جامعة السودان للعلوم والتكنولوجيا

كلية التربية

قسم العلوم – شعبة الكيمياء

بحث تكميلي لنيل درجة البكلاريوس مرتبة الشرف في التربية كيمياء

استخلاص الفلافونيد من اوراق نبات الطلح

Extraction of Flavonoids from Acacia sayal leaves

اعداد :

ابتسام عبد المنعم محمد سيد احمد

تهاني تاج الدين خالد علي

راوية الطيب حسن البادي

سارة معتصم محمد بابكر

إشراف : **ايمان عبدالله ادم**

2015م – 1436هـ

بسم الله الرحمن الرحيم

قال تعالي :

" يَا أَيُّهَا الَّذِينَ آمَنُوا إِذَا قِيلَ لَكُمْ تَفَسَّحُوا فِي الْمَجَالِسِ فَافْسَحُوا يَفْسَحِ اللَّهُ لَكُمْ ۖ وَإِذَا قِيلَ انْشُزُوا فَانْشُزُوا يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ ۚ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ "

صدق الله العظيم

سورة المجادلة : الآية (11)

الإهـــداء

إلى نشوة الحنان ونبع العطاء والسخاء من سهرت على راحتي وحملت همومي وأنارت دربي بمشاعل عطفها وحبها،،،إليك يا من تسكن الجنة تحت اقدامها ،،،أطال الله عمرك ومتعك بالصحة والعافية ،،،

أمي الحبيبة

إلى من احمل اسمك بكل فخر ،،،إلى بحر العطاءالذي لاينضب ابدا ،علمني الحياة وذرع في نفسي حب العلم والعمل إليك أيها الخير كله الذي كافح وجاهد في تربيتنا حتى اضاء لنا ظلامات الطريق ،،،

أبي العزيز

رايتهم في الظلال، وفي المداءات، وفي حدقات اعيوننا شاءت كل عناصر الأقدار ان نكون في رحم هذه الأرض كنا وكنتم ومازلنا كألوان الفراشات حملت تضاريس الوطن إلى من اظهرو إلى ما هو أجمل في الحياة ،،،إخوتي إلى من كانو ملاذي وملجئ إلى من تذوقت معهم أجمل اللحظات إلى من سأفتقدهم وأتمنى أن يفتقدوني إلى زملائ الذين جمعتني معهم ظروف الدراسة من غير ميعاد فكانوا خير سند لنا وذاد إلى من جعلهم الله أخواتي بالله ومن احببتهم في الله،،،

طلاب قسم الكيمياء

إلى جميع الاهل ،،إلى من يجمع بين سعادتي وحزني،،إلى من لم اعرفهم ،،ولم يعرفوني ،،إلى من أتمنى أن أذكرهم،، إذا ذكروني،، إلى من أتمنى أن تبقى صورهم في عيوني ،،،

الباحثات

الشـكـر والعـرفـان

من بعد الحمد والشكر لله سبحانه وتعالى ومن باب من لا يشكر الناس لا يشكر الله ومن باب رد الفضل إلى أهله أتقدم بوافر الشكر و كريم الإمتنان للإستاذة إيمان عبدالله ادم على تكرمها و تفضلها بالاشراف على هذا البحث وعلى توجيهاتها المخلصة التى اعانت الباحثات كثيرا في خروج هذا البحث بالصورة التى نرجو أن تكون مرضية وأيضا أتقدم بجزيل الشكر والعرفان إلى كل من أشعل شمعة في دروب علمنا إلى كل الذين ساهموا في إعداد هذا البحث وإلى من وقف على المنابر وأعطى من حصيلة فكره لينير دربنا إلى الاساتذة الكرام في كلية التربية والشكر اجزله إلى الإستاذ امين الدين عيسى فجزاه الله عنا كل خير فله منا كل التقدير والإحترام

سطورا كثيره تمر في الخيال ولا يبقى لنا في نهاية المطاف إلاقليلا من الذكريات وصور تجمعنا برفاق كانو إلى جانبنا ،، فواجب علينا شكرهم ووداعهم ونحن نخطو خطواتنا الأولى في غمارة الحياة فلهم منا جزيل الشكر

الباحثات

المستخلص

أستخلص ورق نبات الطلح بواسطة الإيثانول و عند تبخير الإيثانول تم الحصول على ناتج خام أخضع لكروما توغرافيا العمود وكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ،حيث تم الحصول على فلافونويد نقي باستخدام السيلكاجل والمذيب (B.A.W) واعطى المذيب نتائج فصل جيدة .

Abstract

I conclude Paper Acacia by ethanol and steaming when ethanol was obtained on the output of crude subjected to Chroma Togravea column and TLC , which was obtained by using pure flavonoid Alsellkajl solvent (B.A.W) and the solvent gave the results of a good season.

فهرس الموضوعات

الرقم	الموضوع	الصفحة
	الاستهلال	أ
	الاهداء	ب
	الشكر والعرفان	ج
	المستخلص	د
	الفهرست	هـ
	الفصل الاول **الاطار النظري**	
1:1	المقدمة	1
1:2	تعريف الفلافونيدات	1
1:2:1	أنواع الفلافونيدات	2
1:2:2	الوظائف الفسيولوجية للفلافونيدات	2
1:2:3	مصادر الفلافونيدات	3
1:2:4	السمية	4
1:2:5	تصنيف الفلافونيدات	4
1:2:5:1	الفلافون	5
1:2:5:2	الايزوفلافون	8
1:2:5:3	الفلافونول	9
1:2:5:4	الانثوسيانين	9
1:2:5:5	الكاتشين	10

1:2:5:6	الجالكون	11
1:2:5:7	الفلافنون	11
1:2:6	خواص الفلافونيدات	12
1:2:7	تحضير وتجهيز العينات	13
1:2:8	المادة المستخدمة	14
1:2:9	الأجهزة المستخدمة في التحليل	15
1:2:9:1	كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة	15
1:2:9:2	كروماتوغرافيا العمود	16
1:2:9:3	جهاز الفصل اللوني عالي الكفاءة والأداء HPLC	16
1:2:9:4	وسيلة كروماتوغرافيا السائل عالية الضغط HPLC – ومقياس الكتلة MS	17
1:2:9:5	وسيلة كروماتوغرافيا عالية الكفاءة HPLC وجهاز كشف الأشعة فوق البنفسجية UV	17
1:2:9:6	كروماتوغرافيا السائل ذو الأداء العالي – الرنين النووي المغنطيسي	18
1:3	الطلح	20
1:3:1	وصف الشجرة	20
1:3:2	استخداماتها الصناعية	20
1:3:3	استخداماتها الطبية	21
الباب الثاني **الاطـار العـمـلي**		
2:1	المواد وطريقة العمل	22
2:1:1	العينة	22
2:1:2	الأجهزة	23

2:1:3	المواد الكيميائية	23
2:1:4	تحضير كواشف الإزاحة للكشف الكيميائي	24
2:1:4:1	كواشف اختبار الفلافونيدات	24
2:1:4:2	كواشف اختبار القلويدات	24
2:1:5	تحضير مستخلص النبات للكشف الكيميائي	24
2:2	الطريقة الكيميائية للاختبارات	24
2:2:1	اختبار الاسترويدات	25
2:2:2	اختبار القلويدات	25
2:2:3	اختبار الفلافونيدات	25
2:2:4	اختبار الجلايكوسيدات	26
2:3	استخلاص الفلافونيدات من أوراق نبات الطلح	26
2:4	التنقية بواسطة كروماتوغرافيا العمود	26
2:5	اختيار المذيب المناسب	26
2:6	فصل الفلافونيد الخام	27
2:7	كواشف الإزاحة	28
2:8	طيف الأشعة فوق البنفسجية للمركب في وجود ميثوكسيد الصوديوم	28
2:9	طيف الأشعة فوق البنفسجية للمركب في وجود كلوريد الألمونيوم	29
2:10	طيف الأشعة فوق البنفسجية للمركب في وجود كلوريد الألمونيوم وحمض الهيدروكلوريك	29
2:11	طيف الأشعة فوق البنفسجية للمركب في وجود خلات الصوديوم	29

2:12	طيف الأشعة فوق البنفسجية للمركب في وجود حمض البوريك	29
	الباب الثالث **تحليل ومناقشة النتائج**	
3:1	نتائج الاختبارات الكيميائية	30
3:1:1	اختبار الاسترويدات	30
3:1:2	اختبار القلويدات	30
3:1:3	اختبار الجلايكوسيدات	30
3:1:4	اختبار الفلافونيدات	30
3:2	اختيار المذيب المناسب	30
3:3	نتائج طيف الأشعة فوق البنفسجية (UV)	34
3:3:1	قراءة طيف الأشعة فوق البنفسجية للعينة	34
3:3:2	قراءة طيف الأشعة فوق البنفسجية للعينة مع ميثوكسيد الصوديوم	35
3:3:3	قراءة طيف الأشعة فوق البنفسجية للعينة مع خلات الصوديوم	36
3:3:4	قراءة طيف الأشعة فوق البنفسجية للعينة مع كلوريد الألمونيوم	37
3:3:5	قراءة طيف الأشعة فوق البنفسجية للعينة مع حمض البوريك	39
3:4	الخلاصة والتوصيات والمقترحات	40

3:4:1	ملخص عام للبحث	40
3:4:2	التوصيات	40
3:4:3	المقترحات	40
	المراجع	41
	الملاحق	

الباب الأول

الإطار النظري

1:1 المقدمة :

الفلافونيدات[1]هي احد افراد مجموعة المركبات الفينولية وهي صبغات نباتية صفراء هي المركبات المسؤولة عن اللون في النباتات عدا اللون الاخضر الذي يكونه الكلورفيل (صبغة النبات نفسة) تتوزع الفلافونيدات نفسها في اجزاء النباتات المختلفة اذ توجد في الاوراق والجذور والثمار وتسمى احيانا بانثوزنثيات Anthoyanthins .

واسم الفلافونيد مشتق من كلمة Flavus وتعني اللون الاخضر باللاتينية وكثير من المنتجات الطبيعية والمستخلصة من النباتات عبارة عن مواد فينولية وذلك نسبة لكثرة عدد المركبات الفينولية وتباين هيكلها فبعض هذه المركبات بسيطة التركيب اذ تحتوي على حلقة بنزين واحده ومجموعة هيدروكسيل وغيرها من المجموعات المستبدلة وهناك مركبات تحتوي على اكثر من حلقة بنزين وهي عبارة عن فينولات طبيعية وهي اكثر تعقدا في بنائها من المركبات البسيطة .

والاساس لدراسة الفلافونيدات هو توفر الوسائل لعزلها وفصلها واهمية هذا الجانب للبحث في الفلافونيدات يمكن النظر اليها في عدد من ادوات الفحص التي تشير الى القياس الطيفي .

