الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا

مذكرة تخرج

لنيل شهادة ماستر اكاديمي

ميدان :علوم طبيعية و الحياة

شعبة :علوم بيولوجية

تخصص: التنوع الحيوي و فيزيولوجيا النبات

الموضوع:

الفصل الكروماتوغرافي لمستخلصات حبوب الكينوا الصفراء *(Chenopodium quinoa)*

من اعداد الطلبة :

- زوبير كميلية
- برجوح بثينة
- بن ثامر رجاء

لجنة المناقشة :

مخدمي نور الهدى	استاذ محاضر(ب)	رئيسا	جامعة الشهيد حمه لخضر
قادري منيرة	استاذ محاضر(ب)	مؤطرا	جامعة الشهيد حمه لخضر
حماده سمره	استاذ مساعد(أ)	مناقشا	جامعة الشهيد حمه لخضر

الموسم الدراسي : 2021/2022

التشكرات

نحمد الله العلي القدير الذي أعاننا و وفقنا على انجاز هذا العمل الذي نرجو أن يكون قيما وهادفا .

الاعتراف بالجميل من خصالنا لذا نتقدم بكل عبارات الشكر والإمتنان للدكتورة قادري منيرة ، التي كانت المدرسة التي تعلم ،والعون الذي لاينتهي، على كل ماقدمته من مجهودات لإنجاز هذا العمل .

نتقدم بالشكر للدكتورة مخادمي نور الهدى على قبولها رئاسة لجنة المناقشة .

كما نشكر حمادة سمرة على قبولها المشاركة في لجنة المناقشة .

كما نتقدم بالشكر الجزيل للمسؤول المكتبة حسان مساك الذي لم يبخل علينا بمساعدته ونصائحه .

وشكر خاص لأفراد مخبرنا منهم ،حسام ،منى ، وخاصة عمر .

دون أن ننسى أفراد دفعتنا خاصة ايمان لمحنط ونتمنى لهم جميعا كل التوفيق والنجاح.

فائق التقدير و الاحترام الى كل هؤلاء

الإهداء

الحمد لله الذي وفقني وأنار لي طريقي وكان لي خير عون

سيدنا محمد عليه أفضل الصلاة و أزكى التسليم

أهدي ثمرة جهدي إلى أسطورة حبي المقدر التي منحتني الحب والعطف والحنان أمي الحبيبة *عائشة*

إلى من أدين له بحياتي من كان قوتي وشجاعتي الذي جد وجهد وعلمني قيمة النجاح أبي الغالي*سعد*

إلى سندي في هذه الحياة كبرت معهم واعتمدت عليهم إخوتي *ايناس*كريمة * مونية *

إلى عائلتي الكريمة *آل زوبير * و *آل بوزقاق * بالأخص خالي * مولود *

إلى من أختارني ليكمل مشوار حياته: خطيبي * وائل *

إلى عائلتي الجديدة عائلة * رزازقة *

رفيقات دربي صديقات حياتي عامة *أفراح * سندس * مسعودة *خاصة

أساتذتي الكرام

حبيبتي الصغيرة * انتصار الدجى *

شكرا لكم جميعا

زوبير كميلية

الإهداء

اولا الشكر والحمدلله الذي وفقني في هذا المشوار

الى من هي قنديل ظلامي وكل شي في حياتي امي الغالية: صباح .

الى أبي الغالي : محمد اطال الله في عمره

الى سندي وعضدي في هذه الحياة اخوتي

أخي الكبير : عبد الحكيم

"فارس""هيثم "" عبد العزيز"

والى التي قيل عنهم يدي اليمنى وضلع ثابت لا يميل ,وقطعة من الام تورد لك الحياة أخواتي .

''شيماء ,» "منة الله "

إلى الأخوات اللواتي لم تلدهم أمي"صديقات العمر "

شكرا لكم جميعا وحفظكم الله لي.

برجوح بثينة

الإهداء

بسم الله الرحمان الرحيم

الحمد لله ربي العالمين والصلاة والسلام على رسوله الكريم

إلى من سهرت الليالي من أجلي * أمي ليلى *

إلى من أنار لي طريق الحياة الذي لم يبخل علي بالنصح والإرشاد * أبي بوجمعة *

إلى إخوتي الأعزاء * ايمان * صابر * إلهام * ماريا * إلى الصغيرة * لينا *

إلى كل أفراد عائلتي خاصة * عمي جمال * خالي كريم *

إلى جميع أساتذتي

إلى جميع الأصدقاء

الى كل *هؤلاء اهدي هذا العمل المتواضع*

بن ثامر رجاء

الملخص

يهدف هذا العمل الى استخلاص و فصل بعض مركبات الأيض الثانوي لحبوب نبات الكينوا الصفراء (*Chenopodium quinoa*)، الذي ينتمي للعائلة الرمرامية *Chenopodiaceae* يستعمل هذا النبات للغذاء الصحي نظرا لغنى حبوبه بالمغذيات الطبيعية والفيتامينات .اعتمدنا كخطوة أولى الحصر الكيميائي الأولي لبعض مواد الايض الثانوي في عدة مستخلصات المستخلص الميثانولي (النقع والغليان) والمائي(بالنقع) والمستخلص الايثيري والحمضي (بالنقع)، يليه استخلاص و فصل الفينولات و الفلافونويدات باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM للمستخلص الايثانولي، المائي، البوتانولي وخلات الايثيل، و كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء HPLC للمستخلص الميثانولي .

اظهرت اختبارات الكشف الكيميائي ان حبوب الكينوا الصفراء *Chenopodium quinoa* تحتوي على المواد الفعالة المتمثلة في القلويدات والمركبات المرجعة و الفلافونويدات والاستيرولات والتربينات الثلاثية و التانينات و غنية بالصابونيات .

أعلى مردود للمستخلصات قدر بـ 0.793% للمستخلص الايثانولي

بينت نتائج الفصل الكروماتوغرافي CCM وجود مركبات من نوع فلافانول يحتوي على OHحر في الموضعC3 مع تواجد أو عدم تواجد OHحرة في الموضع C3، و من نوع أورون، بالاضافة إلى حمض الغاليك، ومن خلال كروماتوغرافيا HPLC تم تحديد بعض المركبات الفينولية والفلافونويدية الموجودة في حبوب نبات الكينوا و المتمثلة في Tannic , Apéginine

(penta Hydroxyd Flavone, Quercetin, Kaempferide

الكلمات المفتاحية :الكينوا الصفراء *Chenopodium quinoa*- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM- كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء HPLC- الفينولات

Abstract

This work aims to extract and separate some of the secondary metabolites of the yellow quinoa plant (*Chenopodium quinoa*), which belongs to the Chenopodiaceae family. This plant is used for healthy food due to the richness of its grains in natural nutrients and vitamins.

As a first step, we adopted the initial Screening phytochimique of some secondary metabolites in several extracts of the methanolic extract (maceration and boiling), aqueous (maceration), etheric and acidic extract (maceration).

This was followed by extraction and separation of phenols and flavonoids using Thin layer chromatography (TLC) for the ethanolic, aqueous, butanol and ethyl acetate extracts, and High performance liquid chromatography HPLC for the methanolic extracts.

Screening phytochimique tests showed that *Chenopodium quinoa* contains the active substances represented in alkaloids, recycled compounds, flavonoids, sterols and triterpenes, Tanin and is rich in saponins.

The highest yield of the extracts was estimated at 0.793% for the ethanolic extract

The results of TLC chromatography showed the presence of flavanols containing a free OH at the C3 position with or without free OH at the C3 position, and of the Oron type, in addition to gallic acid. Through HPLC chromatography, some phenolic and flavonoid compounds were identified in the quinoa grains, which are Tannic, Apéginine. Pantaydroxy Flavone, Quercetin, Kaempferide .

Keywords: yellow quinoa (*Chenopodium quinoa*), TLC, HPLC, phenols

قائمة الإختصارات

CCM: Chromatographie sur Couche Mince

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

HCL : Hydrogenchloride

$FeCl_3$: Chlorure de fer

H_2SO_4: Acide Sulfurique

Mg: Magnesium

R_f: Rapport frontal

UV: Ultraviolet

% : Pourcentage

ITDAS: Institut technique pour le développement agricole de la saharienne

CRAPC: Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimique

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nation

E.AQ مستخلص مائي

E.Eth مستخلص ايثانولي

E.AcOEt مستخلص خلات اليثيل

E.nBuOH مستخلص ن- بوتانول

الفهرس

التشكرات

الإهداء

الملخص

قائمة الاختصارات

فهرس الوثائق و الاشكال

فهرس الجداول

مقدمة

الجزء النظري

الفصل الاول : عموميات حول نبات الكينوا

I . العائلة الرمرامية.....3

II. الوصف النباتي للعائلة الرمرامية.....3

III. نبات الكينوا*Chenopodium quinoa*.....3

III.1.التعريف بنبات الكينوا 3

III .2. وصف نبات الكينوا 4

III .3. مراحل نمو وتطورنبات الكينواا (دورة الحياة) 4

III .4.الاحتياجات البيئية للكينوا 6

III .5.الأسماء الشائعة للكينوا 6

III .6.مواعيد زراعة الكينوا 6

III .7. الاصل الجغرافي وموطن نبات الكينوا 7

III .8.الوصف المورفولجي لنبات الكينوا.....7

III .9.التصنيف العلمي 11

III .10.الكينوا و العوامل البيئية 11

III.11. المحتوى الغذائي للكينوا .....**12.**

III .12.استخدامات نبات الكينوا 14

III .13.الفعالية الطبية للكينوا 14

III .14.زراعة الكينوا في الجزائر 15

III .15.الأمراض التي تصيب الكينوا.....15

الفصل الثاني : عموميات حول الكروماتوغر افيا

1.تعريف الكروماتوغر افيا.....16

2. لمحة تاريخية عن الكروماتوغر افيا.....16

3. مبدأ عمل الكروماتوغرافيا 16

4. طرق الفصل الكروماتوغرافي..... 17

1.4.كروماتوغرافيا العمود CC 17

2.4.كروماتوغرافيا التبادل الأيوني.IEC..... 18

3.4.كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقةCCM..... 19

4.4.الكروماتوغرافيا الورقية CP 20

5.4.الكروماتوغرافيا الغازيةCPG 21

6.4.الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداءHPLC 23

الجزء التطبيقي

الفصل الأول : المواد و الطرق

I. جمع العينات النباتية..... 27

II. الدراسة الفيتوكيميائية..... 27

II .1. تحضير المادة النباتية 27

II 2. تحضير المستخلصات النباتية Préparation des extraits 28

II 3. الحصرالكيميائي الأولي Tests phytochimiques..... 28

II 4. استخلاص الفلافونويدات 30

II.4. 1.حساب المردود..... 30

II 5. عملية الفصل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقةCCM 32

II.6. عمليةالفصل بواسطة كروماتوغرافيا السائل عاليةالأداءHPLC..... 33

الفصل الثاني: النتائج والمناقشة

I. الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية 34

II. استخلاص الفلافونويدات..... 41

II..1.حساب المردود 41

III. نتائج الفصل بواسطة الكروماتوغرافياCCM..... 43

IV. نتائجالفصل بواسطة الكروماتوغرافياHPLC 46

الخلاصة..... ...50

قائمة المراجع..... 52

الملاحق..... 60

فهرس الوثائق

عنوان الوثيقة	الصفحة
الوثيقة1: نبات الكينوا(صورة شخصية من بلدية أم طيور)	4
الوثيقة2: مراحل نمو نبات الكينوا	5
الوثيقة 3: مكان تدجين الكينوا	8
الوثيقة 4: التباين في عدد الأسنان في أوراق الكينوا	9
الوثيقة5 : : نظام جذر الكينوا	9
الوثيقة6 : أزهار الكينوا الخنثى والأنثوية	10
الوثيقة07: الأمراض الأكثر شيوعا عند نبات الكينوا أ: *Ascochyta hyalospora* ب: *Peronospora Farinosa*	15
الوثيقة 8: كروماتوغرافيا العمود	18
الوثيقة 9: كروماتوغرافيا التبادل الأيوني	19
الوثيقة10 : كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة	20
الوثيقة11 : كروماتوغرافيا الورقة	21
الوثيقة12 : مكونات جهاز الكروماتوغرافيا الغازية	22
الوثيقة13 : : جهاز HPLC	25
الوثيقة14 : مبدأ عمل جها ز HPLC	26
الوثيقة 15: الموقع الجغرافي لبلدية أم الطيور	27
الوثيقة16:حبوب الكينوا الصفراء	27
الوثيقة 17: نتائج الفصل الكروماتوغرافي بواسطة CCM المعالجة بالأشعة الفوق بنفسجية Uvعند طول الموجة(254 nm) قبل وبعد الرش بالأمونياك	43
الوثيقة 18: نتائج الفصل الكروماتوغرافي بواسطةCCMالمعالجة بالأشعةالفوق بنفسجية uvعند طول الموجة (365 nm) قبل وبعد الرش بالأمونياك	44
الوثيقة 19: بعض المركبات الفينولية والفلافونويدية المتواجدة في نبات الكينوا	48
قائمة الأشكال	
الشكل1: مخطط عام لاستخلاص الفلافونويدات	31
الشكل2: مردود المستخلصات(المائي, الايثانولي,n-BuOH, AcOEt)	42
الشكل4: منحنى كروماتغرام HPLC)) للمستخلص الميثانولي لحبوب الكينوا. (254nm)	47
الشكل 5: منحنى كروماتغرام(HPLC) للمستخلص الميثانولي لحبوب الكينوا. (325nm)	47
الشكل5 : العوامل المؤثرة على المحتوى الكيميائي للمستخلص النباتي	49

فهرس الجداول

عنوان الجدول	الصفحة
الجدول01 : مراحل التطور الظاهري لنبات الكينوا	5
الجدول 02 : : الأسماء الشائعة لنبات الكينوا	7
الجدول03 : يوضح التصنيف العلمي للكينوا	11
الجدول04 : محتوى الفيتامينات في حبوب الكينوا (ملغم / 100 غرام من المادة الجافة)	13
الجدول05 : مقارنة بين متوسط محتوى معادن الكينوا مع الحبوب الأخرى (ملجم / 100 جم)	13
الجدول06: نتائج الكشف الكيميائي عن الصابونيات في المستخلصات	34
الجدول07 نتائج الكشف الكيميائي عن القلويدات في المستخلص الميثانولي	35
الجدول08 : نتائج الكشف الكيميائي عن القلويدات في المستخلص المائي	36
الجدول09 : نتائج الكشف الكيميائي عن القلويدات في المستخلص الحمضي	37
الجدول10 : نتائج الكشف الكيميائي عن الاستيرولات والتربينات الثلاثية في المستخلص الاثيري	37
الجدول :11 نتائج الكشف الكيميائي عن الفلافونويدات في المستخلصات	38
الجدول12 : نتائج الكشف الكيميائي عن التانينات في مستخلص الميثانولي والمائي	38
الجدول13 : نتائج الكشف عن المركبات المرجعة في المستخلصات	39
الجدول14 : نتائج الكشف الكيميائي للمستخلصات لحبوب بنات الكينوا	39
الجدول15 : مردود المستخلصات	41
الجدول 16: نتائج الفصل الكروماتوغرافي بواسطة بواسطة CCM قبل وبعد المعالجة بالأشعة الفوق بنفسجية UV وبعد الرش بالامونياك	45
الجدول17: المركبات الفينولية الموجودة في حبوب نبات الكينوا.	47

مقدمة

مقدمة

(وَهُوَ الَّذي أَنزَلَ مِنَ السَّماءِ ماءً فَأَخرَجنا بِهِ نَباتَ كُلِّ شَيءٍ فَأَخرَجنا مِنهُ خَضِرًا نُخرِجُ مِنهُ حَبًّا مُتَراكِبًا وَمِنَ النَّخلِ مِن طَلعِها قِنوانٌ دانِيَةٌ وَجَنّاتٍ مِن أَعنابٍ وَالزَّيتونَ وَالرُّمّانَ مُشتَبِهًا وَغَيرَ مُتَشابِهٍ انظُروا إِلى ثَمَرِهِ إِذا أَثمَرَ وَيَنعِهِ إِنَّ في ذلِكُم لَآياتٍ لِقَومٍ يُؤمِنونَ) (الأنعام 99). صدق الله العظيم

في السنوات الأخيرة زاد الإهتمام بضرورة تحقيق الأمن الغذائي في جميع دول العالم، وذلك بسبب الزيادة المضطردة في عدد السكان وخصوصا في الدول النامية. ويمكن القول بأن الخطوة الأساسية التي يجب إتباعها لتحقيق الأمن الغذائي في الوقت الحاضر وفي المستقبل، هي ضرورة التوسع في إنتاج محاصيل الحبوب، لأنها تعتبر بمثابة حاجز بين الإنسان والجوع، كما أنها تعتبر مصدرا رخيصا للحصول على السعرات الحرارية اللازمة للإنسان بالمقارنة بالمحاصيل الأخرى، وبالإضافة إلى ذلك فإنها تلعب دورا اقتصاديا وسياسيا هاما للعالم العربي (عبد الحميد، 2019).

من المحاصيل التي اكتسحت انتباها كبيرا هو نبات الكينوا *Chenopodium quinoa* الذي أدخل حديثا الى الجزائر في عام 2014 حيث قامت الجزائر بتجربة زراعة حبوب الكينوا ضمن مشروع لمنظمة الأغذية والزراعة للأمم المتحدة لتشجيع إنتاجها، وإدماجها ضمن النظم الزراعية، لما تحمله من مميزات وبسبب جودتها الغذائية و فوائدها الصحية ومحتواها العالي من البروتين، كذلك خلوها من الغلوتين، فالكينوا صنف مروج عالميا للاستهلاك البشري (Herbillon, 2015)، فهي تحتوي على العديد من المغذيات الطبيعية و الفيتامينات، المعادن كالفوسفور الدهون غير المشبعة، الكالسيوم، الزنك، المغنزيوم، الحديد، كما أنها غنية بالمواد الفعالة (ربيسع وجويل، 2015).

شهدت زراعة الكينوا *Chenopodium quinoa* نجاحا مبهرا في عدة دول من الوطن العربي و كذلك في الجزائر، من بين المناطق في الجزائر ولاية وادي سوف و كذلك بسكرة حيث سجلت تأقلما كبيرا مع المناخ الجاف في هذه المنطقة (ITDAS, 2017).

الكثير من الأبحاث ركزت على القيمة الغذائية لنبات الكينوا، رغم أنها تمتلك خصائص علاجية أيضا لما تحتويه من مواد أيض ثانوي .

ومن هنا تتبادر الى اذهاننا العديد من الاسئلة، و أهمها ماهي مختلف مواد الأيض الثانوي المحتواة في حبوب الكينوا ؟

وهذا تطلب منا الحصر الكيميائي الأولي لهذه المركبات، و اعتمادا عليه حاولنا فصل المركبات الكيميائية في حبوب الكينوا للوصول إلى تشخيص دقيق لها .

وهنا يبرز الدافع الحقيقي لهذا العمل هو محاولة الوصول إلى المركبات الفعالة الموجودة في حبوب الكينوا *Chenopodium quinoa* وذلك من خلال الفصل الكروماتوغرافي لبعض المواد الفعالة المتواجدة في حبوب الكينوا *Chenopodium quinoa* و لتحقيق الهدف المرجو اتبعنا خطة الدراسة المتمثلة في جزئين :

الجزء النظري: قسم الى فصلين:

الفصل الاول: عموميات حول نبات الكينوا .

