الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar –El Oued

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté de science de la nature et de la vie

مذكرة مقدمة لنيل شهادة:

ماستر أكاديمي

قسم :البيولوجيا

الشعبة : علوم بيولوجية

التخصص : التنوع البيئي و فيزيولوجيا النبات

مقدمة من طرف الطالبات:

حمو نسيمة

شعوبي ياسمين

سلمي صابرين

نجيمي أمينة

بعنوان

دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات أوراق المورينغا *Moringa oleifera* Lam

نوقشت من طرف اللجنة المكونة من:

د.العانز الحفناوي	أستاذ محاضر "ب"	رئيسا	جامعة الوادي
د. قادري منيرة	أستاذ محاضر "ب"	مؤطرا	جامعة الوادي
د.حوات عمار	أستاذ محاضر "ب"	مناقشا	جامعة الوادي

الموسم الجامعي :2022/2021

بسم الله الرحمن الرحيم
١٤٢٠

شكر وعرفان

بسم الله الرحمان الرحيم و الحمد لله على ما أنعم، وله الشكر على ما ألهم، من عموم نعم ابتدأها، وسبوغ آلاء أسداها، وتمام منن والاها، جم عن الإحصاء عددها، ونأى عن الجزاء أمدها، وتفاوت عن الإدراك أبدها، والصلاة والسلام على خير الأنام، وكاشف الظلام، وعلى آله الهداة إلى الأنام، وسلم تسليما كثيرا.

نتوجه بالشكر أيضا للإدارة جامعة الشهيد حمه لخضر وكذا إدارة كلية علوم الطبيعة الحياة ورئاسة قسم البيولوجيا على كل ما قدموه من وسائل وأدوات لمساعدتنا وتذليل العقبات خلال مسيرة البحث, نتقدم بخالص الشكر والامتنان الى الأستاذة الفاضلة الدكتورة **قادري منيرة** على اقتراحها عنوان هذا البحث التي لولاها لما أنجزنا هذا العمل ولما لاقيناه منها من حسن المعاملة وتوجيهها السديد لنا وصبرها على ما واجهته معنا لأداء الأمانة العلمية الموضوعة على عاتقها فكانت نعم المشرف والمؤطر فجزاها الله عنا كل خير.

كما نزجي أسمى عبارات الشكر الى مسؤولي المخابر الذين كانوا عونا لنا طيلة فترة العمل داخل المخبر نخص بالذكر الأستاذ **خنوفه عمر** الذي ساهم وبشكل كبير في انجاز وتذليل صعاب هذا العمل, والى كل طلبة وطالبت كلية البيولوجيا, والى كل من مد يد العون من قريب أو بعيد ولم تسعفنا الذاكرة لذكرهم فجزاهم الله خيرا.

ونسأل الله جل في علاه أن يكون هذا العمل خالصا لوجهه ،وأن يجعله علما نافعا.

الإهداء

أهدي هذا العمل المتواضع

إلى من هما أحق بصحبتي... إلى من كان لهما الفضل الأول بعد الله سبحانه وتعالى

في نجاحي لأحذو هذا الحذو...

إلى قمري الذي انطفئ نوره ولم يعد بإمكاني تأمله كل ليلة أو انتظار طلعته كل شهر...

إلى روح والدي تغمدها الله بواسع رحمته ورزقني لقياه في الجنة.

إلى شمسي المتوهجة التي تنير لي دروب الحياة...إلى من سكنت الجنة تحت قدميها...إلى الصدر الحنون أمي رزقني الله برها ورضاها.

إلى من أعيش معهم حلو الحياة ومرها...إخوتي وأخواتي، أخص بالذكر نجوم سمائي وسندي

شرف الدين- زرزور- مبروك - زكرياء.

إلى كل من يحمل لقب نجيمي وساما على رأسه.

الى من كان سببا في مواصلتي لهذه المرحلة وخوضي هاته التجربة صدام نجيمي

إلى كل من يحمل شعار العلم مكللا بالأخلاق فوق كل الاعتبارات

إلى أساتذتي الكرام الذين ارتوينا بعلمهم أخص بالذكر أستاذتي الفاضلة د. قادري منيرة التي كانت المشرف الأول والقائم على نجاح هذا العمل

الى اخواتي ولا اقول صديقاتي للاتي شاركنني حياة الاقامة بكل جوانبها وكن حق الاخوات وأكثر

صابرينة –خديجة – أية -سهام. ق -سهام. ع - كريمة –عبلة-نبيلة –نسيبة.

إلى مدرسة الاتحاد العام الطلابي الحر وكذا نادي السراج المنير اللذان تعلمت فيهما الكثير الكثير

إلى رفيقات دربي في الدراسة وكذا الاقامة أخص بالذكر: ياسمين ,صابرين, نسيمة.

إلى كل من عرفتها في حياتي الجامعية ولم يخط اسمها في هذا الإهداء كل باسمها ومقامها

إلى كل من ساهم من قريب أو بعيد في إنجاز هذا العمل مع حفظ الألقاب والمقامات

أمينة

الإهداء

اهدي ثمرة عملي هذا إلى

من كافح في دنياه فتحمل ويلات الزمان وتجرع وأخفى ألامه عنا كي لا نشعر

بقسوة الحياة

من علمني الصبر والنجاح ومواجهة الصعاب ولم تمهله الدنيا وكنت له الأمل الذي

راوده في حياته فحلم ان يراني في مثل هذا اليوم

أبي.... حفظه الله ورعاه

من تعجز كلماتي وتنحني هامتي لعظيم عطائها، شمس حياتي التي لا تغيب، وسبيلي إلى الجنّة

اسماها نفسا، وأدقها حسا، وأرسخها في المكرمات أقداما، وارفعها في الحادثات أعلاما

وأقرها في المشكلات أحلاما، إلى مشعة النور في ظلمات، نعم الجليس، وخير الأنيس

امي أطال الله في عمرها في صحة وخير حال

رفقاء دربي في هذه الحياة، معكم أكون أنا و بدونكم أكون مثل أي شيء، إلى من أرى التفاؤل بعيونهم و السعادة في ضحكتهم

إخوتي وأخواتي طلب ,عبد الحكيم ,خالد, عبد الكريم, ملاك, راوية

وإلى كل من يحمل لقب سلمي وعزابي

إلى من كانت المساند الأول والأخير في هذا العمل وفقاه الله إلى كل ما يرضاه

الدكتورة قادري منيرة

إخوتي اللواتي لم تلدهن أمي ...إلى من تحلو بالإخاء وتميزوا بالوفاء والعطاء إلى كل ينابيع الصدق الصافي

من معهم سعد، وبرفقتهم في دروب الحياة الحلوة والحزينة سرت إلى من كانوا معي على طريق النجاح وتحملنا مع ظروف الإقامة والحياة

شيماء, رحيل , وئام, خلود, منال, جهينة, فلة , آية

إلى من أكمل معي مسيرتي وساندني وتحملني في كل حلاتي

إلى شريك حياتي بن .س

إلى زميلاتي ورفيقاتي في هذا العمل المكافحات أمينة, ياسمين, نسيمة

صابرين

الإهداء

أهدي هذا العمل راجية من الله أن يجد القبول والنجاح

إلى من ساندتني في صلاتها ودعائها، إلى من سهرت الليالي لانعم بالراحة، إلى نبع العطف والحنان، إلى أجمل ابتسامة في حياتي، إلى أروع إمرأة في الوجود والدتي العزيزة أطال الله في عمرها

إلى من علمني أن الحياة كفاح سلاحها العلم ، إلى من سعى وشقى لانعم بالراحة والهناء، إلى الذي علمني أن أرتقي إلى سلم الحياة بحكمة وصبر إلى أجمل رجل في الكون والدي العزيز أطال الله في عمره .

إلى سندي وقوتي وملاذي بعد الله الى القلوب الطاهرة الرقيقة والنفوس البريئة إلى رياحين حياتي إخوتي الاحباء :

مصطفى، عزيزة، محمد خليل، كوثر ،هداية .

إلى كل عائلة شعوبي. إلى من سرنا سويا ونحن نشق الطريق معا نحنو النجاح والابداع إلى من تكاتفنا يدا بيد

ونحن نقطف زهرة تعلمنا إلى اخواتي اللاتي لم تلدهن أمي صديقاتي العزيزات :

أمينة ، وهيبة، شيماء، نسرين، سعيدة، صبرين، نسيمة .

إلى الأستاذة الفاضلة قادري منيرة التي ساندتنا طيلة هدا العمل و إلى من نسيهم القلم

ولم ينسهم القلب عن من علموني حروفا من ذهب وكلمات من درر أسمى وأجلى العبارات في العلم والعمل

إلى من صاغوا لي من علمهم حروفا ومن فكرهم منارة تنير لنا مسيرة العلم والنجاح إلى أساتذتي الكرام .

ياسمين

الإهداء

الحمد لله والصلاة والسلام على رسول الله وعلى من والاه واهتدى بهداه وسار على نه و شرعه الى يوم الدين .

أهدي ثمرة نجاحي الى أغلى و أسمى ما في الوجود ، الى الغالية التي تحب الخير لي و تسهر على راحتي إلى الصدر الحنون و مصدر الحنون و مصدر السعادة و الهناء .

*أمي * أطال الله في عمرها

إلى أحن و أطيب إنسان في الكون إلى من لم يبخل عليا بالغالي و النفيس ، إلى تاج راسي و مصدر أماني و منبع فخري في هذه الدنيا الكريم .

*أبي * أطال الله في عمره

إلى من شاركوني حلاوة الحياة و مرارتها إخوتي ، أختي . . . و بهجة حياتي

عبد القادر ، أسامة و هناء

إلى جميع صديقاتي اللاتي عرفتهنّ خلال مشواري الدراسي و إلى كافة أساتذتي من الطور الإبتدائي إلى الجامعي

كما أتقدم بالشكر الخاص للأستاذة قادرى منيرة على دعمها لنا بالنصائح و مساعدتها لنا طيلة فترة العمل

نسيمة

الملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات أوراق المورينغا *Moringa oleifera* Lam و التي تحصلنا عليها من منطقة أم الطيور ولاية المغير ، بعدها تم تحضير عدة مستخلصات بهدف الحصر الكيميائي الأولي لمواد الأيض الثانوي في نبات المورينغا ،حيث اظهرت احتواء اوراق المورينغا على مجموعة من مواد الايض الثانوي المتمثلة في الفلافونويدات، القلويدات ،الصابونيات, التانينات، الستيرولات والتربينات الثلاثية والمركبات المرجعة .

باستعمال مذيبات مختلفة القطبية تم استخلاص الفينولات، حيث تم تسجيل أعلى مردود عند المستخلص الميثانولي 2,10%، و منه تم تقدير كمية الفينولات للمستخلصات باستعمال طريقة Folin-Ciocalteu، حيث سجلت أكبر كمية من الفينولات في مستخلص خلات الإيثيل ب$284,40\pm0,87^{a}$ µg AG E/ mg Ex، أما تقدير كمية الفلافونويدات تم باستعمال طريقة كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ حيث احتوى مستخلص خلات الإيثيل على أكبر كمية ب (182,74±1,35µg Qu E/mg Ex)

لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة تمت دراسة النشاطية باستعمال الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ ،فقدرت أكبر فعالية في تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ في مستخلص خلات الإيثيل $IC_{50}=72,50\pm4,62\mu g/ml$.

الكلمات المفتاحية:المورينغا *Moringa oleifera Lam*، الفينولات ،الفلافونويدات ،النشاطية المضادة للأكسدة .

Abstract

The aim of this study is to estimate the antioxidant activity of *Moringa oleifera* Lam leaf extracts obtained from Oum Touyour, province El-Mghair .

After that, several extracts were prepared with the aim of Screening phytochimique in the *Moringa oleifera*, which showed that Moringa leaves contain a group of secondary metabolites represented in flavonoids, alkaloids, saponins, tannins, sterols, triterpenes and reference compounds.

Using different polar solvents, phenols were extracted, where the highest yield was recorded for the methanolic extract, 2.10%, and from it the amount of phenols for the extracts was estimated using Folin-Ciocalteu method, where the largest amount of phenols was recorded in the ethyl acetate extract with 284,40±0, 87a µg AG E/ mg Ex. As for the estimation of the amount of flavonoids, it was done using the Aluminum chloride method $AlCl_3$, where the ethyl acetate extract contained the largest amount of (182.74±1,35µg Qu E/mg Ex).

To estimate the antioxidant activity, the activity was studied using DPPH free radical, and it was estimated that the greatest activity in inhibiting free radical DPPH was found in ethyl acetate extract IC_{50}=72,50±4.62µg/ml.

Keywords: *Moringa oleifera* Lam, phenols, flavonoid, antioxidant activity.

الفهرس

فهرس المحتويات

شكر و عرفان	
الاهداء	
الملخص	
مقدمة	
الجزء النظري	
الفصل الاول: الدراسة النباتية	
I. التعريف بنبات المورينغا	3
II. التصنيف المورفولوجي لنبات المورينغا	4
III. الموقع الاصلي لنبات المورينغا	4
IV. متطلبات النبات للنمو	4
V. استخدامات نبات المورينغا	5
1.V. الاستخدامات الشعبية	5
2.V. الاستخدامات الطبية	6
3.V. الاستخدامات الصناعية	7
4.V. الاستخدامات التجميلية	7
الفصل الثاني: الفعالية المضادة للأكسدة	
I. تعريف مضادات الأكسدة	8
II. أنواع مضادات الأكسدة	8
1.II. مضادات الأكسدة الإنزيمية Enzymatic antioxidants	8
1.1.II. إنزيم فوق الديسيميوتازSOD	8
2.1.II. إنزيم الكاتالاز	8
3.1.II انزيمات جلوثاتيون Glutathione (GP)	9
2.II. مضادات الأكسدة الغير إنزيمية Non –Enzymatic antioxidant	9
1.2.II. مضادات الأكسدة الطبيعية	9
2.2.II. مضادات الأكسدة الاصطناعية	11
III. تعريف الجذور الحرة	12
IV. أنواع الجذور الحرة	13
1.IV. التقسيم على أساس الاستقرار	13
1.1.IV. الجذور الحرة غير المستقرة «النشطة »	13

2.1.IV. الجذور الحرة المستقرة «غير النشطة »	13
2.IV. التقسيم على أساس النوع	13
1.2.IV. الجذور الحرة الأكسيجينية	13
2.2.IV. الجذور الحرة النيتروجينية	14
3.2.IV. الجذور الحرة الالدهنية	14
V. مصادر الجذور الحرة	14
الجزء التطبيقي	
الفصل الأول: المواد و طرق العمل	
I. تحضير العينة النباتية	15
1.I. الجمع	15
2.I. التجفيف	15
3.I. الطحن	15
II. الأدوات والأجهزة والمحاليل المستعملة	15
III. الطرق المتبعة	18
1.III. تحضير المستخلصات النباتية Préparation des extraits	18
1.1.III. طريقة تحضير المستخلص المائي والميثانولي بالغليان (Décoction)	18
2.1.III. طريقة تحضير المستخلص المائي والميثانولي بالنقع (Macération)	18
3.1.III. طريقة تحضير المستخلص الحمضي (Extrait acidifié)	18
4.1.III. طريقة تحضير المستخلص الأثيري (Extrait éthérique)	19
5.1.III. طريقة تحضير مستخلص ثنائي كلور الميثان (Extrait dichlorométhane)	19
2.III. الحصر الكيميائي الأولي Tests phytochimiques	19
1.2.III. الكشف عن الفلافونويدات Flavonoïdes	19
2.2.III. الكشف عن الصابونيات Saponisides	19
3.2.III. الكشف عن المركبات المرجعة Composées réducteurs	19
4.2.III. الكشف عن التانينات Tanins	19
5.2.III. الكشف عن القلويدات Alcaloïdes	20
6.2.III. الكشف عن المركبات الاستيرولية و التربينات الثلاثية Stérols et triterpènes	20
7.2.III. الكشف عن الزيوت الأساسية Huile essentiel	20
3.III. استخلاص الفينولات	20
4.III. حساب المردود	22
5.III. التقدير الكمي للفينولات	22
6.III. التقدير الكمي للفلافونويدات	23
7.III. تقدير النشاطية المضادة للأكسدة	24

1.7.III. اختبار تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$	24
2.7.III. تحديد مقدار IC_{50} المثبطة لجذر $DPPH^{\bullet}$	24
الفصل الثاني: النتائج و المناقشة	
I. النتائج	27
1.I. نتائج الحصر الكيميائي الأولي	27
2.I. مردود المستخلصات النباتية	30
3.I. التقدير الكمي للفينولات	31
4.I. التقدير الكمي للفلافونيدات	32
5.I.علاقة الارتباط بين الفينولات والفلافونويدات في المستخلصات	34
I. 6.تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	35
7.I. الارتباط الخطي بين الفينولات والفلافونويدات في المستخلصات و الارتباط بين الفينولات الفلافونويدات والفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات أوراق نبات المورينجا	36
II. المناقشة	39
1.II. الحصر الكيميائي الأولي	39
2.II. مردود المستخلصات النباتية	40
3.II. التقدير الكمي للفينولات	40
4.II. التقدير الكمي للفلافونيدات	40
5.II. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	40
الخاتمة	43
المراجع	45
الملاحق	51

فهرس المخططات

الرقم	العنوان	الصفحة
مخطط- 1	أنواع مضدات الاكسدة	14
مخطط -2	مراحل تحضير المستخلصات النباتية والحصر الكيميائي	27

فهرس الوثائق

الوثيقة	العنوان	الصفحة
الوثيقة(1)	صورة فوتوغرافية لشجرة *Moringa oleifera*	3
الوثيقة(2)	توزيع نبات *Moringa oleifera* في العالم	4
الوثيقة(3)	استعمالات مسحوق أوارق المورينغا	6
الوثيقة (4)	الصيغة الكيميائية لفيتامين C	10
الوثيقة(5)	الصيغة الكيميائية لفيتامين E	10
الوثيقة (6)	الموقع الجغرافي لبلدية أم الطيور	15
الوثيقة(7)	معادلة تثبيط الجذر الحر DPPH في وجود مضادات الجذور الحرة	25

فهرس الأشكال

الشكل	العنوان	الصفحة
الشكل(1)	مردود المستخلصات النباتية لأوراق نبات المورينغا	31
الشكل(2)	المنحنى القياسي لحمض الغاليك لتقدير عديدات الفينول	31
الشكل(3)	كمية الفينول المقدرة في المستخلصات النباتية لأوراق نبات المورينغا	32
الشكل(4)	المنحنى القياسي لQuercetine لتقدير الفلافونويدات	33
الشكل(5)	كمية الفلافونويدات في المستخلصات النباتية لأوراق نبات المورينغا	34
الشكل(6)	معامل الإرتباط بين الفينولات و الفلافونويدات في مستخلصات أوراق نبات المورينغا	35
الشكل(7)	النسبة المئوية لتثبيط الجذر الحر DPPH· بدلالة التركيز لحمض الأسكوربيك	36
الشكل(8)	نشاطية المستخلص الكلوروفورمي في اختبار DPPH*	36
الشكل(9)	نشاطية المستخلص خلات الايثيل في اختبار DPPH*	36
الشكل (10)	نشاطية المستخلص الميثانولي في اختبار DPPH*	37
الشكل(11)	العلاقة بين PPT،FT وIC_{50} لمستخلصات أوراق المورينجا	38
الشكل(12)	منحنى الارتباط بين PPTوFT واختبار DPPH للمستخلصات	38

فهرس الجداول

الجداول	العنوان	الصفحة
الجدول(1)	التصنيف النباتي للمورينغا *Moringa oleifera*	**4**
الجدول(2)	أهم الجذور الأكسيجينية الحرة	**13**
الجدول(3)	المصدر الداخلية و الخارجية للجذور الحرة	**14**
الجدول(4)	الأدوات و المحاليل و الأجهزة المستعملة في تحضير المستخلصات النباتية	**16**
الجدول(5)	الأدوات و المحاليل و الأجهزة المستعملة في الحصر الكيميائي الاولي	**16**
الجدول(6)	الأدوات و المحاليل و الأجهزة المستعملة في استخلاص الفلافونويدات	**17**
الجدول(7)	الأدوات و المحاليل و الأجهزة المستعملة في التقدير الكمي للفينولات	**17**
الجدول(8)	الأدوات و المحاليل و الأجهزة المستعملة في التقدير الكمي للفلافونويدات	**17**
الجدول(9)	الأدوات و المحاليل و الأجهزة المستعملة في النشاطية المضادة للأكسدة	**18**
الجدول(10)	المستخلص الميثانولي و المائي بالغليان	**27**
الجدول(11)	المستخلص الميثانولي و المائي بالنقع	**28**
الجدول(12)	المستخلص الحمضي	**29**
الجدول(13)	الكشف عن الزيوت الأساسية و المركبات الأسترولية و التربينات الثلاثية	**29**
الجدول(14)	مردود المستخلصات النباتية المدروسة	**30**
الجدول(15)	الفينولات الكلية المقدرة في المستخلصات النباتية لأوراق نبات المورينغا	**32**
الجدول(16)	كمية الفلافونويدات في المستخلصات النباتية لأوراق نبات المورينغا	**33**
الجدول(17)	قيم IC_{50} لمستخلصات أوراق المورينغا مقارنة بحمض الأسكوربيك	**36**

مقدمة

مقدمة

تنتشر النباتات بصورة واسعة في مجيع أرجاء الكرة الارضية، في المناطق الصحراوية، الباردة، المعتدلة، في مياه البحار و حتى في المناطق التي تكاد تندر فيها الحياة ، وقد بدأ الانسان منذ القديم في أول مراحل حياته بالتعرف على النباتات والتمييز النافعة منها عن الضارة إذا أن حياته ترتبط بصورة وطيدة ومباشرة بها لتلبية متطلباته الغذائية والدوائية (زلاقي، 2006).