1:2 الفلافونيدات :

الفلافونيدات،البيوفلافونيدات الحيوية [2]هي احد أفراد مجموعة مركبات بلورية موجودة في النباتات ولقد تم اكتشافها بواسطة العالم (زينت جيورجي) الحاصل على جايزة نوبل عام 1937م .

لقد توصل العلماء منذ1936الى اكتشاف 4000نوع من الفلافونيدات وعلى الرغم من هذا العدد الكبير إلا انه يمثل جزءا صغيرا من الفلافونيدات الموجودة في الطبيعة وهذه المواد

هي المسئولية عن الألوان الداكنة في الفواكه والخضر .والفلافونيدات (البيوفلافونيدات الحيوية) ليست فيتامينات حقيقية بالمعنى الدقيق وان كانت تسمى احيانا (Vitamin) .

1:2:1انواع الفلافونيدات:

إيروديكتيول،كبرسيتين"Quercetin"روتين"Rutin"،هسبريدين"Hesperidin" ، ناريتجين"Naringin"،جبنستين "Genistein" ، بيكالين "Baiclin" ، بيكنوجينول "Pycnogenel" ،وهو يحتوي على العديد من مجموعة الفلافونيدات ، كاتيشين "Catechin". ،البيوفلافونيدات[2].

1:2:2وظائف الفلافونيدات الفسيولوجية :

1-تعمل كمضاد للاكسده .

2-تعمل كمضاد للفيروسات والالتهابات والبكتريا .

3-تخفف الالم والكدمات والتورمات .

4-تقلل من حده الاعراض المرتبطه بالنزيف المستمر وانخفاض مستوى الكالسيوم .

5-تعمل بالتناغم مع فيتامين (ج) لحمايه الشعيرات الدمويه .

6-تنشيط الدوره الدمويه وتقني وتعالج اضطرابات الدوره الدمويه .

7-تخفيض مستوى الكلسترول .

8-تقي من المياه البيضاء وتعالجها ومضاعفات السكري .

9-عند تناولها مع فيتامين (ج) فأنها تخفف من اعراض مرض القوباء .

10-حمايه البروتينات الدهنيه المنخفضه الكثافه من الاكسده .

11-تقي من اعراض الربو وتعالجها بكفاءه .

12-تقي من اعراض ارتفاع ضغط الدم وامراض القلب بانواعها .

13-علاج لدوالي الساقين وتقلصات عضلات الساق .

14-تعمل كعلاج الاضطرابات الناتجه من عدم تدفق الدم .

15-مضاد للفيروسات خاصه الفيروسات المسببه لشلل الاطفال والانفلونزا والالتهاب الكبدي (أ،ب) والفيروس المسبب لسرطان الدم في الخلايا اللمفاويه " ت "والفيروس المسبب لمرض نقص المناعه المكتسبه .

16-تلعب دور الاستروجين النباتي حيث انها تعمل على توازن بين الاستروجين الضار والمفيد لمساعدة الاجسام على التمثيل الغذائي للاستروجين حيث ان زياده الاستراديول تسبب حدوث سرطان الثدي والبروستات واعراض سن اليأس ومتلازمه ما قبل الطمث والتحوصل الليفي بالثدي حيث ان الفلافونيدات تساعد اجسامنا على تحويل الاستراديول الى الاستريول وهو الصوره الامنه من الاستروجين (Bio Favonoids) .

1:2:3 مصادر الفلافونيدات :

الطحالب الخضراء المزرقه

الطبقه البيضاء التي توجد اسفل قشره الحمضيات الملونه

الغلاف الاخضر

الحنطه السوداء –العنب الاسود

المشمش –الكرز – البرقوق – الحبوب

البقوليات الخضراء خاصه الصويا ومنتجاتها

الشاي – القهوه – الكاكاو

قال عليه الصلاه والسلام: (المعده بيت الداء والحميه رأس كل دواء واعط كل بدن ما عودته)

1:2:4 السميه :

سميه الفلافونيدات قليله جدا بالنسبه للحيوانات اما للانسان فهي نسبه ضئيله تكاد تكون ذات تأثير منعدم .

1:2:5 تصنـيف الفـلافونـيدات :

تحوي الفلافونيدات[1] مجموعات بديلة في الغالب هي مجموعات هيدروكسيل او ميثوكسيل وقد توجد هذه المركبات على هيئة جلايكوسيدات (يحتوي بناؤها على وحدات سكرية) التي قد تكون على هيئه سكر احادي او ثنائي او قد يدخل في بناء السكر اكثر من وحدتي سكر احادي ، هذا وقد تكون وحدة السكر مرتبطة بذره اوكسجين الى مجموعة الهيدروكسيل او مرتبطة مباشرة باحدى ذرات كربون الحلقة العطرية .

واغلب السكريات الاحادية المتوافرة في بناء الفلافونيدات هي الجلكوز والجلاكتوز والرامنوز والزيلوز .

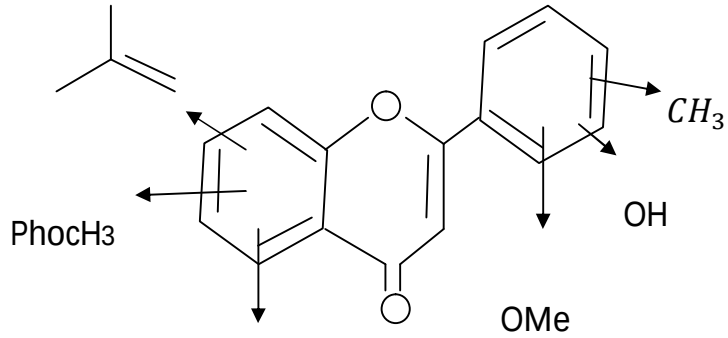
والفلافونيدات التي تحتوي على مجموعة او اكثر من المجموعات السابقة على الحلقة (a) والحلقة (b) او في كلاهما تسمى الفلافونات falvones ، اما اذا كان هنالك مجموعة هيدروكسيليه بديلة على الموقع 3 لمركب فلافوني تسمى بالفلافونولات flavonols ، واذا كان الموقع 3 مشبع في مركب فلافوني ففي هذه الحالة يسمى المركب فلافنون flovonone ، اما الايسوفلافون iso flavone فهو وثيق الصلة بالفلافون في التركيب

الكيميائي وهو ايزومر للفلافون ويختلف مع الفلافون فقط في موضع ارتباط الحلقة b حيث توجد في الموقع 3 وهنالك مجموعة مركبات فلافونيدية اخرى وهي :

- الانثوسيانين Anthocyanins .
- الكاتشين Catchine .
- الاورون Aurone .
- الجالكون Chalcone .

1:2:5:1 الفـلافـون :flavone

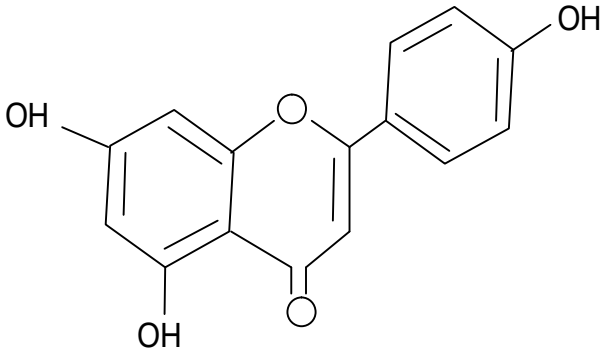
هذه مجموعة واسعة الانتشار في النباتات وهي مركبات فلافنول وتعمل كصبغه مساعدة حيث نحصل عليها بادخال مجموعات مستبدله مختلفه مثل



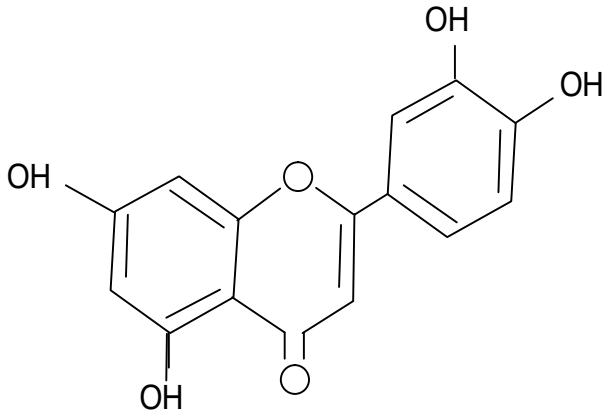
حيث ان الحلقه الاروماتيه b في الموقع 2 والحلقه غير المتجانسه c بها رابطه ثنائية في الموقع 2 و3 ومجموعة كيتون في الموقع 4 .

ومن امثلة الفـلافـونـات :

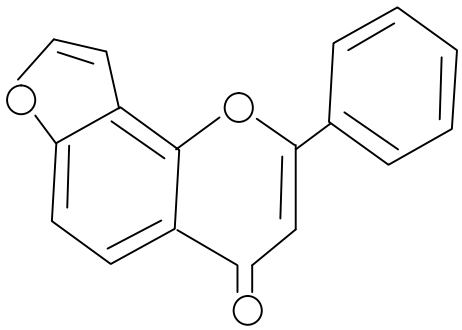
الارجنين



ليتولين

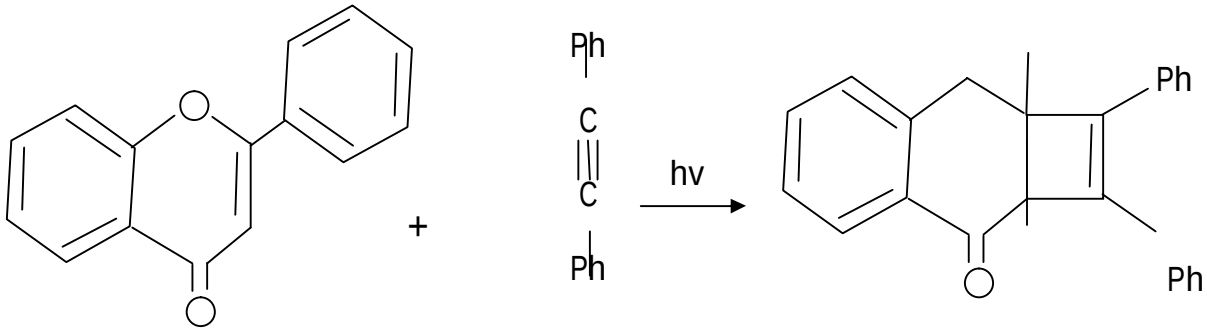


ايضا نلاحظ ان الفلافون قد يحتوي علي حلقات اضافيه فمثلا في الفلافون التالي والمعروف باسم بيناتين ذو التركيب التالي

