



رقم الترتيب:

رقم التسلسل:

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمدة لخضر الوادي

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا

مذكرة تخرج

لنيل شهادة ماستر أكاديمي

ميدان: علوم الطبيعة وحياة

شعبة: علوم بيولوجية

تخصص: التنوع الحيوي وفيزيولوجيا النبات

الموضوع

دراسة الفعالية الكيميائية والتقدير الكمي للفينولات والفلافونيدات

للجزء الهوائي لنبات السعد البني *Cyperus Fuscus L*

اشراف الأستاذ:

من إعداد:

سنيقرة موسى

ز غيدي حفصة

طبال يمينية

لموسخ لمياء

مازوزي جميلة

نوقشت من طرف لجنة المناقشة:

حمادة سمرة	أستاذ محاضر (أ)	رئيسا	جامعة الوادي
شنه عدالة	أستاذ مساعد (أ)	مناقشا	جامعة الوادي
سنيقرة موسى	أستاذ مساعد (أ)	مؤطرا	جامعة الوادي

الموسم الجامعي: 2022/2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

شكر وتقدير

الحمد لله سبحانه حمدا يوافي جلال وجهه، وعظيم سلطانه ووفير نعمه نحمدك الله على إعانتك، وتوفيقك لنا لإنجاز وإتمام هذا العمل.

الحمد والشكر لله الذي هدانا سبيل الرشاد وألهمنا من العلم والعمل ما يشد أزرنا في هذه الحياة،

بأسمى معاني التقدير والاحترام نتقدم بالشكر الجزيل لمن كللهم الله بالهيبة والوقار ولمن سهروا معنا الليالي ولمن كانت

دعواتهم سبب وصولنا مقامنا هذا للوالدين الكريمين.

يجدر بنا في هذا العمل أن نتقدم بالشكر الجزيل والامتنان وعظيم العرفان إلى أستاذنا الفاضل **سنيقرة موسى** لقبوله وتحمله

أعباء الإشراف على عملنا هذا وتوجيهه ونصحه لنا، كما نشكره لرحابة صدره ومعاملته الطيبة وتحمله لنا، جزاه الله عنا خير

جزاء.

والشكر موصول لكل أساتذتنا الكرام كل واحد باسمه الذي فتحوا لنا درب البحث والتعلم في مشوارنا الدراسي من أول

الطريق لأخره، ولكل معلم بدل جهده في تعليمنا وأعطانا ما مجوزته من دروس ونصائح لتنوير وفتح سبل العلم والمعرفة لنصل إلى

ما نحن الآن عليه اليوم ولا ننسى أساتذة المخبر لكلية علوم الطبيعة والحياة على مساعدتهم لنا خاصة الأستاذة غرايسة نورة

والأستاذ عمر أعانه الله والأستاذ بلحبيب عبد الحميد، شرادة نزار.

كما لا ننسى الزملاء والأصدقاء وكل من مد لنا يد العون من قريب أو بعيد.

والشكر الخاص لعمال كلية علوم الطبيعة والحياة كل واحد باسمه وكما لا ننسى دفعة ماستر 2022.

**ربي أوزعني أن أشكر نعمتك التي أنعمت عليا وعلى والدي وأن أعمل صالحا ترضاه وأدخلني برحمتك في عبادك

الصالحين** (النمل-19).

الاهراء

بسم الله الرحمن الرحيم

(وقل اعملوا فسيرى الله عملكم ورسوله والمؤمنون)

صدق الله العظيم

إلى من بلغ الرسالة وأوى الأمانة ونصح الأمة.. إلى نبي الرحمة ونور العالمين.. سيرنا محمد صلى الله عليه وسلم.. إلى من جرح الكأس فارغا ليسقيني قطرة الحب إلى من كنت أنامله ليقدم لي لحظة السعادة إلى من كلله الله بالهبة والوقتار، إلى من علمني العطاء بدون انتظار، إلى من عمل اسمه بكل افتخار إلى القلب الكبير...

أبي العزيز • خليفة •

إلى من كان وعاءها سر نحاسي وحنانها بلسم جراحي، إلى بسم الحياة وسر الوجود، إلى من أرضعتني الحب والحنان والطيبة إلى رمز الحب وبلسم الشفاء إلى القلب الناصع البياض إلى نبع الحنان التي الجنة تحت أقدامها...

أمي الحبيبة • حياة •

إلى من بوجودها اكتسبت قوة ومحبة لا حرو لها إلى من عرفت معها معنى الحياة... أختي حبيبتي ويري • مباركة •

إلى من حبهم يجري في عروتي ويلهج بذكرهم فؤادي إلى سنري وعزوتي في الحياة...

إخوتي • صديق، عماو، عيسى، خالد •

إلى زوجة أخي العزيزة • آية • و ابن أخي الغالي • خليفة • فرحة بيتنا اللهم أحفظه لنا واجعله من حفظة القرآن إن شاء الله.

إلى من سرنا سويا ونحن نشق الطريق نحو النجاح والابراج إلى من تكاتفنا يدا بيد ونحن نقطف زهرة نجاحنا إلى أخواتي هناء، عبيرة،

منى وإلى صديقاتي وزميلاتي لياء، سيمنة، جميلة، زينب.

إلى أختي خاليتي رفيقة حياتي • مسعووة •.. إلى أحلى صديقات أهرتني إياهم الحياة إلكرام، رنة، سوسو، صابرين.

إلى من علموني حروفا من فهب وكلمات من وررو عبارات من أسمى وأجلى عبارات في العلم إلى من صاغولي علمهم حروفا ومن

نقروهم منارة تنير لنا سيرة العلم والنجاح إلى.. أساتذتي الكرام.. إلى من أحببتهم وأحبوني.. إلى تركوا بصمة في حياتي.. زغيري سميرة،

توتية هميرة رحمها الله، حجاج بشرى، باوية زاهية، سلامي خنساء، بووراح محمد، جنيري حسن، سمير قريط، قرقازي فاطمة، بن علي

ضاوية، رفاي زينب.

والى كل عائلة زغيري... إليكم جميعا شكرا وألف شكر • حفصة •

الاهراء

بسم الله الرحمن الرحيم

(قل اعملوا فسمي الله عملكم ورسوله والمؤمنون)

صدق الله العظيم

إلهي لا يطيب الليل إلا بشرك ولا يطيب النهار إلا بطاعتك.. ولا تطيب اللحظات إلا بذكرك.. ولا تطيب الآخرة إلا بعفوك..

ولا تطيب الجنة إلا برويتك * الله جل جلاله *

إلى من بلغ الرسالة وأوى الأمانة.. ونصح الأمة.. إلى نبي الرحمة ونور العالمين * سيرنا محمداً صلى الله عليه وسلم *

إلى من كلله الله الهيبة والوقار.. إلى من علمني العطاء برون انتظار.. إلى من أعمل اسمه بكل افتخار.. أرجو من الله أن يمر بي عمرك

لترى ثماراً قرحان تظافها بعمر طول انتظار وستبقى كلماتك نجوم أتهري بها اليوم وفي الغد وإلى الأبد..... * أربي العزيز *

إلى ملائكتي في الحياة.. وإلى معنى الحب ومعنى الحنان والتفاني.. إلى بسمه الحياة وسر الوجود إلى من كان وعائها سر نجاحي وحنانها

بلسم جراحي إلى أغلى الحبايب..... * أسي الغالية *

إلى نسيم العشق والرياح ومصرر الوفاء إلى من وقف بجانبني خلال مسيرتي الدراسية وكان لي خير سنر * زوجي المستقبلي ☐

أُنور ☐ * كما لا أنسى عائلته.

إلى سنر الحياة وظلها وعزها..... إخوتي: عبد الرزاق، عبد الكريم، أحمد رامي.

إلى فرح الحياة ونورها وزينتها.. إلى من حبهم يجري بعروتي ويلهم بذكرهم فؤادي (أخواتي: نجاة، مليكة، جوهرة، خريجة، سهيلة،

صليحة، ابتسام، سارة، وكناكيت قلبي: نورهان، صابرینال، عبد النور، علاء الدين، عبد الحمير، نورهان الصغيرة.

إلى من سرنا سودا ونحن نشق الطريق نحو النجاح والإبداع إلى من تكاثفت معهم ير بير ونحن نقطف زهرة نجاحنا صريقات الرب:

جميلة، ثناء، حفصة.

إلى من علمني حرفاً فصرت له عبداً خلال مسيرتي الدراسية أستاذتي الكرام كل واحد باسمه بالأخص أُمي (الثانية: وليلة بن جلول.

إلى كل أعراء وأحباء قلبي وإلى أصدقاء الدراسة كل واحد باسمها إلى كل من حفظهم قلبي ونسيم قلبي.

أهدي هذا العمل المتواضع.

أُمينة *

الاهراء

بسم الله الرحمن الرحيم والصلاة والسلام على أشرف المرسلين محمد صلى الله عليه وسلم.

برينا بأكثر من ير وقاسينا أكثر من هم وعانينا الكثير من الصعوبات وهاتين اليوم والحمد لله تطوي سهر الليالي وتعب الأيام
وخلصة مشوارنا بين وفتي هذا العمل المتواضع الذي عمل معه أعمل وأعزب الزكريات التي تبقى محفورة في قلبي قبل عقلي إلى
التي غرتنا من حنانها، الينبوع الذي لا يعمل العطاء إلى من حالت سعاوتي بخيوط منسوجة من قلبها، والتي وعت لنا في كل رعدة من
صلاتها، أُمي الحبيبة فزاعي مسعووة أطال الله في عمرها.

-إلى الرجل المكافح الذي علمني كيف أعتز بنفسي، إلى من سعى وشقي لأنعم بالراحة والهناء الذي لم يبخل بشيء من أجل وفني في
طريق النجاح، الذي علمني أن أرتقي سلم الحياة بحكمة وصبر إلى والذي العزيز عبق اللطيف لوسخ أطال الله في عمره.
-إلى نفسي التي واجهت عواصف الخلل...وأعاصير النفاق. وتكبرت تعب الطريق وجهه البحث.... إلى أنا القوية والشجاعة
والبريرة.

-إلى من حبهم يجري في عروتي ويلهج بذكرهم فؤاوي إلى سنري في الدنيا ولا أخصى لهم فضل اخواني

ياسمينه، شيماء، فؤاد، يعقوب.

-إلى من شجعتني على مواصلة المسيرة العلمية، إلى رفيقة وربيبسي صابرينه.

-إلى من سرنا سويًا ونحن نشق الطريق معًا نحو النجاح والابرام صديقًا لآلات المشوار كل وحرة باسمها أمينة، حفصة، جميلة.

-إلى من سكنوا قلبي ونسبهم قلبي ولم تتسع لهم هذه الورقة، إلى أساترتنا الكرام وطلبة السنة الثانية ماستر بيولوجيا وتسمين النبات

إلى كل من يفكر ويبحث للارتقاء بالعلم في كل مكان أهري هذا الجهر المتواضع.

❦ ليا. ❦

الافراء

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ وَالصَّلَاةَ وَالسَّلَامَ عَلَى أَشْرَفِ الْأَنْبِيَاءِ وَالرُّسُلِينَ الْحَمْدُ لِلَّهِ عَمَّا كَثُرَ لَا يَلِيْقُ بِعِظَةِ سُلْطَانِهِ وَجَلَالِ

وجهه، الحمد لله الذي فتح لي أبواب النجاة ورسم لي الطريق وعرضني عما فاتني.

شكرا للعشرات التي واجهتها في طريقي، شكرا لكل من غرس في قلبي عبارات اليأس والإحباط والفشل، فلم تزروني إلا

إصرار وعزيمة وعلمتني أن السقوط بريادة النجاح.

إلى قوتى الأولى ونبراسي الذي ينير وربي، إلى من سعى وشقى لننعم بالراحة والهناء وروض لي الصعاب وغرس في

طريقي الأمل، إلى من وفّعي في طريق العلم والنور، إلى من رفعت رأسي عالياً (افتخاراً) باسمه

والدري الغالي "مازوزي العيدر"

إِلَى الَّتِي رَأَيْتُ قَلْبَهَا قَبْلَ عَيْنَيْهَا وَحَضَنْتُنِي أَحْشَاءُهَا قَبْلَ يَدَيْهَا إِلَى الَّتِي سَهَرَتِ اللَّيَالِي وَتَعَبَتْ مِنْ أَجْلِ أَنْ أَنْعَمَ بِالرَّاحَةِ

إلى وروتي التي لا تنزل فكل الكلمات لا توافيكي حقك يا شمعة حياتي

أُمِّي الحبيبة "مروف أم السعد"

إلى نسيم العشق والريحان ومصير الوفاء إلى من وقف بجانبى خلال مسيرتى (الرئاسة) وكان لي خير سندر

"بدرالدين بن موسى"

إِلَى مَنْ جَبَّهَهُمْ بِجَنَّتِي فِي عَرُوقِي إِلَى سُنْدِي وَعُزُوتِي فِي هَذِهِ الْحَيَاةِ إِخْوَتِي حَفْظُهُمُ اللَّهُ

زَيْمَةٌ، جَمَالٌ، عَبِيرٌ، سَعِيرٌ، مُحَرَّرٌ، خَضِرٌ، لُزْهَرٌ^{١٠}

إِلَى مَنْ سَرَّنَا سِرِّيَا نَقُطِفُ رَحِيْقَ الْأُسَلِّ وَالنَّجَاجِ إِلَى مَنْ جَمَعْتَنِي بِهِمْ أَجْعَلُ لِحَظَاتِ عَمْرِي

" صریقاتی الغایات "

إِلَى مَنْ عَلَّمُونِي حُرُوفًا مِنْ ذَهَبٍ وَكَلِمَاتٍ مِنْ وَرَرٍ إِلَى مَنْ صَاغُوا لِي عِلْمَهُمْ حُرُوفًا وَفَتَرَهُمْ مَنَارَةً تَنِيرُ لِي مَسِيرَةَ الْعِلْمِ

والنجاح

إلى أستاذتي الكرام أهدى هذا العمل المتواضع راجية من المولى عز وجل التوفيق والسداد.

فهرس المحتويات

.....	شكر وتقدير
.....	فهرس المحتويات
.....	قائمة الجداول
.....	قائمة الأشكال
.....	قائمة المختصرات
.....	الملخص
1.....	مقدمة

الجزء النظري

الفصل الأول: دراسة شاملة حول النبات

5.....	مدخل:
5.....	1- العائلة السعدية: Cyperaceae
5.....	1-1- أجناس العائلة السعدية: Cyperus
6.....	1-1-1- الموجودة داخل الوطن العربي
9.....	1-1-2- خارج الوطن العربي:
10.....	2- دراسة حول نبات السعد البني <i>Cyperus Fuscus</i> L
10.....	2-1 التصنيف النباتي:
11.....	2-2 الوصف المرفولوجي لنبات السعد البني <i>Cyperus Fuscus</i> L
12.....	2-3 - الانتشار الجغرافي لنبات السعد البني: <i>Cyperus Fuscus</i> L
13.....	2-4 - الأهمية الطبية لنبات السعد البني:
13.....	2-4-1: استعمالات الطب التقليدي لنبات السعد البني:
14.....	2-4-2: فوائد نبات السعد البني
15.....	2-5- دراسات حول نبات السعد البني:

الفصل الثاني

تعريف مواد الأيض الثانوي

17.....	1- مركبات الأيض الثانوي:
---------	--------------------------

17	1-1-1- التانينات Les Tanins
17	1-1-1- أهمية التانينات:
18	1-2- القلويدات:
19	1-3- الفلافونيدات
20	1-3-1- أهمية الفلافونويدات
20	1-3-2- النشاطية الحيوية للفلافونويدات
21	1-3-3- التأثيرات المضادة للأكسدة للفلافونويدات ومصدرها
22	1-4- اصناف المركبات الفينولية
22	1-4-3- الأحماض الفينولية
23	1-5- الصابونوزيدات

الفصل الثالث

تعريف الفعالية المضادة للأكسدة DPPH و FRAP

25	1- الاجهاد التأكسدي:
25	1-1- تعريف الجذر الحر:
26	1-2- أنواع الجذور الحرة
26	1-2-1- على أساس الاستقرار
26	1-2-2- على أساس النوع
27	1-3- مصادر الجذور الحرة
27	1-4- طرق تفاعلات الجذور الحرة
28	1-5- أضرار الجذور الحرة
29	2- مضادات الأكسدة
29	2-1- تعريف مضادات الأكسدة وأنواعها
29	2-2- آلية عمل مضادات الأكسدة
30	2-3- طرق تقدير النشاطية المضادة للأكسدة
30	2-3-1- اختبار مركب (DPPH') (2, 2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

2-3-2-اختبار القدرة الارجاعية للحديد (FRAP) (FerricReducuingAntioxidant

31.....power)

31.....ABTS اختبار 3-3-2

الجزء التطبيقي

34.....1-الموقع الجغرافي لمنطقة وادي سوف

34.....2- تحضير العينة

34.....1-2- الطرق المستعملة لتحضير العينة

35.....3- في المخبر

35.....1-3- وقت الاستخلاص:

35.....2-3- الاستخلاص

35.....1-2-3- الاستخلاص بالمذيبات:

36.....2-2-3- الاستخلاص بالنقع (صلب-سائل) (macération):

36.....3-3- طريقة الاستخلاص

37.....4-3- طريقة الترشيح:

39.....5-3- المردود

40.....4-الكشف عن المواد الفعالة لنبات السعد البني (الدراسة الفيتوكيميائية)

40.....1-4- اختبار الكشف عن القلويدات:

40.....2-4- اختبار الكشف عن الفلافونيدات:

40.....3-4- اختبار الكشف عن التانينات (العفصيات):

41.....4-4- اختبار الكشف عن الستيرويدات الغير المشبعة التربينات:

41.....5-4- اختبار الكشف عن الصابونوزيدات:

41.....6-4- الأدوات والوسائل المستعملة:

42.....5- نتائج اختبار الكشف عن المواد الفعالة لنبات السعد البني (الدراسة الفيتو كيميائية):

45.....6-التقدير الكمي لنبات السعد البني:

45.....1-6- الأدوات والوسائل المستعملة:

45.....1-1-6- التقدير الكمي لعديدات الفينول

47	6-1-2 مراحل معايرة عديدات الفينول (شرادة، عوادي م، 2019).....
47	6-1-3- التقدير الكمي للفلافونيدات.....
48	6-1-4- مراحل معايرة الفلافونيدات (شرادة، عوادي م، 2019).....
49	6-2- نتائج التقدير الكمي:.....
49	6-2-1- التقدير الكمي لعديدات الفينول.....
50	6-2-2- التقدير الكمي للفلافونيدات.....
51	7- تقدير الفعالية المضادة للأوكسدة.....
51	7-1- اختبار تثبيط الجذر الحر: DPPH.....
53	7-2- نتائج تقدير الفعالية المضادة للأوكسدة:.....
53	7-2-1- اختبار الجذر الحر:.....
56	7-3- اختبار القدرة الارجاعية FRAP.....
60	الخلاصة:.....
61	الخاتمة.....
64	قائمة المصادر والمراجع.....