الفصل الثاني: عموميات حول الكروماتوغرافيا.

الجزء التطبيقي: ينقسم الى فصلين:

الفصل الاول: تضمن دراسة مخبريةٌ تم فيهًا :

- ✓ الاختبارات الكيميائية الاولية لحبوب نبات الكينوا *Chenopodium quinoa*
- ✓ استخلاص وفصل بعض مركبات الايضٌ الثانوي لحبوب نبات الكينوا *Chenopodium quinoa* باستعمال كروماتوغرافيا CCM و HPLC.

الفصل الثاني: تطرقنا فٌيه إلى ذكر النتائج المحصل علٌيها وتحليلها و مناقشتها.

الجزء النظري

الفصل الاول :

عموميات حول نبات الكينوا

I. العائلة الرمرامية :

تعرف العائلة الرمرامية باسم البنجر أو الشمندر وتسمي علميا Chenopodiaceae وهي تابعة للرتبة Caryophillales، من النباتات الملحية Halophyte، وتسمى أيضا الفصيلة رجل الأوز، معظم ما تتضمنه هذه العائلة من النباتات هي أعشاب ونادرا شجيرات (الموسوي، 1987)، تنمو بكثرة في الصحاري المالحة وقرب المستنقعات (طه، 2002)، خاصة في المناطق المعتدلة وشبه الاستوائية (Herbillon, 2015).

II. الوصف النباتي للعائلة الرمرامية:

هي عائلة كبيرة نسبيا من الأعشاب المعمرة و تضم حوالي 106 جنس و1400 نوع (شكري، 1994) تتميز نباتات هذه العائلة بجذور وتدية ذات امتدادات عميقة، كما أن بعض أنواعها تكون لها جذور متضخمة لحمية، والساق ذات شكل اسطواني أو زاوي عمودي، والذي يمكن أن يصل إلى طول 1.5 سم اعتمادا على الأصناف وظروف النمو، وأوراقها بسيطة سوية أو مختلفة التفصص، عديمة الأذينات أما سطحها فيكون خالي من الشعر Glabrous، غير أن جنس الرمرامية Chenopodium بصورة خاصة تكون أوراقه بديلة الأزهار تتكون من 2 إلى 5 كؤوس غالبا ما تكون خضراء قد تكون كاملة أو غير كاملة خنثى أو وحيدة الجنس منتظمة سفلية ماعدا جنس البنجر Beta تكون الزهرة علوية والثمرة كيسية صغيرة الحجم جافة ذات بذرة واحدة تحاط عادة بالغلاف الزهري المستديم، وتتباين الأجناس بالنسبة إلى وجود أو عدم وجود السويداء المحيطة بالجنين المنحني Curved أو الحلزوني إن وجدت (الأنصاري، 1980).

III. نبات الكينوا *Chenopodium quinoa*:

1.III.التعريف بنبات الكينوا :

تتبع الكينوا *Chenopodium quinoa* جنس السرمق (Chenopodium) وهي من عائلة الرمرامية (Chenopodiaceae) (Valencia, 2003) و (Jacobsen et stolen,1993)، و تعرف في انجلترا بـ Rice petty حيث موطنها الأصلي هو منطقة جبال الأنديز في امريكا الجنوبية (Matiacevich *et al*., 2006) والكينوا نبات عشبي حولي **(الوثيقة 1)**، ذاتي التلقيح يعتبر الكينوا غذاء صحيا بامتياز نظرا لغنى حبوبه بالمغذيات الطبيعية والفيتامينات، فالكينوا غني بالألياف، دهون غير مشبعة والمعادن الفسفور، الكالسيوم، الزنك، الحديد وغيرها، ويحتوي نسبة عالية جدا من البروتين السهل الهضم والمكون من الأحماض الأمينية الثمانية الأساسية لنمو الأطفال الصغار والكبار، والجدير بالذكر انا الكينوا خالي من الغلوتين وكذلك مناسب للأشخاص الذي يعانون من حساسية اللاكتوز في الحليب (ربيع وجويل، 2015).

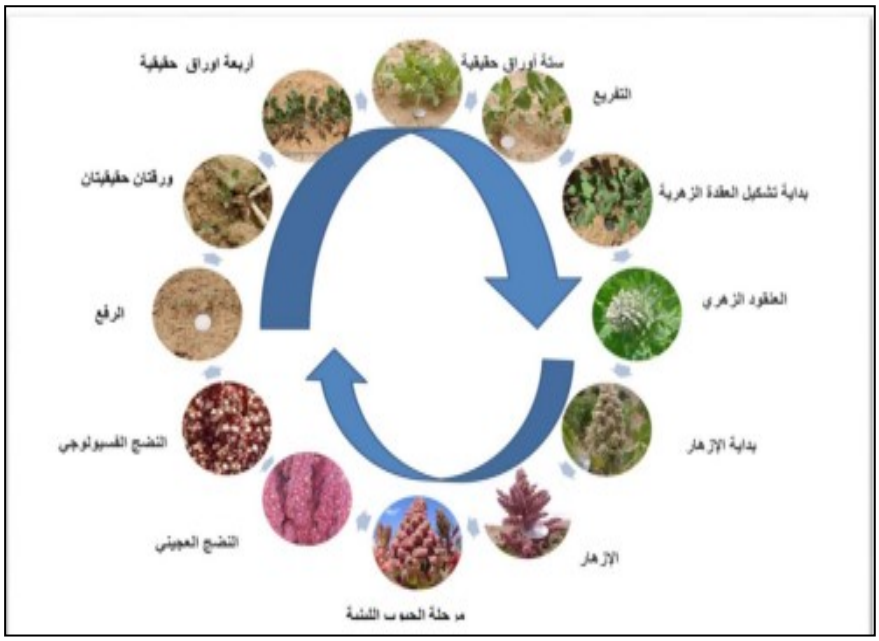
الوثيقة 1: نبات الكينوا(صورة شخصية من بلدية أم طيور)

2.III. وصف نبات الكينوا:

نبات الكينوا هو نبات عشبي حولي (عبد الحميد، 2019)، منتصب يصل ارتفاعهما بين 50 و 200 سنتمتر، وذلك بحسب نوع الكينوا وتركيبها الوراثي والظروف البيئية المحلية وخصوبة التربة، النظام الجذري للكينوا محوري الشكل وقوي وعميق، كما انه ليفي ومتفرع إلى حد ما، وهو ما يساعده على مقاومة الجفاف ويوفر للنبتة الثبات اللازم، ساق الكينوا أسطواني الشكل عند قاعدة النبتة وزاوي عند التفرعات ساق الكينوا تحمل أوراقا عريضة تشبه رجل الأوزة، وتنتهي بسنبلة من الزهور حيث يتم إنتاج الحبوب التي تشبه في حجمها حبة الدخن (Millet)، وتختلف حبوب نبات الكينوا بين الاسود و الاحمر و الأصفر والأبيض، ويعود ذلك إلى وجود طبقة خارجية تحتوي على مادة الصابونين، يحصد محصول الكينوا بعد مرور 100 الى 120 يوم على موعد الزرع للأصناف المبكرة النضج, أما الأصناف المتأخرة النضج فتحصد بعد 150 إلى 180 يوم، يمر نبات الكينوا من 12 مرحلة نمو كما هو مبين في الشكل وفي الجدول أسفله (حيريش، 2018).

3.III. مراحل نمو وتطور نبات الكينوا (دورة الحياة):

تنمو الكينوا خلال فترة الربيع و الصيف، دورة حياته حوالي 6 أشهر، لكنها تختلف حسب المنطقة التي تم فيها موسم البذر والحصاد و حسب أداء الأصناف الجينية للكينوا (Sajjad *et al*., 2014) تم تحديد مراحل نمو نبات الكينوا بعدة مقاييس من بينها سلم BBCH **(الجدول 01)** و(**الوثيقة 2**) الذي يعتمد على وصف التطورات الظاهرية لنبات الكينوا (Sosa-Zuniga *et al*., 2017).



الوثيقة :2 مراحل نمو نبات الكينوا (Lebonvallet, 2008).

الجدول 01: مراحل التطور الظاهري لنبات الكينوا(Atiet- Allah *et al*., 2019).

الأطوار	الأيام بعد الزرع	الوصف
الإنبات	من7 الى10	بعد البذر خروج الشتلات وتوزيع أوارق الفلقة
ورقتان حقيقيتان	من15 إلى 20	تظهـر أول ورقتــان حقيقيتــان الى جانب النمو السريع للجذور
أربعة أوراق حقيقية	من25 الى30	تكون أوراق النبتة خضراء دائما تظهر الشتلات مقاومة جيدة للبرد والجفاف
ست أوراق حقيقية	من 35الى45	ظهور الزوج الثالث من الأوراق الحقيقية تبدأ أوراق النبتة بالذبول
التفريع	من45 الى 50	وجود براعم الإبطين تتساقط أوراق النبتة، وتترك ندبة على الجذع
بداية تكوين الكأس	من55 الى60	تبدأ الإزهار بالظهور في قمة النبات، ويزيد طول القضيب و قطره
تكون الكأس Panicule	من65 الى70	تظهر الازهار بوضوح فوق الأوراق
بداية تشكل الأزهار	من75 الى 80	فتح الزهور الأولى يبدأ النبات في أن يكون أكثر حساسية للبرد والجفاف
الأزهار	من 90الى100	فتح 50 بالمئة من أزهار النورات و تتساقط الأوراق السفلية
الحبوب اللبنية	من100 الى 130	يؤدي نقص المياه إلى إنخفاض حاد في الغلة
خزن الحبة	من130 الى160	يكون محتوى الثمرة ذو طبيعة عجيني حيث يكون ابيض دائما
النضج الفسيولوجي	من 160إلى 80 1	أكثر مقاومة للضغط تحولت معظم الأوراق إلى اللون الأصفر وسقطت

III.4.الاحتياجات البيئية للكينوا:

نبات الكينوا من نباتات النهار القصير ودرجات الحرارة المنخفضة، فهو يضم مجموعات من الأصناف التي تتكيف مع مختلف النظم الزراعية الايكولوجية ومختلف الظروف المناخية كما تنمو في درجات حرارة تتراوح بين 4-35 درجة مئوية وعلى مختلف الارتفاعات، بدءا من مستوى البحر حتى ارتفاع 3000 متر (ربيع وجويل، 2015).

حسب حيرش (2018) محصول الكينوا حساس للحرارة في مرحلتين مهمتين:

- **مرحلة ما بعد الإنبات**: تموت نباتات الكينوا إذا انخفض معدل الحرارة دون الصفر بعد بزوغها وقبل بلوغها طور الست ورقات.

- **مرحلة الازهار**: تدخل النباتات في طور سكون وعقم اللقاح إذا تعدت الحرارة معدل ال 35 درجة مئوية تحتاج نباتات الكينوا إلى فترة جفاف عند بلوغها طور الإزهار وتكوين الحبوب.

التربة المناسبة لزراعة الكينوا هي الرملية الطينية، كما يتحمل نبات الكينوا الملوحة بدرجة مرتفعة حيث يمكنه الإنبات والنمو وإنتاج البذور عند مستويات ملوحة تعادل ملوحة مياه البحر تقريب (40 ديسي سيمنز/م أو 28000 جزء بالمليون) (حيريش، 2018).

III.5. الأسماء الشائعة للكينوا:

للكينوا أسماء شائعة مختلفة حسب البلدان و الدول كما هو موضح في **الجدول (2)**

III.6. مواعيد زراعة الكينوا:

يعتبر شهر نوفمبر في مناطق زراعته الأصلية أفضل وقت لبدء الزراعة، لكن في منطقتنا يعتبر شهر سبتمبر هو أفضل وقت للزراعة، وتزرع بكثافة نباتية قدرها 100000 - 160000 نبات في الهكتار، ويصل للنضج بعد 90 - 120 يوما، ثم يتم الحصاد بعد ذلك (FAO, 2011).

الجدول 02: الأسماء الشائعة لنبات الكينوا (Edif, 2013).

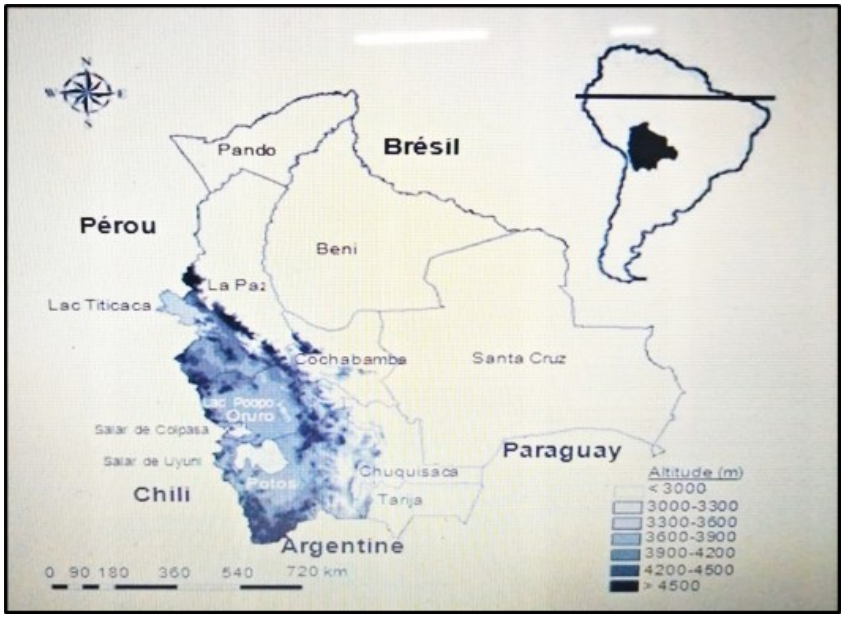
الدولة	الإسم الشائع
الكيشوا	Kiuna, quinua, Parca
الأيمارا	Supha,jopa,jupha,jauira, aara, ccallap, vocali
أزتيك	Huatzontle
تشيبشا	Suba, supha, pasca
مابوتشي	Quinua
اسبانيا	Quinua, quinoa, quingua, quiuna, kinoa, trigo inca, arrocill, Dahui, juba, ,triguillo ubique, arroz del Peru, ubate, juira, suba
الهند	Bathu
البرتغال	Arroz miu'do do peru', espinafre do peru' quinoa
انجلترا	Quinoa, quinua, kinoa, sweet quinoa, peruvian rice, Inca rice, petty rice
فرنسا	Anserine quinoa, riz de Pérou, petit riz de Pérou
إيطاليا	Quinua, Chinua
ألمانيا	Reisspinat,Peruanischerreisspina, reismelde, Reis-gerwacks, Inkaweize

III.7.الأصل الجغرافي وموطن نبات الكينوا:

تم تدجين نبات الكينوا أول مرة في مناطق الأنديز بأمريكا الجنوبية، منذ اكثر من 7000 عام **(الوثيقة03)** (Bazile, 2019).

تم العثور على أقدم بقايا الكينوا في أياكوتشو في بيرو ويعود تاريخها إلى أكثر من 5000 قبل الميلاد وكذلك في مختلف مناطق بيرو، كما تم العثور على البذور بكثرة في مدافن السكان الأصليين في تيلتيل و كويلاجا في تشيلي (Herbillon, 2015).

كانت الكينوا مصدرًا مهمًا للحبوب الغذائية في منطقة الأنديز كما احتلت مكانة بارزة في إمبراطورية الإنكا، ولصفاتها الغذائية والزراعية اطلق عليها الانكا والذي يعني ام جميع البذور، فهي تشكل مصدر غذائي اساسي والاهم لأحفادهم الكيشوا و الأيمارا الذين يعيشون في المناطق الريفية (ربيع وجويل، 2014).



الوثيقة 3: مكان تدجين الكينوا (Carmen, 2008)

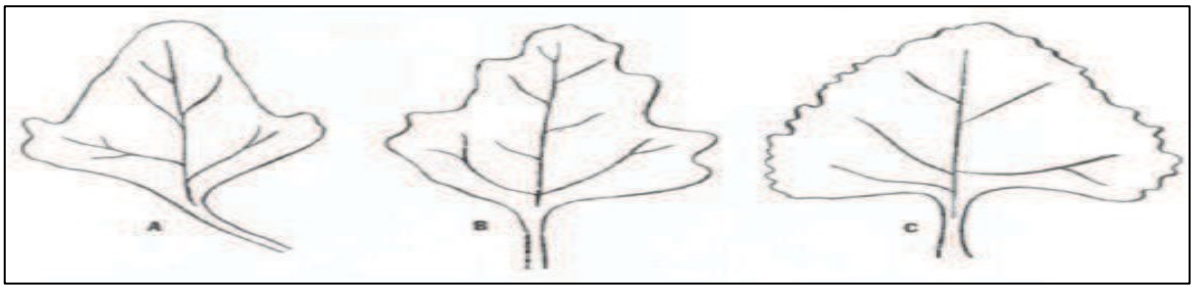
8.III. الوصف المورفولجي لنبات الكينوا:

الكينوا نبات عشبي حولي ينتمي إلى العائلة الرامرامية Chenopodiaceae والتي ينتمي إليها محصول بنجر السكر والسبانخ و الكينوا ليست محصول حبوب حقيقي ولكنها تشبه محاصيل الحبوب في كثير من الصفات، حيث يزرع للحصول على بذوره التي تستخدم كغذاء(عبد الحميد، 2019).

- ✓ **الاوراق:**

الأوراق متبادلة و تتكون من سويقة وشفرة، أعناق طويلة ونحيلة ومحززة في الجانب العلوي ومتغيرة الطول داخل نفس النبات في أغلب الأحيان تكون الشفرات مسطحة ولكنها قد تكون متموجة في بعض الأحيان **(الوثيقة 04)** (Herbillon, 2015).

تحتوي أوراق الكينوا على كمية وافرة من الرماد (3.3٪)، ألياف (1.9٪)، نترات (0.4٪)، فيتامين E (2.9 مجم) و (289 Na مجم / 100 جم)، ذكرت أن الأوراق لديها حوالي 82 - 190 مجم / كجم من الكاروتينات، 1.2 - 2.3 جم / كجم من فيتامين ج و 27-30 جم / كجم بروتينات. دراسة تمت على ورقة طازجة كشفت أن الرطوبة وفيرة (83.92-89.11٪)، الكلوروفيل أ (0.48-1.82 مجم / جم)، الكلوروفيل ب (0.07-0.25 مجم / جم) (Bhargava *et al*., 2005) .



الوثيقة 4: التباين في عدد الأسنان في أوراق الكينوا(Herbillon, 2015).

- ✓ **الجذر:**

الكينوا ذات جذر عميق و متفرع و يتوقف مدى تعمق جذور النبات على الصنف وطبيعة التربة، وقد تتعمق جذور النباتات في التربة إلى حوالي 180 سم مما يساعد النباتات على تحمل الجفاف (عبد الحميد ، 2019)، فهو نظام جذري قوي يسمح بمقاومة الجفاف. و بسبب عدم وجود فترة سكون البذور فإن إنبات الكينوا سريع للغاية، حيث يتم البدء بها في غضون ساعات قليلة، و لرطوبة التربة الكافية يستطيل الجذور أولاً، ثم يستمر في النمو، الجذر رئيسي يصل عمقه إلى 30 سم ومن تم تتطور الجذورًا الثانوية والثالثية، والتي تتشكل منها الجذور الصغيرة التي يمكن أن تتفرع أيضًا (**الوثيقة 05**) (Herbillon, 2015).