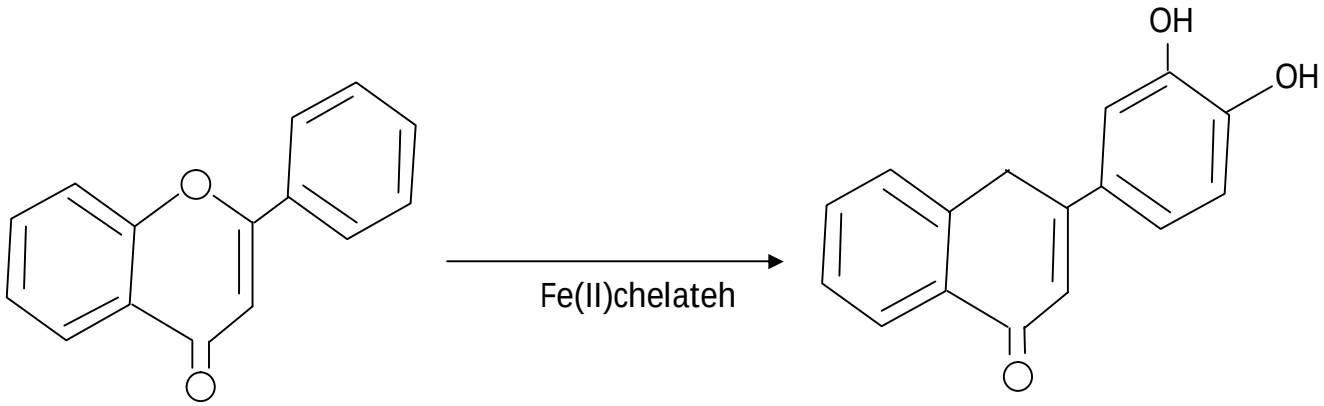


- **تفـــاعـلات الفـلافـون :**

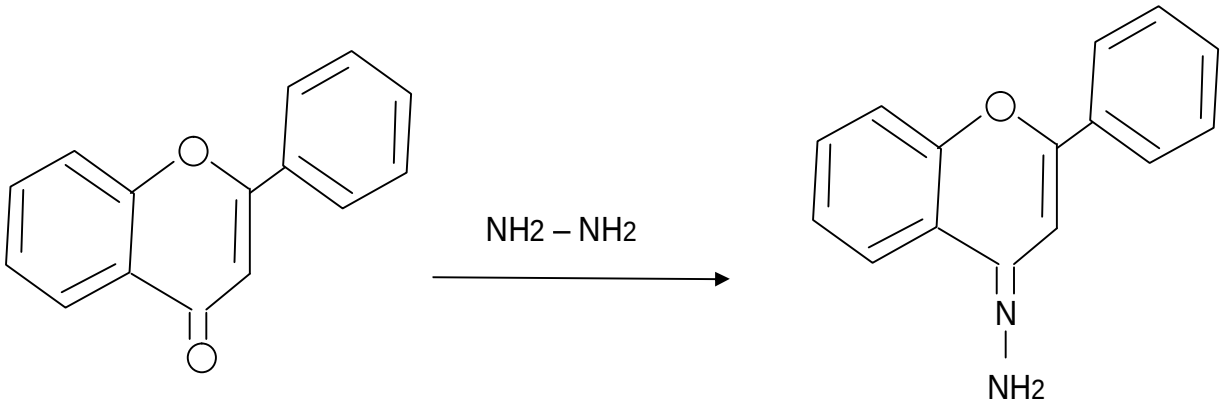
تستطيع مركبات الفلافون ان تعطي تفاعلات ضوئية مع مركب ثنائي فينايل استون كما موضح ادناه



تحت الظروف الملائمة تتفاعل مركبات الفلافون مع الكاشف المعروف باسم ادينت فريند وهو عبارة عن من حمض الاسكوربيك ومعقد الحديد II وناتج هذا التفاعل هو اضافة مجموعات هيدروكسيل في مواقع مختلفة .

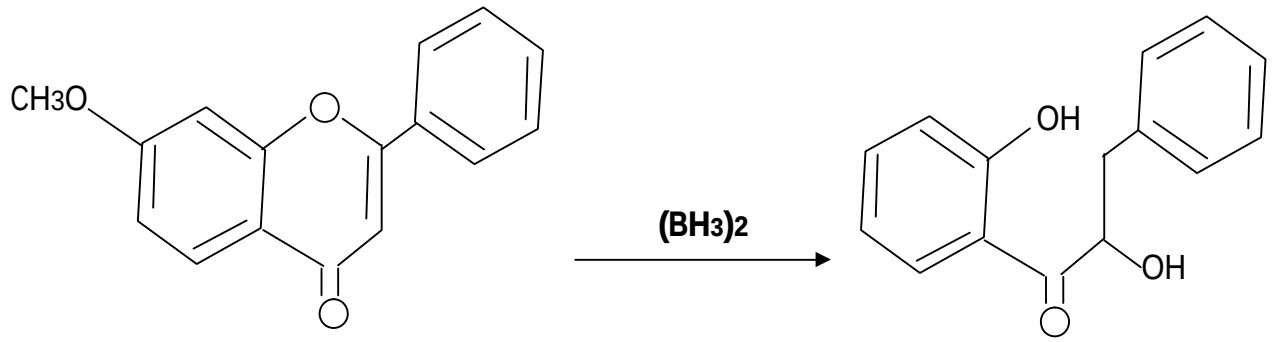


تتفاعل مركبات الفلافون مع الهيدرازين وناتج هذا التفاعل هو مركب الهيدرازين

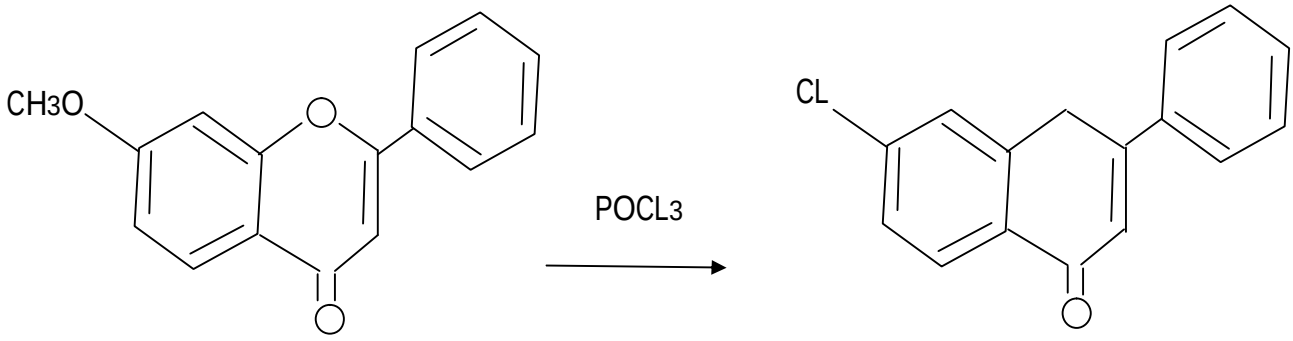


وهذا التفاعل يجب الايكون في الاوساط القاعدية القوية فبدلا من الهيدرازون تتكون مركبات اخرى تسمى بايرازولس .

عند معالجة 7 . ميثوكسي فلافون بمركب ثنائي بوران تنشط الحلقة

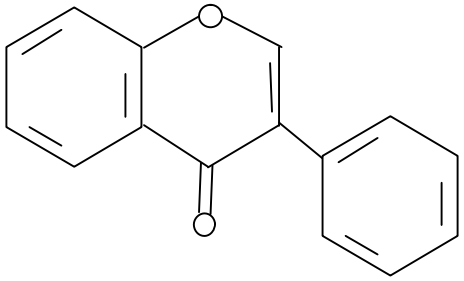


عندما يسخن 7 . هيدروكسي فلافون مع POCL3 تحدث كلوره في الموقع 7 ويمكن الحصول على نفس الناتج من مركب 7. ميثوكسي فلافون تحت نفس الظروف



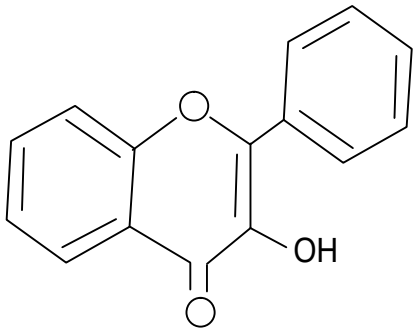
1:2:5:2الايزوفلافون : isoflavone

تضم فئة من المركبات العضوية وكثيرا ما توجد بصورة طبيعية ، تتعلق الايسوفلافون كما في العديد من الفايتوستروجينات في الثديات وهي من المواد المضادة للاكسدة وبعض الايسوفلافون في الاطعة الغنية تمتلك ناط ضد السرطان بما في ذلك انواع معينه من سرطان الثدي والبروستاتا .



1:2:5:3الفلافونول :Flavonol

يختلف عن الفلافون في التركيب فقط في ان الفلافونول يحيوي على مجموعة هيدروكسيل في الموقع 3 والفلافنول واسع الانتشار في المملكة النباتية وخصوصا في الاوراق ، ويوجد علي هيئة جلايكوسيدات وله التركيب الكيميائي التالي



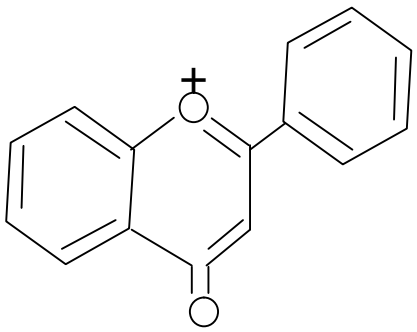
المصادر الجيدة لمركبات الفلافونول في النظام الغذائي هي البصل . القرنبيط . الخس الطماطم . التفاح . العنب . التوت . الشاي . النبيز الاحمر .