يعرف النبات الطبي على أنه النبات الذي يحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه المختلفة على مادة كيميائية أو أكثر بتركيز منخفض أو مرتفع ولها القدرة الفيزيولوجية على معاجلة مرض معين، أو على الاقل التقليل من أعراض الاصابة بهذا المرض إذا ما أعطيت للمريض إما في صورته النقية بعد استخلاصها من المادة النباتية، أو إذا ما تم استخدامها وهي مازالت على سيرتها الأولى في صورة عشب نباتي طازج أو مجففة أو مستخلص جزئيا (الجبر، 2010).

الجزائر غنية بالنباتات الطبيعية المتنوعة، نظرا لتوفر المساحات الواسعة والتربة المتنوعة والخصبة والمناخات المتعددة، وقد دلت الدراسات أن نباتات المناطق المعتدلة أكثر فعالية وأغنى بالعناصر المفيدة من نباتات المناطق الباردة والتقدير الاولي للأنواع النباتية الطبية في الجزائر ما يزيد عن 3500 نوع من النباتات، منها حوالي 1900 نوع يمكن العثور عليها في إسبانيا، وما يقارب 1500نوع في إيطاليا وأخرى لا نعثر عليها الافي البلدان الصحراوية، و إن من بين هذه الثروة النباتية ما لا يقل عن 500 عشبة متداولة الاهالي في الطب الشعبي (شربي، 2017، حليمي، 1997).

أصبح للغطاء النباتي في الجزائر في السنوات الاخيرة اهتماما خاصا في مجال البحث العلمي النظري والتطبيقي بهدف تطوير الارث النباتي الطبي والعطري وذلك لأهميتها في إنتاج المواد الاولية للدواء، يعتبر نبات المورينغا *Moringa oleifera* أحد هذه النباتات الطبية المتواجدة في الجزائر، ورغم أنه من الانواع الاصلية لشمال شرق الهند، لكنه مزروع اليوم في جميع المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية من العالم، وفي أوائل القرن العشرين أصبحت تزرع في إفريقيا من خلال التجارة و التبادل التجاري، خلال هذه الفترة نجد هذا النوع في ثلاث قارات وأكثر من خمسين دولة مدارية وشبه مدارية. وفي هذه البلدان يتم استخدامه كنبات طبي و أيضا كطعام (Theophile, 2014) .

لقد أصبحت النباتات الطبية بديلا لكثير من العقاقير و الادوية التي كانت في وقت ما محل اهتمام العديد من الهيئات الصحية التي تصب جهودها الان الى التحذير من أخطار وتأثيرات المواد الكيميائية على متناوليها وابتكار أدوية من مصدر نبات آمن (شبوعات، 2003).

ومن بين تأثير المستخلصات النباتية هو دورها كمضادات أكسدة طبيعية و التي كانت موضوعات لكثير من البحوث الحديثة نحو استغلال المركبات الثانوية من بينها الفينولات و الفلافونويدات التي لهما خصائص مضادة للأكسدة وكذا الفاعلية البيولوجية.

لهذا الغرض اخترنا نبات المورينغا *Moringa oleifera* الذي عرفه واستخدمه الانسان مند العصور القديمة خاصة الهنود والافريقيون، ونبتغي في هذه الدراسة المتواضعة للمساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات أوراق المورينغا وقد اخترنا العينة من منطقة ام الطيور بولاية المغير .

اذا من خلال هذه الدراسة نريد الإجابة على اهم الإشكاليات المتمثلة في :

* ما مدى احتواء مستخلصات نبات المورينغا على المواد الفينولية و الفلافونويدية ؟

* هل لمحتوى هذه المستخلصات المدروس نشاطية مضادة للأكسدة تجاه الجذر $DPPH^{\cdot}$ ؟

– ولتحقيق هذا الهدف اتبعنا الخطة التالية :

* **الجزء النظري** : يحوي فصلين :

• الفصل الأول :يشمل الدراسة النباتية .

• الفصل الثاني :يشمل الفعالية المضادة للأكسدة .

* **الجزء التطبيقي** : يحوي قصلين .

• الفصل الاول :تم التطرق إلى المواد والطرق المتبعة في الدراسة .و تم فيه ثلاث خطوات رئيسية تمثلت في الحصر الكيميائي الأولي ، ثم تقدير الفينولات و الفلافونويدات و كخطوة ثالثة تم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

• الفصل الثاني : تم عرض نتائج الدراسة ومناقشتها .

الجزء النظري

الفصل الاول

الدراسة النباتية

I. التعريف بنبات المورينغا

نبات مورينغا أوليفيرا *Moringa oleifera* او ما تسمى شجرة الحياة (Makkar and Bekkar., 1996) هي شجرة سريعة النمو ومقاومة للجفاف من عائلة *Moringaceae* (**الوثيقة 1**) (Attilio *et al., 2021*). تنمو على نطاق واسع في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية (*Anwar et al., 2007*) .

هذا النبات معروف في 82 دولة ب210 أسماء مختلفة (Amjad *et al., 2015*) ، في الهند على سبيل المثال الشجرة المعجزة وفي اللغة الانجليزية تعرف باسم شجرة الفجل « الناشئة عن طعم البهارات المعدة من الجذور » أو تسمى أيضا شجرة افخاد « الناتج عن شكل القرون » أو نفيذي « الذي لا يموت أبداً » يعرف في السودان باسم شجرة الرواق وتعني الشجرة المطهرة (Louni, 2009) تعرف أيضا بشجرة بن أويل، شجرة البنزويف، شجرة الملفوف، أفضل صديق للأم (Ghebremichaela *et al., 2005*) كما تعتبر من أكثر الأشجار فائدة في العالم، حيث يمكن استخدام كل جزء من شجرة المورينغا تقريبا للأغذية أو الأدوية أو للأغراض الصناعية (Ghbremichala *et al., 2005*) .

وثيقة(01): صورة فوتوغرافية لشجرة *Moringa oleifera* (Benkaddour, 2015)

II. التصنيف النباتي لنبات المورينغا:

يوضح الجدول الموالي التصنيف والتسمية العلمية لنبات المورينغا :

الجدول (01): التصنيف النباتي للمورينغا *Moringa oleifera* (Oslon, 1999).

Règne	**Plantae**	**نباتية**	**المملكة**
Sous-règne	**Tracheobionta**	**النباتات الوعائية**	**تحت المملكة**
Embranchement	**Spermatophyta**	**البذريات**	**الشعبة**
Sous-embranchement	**Magnoliophyta**	**النباتات المزهرة**	**تحت الشعبة**
Classe	**Eudicots**	**ثنائيات الفلقة الحقيقية**	**القسم**
Sous-classe	**Rosids**	**وردانيات**	**تحت القسم**
Order	**Brassicales**	**الكرنابيات**	**الرتبة**
Family	**Moringaceae**	**مورينجية**	**العائلة**
Genre	**Moringa**	**المورينغا**	**الجنس**
Espèce	***Moringa oleifera* Lam.**	**مورينغا اوليفيرا**	**النوع**

III. أصل والتوزيع الجغرافي لنبات المورينغا:

تنمو المورينجا أوليفيرا في المناطق استوائي وشبه استوائي بسمات بيئية خاصة، بالتحديد مناطق Agraو Oudh شمال شرقة الهند جنوب سلسلة الهمالايا (**الوثيقة 2**) (Meda, 2011) .

الوثيقة (02): توزع نبات *Moringa oleifera* في العالم (باللون الأخضر) .

((Bhupendra et Neikuozo, 2015

IV. المتطلبات البيئية لنبات المورينغا:

حسب دنيا (2021) تتمثل متطلبات المورينغا البيئية في

- تزرع في اي وقت من السنة وخاصة في فصل الخريف فهي من الأشجار التي تخشى البرد .
- تحتاج الى التعرض لأشعة الشمس اطول مدة ممكنة .
- ان تكون التربة طينية أو رملية .
- يجب سقيها بانتظام خلال السنوات الأولى من الزراعة مع زيادة أيام الري في فصل الصيف, وفي المراحل الأخيرة من النمو يتم الاكتفاء بالري خلال موسم الأمطار.
- يجب تقليم اشجار المورينجا في الشتاء حتى ارتفاع مترين تقريبا وقطع الفروع التالفة مع المراقبة المستمرة للآفات .
- يجب التخلص من النباتات الموجودة حول النبتة وذلك عندما يصبح طولها 15سنتيمترا (دنيا, 2021) .
- ان يكون الطقس الدافئ والجاف بحيث تتراوح درجة الحرارة بين 25- 35 درجة مئوية مع هطول الأمطار السنوية من 760الى2500 ملم (Palada, 1996) .
- تتطلب درجة حموضة بين 4,5 و8 على ارتفاع يصل الى2000م (Nouman *et al., 2014*) .

V. استخدامات نبات المورينغا

1.V. الاستخدامات الشعبية

لنبات الموريثنغا بمختلف أجزاءه النباتية له قيمة غذائية عالية حيث و حسب Wadhwasوأخرون (2013) تتعدد استخدامات المورينغا و نلخصها في :

- الاوراق هي الجزء الأكثر استخداما في المورينغا اوليفيرا ، و هي مغذية جدا و مصدر مهم البيتاكاروتين و فيتامين "ج" و البروتين و الحديد و البوتاسيوم .
- عادة ما يتم طحن أوراق المورينغا اوليفيرا المجففة إلى مسحوق، تستخدم في الحساء و الصلصات .
- أوراق المورينغا اوليفيرا مفيدة في زيادة حليب الثدي في أشهر الرضاعة.

و أضاف Delaveaup و زملاءه (1980) استخدامات أخرى للمورينغا نلخصها في :

- يمكن طحن البذور المجففة و استخدامها لتتبيل الصلصات .

– يمكن أيضا تجفيف جذور النباتات الصغيرة و استعمال مسحوقها لتحسين التوابل ،مع طعم قريب من طعم الفجل و لهاد السبب أطلق على اسم أشجار الفجل المورينغا اوليفيرا في اللغة الإنجليزية .

– يمكن تحضير الصلصة الحارة و اللذيذة عن طريق طهيها في الخل، و يمكن أن تؤكل الازهار بعد سلقها أو تقطيعها نيأة كمكون في السلطة. لا يزال من الممكن استخدام الراتنج الموجود في الجدع لتكثيف الصلصات .

– يمكن ان تؤكل القرون الخضراء الصغيرة مسلوقة مثل الفول (**الوثيقة 3**)

الوثيقة(03): استعمالات مسحوق أوارق المورينغا (Maouchi et Katia, 2017) .

V. 2. الإستخدامات الطبية

– تستخدم الاوراق لعلاج العديد من الأمراض بما في ذلك الملاريا وحمى_ التينوفيد والطفيلة والتهاب المفاصل والتورمان والجروح وأمراض الجلد وأمراض الجهاز البولي والتناسلي وارتفاع ضغط الدم وداء السكري (*Alessandro et al., 2015*) .

– يغلى اللحاء وينقع في الكحول للحصول على المشروبات والحقن التي يمكن استخدامها لعلاج أمراض المعدة تسكين « آلام المعدة والقرحة والمساعدة على الهضم » وضعف الرؤية, وجع الرأس ،الأسنان والبواسير واضطراب الرحم *Alessandro et al., 2015*) .

– تستخدم الازهار لإنتاج مواد مثيرة للشهوة الجنسية ولعلاج التهابات_ العضلات والهستيريا والاورام وتضخم الطحال (Anwar *et al., 2007*) .

– تستخدم القرون كمضاد للديدان وخافض للحرارة ومضاد لمرض السكري (Amjad *et al., 2015*) .

– يحتوي الزيت على خصائص مطهرة ومضادة للالتهابات وتساعد في التئام الجروح، شكاوي جلدية طفيفة مثل الجروح والكدمات والحروق ولسع الحشرات، الطفح الجلدي والخدوش (Kaput, 2015) .

– يستخدم عصير الجذور كمضاد للصرع ومنشط للقلب ومنشط للدماغ (بن سلامة، 2012) .

– تستخدم البذور كمضادات حيوية ومضادة للالتهابات، لعلاج التهاب المفاصل، الروماتيزم، النقرس، والتشنجات والأمراض المنقولة جنسيا والدمامل (Kaput, 2015) .

– الجذور: طارد للريح، مضاد الاخصاب، مضاد للالتهاب، منشط في الآلام الشللية، يعمل كمنشط للقلب للدورة الدموية، يستخدم كملين، علاج الروماتيزم ، التهاب، آلام المفاصل (Navies et Csurhes, 2010) .

– البذور: يمارس مستخلص البذور تأثيره الوقائي عن طريق تقليل بيروكسيدات الدهون في الكبد و المركبات الخافضة للضغط (Anwar *et al., 2006*) .

– عصارة الأوراق تعمل على استقرار ضغط الدم، و يفرك على الصدع للصداع, ويستخدم للحمى، والتهاب الحلق، والتهاب الشعب الهوائية، والتهابات العين والاذن والأنفلونزا، ويستخدم لتقليل التورم الغدي (Navies et Csurhes, 2010)

– للزهور: قيمة طبية عالية كمنشط ، يستخدم لعلاج الالتهابات، وأمراض العضلات، والأورام، وتضخم الطحال، انخفاض الكوليسترول في الدم، الفوسفوليبيد، الدهون الثلاثية، ومؤشر تصلب الشرايين، يخفظ الدهون في الكبد(Siddhuraju et Becker., 2003) .

– الثمار : تستخدم القرون لألم المفاصل(Navies et Csurhes, 2010) .

V.3. الاستخدامات الصناعية :

– الخشب : وقود جيد للطبخ ولأغراض أخرى ويمكن استخدامه أيضا لصنع ورق عالي الجودة .

– يمكن استخدام اللحاء لدباغة الجلود. (Mishra *et al., 2011*) .

V.4. الاستخدامات التجميلية :

في مجال التجميل اجزاء من نبات المورينغا, ولا سيما البذور« التي تطلق زيتا غنيا بفيتامين أ الذي يساعد على بناء الكولاجين في الجلد و فيتامين ج الدي يقلل الخطوط الدقيقة و التجاعيد و فيتامين هـ و المعادن, البوتاسيوم, الكالسيوم الدي يوفر خصائص مطهرة للالتهابات» ضروري لصناعة المنتجات مثل الصابون لتحسين نسيج الجلد, فإن دهن الشعر و الزيت لإعطاء مظهر جديد للشعر (Agroconsult, 2016) .

الفصل الثاني

الفعالية المضادة

للأكسدة

I. تعريف مضادات الاكسدة:

يطلق مصطلح مضادات الأكسدة على كل مادة أو مركب له فعالية ضد الأضرار التأكسدية ويعمل على تأخير أو الوقاية من فعل الجذور الحرة، تعمل مضادات الأكسدة على الحماية بعدة طرق إما بالتثبيط المباشر لإنتاج Ros أو منع انتشارها أو هدمها. تستعمل الخلية العديد من الآليات المضادة للأكسدة، وتختلف طبيعة هذه الأنظمة المضادة للأكسدة حسب الأنسجة والنوع الخلوي وحسب تواجدها في الوسط داخل وخارج الخلوي. تقسم الأنظمة المضادة للأكسدة إلى أنظمة إنزيمية وأخرى غير إنزيمية (بن سلامة، 2012) .

حسب Halliwell مضادات الأكسدة هي" أي مادة ذات تركيز منخفض مقارنة بالركيزة المؤكسدة التي تؤخر او تمنع أكسدة هذه الركيزة (pastre and priymenko, 2007) .

II. أنواع مضادات الأكسدة:

II.1.مضادات الأكسدة الإنزيمية:

تلعب هذه الأنظمة دورا هاما في الخلية وهي حمايتها من الإجهاد التأكسدي وتنقسم هذه المجموعة إلى عدة أنواع من أهمها: (Miquel, 2002) .

II.1.1. إنزيم فوق الديسميوتازSOD:

يعتبر إنزيم SOD من الإنزيمات التي تدخل في تحليل النواتج السامة للميتابوليزم الخلوي، فهو يقوم بإزالة الجذر o_2 وذلك بتسريع معدل تحوله إلى H_2O_2 بمساعدة بعض المعادن مثل السيلينيوم والنحاس والزنك .

(Fukai and Ushio, 2011) .

$$2O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

-كما يوضحه التفاعل التالي: (krim, 2014) .

كما أن إنزيم SOD يقي الكائنات الحية الهوائية من التأثيرات الضارة لهذا الجذر، وهو يوجد في كل الأنسجة الهوائية كالميتوكندري والسيتوسول (Yoshino and Murakamik, 1998) .

II.1.2. إنزيم الكاتالاز Catalase:

يتكون إنزيم Catalase (CAT) (EC 1.11.1.6) من أربع تحت وحدات، تحتوي كل تحت وحدة على مجموعة هيم مرتبطة بالموقع النشط يوجد إنزيم CAT في أغلب الكائنات الحية وفي كل أعضاء الجسم ويتركز خاصة في الكبد و كريات الدم الحمراء و

الكلى وبكميات قليلة في المخ والقلب و العضلات الهيكلية، كما يتواجد في الميتكوندري و السيتوزول و البيروكسيزومات يعمل CAT على التخلص من H_2O_2 وH_2O وذلك بتحويله إلى O_2 (بن سلامة، 2012) .

