تقدير بعض المكونات الكيميائية ومضادات الأكسدة لنبات العرعر الفينيقي

مروة البشيرسليمان*[1]، خالد مفتاح محمد الشريف[2]، عادل مليطان[3]
[1]قسم الكيمياء، كلية الآداب والعلوم مسلاتة، جامعة المرقب، مسلاتة، ليبيا
[2]قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة بنغازي، بنغازي، ليبيا
[3]قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة مصراتة، مصراتة، ليبيا
M.alb2017@sci.misuratau.edu.ly

تاريخ الاستلام: 7- 6- 2021 تاريخ القبول: 13- 06-2021 تاريخ النشر: 01- 10- 2021

الملخص:
تهدف هذه الدراسة إلى دراسة منتجات الأيض الفعالة لنبات العرعر الفينيقي. تم استخدام طريقة الاستخلاص بالنقع في المحلول المائي والإيثانولي من أجل الحصول على الفعالة التي يحتويها النبات. المردودية الأكبر كانت للمستخلص الإيثانولي بنسبة (20.3%)، بينما كانت للمائي (14.7%). *تم إجراء المسح الفيتو كيميائي للمستخلصين المائي والكحولي والذي أظهر غنى النبات بالعديد من المركبات الفعالة مثل الكربوهيدرات، البروتينات، الفينولات، الفلافونيدات، التانينات، الكومارينات، القلويدات، الصابونيات، الراتنجات،* التربينات الراتنجات. كما تم أيضا تقدير الرطوبة، الرماد، البروتينات، والقلويدات فكانت نسبها على التوالي: (13%، 5.52%، 10.78% و1.84%). تم تقدير المحتوى الفينولي باستخدام طريقة كاشف فولن ومحتوى الفلافونيدات باستخدام طريقة كلوريد الالمونيوم $AlCl_3$ للمستخلصين، فكان المحتوى الفينولي (49.36 mg/g) و (46.29 mg/g) للإيثانول والمائي على التوالي، بينما محتوى الفلافونيدات فكان: (20.61 mg/g) للإيثانول و (14.80 mg/g) للمائي. أخيرا، تم تقدير النشاطية المضادة للأكسدة استخدام كاسح الجذور DPPH، حيث أظهر المستخلص المائي قوة أكبر من المستخلص الإيثانولي. تم حساب التركيز المثبط لنسبة 50% من الجذر الحر (I_{C50}) فكانت (0.124 mg/ml) للمائي و(0.133 mg/ml) للإيثانول، كما تم حساب تركيز المستخلصات المضاد للأكسدة والمكافئ لحمض الأسكوربيك فكان للمستخلص المائي والإيثانولي (37.32 mg/ml) و (34.82 mg/ml) على التوالي.

الكلمات المفتاحية: العرعر، المسح الفيتوكيميائي، المحتوى الفينولي، الفلافونيدات، مضادات الأكسدة الكلية

المقدمة Introduction

عرف الانسان النباتات والأعشاب البريه وكيفية استخدامها بالفطرة والتجربة، فميز النباتات الطبية باحتوائها على مواد كيميائية فعاله ناتجة من عمليات الأيض النباتي الأولية والثانوية، مثل الفينولات و الفلافونيدات والتربينات والقلويدات والبروتينات و الجلايكوسيدات و الكومارينات و الصابونيات وغيرها من المركبات النشطة بيولوجيا (مضادات الأكسدة ، مضادات الجراثيم ، مضادات السرطان) [1] ، والتي لها تأثيرات فسيولوجية لمعالجة الأمراض أو التقليل من أعراض الإصابة بها إذا ما أعطيت للمريض بصورتها النقية بعد استخلاصها أو في صورتها الطبيعية (طازج أو جاف أو مستخلص جزئي) [2] ، مع التطور العلمي وظهور المضادات الحيوية، اتجه البشر لاستخدام الأدوية التجارية المصنعة كيميائيا وقل الاهتمام بالنباتات الطبية ونواتجها الطبيعية، ولكن لكثرة تناول هذه الأدوية وسوء استخدامها أدى إلى اكتساب أنواع من الميكروبات مناعة ضد هذه المضادات ونتج عنها ميكروبات شديدة المقاومة لأغلب المضادات الحيوية المعروفة والتي كانت لها تأثير على هذه الميكروبات، وهذا ما حذرت منه منظمة الصحة العالمية (WHO) [3]. نتيجة لهذه المقاومة والمخاوف المحتملة لإنتاج سلالات ميكروبية جديده شديدة المقاومة [4]، كانت الحاجة إلى أدوية جديدة، فاتجه العلماء للبحث في المنتجات الطبيعية ومشتقاتها [5]. كما أصبح للنباتات الطبية في وقتنا الحاضر الأولوية في البحث عن بدائل عن الأدوية الكيميائية، خاصة مع الانتشار الوبائي السريع لفايروس كورونا COVID-19 والبحث عن علاج مضاد للفايروس ومواد تقوي مناعة الجسم. أظهرت بعض المركبات الفعالة الطبيعية المشتقة من النباتات الطبية خصائص مشجعة مضادة للفيروسات وتقوي المناعة [6]. بهذه العوامل ازداد الاهتمام بالنباتات الطبية ودراسة خصائصها وعزل العديد من المركبات الفعالة منها.

نظرًا للأهمية الطبية للنباتات فقد تم التطرق إلى إجراء دراسة كيميائية على أحد النباتات الطبية المتداول استخدامها في الطب الشعبي، لما وجد به من قوه علاجية ضد بعض الأمراض وهي: نبات العرعر الفينيقي، و الذي يحمل الاسم العلمي (Juniperus phoenicea L)، وهو عباره عن شجيرة أو شجرة صغيرة، دائمة الخضرة ينتمي الى الفصيلة السروية Cupressaceae [7]، يعرف في ليبيا بـ (العرعار) [8] ، ينتشر في الأراضي المطلة على البحر الأبيض المتوسط من البرتغال إلى فلسطين، كما أن موطنها شمال أفريقيا وجزر