1:2:5:4الانـثـو سيـانـين :Anthocyanin

يعتبرالانثوسيانين من مجموعة الفلافنويد وهو المسئول من الوان السيانيك يتراوح من الوردي والاحمر الي الازرق الغامق لمعظم الازهار والفواكه والاوراق

انتاج الانثوسيانين بتزريع الخليه والتركيب موضع الانثو سيانين في خلايا النبات ثم معالجتها منعزلة نتيجه التقدم الهائل في هذه المجالات في السنوات الاخيره

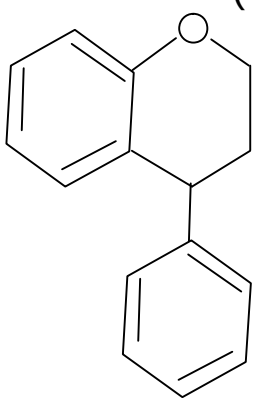
***تركيب الانثو سيانين**



العدد الكلي للانثوسيانين المختلفه هو (539) هذا العدد يتضمن (277) انثوسيانين التي تم تحديدها فيما بعد عام 1992 تناول glycoalthocyanine طبيعة تم عزلها حديثا من ازهار نبات tricyatis لاتوجد وحدات جديدة من سكريات احاديه تم تحديدها في الانثوسيانين خلال العقد الاخير

1:2:5:5الكـاتشـين: Cat chine

يتميز هذا النوع من الفلافونيدات بعدم وجود مجموعة كربونيل في الموقع (4) في هيكل الفلافونيد وبدلا عنها توجد مجموعة فينيل في الموقع (4)



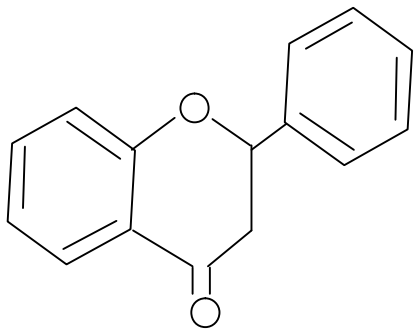
1:2:5:6الجالكون:Chaconne

ذكرت الجليكونات والجالكونات الجديده في الادب الكيميائي في العام 1992و2003 م ويستخدم الجالكونات لتخليق الفلافو نيدات لان له تركيب قريب من تركيب الفلافونيدات ويتم تحضير الجالكونات في درجة حراره مرتفعه

يحضر الجالكون باستعمال البنزالدهيد والأسيتوفينون في درجة حراره عاليه 350.200 تخليق سوزوكي

1:2:5:7الفلافنون:flavanone

هذه مجموعة واسعة الإنتشار في النباتات حيث نحصل عليها عن طريق الاستبدال في مواقع مختلفة .



***الاستبدال في الموقع اورثو :**

ليستبدل الفلافونون بالهيدروكسيل والميثوكسي وmethylene في c ميثيل او المجموعات التي لها علاقة بالمركبات المسبقة السي (c) الملائم يمكن ان يسمى الفلافونون البسيط، في المقابل ايضا تظهر الفلافونات الاستبدالات المعقدة مع مجموعة البرينيل و البنزايل.

الاستبدال في الموقع اورثو في الفلافونون بدون الاستبدال في c اجريت ابحاث جديدة من 1992_2003م ووضع في جدول .

والمثير للاهتمام المركب الناتج المستبدل الرباعي في الموقع اورثو وهو المركب 2-5 ثنائي الهيدروكسيل 6-7 ثنائي ميثوكسي فلافون ، لان تراكم 2-هيدروكسيل منفصل الفلافون وهو نوع نادر في الطبيعه.

يوجد الفلافون جلايكوسيد بيريدين في الفواكهه او يكون شائعا في الفواكهه الحامضيه أيضا يستطيع الفطر أن ينتج المركب المهدرج في الموقع 6و8 المشتق من النارجنين والشائع أيضا في حمض الفلافونون جلايكوسيد (نارجين)

خلال الاثنتي عشر سنه الماضية تناولت الأنشطه البيولوجيه بعض الفلافونويدات البسيطه مثل مضاد الفطريات النشطه والتي كانت تسمي في السابق mono – oxygenarmensi التي أختبرت مجددا ووجد ان المنتج هو نشط جدا بعشره اضعاف المركب السابق

7-ايثر ميثيل النارجنين و 4-5 ثنائي هيدروكسي 7-ميثوكسي فلافون سمي باليابانيه شجره الساكوره sakora ، ومركب ثنائي هيدروكسي 7-ميثوكسي استخلص من قبل مائه سنه ماضية وهو نشط ضد الفطريات .

1:2:6 خواص الفلافونيدات :

هي مركبات ذات صفة حمضيةذائبة في القواعد القوية مثل هيدروكسيد الصوديوم ، وتصنف الفلافونيدات التي تحمل عدد كبير من مجموعات الهيدروكسيل الحره او السكر بالصفه القطبية لذا فهي تذوب في المركبات القطبية مثل الميثانول او الايثانول او الايزوفلافونات هي اقل قطبية لذا هي لا تذوب في الايثر او الكلورفورم [1].

1:2:7 تحضير وتجهيز العينات :

تجهيز العينات[4] من اجل التحليل يستصحب كل عينة على حدة لاسيما وقد اصبح هذا علما بذاتة .

واهم مراحل هذة الخطوات هي المرحلة الاولى بالنسبة لاغراض التحليل الكيميائي والكيموحيوي ، وهذه الخطوات او المرحلة الاولى تتسم دائما بالبطء بالنسبة للعينات المأخوذة في النبات فان عدد وتنوع التحاليل المطلوبة واسع للغايه ويقتضي اعداد وتجهيز متقن حتى نحصل على اجزاء وقدر من فينول غني ومركز .

وعملية التجهيز والتحضير تقتضي مراعاة الاتي :

1) التخلص من أي تداخلات ممكنة في العينة حتى تتمكن ن تحقيق مزيدا من النقاء .
2) احصل على كمية وافرة من المادة analyte ان هذا يؤدي الى مزيد من الدقة في التحليل .
3) حول هذه المادة الفعاله analyte الى هيئة تتناسب مع الكشف او الفرز (اذا اتيح لها)
4) توافر طرق كافية للتحليل والتي تتصف بقابليتها للاعادة أي انها تعطينا نفس النتيجة مهما تعددت الطرق او مرات التحليل وهذا المبدأ علمي معلوم من التجارب العملية .

والهدف العام من تجهيز العينات . في هيئة تتناسب مع طرق التحليل . هو ان المكونات ذات الاهمية والمستهدفة يجب استخلاصها من تركيبها المعقد ، حيث تتم هذه العمليه في اقصر زمن وبأقل جهد ممكن وبأكبر درجة من الدقة مستصحبين في ذلك القابلية للاعادة كما يجب ان تكون الاحوال مناسبة لتفادي عملية الاكسدة او التدهور الحراري أي تغييرات كيميائية او كيموحيوية .

كما ان هناك طرق مختلفة لتجهيز العينات مثل الترشيح او الاستخلاص او التمحيص ، فان هناك طرق اخرى حديثة قد تم تطويرها وهي الان اخذه في الانتشار . وفي مقدمة هذه التطورات هي طريقة الاستخلاص اثناء الطور الجامد للمادة (SPE) وهذه الطريقة تتميز بانها سريعة واقتصادية وذات تقنية عالية ويستعمل فيها كمية كبيرة من الاقراص والمواد المجففة كما يمكن اجراء عملية تجهيز العينة وتركيزها في خطوة واحدة .

1:2:8المادة المستخدمة :

يمكن لجلايكوسايد الموجودة في الفلافونيدات فقط[4] ان تحلل بواسطة تفاعل الانزيمات وذلك عندما تكون العينة النباتية جافة او غير جافة .

وان الجافة المستخدمة سرعان ما تتحول الى بدرة او مسحوق فلذلك يتضح باستعمال مادة الليوفيل او بتجميد هذه العينه .

وعندما يراد اجراء عملية تجريبية على هذه العينة المحددة تقوم بواحدة من المهام التي يتطلبها الفلافونويد ، فلا بد من عملية استقطاب ، فتتم عملية الاستخلاص باستخدام عناصر الفلافونيد اقل استقطابا مثل الايزوفلافون ، والفلافنون ، والفلافونول تمزج الكلووفورم choroform ، والديكلور. ميثين Di chloromethane ، والديثيل Diethyl او الايثيل Ethyl ، بينما تستخلص الجلايكوسايد الفلافونيد مع عناصر الاقليكون Aglycones الاكثراستقطابا مع الكحول مع خليط الماء .

احيانا يمكن استخلاص عنصر الفلافان .3(3-Flavun) مباشرة بواسطة الماء الطلق بعناصرة التكوينية مثل الكاتشين Catechins والبيرونسياندين Proanthocuanidins وعنصر الربو . على الرغم من اختلاف مركبات العصارة مع المادة المذابة سوءا كانت الماء او الميثانول او الاستون او كذلك استات الايثيل .

تجري عملية الاسخلاص بواسطة الذيذات المغنطيسيةاو الاهتزاز ولكن تم اكتشاف وسائل حديثة لزيادة سرعة الاجهزة مثل جهاز (PLE) وهو يعمل بنظام ضغط عصارة السائل .

وبفضل هذه التقنية يمكن لعملية الاستخلاص ان توصف بانها قد اصبحت اكثر سرعة وذلك باستخدام درجة حرارة وضغط عالي ، وعليه فانها تمكن من التحكم في انتشار العصارة او المادة المذابة في نفس الوقت كما انه بالامكان اجراء التجارب تحت ظرف مناخي هامد بعيدا عن ضوء المباشر .

وفي دراسة متعلقة بالنباتات الطبيعيه وجد ان جهاز PLLاكثر فاعلة وذلك لانه ينجز العملية التحليلية في وقت قصير وهوما يتطلب في العملية التحضيرية .

تفيد كثير من التقارير التي عملت على عده تجارب وتحليلات على عينات من المنتجات الطبيعية ، باستخدام كربون الدايكسويدCarbondioxide الفعال ، ولكن يتم اضافة مركبات مستقطبة مثل الميثانول Methanol . وقد استخدم البوليفول نسبيا (Polyphonies) .

1:2:9 الاجهزة المستخدمة في التحليل :

سوف نتحدث في هذا العنوان[3] عن الاجهزة التحليلة الشائعة وهي تستخدم للكشف عن اكبر قدر من المكونات الموجودة بالعينة .

وتتعدد هذه الطرق ابتداءا من طريقة PC حتى طريقة HPLC-MS ، والطريقة الاولى PC هي طريقة تعتمد على نوع خاص من ورقة من السليلوز مطلية بالسيلكاجل مرورا بطريقة TLC وهي طريقة فصل تعتمد على تحليل العينه في طبقة من الزجاج مطلية بالسليكاجل، وكذلك طريقة HPLC وهي اكثر دقة من TLC وهو جهاز للفصل اللوني .

وكل هذه الطرق تهدف الى التعرف على انواع الفلافونيدات الموجودة في اوراق شجرة الطلح.