كما يوضحه التفاعل التالي : (شربي، 2017) .

$$2H_2O_2 \xrightarrow{CAT} O_2 + 2H_2O$$

3.1.II انزيمات جلوثاتيون Glutathione (GP)

و هي انواع، أنزيم, Glutathion reductase GR و إنزيم Glutathion peroxidase GP_X ينتشر كل من Glutathion peroxidase (GPx) وGlutathion reductase (GR) GR في العديد من الأنواع الخلوية، حيث يتمركزان في الميتكوندري و السيتوزول، و يعتبران من أهم الأنظمة الإنزيمية المضادة للأكسدة، وذلك لقدرتهما على إزاحة عدد من الجذور والهيدروبيروكسيدات الناتجة عن أكسدة الكولسترول والأحماض الدهنية وفق التفاعلات الآتية :

$$H_2O_2+2GSH \longrightarrow 2H_2O + GSSG$$

$$LOO\bullet +2GSH \longrightarrow LOH + H_2O + GSSG$$

يقوم إنزيم Glutathion reductase بإعادة تجديد GSH (γ-glutamyl-cysteinyl-glycine) انطلاقا من GSSG, ويتطلب هذا التفاعل عامل مساعد هو NADH (بن سلامة، 2012) .

2.II. مضادات الأكسدة غير الإنزيمية:

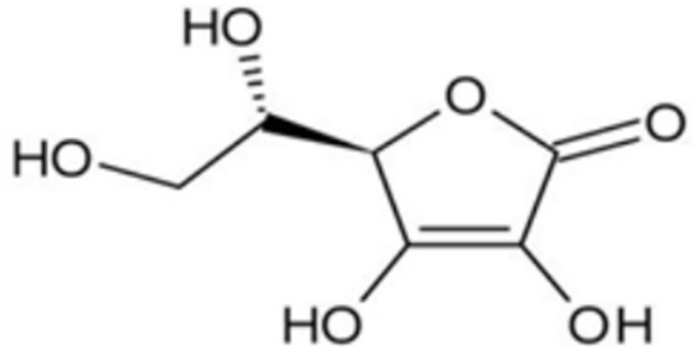
هي جزيئات تمتلك خصائص مضادة للأكسدة، خارجية المنشأ غالبا ما تكون ذات مصدر غذائي حيث تتفاعل بربط أو تبادل الإلكترونات الحرة من أجل تثبيط ROS عن طريق عمليات الأكسدة والارجاع وتنقسم إلى (Cheng *et al., 2003*) :

1.2.II. مضادات الأكسدة الطبيعية :

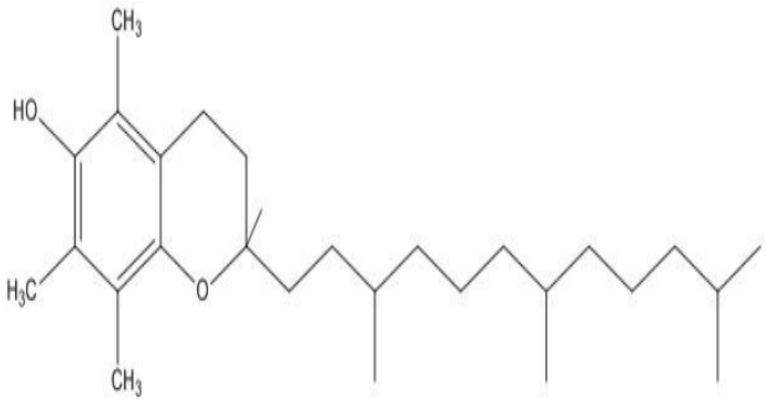
•فيتامينC و فيتامينE:

يقوم كل من Vit. C و Vit. E بمساعدة النظام الدفاعي للجسم على إزالة سمية بعض المواد الكيميائية وذلك عن طريق عملية الأكسدة والاختزال في الجسم . يمكن لـ Vit. C أن يقوم بإزاحة كل من $-O_2\bullet$، $OH\bullet$ و NO، الناتجة عن الأيض الخلوي $O_2-\bullet$ و $OH\bullet$و$NO\bullet$، كما يمكنه استخلاب المعادن و منع أكسدة LDL.

يعتبر α-tocopherol و المعروف باسم Vit. E من المركبات المضادة للأكسدة الذائبة في الدهون، يتواجد على مستوى الأغشية ويثبط سلسلة تفاعلات فوق أكسدة الدهون ، يتفاعل فيتامين E مع الجذور الليبيدية و يمنع انتشارها، حيث يعمل على إستخلاب هذه الجذور ويتحول بدوره إلى جذر حر لكنه أقل نشاطا مقارنة بجذر البيروكسيل (LOO•) كما يعمل Vit. C على الرفع من فعالية Vit. E وذلك بإرجاع الجذر ((α –TO•) α-tocopheryl) (بن سلامة, 2012).



الوثيقة (04): الصيغة الكيميائية لفيتامين C (Gardésem.*et al., 2003*)



الوثيقة (05): الصيغة الكيميائية لفيتامين E (بن سلامة، 2012)

- **الجليتاثيون** Glutathione:

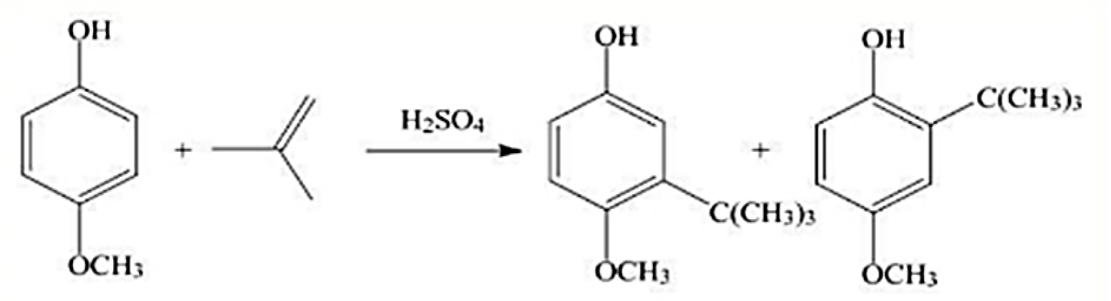
هو مركب ثيولي من مضادات الأكسدة القوية يعمل على إزالة السموم (Sarah, 2017). حيث يحمي الخلية من التلف التأكسدي ويثبط تكون الجذور الحرة داخل الخلية، كما يحفز اختزال البيروكسيداز. يعاد تكوين الجلوتاثيون المختزل (GSH) من الجلوتاثيون

المؤكسد(GS2) بتحفيز إنزيم Glutathion reductase يوجد الكثير من المواد السامة الغريبة المحبة للإلكترونات التي ترتبط مع NADPHالذي يعتمد على تواجد GSH الذي يوجد بكميات عالية في الكبد وبكميات أقل في الأنسجة الأخرى. إذا لم يتم ارتباط المواد الغريبة بالجلوتاثيون فإنها سترتبط (RNA) او(DNA) او بروتينات الخلية، مما ينتج عنه دمار خلوي كبير ولهذا فإن لGSH دورا مهما كآلية دفاعية ضد المركبات السامة مثل العقاقير والمواد المسرطنة (Jaeschke, 1990-) .

II.2.2. مضادات الأكسدة الاصطناعية :

- **Buthyl hydroxyl anizole (BHA)**:

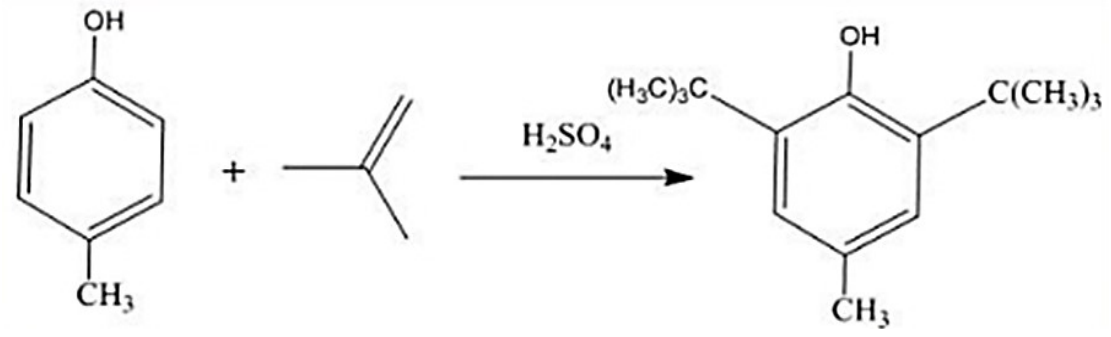
من أكثر مضادات الأكسدة الاصطناعية استخداما في الصناعة الغذائية و يحضر عن طريق آلية الألكلة وفق المعادلة التالية:



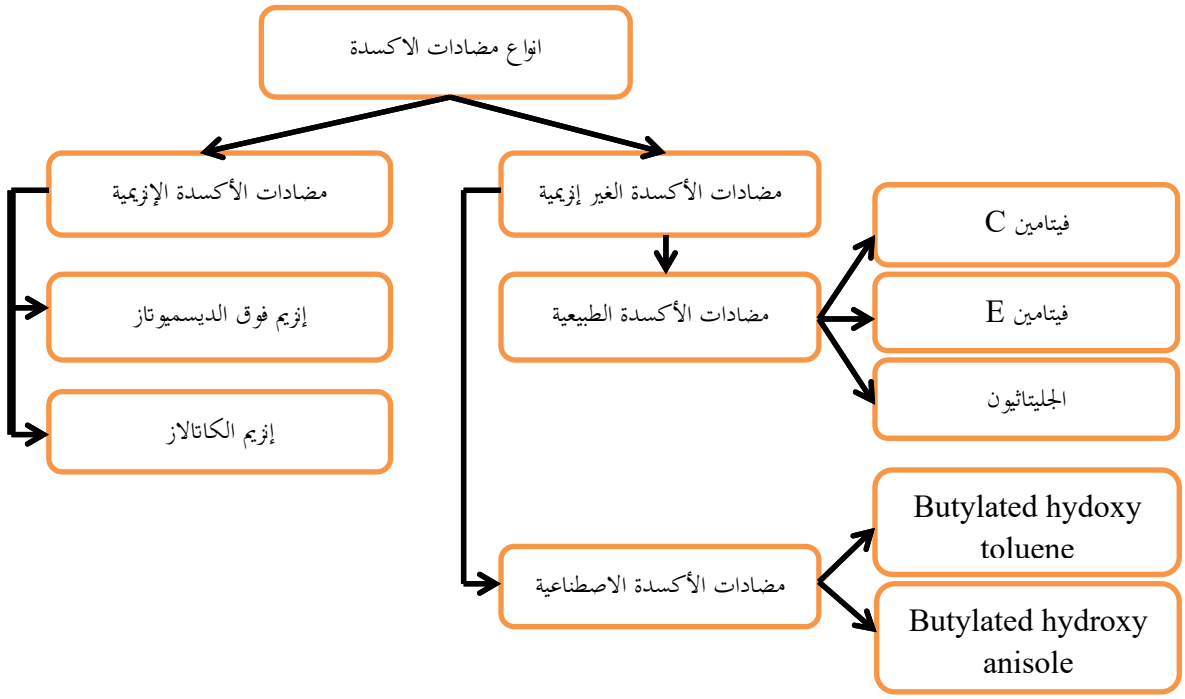
يتميز برائحة الفينول، و يذوب في الدهون و له القدرة على المحافظة على قابليته كمادة مضادة للأكسدة في الغذاء أثناء التسخين، و الكمية المسموح بتناولها يوميا هي0,3 ملغ/كغ في اليوم (الجديلي، 2003) .

- **Buthyl hydroxy toluéne (BHT)**:

هي عبارة عن مادة مضافة موجودة في تشكيلة واسعة من الأطعمة المصنعة لكنها تستخدم أيضا في مستحضرات التجميل، مواد التنظيف والمنتجات النفطية، يحضر وفق تفاعل فريدل كرافت كما هو موضح في المعادلة التالية:



و من صفاته، مادة صلبة عديمة الرائحة توجد على شكل بلورات أو مسحوق أبيض أو أصفر. قابل للذوبان في الكحول، ولكنه قليل الذوبانية في الماء. يجب أن لا تتجاوز الكمية المضافة 0,125ملغ/كغ في اليوم(الجديلي، 2003)



مخطط(01): انواع مضادات الاكسدة

III. تعريف الجذور الحرة:

الجذور الحرة هي مركبات كيميائية (ذرات وجزيئات) تحتوي على إلكترون أو أكثر حر (منفرد) في مدارها الخارجي مما يسبب لها عدم الاستقرار، فتحاول اكتساب إلكترون من مركبات بيولوجية لاستعادة توازنها(شربي، 2017) .

وبالرغم من قصر فترة حياة الجذر الحر التي لا تتجاوز أجزاء من الثانية إلى أن حذرا حرا واحدا قد ينشر حالة من الفوضى أو عدم التوازن وبالتالي نشوء الأمراض(Booe font Rousselt,*et al., 2003*) .

IV. انواع الجذور الحرة :

IV.1. التقسيم على أساس الاستقرار:

IV.1.1. الجذور الحرة غير المستقرة «النشطة »:

يشمل هذا النوع من الجذور الحرة ذرات العناصر مثل : الهيدروجين والنتروجين، الكلور، الفلور وبصورة عامة الجذور التي لها وزن جزيئي منخفض، ذات أعمار حياة قصيرة تتراوح ما بين المايكرو ثانية وأقل حتى تصل إلى البيكو ثانية. تتابع تفاعلات هذه الجذور وتشخيصها وحركية تفاعلاتها بالطرق الكيفية الحديثة مثل: الطرق الضوئية السريعة وأطياف الرنين (بن ساسي، 2018)

IV.1.2. الجذور الحرة المستقرة «غير النشطة »:

والتي تكون مدة عيشها معتبرة تقدر بالقوانين أو الدقائق أو الساعات أو حتى الأيام (الصديق، 2011) مثل :جذور ثلاثي فينيل ميثيل TP_3M وجذورDPPH وجذور ثنائي فينيل وأكسيد النيتريك pH_2No و مشتقاته (العابد، 2009).

IV.2. التقسيم على أساس النوع:

IV.2.1. الجذور الحرة الأكسيجينية:

أهمها شق الهيدروكسيل الحر قد يكون أخطرها غير أن الجذر الحر له لا يدوم فهو مرحلة انتقالية عمرها قصير ومن أهمها موضحة في الجدول التالي: (ريدة، 1999) .

الجدول((02): أهم الجذور الأكسجينية الحرة (ريدة، 1999) .

الاسم	رمزه الكيميائي	تعريفه
جذر فوق الأكسيد	$O_2^{\cdot}$-	هو بداية العملية التأكسدية في الخلية وينتج عنا لإرجاع الأحادي لجزيئة الأكسجين استقبالها لإلكترون.
فوق أكسيد الهيدروجين	H_2O_2	يسمى أيضا الماء الأكسجيني وينتج من عملية دسمتة لأيون $O_2\bullet^-$ بواسطة إنزيم superoxide dismutase.
جذر الهيدروكسيل	$OH\bullet$	جزيء نشط جدا وينتج من الماء الأكسجيني في تفاعل غير أنزيمي يتم تحفيزه بأيونات الحديد يسمى بتفاعل Fenton.

IV.2.2. الجذور الحرة النيتروجينية:

تشتمل على أكسيد النتريك وثنائي أكسيد النتروجين وبيروكسيد النيتروجين الهيدروجيني وبيروكسيد النيتريك وهو الأكثر خطورة(ريدة، 1999) .

IV.2.3. الجذور الحرة الدهنية:

تتميز الدهون بكونها أعلى درجة اختزال من عناصر الجسم، وبالتالي فهي عرضة أكثر من غيرها للتأكسد بجذور الأكسجين والنيتروجين خاصة منها الدهون غير المشبعة، وهي أطول عمرا لذا تعتبر خطيرة (حوة، 2013) .

V. مصادر الجذور الحرة:

تتميز الدهون بكونها أعلى درجة اختزال من عناصر الجسم، وبالتالي فهي عرضة أكثر من غيرها للتأكسد بجذور الأكسجين والنيتروجين خاصة منها الدهون غير المشبعة، وهي أطول عمرا لذا تعتبر خطيرة (حوة، 2013) .

تتعدد مصادر توليد الجذور الحرة في جسم الإنسان بشكل عام و تتمثل في مصادر داخلية أو خارجية نلخصها في الجدول أدناه: (شربي، 2017؛ بن ساسي، 2018) .

الجدول(03): المصادر الداخلية و الخارجية للجذور الحرة

مصادر داخلية	مصادر خارجية
- الميتوكوندريا (Mitochondria)حيث تنتج حوالي 90% من الأنواع الأكسجينية النشطة مثل H_2O_2; O;OH· - خلايا الجسم المناعية - الأكسدة البيولوجية (عملية التنفس) - الالتهابات وعمليات البلعمة انزيمات الأكسدة (Xanthine oxidase, NADPH oxidase, Nitric oxide synthase(NOS))	– التعرض للأشعة ,كأشعة xالطبية – التدخين والمخدرات – الملوثات البيئية – المواد الكيميائية – العوامل الغذائية ,المواد الحافظة ,المكملات ,الكحول ,القهوة

الجزء التطبيقي

الفصل الاول

المواد و طرق العمل

I. تحضير العينات النباتية Echantillonnages:

1.I. الجمع:

تم جمع عينات نبات مورينجا أوليفيرا *Moringa oleifera Lam* من منطقة أم الطيور بولاية 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 06**).

الوثيقة (06): الموقع الجغرافي لبلدية أم طيور (Site1)

2.I. التجفيف:

بعد عملية الجمع، تنظف العينات النباتية من الأتربة وتترك لتجف في مكان مظلل ومهوى بطريقة طبيعية، وبعد ذلك تخزن في اكياس ورقية ، وتخزن في مكان جاف بعيدا عن الضوء (Bourkhiss *et al*., 2009).

3.I. الطحن:

تم طحن أوراق النبات وذلك بعد تنقيتها من العيدان و الشوائب بواسطة آلة طحن كهربائية.