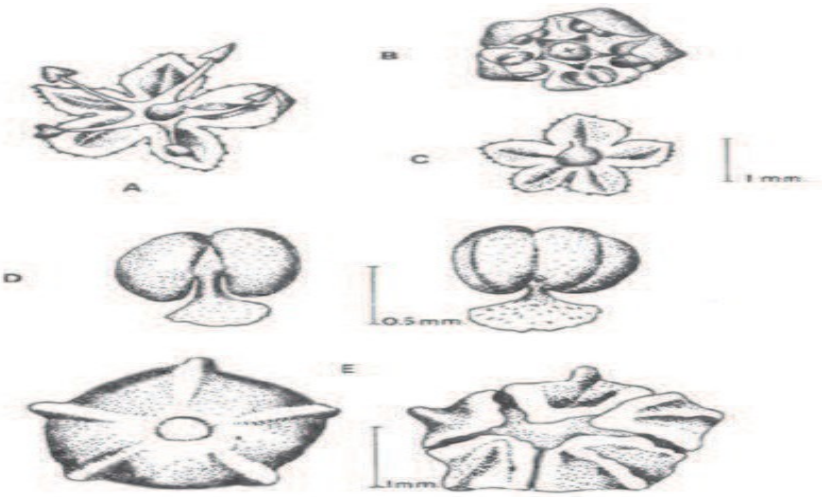
الوثيقة 5: النظام الجذري عند نبات الكينوا (Herbillon, 2015).

- ✓ **الساق:**

ساق الكينوا إسطوانية الشكل عند القاعدة ،ويتراوح طولها من 2 وإلى 5 متر، وقد تكون غزيرة التفريع أو متوسطة أو عديمة التفريع، متوقفا ذلك على التركيب الوراثي للصنف وكثافة النبات والتسميد، و يتفاوت لون الساق من الأخضر إلى الأحمر على حسب الأصناف (عبد الحميد، 2019).

✓ **الأزهار:**

جميع أفراد عائلة Chenopodiaceae، بما في ذلك جنس Chenopodium، لديها أزهار غير مكتملة ومن الخصائص المهمة للكينوا وجود أزهار أنثوية أحادية الجنس تقع في النهاية البعيدة للمجموعة، والزهور الخنثوية الموجودة في النهاية القريبة **(الوثيقة 06).**



الوثيقة6 : أزهار الكينوا الخنثى والأنثوية (Herbillon, 2015).

✓ **النورة:**

نورة الكينوا دالية طرفية أو جانبية وتحمل الأزهار في شماريخ زهرية والأزهار خنثى صغيرة متجمعة في عناقيد والتلقيح ذاتي عادة، و يحمل النبات نورات عديدة تحمل كل منها عددا كبيرا من الأزهار (عبد الحميد ، 2019).

✓ **الثمرة:**

الثمرة عبارة عن قشرة تتكون من عدة طبقات، كل ثمرة تحتوي على بذرة واحدة، بذرة الكينوا صغيرة الحجم وتشبه في شكلها حبة الدخن ولكنها أصغر كثيرا يتراوح قطرها من 2 إلى 6 ملم، والبذور ذات ألوان مختلفة، ويحتوي غلاف الحبة على حوالي 2 % من مادة الصابونين على حسب الأصناف، و الكينوا من النباتات ذات الفلقتين، ويكون الجنين حوالي % 20 من وزن البذرة، وهذا هو السبب في ارتفاع نسبة البروتين نسبيا في بذور الكينوا بالمقارنة بأنواع الحبوب الأخرى(عبد الحميد ، 2019).

9.III. التصنيف العلمي:

حسب Herbillon (2015) يمكن تصنيف نبات الكينوا في كما هو موضح في الجدول (03)

الجدول 03: يوضح التصنيف العلمي للكينوا *Chenopodium quinoa*.

المملكة	Plantae
القسم	Magnoliophyta
الصف	Magnoliopsidae
تحت الصف	Caryophyllidae
الرتبة	Caryophyllales
العائلة	Chenopodiaceae
الجنس	Chenopodium
النوع	*Chenopodium quinoa* willd

10.III. الكينوا و العوامل البيئية:

نبات الكينوا له القدرة على التكيف و تحمل الجفاف المتكرر والصقيع والبرد والرياح والملح (Lebonvallet, 2008). :

- **مقاومة الجفاف:**

الكينوا نبات شديد المقاومة للجفاف لأنه يتحمله درجات حرارة عالية تصل إلى 35 درجة مئوية ولها متطلبات مائية منخفضة.

- **مقاومة البرد:**

يختلف تأثير الصقيع على النبات باختلاف شدته ومدته، ولكن أيضًا وفقًا للمراحل الفينولوجية، بشكل عام إن أدنى درجة حرارة لنمو الكينوا هي 5 درجات مئوية

- **مقاومة الملوحة:**

يقال أن هذا النبات نبات ملحي اختياري، أي يمكنه العيش في كل من بيئات المياه المالحة والعذبة، إنها قادرة على تجميع الأيونات المالحة في أنسجته لضبط الجهد المائي للأوراق، هذا يسمح له بالحفاظ على انتفاخ الخلايا والحد من النتح في الظروف الملحية .

❖ **مقاومة الرياح:**

شدة تفرع الساق و نظام الجذر المتطور يجعله يتحمل الرياح بسهولة أكبر (Lebonvallet, 2008).

11.III. المحتوى الغذائي للكينوا:

ترتبط الفوائد الفريدة للكينوا بقيمتها الغذائية العالية، بسبب المحتوى العالي من الأحماض الأمينية الأساسية في البروتين، تعتبر الكينوا الغذاء النباتي الوحيد الذي يوفر كل الأحماض الأمينية الأساسية، والتي هي قريبة للغاية من معايير التغذية البشرية التي وضعتها (FAO) و أن توازن الأحماض الأمينية الأساسية في بروتين الكينوا يتفوق على القمح والشعير وفول الصويا (Bojanic, 2011).

- **البروتين:**

تحتوي بذور الكينوا أغنى المحاصيل بالبروتين الذي يختلف عن بروتين بقية الغلال، حيث انه يعد كاملا بمعنى انه يحتوي على جميع الأحماض الامينية، التي يجب أن يحصل عليها الجسم من الغذاء، وان اهم مركب هو الليسين، الذي يعد الحمض الاميني الذي يساعد الأنسجة على النموو التجديد (جابر، 2021).

- **الدهون:**

وجدت الدراسات التي أجريت في البيرو لتحديد محتوى الكينوا من الأحماض الدهنية أن أعلى نسبة الأحماض الدهنية في هذا الزيت هي (حمض اللينوليك) بنسبة 50.24٪، وهي مشابهة جدًا للقيم الموجودة في زيت جنين الذرة، والذي تتراوح نسبته من 45 إلى 65٪ (Bojanic, 2011).

- **الفيتامينات:**

حسب Bojanic (2011) تحتوي بذور الكينوا على كميات كبيرة من الفيتامينات خاصة في الثيامين و الريبوفلافين وفيتامين ب 6 وحمض الفوليك، مستويات الريبوفلافين والفولات أعلى مما هي عليه في الحبوب التقليدية مثل القمح والأرز و الذرة، ويوضح **الجدول (04)** محتوى الفيتامينات في حبوب الكينوا مثلا فيتامين أ، وهو فيتامين مهم جدا للخلايا موجود في حبوب الكينوا في حدود 0.12 إلى 0.53 مجم / 100 جم مادة جافة.

الجدول04 : محتوى الفيتامينات في حبوب الكينوا (ملغم / 100 غرام من المادة الجافة)

الفيتامين	الكمية
VitamineA carotenes	**0.12 – 0.53**
Vitamine E	**4.60 – 5.90**
Thiamine	**0.05 – 0.60**
Riboflavine	**0.20 – 0.46**
Niacin	**0.16 – 1.60**
Ascorbic acid	**0.00 – 8.50**

- **المعادن:**

بذور الكينوا غنية جدًا بالمعادن بمحتوى 2.3٪، أعلى من معظم الحبوب مثل القمح (1.78٪) الأرز (1.53٪) والذرة (1.20٪) والشعير (2.29٪)، في دراسة تم إجراء مقارنة بين القمح والذرة والأرز والشعير والكينوا فوجد ان الكينوا تتميز بمحتواها العالي من الكالسيوم والمغنيسيوم والزنك **(الجدول 05)** .(Bojanic, 2011)

الجدول 05 : مقارنة بين متوسط محتوى معادن الكينوا مع الحبوب الأخرى (ملجم / 100 جم) (Herbillon, 2015)

Minéraux	الشعير	الذرة	الأرز	القمح	الكينوا
Calcium	33	7	23	34	110,93
Fer	3,6	2,71	1,47	3,52	16,77
Magnésium	133	127	143	144	343,80
Zinc	2,77	2,21	2,02	4,16	2,60
Manganèse	1,943	0,485	3,743	3,012	3,55
Potassium	452	287	223	431	833,85
Cuivre	0,498	0,314	0,277	0,553	2,90
Sodium	12	35	7	2	4,30
Phosphore	264	210	333	508	228,43

- **كربوهيدرات:**

تحتوي كربوهيدرات بذور الكينوا على ما بين 58 و 68٪ نشا و 5٪ سكر، مما يجعلها مثالية كمصدر للطاقة (Bojanic, 2011).

12.III. استخدامات نبات الكينوا :

حسب Bhargavaو آخرون (2011) تتعدد استخدامات نبات الكينوا و يمكن أن نلخصها فيما يلي:

- يستخدم دقيق الكينوا في عمل الخبز والبسكويت والحلوى وذلك بإضافته إلى دقيق القمح بنسبة 40-50%.
- تستخدم بذور الكينوا في غذاء الإنسان كبديل للأرز، حيث تطهى الحبوب بنفس طريقة طهي الأرز بعد نقعها في الماء لإزالة مادة الصابونين الموجودة في قصرة البذرة.
- تعتبر بذور الكينوا مصدرا هاما للبروتينات، إذ تحتوي البذور على حوالي 14% بروتين والذي يحتوي على كل الأحماض الأمينية الأساسية اللازمة لجسم الإنسان.
- تعتبر بذور الكينوا مصدرا هاما للألياف والعناصر المعدنية وأهمها الفوسفور والكالسيوم والزنك والمغنسيوم والحديد كما تحتوي البذور على العديد من الفيتامينات (عبدالحميد، 2019) .
- تستخدم نباتات الكينوا كمحصول علف أخضر للماشية والأغنام والخنازير والخيول والدواجن.
- استخدام الكينوا بشكل فعال في صناعة المشروبا، يمكن تخميره لصنع البيرة.
- استخدام نشاء الكينوا للتطبيقات الصناعية.

13.III. الفعالية الطبية لنبات الكينوا:

يشار إلى أن الكينوا تحتوي على نوعين من الاستروجينات النباتية genistein وdaidzein اللذان يساعدان على الوقاية من هشاشة العظام والاضطرابات الوظيفية الناجمة عن نقص هرمون الاستروجين أثناء انقطاع الطمث ، من جهة اخرى فالألياف الغذائية تمثل 6٪ من الوزن الإجمالي للحبوب وبالتالي فإن تناول الكينوا يعزز وظيفة الأمعاء و ينظم الكوليسترول ويحفز نمو البكتيريا المفيدة، ويساعد على الوقاية من سرطان القولون، فالكينوا غذاء مثالي للمساعدة في التخلص من السموم والفضلات (Bojanic, 2011).

تحتوي الكينوا على فلافونويدات و معروف أن هذه الاخيرة تتميز بخصائصها المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات، كما يمكن التوصية بالكينوا لمرضى السكري بسبب انخفاض الفركتوز والجلوكوز، و في مناطق كثيرة يتم استخدام دقيق الكينوا كبديل لدقيق القمح في إنتاج الخبز للمستهلكين الذين يعانون من الاضطرابات الهضمية (Bhargava *et al*., 2011).

14.III. زراعة الكينوا في الجزائر:

حسب ITDAS (2017) فان شرط زراعة الكينوا في الجزائر تتمثل في :

- **تحضير التربة:** يتم الحرث بعمق 25- 35 سم و من الاحسن ان يعاد في أوت
- **موعد البذر:** الفترة المناسبة لموعد البذر هي شهر سبتمبر والأسبوعين الأولين من شهر أكتوبر وجربت هذه المواعيد في المناطق التالية:

- بسكرة و الوادي: الاسبوعين الاولين من شهر سبتمبر.

- ادرار :ا لاسبوعين الاولين من شهر اكتوبر

- **الأسمدة:** استعمال الأسمدة المعدنية كالفوسفور و البوتاسيوم، اما الازوت يكون مقسم على مراحل النمو على الأقل يتوزع على 3 كميات مع تجنب وقت الازهار.
- **السقي:** تسقى حسب الحاجة ولا يحتاج نبات الكينوا الى كميات كبيرة من الماء.
- **الجني:** طريقة الجني تكون يدوية في المساحات الصغيرة والية في المساحات الكبيرة, بعد الجني يجب تجفيف البذور لكي تكون جاهزة حيث يصل المردود الى 30 قنطار على الهكتار

15.III. الأمراض التي تصيب الكينوا:

الامراض الاكثر شيوعا على نبات الكينوا فهي البياض الزغبي(*Peronospora Farinosa*) والتبقع الورقي (*Ascochyta hyalospora*) **(الوثيقة 07)** (ربيع و جويل، 2014).

الوثيقة07: الأمراض الأكثر شيوعا عند نبات الكينوا أ: *Ascochyta hyalospora* **ب :** *Peronospora Farinosa*

(Site 1)

الفصل الثاني :

عموميات حول الكروماتوغرافيا

1. تعريف الكروماتوغرافيا:

المقصود بالكروماتوغرافيا هو فصل المواد الملونة، حيث تعني كلمة كروما باللاتينية اللون وكلمة غرافيا تعني الكتابة، وهي طريقة فيزيائية للتحليل وفصل مكونات عينة ما عن بعضها البعض باستخدام طورين أحدهما ثابت (Stationary phase) ذو مساحة سطحية كبيرة نسبيا، والطور الآخر متحرك (Mobile phase) الذي يتحرك عبر الطور الساكن ويحوي على النموذج المراد فحصه، تعتمد عملية فصل المكونات على اختلاف خواص الجزيئات لكل منهما على سبيل المثال يمكن فصل الجزيئات التي تختلف عن بعضها البعض في الشحنة الكهربائية وكذلك في القطبية بهدف الحصول على مركبات نقية (عبد الله، 2012).

2. لمحة تاريخية عن الكروماتوغرافيا:

حسب أحمد سعيد (2017)، تم اكتشاف الكروماتوغرافيا اللونية (الفصل بالألوان) سنة 1855 عن طريق العالم Fricdrich وذالك بتثبيت الأملاح غير العضوية علي ورقة الترشيح العادية مثل كبريتات الحديديك والصبغة ونقط من محلول حديد وسيانات البوتاسيوم.

في سنة 1865 قام العالم Schoenbein بدراسة خواص الأملاح غير العضوية علي ورقة الترشيح المستقيمة، ووضح أنه في المحلول المائي للأملاح غير العضوية ان الماء يحمل الملح ويرتفع في الأوراق وبعدها اثبتت الدراسات التي اجريت بعد ذلك أن هذه النظرية يمكن تطبيقها أيضا على الأملاح العضوية مع تغيير المذيب.

قام العالم البيولوجي الروسي Mikhail Tswet بفصل الصبغة الموجودة داخل النبات باستخدام أعمدة الفصل سنة 1903 وتعتبر هذه هي المرة الأولى التي تم فصل المركبات باستخدام نظرية الإمتصاص.

وفي بداية القرن العشرين قام عالم النبات الروسي Tswet بتنقية العصارة النباتية الخضراء المستخرجة من أوراق الأشجار مستخدما عمودا زجاجيا معبأ بمسحوق كربونات الكالسيوم، ثم مزج العصارة النباتية بمحلول الايثر البترولي ومرر هذا المزيج من خلال العمود، وبعد مدة من الزمن شاهد ظهور طبقات ملونة تكونت نتيجة انفصال الأصباغ وقام بفصل كل طبقة على حدا وأطلق على هذا العلم بالكروماتوغرافيا (عبد الله، 2012).

3. مبدأ عمل الكروماتوغرافيا:

المبدأ يقوم على توازن تراكيز مركبات موجودة بين طورين متصلين: الطور الثابت والطور المتحرك (غاز أو سائل)، الفصل يعتمد على اندفاع تفاضلي لمكونات الخليط، هذا الأخير يعبر الطور الثابت بأوقات متناسبة وهذا يعود لخصائصه الذاتية (حجمه، هيكله ...) أو صلته مع الطور الثابت (القطبية).

$$K=Cs/C_M$$

K : معامل التوزيع.

Cs : معامل التجزؤ في الطور الثابت.

C_M : معامل التجزؤ في الطور المتحرك.

المعادلة أعلاه توضح أن حركة المكون تتناسب عكسيا مع معامل التجزؤ أي أن المكون ذو معامل التجزؤ أعلى يتحرك ببطء و العكس صحيح، ولا يمكن للفصل أن يتم إلا بوجود اختلاف ملحوظ في معامل التجزؤ لمكونات الخليط (Denat, 2010).

4. طرق الفصل الكروماتوغرافي

حسب عباس (2012) هناك عدة طرق للفصل الكروماتوغرافي يعتمد تصنيفها على نوع الطور المتحرك ونوع الطور الثابت، وتتمثل في :

- كروماتوغرافيا العمود (CC).
- كروماتوغرافيا الورق (CP).
- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM).
- كروماتوغرافيا الغاز(CPG).
- كروماتوغرافيا السائل عالية الاداء (HPLC).
- كروماتوغرافيا التبادل الأيوني (IEC).

وهنا سنتطرق لتصنيف أنواع الكروماتوغرافيا حسب الاجراء المستعمل وتاريخ ظهورها.

4. 1. كروماتوغرافيا العمود CC

تعتبر كروماتوغرافيا العمود من أقدم أنواع الكروماتوغرافيا التي استخدمت في فصل المركبات العضوية وغير العضوية. الهدف من هذه التقنية هو فصل خليط معقد يحتوي على عدد من المركبات المراد فصلها كما أنها تعد من أساسيات الفصل نظرا لقدرتها العالية على تمليص المركبات تبعا لارتباطها بالدعامة الثابتة حيث تبدأ المركبات الأقل إمتزازا في التحرك، ثم تليها المركبات الأكثر إمتزازا وهذا بزيادة قطبية المذيب.