الكناري [9]. ينتشر في ليبيا في مناطق مختلفة، يتركز وجودة في منطقة (الجبل الاخضر)، التي تقع في شمال شرق ليبيا حيث تشكل حوالي 80% من اجمالي الغطاء النباتي لهذه المنطقة [8]. يتواجد هدا النوع في الأراضي الساحلية والرملية في بيئات التربة الجافة والفقيرة أو على المنحدرات الصخرية [1].
العرعر الفينيقي Juniperus phoenicea نبات طبي معروف، وقد استخدم طبيًا مند قرون، لتخفيف آلام المفاصل والعضلات والروماتيزم والنقرس والإسهال والشعب الهوائية وضعف الشهية وأمراض المسالك البولية والوذمة [10]. إضافة الي أنه يقضي أيضًا على البكتيريا والطفيليات المعدية المعوية ويستخدم في علاج بعض السرطانات [11] ومنظم للسكر في الدم وخافض للكولسترول [12]، كما أوصت دراسة بدعم الاستخدامات الطبية للعرعر الفينيقي الموجود في شمال افريقيا ذلك لكونه مصدر غني بالمركبات الكيميائية الفعالة [13]، نذكر منها التربينات terpenoids، حيث يسود مركب (α-pinene) في الأوراق، كما يحتوي العرعر علي الفينولات وله نشاط مضاد للأكسدة مميز وفعال وغيرها من المواد الفعالة [14].

الجزء العملي Eexperimental Part

جمع وتجهيز العينة

جمعت العينات لنبات العرعر الفينيقي من مدينة مسلاته شمال غرب ليبيا والتي ترتفع عن مستوى سطح البحر ب 198متر، في الفترة ما بين شهر فبراير الى شهر مايو 2020، وتم تصنيفه من قبل المختصين، حيث تم تنقيتها أولاً من الشوائب والحشرات. بعد ذلك تم غسلها جيدا بالماء وجففت في الهواء بعيدا عن الرطوبة في درجة حرارة الغرفة لمدة 15 يوم. ثم تم سحق النبتة في مطحنة كهربية ويحتفظ بها في قوارير معتمة محكمة الاغلاق بعيدا عن الضوء والرطوبة والحرارة لحين استخدامها.

المواد الكيميائية

تم استخدام مواد ومذيبات ذات درجة عالية من النقاوة وهي: الإيثانول، حمض الجاليك، حمض الأسكوربيك، فوق اكسيد الهيدروجين، كاشف فولن، كاشف DPPH، مركب الروتين، كاشف بندكت، كاشف فهلنج (A&B)، ألفا نفثول، كلوريد الالمونيوم، نتريت الصوديوم، وكربونات الصوديوم.

الاستخلاص

تم استخدام الأوراق الجافة والمطحونة من نبات العرعر الفينيقي حيث استخلصت على البارد في مذيبات الماء والايثانول. تم استخدام طريقة الاستخلاص بالنقع [15] (صلب – سائل) في هذه الدراسة، حيث تم نقع 10 غرام من المادة الجافة في 100 مل سوآءا من الماء أو الإيثانول لمدة 72 ساعة في درجة حرارة المختبر ، مع الرج المستمر باستخدام الرجاج الكهربي. ثم تم ترشيح المستخلص المتحصل عليه وتركيزه في مبخر دوار للحصول على المستخلص الخام ، والذي احتفظ به في درجة حرارة 4^{o} C لحين الاستخدام [15، 16].

المسح الفيتو كيميائي

هي تقنية فيزو كيميائية تعتمد إجراء مسح كيميائي للمواد الفعالة الموجودة في المستخلص النباتي بدلالة ظهور راسب أو تغيير لون. يعتبر المسح الفيتوكيميائي من التحاليل النوعية والتي تعطي انطباع أولي على نوع المركبات الفعالة التي تحتويها النباتات الطبية. قد يؤثر نوع المذيب على طبيعة المركبات التي يحتويها المستخلص النباتي، فالمذيبات ذات القطبية العالية مثل الماء تظهر في مستخلصاتها المركبات العضوية ذات القطبية العالية والعكس بالنسبة لمذيبات ذات القطبية المنخفضة، ولكن يظل المسح الفيتوكيميائي هو انطباع أولي لما قد يحتويه النبات بسبب أن بعض الاختبارات قد تستخدم للكشف عن أكثر من نوع من المركبات الفعالة. أجريت الاختبارات الكيميائية الخاصة بالمسح الفيتوكيميائي باستخدام الطرق المقترحة في أبحاث سابقة [17-19].

التقدير الكيميائي الكمي

تم تقدير كُلاً من: نسبة المستخلص، نسبة الرطوبة، نسبة الرماد، الفينولات الكلية، الفلافونيدات الكلية، مضادات الأكسدة الكلية، القلويدات الكلية، البروتينات الكلية.

حساب نسبة المستخلص

هي النسبة بين كتلة المادة النباتية الخام الناتجة من عملية الاستخلاص الى كتلة مسحوق النبات المستخدمة في بداية العملية ويتم حسابها من العلاقة التالية [20]:

$$Y\ \% = (m / m^{o}) \times 100$$

Y % = النسبة المئوية للمستخلص.
m = كتلة المستخلص الخام المتحصل عليه بعد التبخر (g).
m^{o} = كتلة المادة الجافة المستخدمة (g).

تقدير نسبة الرطوبة

تم وزن 3 جم من مسحوق العينة النباتية في بوتقه جافة ونظيفة، ثم تم وضعها في فرن تجفيف على درجة حرارة 100°C لمدة 3 h. بعد ذلك تم تركها لتبرد في مجفف مدة 15 min ثم وزنها. أعيدت العملية السابقة عدة مرات حتى ثبات الوزن [21].

يمكن حساب نسبة الرطوبة من المعادلة التالية:

$$\% MC = (Wo/Wi) \times 100$$

حيث أن:

% MC = النسبة المئوية للرطوبة.

Wo = وزن الماء المتبخر، ويساوي الفرق بين وزم العينة الابتدائي ووزن العينة بعد التجفيف بعد ثبات الوزن (g)

Wi= وزن العينة النباتية الابتدائي (g).

تقدير نسبة الرماد

تم وزن 3 g من العينة النباتية في بوتقة حرق جافة نظيفة ثم وضعت في فرن احتراق على درجة 550°C لمدة 3 h. ثم بردت البوتقة في مجفف لمدة 15 د، ثم وزنت [21].

يمكن حساب النسبة المئوية للرماد من المعادلة التالية:

$$\% Ash = (Wa/Ws) \times 100$$

حيث أن:

%Ash = النسبة المئوية للرماد

Wa = وزن الرماد (g).

Ws = وزن العينة الابتدائي (g).