II. الأدوات والأجهزة والمحاليل المستعملة

بهدف تحضير المستخلصات النباتية، الحصر الكيميائي الاولي، استخلاص الفلافونويدات، التقدير الكمي للفينولات و الفلافونويدات، النشاطية المضادة للأكسدة. تم استعمال الأدوات، المحاليل والأجهزة الموضحة في الجدول (04)

الجدول(4) :الأدوات، المحاليل والأجهزة المستعملة في تحضير المستخلصات النباتية

تحضير المستخلص النباتي		
الأدوات	المحاليل والمواد	الأجهزة
- بيشر Becher - ورق ترشيح Papier filtre - قمع Entonnoir - ملعقةSpatule - حوجلةErlenmeyer - قارورات زجاجية - ورق ألمنيومPapier aluminium	- المادة النباتية Matériel végétale - ميثانول Méthanol - ماء مقطرEau distillée - حمض الكبريتيك المخفف(1/10) - ايثرéthèr - ثنائي كلور الميثان Déchlorométhane	- ميزان - جهاز التكثيف

الجدول(5): الأدوات، المحاليل والأجهزة المستعملة في الحصر الكيميائي الاولي

الحصر الكيميائي الاولي		
الأدوات	المحاليل والمواد	الأجهزة
_ بيشر Becher _ أنابيب اختبار Tube a essais _ حامل أنابيب Support de tube a essais _ سحاحة مدرجة _ الماصة المجهرية - Micropipette - ملعقةSpatule	- المستخلصات النباتية - كحول ايميلي-iso Alcool Amylique - حمض كلور الماء HCL - مغنزيوم Mg - ماء مقطر Eau distillée - محلول فهلينج liqueur de Fehlin - محلول كلوريد الحديد الثلاثي $FeCL_3$ المخفف (1%) - كاشف وانر Wagner - كاشف دراجندروف Dragendroff - كاشف ماير Mayer - كلوروفورم Chloforme - حمض الخليك لامائي Anhydride acétique -حمض الكبريتيك المركز H_2SO_4 - إيثانول éthanol	- كليفنجر Clevenger - حاضنة Etuve - ميزان - جهاز التسخين

الجدول(6): الأدوات، المحاليل والأجهزة المستعملة في استخلاص الفلافونويدات

استخلاص الفلافونويدات		
الأدوات	المحاليل والمواد	الأجهزة
- بيشر Becher - دورق الفصل - حامل دورق الفصل - حوجلة - ورق ألمنيومPapier aluminium - Cristalisasoire	- المادة النباتية Matériel végétale - ماء مقطر Eau distillée - ميثانولMéthanol - هيكزان Hekizan - كلوروفورم Chloforme - خلات الإيثيل Ethyl acetat	- جهاز السوكسلي Soxhlet - جهاز التبخير الدورانيRotavapeur - جهاز التسخين - حاضنة - ميزان حساس Balance analytique

الجدول(7): الأدوات، المحاليل والأجهزة المستعملة في التقدير الكمي لعديدات الفينول

التقدير الكمي لعديدات الفينول		
المواد	المحاليل والمواد	الأجهزة
- بيشر Becher _ أنابيب اختبار Tube a essais – Micropipette - ورق ألمنيومPapier aluminium - حامل أنابيب اختبار Support de tube a essai - ملعقةSpatule - Les cuves	- المستخلصات النباتية Les extraits de plant - ماء مقطر Eau distillée FCR(Folin-Ciocalteu réactif) - كربونات الصوديوم Carbonate de sodium Na_2CO_3 de 2 à 7% - حمض الغاليكAcide galliqu	- ميزان حساس Balance analytique - جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotomètre

الجدول(8): الأدوات، المحاليل والأجهزة المستعملة في التقدير الكمي للفلافونيدات

التقدير الكمي للفلافونيدات		
المواد	المحاليل والمواد	الأجهزة
_ أنابيب اختبارTube a essai - بيشر Becher - ورق ألمنيومPapier aluminium - حامل أنابيب اختبار Support de tube a essai - ملعقةSpatule - Les cuves - Micropipette	- المستخلصات النباتية Les extraits de plant - ماء مقطر Eau distillée - ميثانول Méthanol 10% Aluminum nitrate - $(Al(NO_3)_3, 9H_2O)$ 1M sodium acetate - Quercétine (Flavonoïde) -	- ميزان حساس Balance analytique - جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotomètre

الجدول(9): الأدوات، المحاليل والأجهزة المستعملة في النشاطية المضادة للأكسدة

النشاطية المضادة للأكسدة		
المواد	المحاليل والمواد	الأجهزة
- قارورة زجاجية - ورق ألمنيومPapier aluminium - انابيب اختبار Tube a essai - حامل انابيب اختبار Support de tube essais - ملعقة Spatule - Les cuves - Micropipette	- المستخلصات النباتية - ميثانول Méthanol - محلول DPPH ذو تركيز (0.4 Mmol) - حمض الاسكوربيك Acide ascorbique	- ميزان حساس Balance analytique - جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotomètre - جهاز الخلط المغناطيسي

III. الطرق المتبعة:

1.III. تحضير المستخلصات النباتية Préparation des extraits:

تم تحضير عدة مستخلصات منها المائي والميثانولي(80%) عن طريق النقع (Macération) والغليان (Décoction)، المستخلص الحمضي بالنقع (24h) والمستخلص الايثيري بالنقع (24h) وأخيرا مستخلص ثنائي كلورو الميثان بالنقع (24h)، لأوراق نبات المورينجا أوليفيرا *Moringa oleifera Lam*.

1.1.III. طريقة تحضير المستخلص المائي والميثانولي بالغليان (Décoction):

وضع 10g من المسحوق النباتي في 100ml من الماء المقطر أو الميثانول (80%)، حيث تستخلص في جهاز التكثيف لمدة1 ساعة، يليها عملية الترشيح (Azzi, 2013)، تستعمل المستخلصات في الكشف عن مواد الأيض الثانوي .

2.1.III. طريقة تحضير المستخلص المائي والميثانولي بالنقع (Macération):

وضع 10g من المسحوق النباتي مع 100ml 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، الذي يحفظ عند درجة حرارة 4°C (Abalake et al., 2011 ; Mann et al., 2008) تستعمل المستخلصات للكشف عن مواد الأيض الثانوي، و المستخلصات الخام في تقدير كل من عديدات الفينول والفلافونويدات.

3.1.III. طريقة تحضير المستخلص الحمضي (Extrait acidifié):

نقع 10g من المسحوق النباتي في 50ml من حمض الكبريتيك المخفف (1/10)، لمدة 24h بعد انقضاءها يتم الترشيح، ويستعمل المستخلص للكشف عن القلويدات (Sandrine, 2005).

4.1.III. طريقة تحضير المستخلص الأثيري (Extrait éthérique):

نقع 5g في 10ml من الايثر، لمدة 24h ، المرشح يستعمل للكشف عن التربينات الثلاثية و الاستيرولات المشبعة (Aworet, 2003).

III.1.5. طريقة تحضير مستخلص ثنائي كلور الميثان (Extrait dichlorométhane):

نقع 1g من المادة النباتية في 10ml من ثنائي كلور الميثان لمدة 24h، المرشح يستخدم للكشف عن الزيوت الطيارة (Ilboudo *et al*., 2009).

III.2. الحصر الكيميائي الأول (Tests phytochimiques):

يهدف هذا الكشف الكيميائي إلى معرفة أهم المواد الفعالة الموجودة في المستخلصات المائية والميثانولية لأوراق نبات المورينجا أوليفيرا *Moringa oleifera Lam*، والمتمثلة في الصابونيات الفلافونويدات، القلويدات، التانينات، الاستيرولات والتربينات الثلاثية والجليكوسيدات، متبعين في ذلك طريقة Harborne (1998) و Trease et Evans (1989).

III.2.1.الكشف عن الفلافونويدات Flavonoïdes:

نمزج في انبوب اختبار5ml من المستخلص مع 1ml من الكحول الأميلي (Alcool iso-Amylique) يتبعه 1ml من حمض كلور الماء HCl، و 0,5g من المغنزيوم Mg.

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

III.2.2. الكشف عن الصابونيات Saponisides:

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

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

III.2.3. الكشف عن المركبات المرجعة Composées réducteurs:

نأخذ 1ml من الراشح المتحصل عليه مع 2 ml من الماء القطر ونضيف 20 قطرة من محلول فهلينج liqueur de Fehling، يليه التسخين في حمام مائي.

- ظهور الراسب الأحمر الآجوري دليل على وجود المركبات المرجعة.

III.2.4. الكشف عن التانينات Tanins:

للكشف عن وجود التانينات، نقوم بوضع 1ml من المستخلص مع 1ml من الماء المقطر، ونضيف من 1– 5 قطرات من محلول كلوريد الحديد الثلاثي $FeCl_3$ المخفف (1%).

- ظهور اللون ازرق مخضر يدل على وجود تانينات كتشيكية.

- ظهور اللون ازرق مسود يدل على وجود تانينات غاليكية.

5.2.III. الكشف عن القلويدات Alcaloïdes:

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

يتم إضافة إلى 1ml من المستخلص يليه 3 – 5 قطرات من كواشف القلويدات والمتمثلة في كاشف وونر Wagner ، كاشف دراجندروف Dragendroff وكاشف ماير Mayer.

- كاشف Wagner : ظهور راسب بني يدل على وجود القلويدات.
- كاشف دراجندروف Dragendroff : ظهور راسب برتقالي يدل على وجود القلويدات.
- كاشف Mayer : ظهور راسب ابيض يدل على وجود القلويدات.

6.2.III. الكشف عن المركبات الاستيرولية و التربينات الثلاثية Stérols et triterpènes:

اعتمدنا على تفاعل Liebermann Buchard، حيث يتم تبخير 10 ml من المستخلص، يذاب الراسب في 0,5 ml من الكلوروفورم و يضاف إليه 0,5 ml من حمض الخليك اللامائي (Anhydride acétiqu) ويتبع بإضافة 1ml من حمض كبريتيك المركز(H_2SO_4)بحذر شديد على جدار أنبوبة اختبار.

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

7.2.III. الكشف عن الزيوت الأساسية Huile essentiel:

10ml من مستخلص ثنائي كلور الميثان ، يبخر حتى الجفاف، ثم يذوب الراسب في 3ml من الايثانول، و يبخر من جديد، الإحساس برائحة عطرية دلالة على وجود الزيوت الطيارة (Ilboudo *et al*., 2009).

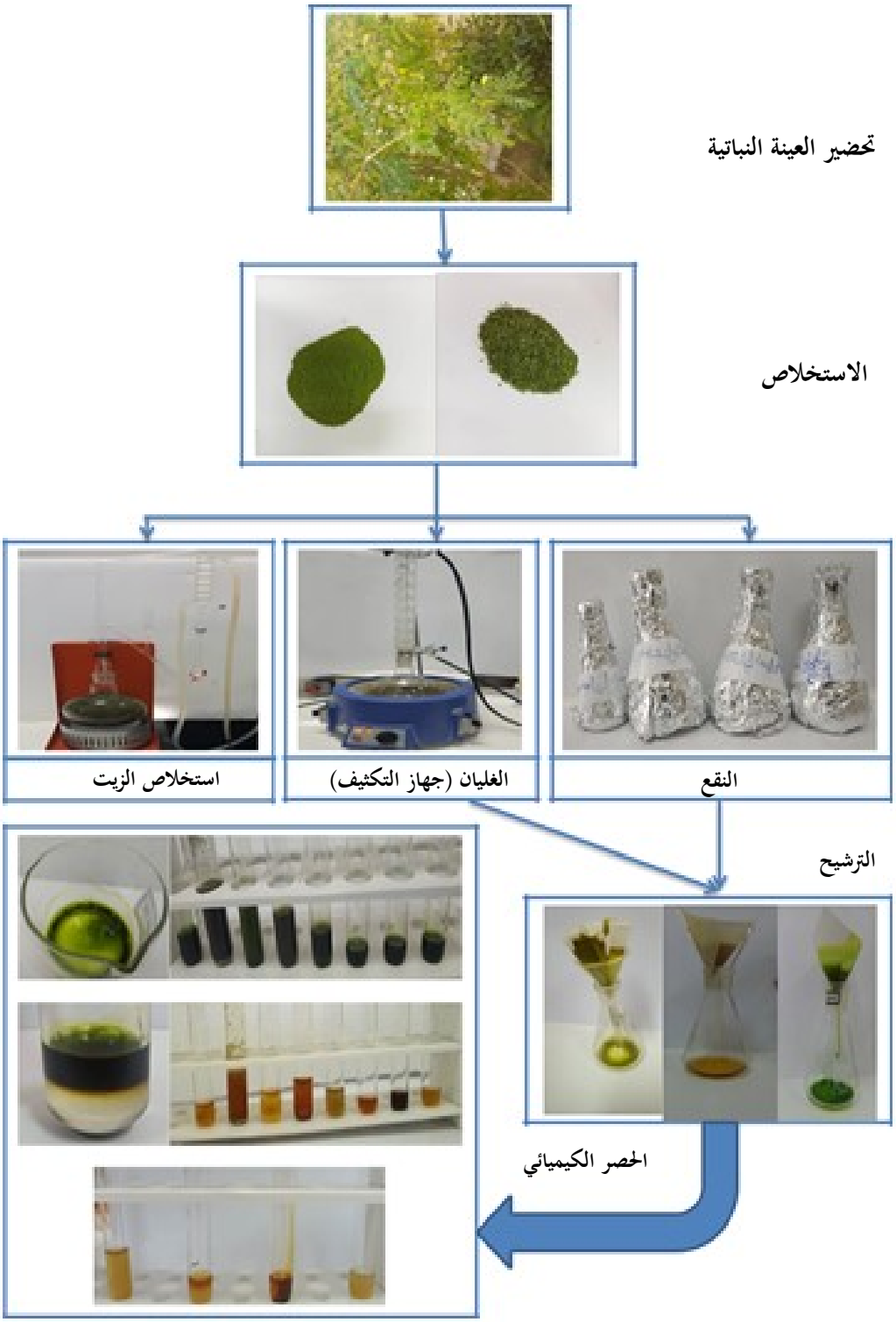
3.III. استخلاص الفينولات Extraction des polyphenoles:

توضع المادة النباتية المسحوقة جزئيا بكمية متساوية والتي تقدر ب30g نفرغها داخل عبوة الجهاز(cartouches) ثم ندخل العبوة في الجهاز، ونوصله بحوجلة كروية بها حجما من المذيب (80%) ميثانول methanol و(% 20) ماء مقطر(Eau distillé) وفي الأخير نضع جهاز السوكسلي Soxhlet فوق السخان الكهربائي، درجة الحرارة السخان تضبط على درجة غليان المذيب، نترك التجهيز لمدة ساعة و45 دقيقة بمعدل 6 دورات.

ثم يوضع المستخلص النباتي في الزجاجية لجهاز التبخير الدوراني Rotavapeur على درجة حرارة مناسبة لتبخر المذيب المستعمل و منه الحصول على المستخلص الميثانولي مستخلص خام، ينقع في الماء المقطر المغلى لمدة ليلة كاملة في الظلام في درجة حرارة المخبر،

يتم نزع الليبيدات من المحلول المائي بإضافة 150ml من الهكسان في دورق الفصل على ثلاثة دفعات، فينتج جزء عضوي (مستخلص الهكسان) وجزء مائي ،يتم التخلص من الجزء العضوي اما الجزء المائي الناتج فيضاف له 150 ml من الكلوفورم في دورق الفصل على ثلاثة دفعات لاستخلاص الفلافونويدات غير السكرية ، نواصل في الاستخلاص سائل–

سائل و ذلك بإضافة 150ml من خلات الأثيل للمستخلص المائي في دورق الفصل على 3 دفعات لاستخلاص الفلانويدات سكرية ،تعرض كل مستخلصات العضوية لعملية تجفيف في درجة 50^0 وتحفظ في ثلاجة الى حين استعمالها .



مخطط(2): مراحل تحضير المستخلصات النباتية و الحصر الكيميائي الأولي

4.III. تقدير نسبة المردود:

هي عبارة عن حاصل قسمة بين كتلة المستخلص النباتي على كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة في الاستخلاص وتقدر حسب (Guettaf *et al*., 2016)بالعلاقة التالية:

المردود % = (كتلة المستخلص / كتلة المادة النباتية الابتدائية الجافة) × 100

5.III. التقدير الكمي للفينولات:

تعتبر المركبات الفينولية من أكثر المركبات انتشارا في المملكة النباتية، وهي من نواتج الأيض الثانوي التي تحتوي على مجموعة الهيدروكسيل ،تتميز بنيتها بوجود حلقة عطرية أو أكثر ،اصطنعت حلقاتها العطرية إما من حمض شيكيميك أو عديد الأسيتات ،أهم أقسامها الفلافونويدات، الأحماض الفينولية و التانينات ،حيث تلعب دورا تنظيميا في نمو النبات وتطوره (قادري، 2020)

- **طرق العمل: اعتمدنا طريقة** Singleton et Rossi (1965)
- **تحضير المنحنى القياسي لحمض الغاليك:**

نأخذ 4mg من حمض الغاليك لتذوب في 4ml من الماء المقطر للحصول على المحلول S1 (1000ug\ml) تم تحضير تراكيز مختلفة .

النطاق القياسي:

1000µg\ml=1000µl

من الماء المقطر(200µl)S1+0.2ml(800µl)=800µg\ml

من الماء المقطر(400 µl)S1+0.4ml(600µl)=600µg\ml

من الماء المقطر(500µl)S1+0.5ml(500µl)=500µg\ml

من الماء المقطر(600µl)S1+0.6ml(400µl)=400µg\ml

من الماء المقطر(700µl)S1+0.7ml(300µl)=300µg\ml

من الماء المقطر(800µl)S1+0.8ml(200µl)=200µg\ml

من الماء المقطر(900µl)S1+0.9ml(100µl)=100µg\ml

من الماء المقطر(900µl)S1+0.95ml(50µl)=50µg\ml

من الماء المقطر(975µl)S1+0.975ml(25µl)=25µg\ml

- **تحضير كربونات الصوديوم(2-7٪)Na2Co3:**

مقابل7٪،قمنا بإذابة 7g من كربونات الصوديوم في 100ml من الماء المقطر للحصول على المحلول S2.

- **تحضير المستخلصات النباتية:**

يتم إذابة كتلة مقدارها 1mg من المستخلص في حجم 1ml من الماء المقطر للحصول على S3.

الإجراء :

نضع في أنبوب إختبار125µl(محلول S3 من المستخلص النباتي) +500µl من الماء المقطر +125µl من Folin-ciocalteu +يرج الخليط جيدا وننتظر 3 دقائق ،بعدها يتم إضافة 1250µlمن كربونات الصوديوم S2 (Na2Co3)+1ml من الماء المقطر ، نضع الخليط في الظلام و في درجة حرارة المخبر لمدة 90 دقيقة ،ثم تقرأ الإمتصاصية عند λ=760nm.

و منه تمكنا من رسم المنحنى العياري لحمض الغاليك ،يتم التعبير عن النتائج بعدد الميكروغرامات المكافئة لحمض الغاليك لكل ميلغرام من المستخلص (µg AG E /mg extrait)

- **بالنسبة للمستخلص :**

نضع في أنبوب إختبار125µl(من المستخلص)+500µl من الماء المقطر +125µlمن Folin-ciocalteu+يرج الخليط جيدا وننتظر 3 دقائق ،بعدها يتم إضافة 1250µlمن كربونات الصوديوم (S2 Na2Co3) +1mlمن الماء المقطر +نضع الخليط في الظلام وفي درجة حرارة المخبر لمدة 90 دقيقة ،ثم تقرأ الإمتصاصية عند λ=760nm.

III.6. التقدير الكمي للفلافونويدات:

- **مبدأ التفاعل :**

يعتمد تركيز الفلافونويد في المستخلصات على التعقيد مع$AlCl_3$ ويتم التعبير عن النتائج بمكافئات Quercetine لكل ميلغرام من المستخلص (µg Qu E/mg extrait).(Türkoglu *et la*.. 2007).

- **تحضير 1M من خلات الصوديوم:**

للحصول على 1M من خلات الصوديوم قمنا بإذابة 8.20g من خلات الصوديوم في 100mlمن الماء المقطر للحصول على محلول S1.

- **تحضير المستخلصات النباتية :**

يتم إذابة كتلة 1mgمن المستخلص في حجم 1ml من الميثانول للحصول على محلول S2.

- **إجراء:**

نضع في أنبوب إختبار 250µl من المستخلص النباتي S2 +2550µl من الميثانول +100µlمن خلات الصوديوم S1+ 100µl من كلوريد الالمنيوم ، يترك الخليط في الظلام وفي درجة حرارة المخبر 40 دقيقة، ثم تقرأ شدة الإمتصاصية عند λ= 415nm.