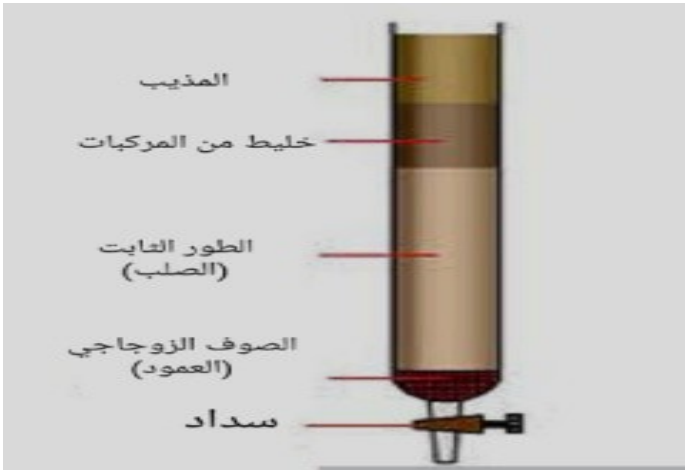
يتكون عمود الفصل الكروماتوغرافي من وعاء اسطواني الشكل مصنوع عادة من الزجاج يوضع فيه الطور الثابت الذي قد يكون صلبا أو مائعا مسنودا على مادة صلبة ويغلق من الأسفل بسداد مناسب ويمرر فيه الطور المتحرك **(الوثيقة 08)** (مظفر، 2018).

1.1.4. مبدأ عمل كروماتوغرافيا العمود:

حسب لكحل (2008)، يتمثل مبدأ هذه التقنية:

- يؤخذ العمود الذي تختلف أبعاده باختلاف كمية المستخلص و يثبت بواسطة حامل و يعبأ بالطور الثابت المشبع بالمذيب الأقل قطبية.

- بعد ترصيص الطور الثابت جيدا داخل العمود توضع طبقة من رمل خاص يدعى Sable de Fontainebleau بسمك 0,5 سم، بعدها تحضر العينة حيث يذاب المستخلص المراد فصله في أقل كمية ممكنة من الميثانول، و بواسطة ماصة باستور يتم وضعه على سطح الرمل مع الحرص على عدم إتلافه، أو باتباع طريقة أخرى و التي تستعمل في حالة ما إذا تطلبت اذابة المستخلص الجاف كمية كبيرة من الميثانول ففي هذه الحالة نضيف لمحلول المستخلص كمية من مسحوق البولي أميد ونركز هذا الخليط حتى نحصل على مسحوق جاف الذي يضاف إلى العمود الكروماتوغرافي، بعد ذلك يضاف المملص الذي يكون في البداية مذيب أقل قطبية ثم ترفع قطبيته بإضافة مذيب قطبي تدريجيا إلى غاية الوصول إلى قطبية عالية، ويتم مراقبة الحزم باستعمال مصباح الأشعة فوق البنفسجية حيث تستقبل أسفل العمود و تركز حتى الجفاف.



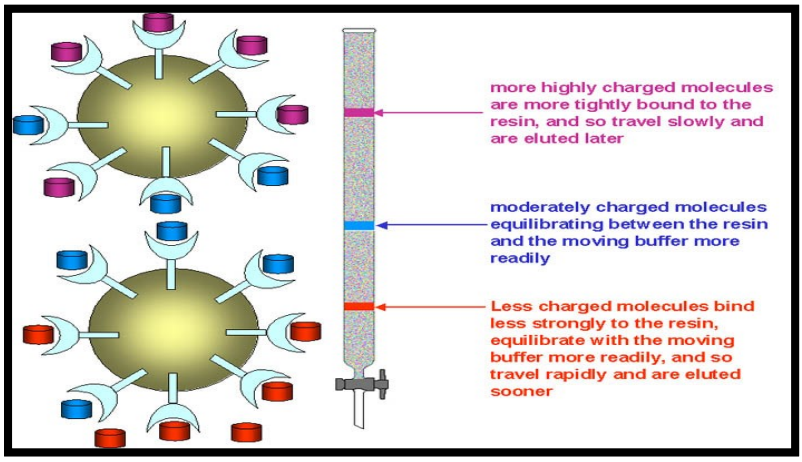
الوثيقة 8: كروماتوغرافيا العمود (Johnson, 2007).

2.4. كروماتوغرافيا التبادل الأيوني IEC:

تمكن ادمز وهولمز من اكتشاف كروماتوغرافيا التبادل الأيوني سنة 1935 بإستعمال المواد الراتنجية العضوية التركيبية (مظفر، 2018)، يعتبر التبادل الأيوني من طرق الفصل التي تعتمد على تبادل أيونات مثبتة على مادة صلبة مع أيونات أخرى في المحلول والتي تمر من خلال وفوق هذه المادة الصلبة، تستخدم

هذه الطريقة في الكيمياء التحليلية لتحليل الأيونات الموجبة والسالبة صعبة التحليل بدقة تامة حيث يتم تبادلها مع أيونات أخرى سهلة التعيين، مثال عن ذلك البوتاسيوم بتبديله بالهيدروجين ومن ثم إجراء معايرة تعديل بسيطة **(الوثيقة 09).**

يعتمد مبدأ هذه الطريقة على إمرار المحلول المجهول على عمود مملوء بمادة المحلول الداخل، ثم تجمع في نهاية العمود الأيونات المزاحة من هذه المادة (عباس، 2010).



الوثيقة 9: كروماتوغرافيا التبادل الأيوني (Site 2).

3.4. كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM :

ظهرت كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة حوالي عام 1938 (Fares, 2009) وهي من أكثر الطرق انتشارا وتعددا في استخدامها وخاصة في عمليات الفصل السريع ويرجع ذلك للاتي:

- بساطة الطريقة وعدم الحاجة الى الأجهزة المعقدة.

- امكانية الوصول الى فصل انتقائي باستخدام كواشف خاصة.

- جودة الفصل.

وحسب عباس (2010)، فهي تقنية سهلة وسريعة تستخدم بهدف فصل مختلف الخلائط التي تحتوي على عدد قليل من المركبات، يتم الفصل في هذه الطريقة عن طريق الادمصاص أو التوزيع أو الاستبدال الأيوني الا أن أكثر هذه الطرق هي الادمصاص .

تستخدم هذه التقنية في مجال تحديد النقاوة والتحليل النوعي لمكونات الخليط، فهي تشبه كروماتوغرافيا الورقة الا أن الطور الثابت يكون صلبا وهوعبارة عن طبقة رقيقة من مادة امتزاز ناعمة مطلية مثبتة على الزجاج أو الألمنيوم **(الوثيقة 10)**، تقنية التظهير هي نفسها في كروماتوغرافيا الورقة لكن كروماتوغرافيا

الطبقة الرقيقة تتميز بالسرعة والتفريق الأفضل و الحساسية العالية، وهناك العديد من المواد التي يمكن استخدامها كطبقة رقيقة منها : الألومينا، السليكا، مسحوق السليلوز.

1.3.4. مبدأ عمل كرماتوغرافيا الطبقة الرقيقة :

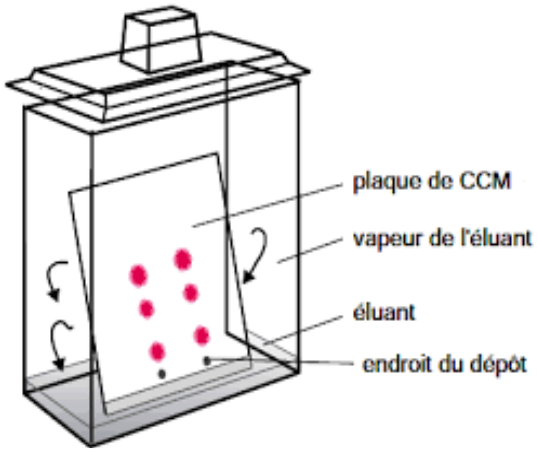
تستعمل في هذه التقنية شرائح من الزجاج أو البلاستيك ذات الأبعاد (20×20سم)، لتثبت عليها دعامة صلبة ثم يوضع الخليط المراد فصله عرضيا على بعد 1.5 سم من حافة الصفيحة، بعدها توضع الصفائح في حوض به مملص ، وأثناء هجرته يمر بالعينة الموضوعة أين يجر معه مختلف المركبات في شكل حزم التي يتم تحديدها بواسطة مصباح UV بعد أن تجف الصفائح توضع الحزم المفصولة في قمع زجاجي لتغسل جيدا بالميثانول و يركز الرشيح وتجرى له عمليات فحص متعددة للتأكد من نقاوته (مخلوفي، 2008).

يمكن تحديد المسافة التي قطعتها كل بقعة أو حزمة وتعرف النسبة بين هذه المسافة وتلك التي قطعها المذيب باسم معامل الاعاقة أو ثابت الانحباس R_f حيث:

$$R_f = D_a / D_s$$

D_a: المسافة التي تتحركها المادة المراد فصلها من نقطة البداية.

D_s: المسافة التي يتحركها الطور المتحرك من نقطة البداية (مخلوفي، 2008) .



الوثيقة 10: كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (Francis *et al*., 2007).

4.4. الكروماتوغرافيا الورقية CP

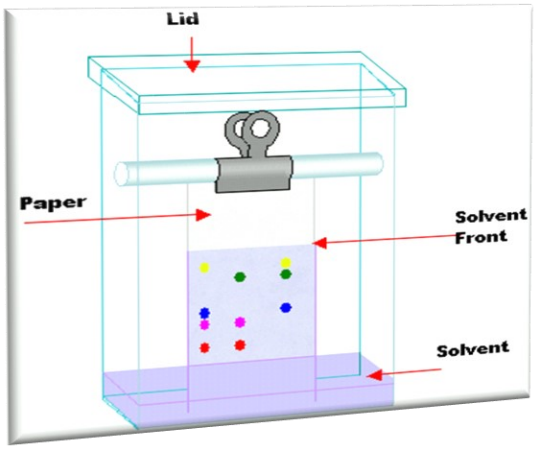
الكروماتوغرافيا الورقية هي احدى طرق التحليل الكيميائي التي تم اكتشافها عن طريق مارتن وسينج سنة 1943، حيث يتم استخدام الورق للفصل بين المركبات باستخدام أسلوب الطور المتحرك أو الطور الثابت إما

تصاعديا أو تنازليا من خلال ميل المادة بالذوبان بالجزء المتحرك أو ميل المادة الى الالتصاق به (الباروني، 2018)، تتميز بأنها طريقة سهلة وأدواتها و أجهزتها ليست غالية الثمن، ذات كفاءة عالية في عمليات فصل المكونات، وفي الوقت نفسه يمكن أن تستعمل لدراسة سير التفاعلات الكيميائية وكذلك جمع المعلومات القيمة عن طبيعة المواد المفصولة، يمكن ان تستعمل أيضا في الكشف عن المركبات الملونة الموجودة في النموذج، تشترك هذه الطريقة مع طريقتي الغاز والعمود باستعمالها في فصل المركبات المتشابهة (مظفر، 2018).

ومن أنواع الورق الموجودة والأكثر انتشارا هو Whatman توجد ثمانية أنواع من هذا الورق مرتبة حسب سمكها، وحسب نسيج مساحتها وكذا سرعة انتشار الماء بها (عباس، 2012).

1.4.4. مبدأ عمل الكروماتوغرافيا الورقية:

تعمل هذه التقنية بتوضع قطرة من الخليط المذاب في ركن قطعة ورق الترشيح، ويسمح للمذيب أن يمر بهذه الورقة من الأعلى الى الأسفل. بالطبع فان المذيب سيحمل معه المواد المذابة، ويلاحظ بأن هذه المواد المذابة تنتقل مسافات مختلفة عن بعضها البعض وكل مادة تترسب كبقعة على الورق فاذا كانت المواد ملونة فان البقع يمكن رؤيتها بسهولة اما اذا كانت غير ملونة يجب اضافة بعض المواد الكيميائية (الوثيقة 11) (خالد، 1985).



الوثيقة 11:كروماتوغرافيا الورقة.(Site 3)

5.4. الكروماتوغرافيا الغازية CPG:

اكتشفت كروماتوغرافيا الغاز بواسطة العالمان الانجليزيان مارتن وجيمس سنة 1952 (مظفر، 2018) تعتبر من أفضل الطرق لفصل مخاليط تصل كمياتها الى عدة ميكروغرامات ويعتمد مبدأ الفصل في جهاز

الكروماتوغرافيا الغازية على توزيع العينة بين طورين أحدهما مكون من طبقة ثابتة ذات مساحة كبيرة والاخر غاز يتحرك خلال الطور الثابت ويكون غازا خاملا مثل النيتروجين والهيليوم ويجب أن يكون الغاز خالي من الشوائب وخاصة الأكسجين الذي يعمل على أكسدة الطور الثابت (الوثيقة 12) (عادل عباس، 2010) .

المركبات العضوية المعقدة المتطايرة يمكن فصلها في دقائق بواسطة تيار غازي يمر خلال الطور الثابت ولفصل المركبات غير المتطايرة تستخدم كروماتوغرافيا السائل، وتستخدم حاليا أعمدة شعرية في جهاز كروماتوغرافيا الغاز مما يجعلها أقوى و أفضل الطرق لفصل المركبات العضوية المتطايرة.

يتم تقسيم كروماتوغرافيا الغاز الى قسمين أساسيين هما: (عادل عباس، 2010).

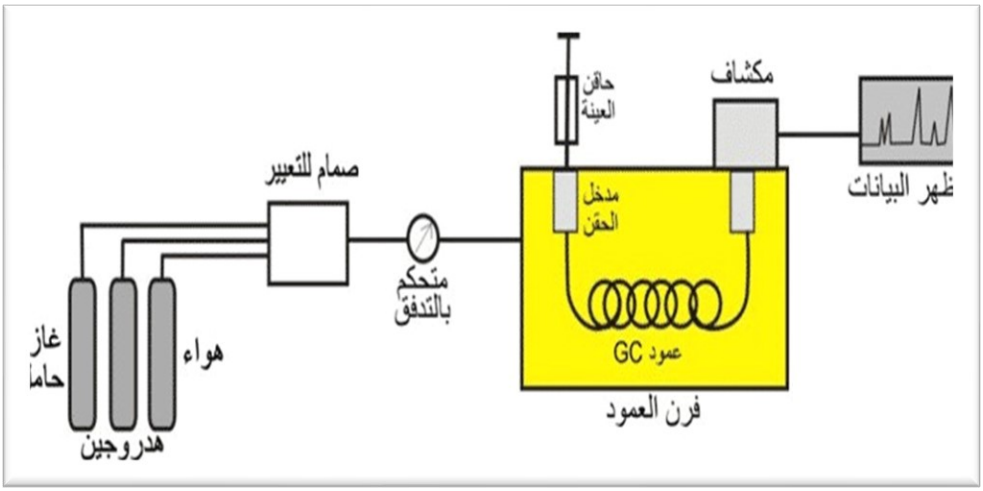
- **كروماتوغرافيا غاز- صلب:**

وهي عندما يكون الطور الثابت صلبا ، ويعتمد هذا النوع على خواص الادمصاص لمادة حشو العمود المستخدمة لفصل العينات ، من أهم المواد الشائعة لحشو العمود السيليكا و الألومينا .

- **كروماتوغرافيا غاز - سائل:**

في هده الطريقة يتكون الطور الساكن من سائل غير متطاير(زيت السيليكون) في درجات حرارة الفصل، مطلي على دعامة صلبة مثل حبات الزجاج.

مبدأ عمل الكروماتوغرافيا الغازية يعتمد على فصل مختلف المحاليل المذابة الغازية بواسطة الهجرة التفاضلية على طول الطور الثابت (بوخبتي، 2010).



الوثيقة 12: مكونات جهاز الكروماتوغرافيا الغازية.(Site 4)

6.4.الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC :

الكروماتوغرافيا السائلة من أهم وأحدث التقنيات الموصوفة بعالية الأداء، تستخدم لفصل المركبات العضوية (منذر، 2018)، وهي نوع من أنواع التحليل التجزيئي الذي يتطلّب إستخدام ضغوط عالية لدفع المذيب خلال العمود، و هي التقنية الأفضل لفصل و تحليل الخلائط المعقدة في وقت قصير (عباس، 2012).

1.6.4. خصائصها:

حسب عادل عباس (2010)، تتميز الكروماتوغرافيا بالخصائص التالية:

- السرعة في التحليل.
- الدقة و الحساسية العالية.
- لا تعتمد على تطاير العينة وتأثرها بالحرارة.
- امكانية فصل كمية كبيرة من العينة.
- استعمال ضغط مرتفع أثناء الفصل.

2.6.4. مكونات الجهاز:

حسب أحمد خميس (2005)، تركيبة الجهاز تضم وحدات متخصصة مختلفة و مرتبطة ببعضها البعض **(الوثيقة13)** تتمثل فيما يلي:

- المضخة (Pums)

تتواجد مضختان وذلك لوجود طورين تستخدمان لضخ الطور المتحرك حيث يتم تمرير الطور المتحرك على الطور الثابت، تحتويان على أربعة خطوط للدخول وخط واحد نحو الأعلى وذلك لتأمين الاستقرارية في التدفق كما يوجد قبلهما مضخة نظام التفريغ.

- نظام التفريغ (Dégazeur)

يشترط في نقاوة المذيب أن يكون خالي من الشوائب لذلك تكون الخزانات في العادة مزودة ببعض الوسائل التي تساعد على التخلص من الغازات الذائبة في المحاليل التي تظهر على شكل فقاعات هوائية، وهذه تتسبب في ظهور اشارات تحليلية غير مرغوب فيها مما قد يسبب خلطا في النتائج المتحصل عليها ومن أكثرهذه الغازات N_2، O_2 كما يتم التخلص منها بعدة طرق ومن منها طريقة نظام التفريغ.

- الخزان (الطور المتحرك)

خزان الطور المتحرك يتكون من خزانين (أي طورين متحركين) مصنوعين من الزجاج ومتوسط سعتهما 1L وهو عبارة عن قارورة زجاجية غالبا ما تكون ذات غطاء، تمثل الطور المتحرك.

- وحدة الحقن Injection

لابد أن يتم الحقن بطريقة سريعة لتجنب عرقلة نظام حركة المذيب وتعتبر المحقنة ذات الحلقة الأكثر استعمالا يكون حجمها متغير (1-100 ml) يتم ملأها بواسطة حقنة لها قابلية الملأ والإفراغ بسهولة. تحوي وحدة الحقن على loop يقوم بتأمين حجم حقن ثابت حيث يخرج الزائد الى الخارج والحاقن يكون عبارة عن حقنة بحجم (25µℓ) وتكون نهايته مستوية.

- العمود (الطور الساكن)

يعتبر عمود الفصل القلب النابض في الجهاز حيث تتم عليه عملية الفصل ذاتها، مثبت داخل فرن مغلق، معبأ من الداخل بحبيبات المادة الصلبة (C18) والعمود المستخدم في الجهاز يناسب جميع المواد المراد فصلها.