تقدير القلويدات الكلية

تم تقدير القلويدات الكلية باستخدام الطريقة الوزنية مع بعض التعديلات [22]، حيث تم وضع 5 g من مسحوق النبات الجاف في دورق بحجم 250 ml و أضيف إليه 200 ml من حمض الأسيتيك (10% في الإيثانول) ثم ترك الخليط لمدة 4 h. رشح الخليط وركز في حمام مائي إلى ربع الحجم الأصلي، ثم أضيف إليه هيدروكسيد الأمونيوم المركز بالتنقيط حتى اكتمال الترسيب. وُضع الخليط في جهاز الطرد المركزي من أجل فصل الراسب. تم تجميع الراسب وغسله باستخدام هيدروكسيد الأمونيوم المخفف ثم رشح مرة أخرى، الناتج المتبقي من هذه العملية هو القلويد. تم تجفيف الراسب ووزنه ثم قدرت نسبة القلويدات من المعادلة التالية:

$$\% Alkaloid = (W2-W1)/Wi \times 100$$

حيث أن:

W1 = وزن ورق الترشيح الفارغ (g)

W2 = وزن ورق الترشيح + رواسب الورق (g)

Wi = وزن العينة النباتية الابتدائي (g)

تقدير البروتينات الكلية

تم تقدير البروتينات في العينات النباتية باستخدام طريقة كلداهل مع بعض التعديلات [23] حيث يتم أكسدة المادة النباتية باستخدام حمض الكبريتيك المركز، فتتأكسد جميع المكونات، عدا النيتروجين (الموجود في البروتينات) فيختزل الى أمونيا والتي يتم تقديرها باستخدام المعايرة الراجعة في وجود دليل الميثيل الأحمر.

تحسب نسبة النيتروجين في العينة باستخدام المعادلة التالية:

$$\% N_2 = (0.014 \times V) / W\ (mg)$$

ثم تحويل النيتروجين إلى نسبة البروتينات باستخدام المعامل التالي:

$$\% Crude\ Protein = \% N_2 \times 6.25$$

حيث أن:

N_2 % = النسبة المئوية للنيتروجين.

V = حجم المعايرة (ml)

0.014 = الوزن الذري للنيتروجين بـ(g)

W = وزن العينة (g).

% Crude Protein = النسبة المئوية للبروتينات.

6.25 = معامل الأجزاء النباتية والخضراوات في طريقة تقدير البروتين

تقدير الفينولات الكلية

تم تقدير الفينولات الكلية باستخدام طريقة كاشف فولين مع بعض التعديلات [24]، حيث تم تقديرها في مستخلص الماء والايثانول للنباتات قيد الدراسة. تم مزج 0.2 ml من المستخلص (المائي والكحولي) مع 1 ml من كاشف فولين المخفف (10%). تم وضع الخليط في مكان مظلم لمدة 4 min. ثم اضيف اليها 0.8 ml من محلول كربونات الصوديوم (75%) ثم أكمل الحجم الى 10 ml باستخدام المذيب. بعد 30 min. تم قياس امتصاصية المحلول عند الطول الموجي 765 nm. ثم استخدام عدة تراكيز من كل مستخلص من أجل حساب متوسط تراكيز الفينولات الكلية. تم استخدام حمض الجاليك كمادة مرجعية في هذه الطريقة حيث تم حساب كمية الفينولات الكلية المكافئة لحمض الجاليك. منحنى التعيير القياسي حُضر باستخدام التراكيز التالية: 10- 20-30-40-50-60 ppm من حمض الجاليك.

تقدير الفلافونيدات الكلية

قدرت الفلافونيدات الكلية باستخدام طريقة كلوريد الالمونيوم مع بعض التعديلات [25]. استخدم الروتين كمادة مرجعية في هذه الطريقة حيث تم حساب كمية الفلافونيدات الكلية المكافئة للروتين. منحنى التعيير القياسي حُضر باستخدام التراكيز التالية من الروتين: 1-5-10-20-40-60 ppm. أيضاً تم تقدير كمية الفلافونيدات الكلية في مستخلص الماء والإيثانول للنباتات المدروسة.

تم مزج 1 ml من المستخلص (المائي أو الكحولي) أو من محلول الروتين مع 0.3 ml من محلول نيتريت الصوديوم $NaNO_2$ و 4 ml ماء مقطر، وبعد 5 min. أضيف اليها 0.3 ml من محلول كلوريد الالمونيوم. ترك المزيج 6 min. ثم أضيف إليه 2 ml محلول هيدروكسيد الصوديوم (1 M) ثم أكمل الحجم الى 10 ml بالماء المقطر. بعد 10 min. تم قياس امتصاصية المحلول عند الطول الموجي 510 nm.

تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

تم استخدام طريقة تثبيط الجذر الحرDPPH [26، 30] من أجل تقدير مضادات الأكسدة الكلية في المستخلص المائي و الكحولي (الإيثانول) في عينات النبات المدروسة مع بعض التعديلات. تم استخدام تراكيز مختلفة من كل مستخلص وذلك لأجل تقدير تركيز المستخلص الذي يعطي نسبة تثبيط 50 % للجذر الحر (I_{C50}). يمكن حساب نسبة التثبيط من المعادلة التالية:

$$\% I = [(A_b-A_s) / A_b] \times 100$$

حيث أن:

%I: النسبة المئوية لمعدل التثبيط

A_b = امتصاصية محلول DPPH بدون مستخلص.

A_s = امتصاصية محلول DPPH بعد إضافة المستخلص.

كذلك استخدم حمض الأسكوربيك كمادة مرجعية في هذه الطريقة من أجل تقدير كمية مضادات الأكسدة المكافئة لحمض الأسكوربيك، حيث استخدمت التراكيز التلية: 4-8-7-6-10 ppm من حمض الأسكوربيك من أجل تحضير منحنى التعيير القياسي. في هذه الطريقة تم أخذ 1 ml من محلول DPPH (2.4 mg مذاب في 100 ml 80 % ايثانول) ثم أكمل الحجم إلى 10 ml. ترك الخليط في الظلام لمدة 30 min. ثم تم قياس امتصاصية المحلول عند الطول الموجي 517 nm. أيضاً تم قياس امتصاصية محلول DPPH بالطريقة السابقة في عدم وجود المستخلص وحمض الأسكوربيك.

