل التمديد.

V: حجم المستخلص بالميليلتر.

W: وزن العينة الجافة بالغرام.

نحصل على كمية الفلافونيدات الموجودة في العينات مقدرة بـ mg/g ومن ثم نحسب النسبة المئوية للفلافونيدات في كل العينات وفق الجدول الآتي(3):

الجدول(3) قيم امتصاصية وتراكيز وكمية والنسبة المئوية لكمية الفلافونيدات في عينات أوراق وأزهار الزعرور الطازجة:

نوع العينة	A	C(mg/ml)	W(mg/g)	W%	Sd	RSd
م1	0.004	0.0004381	0.2628	0.026	0.00346	14.4
م2	0.009	0.000935	0.5615	0.56	0.00346	6.41
م3	0.021	0.002130	1.2785	0.12	0.01	8.5
م4	0.023	0.002329	1.3979	0.13	0.0065	4.95
م5	0.008	0.0008364	0.5018	0.05	0.006	12
م6	0.012	0.001234	0.7408	0.07	0.00346	4.81
م7	0.025	0.002529	1.5174	0.15	0.00346	2.26
م8	0.03	0.003026	1.8161	0.18	0.00583	3.31

حيث:م 1:عينة ورق زعرور مجفف/ ماء بارد.

م 2: عينة ورق زعرور مجفف/ ماء ساخن.

م 3: عينة ورق زعرور مجفف/ كحول بارد.

م 4: عينة ورق زعرور مجفف/ كحول ساخن.

م 5: عينة زهر زعرور مجفف/ ماء بارد.

م 6: عينة زهر زعرور مجفف/ ماء ساخن.

م 7: عينة زهر زعرور مجفف/ كحول بارد.

م 8: عينة زهر زعرور مجفف/ كحول ساخن.

حساب معامل استودنت لعينة زهر طازجة مستخلصة بكحول بارد مع عينة زهر طازجة مستخلصة بكحول ساخن:

(م7)Wt%	(م8)Wt%	d	$(d-\overline{d})$	$(d-\overline{d})$
0.151	0.181	0.03	0.004	0.000016
0.151	0.175	0.024	-0.002	0.000004
0.157	0.181	0.024	0.002-	0.000004

$$SD=\sqrt{\frac{\sum(d-\overline{d})}{n-1}}$$

$$SD=0.00346$$

$$t=\frac{\overline{d}\sqrt{n}}{sd}$$

$$t=13.015$$

$$F=\frac{Sd2}{Sd1}$$

ومنه $F=1.68$

معامل استودنت لعينتي زهر مائي ساخن وزهر كحولي ساخن:

م Wt%(6)	م(8) Wt%	D	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})$
0.074	0.181	0.107	0	0
0.074	0.175	0.101	-0.006	0.000036
0.068	0.181	0.113	0.006	0.000036