- الكاشف Detecteur

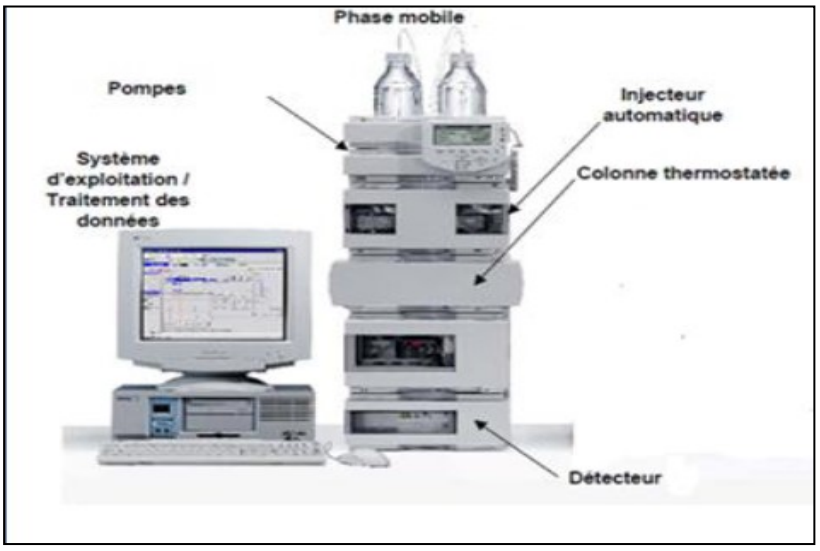
الكاشف المستخدم في الجهاز هو كاشف الأشعة فوق البنفسجية (UV) ذو طول موجة ثابت أي أنه لا يحدد بنفسه طول الموجة المخصصة للعينة المراد فصلها.

- أنظمة التحكم في السريان والبرمجة

تعتبر هذه الأنظمة من المكونات الجانبية والتي تتواجد في الأجهزة الحديثة حيث تحتوي على مكون خارجي يحتوي على بعض المعدات مثل: االحاسب الالي وظيفتها الأساسية التحكم والسيطرة على ثباتية العوامل الأساسية مثل: (سرعة السريان، الضغط، خلط الطور المتحرك...).

حسب عادل عباس (2010)، تم تطوير الجهاز بإدخال نظام جديد للحقن (حقن بواسطة الصمام) وإدخال نظام مضخة حديثة لضخ الطور المتحرك بمعدل ثابت وأدخلت كواشف حديثة للكشف عن المواد لحظة خروجها من العمود وعليه نجد أن الفصل والتحليل يتم في دقائق معدودة.

يضخ الطور المتحرك بواسطة مضخة ذات رأس ترددي لإلغاء الذبذبة في السريان، هذا النظام يسمح باستخدام طور متحرك واحد ولكن اذا كان هناك فارق كبير في زمن الاستبقاء RT فمن الضروري استخدام طورين متحركين يغير أحدهما قطبية الاخر ويسمى النظام في هذه الحالة نظام التصفية التتابعية التدريجية.

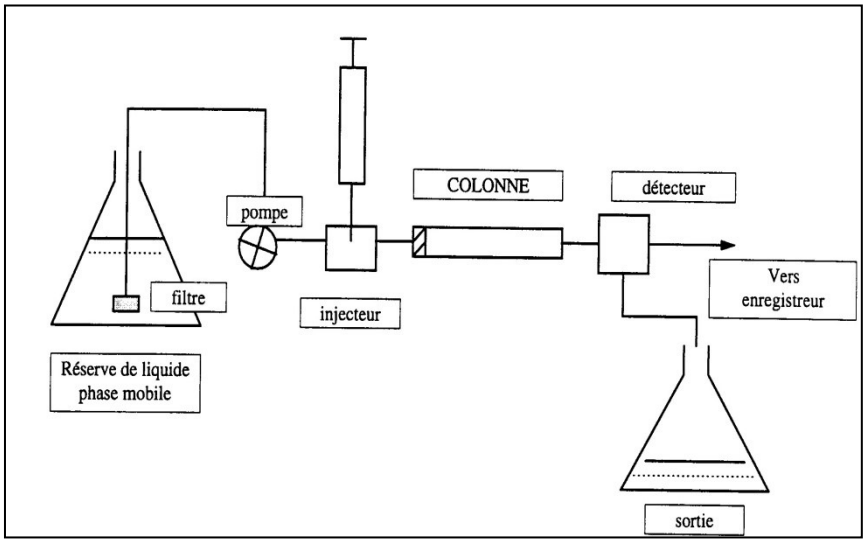


الوثيقة 13: جهاز HPLC. (Site 5)

3.6.4. مبدأ عمل كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء:

يتلخص العمل على جهاز HPLC بحقن كمية صغيرة من العينة المذابة في مذيب مناسب في وسط سائل متدفق هو الطور المتحرك الموجود بخزان خاص به والذي يصنع عادة من الزجاج، في الغالب يتراوح عدد الخزانات المستعملة في أجهزة (HPLC)1-5 خزانات، كما يجب أن يكون مستقرا كيميائيا بالنسبة للعينة المدروسة أي لا يتفاعل معها والذي يمكن أن يكون اما ماء أو محاليل عضوية مثل الميثانول و الأسيتونيتريل أو مزيجا معا حسب نوع العينة المراد فصلها، الذي يمر بواسطة مضخة في عمود معبأ بالطور الثابت وغالبا ما يكون سيليكا التي يسهل اختراقها وتنفصل مكونات العينة بسبب تفاوت هذه الأخيرة في زمن الاستبقاء الخاص بكل منها (الشكل 14)، قد طورت عدة تقنيات لل HPLC التي تستند الى استخدام أطوار ثابتة ومتحركة مختلفة. ومن ثم الى الكاشف والمسجل لكشف المركبات المطلوب تحليلها وتسجل النتائج المتحصل عليها (Mendham *et al*., 2005).

وبصفة عامة معظم أجهزة HPLC يجرى التحليل فيها عند درجة حرارة الغرفة، لذا فان مراقبة الحرارة ليست مهمة إلا في بعض الحالات أو التطبيقات تتطلب درجة حرارة معينة فلا بد من التأكد بأن تكون درجة الحرارة ثابتة من أول تجربة حتى نهايتها (Sandie, 1992).



الوثيقة 14: مبدأ عمل جهاز HPLC (Hamza, 2010).

الجزء التطبيقي

الفصل الأول:

طرق ومواد البحث

I. جمع العينات النباتية:

تم الحصول على حبوب الكينوا *Chenopoduim quinoa* من منطقة ام الطيور ولاية المغير، ، تقع ولاية المغير في الجنوب الشرقي من الجزائر، شمال شرق الصحراء الجزائرية، يحدها من الشرق ولاية الوادي من الشمال ولاية بسكرة، من الغرب ولاية أولاد جلال ومن الجنوب ولاية تقرت **(الوثيقة 15)**

34°12"59 W
5° 38"39 E

الوثيقة 15: الموقع الجغرافي لبلدية أم طيور (Site 6)

II. الدراسة الفيتوكيميائية:

1.II. تحضير المادة النباتية

تم تحضير العينة النباتية و ذلك بتنقيتها البذور من الشوائب والتراب وبعدها تم طحنها ووضعت أكياس ورقية إلى حين استعمالها **(الوثيقة 16).**

الوثيقة 16: حبوب الكينوا

2.II. تحضير المستخلصات النباتية Préparation des extraits

تم تحضير عدة مستخلصات منها المائي والميثانولي 80% عن طريق النقع Macération والغليان Décoction ، المستخلص الحمضي بالنقع 24 ساعة والمستخلص الايثيري بالنقع 24 ساعة.

طريقة تحضير المستخلص الميثانولي بالغليان Décoction

وضع 10 غ من المسحوق النباتي في 100 مل من الميثانول 80 %، حيث تستخلص في جهاز التكثيف لمدة 1 ساعة، يليها عملية الترشيح (Azzi, 2013)، تستعمل المستخلصات في الكشف عن مواد الأيض الثانوي.

طريقة تحضير المستخلص المائي والميثانولي بالنقع Macération

وضع 10غ من المسحوق النباتي مع 100 مل من الماء المقطر أو الميثانول 80 %، تنقع لمدة 24 ساعة في درجة حرارة المخبر، وبعدها يتم الترشيح (مع تكرار العملية 3 مرات).

تجفف المستخلصات باستعمال جهاز التبخير الدوراني Rotavapeur للحصول على المستخلص الخام،

(Mann *et al*.,2008; Abalake *et al*., 2011) تستعمل المستخلصات للكشف عن مواد الأيض الثانوي، والمستخلصات الخام في تقدير كل من عديدات الفينول و الفلافونويدات.

طريقة تحضير المستخلص الحمضي (Extrait acidifié)

نقع 10غ من المسحوق النباتي في 50 مل من حمض الكبريتيك المخفف (1/10)، لمدة 24 ساعة بعد انقضاءها يتم الترشيح، و يستعمل المستخلص للكشف عن القلويدات (Sandrine, 2005) .

طريقة تحضير المستخلص الأثيري Extrait éthérique

نقع 5غ في 10مل من الايثر لمدة 24 ساعة، المرشح يستعمل للكشف عن التربينات الثلاثية و الاستيرولات المشبعة (Aworet, 2003)

3.II. الحصر الكيميائي الأولي Tests phytochimiques

يهدف هذا الكشف الكيميائي إلى معرفة أهم المواد الفعالة الموجودة في المستخلصات المائية و الميثانولية، الحمضية، الايثيرية، والمتمثلة في الصابونيات الفلافونويدات، القلويدات التانينات ،الاستيرولات و التربينات الثلاثية، متبعين في ذلك طريقة Harborne(1998) و(1989) Trease et Evans.

- **الكشف عن الفلافونويدات Flavonoïdes:**

نمزج في انبوب اختبار 5 مل من المستخلص مع 1 مل من الكحول الأميلي (Alcooliso-Amylique) يتبعه 1 مل من حمض كلور الماءHCl،و 0.5 غ من المغنزيوم Mg.

ظهور لون وردي أو أحمر بعد 3 دقائق دليل على وجود الفلافونويدات.

- **الكشف عن الصابونيات Saponisides:**

للكشف عن الصابونينات، نقوم بإضافة القليل من الماء إلى 2 مل من المستخلص، ثم نرج لمدة 15 ثانية و نتركها تهدأ لمدة 20 دقيقة:

- عدم وجود الرغوة معناها عدم وجود الصابونيات.
- وجود رغوة أقل من 1 سم معناها وجود كمية ضئيلة من الصابونيات.
- وجود رغوة ما بين 1-2 سم يدل على وجود كمية معتبرة من الصابونيات.
- وجود رغوة أكبر من2 سم هذا يعني وجود كمية جد معتبرة من الصابونيات.

- **الكشف عن المركبات المرجعةComposéesréducteurs :**

نأخذ1 مل من الراشح المتحصل عليه مع 2 مل من الماء المقطر، نضيف 20 قطرة من محلول فهلينج liqueur de Fehling ، يليه التسخين في حمام مائي.

ظهور الراسب الأحمر الآجوري دليل على وجو د المركبات المرجعة.

- **الكشف عن التانينات Tanins**

للكشف عن وجود التانينات، نقوم بوضع 1مل من المستخلص مع 1 مل من الماء المقطر، ونضيف من 1-5 قطرات من محلول كلوريد الحديد الثلاثي $FeCl_3$ المخف1%:

_ ظهوراللون ازرق مخضر يدل على وجود تانينات كاتشيكية.

_ ظهوراللون ازرق مسود يدل على وجود تانينات غاليكية.

- **الكشف عن القلويدات Alcaloïdes**

بين Paris et Dillemann (1960) أن الكشف عن القلويدات يتم بالطريقة التالية:

يتم إضافة إلى 1 مل من المستخلص يليه 5 – 3 قطرات من كواشف القلويدات والمتمثلة في كاشف وانر Wagner، كاشف دراجندروف Dragendroff و كاشف مايرMayer .

كاشف Wagner : ظهور راسب بني يدل على وجود القلويدات.

كاشف د راجندروف Dragendroff : ظهورراسب برتقالي يدل على وجود القلويدات.

كاشف Mayer : ظهور راسب ابيض يدل على وجود القلويدات.

- **الكشف عن المركبات الاستيرولية والتربينات الثلاثية Stérols et triterpènes:**

اعتمدنا على تفاعل Liebermann Buchard ، حيث يتم تبخير 10 مل من المستخلص، يذاب الراسب في 0.5 مل من الكلوروفورم ويضاف إليه 0.5 مل من حمض الخليك اللامائي Anhydride acétique و يتبع بإضافة 1 مل من حمض كبريتيك المركز H_2SO_4 بحذر شديد على جدار أنبوبة اختبار.

ظهور حلقة حمراء بنفسجية أو بنية في نقطة الاتصال بين الطبقتين، وتحول لون المحلول إلى أخضر دلالة على وجود المركبات الاستيرولية غير المشبعة والتربينات الثلاثية.

4.II. استخلاص الفلافونويدات:

حسب (مرزاق، 2010) تم استخلاص الفلافونيدات باستخدام مذيبات مختلفة القطبية، حيث نضع30 غ من المادة النباتية الجافة في 300 مل من الايثانول (80%) وبعدها نضعها في جهاز السوكسلي، تعاد العملية ستة دورات الى غاية الاستخلاص ويجمع و يبخر عن طريق جهاز التبخير الدوراني نتحصل على مستخلص يتم حساب مردوده وبعدها يعالج المستخلص بالماء المقطر المغلى ثم يترك ليلة كاملة، ليفصل بعده، يتم استخلاص الطبقة المائية المحصل عليها اولا بواسطة الهكسان تعاد العملية ثلاث مرات، وهذا لتخلص من المركبات الطبيعية ذات القطبية الضعيفة مثل الدهون و التربينات والكلوروفيل، يعامل الطور المائي بالكلورفورم ثلاث مرات لنحصل على طور الكلورفورم الذي يبخر تحت ضغط منخفض، يعامل الطور المائي بخلات الايثيل ثلاث مرات لنحصل على المستخلص الخام لخلات الايثيل بعد التبخير يعامل كذلك الطور المائي بالبوتانول العادي وتكرر ثلاث مرات لنحصل على طور البوتانول وكذلك بعد التبخير تحت ضغط منخفض (الشكل1).

4.1.II. حساب المردود :

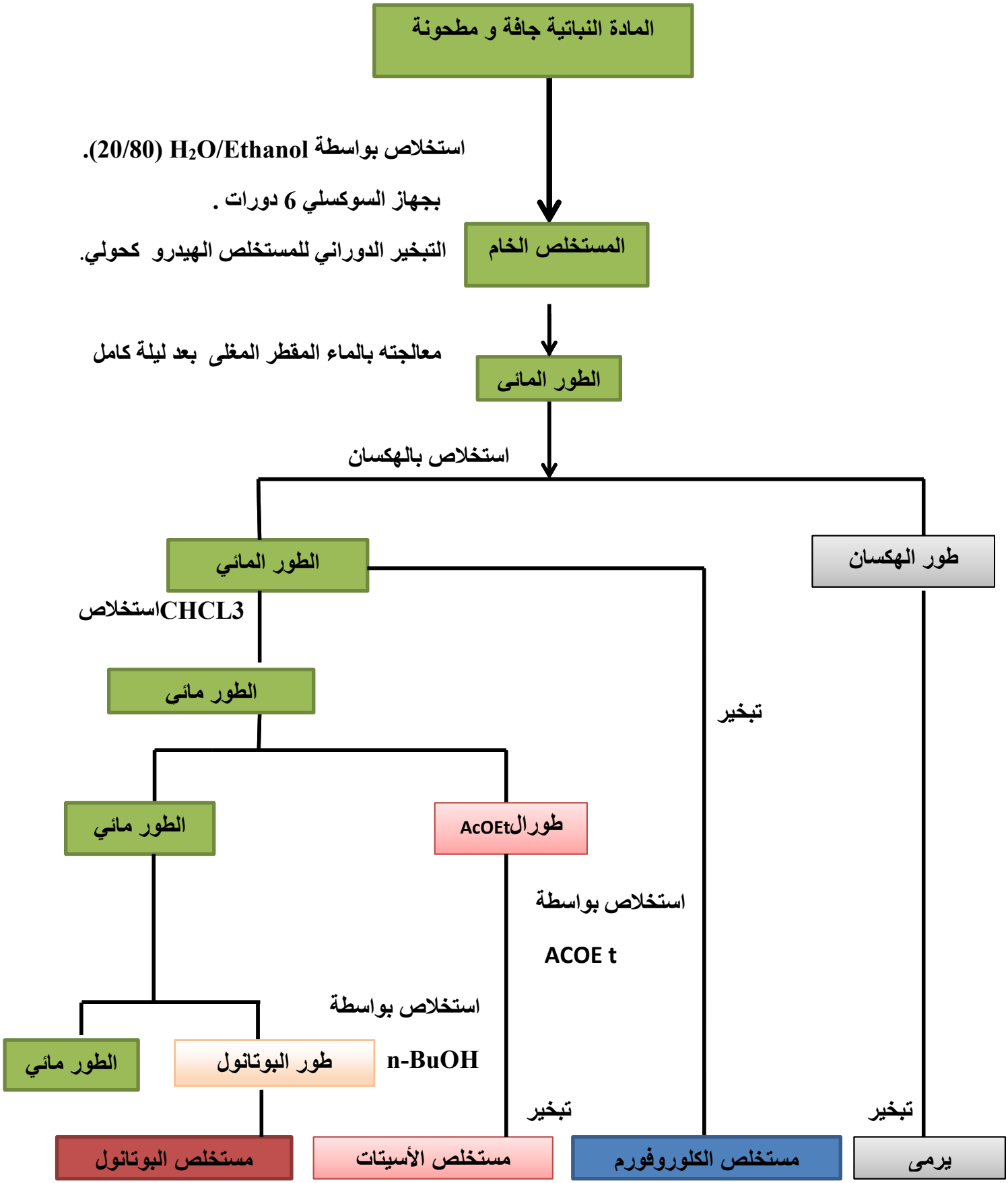
المردودية الانتاجية للمستخلصات هي النسبة لكتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة التي تم الحصول عليها والتي نرمز لها ب Me وكتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة يرمز لها بMv ضرب 100

.(Boukri, 2014) $\mathbf{R\%=Mv / Me\times 100}$

(R%): المردودية الانتاجية للمستخلصات ب %.

(Me): كتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة بعد تبخير المذيب (مغ).

(Mv): كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة في الاستخلاص(مغ).



الشكل 1 : مخطط عام لاستخلاص الفلافونويدات (مرزاق، 2010).

5.II.عملية الفصل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM:

تم إجراء التحليل الكروماتوغرافي على كل من المستخلصات (الميثانولي، n بوتانول، الكلورفورمي، خلات الإيثيل)، تم إذابة 1 مغ مع 1 مل من المذيب وقبل الشروع في عملية الفصل قمنا بتنشيط الصفائح في الفرن تحت°90 درجة مئوية ولمدة عشر دقائق، للتخلص من الرطوبة ولتنشيط مادة الإدمصاص (أي الطور الساكن)، وعلى أطراف الصفيحة نضع خط و يسمي بنقطة البداية على بعد 2 سم، وقبل انتهاء الصفيحة نضع خط على بعد2 سم ويسمي بخط النهاية، ثم نضع المستخلص بواسطة أنبوبة شعرية، نغمس الصفيحة في حوض به المذيب (الطور المتحرك) ويغلق الحوض جيدا وبعد سريان المذيب حتى خط النهاية نخرج الصفيحة ونجففها، نسجل عدد وألوان البقع بالملاحظة العينية ثم بالاستعانة بمصباح الأشعة الفوق البنفسجية UV (254 نانومتر)، ثم الرش بالكاشف Amoniaque (حميدي، 2015).