النتائج والمناقشة RESULTS AND DISCUSSION

نتائج المسح الفيتوكيميائي

تم اجراء المسح الفيتوكيميائي لمجموعة من المواد الفعالة في مستخلصات (الايثانول والماء) لنبات العرعر كما تم التعبير عن تركيز المادة الفعالة (في حال وجودها) بالرمز (+++) عند وضوح التغيير في نتيجة المستخلص (طبقا لنتيجة الاختبار)، أما عند حدوت تغيير نسبي أو بدرجة متوسطة فيشار له بالرمز (++)، بينما عند ظهور تغيير خفيف جدا فيعبر عنه بـالرمز (+)، أما عند عدم حدوث تغييرات مطابقة لشروط كل كاشف يمنح الرمز (-). نتائج المسح الفيتوكيميائي التي تم التوصل إليها موضحة بالجداول (1).

جدول 1 المسح الفيتوكيميائي لنبات العرعر *Juniper phoenicea L*

المجموعة الوظيفية	الكاشف	المذيب	
		ماء	إيثانول
الكربوهيدرات	Benedic	+++	++
	Fehling	++	++
	Molisch	+	++
البروتينات	Ninhydrin	-	-
	Xanthoprotein	+++	++
الفينولات	Folin–Ciocalteu	+++	+++
التانينات	FeC_{l3}	+++	+++
الفلافونيدات	Shinoda	+++	++
	Alkaline	++	+++
القلويدات	Mayer	+	++
	Wagner	+	++
كومارين	/	++	++
أنثوسيانين	/	-	-
الصابونيات	Frothing	++	+++
الجليكوسيدات	Keller- Killani	+++	++
راتنجات	/	+++	++
ستيرويدات	Libermann	-	-
تيربينويد	Salkoski	+++	+++

أظهرت النتائج الأولية لأوراق نبات العرعر الجدول (1) أنه غني بالمركبات الفعالة، حيث ظهرت الكربوهيدرات، البروتينات، الفينولات، الفلافونيدات، التانينات، الكومارينات، القلويدات، الصابونيات، الراتنجات، التربينات والراتنجات، حيث ظهرت بتراكيز عالية نسبيا، بينما سجل عدم تواجد للأنثوسيانات والستيرويدات في المستخلصات.
ساندت مجموعة من الدراسات السابقة هذه النتائج، من بينها الدراسة التي قام بها Fadel وآخرون [27]، أن أوراق العرعر تحتوي على كل من الصابونيات، الفلافونيدات، التانينات والقلويدات. في دراسة أخرى لنفس النبات أشار Amalich وآخرون [28] فيها أن الأوراق تحتوي على الفينولات العديدة ، التانينات ، و الفلافونيدات، الستيرويدات، والتربينات، ولا تحتوي على القلويدات والصابونيات. دراسة أخرى لـ *E-sawi* وآخرون [29] لأوراق العرعر، أوضحت عدم احتواءها على التانينات والكومارينات والقلويدات، وهذا لا يتشابه مع نتائج الدراسة الحالية، ولكنها تتفق في وجود الكربوهيدرات ، والجلايكوسيدات ، والتربينات، والفلافونيدات والصابونيات . كما تتفق الدراسة الحالية مع دراسة لـBouassida وآخرون [30] في احتواء أوراق العرعر على القلويدات ، التربينات والتانينات ، ولكنها تختلف في عدم وجود الجلايكوسيدات. يتضح من الجدول السابق الى أن هناك اختلافات كبيرة في نتائج المسح الفيتو كيميائي من حيث تواجد المركبات الكيميائية الفعالة من عدمها أو تركيزها. ترجع هذه الاختلافات خواص المادة الفعالة، نوع المذيب، الذوبانية، ودقة الاختبار. أظهرت المذيبات المستخدمة استخلاص تفضيلي لبعض المركبات الكيميائية دون غيرها وهذا ما اتفق مع ما ذكره Amabye وآخرون. حيث أظهر كلا المستخلصين نتائج إيجابية وبتراكيز عالية عند الكشف على أغلب المواد الفعالة.

نتائج التقدير الكمي

نسبة المستخلصات

تم تحضير المستخلصات بواسطة التنقيع على البارد، حيث تم تقدير مردودية المستخلص المائي والكحولي للنبات قيد الدراسة. نتائج المردودية موضحة في الجدول (2).

جدول 2. النسبة المئوية لمستخلصات أوراق العرعر

المستخلصات	نسبة المستخلص%
الايثانول	20.30
الماء	14.70

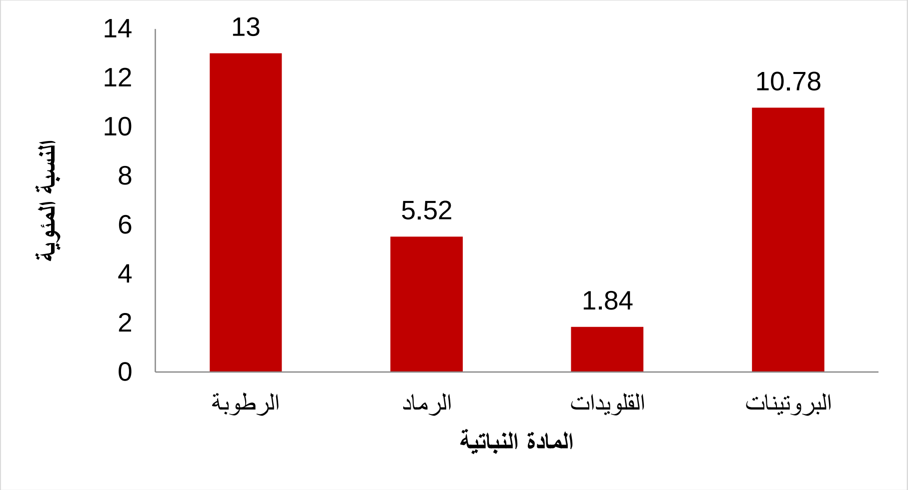
يلاحظ من خلال النتائج المدرجة في الجدول (2) أن المستخلص الإيثانولي احتوى على أعلى مردودية من المستخلص المائي بنسبة قدرت (20.3%)، بينما كانت (14.7%) للمستخلص المائي وهي نسب تعطينا توقع باحتواء نبات العرعر على نسب جيدة من المواد الفعالة، وبمقارنة هذه النتائج بالدراسة التي أجراها Aljaiyash وآخرون [14] ، كانت فيها النسب أعلى من الدراسة الحالية حيث كانت فيها نسبة المردودية للمستخلص الكحولي (54.4%)، كما كانت نسبة المردودية للمستخلص الإيثانولي لنبات العرعر متقاربة جدا مع دراسة *Dane* وآخرون [31]، لمستخلص الميثانول (20.98%)، يرجع هذا لتقارب قطبية المذيبين. وكذلك أقل من النسبة (32%) التي قدرها Manaceur وآخرون [32] للمستخلص الإيثانولي لنبات العرعر.