قائمة الجداول

10.....	جدول (1): التصنيف العلمي لنبات السعد البني <i>Cyperus Fuscus L</i>
18.....	جدول (2): أقسام القلويدات (العابد، 2009).
19.....	جدول (3): بعض أقسام الفلافونويدات (باز، 2006).
22.....	جدول (4): بعض أصناف المركبات الفينولية 11.....
35.....	جدول (5): الأدوات، المحاليل والأجهزة المستعملة وقت الاستخلاص
39.....	جدول (6): يوضح مردود الاستخلاص %
	جدول (7): يوضح الأدوات، المحاليل، والكواشف والأجهزة المستعملة في الكشف الكيميائي عن مواد الأيض الثانوي عند نبات السعد البني.....
42.....	جدول (8): يوضح نتائج اختبار الكشف عن المواد الفعالة لنبات السعد البني.....
43.....	جدول (9): الأدوات، والمحاليل، والأجهزة المستعملة.....
45.....	جدول (10): قيمة الامتصاصية الضوئية للمستخلص.....
49.....	جدول (11): كمية عديدات الفينول للمستخلص.....
50.....	جدول (12): قيم الامتصاصية الضوئية للمحلول المحضر.....
50.....	جدول (13): كمية الفلافونيدات للمستخلص.....
51.....	جدول (14): يوضح تراكيز المحاليل المخففة المحضرة للمستخلص.....
52.....	جدول (15): يوضح تراكيز المحاليل المخففة المحضرة للمستخلص.....
53.....	جدول (16): قيمة IC_{50} لمستخلص ايثانول -ماء وحمض الاسكوربيك $\mu g/\mu l$
56.....	جدول (17): قيمة الامتصاصية الضوئية للمحلول المحضر:.....
58.....	جدول (18): كمية ال FRAP للمستخلص.....

قائمة الأشكال

- الشكل (1): صورة توضح نبات السعد البني *Cyperus Fuscus* 6
- الشكل (2): صورة لنبات السعد الأرمـد *Cyperus glaber* 6
- الشكل (3): صورة لنبات السعد الرئيسي *Cyperus capitatus* 7
- الشكل (4): صورة لنبات السعد الطويل *Cyperus longus* 7
- الشكل (5): صورة لنبات السعد المستدير *Cyperus rotundus* 8
- الشكل (6): صورة لنبات السعد اللذيذ *Cyperus esculentus* 8
- الشكل (7): صورة لبذور السعد اللذيذ *Cyperus esculentus* 8
- الشكل (8): صورة لنبات السعد الميشيلي *Cyperus michelianus* 9
- الشكل (9): صورة توضح أجزاء نبات السعد البني (جذور، ساق، أزهار، ثمار، بذور) 12
- الشكل (10): صورة توضح الانتشار الجغرافي لنبات السعد البني *Cyperus Fuscus L* 13
- الشكل (11): الجذر الحر 'DPPH' 30
- الشكل (12): تحول الحديد الثلاثي إلى الحديد الثنائي 31
- الشكل (13): صورة وزن 35 غ من النبات 37
- الشكل (14): صورة وضع المزيج في جهاز الرج المغناطيسي 37
- الشكل (15): صورة توضح ترشيح النقيع 38
- الشكل (16): مخطط يوضح مراحل استخلاص نبات السعد البني 38
- الشكل (17): صور توضح تشكل مادة صلبة بعد عملية التبخر 39
- الشكل (18): مراحل معايرة عديدات الفينول 47
- الشكل (19): مراحل معايرة الفلافونيدات 48
- الشكل (20): منحني يمثل التقدير الكمي لعديدات الفينول ل *Acide Gallique* للجزء الهوائي لنبات السعد البني 49
- الشكل (21): منحني يمثل التقدير الكمي للفلافونيدات لمحلول الكريستين 50
- الشكل (22): منحني يمثل نسبة ارجاع مستخلص الايثانول – ماء لجذر DPPH 54
- الشكل (23): منحني يمثل نسبة ارجاع حمض الاسكوربيك لجذر DPPH 55
- الشكل (24): منحني قياسي لحمض الاسكوربيك المعتمد في اختبار القدرة اارجاعية للحديد FRAP. 58

IC₅₀ : Concentration permettant d'inhiber 50% du radical DPPH.

DPPH: Diphenyl-1-picrylhydrazyl 2,2.

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant power.

H₂O₂ : Hydrogène peroxyde.

FeCl₃ : chlorure de fer.

O₂: Superoxide anion.

Balbutiated hydroxyl anisole.

BHT: Butylated hydroxyl toluene.

Vit.C: Vitamine C

Vit.E: Vitamine E

الملخص

من اجل تـمـيـن الغـطاء النباتي لمنطقة الوادي قمنا بدراسة الفعالية البيولوجية والكيميائية للجزء الهوائي لنبات السعد البني *Cyperus fuscus L*.

تضمنت الدراسة الكشف الكيميائي عن وجود الصابونيات، الفلافونيدات، الستيرويدات الغير مشبعة والترينينات والعفصيات وغياب القلويدات. كما تم التقدير الكمي لعدد الفينول بالنسبة لمستخلص ايثانول- ماء حيث و قدرت بقيمة 67.49mg/g، أما بالنسبة للفلافونيدات قدرت عند مستخلص ايثانول - ماء 31.55 mg/g في التركيز 0.5mg/ml.

و من خلال نتائج تقدير النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص ايثانول- ماء للجزء الهوائي للنبات باستعمال اختبار DPPH بينت النتائج إن قيمة IC_{50} للمستخلص ايثانول- ماء قدرت ب 120.20µg/mL، أما لمزيج حمض الاسكوربيك قدرت ب 63.87µg/mL.

و في اختبار القدرة الارجاعية للحديد FRAP، قدرت قيمة الامتصاصية الضوئية عند المستخلص ايثانول- ماء (2/8) ب 0.64 و قيمة FRAP ب 52.36µg/ml.

الكلمات المفتاحية: *Cyperus fuscus L*، الاستخلاص، التقدير الكمي لعدد الفينول والفلافونيدات، مضادات الأكسدة.

Résumé

Afin d'évaluer la couverture végétale de la zone de la vallée, nous avons étudié l'activité biologique et chimique de la partie aérienne de la plante brune Saad, *Cyperus fuscus L*.

L'étude comprenait la détection chimique de la présence de saponines, de flavonoïdes, de stérols insaturés, de terpènes, de tanins et l'absence d'alcaloïdes. La détermination quantitative des polyphénols pour l'extrait éthanol-eau a été estimée à 67,49 mg/g, tandis que pour les flavonoïdes, elle a été estimée à 31,55 mg/g d'extrait éthanol-eau à une concentration de 0,5 mg/ml.

Et à travers les résultats de l'estimation de l'activité antioxydante de l'extrait éthanol-eau de la partie aérienne de la plante à l'aide du test DPPH, les résultats ont montré que la valeur IC_{50} de l'extrait éthanol-eau était de 120,20 µg/mL, tandis que pour l'ascorbique mélange acide, elle a été estimée à 63,87 µg/mL.

Et dans le test FRAP, la valeur d'absorbance optique de l'extrait éthanol-eau (8/2) a été estimée à 0,64 et la valeur FRAP a été estimée à 52,36 µg/ml.

Mots clés : *Cyperus fuscus L*, extraction, quantification des polyphénols et flavonoïdes, antioxydants..

مقدمة

منذ وجود الإنسان على سطح الأرض، عرفت أساليب العلاج بالنباتات والأعشاب الطبية وذلك لأهمية هاته الأخيرة، حيث كانت جميع الأمراض والآلام تعالج بالأعشاب مما أدى إلى الاجتهاد لجمع وتصنيف النباتات ودراسة خصائصها رغم التقدم الملحوظ في الطب الحديث في العقود الأخيرة، و بفضل تقدم العلم والتكنولوجيا السريع استطاع الإنسان تدريجيا الاستغناء عن النباتات والأعشاب في العلاج واستبدالها بالأدوية والعقاقير الكيميائية (رهوانويساري، 2008)، ورغم ذلك فانه في الوقت الحاضر استطاعت الأعشاب تحقيق المكانة اللائقة بها حيث لازالت مصدرا مهما، بعدما أصبحت المعالجة النباتية قائمة على أسس علمية، و الجدير بالذكر أنها تكون على شكل مستحضرات تقليدية ومواد فعالة نقية (فلافونيدات، تربيناتوكومارينات وغيرهم وبالتالي تكون لها عدة استطبابات في أن واحد (شروانة، 2007).

إن الأدوية عند دخولها للجسم لا يقتصر تأثيرها على الخلايا المصابة فقط بل تؤثر على عدة أعضاء سليمة ومصابة في آن واحد. ويؤدي هذا التأثير إلى تراكم تلك المواد الصيدلانية وكذلك نواتج استقلالها داخل الجسم مما يسبب اضطرابات في المسارات الاستقلابية (عمراني، 2013).

إن وظائف جسم الإنسان ترتبط بتفاعلات الأكسدة والإرجاع التي تؤدي إلى إنتاج الأنواع الأكسجينية النشطة ومضادات الأكسدة الطبيعية فالتوازن بين إنتاج هذه الجزيئات والتخلص منها يضمن الحفاظ، إلا أن الإفراط في إنتاجها يؤدي إلى أضرار على المستوى الجزيئي مسببا ضرر الأنسجة وحدوث العديد من الأمراض، ويمكن حماية (Ozgen et al, 2006) على الوظائف الفيزيولوجية الطبيعية للجسم من أضرار هذه الجزيئات عن طريق مضادات الأكسدة والتي تستعمل بكثرة كإضافات في الأغذية أو كإشكال صيدلانية مختلفة (بن سلامة، 2012).

والجزائر بلاد تمتاز بمساحة شاسعة وتضاريس مناخية متعددة وتنوع أقاليمها المناخية مما نتج عن ذلك تنوع في البيئات النباتية وتدرجها من الغابات الرطبة الكثيفة إلى النباتات الجافة الصحراوية وما لا يقل عن 3500 نوعا من النباتات من بينها ما يقارب 500 نوعا متداول بين الأهالي في الطبابة ومعروف لدى السكان. ومن هذا المنطلق ارتأينا في هذا البحث إلى دراسة إحدى نباتات الجزائر الطبية والتي تعرف باسم السعد البني *Cyperus fuscus L* النامي بالعرق الشرقي والمعروف منذ القدم باستعمالاته الطبية الفعالة المختلفة. والهدف من هذه الدراسة هو تحديد المواد الفعالة والفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصات النبات ومنه نتطرق للتساؤل عن: ما هي الفوائد الطبية الموجودة من هذه النبتة؟

ومنه اشتمل البحث على مقدمة وبابين (جزء نظري وجزء تطبيقي):

الجزء النظري: فيضم ثلاثة فصول.

الفصل 1: دراسة شاملة حول النبات.

الفصل 2: تعريف مواد الايض الثانوي.

الفصل 3: تعريف الفاعلية المضادة للأكسدة DPPH و (FRAB).

الجزء التطبيقي: وتمت فيه: الكشف عن المواد الفعالة في هذه النبتة.

● التقدير الكمي للفينولات والفلافونيدات.

● دراسة الفاعلية المضادة للأكسدة DPPH.

● دراسة القدرة الارجاعية FRAP.

الجزء النظري

الفصل الأول

دراسة شاملة حول النبات

مدخل:

تعتبر النباتات الطبية مصدرا أساسيا لصحة الإنسان ولا تزال العديد من الثقافات التقليدية تثمن الوصفات الطبية النباتية وأهميتها الوقائية والعلاجية ومنافعها الأخرى. والنباتات الطبية هي المصدر الرئيسي للعقاقير النباتية التي تدخل في تحضير الأدوية على شكل خلاصات أو مواد فعالة أو مواد خام لإنتاج بعض المركبات الكيميائية (العابد ا، 2009).

1- العائلة السعدية: Cyperaceae

Cyperaceae هي عائلة نباتات كاسيات البذور أحادية الفلقة، وهي واحدة من أكبر 10 عائلات من كاسيات البذور وهي الثانية ضمن ترتيب، تم تصنيفها سابقاً في الترتيب باستخدام الحمض النووي (2007)، (Govaerts *et al*).

السعد في اللغة يطلق على النوع الذي يمتلك درنات سوداء تحت الأرض والذي لا يعود أصله من واد سوف بل هو نبات دخيل التي أتت مع بعض نباتات أخرى والأشجار المثمرة مثل الأشجار الزيتون. أما النوع البري الذي يسمى سعد في منطقة سوف فهو نباتات نجيلية معمرة، شكلها العام يشبه كثيرا نبات الدرين، إلا أنها لا تعلو كثيرا ولا يتعدى طولها 50 سنتمرا، يمتلك السعد جذامير زاحفة تحت الأرض. الأوراق رقيقة سلكية، خضراء مصفرة وتنتهي بإبرة حادة، الساق التي تحمل السنابل (الأزهار) قصيرة ولا تتعدى الأوراق (حليس يوسف، 2005).

1-1- أجناس العائلة السعدية: Cypeus

إن نبات السعد أو ريجان القصارى من النباتات المعمرة الذي ينتمي إلى العائلة السعدية، حيث يضم هذا الجنس أكثر من 700 نوع ومنها (د. مشيرة الشامي، 6 أغسطس 2018).

1-1-1-الموجودة داخل الوطن العربي

السعد البني *Cyperus fuscus*: يوجد في بلاد الشام، ومصر، والقوقاز، وجزر الكناري.



الشكل (1): صورة توضح نبات السعد البني *Cyperus Fuscus*

سعد أُمرد: *Cyperus glaber* ينتشر في تركيا، وبلاد الشام، وإيطاليا، والقوقاز.



الشكل (2): صورة لنبات السعد الأُمرد *Cyperus glaber*

السعد الرئيسي: *Cyperus capitatus* يكثر في حوض البحر المتوسط وبلاد الشام والسودان

ومصر.



الشكل (3): صورة لنبات السعد الرئيسي *Cyperus capitatus*

السعد الطويل *Cyperus longus*: ينتشر في بلاد الشام، ومصر، وبلاد المغرب العربي، وجنوب

ووسط أوروبا.



الشكل (4): صورة لنبات السعد الطويل *Cyperus longus*

السعد المستدير: *Cyperus rotundus* يعيش في بلاد الشام ومصر، وهو خطر على المحاصيل

الزراعية كونه ينبت معها ويستهلك الماء والمعادن من التربة.



الشكل (5): صورة لنبات السعد المستدير *Cyperus rotundus*

السعد اللذيذ: *Cyperus esculentus* يوجد في بلاد الشام ومصر ومناطق حوض البحر الأبيض

المتوسط، والذي يستخرج منه حب العزيز ذو المذاق الحلو.