وأنظمة المذيب المختارة هي:

Acétate d éthyle/méthanol/eau	100/25/10
Toluène/méthanol/méthyléthylcétone	4/3/
Eau/méthanol/méthyléthylcétone/acétylacétone	13/3/3/1
Butanol/acide acétique/eau	54.5/13.6/31.8
Acétate d'éthyle/eau/acide acétique	8/1/1
Chloroforme /méthanol/eau	12/6.5/1.5

وعملية الفصل هذه تتحكم فيها عوامل متعددة نذكر منها عامل القطبية وثابت الاحتجازRf الذي يعطى بالعلاقة التالية:

$$\mathbf{Rf = (a / b)}$$

a: المسافة التي يقطعها المركب من نقطة البداية.

b: المسافة التي يقطعها الطور المتحرك (حميدي، 2015).

6.II. عملية الفصل بواسطة كروماتوغرافيا السائل عاليةالأداء HPLC:

للتعرف على بعض مركبات الأيض الثانوي لحبوب نبات الكينوا *Chenopoduim quinoa* استخدمنا جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC و هي تقنية تستخدم لفصل وتحديد مختلف المركبات وكذلك أحسن طريقة لفصل الخلائط المعقدة في وقت قصير(*قادري، 2020*) اجريت عملية الفصل في مركز البحث العلمي والتقني للتحاليل فيزيو كيميائية (CRAPC) في تيبازة .

- الجهاز المستعمل : كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء من نوع YL 9100 المزود بمضخة ولاقط للاشعة فوق بنفسجية ومسخن .
- بواسطة جهاز فصل من نوع HPLC –Thermo الذي يتضمن عمود فصل من نوع C8 نوعيته AGILENT XDB ECLIPSE بطول 25 سم وقطر 4.6 مليمتر.
- عند درجة حرارة 30°
- طور متحرك: A: Eau à 1% Ac .Acétique

  B: Méthanol grade HPLC
- بداية الحقن : دقيقة /1مل ,تم الحقن بحجم 20µL
- تدرج الحقن : 0min :A 95% - B 5% ← 55min: A 5% - B 95%

  60min: A 95% - B 5% ←
- تم القراءة عند طول الموجة : 325 نانومتر/254 نانومتر.

الفصل الثاني:

النتائج و المناقشة

I. الاختبارات الفيتو كيميائية الأولية:

بعد تحضير المستخلصات الميثانولية و المائية والحمضية و الاثيرية لحبوب نبات الكينوا، عن طريق الغليان باستعمال جهاز التكثيف، ومستخلصات عن طريق النقع لمدة (24 ساعة)، وكذلك مستخلصات حمضية عن طريق النقع في حمض الكبريتيك (1%) لمدة 24 ساعة للكشف عن القلويدات و مستخلص الايثيري بالنقع 24 ساعة للكشف عن الاستيرولات و التربينات الثلاثية، تم الكشف عن مواد الأيضُ الثانوي في حبوب نبات الكينوا و النتائج موضحة في الجداول (14،13،12،11،10،9،8،7،6) التالية:

الجدول 06 : نتائج الكشف الكيميائي عن الصابونيات في مستخلصات

المواد	طرق الاستخلاص	الكواشف	النتيجة	الصور
الصابونيات	المستخلص الميثانولي بالغليان	القليل من الماء مع الرج	عدم وجود رغوة	
	المستخلص المستانولي بالنقع		عدم وجود رغوة	
	المستخلص المائي بالنقع		وجود رغوة بطول 1.5cm كمية معتبرة	

الجدول 07: نتائج الكشف عن القلويدات في المستخلص الميثانولي.

المواد	طريقة الاستخلاص	الكواشف	النتيجة	الصور
القلويدات	المستخلص الميثانولي بالغليان	ماير	عدم ظهور راسب ابيض	
		وانر	عدم ظهور راسب بني	
		دراجندروف	عدم ظهور راسب برتقالي	
	المستخلص الميثانولي بالنقع	وانر	ظهور راسب بني	
		ماير	عدم ظهور راسب ابيض	
		دراجندروف	عدم ظهور راسب برتقالي	

الجدول 08 : نتائج الكشف عن القلويدات في المستخلص المائي.

المادة	المستخلص	**الماشف**	النتيجة	**الملاحظة**
القلويدات	**المستخلص المائي بالنقع**	**وانر**	عدم ظهور راسب بني	
		ماير	عدم ظهور راسب ابيض	
		دراجندروف	عدم ظهور راسب برتقالي	

الجدول 09: نتائج الكشف عن القلويدات في المستخلص الحمضي.

المواد	طرق الاستخلاص	الكواشف	النتيجة	الصور
القلويدات	المستخلص الحمضي	وانر	ظهور راسب بني	
		ماير	ظهور راسب ابيض	
		دراجندروف	عدم ظهور راسب برتقالي	

الجدول 10: نتائج الكشف عن الاستيرولات و التربينات في المستخلص الايثيري.

المواد	طرق الاستخلاص	الكواشف	النتيجة	الصور
المركبات الاستيرولية والتربينات الثلاثية	المستخلص الايثيري	كلوروفورم + حمض الخليك اللامائي + جمض الكبريتيك	ظهور حلقة بنية	

الجدول11: نتائج الكشف عن الفلافونويدات في مستخلصات.

المواد	طريقة الاستخلاص	الكواشف	النتيجة	الصور
الفلافونويدات	المستخلص الميثانولي بالغليان	1 كحول الاميلي HCL + Mg+	ظهور لون وردي	
	المستخلص الميثانولي بالنقع		ظهور لون وردي	
	المستخلص المائي بالنقع		عدم ظهور لون	

الجدول 12: نتائج الكشف الكيميائي عن التانينات في المستخلص الميثانولي والمائي.

المواد	طرق الاستخلاص	الكواشف	النتيجة	الصور
التانينات	المستخلص الميثانولي بالغليان	1-5قطرات من (Fe Cl3)	ظهور لون ازرق مخضر	
	المستخلص الميثانولي بالنقع		ظهور لون ازرق مخضر	
	المستخلص المائي بالنقع		ظهور لون ازرق مخضر فاتح	

الجدول 13: نتائج الكشف عن المركبات المرجعة في مستخلصات.

المواد	طرق الاستخلاص	الكواشف	النتيجة	الصور
المركبات المرجعة	**المستخلص الميثانولي بالغليان**	20 قطرة من محلول فهليج	ظهور الراسب الاحمر الاجوري	
	المستخلص الميثانولي بالنقع		ظهور الراسب الاحمر الاجوري	
	المستخلص المائي بالنقع		ظهور راسب الاحمر الاجوري	

الجدول14: نتائج الكشف الكيميائي للمستخلصات لحبوب نبات الكينوا.

المركبات الفعالة	مستخلص ميثانولي		مستخلص مائي	مستخلص حمضي	مستخلص اثيري
القلويدات	**نقع**	**غليان**	**نقع**	**نقع**	
Wagner	+	-	-	+	
Mayer	-	-	-	++	
Dragendroff	-	-	-	-	
الفلافونيدات	++	+	-		**نقع**
التانينات	++	++	+		
المركبات المرجعة	++	+ +	++		
الصابونيات	-	-	++		
الاستيرولات و التربينات الثلاثية					+ +

(-) لا توجد (+) توجد بكمية متوسطة (++) توجد بكمية معتبرة

من خلال المسح الفيتو كيميائي لمستخلصات حبوب نبات الكينوا الصفراء *Chenopodium quinoa* تبين انها غنية بأغلب المواد الفعالة، حيث كشفنا عن تواجد كل من الصابونيات و الاستيرولات التربينات الثلاثية و الفلافونويدات و القلويدات و التانينات المركبات المرجعة.

الفلافونويدات: اعطى الكشف نتيجة ايجابية في المستخلص الميثانولي في الغليان والنقع، الفلافونيدات ذوابة في القواعد القوية لكونها مركبات فينولية و تمتاز بصفتها الحمضية الضعيفة، و تزيد قطبيتها إذا كانت تحتوى على عدد أكبر من مجموعات الهيدروكسيل الحرة أو جزيئة سكر أو أكثر و هذا ما يجعلها ذوابة في المذيبات القطبية مثل : الميثانول،الإيثانول، ثنائي سيلفوكسيدالأستون، والماء و وجود السكر في الجزيء المركب يجعله أكثر ذوبانا في الماء ، أما الفلافونيدات الأقل قطبية مثل : الايزوفلافونات وكذلك الفلافونات التي تحمل عددا من مجموعات الميثوكسيل فإنها تذوب في الإيثر و الكلوروفوم (Temidayo, 2013) .

التانينات: المستخلصات المحظرة عن طريق النقع و الغليان اعطت نتيجة ايجابية و المتمثلة في ظهور لون ازرق مخضر دلالة على وجود التانينات الكاتيشيكية.

الاستيرولية و التربينات الثلاثية: ظهور حلقة بنية في المستخلص الايثيري فقد كانت اكثر وضوحا، وهذا يعود الى خصائص الاستيرولات و التربينات و يعود ذلك إلى سهولة ذوبانية التربينات في المذيبات لاقطبية مثل الايثر.

المركبات المرجعة: نتيجة الكشف كانت ايجابية في المستخلصات المحضرة عن طريق (النقع و الغليان) ظهور راسب احمر اجوري، وبدرجة اقل في المستخلص المحظر عن طريق (النقع) وهذا راجع الى مدى تأثير درجة الحرارة على كسر الروابط الهيدروجينية و اماهة بعض المركبات.

القلويدات: في المستخلص الحمضي ظهور راسب في كاشف وانر و ماير النتيجة كانت ايجابية ، والسبب هو الخصائص الكيميائية للقلويدات والتي تترسب مع الكواشف اليودية، اما كاشف دراجندروف كانت النتيجة سلبية عدم ظهور راسب و تفاعلات الترسيب هذه مرتبطة بالوسط الحمضي الضعيف اما في المستخلصات الميثانولية والمائية في (النقع و الغليان) كانت النتائج سلبية ماعدا في المستخلص الميثانولي بالنقع اعطى كمية ضعيفة جدا وهذا يدل على ان نبات الكينوا يحتوي على القلويدات الملحية التي تذوب فب المذيبات العضوية (شبوعات، 2014)،

الصابونيات: في المستخلصات الميثانولي (المخفف) في النقع والغليان كانت نتيجة الكشف سلبية عدم وجود رغوة، اما في المستخلص المائي كانت النتيجة ايجابية وجود رغوة بكمية معتبرة 1سم، وهذا راجع الى الطبيعة الكيميائية للصابونيات فهي ذوابة في الماء الدافيء اكثر من الكحولات.

عموما يمكننا القول بأن نبات الكينوا غني بالقلويدات و الصابونيات و الفلافونويدات والتانينات و المركبات المرجعة و الاستيرولات و التربينات الثلاثية.

وهذا ما يطابق الى حد بعيد الدراسات السابقة التي قامت بها كل من بوزيد و عطالي (2020)، وكذلك غومه وجوادي (2021) و بن خدومة وسلمى (2018) و كذلك Herbillon(2015) ، وكشفنا عن وجود القلويدات بكمية كبيرة وهذا يتعارض مع الدراسات السابقة و هذا يعود إلى عدة عوامل أولها البيئة التي أخذ منها النبات، طريقة الحفظ، طريقة الاستخلاص، الطريقة المعتمدة في الكشف و غيرها.

II. استخلاص الفلافونويدات

1.II. حساب المردود :

بعد استخلاص الفلافونيدات باستخدام مذيبات مختلفة القطبية، تم حساب مردود المستخلصات المتحصل

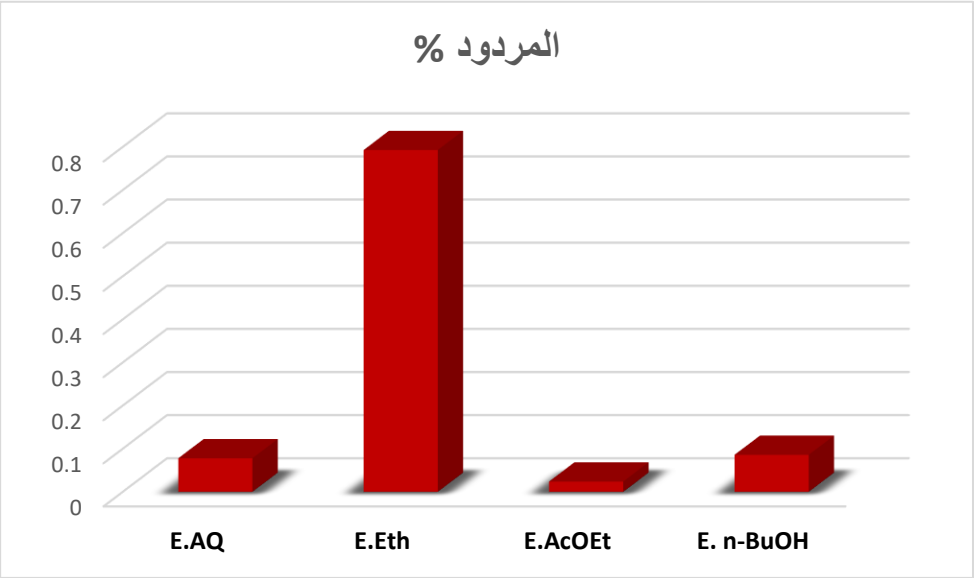
كما هو موضح في الجدول (15) و الشكل(2):

الجدول 15: مردود المستخلصات.

	مستخلص E.AQ	مستخلص E.Eth	مستخلص E.AcOEt	مستخلص E. n-BuOH
كتلة المادة النباتية (غ)	30	30	30	30
كتلة المستخلص (غ)	0.0234	0.238	0.0073	0.0258
المردود %	**0.078**	**0.793**	**0.024**	**0.086**
الشكل	عجين	مسحوق	عجين	عجين

E.AQ مستخلص مائي- E.Eth مستخلص ايثانولي - E.AcOEt مستخلص خلات اليثيل -

E. n-BuOH مستخلص ن- بوتانول



E.AQ مستخلص مائي- E.Eth مستخلص ايثانولي - E.AcOEt مستخلص خلات الايثيل - E. n-BuOH مستخلص ن- بوتانول

الشكل 2: مردود مستخلصات حبوب الكينوا.

ان نسب مردودية المستخلصات كانت متفاوتة نوعا ما حيث قدرت في المستخلص الايثانولي (0.793%) والمائي (0.078%) ، وخلات الايثيل ب(0.024%) ، n بوتانول (0.087%) ، وهذا الاختلاف في المردود راجع لدرجة الذوبانية وقطبية المذيب (Djemai, 2009).

المردود المتحصل عليه كان أقل من المردود المتحصل عليه عند دراسة كل من جوادي و غومة (2021) للمستخلص الميثانولي للكينوا الصفراء حيث وصل المردود إلى 3.39% .

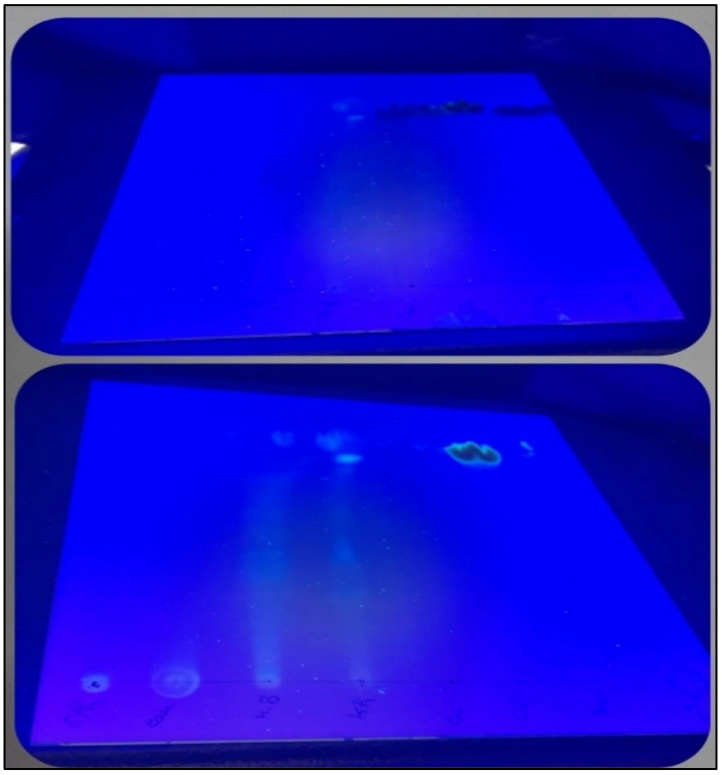
يختلف مردود المستخلصات حسب المذيب المستعمل و قطبيته، ودرجة ذوبانية المواد الفعالة فيه، وكذلك حسب العضو النباتي المدروس وما يحتويه من مواد فعالة ذات طبيعية كيميائية، وكذلك تواجدها بكمية مختلفة حسب العضو النباتي. وهذا ما اكدته دراسات السابقة التي قام بها كل من Sultana واخرون (2009) و Siddhuraju et Becker (2003)، فقد وجدو بأن كمية المركبات الفينولية تتأثر بطريقة الاستخلاص، وكذلك نوع العضو النباتي، والأهم من ذلك تأثير الأنظمة (المذيبات) فكل نظام يتميز بخصائص.

III. نتائج الفصل بواسطة الكروماتوغرافيا CCM:

لتحديد نوع المركبات الكيميائية (الفينولات أساسا) الموجودة في حبوب الكينوا الصفراء *Chenopodium quinoa* تم اعتماد الفصل الكروماتوغرافي بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM بحيث اخترنا نتائج نظام المذيب (خلات الايثيل، الميثانول، ماء مقطر 100 /10/25)، لأنه الافضل مقارنة بالمذيبات الاخرى، نعتمد في هذه الدراسة على الخواص الكروماتوغرافيا وهي معطيات اولية وتتمثل في هذه الخواص في اللون الاستشعاعي وثابت الانحباس Rf.

المركبات القياسية المستخدمة هي حمض الغاليك، الكريستين، حمض التانيك، كاتيشين، نتائج الفصل موضحة في الوثيقة (17،18) و الجدول (16):

الوثيقة 17: نتائج الفصل الكروماتوغرافي بواسطةCCMالمعالجة بالأشعة الفوق بنفسجية Uv عند طول الموجة (254 نانومتر) قبل وبعد الرش بالأمونياك.



الوثيقة 18 :نتائج الفصل الكروماتوغرافي بواسطةCCMالمعالجة بالأشعة الفوق بنفسجية uv عند طول الموجة (365 نانومتر) قبل وبعد الرش بالأمونياك.

الجدول16 : نتائج الفصل الكروماتوغرافي بواسطة CCM قبل وبعد المعالجة بالأشعة الفوق بنفسجية UV وبعد الرش بالأمونياك

المستخلصات	عدد البقع قبل الرش بالأمونياك		عدد البقع بعد الرش بالأمونياك		RF
	عند UV 254	عند UV 365	عند UV 254	عند UV 365	
الايثانولي	2	3	3	3	0.87 / 0.75/0.43
المائي	1	1	1	1	0.86
n- بوتانول	5	5	6	6	0.56/0.45/0.35/0.2/0.093 0.87 /
خلات الأيثيل	5	5	5	5	/0.59 /0.37/ 0.13 0.87 / 0.79
حمض تانيك	1	1	1	1	0.76
كاتيشيك	1	1	1	1	0.84
كريستين	1	1	1	1	0.91
حمض الغاليك	1	1	1	1	0.87

تبين من خلال النتائج ان كل من المستخلصات (الايثانولي 3 بقع، والمائي 1، بوتانول 6 بقع، خلات الايثيل 5 بقع) وثابت احتجاز (Rf) متفاوت.