تقدير الرطوبة والرماد والبروتينات والقلويدات

الجدول (3) يبين نتائج تقدير الرطوبة والرماد والبروتينات والقلويدات التي تم حسابهم وزنياً بالنسبة الي المادة النباتية الجافة.

جدول 3 النسبة المئوية لبعض المكونات الأساسية في أورق العرعر.

المكونات الأساسية %	النسب المئوية
الرطوبة	13.00
الرماد	5.52
القلويدات	1.84
البروتينات	10.78



شكل 1 النسبة المئوية لبعض المكونات الأساسية في أورق العرعر

من خلال الجدول (3) والشكل (1) نجد أنه تبلغ نسبة الرطوبة (13%)، والرماد (5.52%) بينما كانت نسبة القلويدات الكلية (1.84%)، والبروتينات الكلية (1.84%). نجد أن هذه نسبة الرطوبة تتوافق مع متوسط الرطوبة في دراسة أخرى أجراها Nasri وأخرون [33]، لثلاثة أنواع من ثمار العرعر، حيث قدر المتوسط ب (11.2%) . كما تتوافق أيضا مع بعض معدلات الرطوبة التي تحصل عليها Temitope وآخرون [34]، في دراسته لمجموعة من النباتات الطبية النيجيرية. تعتبر نسبة الرماد مقياس للمحتوى المعدني بالنسبة للنبات حيث تم تقديره في هذه الدراسة عن طريق الحرق عند درجة حرارة 500^{o}C، لأوراق النبات (5.52%)، اتفقت النتائج المتحصل عليها في دراستنا مع دراسة Krishna وآخرون [35] لتقييم نسبة الرطوبة في بعض النباتات النامية في جبال الهيمالايا. أما بالنسبة الى نتيجة النسبة المئوية القلويدات الكلية تعد قريبة من دراسة Edeoga وآخرون [36]، والتي كانت على مجموعة النباتات الطبية من العائلة السروية، حيث كان متوسط نسبة القلويدات بها (0.34±0.1%). كما تم تقدير البروتينات باستخدام طريقة كيلدال، كانت النتيجة في الدراسة الحالية (10.78) قليلة مقارنة بسبة البروتين في دراسة لمجموعة نباتات من الباكستان من عائلات مختلفة قام

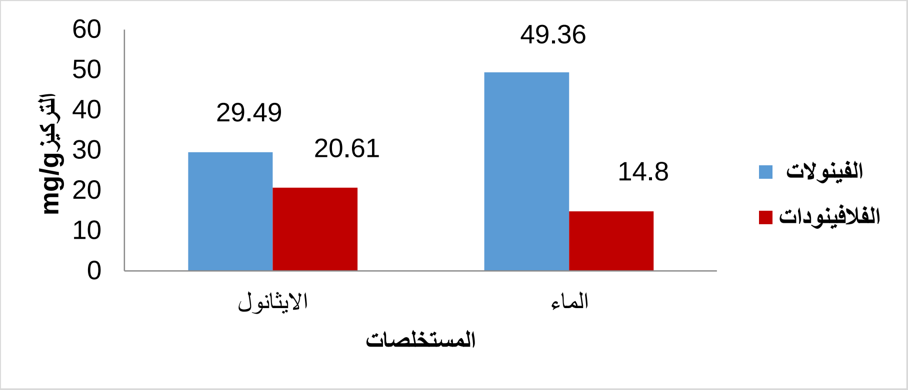
لها Hussain وآخرون [37]. جاءت نتائج الدراسة الحالية في تقدير البروتين لأوراق العرعر متوافقة مع دراسة اجراها Nasri وآخرون [33] لتقدير نسبة البروتين في زيت ثمار نفس النبات فيها (8.4±2.0%).

تقدير الفينولات والفلافونيدات

تم تقدير الفينولات للمستخلص المائي والكحولي باستعمال الطريقة الطيفية طريقة كاشف فولين وباستخدام حمض الجاليك كمادة مرجعية، حيث تم التعبير عن المحتوى الفينولي بعدد المليجرامات المكافئة لحمض الجاليك لكل جرام من المادة الجافة. الجدول (4) والشكل (2) يوضح كمية الفينولات للمستخلص المائي والكحولي. بالنسبة للفلافينودات، فقد تم استعمال مركب الروتين وباستخدام طريقة كلوريد الألمونيوم من أجل تقدير الفلافونيدات الكلية لنبات العرعر وللمستخلصين الإيثانولي والمائي، كما هو موضح بالشكل (2) والجدول (4). تم التعبير عن محتوى الفلافونيدات بعدد المليجرامات المكافئة للروتين لكل جرام من المادة الجافة.

جدول 4 تقدير كمية الفينولات والفلافونيدات في مستخلصات أوراق العرعر

المستخلصات	الفينولات الكلية *mg/g*	الفلافونيدات الكلية *mg/g*
الايثانول	49.36	20.61
الماء	36.29	14.80



الشكل 2 تقدير كمية الفينولات والفلافونيدات في مستخلصات أوراق العرعر

من خلال النتائج المرصودة لمستخلصات (المائي ، الإيثانولي) لنبات الدراسة، كان أعلى محتوى للفينولات في المستخلص الإيثانولي حيث قدر (49.36*mg/g*) والمحتوى الأقل للمستخلص المائي (46.29*mg/g*)، في حين يُظهر المستخلص المائي لأوراق نبات العرعر محتوى فينولي أقل إذ قارناه بالدراسة التي أجراها Hayouni وآخرون [38]على ثمار نفس النبات، ولكن بطرق استخلاص مختلفة عما طبق في هذا البحث، حيث قدرت بمتوسط (18 ± 0.51 *mg/g*)، ويرجع هذا الاختلاف لاختلاف الجزء النباتي المدروس.

من خلال النتائج الموضحة بالشكل (2) والتي توضح كمية الفلافونيدات في المستخلصات النباتية (الإيثانولي والمائي)، حيث تظهر أن أعلى كمية من الفلافونيدات تتواجد في المستخلص الإيثانولي ، حيث كانت (20.61 mg/g)، نتائج الدراسة الحالية لمستخلص الايثانول لأوراق العرعر جاءت متقاربة مع الدراسة التي قام بها Ennajar وآخرون [10] حيث كان المتوسط (29.3 ±1.3 mg/g).