1:2:9:1كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة :

كروماتوغرافيا الطبقة[1] والفوريدات الكهربائية الورقية (electrophoresis) تم استخدامها بصورة مكثفة في تحليل الفلافونيدات ولكن الان توجد طريقة اختبار ذات اسلوب تحليل مبسط وغير مكلف هي طريقة الاختبار اللوني للطبقة الرقيقة

ولها مزايا تتضح :

- ❖ في قصر زمن العزل وامكانية اجراء عزل لعينات عديدة في نفس الوقت .
- ❖ كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ملائم ايضا للفحص التمهيدي لمستخرجات النبات قبل تحليل كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء .

واستخدمت العديد من المذيبات لعزل الفلافونيدات بإستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ، الفلافونيدات الميثيلية تتطلب مذيبات غير قطبية مثل الميثانول والكلورفورم .

1:2:9:2كروماتوغرافيا العمود :

يترواح طول العمود والذي غالبا ما يكون من الزجاج في الطرق الكروماتوغرافية التقليدية ما بين 30 cm . 10 بقطر يساوي 1 cm او اكثر ، ويتراوح قطر حبيبات الطور الصلب الثابت ما بين 140µ m . 74 . يسير الطور المتحرك عبر العمود بفعل الجاذبية او بفعل ضغط منخفض ويعتمد معدل سريانة على حجم حبيبات الطور الصلب وعلى قطر العمود ولزوجة الطور المتحرك وقطبية وعلى وضع الصمام الذي يوجد في نهاية العمود (كما في السحاحة مثلا) ، وفي اغلب الحالات يفضل ان يكون هذا المعدل في حدود 1 ml \ min . ويوضع في نهاية العمود كمية من الصوف الزجاجي glass wool لمنع خروج الطور الثابت من العمود كما يمكن في بعض الحالات استخدام السحاحة كعمود كروماتوغرافي .

1:2:9:3 جهاز الفصل اللوني عالي الكفاءة والاداء HPLC :

هذه الطريقة متقدمة تقنيا [3]اذ انها تمكننا من تحديد النوع والكم لاي عينة عرضت للاختبار ، وعليها فان الطريقة المثلى لاجراء التقصي واختبار مادة الفلافونيدات ومنذ استحداثها في سنة 1970 م فانها مستعملة في كل انواع الفلافونيدات وعليه فقد تم نشر مئات من الاستعمالات والتطبيقات .

وليس من اغراض هذا البحث الدخول في تفاصيل نظرية HPLC والتي وجدت حظها من الشرح التفصيلي في اماكن اخرى .

ان استعمال جهاز (HPLC) بغرض تحليل الفلافونيدات المتواجدة في النباتات الطبية وغيرها من النباتات قد قام بشرحها شرحا دقيقا الباحثان سيمبان وجوكان . وهي الطرق التي جدولت يتضح ان 90% من عمليات الفصل تتم باستعمال اعمدة الكربون المشع C18.

ان اهمية الفلافونيدات في الطعام (الفواكة والخضر والحبوب) تعني انه لا يمكن ان يستغني على وجود طريقة مثلى لتحديد كمية هذه الاطعمة . ان الغرض الذي قدمه ميركن . وبيتشر يعطينا ملخصا جيدا لاستعمالات الـ HPLC بغرض تحديد وتقدير الفلافونات والفلافلونات والايسوفلافنول ومحتوى كل من مادة الجلايكوسيدات في الطعام علي التوالي .

1:2:9:4 وسيلة كروماتوغرافيا السائلة عالية الضغط HPLC - ومقياس الكتلة MS:

من وسائل تحليل الفلافونيد ايضا[2] تقنية HPLC-MS المزدوجة وتعتبر من اكثر التقنيات أهمية في القرن العشرين ،وهو أفضل الوسائل لإجراء عملية التحليل ،وما يؤكد هذا شيوعا استعماله ،وذلك لقلة تكلفته وانجازه للعمليات التطبيقية بسرعة فائقة

وتقنية MSتعتبر من التقنيات الأكثر تجاوبا في عمليات التحاليل الجزئية بجانب قوتها العالية في عملية الفصل ،وعلى العموم فإن عمر تقنية HPLCمع الدايواد وMS تعتبر وسيلة بحث ذات فعالية وأداء متميزة وكذلك سرعة تحديد الفلافونويد في المخاليط .

1:2:9:5 وسيلة الكروماتوغرافيا عالية الكفاءة HPLC وجهاز كشف الأشعة فوق البنفسجية UV :

أيضا من الوسائل التحليلية جهاز HPLC وجهاز الUV[2]وغالبا ما يستخدم جهاز HPLC مع UVبتكرار وذلك لأن الثاني يتميز بالتعامل مع الأشعة فوق البنفسجية ، وفي حالة وجود عنصر الأنتوسيان يعمل الجهازان حيث تتم عملية غالبا بمتابعة عملية إمتصاص

البنفسجية للأنتوسيان وان المجال الموجي الأكثر استخداما للاكتشاف هو 280nm والذي يمثل توافقا معقولا.

قد يكون جهازLC_UVمهما لتحليل الأيزوفلافون (Iso flavones)لطالما اختلفت خاصية أشعتها عن باقي عناصر الفلافونويد .

ويرى جاستين امكانية دمج HPLCمع ال DAD لتحليل عينات الفلافونويد بالنسبة للكمية ،وقد قام باستخدام هذا النظام الكمي على تحليل الفلافونول (Flavonols)

والفلافون(Flavonoes) الموجود في الغذاء والمشروبات وكذلك الخضروات .

وقد تم الحصول على نتائج جيد أثر إجراء تحليل على عينة من الفلافونويد المؤكسد وعلى مجموعة من الفينوليك هيدروكسيل ،في نبات الجنينيانا Gentiana وكانت النتائج مفيدة .

1:2:9:6 كروموتوغرافيا السائل ذو الاداء العالي ـ الرنين النووي المغنطيسي :

إن الاستعمال الحاسم للتقنيات [2]الموصولة بواسطة الكروموتوغرافيا او الأشعة فوق البنفسجية او قياس الطيف الشامل يمكن إن يقدم معلومات كافية لتحديد الجزئيات البسيطة مثل الفلأفونيدا ولكن في معظم الحالات فان الحصول على معلومات إضافية مطلوب التقصي بعمق في التركيب .

دمج الكروموتوغرافيا السائلة مع الرنين النووي المغنطيسي دخلت في العام 1978 وهي واحدة من أقوى الطرق في عزل وتوضيح المركبات غير المعروفة في المخاليط الكروموتوغرافيا والرنين النووي المغنطيسي .

إن كروموتوغرافيا السائل والرنين النووي المغنطيسي مطلوبتان باستمرار اثنا عملية العزل وتتم معالجة البيانات على أنها ثنائية البعد وعند القيام بالتعرف على المستقبل الكامل لمستخرجات النبات يمكن استخدام كروموتوغرافيا السائل ذو الأداء العالي والرنين النووي

المغنطيسي وللحصول على أطياف مناسبة للرنين النووي المغنطيسي لجميع المكونات يجب زيادة العينة المأخوذة .

هذا المدخل المتبع في فحص العناصر المضادة في للفطريات من نبات طبي في ساحل العاج . إن تطبيقات كروموتوغرافيا السائل ـ الرنين النووي المغنطيسي لتحديد الفلافونيدات لإتذال قليلة بعض الشئ والسبب الوحيد في ذلك ربما هو التكلفة الباهظة للمعدات .

1:3 الطلــح :

هي شجرة معمره [5] من البقوليات تسمى ايضا الاكاسيا توجد منه انواع اصيلة في استراليا تبلغ 960 نوعا من اصل 1300 نوع من جنس هذه الاشجار .

ذكرت شجرة الطلح في القران الكريم حيث قال تعالى في وصف النعيم في الجنة (وطلح منضود) سورة الواقعة ايه 29 .

1:3:1 وصف الشجرة :

يصل طولها الى 20 متر حسب نوعها ويبقى نموها لمدة 30 سنه ثم تبدا بالتآكل والتراجع يحتوي بعض انواعها على مواد سامة ولها اشواك طويلة وهي ذات ازهار صفراء بداخلها بذور تسمى القرصي لها ثمار قرنية الشكل كما يتم استخراج نوع من انواع الصمغ العربي من هذه الشجرة وتتكاثر اشجار الطلح بالبذور ، من انواع الطلح العربي مثل الحصر العراقي والنجدي والسمر السناري والعسلي والنوبي والطويل والمسك .

1:3:2 استخداماتها الصناعية :

1) استفاد الانسان من خشبه في سقف البيوت قديما وفي صناعات الخشبية المختلفه حديثا .
2) في انتاج الصمغ العربي .
3) وكذلك تمت الاستفاده من ثماره وازهاره وبذوره في الطب الحديث في علاج كثير من الامراض .
4) تعد ازهار شجرة الطلح من مصادر غذاء النحل الذي يعد عسلها من اجود انواع العسل المستخرج في العالم لفوائده الكثيره .
5) يستخرج منها حامض التانين .

1:3:3الاستخدامات الطبية :

اثبتت الدراسات ان الطلح يفيد في علاج كثير من الامراض منها ارتفاع ضغط الدم والسكري والالتهابات المختلفة وكذلك يستخدم لتطهير المعدة والامعاء وعلاج التهاب البواسير كما ان صمغه يعد علاجا فعالا للامراض الجلدية والحروق عندما تضاف اليه مواد اخرى مثل السكر والبيض .

الباب الثاني

الإطار العملي

2:1 المواد وطريقة العمل :.

2:1:1 العينة :

جمعت عينة اوراق نبات الطلح من غابات السنط بالخرطوم بتاريخ 8\3\2015 في الساعة 10 صباحا . وصنفت بواسطة معهد ابحاث النباتات الطبية والعطرية ولاية الخرطوم السودان .

2:1:2 الاجهزه :

اسم الجهاز	الماركة التجارية	الموديل
UV spectro photometer	SHIMADZU	UV – 1800
In fraredspectro photometer	SHIMADZU	FTIR – 8400 S

2:1:3 المواد الكيميائية :

. استخدمت الكواشف التحليلية :

1. كلوريد الالمونيوم .
2. هيدروكسيد البوتاسيوم .
3. كلوريد الحديديك .
4. كاشف vagner .

. خلات الايثيل .

. n بيوتانول .

. ايثانول .

. ميثانول .

. سليكاجل .

. ماء مقطر .

2:1:4تحضير كواشف الازاحة للكشف الكيميائي :

2:1:4:1 كواشف اختبار الفلافونيدات :

أ/ محلول لكلوريد الالمونيوم :

1جم من كلوريد الالمونيوم مذابة في 100مل ميثانول

ب/محلول هيدروكسيد البوتاسيوم :

1جم من هيدروكسيد البوتاسيوم مذابة في 100مل ماء

ج/محلول كلوريد الحديديك :

0.5 جم من كلوريد الحديديك مذابة في 100 مل 95% ايثانول

2:1:4:2كواشف اختبار القلويدات :

أ/ كاشف (vagner) :

5 جم من الايودين و10 جم من يوديد البوتاسيوم مذابة في 100 جم ماء مقطر .