- **تحضير المنحن القياسي Quercetine:**

نأخذ 12.6mgمن Quercetine نقوم بإذابته في 25ml من الميثانول للحصول على محلول S3.

النطاق القياسي:

تم رسم المنحنى العياري للمركب القياسي Quercetine باتخاذ نفس المعاملة السابقة بعد تحضير عدة تراكيز منه :

من نترات 100 µl+ (S_1) خلات الصوديوم 100 µl+(S_3)25 µl+ ميثانول 4775 µl :Quercetine (25) الألمنيوم (Al(NO3)2, 9H2O)

من نترات 100 µl+ (S_1) خلات الصوديوم 100 µl+(S_3)50 µl+ ميثانول 4750 µl :Quercetine (50) الألمنيوم (Al(NO3)2, 9H2O)

من نترات 100 µl+ (S_1)خلات الصوديوم 100 µl+(S_3)75 µl+ ميثانول 4725 µl :Quercetine (75) الألمنيوم (Al(NO3)2, 9H2O)

من 100 µl+ (S_1) خلات الصوديوم 100 µl+(S_3)100 µl+ ميثانول 4700 µl :Quercetine (100) نترات الألمنيوم($Al(NO_3)_2$, $9H_2O$)

من 100 µl+ (S_1) خلات الصوديوم 100 µl+(S_3)125 µl+ ميثانول 4675 µl :Quercetine (125) نترات الألمنيوم($Al(NO_3)_2$, $9H_2O$)

من 100 µl+ (S_1) خلات الصوديوم 100 µl+(S_3)150 µl+ ميثانول 4650 µl :Quercetine (150) نترات الألمنيوم($Al(NO_3)_2$, $9H_2O$)

نترات 100 µl+ (S_1) خلات الصوديوم 100 µl+(S_3)175 µl+ ميثانول 4625 µl :Quercetine (175) من الألمنيوم ($Al(NO_3)_2$, $9H_2O$)

من 100 µl+ (S_1) خلات الصوديوم 100 µl+(S_3)200 µl+ ميثانول 4600 µl :Quercetine (200) نترات الألمنيوم($Al(NO_3)_2$, $9H_2O$)

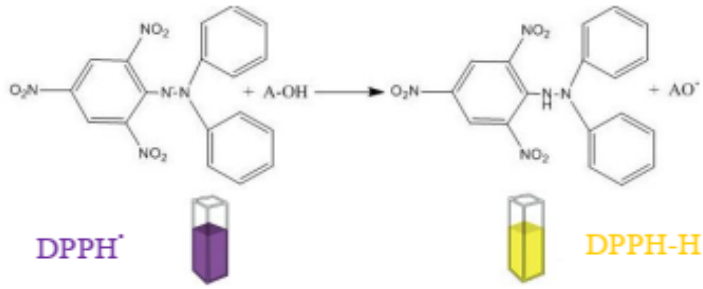
توضع في الظلام وفي درجة حرارة المخبر 40min ثم تقرأ شدة الإمتصاصية في جهاز المطيافية الضوئية عند طول الموجة λ=415nm،يعبر عن النتائج بعدد الميكروغرامات المكافئة لQuercetine لكل مليغرام من المستخلص (µg Qu .E/mg extrait)

7.III. تقدير نشاطية المضادة للأكسدة:

لتقدير النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات تم إجراء اختبار: قياس قدرة العينة على إزاحة الجذور الحرة باستعمال DPPH˙ (diphényl-1-picrylhydrazyl)باستعمال جذر

1.7.III.اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH˙:

جذر DPPH˙ هو مادة صلبة ذات لون بنفسجي مسود، يمتص عند الطوا الموجي λ max = 517nm وبتفاعله مع العامل المضاد للأكسدة القادر على منح إلكترون أو جذر هيدروجيني يتحول إلى جزيئة DPPH-H. المستقرة ذات اللون الأصفر حسب التفاعل التالي : (شربي، 2017)



الوثيقة(07) معادلة تثبيط الجذر الحر DPPH• في وجود مضادات الجذور الحرة

يمكن متابعة عملية إرجاع الجذور الحرة بواسطة جهاز UV-Vعن طريق قياس الانخفاض في الامتصاصية (هادف، 2017).

- **تحضير محلول DPPH•**

قمنا بتحضير محلولDPPH• ذو تركيز (0.4Mmol) وذلك من خلال إذابة 4mg من DPPH• في 100 ml من الميثانول.

- **تحضير التراكيز**

لتحضير المحلول الأصلي أخذنا 5mg من كل مستخلص ومزجها مع 1ml ميثانول، فأصبح تركيز المحلول الأصلي 5000µg/ml ، وانطلاقا من هذا التركيز قمنا بتحضير بقية التراكيز المخففة بإضافة الميثانول للمستخلصات وكانت التراكيز كتالي (2000ug/ml-4000ug/ml – 1000ug/ml - 800ug/ml -- 600ug/ml - 400ug/ml – 200ug/ml- 100ug/ml- 50ug/ml- 25ug/ml.

- **طريقة العمل**

نأخذ من كل تركيز 200µl ونضيف له 800µl من DPPH• ، نجانس المحلول ونضعها 30 دقيقة في الظلام، ثم تقاس امتصاصية المحلول المحضر عند طول موجه λ= 517nm بجهاز مطيافية الضوئية Spectrophotometer.

الشاهد 120µl ميثانول + 800µl DPPH• عند القراءة يكون بالتقريب في 0,8

- التصفير بالميثانول
- تحول اللون البنفسجي إلى الأصفر كلما زاد التركيز
- تقل الامتصاصية كلما زاد التركيز

تطبق طريقة العمل على المركب النقي حمض الأسكوربيك (Vc) وذلك من أجل مقارنة فعالية المستخلصات بالمركبات المضادة للجذور الحرة وللأكسدة المستعملة في الصناعة الغذائية(تكرر العملية 3 مرات)

- **حساب النسبة المئوية للتثبيط:**

يتم حسابه من خلال منحنى تغير نسبة التثبيت I%بدلالة تركيز المحلول وفق العلاقة التالية:

$$I\% = (A_0 - A_i)/A_0 \times 100$$

I :سبة تثبيط العامل المضاد للأكسدة للجذر الحر DPPH •

A0 :الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلصات النباتية بعد مرور 30 min.

Ai :الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر +المستخلصات النباتية) بعد مرور 30 min (بلفار، 2018)

2.7.III. تحديد مقدار IC_{50}المثبطة لجذر DPPH •:

الذي يعرف هذا المقدار على انه تركيز المستخلص لازم لتثبيط (كبح50 %) من جذر DPPH• و الذي يحسب من خلال المعادلة الخطية لمنحنيات تغير نسبة التثبيط(I %) بدلالة تركيز المستخلصات المدروسة.

(Ramesh *et al*., 2015, Aktumsek *et al*., 2011)

الفصل الثاني

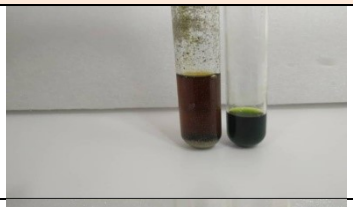
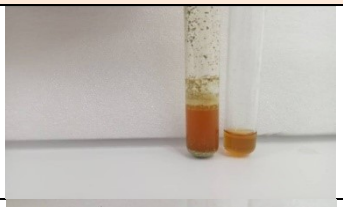
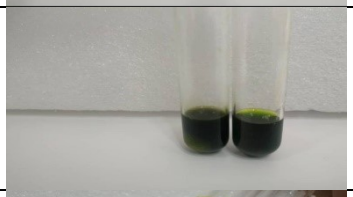
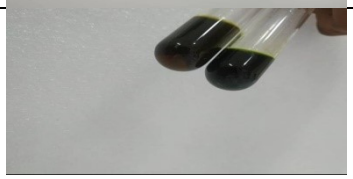
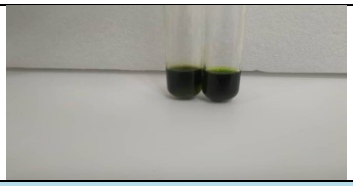
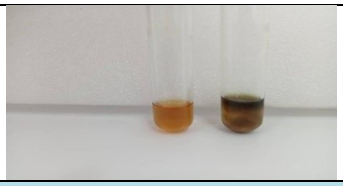
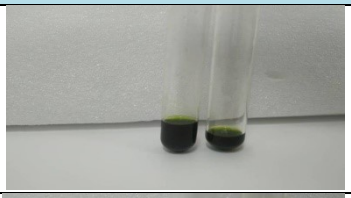
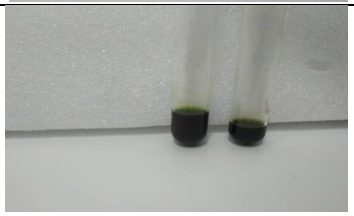
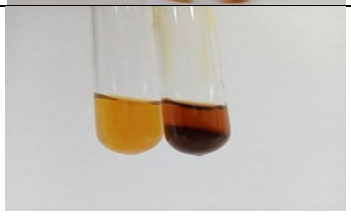
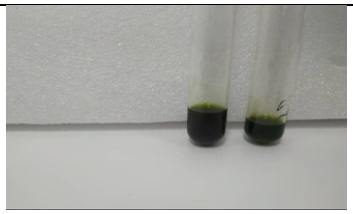
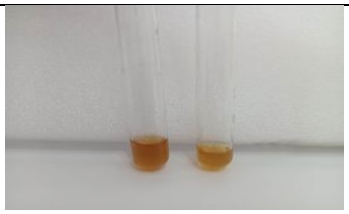
النتائج و المناقشة

I. النتائج:

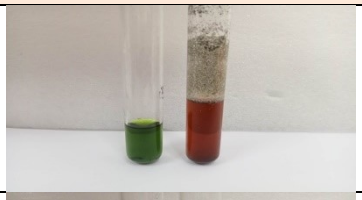
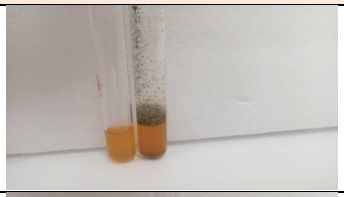
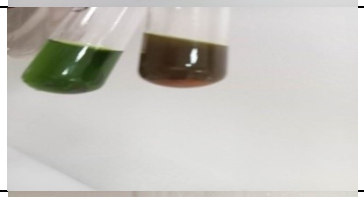
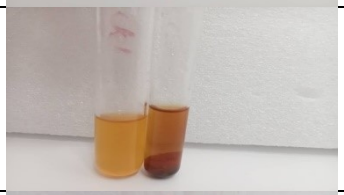
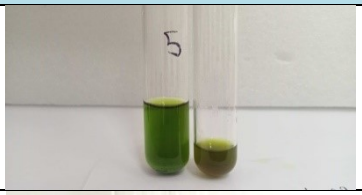
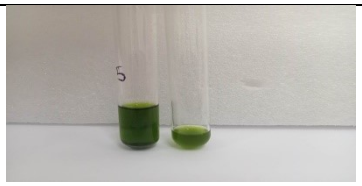
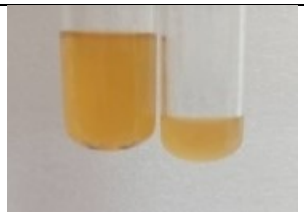
I.1.نتائج الحصر الكيميائي الأولي:

نتائج الحضر الكيميائي الأولي تظهرها الجداول (10-11-12-13)

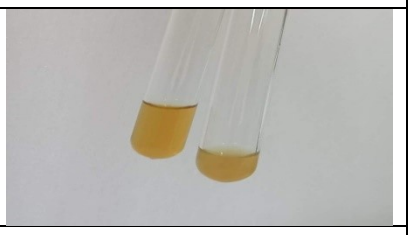
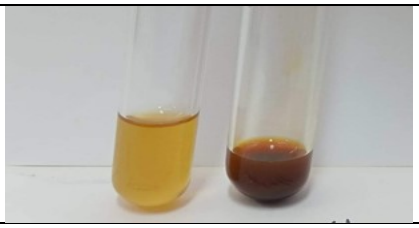
الجدول(10): الحصر الكيميائي في المستخلص الميثانولي و المائي بالغليان

المركبات	مستخلص ميثانولي بالغليان		مستخلص مائي بالغليان	
فلافونويدات		+++ ظهور لون أحمر		+ ظهور لون وردي
صابونيات		– عدم ظهور الرغوة		+ طول الرغوة أقل من 1سم
مركبات مرجعة		++ ظهور راسب احمر أجوري		++ ظهور راسب احمر أجوري
تانينات		++ لون ازرق مسود		+++ لون ازرق مخضر
قلويدات				
Wagner		– عدم ظهور راسب بني		– عدم ظهور راسب بني
Dragendroff		– عدم ظهور راسب برتقالي		+++ ظهور راسب برتقالي
Mayer		– عدم ظهور راسب ابيض		– عدم ظهور راسب أبيض

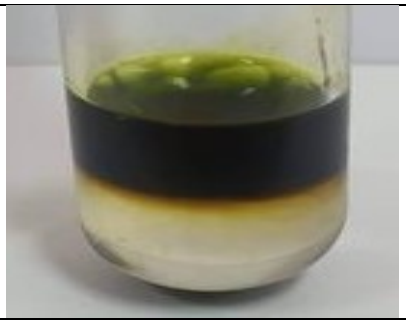
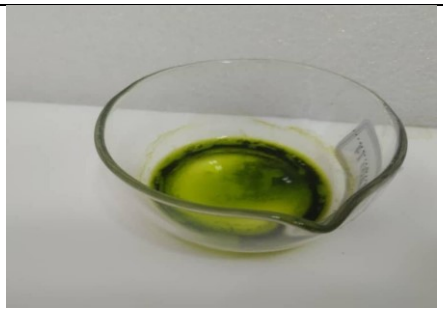
الجدول(11): الحصر الكيميائي في المستخلص الميثانولي و المائي بالنقع

المركبات	مستخلص ميثانولي بالنقع		مستخلص مائي بالنقع	
فلافونويدات		+++ ظهور لون أحمر		-+ ظهور لون وردي خفيف
صابونيات		- عدم ظهور الرغوة		++ ظهور رغوة
مركبات مرجعة		++ ظهور راسب احمر أجوري		+++ ظهور راسب احمر أجوري
تانينات		+++ لون ازرق مسود		+++ لون ازرق مخضر
قلويدات				
Wagner		++ ظهور راسب بني		- عدم ظهور راسب بني
Dragendroff		+++ ظهور راسب برتقالي		+++ ظهور راسب برتقالي
Mayer		- عدم ظهور راسب ابيض		- عدم ظهور راسب ابيض

الجدول(12): الحصر الكيميائي في المستخلص الحمضي

Mayer	Dragendroff	Wagner
		
– عدم ظهور راسب ابيض	**+++ ظهور راسب برتقالي**	**– عدم ظهور راسب بني**

الجدول(13): الكشف عن الزيوت الأساسية و المركبات الأسترولية و التربينات الثلاثية.

مستخلص إيثيري	الكشف عن الزيوت الاساسية
	
+++ظهور حلقة حمراء بنية	++ وجود رائحة عطرية

أظهرت نتائج الحصر الكيميائي الأولي لمستخلصات أوراق المورينغا على :

وجود الفلافونويدات حيث نلاحظ ظهور اللون الوردي بقوة كبيرة في المستخلص الميثانولي بالغليان والنقع مقارنة بالمستخلص المائي بالغليان والنقع والتي تكون بدرجة أقل ،ويعود هذا الفرق إلى طبيعة الفلافونويدات الموجودة في أوراق المورينغا ،بحيث أن الفلافونويدات المتكونة من عدد كبير من مجموعات الهيدروكسيل الحرة أو التي تحوي جزء سكري تتصف بالقطبية ،وبذلك تكون ذات ذوبانية كبيرة في المذيبات القطبية مثل الميثانول والماء (قادري، 2020) ،كما أشارت برحال (2010) إلى ذلك في دراستها حول نواتج الأيض الثانوي .

وجود الصابونيات في المستخلص المائي بالغليان بظهور رغوة أقل من 1cmأي بكمية ضئيلة ووجودها في المستخلص المائي بالنقع بكمية معتبرة مع انعدام وجودها في المستخلص الميثانولي بالغليان والنقع. و هذا لأن الصابونيات ذوابة في الماء

ظهور الراسب الأحمر الآجوري بكمية معتبرة في المستخلص الميثانولي بالغليان وبالنقع والمائي بالغليان وبكمية كبيرة في المستخلص المائي بالنقع مما يدل على وجود المركبات المرجعة .

في الكشف على التانينات ظهر لنا لون أزرق مسود في المستخلص الميثانولي بالغليان مما يدل على وجود التانينات الغاليكية، أما في المستخلصات المائي بالغليان وبالنقع والميثانولي بالنقع ظهر اللون الأزرق المخضر دلالة على وجود التانينات الكاتيشيكية.

أما المركبات القلويدية فقمنا بالكشف عنها بثلاث كواشف حيث أظهر لنا كاشف مايير نتائج سلبية أي عدم وجود القلويدات الملحية والتي تذوب في المذيبات القطبية والماء في أوراق المورينغا ، أما كاشف وونر فأظهرت نتائجه راسب بني بدرجة متوسطة في المستخلص الميثانولي بالنقع و انعدام وجوده في المستخلصات الأخرى أي غياب كلي للقلويدات ،في حين أن كاشف دراجاندروف أظهر عن نتائج سلبية في المستخلص الميثانولي بالغليان ونتائج جد إجابية في المستخلص الميثانولي والمائي بالنقع ،المستخلص المائي بالغليان والمستخلص الحمضي بظهور الراسب البرتقالي ،إذ وضحت قادري (2020) في دراستها أن السبب في ذلك يعود إلى الخصائص الكيميائية للقلويدات والتي تترسب في محلولها الحامض الضعيف بواسطة بعض المرسبات .

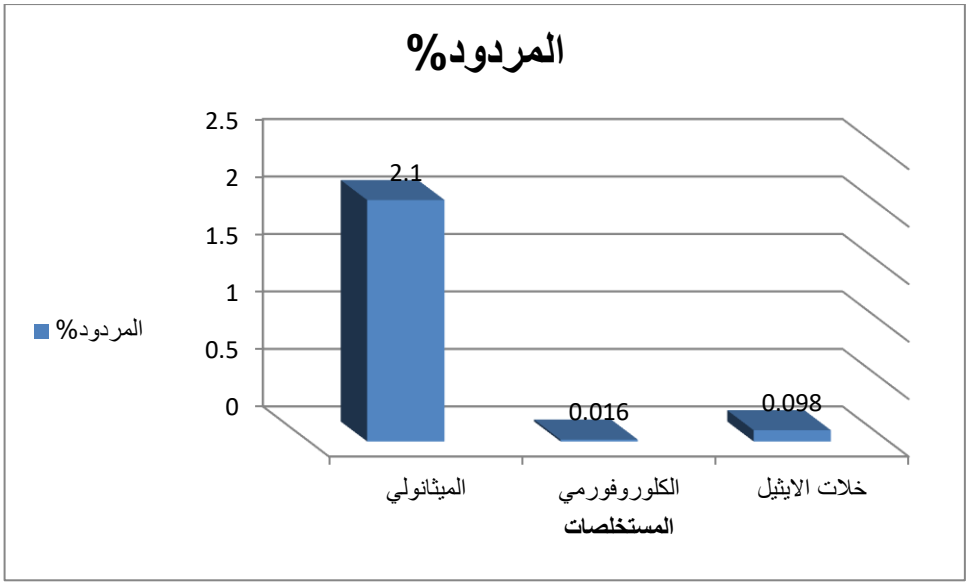
وجود التربينات والستيرولات الثلاثية بظهور حلقة حمراء بنية في المستخلص الأثيري ، واحتواء أوراق النبات على كمية قليلة من الزيوت الأساسية.