كما أظهر محتوى الفينولات في هذه الدراسة مستوى اقل مقارنة بالدراسة التي قام بها Bouassida وآخرون [30] استخدم فيها مستخلصات هيدريد الكحول $EtOH\text{-}H_2OE$ بينما محتوى الفلافونيدات لنفس الدراسة كانت متقاربة مع الدراسة الحالية. وفي دراسة اجراها Manaceur وآخرون [32] قدرت الفينولات و الفلافونيدات في المستخلص الإيثانولي لأوراق العرعر كان محتوى الفلافونيدات مطابق لنتائج الدراسة الحالية بقيمة (20mg/g) بينما المحتوى الفينولي عالي جداً وصل الي (308mg/g) وهو أعلى من المحتوى الفينولي للدراسة الحالية.

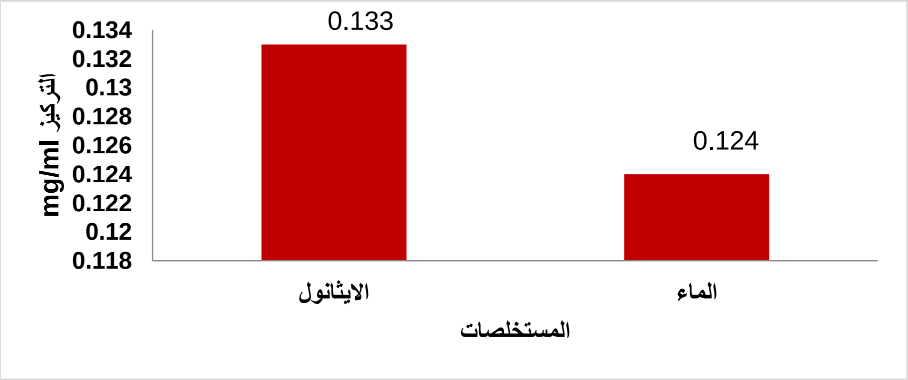
من الملاحظ أن هناك علاقة طردية بين كمية الفينولات والفلافونيدات فكلما زادت الفينولات زادت الفلافونيدات، فكل التفسيرات للفروقات بين النتائج التي تم سبق ذكرها في التقدير الكمي للفينولات تتكرر معنا في تقدير الفلافونيدات.

تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

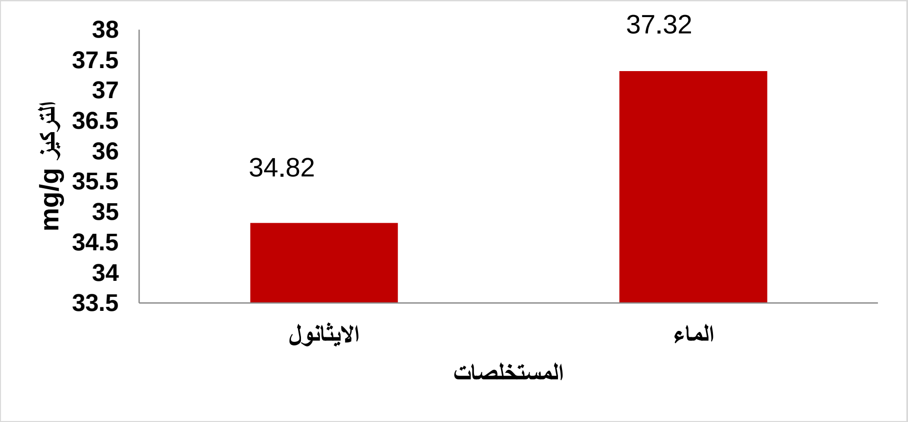
باستخدام طريقة تثبيط الجذر الحر (DPPH) لتقييم النشاط المضاد للأكسدة تم تقدير تركيز المستخلصات المدروسة القادرة على أسر الجدور الحرة حيث تم التعبير عنها بتركيز المستخلص القادر على تثبيط 50% من الجذر الحر. كما تم تقدير تركيز المضادات بالمليجرامات المكافئة لحمض الأسكوربيك كمادة مرجعية لكل جرام من المادة النباتية كما موضح في الشكل (4)، والقيم مبينة بالجدول (5).

جدول 5 تقدير القوة المضادة للأكسدة في مستخلصات أوراق العرعر

المستخلصات	I_{C50} mg/ml	التركيز المكافئ لحمض الأسكوربيك mg/g
الايثانول	0.133	34.82
الماء	0.124	37.32



الشكل 3 قيم IC_{50} لكل المستخلصات بدالة تركيز المستخلص mg/ml



الشكل 4 تركيز مضادات الأكسدة المكافئ لحمض الأسكوربيك (mg/g) للمستخلصات

يلاحظ من خلال قيم (I_{C50}) المثبطة لجذر DPPH للمستخلصات أن هناك تفاوت في النتائج، كما هو مبين في الجدول (5)، فالمستخلص المائي والكحولي لأوراق العرعر لها قدرة عالية على التثبيط قدرت بـ (I_{C50}=0.124mg/ml) و (I_{C50}=0.133mg/ml) على التوالي وهي متوافقة مع تراكيز المستخلصات بالمليجرامات المكافئة لحمض الأسكوربيك لكل جرام من المادة النباتية كما موضح في الجدول (5) والشكل

(4). حيث أظهر المستخلص المائي والكحولي للعرعر التركيز الأعلى بقيم: (37.32mg/ml) و (34.82mg/ml) على التوالي.
أظهرت النتائج أن للمستخلصات المدروسة قدرة مضادة للأكسدة متفاوتة القوة وتختلف من مستخلص لأخر، فالمستخلص المائي أعطى نتائج أكبر نسبياً من الإيثانولي، حيث يعود هذا الاختلاف لقطبية المذيبات، وهو متوافق مع Ahmed وآخرون [39] الذي أوضح أن الجزيئات القطبية الموجودة في المستخلص النباتي تساهم في زيادة النشاطية المضادة للأكسدة للجدور الحرة. بينت نتائج النشاط المضاد للأكسدة قدرة عالية على كسح الجدور الحرة مقارنة بدراسة (Fade وآخرون [27] لنفس النبات في المستخلص الإيثانولي حيث قدرت (403.8mg/ml) . كما أوضحت دراسة لـ(Amalich) وآخرون [28]، أن أوراق العرعر لها قدرة مضادة للأكسدة اقوى من تلك الموجودة في الثمار.
المستخلص المائي أعطى قوة أفضل من الإيثانولي في نتائج مضادات الأكسدة على خلاف محتوى الفينولات و الفلافونيدات التي كان للمستخلص الإيثانولي الافضلية الأكبر، يرجع هذا الاختلاف الي أن القدرة التثبيطية للمركبات النباتية الفعالة على جذرDPPH لا ترتبط فقط بكمية المركبات الفينولية وإنما لها علاقة كبيرة بالبنية الكيميائية، وأن النشاطية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية تعتمد على عدد وموقع مجموعات الهيدروكسيل المرتبطة بها [40].