2:1:5 تحضير مستخلص النبات للكشف الكيميائي :

جمعت اوراق نبات الطلح ثم جففت في الظل ومن ثم تم سحنها ، ثم اخذت العينه المسحونه و استخلصت بواسطة 200مل 95% ايثانول لمد ة 7ايام ، ورشحت العينه والمحلول المتحصل عليه تم وضعه في زجاجه سعة 2لتر .

هذا المستخلص المحضر استخدم للاختبارات التاليه :

2:2الطريقة الكيميائية للاختبارات :

في اوراق النبات كشف كميائيا عن وجود الاسترويدات ,الفلافونيدات ,والقلويدات , والجلايكوسيدات

2:2:1 اختبار الاسترويدات :

اخذ 40 مل من المستخلص المحضر وبخر ت لدرجة التجفيف في حمام مائي . والمتبقي البارد حرك بواسطة الايثر البترولي لابعاد معظم المواد الملونة .المتبقي استخلص بواسطة 20 مل من الكلوروفورم .

محلول الكلوروفورم جفف بواسطة كبريتات الصوديوم غير المائية .

5مل من المحلول اضيفت في شكل دفعات الي 0.5 مل حمض الخليك اللامائي ، ثم اضيفت نقطتين من حمض الكبر يتيك المركز .

2:2:2اختبار القلويدات :

اخذت (5مل) من حمض الهيدروكلوريك (N2)و اضيفت الي 5 مل من المستخلص الخام ومن ثم سخن المحلول مع التحريك في حمام مائي لمدة 10 دقائق ، ثم اضيفت نقاط قليلة من كاشف Vagner للمحلول البارد .

2:2:3اختبار الفلافونيدات :

اخذت (85مل) من المستخلص المحضر وبخر لدرجة التجفيف في الحمام المائي واريق ومن ثم المتبقي منة ذوب بواسطة 30مل 95% ايثانول ورشح .

الرشيح استخدم للاختبارات التالية :

1/ اضيفت نقاط من محلول كلوريد الالمونيوم الميثانولي الي (3مل) من الرشيح .

2/ اضيف نقاط من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم الي (3مل) من الرشيح .

3/ اضيفت نقاط من محلول كلوريد الحديديك الي (3مل) من الرشيح .

2:2:4اختبارات الجلايكو سيدات :

اخذت (20مل) من المستخلص المحضر ثم رجت بشدة في انبوبة اختبار .

2:3 استخلاص الفلافونيدات من اوراق نبات الطلح :

نقعت اوراق الطلح الجافة بعد سحنها في 2 لتر من الايثانول في اناء زجاجي وتركت في درجة حرارة الغرفة لمدة 7 ايام ثم رشح الخليط وبخر الرشيح وتبقى مركب لزج اخضر اللون

2:4 التنقية بواسطة كروماتوغرافيا العمود :

تم استخدام عمود طوله (متر) وتمت تعبئته بالسيليكاجل لارتفاع 70سم ، ثم خلطت العينه بثلاث ملاعق سيليكاجل ثم اضيفت العينه في العمود واضيفت اليها المذيب .

تراكيز المذيبات المستخدمة :

1) 375 كلورفورم : 125ميثانول .
2) 300 ميثانول : 200 كلورفورم .

3) 100 ميثانول .

تم اضافة خليط المذيب بالتراكيز 375 كلورفورم – 125 ميثانول ثم جمع المحلول في دورق حجمي وقبل ان يجف العمود تماما تم اضافه الخليط الاخر بتركيز 300 ميثانول – 200 كلورفورم ثم جمع ناتج التنقية بدورق حجمي ومن ثم غسل العمود ب 100 مل ميثانول وجمع المحلول ايضا في دورق حجمي منفصل .

تم تغطيه كل دورق بورق فويل ، ومن ثم تم تجفيف كل ناتج تنقيه لوحده .

2:5 اختيار المذيب المناسب :

يتم اختيار مذيب مناسب عن طريق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقه . حيث ذوبت العينه بقليل من الايثانول مستخدما اوراق الالمونيوم المطلية بطبقة من السيلكاجل

وضعت نقطه من المحلول بواسطه انبوبه شعريه على ورق الالمونيوم المطلي ، ثم اغمرت لورقه في كاس يحتوي على 10 – 12 مل من المذيب بتركيز محدد من acetic acide بتركيز 5% وكررت العملية للتراكيز الاتية

(10% . 20% . 30% . 40% . 50% . 60%) .

وكررت التجربة باستخدام طريقة (B.A.W) بتراكيز معينة كلاتي :

n – ButanoL	Acetic acide	Water (H2O)
6	1	5
5	1	6
4	1	5
5	1	4
4	6	2

2:6فصل الفلافونيد الخام :

جزء من الناتج الخام لاوراق نبات الطلح (0.1 جم) اذيبت في 95% ميثانول (2 مل) واستخدمت كنقاط مركزة في الواح زجاجية مقاس (20×20) مطلية بواسطة السيلكاجل . وضعت الالواح الزجاجية في نظام المذيب n– بيوتانول . حمض خليك . ماء (4 . 6 . 2) على التوالي .

وعزلت الطبقة المحتوية على الفلافونيد واذيبت في الايثانول وبعد الترشيح تم الحصول على فلافونيد نقي ، وشوهد الكروموتوغرام تحت ضوء الاشعة فوق البنفسجية .

2:7 كواشف الازاحـة :

محلول ميثوكسيد الصوديوم ومحلول كلوريد الالمونيوم .

أ) ميثوكسيد الصوديوم :

اخذ (2جم) من معدن الصوديوم المقطوع حديثا واضيف بحذر في شكل قطع صغيرة الى 100مل من الميثانول المستخدم لاغراض الدراسات الطيفية . حزن المحلول في حافظة زجاجية ذات غطاء بلاستيكي .

ب) محلول كلوريد الالمونيوم :

اضيفت (5جم) من كلوريد الالمونيوم اللامائي بحذر الى 100مل من الميثانول المستخدم في الدراسات الطيفية .

ج) محلول كلوريد الالمونيوم وحمض الهيدروكلوريك :

نفس المحلول اعلاه اخذ منه 2مل وتم اضافة 3نقاط من حمض الهيدروكلوريك من اجل الدراسات الطيفية .

د) خلات الصوديوم :

اضيفت (5جم) من خلات الصوديوم الى 100مل من الميثانول المستخدم في الدراسات الطيفية .

هـ) حمض البوريك :

اضيفت (5جم) من حمض البوريك الى 100مل من الميثانول المستخدم في الدراسات الطيفية .

2:8 طيف الاشعة فوق البنفسجية للمركب في وجود ميثوكسيد الصوديوم :

اضيفت 3 نقاط من ميثوكسيد الصوديوم لمحلول المركب المذاب في الميثانول (2مل) ومن ثم سجل طيف الاشعة فوق البنفسجية حالا .

2:9طيف الاشعة فوق البنفسجية للمركب في وجود كلوريد الالمونيوم :

اضيفت 6 نقاط من محلول كلوريد الالمونيوم لمحلول المركب المذاب في الايثانول (2مل) ومن ثم سجل طيف الاشعة فوق البنفسجية حالا .

2:10طيف الاشعة فوق البنفسجية للمركب في وجود كلوريد الالمونيوم وحمض الهيدروكلوريك :

نفس المحلول اعلاه اضيف اليه 3 نقاط من حمض الهيدروكلوريك وسجل طيف الاشعة فوق البنفسجية حالا .

2:11طيف الاشعة فوق البنفسجية في وجود خلات الصوديوم :

اضيفت بدرة خلات الصوديوم غير المائية بزيادة مع الرج لخلية العينة المحتوية (2مل) من محلول المركب المذاب في الايثانول ومن ثم سجل طيف الاشعة فوق البنفسجية بعد مرور دقيقتين .

2:12 طيف الاشعة فوق البنفسجية للمركب في وجود حمض البوريك :

اضيفت 3 نقاط من محلول حمض البوريك لمحلول المركب المذاب في الميثانول (2مل) ومن ثم سجل طيف الاشعة فوق البنفسجية .

الباب الثالث

تحليل ومناقشة النتائج

3:1 نتائج الاختبارات الكيميائية :

3:1:1 اختبار الاسترويدات :

عند اجراء الاختبار للاسترويدات تكون راسب اخضر وهذا دليل على وجود الاسترويدات .

3:1:2 اختبار القلويدات:

عند اجراء الاختبار للقلويدات تكون راسب وهذا دليل على وجود القلويدات .

3:1:3 اختبار الجلايكوسيدات:

عند الاجراء الاختبار للجلايكوسيدات لم تتكون رغوة وهذا دليل على عدم وجود الجلايكوسيدات .

3:1:4 اختبار الفلافونيدات :

1- مع كلوريدالالمونيوم :

تكون لون اصفر غامق .

2- مع هيدروكسيد البوتاسيوم :

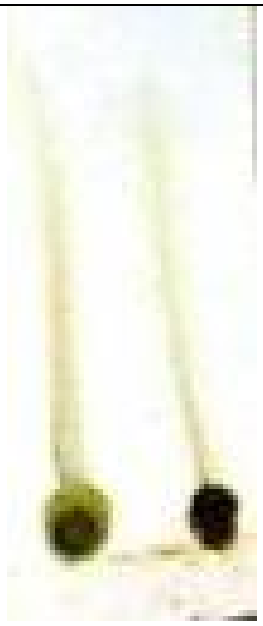
تكون لون احمر غامق .

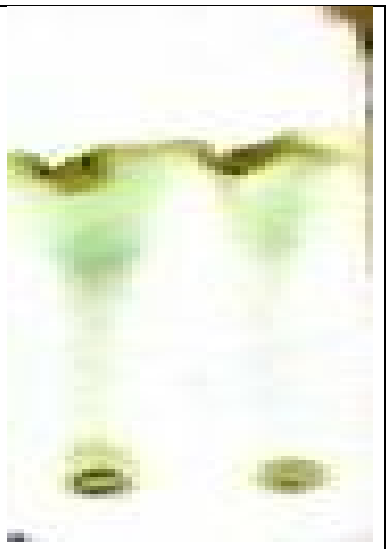
3- مع كلوريد الحديديك :

تكون لون ازرق .