2.I. مردود المستخلصات النباتية:

من خلال النتائج المتحصل عليها نلاحظ أن هناك فرق بين مردود المستخلصات ،حيث أعطى المستخلص الميثانولي أعلى نسبة قدرت ب2,10% مقارنة بمردود المستخلصات الأخرى المتمثلة في مستخلص خلات الإيثيل بنسبة 0,089% ونسبة مردود المستخلص الكلوروفورمي ب 0,016% كأدنى قيمة مسجلة. كما هو موضح في الجدول (14) والشكل (1).

الجدول(14):مردود المستخلصات النباتية

الجزء النباتي	كتلة المادة النباتية	المذيب	المستخلصات	كتلة الناتج الخام	نسبة المردود%
الأوراق	30g	ميثانول +ماء	ميثانولي	0.631g	2.10%
			كلوروفورمي	0.005g	0.016%
			خلات الإيثيل	0.0267g	0.089%

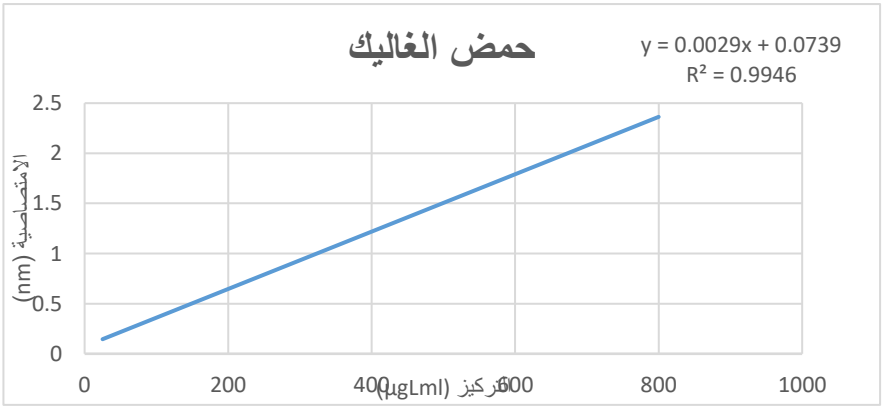


الشكل (1):مردود المستخلصات النباتية لأوراق نبات المورينغا

وعند مقارنة قيم مردود المستخلصات المتحصل عليها في دراستنا مع دراسات أخرى نجد أن هناك تباين كبير بين القيم ،حيث كانت النسبة المسجلة (2,10%) قليلة جدا مقارنة بما تحصلت عليه حمادي وخراز (2020) في دراستهم على نفس الجزء النباتي المدروس والمقدرة ب25.45%.

I.3. التقدير الكمي للفينولات:

تم التقدير الكمي للمركبات الفينولية الكلية باستعمال طريقة Folin-ciocalteu، حيث تعطي هذه المركبات لونا ازرقا بارتباطها مع حمض phosphomolybdic(Folin-ciocalteu)الذي يتم قياس امتصاصيته عند طول موجة λ=760nm (Georgé وآخرون .، 2005). وانطلاقا من المعادلة الخطية للمنحنى القياسي لحمض الغاليك ،الذي يعبر عن المحتوى الكمي لعديدات الفينول للمستخلصات المختلفة، بعدد الميكروغرامات المكافئة لحمض الغاليك لكل ملغ من المستخلص النباتي(µg AGE/mg extrait) كما هو موضح في الشكل (2).

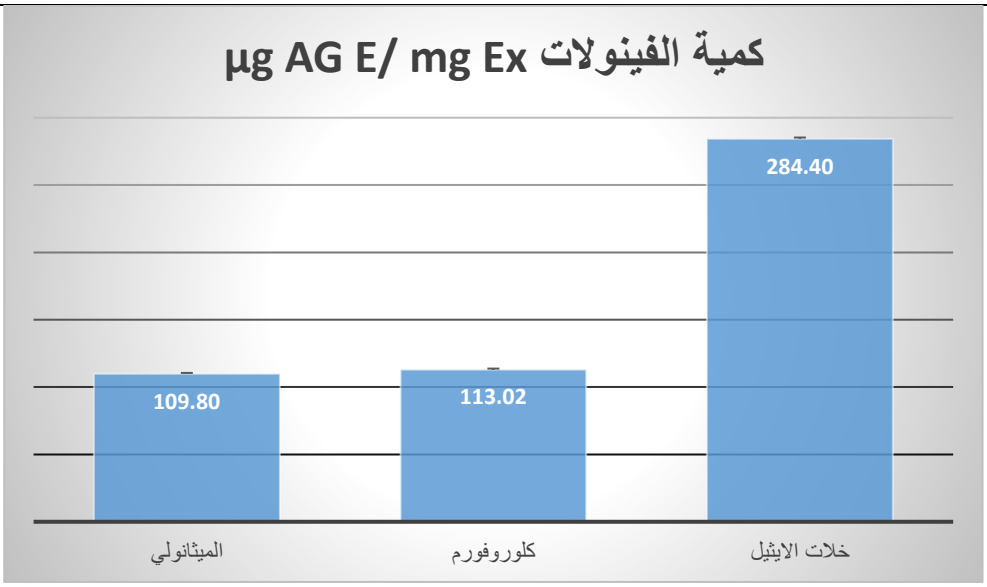


الشكل (2):المنحنى القياسي لحمض الغاليك لتقدير عديدات الفينول

كمية الفينولات الكلية المقدرة في المستخلصات النباتية لأوراق نبات المورينغا *Moringa oleifera L* موضحة في الجدول (15) والشكل (3).

الجدول (15): الفينولات الكلية المقدرة في المستخلصات النباتية لأوراق نبات المورينغا.

المستخلصات	خلات الإيثيل	الكلوروفورمي	الميثانولي
كمية الفينولات µg AG E/mg Ex	284,40±0,87^{a}	113,02±0,72^{c}	109,80±0,72^{b}
P=0,0001***			



الشكل (3):كمية الفينولات المقدرة في المستخلصات النباتية لأوراق نبات المورينغا µg AG E/mg Ex.

أظهرت النتائج المدونة في الجدول(15) والشكل (3) أن هناك اختلاف في كمية الفينولات لمختلف المستخلصات وذلك حسب نوع المذيب المستعمل، حيث نجد أن هناك فرق جد عالي المعنوية بينها ،إذ احتوى مستخلص خلات الإيثيل على الكمية الأكبر للفينولات بقيمة (284,40±0,87 µg AG E/mg Ex) ، بينما سجل المستخلص الكلوروفورمي والمستخلص الميثانولي قيم متقاربة (113,02±0,72 µg AG E/mg Ex) ،

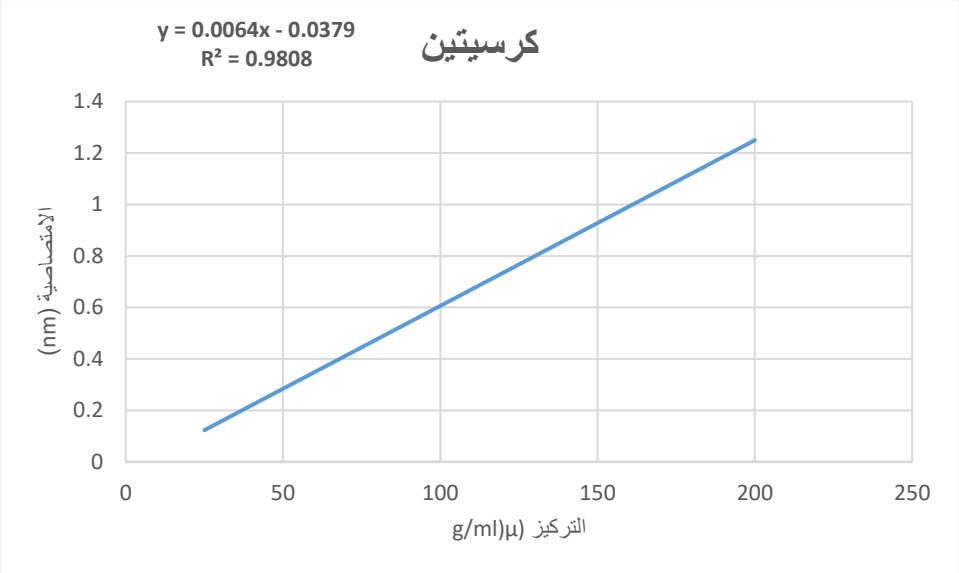
109,80±0,72 µg AG E/mg Ex) على الترتيب.

بمقارنة النتائج المتحصل عليها بما تحصلت عليه جابو والزاوية (2017) في دراستهم نجد أن كمية الفينولات المسجلة في مستخلص خلات الإيثيل متقاربة لما توصلنا إليها حيث قدرت ب202,6379µg AG E/mg Ex, في حين نجد تباين كبير بين القيم المسجلة في المستخلص الكلوروفورمي فكانت الكمية أقل (21,16456µg AG E/mg Ex).

I.4. التقدير الكمي للفلافونويدات:

تم تقدير الفلافونويدات باستعمال طريقة $AlCl_3$ ، حيث يشكل هذا الأخير معقدا مع الوظيفة الكيتونية (Co) والوظيفة الهيدروكسيلية (OH) على مستوى الحلقة A والحلقة C ، كما يمكن ان يشكل معقدا مع الوظيفة orthodihydroxyl

للحلقةَ A وB للفلافونويدات ، يتم قياس كمية هذا المعقد لونيا باستعمال جهاز Spectophotométer ، وكلما كانت كمية المعقد اكبر كلما كانت الامتصاصية في 415nm اكبر (Chang *et al.*, 2002) يعبر عن النتائج بعدد الميكروغرامات المكافئة ل Quercetine لكل مليغرام من المستخلص (µg Qu E/mg Ex).

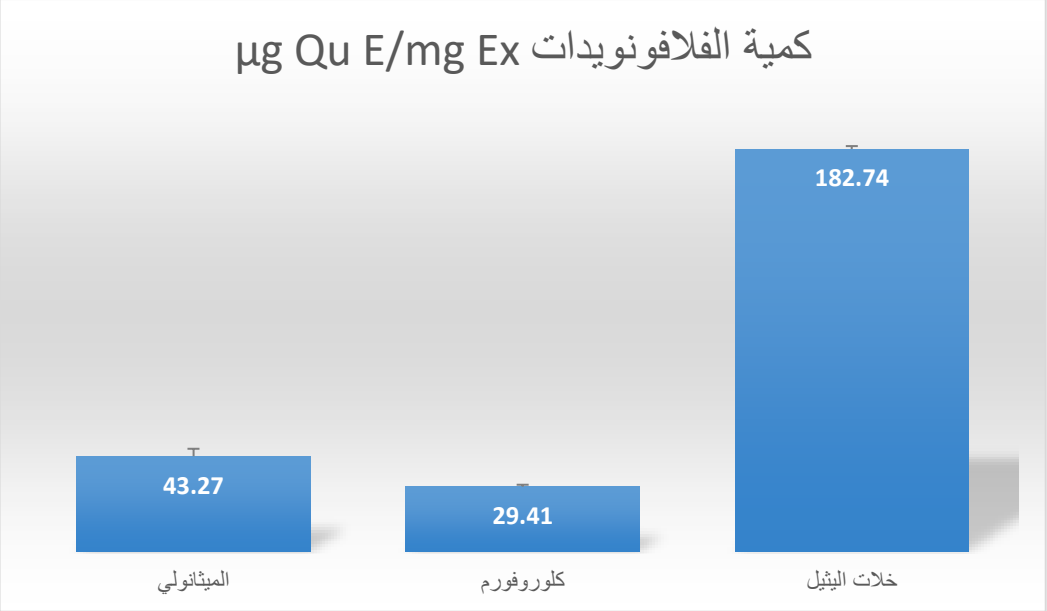


الشكل (4):المنحنى القياسي لQuercetine لتقدير الفلافونويدات

يبين الجدول (16) والشكل (5) كمية الفلافونويدات المقدرة في المستخلصات النباتية لأوراق نبات المورينغا *Moringa Oleifera L* .

الجدول(16):كمية الفلافونويدات في المستخلصات النباتية لأوراق نبات المورينغا

المستخلصات النباتية	خلات الإيثيل	الميثانولي	الكلوروفورمي
كمية الفلافونويدات الكلية µg Qu E/mg Ex	182,74±1,35^{a}	43,27±3,39^{b}	29,41±0,92^{c}
P=0,0001***			



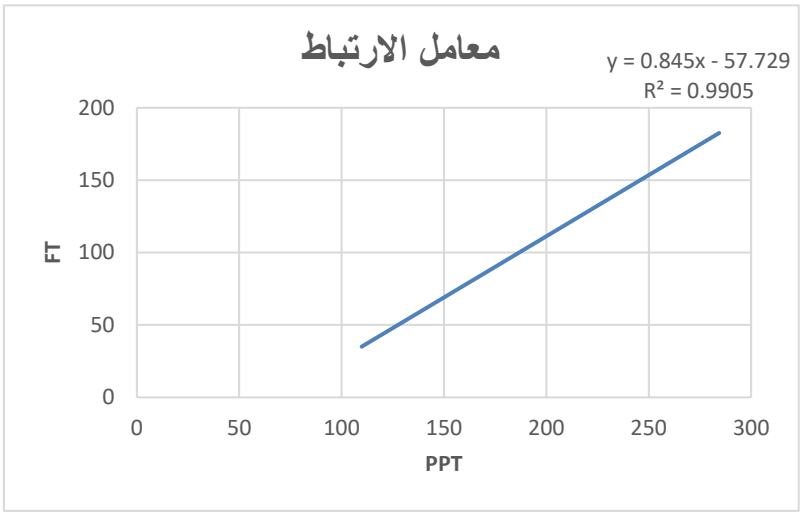
الشكل(5):كمية الفلافونويدات في المستخلصات النباتية لأوراق نبات المورينغا µg Qu E/mg Ex

بينت النتائج المتحصل عليها و المدونة في الجدول (16) والشكل (5) وجود فرق جد عالي المعنوية وتباين كبير بين قيم الفلافونويدات المسجلة ،حيث أن مستخلص خلات الإيثيل احتوي على الكمية الأكبر من الفلافونويدات بقيمة (182,74±1,35 µg Qu E/mg Ex) ، بالمقابل امتلك المستخلص الميثانولي كمية أقل قدرت ب(43,27±3,39 µg Qu E/mg Ex) أما القيمة الصغرى للفلافونويدات سجلت عند المستخلص الكلوروفورمي بقيمة 29,41±1,35 µg Qu E/mg Ex).

كانت الكميات المسجلة في الدراسة التي قمنا بيها أقل بكثير لما تحصلت عليه جابو و الزاوية (2017) في دراستهم فقد قدرت كمية الفلافونويدات في مستخلص خلات الإيثيل لديهم ب305,6379µg Qu E/mg Ex وفي المستخلص الكلوروفورمي ب384,8656 µg Qu E/mg Ex.

I.5. علاقة الارتباط بين الفينولات والفلافونويدات في المستخلصات:

من أجل تحديد العلاقة بين قيم الفينولات والفلافونويدات المقدرة في المستخلصات النباتية لأوراق نبات المورينغا *Moringa oleifera L* تم رسم منحنى الإرتباط الموضح في الشكل (6)، إذ أن القيم المحصورة بين (0,01-0,49) تدل على ارتباط ضعيف ، (0,50-0,69) تدل على ارتباط متوسط ، (0,70-0,99) تدل على ارتباط قوي(قادري، 2020).



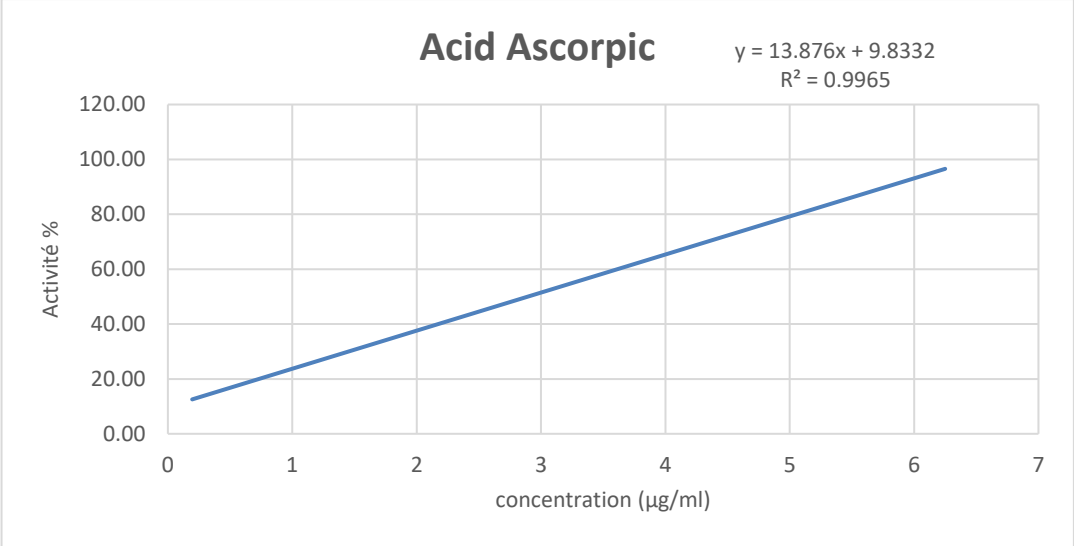
PPT:عديدات الفينول الكلية FT كمية الفلافونويدات الكلية

الشكل (6): معامل الارتباط بين الفينولات والفلافونويدات في مستخلصات أوراق نبات المورينغا

يبين لنا منحنى الارتباط الموضح في الشكل (6) أن علاقة الارتباط بين كمية الفينولات و كمية الفلافونويدات في المستخلصات النباتية (خلات الإيثيل ،الميثانولي، الكلوروفورمي) هي علاقة ارتباط خطي موجب قوية ،حيث أن R^2=0,99 أي أن المستخلصات النباتية المدروسة تحتوي على نسبة كبيرة من المركبات الفينولية هي عبارة عن فلافونويدات

I.6. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

تم تقدير التأثير الإزاحي للمستخلصات النباتية عن طريق اختبار $DPPH^{\bullet}$ (Bucar et Bruits, 2000) وعموما تستعمل هذه الطريقة بكثرة في تحديد التأثير المضاد للأكسدة للمستخلصات النباتية وذلك لسرعتها وفعاليتها Mosquera (*et al.*, 2007)، حيث ان درجة التغير من اللون البنفسجي إلى الأصفر يرتبط بالتراكيز المختلفة للعينات ، ثم استعمال حمض اسكوربيك لمقارنة الإيجابية لامتلاكه نشاطية كابحة للجدور. والتي يمكن قياسها في طول الموجة517 nm

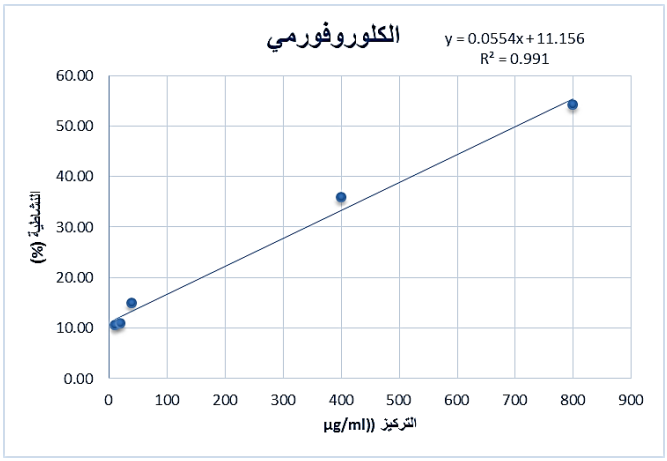


الشكل (7) :النسبة المئوية لتثبيط الجذر الحر DPPH• بدلالة التركيز لحمض الاسكوربيك

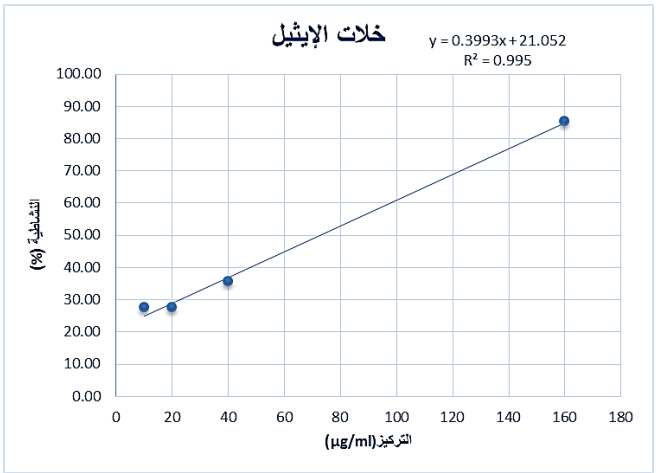
يوضح الجدول (17) والشكل (8، 9، 10) نشاطية المستخلصات لأوراق المورينغا *Moringa oleifera* .