Conclusions الاستنتاجات

نتائج الدراسة الحالية أوضحت أن أوراق نبات العرعر الفينيقي غنية بالمواد الفعالة، مثل مركبات الفلافونيدات والفينولات والقلويدات والبروتينات المتعددة والكربوهيدرات والتانينات والجليكوسيدات. كما أن المستخلص المائي والكحولي أظهر نشاط مضاد للأكسدة من خلال اختبار الجذر الحر DPPH. التقدير الكمي للفينولات والفلافينودات أظهر أن المستخلص الكحولي ذو محتوى أعلى من الفينولات والفلافونيدات بينما في المقابل كان للمستخلص المائي قوة نشاط مضاد للأكسدة أكبر من المستخلص الإيثانولي.

Reference المراجع

1 Shakya, A.K. (2016). Medicinal plants: Future source of new drugs. *International Journal of Herbal Medicine*, 4(4), 59-64.

2) هيكل، م. أ.، عمر، ع. ع. ع. (1988). النباتات الطبية و العطرية كيمياؤها إنتاجها فوائدها. *منشأة المعارف*.

3) منظمة الصحة العالمية و المكتب الإقليمي لشرق ، المتوسط، مقاومة مضادات الميكروبات في إقليم شرق المتوسط. 2017، ش م/ل إ 6/64

4) Mazari K, Bendimerad N, Bekhechi C, Fernandez X. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian Juniperus phoenicea L. and Cupressus sempervirens L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(10), 959-964.

5) Thite, S. V., Chavan, Y. R., Aparadh, V. T and Kore, B. (2013). A Preliminary phytochemical screening of some medicinal plants. *International Journal Of Pharmaceutical, Chemical And Biological Sciences*, 3(1), 87-90.

6) Jalali, A., Dabaghian, F., Akbrialiabad, H., Foroughinia, F., Zarshenas, M. M. (2021). A pharmacology-based comprehensive review on medicinal plants and phytoactive constituents possibly effective in the management of COVID-19. *Phytotherapy Research*, **35**(4), 1925-1938.

7) Caudullo, G. and D. de Rigo. (2016). Juniperus phoenicea in Europe: distribution, habitat, usage and threats. *European Atlas of Forest Tree Specie*, . Publ. Off. EU, Luxembourg ، pp. e012f63+.

8) Buarousha, N. A. M., Adam, M. A. M., and Ehwaeti, M. E. M. (2018). Survey of Phytonematodes Associated with Juniperus phoenicea L. and Identification of Xiphinema Pachtaicum. In Al-Jabal Al-Akhdar Region, Libya. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 7(2), 284-287.

9) Adams, R.P., Barrero, A., and Lara, A. (1996). Comparisons of the Leaf Essential Oils of Juniperus phoenicea, J. phoenicea subsp. eu-mediterranea Lebr. & Thiv. and J. phoenicea var. turbinata (Guss.) Parl. *Journal of Essential Oil Research*, 8(4), 367-371.
10) Ennajar, M., Bouajila, J., Lebrihi, A., Mathieu, F., Abderraba, M., Raies, A., Romdhane, M. (2009). Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of Juniperus phoenicea L.(Cupressacees). *Journal of food science*, 74(7), M364-M371.
11) Al Groshi, A, Evans, A. R, Ismail, F. M. D, Nahar, L., and Sarker, S. D. (2018). Cytotoxicity of Libyan Juniperus phoenicea against human cancer cell lines A549, EJ138, HepG2 and MCF7. *Pharmceutical Sciences*, 24(1), 3-7.
12) Keskes, H., Mnafgui, K., Hamden, K., Damak, M., El Feki, A., Allouche, N. (2014). In vitro anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant proprieties of Juniperus phoenicea L. leaves from Tunisia. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 4(S2), S649-S655.
13) Keskes, H., Belhadj, S., Jlail, L., El Feki, A., Damak, M., Sayadi, S., Allouche, N. (2017). LC-MS–MS and GC-MS analyses of biologically active extracts and fractions from Tunisian Juniperus phoenice leaves. *Pharmaceutical Biology*, **55**(1), 88-95.
14) Aljaiyash, A., Ghanmi, M., Satrani, B., Labiad, H., Echchelh, A., Chaouch, A. (2016). Chemical Composition of Essential Oils of Ripe and Unripe Berries and Leaves of Juniperus Phoenicea L. and determination of their Antimicrobial Activities. *International Journal of Emerging Engineering Research and Technology*, **4**(10), 7-14.
15) Azwanida, N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, **4**(196), 2167-0412.
16) Mzid, M., Ben Khedir, S., Ben Salem, M., Regaieg, W., Rebai, T. (2017). Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol and aqueous extracts from Urtica urens. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 775-781.
17) Harborne, J. (1973). Phytochemicals methods. London, Hapman and Hall Ltd, 49-188.
18) Iqbal, E., Salim, K. A., Lim, L. B. (2015) Phytochemical screening, total phenolics and antioxidant activities of bark and leaf extracts of Goniothalamus velutinus (Airy Shaw) from Brunei Darussalam. *Journal of King Saud University-Science*, 27(3), 224-232.
19) Sofowora, A. (1993). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879.
20) Falleh, H., Riadh, K., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372-379.
21) Baur, F. J., Ensminger, L. G. (1977). The association of official analytical chemists (AOAC). *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 54(4), 171-172.
22) Gracelin, D. H. S., Britto, A., Kumar, B. (2013). Qualitative and quantitative analysis of phytochemicals in five Pteris species. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(1), 105-107.
23) Magomya, A., Kubmarawa, D., Ndahi, J. A., Yebpella, G. G. (2014). Determination of plant proteins via the kjeldahl method and amino acid analysis: A