الشكل (7): صورة لبذور السعد اللذيذ *Cyperus esculentus*



الشكل (6): صورة لنبات السعد اللذيذ *Cyperus esculentus*

السعد الميشيلي *Cyperus michelianus*: يكثر في المغرب العربي ومعظم مناطق قارة أوروبا، والقوقاز، وبلاد الشام، ومصر



الشكل (8): صورة لنبات السعد الميشيلي *Cyperus michelianus*

1-2-1- خارج الوطن العربي:

Kew world checklist of selected plant families. Royal Botanic)

(Gardens, Kew. Retrieved. 22 March 2015

1- السعد البصيلي (*Cyperus michelianus*)

2- السعد رباعي الأوراق (*Cyperus tetraphyllus*)

3- السعد السويقي (*Cyperus pedunculatus*)

4- السعد الطويل مسطح الأوراق (*Cyperus erragrostis*)

5- السعد المتنوع (*Cyperus difformis*)

6- السعد الرفيف (*Cyperus gracilis*)

7- سعد مستدق الطرف (*Cyperus acuminatus*)

8- سعد مسنن (*Cyperus dentatus*)

9- السعد المصفر (*Cyperus flavescens*)

10-السعد المظلي (*Cyperus alternifolius*)

11-السعد المغطى (*Cyperus tegetiformis*)

2-دراسة حول نبات السعد البني *Cyperus Fuscus L*

1-2 التصنيف النباتي:

(كارولوس لينوس، 1753).

جدول (1): التصنيف العلمي لنبات السعد البني *Cyperus Fuscus L*

التصنيف العلمي	
النطاق:	حقيقيات النوى
المملكة:	النباتات
الشعبة:	البذريات
الشعبة :	مستورات البذور
القسم:	أحاديات الفلقة
الرتبة:	القبيئات
الفصيلة:	السعدية
الجنس:	<i>Cyperus</i> السعد
النوع:	<i>Fuscus</i> البني
الاسم العلمي	
<i>Cyperus Fuscus L</i>	

2-2 الوصف المرفولوجي لنبات السعد البني *Cyperus Fuscus L*

حيث تم الاعتماد على وصفين:

- نوع نباتي يتبع جنس السعد من الفصيلة السعدية، نبات معمر تميزه أوراقه الخضراء الداكنة وساقه مثلثة المقطع، والنبات عادة قصير لا يتجاوز ربع متر، إلا أنه قد يصل إلى متر في التربة الرطبة كما أن له نظام جذري جذموري درني كثيف تحت سطح التربة، وله زهور حمراء بنية أو بنفسجية اللون قليلا ما تنتج بذورا ناضجة، كما تشمل السمات المميزة الأخرى لي لونها الغامق قشور أرجوانية إلى بنية ضاربة للحمرة أو سوداء تقريبا. يتبع بقوة مثلثة الشكل. لامعة جذورها حمراء صدئة تحتوي على درنات وهو الجزء المستخدم من قبل البشر لدى هذا النوع من النباتات نظرا لرائحتها العطرية، السنييلات الصغيرة وأوجاعها المثلثية الباهتة، وله أوراق طويلة حشفية، وفيها نهاية الأوراق عقد أو درنات مليئة بالمواد الكيميائية يطلق عليها حب العزيز، وسنابل على شكل مجموعات باللون الزهري (Smith, W.R., 2018).

- الحواف المسطحة البنية هي عبارة عن تكتل سنوي به عدد قليل إلى العديد من السيقان والجذور الليفية ذات اللون البني المحمر. السيقان منتصبه أو مائلة أو متهاكة، وعادة ما تعتمد العادة على الموطن والنباتات المحيطة. تشكل نباتات الحواف المسطحة المعزولة بنية اللون على السهول الطينية تكتلات على شكل قبة ذات سيقان متوازنة ومائلة. يبلغ طول السيقان من 2 إلى 30 سم، وعرضها من 0.6-1.1 سم، وسلسلة وسهلة الانضغاط، ومثلثة في المقطع العرضي. الأوراق ذات ثلاث درجات، منتشرة مسطحة طولها 4-10 سم، وعرضها 2-4 مم. تتكون الأزهار من مسامير على الأشعة، يقابلها 2-3 كسرات من أطوال غير متساوية، يبلغ طول الكتل من 1 إلى 20 سم وعرضها من 1.2 إلى 3 مم والأطوال منتصبه أو ما يقرب ذلك والباقي ينتشر. تتكون المسامير من 3-12 سنييلات. السنييلات

بيضاوية الشكل مسطحة بطول 3-7مم، 0.9-1.2مم، مع 8-16 قشور زهرية. يبلغ طول قشور الأزهار 0.9-1.1مم، وعرضها 0.8-1مم، مع جوانب من البني المحمر إلى الأرجواني الداكن، وطبقة وسطى خضراء أو صفراء مخضرة (Holm *et al.* 1979; Kekkonen. 2001)



الشكل (9): صورة توضح أجزاء نبات السعد البني (جذور، ساق، أزهار، ثمار، بذور)

3-2 - الانتشار الجغرافي لنبات السعد البني: *Cyperus Fuscus L.*

✓ موطنها الأصلي أوروبا وآسيا وشبه القارة الهندية ومنطقة البحر الأبيض المتوسط في شمال إفريقيا، من جرينلاند وأيسلندا إلى الصين، وجنوبًا إلى إسبانيا وإيران ومصر والجزائر وشمال الهند وباكستان (Kukkonen 2001). يبدو أنه تم إدخاله إلى أمريكا الشمالية في الصابورة أو حول أرصفة الموانئ واكتُشف لأول مرة على طول شاطئ ريفير في مقاطعة إسيكس، ماساتشوستس في عام 1877. منذ ذلك الوقت، تم العثور على حواف مسطحة بنية اللون في كندا وأماكن أخرى في الولايات المتحدة في كاليفورنيا، وكونتكت، وماريلاند، وميسوري، ونبراسكا، ونيفادا، ونيوجيرسي، وبنسلفانيا، وداكوتا الجنوبية، وفيرجينيا. في الآونة الأخيرة، تم اكتشاف السكان في أركنساس وكانساس وميسيسيبي. بالإضافة

إلى الارتباط مع الصابورة والأرصفة، يُعزى تشتت بذور السد المسطح البني إلى الطيور المائية والأنشطة البشرية، بما في ذلك معدات البناء (McKenzie *et al.*, 1998).



الشكل (10): صورة توضح الانتشار الجغرافي لنبات السعد البني *Cyperus Fuscus L.*
4-2- الأهمية الطبية لنبات السعد البني:

1-4-2: استعمال الطب التقليدي لنبات السعد البني:

تحتوي عشبة السعد البني على عناصر هامة ومغذيات جعلها تدخل في صناعة بعض الأدوية العشبية ومستحضرات التجميل.

يمكن استخلاص الزيوت من نبات السعد البني، وتستخدم الحبوب بداخله أيضا في علاج بعض المشكلات الصحية، تحتوي عشبة السعد البني على الكثير من الألياف، التي تنظم عمل الجهاز الهضمي وتخفف من حدة الاضطرابات التي يعاني منها، مثل المغص وانتفاخ المعدة، والغثيان، ومتلازمة القولون العصبي، وعسر الهضم (د. مشيرة الشامي، 6 أغسطس 2018).

2-4-2: فوائد نبات السعد البني

(د. مشيرة الشامي، 6 أغسطس 2018).

- ✓ يخفف آلام البطن، ويخلص من الديدان في الجهاز الهضمي والبطن.
- ✓ يخفف درجة الحرارة والحمى.
- ✓ يحمي من الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية.
- ✓ يدر الحليب.
- ✓ يساعد على علاج التبول اللاإرادي وسلس البول للحامل.
- ✓ يساعد على التخلص من حصى الكليتين.
- ✓ يعالج التهابات اللثة.
- ✓ يعالج الجروح والتقرحات.
- ✓ يعالج عسر الهضم.
- ✓ يخفف آلام الأسنان.
- ✓ يعالج الإسهال.
- ✓ ينظم الدورة الشهرية.
- ✓ يخفف تورم الجلد.
- ✓ يمنع الإحساس بالغثيان والقيء.
- ✓ يقوي الرغبة الجنسية.
- ✓ يعالج البواسير.
- ✓ يطيل فترة نمو شعر الجسم بعد إزالته.
- ✓ يستخدم لتعطير الصابون والعطور.
- ✓ يطرد الحشرات.

2-5- دراسات حول نبات السعد البني:

- ✓ يعمل نبات السعد البني على تقاوم السممة وارتفاع الكوليسترول في الدم، مما يساعد على طرد الدهون الزائدة من الجسم.
- ✓ كما وجدت إحدى الدراسات التي أجريت على الحيوانات، فإن المستخلص حفز تحطيم الدهون في الأنسجة الدهنية، أظهرت الفئران البدنية عند تناولها، انخفاضاً كبيراً في زيادة الوزن على الرغم من عدم انخفاض تناول الطعام، كما حفزت انخيار الدهون في الجسم.
- ✓ وجد باحثون أن مستخلص نبات السعد أظهر نشاطاً مضاداً للبكتيريا ضد التهابات المسالك البولية كما أن مسحوق الرايزوم الموجود به له خصائص مدرة للبول والتي تساعد طرد السموم من الجسم.
- ✓ تتمتع عشبة السعد البني بقدرة فائقة على تحسين تدفق الدم للأوردة وأعضاء الجسم المختلفة، مما يساعد في الحصول على ضغط دم منضبط، ويعتبر علاج فعال لأصحاب الضغط المنخفض على ووجه التحديد.
- ✓ أظهر مستخلص نبات السعد نشاطاً مضاداً للميكروبات ضد العديد من مسببات الأمراض، بما في ذلك سلالات السالمونيلا والمكورات العنقودية والمبيضات المسؤولة عن الجهاز الهضمي والجلد والمسالك البولية والفطريات وغيرها من الإصابات الناتجة عن أي عدوى.
- ✓ تستخدم عشبة السعد موضعياً لعلاج مشاكل الجلد مثل الأكزيما والجرب، كما أنه يساعد على تخفيف الحكّة التي تواجهها في الموقع بالإضافة إلى ذلك يتم استخدام المستخلص في تركيبات للمساعدة في تصبغ كل من الشعر والجلد، كما أثبتت الدراسات قدرته على إبطاء نمو شعر الجسم الزائد.
- ✓ يعمل مستخلص نبتة السعد على التئام الجروح، حيث يحتوي على مضاد حيوي طبيعي يقلل من تورم والتهاب الأنسجة ويعالجها بشكل أسرع (ندى س.، مجدي حشاوي، 2019).

الفصل الثاني

تعريف مواد الايض الثانوي

1- مركبات الأيض الثانوي:

تعد مركبات الأيض الثانوي مواد كيميائية تنتج عن الأيض الحيوي في النبات، وهي كثيرة ومتنوعة وتعود إلى مجاميع مختلفة منها الفينولات، التربينات، القلويدات، الجليكوسيدات وغيرها (أكبر وآخرون، 2011).

1-1- التانينات Les Tanins

يشق اسم التانين من الكلمة الفرنسية وهي مواد مرة متعددة الفينول تكون مرتبطة مع البروتينات أو مترسبة عليها (Ashok et upadhyaya, 2012) تمتاز بوزن جزيئي كبير يتراوح من 500-3000 دالتون ونكون بنية اللون أو سوداء داكنة (Martrano, 2002). تعرف التانينات بخاصيتها القابضة أو العفصية (Ashok et Upadhyaya., 2012).

تتواجد التانينات في كل الفواكه الطازجة والشاي كما يتم إنتاجها من قبل الطحالب البحرية وبعض الأحياء المجهرية (عودة، 2014). كما تتوزع التانينات في أجزاء مختلفة من النبات، اللحاء، الثمرة، الأوراق، الجذور وغيرها (حجاوي وآخرون، 2009).

هناك نوعين من التانينات هما التانينات المكثفة Condensée والتانينات المتحللة Hydrolysable (الدأودي وآخرون، 2012).

1-1-1- أهمية التانينات:

تدخل هاته المركبات في الصناعات الكيميائية وفي دباغة الجلود وكذا إنتاج العقاقير والمواد الطبية وغيرها (الدأودي وآخرون، 2012). حسب حجاوي وآخرون (2009) فإنها تستخدم كمضادة للإسهال، معالجة للحروق وموقف للزيف، أما بالنسبة لنبات يستخدم كوسيلة دفاعية إذا ما تعرضت النبتة لضرر ميكانيكي (عودة، 2014).

1-2- القلويدات:

تعد من أكثر مركبات الايض الثانوي تنوعا الموجودة فيالكائنات الحية Robert et al (1998, Wink)، أول ما أطلق كلمة قلويد هو الألماني في أوائل القرن التاسع عشر.

حسب الميريقي (2005) تعرف القلويدات على أنها مركبات كيميائية تحتوي على النيتروجين العضوي.

تشبه القلويدات في اتحادها مع الأحماض مكونة أملاح هاته الأحماض، تتراوح تركيزاتها ما بين 1- 15% من الوزن الجاف للنبات (يوسف والتارقي، 2005)، كما أنها معروفة بشحاحة ذوبانها في الكلوروفورم.

تتواجد القلويدات في أجزاء النبات المختلفة مثل الأوراق والجذور والبدور واللحاء (حجاوي وآخرون، 2009).

حسب العابد (2009) تصنف القلويدات وفقا للفصائل النباتية المستخلصة منها ولقد كانت أكثر المحاولات قبولا وانتشارا هو نظام التقسيم الذي وضعها (Heganauer).

جدول (2): أقسام القلويدات (العابد، 2009).

القسم	المميزات	مثال
القلويدات الحقيقية	- تحتوي على ذرة نيتروجين واحدة أو أكثر في حلقات متغايرة وهي مشتقات من الأحماض الامينية وتوجد في النباتات على هيئة أملاح للأحماض العضوية. - لها تأثيرات فيزيولوجية متباينة، مختلفة في القاعدية، و لكن هذه الخواص ليست دائما محققة فمثلا الكولشيسين فهو غير قاعدي.	الكولشيسين (Colchicine)
القلويدات الأولية	- عبارة عن أمينات بسيطة تكون فيها ذرة الازوت خارج الحلقة، قلويدات قاعدية. - يتم تخليقها من الأحماض الامينية وغالبا ما يطلق عليها بالأمينات الحيوية.	ميسالين (Mesalin)
قلويدات الاندول	-تحتوي في بنائها على حلقة أندول أو حلقة مشتقة من مجموعة أندول مثل مجموعة إندولين.	هارمين (Harmine)

1-3- الفلافونويدات

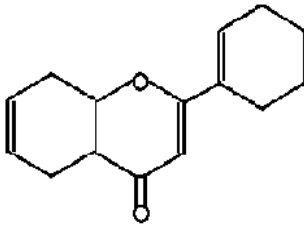
الفلافونويدات أحد أقسام المركبات الفينولية وأصل هذه الكلمة يرجع إلى اللاتينية الذي يعني اللون الأصفر .Flavus

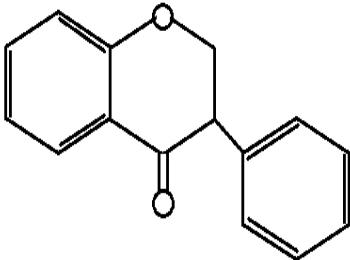
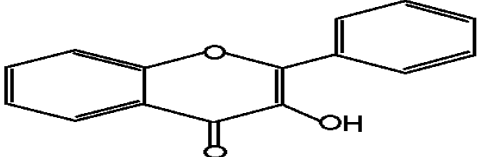
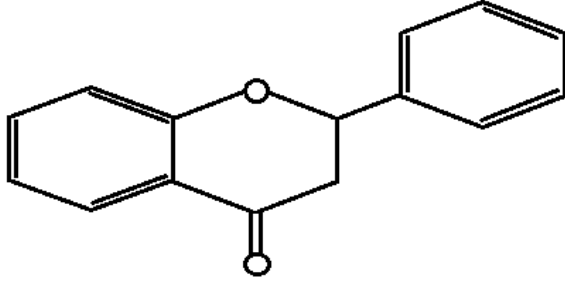
تحتوي جميع الفلافونويدات 15 ذرة كربون في هيكله الأساسي موزعة على ثلاث حلقات A.B.C على النحو التالي (C6-C3-C6)، الفلافونويدات عبارة على صبغات نباتية وهي المسئولة عن لون الزهرة والثمار والأوراق في النبات (ميثاق، 2010).

تتواجد الفلافونويدات على مستوى جميع أجزاء النباتات الراقية في الجذور، السيقان، الأوراق، الثمار، البذور وحبوب الطلع (Boutelis.,2015).

هذا التواجد يتأثر بشكل كبير بواسطة العوامل الوراثية وكذا الظروف البيئية (Lugasi et al,2003).
تقسم الفلافونويدات عادة إلى عدة أصناف وذلك وفقا لجهة ارتباط الحلقة C، ووفقا لدرجة تأكسد الحلقة C.

جدول (3): بعض أقسام الفلافونويدات (باز، 2006).

التصنيف الأول: وفقا لجهة ارتباط الحلقة C		
القسم	الخصائص	البنية
فلافونويدات	إذا كان ارتباط الحلقة B مع الحلقة C انطلاقا من الكربون 2.	