3: 2 اختيار المذيب المناسب :

اولا : باستخدام تراكيز مختلفة من حمض الخليك Acetic acid :

			
Acetic acid 5%	**Acetic acid 10%**	**Acetic acid 20%**	**Acetic acid 30%**

		
Acetic acid 40%	**Acetic acid 50%**	**Acetic acid 60%**

ثانيا : باستخدام طريقة (B.A.W) :

4:1:5	**2:6:4**

5:1:6	**6:1:5**

لوحظ ان الفصل تم بطريقة افضل باستخدام المذيب B.A.W بالتراكيز التالية (4 - n) 2-6 - بيوتانول –حمض الخليك –ماء على التوالي .

اخضع الناتج الخام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة حيث تم الحصول على فلافونيد نقي باستخدام السيلكاجل والمذيب المستخدم B.A.Wواجري لها طيف الاشعة تحت الحمراء .

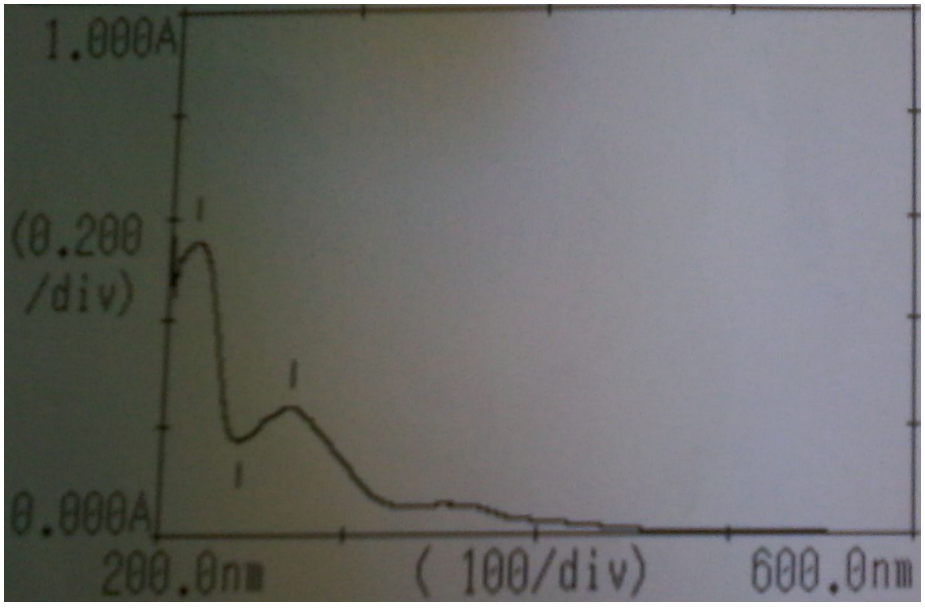
واعطى طيف الاشعة تحت الحمراء الفلافونيد النقي

- (OH) Stretching vib 3415.7
- (C=O) ALdehyde 1699.17
- (C-H) SP^3 Bending 1373.22
- (-C=C-) (Multi absorption) 1506.3
- (C-O) 1101.28
- (C-H) Bending (SP^2) 767.62

3:3 نتائج طيف الاشعة فوق البنفسجية (UV) :

3:3:1 قراءة طيف الاشعة فوق البنفسجية للعينة :

تم قراءة طيف الاشعة فوق البنفسجية للعينه في وجود الميثانول وكانت النتائج كالشكل ادناه

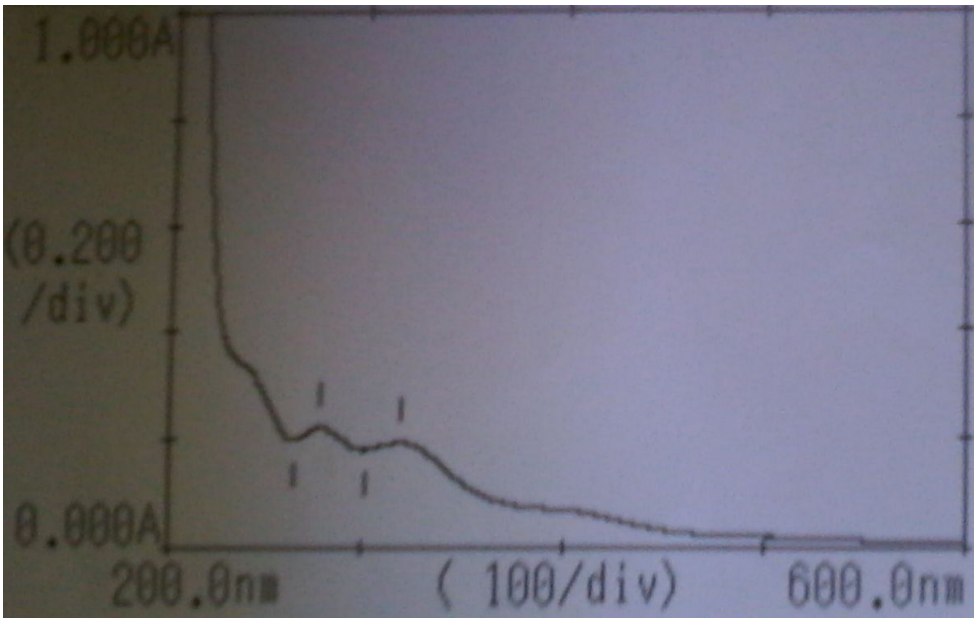


وجد ان

λ_{max} = 215

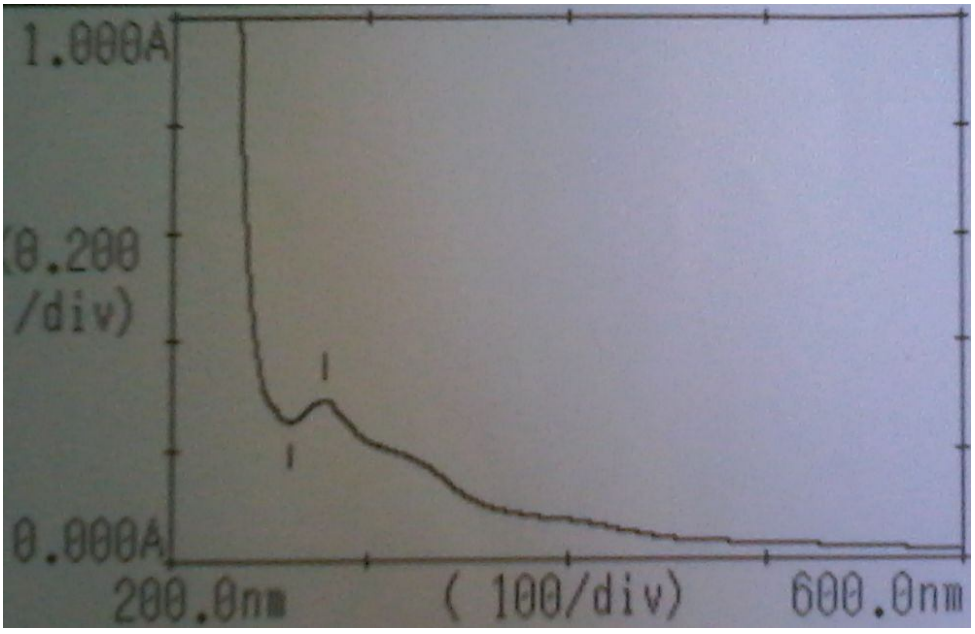
والطول الموجي الذي حدث فيه الامتصاص هو 269= λ

3:3:2 قراءه طيف الاشعه فوق البنفسجيه للعينه مع ميثوكسيد الصوديوم :



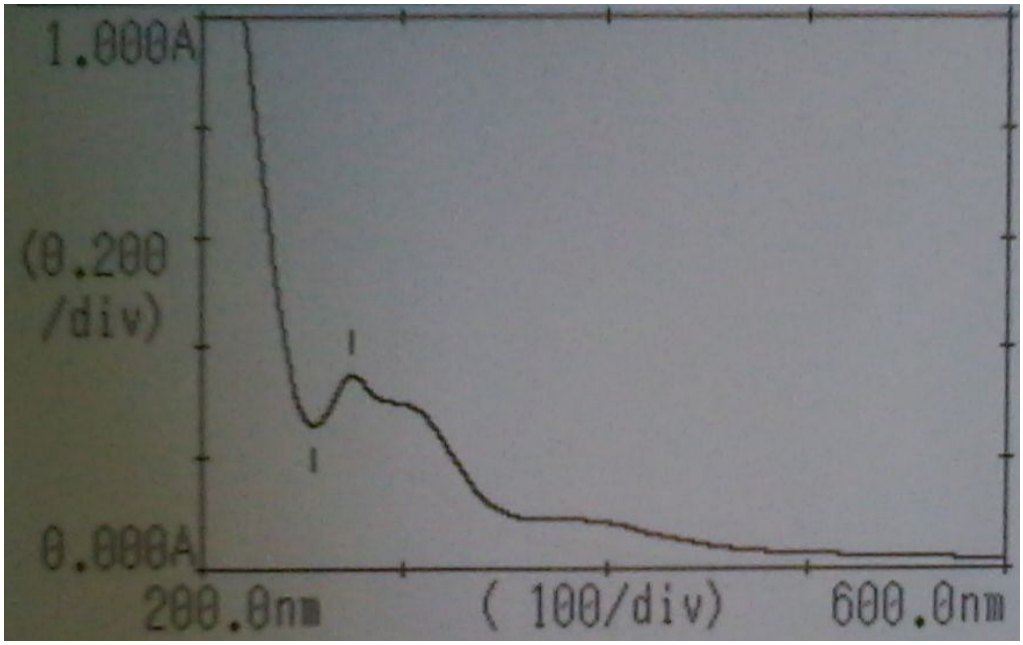
عند مقارنه طيف الاشعه فوق البنفسجيه للعينه مع طيف الاشعه فوق البنفسجيه للعينه في وجود ميثوكسيد الصوديوم لوحظ عدم تغير في الطول الموجي وشده الامتصاص اذن لاتوجد مجموعه هيدروكسيل في الموقع (3و4) .