الجدول (17): قيم Ic_{50} لمستخلصات أوراق المورينغا مقارنة بحمض الاسكوربيك .

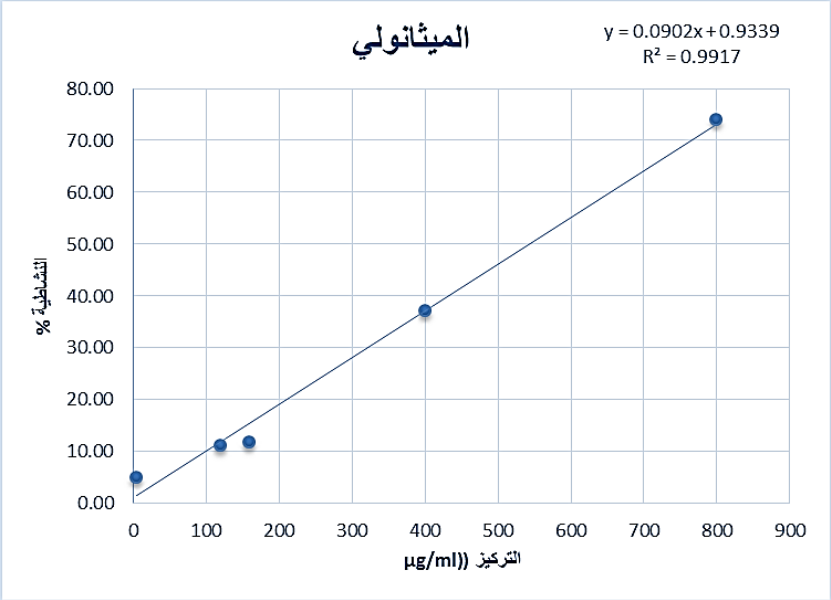
المستخلصات	خلات الاثيل	الميثانولي	الكلوروفورمي	الاسكوربيك
قيمة Ic_{50} (µg/ml)	72,50 ± 4,62^{c}	543,97 ± 1,60^{b}	701,16± 8,36^{a}	2,89±0,06^{d}
p=0.001***				



الشكل (8): نشاطية المستخلص الكلوروفورمي في اختبار DPPH*



الشكل (9): نشاطية المستخلص خلات الايثيل في اختبار DPPH*



الشكل (0

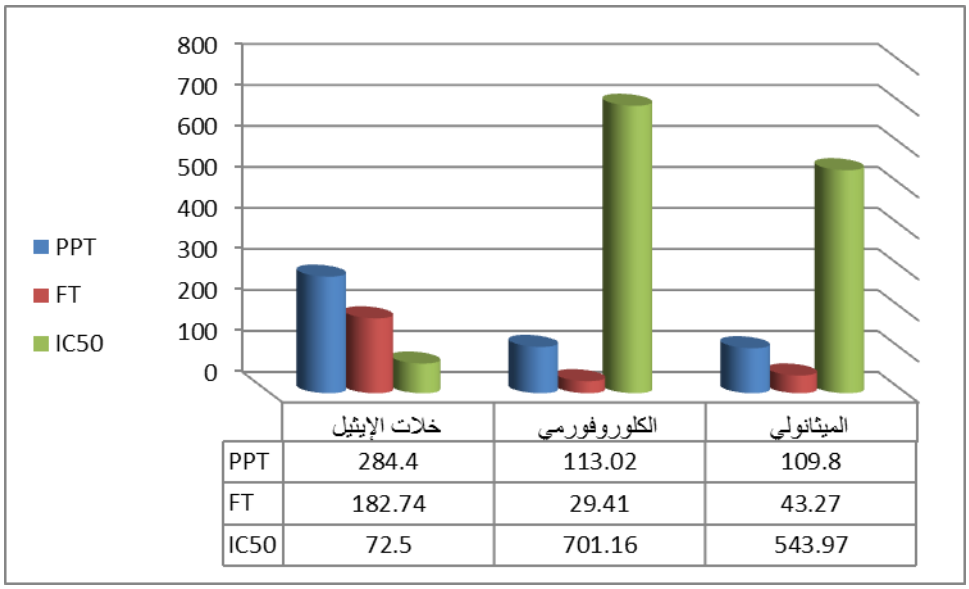
من خلال النتائج الموضحة نلاحظ أن جميع المستخلصات لها القدرة على إزاحة الجذر ب$DPPH^{\bullet}$ شكل يتوافق مع التركيز المستخلصات النباتية وبحساب Ic_{50} لكنها ضعيفة مقارنة بحمض الاسكوربيك (2,89±0,06µg/ml) ،وكانت اكبر نشاطية بكبح الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ في مستخلص خلات الإيثيل ب(Ic_{50}=72,50 ± 4,62 µg/ml)

اما المستخلص الميثانولي فكانت له فعالية اقل مقارنة بخلات الإيثيل بقيمة جد متباينة قدرت (Ic_{50}=543,97±1,60 µg/ml) ب ، في حين سجل المستخلص الكلوروفورمي اقل نشاطية ب (Ic_{50}=701,16 ±8,36µg/ml) .

أغلب الدراسات التي تخص القدرة التثبيطية لكبح الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ لمستخلصات أوراق نبات المورينغا سجلت قدرة تثبيطية عالية, نذكر منها الدراسة التي قامت بها جابو والزاوية (2017) إذ كانت قيم IC_{50} المسجلة أقل مما تحصلنا عليه في دراستنا , فقدرت في مستخلص خلات الإيثيل بIC_{50}=0,22µg/ml وفي المستخلص الكلوروفورمي بIC_{50}=1,8µg/ml, ونذكر كذلك الدراسة التي قامت بها حمادي وخراز (2020) حيث قاما باختبار الفعالية المضادة للأكسدة باستعمال الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ لنفس الجزء النباتي المدروس إذ كانت قيمة IC_{50}=29,72µg/ml.

I.7. الارتباط الخطي بين الفينولات و الفلافونويدات في المستخلصات و الارتباط بين الفينولات الفلافونويدات والفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات أوراق نبات المورينجا:.

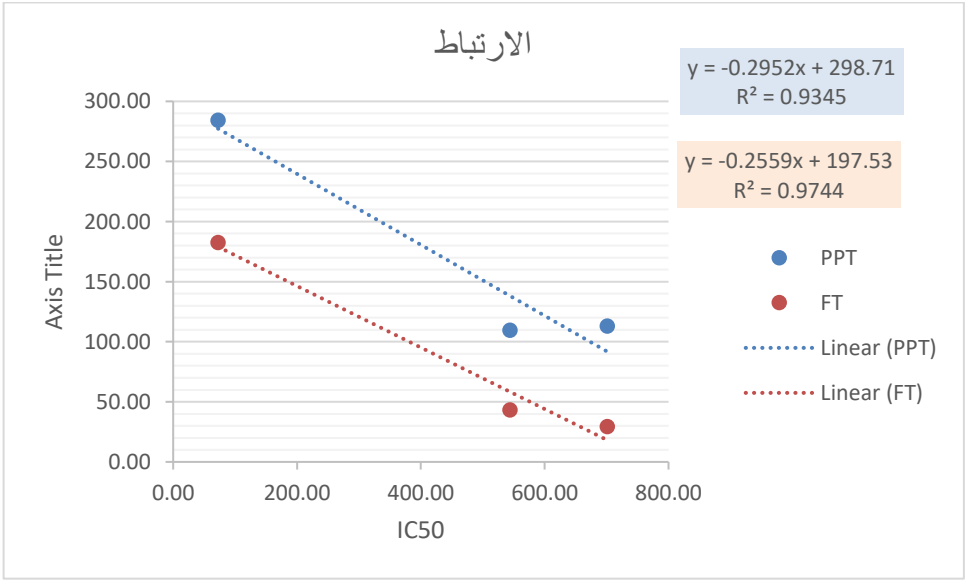
يوضح الشكلين(11) و(12) العلاقة بين الفينولات و الفلافونيدات من جهة وقيم Ic_{50} لاختيار DPPH• من جهة أخرى للمستخلصات:



	خلات الإيثيل	الكلوروفورمي	الميثانولي
PPT	284.4	113.02	109.8
FT	182.74	29.41	43.27
IC50	72.5	701.16	543.97

PPT:الكمية الكلية للفينولات FT:الكمية الكلية للفلافونويدات

الشكل(11) :العلاقة بين PPT،FT و IC_{50} لمستخلصات أوراق المورينجا .



الشكل(12): منحنى الارتباط بين PPT و FT واختبار DPPH• للمستخلصات .

من الشكل (11) والشكل (12) يتبين لنا أن علاقة الارتباط بين الفينولات والفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات النباتية هي علاقة ارتباط موجبة قوية حيث أن R^2=0,93, وكذلك علاقة الارتباط بين الفلافونويدات والنشاطية المضادة للأكسدة كانت قوية إذ أن R^2=0,97, حيث أن المستخلصات الغنية بالفينولات والفلافونويدات كانت لها أكبر فعالية في كبح الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$, ويظهر ذلك في مستخلص خلات الإيثيل حيث كانت له أكثر فعالية مضادة للأكسدة IC_{50}=72,50µg/ml وهو نفسه احتوى على أكبر كمية من الفينولات ب(284,40±0,87^{a}µg AG E/mg Ex), وأكبر كمية من الفلافونويدات والتي قدرت ب182,74±1,35^{a}µg Qu E/mg Ex, كما يلاحظ أنه كلما قلت نسبة الفينولات والفلافونويدات في المستخلص كلما قلت الفعالية المضادة للأكسدة , ومنه يمكن القول أن الفينولات والفلافونويدات الموجودة في مستخلصات أوراق المورينغا هي المسؤولة عن تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$.

II. المناقشة:

II.1. الحصر الكيميائي الاولي:

تتوافق هذه النتائج المتحصل عليها في بعض الدراسات السابقة على بعض النباتات الطبية, مثل الدراسة التي قامت بها برحال., 2010 التي أثبتت وجود الفلافونويدات ,وكذلك الدراسة التي قامت بها بوعروج ومراكشي (2015) أثبتت وجود الصابونيات والمركبات المرجعة والتربينات و الستيرولات الثلاثية, كما أكدت الدراسة التي قامت بها بلفار (2018)على وجود التانينات. تتطابق نتائج الكشف عن وجود القلويدات مع ما قدمه كل من علي صادق ومعاونوه(2009) وبكارو بودابة (2008) في دراساتهم. أما بالنسبة للزيوت الأساسية فأثبتت الدراسة التي قام بها كار و بودابة (2008) وجودها في أوراق النبات .

هذه المواد الكيميائية النباتية تلعب دورا حيويا لعلاج أنواع مختلفة من الأمراض و بالتالي فإنها لا تزال تستخدم في نظام الطب التقليدي و الحديث حيث تعتبر النباتات خزان ضخم من المواد الكيميائية النباتية مثل الفلافونويدات، القلويدات، العفص و المركبات الفينولية أخرى و بالتالي فانه يعتقد أن الأنظمة الغذائية النباتية مفيدة للابتعاد عن معظم المشاكل المرتبطة بالأمراض و أظهرت دراسات سابقة على النباتات أن المركبات الفينولية تمتلك خصائص بيولوجية مثل حماية القلب و خلايا الأوعية الدموية، مكافحة الالتهابات، مكافحة الشيخوخة، مكافحة تصلب الشرايين، مكافحة مسببات السرطان، تحسين وظيفة بطانة الأوعية الدموية، تثبيط الأنشطة الأوعية الدموية و تكاثر الخلايا وتستخدم التانينات في علاج البواسير والإسهال، الدوسنتاريا، التهاب المعدة و المريء و الأمعاء، التهاب الحلق، علاج الحروق، إيقاف النزيف ،تضميد الجروح داخليا، بطانة الغشاء المخاطي للفم، حماية الكلى، مضادة للفيروسات و الجراثيم، و لكن إذا تم استخدامها بشكل مفرط مع مرور الوقت فإنها يمكن أن تسبب أورام في الأنسجة السليمة ،و تمثل التربينات فئة كبيرة و متنوعة من المواد الكيميائية العضوية التي تحدث بشكل طبيعي و جدت في جميع الطبقات من الكائنات الحية لديها خصائص مضادة للجراثيم، التام الجروح، تعزيز الجلد، زيادة تركيز المواد المضادة للأكسدة في الجروح و استعادة الأنسجة الملتهبة عن طريق زيادة تدفق الدم. و يتم العثور على الصابونين في النباتات، حيث تشكل طبقة

شمعية واقية و تساعد على خفض الكولسترول، كعامل مضاد للأكسدة و مضاد للالتهاب و هي تملك الطعم المر و خاصية الرغوة و مضادة للسرطان و الفطريات.

تعد المركبات المرجعة من المركبات المهمة في النبات وتعتبر أحد مصادر تزين المواد السكرية التي بدورها تدخل في عملية تنظيم الضغط الأسموزي و انتقال بعض المواد اللازمة لعملية التمثيل الغذائي في النبات، كما أنها تؤدي دورا وقائيا ضد بعض الآفات و الحشرات التي تصيب النبات. (هدى و عائدة., 2019)

II.2. مردود المستخلصات النباتية:

يعود الاختلاف في مردود المستخلصات إلى التجاذب بين المذيب المستعمل والمركبات المستخلصة بسبب قطبية المذيب (بلفار، 2018) ،ودرجة ذوبانية المواد الفعالة فيه وحسب العضو النباتي المدروس وما يحتويه من مواد فعالة ذات طبيعة كيميائية مختلفة (قادري، 2020).

تختلف كذلك نسب المردود حسب المنطقة والظروف البيئية التي ينمو فيها النبات (بالفار، 2018).

II.3. التقدير الكمي للفينولات:

تفسر النتائج المتحصل عليها والمتمثلة في وجود اختلاف في كمية الفينولات من مستخلص إلى آخر حسب طبيعة المركبات الفينولية في كل مستخلص فسلوكها يختلف مع اختلاف بنيتها الكيميائية والوسط الموجودة فيه ،وتختلف كذلك حسب المذيب المستعمل ،وفي دراسة قامت بها قادري (2020) بينت أيضا أن كمية الفينولات تختلف حسب النبات ولو استعمل نفس المذيب وهذا يعود إلى الطبيعة الكيميائية لكل من المذيب والمذاب.

II.4. التقدير الكمي للفلافونويدات:

يفسر اختلاف كمية الفلافونويدات في الجزء النباتي الواحد باختلاف المذيب المستعمل إلى نوع المذيب وقطبيته وقطبية الفلافونويدات المتواجدة في النبات (قادري, 2020).

II.5. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

أظهر مستخلص خلات الإيثيل التأثير الإزاحي الأكبر لجذر $DPPH^{\bullet}$ وقد يعود هذا إلى الكميات المعتبرة للفينولات و الفلافونويدات فقد أكدت دراسات عديدة ان هناك ارتباط وثيق بين المحتوى الفينولي والتأثير الإزاحي للمستخلصات النباتية (Dziki *et al.*, 2007)

كما يمكن للفلافونويدات السكرية المميزة لمستخلص خلات الإيثيل ان تكون هي المسؤولة عن التأثير الإزاحي لجذر DPPH

، حيث اثبتت دراسة قامت بها (Misrad *et al.*, 2003) أن اضافة الوحدات السكرية الفلافونويدات يرفع من التأثير الإزاحي لجذر DPPHأكثر من الفلافونويدات الغير سكرية .

فقد بين العديد من الباحثين القدرة الإزاحية لهذه المركبات النباتية على جذر $DPPH^{\bullet}$ لها علاقة كبيرة بالبنية الكيميائية. حيث أظهر(zheng *et al.*, 2010) في دراسة للتأثير الإزاحي ل 31فلافونويد على جذر $DPPH^{\bullet}$ ، أن عدد مجموعات الهيدروكسيل و تموضعها له دور كبير في التأثير الإزاحي ، إذ أن جود مجموعة هيدروكسيل في C3و البنية ortho- dihydroxyl يعطي أفضل فعل إزاحي على جذر$DPPH^{\bullet}$ ،كما أن وجود سكر أو ميثيل يرفع من الفعل الإزاحي للفلافونويدات .

الخاتمة

الخاتمة

تعتبر النباتات الطبية محل اهتمام العلماء بغية اكتشاف مواد فعالة تستعمل في الطب والصيدلة لعلاج العديد من الأمراض والتي قد يكون سببها مضادات الأكسدة الطبيعية المتواجدة في النباتات الطبية والغذائية وذلك لفعاليتها وتوفرها وقلة تأثيراتها الجانبية .

انصب موضوع هذه الدراسة على نبات المورينجا اوليفيرا*Moringa oleifera Lam* المعروف بالعديد من الاسماء (المعجزة, شجرة البان, الشجرة الطبيبة...)التي تستعمل في الطب الشعبي لعلاج العديد من الامراض, لهذا كان الهدف من هذه الدراسة الفعالية المضادة للأكسدة في مستخلصات اوراق المورينجا اوليفيرا*Moringa oleifera Lam* .

من خلال دراستنا النباتية توصلنا إلى أن المورينغا التي تنمو في المناطق الاستوائية والشبه استوائية ،كما تحتوي على العديد من مركبات الأيض الثانوي المتمثلة في الفلافونويدات ،القلويدات ،الصابونيات، التانينات،الستيرولات والنربينات الثلاثية والمركبات المرجعة .

ومن خلال استخلاص الفلافونويدات باستعمال محاليل متزايدة القطبية المتمثلة في خلات الإيثيل ، الكلوروفورمي ، الميثانولي عن طريق الفصل ، تم تسجيل أعلى مردود عند المستخلص الميثانولي 2,10% ،في حين سجل المستخلص الكلوروفورمي أقل مردود بنسبة 0,016%.