	ايزوفلافونويدات إذا كان ارتباط الحلقة B مع الحلقة C انطلاقاً من الكربون 3.	
التصنيف الثاني: وفقاً لدرجة تأكسد الحلقة C		
	فلافونول وجود هيدروكسيل في الموضع 3.	
	فلافانون غياب الرابطة الثنائية C2-C3 ووجود مركز لا تناظر	

1-3-1- أهمية الفلافونويدات

تعتبر الفلافونويدات مضادة للسرطان أو تساهم في خفض خطر أمراض القلب، مضادة للحساسية وكذا للميكروبات والفيروسات، مضادة للالتهاب، تستخدم كمسكنات، مضادة للقرح، مخفضة لنسبة الكوليسترول ومضادة للأكسدة (ميثاق، 2010).

1-3-2- النشاطية الحيوية للفلافونويدات

الكثير من الدراسات تثبت أن تناول الأغذية الغنية بالمركبات الفينولية خاصة الفلافونويدات لها تأثيرات ايجابية على الصحة، إذ تتميز بتأثيرات حيوية مختلفة، كمضادات أكسدة (Satyajit D., 2007)، كمضادات التهاب، ومضادات للحساسية، ومضادات للبكتيريا (Martinez-Florez S., 2002). كما تحمي من أمراض القلب والأوعية، ومرض السرطان، ولها دور في حماية الجهاز العصبي. (Alvarez MA., et al., 2008)

1-3-3- التأثيرات المضادة للأوكسدة للفلافونويدات ومصدرها

يعود التأثير الوقائي للفلافونويدات من الأمراض أساسا إلى تأثيراتها المضادة للأوكسدة، إذ تعتبر عوامل مرجعة طبيعية ممتازة، فهي بمثابة مصيدة للعينات بإمكانها أن تمنع الإصابات الناتجة عن الجذور بعدة طرق منها بإزاحة الجذور الحرة، كما تقوم بتكسير تسلسل التفاعل الجذري، وبتشكيل مركبات أكثر استقرارا. كما يمكن الفلافونويدات مثل الكريستين أن تلعب دور مصيدة جذور فوق الأوكسيد، وبالتالي تزداد فعالية مقاومة الفلافونويدات للأوكسدة (Gutierrez-Merino C., *et al.*, 2011).

القسم الأكبر منها الفلافونويدات 1-5. تتشارك المركبات الفينولية في الدفاع ضد الأخطار البيئية لهذا نجد أن هناك نسبة كبيرة تقرب 6 80% منها موجود على قشور الفواكه كما هي مسؤولة عن ظهور الألوان في النباتات (Harbone JB., 1964).

❖ مصدرها

تتواجد المركبات الفينولية في العديد من الأطعمة ذات المصدر النباتي وبالتحديد الفواكه ويمكن أن تصل ما بين 100-500 مل/غ في بعض الفواكه، كالتفاح العنب والكرز، والمشروبات والشاي، والشكولاتة بينما تتواجد بصورة أقل في الخضر، والحبوب، حيث تحتوي الخضر على ما يقارب 25-100 ملغ/غ. (Benhammou N., 2012)

تعد الفواكه الناضجة غنية بالكثير من المركبات الفينولية مثل الفلافانول يمكن الحصول عليها من التفاح وغيرها من المركبات الأخرى المتواجدة في بقية الأغذية (Abdelghafour M., 2003).

1-4-اصناف المركبات الفينولية

توجد العديد من التصنيفات فالعالم DACOSTA قسمها حسب بنيتها

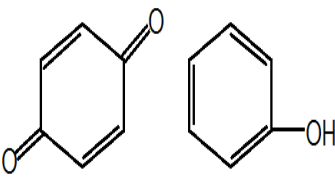
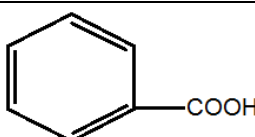
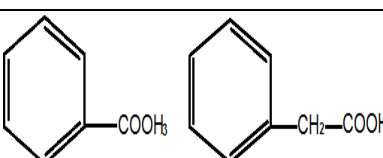
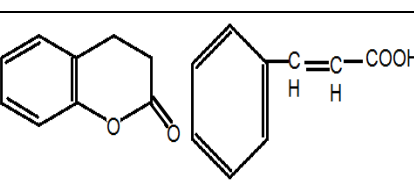
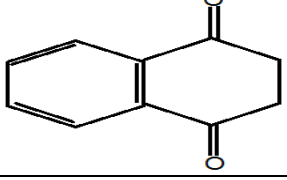
(Anthony D., *et al.* 2007).

أما العالمان Habome و Simmonds فصنفها حسب انتشارها (Mellies J., *et al* 2007).

وتقسم عديدات الفينول حسب درجة عدم تشعبها، وأكسدتها في الحلقة الوسطى إلى ثلاث أقسام

الفلافونويدات الأحماض الفينولية والدباغ وتتمثل الفلافونويدات القسم الأكبر منها:

جدول (4): بعض أصناف المركبات الفينولية 11.

رقم ذرة الكربون	الهيكل الأساسي	الصنف	البنية الأساسية
6	C6	الفينولات البسيطة البنزوكينونات	
7	C-6C1	الأحماض الفينولية	
8	C-6C2	استيوفينون أحماض الفينيللاسيستيك	
9	C-6C3	أحماض السيناميك الكومارينات	
10	C-6C4	النافوكينون	

1-4-3-الأحماض الفينولية

الأحماض فينولية هي مركبات قابلة للذوبان في المذيبات العضوية القطبية، تنقسم إلى ثلاث أقسام أحماض فينولية، وأحماض مشتقة من حمض البنزويك، وأخرى من حمض السيسانيك يعتبر القسم الأول نادرا ما عدا المركبات hydroquinone التي توجد العديد من العائلات النباتية، أما الأحماض المشتقة من حمض البنزويك تتواجد عموما في الحالة الحرة، كما يمكن أن ترتبط بسكريات، أو أسترات (حمض الغاليك) بينما تنتشر الأحماض المشتقة من حمض السيناميك بكثرة، ويعتبر حمض ferulic، وحمض caffeic من الأنواع الرئيسية لها. يوجد حمض caffeic بكثرة في القهوة أما حمض ferulic، فيتواجد في الحبوب (بن سلامة عا.، 2012).

1-5-الصابونوزيدات

هي تربينات ثلاثية حقيقة في صورة غلايكوزيدية، يتعدد السكر فيها من 2 إلى 10 فهي ذات وزن جزيئي عال، وعند حلمتها تحرر سكرا، أو عدة سكريات، وقد اشتق اسمها من الكلمة اليونانية Sapo بمعنى صابون لأنها تعطي رغوة كثيفة إذا رجعت مع الماء، أو الكحولات المنخفضة، وتستمر لمدة طويلة (بن مرعاش ع.، 2012).

الفصل الثالث

تعريف الفعالية المضادة للأكسدة

FRAP و DPPH

1- الاجهاد التأكسدي:

الأكسدة هي عملية فقدان للإلكترونات من قبل الذرات أو الايونات أو الجزيئات ينتج عنها زيادة في الشحنة الموجبة أو نقصان في الشحنة السالبة.

ويعرف الاجهاد التأكسدي على انه اختلال في التوازن بين مضادات الأكسدة ومولدات الأكسدة، هذا الاختلال راجع إلى الإنتاج المفرط لمولدات الأكسدة أو نقصان في المضادات الأكسدة (Myra;2011)، معمرو الوقت هذا الاختلال في التوازن يؤدي إلى اضرار خلوية ونسيجية غالبا غير عكسية (Tunez ., 2011). *(et al)*.

- يعتبر الأكسجين عنصرا أساسيا ومهما في إنتاج الطاقة عن طريق أكسدة الغذاء (Cyprus et pratico., 2006) مع ذلك فان اختزال هذا العنصر لا يكون كاملا، حتى تحت الظروف الطبيعية، إذ غالبا ما تنشأ مجموعات وسطية من المواد الكيميائية النشيطة الطبيعة من عمليات التحول الغذائي وهي تلك التي يطلق عليها الجذور الحرة (palazzetti. 2005).

1-1- تعريف الجذر الحر:

الجذر الحر هو عبارة عن جزيء أو ذرة تحتوي على إلكترون غير مزدوج في مداره الخارجي وحيدا في مداره الخارجي ويطلق بعض العلماء مصطلح العامل المؤكسد على الجذر الحر (ببولوطه، 2009). إن بقاء الإلكترون وحيدا في مداره الخارجي يجعله في حالة بحث دائم ونشط عن الإلكترون المفقود ليكون زوجا من الطبيعة في الجسم. وبالرغم من قصر فترة حياة الجذر الحر التي لا تتجاوز أجزاء من الثانية، إلا أن جذرا حرا واحدا قد يسبب نشوء العديد من الأمراض الحادة والمزمنة (جيدل، 2015). للإلكترونات المستقرة، وهذا ما يجعله ينتزع إلكترونات من الجزيئات المجاورة مما يسبب إتلاف جزيئات الخلية

1-2- أنواع الجذور الحرة

قسم حودة. أ، (2013) الجذور الحرة على أساسين:

1-2-1- على أساس الاستقرار

❖ الجذور النشطة (غير المستقرة)

وهي التي لها أعمار قصيرة قد تصل أحيانا حدود أعمارها البيكوثانية ولها عادة أوزان جزيئية صغيرة من أمثلتها

جذور: $H^{\cdot}$, $NO^{\cdot}$, $HO^{\cdot}$, $I_2^{\cdot}$, $CH_3^{\cdot}$, $Cl^{\cdot}$

الجذور المستقرة (الصامدة)

وتكون لها أعمار طويلة تقدر بالثواني ويمكن أن تصل إلى أيام من أمثلة ذلك جذر ثلاثي ميثيل أمين

وجذر ثنائي $(C_3H_9N^{\cdot})$ فينيلبيكريدازين $(C_6H_8N_2^{\cdot})$.

1-2-2- على أساس النوع

الجذور الحرة الاوكسيجينية: أهمها شق الهيدروكسيل الحر قد يكون أخطرها غير أن الجذر الحر له لا يدوم فهو مرحلة انتقالية عمرها قصير.

الجذور الحرة النيتروجينية: أكسيد النيتروجين وبيرو كسيد النتروجين الهيدروجيني وبيرو كسيد النتريت وهو الأكثر خطورة.

الجذور الحرة الدهنية: تتميز الدهون بكونها أعلى درجة اختزال من عناصر الجسم، وبالتالي فهي عرضة أكثر من غيرها للتأكسد بجذور الأوكسجين والنتروجين خاصة منها الدهون غير المشبعة، وهي أطول عمرا.

جذور السموم الحرة: وتمثل معظم المواد السامة والطفرات والمسرطنات الكيميائية.

1-3- مصادر الجذور الحرة

تنتج الجذور الحرة بشكل مستمر من خلال آليات مختلفة حيث تمثل الميتوكوندري المصدر الرئيسي للجذور الحرة إذ تنتج حوالي 90% ROS (الجذور الحرة) عبر الايض الخلوي والسلسلة من التنفسية، يعتبر كل من المركبين ubiquinone-cyt c reductase و oxidoreductase NADH-ubiquinone من إنزيمات الميتوكوندري التي تنتج $2O_2$ و H_2O_2 (Gutierrez *et al*, 2006).

يتحول حوالي 4% من الأكسجين الموجود داخل الميتوكوندري إلى O_2 ، وتعتبر الأكسدة الذاتية لمادة ubisemiquinone أهم مصدر إلى $2O_2$ في سلسلة نقل الإلكترونات في الميتوكوندري وذلك عن طريق إرجاع.

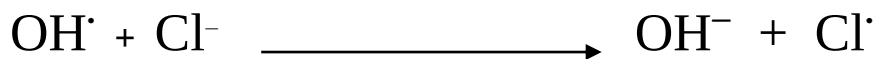
كما تنشأ الجذور من جسم الكائن الحي من عدة مصادر خارجية أهمها الأشعة فوق البنفسجية والسجائر وكل أنواع التدخين وكل مبيدات الحشائش والآفات الحشرية والمواد البترولية والكيميائية والأشعة وغيرها.

1-4- طرق تفاعلات الجذور الحرة

تتفاعل الجذور الحرة بكافة أنواعها المستقرة أو النشطة المشحونة والمتعادلة بتفاعلات سريعة جدا ومختلفة وهي حسب قمولي (2011):

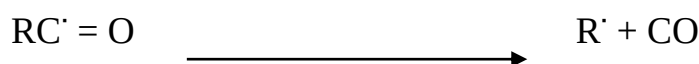
• تفاعلات التبادل الإلكتروني

يتم في هذا التفاعل انتقال إلكترون من المادة المستقرة المتواجدة بالمحيط إلى الجذر الحر وبذلك يتكون ايون سالب مشتق من الجذر الحر وجذر حر جديد مشتق من الايون السالب.



• تفاعلات تفكك الجذور الحرة

تتفكك الجذور الحرة بصورة مختلفة معتمدة بذلك على الجذر الحر ومثال ذلك تفكك جذور الأسيل بواسطة فقدان جزيئة أول أكسيد الكربون.



• تفاعلات اتحاد الجذور الحرة

إن تفاعلات الجذور الحرة مع بعضها البعض تعد من التفاعلات المهمة جدا حيث ينتهي وجود هذه الجذور بنظام ما بهذه التفاعلات مع تكوين مركبات مستقرة ويطلق على هذه التفاعلات بتفاعلات الاتحاد.



1-5- أضرار الجذور الحرة

تقوم الجذور الحرة بتراكيز ضعيفة بأدوار فيزيولوجية مهمة، حيث تستعمل كوسائط منظمة للوظائف البيولوجية مثل توسع الأوعية الدموية أو استعمالها كسيالة عصبية، كما تنتج من اجل الدفاع عن الجسم ضد الأجسام الغريبة، إلا أن الإنتاج المفرط لها يؤدي إلى أضرار على مستوى العديد من الجزيئات الخلوية محدثة تغيرات في شكل ووظيفة ونمو الخلية مثل أكسدة الدهون والأحماض الدهنية الحرة، و هذا ما يؤدي إلى تطور العديد من الأمراض مثل مرض السكري وأمراض القلب والأوعية والأمراض العصبية الانحلالية والروماتيزم وأمراض أخرى عديدة مثل أمراض الجهاز الهضمي والسرطان، الشيخوخة، مرض الزهايمر وتصلب الشرايين (جبالي، 2012).

2- مضادات الأكسدة

2-1- تعريف مضادات الأكسدة وأنواعها

يطلق مصطلح مضادات الأكسدة على كل مادة أو مركب له فعالية ضد الأضرار التأكسدي ويعمل على تأخير أو الوقاية من فعل الجذور الحرة، تعمل مضادات الأكسدة على الحماية بعدة طرق إما بالتثبيط المباشر لإنتاج ROS ومنع انتشاره أو هدمه (Miquel, 2002). وتنقسم المضادات إلى:

✓ **مضادات أكسدة إنزيمية:** وتلعب دورا هاما في حماية الخلية من الإجهاد التأكسدي وتنقسم إلى فوق أكسيد الديسميوتاز والكاتالاز جلوتاثيون بيروكسيداز.

✓ **مضادات أكسدة غير انزيمية:** هناك عدة أنواع من مضادات الأكسدة الغير إنزيمية منها ما هو طبيعي المصدر (الجلوتاثيون، فيتامين C، فيتامين E، البيتاكاروتين، الزنك السيلينيوم)

ومنها ما هو اصطناعي مركبي (BHA, BHT) (قمولي، 2009).

2-2- آلية عمل مضادات الأكسدة

تلعب المواد المضادة للأكسدة دورا مهما في إزالة سمية الجذور الحرة الناتجة بإفراط في العضوية عن طريق منع تكوين أو منع تأثير أصناف الأكسجين والنيوتروجين الفعال الناشئين داخل الجسم والذين يؤديان إلى أضرار في الأحماض النووية والدهون والبروتينات والجزيئات الحيوية الأخرى. وتصنف المادة المضادة للأكسدة بأنها المادة التي لديها القدرة على تثبيط الجذور الحرة أو تقليلها، لذا فإن القليل من جزيئات مضادات الأكسدة كبعض الإنزيمات تكون غير كافية لمنع هذا الضرر تماما، أن إزالة الجذور الحرة بواسطة مضادات الأكسدة تبدو هامة لصحة الإنسان، رغم ذلك لا يمكن أن نعيش بدون جذور حرة، فالجسم يستخدم الجذور الحرة لتحطيم الجراثيم، و تستخدم أيضا في إنتاج الطاقة، و المشكلة تكمن في أن معظم الناس يتعرضون لكميات فائضة (زائدة) من الجذور الحرة، ولكن يمكن

تجنب العوامل التي تزيد من تعرضنا للجذور الحرة أو تزيد من إنتاج أجسامنا لها بتناول الأغذية الغنية بمضادات الأكسدة كالخضروات والفواكه (بكهوحفيان، 2016).