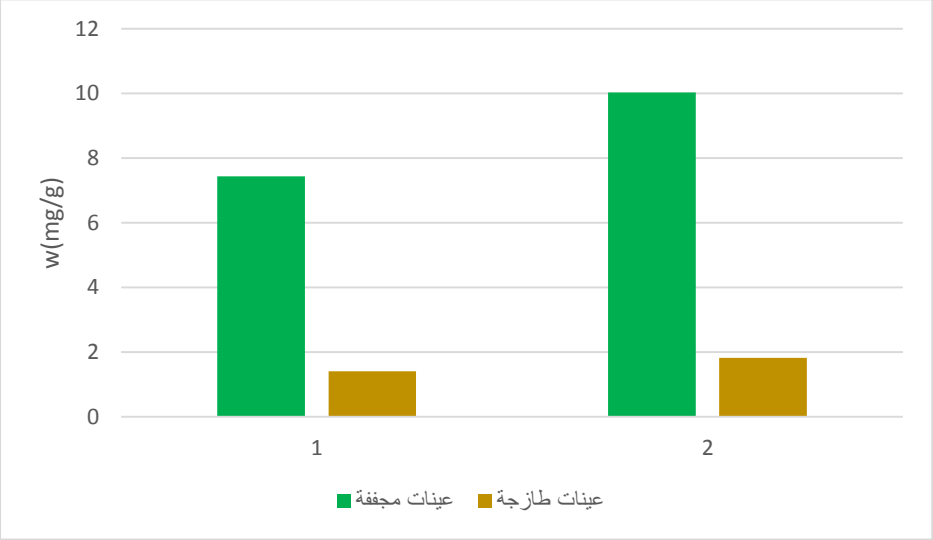
$$t=30.88$$

$$F=1.68$$

مما سبق نستنتج أن أزهار الزعرور الطازجة والمجففة تحتوي على كمية من الفلافونيدات أكبر من تلك التي تحتويها أوراقه، وأن الاستخلاص الكحولي على الساخن اعطى كمية من الفلافونيدات أعلى من التي أعطاها الاستخلاص على البارد.

وبمقارنة نتائج العينات المجففة مع الطازجة نستنتج أن العينات المجففة سواء (الأوراق أو الأزهار) تحتوي نسبة من الفلافونيدات أكبر من تلك التي تحتويها العينات الطازجة وهذا يعود إلى احتواء العينات الطازجة على ماء في نسيج النبات يشكل جزءاً من وزن العينة.

وهذا ما يفسره الشكل(4):



الشكل(4) مقارنة محتوى الفلافونيدات بين العينات المجففة والطازجة

حيث: 1-عينات أوراق مجففة وطازجة 2-عينات أزهار مجففة وطازجة.

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

1. إن تركيز الفلافونيدات في عينات الزعرور (أوراق، أزهار) تكون في المستخلص الإيتانولي (70%) أكبر منه في المستخلص المائي.
2. تزداد كمية الفلافونيدات المستخلصة عند الاستخلاص على الساخن سواء أكان الاستخلاص مائي أو كحولي.
3. كمية الفلافونيدات في عينات أزهار الزعرور سواء المجففة أو الطازجة أكبر منها في عينات الأوراق.
4. كمية الفلافونيدات الموجودة في عينات (أوراق، أزهار) الزعرور المجففة أكبر منها في الطازجة.
5. نستنتج أن الفائدة الصحية المرجوة من شرب مغلي أوراق وأزهار الزعرور تتحقق عند استخدام الأنواع المجففة منها أي تلك الموجودة عند العطارين.

التوصيات:

1. دراسة استخلاص الفلافونيدات بطريقة تسمح الحصول عليها نقية واستخدامها في الصناعات الدوائية كمكملات غذائية ومضادات للأكسدة.

2. في دراسة مستقبلية يمكن باستخدام طرائق كروماتوغرافية ووجود عينات قياسية لمركبات فلافونيدية التعرف على أنواع الفلافونيدات الموجودة في أوراق وأزهار الزعرور.

المراجع:

1- KUMAR, D; ARIA, V; BHAT, Z. A; KHAN, N. A; PRASAD, D. N. *The genus Crataeguse: chemical and pharmacological perspectives.* Brazilian journal of pharmacognosy, ISSN 0102-695X, 2012, 14.

2- MATOES, R. G. *Antioxidant compounds in hawthorn fruits (Crataegus spp.) of Mexico.* Revista Mexicana de biodiversidad, 84, 2013, 1298-1304.

3- TASSEL,C.M; KINGSTON, R; GILROY, D; LEHANE, M; FUREY, A. *Hawthorn (crataegus spp.) in the treatment of cardiovascular disease*. Pharmacogn Rev 4(7) , 2010, 32-41, 11.

4- KOSTIC, A. D; VELICKOVIC, M. J; MITIC, S. S; MITIC, N. M; RANDELOVIC. *Phenolic content and antioxidant antimicrobial activities of crataegus oxyathantha L (Rosaceae) fruit extract from southeast Serbia.* Tropical jurnal of pharmaceutical research 11(1), 2012, 117-124.