3:3:3 قراءه طيف الاشعه فوق البنفسجيه للعينه مع خلات الصوديوم:



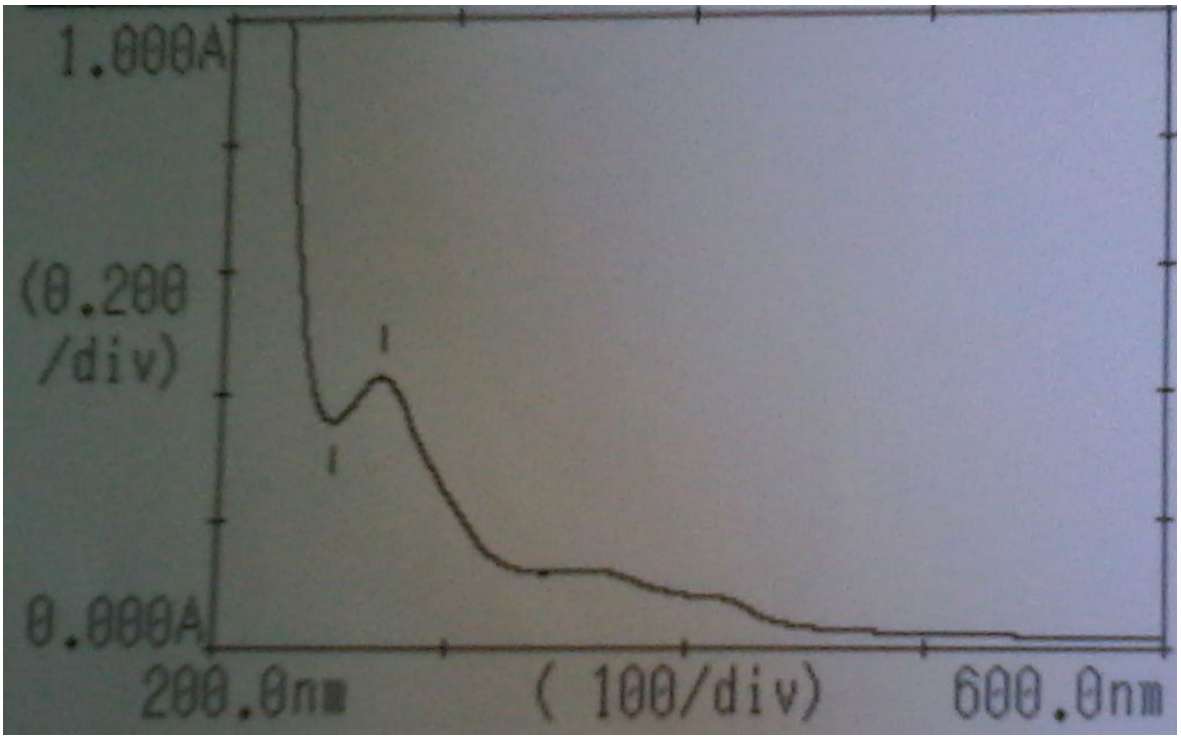
عند مقارنه طيف الاشعه فوق البنفسجيه للعينه مع طيف الاشعه فوق البنفسجيه للعينه في وجود خلات الصوديوم لوحظ تغير في الطول الموجي وشده الامتصاص اذن توجد مجموعه هيدروكسيل في الموقع (7)

3:3:4 قراءه طيف الاشعه فوق البنفسجيه للعينه مع كلوريد الالمونيوم :



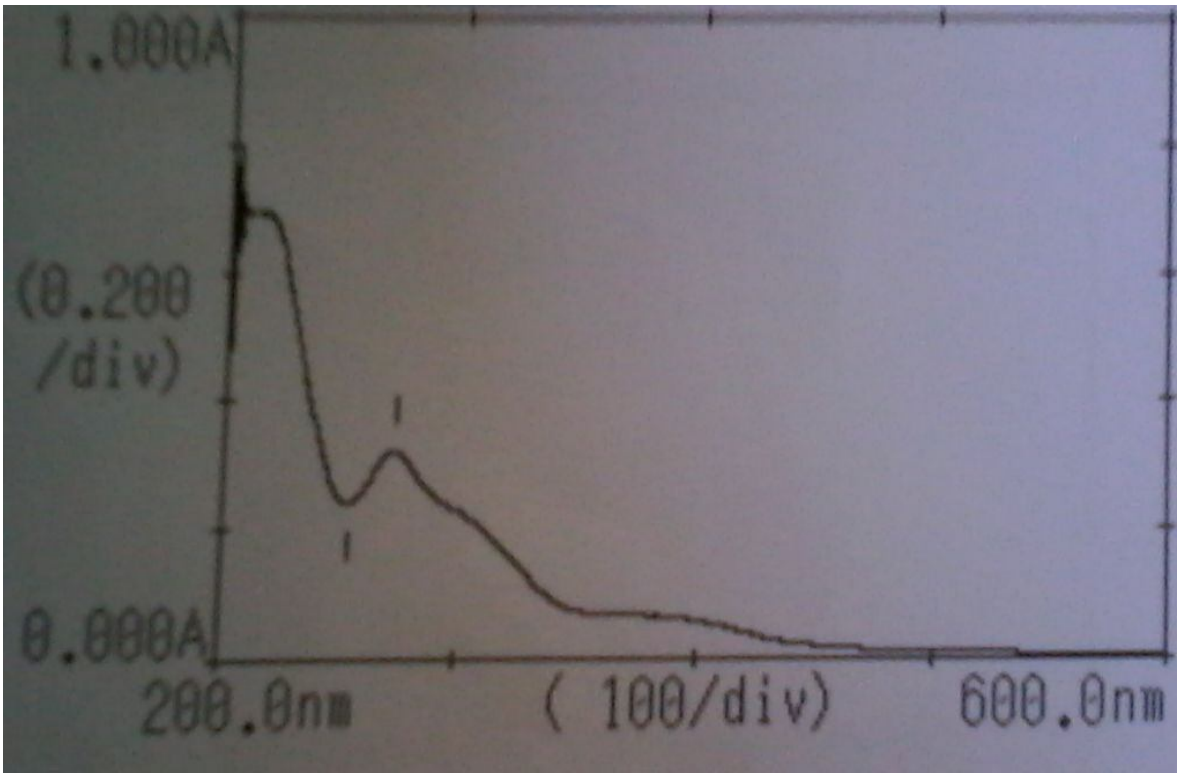
عند مقارنه طيف الاشعه فوق البنفسجيه للعينه مع طيف الاشعه فوق البنفسجيه للعينه في وجود كلوريد الالمونيوم لوحظ زياده في الطول الموجي اذن توجد مجموعه هدروكسيل اما في الموقع $3^{\backslash}$ او $4^{\backslash}$ او ($3^{\backslash}$ و $4^{\backslash}$) .

ولكي نحدد ذلك نضيف 3 نقاط من حمض الهيدروكلوريك المركز و قرأ طيف الاشعه فوق البنفسجيه وكانت النتيجه كالرسم التالي



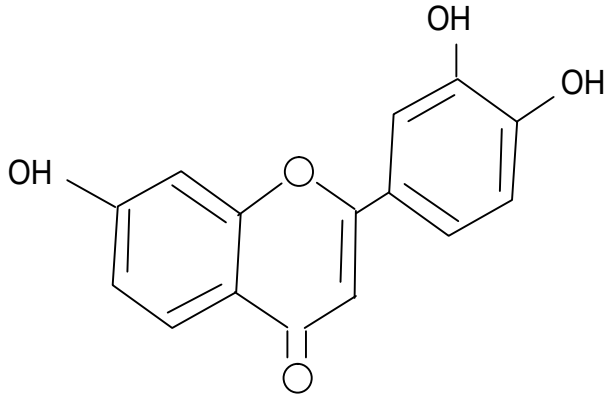
من الرسم وجد ان هنالك زياده في شده الامتصاص مقارنه مع العينه في وجود الميثانول اذن توجد مجموعه هيدروكسيل في الموقع ($3^{\prime}$ و $4^{\prime}$) .

3:3:5 طيف الاشعه فوق البنفسجيه للعينه مع حمض البوريك :



عند مقارنه طيف الاشعه فوق البنفسجيه للعينه مع طيف الاشعه فوق البنفسجيه للعينه في وجود حمض البوريك لوحظ عدم تغير في الطول الموجي وشده الامتصاص اذن لا توجد مجموعه هيدروكسيل في الموقع (6) .

*من النتائج السابقة نستنتج ان نوع الفلافونيد الذي يوجد في اوراق نبات الطلح هو الفلافون



3:4الخلاصة والتوصيات والمقترحات :

هدفت هذه الدراسة الى التعرف على عملية استخلاص الفلافونيدات من اوراق نبات الطلح واستخدمت اختبارات على عدة مذيبات كيميائية بنسب مختلفة واخيرا تم التوصل الى المذيب الاكثر فعالية في عملية الاستخلاص وهو مذيب(B.A.W) الذي استخدم كأساس في عملية الفصل وبعد ذلك تم اجراء اختبارات طيفية للعينة المتحصل عليها بجهاز الاشعة تحت الحمراء وجهاز الاشعة فوق البنفسجية .

3:4:1 ملخص عام للبحث :

هدفت هذه الدراسة الى التعرف على عملية استخلاص الفلافونيدات من اوراق نبات الطلح وبناءا على معلومات الاطار النظري لهذه الدراسة نجد ان هذه الدراسة اكدت على :

1-استخدام كروماتوغرافيا الورقة لمعرفة المذيب الاكثر فعالية في الفصل .

2-اجراء اختبار طيفي للعينة المستخلصة لتحقق من وجود الفلافونيدات .

3:4:2 التوصيات :

1-معالجة النقص في الادوات والمواد الكيميائية والاجهزة في معامل الجامعة .

2-زيادة الاهتمام بالمركبات العضوية الاستفادة منها طبيا .

3-توفير المراجع التي تناقش موضوع الفلافونيدات باللغة العربية .

3:4:3 المقترحات :

1-اجراء دراسة مماثلة تركز على نوع الفلافونيدات في نبات الطلح .

2-اجراء دراسة تركز على الفوائد الطبية للفلافونيدات .

3-اجراء دراسة على نباتات اخرى تحتوي على الفلافونيدات .

4-دراسة الفلافونيدات بطرق التحليل الاخرى .

المراجع :

1- بحث تكميلي لنيل درجة البكلاريوس (استخلاص الفلافونيد في الحرجل ومدى استخدامات الحرجل في الطب البديل)
اعداد : اية حامد فضل الله وآخرون (يونيو 2012) .
2-بحث تكميلي لنيل درجة البكلاريوس (استخلاص الفلافونيد في السعد ومدى استخدامات السعد في الطب البديل)
اعداد : براءة محمد حسن وآخرون (يوليو 2013) .
3- بحث تكميلي لنيل درجة البكلاريوس (استخلاص الفلافونيدات من لحاء شجرة الكينيا ومعرفة مدي وعي المواطنين باستخدام الكينين لعلاج الملاريا)
اعداد: نهلة عمرسيد احمد يوسف(يونيو 2012)
4- التنقيب عن الجزيئات الفعالة في النبتتين الصحراويتين chrysanthemum fuscatum و colocynthis vulgaris ودراسة الاثر الوقائي للنظام الهيباتولوجي والهيماتولوجي لدى الجرذان المعاملة بمضادات السل
اعداد : أمداح سعاد (2006) .

الانترنت68-www.attarzaman.com/benefits/68

الملاحق

فصل الفلافونيد باستخدام الطبقة الرقيقة :