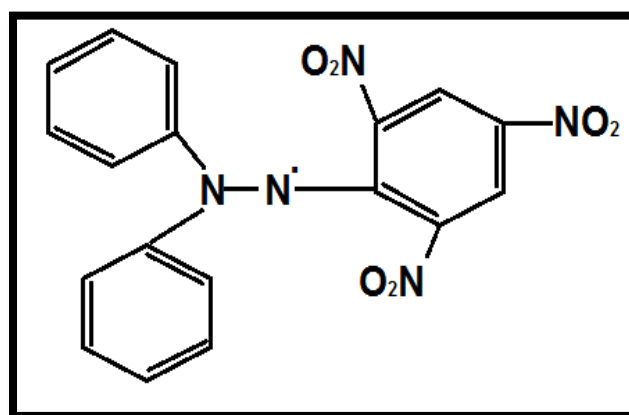
2-3- طرق تقدير النشاطية المضادة للأكسدة

النشاطية المضادة للأكسدة هي قياس لقدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذر الحر أو توقيف عملية الأكسدة (Kholkhal, 2014). حاليا توجد عدة اختبارات لتقدير النشاطية المضادة للأكسدة من بينها:

2-3-1- اختبار مركب (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (DPPH')

يعد هذا الاختبار من أهم الاختبارات استخداما، يحدد الاختبار قدرة مضادات الأكسدة على تثبيط الجذور الحرة (بوطيمة، 2012).

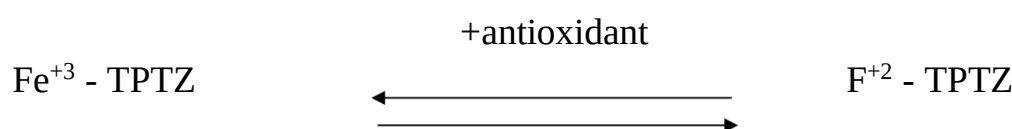
يتميز الجذر الحر لجزء DPPH بالاستقرار وذلك لان له إلكترون واحد مفرد على ذرة واحدة لجسر نيتروجين (بوطيمة، 2012) كما هو موضح في الوثيقة التالية:



الشكل (11): الجذر الحر DPPH' (Pionita, 2005)

2-3-2- اختبار القدرة الارجاعية للحديد (FRAP) (Ferric Reducing Antioxidant power)

يستخدم كثيرا إرجاع الحديد الثلاثي كمؤشر بين فاعلية الالكترونات المانحة التي هي مهمة في آلية تفاعل مضادات الأكسدة الفينولية في اختبار القدرة الارجاعية للحديد، تمنح المضادات الأكسدة الكترونات تعمل على إرجاع الحديد الثلاثي إلى الحديد الثنائي. يمكن تحديد كمية معقد الحديد الثنائي بقياس طول موجة ت شكل اللون الأزرق الداكن عند 700nm حسب التفاعل الآتي (بوطيمة، 2012).



الشكل (12): تحول الحديد الثلاثي إلى الحديد الثنائي (بوطيمة، 2012).

2-3-3- اختبار ABTS

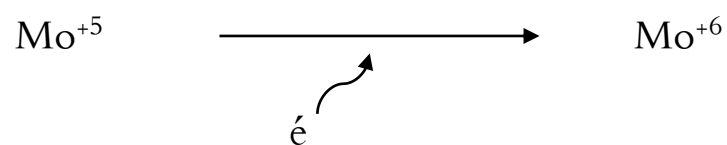
يستعمل هذا الاختبار بشكل واسع لتعيين القدرة الأسرة الجذرية للجزيئات على الجذر ABTS^{+} الكاتيوني المستقر ل 2,2°-azinobis (3-etylbenzothiozoline-6-sulfonic acid) يتأكسد جزئي ABTS عديم اللون إلى جذر كاتيوني ABTS^{+} أزرق مخضر، و يخلطه مع أي مادة يمكن أن تأكسد يرجع إلى شكله الأصلي ABTS عديم اللون وهذا الجذر الكاتيوني له طول موجة أعظمي 734 nm ولكن الأكثر استعمالا عند طول موجة أعظمي 415 nm، و تستعمل هذه الطريقة للمواد المضادة للأكسدة القابلة للذوبان في الماء، و القابلة للذوبان في اللييدات، المستخلصات الغذائية (بالفار، 2016).

2-3-4- اختبار مولبيدات الفوسفات

غالبا ما يعتبر هذا الاختبار في بعض الدراسات طريقة لحساب إجمالي القدرة المضادة للأكسدة وهو اختبار يسمح بقياس القدرة المضادة للأكسدة للمستخلصات المراد دراستها في وجود عامل اختزال، وهذا بإرجاع حمض

فوسفوموليبيدات ذو اللون الأزرق إلى فوسفوموليبيدات عند طول الموجة 695 nm (بالفار، 2016). حسب

التفاعل التالي:



الجزء التطبيقي

1-الموقع الجغرافي لمنطقة وادي سوف

تقع ولاية الوادي بالجنوب الشرقي من الوطن وتبلغ مساحة ولاية الوادي 44.585 كلم² (فاطمة علي، 24ديسمبر 2021).

تبعد عن عاصمة البلاد ب 630 كلم ويحدها من الشرق الجمهورية التونسية، ومن الغرب كل من ولايات المغير وتقرت، ومن الشمال ولايات تبسة وخنشلة وبسكرة، ومن الجنوب ولاية ورقلة (رضا شنوف، 15ماي 2021)

2- تحضير العينة

1-2-الطرق المستعملة لتحضير العينة

ينمو نبات السعد البني في المناطق الرطبة والمضطربة والمفتوحة وينتشر في أمريكا الشمالية من المنطقة الأصلية التي تم العثور عليه فيها، ورغم أن مدى انتشار النبات تحده برودة الجو، فانه ينمو ويزدهر في معظم أنواع التربة ويتميز النبات بظهوره على سطح الأرض، حيث استعملنا في هذه الدراسة الأجزاء الهوائية لنبته السعد البني والتي تم جمعها من منطقة وادي سوف وتم تحضير عينة الدراسة بعدة طرق وهي:

✓ **الجني:** تم جمع العينة النباتية من الجزء الهوائي لنبات السعد البني مع مراعاة الاحتفاظ على الجواهر الفعالة في النبتة.

✓ **التجفيف:** بعد جمع العينة قمنا بتنقيتها، ثم وضعت على ورق لتجفيفها في مكان جيد التهوية في درجة حرارة الغرفة بعيدا عن الشمس مع القيام بتقليبها من حين لآخر لضمان التجفيف الجيد، والأخذ بعين الاعتبار عدم تعرض النبات لعوامل تؤدي إلى فقدان المادة الفعالة مثل الرطوبة والشمس وعدم تخمرها إلى أن تجف. بعد التجفيف تم تقطيعها إلى أجزاء صغيرة ورقيقة.

3- في المخبر

3-1- وقت الاستخلاص:

تم انجاز الدراسة العملية التي تهتم بعملية تحضير المستخلصات النباتية في مخابر التابعة لكلية العلوم الطبيعية والحياة، ولقد كان العمل في إطار التزام بالسلامة المخبرية وأثناء عملية الاستخلاص تم استعمال الأدوات، المحاليل والأجهزة الموضحة في الجدول التالي:

جدول (5): الأدوات، المحاليل والأجهزة المستعملة وقت الاستخلاص

المواد	الأدوات	المحاليل	الأجهزة
المادة النباتية	-بيشر -ورق ترشيح -قمع -ملعقة البسط -حوجلة كروية -دورق مخروطي -صفائح زجاجية -أنابيب اختيار	-ايثانول -ماء مقطر	ميزان حساس

3-2- الاستخلاص

يعد من الطرق العملية الهامة المستعملة في فصل المركبات العضوية وتنقيتها ويستخدم على نطاق واسع في استخلاص المركبات العضوية الموجودة في أوراق النبات، وبذورها، وفي الأجسام الحية.

3-2-1 الاستخلاص بالمذيبات:

تعتمد هذه العملية على اختبار مذيب ذو قطبية معينة بالنسبة لقطبية المستخلص، وتعرف قطبية مذيب معين بثابت ثنائي كهربائي الذي يعطى بالعلاقة التالية:

$$\epsilon = C / C^{\circ}$$

• C سعة المكثفة في السائل.

• C^0 سعة المكثفة في الفراغ.

يتغير الثابت حسب درجة الحرارة وتتحدد قيمته عامة عند درجة 25°C علما إن قطبية المذيب تتعلق مباشرة بالثابت.

إن المذيبات ضعيفة القطبية يكون لها ثابت ضعيف فمثلا $\epsilon=1.89$

بالنسبة للهكسان. إما المذيبات القطبية فلها ثابت مرتفع فالماء مثلا $\epsilon=78.5$ (غمام ع ح, 2018)

3-2-2- الاستخلاص بالنقع (صلب-سائل) (macération):

توجد عدة طرق للاستخلاص المواد الفعالة من النبات أو تحضير المستخلصات النباتية ولكن في بحثنا هذا اعتمدنا على طريقة واحدة وهي طريق الاستخلاص بالنقع حيث نقوم بهذه العملية للحصول على مستخلص نقي، وذلك حسب عدة متغيرات منها :

• النقع على البارد:

وتعتمد هذه الطريقة على وضع مسحوق النبتة مع مزيج من الماء، والكحول ($2/8$) مع الزمن عند درجة حرارة عادية.

3-3- طريقة الاستخلاص

قمنا أولاً باختبار المذيب كمذيب قطبي (إيثانول-ماء) في البداية يتم اخذ مسحوق النبتة الناتج من عمليات الجني، التجفيف، والتقطيع وغربلته لنزرع كل الغبار والشوائب العالقة به ثم نزن بواسطة ميزان الكتروني كتلة قدرها 35 غ.



الشكل (13): صورة وزن 35 غ من النبات

نأخذ عينة من مسحوق النبتة الجافة وزنها 35g نضعها داخل بيشر مع الحرص على وضع جميع عناصر النبتة نتبع ذلك بسكب حجم 400ml (أي 80ml+320ml) مقداره 8/2 من المذيب (ثمانية حجم ايثانول وحجمين ماء) نغطي النقيع لمنع تبخر المذيب، وكذلك لعدم دخول أي شوائب خارجية، ثم الخلط بجهاز الرج الميغناطيسي لمدة 24 ساعة.



الشكل (14): صورة وضع المزيج في جهاز الرج الميغناطيسي

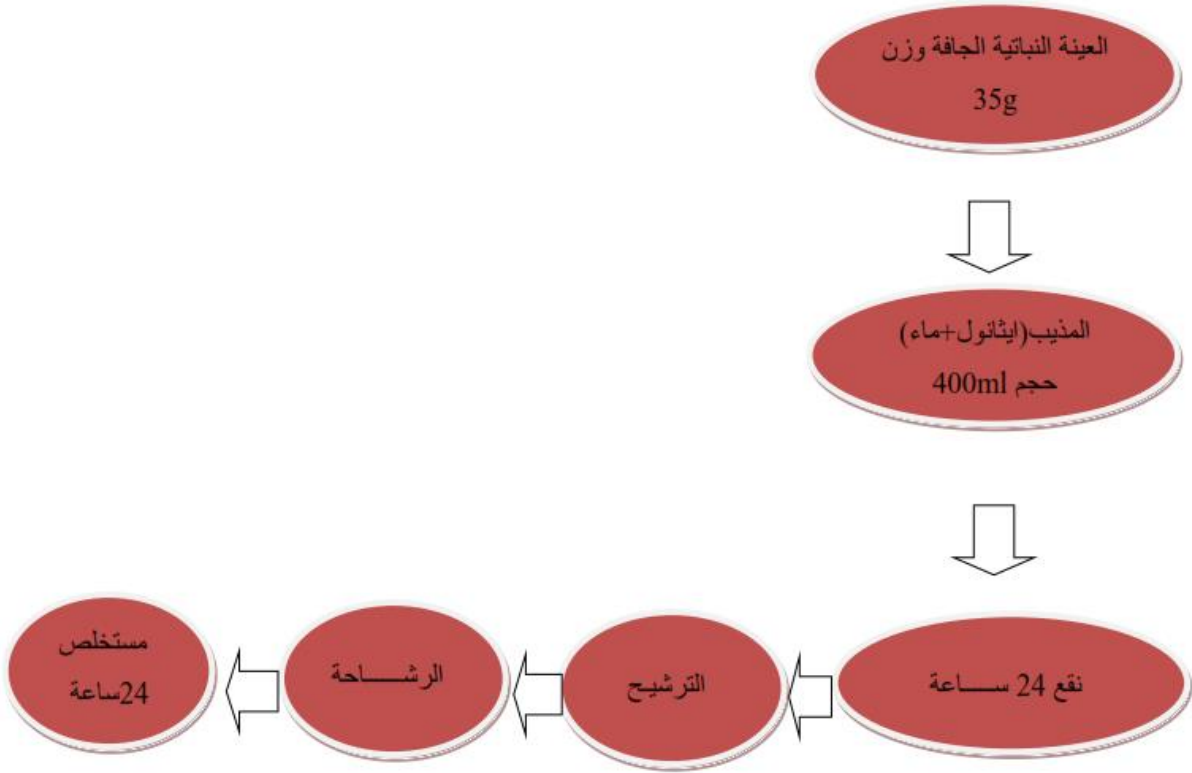
3-4- طريقة الترشيح:

بعد عملية الاستخلاص (سائل/صلب)، ونقع العينة للمدة المذكورة نقوم بتصفيتها، وذلك بترشيح النقيع (عينة نباتية + المذيب) حتى نتحصل على مستخلص نباتي في الحالة السائلة.



الشكل (15): صورة توضح ترشيح النقيع

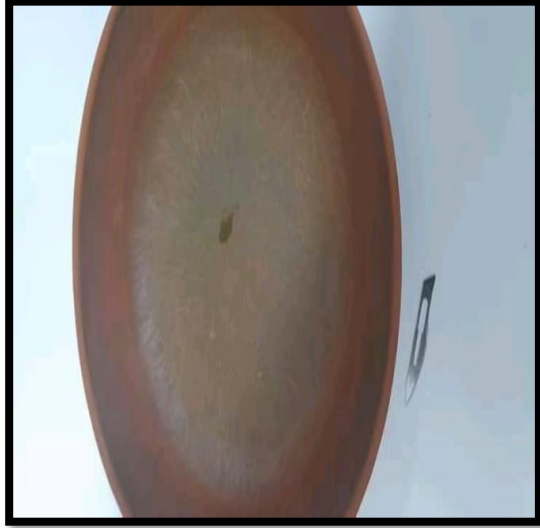
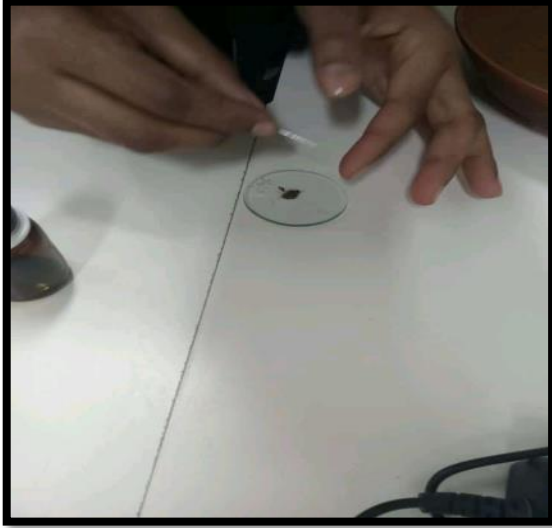
مراحل استخلاص نبات السعد البني موضحة في المخطط التالي:



الشكل (16): مخطط يوضح مراحل استخلاص نبات السعد البني

بعد الاستخلاص قمنا بأخذ المستخلص التحصل عليه بعد الترشيح، ونقوم بتبخير المذيب (الايثانول-ماء)

عند درجة حرارة المخبر 19° للحصول على مادة صلبة موضحة في الشكل التالي:



الشكل (17): صور توضح تشكل مادة صلبة بعد عملية التبخر.

3-5- المردود

المردود عبارة عن الفرق بين وزن المستخلص ووزن المادة الجافة المستخدمة في الاستخلاص (وزن المادة

الابتدائية الجافة) ويقدر المردود بالعلاقة التالية:

$$\text{المردود} = (\text{وزن المستخلص} / \text{وزن المادة الابتدائية الجافة}) \times 100$$

❖ مناقشة وتحليل النتائج

حساب المردود لنبات السعد البني:

جدول (6): يوضح مردود الاستخلاص %

العينة	نبات السعد البني
الكتلة الابتدائية	35g
الكتلة النهائية	0.085g
المردود %	%0.24

من خلال النتائج التي تحصلنا عليها في الجدول، قدرت قيمة المردود للمستخلص الايثانولي لنبات السعد

البني %0.24، ومنه يمكننا القول إن كمية الاستخلاص لنبات السعد البني لأبأس بها.