قبل المعالجة (قبل الرش) :

المستخلص الايثانولي تحصلنا على ثلاث بقع ذات اللون اصفر ومتغيرة Rf يعني وجود ثلاث مركبات:

مركب Rf= 0.43 / مركب RF= 0.75 / مركب Rf= 0.87 .

المستخلص المائي تحصلنا على بقعة واحدة يعني مركب واحد Rf=0.87 ذات لون اصفر.

المستخلص البوتانولي تحصلنا على 6 بقع ذات لون اصفر كذلك وجود ستة مركبات Rf=0.2 / Rf=0.35 / Rf= 0.45 / Rf=0.56 / Rf=0.093 / Rf=0.87.

مستخلص خلات الايثيل تحصلنا على 5 بقع ذات لون اصفر وجود خمسة مركبات Rf=0.13 / Rf =0.37 / Rf=0.59 / Rf = 0.79 / Rf=0.87.

بالنسبة للشواهد أظهرت كروماتغرافيا CCM وجود حمض الغاليك ذو لون بني فاتح Rf= 0.87، اما الكريستين ظهر ذو لون اصفر Rf= 0.91، الكاتيشيك ظهر لونه اصفر Rf= 0.84، تانيك ظهر لونه اصفر فاتح Rf= 0.85.

-تحت المعالجة والرش بالامونياك uv 254 nm:

ظهور نفس النتائج تقريبا باستثناء ظهور بقع جديدة في المستخلص الايثانولي و المستخلص البوتانولي

واما الشواهد تغير التانيك للون بني فاتح، الكاتيشيك تغير الى لون البرتقالي و الكريستين تغير الى اللون اصفر مخضر، أما حمض الغاليك فتغير الى بني قاتم.

-تحت المعالجة والرش بالامونياك uv 365 nm :

كانت النتائج جد متقاربة للنتائج المتحصل عليها سابقا مع ظهور بقعة جديدة في المستخلص البوتانولي.

مناقشة النتائج :

ان الدراسة البنيوية للفلافونويدات تتأثر باللون الاستشعاعي وثابت الانحباس Rf (معامل الاعاقة).

اكثر البقع كانت في المستخلص خلات الايثيل و البوتانولي و هذا يوضح لنا نوع الفلافنويدات الموجودة فيهما حيث أن أسيتات الإيثيل يؤدي إلى استخلاص المركبات الأجليكونية و بعض من المركبات الإيثيروزيدية أحادية السكر و أحيانا ثنائية السكر، وبالخصوص إذا كررت عملية الاستخلاص أكثر من مرة.

أما عند المعاملة البوتانول فإنه يؤدي إلى استخلاص المركبات ثنائية و ثلاثية السكر و كذا المركبات من النوعC-glycoside (مخلوفي، 2008)

من خلال النتائج المحصل عليها للمستخلصات النباتية المدروسة ومن خلال ألوان البقع الملاحظة بإستعمال مصباح تحت الأشعة فوق البنفسجية و من خلال ما ذكره مخلوفي (2008) و شعوبي و بن قفة (2019)

فاغلب البقع ظهرت باللون الأصفر و الأفر الفاتح و هذا يدل علة أنها من فلافانول يحتوي علىOH حر في الموضع C_3 مع تواجد أو عدم تواجدOH حرة في الموضع C_3، و من نوع أورون

حسب مخلوفي (2008) ان قيمة Rf تتأثر بالشروط تجريبية الكروماتوغرافية: درجة الحرارة/الرطوبة/طبيعة المذيب /تركيز العينة/سمك الطبقة....، لذلك فهي تعد قيمة مميزة وانه لمن الضروري عند مقارنتة مركب ما بواسطة مركبات أخرى معروفة ان نستعمل نفس الكروماتغرام في نفس الشروط.

من خلال قيم Rf يمكننا أخذ فكرة اولية عن المركب الفلافونويدي المفصول لنلجأ بعدها الى طيف الأشعة فوق بنفسجية uv:

زيادة في نسب Rf تدل على الزيادة في عدد المجموعات الهيدروكسيلية OH، ونقصان في Rf تدل على وجود مجوعات ميثوكسي استبدال مجموعة OH بمجموعة CH_3O .

من خلال المقارنة بقيم Rf للمركبات نجد أن جمع المستخلصات تحتوي على مركب ذو عامل احتباس Rf=0.87 و الذي تشابه مع المركب القياسي حمض الغاليك ذو معامل احتباس Rf=0.87

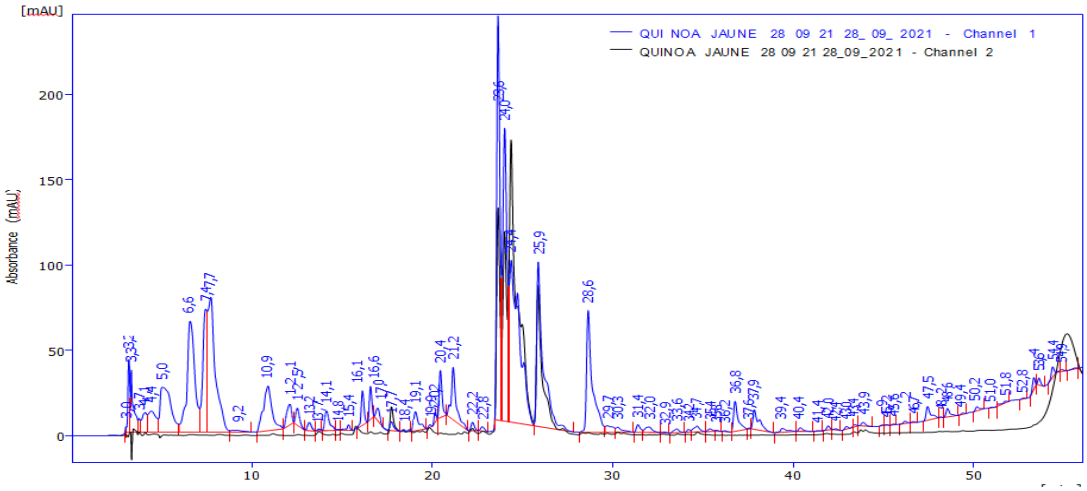
IV.نتائج الفصل بواسطة الكروماتوغرافياHPLC :

بغرض التعرف على التركيب الكيميائي للمستخلصات لحبوب نبات الكينوا *Chenopodium quinoa* وبالتحديد ما تحتويه من مواد فينولية و فلافونويدية استعملنا كروماتغرافيا السائل عالية الأداء HPLC فكان التحليل نوعي لحبوب نبات الكينوا باستعمال 23 مركب قياسي وهذا على مستوى مركز البحث العلمي و التقني للتحاليل فيزيو-كيميائية (CRAPC) بتيبازة.

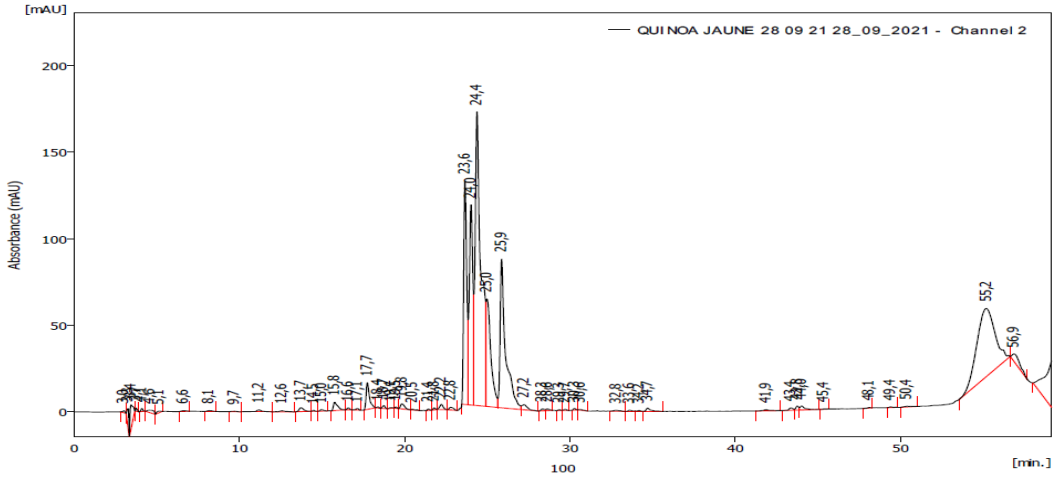
أسفر التحليل الكروماتوغرافي عن إظهار 79 مركب في المستخلص الميثانولي لحبوب الكينوا الصفراء عند طول موجة 254nm و 57 مركب عند طول موجة 325nm، النتائج موضحة في الشكلين (3) و(4) وبالمطابقة مع المركبات القياسية المستخدمة استطعنا تمييز 5 مركبات، وهي مبينة في الجدول (17).

الجدول17 : المركبات الفينولية الموجودة في حبوب نبات الكينوا.

الرقم	المركبات القياسية	زمن الظهور(Rt) المركبات القياسية	زمن الظهور المستخلصات
1	Penta Hydroxy Flavone	36.203	36.2
2	Apéginine	43.7	43.763
3	Kaemferide	49.303	49.397
4	Quercetine	35.703	35.770
5	Tannic	6.620	6.613



الشكل 3: منحنى كروماتغرام(HPLC) للمستخلص الميثانولي لحبوب الكينوا **(254nm)**



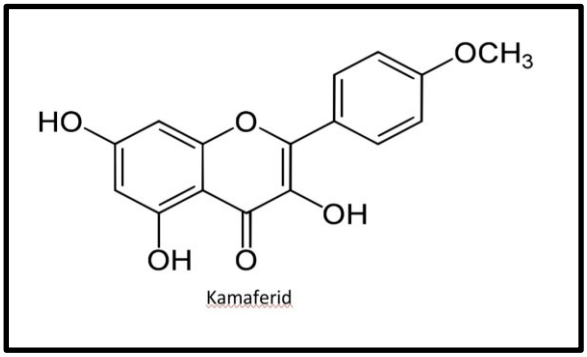
الشكل 04: منحنى كروماتغرام HPLC للمستخلص الميثانولي لحبوب الكينوا (325nm)

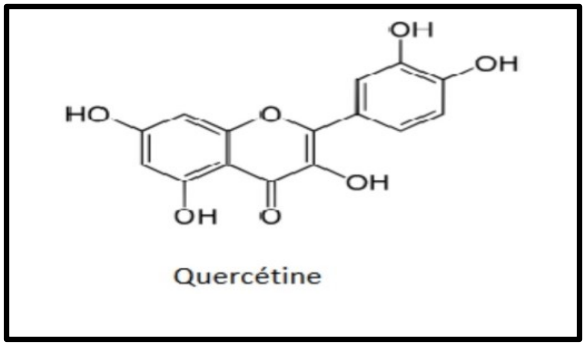
من خلال النتائج المتحصل عليها من التحليل النوعي للمستخلص الميثانولي لحبوب نبات الكينوالصفراء *Chenopodium quinoa*، بواسطة جهاز كروماتوغرافيا السائل عالية الاداء HPLC، تمكنا من تشخيص عدد من المركبات الفينولية و الفلافونويدية في حبوب الكينوا عن طريق مقارنتها بزمن الاستبقاء (الإحتباس أو الظهور RT) مع العلم المركبات القياسية في التجربة عبارة عن 23 مركب فينولي و فلافونويدي:

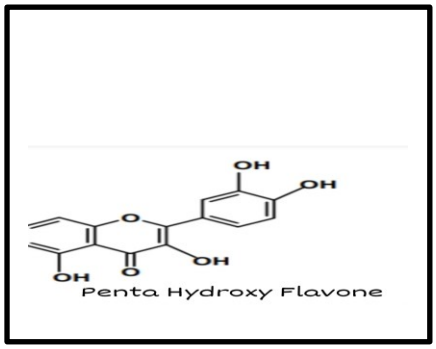
Penta hydroxy flavone /3 HydroxyFlavone /5-Hydroxy Flavone/acide stearique/AC Gallique / AC vannillique/ AC Acetine / Alpha Tocopherol/ Apégine / Apéginine / A.Caffeique / Catecheine /Diosmine / Flavone / Galangine / Hespertine / Kaemferide/Myricetine / Quercetine /Rutine / Tangeritine / Tannic / Varinigéne

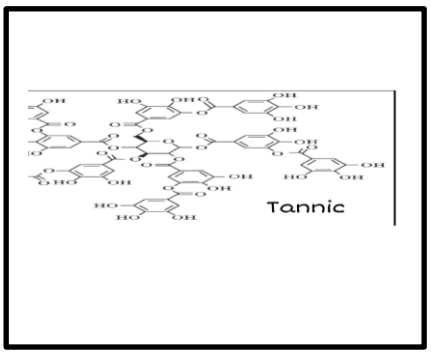
و منه تم التوصل إلى 5 مركبات منها 2 مركبات فينولية وهي Apéginine، Tannic و 3 مركبات فلافونويدية و هي Penta Hydroxy Flavone، Kaemferide، Quercetine.

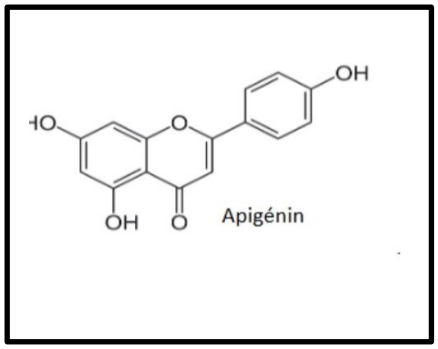
بينما ما توصل إليه Ramiro وآخرون (2015) أن حبوب الكينوا تحتوي على Hydroxybenzoic ، P.Coumaric، Ferulic acid، Quercetine، Kaempferol بينما Repo-Carrsco-Valencia و آخرون (2010) فوجد Caffeic acid، Myricetin ، اختلاف النتائج مفسر في الشكل (5)



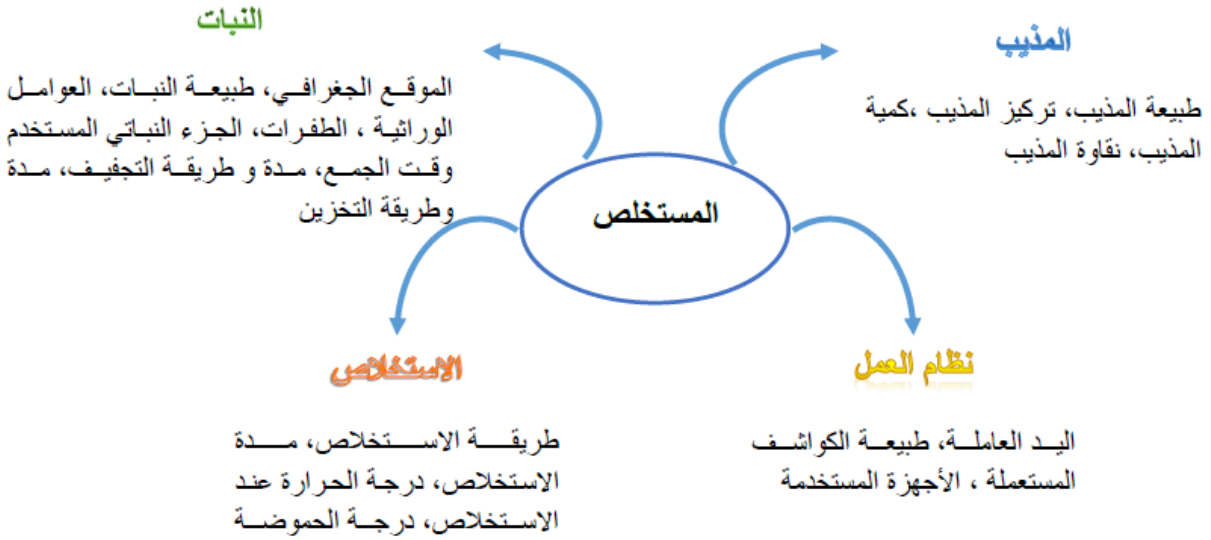








الوثيقة19 :بعض المركبات الفينولية و الفلافونويدية المتواجدة في حبوب نبات الكينوا.



الشكل5 : العوامل المؤثرة على المحتوى الكيميائي للمستخلص النباتي (قادري، 2020).

الخلاصة

نظرا للأهمية الاقتصادية والغذائية وكذا العلاجية لنبات الكينوا *Chenopodium quinoa* ارتأينا في هذا البحث دراسة صنف هو الكينوا الصفراء، تنتمي الكينوا إلى العائلة الرمرامية Chenopodiaceae،اذ نلاحظ استخدامها بكثرة وهذا ما أدى استغلالها في عدة مجالات حسب المواد التي تحتويها من مركبات فعالة ناتجة عن الأيض الثانوي وسعيا منا لمواصلة البحوث في هذا المجال تطرقنا إلى الدراسة الفيتو كيميائية لنبتة الكينوا *Chenopodium quinoa* المزروعة بولاية المغير (أم الطيور) ،حيث كان هدفنا استخلاص بعض و فصل و تشخيص بعض المركبات الفينولية فأثمرت الدراسة المطبقة بالنتائج التالية :

من خلال المسح الفيتوكيميائي لنبتة الكينوا *chenopodium quinoa* تبين أنها غنية بأغلب المواد الفعالة ،حيث كشفنا عن تواجد كل من القلويدات، الفلافونويدات، الاستيرولات، التربينات الثلاثية، التانينات، المركبات المرجعية، الصابونيات .

تم في هذه الدراسة تحضير المستخلصات التالية:(الإيثانولي ،المائي ،خلات الإيثيل ،nبوتانول.) عن طريق النقع ،حيث كان مستخلص الإيثانول كأعلى مردود قدره 0.793%، يليه مستخلص n بوتانول 0.086%، ثم المستخلص المائي 0.78%، وأخيرا مستخلص خلات الايثيل الذي يقدرب0.024% كأدنى مردود.

لفصل المركبات الفينولية والفلافونويدية المتواجدة في نبات الكينوا وكذا تحديدها استخدمنا طرق الكروماتوغرافيا المتمثلة في كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM و كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء HPLC. لتطبيق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة استعملنا عدة أنظمة وكان النظام الأحسن هو (Acétated'éthyle /Méthanol/ Eau)(100/ 25/ 10)

أظهرت النتائج وجود ثلاث بقع في المستخلص الإيثانولي متغيرة ال Rf(0.43, 0.75, 0.87)، بقعة واحدة في المستخلص المائي (Rf= 0.87)، 6 بقع في مستخلص n- بوتانول متغيرة Rf :

(0.093, 0.2, 0.35, 0.45, 0.56, 0.87)على التوالي أما بالنسبة لمستخلص خلات الايثيل تحصلنا على 5 بقع متغيرة Rf كذلك (0.13, 0.37, 0.59, 0.79, 0.87)

بالمقارنة مع معامل الاحتباس للمركبات القياسية استطعنا التعرف على مركب حمض الغاليك و الذي ظهر في أغلب المستخلصات و من خلال اللون توصلنا إلى وجود مركبات من نوع فلافانول يحتوي على OHحر في الموضعC3 مع تواجد أو عدم تواجد OHحرة في الموضع C3، و من نوع أورون

قد أكدت النتائج بواسطة إستخدام كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء (HPLC) للمستخلص الميثانولي لحبوب نبات الكينوا*chenopodium quinoa* عن وجود مركبات فينولية تمثلت في كل من Quercetin, Acide tannic, Apéginine بالإضافة إلى Kaempferide و PentaHydroxyd Flavone.