comparative study. *International journal of scientific & technology research*, 3(4), 68-72.
24) Chavan, Y. and Singhal, R. S. (2013). Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactives from arecanut (Areca catechu L.) and optimization study using response surface methodology. *Innovative food science & emerging technologies*, 17, 106-113.
25) Uyoh, E.A., Chukwurah, P. N., Akarika, R. C., Antia, V. A. (2013). Potentials of two Nigerian spices—Piper nigrum and Monodora myristica as sources for cheap natural antioxidants. 4, 1105-1115.
26) Mensor, L .L., Menezes, F. S., Leitão, G. G., Reis, A. S., dos Santos, T. C., Coube, C. S., Leitão, S. G. (2001). Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy research*, 15(2), 127-130.
27) Fadel, H., Benayache, F., Benayache, S. (2016). Antioxidant properties of four Algerian medicinal and aromatic plants Juniperus oxycedrus L., Juniperus phoenicea L., Marrubium vulgare L. and Cedrus atlantica (Manetti ex Endl). *Der Pharmacia Lettre*, 8(3), 72.
28) Amalich, S., Fadili, K., Fahim, M., EL Hilali, F., Zaïr, T. (2016). Polyphenols content and antioxidant power of fruits and leaves of Juniperus phoenicea L. From Tounfite (Morocco). *Moroccan Journal of Chemistry*, 4(1), 177-186.
29) El-Sawi, S. A., Motawae, H. M., Saleem, M. A., El-Shabrawy, A. O., Saleem, A., Ismail, M. A. (2014). Phytochemical screening, investigation of carbohydrate contents, and antiviral activity of Juniperus phoenicea L. growing in Egypt. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 20(1), 83-91.
30) Zouari Bouassida, K., Makni, S., Tounsi, A., Jlaiel, L., Trigui, M., Tounsi, S. (2018). Effects of Juniperus phoenicea hydroalcoholic extract on inflammatory mediators and oxidative stress markers in carrageenan-induced paw oedema in mice. *BioMed research international*, 2018**.**, 1-11
31) Dane, Y., Mouhouche, F., Canela-Garayoa, R., Del Pino Rius, A. (2016). Phytochemical Analysis of Methanolic Extracts of Artemisia absinthium L. 1753 (Asteraceae), Juniperus phoenicea L., and Tetraclinis articulata (Vahl) Mast, 1892 (Cupressaceae) and evaluation of their biological activity for stored grain protection. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 41(6), 2147-2158.
32) Menaceur, F., Benchabane, A., Hazzit, M., Baaliouamer, A. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of Algerian Juniperus phoenicea L. extracts. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 3(1), 87-96.
33) Nasri, N., Tlili, N., Elfalleh, W., Cherif, E., Ferchichi, A., Khaldi, A., Triki, S. (2011). Chemical compounds from Phoenician juniper berries (Juniperus phoenicea). *Natural product research*, 25(18), 1733-1742.
34) Temitope, O.O. (2015). Comparative study of antibacterial and phytochemical properties of nigerian medicinal plants on salmonella bongori and salmonella enteritidis isolated from poultry feaces in owo local government. Ondo State, Nigeria. *Archives of current research international*, 2(1), 1-11.
35) Krishna, A. B., Manikyam, H. K., Janoti D. S. (2016). Comparative Physicochemical Ash Study of Some Medicinal Plants Species of Western Himalaya. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(3), 442-225
36) Edeoga, H. O., Okwu, D., Mbaebie, B. (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African journal of biotechnology*, 4(7), 685-688.

37) Hussain, J., Khan, A., Rehman, N., Zainullah, Khan, F., Hussain S. T., Shinwariet, Z. K. (2009). Proximate and nutrient investigations of selected medicinal plants species of Pakistan. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(5), 620-624.
38) Hayouni, E. A., Abderrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian Quercus coccifera L. and Juniperus phoenicea L. fruit extracts. *Food chemistry*,105(3), 1126-1134.
39) Ahmed, A. F., Attia, F. A. K., Liu, Z., Li, C., Wei, J., iKang, W. (2019). Antioxidant activity and total phenolic content of essential oils and extracts of sweet basil (Ocimum basilicum L.) plants. *Food Science and Human Wellness*, 8(3), 299-305.
40) Debouba, M., Balti, R., Hwiwi, S., Zouari, S. (2012). Antioxidant capacity and total phenols richness of Cistanche violacea hosting Zygophyllum album. *International Journal of Phytomedicine*, 4(3), 399-402.

Estimation of some chemical components and antioxidants of Juniperus phoenicea L

Marwa A. Sulaiman [1], Khaled M. M. Elsherif[2], Adel Mlitan[3]
[1]faculty of Arts and Science, Chemistry Department, El-Mergib University, Misallata, Libya
[2]Chemistry Department, Faculty of Sciences, University of Benghazi, Benghazi, Libya
[2]Chemistry Department, Faculty of Sciences, Misurata University, Misurata, Libya
E-mail: Marwa.alb2017@gmail.com

Abstract:
The aim of the present research was to study the active metabolic products of the Juniperus phoenicea L plant. Extraction by soaking in aqueous and ethanolic solution was used to obtain the active products in the plant. The greatest yield was obtained for the ethanolic extract (20.3%), while it was for the aqueous (14.7%). Phytochemical screening was performed for the aqueous and alcoholic extracts, which showed the plant's richness in many active compounds such as carbohydrates, proteins, phenols, flavonoids, tannins, coumarins, alkaloids, soaps, resins, terpenes and resins. Also, the moisture, ash, proteins, and alkaloids were estimated and their percentages were: (13%, 5.52%, 10.78% and 1.84%), respectively. The phenolic content was estimated using Follen's reagent method and the flavonoids content using $AlCl_3$ method for the two extracts. The phenolic content were (49.36 mg/g) and (46.29 mg/g) for ethanol and aqueous, respectively, while the flavonoids contents were: (20.61 mg/g) for ethanol and (14.80 mg/g) for aqueous extracts. Finally, the antioxidant activity was estimated using DPPH radical scavenger, since the aqueous extract showed greater antioxidants than the ethanolic extract. The inhibitory concentration of 50% of the free radical (I_{C50}) was calculated and were: (0.124mg/ml) for aqueous and (0.133mg/ml) for ethanol, and the concentration of the antioxidant equivalent to ascorbic acid was calculated for the aqueous and ethanolic extracts and were found to be: (37.32mg/ml).) and (34.82mg/ml), respectively.

Keywords: Juniperus phoenicea L, Phytochemical Screening, Phenolic content, Flavonoids, Total antioxidants.