4-الكشف عن المواد الفعالة لنبات السعد البني (الدراسة الفيتوكيميائية)

إن اختلاف العناصر الفعالة في النبات أدى إلى اختلاف الطرق، ووسائل الكاشفة حسب كل نوع، ولمعرفة المواد الفعالة لابد من إجراء الاختبار الكيميائي التالي:

4-1-اختبار الكشف عن القلويدات:

- وزن 3g من المسحوق النباتي الجاف، ونضعها في بيشر سعة 200ml ونضيف له 30ml من حمض الهيدروكلوريك مخفف 5%.

- نسخنه لمدة 15 دقيقة على لوح التسخين درجة التسخين 50 ° وبعدها نرشح المحلول.

نأخذ الرشاحة ونضيف إليها محلول الامونياك حتى الحصول على $ph=9$

- نقوم بعملية الاستخلاص سائل -سائل ثلاث مرات بواسطة 20ml من الكلوروفورم الطور العضوي، يجمع، ويبخر المتبقي، نضيف حجم 2ml من حمض كلورهيديريك مخفف، ثم إضافة 3 قطرات من كاشف ماير، عدم تشكل راسب ابيض يدل على عدم وجود القلويدات. (حميدي ن, 2015)

4-2 اختبار الكشف عن الفلافونيدات:

نزن 10g من المسحوق نبات السعد البني، ينقع في 100ml من حمض كلورهيديريك المخفف 5% لمدة 48 ساعة ثم يرشح.

نأخذ 10ml من الرشاحة ويضاف إليها كمية من محلول النشادر NH_3 للحصول على وسط قاعدي، وظهور اللون الأصفر الباهت دليل على وجود الفلافونويدات. (حميدي ن, 2015)

4-3 اختبار الكشف عن التانينات (العفصيات):

نزن 3g من مسحوق النباتي، ونضعه في بيشر سعة 200ml وثم نضيف له 20ml من الايثانول المخفف 50%، ونسخن لمدة 30 دقيقة تسخيناً لطيفاً، وبعدها يرشح المحلول.

نضع الرشاحة في أنبوب اختبار، ويضاف إليها قطرات من كلوريد الحديد الثلاثي $FeCl_3$ تركيزه 1%.
ظهور اللون الأخضر يشير إلى تشكل العفصيات. (حميدي ن، 2015)

4-4 اختبار الكشف عن الستيرويدات الغير المشبعة التربينات:

نأخذ 5 من مسحوق النبات الجاف، ونضيف له 20ml من الكلوروفورم $CHCl_3$ ، ثم يرشح المزيج، ثم
نأخذ 1ml من الرشاحة، ونضيف إليها حمض الكبريت H_2SO_4 بعناية على جدران الأنبوب، نلاحظ تشكل
طبقتين الطبقة ذات اللون الأخضر تشير إلى وجود الستيرويدات غير المشبعة التربينات. (حميدي ن، 2015)

4-5 اختبار الكشف عن الصابونوزيدات:

نزن 3g من المسحوق الجاف للنبته، ونضعه في بيشر سعته 200ml، ويضاف له كمية من الماء المقطر،
ونسخن المزيج مدة 30 دقيقة.
نرشح المحلول، ونبرد الرشاحة ثم نوضع في أنبوب اختبار، ونرج لمدة دقيقة وبعد 20 ثانية (حميدي ن،
2015) نلاحظ:

- عدم تشكل الرغوة دلالة على تواجد الصابونين.
- رغوة أقل من 1 سم دلالة على وجود الصابونين بكمية ضعيفة.
- رغوة من 1 سم إلى 2 معناه وجود الصابونين.
- رغوة أكثر من 2 سم معناه النبات غني جدا بالصابونين.

4-6- الأدوات والوسائل المستعملة:

خلال الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي استخدمنا الأدوات، الأجهزة، المحاليل، والكواشف
المدرجة في الجدول التالي (7):

جدول (7): يوضح الأدوات، المحاليل، والكواشف والأجهزة المستعملة في الكشف الكيميائي عن مواد

الأبيض الثانوي عند نبات السعد البني

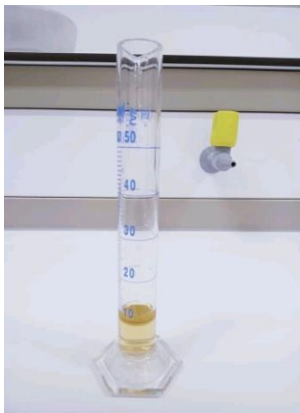
الأدوات	المحاليل والكواشف	الأجهزة
-المادة النباتية	-ايتانول	-لوح تسخين
-دورق	-ماء مقطر (H_2O)	-ميزان حساس
-بيشر	-ثلاثي كلور الحديد $FeCl_3$	
-قمع	-الامونياك	
-ورق ترشيح	-كاشف ماير	
-أنابيب اختبار	-الكلوروفورم	
Pipette-	-حمض الكبريت	
Spatule-	-محلول النشادر NH_3	
	-Acid chlorhydrique (HCl)	

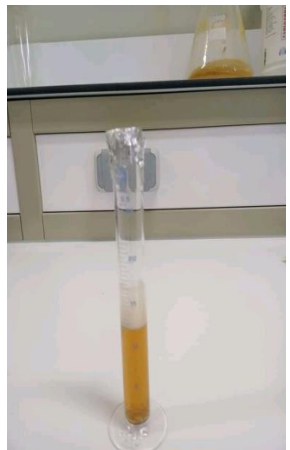
5- نتائج اختبار الكشف عن المواد الفعالة لنبات السعد البني (الدراسة الفيتو كيميائية):

بعد الاختبار الفيتو الكيميائي عن نواتج الأبيض الثانوي لنبات السعد البني، والتي ترتبط بكثافة الترسبات،

والتعكر، اللون، أو وجود، وعدم وجود مجموعات كيميائية معينة موضحة في الجدول التالي:

جدول (8): يوضح نتائج اختبار الكشف عن المواد الفعالة لنبات السعد البني

المواد الفعالة	الكشف المستعمل	النتيجة	الملاحظة	الصورة
1- القلويدات	كاشف ماير	-	عدم ظهور راسب ابيض	
2- الفلافونويدات	NH ₃	+++	لون اصفر باهت	
3- الستيرويدات الغير المشبعة الترينينات	CHCl ₃ H ₂ SO ₄	++	لون أخضر	

	أخضر مصفر	++	HCl	4-العفصيات
	تشكل رغوة طولها 2سم	+++	ماء مقطر + رج	5- الصابونوزيدات

❖ مناقشة النتائج:

✓ (+++) نسبة كبيرة.

✓ (++) نسبة متوسطة.

✓ (-) نسبة غير موجودة.

من خلال النتائج المتحصل عليها في الجدول تبين أن الجزء الهوائي لنبات السعد البني يحتوي على مجموعة

من المواد الفعالة، بنسب، وبكميات متفاوتة، والمتمثلة كالاتي: احتوى الجزء الهوائي لنبات السعد البني على نسبة

كبيرة من الصابونوزيدات والفلافونيدات، أما عن الستيرويدات الغير المشبعة التربينات، العفصيات بنسبة متوسطة،

وغياب القلويدات.

6-التقدير الكمي لنبات السعد البني:

6-1-الأدوات والوسائل المستعملة:

خلال التقدير الكمي لنبات السعد البني استعملنا المحاليل الكيميائية، الأدوات والأجهزة المبينة في الجدول (9):

جدول (9): الأدوات، والمحاليل، والأجهزة المستعملة

الأجهزة	الأدوات	المحاليل	
-ميزان حساس -جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotomètre)	-المستخلص الكحولي -أنابيب اختبار -بيشر -حامل أنابيب اختبار -Micropipette -Spatule -les cuves -ورق ألمنيوم	-ميثانول -ماء مقطر -حمض الغاليك -كربونات ال صوديوم 7,5% FolinCiocalteau (10) %	التقدير الكمي لعديدات الفينول (PPT)
-ميزان حساس -جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotomètre)	-المستخلص الكحولي -أنابيب اختبار -بيشر -حامل أنابيب اختبار -Micropipette -Spatule -les cuves -ورق ألمنيوم	-ميثانول -كريستين -ماء مقطر Trichlorure - d'aluminium (2%)	التقدير الكمي للفلافونيدات (FV)

6-1-1- التقدير الكمي لعديدات الفينول

تم التقدير الكمي لعديدات الفينول بإتباع طريقة Singleton-Rossi عام 1965 باستخدام

كاشف Folin-Ciocalteau، حيث تتميز هذه الطريقة على إرجاع مكونات الكاشف بواسطة المركبات

الفينولية، وذلك بمنحها كيتون، أو كينون إلى أكسيد التنغستين (W_8O_{23}) والموليبدان (Mo_8O_3) المميزة بالون الأزرق. (Dai F *et al*, 2006).

❖ طريقة العمل:

✓ نذوب 2mg من المستخلص النباتي للجزء الهوائي لنبات السعد البني في 2ml من الميثانول لتحضير تركيز 1mg/ml من المستخلص الميثانولي.

✓ نمنج 0.2ml من المستخلص الميثانولي المذابة في الماء 1ml من Folin-Ciocalteu المخفف 10 مرات.

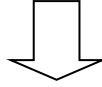
✓ نضيف للمزيج 0.8ml من كربونات الصوديوم (7.5%)، وترج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة 30 دقيقة في الظلام.

✓ ثم تقاس امتصاصية المحلول المحضر عند طول موجة 765 نانومتر بجهاز المطيافية الضوئية.

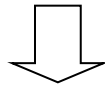
✓ نحضر محاليل في الميثانول من تراكيز من حمض الغاليك لأجل التقدير الكمي لعددات الفينول عند المستخلص الميثانولي، نستعمل حمض الغاليك لتحديد معادلة المنحنى، ويتم التعبير عن النتائج بعدد المليغرامات المكافئة لحمض الغاليك لكل غرام من وزن المستخلص.

6-1-2 مراحل معايرة عديدات الفينول (شرادةن، عوادي م، 2019)

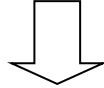
نأخذ 0.2ml من المستخلص الميثانولي



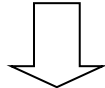
إضافة 1ml من كاشف Folin-Ciocalteu



إضافة 0.8ml من كربونك الصوديوم (7.5%)



ترج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر في الظلام لمدة 30د



تقاس الامتصاصية لكل مستخلص ميثانولي عند طول موجة 765nm

الشكل (18): مراحل معايرة عديدات الفينول

6-1-3- التقدير الكمي للفلافونيدات

يتم التقدير الكمي للفلافونيدات ب استخدام $AlCl_3$.

نذوب 2mg من المستخلص النباتي للجزء الهوائي لنبات السعد البني في 2ml من الميثانول لتحضير تركيز

1mg/ml من المستخلص الميثانولي، نأخذ 0.5ml من المستخلص الميثانولي، ويضاف لها 0.5ml من

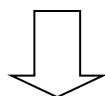
0.2% $AlCl_3$ وترج الأنابيب، وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة ساعة بعيدا عن الضوء.

نحضر محاليل ذو تراكيز معلومة من الكرسيتين لأجل التقدير الكمي للفلافونويدات عند المستخلص الميثانولي.

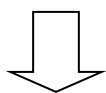
يتم قياس شدة امتصاص المزيج عند طول موجة 420nm، حيث يتم التعبير عن الناتج بعدد المليغرامات المكافئة للكرستين لكل غرام من كتلة المستخلص.

6-1-4-مراحل معايرة الفلافونيدات (شرادةن، عوادي م، 2019)

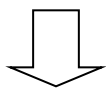
نأخذ 0.5ml من المستخلص الميثانولي



إضافة 0.5ml من (0.2%) $AlCl_3$ للمستخلص



نرج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة ساعة



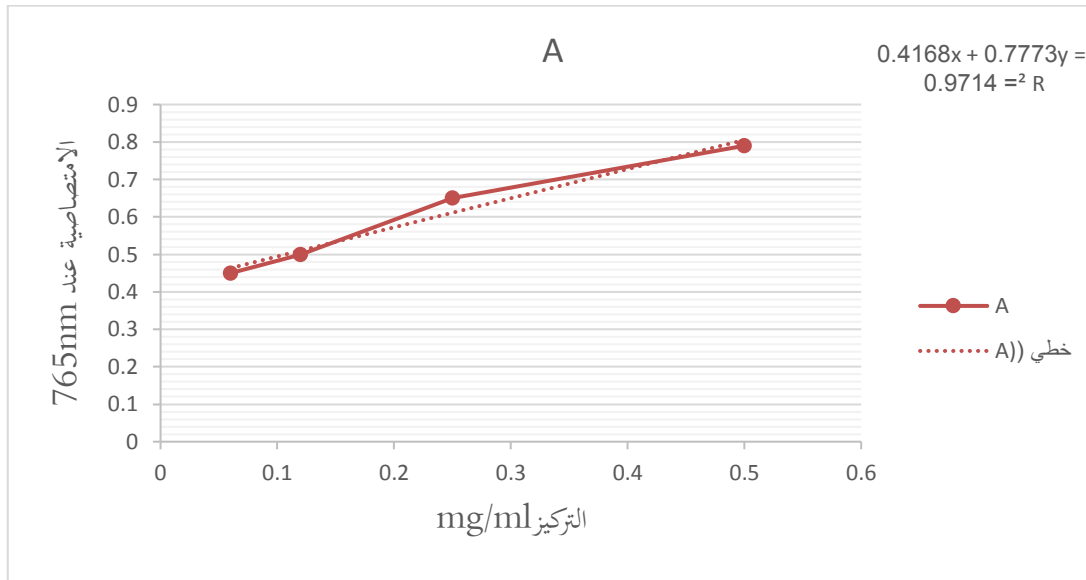
تقاس الامتصاصية للمستخلص الميثانولي عند طول موجة 420nm

الشكل (19): مراحل معايرة الفلافونيدات

6-2- نتائج التقدير الكمي:

6-2-1- التقدير الكمي لعديدات الفينول

تم التقدير الكمي لعديدات الفينول بالاعتماد على طريقة singleton et Rossi ، وذلك باستخدام Folin-Ciocalteu ككاشف.



الشكل (20): منحني يمثل التقدير الكمي لعديدات الفينول ل **Acide Gallique** للجزء الهوائي لنبات السعد البني

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحلول المحضر مدونة في الجدول التالي:

جدول (10): قيمة الامتصاصية الضوئية للمستخلص

العينة	مستخلص الايثانول - ماء (2/8)
التركيز (mg/ml)	0.5
الامتصاصية الضوئية	0.47

من خلال علاقة المنحنى القياسي لحمض الغاليك نجد تركيز الفينولات الكلية في المستخلص المدروس، حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة 2mg من المستخلص النباتي.

$$Y = 0.7773x + 0.4168$$

نتائج كمية عديدات الفينول للمحلول المحضر مدونة في الجدول التالي:

جدول (11): كمية عديدات الفينول للمستخلص

العينة	المستخلص الايثانول - ماء (2/8)
كمية عديدات الفينول (mg/g)	67.49

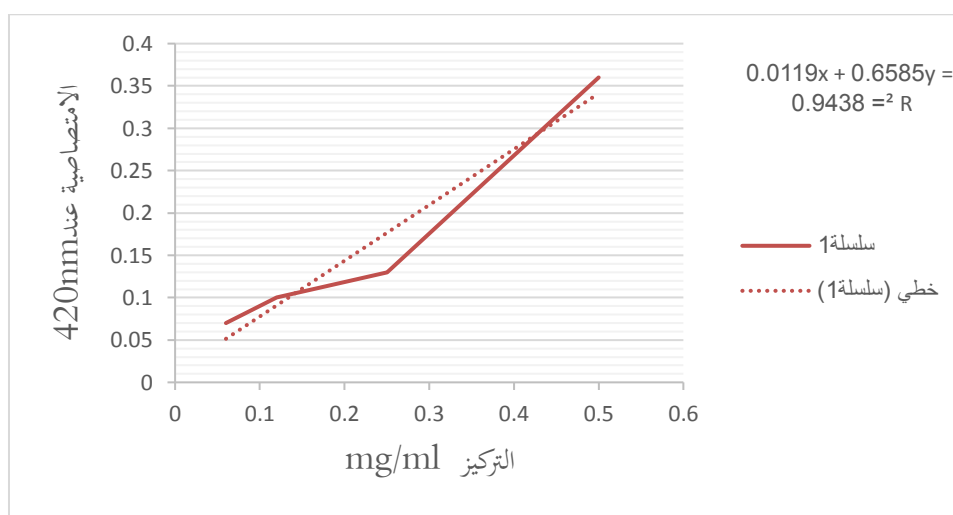
❖ مناقشة النتائج:

من خلال النتائج المتحصل عليها يمكننا القول إن المركبات الفينولية تتواجد على مستوى الجزء الهوائي

لنبات السعد البني بكميات معتبرة، حيث قدرت عند مستخلص ايثانول - ماء (2/8) بـ 67.49mg/g.

6-2-2- التقدير الكمي للفلافونيدات

تم التقدير الكمي للفلافونيدات للجزء الهوائي لنبات السعد البني واستخدام $AlCl_3$ ككاشف.