وفي الأخير نرجو أن يكون عملنا هذا محفز للباحثين في مجال البيولوجيا والصناعة الغذائية، ونأمل أن يكون هذا العمل منطلق لأبحاث مجال تثمين المحاصيل الزراعية الجديدة والواعدة في الولاية، ونوصي أن يتم التوسع والتعمق في مجال الدراسة بالتعرف على نوعية المركبات الفينولية للنبات، بالإضافة إلى توسيع مجالات الدراسة والبحث عن التأثيرات البيولوجية الأخرى للمضي في مجال البحث و الإستكشاف لمعرفة خبايا العلوم.

قائمة المراجع

المراجع باللغة العربية:

1) أبو الكباش،ع، م. (2012). الكيمياء التحليلية. المفاهيم الأساسية في التحليل التقليدي والآلي. العبيكان للنشر. 296 ص.

2) أحمد، س، م. (2017). الكروماتوغرافيا وتطبيقاتها (الكروماتوغرافيا الغازية). الجامعة المصرية الروسية. 148 ص.

3) احمد، خ، م، س. (2005) . أجهزة التحليل الطيفي و الكروماتوغرافي. دار الكتاب والوثائق القومية. 295 ص.

4) الأنصاري م، م، ا.(1980) . مبادىء المحاصيل الحلقية دار الكتب للطباعة والنشر.ببغداد.329ص.

5) الباروني، ص. (2018). رواد مبدعون في مجال البحث العلمي والتقني. دار حميثرا للنشر والترجمة. 124 ص.

6) الفيصل، خ . (1985). الفيصل، مجلة ثقافية شهرية. دار الفيصل الثقافية. العدد (57). 153 ص.

7) الموسوي، ع .(1987) .علم تصنيف لنبات .الطبعة الاولى دار الكتاب للطباعة والنشر.بغداد.379ص.

8) الموصلي، م، أ، د . (2018). النباتات السامة واستخدام مكوناتها في صناعة الأدوية. دار الكتب العلمية. الصفحات. 416 ص.

9) بن خدومة، س، سلمى، ن. (2018). دراسة تأثير مذيبات الاستخلاص على التركيبة الكيميائية لنبات الكينوا. مذكرة لنيل الماستر تخصص هندسة كيميائية. جامعة حمه لخضر. الوادي. 92 ص.

10) بوخبتي، ح. (2010). النباتات الطبية المتداولة في المنطقة الشمالية لولاية سطيف . دراسة تشريحية لنوعين من جنس Mentha والنشاطية ضد البكتيرية لزيوتهما الأساسية. مذكرة ماجستيرفي بيولوجيا وفيزيولوجيا النبات. جامعة فرحات عباس. سطيف. 107 ص.

11) بوزيد، م، عطالي، ح. (2020).دراسة كيميائية لبذور نبات الكينوا *Chenopodium quinoa Willd*. مذكرة لنيل شهادة ماستر في تخصص تنوع حيوي وفيزيولوجيا النبات. جامعة حمه لخضر. الوادي.52 ص.

12) جابر، ب ،ق.(2021). دليل الادوية العشبية للممارس الصحي. دار العبيكان للنشر.590ص.

13) حيريش، ع .(2018). زراعة الكينوا (دليل الفلاح). مشروع تطوير سلسلة قيمة الكينوا لتحسين الأمن الغذائي والتغذوي في منطقة الرحمانة. المركز الدولي لزراعة المحلية. الأمارات العربية المتحدة. 17ص.

14) حميدي. (2015). الدراسة الفيتوكيميائية والقييم البيولوجي للفاقوين الونجيسينا (FagoniaLongispina(Zygophyllaceae)) نبات من الجنوب الغربي للجزائر.مذكرة تخرج لنيل شهادة الدكتوراه في الكيمياء. جامعة أبي بكر بلقايد. تلمسان .الجزائر. ص109.

15) ربيع، ق، جويل، ب .(2015) .المساعدة التقنية لتعزيز النظام الغذائي من الكينوا في الجزائر .مصر، العراق، إيران، لبنان، موريتانيا، السودان، اليمن .منظمة الأغذية والزراعة للأمم المتحدة.30ص.

16) شكري، إ .(1994) .النباتات الزهرية نشأتها وتطورها وتصنيفها. دار الفكر العربي للتوزيع والنشر.مصر، القاهرة. 663ص.

17) شعوبي، أ، بن ققة، أ.(2019). المساهمة في الدراسة الفيتوكيميائية وتقييم الفعالية البيولوجية المستخلصات نبات الكينوا*Chenopodium quinoa*. مذكرة لنيل الماستر تخصص كيمياء المنتجات الطبيعية. جامعة قاصدي مرباح. ورقلة. 77ص.

18) طه ، م، ع.(2002). بساتين الخضروات التقلدية والثانوية .اطروحة دكتوراه في العلوم الزراعية. جامعة اسيوط.12-13 ص.

19) عباس، ب، م. (2012). دراسة نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي والفعالية المضادة للأكسدة للنبتة *Convolvulus Supinus Coss*. مذكرة ماجستيرفي الكيمياء تخصص كيمياء عضوية فرع كيمياء النبات. جامعة منتوري قسنطينة. 105 ص.

20) عادل، ع، ح، م. (2010). تجارب في التحليل الآلي. جامعة الملك سعود. 186 ص.

21) عبد الله، م . (2012). الكيمياء التحليلية. المفاهيم الأساسية في التحليل التقليدي والآلي. العبيكان للنشر. 296 ص.

22) عبد الحميد، م، ح.(2019).انتاج محاصيل الحبوب. كلية الزراعة. وزارة الزراعة المصرية الادارة العامة للارشاد الزراعي. النشرات والمطبوعات. جامعة الأزهر.253ص.

23) غومه، م، جوادي، م. (2021). دراسة مقارنة للفعالية البكتيرية لمستخلصات ثلاثة أنواع من حبوب الكينوا *Chenopodium quinoa* . مذكرة لنيل الماسترتخصص تنوع حيوي وفيزيولجيا النبات. جامعة حمه لخضر. الوادي. 82ص.

24) قادري, م. (2020). دراسة بيئية. كيميائية بيولوجية لنبتتين صحراويتين نبات السدر *Zizyphus lotus L* نبات اللماد *Cymbopogon schoenanthus L*.مذكرة لنيل شهادة الدكتوراء. جامعة قاصدي مرباح ورقلة. 326ص.

25) لكحل، ه. (2008). فصل وتحديد نواتج الأيض الثانوي لنبتة *Stachys Ocymastrum (L).Briq (Lamiaceae).* مذكرة ماجستيرفي الكيمياء العضوية شعبة المواد العلاجية. جامعة منتوري قسنطينة. 144 ص.

26) محمد حسانين، ع، ح. (اكتوبر, 2919). انتاج محاصيل الكينوا. الصفحات 237-243.

27) محمود، ا، س. (2017). الكروماتوغرافيا وتطبيقاتها (الكروماتوغرافيا الغازية). الجامعة المصرية الروسية. 148 ص.

28) مخلوفي، ه. (2008). فصل وتحديد فلافونيدات الأجزاء الهوائية للنبتة *Hypericum Tomentosum* . مذكرة ماجستيرفي الكيمياء العضوية شعبة المواد العلاجية. جامعة منتوري قسنطينة. 88 ص.

29) منذر، س، ع ، ل. (2018). مبادئ التحليل الآلي. مكتبة الكتب العلمية. 402 ص.

30) مرزاق، ع، ا. (2010). فصل وتحديد نواتج الايض الثانوي لنبتة *Ononis* (Fabaceae) *angustissima.* لطور خلات الايثيل. مذكرة لنيل شهادة الماجستير. جامعة منتوري قسنطينة. 139ص.

31) مظفر، أ، د. (2018). النباتات السامة واستخدام مكوناتها في صناعة الأدوية. دار الكتب العلمية. الصفحات. 416 ص.

المراجع باللغة الأجنبية:

32) Abalaka, M, E, et Mann, A et Adeyemo, S, O. (2011). studies on in vitro antioxida and free radical scavenging potential and phytochemical screening of leaves of *Ziziphusmauritiana L*. and *Ziziphusspina-Christi L*. compared with ascorbic acid. journalmed genet genomics. 28-34p.

33) Atiet , D, et Saidani, N. (2019). Effets du stress salin sur la germination de quelques variétés introduites du quinoa (*Chenopoduim quinoa*) et évaluation de certains indicateurs biochimiques de stress. master biochimie appliquée. sciences.45p.

34) Aworet, S, R, R. (2003). contribution a l'étude phytochimique d'une plante traditionnellement utilisée comme poison d'épreuve au gabon . Le strychnos icaja baillon (Mbundu). loganiacée. thèse de doctorat en pharmacie. universite de bamako, faculte de medecine . 87p.

35) Azzi, R. (2013). contribution a l'étude de plantes médicinales utilisées dans Le traitement traditionnel du diabète sucre dans l'ouest algérien. enquête ethno pharmacologique. analyse pharmaco-toxicologique de figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrulluscolocynthis*) chez le rat wistar. thèse de doctorat. universite abou bekr belkaid tlemcen .179p.

36) Bhargava , A , Shukla , S , Ohri, D . (2005) . *Chenopodium quinoa* an indian perspective . industrial crops and products, 23 (1). 87p.

37) Bhargava, S, Shilpi, A. (2011). QUINOA Botany, Production and Uses. 247p.

38) Bazile, D, Carrié C, Vida A, Negrete J. (2019). Modélisation des dynamiques spatiales liéesàla culture du quinoa dans le Nord chilien. modelisation of spatial dynamice linked to the cultivation of quinoa in northern chile. 15p.

39) Bojanic, A .(2011) . Quinoa an ancient crop to contribute to world food security. Regional Office for Latin America and the Caribbean. America. 13p.

40) Boukri, N, H. (2014). contribution a l'étude phytochimique des extraits bruts des epices contenus dans le mélange ras-el-hanout. thème master academique. université kasdi merbah .ouargla. 99 p.

41**) Carmen, D, Mahy, G, Thierry, T .(2008) .** La quinoa en bolivie une culture ancestrale devenue culture de rente " bio-équitable. 421-435p.

42) Denat.F. (2010). Chromatographie. Alain Savary Dijon. 41 p.

43) Denat, F. (2010). Chromatographie. Alain Savary Dijon. 41 p.

44) Djemai, S . 2009. etude De l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus Lotus L* . thèse magister. université el hadj lakhder .batna.61 p.

45) Edif, Z, S. (2013). descripteurs pour le quinoa et ses espéces sauvages apparentées. 56-82 p.

46) Fares, F. (2009). synthèse et caractérisation des nouvelle molécules a effet thérapeutique contenant des ligands (Base de chiffe) mémoire magister des sciences de l'ingenieur. université ferhat abbas .Setif. 89 p.

47) Francis, R, Annick, R. (2007). chemical analysis modern instrumentation methods and technique. 600 p.

48) FAO. (2011). Quinoa An ancient crop to contribute to world food security.Latin America and the Caribbean. 3-14 p.

49) Johnson, R. (2007). exercise in column and thin-layer chromatography Davie. 84 p.

50) Hamza, B. (2010). modèle prédictif du facteur de capacité de phénols séparés par HPLC-PI avec une phase mobile méthanol-eau. mémoire magister. université badji mokhtar. annaba. 68 p.

51) Harborne, J, b. (1998).phytochemical methods. a guide to modern techniques of plants analysis. third edition.springer netherlqnds. 302p.

52) Herbillon, M. (2015). Intérêt nutritionnel et perspectives pharmaceutiques. Thèse doctorat en pharmacie. Université de rouen u.f.rde médecine et de pharmacie. France. 27-50 p.

53) ITDAS. (2017). institut technique pour le développement agricole de la saharienne

54) **Lebonvallet, S. (2008).** implantation du quinoa et simulation de sa culture sur l'altiplano bolivien. thèse de doctorat, agro paris tech. france.125p.

55) Matiacevich, S, Castellion, M, Maldonado, B, Buera, M. (2006). water dependent thermal transitions in q uinoa embryos.Thermochimicaacta. 488p.

56) Mendham, *et al.* (2005). analyse chimique quantitative de vogel. bibliotheque natoinale. Paris. 889 p.

57) Ramiro, A, C .Guillermo D M .Krasimir D .(2015). Optimization of antioxidant phenolic compounds extraction from quinoa (*Chenopoduim quinoa*) seeds. Journal of food science and technology. 52(7): 4396-4404

58) Repo-Carrasco-Valencia R, Hellström JK, Pihlava JM, Mattila PH (2010) Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). Food Chem 120:128–133

59) Sandie, L. (1992). high performance liquid chromatography. thames polytechnic. London. UK. 360 p.

60) Sandrine, F, M. (2005). etude phytochimique et des activités biologiques de *MaeruaangolensisDc*. (Capparidaceae). these doctorat en pharmacie. facultede medecine. de pharmacie et d'odonto stomatologie. Bamako mali.149 p.

61) Sajjad, M, U, Miller-Fleming, L, Hands, S, Herrera , F, Compesan, S

Khoshnan, A, Outeiro, T, F, Giorgini, F, Wyttenbach, A.(2014).modulates aggregation and pathogenesis in models of huntingtons disease.755-766 p.

62) Sosa, Z, Brito, V, Fuentes, F, steinfort, U.(2014). phonological growth stages of quinoa (*Chenopodium quinoa*) based on the BBCH scale. Brazil. 8 p.

63) Temidayo A, R. (2013). Extraction and Isolation of Flavonoids Present in The Methanolic Extract of Leaves of *Acanthospermum hispidiumdc*. *global journal of medicinal plant research*, **1**(1): 111-123.

64) Jacobsen, Stolen, O. (1993). quinoa-morphology,phenology and prospects for its production as a new crop in europe. 307-314 p.

65) Trease, G, E, Evans, W, C. (1989).pharmacognosy. 11th edition, bailliere tindall, London. 45-50 p.

66) Valencia, S, Chamorro, A. (2003). quinoa in caballero b encyclopedia of food sience and nutrition. academic press amsterdam. pp. 4902-4895.

المواقع بالانترنت:

Site1:

http://www.omafra.gov.on.ca/CropOp/fr/field_grain/spec_grains/quin.html

Site(02). http://www.waterfiltermediasupplier.com

Site(03).arabsciencepedia.org.

Site(04). https://arabian-chemistry.com/

Site(05). https://egyresmag.com/

Site (6):

https://www.google.com/maps/place/Oum+Thiour/@34.2162038,5.083912,14344 7m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x125f70e424e6df37:0xa8572c0a646c5e7b!8m2! 3d34.152084!4d5.8354076

الملاحق

1: الاجهزة و الادوات المستعملة

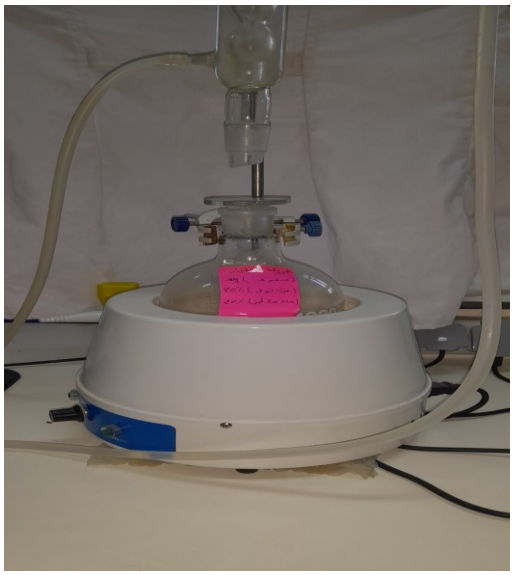
انابيب اختبار	ورق ترشيح
حامل انابيب	جهاز التسخين
مقص	جهاز التكثيف
ورق المنيوم	حاضنة
ميزان عادي	بياشر
ميزان حساس	جهاز التبخير الدوراني
سحاحة	حمام مائي
قمع	ورق كروماتوغرافياCCM
جهازاشعة فوق البنفسجية (uv254,uv 356)	حوض الفصل

02 :المحاليل والكواشف المستعملة:

ميثانول	كلورفورم	حمض كلور الماء
ايثانول	Nبوتانول	مغنزيوم
كاشف داجندروف	حمض الكبريتيك المخفف	محلول فهلينج
كاشف وانر	حمض الكبريتيك المركز	محلول كلوريد الحديد الثلاثي
كاشف ماير	الايثر	حمض خليك اللامائي
هكسان	ثنائي كلور الميثان	ماء مقطر
خلات الايثيل	كحول الاميلي	الامونياك
حمض الغاليك	الكاتيشيك ,كريستين	حمض التانيك

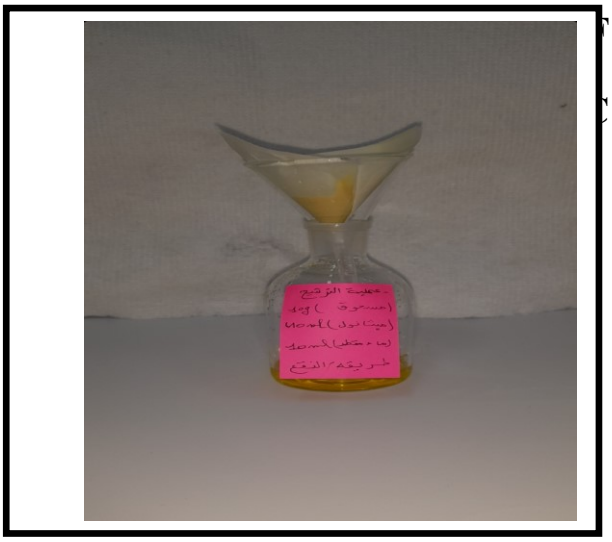
3: صور المستخلصات والاجهزة المستعملة :

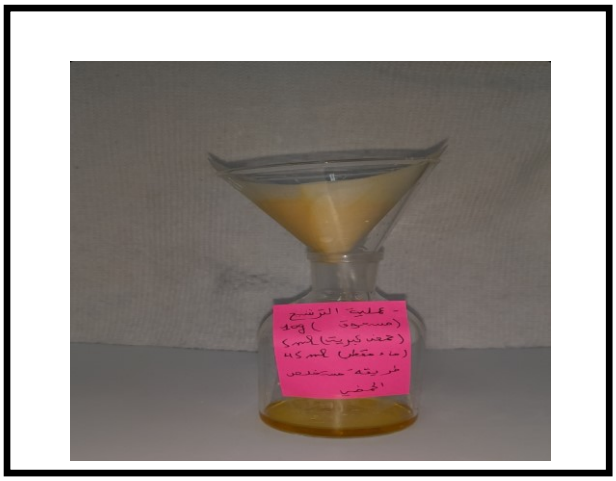
الوثيقة 01: جهاز المكثفة



الوثيقة 02:جهاز الحاضنة

4 - المستخلصات :





الوثيقة 04: جهاز التبخير الدوراني

الوثيقة 05: جهاز كروماتغرافياHPLC