5- NABAVI, F. S; HABTIMARIAM, S; AHMED, T; SUREDA, A; DAJLIA, M; SANCHIZ, S. E; NABAVI, M, S. *Polyphenolic composition of crataegus monogyna Jacq. From chemistry to medical applications*. Nutrients, 7, 2015, 7708-7728.

6- GURIKOVA, T; Sochor, J*; Polyphenolic profile and biological Activity of Chiense Hawthorn (Crataegus pinnatifida BUNGE) Fruits.* MuleculesISSN 1420- 3049, 2012, 14490- 14509.

7- BALICK, M. *Herbal gram.* The journal of the American Botanical Council,N 96, 2013, 96.

8- TAHEROVIC, A. *Phenolic content and antioxidant Activity of crataegus monogena L. fruit extracts*. Sarajevo NO2, 2014, 13.

9- AMEL, B ; SEDDIK, K; SHETIWAY, A; SALLIHA, D; MUSSA, A; ASSIA, B; SALIHA, D; ABDERHMAN, B; SMAIN, A. *Phetochemical analysis, antioxidant activity and hypotensive effect of Algerian azarole (crataegus azarolus L.) leaves extracts.* Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, Algeria, NO1, 2014, 5.

10- BEDREAG, F.C; TRIVAN, A; BUSUR, A; ARCUS, M; TEBRENCU, C; MERON, A; COSTACHI, I. *Chimical and antioxidant studies on Crataegus pentagyna leaves and flowers*. University of Bucharest, Romania,Vol19, 2014, 9.

11- YANG, B; KALLIO, H.*Composition of hawthorn (crataegus spp.) fruits and leaves and emblic leafflower (phyllanthus emblica) fruits*. painosalama oy, Turku Finland, ISBN 978- 951-29-4981-6, 2012, 96.

12- MARENOVA,D.*TOTAL PHENOLICS AND TOTAL FLAVONIDS IN BOLGARIAN FRUITS AND VEGETABELS*.Journal of university of chemical technology and metallurgy 40.3.2005.255.260.

13- SALMANIAN,S.*PHENOLIC CONTENT,ANTIRADICAL,ANTIOXIDANT,AND ANTIBACTERIAL PROBIRITIES OF HAWTHORN SEED AND PULP EXTRACT*.J.Agr.sci.tech.(2014) Vol.16:343-354.

14- CRITU, R; MIHAILESCU, R; MITROY, G; IACOB, E; VERDIS, R. *Phytochemical investigation of crataegi folium cum flos (Hawthorn leaves and flowers) and hyperici herba (ST johns wort aerial parts) hydroalcoholic extracts*. Analele stiintifice ale Universitatii „Alexandru Ioan Cuza", Sectiunea Geneticasibiologie Moleculara, TOM XII, 2011, 133-138.

15- SINGH, D; SINGH, B; GUPTA, A; SOLANKI, S; SHARMA, E; NEMA R; *Qualitative estimation of the presense of bioactive compound in centella asiatica: an important medicinal plant.* Akash najar, India, Vol2, 2012, 3.

16- TAMILSELVI, N; KRISHNAMOORTHY, P; DHAMOTHARAN, R; ARUMUGAM, P. SAGADEVAN, E. *Analysis of total phenols,total tannins and screening of phytocomponents in indigofera aspalathoides (Shivanar Vembu) V Aahi EX DC.* Journal of chemical and pharmaceutical research,India, ISSIN: 0975-7384, 2012, 4.

17- PALANISAMY, P; JAYAKAR, B; KUMUTHAVALI, V; KUMAR, Y; SRINATH, R. *Preliminary phytochemical evaluation of whole plant extract of dipteracanthus prostratus nees. International research journal of pharmacy* ,India, ISSN 2230- 8407, 2012, 150-153.