الشكل (21): منحنى يمثل التقدير الكمي للفلافونيدات لمحلول الكريستين.

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحلول المخضر مدونة في الجدول (12) التالي:

جدول (12): قيم الامتصاصية الضوئية للمحلول المخضر

العينة	المستخلص الايثانولي - ماء (2/8)
التركيز	0.5
الامتصاصية الضوئية	0.283

من خلال علاقة المنحنى القياسي للكريستين نجد تركيز الفلافونيدات الكلية في المستخلص المدروس، حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة ل 2mg من المستخلص النباتي.

$$Y=0.0119x+0.6585$$

❖ كمية الفلافونيدات للمستخلص:

جدول (13): كمية الفلافونيدات للمستخلص

العينة	المستخلص الايثانول-ماء
التركيز	0.5
كمية الفلافونيدات (mg/g)	31.55

❖ مناقشة نتائج الجدول (13):

من خلال النتائج المتحصل عليها يمكننا القول إن الفلافونيدات تتواجد على مستوى الجزء الهوائي لنبات السعد بكمية معبرة، حيث قدرت كمية الفلافونيدات عند مستخلص الايثانول-ماء ب 31.55mg/g.

7- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

من أجل تقدير الفعل التثبيطي المضاد للأكسدة للمستخلصات النباتية، تم استعمال اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH، واختبار القدرة الارجاعية للحديد FRAP اللذان يعتبران من أكثر الطرق استعمالا في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة.

7-1- اختبار تثبيط الجذر الحر: DPPH

يعرف جذر DPPH على أنه مركب صلب ذو لون بنفسجي مسود، وكتلته المولية تقدر ب 394.33g/mol (Molyneux P., 2004).

ويعتمد التفاعل على إرجاع جذر DPPH للجزيئات المانحة لذرات الهيدروجين للمستخلص الايثانولي، حيث يتم إرجاع جذر DPPH باقتناصه لذرة هيدروجين إلى المركب DPPH-H مما يؤدي إلى تغير من اللون البنفسجي إلى الأصفر (ربيعي ع ك، 2010).

يعرف هذا الاختبار على قدرة المستخلص النباتي، أو المركب ما في تثبيط الجذر الحر DPPH -) (Khalaf NA et al., 2008), 2Diphenyl-1-picrylhydrazil

يتم قياس الامتصاصية بواسطة جهاز المطيافية الضوئية عند طول موجة 517nm (Chouikh A et al., 2018)

❖ طريقة العمل:

قمنا بتحضير من المستخلصات السابقة لنبات السعد البني 3mg وذوبناها في 3ml من الميثانول فتحصلنا على مستخلص ذو تركيز 1mg/ml، وانطلاقاً من المستخلص حضرت المحاليل المخففة ذات التراكيز الموضحة في الجدول التالي:

جدول (14): يوضح تراكيز المحاليل المخففة المحضرة للمستخلص

10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0.05
Mg/ml	Mg/ml	Mg/ml	Mg/ml	Mg/ml	Mg/ml	Mg/ml	Mg/ml	Mg/ml	Mg/ml

تحضير المحلول الميثانول جذر DPPH ذو تركيز 0.4mg/ml وذلك بمزج 4mg من DPPH في 100ml من ميثانول، ويترك المحلول للرج مدة 15 دقيقة.

في أنابيب نأخذ من كل عينة حجم 0.5ml كل تركيز على حدا، ونضيف إليه 1ml من المحلول الميثانولي DPPH، وبعد الخلط، والمزج جيداً تحضن أنابيب المزيج التفاعلي في ظلام ل مدة 30 دقيقة، وفي درجة حرارة المخبر، ويتم قراءة الامتصاصية عند طول موجة 517nm.

مقابل المحلول الشاهد المحضر في نفس الشروط التجريبية، وبنفس الطريقة، يتم مزج 5mg من حمض الاسكوربيك في 5ml من الميثانول، وانطلاقاً منه يتم تحضير التراكيز الموضحة في الجدول التالي:

جدول (15): يوضح تراكيز المحاليل المخففة المحضرة للمستخلص

10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0.05
Mg/ml	Mg/ml	Mg/ml	Mg/ml	Mg/ml	Mg/ml	Mg/ml	Mg/ml	Mg/ml	Mg/ml

يتم أخذ من كل عين من كل تركيز للمحلول الميثانولي لحض الاسكوربيك حجم 0.5ml كل تركيز على حدا، ويضاف إليه 1ml من المحلول الميثانولي DPPH بعد الخلط يترك المزيج في ظلام مدة 30 دقيقة، ويتم قراءة الامتصاصية عند طول موجة 517nm.

تحدد القدرة المضادة للأوكسدة لمستخلص ما بتحديد IC_{50} ، الذي يعرف على أنه مقياس لوصف فعالية ما في كبح أو تثبيط وظيفة حيوية معينة، يحسب من خلال المعادلة الخطية لمنحنيات تغير نسبة التثبيط % بدلالة التركيز، حيث تقدر نسبة التثبيط بالعلاقة التالية: (Chaouche TM., (2013)

$$I\% = \left[\frac{(A_c - A_s)}{A_c} \right] 100x$$

✓ **I%**: نسبة تثبيط العامل المضاد للأوكسدة الجذر.

✓ **Ac**: الامتصاصية للعينة عند طول الموجة 517 نانومتر.

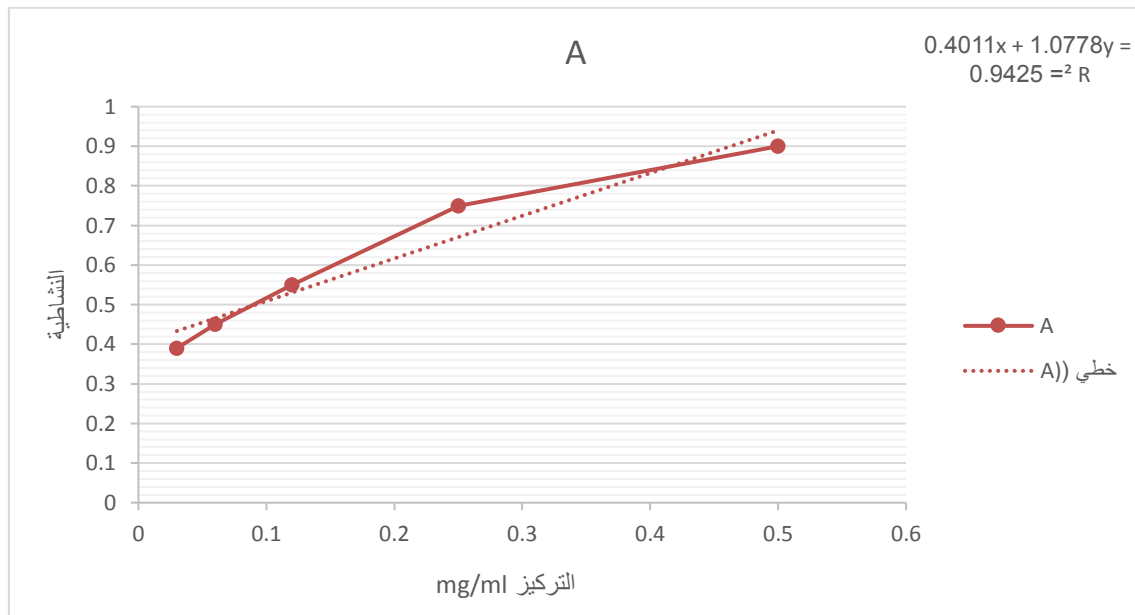
✓ **As**: امتصاصية DPPH في وجود المادة المدروسة 517 نانومتر.

7-2- نتائج تقدير الفعالية المضادة للأوكسدة:

7-2-1- اختبار الجذر الحر:

تم استعمال الجذر الحر DPPH، وذلك من اجل اختبار النشاطية المضادة للأوكسدة للمستخلصات النباتية لنبات السعد البني، باعتباره الاختبار الأكثر كفاءة وسهولة.

❖ نتائج مستخلص الايثانول - ماء.



الشكل (22): منحنى يمثل نسبة ارجاع مستخلص الايثانول - ماء لجذر DPPH

❖ حساب قيمة IC_{50} :

تحدد قيمة IC_{50} للمستخلص الايثانول - ماء من خلال المنحنى البياني من خلال حساب قيمة المقدار

الموافق ل 50% اعتمادا عل معادلة المنحنى للمستخلص:

$$Y = 0.4011x + 1.0778$$

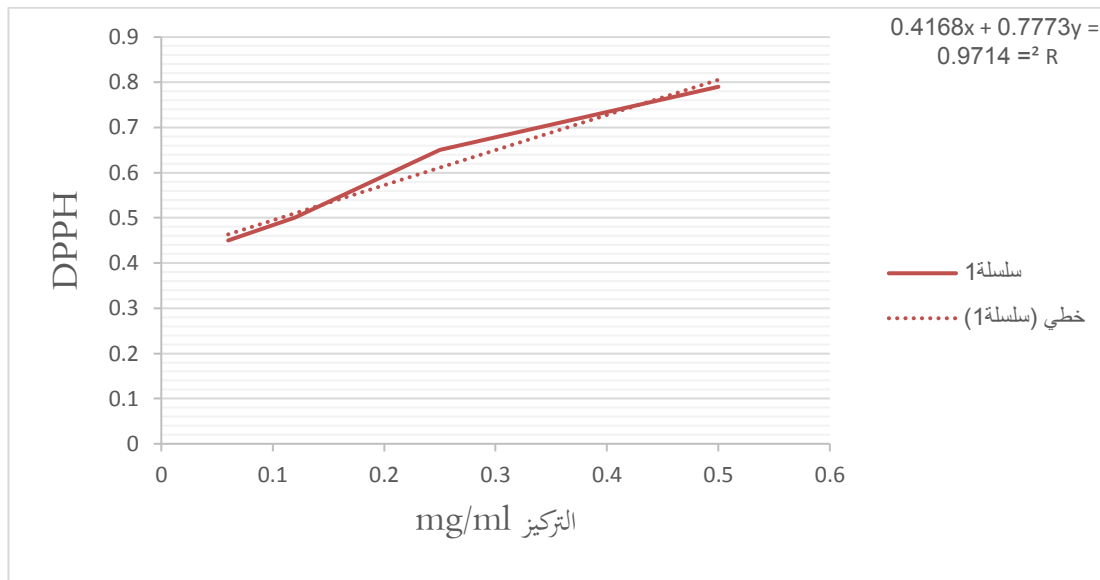
اذ كانت Y تساوي القيمة 50% تكون قيمة IC_{50} كمايلي:

$$X = (50 - 1.0778) / 0.4011$$

ومنه قدر تركيز عند قيمة IC_{50} للمستخلص (ايثانول - ماء):

$$IC_{50} = 120.20 \mu g/ml$$

❖ نتائج حمض الاسكوريك



الشكل (23): منحنى يمثل نسبة ارجاع حمض الاسكوريك لجذر DPPH

❖ حساب قيمة IC_{50} :

تحدد قيمة IC_{50} لحمض الاسكوريك من خلال المنحنى البياني من خلال حساب قيمة المقدار الموافق ل

50% اعتمادا على معادلة المنحنى لحمض الاسكوريك:

$$Y = 0.5048x + 0.7749$$

اذا كانت Y تساوي القيمة 50% تكون قيمة IC_{50} كمايلي:

$$X = (50 - 0.7749) / 0.5048$$

ومنه قدر تركيز عند قيمة IC_{50} للمستخلص:

$$IC_{50} = 63.87 \mu g/ml$$

جدول (16): قيمة IC_{50} لمستخلص ايثانول -ماء وحمض الاسكوريك $\mu g/\mu l$

النبات	المستخلص	قيمة IC_{50}
الجزء الهوائي لنبات	حمض الاسكوريك	$63.87 \mu g/\mu l$
السعد البني	مستخلص (الايثانول -ماء 2/8)	$120.20 \mu g/\mu l$

❖ مناقشة وتحليل النتائج

من خلال الجدول (16) أظهرت النتائج أن حمض الاسكوريك يمتلك أكبر فعالية مضادة للأكسدة قدرت بـ $63.87 \mu g/\mu l$ من مستخلص الجزء الهوائي لنبات السعد البني المقدرة بـ $120.20 \mu g/\mu l$ في أسر وكبح الجذور الحرة لجذر DPPH، وهذا عند مقارنة الفعالية المضادة للأكسدة عند حمض الاسكوريك الذي يعرف بأنه الأقوى بالنسبة لعديدات الفينول (البولي فينول).

7-3- اختبار القدرة الارجاعية FRAP

يستخدم إرجاع الثلاثي كمؤشر يبين فعالية الالكترونات المانحة التي هي مهمة في آلية تفاعل مضادات الأكسدة الفينولية.

في اختبار القدرة الارجاعية للحديد، تمنح مضادات الأكسدة الكترونات تعمل على إرجاع الحديد الثلاثي إلى الحديد الثنائي، ويمكن تحديد كمية معقدة الحديد الثنائي بقياس طول الامتصاصية عند موجة تشكل اللون الأزرق الداكن عند 700 نانومتر.

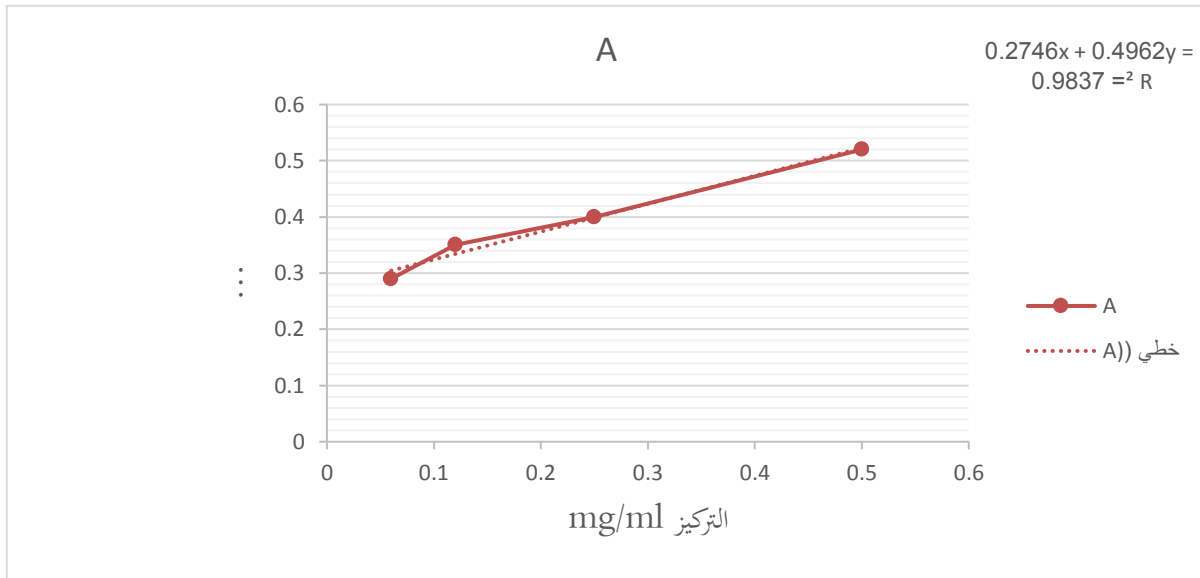
كما تحدد القدرة الارجاعية للمستخلصات حسب طريقة JAYANTHI و LALITHA حيث تتفاعل المستخلصات التي تملك قدرة على الإرجاع مع فريسيانيد البوتاسيوم $K_3[Fe(CN)_6]$ لتشكيل فيروسيانيد البوتاسيوم $K_4[Fe(CN)_6]$ يتفاعل هذا مع كلور الحديد لإعطاء مركب يمتص في طول موجة 700 نانومتر.

❖ طريقة العمل

- ✓ قمنا بتحضير من المستخلصات السابقة لنبات السعد البني 2mg، وذوبناها في 2ml من الميثانول، فتحصلنا على مستخلص ذو تركيز 1mg/ml.
- ✓ نقوم بمزج 250 ميكرو لتر من المستخلص مع 625 ميكرو لتر من المحلول المنظم فوسفات (ph=M0.2;6.6).
- ✓ نضيف للمزيج 625 ميكرو لتر من محلول فريسيانيد البوتاسيوم (1%). يخضع لمدة 20 دقيقة في حمام مائي درجة الحرارة 50°.
- ✓ يضاف للمزيج 625 ميكرو لتر من حمض الخل ثلاثي الكلورور trichloroacet acid (10%) (TCA)، يعرض بعدها للطرد المركزي 3000 دورة /د خلال 10 دقائق.
- ✓ نأخذ الجزء الطافي حجم 625 ميكرو لتر، ويضاف إليه 625 ميكرو لتر من الماء المقطر، و 125 ميكرو لتر من كلور الحديد $FeCl_3$ (0.1%).
- ✓ تقاس الامتصاصية عند طول موجة 700 نانومتر، وتمت مقارنة النتائج باستعمال فيتامين C كشاهد موجب محضر في الشروط التجريبية، وبنفس الطريقة.