ثم تم تقدير كمية الفينولات للمستخلصات باستعمال طريقة Folin–Ciocalteu، حيث سجلت أكبر من الفينولات في مستخلص خلات الإيثيل ب 284,40 ±0,87^{a} µg AG E/ mg Ex،واحتوت المستخلصات الكلوروفورمي والميثانولي على كميات متقاربة بقيم

(113,02±0,72^{b}µg AG E/mg Ex)،(109,80±0,72^{c} µg AG E/mg Ex) على الترتيب .

كما تم تقدير كمية الفلافونويدات باستعمال طريقة كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ حيث احتوى مستخلص خلات الإيثيل على أكبر كمية بقيمة (182,74±1,35µg Qu E/mg Ex) وتسجيل كمية

(43,27±3,39µg Qu E/mg Ex) في المستخلص الميثانولي كقيمة أقل ، أما الكمية الأدنى فكانت في المستخلص الكلوروفورمي بقيمة (29,41±0,92 µg Qu E/mg Ex).

وكآخر خطوة من هذه الدراسة تم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة باستعمال الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ ،فقدرت أكبر فعالية في تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ في مستخلص خلات الإيثيل $IC_{50}=72,50\pm4,62\mu g/ml$ ،وقدرت عند المستخلص الميثانولي ب$IC_{50}=543,97\pm1,60\mu g/ml$ وسجل أقل تركيز لكبح الجذر الحر عند المستخلص الكلوروفورمي ب $IC_{50}=701,16\pm8,36\mu g/ml$ ،تعود الفعالية الكبيرة في تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ إلى كمية ونوعية الفينولات الفلافونويدات الموجودة في المستخلصات.

وفي الأخير لنا آمال مستقبلية ان تكون لنا ابحاث متجددة ودقيقة لفصل المركبات ودراسة الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة للتآكل, التي تعتبر خطوة قيمة لتثمين هذا العمل وتطبيق هذه الأبحاث على الانسان لاختبار مدى مصداقيتها.

المراجع

المراجع اللغة العربية

• **العابد إ.، 2009**. دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران . مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة قاصدي مرباح –ورقلة ، 39 ص.

•**الجبر م.، 2010**. بحث وتحديد نواتج الايض الثانوي لنبات القات *Catha edulis* من العائلة(*Celastraceae*) ونبات البوليكاريا *Pulicaria jaubertii* من العائلة(*Asteraceae*) ، مذكرة لنيل شهادة الدكتوراه، جامعة منتوري– قسنطينة ،179ص.

• **الجديلي ع.، 2003**. المواد المضافة للأغذية ، الطبعة الأولى، مجموعة النيل العربية، 133ص.

• **الصديق ق.، 2011**. دارسة كهروكيميائية لفينولات نوى التمر المحلي، مذكرة لنيل شهادة ماستر ،جامعة قاصدي مرباح –ورقلة، 72ص.

• **بالفار آ.، 2018**. دراسة القدرة المضادة للأكسدة والمضادة و للبيكتيريا وللتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات *Limoniastrum guyonianum Dur*، رسالة لنيل شهادة الدكتوراه ، جامعة قاصدي مرباح –ورقلة، 236 ص .

• **بن سلامة ع.، 2012**. النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق *Mertia cheirifolia L*، مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة فرحات عباس –سطيف، 78ص.

• **بن ساسي ش.، 2018**. تقييم الفعالية المضادة للأكسدة و المضادة للبكتيريا للمركبات الفينولية لبعض

أصناف التمور من منطقة وادي ريغ بطرق مختلفة، مذكرة لنيل شهادة الدكتوراه ،جامعة قاصدي مرباح –ورقلة، 182 ص.

• **برحال ج.، 2010**. فصل وتحديد منتوجات الأيض الثانوي الفلافونيدي لبعض نباتات العائلة الريزيدية (*Resdaceae*) ، مذكرة لنيل شهادة الدكتوراه،جامعة منتوري–قسنطينة، 200 ص.

• **جابو خ. الزاوية ذ.، 2017**. مساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة لتآكل الفولاذ X70 في وسط حمضي لمستخلصات نبات المورينجا *Moringa oleifera Lam*، مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة قاصدي مرباح–ورقلة، 69ص.

• **حليمي ع.، 1997**. النباتات الطبية، وزارة الفلاحة. الجزائر، 280 ص.

• **حمادي ع. خراز س.، 2020**. دراسة الفعالية البيولوجية لنبات المورينجا *Moringa oleifera Lam* النامي في منطقة وادي سوف، مذكرة لنيل شهادة ماستر، جامعة حمى لحضر، الوادي، 80 ص.

• **حوة ا.، 2013**. دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة، مذكرة لنيل شهادة الماجستير ، جامعة قاصدي مرباح –ورقلة،99 ص.

• **دنيا م.، 2021**. طرق زراعة المورينجا.

• **ريدة أ.، 1999**. الجذور الحرة، جملة مضادات المؤكسدات و داء التهاب المفاصل الرثياني، مجلة

جامعة دمشق، العدد2، المجلد15، 15ص.

• **علي ص ،محمد م، كوكب ي.**، 2009. الكشف عن المركبات الكيميائية والتنقية الجزئية للقلويدات في مستخلصات نبات عنب الذيب *Solanum nigrum* ، المجلة العراقية للعلوم، العدد3، المجلد50،ص303.314.

• **قادري م.، 2020**. دراسة بيئية ،كيميائية وبيولوجية لنبتتين صحراويتين نبات السدر *Zizyphus*

Lotus L ،نبات اللمادا *Cymbopogon schoenanthus L* ، مذكرة لنيل شهادة الدكتوراه، جامعة قاصدي مرباح–ورقلة،187 ص .

• **منصور س.، 2000**. هندسة التآكل و الطرق الفنية في التصدي له. دار الراتب الجامعية ،بيروت ، 320ص.

• **شبوعات ي.، 2003**. دراسة القلويدات في شجرة السدر *Zizyphus mauritiana*، مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة قاصدي مرباح –ورقلة، 124ص.

• **شربي ر.، 2017**. Etude de l'activité antioxydante des fractions lipidiques et phénolique des feuilles et des graines de *Lawsonia inermis* d'Algérie ، أطروحة لنيل شهادة الدكتوراه ، جامعة قاصدي مرباح –ورقلة، 23 ص.

• **زلاقي ع.، 2006**. مسح فيتو كيميائي متبوع بدراسة السكوتربينات والقلويدات في النوعين : *Genista microcephala* و *Ferula vesceritensis* مع إشارة للفعالية الضد ميكروبية، أطروحة لنيل شهادة الدكتوراه، جامعة منتوري– قسنطينة .

• **هادف د.، 2017**. المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت العطرية والمستخلصات العضوية لأوراق نباتي *Origanum majoran L* و*Cymbopogon* schenanthus ، أطروحة لنيل شهادة الدكتوراه ،جامعة قاصدي مرباح– ورقلة.

• **هدى م. عائدة ج.، 2019**. الكشف عن بعض مضادات الأكسدة في بعض أنواع التمر المحلي، عدد خاص بالمؤتمر السنوي الثالث حول نظريات وتطبيقات العلوم الأساسية والحيوية، جامعة مصراتة ليبيا،10ص.

مراجع اللغة الأجنبية:

•**Abalaka M**, **Mann A**, **Adeyemo S** . **, 2011**. Studies on in Vitro Antioxidant and Free Radical Scavenging Potential and Phytochemical Screening of Leaves of *Ziziphus mauritiana L*. and *Ziziphus spina-Christi L*, Compared With Ascorbic Acid, Journal med genet genomics. 3: 28-34.

•**Agroconsult Haitis S**., **2016**. Analyse des Potentialités de l'Exploitation du *Moringa en Haït*, Ministère de l'agriculture, des ressource naturelles et du développement rural (Marndr), 168 p .

•**Allessandro L**, **Alberto Sp**, **Alberto B**, **Alberto S**, **Jnior A**, **and Simona B**., **2015**. Cultivation, Genitic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera Leaves*: An overview. Internatiinal Journal of Molecular sciences, ISSN 1422-0067,p 45.

•**Amjad M.S**, **Qureshi H**, **Arshad M**, **Chaudhari S.K**, **Masood M**., **2015**. The incredible queen of green: Nutritive value and therapeutic potential of *Moringa oleifera Lam*, Journal of Coastal Life Medicine , 3(9): 744-751.

•**Anwar F, Latif S, Ashraf M,Gilania H., 2006**. **Moringa** medicinal plant, *Moringa oleifira*:A Food plant with Multiple Medicinal Uses , Vol 21. P17-25.

•**Aworet S** ., **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 medicine , 87 p.

•**Benkaddour**., **2015**. contribution a l'etude de l'efficacite de la graine de *Moringa Oleifera* dans la depollution des eaux d'oued safsaf, universite abou bekr belkaid, tlemcen mémoire d'ingenieur d'etat en agroforesteri,48p.

•**Bhupendra K**, **Neikuozo Ch**., **2015**. *Moringa oleifera Lam*: Panacea to severalmaladies, Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7(6):687-707.

•**Bonnefont-Rousselot D**, **Thérond P**, **Delattre J**., **2003**. Radicaux libres et antioxydants. In Borges F, Fernandes E, Roleira F., 2002. Progress towards the discovery of xanthine oxidase inhibitors, Curr. Med. Chem. 9, 195–217.

•**Bourkhiss M**, **Hnachi M**, **Bourkhiss B**, **Ouhssine M**, **Chaouch A**, **Satrani B**., **2009**. Effet de séchange sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de Tetraclinis Articulata , Agrosolution .20 (1):44-48.

•**Bucar F**, **Burits M**., **2000**. Antioxidant activity of *Nigella savita* esential oil, Phytother Res. 14: 323-328.

•**Clevenger J** ., **1928**. Apparatus for volatile oil , Journal of pharmceutical seinces, 17 : 345-349. https://Doi.Org/10.1002/Jps.3080170407

•**Delaveau P et Boiteau P., 1980**. Huiles à interet phamacologique , cosmetologique et dietique .IV, Huiles de *Moringa oleifera Lam*, et de M. Drouhardii Jumelle, Plantes medicinales et phytotherapie,Vol:14.No:1,P29-33.

•**Dziki U- Gawlik** ,**Nowak R**., **2007**. Polyphenols of *Rosa L*, leaves extracts and their radical scavenging activity. Z. Naturforsch, 62: 32-38.

•**Fukai T**, **Ushio-Fukai M**., **2011**. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular fonction, and diseases, Antioxid redox signal, 15: 1583-1606.

•**Gardèse-Albert M**, **Bonnefont-Rousselot D**, **Abedinzadeh Z**. **et Jore D**., **2003**. Espèces Réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique L'actualité chimique, 91p.

•**Georgé S**, **Brat P**, **Alter P**, **Amiot J**., **2005**. Rapid determination of polyphénols and vitamin C in plant-derived products, J Agric Food Chem,53:1370-1373.

•**Chang C**, **yang M**, **Wen H**, **Chern J**., **2002**. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementry colorimetric methods, J Food Drug Anal, 10:178-182.

•**Ghebremichaela K**, **Gunaratna K.R**, **Henriksson H**, **Brumer H**, **Dalhammar G**., **2005**. A simple purification and activity assay of the coagulant protein from *Moringa oleifera* seed,Water Res, 39: 2338-2344.

•**Guettaf S**, **Abidli N**, **Kariche S**, **Bellebcir L**, **and Bourice H**., **2016** .

Phytochemical screening and antioxidant activity of aqueous extract of *Genista Saharae* (Coss. &Dur.), Scholars Research Library, 8 (1): 51p.

•**Harborne J**., **1998**. Phytochemical Methods, A Guide To Modern Techniques of Plants Analysis, Third edition, Springer Netherlands, 302 p.

•**Ilboudo S**, **Ouedraogo M**, **Some N**, **Ouedraogo M**, **Ouedraogo**

M, **Guissou P**., **2009**. Criblage Phytochimique et Evaluation de La Toxicité Aigüe de Pisolithus tinctorius (Basidiomycète), Journal Science Pharmacol, Boil: 10(2): 6-13 .

•**Jaeschke H**., **1990**. Glutathione disulde formation and oxidant stress during acetaminopheninduced hepatotoxicity in mice in vivo: the protective effect of allopurinol, J. Pharmacol ,Exp, Ther, 255, 935–941.

•**Kaput C**., **2015**. *Moringa*, With additional input from Hugh Locke and Timote Georges, respectively President and Executive Director of the Smallholder Farmers Alliance in Haiti, 50 p.

•**Krim M**., **2014**. L'importance des antioxydants (Gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates chez les rats, Thèse de doctorat, Faculte des sciencse, Universite badje mokhtar annaba, P4 –11.

•**Louni S**., **2009**. Extraction et caractérisation physicochimique de l"huile de graines de *Moringa oleifera* , Mémoire de Magister , Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach , 90 p.

•**Makkar H**, **Becker K**., **1996**. Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera leaves*, J. Anim, Feed Sci., 63: 211-228. Doi: 10.1016/ s0377-8401(96)01023-1.

•**Mann A**, **Yahaya A**, **Banso A**, **Ajayi G**., **2008**. Phytochemical and Antibacterial Screening of Anogeissus leiocarpus Against Some Microorganisms Associated With Infectious Wounds, African journal Of microbiology research, 2: 060-062.

•**Maouchi E**, **Katia M**., **2017**. Incorporation de poudre de feuille de *Moringa oleifera* dans un yaourt Brassèe, Mémoire de l'obtention de diplôme Master, Université A. Mira de Bejaia, faculté de science de la vie et de la nature,38p.

•**Meda N**., **2011**. Etude comparative des systèmes d‟‟irrigation goutte à goutte et d‟‟aspersion sur la production de *Moringa oleifera* dans la commune de Da, Mémoire d'ingénieur , Université polytechnique de bobo- dioulasso, Burkina Faso, 46 p.

•**Miquel J**., **2002**. Can antioxidant diet supplementation protect against age-related mitochondrial damage Ann N Y Acad Sci , 959: 508-516.

•**Mishra G, Singh P, Verma R, Kumar S, Srivastav S**, **Jhak**.**K**, **and Khosa R**., **2011**. Traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties of *Moringa oleifera* plant :An overview,164p.

•**Mosquera O**, **Correa Y**, **Buitrago D**, **Niö J**., **2007**. Antioxidant activity of twenty five plants from Colombian biodiversity, Mem Inst Cruz. 102:631-634.

•**Navie S and Csurhes S., 2010**. weed risk assessment Horseradish tree *Moringa Oleifera*, The State of Queensland , Department of Employment. Economic Development and Innovatio,p1-17.

•**Nouman W**, **Basra**, **S**.**M**.**A**, **Siddiqui M**, **Yasmeen A**, **Gull T**, **Alcayde M**., **2014**. Potential of *Moringa oleifera L*, as livestock fodder crop: A review. Turk. J. Agric ,For. 38, 1–14.

•**Olson M**., **1999**. The home page of the plant family *Moringaceae*, Available at: www.mobot.org/gradstudents/oslon/Mo ringahome.html.

• **Palada M**., **1996**. Moringa (*Moringa oleifera Lam.*): A versatile tree crop with horticultural potential in the subtropical United States, Hort science 31. 794–797.

•**Paris R**, **Dillemann G**., **1960**. Les plantes médicinales des régions arides. Considérées surton du point de vue pharmacologique UNESCO, ed P71-72.

•**Pastre J**, **Priymenko N**., **2007**. Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques, Revue de medicine vétérinaire, 1(4),P 180-189.

•**Rubben G et Denton**, **Fondation O**, **Prota A., 2004**.Plant resources of tropical africa 2,Vedgetables,Prota,foundation, Wageningen ,Pays.Bas.

•**Sandrine F., 2005**. Etude Phytochimique et des Activités Biologiques de *Maerua angolensis* Dc. (*Capparidaceae*), These doctorat en pharmacie, faculte de medicine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie, Bamakomali,149 p.

•**Sekone P., 2006**. Ethnopharmacologie Appliquee Plantes Medicinales Et Pharmacopees Traditionnelles, Mémoire pour la validation de la formation , Burkina Faso Unité – Progrés –Justice, 44 p.

•**Siddhuraju P, Becker K., 2003**. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agro-climatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera Lam*) . J Agric Food Chem vol , 15 P2144-2155.

•**Singleton V** , **Rossi J A**., **1965**. Colorimetry of total phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents, The american Journal of enology and viticulture, 16:144-158.

•**Theophile M**., **2014**. Effet de la fertilisation sur la croissance et la production De *Moringa oleifera* local et *Moringa oleifera PKM*-l dans la Région des Cascades (Burkina Faso), Mémoire master : Production végétales. Bobo-Dioulasso: UPDB , 68 p.

•**Trease G**, **Evans W**., **1989**. Pharmacognosy. 11th edition, bailliere Tindall, London,P45-50.

• **Turkoglu A**, **Drur M**, **Mercan N**, **Kivrak I**,**& Gezer K**., **2007**. Antioxidant and antimcrobial activities of laetiporus sulphureus (Bull) Murrill, Food chemistry, 101 (1),267-273.

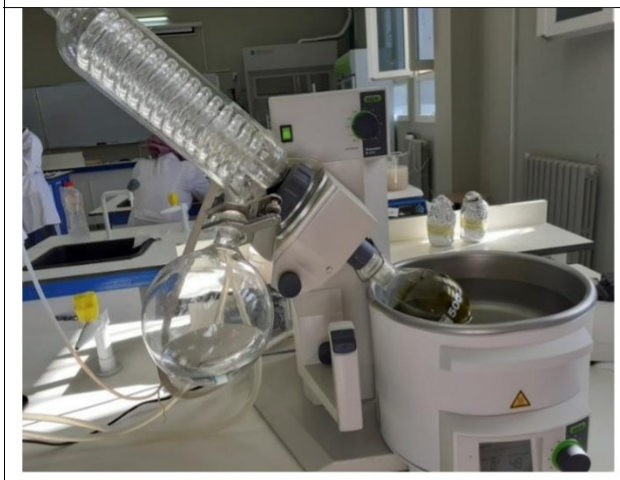
•**Wadhwa S, Panwarm S , Saini N, Rawat S, Singhal S., 2013**. A review on commercial, traditional uses, phytoconstituents and pharmacological activity of *Moringa oleifera*.

•**Yoshino M**, **Murakami K**., **1998**. Interaction of iron with polyphenolic Percival, antioxidants , Clinical nutrition insights :P1- 4.

• **Zheng C, Gao J,and Zheng A., 2008**. DPPH-scavenging activities and structure-acivity relationships of phenolic compounds, Nat Prod Commun:1759-1765.

الملاحق

جهاز المطيافية الضوئيةSpectrophotomètre



BUCHI LAORTECHNIK AG CH-9230 FLAWIL1/SWITZERAND	
MODEL	R-210
VOLTS	100-240VAC
CAT.No	206-24000-38
SERIAL.NO	1000048012
T 1.6AL 250V(2x)	

جهاز التبخير الدوراني Rotavapeur

SHIMADZU CORPORATION	
MODEL	UVmini-1240
VOLTS	220-240V 50/60Hz 106VA
CAT. No	206-24000-38
SERIAL.NO	A10934603363 CD

جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotomètre

LABTE CHASIA PTE. LTD ISO 9001 CERTIFIED	
MODEL	LIB-060M
VOLTS	220V-50Hz
WTAAS	200W/1A
SERIAL.NO	08061323

حاضنة Etuve

Balance analogique ميزان حساس	**Soxhlet جهاز سوكسلي**