❖ مناقشة وتحليل النتائج:

- تم تقدير القدرة المضادة (القوة الارجاعية) للمستخلص النباتي بالاعتماد على اختبار ال FRAP، حيث يتركز هذا الاختبار على قياس التغيرات التي تحدث في الامتصاصية الضوئية لمزيج التفاعل، والذي يمتلك علاقة طردية مع القدرة الارجاعية للحديد.
- حددت الفعالية الارجاعية للمستخلص النباتي استنادا لنشاطية حمض الاسكوربيك AcideAscorbique باعتباره مرجعا قياسيا.



الشكل (24): منحنى قياسي لحمض الاسكوريك المعتمد في اختبار القدرة الارجاعية للحديد FRAP
نتائج الامتصاصية الضوئية للمحلول المحضر مدونة في التالي:

جدول (17): قيمة الامتصاصية الضوئية للمحلول المحضر:

العينة	مستخلص ايثانول-ماء (2/8)
التركيز mg/ml	0.5
الامتصاصية الضوئية	0.640

من خلال علاقة المنحنى القياسي لحمض الاسكوريك نجد تركيز ال FRAP في المستخلص المدروس،

حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة ل 2mg من المستخلص النباتي.

$$Y=0.2746x+0.4962$$

جدول (18): كمية ال FRAP للمستخلص

العينة	مستخلص ايثانول - ماء
كمية ال FRAP $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	52.36

❖ مناقشة النتائج

من خلال الشكل (24) الموضح لقيم الامتصاصية الضوئية للمزيج التفاعلي للمستخلص ايثانول-ماء للجزء الهوائي لنبات السعد البني حيث قدرت قيمة الامتصاصية الضوئية عند مستخلص ايثانول-ماء (2/8) ب 0.64 عند تركيز 0.5mg/ml وكمية ال FRAP 52.36 µg/µl

الخلاصة:

يملك الجزء الهوائي لنبات السعد البني ذو المردود 0.24%، مجموعة من المركبات والمواد النشطة والفعالة بنسب، وكميات متفاوتة حيث يحتوي على نسبة كبيرة من الصابونوزيدات والفلافونيدات، ونسبة متوسطة من العفصيات والستيروولات الغير المشبعة والتربينات، وغياب القلويدات.

وفي التقدير للعديد الفينول في المستخلصين المدروسين حيث بلغت عند حمض الغاليك ب 66.15mg/g وعند مستخلص ايثانول- ماء 67.49mg/g، أما بالنسبة للتقدير الكمي للفلافونيدات قدرت ب 25.08mg/g عند محلول الكريستين أما عند المستخلص ايثانول-ماء قدرت ب 31.55mg/g.

أما بالنسبة للفعالية الكيميائية المضادة للأكسدة فقد بلغت قيمة IC_{50} عند مستخلص ايثانول-ماء 120.20µg/mL، أما لمزيج حمض الاسكوربيك قدرت ب 63.87µg/mL.

أما عن القدرة الارجاعية للحديد FRAP فقد كانت قيمتها 52.36 µg/µl عند مستخلص ايثانول-ماء.

الخاتمة

بتعاقب الأجيال تتعاقب الأبحاث وفي شتى المجالات وكمواصلة للأبحاث في الأبحاث السابقة في مجال التداوي بالنباتات الطبية واكتشاف مدى القيمة العلاجية للمواد الفعالة التي تحتويها هاته النباتات، فمن هذا المنطلق قمنا بدراسة الفعالية الكيميائية والبيولوجية للجزء الهوائي لنبات السعد البني *Cyperus Fuscus* L الذي ينتمي إلى العائلة السعدية Cyperaceae وجنس *Cyperus*.

قمنا أولا بالاستخلاص عن طريق النقع، الاستخلاص (صلب/سائل)، حيث تحصلنا على مردود 0,24%، وللتعرف على محتوى المواد الفعالة في هذا النبات قمنا بدراسة الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي وذلك باستخدامنا للمستخلص الايثانولي في الكشف عن بعض مركبات الأيض الثانوي المتمثلة في القلويدات، الفلافونويدات، الصابونيات، التانينات، الستيرويدات الغير مشبعة التربينات.

كما تمت دراسة التقدير الكمي للفينولات الفلافونويدات في المستخلص الايثانولي وذلك باستخدام طريقة كاشف FolinCiocalteu وطريقة كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ وكانت النتائج جيدة ومعتبرة.

وللوقوف كذلك على الفعالية المضادة للأوكسدة للمستخلص الايثانولي تم تقدير النشاطية المثبطة للجذر الحر باستعمالنا اختبار DPPH، حيث بينت النتائج أن المستخلص الايثانولي-ماء كانت له فعالية ضعيفة مقارنة مع حمض الاسكوربيك المستعملة كمواد حافظة في الصناعات الغذائية. أما بخصوص اختبار القدرة الارجاعية FRAP، فقد كانت قيمتها جيدة اذ تم اعتماد حمض الاسكوربيك كمرجع.

وفي الأخير نرجو أن نكون قد وفقنا إلى الأهداف المرجوة، وهي دراسة الفعالية الكيميائية، والتقدير الكمي للجزء الهوائي لنبات السعد البني المتواجد على مستوى الغطاء النباتي للولاية، أو على الأقل قد أثرتنا تساؤلات في جانب مهم من مواضيع الطب البديل الحالي، كي يتسنى لنا ولغيرنا لتمعن أكثر لإثراء الرصيد العلمي، في هذا المجال، والتعمق أكثر في جوانبه، كما نرجو أن نكون قد وفقنا في تثمين الغطاء النباتي وفتح المجال للباحثين لمواصلة

البحث في هذا الموضوع، حيث أنه يمكن التطلع مستقبلا لإجراء دراسات معمقة على نوع النبات المختار، والمتمثلة في النقاط التالية:

- استخراج المواد الفعالة من النبات.
- ربط الدراسة بين المواد الفعالة والقيمة الغذائية.

قائمة المصادر والمراجع

❖ المراجع باللغة العربية

- أبو زيد ش.ن، النباتات العطرية ومنتجاتها الزراعية والدوائية، الطبعة الثانية، الدار العربية للنشر والتوزيع.
- أكبر م.م، المنصور ن، حاتم ع.ن، 2011، تأثير بعض مستخلصات المذيبات العضوية ومستخلصات المركبات الثانوية على الأداء الحياتي لحشرة الذبابة المنزلية *Musca domestica*. (Diptera: Muscidae). مجلة أبحاث البصرة، المجلد (2)، العدد (37).
- باز م، 2006، استخلاص، فصل وتحديد بنيات منتج الايض الثانوي عند نبات جنس *C. Chirocephalid L Cenlvutaurea*، رسالة مقدمة لنيل الماجستير في الكيمياء العضوية، جامعة منتوري قسنطينة.
- بالفار م ا، 2016، المساهمة في دراسة القدرة المضادة للأكسدة لبر وبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيمائية والكهرو كيميائية، أطروحة دكتوراه، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.
- بكة ش، حفيان خ، 2016، الدراسة الفيتو كيميائية والفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة *Zygophyllumgaetulum*، مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.
- بن سلامة ع.ر، 2012، النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزائين لمستخلصات أوراق *HertiacheirifoliaL*، مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير جامعة فرحات عباس سطيف.
- بن عربية ع، 2013، دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء *LawsoniaInermis* لولاية إدرار، مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.
- بوطيمة ش، 2012، مقارنة بين الطريقة الفيتو كيميائية والطريقة الالكتروكيميائية في دراسة فينولات بعض نوى التمر المحلى، مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح ورقلة.

- جبالي ه، 2012، التقدير المخبري للنشاطية المضادة للأكسدة والجذور الحرة لبعض المركبات الكبريتية، مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.
- جيدلص، 2015، تقدير المحتوى الفينولي والتأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات نباتات Pistacia Argania spinosa L وAremisia campestris L ولentiscus L، أطروحة دكتوراه، جامعة فرحات عباس، سطيف 1.
- حجاوي غ، حسينالمسيحي ح. ز. و، محمد جميل قاسم ر، 2009، علم العقاقير والنباتات الطبية، دار الثقافة للنشر والتوزيع بيروت.
- حليس ي، 2005، الموسوعة النباتية لمنطقة سوف، مطبعة الوليد الوادي، الطبعة الأولى الجزائر.
- حميدي ن، (2015)، الدراسة الفيتوكيميائية، والتقييم البيولوجي للفاقونياالونجيسيا FagoniaLongispina نبات من الجنوب الغربي للجزائر، مذكرة دكتوراه في الكيمياء، جامعة أبي بكر بالقائد تلمسان.
- حودة، 2013، دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة، مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.
- د. مشيرة الشامي، 6 أغسطس 2018، نبات السعد. أماكن الزراعة والأنواع والفوائد.
- الداودي ا. ج، قصير و. ع، سلمان منيب طاهر، 2012، استخلاص وتشخيص تانينات قلف أشجار الصنوبر البروتي Quercus aegilops L، وبلوط الأكل Pinus brutia Ten النامية في العراق، جامعة الموصل.

- ربيعي ع ك، (2010)، المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية، والكهروكيميائي، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء تحليلية، ومراقبة المحيط، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، الجزائر.
- رضا شنوف، (15 ماي 2021)، وادي سوف مدينة الألف قبة وقبة والشعر والشعراء وعاصمة الثورة الخضراء في الجزائر.
- رهباني سو ساري ع، 2008، استخلاص وتحليل الزيت الأساسي لنبات الجعدة العليا للأستاذة. مذكرة تخرج لنيل شهادة أستاذ التعليم الثانوي، المدرسة Teucirumpolium
- شرادة ن، عوادي م، (2019)، دراسة العلاقة الفيتوكيميائية بين نباتي الارطى *Calligonumcomosum* L'her العائل , والثر ثوت *cistanche tinctoria* (Desf). Beck المتطفل النامي في منطقة واد سوف، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي تخصص تنوع حيوي وفيزيولوجيا النبات، جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي، الجزائر.
- شروانة س، 2007، فصل وتحديد منتجات الايض الثانوي الفلافونيدي لنبته *Lyciumarabicum*، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماجستير جامعة قسنطينة.
- العابد ا، 2009، دراسة الفعالية المضاد للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران *Traganumnudatum*، مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية التطبيقية، جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- العابد ا، 2009، دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران *nudatumTraganum*. مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة.

- عمrani، 2013، دور فيتامين E، C والمستخلص البوتانولي لنباتي *Chrysanthemum fontanesii* و *Rhantheriumsuaveolens* في الوقاية من التسمم المحرض بدواء Sodium valproate لدى الفئران الحوامل، دراسة مذكرة لنيل شهادة دكتوراه العلوم في بيولوجيا و فيزيولوجيا خلية الحيوان، جامعة قسنطينة، الجزائر.
- عودة س.م.، 2014 - محاضرات في النباتات الطبية والعطرية، قسم البستنة وهندسة الحدائق، كلية الزراعة، المحاضرة الثالثة.
- غمام ع ح، (2018)، دراسة الفاعلية البيولوجية، والكيميائية لمستخلصات نبات الشريك *FagoniaCretica.L*، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي، الجزائر.
- فاطمة علي، (24 ديسمبر 2021)، الصفحة الرئيسية علوم الأرض موقع وادي سوف.
- قموليص، 2009، دراسة كهروكيميائية للفينولات نوى التمر المحلى، مذكرة لنيل شهادة الماستر، كيمياء مطبقة، جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- قموليص، 2011، دراسة الكهروكيميائية لفينولات بعض نوى التمر المحلى، مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.
- المريقيا، 2005، كيمياء نباتات البساتين، جامعة الإسكندرية، مصر.
- ميثاق ج، 2010، بحث تحديد نواتج الايض الثانوي لنبات القات *Catha edulis* من العائلة (Celastraceae) ونبات البوليكاريا *Pulicariajaubertii* من العائلة (Asteraceae) وتقييم الفعالية البيولوجية، رسالة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه علوم في الكيمياء العضوية، جامعة منتوري قسنطينة.

- وببلوطه ح، 2009، النشاط المضاد للتأكسد وإمكانية وقاية المستخلص الميثانولي لنبتي Centaurea Matricariapubescens و Incan على السمية الكبدية، مذكرة ماجستير، جامعة منتوري قسنطينة..

- يوسف م. ك. س. والتارقي ز. ه. م، 2005، دور المواد المضادة للتغذية في تغذية الإنسان، مجلة أسبوط الدراسات البيئية، المجلد (2).

❖ قائمة المراجع بالأجنبية

- Chouikh A, Alia F, Neffar S, Rebiai A, Adjel E, Chefrour A, (2018) evaluation of phenolic contents (quantitative and qualitative)and antioxidant activities in different physiological phases Genista saharae COSS.& DUR. Growing in the sahara of Algeria, naleleUniversităţii din Oradea, FasciculaBiologie, Tom. XXV(2), p.83-9.
- Khalaf NA, Ashok KS, Atif A,,Zaha E,, Husni F,(2008), Antioxidant activity of some Common Plants. Turk J Biol., V.32,p.:51-55..
- Ashok K et Upadhyaya K, 2012, Tannins are Astringent, Journal of pharmacognosy and phytochemistry, Vol (1), No (3):45_50.
- Benayad N, 2013, Evaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantesaromatiques et médicinalesmarocaines, extraction de métabolitessecondaires des champignons endophyiquesisolés de plantesmarocaines et activitéanticancéreuse, thèse de doctorat, université Mohamed V_ agdalnrabat, 186p.
- Boutelis D.A, 2015, Coursphytochimie **2èmeannée master, Université echahidhammalakhdar El' oued, 33p
- Chaouche TM, Haddouchi F, Ksouri R, Medini F, El-haci, IA, Bouchrit C Z, Sekkal FZ, Bekara FA.,(2013), Antioxidant activity profiling by

spectrophotometric methods of phenolic of *Prasium majus* L., Free Radicals and Antioxidants, V.3(1), p.43-6

- Cyprus, T., Pratico, D., 2006. Antioxidant and chronic vascular disease : in: Antioxidant cardiovascular disease. ed. Bourassa. pp, 226-253.
- Dai F, miao Q, Zhou B, Yang l, Liu, ZL, (2006), protective effects of flavonols and their glycosides against free radical -induced oxidative hemolysis of red blood cells. Life sci., V. 78(21), p. 2488-93
- Free Radical a Good Scavenger for oxygen Active Species? Chem, paper, volume, 59, (1):11-16.
- Govaerts, R. & Simpson, D.A. (2007). World Checklist of Cyperaceae. Sedges: 765. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew.
- Gutierrez J, Ballinger S. W, Darley-Usmar V. M, Landar A, 2006, Free radicals, mitochondria, and oxidized lipids: the emerging role in signal transduction in vascular cells, Circ Res, 99: 924-932.
- Holm, L., J.V. Pancho, J.P. Herberger, and D.L. Plucknett. 1979. Geographical atlas of world weeds. John Wiley and Sons, New York.
- Jacqueline S, 2009, Les huiles essentielles, Laboratoire de chimie des substances naturelles et des sciences des aliments, Université de la Réunion, 52
- Kekkonen, I. 2001. Cyperaceae, No. 206. Pages 1-277, in S. I. Ali and M. Qaiser, Flora of Pakistan. University of Karachi and Missouri Botanical Garden, Karachi and St. Louis.
- Kholkhal F, 2014, Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp. *coloratus* ssp. et *euciliatus*, Thèse de Doctorat, Université Abou Baker Belkaid, Tlemcen, 164p.
- Lugasi J m Hovari K. V, Biro L, 2003, The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases, Acta Biologica Szegediensis, Vol, 47, (4):119_125.

- Martrano R.j, 2002, Tannin, Analytical laboratory services, INC, 3p.
- McKenzie, P. L., B. Jacobs, C. T. Bryson, G. C. Tucker, and R. Carter. 1998. *Cyperus fuscus* (Cyperaceae), new to Missouri and Nevada, with comments on its occurrence in North America. Sida 18:325-333.
- Molyneux P, (2004), The use of the stable free radical diphenylpicryl - hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, Songklanakarin J Sci Techonl., V. 26(2), P.:631-4.
- Myra,M.,2011 what is oxidative stress. University of Michigan Environmental Health science.p734-764.
- Ozgen U *et al*,2006, Antioxidant properties of some medicinal Lamiaceae(Labiatae) species,Pharm Biolm44:107-112
- Pionita a ,2005, Is DPPH Stable Palazzetti,S.,2005. Sport-stress-Nutrition: Ce que doit savoir le biologiste. Biologiemédicale.p87-128.
- Smith, w.R. (2018).Sedges and Rushes of Minnesota: 1/667.University of Minnesota Press, Mineapolis, London.
- Tunez,I.,Sanchez.Iopez,F.,Aguera,E.,Aguera,E.,Fernandez,R,Sanchez,F.,T asset,I.,2011.Important role of oxidative stress bio markers in Huntington s disease. J Med Chem.54(15):5602-6